



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ
ANABİLİM DALI



Fatma Büşra DİLER

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

2019

**BURSA'DA TÜKETİME SUNULAN ÇİĞ VE PASTÖRİZE
SÜT ÖRNEKLERİNDE AFLATOKSİN M₁ KONTAMİNASYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

FATMA BÜŞRA DİLER

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

BURSA-2019





T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ
ANABİLİM DALI



**BURSA'DA TÜKETİME SUNULAN ÇİĞ VE PASTÖRİZE
SÜT ÖRNEKLERİNDE AFLATOKSİN M₁
KONTAMİNASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Fatma Büşra DİLER

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Figen ÇETİNKAYA

BURSA-2019

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum

“Bursa’da Tüketime Sunulan Çiğ ve Pastörize Süt Örneklerinde Aflatoksin M₁ Kontaminasyonunun Değerlendirilmesi” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Fatma Büşra DİLER

24 / 06 / 2019

Kabul ve Onay Sayfası

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Fatma Büşra DİLER tarafından hazırlanan **Bursa'da Tüketime Sunulan Çiğ ve Pastörize Süt Örneklerinde Aflatoksin M₁ Kontaminasyonunun Değerlendirilmesi** konulu Yüksek Lisans tezi 24/06/2019 günü, 13:30-14:45 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı

İmza

Tez Danışmanı Prof. Dr. Figen Çetinkaya

Üye

Üye

Üye

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı toplantısında alınan numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Gülşah ÇEÇENER

Enstitü Müdürü

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

24 / 06 / 2019

Adı Soyadı: Fatma Büşra DİLER

Anabilim Dalı: Besin Hijyeni ve Teknolojisi

Tez Konusu: Bursa’da Tüketime Sunulan Çiğ ve Pastörize Süt Örneklerinde Aflatoksin M₁ Kontaminasyonunun Değerlendirilmesi

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>ACIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Figen ÇETİNKAYA

İmza:

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYAN	II
KABUL ONAY	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	VI
İNGİLİZCE ÖZET	VII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Mantarlar	5
2.1.1. Mantarların Özellikleri	5
2.1.2. Mikotoksinler	7
2.1.2.1. Mikotoksinlerin İnsan ve Hayvanlar Üzerine Etkileri	9
2.1.2.2. Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler	12
2.1.3. Aflatoksinler	14
2.1.3.1. Aflatoksinlerin Özellikleri ve Biyosentezi	15
2.1.3.2. Aflatoksinlerin Toksisitesi ve Halk Sağlığına Etkileri	20
2.1.3.3. Aflatoksinlerin Biyotransformasyonu	22
2.1.3.4. Gıdaların Aflatoksinlerle Kontaminasyonu	24
2.1.3.5. Süt ve Aflatoksin M ₁ İlişkisi	27
2.1.3.6. Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu	28
2.1.3.6.1. Fiziksel Yöntemler	28
2.1.3.6.2. Kimyasal Yöntemler	29
2.1.3.6.3. Biyolojik Yöntemler	30
3. GEREÇ ve YÖNTEM	32
3.1. Gereç	32
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	32
3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	32
3.2. Yöntem	33
3.2.1. Yöntemin Prensibi	33
3.2.2. Yöntemin Yapılışı	33
3.2.3. İstatistiksel Analizler	36
4. BULGULAR	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	42
6. KAYNAKLAR	55
7. SİMGELER VE KISALTMALAR	64
8. TEŞEKKÜR	65
9. ÖZGEÇMİŞ	66

ÖZET

Süt, insan sağlığı açısından önemli bir protein kaynağıdır. Süt toksini olarak da bilinen aflatoksin M₁, başlıca kontamine süt ve süt ürünlerinin tüketimi ya da karaciğerde AFB₁ metabolizması sonucu ortaya çıkan akut ve kronik toksikozların başlıca nedenidir.

Mevcut çalışmada Bursa'da tüketime sunulan çiğ ve pastörize süt örneklerinde AFM₁ insidensi ve kontaminasyon seviyelerinin belirlenmesi amaçlandı. Haziran-Kasım 2017 tarihleri arasında, her ay 10 çiğ ve 10 pastörize süt olmak üzere toplam 120 örnek, HPLC yöntemi ile incelendi. Analiz sonuçlarında; 60 çiğ süt örneğinin 51'inde (%85) ve 60 pastörize süt örneğinin 37'sinde (%61,7) değişik miktarlarda AFM₁ tespit edildi. Aylara göre en yüksek ortalama AFM₁ düzeyleri çiğ sütlerde 0,05 µg/kg ile Kasım ayında, pastörize sütlerde 0,026 µg/kg ile Haziran ayında bulundu. Çiğ ve pastörize süt örneklerinin her biri için aylara göre AFM₁ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Ayrıca 60 çiğ süt örneğinden 15'inin (%25) ve 60 pastörize süt örneğinden 7'sinin (%11.7), TGK yasal limitini (0,05 µg/kg) aşan düzeylerde AFM₁ kontaminasyonuna sahip olduğu görüldü.

Sonuç olarak; Bursa'da satılan çiğ ve pastörize süt örneklerinin AFM₁ içeriği bakımından toplum sağlığına yönelik önemli bir risk oluşturabileceği görüldü. Bu nedenle; yem maddelerinde fungal kontaminasyonunun özellikle uygun depolama koşulları altında azaltılması, yine süt ve süt mamullerinde AFM₁ ile yemlerde AFB₁ varlığının etkin ve sürdürülebilir denetimlerle kontrolünün sağlanması gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin M₁, HPLC, süt, çiğ, pişmiş

ABSTRACT

Evaluation of Aflatoxin M₁ Contamination in Raw and Pasteurized Milk Samples Offered to Consumption in Bursa

Milk is an important source of protein for human health. Aflatoxin M₁, also known as Milk toxin, is the main cause of acute and chronic toxicoses, which are mainly caused by the consumption of contaminated milk and dairy products or the metabolism of AFB₁ in the liver.

The current study aimed to determine AFM₁ incidence and contamination levels in the raw and pasteurized milk samples offered to consumption in Bursa. Total of 120 samples were examined by HPLC method including 10 raw and 10 pasteurized milk each month From June to November 2017.

According to analyses results; different amounts of AFM₁ were detected in 51 of 60 raw milk samples (85%) and 37 of 60 pasteurized milk sample (61,7%). The highest average AFM₁ levels were found in raw milk with 0.05 g/kg and in November, in pasteurized milk with 0.026 g/kg in June. A statistically significant difference was not found between the AFM₁ values for each of the samples of raw and pasteurized milk according to the months. In addition, 15 of the 60 raw milk samples (25%) and 7 of the 60 pasteurized milk samples (11.7%) were obtained at levels exceeding the TFC (Turkish Food Codex) legal limit AFM₁ contamination.

As a result of raw and pasteurized milk samples sold in Bursa could pose a significant risk to community health in terms of AFM₁ content. Therefore; reduction of fungal contamination especially under appropriate storage conditions in feed substances, however were concluded in milk and dairy products AFM₁ with the control of the existence of AFB₁ in feeds with effective and sustainable audits.

Key words: aflatoxin M₁, HPLC, milk, raw, pastourised

1. GİRİŞ

Mikotoksinler; çeşitli mantarların insan ve hayvanlar üzerinde toksik etki gösteren sekonder metabolitleridir. İnsan ve hayvan üzerinde görülen bu toksik etkiler "*mikotoksikozis*" olarak adlandırılmaktadır. Mikotoksikozisin şiddeti; mikotoksinin toksisitesine, maruz kalan canlının yaş, cinsiyet, beslenme durumu gibi özelliklerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Peraica ve ark., 1999). Mikotoksinlerin toksik etkileri; kanserojenik, mutajenik, teratojenik, immünoşüpresif olarak çeşitlilik göstermektedir. Tahıllar, baharatlar, süt ve süt ürünleri gibi bir çok gıda maddesinde bulunarak insan ve hayvan sağlığını ciddi derecede tehdit etmektedirler (Yang ve ark., 2017).

Mikotoksinler, kimyasal yapı olarak düşük ağırlıklı ve çok çeşitli varyasyonlara sahip moleküllerdir. Bu özellikleriyle, esas olarak protein yapısında olup antijen özellik taşıyan bakteriyel toksinlerden ayrılmaktadırlar (Tünel ve Çalapoğlu, 2017).

Dünyada üç yüzden fazla mikotoksin belirlenmesine rağmen bunlardan yalnızca 30'unun toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Toksik özellik taşıyan mikotoksinler başlıca; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Alternaria* ve *Clavipes* türlerine ait mantarlar tarafından üretilmektedir (Oğuz, 2017). *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri sıklıkla yem ve besinleri depolama koşullarında enfekte ederken, *Fusarium* türleri; arpa, buğday, mısır gibi bitkileri tarlada enfekte etmektedir. Bu sebeple aflatoksinler, okratoksinler, fumonisinler ve patulin gibi mikotoksinler özellikle gıdalar için ciddi tehdit oluşturmaktadır (Alshannaq ve Yu, 2017).

Mikotoksinler üzerine yapılan çalışmalar arasında ilk sırayı aflatoksinler almaktadır. Aflatoksinlerin hepatotoksik etkilerinin çok kuvvetli olduğu bilinmektedir. Çoğunlukla, *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*, *A.pseudotamarii* ve *A. bombycis* tarafından sentezlenmektedirler. Aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ olmak üzere altı fraksiyon olarak bulunurlar. Ultraviyole ışık ile muamele edildiğinde mavi

renge dönenler aflatoksin B₁ (AFB₁) ve AFB₂, yeşil renge dönenler ise AFG₁ ve AFG₂ olarak adlandırılmaktadır (Girgin ve ark., 2001).

Aflatoksinlerin yapıları arasında aynı grupta olanlar birbirine benzer özelliktedir. Örneğin; B₁ ve B₂'nin yapıları birbirine benzerken, G₁ ve G₂'nin de yapıları kendi içinde birbirine benzemektedir. Toksik etki bakımından ise; AFB₁ > AFG₁ > AFB₂ > AFG₂ şeklinde sıralanmaktadır (Madalı ve Ayaz, 2017).

AFM₁ AFB₁'in toksik metaboliti, AFM₂ ise AFB₂'nin toksik metabolitidir. Aflatoksinlerle kontamine olmuş yem ile beslenen hayvanlarda, laktasyon sırasında atılım sağlanır. Bu atılım AFM₁ ve AFM₂ şeklinde gerçekleşir. Yapılan çalışmalar sonucunda hayvanın tükettiği AFB₁ ile sütünden alınan AFM₁ oranı arasında doğrusal bir ilişki saptanmıştır. Sütteki aflatoksin B₁'in yaklaşık %0,3-6,2'sinin aflatoksin M₁'e metabolize olduğu, ancak bu oranın hayvanın cinsine, süt verme dönemine, sağım aralığına ve zamanına göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Madalı ve Ayaz, 2017).

İnsanlar tarafından oldukça fazla tüketilen gıdalarda bulunması açısından aflatoksinler ciddi önem taşımaktadır. Kümes hayvanları, küçükbaş ve büyükbaş hayvanların etlerinden, yumurtalarından, sütlerinden ve çeşitli organlarından alınan örnekler üzerine yapılan çalışmalar; düşük miktarda tüketilen AFB₁'in bile, özellikle karaciğer başta olmak üzere, çeşitli dokulara, yumurtaya ve süte de bulaşabildiğini belirtmektedir. Kontamine sütler kullanılarak elde edilen peynirlerde, peynirin daha konsantre bir ürün olma sebebiyle süttten en az 3 kat daha fazla aflatoksin içerdiği saptanmıştır. Hayvansal yağlara ise; yağın elde edildiği süttün en az 0,5 katı kadar aflatoksin geçtiği belirtilmiştir (Sabuncuoğlu ve ark., 2008).

Aflatoksinler; insan ve hayvan sağlığı üzerinde çok çeşitli toksik etkilere neden olmaktadır. Aflatoksinlerin göstermiş olduğu bu etkilerden dolayı oluşan mikotoksikoza 'aflatoksikoz' adı verilmektedir (Alshannaq ve Yu, 2017). Aflatoksinler teratojen, karsinojen ve mutajen etkilerini tüm canlı organizmalar üzerinde göstermektedirler. Aflatoksinlerin canlılar üzerinde; protein, DNA, RNA ve lipid sentezi ile pıhtılaşma faktörü inhibisyonu, glikoz metabolizması ve çeşitli enzim aktiviteleri bozukluğu gibi metabolik etkileri olmaktadır. Bazı hayvan türlerinde akut nekroz, siroz ve karaciğer kanserine sebep olmaktadır. Bu nedenle; AFB₁, Uluslararası

Kanser Araştırma Vakfı (IARC) tarafından Grup I karsinojen olarak sınıflandırılmıştır (Girgin ve ark., 2001). Aflatoksikozisin derecesi, mikotoksikozis de olduğu gibi, maruz kalan canlının cinsiyetine, türüne, beslenme durumuna, yaşına ve çevresel faktörlere göre değişkenlik gösterebilmektedir. Toksik elementin alınma sıklığı ve miktarı da patolojik veriler için etkili olmaktadır. Bu sebeple her ülke, aflatoksin içeriği bakımından gıdalarda bulunmasına izin verdiği maksimum düzeyler için limitler belirlemiştir. Türkiye’de de, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği’nde (TGK, 2011) çeşitli gıdalar için limitler belirtilmektedir.

Gıdalarda aflatoksin varlığı, insan ve hayvan sağlığını ciddi anlamda tehdit etmektedir. Aynı zamanda ciddi ekonomik kayıplara da sebebiyet vermektedir. Örneğin; tarladan toplanan ürünün depolama koşullarındaki bir uygunsuzluk tüm ürünü kontamine ederek ciddi bir hammadde kaybına yol açabilmektedir. Çiftlikte bulunan kontamine yem ile beslenmiş tüm hayvanların hem kendileri hem de ürünleri oldukça önemli kayıplara sebep olmaktadır. Bu sebeple aflatoksin detoksifikasyonu elzem şekilde uygulanması gereken bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Aflatoksinlerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle üç farklı şekilde detoksifikasyonu söz konusudur. Her üç yöntem için de çok farklı metodlar geliştirilmiş ancak rutin olarak uygulanabilen, verimli bir seçenek bulunamamıştır. Bunların sebepleri arasında, besin öğelerinde farklı düzeylerde kayıplara sebep olmaları, yüksek maliyetlerle uygulanabilmeleri ve yeterli oranda detoksifikasyon yapamamaları gibi önemli dezavantajlar sayılabilir (Özkaya ve Temiz, 2003).

Günümüzde gıdalarda aflatoksinlerin analizinde çeşitli yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bunlar arasında İnce Tabaka Kromatografisi (TLC), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), Sıvı Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (LCMS), Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS), Enzim Bağlı Immunosorbent Analiz (ELISA), Enzim Aktivitesine Bağlı Immunoteknik (Enzyme Multiplied Immunotechnique/EMIT) ve elektrokimyasal immunosensörler gibi metodlar yer almaktadır (Kumar ve ark.; 2016; Oruç, 2005; Wacoo ve ark., 2014).

Mevcut çalışma Bursa’da çeşitli çiftliklerde yetiştirilen hayvanlardan, semt pazarları ya da sokak sütçülerinden temin edilen çiğ süt örnekleri ile perakende satışa sunulan farklı markalara ait pastörize sütlerde AFM₁ varlığının ve seviyelerinin

“Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)” metodu ile belirlenmesi ve böylece tüketici sağlığına yönelik potansiyel risklerin değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mantarlar

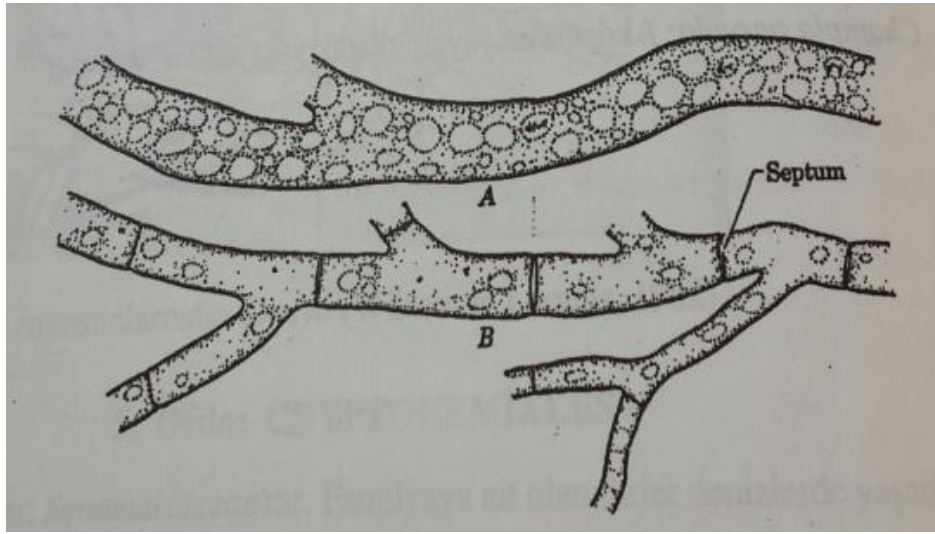
Yetiştiriciliğinin ilk defa 16. yüzyılda Fransa’da başlanan mantarlar, oldukça eski zamanlardan beri kullanılan bir besindir. Başlarda, iklimsel etkilere bağlı olarak açıkta yetiştirilmeye başlanmış olsa da, 19. yüzyılın başlarında sıcaklık ve nemin oldukça ideal bir seviyede olduğu taş ocakları, mağara ve tünel gibi kapalı alanlarda ilkel yöntemlerle üretilmiştir. 20. yüzyılın başlarına gelindiğinde ise, doku kültüründen misel üretiminin gerçekleştirilmesi ve yeni tekniklerin gelişmesiyle mantarlar, bu amaçla kurulmuş özel işletmelerde yetiştirilmiştir (Erkel, 1992).

Mantarlar, içerdiği protein değerinin yüksekliğinden dolayı dünyadaki birçok ülkede protein ihtiyacını önemli ölçüde karşılamaktadır. Bu anlamda besin değeri açısından ön plana çıkmaya başlayan mantar yetiştiriciliği de hızla dünya geneline yayılmaktadır (Öztürk ve ark., 2017). Mantarlar, uzun yıllar boyunca sadece besin olarak tüketilmemiş, aynı zamanda çeşitli hastalıkların tedavisinde de ilaç olarak kullanılmıştır. Özellikle Japonya ve Çin başta olmak üzere bir çok Uzak Doğu ülkesinde tıbbi yararları sebebiyle uzun yıllardır oldukça sık tüketilmektedir (Manzi ve ark., 2001). Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar da, mantarlar tarafından üretilen bileşenlerin terapötik (tedavi edici) özelliklere sahip olduğunu kanıtlamaktadır (Öztürk ve Çopur, 2009).

2.1.1. Mantarların Özellikleri

Mantarlar “*ökaryotik*” canlılardır. Mantar hücreleri birden fazla kromozom içeren hücre zarıyla çevrili çekirdeğe ve sitoplazmik organellere (vakuol, mitokondri vs.) sahiptir (Tuz, 2016).

Küflerin vejetatif yapıları karakteristik olarak **“hif”** adı verilen silindirik tüpsü iplikçiklerden meydana gelmektedir. Şekil 1.’de somatik hiflerin yapısı gösterilmektedir. Hiflerin bir araya gelerek oluşturdukları bu ağsı yapıya ise **“misel”** adı verilmektedir. Mantarlardaki bu vejetatif yapının tamamı **“tallus”** olarakta adlandırılabilir (Çolakoğlu, 1999). Koloni içindeki hiflerden bazıları beslenmeyi sağlar ve yaşadıkları substratın içine uzanırlar. Bu şekilde mantarın beslenmesini sağlayan hiflere **“vejetatif hif”** adı verilirken üremeyi sağlamak için özelleşmiş olan hiflere ise **“fertil hif”** adı verilmektedir (Arda, 2000).



Şekil 1. Somatik hifler: A. Bölmesiz sönositik bir hifin kısmı.

B. Bölmeli bir hifin kısmı (Alexopoulos ve Mims, 1979).

Mantarların hareket yeteneği yoktur. Ancak bu eksikliklerini sahip oldukları hifler sayesinde kapatırlar. Hifler, mantar hücrelerinin büyüebilmesi için en uygun ortam yönünde eğilim gösterirler. Bu şekilde, mantarların miselleri ekmek, peynir, ağaç gövdesi veya toprağın içine hızlıca yayılabilir. (Sekme, 2011).

Mantarlar fotosentetik olmayan bitkiler olarak tanımlanır. Bu sebeple karbon ve enerji kaynağı olarak çeşitli organik maddeleri kullanmaktadırlar (Demir ve ark., 2004). Mantarların hücre duvarı fagositoz yoluyla besinlerin hücre içine alınmasına izin vermemektedir. Bu sebeple beslenmelerinin tek yolu, hücre duvarı ve hücre zarında çözünebilen maddeleri basit absorpsiyon yolu ile doğrudan almaktır. Genelde, hiflerinde ürettikleri salgı enzimleriyle depolimerizasyonu

gerçekleştirerek, kompleks molekülleri daha basit moleküllere dönüştürmektedirler.

Mantarların septumlu olanlarında hücre duvarı bulunmaktadır. Yapılarında; türlerine göre polisakkarit, protein ve lipit bulunmaktadır. Polisakkaritler arasında, glukun, galaktoz, kitin, mannan ve selüloz en fazla bulunanlarıdır. Mantarların bitkilerden ayırt edilmesini sağlayan en önemli unsur, hücre duvarlarının selülozca zengin olmayışıdır. Mantarlar, hücre duvarlarında selüloz özelliklerinde maddeler ve kitin bulundurlar. Bu sayede sürekli değişiklik gösteren çevre koşullarına uyum sağlamada direnç gösterebilirler. Düşük pH değerlerinde bile kolayca üreyebilen mantarlar, en az 2 ve en fazla 11 pH değerleri arasında faaliyet gösterebilmektedirler. Üreme fonksiyonları açısından sıcaklık limitleri türler arasında farklılık göstermekle birlikte genellikle 0-60°C arasındadır. (Arda, 2000).

Mantarlar, “*eşeyli*” ve “*eşeysiz*” olmak üzere iki şekilde üreme yeteneğine sahiptirler. Eşeyli üremelerini “*gamet*” adı verilen üreme hücrelerinin bir araya gelmesi ile sağlamaktadır. Eşeysiz üremelerini ise, sporları sayesinde veya vejetatif üreme olan ana gövdeden meydana getirdikleri bir çıkıntı ile yapmaktadırlar (Çolakoğlu, 1999).

2.1.2. Mikotoksinler

Mikotoksin terimi Latince’de “*mykes*” (mantar) ve “*toxicum*” (zehir) kelimelerinden oluşmaktadır (Öksüztepe ve Erkan, 2016).

Mantarların sekonder metabolitler olarak bilinen çeşitli ekstraselüler kimyasalları üretme yeteneği bulunmaktadır. Pek çok mantar, farmasötik alanda kullanılan oldukça yararlı sekonder metabolitler (örneğin; penisilin) üretmekle birlikte, toksik metabolitleri de üretmektedir. Doğada yaygın olarak bulunan çoğu toksijenik mantarın uygun koşullarda gıda ve yemlerde oluşturduğu mikotoksinler, insan ve hayvanlar için toksik olan sekonder metabolizma ürünleridir (Erol, 2007).

Mikotoksinlerin neden olduğu bilinen en eski ve en önemli olay Çavdar mahmuzu da denilen “*ergotizm hastalığı*”dır. Çavdarların üzerinde *Claviceps purpurea*’nın gelişmesi ve bu çavdarların unundan yapılan ekmeğin tüketilmesiyle

oluşan ergotizm hastalığını tarif eden ilk kayıtlar ortaçağa aittir. Hastalığın yayılmaya başladığı ortaçağlarda şifa bulmak için manastır ve kiliselere akın eden hastalar, buralarda kontaminasyona uğramamış tahılların tüketilmesiyle hastalıktan kurtulmuş ancak bunu kilisenin bir mucizesi olarak yorumlamışlardır. Avrupa’da binlerce insanın ölümüne sebep olan ve yüksek ateş, el, kol, ayak, bacaklar ile el ve ayak parmaklarında nekroz ve kangren gibi belirtiler ile seyreden hastalığın nedeni o yıllarda bilinmemekteydi. Hastalığa *Claviceps purpure*’nın toksini olan “**ergot alkaloidi**” nin neden olduğu ancak 19. yüzyılda ortaya konulmuştur. Ergotizm, 9. ile 18. yüzyıllar arasında sık görülmekle birlikte, 1925 yılında Amerika Birleşik Devletleri’nde, 1926-1927 yıllarında İngiltere’de, 1928 yılında Rusya’da ve 1978 yılında Etiyopya’da görülmüştür (Saraç, 2012). Ayrıca, 1942 - 1948 yılları arasında Rusya’da binlerce insanın ölümünden sorumlu tutulan *Alimenter Toksik Aleukia*, 1930 yılında Sovyetler Birliği’nde binlerce atın ölümüne sebep olan *Stachybotryotoxicosis* ve 1960 yılında İngiltere’de 100.000 hindinin ölümüne neden olan aflatoksikozis en büyük mikotoksin zehirlenmeleridir (Erol, 2007).

Mikotoksinlerin kimyasal yapıları incelendiğinde, bir kısmının alifatik bileşiklerden oluştuğu fakat çoğunluğunun aromatik yapıda olduğu görülmektedir. Mikotoksinler bakteri toksinlerinin aksine küçük moleküllü bileşiklerdir ve immünolojik yöntemlerle belirlenmesinde poliklonal antikorlar (antiserumlar) yeterli olmaktadır (FAO, 2006).

Mantarlar yani küfler; bitki, hayvan ve insanlarda çeşitli hastalıklara neden olmalarının yanında, her yıl tarımsal ürünlerin büyük çoğunluğunu da kayba uğratmaktadırlar. Üstelik üzerinde geliştikleri ürünlerde belirli koşullarda toksinler oluşturur ve bunların canlı organizmaya etkileri farklılık gösterir. En sık karşılaşılan mikotoksinler Tablo 1.’de görüldüğü gibi; **aflatoksin, okratoksin, zearalenon, trikotesen, patulin ve fumonisin** olarak sıralanabilmektedir (Tunail, 2000). Ancak, insanlar ve hayvanlar için en zehirleyici mikotoksinler; **Aspergillus, Penicillium** ve **Fusarium** türleri tarafından sentezlenmektedir (Milicevic ve ark., 2010).

Tablo 1. Gıda ve yemlerde mikotoksin üreten başlıca mantarlar ve ürettikleri mikotoksinler (Tunail, 2000).

<i>Aspergillus</i> Toksinleri	<i>Penicillium</i> Toksinleri	<i>Fusarium</i> Toksinleri	<i>Alternaria</i> Toksinleri
Aflatoksinler	Sitrinin	Zearalenon (F-2 toksin)	Alternariol
AFB ₁	Okratoksin A (OTA)	Trikotesenler	Alternariolmono-metil- eter
AFB ₂	Sitreoviridin	Deoksinivalenon	Alertoksin
AFG ₁	Rubratoksin A	Nivalenon	Tenuazonikasit
AFG ₂	Rubratoksin B	Diasetoksisirpenol	
AFM ₁	Palutin	T-2toksin	AFM ₁
AFM ₂	Penisilikasit	HT-2 toksin	AFM ₂
AFB _{2a}	P-R (Pen. requeforti) toksin	Tremortin	AFB _{2a}
AFG _{2a}	Luteosikrin	Fusarin-C	AFG _{2a}
AFB ₃	İzlanditoksin	Fumonisin B ₁	
Aspertoksin	Ksantolisin-X	Moniliformin	
Sitrinin	Siklopiazonikasit		
Sterigmatosistin	Sitromisetin		
Okratoksin A	Rugulosin		
Patulin	Ksantomegnin		
Penisilikasit	Rugulovasin A		
	Rugulovasin B		
	Verruklotoksin		
	<i>Emodin</i>		

2.1.2.1. Mikotoksinlerin İnsan ve Hayvanlar Üzerine Etkileri

Mikotoksinlerin hayvan ve insan sağlığı üzerindeki etkisi “*mikotoksikozis*” olarak adlandırılmakta olup, şiddeti mikotoksinin toksisitesine bağlıdır. Bireyin maruz kaldığı kimyasal maddeler ölçüsünde, yaş ve beslenme durumu gibi diğer faktörler de bireysel etkilenmede farklılıklar doğurabilmektedir (Peraica ve ark., 1999). Mantarlar tarafından üretilen mikotoksinler, rüzgâr ve birçok hava hareketleriyle taşınabilmekte, atmosferin her noktasında bulunabilmektedirler. Mikotoksin kontaminasyon seviyesi hava şartlarına, ürünlerin cinsine, coğrafi bölgeye bağlı olarak mevsimlere ve yıllara göre değişebilir (Girgin ve ark., 2001; Wilson, 1978).

İnsanlar mikotoksinlerle kontamine olmuş besinler yoluyla veya mikotoksinlerle kontamine olmuş yem ve yem hammaddeleri ile beslenen hayvanların et, süt ve yumurta gibi ürünlerinin tüketilmesiyle mikotoksinlere maruz kalmaktadırlar

(Milicevic ve ark., 2010). Bunun yanında nadiren de olsa mikotoksikozis, küflerle enfekte maddelerin deriyle teması veya spor kökenli toksinlerin solunum yoluyla da ortaya çıkabilmektedir (Lagana, 2017).

Yemlerin mikotoksin kontaminasyonu balıklar dâhil olmak üzere çeşitli çiftlik hayvanlarının sağlığı için önemli bir risktir. Kanatlılar ve tüm çiftlik hayvanlarında ciddi oranda verim kayıpları, hastalıklar ve çeşitli toksikasyon belirtileri ile karakterize bozukluklara sebep olmaktadır. Yem veya tarımsal gıdalarla mikotoksin maruziyeti, akut belirtilerden çok kronik özellikte zehirlenmelere neden olmaktadır. Başta karaciğer olmak üzere, böbrek ve immun sistem organ ve dokularında önemli ölçüde bozukluklara neden olmaktadır. Protein sentezini engellemesi vücutta bulunan organ ve dokularda, kısa veya uzun süreli ciddi toksik etkiler gösterebilmektedir (Laderia ve ark., 2017; Ortatatlı ve Oğuz, 2001). Tüketilen yemdeki mikotoksinlerin % 0,1-1,7'sinin süte geçtiği bildirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine bakıldığında, tahıla dayalı beslenen nemli tropikal ülkelerde tespit edilen karaciğer kanseri ile alınan gıdalardaki mikotoksin düzeyi arasında pozitif bir ilişki olduğu görülmektedir. Mikotoksinlerin vücutta etki ettikleri doku ve organların türüne ya da etki mekanizmalarındaki farklılıklara bağlı olarak çeşitli etkilerinden söz edilmektedir. Karaciğere etki eden mikotoksinler "*hepatotoksik*", deriye etki edenler "*dermatoksik*", böbreklere etki edenler "*nefrotoksik*", sinir sistemine etki edenler "*nörotoksik*", bağışıklık sistemine etki edenler "*immunotoksik*" ya da "*immunosupresif*", embriyoya etki edenler "*embriyotoksik*" olarak tanımlanmaktadır. Toksik etkilerinin yanında; mutajenik, östrojenik, teratojenik, halusinojenik, tremorjen etkileri de yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (Adhikari ve ark., 2017; Sur ve ark., 2011; Tunail, 2000). Tablo 2.'de çeşitli mikotoksinler, türleri, neden oldukları hastalıklar ve hangi besin yoluyla bulaştıkları gösterilmektedir.

Tablo 2. Gıdalardaki önemli mikotoksinler ve etkileri (Erol, 2007).

Mikotoksin	Tür	Etki	Gıda
Aflatoksin (B ₁ , B ₂ , M ₁ , M ₂)	<i>A.flavus</i> , <i>A.pasaiticus</i> , <i>A.nomius</i>	Akut hepatotoksik	Tahıl, fındık, süt
Aflatoksin (G ₁ , G ₂)	<i>A.parasiticus</i> , <i>A.nomius</i>	Hepatokarsinojenik, teratojenik,	Mısır, yer fıstığı
Sterigmatoksin	<i>A.versicolor</i> , <i>A.nidulans</i>	Hepatotoksik, hepatokarsinojenik	Tahıl, peynir
Siklopiazonik asit	<i>A.flavus</i> , <i>P.comnue</i>	Akut toksik ve dejeneratif,	Mısır, yer fıstığı, peynir
Okratoksin A	<i>P.verrucosum</i> , <i>A.ochraceus</i>	Nefrotoksik (domuz), hepatokarsinojenik, immunsupresif	Tahıl, mısır, et ürünleri
Patulin	<i>P.expansum</i> , <i>A.clavatus</i>	Hemoraji, karsinojenik	Meyve suyu
Sitrinin	<i>P.citrinum</i> , <i>A.terreus</i>	Nefrotoksik	Tahıl, pirinç, mısır
Sitreoviridin	<i>P.citreonigrum</i>	Kardiyak beriberi	Pirinç, tahıl
Penitrem A	<i>P.crustosum</i>	Nörotoksik	İşlenmiş gıdalar
Rokfortin ve PR toksin	<i>P.roqueforti</i>	Nörotoksik	Peynir, et ürünleri, ekmek
Izlanditoksin	<i>P.islandicum</i>	Hepatotoksik	Pirinç
Rubratoksin	<i>P.rubrum</i>	Hepatotoksik	Tahıl, soya fasulyesi
Luteosikrin	<i>P.islandicum</i>	Hepatotoksik	Pirinç
Penisilic asit	<i>P.martensii</i> , <i>P.puberulum</i> , <i>A.ochraceus</i>	Hepatokarsinojenik, hepatotoksik, nefrrotoksik	Pirinç, un
T-2 toksin ve diğer trikotesenler	<i>F.sporotrichhoides</i> , <i>F.poa</i>	Alimentary toxic, aleukia	Tahıl
Deoksinivalenol	<i>F.graminearum</i> , <i>F.nivale</i>	Gİ sistem sorunu, kaşeksi	Tahıl
Fumonisin	<i>F.verticillioides</i>	Özefagus karsinomu, pulmoner ödem, tek tırnaklılarda ensfalomalazi	Tahıl, mısır, hayvansal gıda
Zearalenon	<i>F.graminearum</i>	Östrojenik	Mısır, buğday

Mikotoksinlerin toksisite dereceleri, LD₅₀ olarak tanımlanan bir değer ile ölçülmektedir. Bu değer, deney grubunun %50'sinin ölümüne sebep olan yoğunluğuna (Letal konsantrasyon %50) göre belirlenmektedir. Mikotoksinlerin LD₅₀ değeri ne kadar düşük ise toksik etkileri o oranda yüksek olmaktadır (Erol, 2007). Tablo 3.'de önemli mikotoksinlerin LD₅₀ değerleri gösterilmektedir.

Tablo 3. Önemli mikotoksinlerin LD₅₀ değerleri (Erol, 2007).

Mikotoksin	LD ₅₀ değeri (mg/kg ⁻¹)	Deney Hayvanı
Aflatoksin B ₁	9	Fare
Siklopiazonik asit	36	Rat
Deoksinivalenol	70	Fare
Luteoksikrin	221	Fare
Okratoksin	22	Rat
Patulin	35	Fare
Sterigmatoksisitin	800	Fare

2.1.2.2. Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Mikotoksinlerin etkileri canlılarda görülmeye başlandıktan sonra, tedavileri çok zorlu bir süreç gerektirmektedir. Bu sebeple en başta yapılacak müdahalelerle mantarların üremeleri ve mikotoksin üretimini engellemek üzere gerekli koşulların sağlanması gerekmektedir. Küflerin üremesi ve gelişmesi; ürünün yapısına, içerdiği nem oranına, bileşimine, bulunduğu ortam sıcaklığına göre değişmektedir. Bunun yanında her bir küfün oluşturduğu mikotoksin çeşidi ve miktarı da aynı koşullara göre değişim göstermektedir. Küflerin üreme-gelişmeleri ve mikotoksin sentezi yapabilmelerini etkileyen faktörler; sıcaklık, nem, pH değeri, oksijen ve karbondioksit miktarı, ürün yapısı, mekanik hasar ve diğer faktörler olarak sıralanmaktadır (Polat, 2012). Tablo 4.'de bu faktörler ayrı sınıflandırma halinde gösterilmektedir.

Tablo 4. Mikotoksinlerin oluşumunu etkileyen başlıca faktörler (Polat, 2012).

Fiziksel Faktörler	Kimyasal Faktörler	Biyolojik Faktörler
Kurutma hızı	CO ₂	Mikroorganizma yükü
Bağıl nem	O ₂	Mikrobiyal flora
Sıcaklık	Mineral içeriği	Böcek zararı
Mekanik zarar	Kimyasal işlemler	Hastalık zararı
Paçal yapılması	Substratın özelliği	Bitki çeşidi
Kızışma	-----	Bitki stresi

Tahıllar, baklagiller, baharatlar, bazı yağlı tohumlar ve bazı meyveler kendilerine özgü korunma sistemlerine sahiptirler. Bitkisel ürünlerin birçoğu hasat sırasında ve sonrasında küf kontaminasyonlarından korunmaktadır. Bu korunma ürünün; tohum kabuğu, çekirdek veya kabuk ile çevrili olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca eterik yağlar, fitositler ve antibiyotik etkili maddeler dış dokuda bulunmaktadırlar (Tunail, 2000).

Küflerin yem ve gıda maddelerinde üreyebilmelerinde nemin büyük etkisi bulunmaktadır. Ortamın relatif nem oranı arttıkça, küf üremesi ve toksin üretmesi kolaylaşmaktadır. Her bir küfün üreme, gelişme ve mikotoksin üretmesi için ihtiyacı olan nem birbirinden farklıdır. Ortamın nem değeri arttıkça, ürünün de içerdiği nem ve su aktivitesi (a_w değeri) de artış göstermektedir. Mantarlar, bakterilere oranla daha düşük bağıl nemde gelişebilmektedirler. Optimum gelişmeleri için minimum a_w 0,97-0,99 değerlerine gereksinim duymalarına rağmen, ihtiyaç halinde daha düşük a_w değerlerinde de rahatlıkla gelişebilmektedirler. Kendisini sentezleyen küfün türüne bağlı olarak, üretildikleri a_w değerleri her bir mikotoksin için farklılık göstermektedir (Tunail, 2000). Tablo 5.'de bazı önemli mikotoksinler ve gelişmeleri için gerekli a_w değerleri gösterilmektedir.

Tablo 5. Kserofil funguslar, mikotoksinleri ve minimum a_w değerleri (Tunail, 2000).

Mantarlar	Gelişim İçin a_w Değerleri	Toksin Oluşumu İçin a_w Değerleri	Mikotoksinler
<i>Asp. clavatus</i>	0,85	0,99	Patulin
<i>Asp. flavus</i>	0,78 – 0,84	0,83 – 0,87	AFB ₁ , aspergilkasit, aspertoksin
<i>Asp. fumigatus</i>	0,82		fumagilin, gliotoksin
<i>Asp. parasiticus</i>	0,78 – 0,82	0,87	AFB ₁ ,
<i>Asp. ochraceus</i>	0,76 – 0,83	0,83 – 0,87 0,80 – 0,88	Okratoksin A, penisilikasit
<i>Asp. versicolor</i>	0,74 – 0,78		Sterigmatosistin
<i>Emer. nidulans</i>	0,78 – 0,82		Sterigmatosistin
<i>Eurotium</i> spp.	0,62 – 0,74		Fisikon, ekinulin, ksantosilin
<i>Pen.</i>	0,79 – 0,85	0,97 – 0,99	Penisilikasit
<i>aurantiogriseum</i>		0,87 – 0,90	okratoksin A, tremortin A ve B, siklopiazonikasit
<i>Pen. expansum</i>	0,82 – 0,85	0,99	Patulin, sitrinin
<i>Pen. griseofulvum</i>	0,81 – 0,85	0,85 – 0,95	Patulin
<i>Pen. islandicum</i>	0,83		İzlanditoksin, sikloklorotin, luteosikrin
<i>Pen. patulum</i>	0,81 – 0,85	0,95	Patulin
<i>Pen. puberulum</i>	0,81		Penisilikasit
<i>Pen. verrucosum</i>	0,81 – 0,83	0,83 – 0,90	Okratoksin A
<i>Pen. viridicatum</i>	0,80 – 0,81 0,83		Sitrinin, okratoksin A, penisilikasit

Mantarlar genellikle geniş sıcaklık aralıklarında üreme ve gelişme gösterebilmektedirler. Mikotoksinlerin sentezlenebilmesi için ihtiyaç duydukları optimum sıcaklıkların altındaki değerleri de tolere edebilme yetenekleri vardır.

Fungus gelişimi ve mikotoksin üretme sıcaklık değeri aralıkları birbirlerinden farklı olabilmektedir. Örneğin; aflatoksin üreten küflerin toksin oluşturabilmeleri için en az 10-13°C, en çok 42°C sıcaklığa ihtiyaçları olurken, üreyebilmeleri için en az 6-8°C, en çok 50-60°C sıcaklık yeterli olmaktadır. *Penicillium* ve *Fusarium*'ların 5°C'de gelişebilmelerine rağmen, *Aspergillus* türleri bu kadar düşük sıcaklıklarda üreme ve toksin oluşturma özelliğine sahip değildir. *Aspergillus* türlerinden sadece *A. ochraceus* diğerlerine oranla daha düşük sıcaklık derecelerinde OTA sentezleyebilmektedir. Küfler, pH 1,5-11 gibi geniş bir aralıkta üreme gösterebilmektedirler. Ancak optimum üreme ve gelişme pH'ları 5-6 arasında olup özellikle asidik ortamları daha çok tercih etmektedirler. Aflatoksin üreticisi funguslar, pH 2,5-6 arasında toksin oluşturabilmektedir. Fakat en yüksek toksin üretimlerini pH değeri 5'den büyük olan ortamlarda sağlayabilmektedirler. Küfler aerobik mikroorganizmalar olduklarından üreme-gelişmeleri ve toksin üretmeleri için oksijene ihtiyaç duymaktadırlar Fakat bu ihtiyaç fungus türleri arasında farklılıklar göstermektedir. Ortamdaki oksijenin azaltılıp karbondioksitin artırılması, küf gelişimi ve toksin üretimi için olumsuz etkilere sebep olmaktadır. Ortamda bulunan karbondioksit seviyesini %10'dan yukarı çekerken oksijen seviyesini %45'den %1'e kadar düşürmek, *A. flavus*'un üremesini azaltmakta ve böylece toksin üretimine de önemli ölçüde engel olabilmektedir (Kantemir, 2007; Tunail, 2000).

2.1.3. Aflatoksinler

Aspergillus türlerinin sentezlediği toksinleri içerisinde en önemli grup olan aflatoksinler üzerinde en fazla araştırma yapılmış olan mikotoksinlerdir. Aflatoksin başlığı altında 13 bileşik tanımlanmaktadır. Aflatoksinler içerisinde B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ en yaygın türler olmakla birlikte; Q, P, D, R₀, B_{2a} ve G_{2a} olarak tanımlanan başka metabolitleri de bulunmaktadır. Aflatoksin üreten küflerin başında *A. flavus* ve *A.parasiticus* gelmektedir. *A.parasiticus*'un elektron mikroskobu altındaki görüntüsü Şekil 2.'de görülmektedir. Bunlara ek olarak *A.ochraceus* ve *A.nidulans* gibi türler de aflatoksin üretebilme yeteneğine sahiptir (Yücel ve Bayazit, 2001). Özellikle *A. flavus* ve *A. parasiticus*, oluşturdukları

toksinlerle insan hastalıklarının patogeneğinde çok önemli bir rol oynamaktadır. *A.flavus* sadece AFB₁ ve AFB₂'yi üretirken, *A.parasiticus*, AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂'yi üretmektedir. *A.parasiticus*'un elektron mikroskobu altındaki görüntüsü Şekil 2.'de verilmektedir. Çürüten bitkilerde bulunan *Aspergillus* türleri, hava akımları ve böcekler yoluyla ürünlere ve gıda depolarına aktarılır. Kontamine yiyeceklerin tüketilmesi, hem insan hem de hayvanların sağlığını olumsuz etkileyen aflatoksinlerin ana kaynağıdır. Bu bileşikler teratojenik, mutajenik, karsinojenik, immunotoksik veya hepatotoksik bir karakterin akut veya kronik toksik etkilerine neden olabilir. Bu sebeple toksisite bakımından 1. grup olarak sınıflandırılırlar. Besinlerde sık görülmeleri ve toksisite oranlarının yüksek olması sebebiyle tarım ürünlerinde rutin olarak incelenmekte ve denetlenmektedirler.



Şekil 2. *A. parasiticus*'un elektron mikroskobundaki görüntüsü (Kılıç, 2010).

Aflatoksinler genellikle, kurutulmuş meyveler (kuru incir, kuru üzüm vb.), kabuklu kuruyemişler (yer fıstığı, fındık, ceviz, badem vb.), tahıllar (mısır, buğday, arpa, yulaf, pirinç vb.), baharatlar (kırmızı toz biber, pul biber, nane, kimyon, karabiber vb.), baklagiller (mercimek, nohut, fasulye vb), süt ve süt ürünleri (peynir vb.) üzerinde oluşmaktadır (Gurban ve ark., 2017; Kowalska ve ark., 2017).

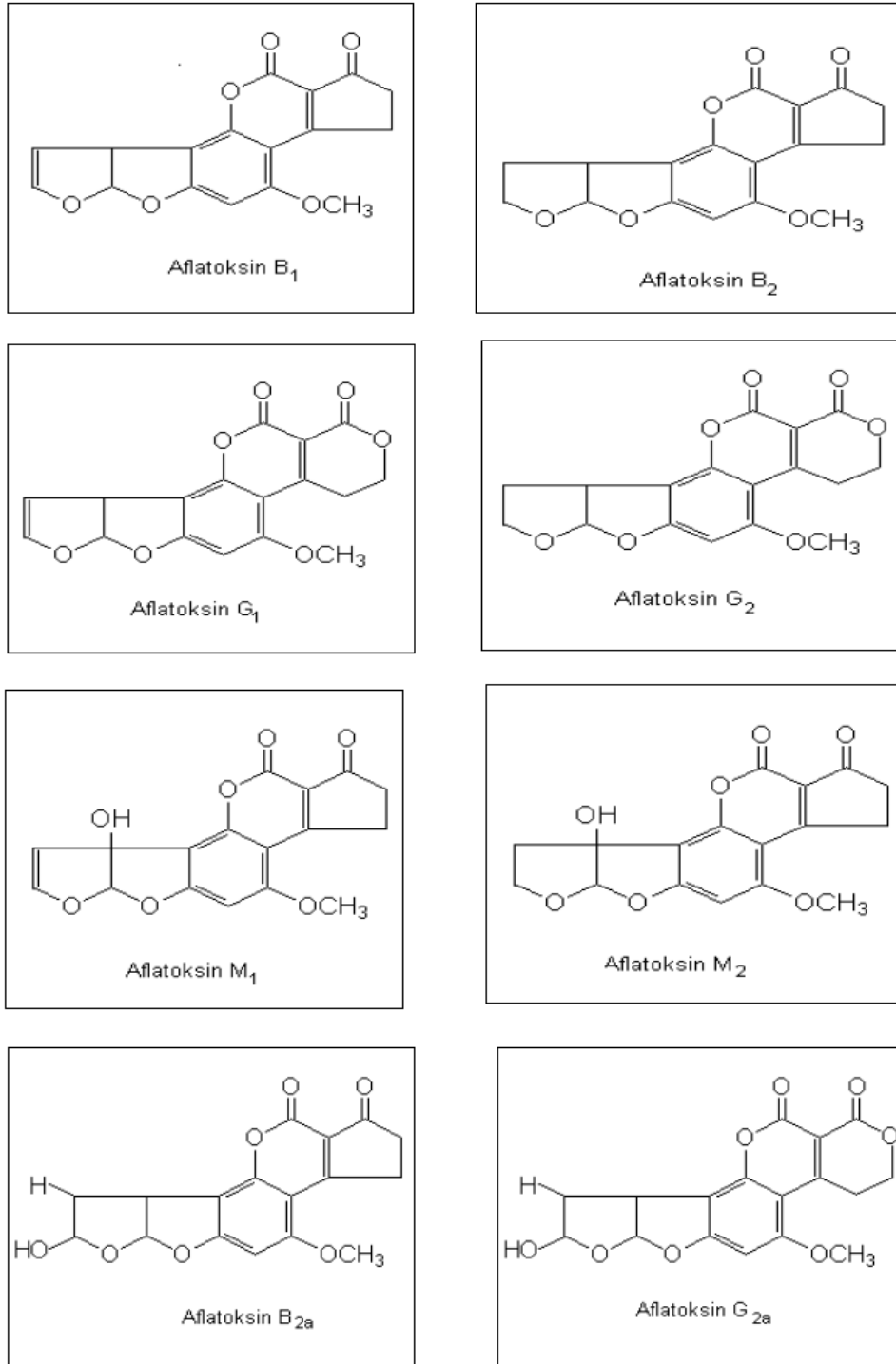
2.1.3.1. Aflatoksinlerin Özellikleri ve Biyosentezi

Aflatoksinler ile ilgili ilk veriler 1960'lara kadar dayanmaktadır. İngiltere'de, Güney Amerika ve Afrika'dan alınan yerfıstığı küspesiyle yetiştirilen 100.000 hindi

palazının aniden ölmesi üzerine yapılan çalışmalarda keşfedilmiştir. Yemlerde yapılan araştırmalar sonucunda *A. flavus* izole edilmiş ve bu organizma tarafından oluşturulmuş olan toksin ise aflatoksin (*Aspergillus flavus* Toxin – **A-fla-toxin**) olarak tanımlanmıştır. Bunun sonucunda oluşan toksik bileşikler üzerine çalışmalar devam etmiş ve AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂ olmak üzere 4 ana fraksiyon tespit edilmiştir.

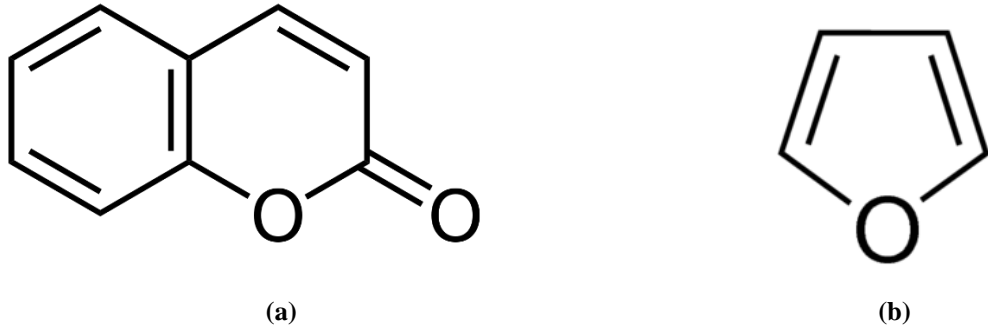
Aflatoksinlerin bu adlandırılması, ince tabaka kromatografisinde (TLC) uzun dalga boyu ultraviyole ışığı altında verdikleri renklere göre yapılmıştır. UV altında mavi renk veren iki bileşen AFB₁ ve AFB₂ (Aflatoksin Blue 1,2) olarak tanımlanırken, yeşil renk veren iki bileşen ise AFG₁ ve AFG₂ (Aflatoksin Green 1,2) olarak tanımlanmıştır. Daha sonraları bu aflatoksinleri içeren yemlerle beslenen hayvanların sütlerinde farklı bir aflatoksin türevi ile karşılaşmış ve “**süt toksini**” (*milk toxin*) olarak adlandırılmıştır. Yapılan çalışmalar üzerine bu süt toksininin, AFB₁ ve AFB₂’nin hidroksi türevleri olduğu tespit edilmiş ve Aflatoksin M₁ ve Aflatoksin M₂ adı verilmiştir. AFM toksinleri de TLC’de UV altında mavi renk ışık verirler ancak, B toksinlerinden daha düşük R_f değerlerine sahip olmalarıyla ayrılırlar. İsimlendirme yanlarına verilen numaralar ise toksisite derecelerine göre sınıflandırılmıştır. 1 numaralı olanların toksisiteleri, 2 numaralı olanlara göre daha düşüktür (Akdemir ve Altıntaş, 2004; Hazer, 2011; Özkaya ve Temiz, 2003).

Aflatoksinler, moleküler yapıları gereği “**difurokumarosiklopentenon**” ve “**difurokumarolakton**” sınıflarında yer almaktadırlar. Şekil 3.’de aflatoksinler ve kimyasal yapıları gösterilmektedir.



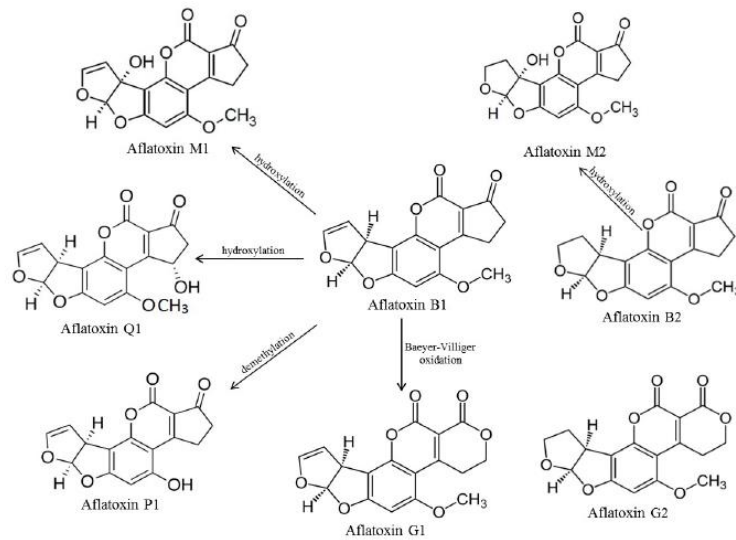
Şekil 3. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları (Özkaya ve Temiz, 2003).

Kumarin yapısının bir yanında bifuran halkası, diğer yanında ise; B grubu toksinlerde siklopentanon yapısı, G grubu toksinlerde ise lakton yapısı bulunmaktadır (Alkan ve Gönülalan 2006). Kumarin ve furan halkalarının yapıları Şekil 4.'de görülmektedir.



Şekil 4. Kumarin (a) ve furan halkaları (b).

A.flavus kültürleri ve aflatoksin ile kontamine olmuş ürünlerdeki biyolojik aktiviteden AFB₁ ve ona oranla daha az olarak da AFG₁ sorumlu tutulmaktadır. Bu durum, her iki toksinin terminal furan halkasının 8-9 karbon pozisyonunda bir doymamış bağa sahip olmasıyla ilişkilendirilmektedir. Şekil 5.'de gösterildiği gibi, AFB₂, AFB₁'in ve AFG₂, AFG₁'in yapısal olarak dihidro türevleridir. In vivo şartlarda metabolik olarak B₁ ve G₁'e okside olmadıkları müddetçe biyolojik olarak inaktif kalmak zorundadırlar. AFM₁ ve AFM₂, AFB₁ ve AFB₂'nin hidroksi türevleridir. Bunun yanında AFM₂, dihidro-AFM₁'dir (Özkaya ve Temiz, 2003).



Şekil 5. Aflatoksinler ve metabolitlerinin kimyasal yapıları (Gurban ve ark., 2017).

Aflatoksinler, 200-250°C gibi yüksek sıcaklıklara dayanıklı olan bileşikler olup; aseton, asetonitril, etanol, benzol, kloroform gibi birçok organik çözücüde çözünebilirler. Su içinde sınırlı (10-30 µg/ml) çözünürlüğe sahipken, hekzan, izooktan, eter ve petroleterde ise hiçbir şekilde çözünmezler (Gurban ve ark., 2017; Karapınar, 2013). Aflatoksinler, UV ışığını (362 nm) kuvvetle absorblarlar. AFB₁ ve AFB₂ için 425 nm'de; AFG₁ ve AFG₂ için ise 450 nm'de floresan emisyonu oluştururlar. Besin ve yem maddelerinde çok stabil olan aflatoksinler, çok düşük (< 3) veya yüksek (>10) pH'larda veya okside edici ajanlarla ve oksijen olan ortamlarda UV ışığına maruz bırakıldıklarında hızla aktivasyonlarını yitirirler (Özkaya ve Temiz, 2003). Aflatoksinlerin moleküler ağırlıkları, moleküler formülleri, erime noktaları, UV ışınları altındaki renkleri Tablo 6.'da gösterilmektedir.

Tablo 6. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Anonymous, 2003).

Aflatoksin	Moleküler formül	Molekül ağırlığı (g/mol)	Erime noktası (°C)	UV. 365 nm'de renk
AFB ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	268-269	Mavi
AFB ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289	Mavi
AFG ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	328	244-246	Yeşil
AFG ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240	Yeşil
AFM ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299	Mavi
AFM ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293	Mavi

Aflatoksin B₁' in biyosentez yolu kısmen aydınlatılabilmektedir. Aflatoksinin kendi yapısında bulunan kumarin ve furan halkaları, primer metabolitlerden olan asetikasit ve malonikasitten oluşmaktadır. 8 kademeli bir reaksiyon olan biyosentez mekanizmasının son ürünü AFB₁ olup sıralama aşağıdaki gibidir.

Asetat → Norsolorinikasit → Averantin → Averufanin → Averufin → Versikonal hemiasetalasetat → Versikolorin-A → Sterigmatosistin → O-Metilsterigmatosistin → Aflatoksin B₁ (Tunail, 2000; Yu, 2012).

2.1.3.2. Aflatoksinlerin Toksikitesi ve Halk Sağlığına Etkileri

Aflatoksinlerin canlılarda oluşturduğu mikotoksikozlara “*aflatoksikozis*” adı verilmektedir. Aflatoksikozis; insan ve hayvanlarda hücre yenilenmesi ve bağışıklık sisteminin baskılanmasıyla ortaya çıkan, toksinin; makro moleküllere, nükleik asitlere, nükleoproteinlere bağlanması sonucu biçimlenen akut veya genellikle kronik seyirli zehirlenme olarak tanımlanmaktadır. Aflatoksinler insanlar üzerinde direkt veya indirekt şekilde, hayvanlar üzerine ise sadece direkt şekilde etki etmektedirler (İpçak ve Alçıçek, 2013).

İnsanlar aflatoksinlere doğrudan veya özellikle kontamine yemle beslenmiş hayvanlardan elde edilen hayvansal gıdalar aracılığıyla maruz kalabilmektedirler. İnsanlar tarafından en çok tüketilen kümes hayvanlarının, büyükbaş ve küçükbaş çiftlik hayvanlarının etlerinde, sütlerinde, yumurtalarında ve bazı organlarında yapılan çalışmalar sonucu az miktarda alınan AFB₁'in bile başta karaciğer olmak üzere diğer dokulara, süt ve yumurtaya da geçebildiğini göstermektedir (Girgin ve ark., 2001). Aflatoksinlerin toksik etkilerinin derecesi; maruziyet dozunun yanısıra, tüketim sıklığına, canlının yaşı, türü, cinsiyeti, beslenme düzeni, hepatit B enfeksiyonu gibi bazı sağlık faktörlerinden ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Genç yaştaki canlıların duyarlılığı, ileri yaşta olanlara göre daha fazladır. Aflatoksinlere olan duyarlılığın cinsiyete bağlılığını araştırmak üzere yapılan çalışmalarda dişi farelerin erkek farelere göre daha az duyarlı olduğu bu durumun da östrojenik hormonların koruyucu etkisinden kaynaklandığı belirtilmektedir (Girgin ve ark., 2001; Sabuncuoğlu ve ark., 2008). Aflatoksin duyarlılığının türlere göre farklılık gösterebileceği bilinmektedir. Örneğin civciv, piliç ve ördek yavruları en duyarlı olan türlerdir. Bunları sırasıyla, hindi yavrusu, sülün palazı, tavuklar ve bıldırcınlar izler. Memeliler arasında ise aflatoksinden etkilenme derecesi; 3-12 haftalık domuzlar, gebe domuzlar, yetişkin domuz, sığır ve koyunlar olarak sıralanabilir. Alabalıklarda ise, aflatoksikozisin, ppb düzeyindeki çok düşük konsantrasyonda bile karaciğer kanseri etkisi görülmektedir (Özkaya ve Temiz, 2003).

Aflatoksinlerin toksik etkileri hepatotoksisite, hepatokarsinojenite, nefrotoksisite, teratojenite, bağışıklık sistemin bozulması ile hastalıklara karşi dirençsizlik, büyüme gelişme geriliği, besin emiliminin azalması olarak

sıralanmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar sonucunda, aflatoksinler ve karaciğer kanseri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu bildirilmektedir. Özellikle AFB₁, gerek besinlerde en fazla sentezlenen aflatoksin olması gerekse bir türevi olan AFM₁'in hayvansal ürünler yoluyla tüketilme oranının fazla olması sebebiyle en önemli ve tehlikeli toksin olarak değerlendirilmektedir (Kaya, 2001). Aflatoksinler IARC tarafından “Grup I” kanserojen olarak değerlendirilmekte, AFB₁ birinci dereceden ve AFM₁ ikinci dereceden kanserojen maddeler olarak tanımlanmaktadır (IARC, 1993).

Aflatoksinlerin mutajenik ve karsinojenik etkilerinden biyotransformasyonları sonucu oluşan toksik ana ürünlerin sorumlu olduğu bildirilmektedir. Etkiler; kronik ve akut etkilenme olarak iki şekilde meydana gelmektedir. Hayvanlarda görülen akut aflatoksikoziste belirtiler; iştah azalması, ağırlık kaybı, nörolojik anormallikler, mukoz membranlarda sarılık, karaciğer yağlanması, kasılma ve ölüm şeklinde olmaktadır. Deneysel hayvanları dışında insanlarda da akut aflatoksikozise ilişkin literatür bilgileri de yer almaktadır. Tayvan’da küflü pirinç tüketen 26 kişinin hastalandığı ve bunlar arasında 3 çocuğun ayaklarda ödem, kusma, karın ağrısı, karaciğerde büyüme gibi şikayetlerle hastaneye kaldırıldığı ve sonrasında hayatını kaybettiği rapor edilmiştir. Analiz edilen pirinç örneklerinde 200 ppb düzeyinde AFB₁ bulunmuştur (Özkaya ve Temiz, 2003; Sabuncuoğlu ve ark., 2008). Yine Ocak-Haziran 2004’de, Kenya Sağlık Bakanlığı’nca ülkenin doğu bölgesinde yaşayan 317 kişiye akut karaciğer yetmezliği teşhisi konulduğu ve bunlardan 125’inin hayatını kaybettiği rapor edilmiştir. Halk sağlığı otoriteleri tarafından, etkilenen bölgedeki mısırlar aflatoksinler açısından analiz edilmiş ve örneklerin 4.400 ppb gibi yüksek seviyelerde AFB₁ içerdiği tespit edilmiştir (Baumgartner ve ark., 2004).

Kronik aflatoksikozis genellikle gıda ile uzun süreli aflatoksin alımı sonucunda ortaya çıkmaktadır. Karaciğer sirozu, büyüme ve gelişmede gerilik, primer karaciğer kanseri en belirgin semptomları olarak bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar insanda karaciğer kanseri artışıyla, aflatoksin maruziyetinin artışı arasında pozitif bir korelasyon saptamaktadır. Bunun yanında, hem AFB₁ hem de AFM₁ in vitro olarak yapılan çalışmalarda memeli hücrelerinde DNA hasarına, gen mutasyonuna ve anormal kromozomların oluşumuna sebep olduğu bildirilmektedir (Lin ve ark., 2004).

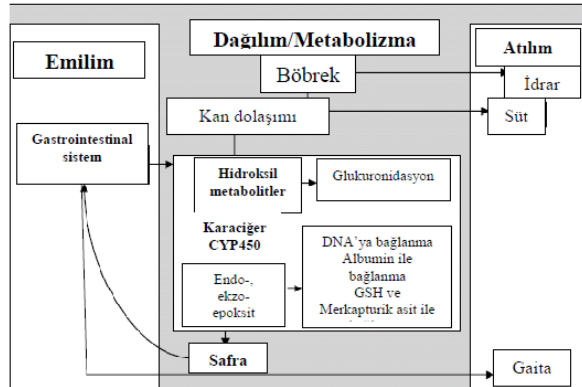
Tablo 7.'de duyarlılıklarının çok yüksek olmasından dolayı ördek yavruları üzerinde yapılan çalışmalar sonucu belirlenen, aflatoksinlerin LD₅₀ dozları verilmektedir. En yüksek toksisite derecesi AFB₁ ve AFB₃ (parasitikol)'e aitken, AFG₂ ve AFM₂ ise en düşük toksisiteyi göstermektedir. Tarımsal ürünlerde, gıdalarda ve yemlerde en sıklıkla görülen aflatoksinlerin toksisite sıralaması ise; AFB₁ > AFM₁ > AFG₁ > AFB₂ > AFG₂ > AFM₂ olarak belirtilmektedir (Tunail, 2000).

Tablo 7. Aflatoksin derivatlarının toksisiteleri (Tunail, 2000).

Mikotoksin	LD ₅₀ değeri (mg/kg ⁻¹)
Aflatoksin B ₁	0,36
Aflatoksin B ₂	1,70
Aflatoksin G ₁	0,80
Aflatoksin G ₂	2,50
Aflatoksin M ₁	0,80
Aflatoksin M ₂	3,10
Aflatoksin B ₃ (Parasitikol)	0,25
Aspertoksin	0,70

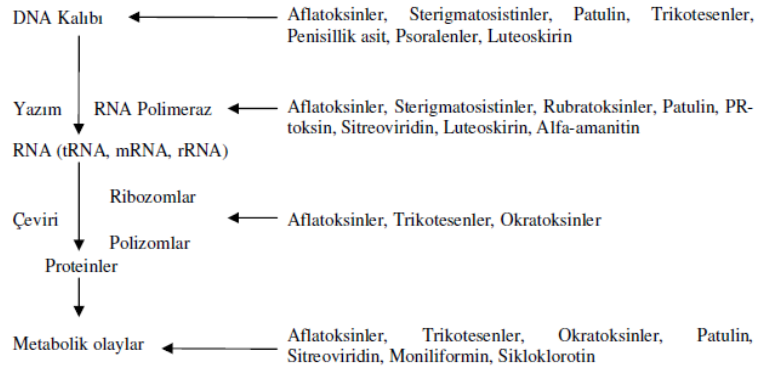
2.1.3.3. Aflatoksinlerin Biyotransformasyonu

Şekil 6.'da görüldüğü üzere, aflatoksinlerin metabolizması; emilim, dağılım, biyotransformasyon ve atılım olmak üzere 4 ana aşamadan oluşmaktadır. Aflatoksinler, molekül ağırlıkları küçük ve lipofilik yapıda oldukları için oldukça hızlı emilmektedir. İnce bağırsağın proksimal yüzeyi, emilim için en uygun bölümdür. İnce bağırsaktan emilen aflatoksinler, ilk olarak mezenterik venöz kan ile hepatic portal vene geçerek karaciğere ulaşmaktadır (Öztürk, 2009).



Şekil 6. Aflatoksinlerin toksikokinetiği (Öztürk, 2009).

Aflatoksinlerin karaciğerde kanserojenik etkisini gösterebilmesi için biyotransformasyona uğramaları gereklidir. Başta aflatoksin olmak üzere diğer mikotoksinler de söz konusu etkilerini, doğrudan veya dolaylı olarak, metabolitleri aracılığıyla göstermektedirler. Bu etki mekanizması, Şekil 7.'de görüldüğü gibi etki yollarından bir veya birkaçını kullanarak meydana gelmektedir.



Şekil 7. Bazı mikotoksinlerin etki şekilleri (Kaya, 2001).

Karaciğerde bulunan mikrozomal bir enzim (stokrom P450) aracılığıyla uğradıkları metabolik değişiklikler sonucunda yüksek reaktif özelliğe sahip olan aflatoksinin epoksit türevleri ile etki etmektedirler (Akdemir ve Altıntaş, 2004). Metabolizma sonucunda, aflatoksin B₁ – 8 – 9 epoksit, aflatoksikol, aflatoksikol Q₁, aflatoksin P₁ ve aflatoksin M₁ gibi metabolitler oluşmaktadır. Besinlerdeki en tehlikeli kanserojenlerden biri olan aflatoksinler, hücre içerisine girdikten sonra çekirdekte bulunan DNA'ya bağlanmaktadır. Toksik etkilerini DNA çift sarmalını şablon olarak kullanıp, mRNA sentezini gerçekleştiren RNA polimerazın DNA'ya bağlanmasını engelleyerek göstermektedirler. Böylece, DNA'ya bağlı RNA sentezi ve protein sentezi oluşumu, enzimatik olarak bloke olmaktadır (Doğan, 2012; Polat, 2012).

Vücuda alınan AFB₁'in %80-90'ı dışkı, idrar ve sütle atılmaktadır. AFB₁ vücut içindeki geçirdiği reaksiyonlar sonucunda AFM₁'e metabolize olmaktadır. Bu metabolizasyon olayına ise “**carry over**” adı verilmektedir. AFB₁ alımından sonra, 12-24 saat içinde AFM₁ olarak süte salınmaktadır. Fakat süte geçme oranı; hayvan türüne, mevsime ve sağım sıklığına göre değişiklik göstermektedir (Kayaalp, 2013; Tunail, 2000).

2.1.3.4. Gıdaların Aflatoksinlerle Kontaminasyonu

Küf kontaminasyonuna bağılı olarak gıda, yem ve yem hammaddelerinin mikotoksin bulaşmasıyla çok sık bir şekilde karşılaşılmaktadır (Nizamlioğlu ve Çon, 2010). Bu kontaminasyonlar, gıda güvenliğini önemli ölçüde etkileyerek toplum sağlığını tehdit etmekle birlikte gıda ve tarım endüstrisinde de önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır.

Aflatoksinler gıda ve yemlerin; hasat, kurutma, depolama, nakliye, gıda ve ürün işleme aşamalarında oluşabilmektedir. Aflatoksin oluşumu için birçok parametre etkili olmaktadır. Bunlar; ürün içi nemi, ortamın nisbi nemi, kurutma hızı, ortam sıcaklığı, ortamdaki O₂ ve CO₂ dengesi, ortamda bulunan mantar ve sporlarının yoğunluğu, gelişen küf türlerinin toksin oluşturma potansiyelleri, mikroorganizmalar arasındaki rekabet, ürün türünün aflatoksinine olan duyarlılığı, ortamda bulunan diğer kimyasal ve biyolojik zararlılar olarak sıralanmaktadır (Yentür ve Er, 2012). Özellikle ortamdaki sıcaklık, nem ve a_w değerleri, küflerin gelişimi ve aflatoksin üretimi için çok önemli faktörlerdir. (Gürhayta ve Çağındı, 2015).

Aflatoksin oluşumundan sonra gıda ve yemlerden dekontamine edilmesi oldukça zor olduğundan, Amerika Birleşik Devletleri Genel Muhasebe Ofisi (U.S. GAO), belirli sistem ve programlarla, çeşitli gıda ve yemlerde aflatoksin için belirlenen sınır limitlerinin olmasını, aflatoksin riskini azaltabileceğini belirtmiştir (Çankırı ve Uyarlar, 2013). İlk olarak WHO (Dünya Sağlık Örgütü), FAO (Gıda ve Tarım Örgütü) gibi organizasyonlar, gıdalarda tolere edilebilecek maksimum aflatoksin miktarını 30 µg/kg olarak bildirmişlerdir. Günümüzde Avrupa, A.B.D. ve diğer birçok ülke, aflatoksin, okratoksin A, sitrinin, patulin, zearalenon, deoksinivalenol, T-2 toksin, fumonisin gibi mikotoksinlerin gıda ve yemlerde bulunabilecek maksimum seviyelerini yasal olarak belirlemişlerdir (Tunail, 2000). Bazı Avrupa Birliği ve A.B.D.'de gıdalar için belirlenmiş aflatoksinlerin maksimum seviyeleri Tablo 8.'de verilmektedir.

Tablo 8. Bazı AB ve A.B.D.'de gıdalar için belirlenmiş aflatoksinlerin maksimum seviyeleri (Creppy, 2002).

Mikotoksin	Ülke	Maksimum Düzey ($\mu\text{g/kg}$ ya da $\mu\text{g/l}$, ppb)	Besinler	
Aflatoksin B₁	Finlandiya	2	Tüm besinler	
	Almanya	2	Tüm besinler	
	Hollanda	5	Tüm besinler	
	Belçika	5	Tüm besinler	
	Portekiz		25	Yer fıstığı
			5	Çocuk gıdaları
	Avusturya		20	Diğerleri
			1	Tüm besinler
	İsviçre		2	Tahıllar, fındık
			1	Tüm besinler
	İspanya		2	Mısır, tahıllar
			5	Tüm besinler
	Lüksemburg	5	Tüm besinler	
	İrlanda	5	Tüm besinler	
	Danimarka	5	Tüm besinler	
Yunanistan	5	Tüm besinler		
Total aflatoksin (B₁, B₂, G₁, G₂)	İsveç	5	Tüm besinler	
	Norveç	5	Yer fıstığı, Brezilya fıstığı, karabuğday	
	Finlandiya	5	Tüm besinler	
	Almanya	4	Tüm besinler	
	İngiltere		0,05	Enzimler
			4	Fındık ve kuru incir
	Fransa	10	Tüm besinler	
	İtalya		50	Yer fıstığı
			$5 (B_2 + G_1 + G_2)$	Tüm besinler
	Avusturya		$5 (B_2 + G_1 + G_2)$	Tüm besinler
			$0,02 (M_1 + B_1 + B_2 + G_1 + G_2)$	Çocuk besinleri
	İsviçre		$5 (B_2 + G_1 + G_2)$	Tüm besinler
			0,01	Bebek besinleri
	A.B.D.	20	Tüm besinler	
	Belçika	59	Yer fıstığı	
Bosna Hersek		$1 (B_1 + G_1)$	Tahıllar	
		5	Fasulye	
AFM₁	İsveç	0,050	Sıvı süt ürünleri	
	Avusturya	0,050	Süt	
	Almanya		0,050	Süt
			0,050	Süt
	Hollanda		0,020	Tereyağı
			0,200	Peynir
	Rusya		0,50	Süt ve süt ürünleri
			0,020	Bebek besinleri
	İsviçre	0,050	Süt ve süt ürünleri	

		0,250	Peynir
	Belçika	0,050	Süt
	A.B.D.	0,50	Süt
	Çek Cumhuriyeti	0,1	Çocuk sütleri
AFM₁		0,5	Yetişkin sütleri
	Fransa	0,03	Çocuk sütleri
		0,05	Yetişkin sütleri
	Bulgaristan	0,5	Süt ve süt ürünleri

Ülkemizde bu düzenlemeler Türk Gıda Kodeksi tarafından yapılmakta olup, çeşitli gıdalarda aflatoksinlerin seviyelerine ilişkin sınır limitleri Tablo 9.'da sunulmaktadır.

Tablo 9. TGK Bulaşanlar Yönetmeliği (2011).

Gıda	Aflatoksinler için maksimum limitler (µg/kg)		
	B ₁	B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	M ₁
Aflatoksin			
Aflatoksin	8,0	15,0	—
Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar	12,0	15,0	—
Badem, Antep fıstığı ve kayısı çekirdeği	8,0	15,0	—
Fındık ve Brezilya fındığı	8,0	15,0	—
Sert kabuklu meyveler	5,0	10,0	—
Yerfıstığı, diğer yağlı tohumlar ve bunların işlenmiş ürünleri	8,0	10,0	—
Badem, Antep fıstığı ve kayısı çekirdeği (2)	5,0	10,0	—
Fındık ve Brezilya fındığı (2)	5,0	10,0	—
Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri	8,0	10,0	—
Kurutulmuş meyveler	2,0	4,0	—
Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri	5,0	10,0	—
Mısır ve pirinç	—	—	0,050
Çiğ süt, ısıtılmış süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	5,0	10,0	—
Baharatın aşağıdaki türleri için;	0,10	—	—
Kırmızıbiber (<i>Capsicum</i> spp.)			
Karabiber (<i>Piper</i> spp.)			
Hintceviz/Muskat (<i>Myristica fragrans</i>)			
Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>)			
Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>)			
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	—	—	0,025
Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	0,10	—	0,025

2.1.3.5. Süt ve Aflatoksin M₁ İlişkisi

Sağlıklı bir yaşam sürdürmek için süt ve süt ürünleri dengeli beslenmenin yapı taşını oluşturmaktadır. Öyle ki; protein, yağ, karbonhidratlardan oluşan makro besin öğelerini dengeli bir şekilde içermesinin yanında, zorunlu ve zorunlu olmayan aminoasitler, A, B₂, B₁₂ vitaminleri, tiamin, niasin, kalsiyum, fosfor ve magnezyum gibi mikro besin öğeleri olarak bilinen, vücudumuz için oldukça gerekli olan vitamin ve mineralleri bünyesinde bulundurmaktadır. Amerikan Tarım Bakanlığı tarafından yayınlanan besin piramidinde yetişkin ve sağlıklı bireylerin günde en az 2 porsiyon (400 ml) süt ve süt ürünleri tüketmeleri önerilmektedir (Besler ve Ünal, 2008). *Türkiye'ye Özgü Besin ve Beslenme Rehberi*'nde ise; yetişkin bireylerin 2 porsiyon (400 ml), çocuklar, adolesan dönemi gençler, gebe ve emzikli kadınlarla menopoz sonrası kadınların 3-4 porsiyon (600-800 ml) süt ve süt ürünlerini tüketmeleri gerektiği bildirilmektedir (Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi 2015). Dünya genelinde süt tüketimi, ülkeler arasında hayat tarzı ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak değişmektedir. Ulusal Süt Konseyi'nin 2018 yılında hazırladığı rapora göre; Türkiye süt üretiminde dünyada 8. ve Avrupa'da 3. sırada yer almaktadır. Ancak kişi başına düşen yıllık süt tüketim düzeyi Avrupa'da 59,4 kg, Amerika'da 58,0 kg iken, Türkiye'de 34,0 kg olarak rapor edilmiştir (Ulusal Süt Konseyi, 2018).

Diğer taraftan sütün tüketim düzeyi yanında, tüketilen sütün kalitesi de büyük önem taşımaktadır. Süt toksini olarak da bilinen AFM₁, sütte bulunabilecek en tehlikeli kalıntılardan biridir. Öyle ki IARC'ın 1993 yılında yayınladığı raporda; "**olası kanserojen madde**" olarak AFB₁'den sonra AFM₁ gösterilmektedir. AFB₁ içeren yemler ile beslenen hayvanların sütlerinde yaklaşık 12-24 saat sonrasında saptanabilen AFM₁'in, AFB₁ alımını kestikten 72-96 saat sonrasında konsantrasyonunda azalma görülmektedir. Üstelik sütle atılan AFM₁'in, alınan toplam AFB₁ miktarının %0,4 – 3'ü oranında olduğu bildirilmektedir (Göçükoğlu ve ark., 2010; Gurban ve ark., 2017). Sütte bulunan AFM₁ miktarları mevsime göre değişebilmektedir. Kış aylarında hayvanların daha fazla karma yem ile beslenmelerine bağlı olarak, kış sütlerinde daha yüksek miktarlarda AFM₁'e rastlanmaktadır. Ayrıca kışın süt verimi yaz aylarına oranla daha az olduğundan, sütteki AFM₁ düzeyi ve diğer bileşenler konsantre şekilde bulunmaktadır (Coşkun ve Şanlı, 2016; Madalı ve Ayaz, 2017). AFM₁ ısıya karşı stabilitesinin yüksek olması sebebiyle pastörizasyon ve UHT gibi süt işlemeye dayalı

teknolojik proseslerden etkilenmemekte ve inaktivasyonu çok zor olmaktadır. Bu sebeple süttten elde edilen peynir, yoğurt gibi süt ürünlerinde de AFM₁ ile karşılaşma olasılığı yüksektir. Süt ürünlerinde bulunan AFM₁ seviyeleri farklılık göstermektedir. Yapılan çalışmalar sütte bulunan AFM₁'in peynirde yaklaşık % 40-60, kremada % 10 ve tereyağında % 2'den daha az oranda bulunduğunu ortaya koymuştur (Gurban ve ark., 2017; Oruç, 2005). Sütte bulunan AFM₁'in peynir ve peyniraltı suyundaki dağılımında ise; peynir tipi ve yapım prosedürleri, peynirin dokusu, kontaminasyon miktarı, peynir yapılan sütteki kazein miktarı, lipolitik etki, uygulanan ısıl işlemler, olgunlaşma dönemleri ve kontamine sütün ışığa olan maruziyeti gibi faktörler önemli rol oynamaktadır (Erkan ve ark., 2009).

2.1.3.6. Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu

Aflatoksinler, insan ve hayvan sağlığını ciddi oranda tehdit ederken aynı zamanda ekonomik açıdan da büyük önem taşımaktadır. Aflatoksin oluşumunun önlenmesinde öncelikle hammaddenin tarlada gelişimi, hasatı, depolanması, nakliyesi, ürüne işlenmesi ve ürün elde edilmesi aşamalarındaki küf kontaminasyonunun engellenmesi gerekmektedir. Ancak küflerin hemen her koşulda üreme potansiyelleri olduğundan bu durum çok zorlaşmaktadır. Bu sebeple de özellikle aflatoksin oluşumunun önlenemediği durumlarda ürünleri aflatoksinden arındırmak amaçlı dekontaminasyon veya detoksifikasyon için birçok yöntem denenmektedir.

2.1.3.6.1. Fiziksel yöntemler

a) Ayırma İşlemi: Elektronik göz adı verilen cihazlarla, küflü danelerin sağlam danelerden ayrılması veya flotasyon (yüzdürme) yöntemiyle, küfle kontamine danelerin seyreltik NaCl çözeltisinde yüzdürülerek bunların yüzeyde kalmasıyla sağlamlardan ayrılmaları sağlanabilmektedir (Özkaya ve Temiz, 2003).

b) Isı Uygulaması: Aflatoksinler erime noktalarına kadarki sıcaklıklara dayanıklıdır ve tamamen parçalanabilmeleri için 300°C sıcaklığa ihtiyaç duymaktadırlar (İpçak ve Alçıçek, 2013). Bu sebeple UHT, sterilizasyon ve pastörizasyon gibi süt işleme tekniklerinde kullanılan sıcaklık derecelerinin

aflatoksinlerin giderilmesi üzerinde yeterli şekilde etkileri bulunmamaktadır. Sterilizasyonun aflatoksin üzerine etkisi AFB₁ ve AFG₁ içeren elma sularında araştırılmış ve 120°C gibi yüksek sıcaklıkta 10 dakikalık ısı işlemi sonrasında toksinin % 10 oranında elma sularında kaldığı belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık üzerine çalışmaların çoğu; yer fıstığı, ceviz, fındık veya yer fıstığı unu gibi ürünler ile gerçekleştirilmiştir. Pişirme ve fırınlama işlemlerinin yetersiz kalması sebebiyle, kavurma ve kombine işlemler üzerinde yoğun çalışmalar sürdürülmüştür. 500 µg/kg aflatoksin içeren yer fıstığı yağı 160 °C de 60 dk. bekletildiğinde toksin miktarı ancak 400 µg.kg⁻¹ a kadar düşürülürken, 1000 µg/kg aflatoksin içeren yer fıstıkları 160°C de 30 dk. kavurulduklarında aflatoksin miktarı 5 µg.kg⁻¹ düzeyine indirilebilmiştir (Tunail, 2000).

c) Işınlama: Aflatoksinlerin yıkımlanması için ultraviyole ışınlarından, UV güneş ışığından ve gamma ışınlarından yararlanılmaktadır. Gıda ve yemlere mikotoksinlerin kontaminasyonuna neden olan fungusların yıkımlanması için radyasyon ışınlaması 1950'lerin sonunda ilk kez rapor edilmiştir. Bilinen ilk çalışma ise 1971'de *A. flavus*'a karşı gama ışınlaması ile gerçekleştirilmiştir (Bilgin, 2014). Sıvı gıdalardan AFB₁'in uzaklaştırılmasında, aflatoksinin parçalanmasını sağlayan UV veya iyonize ışınlarla ışınlama yöntemleri ile detoksifikasyon ciddi oranda sağlanabilmektedir (Tunail, 2000). Gıdaların 10 kGy'e kadarlık bir dozda ışınlanması dünyadaki çeşitli organizasyonlar (FAO/IAEA/WHO 1981) tarafından 1981'den beri güvenli ve etkin bir teknoloji olarak kabul edildi. Daha sonra (FAO/IAEA/WHO 1999) 10 kGy'in üzerindeki dozlar da, bazı ticari ürünler ve marketler için güvenli olarak göz önünde bulunduruldu. Fakat yine de ışınlama ünitelerinin yüksek maliyeti ve özellikle de tüketicilerin bu uygulamaya nispeten olumsuz yaklaşımı gibi sebeplerle, gıdaların ışınlanması diğer geleneksel teknolojiler kadar yaygın değildir (Calado ve ark., 2014).

2.1.3.6.2. Kimyasal Yöntemler

Gıda katkı maddeleri ve bazı kimyasallar da aflatoksinlerin dekontaminasyonu için kullanılan yöntemler arasında sayılmaktadır. Yapılan çalışmalar gıda katkı maddelerinden bazılarının aflatoksin miktarını azalttığını göstermiştir (Özkaya ve Temiz, 2003). Bunun yanında, yemlerde bulunan toksinlerin detoksifiye edilmesinde

amonyakla işleme, ozon ve hidrojen peroksit ile yükseltgenme işlemi, sodyum hipoklorit ve klor gazı ile klorlama işlemi, sodyum bisülfid kullanılarak bisülfid uygulaması, sodyum hidrosit ve sodyum karbonat gibi alkalilerle yıkımlama, hidroklorik asit gibi kuvvetli asitlerle yıkımlama gibi işlemler uygulanabilmektedir. Kimyasal maddelerin kullanılması ile detoksifikasyon sağlanabilirse de gıdalarda ve yemlerde istenmeyen değişiklikler oluşturduklarından ve besin değeri açısından olumsuz etkilere sebep olduklarından, özellikle gıda maddelerinde kullanılmamaktadır (Tunail, 2000). Son yıllarda fazlaca üzerinde çalışılan brokoli, karnabahar, brüksel lahanası gibi sebzelerin ratlarda koruyucu etkilerinin olduğu ve biyotransformasyon enzimlerinin aktivitelerini modüle ettiği *in vitro* olarak gösterilmiştir. Antioksidan ve antikarsinojen etkili hint safranı, asafoetida (*Ferula asafoetida*) gibi bileşikler bitkisel kaynaklı gıda katkı maddeleri arasında yer almaktadır (Bilgin, 2014).

2.1.3.6.3. Biyolojik Yöntemler

Aflatoksinlerin dekontaminasyonu alanında çalışan çoğu bilim insanı; en sağlıklı çözümün biyolojik detoksifikasyon olacağını, tehlikeli kimyasalları kullanmadan, gıda ve yemlerde besin değerleri ve yenilebilme özelliklerinde önemli kayıplara neden olmadan dekontaminasyonun sağlanabileceğini savunmaktadır. Bu yöntem, bazı bakteri ve mayalar kullanılarak, yem hammaddeleri ve karma yemde bulunan aflatoksinleri parçalama esasına dayanmaktadır. Bu bakteri ve mayalar, doğrudan yemlerde kullanıldığı gibi, kendi hücre duvarlarından elde edilen glukomannan veya esterlenmiş mannanoligosakkaritler (MOS) de kullanılabilir. Sayıları oldukça az olan bu mikroorganizmalar içinde sadece *Aspergillus niger* grubundan bazı küfler bulunmaktadır. Bu küfler toksik olan AFB₁ ve AFG₁'i, çok daha az toksik olan AFB_{2a} ve AFG_{2a} derivatlarına çevirebilirler. Bakterilerden de *Flavobacterium aurantiacum* NRRL B-184 suşu, test edilen yaklaşık 1000 mikroorganizma içinde aflatoksini adsorbsiyon yolu ile elimine eden tek bakteri türüdür. Süt, yerfıstığı yağı, yerfıstığı ve tahıllar bu bakteri ile 20°C de 12 saat inkübasyon sonunda detoksifiye edilmiştir. Son yıllarda probiyotik bakterilerin dekontaminasyon potansiyelleri üzerinde çalışmalar artmakta ve olumlu sonuçlar gelmektedir (İpçak ve Alçiçek, 2013; Omak ve ark., 2016; Özkaya ve Temiz, 2003; Tunail, 2000).

Laktonaz, epoksidaz, glukanaaz gibi enzimler aflatoksinleri parçalayarak onları toksik olmayan bileşiklere metabolize etmektedirler. Son yıllarda vitamin C üzerinde yapılan çalışmalarda, vitamin C'nin sadece antioksidan özelliği olmadığını aynı zamanda aflatoksin kontrolünde de etkili olduğunu rapor etmektedir (İpçak ve Alçipek, 2013).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışmada Bursa ilinde Haziran - Aralık 2017 tarihleri arasında 6 ay süreyle semt pazarları, çeşitli köyler, şarküteriler ve sokaklarda satışa sunulan 60 çiğ süt ile bakkal, market ve süpermarketlerden temin edilen 60 pastörize süt olmak üzere toplam 120 süt örneği analiz edilmek üzere toplandı. Her ay 10 çiğ süt ve 10 pastörize süt örneği temin edilerek örnekleme aşaması tamamlandı. Çiğ süt örneklerinin toplanmasında en az 500 ml olacak şekilde steril şişeler kullanılırken, pastörize sütler orijinal ambalajlarında (1000 ml) satın alındı. Tüm örnekler soğuk zincir altında Tarım ve Orman Bakanlığı Isparta Gıda Kontrol Laboratuvarı'na getirildi ve analizleri gerçekleştirilinceye kadar soğuk koşullarda muhafaza edildi.

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Metanol	MERCK CAS-No: 67-56-1
- Asetonitril	MERCK CAS-No: 75-05-8
- Aflatoksin M ₁ çalışma standart çözeltisi	SUPELCO 46319-U

3.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

- Yüksek basınçlı sıvı kromatograf	SHIMADZU LC-20AD
- Immunoaffinity kolon	VICAM
- ODS 2 HPLC kolonu	THERMO 31605-254630
- Hassas terazi	AND GR-200
- Whatman No: 4 – 113	WHATMAN
- Su banyosu (37 °C)	PRECISDIG

- Vorteks (karıştırıcı)	NÜVE NM 110
- Ultra pür saf su cihazı	ELGA DV 25
- Otomatik pipet ve uçları	BRAND

3.2. Yöntem

Yapılan çalışmada, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) metodu ile analiz yöntemi tercih edildi.

3.2.1. Yöntemin Prensibi

HPLC yöntemi; homojenize edilen örneğin, aflatoksin M₁ affinity kolondan geçirilerek, kolonda bulunan antikolar tarafından tutulan aflatoksin M₁'in Asetonitril + Metanol (30+20) çözeltisi ile temizlenmesi sonucu elde edilen eluattaki aflatoksin M₁ miktarının HPLC cihazında belirlenmesi prensibine dayanır.

3.2.2. Yöntemin Yapılışı

HPLC yöntemi; cihazın kalibrasyonu, örneğin ekstraksiyonu, HPLC enjeksiyonu ve geri kazanım (verim) aşamalarından oluşur.

a) Kalibrasyon

- Aflatoksin M₁ ana stok (10 µg/ml) 10 µl standarttan alınıp 10000 µl'ye mobil faz ile tamamlandı. (Mobil faz: saf su + asetonitril + metanol (50+30 +20))
- 0,01 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde II. düzey stok hazırlandı.
- II. düzey stokdan (0,01 µg/ml, 1000 ile çarpılarak ng/ml'ye çevrilir) (10 ng/ml) viallere alındı (Tablo 10.).
- Azot gazı altında tam kuruluğa kadar uçuruldu.
- 1 ml mobil faz ile çözüldü.
- III. düzey çalışma standardı oluşturuldu.

Tablo 10.'da HPLC cihazına uygulanan kalibrasyon tablosu, Şekil 9.'da ise HPLC cihazında okunan kalibrasyon eğrisi verilmiştir.

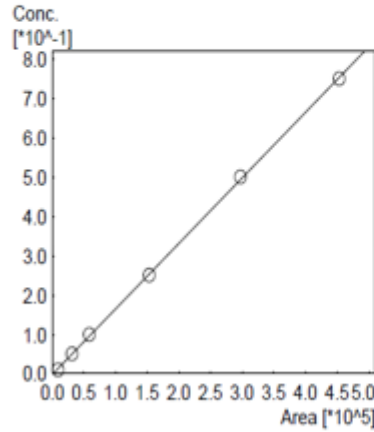
Tablo 10. HPLC cihazı AFM₁ analizi için kalibrasyon tablosu.

Vial No	II. Düzeyden Düzeyden Alınacak Hacim µl (10 ng/ml)	İlave Edilecek Mobil Faz + Standart Toplam	Beklenen Son Konsantrasyon (ng/ml)
1	5	1000	0,05
2	10	1000	0,1
3	100	1000	1
4	300	1000	3
5	500	1000	5
6	1000	-	10

Shimadzu LcSolution Calibration Curve

<Calibration Curve>

ID# : 1
Name : afla m1
Quantitative Method : External Standard
Function : f(x)=1.66292e-006*x-0.0013199
Rr1=0.9998868 Rr2=0.9997737
MeanRF:1.57555e-006 RFSD:2.15589e-007 RFRSD:13.6834
FitType : Linear
ZeroThrough : Not Through
WeightedRegression : None
Detector Name : Detector A



#	Conc (Ratio)	Area	Area
1	0.010	9575.8	9575
		6868.4	6868
		10329.5	10329
2	0.050	30106.3	30106
		31607.9	31608
		30656.4	30656
3	0.100	58557.2	58557
		59059.2	59059
		57899.8	57900
4	0.250	153814.9	153815
		152354.0	152354
		153814.9	153815
5	0.500	297258.0	297258
		297179.4	297179
		298188.7	298189
6	0.750	453779.7	453780
		453152.1	453152
		454812.4	454812

Şekil 8. HPLC cihazında okunan kalibrasyon eğrisi.

b) Ekstraksiyon

- Analizi yapılacak süt örneğinin homojenliği sağlandı. Bu amaçla süt örneği ultrasonik su banyosunda 37°C’de ısıtıldı ve ılık süt santrifüj edildi.
- Homojenizasyonu sağlanan süt örneği; Whatman no:4 veya 113’den süzüldü.
- 50 ml süzölmüş süt, oda sıcaklığına getirilmiş immunoaffinity kolondan (İAK) 3 ml/dk hızla geçirildi.
- 20 ml saf su, 1-2 damla/sn hızla AFM₁ İAK’dan geçirilerek yıkama yapıldı.
- Daha sonra kuru hava geçirilerek kolondaki sıvı tamamen giderildi ve temiz bir vial hazırlandı.

- Kolonun içerisine 1,25 ml metanol + asetonitril (20+30 / HPLC saflıkta) ilave edilip, 1 damla/sn hızla kolondan geçirilerek vialle alındı.
- 1,25 ml saf su, 1 damla/sn hızla kolondan geçirilerek vialle alındı ve 1 dk boyunca karıştırılma işlemi yapıldı.

c) HPLC enjeksiyon

- HPLC'ye yerleştirilen örneklerden 100 µl enjeksiyon yapıldı.
- HPLC çalışma şartları;

Akış hızı: 1,0 ml/dk

Enjeksiyon miktarı: 100 µl

Kolon: ODS-2, 5 µ, 250 x 4,6 mm

Kolon sıcaklığı: 25°C

Dalga Boyu: FLD

Dedektör Ex:360 nm, Em: 430 nm

- HPLC'de okunan değerler sonrasında, örneklerin aflatoksin M₁ (µg/kg) miktarları hesaplandı.

$$\text{Aflatoksin } (\mu\text{g/kg}): \frac{A}{(K \times E) / V}$$

A: HPLC'de okunan kromatogram sonucu

K: Kolondan geçen hacim (50 g)

E: HPLC'ye enjeksiyon edilen hacim (100 µl)

V: Vial içeriği (2500 µl)

Aflatoksin M₁(µg/kg): A / 2

d) Geri Kazanım (Verim)

Standart katma yönteminin uygulanması için aflatoksin tespit edilmemiş süt örnekleri seçildi. Bu amaçla, örneklere aflatoksin ilavesinden sonra kalitatif ve kantitatif çalışmalar standardize edildi.

- 0,01 µg/ml'lik aflatoksin M₁ standarttan örneğe ilave edildi.
- Örnekler analiz edilip geri kazanılabilirlik (%) ortalamaları ve aralıkları hesaplandı.

e) % Geri alma hesaplama ve sonuç

$$\text{Geri Alma Oranı (\%)} = (C1 / C2) \times 100$$

- C1 = Standart ilave edilen örnekte HPLC'de tespit edilen Afla M₁ miktarı (ppb)
- C2 = İlave edilen Afla M₁ standart konsantrasyonu (ppb)

Tablo 11.'e göre yapılan geri kazanım çalışmalarımız uygun olduğu için çalışmalara devam edildi.

Tablo 11. Tavsiye edilen değerler geri kazanılabilirlik yüzde değerleri
(Türk Gıda Kodeksi Tebliğ no: 2002/25).

Kriter	Konsantrasyon Aralığı	Tavsiye Edilen Değer
Geri alma	0,01 – 0,05 (µg/kg)	%60 - %120
Aflatoksin M ₁	> 0,05(µg/kg)	%70 - %110

3.2.3. İstatistiksel Analizler

Veriler tek yönlü ANOVA ile analiz edildi. Gruplar arası farklılık Student (t) testi ile değerlendirildi. Yapılan tüm testlerde önem düzeyi $p = 0,05$ olarak (% 95) olarak alındı. Tüm istatistiki analizler SPSS 19.0 istatistik paket programı ile yapıldı (Özdamar, 2001)

4. BULGULAR

Bu çalışmada; Bursa ili ve çevresinde satışa sunulan 60 pastörize süt ve yerel olarak üretilen 60 çiğ süt olmak üzere, toplam 120 örnek AFM₁ yönünden analiz edildi. AFM₁ varlığının ve seviyesinin belirlenmesinde HPLC yöntemi kullanıldı.

Çiğ ve pastörize süt örneklerinde AFM₁ varlığının aylara göre dağılımı Tablo 12.'de sunulmaktadır. 60 çiğ süt örneğinin 51'inde (%85) değişik oranlarda AFM₁ tespit edilirken, 9'unda (%15) ise tespit edilebilir düzeyde AFM₁ bulunamadı. İncelenen 60 pastörize süt örneğinin 37'sinde (%61,7) değişik oranlarda AFM₁ tespit edilirken, 23'ünde (%38,34) ise tespit edilebilir düzeyde AFM₁ bulunamadı.

Tablo 13.'de çiğ ve pastörize süt örneklerinde tüm çalışma süresince belirlenen AFM₁ düzeyleri verilirken, Tablo 14. minimum, maksimum ve ortalama AFM₁ düzeylerini göstermektedir.

Çiğ sütlerde tespit edilebilir AFM₁ düzeyleri; Haziran ayında en düşük 0,008 ve en yüksek 0,121 µg/kg, Temmuz ayında en düşük 0,004 ve en yüksek 0,083 µg/kg, Ağustos ayında en düşük 0,004 ve en yüksek 0,064 µg/kg, Eylül ayında en düşük 0,018 ve en yüksek 0,117 µg/kg, Ekim ayında en düşük 0,013 ve en yüksek 0,065 µg/kg, Kasım ayında ise en düşük 0,014 ve en yüksek 0,163 µg/kg olarak tespit edildi. Haziran, Temmuz, Ağustos, Eylül, Ekim ve Kasım aylarında çiğ sütlerde ortalama AFM₁ kontaminasyon seviyeleri ise sırasıyla; 0,043, 0,026, 0,017, 0,045, 0,019 ve 0,050 µg/kg'dı.

Pastörize süt örneklerindeki tespit edilebilir AFM₁ seviyeleri Haziran ayında en düşük 0,007 ve en yüksek 0,086 µg/kg, Temmuz ayında en düşük 0,008 ve en yüksek 0,036 µg/kg, Ağustos ayında en düşük 0,002 ve en yüksek 0,043 µg/kg, Eylül ayında en düşük 0,003 ve en yüksek 0,109 µg/kg, Ekim ayında en düşük 0,003 ve en yüksek 0,118 µg/kg, Kasım ayında en düşük 0,041 ve en yüksek 0,057 µg/kg olarak belirlendi. Haziran, Temmuz, Ağustos, Eylül, Ekim ve Kasım aylarında pastörize sütlerdeki

ortalama AFM₁ düzeyleri sırasıyla 0,026, 0,008, 0,011, 0,019, 0,022 ve 0,025 µg/kg olarak saptandı.

Çiğ süt örneklerinin aylara göre ortalama AFM₁ değerleri arasındaki farklılıkların ve yine pastörize sütler için her ay saptanan ortalama AFM₁ düzeyleri arasındaki farklılıkların belirlenmesinde student-t testi kullanıldı. Çiğ ve pastörize süt örneklerinin her biri için aylara göre AFM₁ değerleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark tespit edilemedi (çiğ süt $p=0,221 > 0,05$; pastörize süt $p=0,642 > 0,05$).

Çiğ ve pastörize sütlerde saptanan ortalama AFM₁ düzeylerinin kıyaslanmasına ilişkin veriler Şekil 9.'da görülmektedir. Çiğ sütlerde en düşük ortalama değer 0,017 µg/kg ile Ağustos ayında, en yüksek ortalama değer 0,050 µg/kg ile Kasım ayında alınan örneklerde belirlendi. Pastörize süt örneklerinde ise en düşük ortalama değer 0,008 µg/kg ile Temmuz ayında, en yüksek ortalama değer 0,026 µg/kg ile Haziran ayında alınan örnekler için gözlemlendi.

Çiğ ve pastörize sütlerin aylara göre ortalama AFM₁ değerleri arasında istatistiksel farklılıkların olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA $p=0.05$) ile test edildi. Kasım ayı çiğ süt AFM₁ değeri (0,0499 µg/kg), Temmuz ve Ağustos ayı pastörize süt AFM₁ değerleri (0,0083 µg/kg ve 0,0117 µg/kg) arasındaki fark önemli, diğer bütün aylar ve süt çeşitleri arasında ise önemsiz olduğu tespit edildi. Ayrıca Temmuz ayına ait pastörize süt AFM₁ değeri (0,0083 µg/kg), çiğ sütün Haziran (0,0429 µg/kg), Eylül (0,0452 µg/kg) ve Kasım (0,0499 µg/kg) aylarına ait AFM₁ değerlerinden farklı bulundu.

Çiğ süt ve pastörize süt örneklerinde belirlenen AFM₁ miktarlarının Türk Gıda Kodeksi (TGK)'nde belirtilen limit değerler (0,05 µg/ml) ile kıyaslanmasına ilişkin sonuçlar Şekil 10. ve Şekil 11.'de verilmektedir. Haziran-Kasım 2017 tarihleri arasında analiz edilen 60 çiğ süt örneğinden 15'inin (%25) ve 60 pastörize süt örneğinden 7'sinin (%11.7), TGK yasal limitini aşan düzeylerde AFM₁ kontaminasyonuna sahip olduğu görüldü. Limiti aşan çiğ süt örneklerinin 6'sı yaz ve 9'u sonbahar aylarında, pastörize süt örneklerinin ise 2'si yaz ve 5'i sonbahar aylarında analiz edilen örneklerden oluşmaktaydı.

Tablo 12. Çiğ ve pastörize süt örneklerinde AFM₁ içeren örneklerin aylara göre dağılımı.

Örnek türü	Aylar	Örnek sayısı	AFM ₁ saptanan örnek sayısı (%)
ÇİĞ SÜT	Haziran	10	10 (100)
	Temmuz	10	9 (90)
	Ağustos	10	9 (90)
	Eylül	10	7 (70)
	Ekim	10	7 (70)
	Kasım	10	9 (90)
	Toplam	60	51 (85)
PASTÖRİZE SÜT	Haziran	10	9 (90)
	Temmuz	10	4 (40)
	Ağustos	10	7 (70)
	Eylül	10	6 (60)
	Ekim	10	5 (50)
	Kasım	10	6 (60)
	Toplam	60	37 (61,7)

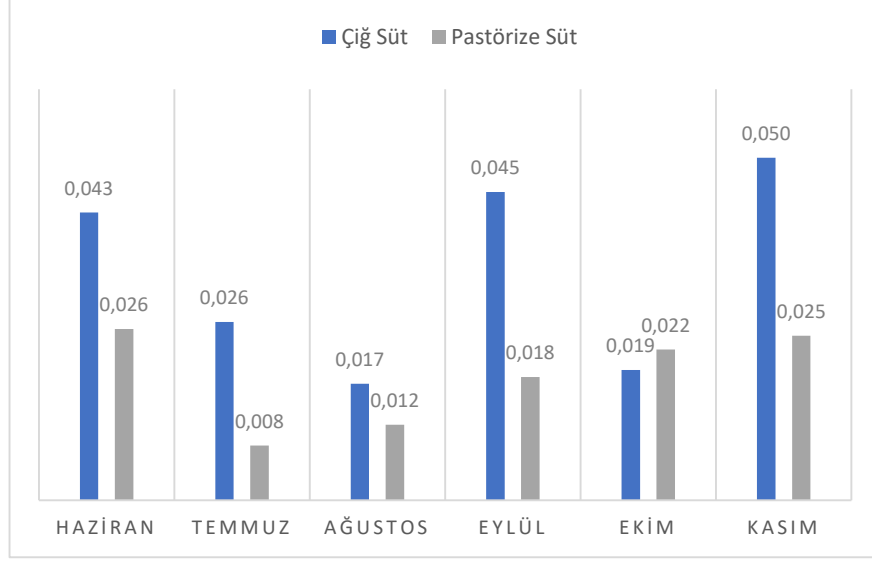
Tablo 13. Çiğ ve pastörize süt örneklerinde saptanan AFM₁ düzeyleri (µg/kg).

Örnek Türü	Aylar					
	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım
ÇİĞ SÜT	0,016	0,065	0,021	0,018	0,000	0,060
	0,010	0,022	0,011	0,019	0,015	0,055
	0,008	0,000	0,004	0,036	0,014	0,016
	0,009	0,004	0,019	0,117	0,016	0,044
	0,078	0,014	0,064	0,032	0,065	0,014
	0,121	0,019	0,008	0,000	0,000	0,000
	0,023	0,083	0,015	0,000	0,058	0,161
	0,089	0,031	0,017	0,116	0,000	0,116
	0,043	0,016	0,000	0,000	0,014	0,015
	0,032	0,011	0,012	0,114	0,013	0,018
	PASTÖRİZE SÜT	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim
0,008		0,000	0,022	0,004	0,000	0,000
0,007		0,000	0,008	0,050	0,118	0,000
0,012		0,000	0,002	0,003	0,000	0,043
0,010		0,031	0,017	0,109	0,000	0,047
0,013		0,008	0,009	0,000	0,040	0,056
0,037		0,008	0,043	0,000	0,041	0,000
0,009		0,000	0,000	0,004	0,000	0,057
0,086		0,000	0,000	0,017	0,003	0,000
0,075		0,000	0,000	0,000	0,000	0,005
0,000		0,036	0,012	0,000	0,018	0,041

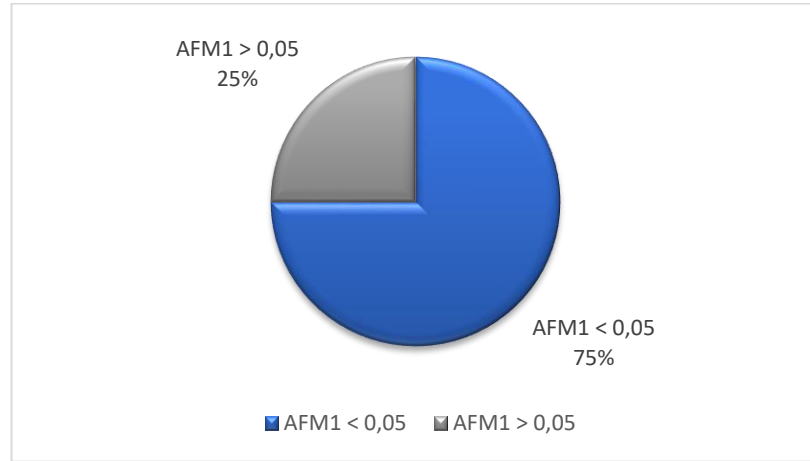
Tablo 14. Çiğ ve pastörize süt örneklerinde saptanan ortalama AFM₁ düzeyleri.

Örnek türü	Aylar	Konsantrasyon (µg/kg)			
		Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart sapma
ÇİĞ SÜT	Haziran	0,010	0,120	0,0429 ^{ab}	± 0,039
	Temmuz	0,000	0,080	0,0265 ^{abc}	± 0,026
	Ağustos	0,000	0,060	0,0171 ^{abc}	± 0,017
	Eylül	0,000	0,120	0,0452 ^{ab}	± 0,050
	Ekim	0,000	0,070	0,0195 ^{abc}	± 0,023
	Kasım	0,000	0,160	0,0499 ^a	± 0,052
PASTÖRİZE SÜT	Haziran	0,000	0,090	0,0257 ^{abc}	± 0,030
	Temmuz	0,000	0,040	0,0083 ^c	± 0,013
	Ağustos	0,000	0,040	0,0117 ^{bc}	± 0,013
	Eylül	0,000	0,110	0,0183 ^{abc}	± 0,035
	Ekim	0,000	0,120	0,0220 ^{abc}	± 0,037
	Kasım	0,000	0,060	0,0249 ^{abc}	± 0,025

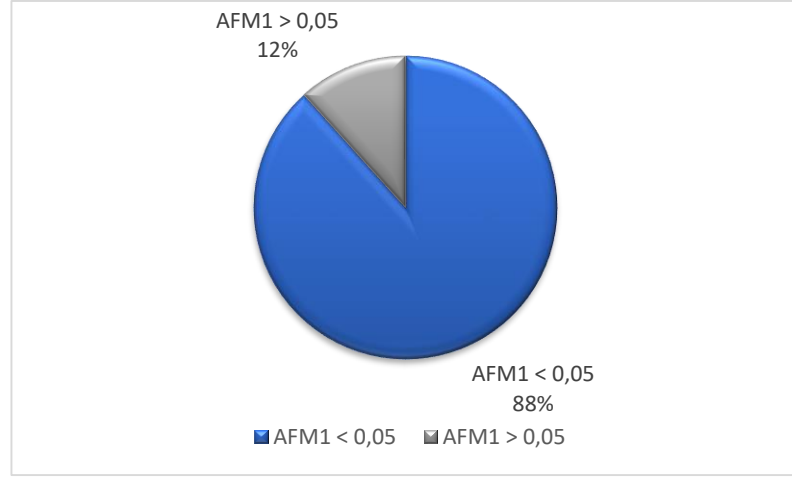
^{a,b}: Aynı sütündeki farklı harfler, gruplar arası farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 9. Çiğ ve pastörize sütlerde tespit edilen ortalama AFM₁ düzeyleri (µg/kg).



Şekil 10. Çiğ sütlerde AFM₁ limit düzeyini aşan örneklerin dağılımı (µg/kg).



Şekil 11. Pastörize sütlerde AFM₁ limit düzeyini aşan örneklerin dağılımı (µg/kg).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma kapsamında, Bursa ili ve çeşitli köylerinden toplanan 60 çiğ süt ile perakende satışı sunulan 60 pastörize inek sütünde HPLC metodu kullanılarak AFM₁ varlığı ve kontaminasyon düzeyleri ortaya kondu.

AFM₁ İnsidensi

Çiğ Süt Örneklerinde AFM₁ İnsidensi

60 çiğ süt örneğinin %85'inde farklı oranlarda AFM₁ tespit edilirken, %15'inde tespit edilebilir limitlerin altında kaldığı görüldü.

Gerek ülkemizde gerekse uluslararası yayınlarda süt ve süt ürünlerinde AFM₁ insidensini rapor eden çeşitli çalışmalar mevcuttur. Martins ve Martins (2000) Portekiz'de inceledikleri çiğ sütlerin %80,6'sında, Bognanno ve ark. (2006) İtalya'nın Sicilya kentinde 240 koyun sütü örneğinin %81'inde farklı seviyelerde AFM₁ belirlemişlerdir. Fallah ve ark. (2011) İran'ın Qazvin bölgesindeki çiftliklerden toplanan 254 çiğ süt örneğini AFM₁ varlığı açısından incelemiş ve 204 örnekte (%80,3) AFM₁ tespit etmişlerdir. AFM₁ kontaminasyonu, Rahimi ve ark. (2009) tarafından İran'da 140 çiğ süt örneğinde %83,6 ve Mohammedi ve ark. (2012) tarafından Pakistan'da 84 çiğ süt örneğinde %80,9 olarak bildirilmiştir. Bahrami ve ark. (2016) tarafından İran'da gerçekleştirilen bir çalışmanın sonuçları, inek sütlerinin %84,3'ünde AFM₁ varlığını göstermiştir. AFM₁ insidensini Bakırcı (2001) Van'da 90 çiğ süt örneğinde %87,8 ve Özsunar (2005) Trakya Bölgesi'nden toplanan 135 çiğ süt örneğinde %86,0 olarak rapor etmişlerdir. Yine Özdemir (2007) Kilis'te çeşitli bireysel çiftliklerden topladığı 110 çiğ keçi sütü örneğinde ELISA yönteminden yararlanarak %84,54 oranında ve farklı seviyelerde AFM₁ tespit etmiştir. Araştırmacıların bulguları, mevcut çalışmada çiğ süt örneklerinde ortaya konulan AFM₁ bulunma insidensi ile benzerlik göstermektedir.

Bununla birlikte diğer bazı araştırmalarda incelenen çiğ sütlerde AFM₁ bulunma oranlarının, mevcut araştırmada tespit edilen oranla (%85,0) kıyaslandığında daha düşük olduğu görölmektedir. AFM₁'in çiğ sütlerde bulunma sıklığını Nuryano ve ark. (2009) Endonezya'da %57,5, Hussain ve ark. (2010) Pakistan'ın Punjab bölgesinde %37,5, Marnissi ve ark. (2012) Fas'ta %27, Widiastuti ve Anastasia (2018) Endonezya'da %21,1, Lopez ve ark. (2003) Arjantin'de %23 ve Sassahara ve ark. (2005) Brezilya'da %24,0 olarak rapor etmişlerdir. Roussi ve ark. (2002) Yunanistan'da analiz edilen çiğ inek, koyun ve keçi sütü örneklerinin sırasıyla %64,3, %73,3 ve %66,7'sinde AFM₁ saptamışlardır. Yine Hindistan'da çeşitli çiftliklerden toplanan bufalo, inek, keçi ve koyunlara ait 200 çiğ süt örneğinin analizi sonucunda, %46,5 oranında AFM₁ belirlenmiştir (Nile ve ark., 2016). İran'da yapılan çalışmalarda ise çiğ sütlerde bulunan AFM₁ kontaminasyon oranları Kamkar (2005) tarafından %76,6 olarak bulunurken, Ghiasian ve ark. (2007) tarafından ülkenin Hamedan bölgesinden 186 çiğ süt örneğinde %63,97 olarak bildirilmiştir. Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda çiğ sütlerde AFM₁ bulunma oranı Ağrı'da (Kantemir, 2007) %76,2, Bursa'da (Oruç ve Sonal, 2001) %10,0, Erzurum'da (Atasever ve ark. 2006) %57,4 ve Samsun'da (Aksoy ve ark. 2010) %61,1 olarak rapor edilmiştir. Akdemir ve Altıntaş (2004) Ankara'da 12 ayrı kaynaktan alınan çiğ sütlerde HPLC analiz yöntemini kullanarak AFM₁ varlığını araştırmışlar ve 48 çiğ süt örneğinin %70,83'ünde farklı düzeylerde AFM₁ saptamışlardır. Elazığ'da yapılan bir çalışmada ise 50 çiğ süt örneğinin HPLC analizleri sonucunda 16'sında (%32,0) AFM₁ bulunmuştur (Kızıl ve ark., 2017).

Çiğ sütlerde bulunan AFM₁ oranlarının, çalışmamızdaki AFM₁ insidensine oranla (%85) daha yüksek olduğunu ortaya koyan literatürler de bulunmaktadır. Nitekim Kuveyt'te yürütölen bir çalışmada (Dasthi ve ark., 2009) 111 çiğ süt örneğinin %99,1'inde AFM₁ tespit edildiği, Suriye'de (Ghanem ve Orfi, 2009) ve Sırbistan'da (Kos ve ark., 2013) yapılan çalışmalarda bu oranın sırasıyla %95 ve %98,7 olarak saptandığı bildirilmiştir. Bilandzic ve ark. (2016) Hırvatistan'da 3 farklı bölgedeki çiftliklerden kış mevsimi süresince toplanan ve analiz edilen 548 çiğ süt örneğinde, yine Hussain ve Anwar (2008) Pakistan'da satışa sunulan çiğ sütlerde %100 oranında AFM₁ kontaminasyonu olduğunu belirtmişlerdir. Çiğ sütlerde AFM₁ insidensi

Bursa’da yapılan bir çalışmada (Oruç ve ark., 2005) %99,1, İstanbul’da (Bostan ve ark., 2005) %91, Konya ve Erzurum’da (Özturan, 2005) %90 olarak bildirilirken; Aydın (Kök, 2006), Ankara (Topçu, 2006), Kars (Kireççi ve ark., 2007) ve Kayseri’de (Buldu ve ark., 2011) %100’lük insidens oranları rapor edilmiştir. Oruç ve ark. (2011) tarafından Bursa’da gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ELISA analiz tekniği ile çiğ sütlerde AFM₁ kontaminasyonu değerlendirilmiş ve 30 çiğ süt örneğinin tümünde (%100) bu aflatoksin tespit edilmiştir. Yine Niğde’de tüketime sunulan inek, koyun ve keçilerin çiğ sütlerinde ELISA tekniği ile yapılan çalışmanın sonuçları ise toplam 90 çiğ süt örneğinden tümünün (%100) AFM₁ ile kontamine olduğu saptanmıştır (Karadal ve ark., 2018).

Araştırmalarda elde edilen AFM₁ bulunma sıklığına ilişkin sonuçlar; coğrafik ve mevsimsel farklılıklar, süt örneklerinin alındığı laktasyon periyodu ve kullanılan farklı analiz metotları gibi çeşitli parametrelere bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Tunail, 2000). Ayrıca bu durum hayvan yemlerinde oluşan AFB₁ miktarındaki farklılıklardan da kaynaklanabilir. Öyle ki yemlerde oluşan AFB₁ ve AFB₂, süt veren hayvanlarda karaciğerde metabolize edilerek AFM₁ ve AFM₂’ye dönüşerek meme bezlerinden süte geçebilmektedir. Bilinçsiz tarım uygulamaları nedeniyle yemlerin üretim ve depolanmasının uygun olmayan koşullarda gerçekleştirilmesine bağlı olarak, küflerin geliştiği ve toksin oluşturduğu yemlerle beslenen hayvanların sütlerinde AFM₁ miktarlarının yüksek çıkması kaçınılmaz olmaktadır (Yentür ve Er, 2011).

Pastörize Süt Örneklerinde AFM₁ İnsidensi

Çalışmamız süresince analiz edilen 60 pastörize süt örneğinin %61,7’sinde değişik oranlarda AFM₁ tespit edildi.

Gürbay ve ark. (2006) Ankara’dan topladıkları 27 süt örneğini (24’ü UHT, 3’ü pastörize) HPLC yöntemiyle AFM₁ varlığını değerlendirmek amacıyla analiz etmiş ve sonuç olarak örneklerin %59,3’ünde bu toksini bulmuşlardır. Bu sonuç, bizim çalışmamızda pastörize sütler için elde edilen AFM₁ insidensi ile benzerlik göstermektedir.

Sırbistan’da yürütülen bir çalışmada, 65 UHT ve pastörize süt örneğinin % 27,6’sında AFM₁ tespit edildiği bildirilmiştir (Polovinski ve ark., 2009). 2009-2010 yılları arasında Kosova’da değişik bölgelerden 656’sı çiğ ve 170’i pastörize olmak

üzere 826 süt örneği toplanmış ve AFM₁ varlığı açısından incelenmiştir. Araştırmada AFM₁ saptanan örneklerden yalnızca % 1,17'sinin pastörize sütlere ait olduğu bulunmuştur (Rama ve ark., 2016). Bu çalışmalarda pastörize sütlerde AFM₁ bulunma oranları, bizim çalışmamızdakine kıyasla çok daha düşüktür.

Markaki ve ark. (1997), Atina'da farklı satış noktalarından temin edilen 81 pastörize süt örneğini HPLC tekniği ile analiz etmiş ve örneklerin 72'sinde (%88,8) AFM₁ varlığı tespit etmişlerdir. Fas'ta yapılan bir çalışmada 5 farklı tedarikçiden elde edilen 54 pastörize süt örneğinden %88,8'inin AFM₁ ile kontamine olduğu bildirilmiştir (Zinedine ve ark., 2007). Ghanem ve Orfi (2009), 10'u pastörize inek sütü olan toplamda 126 çeşitli süt örnekleri ile çalışma yapmışlar ve tüm sütlerin %80'inde, pastörize sütlerin ise %100'ünde AFM₁ varlığını tespit etmişlerdir. Ruangwises ve ark. (2009), Tayland'da, 50 farklı okuldan 150 pastörize süt örneği toplayarak çalışma yapmışlar ve tüm örneklerin AFM₁ ile kontamine olduğunu bulmuşlardır. İran'da pastörize sütlerde AFM₁ tespitine yönelik yürütülen çalışmalarda; söz konusu toksinin insidensini Alborzi ve ark. (2006) %100, Tajik ve ark. (2007) %100, Behfar ve ark. (2012) %100, Riahi-Zanjani ve ark. (2013) %100, Sohrabi ve Gharahkoli (2016) % 81.6, Mohammadi ve ark. (2016) %100 olarak rapor etmişlerdir. Ülkemizde de bazı araştırmacılar tarafından pastörize sütlerde AFM₁ varlığını ortaya koyan çeşitli çalışmalar mevcuttur. Kocasarı ve ark. (2012) Burdur'da 45'i pastörize ve 45'i çiğ süt olmak üzere toplam 90 örnekte AFM₁ tespit çalışmasında çiğ sütlerde %91,1 ve pastörize sütlerde %66,7 oranında AFM₁ saptamışlardır. Ankara'da 85 pastörize süt örneği ELISA yöntemiyle AFM₁ bakımından analiz edilmiş ve örneklerin %88,23'ünün aflatoxin içerdiği bildirilmiştir (Sarımehmetoğlu ve ark., 2000). Çelik ve ark. (2005) yaptıkları bir çalışmada, 85 pastörize süt örneğinde AFM₁ bulunma oranını %88,23 olarak belirtmişlerdir. Alatalı'nın (2017) İstanbul'da yürüttüğü bir çalışmanın sonuçları, analiz edilen 75 pastörize süt örneğinin tamamında AFM₁ varlığını göstermiştir. Türkoğlu (2018) ise Burdur'da çeşitli süt işletmelerinden ve marketlerden 35'i çiğ süt, 35'i pastörize süt ve 35'i UHT süt olmak üzere toplam 105 süt örneği ile ELISA yöntemini kullanarak AFM₁ taraması yapmış ve tüm süt örneklerinde AFM₁ kontaminasyonu bulunduğunu rapor etmiştir. Uluslararası ve ülkemizde gerçekleştirilen bu çalışmalarda pastörize sütler için bulunan AFM₁

insidens oranlarının, bizim sonucumuza (%61,7) kıyasla çok daha yüksek olduğu görülmektedir.

AFM₁ termal inaktivasyon, pastörizasyon, sterilizasyon ya da diğer bazı gıda işleme proseslerine dirençlidir. Yüksek toksisite ve karsinojenik özellikleri nedeniyle de, çiğ veya ısıtılmış işlem uygulanan pastörize/UHT sütlerde varlığı tüketici sağlığı açısından büyük bir kaygıdır (Omar, 2016; Tunail, 2000).

AFM₁ Düzeyleri

Çiğ Süt Örneklerinde AFM₁ Düzeyleri

Haziran – Kasım ayları arasında 6 ay süre ile yapılan çalışmada; örnek bazında değerlendirildiğinde çiğ sütlerde tespit edilebilen minimum AFM₁ değeri 0,004 µg/kg ile Temmuz ve Ağustos aylarında, maksimum AFM₁ değeri ise 0,161 µg/kg ile Kasım ayında bulundu. Haziran, Temmuz, Ağustos, Eylül, Ekim ve Kasım aylarına ait çiğ sütlerde bulunan ortalama AFM₁ seviyeleri sırasıyla 0,043, 0,026, 0,017, 0,045, 0,019 ve 0,050 µg/kg olarak kaydedildi. Ancak çiğ sütlerde saptanan ortalama AFM₁ değerlerinde aylar arasında anlamlı bir fark tespit edilemedi.

Lopez ve ark. (2003) Arjantin’de Mart – Eylül ayları arasında 56’sı çiğ süt, 16’sı pastörize süt ve 5’i süt tozundan oluşan toplam 77 örneği AFM₁ kontaminasyon seviyeleri açısından incelemişlerdir. Sonuç olarak çiğ sütlerde AFM₁ düzeylerini minimum 0,012 µg/l, maksimum 0,030 µg/l ve ortalama 0,016 µg/l olarak bildirmişlerdir. Ortalama değerler kıyaslandığında, çalışmamızda Ağustos ve Ekim aylarında alınan değerlere benzerlik göstermektedir. Hindistan’da çeşitli marketlerden toplanan bebek maması, süt tozu, devam sütü ve çiğ süttten oluşan 87 örnek AFM₁ varlığı açısından analiz edilmiştir. İncelenen 12 çiğ süt örneğinin 4’ünde tespit edilen AFM₁ değerlerinin en düşüğü 28 ng/kg ve en yükseği 164 ng/kg olarak belirlenirken, ortalaması 86 ng/kg olarak bildirilmiştir (Rastogi ve ark., 2004). Kamkar (2005) İran’da 2001 yılı boyunca her ayın 1., 14. ve 28. günlerinde topladığı 111 çiğ süt örneğinde, AFM₁ miktarlarını minimum 0,2 µg/l ve maksimum 0,28 µg/l olarak tespit etmiştir. Aylara göre ortalama değerleri kıyaslandığında en yüksek ortalamanın 0,118 µg/l ile Aralık ayında, en düşük ortalamanın 0,033 µg/l ile Eylül ayında tespit edildiği rapor edilmiştir. Suriye’de yürütülen bir çalışmada, çeşitli bölgelerden alınan çiğ inek sütü, çiğ koyun sütü, çiğ keçi sütü, pastörize süt ve süt tozu kullanılarak toplam 126

örnek AFM₁ için incelenmiş ve çiğ inek sütünde saptanan minimum, maksimum ve ortalama değerler sırasıyla 20 ng/l, 690 ng/l ve 143 ng/l olarak bulunmuştur (Ghanem ve Orfi, 2009). Bilandzic ve ark. (2010) Hırvatistan’da 2009 yılının Ocak, Şubat, Mart, Nisan aylarında (kış-ilkbahar) ve Haziran, Temmuz, Eylül aylarında (yaz-sonbahar) toplam 61 çiğ süt örneğinde AFM₁ kontaminasyonunu araştırmışlardır. Tespit edilen en düşük değer 0,6 ng/l ile Temmuz ayında, en yüksek değer 58,6 ng/l ile Şubat ayında belirlenmiştir. Ortalama en yüksek değer 21,8 ng/l ile Nisan’da ve en düşük değer 2,4 ng/l ile Temmuz ayında gözlenmiştir. Sırbistan’da Mayıs – Kasım ayları arasında 7 ay süre ile 6 farklı çiftlikten toplanan 80 çiğ süt örneğinde AFM₁ tayin çalışması yapılmıştır. Sonuç olarak tespit edilebilen minimum değer 4,3 ng/kg ile Ekim ayında, maksimum değer 39,8 ng/kg ile Kasım ayında alınmıştır. Araştırmacılar ortalama değerler arasında 23,4 ng/kg ile Kasım ayında belirlenen AFM₁ seviyesini en yüksek değer olarak saptamışlardır (Polovinski ve ark., 2016) ve bu çalışmamızda elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir. Hashemi (2016) tarafından İran’da yürütülen bir çalışmada 135’i farklı çiftliklere ve 33’ü çeşitli süt toplama merkezlerine ait toplam 168 çiğ süt ve 12 pastörize süt örneği AFM₁ için analiz edilmiştir. Çiğ sütlere ait maksimum değer çiftliklerden alınanlarda 99,9 ng/l ve toplama merkezlerinden alınan örneklerde 97,6 ng/l olarak ölçülmüştür. Ortalama AFM₁ değerleri ise çiftlik sütlerinde 18,2 ng/l ve toplama merkezlerinden olanlarda 29,8 ng/l olarak belirlenmiştir.

Bursa’da bulunan 18 farklı süt sığırcılığı işletmesinden toplanan 30 çiğ süt ve çeşitli marketlerde perakende satışa sunulan 54 UHT süt örneği ELISA tekniği kullanılarak AFM₁ için analiz edilmiştir. Çiğ sütlere ait AFM₁ değerleri incelendiğinde minimum değer 2,48 ng/kg, maksimum değer 18,93 ng/kg ve ortalama değer 7,23 ng/kg olduğu bildirilmiştir (Oruç ve ark., 2011). Aydın ve Denizli illerinde 81 çiğ süt örneği ile yapılan çalışmada AFM₁’in tespit edilen en düşük değeri 5,76 ng/l, en yüksek değeri 105,45 ng/l olarak bulunurken, ortalama AFM₁ değeri 33,88 ng/l olarak ölçülmüştür (Hazer, 2011). Saraç (2012) Giresun yöresinde yerel olarak üretilen 18 çiğ süt, 12 beyaz peynir ve 12 yoğurt örneği ile yaptığı çalışmada; AFM₁ yönünden analiz edilen çiğ sütlere tespit edilen en düşük değeri 0,001 ng/ml, en yüksek değeri 0,48 ng/ml ve ortalama değeri 0,011 ng/ml olarak rapor etmiştir. Iğdır’da 25 çiğ süt örneğinin incelendiği başka bir çalışmada, en düşük, en yüksek ve ortalama AFM₁ değerleri sırasıyla 0,018 ppb, 0,460 ppb ve 0,132 ppb olarak bulunmuştur (Uluçay,

2016). Sivas'ta açık olarak satışa sunulan 60 çiğ süt örneğinde, AFM₁ seviyeleri için en düşük değer 1,56 ng/l, en yüksek değer 133,78 ng/l ve ortalama değer 36,59 ng/l olarak saptanmıştır (Şimşek, 2017). Karadal ve ark. (2018) Niğde ilinde Haziran-Ağustos 2017 tarihleri arasında, 30'u inek, 30'u koyun ve 30'u keçi olmak üzere toplam 90 çiğ süt örneğinde AFM₁ varlığı ve düzeylerini araştırmışlar; sonuç olarak çiğ inek sütünde bu toksine ilişkin minimum, maksimum ve ortalama değerleri sırasıyla 1,84 ng/l, 88,77 ng/l. ve 15,88 ng/l olarak tespit etmişlerdir. Burdur'da bulunan süt işletmelerinden temin edilen 35 çiğ süt, çeşitli marketlerden alınan 35 pastörize ve 35 UHT süt örneği ile yapılan çalışmada; çiğ sütlerde AFM₁ kontaminasyon düzeylerinin en düşük 6,64 ng/l ve en yüksek 80,00 ng/l olarak belirlenmiştir. Çiğ sütlere ait ortalama AFM₁ değerleri ise 25.459 ng/l olarak bildirilmiştir (Türkoğlu, 2018).

Pastörize Süt Örneklerinde AFM₁ Düzeyleri

Haziran – Kasım ayları arasında 6 ay süre ile yapılan çalışmada; örnek bazında değerlendirildiğinde pastörize sütlerde tespit edilebilen minimum AFM₁ değeri 0,002 µg/kg ile Ağustos ayında, maksimum AFM₁ değeri ise 0,118 µg/kg ile Ekim ayında belirlendi. Haziran, Temmuz, Ağustos, Eylül, Ekim ve Kasım aylarına ait pastörize sütlerde bulunan ortalama AFM₁ seviyeleri sırasıyla 0,026, 0,008, 0,011, 0,019, 0,022 ve 0,025 µg/kg'dı. Pastörize sütlerde saptanan ortalama AFM₁ değerlerinde, aylar arasında anlamlı bir fark saptanamadı.

Arjantin'de Mart – Eylül ayları arasında 56'sı çiğ, 16'sı pastörize süt ve 5'i süt tozundan oluşan toplam 77 örnek AFM₁ kontaminasyonu açısından incelenmiştir. Çalışma sonucunda pastörize sütlerde AFM₁ seviyeleri için minimum değer 0,010 µg/l ve maksimum değer 0,017 µg/l olarak tespit edilirken, ortalama değer 0,013 µg/l olduğu bildirilmiştir (Lopez ve ark., 2003). Suriye'de yürütülen bir çalışmada çiğ inek sütü, çiğ koyun sütü, çiğ keçi sütü, pastörize süt ve süt tozundan oluşan toplam 126 örnek AFM₁ için analiz edilmiştir. Pastörize sütlerde saptanan minimum, maksimum ve ortalama AFM₁ değerleri sırasıyla 8 ng/l, 765 ng/l ve 492 ng/l olarak rapor edilmiştir (Ghanem ve Orfi, 2009). Sohrabi ve Gharahkoli (2016) İran'da yedi farklı kentsel ve kırsal alandan toplanan 49 pastörize süt, 18 yoğurt, 10 beyaz peynir ve 10

tereyağı ile AFM₁ analiz çalışması yapmışlardır. İncelenen pastörize süt örneklerinde AFM₁ düzeylerine ilişkin en düşük değer 3,3 ng/l, en yüksek değer 96,1 ng/l ve ortalama değer 23,30 ng/l olarak saptanmıştır. İran'dan bir diğer çalışmada 135'i farklı çiftliklere ait ve 33'ü çeşitli süt toplama merkezlerine ait olmak üzere toplam 168 çiğ süt ve 12 pastörize süt örneğinde AFM₁ taraması yapılmış; pastörize sütlere ait minimum, maksimum ve ortalama değerler sırasıyla 2,04 ng/l, 90,01 ng/l ve 32,23 ng/l olarak ölçülmüştür (Hashemi, 2016).

Türkiye'de gerçekleştirilen bir çalışmada; Burdur ilinde çeşitli marketlerden alınan 35 pastörize süt örneğinde AFM₁ ile kontaminasyonun seviyeleri en düşük 5,34 ng/l ve en yüksek 35,74 ng/l olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar örneklere ait ortalama AFM₁ değerlerini ise 12,86 ng/l olarak bildirmişlerdir (Türkoğlu, 2018).

Pastörize süt örneklerinde AFM₁ düzeyleri için çeşitli araştırmacılar tarafından alınan farklı sonuçlar; özellikle uygun olmayan üretim ve depolama koşullarında yemlerdeki küf gelişimi ve dolayısıyla AFB₁ oluşumu söz konusu olan yemlerle beslenen hayvanlardan elde edilen sütlerin AFM₁ içeriği ve miktarındaki farklılıklarla ilişkilendirilebilir.

Çiğ ve Pastörize Sütlere Saptanan Ortalama AFM₁ Düzeylerinin

Karşılaştırılması

Aylık yapılan ve 6 ay (Haziran, Temmuz, Ağustos, Eylül, Ekim, Kasım) süreyle yürütülen analiz çalışmalarında, çiğ sütlere en düşük ortalama AFM₁ değeri 0,017 µg/kg ile Ağustos ayında, en yüksek ortalama değer 0,050 µg/kg ile Kasım ayında alınan örneklerde belirlendi. Pastörize süt örneklerinde ise en düşük ortalama AFM₁ değeri 0,008 µg/kg ile Temmuz ayında, en yüksek ortalama değer 0,026 µg/kg ile Haziran ayında alınan örnekler için gözlendi.

Haziran, Temmuz, Ağustos, Eylül ve Kasım aylarında çiğ süt örneklerinde saptanan ortalama AFM₁ düzeylerinin, pastörize süt örneklerine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edildi. Ekim ayında alınan ortalama AFM₁ seviyelerinin ise, çiğ sütlere pastörize süt örnekleri için alınan değerlere göre daha düşüktü. İstatistiksel değerlendirme sonucunda ise yalnızca çiğ sütle Kasım ayında (0,0499 µg/kg) belirlenen ortalama AFM₁ değeri ile pastörize sütlerin Temmuz (0,0083 µg/kg) ve

Ağustos (0,0117 µg/kg) aylarında elde edilen ortalama değerleri arasında anlamlı bir fark olduğu tespit edildi. Yine AFM₁'in pastörize süt Temmuz ayı ortalama değeri ile çiğ süt Haziran, Eylül ve Kasım aylarına ait ortalama değerleri istatistiksel olarak farklılık gösterdi.

Çeşitli ülkelerde farklı araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları, ortalama AFM₁ seviyelerinin çiğ sütlerde ya da pastörize süt örneklerinde daha yüksek olduğunu göstermektedir. Arjantin'de 56 çiğ süt, 16 pastörize süt ve 5 süt tozu örneği ile yürütülen bir çalışmada çiğ sütlere ait ortalama AFM₁ değeri 0,016 µg/l iken, pastörize sütlere ait ortalama AFM₁ değeri 0,013 µg/l olarak bulunmuştur (Lopez ve ark., 2003). Ghanem ve Orfi (2009), Suriye'nin çeşitli bölgelerinden topladıkları 74 çiğ inek sütü, 23 çiğ koyun sütü, 11 çiğ keçi sütü, 10 pastörize süt ve 8 süt tozu olmak üzere toplam 126 örneği AFM₁ yönünden analiz etmişlerdir. Çiğ inek sütüne ait ortalama değer 143 ng/l, çiğ koyun sütüne ait ortalama değer 67 ng/l ve çiğ keçi sütüne ait ortalama değer 19 ng/l olarak bulunurken, pastörize sütler için ortalama değeri 492 ng/l olarak tespit etmişlerdir. Hashemi (2016) İran'da 135'i farklı çiftliklere ve 33'ü çeşitli süt toplama merkezlerine ait toplam 168 çiğ süt ve 12 pastörize süt örneğinde AFM₁ analizi gerçekleştirmişlerdir. Çiğ sütlere ait ortalama değer çiftliklerden alınan sütlerde 18,26 ng/l ve toplama merkezlerinden sütlerde 29,82 ng/l olarak bulunurken, pastörize sütlerde bu değer 32,23 ng/l olarak kaydedilmiştir. Türkoğlu (2018) tarafından Burdur'da yürütülen çalışmada çiğ, pastörize ve UHT olmak üzere toplam 105 süt örneğinde; ortalama AFM₁ değerlerinin çiğ sütlerde 25.459 ng/l ve pastörize sütlerde 12,869 ng/l düzeyinde olduğu rapor edilmiştir.

Çiğ ve Pastörize Sütlerde Saptanan AFM₁ Düzeylerinin AB/TGK Limitleriyle Karşılaştırılması

Avrupa Birliği (AB) (European Commission, 2006) ve Türkiye'de (TGK, 2011) çiğ süt ve ısıtılmış sütlerde AFM₁ seviyeleri için kabul edilebilir maksimum değer 0,05 µg/kg olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda HPLC analiz metoduyla incelenen çiğ süt örneklerinden %25'inin (15/60) AB ve/veya TGK tarafından kabul edilen yasal limiti aşan düzeylerde AFM₁ içerdiği görülmüştür.

Çiğ sütler ile daha önce gerçekleştirilen uluslararası bazı çalışmalarda AFM₁ düzeyinin AB yasal limitlerini aştığı saptanan örneklerin oranını; Kamkar (2011) %14,7, Nile ve ark. (2016) %20,5, Hazer (2011) %24,7, Hashemi (2016) %28, Jaksic ve ark. (2017) %34,4, Omar (2016) %60,0, Assem ve ark. (2011) %60,71 ve Polovinski ve ark. (2009) %63,1 olarak rapor etmişlerdir. Yine AFM₁ seviyelerinin Arjantin'de (Alonso ve ark., 2010) çiğ süt örneklerinin %11'inde, İran'da (Ghiasian ve ark., 2007) %11,7'sinde, Kuveyt'te (Dasthi ve ark., 2009) %7,2'sinde, Brezilya'da (Picinin ve ark., 2013) %19,95'inde, İran'da (Kamkar, 2005) %40'ında, Libya'da (Elgerbi ve ark., 2004) %97'sinde ve Hindistan'da (Rastogi ve ark., 2004) %99'unda AB limit değerlerinin üzerinde olduğu bildirilmiştir.

Türkiye'den çeşitli araştırmacıların çiğ sütlerde AFM₁ seviyeleri ve yasal limitler açısından değerlendirilmesine yönelik çalışmaları yer almaktadır. Özsunar (2005) Trakya bölgesinden 135 çiğ süt örneğini AFM₁ içeriği bakımından analiz etmiş, AFM₁ kontaminasyonu gözlenen 116 örnekten yalnızca 1'inde (%0,7) AFM₁ değerini 0,05 µg/l'nin üzerinde bulmuştur. Erzurum'da (Atasever ve ark., 2006) 127 çiğ süttten 14'ünün (%11,2), Burdur'da (Türkoğlu, 2018) 35 örnekten %14,28'inin, İstanbul'da (Bostan ve ark., 2005) 67 çiğ süt örneğinden 16'sının (%23,9), Ağrı'da (Kantemir, 2007) 156 örnekten 39'unun (%24,9), Ankara'da (Akdemir ve Altıntaş, 2004) 34 örnekten %33,3'ünün, Van'da (Bakırcı, 2001) 90 çiğ süt örneğinden 35'inin (%44,3), Bursa'da (Oruç ve ark., 2005) ova ve dağ köylerinden elde edilen 115 çiğ süttün 69'unun (%60), Ankara (Topçu, 2006) ve Aydın'da (Kök, 2006) analiz edilen çiğ sütlerin sırasıyla %58,1 ve %61,5'inin ve Kayseri'de (Baldu ve ark., 2011) 90 örneğin %70'inin AFM₁ düzeylerinin TGK limit değerleri üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde Yurt ve Uluçay (2016) çiğ sütlerde kabul edilebilir maksimum limitleri aşan düzeylerde AFM₁ içeren örneklerde yüksek bir insidens oranı (%80,0) rapor etmişlerdir.

Mevcut çalışmada HPLC analizi sonuçları 60 pastörize süttten 7'sinde (%11,7), AFM₁ düzeyinin TGK Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen maksimum limitin üzerinde olduğunu gösterdi. Bu değerle kıyaslandığında; gerek uluslararası gerekse ülkemizde yürütülen çeşitli çalışmalarda AB ve/veya TGK'da izin verilen AFM₁ düzeylerini aşan pastörize süt örneklerinde benzer, daha düşük veya daha yüksek insidens oranları bildirilmiştir.

Lopez ve ark. (2003) Arjantin’de, Tajik ve ark. (2007) ise İran’da analiz edilen pastörize süt örneklerinden hiç birinin, AB yasal limiti üzerine çıkan düzeylerde AFM₁ içermediğini bildirmişlerdir. Tajik ve ark. (2007)’nin İran’ın Urmia şehrinde farklı marketlerden topladıkları 72 pastörize süt örneğiyle yaptıkları çalışmanın sonucunda, tüm süt örneklerinin AFM₁ ile kontamine olduğu ve bunların %6.25’inde yasal sınırın aşıldığı tespit edilmiştir. Fas’ta bir çalışma (Zinedine ve ark., 2007) 54 pastörize süt örneğinin %7,4’ünde AFM₁ miktarını 0,05 µg/l değerinin üzerinde göstermiştir. Pastörize sütler için İran’da (Sohrabi ve Gharahkoli, 2016) %8,1 ve Singapur’da (Omar, 2016) %12’lik limit üzerinde AFM₁ içeren insidens oranları bulunmuştur. İran’da yapılan çalışmalarda Alborzi ve ark. (2006) 124 örneğin %17,8’inin ve Fallah ve ark. (2010) 83 örnekten %71,5’inin yasal limit değerleri üzerinde AFM₁ içerdiğini gözlemlemişlerdir. Siddappa ve ark. (2012), Hindistan’da HPLC analiz yöntemini kullanarak 7 pastörize süt örneğinde AFM₁ taraması yapmışlar ve 3 örneğin (%42,9) AB’nin belirlediği yasal toksin sınırı olan 50 ng/l’yi geçtiğini tespit etmişlerdir. Riahi-Zanjani ve ark. (2013) Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında, her ay 15 pastörize süt örneğinde AFM₁ varlığını araştırmışlar ve yalnızca Eylül ayındaki örneklerin %28,9’unda yasal düzeyin aşıldığını bildirmişlerdir.

Ülkemizde Kocasarı ve ark. (2012) tarafından yürütülen çalışmada, 45 pastörize süt örneğinin yalnızca 2’sinde (%4,4) kabul edilen değerler üzerinde AFM₁ saptanmıştır. Türkoğlu (2018) ise Burdur’da satılan ve analiz edilen pastörize sütlerden hiçbir örneğin AB limitleri üzerine çıkmadığını bildirmiştir. Diğer taraftan Ankara’da Sarımeahmetoğlu ve ark. (2000) 85 pastörize sütü ELISA yöntemiyle AFM₁ için test etmişlerdir. Örneklerden 75’inin AFM₁ pozitif olduğunu ve 48’inde (%64) AFM₁ düzeyinin Türkiye için bildirilen limit değerinin üzerinde olduğunu gözlemlemişlerdir. Yine Ankara’dan bir diğer çalışmada 85 pastörize süt örneğinden %64’ünün TGK limit değerleri üzerinde AFM₁ bulundurduğu belirlenmiştir (Çelik ve ark., 2005).

Genel olarak, tez çalışmamız ve diğer çalışmalarda analiz edilen çiğ ve pastörize süt örnekleri için saptanan AFM₁ insidensleri ve düzeylerinin farklılık gösterdiği dikkat çekmektedir. AFB₁ ile kontamine yemlerle beslenen süt hayvanlarında, AFB₁ hidroksilasyon sonucu AFM₁’e dönüşmekte ve bu şekilde sütleriyle atılmaktadır. Dolayısıyla bu farklılıklar; sütün alındığı coğrafik bölge, iklim koşulları, analiz

metodu, hayvanın beslendiği yem, yemlerin muhafaza ve depolama koşulları gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanabilmektedir (Oruç ve ark., 2005; Yentür ve Er, 2011). Öyle ki mevsimsel olarak genellikle kış aylarında analiz edilen sütlerde bulunan AFM₁ miktarlarının, yaz aylarında belirlenen değerlere göre daha yüksek seyrettiği bildirilmektedir. Bunun sebebi olarak da, yaz aylarında meralarda ve açık alanda daha fazla vakit geçiren hayvanların taze yeşil otlarla beslenmesi, kışa oranla daha az yem tüketmesi ve daha az AFB₁'e maruz kalması gösterilebilir. Ayrıca gıdalarda AFM₁'in tespiti ve miktarının belirlenebilmesi amacıyla yararlanılan analiz metodları da farklılık göstermektedir. Bu yöntemlerden ELISA kolay uygulanabilirliği, ekonomik olması, kısa sürede fazla sayıda örneğin analizine olanak sağlaması ve yüksek verimliliğe sahip olması gibi sebeplerle yaygın olarak kullanılmaktadır. Diğer taraftan kromatografik yöntemler arasında yer alan HPLC, uzun analiz süreci ve yüksek maliyetine rağmen, immunolojik metodlara kıyasla daha hassas sonuçlar elde edilmesi nedeniyle tercih edilen bir metoddur (Stefanovic ve ark., 2015).

Mevcut çalışma Bursa'da tüketime sunulan çiğ ve pastörize süt örneklerinde AFM₁ insidensinin oldukça yüksek olduğunu, çiğ süt örneklerinin 0,017-0,050 µg/kg ve pastörize sütlerin 0,008-0,026 µg/kg arasında değişen miktarlarda aflatoksin M₁ içerdiğini, ayrıca çiğ süt örneklerinin %25'inde ve pastörize süt örneklerinin %11.7'sinde AFM₁ düzeylerinin AB ve TGK tarafından kabul edilen maksimum limitlerin üzerinde olduğunu göstermektedir. Sağlıklı beslenmede süt ve süt ürünlerinin çok önemli bir yere sahip olması sebebiyle, AFM₁ ile kontaminasyonları halk sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. AFM₁ detoksifikasyon yöntemlerinin kolay ve uygulanabilir olmaması, ekonomik olarak yapılamaması, pastörizasyon ve sterilizasyon gibi ısı işlem uygulamalarıyla yıkımlanamaması söz konusu toksinin oluşumuna en başından engel olmayı gerektirmektedir. Bu amaçla; hayvan yemlerinde küf gelişiminin önlenmesi, küfle bulaşmış olan yemlerin hayvanlara yedirilmemesi, yemlerin izin verilen yasal limitlere göre analiz edilerek denetlemelerin artırılması, yasal sınırları aşan gıda ve yemlerin tüketimlerinin yasaklanması, çalışanların bu konu ile ilgili bilinçlendirilmesi önem arz etmektedir. İyi ve sağlıklı tarım uygulamaları kapsamında yemlerin sağlıklı koşullarda üretilmesi, hasat edilmesi ve depolanması; yine satışa sunulan sütlerin hijyenik koşullarda üretilmesi, süt ve yemlerin, yem konulan kapların rutin olarak kontrolünün sağlanması

dikkat edilmesi gereken diğer hususlar arasında yer almaktadır. Ayrıca mikotoksin analizlerinde ekonomik ve duyarlılığı yüksek testlerin geliştirilmesi ile mikotoksinlerin izlenebilirliklerinin sürekliliği, güvenli üretim ve halk sağlığı açısından ciddi önem taşımaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Adhikari M, Negi B, Kaushik N et al. (2017) T-2 mycotoxin: toxicological effects and decontamination strategies. *Oncotarget* 8(20): 33933-33952.
- Akdemir Ç, Altıntaş A (2004) Ankara’da işlenen sütlerde aflatoksin M₁ varlığının ve düzeylerinin HPLC ile araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 51: 175-179.
- Aksoy A, Yavuz O, Güvenç D ve ark. (2010) Determination of aflatoxin levels in raw milk, cheese and dehulled hazelnut samples consumed in Samsun province, Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 16: 13-16.
- Alatalı C (2017) Pastörize günlük süt ve UHT süt örneklerinde aflatoksin M₁ varlığı ve düzeyinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Alborzi S, Rashidi M, Astaneh B (2006) Aflatoxin M₁ contamination in pasteurized milk in Shiraz (south of Iran). *Food Control* 17(7): 582–584.
- Alexopoulos CJ, Mims CW (1979) *Introductory Mycology*. 3rd Edition, Wiley.
- Alkan Y, Gönülalan Z (2006) Amasya ilinde satışa sunulan beyaz peynirlerde aflatoksin M₁, rutubet ve asidite değerleri üzerine bir araştırma. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 15(2): 91-98.
- Alonso VA, Monge MP, Larriestra A et al. (2010) Naturally occurring aflatoxin M₁ in raw bulk milk from farm cooling tanks in Argentina. *Food Additives and Contaminants* 27(3): 373-379.
- Alshannaq A, Yu JH (2017) Occurrence, toxicity and analysis of major mycotoxins in food. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14(6): 632.
- Anonymous (2003) *Micotoxinas online the aflatoxins*. www.micotoxinas.com.br.
- Arda M (2000) *Temel Mikrobiyoloji*. Genişletilmiş 2. Baskı, Medisan Yayın Serisi, Ankara, s: 1-548.
- Assem E, Mohamad A, Oula EA (2011) A survey on the occurrence of aflatoxin M₁ in raw and processed milk samples marketed in Lebanon. *Food Control* 22(12): 1856-1858.
- Atasever M, Nizamlıoğlu M, Özturhan K ve ark. (2006) Erzurum bölgesinde tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinin aflatoksin M₁ yönünden incelenmesi. 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, İstanbul, s: 231-240.
- Bahrami R, Shahbazi Y, Nikou SZ (2016) Aflatoxin M₁ in milk and traditional dairy products from west part of Iran: occurrence and seasonal variation with an emphasis on risk assessment of human exposure. *Food Control* 62(1): 250– 256.

- Bakırcı İ (2001) A study on the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control* 12(1): 47-51.
- Baumgartner EA, Lindblade K, Giesecker K et al. (2005) Case-control study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya, 2004. *Environmental Health Perspectives* 113(12): 1779-1783.
- Behfar A, Khorasgani ZN, Ziyaaddin AMG et al. (2012) Determination of aflatoxin M₁ levels in produced pasteurized milk in ahvaz city by using HPLC. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Production* 7(2): 80-84.
- Besler T, Ünal RN (2008) Beslenmede Sütün Önemi. 1.Baskı, Klasmet Matbaacılık, Ankara, s: 56-62.
- Bilandzic N, Varenina I, Solomun B (2010) Aflatoxin M₁ in raw milk in Croatia. *Food Control* 21(9): 1279–1281.
- Bilandzic N, Varenina IK, Kolanovic BS et al. (2016) Monitoring of aflatoxin M₁ in raw cow milk in Croatia during winter 2015. *Mljekarstvo* 6(1): 81-85.
- Bilgin Ö (2014) İnek, koyun, keçi sütlerinde yaz ve kış mevsimlerinde aflatoksin M₁ düzeyinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Bognanno M, La Fauci L, Ritieni A et al.(2006) Survey of the occurrence of aflatoxin M₁ in ovine milk by HPLC and its confirmation by MS. *Molecular Nutrition and Food Research* 50(3): 300-305.
- Bostan K, Çetin Ö, Büyükuşal SK ve ark. (2005) İstanbul'da satışa sunulan içme sütü örneklerinde aflatoksin M₁ düzeyleri üzerine bir araştırma. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi* 7: 15-20.
- Buldu HM, Koç AN, Uraz G (2011) Aflatoxin M₁ kontaminasyon in cow's milk in Kayseri (central Turkey). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 35(2): 87-91.
- Calado T, Venancio A, Abrunhosa L (2014) Irridation for mold and mycotoxin control: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13: 1049-1061.
- Coşkun T, Şanlı T (2016) Süt ve süt ürünlerinde kalıntılar. *Academic Journal of Food* 14(1): 67-74.
- Creepy EE (2002) Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters* 127(1-3): 19-28.
- Çankırı B, Uyarlar C (2013) Mikotoksinlerin süt sığırlarının beslenmesindeki yeri ve önemi. *Kocatepe Veteriner Dergisi* 6(2): 57-69.
- Çelik TH, Sarımehtemoğlu B, Küplülü O (2005) Aflatoxin M₁ contamination in pasteurised milk. *Veterinarski Arhiv* 75(1): 57-65.
- Çolakoğlu G (1999) Tohumuz Bitkiler Sistematiği. No:648, Marmara Üniversitesi Yayınları, İstanbul, s: 138-139.

- Dashti, B, Al-Hamli S, Alomirah H et al. (2009) Levels of aflatoxin M₁ in milk, cheese consumed in Kuwait and occurrence of total aflatoxin in local and imported animal feed. *Food Control* 20(7): 686-690.
- Demir G, Özcan HK, Elmaslar E ve ark. (2004) Decolorization of azo dyes by the White rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Engineering and Natural Sciences* 2006 (3): 74-85.
- Doğan E (2012) Ardahan yöresinden toplanan süt ve kaşar peynirlerinde aflatoksin M₁ düzeylerinin mevsimlere göre araştırılması. Doktora Tezi. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Elgerbi AM, Aidoo KE, Candlish AAG et al. (2004) Occurrence of aflatoxin M₁ in randomly selected North African milk and cheese samples. *Food Additives and Contaminants* 21(6): 592-597.
- Erkan ME, Vural A, Güran HŞ (2009) Diyarbakır örgü peynirlerinde aflatoksin M₁ ile verotoksin 1 ve 2 varlığının araştırılması. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1(1): 19-25.
- Erkel İ (1992) Dünya’da ve Türkiye’de kültür mantarcılığının durumu. IV. Yemeklik Mantar Kongresi, İstanbul 1: 2-8.
- Erol İ (2007) Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi. 2007 basımı, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Ankara.
- European Commission-EC (2006) Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Foodstuffs, B Commission Regulation (EC), EC-1881/2006, 17-18.
- FAO (2006) Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database (FAOSTAT) Agricultural Database Web Page <http://www.fao.org/faostat/en/#home>.
- Fallah AA (2010) Assessment of aflatoxin M₁ contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. *Food and Chemical Toxicology* 48(3):988-991.
- Fallah AA, Rahnama M, Jafari T et al. (2011) Seasonal variation of aflatoxin M₁ contamination in industrial and traditional Iranian dairy products. *Food Control* 22(10): 1653-1656.
- Food and Drug Administration-FDA (1996) Sec. 527.400 whole milk, low fat milk, skim milk–aflatoxin M₁ (CPG 7106.210). FDA compliance policy guides. DC: FDA, Washington, pp: 219.
- Ghanem I, Orfi M (2009) Aflatoxin M₁ in raw, pasteurized and powdered milk available in the Syrian market. *Food Control* 20(6): 603-605.
- Ghiasian SA, Maghsood AH, Tirang R et al. (2007) Occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk during the summer and winter seasons in Hamedan, Iran. *Journal of Food Safety* 27: 188-198.
- Girgin B, Başaran N, Şahin G (2001) Dünya’da ve Türkiye’de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. *Türk Hijyeni Deneysel Biyoloji Dergisi* 58(3): 97-118.
- Göcükoğlu A, Çadırcı Ö, Özpınar N (2010) UHT süt ve peynir örneklerinde aflatoksin M₁ varlığının belirlenmesi. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 21: 45-50.

- Gurban AM, Epure P, Oancea F et al. (2017) Achievements and prospects in electrochemical-based biosensing platforms for aflatoxin M₁ detection in milk and dairy products. *Sensors* 17(12): 2951.
- Gürhayta OF, Çağındı Ö (2015) Kurutulmuş meyvelerde aflatoksin ve okratoksin A varlığının ve sağlık üzerine etkilerinin değerlendirilmesi. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 2(2): 327-338.
- Gürbay A, Aydın S, Girgin G ve ark. (2006) Assessment of aflatoxin M₁ levels in milk in Ankara, Turkey. *Food Control* 17(1): 1-4.
- Hashemi M (2016) A survey of aflatoxin M₁ in cow milk in Southern Iran. *Journal of Food and Drug Analysis* 24(4): 888-893.
- Hazer A, 2011, Denizli ve Aydın illerinden elde edilen çiğ sütlerde aflatoksin M₁ prevalansı ve miktarının aranması. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Hussain I, Anwar J (2008) A study on contamination of aflatoxin M₁ in raw milk in the Punjab province of Pakistan. *Food Control* 19(4): 393-395.
- Hussain I, Anwar J, Asi MR et al. (2010) AFM₁ contamination in milk from five dairy species in Pakistan. *Food Control* 21(2): 122-124.
- IARC (1993) Some naturally occurring substances: food items and constituents heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon, France, 56: 245-395.
- İpçak HH, Akçiçek A (2013) Yemlerde aflatoksin gelişimi ve süte geçme durumu. 8. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Çanakkale, s: 502-511.
- Jaksic S, Balos MZ, Radulovic JP et al. (2017) Aflatoxin M₁ in milk and assessing the possibility of its occurrence in milk products. *Arhiv Veterinarske Medicine* 10(1):37-49.
- Kamkar A (2005) A study on the occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Control* 16(7): 593-599.
- Kantemir M (2007) Ağrı'da tüketilen çiğ ve UHT sütlerde aflatoksin M₁ tayini. Yüksek Lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Karadal F, Onmaz NE, Hızlısoy H ve ark. (2018) Niğde ilindeki çiğ koyun, keçi ve inek sütlerinde aflatoksin M₁ düzeyleri. *Kocatepe Veteriner Dergisi* 11(2): 119-125.
- Karapınar HS (2013) Bazı gıdaların aflatoksin içeriğinin HPLC metodu ile tayini. Yüksek Lisans Tezi. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Karaman.
- Kaya S (2001) Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Editör: Pirinççi İ, Bilgili A, Mikotoksinler. 2. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, s: 537-574.
- Kayaalp O (2013) Kayseri ilinde tüketime sunulan manda yoğurtlarında aflatoksin M₁'in prevalansı. Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Kılıç S (2010) Süt Mikrobiyolojisi, 1. Baskı, Sidas Medya İzmir s: 123-132.
- Kızıl M, Demir P, Erkan S ve ark. (2017) Elazığ ilinde satılan çiğ süt ve UHT sütlerde aflatoksin M₁ düzeyi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 10(2):115-121.

- Kireççi E, Savaşçı M, Ayyıldız A (2007) Sarıkamış'ta tüketilen süt ve peynir ürünlerinde aflatoksin M₁ varlığının belirlenmesi. *İnfeksiyon Dergisi* 21(2): 93-96.
- Kocasarı FS, Taşçı F, Mor F (2012) Survey of aflatoxin M₁ in milk and dairy products consumed in Burdur, Turkey. *International Journal of Dairy Technology* 65: 365-371.
- Kos J, Mstilovic J, Hajnal EJ et al. (2013) Natural occurrence of aflatoxins in maize harvested in Serbia during 2009-2012. *Food Control* 34(1): 31-34.
- Kowalska A, Walkiewicz K, Koziel P (2017) Aflatoxins: characteristics and impact on human health. *Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczonej (Online)* 71(0):315-327.
- Kök Z (2006) Aydın ili ve çevresinde üretilen süt ve süt ürünlerinde aflatoksin varlığının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Kumar P, Mahato DK, Kamle M (2016) Aflatoxins: a global concern for food safety, human health and their management. *Frontiers in Microbiology* 7: 2170. doi:10.3389/fmicb.2016.02170.
- Laderia C, Frazzoli C, Orisakwe OE (2017) Engaging one health for non-communicable diseases in Africa: perspective for mycotoxins. *Frontiers in Public Health* <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00266>.
- Lagana A (2017) Introduction to the toxins special issue on LS-MS/MS methods for mycotoxin analysis. *Toxins* 9(10): 325.
- Lin LC, Liu FM, Fu YM et al. (2004) Survey of aflatoxin M₁ contamination of dairy products in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis* 12(2): 154-160.
- Lopez CE, Ramos LL, Ramad SS et al. (2003) Presence of aflatoxin M₁ in milk for human consumption in Argentina. *Food Control* 14(1): 31-34.
- Madalı B, Ayaz A (2017) Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M₁: Maruziyet ve sağlık riskleri. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi* 4(1): 1-14.
- Manzi P, Aquzzi A, Pizzoferrato L (2001) Nutritional value of mushrooms widely consumed in Italy. *Food Chemistry* 73 (3): 321-325.
- Markaki P, Melissari E (1997) Occurrence of aflatoxin M₁ in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC. *Food Additive and Contaminants*. 14(5):451-456.
- Marnissi BE, Belkhou R, Morgavi PD et al. (2012) Occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk collected from traditional dairies in Morocco. *Food and Chemical Toxicology* 50(8): 2819-2821.
- Martins ML, Martins HM (2000) Aflatoxin M₁ in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal. *Food Additive and Contaminants* 17(10): 871-874.
- Milicevic DR, Skrinjar M, Baltic T (2010) Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: challenges for food safety control. *Toxins* 2(4): 572-592.

- Mohammadi SA, Khezri M, Moradnia H (2012) Determination of Aflatoxin M₁ in Milk by ELISA Technique in Mashhad (Northeast of Iran). *ISRN Toxicology* 1-4.
- Mohammadi H, Shokrzadeh M, Aliabadi Z et al. (2016) Occurrence of aflatoxin M₁ in commercial pasteurized milk samples in Sari, Mazandaran province, Iran. *Mycotoxin Research* 32(2):85-87.
- Nile SH, Park SW, Khobragade CN (2016) Occurrence and analysis of aflatoxin M₁ in milk produced by Indian dairy species. *Food and Agricultural Immunology* 27(3): 358-366.
- Nizamlioglu NM, Çan AH (2010) Gıda ve yemlerde önemli mikotoksinler: sitrinin, streoviridin ve sterigmatosistin. *Academic Food Journal* 8(5): 29-36.
- Nuryano N, Agus A, Wedhastri S et al. (2009) A limited survey of aflatoxin M₁ in milk from Indonesia by ELISA. *Food Control* 20(8): 721-724.
- Oğuz H (2017) Mikotoksinler ve önemi. *Türkiye Klinikleri Veterinary Sciences - Pharmacology Toxicology - Special Topics* 3(2): 113-9.
- Omak G, Özcan T, Ersan LY (2016) Biyolojik detoksifikasyon ve probiyotikler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 30(1): 157-168.
- Omar SS (2016) Aflatoxin M₁ levels in raw milk, pasteurised milk and infant formula. *Italian Journal of Food Safety* 5(3):5788.
- Ortatatlı M, Oğuz H (2001) Ameliorative effects of dietary clinoptilolite on pathological changes in broiler chickens during aflatoxicosis. *Research in Veterinary Science* 71: 59-66.
- Oruç HH, Sonal S (2001) Determination of aflatoxin M₁ levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey. *Veterinary and Human Toxicology* 43(5): 292-293.
- Oruç HH (2005) Mikotoksinler ve tanı yöntemleri. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 24(1-2-3-4): 105-110.
- Oruç HH, Kalkanlı Ö, Cengiz M ve ark. (2005) Bursa'nın ova ve dağ köylerinden toplanan çiğ sütlerde aflatoksin M₁ düzeyleri. 2. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, İstanbul, s: 124-127.
- Oruç HH, Temelli S, Sorucu A (2011) Bursa'da çiğ süt ve UHT sütlerde aflatoksin M₁ düzeyleri. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 30(2): 1-4.
- Öksüztepe G, Erkan S (2016) Mikotoksinler ve halk sağlığı açısından önemi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 5(2): 190-195.
- Özdamar K (2001) SPSS ile Biyoistatistik (Tıp, Biyoloji, Eczacılık ve Diş Hekimliği Öğrencileri İçin). Güncelleştirilmiş 4. Baskı, Kaan Kitapevi, Eskişehir.
- Özdemir M (2007) Determination of aflatoxin M₁ levels in goat milk consumed in Kilis province. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 54: 99-103.
- Özkaya Ş, Temiz A (2003) Aflatoksinler: kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 1(1): 1-21.
- Özsunar A (2005) Trakya Bölgesi'nde Üretilen İnek Sütlerinde Aflatoksin M₁ Varlığı. Yüksek Lisans Tezi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

- Özturan K (2005) Süt ve süt ürünlerinde ELISA yöntemiyle aflatoksin M₁ aranması. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Öztürk A, Çopur ÖU (2009) Mantar bileşenlerinin terapötik etkileri. Bahçe 38(1): 19-24.
- Öztürk B (2009) Kefirin in-vivo ortamdaki aflatoksin detoksifikasyonunda antioksidan savunma ile GSTM1 ve GSTT1 gen ekspresyon profillerine etkisi. Doktora Tezi. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Öztürk N, Basım E, Mamay M (2017) Yemeklik kültür mantarı üretim alanlarında görülen genel mantar zararlıları ve mücadelesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi 21(4): 507-523.
- Peraica M, Radic B, Lucic A et al. (1999) Toxic effect of mycotoxins in humans. Bulletin of the World Health Organization 77(9): 754-766.
- Picinin LCA, Cerqueira MMOP, Vargas EA et al. (2013) Influence of climate conditions on aflatoxin M₁ contamination in raw milk from Minas Gerais State, Brazil. Food Control 31(2): 419-424.
- Polat N (2012) Erzurum ilindeki bazı süt sığırcı işletmelerinde kullanılan kaba, konsantre ve karma yemlerde total aflatoksin, aflatoksin B₁ ve okratoksin ile sütte aflatoksin M₁ düzeylerinin tespiti. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Polovinski-Horvatovic MS, Juric VB, Glamocic D (2009) The frequency of occurrence of aflatoxin M₁ in milk on the territory of vojvodina. Matica Srpska Proceedings For Natural Sciences 116:75-80.
- Rahimi E, Shakerian A, Jafariyan M et al. (2009) Occurrence of aflatoxin M₁ in raw, pasteurized and UHT milk commercialized in Esfahan and Shahr-e Kord, Iran. Food Security 1(3):317-320.
- Rama A, Montessia C, Lucatello L (2016) A study on the occurrence of aflatoxin M₁ in milk consumed in Kosova during 2009-2010. Food Control 62: 52-55.
- Rastogi S, Dwivedi PD, Khanna SK (2004) Detection of aflatoxin M₁ contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. Food Control 15(4): 287-290.
- Riahi-Zanjani B, Balali-Mood M (2013) Aflatoxin M₁ contamination in commercial pasteurized milk from local markets in Fariman, Iran. Mycotoxin Research 29(4):271-274.
- Roussi V, Govaris A, Varagouli A et al. (2002) Occurrence of aflatoxin M₁ in raw and market milk commercialized in Greece. Food Additives & Contaminants 19(9): 863-868.
- Ruangwises S, Ruangwises N (2009) Occurrence of aflatoxin M₁ in pasteurized milk of the school milk project in Thailand. Journal of Food Protection 72(8):1761-1763.
- Sabuncuoğlu SA, Baydar T, Giray B ve ark. (2008) Mikotoksinler: toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 28(1): 63-92.

Saraç (2012) Türkiye’de üretilen işlenmiş süt ve bazı süt ürünleri ile Giresun yöresinde üretilen çiğ sütlerin aflatoksin M₁ düzeylerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon.

Sarımeahmetoğlu B, Çelik TH, Özdemir H (2000) Pastörize sütlerde ELISA yöntemiyle aflatoksin M₁ varlığının ve düzeylerinin saptanması. IV. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, Ankara, s: 16-17.

Sassahara MA, Netto DP, Yanaka EK (2005) Aflatoxin occurrence in foodstuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M₁ in raw milk in the North of Parana state. Food and Chemical Toxicology 43(6): 981-984.

Sekme S (2011) Çeşitli mantarlarda polifenol oksidaz indüksiyonunun incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Siddappa V, Nanjegowda DK, Viswanath P (2012) Occurrence of aflatoxin M₁ in some samples of UHT, raw & pasteurized milk from Indian states of Karnataka and Tamilnadu. Food and Chemical Toxicology 50(11):4158-4162.

Sohrabi N, Gharahkoli H (2016) A seasonal study for determination of aflatoxin M₁ level in dairy products in Iranshahr, Iran. Current Medical Mycology 2(3): 72-31.

Stefanovic S, Spiric D, Petronijevic R (2015) Comparison of two analytical methods (ELISA and LC-MS/MS) for determination of aflatoxin B₁ in corn and aflatoxin M₁ in milk. Procedia Food Science 5: 270-273.

Sur E, Çelik İ, Öznurlu Y ve ark. (2011) Enzyme histochemical and serological investigations on the immune system from chickens treated in ovo with aflatoxin B₁ (AFB₁). Revue de Medicine Veterinaire 162(10): 443-448.

Şimşek G (2017) Sivas’ta tüketilen çiğ sütlerde aflatoksin M₁ varlığı. Yüksek Lisans Tezi. Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

Tajik H, Rohani SMR, Moradi M (2007) Detection of aflatoxin M₁ in raw and commercial pasteurized milk in Urmia, Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences 10(22): 4103-4107.

Topçu SÖ (2006) Ankara sokak sütü ve peynir örneklerinde maya izolasyonu, sütlerden aflatoksin M₁ tayini. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Tunail N (2000) Mikrobiyel Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar. Genişletilmiş 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını, Sim Matbaası, Ankara.

Tuz MK (2016) Devam sütlerinde aflatoksin M₁’in araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

Tünel GY, Çalapoğlu NŞ (2017) Mikotoksinler ve moleküler düzeydeki etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 24(1): 24-28.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGK) (2000) Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. Resmi Gazete, 14 Şubat 2000, Tebliğ No. 2000/6, Başbakanlık Basımevi, s.23964.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGK) (2002) Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Seviyelerinin Resmi Kontrolleri İçin Numune Alma ve Analiz Metodları

Tebliği. Resmi Gazete, 25 Mart 2002, Tebliğ No. 2002/25, Başbakanlık Basımevi, s.24706.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (TGK) (2011) Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011, Başbakanlık Basımevi, s.28157.

Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi (2015) 1. Baskı, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara.

Türkoğlu Ç (2018) Çiğ, pastörize ve UHT sütlerde aflatoksin M1 ile okratoksin A varlığının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Burdur.

Uluçay B (2016) Iğdır ve yöresinde üretilen sütlerin bazı kimyasal özellikleri ve aflatoksin M₁ miktarının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Iğdır Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Iğdır.

Ulusal Süt Konseyi (2018) Süt ve süt ürünleri üretim istatistikleri. <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/istatistikler/>.

Wacoo AP, Wendiro D, Vuzi PC et al. (2014) Methods for detection of aflatoxins in agricultural food crops. *Journal of Applied Chemistry* 1-15. doi: 10.115572014/706291.

Widiastuti R, Anastasia Y (2018) Aflatoxin M₁ in fresh dairy milk from small individual farms in Indonesia. *Journal Ilmu Ternak dan Veteriner* 23(3): 143-149.

Wilson BJ (1978) Hazards of mycotoxins to public health. *Journal of Food Protection* 41(5): 375-384.

Yang Z, Wang H, Ying G et al. (2017) Relationship of mycotoxins accumulation and bioactive components variation in ginder after fungal inoculation. *Frontiers in Pharmacology* 8: 331.

Yentür G, Er B (2011) Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi. *Türk Hijyen Deneme Biyoloji Dergisi* 69(1): 41-52.

Yu J (2012) Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. *Toxins* 4(11): 1024-1057.

Yurt B, Uluçay B (2016) Determination of some chemical properties and aflatoxin M1 of raw milk cow milk produced in Iğdır and region. *International Conference on Natural Science and Engineering (ICNASE'16)*, Kilis.

Yücel A, Bayizit A (2001) Gıda Zehirlenmeleri ve Zoonoz Hastalıklar. 3. Baskı, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Ders Notları: 66, Bursa.

Zinedine A, González-Osnaya L, Soriano JM et al. (2007) Presence of aflatoxin M₁ in pasteurized milk from Morocco. *International Journal of Food Microbiology* 114(1):25-29.

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

AB	: Avrupa Birliği
AFB₁	: Aflatoksin Blue 1
AFB₂	: Aflatoksin Blue 2
AFG₁	: Aflatoksin Green 1
AFG₂	: Aflatoksin Green 2
AFM₁	: Aflatoksin Milk 1
AFM₂	: Aflatoksin Milk 2
a_w	: Su aktivitesi
CO₂	: Karbondioksit
EC	: Avrupa Komisyonu
ELISA	: Enzim Bağlı Immuno Sorbent Analizi
EMIT	: Enzim Aktivitesine Bağlı İmmunoteknik
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IAEA	: Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Vakfı
IAK	: İmmuno Affinity Kolon
kg	: kilogram
kGy	: İyonlaştırıcı radyasyonun maddenin birim kütlesinde soğurduğu enerji miktarı
LC - MS	: Sıvı Kromatografisi - Kütle Spektrometresi
LD₅₀	: Letal konsantrasyon %50
ml	: mililitre
MOS	: Mannan Oligo Sakkarit
µg	: mikrogram
NaCl	: Sodyum klorür
Ng	: nanogram
Nm	: Nanometre
OTA	: Okratoksin A
O₂	: Oksijen
TFC	: Turkish Food Codex
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TLC	: İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromotography)
UHT	: Ultra yüksek sıcaklıkta sterilizasyon
U.S. GAO	: Amerika Birleşik Devletleri Genel Muhasebe Ofisi
UV	: Ultraviyole ışını
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

8. TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca ilgisini ve desteğini sürekli hissettiren, çalışma konusunun seçimi, sağlıklı olarak yürütülmesi ve yazım aşamalarında yol gösteren, bilgi birikimi ve tecrübesini aktaran değerli hocam ve danışmanım Prof. Dr. Figen ÇETİNKAYA'ya, Bursa Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilimdalı Öğretim Üyeleri ile Bölüm Başkanı Prof. Dr. Gül Ece SOYUTEMİZ'e teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalışmalarımın başından beri desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen, her ayrıntısını detaylıca inceleyerek gelişmesini sağlayan, zorlandığım yerde yardımına koşan, tüm endişelerimi gideren, hep yol göstericim olan sevgili babam, Prof. Dr. İbrahim DİLER'e, çalışma için tüm koşulları sağlayan, benimle beraber aylarca stresini yaşayan biricik annem Seniha DİLER'e ve çevirilerime yaptığı katkılarının yanında maddî manevî en büyük destekçim olup her türlü sıkıntıya benimle birlikte katlanan can yoldaşım, eşim M. Safa ORAKÇI'ya teşekkür ederim.

En değerlim, canım kızım Elif Vera'ya ithafen...

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Fatma Büşra Diler (Orakçı)
Doğum Yeri : İzmir / Bornova
Doğum Tarihi: 28.10.1991
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : busradilerorakci@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise : Envar Anadolu Lisesi (2005-2009)
Lisans : İstanbul Medipol Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi
Beslenme ve Diyetetik Bölümü (2010-2014)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

2014 - 2015 : Özel İnegöl Aritmi Hastanesi
2015 - 2016 : Özel Çekirge Kalp ve Aritmi Hastanesi
2016 - 2019 : Büşra Diler Beslenme ve Danışmanlık
2019 - : Gençlik ve Spor Bakanlığı, Bursa İl Müdürlüğü
Sporcu Diyetisyeni

Yapılan Bilimsel Çalışmalar

Orakçı Diler B., Demirok E Ş, 2018, Ağırlık Kaybının Açlık Kan Glikozu Üzerine Etkisi (Effect On The Fasting Blood Glucose Of Weight Loss), 1st International Health Sciences and Life Congress (IHSLC, www.ihlsc.org), 02-05 May 2018, Burdur-TURKEY, Abstract Book (Oral Presentation), Edited: POLAT M., pp. 153-154.

Orakçı Diler B., Büyüksulu N., 2017, Kardiyovasküler Hastalıklarda Hiperlipideminin Düşük Kolesterol ve Düşük Yağlı Beslenme Programı ile Düzenlenmesi (Regulation of Hyperlipidemia in Cardiovascular Diseases with Low Cholesterol and Low Oil Nutrition Program), 4rd International Halal and Healthy Food Congress, 3-5 November, Editors: Kürtül İ., Akbulut M., Çiftci İ., Vatansev H., (www.helalvesaglikli.org) Book of Congress, pp. 54-5.

Mus Elal T., Çetinkaya F., Çıbık R., Değirmenci G., Diler F B., 2019, Genotyping of Vancomycin Resistance and Investigation of Virulence Traits in Foodborne Enterococci, Journal Hellenic Veterinary Medical Society, ref. no. 17554.