

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI SÜT TÜRLERİNİN AFLATOKSİN M1 DÜZEYİ
AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dyt. Berna MADALI

**Toplu Beslenme Sistemleri Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ANKARA

2016

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI SÜT TÜRLERİNİN AFLATOKSİN M1 DÜZEYİ
AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dyt. Berna MADALI

**Toplu Beslenme Sistemleri Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Aylin AYAZ**

**ANKARA
2016**

Anabilim Dalı :Beslenme ve Diyetetik
 Program :Toplu Beslenme Sistemleri
 Tez Başlığı :Farklı Süt Türlerinin Aflatoksin M1 Düzeyi
 Açısından Değerlendirilmesi
 Öğrenci Adı-Soyadı :Berna MADALI
 Savunma Sınavı Tarihi :06.01.2016

Bu çalışma jürimiz tarafından yüksek lisans/doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:

Doç.Dr. Zehra BÜYÜKTUNCER

DEMİREL

Hacettepe Üniversitesi

Tez danışmanı:

Doç.Dr.Aylin AYAZ

Hacettepe Üniversitesi

Üye:

Doç.Dr. Makbule GEZMEN KARADAĞ

Gazi Üniversitesi

Üye:

Yrd.Doç.Dr. Derya DİKMEN

Hacettepe Üniversitesi

Üye:

Yrd.Doç.Dr. Mevlüde KIZIL

Hacettepe Üniversitesi

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.


 Prof.Dr. Ersin FADILLIOĞLU
 Müdür 4.

TEŞEKKÜR

Yazar bu çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı, aşağıda adı geçen kişilere içtenlikle teşekkür eder.

Yüksek lisans tez çalışmamın planlanmasında ve yürütülmesinde destek olan ve her aşamasında yol gösterici katkılarda bulunan çok değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Aylin Ayaz'a,

Tez çalışmamın kimyasal analizlerinin başlangıcından yorumlanmasına kadar geçen her aşamada yardımını esirgemeyen ve destek olan Sayın Öğr. Gör. Atila Güleç'e,

İstatistiksel verilerin değerlendirilmesinde yardımcı olan Araş. Gör. Mutlu Umaroğlu'na,

Tez yazma döneminde her konuda yardımcı olan, beni dinleyerek manevi desteklerini esirgemeyen ve yanımda olan Araş. Gör. Sümeyra Sevim, Dr. Çağlar Bektaş ve tüm sevgili arkadaşlarıma,

Tez çalışması süresince daima yanımda olan ve en zor anlarımda manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme ve sevgili yeğenime,

sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

Madalı, B., Farklı Süt Türlerinin Aflatoksin M1 Düzeyi Açısından Değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Toplu Beslenme Sistemleri Programı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2015. Bu çalışmanın amacı, Ankara piyasasındaki süpermarket ve hipermarketlerde satışı sunulan farklı ısıtılmış işlem görmüş farklı süt türlerinin aflatoksin M1 (AFM1) düzeyleri açısından değerlendirilmesidir. Çalışmada, üç farklı dönemde (şubat, mayıs, temmuz ayları) toplam 135 tane süt örneğinin AFM1 düzeyi, ELISA kiti (Helica, USA) kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen sütlerin 105 tanesi UHT (%77.8), 30 tanesi ise pastörize (%22.2) süttür. Yağ miktarına göre sütlerin %55.5'i tam yağlı, %28.9'u yarım yağlı ve %15.6'sı yağsız süttür. Analiz edilen inek ve keçi sütlerinin sayısı ise sırasıyla; 117 (%86.7), 18'dir (%13.3). Bu çalışmanın sonunda; sütlerin %73.3'ünde AFM1 saptanmıştır (ortalama AFM1 düzeyi 8.6±4.57 ng/L). Analiz edilen UHT süt örneklerinin ortalama AFM1 düzeyi (9.3±4.58 ng/L), pastörize süt örneklerinden (6.3±3.76 ng/L) daha yüksektir (p<0.01). Sütlerin yağ miktarına göre ortalama AFM1 düzeylerinin çoktan aza doğru sıralanışı; yarım yağlı (10.5±5.01 ng/L), tam yağlı (8.2±4.29 ng/L) ve yağsız (6.8±3.61 ng/L) sütlerdir. Hayvanın türüne göre sütlerin ortalama AFM1 düzeyi; inek sütü örneklerinde 9.0±4.68 ng/L, keçi sütü örneklerinde ise 6.4±2.98 ng/L olarak saptanmıştır (p<0.05). Bu çalışmanın sonunda şubat, mayıs ve temmuz aylarında satın alınan sütlerin sırasıyla; %97.8'inde (ortalama 9.9±4.33 ng/L) %46.7'sinde (ortalama 7.3±5.13 ng/L) ve %77.8'inde (ortalama 8.6±3.88 ng/L) AFM1 belirlenmiştir (p<0.05). Bu çalışma kapsamına alınan sütler, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'ne göre değerlendirildiğinde, ısıtılmış işlem görmüş sütler için kabul edilebilir maksimum AFM1 düzeyini aşan örnek bulunmamıştır. Bu çalışma sonucunda sütlerde bulunan ortalama AFM1 düzeyi kullanılarak bireylerin AFM1'e maruziyet düzeyleri hesaplanmıştır. Her yaşta birey için önemli bir besin grubu olan süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM1'in, başta çocuklar olmak üzere tüm toplum sağlığı açısından risk oluşturduğu bulunmuştur. Bu yüzden AFM1 düzeyinin sütlerde azaltılması için, çiftlikten-çatala kadar geçen her aşamada AFB1 oluşmasını engelleyecek sürdürülebilir tedbirlerin alınması gereklidir. Aynı zamanda süt üreten firmalara, AFB1 kontaminasyonunun azaltılması için, düzenli aralıklarla konusunda uzman kişiler tarafından eğitimler verilmeli ve kontroller yapılmalıdır. Türkiye'de yapılan çalışmaların çoğunluğu çiğ süt ve diğer süt ürünlerinin AFM1 düzeyini saptamaya yöneliktir. Piyasada satışı sunulan farklı özellikteki sütlerin AFM1 düzeyini araştıran ve farklı yaş gruplarında diyetle alınma yönelik risk değerlendirmesi yapan çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Süt, aflatoksin M1, ELISA, maruziyet

ABSTRACT

Madalı, B., Determination of Aflatoxin M1 Levels in Different Types of Milk. Hacettepe University Institute of Health Sciences, MSc Thesis of Institutional Food Service Systems Programme, 2015. The objective of this study is to determine the levels of Aflatoxin M1 (AFM1) in different types of various heat treated milk which are sold in supermarkets or hypermarkets in Ankara city. In this study, 135 milk samples were analyzed to determine levels of AFM1 by using ELISA test kit (Helica, USA) in 3 different time points (February, May, July). One hundred and five (77.8%) of milk samples were UHT and thirty (22.2%) of them were pasteurized milk samples. Among 135 milk samples, 55.5% of the samples were whole milk, 28.9% of the samples were semi-skimmed milk and 15.6% of the samples were skimmed milk. Most of analyzed milk samples were cow milk (86.7%), while the rest were goat milk (13.3%). The results of this study indicated that AFM1 was detected in 73% of milk samples, with a mean concentration of 8.6 ± 4.57 ng/L. The levels of AFM1 in analyzed UHT milk samples (9.3 ± 4.58 ng/L) were significantly higher than the levels of AFM1 in pasteurized milk samples (6.3 ± 3.76 ng/L) ($p < 0.01$). According to the fat content of milk samples, the mean concentration of whole, semi-skimmed and skimmed milk samples were 8.2 ± 4.29 ng/L, 10.5 ± 5.01 ng/L and 6.8 ± 3.61 ng/L, respectively. The levels of AFM1 in cow milk were significantly higher than the corresponding ones in goat milk (9.0 ± 4.68 ng/L, 6.4 ± 2.98 ng/L, respectively; $p < 0.05$). In this study, 97.8% (mean; 9.9 ± 4.33 ng/L), 46.7% (mean 7.3 ± 5.13 ng/L) and 77.8% (mean 8.6 ± 3.88 ng/L) of milk samples that were obtained in February, May and July were found to be contaminated with AFM1, respectively ($p < 0.05$). No samples exceeded the maximum limit of AFM1 which was established by Turkish Food Codex Regulation on Contaminants in foodstuffs. The assessment of exposure to AFM1 of Turkish population was calculated using the mean concentration of AFM1 obtained from present study. The results of this study showed that AFM1 in milk and dairy products which are important food sources for consumers of all age groups is concerning because of adverse effects on human health especially for children. Therefore, to reduce AFM1 levels in milk, sustainable measures should be taken from farm to fork at all stages of the food chain system to prevent the formation of AFB1. In the meantime experts in field should provide education to milk-producing companies to reduce the contamination of AFB1 and should perform regular controls. Most of the studies conducted in Turkey have shown AFM1 in dairy products and raw milks. Because there is not enough study about the levels of AFM1 in different types of milk which is sold commercially, more studies should be conducted on this subject. Additionally, further studies are necessary to evaluate AFM1 exposure via dietary milk consumption in all age groups, especially in children.

Keywords: Milk, aflatoxin M1, ELISA, exposure

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam	1
1.2. Amaç ve Varsayımlar	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Toksin	4
2.2. Mikotoksinler ve Genel Özellikleri	4
2.3. Mikotoksinlerin Sınıflandırılması	5
2.3.1. Aflatoksinler ve Genel Özellikleri	6
2.4. Mikotoksinlerin Oluşumunu Etkileyen Faktörler	9
2.4.1. Çevresel Etmenler	10
2.4.2. Besin Türünün ve Yapısının Etkisi	15
2.4.3. Diğer Etmenler	16
2.5. Mikotoksinlere Maruziyet	16
2.6. Besinlerde Aflatoksin Varlığı	18
2.6.1. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksinler	18
2.7. Mikotoksinlerin Metabolizması	26
2.8. Mikotoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri	27
2.8.1. Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkisi	32

2.9. Mikotoksin Oluşumunun ve Zararlı Etkilerinin Azaltılması	34
2.9.1. Aflatoksinlerin Zararlı Etkilerini Azaltma Yöntemleri	35
2.10. Mikotoksinlere Yönelik Yasal Düzenlemeler	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Süt Örneklerinin Toplanması	38
3.2. Yöntem	40
3.2.1. ELISA Çalışma Protokolü	41
3.2.2. Bireylerin AFM1'e Maruziyet Düzeylerinin Değerlendirilmesi	42
3.3. İstatiksel Değerlendirme	43
4. BULGULAR	44
4.1. Farklı Süt Türlerinin AFM1 Düzeyleri Açısından Değerlendirilmesi	44
4.2. Farklı Süt Türlerinin Aylara Göre AFM1 Düzeyleri Açısından Değerlendirilmesi	45
4.3. Farklı Süt Türlerinin AFM1 Düzeylerinin Türk Gıda Kodeksine Göre Değerlendirilmesi	53
4.4. Sütlerin AFM1 Düzeyine Göre Maruziyetin Değerlendirilmesi	54
5. TARTIŞMA	56
5.1. Farklı Süt Türlerinin AFM1 Düzeyleri Açısından Değerlendirilmesi	56
5.2. Farklı Süt Türlerinin Aylara Göre AFM1 Düzeyleri Açısından Değerlendirilmesi	60
5.3. Farklı Süt Türlerinin AFM1 Düzeylerinin Türk Gıda Kodeksine Göre Değerlendirilmesi	61
5.4. Sütlerin AFM1 Düzeyine Göre Maruziyetin Değerlendirilmesi	63
6. SONUÇ	65
7. ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	69
EK 1-Farklı dönemlerdeki AFM1 Analizleri için Kalibrasyon Eğrileri	

SİMGELER VE KISALTMALAR

AF	Aflatoksin
ALARA	Alınabilecek En Düşük Düzeylerde Alım
<i>Asp.</i>	<i>Aspergillus</i>
aw	Su Aktivitesi
<i>C. Paspali</i>	<i>Claviceps Paspali</i>
<i>C. Purpurea</i>	<i>Claviceps Purpurea</i>
CO ₂	Karbondioksit
CONTAM	Besinlerde Bulunan Kontaminantlar Paneli
ELISA	Enzime Bağlı İmmunosorbent Analizi
<i>F. Roseum</i>	<i>Fusarium Roseum</i>
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Besin ve İlaç Dairesi
FSC	Besin Güvenlik Komitesi
g	Gram
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HSCAS	Hidratlaştırılmış Sodyum Kalsiyum Alüminosilikat
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
JECFA	Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzmanlar Komitesi
kg	Kilogram
LOD	Dedeksiyon Limiti
MS	Kütle Spektrometresi
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
nm	Nanometre
ng	Nanogram
O ₂	Oksijen
<i>P. Citrinum</i>	<i>Penicillium Citrinum</i>
<i>P. Puberulum</i>	<i>Penicillium Puberulum</i>
<i>P. Rubrum</i>	<i>Penicillium Rubrum</i>
<i>P. Viridicatum</i>	<i>Penicillium Viridicatum</i>

ppb	Parts Per Billion
ppm	Parts Per Million
PTDI	Tolere Edilebilir Tahmini Günlük Alım Düzeyi
PTWI	Tolere Edilebilir Tahmini Haftalık Alım Düzeyi
<i>S. Sclerotiorum</i>	<i>Sclerotinia Sclerotiorum</i>
<i>Spp.</i>	<i>Species</i>
SPSS	Statistical Package for the Social Science
SS	Standart Sapma
TEKHARF	Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktrleri
TLC	İnce- Tabaka Kromatografisi
TNF- α	Tmr Nekrozis Faktör Alfa
U	Unified Atomic Mass Unit
UHT	Ultra-High-Temperature Processing
USF	Uluslararası Stlk Federasyonu (IDF)
UV	Ultraviolet
v.a	Vücut Ağırlığı
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
(ϵM) ^o	Molar Absorptivite
\bar{x}	Aritmetik Ortalama
μg	Mikrogram
$^{\circ}C$	Santigrat Derece

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Aflatoksinin yapıları: (a) aflatoksin B1; (b) aflatoksin G1; (c) aflatoksin M1	8
2.2. Aflatoksin oluşumunu etkileyen faktörler	10
4.1. Sütlerin satın alındığı aylardaki ısıtma işleminin türüne göre ortalama AFM1 düzeyleri (ng/L)	51
4.2. Sütlerin satın alındığı aylardaki yağ miktarına göre ortalama AFM1 düzeyleri (ng/L)	52
4.3. Sütlerin satın alındığı aylardaki hayvanın türüne göre ortalama AFM1 düzeyleri (ng/L)	53
4.4. Önerilen süt miktarlarına göre bireylerin AFM1 maruziyet düzeyleri (ng v.a.(kg) ¹ gün ⁻¹)	55

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Bazı mikotoksinler ve üreten küf türleri	6
2.2. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri	7
2.3. Çeşitli küf cinsleri tarafından mikotoksin oluşumu ve gelişimi üzerine su aktivitesinin etkisi	13
2.4. Türkiye’de yapılan farklı çalışmalara göre kişi başı tüketilen süt miktarı(g/kişi/gün)	19
2.5. Türkiye’de üretilen farklı süt türlerinin aflatoksin düzeyleri	23
2.6. Küf türleri, mikotoksinler, kaynakları, hedef organ, doku ve etkileri	29
3.1. Farklı ısı işlem görmüş sütlerin markalarına göre dağılımları	39
3.2. Sütlerin ısı işlem türü ve yağ miktarına göre dağılımı	40
4.1. Farklı süt türlerinin ısı işlem türü ve yağ miktarlarına göre AFM1 düzeylerinin ortalama ve standart sapma($\bar{x} \pm SS$) ile alt-üst değerleri	45
4.2. Pastörize sütlerin satın alındıkları aylara göre AFM1 düzeyleri (ng/L)	46
4.3. UHT sütlerin satın alındıkları aylara göre AFM1 düzeyleri (ng/L)	48
4.4. Farklı ısı işlem görmüş sütlerin satın alındıkları aylara göre AFM1 düzeyleri (ng/L)	50
4.5. Sütlerde AFM1 tespit edilen örnek sayısı ve yasal limiti aşan örnek sayısı	54

1. GİRİŞ

1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam

Mikroorganizmalar içinde önemli bir grubu oluşturan küfler; toprak, hava, su gibi ortamlarda ve yaşayan tüm canlılarla birlikte hemen her yerde bulunabilirler (1,2). Mikotoksinler; hasat, depolama ve işleme dönemi boyunca bazı küflerin metabolizması sonucu ürettikleri ikincil toksik metabolitlerdir. Mikotoksinlerin memeliler için en zararlı olanları aflatoksinler, fumonisinler ve okratoksin A'dır. Bununla birlikte aflatoksinler, mikotoksinler içinde en çok araştırma yapılan ve en fazla bilinen toksindir (3).

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus* (*Asp.flavus*) ve *Aspergillus parasiticus* (*Asp. parasiticus*) küfleri tarafından temel olarak üretilen metabolik ürünlerdir. Farklı bölgelerde üretilen yemlerin kullanılması, besine uygulanan teknolojik uygulamalar, hasat, depolama ve taşıma süreci gibi besin üretiminin tüm aşamaları mikotoksin gelişimini etkileyebilir. Aflatoksinlerin temel türleri bitkisel ürünlerde üretilen B1, B2, G1 ve G2'dir. Fakat aflatoksin M1 (AFM1) ve aflatoksin M2 (AFM1) gibi biyotransforme edilmiş diğer aflatoksinler sütte de ortaya çıkabilir (3,4).

En yaygın olarak üretilen mikotoksin türünün aflatoksin B1 (AFB1) olduğu bilinmektedir (5). Hepatik mikrozomal oksidaz sistemi tarafından karaciğerde metabolize edilir. Fakat türlere bağlı olarak başka metabolik dönüşümlere devam edebilir. Aflatoksin M1, kontamine olmuş yemle beslenen laktasyon dönemindeki hayvanların sütlerinde bulunan aflatoksin B1'in hidroksil metabolitidir. Aflatoksin B1, mikrozomal sitokrom P450 ile ilişkili enzimler aracılığıyla karaciğerde AFM1'e dönüştürülür ve feçes, süt ve idrar gibi vücut sıvılarıyla atılır (3,6). Yapılan çalışmalarda hayvan yemlerinde bulunan AFB1 düzeyinin, süte geçen AFM1 düzeyini etkilediği belirtilmektedir (7,8).

Süt ve süt ürünlerinin AFM1 ile kontaminasyonu ve konsantrasyonu; coğrafik lokasyon, ülkenin gelişmişlik düzeyi ve mevsimsel özellikler dahil olmak üzere birçok faktöre bağlı olarak değişebilir (9). Fakat sütte AFM1'in varlığı ve konsantrasyonunu en çok etkileyen etmenlerin başında mevsimsel farklılıklar gelir.

Yapılan çalışmalarda, yazın taze yeme ulaşılabildiği için sütteki AFM1 düzeyinin daha az olduğu belirtilmiştir (7,10).

Süt ve süt ürünlerinde yapılan ısıtım işlem uygulamalarının AFM1 düzeyi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarda farklı sonuçlar bulunmuştur (11-17). Yapılan bazı çalışmalarda, AFM1 düzeyinin pastörizasyon, sterilizasyon ve çeşitli süt ürünlerinin hazırlanışı süresince stabil olduğu bulunmuştur (6,18-20). Aynı zamanda kontamine süt ve süt ürünlerini birkaç ay dondurarak depolamanın AFM1 düzeyine etkisi olmadığı da belirtilmektedir (19,21). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'ne göre çiğ süt, ısıtım işlem görmüş süt ve süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan sütlerde aflatoksin M1'in üst limiti 0.050 µg/kg'dır (22).

Süt, besin değeri yüksek olduğundan her yaş grubu için önerilen önemli doğal besindir. Yüksek protein, kalsiyum ve vitamin kaynağıdır (3,23,24). Sütün beslenmede çok önemli bir yerinin olmasının yanı sıra, AFM1 açısından da riskli bir besin olduğu çalışmalarda belirtilmektedir (25-27). Aflatoksinlerden özellikle aflatoksin B1 yemlerde, aflatoksin M1 ise sütte bulunup memelilerde en güçlü karsinojen olarak kabul edilmektedir. İnsanlarda özellikle bu aflatoksin türlerinin hepatik karsinomaya neden olduğu belirtilmektedir (28,29).

1.2. Amaç ve Varsayımlar

Amaç: Bu çalışma Ankara piyasasında süpermarketlerde veya hipermarketlerde satılan farklı ısıl işlem görmüş farklı süt türlerinde aflatoksin M1 düzeyini saptamak amacıyla planlanmış ve yürütülmüştür.

Varsayımlar:

1. Farklı ısıl işlem görmüş farklı süt türlerinde Aflatoksin M1 düzeyi farklıdır.
2. Yılın farklı zamanlarında üretilen günlük sütlerde aflatoksin M1 düzeyinin farklı olması beklenir.
3. Pastorize sütlerin aflatoksin M1 düzeyinin UHT sütlere kıyasla daha yüksek olması beklenmektedir.
4. Sütlerin içerdikleri yağ miktarına bağlı olarak AFM1 düzeyi değişmektedir.
5. Satın alınan inek sütlerinde, farklı metabolizmalarından dolayı keçi sütlerine kıyasla daha yüksek düzeyde aflatoksin M1 bulunur.
6. Özellikle küçük yaştaki çocukların süt tüketimiyle AFM1'e maruziyetleri, diğer yaştaki bireylere göre daha yüksektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Toksin

Toksin; ağız, solunum veya deri yoluyla alındığında belli bir dozda ve/veya belli bir zaman diliminde biyolojik sistemlere zarar veren maddeler olarak tanımlanabilir. Toksinler, bir takım yaşayan hücre veya organizmalar tarafından üretilebilir. Mikroorganizmalar içinde önemli bir yeri olan ve hemen her yerde bulunabilen küfler sıklıkla toksin üretirler (1).

2.2. Mikotoksinler ve Genel Özellikleri

Mikotoksin kelimesi Yunanca olan ve küf anlamına gelen “mykes” ve Latince olan ve zehir anlamına gelen “toxicum” kelimelerinin birleşmesiyle elde edilmiştir. Primer metabolitler, normal fonksiyon göstermek için önemli olan ve organizmaların kimyasal bileşenleri olarak tanımlanabilirken sekonder metabolitler hayati öneme sahip olmayan bileşiklerdir. Küflerin keşfedilen yüzlerce sekonder metaboliti bulunmaktadır. Fakat bunların yaklaşık 400’ü mikotoksin olarak tanımlanmış ve sınıflandırılmıştır (30).

Mikotoksinler; hasat, depolama ve işleme dönemi boyunca bazı küflerin ürettikleri ikincil toksik metabolitler olarak tanımlanır. Mikotoksinler doğal olarak üretilen, düşük molekül ağırlıklı, düşük konsantrasyonlarda bile insanlar ve hayvanlar üzerinde toksik etki gösterebilen toksinlerdir. Birçok küf, gelişme dönemi boyunca bitkileri enfekte edip mikotoksin üretimine neden olurlar. Toplum sağlığını etkileyen küf cinsleri; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Alternaria* ve *Stachybotrys*’dur. Bu küflerin türleri mikotoksinlerin birçoğunu üretebilme yeteneğine sahiptir (3,31). Fakat besinlerde en önemli olan cinsler *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium*’dur (32,33). *Fusarium*’un türleri tahıl ürünleri ve diğer bitkisel ürünlerde yıkıcı patojenler olup, hasat öncesinde ya da sonrasında mikotoksin üretir. *Aspergillus* ve *Penicillium*’un bazı türleri de komensal bitki ya da bitki patojenleridir. Fakat bu türler genellikle kurutma ve depolama döneminde majör mikotoksinlerin oluşmasına neden olur (34). Mikotoksin üretebilen toksijenik küfler pişirmeye karşı duyarlı iken, mikotoksinler pişirmeye karşı dayanıklıdır.

Mikotoksinler tahıl tanelerinin öğütölmüş olan kısımlarında daha fazla miktarda bulunurlar. Mikotoksinler sadece bitkisel kaynaklı besinlerde değil hayvansal kaynaklı besinlerde de bulunabilir (32,35).

2.3. Mikotoksinlerin Sınıflandırılması

Mikotoksikojenik bileşikler, hem besinler ve yemlerde bulunma durumu hem de toksisitesi dikkate alınarak üç büyük risk grubuna ayrılmaktadır (34). Bunlar;

- **Majör mikotoksinler:** İnsanlar ve evcil hayvanlarda hastalığa neden olduğu çalışmalarla kesinleşmiş olan bileşiklerdir. Besinlerde bulunması ekonomik kayıplara neden olur.

- **Minör mikotoksinler:** Toksik etki gösteren bileşiklerdir. Doğal olarak toksik konsantrasyonlara ulaşabilirler. Belli bir düzeyde ekonomik kayıplara ve hastalığa neden olabilir.

- **Daha az önemli olan mikotoksinler:** Toksik etkisi kanıtlanmış fakat genellikle besin ve yemlerde yaygın olarak bulunmadığı için hastalığa neden olmadığı bilinmektedir (34).

Majör mikotoksinler arasında aflatoksinler, fumonisinler, okratoksin A, siklopiazonik asit, deoksinivalenol, patulin ve zearalenon bulunmaktadır (36). Fakat özellikle süt ve süt ürünleri için en önemli mikotoksin aflatoksin B1 ve onun metaboliti olan aflatoksin M1'dir (25). Tablo 2.1'de bazı mikotoksin türleri ve mikotoksinleri üreten küf türleri verilmiştir.

Tablo 2.1. Bazı mikotoksinler ve üreten küf türleri (37).

Mikotoksin türleri	Üreten küf türü
Aflatoksinler	<i>Asp.flavus</i> <i>Asp.parasiticus</i>
Trikotesenler	<i>Fusarium graminearum</i>
Fumonisinler	<i>Fusarium verticillioides</i>
Okratoksin A	<i>Asp. ochraceus</i> <i>Penicilium verrucosium</i>
Patulin	<i>Asp. spp.</i> <i>Penicilium spp.</i>
Zearalenon	<i>Fusarium graminearum</i>

2.3.1. Aflatoksinler ve Genel Özellikleri

1950'lerin sonu ve 1960'ların başında, aflatoksinler Büyük Britanya'da hindiler arasında gizemli X hastalığının (turkey X hastalığı) nedeni olarak tanımlanmıştır. Amerika'da yapılan çalışmalarda, domuzlarda küflü mısır zehirlenmesinin ve köpeklerde salgın olan hepatitin nedeni olarak düşünülmüştür (38,39). İlk olarak aflatoksinler gökkuşağı alabalığında potansiyel karsinojen olarak tanımlanmıştır. Aflatoksinlerin insanlarda karaciğer hastalığıyla ilişkili olduğu 1960'larda bulunmuştur. Bu konu üzerinde yapılan yoğun araştırmalar sonucunda aflatoksin maruziyetinin insan ve hayvan sağlığı açısından dünya çapında önemli bir konu olduğu belirtilmiştir. Birçok otorite, aflatoksijenik küfler tarafından üretilen küflü metabolitlerin, uygun üreme koşulları altında toksisitelerinin arttığı düşüncesini kabul etmiştir (40,41).

Aflatoksinler temel olarak dünyada, farklı iklimlerde bulunan yüzden fazla küf türünden oluşan *Aspergillus* cinsinde bulunan bazı türler tarafından üretilen poliketit mikotoksinlerin bir grubudur (30,42). Poliketitler hemen hemen yaşayan

tüm organizmalar tarafından üretilen sekonder metabolitlerin bir sınıfıdır. Yapısı biyolojik olarak yüksek düzeyde aktif olan kompleks organik bileşiklerdir. Farmasötiklerin çoğu poliketitler tarafından oluşturulur (43).

Aflatoksinlerin oluşumu küflerin gelişimiyle yakından ilişkilidir (44). Tarım ürünlerinde temel olarak *Asp. flavus* ve *Asp. parasiticus* küfleri ve nadiren de *Asp. nomius* gibi diğer küf türleri bulunur. Aflatoksinler bu küfler tarafından üretilen yüksek düzeyde toksik sekonder metabolitlerdir (30,42).

Aflatoksinlerin doğal olarak oluşmuş dört önemli türü vardır. Aflatoksin B1 ve B2; UV ışığı altında mavi floresans özelliği gösterdiği için bu şekilde adlandırılırlar. Kumarinin lakton zincirine siklopenton zincirinin birleşmesiyle karakterizedir. Aflatoksin G1 ve G2; UV ışığı altında yeşilimsi sarı floresans özelliğe sahiptirler. Lakton zincirine ek olarak bir lakton zinciri daha içerir (45).

Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2.2’de özetlenmiştir.

Tablo 2.2. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri (30).

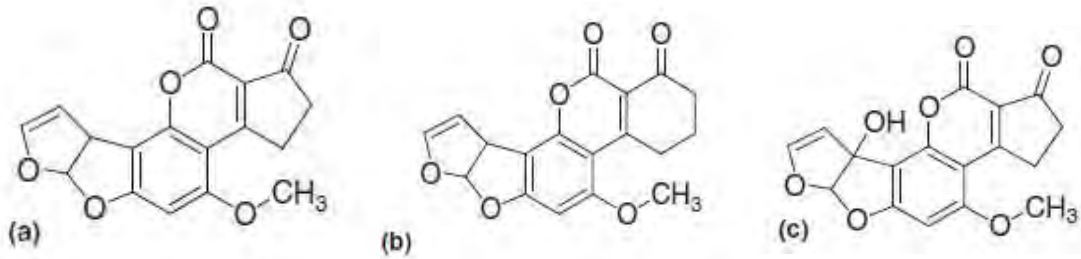
Aflatoksin	Molekül Formülü	Molekül Ağırlığı (u)	Kaynama Noktası (°C)	Ultraviyole Absorbsiyonu* (€M) ^o	Floresans Emisyonu (nm)
B1	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	268-269	21.800	425
B2	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289	24.000	425
G1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	244-246	17.700	450
G2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240	17.100	450
M1	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299	21.250 (357)	425
M2	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293	22.900 (357)	-----

*360-362 nm ultraviyole ışık altında ve çözücü olarak metanolün kullanıldığı ultraviyole absorpsiyon değerleridir.

Aflatoksin B1 ve G1 laktasyon dönemindeki hayvanlar tarafından alındığında az bir kısmı (%1-2) sütle birlikte aflatoksin M1 ve M2 olarak atılır. Aflatoksinlerin metabolik ürünleri olan M1 ve M2 aflatoksinle kontamine olmuş küflü tahıllarla beslenen laktasyon dönemindeki hayvanların sütünde ilk olarak tespit edilmiştir.

AFM1 ve AFM2 genellikle süt ve yenilebilir hayvan dokularıyla ilişkili olmasına rağmen aflatoksijenik küfler de bu ürünleri üretebilir. Aflatoksinlerin düzeyi genellikle AFB1+AFG1+AFB2+AFG2'nin toplam miktarı olarak belirtilir. Bu toksinler yapısal olarak birbirine benzer özellik gösterirler. Aflatoksin B2 ve G2 sırasıyla, aflatoksin B1 ve G1'in dihidroksi derivatları olarak bilinmektedir. Aflatoksin M1 4-hidroksi aflatoksin B1'in, aflatoksin M2 ise 4-hidroksi B2'nin türevidir. AFM1, AFB1'in toksik metaboliti, AFM2 ise AFB2'nin hidrosillenmiş formudur (40,45,46).

İnsanlarda ve hayvanlarda toksisiteye neden olabilen aflatoksinlerin başlıca türleri Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Aflatoksin türleri: (a) aflatoksin B1; (b) aflatoksin G1; (c) aflatoksin M1 (47).

Hayvanlar tarafından tüketilen yemlerdeki aflatoksin B1 ve sütteki aflatoksin M1 miktarı arasında lineer bir ilişki olduğu bildirilmiştir (48,49). Çiftlik hayvanları üzerinde yapılan kontrol çalışmalarında, sütteki aflatoksin B1'in yaklaşık %0.3-6.2'sinin aflatoksin M1'e dönüştüğü bulunmuştur (50,51). Fakat bu dönüşüm oranı; hayvan türüne, bir süt verme döneminden diğerine, sağım zamanına ve sağım aralığına ve hayvanın süt verim düzeyine göre değişiklik gösterir. Aflatoksinin süte taşınma oranı deneysel olarak %1-5 hesaplanmıştır. İneklerde farklı metabolizmalarından dolayı bu oran %0.35-3 arasında değişirken, koyunlarda ise %0.08-0.33 arasındadır (51-53).

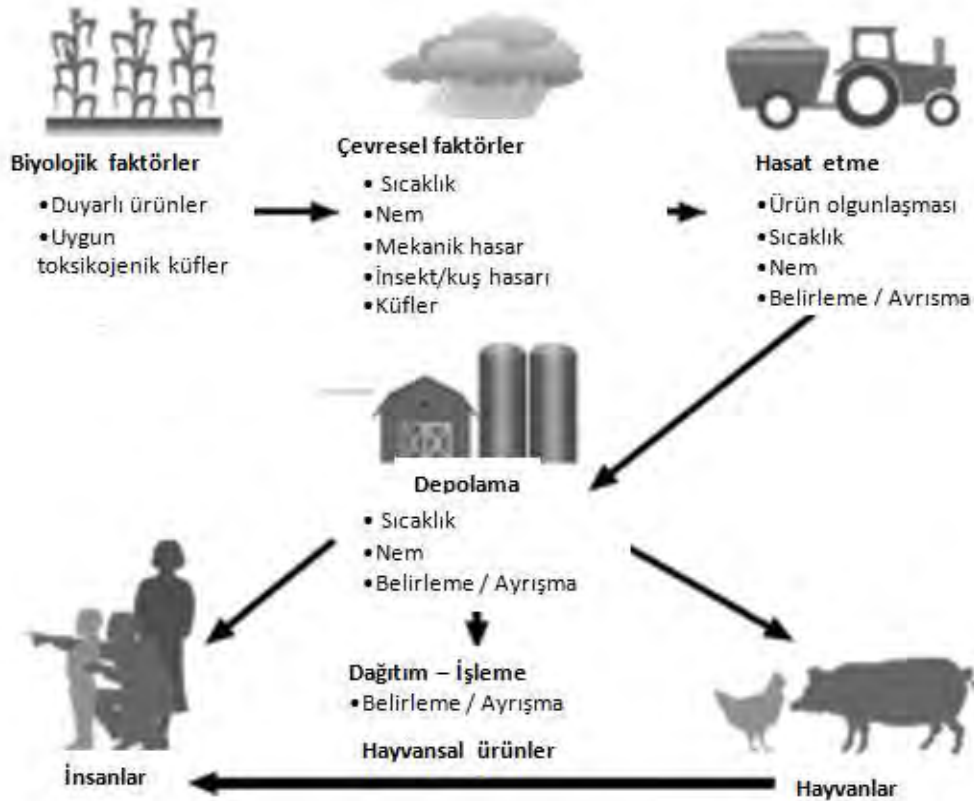
2.4. Mikotoksinlerin Oluşumunu Etkileyen Faktörler

Aflatoksinler de dâhil olmak üzere birçok mikotoksin tahıl ürünlerinin gelişimi boyunca oluşabilir. Hava koşulları, küf aşılama kaynakları veya küf substratlarının uygunluğu, potansiyel insekt vektörleri ve bitki cevabı (veya küf istilasına bitki hassasiyeti) mikotoksin oluşumunu etkiler (54).

Hasat sonrası dönemde, ürünlerin taşınması ve depolanması sırasında toksijenik küflerin gelişmesi ve potansiyel mikotoksin üretimi birçok faktöre bağlı olarak değişir. Bu faktörler; nem düzeyi, sıcaklık, havalandırma, insekt ve diğer mikroorganizmalar tarafından istila, ürünlerin zamanında hasat edilmesi, depolama zamanı, depolama koşulları (özellikle su sızıntısı, deponun ışık alma durumu) ve kimyasal uygulamalardır (54-56). İnsektler, hasat sonrasında mikotoksin üretebilen toksijenik küfler tarafından duyarlı dokularda kolonizasyona neden olabilirler (54).

Küf gelişimini etkileyen çevresel faktörlerin en önemlileri; nem miktarı, sıcaklık ve süredir. Bu yüzden kurutma, uygun depolama ve uygun taşıma müdahalede ilk ve en önemli aşamalardır (54). Yüksek sıcaklık, kuraklık veya sel gibi aşırı hava olayları, hayvana sağlanan su ile besinlerin kalitesini ve ulaşılabilirliğini etkilediği için sütte üretilen AFM1 düzeyini de etkiler (9).

Mikotoksin kontaminasyonunu birçok faktör etkilemesine rağmen en önemli olanı mevsimsel farklılıklardır (57). Aflatoksin oluşumunu etkileyen faktörler Şekil 2.2.'de verilmiştir.



Şekil 2.2. Aflatoksin oluşumunu etkileyen faktörler (58).

2.4.1. Çevresel Etmenler

Büyük oranda ağaçların kesilmesi, fosil yakıtların kullanılması ve diğer insan aktiviteleri küresel iklimi değiştirir. Metan, karbondioksit, nitrit oksit ve klorofloro karbonun atmosferdeki konsantrasyonu çevresel ısınmayla sonuçlanır (57).

Değişen hava koşulları hasat öncesi ve sonrası dönemlerdeki aflatoksin kontaminasyonunu farklı şekilde etkiler (59,60). Ürünlerin taşınma ve ekim zamanı, hasat öncesi ve hasat sonrasında *Asp. flavus* oluşumunu engelleyerek kontaminasyonu önlemeye yönelik olarak planlanmıştır. Fakat hava koşulları yıldan yıla değişmektedir. Koşullar değiştiği için en iyi şekilde planlanmış ürünlerde bile kontaminasyon olabilir (60). Zamanında hasat, depolama öncesi hızlı ve yeterli kurutma da kontaminasyonun önlenmesinde etkilidir (59). Hasadın kuru havalarda yapıldığı bölgelerde mikotoksin kontaminasyonu genellikle çok büyük boyutlarda değildir. Çok nemli bölgelerde hasat yapıldığında ise kontaminasyon büyük sorun

haline gelmektedir. Birçok gelişmekte olan ülkede yetersiz kurutma ekipmanları ile birlikte nemli hava koşulları, besinlerde göz ardı edilemez aflatoksin düzeylerine ulaşılmasına neden olur (54).

Çevresel koşullar hem küf gelişimini hem de ürün duyarlılığını olumsuz etkilemediği sürece ürünlerin *Asp. flavus* tarafından kontamine olması zordur. Fakat hasat öncesi dönem boyunca sıcak-kuraklık stresi altında insekt, kuş ve memeliler gibi konakçılar tarafından zarar gören ürünlerde belirgin bir bulaş söz konusu olabilir. Hava şartları ürünlerin konakçılara karşı daha fazla duyarlı olmasına neden olabilir. Sıcak ve kurak stres altında fitoaleksinin üretimi azalabilir ve bu yüzden besinlerin konakçılara karşı duyarlılığı artar (57,60). Fitoaleksinin; bitkiler tarafından mikrobik, fungal, fiziksel uyarılara karşı üretilen antimikrobiyal ve antifungal etkili bileşiklerdir. Enfekte olmuş alanlarda hemen birikirler (61).

Hasat sonrasında kontaminasyon, ürünlerin olgunlaşmasından tüketimine kadar geçen herhangi bir zamanda oluşabilir. Olgunlaşan ürün tarımsal alanda ya da depolama ve taşıma süresi boyunca nemli koşullara maruz kaldığında hasat sonrası kontaminasyon oluşabilir (60,62).

Rutubetin Etkisi

Fungal etkinin ve üremenin başlayabilmesi için gerekli olan çevresel koşulların başında rutubet bulunur. Genellikle kseroofil nitelikli mantar sporlarının gelişebilmesi için ortam neminin %50 veya üzerinde olması gerekirken, üreme için gerekli nem düzeyi ise %10'un üzerinde olmalıdır (63). Her bir mikotoksin kendisini sentezleyen küf türüne bağlı olarak farklı su aktivitesi (a_w) düzeylerine ihtiyaç duyar. Örneğin AFB1 ve okratotoksinin üretilmesi için gerekli minimum su aktivitesi genellikle 0.83-0.90'dır. Mikotoksin üretimi için gereken minimum su aktivitesi değerleri, çoğalma için gerekli olan minimum su aktivitesi değerlerinden daha yüksektir (64,65). *Asp. flavus*'un gelişmesi ve mikotoksin üretebilmesi için sırasıyla; 0.73 ve 0.85'in üstünde su aktivitesine sahip olması gerekmektedir (66). Küf gelişimi için optimum a_w 0.80-0.90, toksin üretimi için ise a_w 0.85-0.90 değerleri arasındadır. Çeşitli küf cinsleri tarafından mikotoksin oluşumu ve gelişimi üzerine su aktivitesinin etkisi Tablo 2.3'te verilmiştir (67). Özellikle su aktivitesi (a_w) 0.80'in

altında ise kseroofilik (Örn: *Aspergillus*) küfler gelişir. Aw 0.75'in altında çoğalan küfler depo küfleri olarak tanımlanır. Aw 0.65'in altında ise küf gelişimi çok yavaşlar. *Asp. flavus* ve *Asp. parasiticus*'un reçel ve marmelatlarda üreyememe nedenlerinden biri de, yüksek miktarda bulunan şekerin suyu bağlayarak, bağlı olmayan su miktarını düşürmesidir (64,67,68).

Tablo 2.3. Çeşitli küf cinsleri tarafından mikotoksin oluşumu ve gelişimi üzerine su aktivitesinin etkisi (67).

Minimum su aktivitesi (aw)		
Küfler	Gelişme	Toksin Üretimi
<i>Asp. flavus</i>	0.78	0.84 (aflatoksin)
	0.80	0.83-0.87
<i>Asp. parasiticus</i>	0.82	0.87 (aflatoksin)
		0.85 (okratoksin)
<i>Asp. ochraceus</i>	0.83	0.83-0.87
	0.77	
<i>Penicillium cyclopium</i>	0.81	0.87-0.90 (okratoksin)
	0.82	
	0.83	
	0.85	
<i>Penicillium viridicatum</i>	0.83	0.83-0.86 (okratoksin)
	0.81	0.88 (penisilik asit)
	0.76	0.80
		0.81
<i>Penicillium cyclopium</i>	0.87	0.97 (penisilik asit)
	0.82	
	0.83	0.99 (penisilik asit)
<i>Penicillium martensii</i>	0.83	
	0.79	
	0.83	
<i>Penicillium patulum</i>	0.83-0.85	0.95 (patulin)
	0.81	
	0.83	
<i>Penicillium expansum</i>	0.83-0.85	0.99 (patulin)
<i>Asp. clavatus</i>	0.85	0.99 (patulin)

Sıcaklığın Etkisi

Mikotoksin oluşumunda sıcaklık çok önemli rol oynar. Ortam sıcaklığı özellikle mantar florasının büyüme hızı ve metabolik aktiviteleri üzerinde etkilidir. Fakat sıcaklık, mikotoksin üretimi ve gelişimi için ilgili küfün ihtiyaç duyduğundan daha fazla olursa mikotoksin üretimi yavaşlar (62).

Her bir toksinin üretilmesi için farklı sıcaklık dereceleri gereklidir. Küflerin optimum gelişme sıcaklıkları 20–40°C arasında değişebilir. Birçoğunun üremesi için optimal sıcaklık değerleri 25–26°C arasındadır. Bazı küfler ise -15°C'ye kadar olan düşük sıcaklıklarda da çoğalabilirler (69). Küfler bakterilerden daha geniş sıcaklık aralıklarında gelişebilirler. *Aspergillus*, *Cladosporium* ve *Thamnidium* gibi pek çok küf buzdolabı sıcaklığında yumurta, sığır eti ve meyvelerin yüzeyinde gelişebilme yeteneğine sahiptirler (67). Semeniuk'un (70) yaptığı bir çalışmada, *Asp. flavus* mezofilik bir küf olarak sınıflandırılmıştır. Bu küflerin üreme sıcaklıkları; minimum 6-8°C, maksimum 44-46°C ve optimum 36-38°C olarak belirtilmiştir. Küf gelişimi için minimum ve maksimum sıcaklıklar; nem, oksijen konsantrasyonu, besinlere ulaşım ve diğer faktörlerden etkilenmektedir. Yapılan başka bir çalışmada ise *Asp. flavus*'un üremesi için optimal sıcaklık değerinin yaklaşık 33°C, *Asp. paraciticus*'un ise 32 °C olduğu belirtilmiştir (45).

Oksijen ve Karbondioksitin Etkisi

Doğal ortamlarda depo küflerin üremesi sadece uygun sıcaklık ve neme değil aynı zamanda uygun atmosferik koşullara da bağlıdır. Küfler büyük oranda aerobik olmasına rağmen spor germinasyonu, vejetatif üreme ve sporlaşma için gerekli olan minimum oksijen konsantrasyonu oldukça değişkendir. Aynı zamanda küfler çok farklı CO₂ konsantrasyonlarını da tolere edebilirler. Tamamen CO₂ içeren bir ortamda ise aflatoksin üretimi olmamaktadır (69,71).

Landers ve diğerleri (72), 2 hafta boyunca sıcaklık 30°C ve nemin %99 olduğu bir ortamda, CO₂, O₂ ve nitrojenin *Asp. flavus*'un gelişme, sporlaşma ve aflatoksin üretimi üzerine etkisini araştırmışlardır. CO₂ konsantrasyonu %0.03'ten %20'ye çıkarıldığında gelişme ve sporlaşmada belirgin bir azalma olmazken

aflatoksin üretiminde %75'lik bir azalma gözlenmiştir. Ortamdaki karbondioksit yoğunluğu %20'nin üzerine çıkarıldığında ise küflerin üremesi ve toksin sentezlemesi önemli ölçüde etkilenmektedir (69,71).

pH'nın Etkisi

pH küf üremesinde önemli bir faktör olduğundan dolayı aflatoksin üretimini de etkilemektedir. Küfler pH 2.1-11.2 gibi geniş bir aralıkta üreyebilmelerine rağmen, pH 3.0-8.0 arasında optimum üreme olmaktadır. Davis ve diğerlerinin (73) yaptığı bir çalışmada; pH'nın aflatoksin üretimine çok az etkisinin olduğu ya da etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Fakat pH'sı 4'ten daha az olan ortamlarda *Asp. flavus* üremesinin daha az olduğu saptanmıştır. Genel olarak çalışmalarda, bazik ortamlara göre hafif asidik besinler fungal etkinlikler için daha uygun ortam oluşturur. Aflatoksin üretimi için optimum pH 6.0'dır (63,69).

2.4.2. Besin Türünün ve Yapısının Etkisi

Besinlerin türü ve özellikleri küflerin gelişimi ve çoğalmasında etkilidir. Küflerin gelişimi ve toksin üretimi için glikoz iyi bir kaynaktır. Küflerin gelişiminde maltoz, glikoz ve sükrozdan daha iyi bir kaynaktır. Fakat üretilen toplam aflatoksin düzeyine maltozun etkisi diğerlerine kıyasla daha düşük düzeydedir. Aflatoksin B1 oluşumunu da glikoz ve sükroz, maltoza göre daha fazla etkilemektedir. Nişasta ve früktoz ise aflatoksin üretimi için daha zayıf substratlardır (74). Yapılan çalışmalarda, glikoz ve sükrozun aflatoksin üretiminde benzer olumlu etkilere sahip olduğu bulunmuştur. Früktozun etkileriyle ilgili ise farklı sonuçlar bulunmaktadır (75,76). Yapılan bir çalışmada aflatoksin üretiminde früktozun olumlu etkisinin olduğu bulunmuştur (75). Bir başka çalışmada ise aflatoksin üretimini glikoz ve sükroza kıyasla früktozun daha az etkilediği fakat früktoz ve glikozun birlikte verilmesinin daha fazla olumlu etkisinin olduğu belirtilmektedir (76).

Küflerin üreyip toksin sentezleyebilmeleri için azot kaynağı olarak aminoasitler gibi organik maddelere ve kalsiyum, magnezyum, potasyum, demir, çinko, fosfor gibi mikrobesein öğelerine de ihtiyaçları vardır. Örneğin; magnezyum aflatoksinin üretimi ve küflerin gelişmesi için elzemdir (74).

Özellikle mısır, buğday, arpa, yulaf, pirinç gibi tahıllar ile yer fıstığı, fındık, ayçiçeği, soya fasulyesi, pamuk tohumu gibi yağlı ürünlerde küfler sıklıkla üremekte ve mikotoksin sentezlenmektedir (77,78).

2.4.3. Diğer Etmenler

Depolama süresi küflerin üremesini ve aflatoksin sentezini etkilemektedir. Depolama süresi arttıkça aflatoksin üretiminde bir artış olduğu saptanmıştır (79,80). Şartlar uygun olduğunda 2-4 gün içerisinde küf oluşumu ve beraberinde aflatoksin oluşumu başlar. Sonrasında ise 16-24 gün içerisinde aflatoksin miktarı dört katına çıkabilir (71).

Gelişmiş ülkelerde yüksek teknolojik tarım ve düzenli kontrollerin yapılması aflatoksin kontaminasyon riskini azaltır. Gelişmekte olan ülkelerde ise aflatoksinle mücadele daha az önemsenmekte, daha az kontroller ve yaptırımlar uygulanmaktadır. Buna ek olarak tarımsal uygulamalar gelişmiş ülkelere kıyasla yetersiz olduğu için besinlerin aflatoksinle kontaminasyonu daha fazladır (81).

2.5. Mikotoksinlere Maruziyet

Mikotoksin içeren besin ve yemlerin kontaminasyonu tüm dünyayı etkileyen önemli bir sorundur. Gelişmiş ülkelerde çiftlik hayvanlarının küflü tarımsal ürünleri tüketme olasılığı bulunurken, insanlar tarafından tüketimi pek karşılaşılan bir durum değildir. Dolayısıyla mikotoksin kontaminasyonu gelişmiş ülkelerde insan sağlığından ziyade hayvan sağlığını tehdit eden bir sorundur. Gelişmekte olan ülkelerde ise besinlerin yetersiz olması, hatalı besin işleme uygulamaları ve uygun olmayan depolama koşulları insanların yüksek düzeyde mikotoksinle maruz kalmalarına neden olur (31). Yoksulluk, kuraklık ve diğer yetersizlikler ise insan ve hayvanların mikotoksin maruziyetini artırır (82). Gelişmekte olan ülkelerde nüfusun %60-85 gibi önemli bir kısmı tarımla uğraşmaktadır. Bu yüzden, besinlerdeki aflatoksin düzeyinin sınırlandırılmasına yönelik düzenleyici yaklaşımlar yetersiz kalmaktadır (81). Bunun sonucu olarak gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanlar arasında aflatoksin maruziyetinin prevalansında farklılıklar ortaya çıkmaktadır (59,83). Gelişmekte olan ülkelerde halka sunulan hazır besin

maddelerinin tüketimi az olup, besin maddelerinin analiz edilmesi için gerekli olan laboratuvarlar ekonomik ve teknolojik açıdan yetersizdir. Tüketilen besinler genellikle ailelerin kendilerinin ürettiği, depoladığı ve aflatoksin için risk oluşturabilecek herhangi bir durum dikkate alınmadan hazırlanan yiyeceklerdir. En az kontamine olmuş besin maddeleri ve yemler dışarı satılmakta, daha fazla kontamine olmuş olan ürünler ise aile fertleri tarafından tüketilmektedir. Bu durum üretici ailenin daha fazla aflatoksine maruz kalmasına neden olmaktadır (84).

İnsanlar ve hayvanlar ağız, solunum ve deri yoluyla mikotoksinlere maruz kalabilir (85,86). İnsanların mikotoksinlere maruziyetinin temel yolu besinlerle birlikte toksinin vücuda alınmasıdır. Çünkü besinlerin çoğu, tüketici için toksik etki gösterebilen maddeleri içerir ya da besinlerde toksik maddeler doğal olarak oluşabilir (87).

Vücuttaki tüm sistemler mikotoksinler için biyolojik hedef olabilir. Biyomarker değerlendirme listeleri (biomarker rubrics) stratejik araçlardır. Biyomarkerlar niteliksel-niceliksel olarak toksikolojik etkilerin, maruziyetin, internal dozun ve hassasiyetin değerlendirilmesine olanak sağlar (88). Mikotoksin içeren besin tüketimi maruziyetin de göstergesidir. Besinlerin mikotoksin düzeyi vücuttaki mikotoksinlerin miktarını tahmin etmede önemlidir (85).

Mikotoksinlere yönelik yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, mikotoksin düzeyini belirlemek ve sürecini değerlendirmek birçok faktöre bağlı olduğu için bu çalışmaları yorumlamak ve çalışma yapmak oldukça zordur. Mikotoksinler, hayvan yemlerinden et, süt ve yumurta gibi yenilebilen hayvan dokularına belirli düzeylerde geçmektedir. Bunun çalışma sonucunu etkileyecek düzeyde olması maruziyet çalışmalarını değerlendirmeyi zorlaştıran diğer bir etkendir (34,47).

Diyetle alınan mikotoksin düzeyi, günlük tüketilen besinlerde bulunan mikotoksin miktarının vücut ağırlığına bölünmesiyle belirlenmektedir. Bu düzey; $(\text{mikotoksin}(\mu\text{g})/\text{besin maddesi}(\text{kg})) \times \text{tüketilen besin} (\text{kg})/\text{vücut ağırlığı} (\text{kg})$ ile hesaplanmaktadır (89). Çalışmalarda majör mikotoksin metabolitlerinin atımının ya da serumdaki mikotoksin düzeyinin eksternal dozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu parametreler diyetle alınan düzeyi tahmin etmek için kullanılabilir. İnternal dozun

olumsuz biyolojik etkilerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu yüzden mikotoksin maruziyetinden kaynaklanan riski tahmin etmede internal doz kullanılabilir (85,89).

Mikotoksinlerde olduğu gibi aflatoksin maruziyetinin değerlendirilmesi de oldukça zordur. Sadece aflatoksinle kontamine olmuş besinlerin toksin düzeyinin belirlenmesi, aflatoksin maruziyetinin değerlendirilmesi için yeterli ve kesin veri sağlamaz. Çünkü aflatoksinler besinlerde homojen olarak dağılmamaktadırlar. Ayrıca diyetle alınan besinlerin hem çeşidi çok fazladır hem de tüketilen besin miktarları doğru olarak rapor edilememektedir. AFB1 metabolizmasındaki genetik farklılıklar bireysel değerlendirmeleri etkilediği için maruziyetin değerlendirilmesi için alternatif biyomarkerlar geliştirilmiştir. AFB1 için idrarda aflatoksin-N7-guanin (AFB1-N7-gua) ya da kanda aflatoksin-albümin (AFB1-alb) düzeyine bakılabilir (90).

2.6. Besinlerde Aflatoksin Varlığı

Aflatoksinler özellikle fındık, kuru meyveler, yerfıstığı, kakao, kahve, baharatlar, mısır, pirinç, buğday ve diğer tahıl ürünlerinde yüksek düzeylerde bulunmaktadır. Aynı zamanda kontamine olmuş yemle beslenen hayvanlardan elde edilen et, süt, yumurta, peynir ve yoğurt gibi diğer hayvansal ürünlerde de bulunabilirler (91-93). Yüksek miktarlarda aflatoksin içeren besinlerin uzun süre tüketimi halk sağlığı açısından problem yaratabileceği gibi ihracatı da olumsuz yönde etkiler. Bu durum ülkede ekonomik kayıplara neden olabilir (94). Bu yüzden besinlerdeki mikotoksin kontaminasyonu, üretimden tüketime kadar geçen her aşamada ülkeler tarafından kontrol altına alınmalıdır (93,95).

2.6.1. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksinler

Yetişkin bireylerin beslenmesinde önemli bir yere sahip olan süt ve süt ürünleri, yetişkinlerden daha duyarlı olan çocuk beslenmesinde de fazla miktarlarda tüketilmektedir (96). Türkiye genelinde yapılan çalışmalara göre yetişkin bireylerin ortalama tükettikleri süt miktarı Tablo 2.4'de verilmiştir (97-102).

Tablo 2.4. Türkiye’de yapılan farklı çalışmalara göre kişi başı tüketilen süt miktarı (g/kişi/gün).

Yıl	Çalışmanın Adı ve Kaynak	Süt Tüketim Miktarı
2013	Dünya ve Türkiye’de Süt Sektör İstatistikleri (97)	102
2011	Süt ve Süt Ürünleri Sektör Raporu (98)	71
2010	Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF) (99)	71
2000	Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü (100)	52
2001		54
2002		56
2003		56
2004		60
2005		64
2006		65
2002-	TEKHARF 2003-2004 Taraması	28.9 (tam yağlı)
2003	Katılımcılarının Genel Beslenme Örüntüsü ve Beslenme Alışkanlıkları (101)	4.1 (yarım yağlı) 2.0 (yağsız)
1974	Türkiye’de Beslenme (102)	30.8

Süt ve süt ürünleri yenilebilir hayvan dokuları arasında en fazla aflatoksin kalıntısı içeren besin grubudur. Bu yüzden süt ve süt ürünlerinde bulunan aflatoksinler halk sağlığını tehdit eden önemli sorunlardan biridir (96).

Süt ve süt ürünlerindeki aflatoksin kontaminasyonunun iki temel yolu vardır. Birincisi laktasyon dönemindeki hayvanlar, aflatoksinle kontamine olan yemleri tükettiklerinde aflatoksin B1 ve B2, hayvan vücudunda metabolize edilerek

aflatoksin M1 ve M2'ye dönüşür. Metabolize edilen bu toksinler, hayvandan elde edilen süte geçerek kontaminasyon gerçekleşir. İkincisi ise süt sağıldıktan sonra taşıma, işleme ve depolama sırasında, aflatoksin sentezleyen küflerin süte bulaşması ve aflatoksin üretmeleri ile olmaktadır (103).

Süt ürünlerinde en fazla aflatoksin peynirlerde rastlanmaktadır. Küf gelişimi özellikle olgunlaştırma süresi uzun olan peynirlerin kabuk kısımlarında daha fazla olmaktadır (104). Aflatoksinler düşük sıcaklıklarda sentezlenemediği için küflerle kontamine olmuş peynirlerin +4°C'de depolanmaları aflatoksin sentezini önlemektedir. Piyasada bulunan ticari sütlerde aflatoksin M1'in görülme sıklığı, ham çiftlik sütlerindeki kadar değildir. Bunun sebebi, farklı hayvanlardan toplanan aflatoksin M1 ile kontamine olmuş sütler, diğer sütlerle karıştırıldığında tamamının kontamine olmasıdır. Kontamine olmuş yemle beslenen hayvanın sütünde bulunan aflatoksin M1'in süt içerisindeki dağılımı homojen değildir. Sütten kremanın ayrılması işlemi, sütün içerisindeki AFM1 dağılımını etkiler. Bu işlem sırasında süt içerisindeki AFM1'in yaklaşık %10'u yağa geçmekte, % 80'inden fazlası ise süt proteini olan kazeine bağlanarak yağsız süt kısmında kalmaktadır (65,105).

Aflatoksin M1, sütlerde yazın kıyasla, kış aylarında daha yüksek düzeylerde bulunmaktadır. Yazın sütte bulunan AFM1'in daha düşük düzeyde olması hayvanların çayır, otlak ve yeşil samanlıkta taze yemlerle beslenmesine bağlanmaktadır. Buna karşın kışın, taze yeşil yeme ulaşılamamasından ya da yem eksikliğinden dolayı hayvanların beslenmesi daha yoğun olarak mısır, buğday ya da pamuk çekirdekleri gibi tahıl ürünlerine dayalıdır. Uygun olmayan depo koşulları, bu tahıl ürünlerinde yüksek düzeylerde mikotoksin üretilmesine neden olur. Aynı zamanda, süt verimi kışın daha düşük olduğu için aflatoksin M1 ve diğer bileşenler sütte daha konsantre olarak bulunurlar (2,7,10).

Rahimi ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada (2), kış ve sonbahar aylarında üretilen sütlerde AFM1 düzeyinin diğer aylara kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Yaz ve ilkbahar aylarında üretilen sütlerdeki AFM1 düzeyleri arasında ise belirgin bir fark saptanmamıştır.

Süt ve süt ürünlerinde bulunan mikotoksinlerin çoğu pişirme ve dondurma gibi besine uygulanan fiziksel işlemlere karşı dayanıklıdır (106).

Kiermier ve Meshaley (14) süt ve süt ürünlerine uygulanan soğuk işlemlerin AFM1 düzeyine etkisini araştırmışlardır. Önceden belirlenen düzeylerde AFM1 içeren sütler 5°C'de 3 gün, 0°C'de 4 gün ve 0°C'de 6 gün depolanmıştır. Çalışmanın sonunda sırasıyla %25.0, %40.0 ve %58.0 oranında aflatoksin düzeyinde azalma olmuştur. McKinney ve diğerlerinin yaptığı başka bir çalışmada ise (107), sütleri -18°C'de 30 gün dondurarak depolamanın aflatoksin düzeyinde %14.0 oranında azalmaya neden olduğu ve 53 gün sonra ise %85.0 oranında bir azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. Stoloff ve diğerlerinin yaptığı başka bir çalışmada ise (108) sütler -18°C'de 53 gün boyunca depolanmıştır. Çalışma sonunda, AFM1 düzeyindeki azalmanın daha az olduğu rapor edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, İstanbul piyasasında satışa sunulan süt ve süt ürünlerinin AFM1 düzeyleri araştırılmıştır. Çalışma sonunda 87 süt örneğinin %11.6'sında, 15 yoğurt örneğinin %93.3'ünde ve 15 peynir örneğinin %13.3'ünde AFM1 düzeyi kabul edilebilir düzeyden daha yüksek bulunmuştur (109).

Akkaya ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada (110), 104'ü normal, 21'i meyveli ve 52'si torba yoğurt olmak üzere toplam 177 yoğurt örneğinde AFM1 analiz edilmiştir. Çalışmanın sonucunda normal yoğurtların %11.5'inde, meyveli yoğurtların %9.5'inde ve torba yoğurtların %21.2'sinde Türk Gıda Kodeksinde belirtilen kabul edilebilir düzeyden (50ng/kg) daha yüksek düzeyde AFM1 olduğu belirlenmiştir.

Var ve Kabak'ın (111) yaptığı bir çalışmada; 20 sterilize süt, 10 tereyağı, 20 beyaz peynir ve 20 kaşar peyniri olmak üzere toplam 70 adet süt ve süt ürünleri aflatoksin açısından değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonunda, sterilize süt örneklerinin %15.0'inin, tereyağı örneklerinin %20.0'sinin, beyaz peynir ve kaşar peyniri örneklerinin ise %5.0'inin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen düzeylerden daha yüksek düzeyde aflatoksin içerdiği bulunmuştur.

Kendirci (112), laboratuvar koşullarında 0.1, 0.2 ve 0.5 µg/L olmak üzere 3 farklı düzeyde aflatoksinle kontamine edilen sütlerden kefir üretmiş ve AFM1'in kefire geçiş oranlarını incelemiştir. Çalışma sonunda AFM1'in süttten kefire geçiş oranları sırasıyla %60.0, %60.0 ve %80.0 olarak bulunmuştur.

Türkiye'de üretilen farklı süt türlerinin aflatoksin düzeylerini saptamaya yönelik yapılan çalışmalar Tablo 2.5'te özetlenmiştir (17,113-133).

Tablo 2.5. Türkiye’de üretilen farklı süt türlerinin aflatoksin düzeyleri.

Süt Türü	Ülke / şehir	Yıl	Örnek sayısı / Pozitif örnek sayısı	Yasal limiti aşan örnek sayısı (%)	Kaynak
Çiğ süt	Türkiye/Van	2001	90/79(%87.8)	35 (38.9)	17
Çiğ süt	Türkiye/ Ankara	2004	48/34 (%70.8)	16(33.3)	113
Çiğsüt	Türkiye/ Bursa	2005	115/114 (% 99.1)	69(60.0)	114
Çiğ süt	Türkiye/Trakya bölgesi	2005	135/116 (%86.0)	1 (0.7)	115
Çiğ süt	Türkiye/Ankara	2006	86/86 (%100.0)	50 (58.4)	116
Çiğ süt	Türkiye/Erzurum	2006	127/ 73 (%57.5)	14 (11.0)	117
UHT	Türkiye/İç Anadolu	2006	129/75 (%58.1)	61 (47.0)	118
UHT, Pastörize	Türkiye/Ankara	2006	24/14 (%58.3) UHT 3/2 (%66.7) Pastörize	1(4.2) UHT (-)*Pastörize	119

*(-), pozitif /yasal limiti aşan örnek bulunmamaktadır.

Tablo 2.5. (Devam) Türkiye’de üretilen farklı süt türlerinin aflatoksin düzeyleri.

Süt Türü	Ülke / şehir	Yıl	Örnek sayısı / Pozitif örnek sayısı	Yasal limiti aşan örnek sayısı (%)	Kaynak
Çiğ süt	Türkiye/Aydın	2006	13/ 13 (%100.0)	8 (61.5)	120
Çiğ süt	Türkiye/Kars	2007	20/20 (%100.0)	18 (90.0)	121
Keçi sütü	Türkiye/ Kilis	2007	110/93 (%84.5)	7 (6.4)	122
Anne sütü	Türkiye/ Afyonkarahisar	2007	200/21 (%10.5)	(-)*	123
UHT	Türkiye	2008	100/67 (%67.0)	31 (31.0)	124
UHT sterilize süt	Türkiye	2009	50/50 (%100.0)	10 (20.0)	125
UHT süt	Türkiye/Samsun	2010	36/32(%88.9)	2(5.6)	126

*(-), pozitif /yasal limiti aşan örnek bulunmamaktadır.

Tablo 2.5. (Devam) Türkiye’de üretilen farklı süt türlerinin aflatoksin düzeyleri.

Süt Türü	Ülke / şehir	Yıl	Örnek sayısı / Pozitif örnek sayısı	Yasal limiti aşan örnek sayısı (%)	Kaynak
UHT, keçi ve inek sütü	Türkiye/Mersin	2010	39/14 (%35.8) keçi 53/46 (%86.7) inek 45/33 (%73.3) UHT	4 (10.2) 39(73.5) 1 (2.2)	127
UHT	Türkiye/Erzurum	2010	150/89 (%59.0)	16 (10.7)	128
Çiğ süt	Türkiye/ Kayseri	2011	90/80 (%72.0)	63 (56.7)	129
UHT	Türkiye/ Van	2012	50/50 (%100.0)	16 (32.0)	130
UHT	Türkiye/Şanlıurfa	2014	12/12 (%100.0)	3 (25.0)	131
Bebek devam sütü	Türkiye/ Ankara	2014	50/31 (%62.0)	(-)*	132
Bebek devam sütü ve UHT	Türkiye/Burdur	2014	41/30 (%91.1) UHT (-)*/33 bebek devam sütü	3 (7.3) UHT (-)* bebek devam sütü	133

*(-), pozitif /yasal limiti aşan örnek bulunmamaktadır.

2.7. Mikotoksinlerin Metabolizması

Mikotoksinlerin metabolizması üzerine yapılan çalışmalarda, genellikle aflatoksin metabolizması üzerinde durulmaktadır. Aflatoksinlerin metabolizmalarını araştıran çalışmaların çoğu, hayvan dokuları kullanılarak yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalardır. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar ise oldukça sınırlıdır (134-137).

Aflatoksinler yağda yüksek oranda çözünen bileşikler olup, başta solunum yolu ve gastrointestinal bölge olmak üzere maruziyetin olduğu alandan hızlıca emilirler (77).

Aflatoksinler, ağız yoluyla vücuda alındığında daha fazla emilir. Deri yoluyla bir maruziyet söz konusu olduğunda ise emilim daha yavaştır. Yoğun metabolizmaları sonunda büyük bir kısmı yavaşça atılır. AFB1'in alındığı düzeyin %65'i kandan 90 dk'da uzaklaştırılırken, vücuttan ilk olarak safra yoluyla atımı gerçekleşir. Aflatoksinlerin plazmada yarılanma ömrü kısadır. İnsan karaciğerinde ise aflatoksinin temel bileşiklerinin yarılanma ömrünün 13 dk olduğu tahmin edilmektedir (86,138). AFM1, AFB1 yemle alındıktan sonra, 6-24 saat içinde sütte tespit edilebilmekte, 12-48 saat içinde ise maksimum düzeye ulaşmaktadır. AFB1 içeren besinlerin alımı kesildikten 72-96 saat sonra hayvanın sütündeki aflatoksin miktarı azalmaya başlamaktadır (3,139).

Aflatoksin içeren besinler vücuda alındıktan sonra kan dolaşımına geçerler ve hücre membranlarından emilirler. Kandan farklı dokulara, karaciğere ve ksenobiyotik metabolizmasının temel organlarına dağıtılırlar. Aflatoksinler, temel olarak daha az zararlı olan aflatoksin M1 için hidroksilata ya da reaktif epokside karaciğer tarafından metabolize edilirler (138).

Metabolize edilmesinde sitokrom P450 enzim sistemi rol oynar. *In vitro* ortamda AFB1'in karaciğerdeki metabolizmasını araştıran bir çalışmada, aflatoksin B1 için 5 farklı metabolik yolak olduğu gösterilmiştir (86). Bunlar; indirgeme, hidroksilasyon, hidrasyon, O-demetilasyon ve epoksidasyondur. Bu metabolik olayların sonunda oluşan ürünlerin hepsi glukuronik asit ve sülfatla konjüge

olmalarına olanak sağlayan hidroksil gruplarını içerir ve böylece detoksifiye olurlar (86).

Aflatoksin DNA ile kombine olarak DNA ve RNA sentezini baskılar. Bu durum hücre nükleoli ve protein sentezinde yapısal değişikliklere neden olur (86,140).

2.8. Mikotoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Mikotoksinlerin karsinojenik, tremojenik, teratojenik, mutajenik, östrojenik, genotoksik, nörotoksik ya da immünotoksik olduğu rapor edilmiştir (28). Fakat mikotoksin toksisitesinin dört temel türü vardır. Bunlar; akut, kronik, mutajenik ve teratojenik'dir. Akut mikotoksin zehirlenmesinin en yaygın olarak bilinen etkisi böbrek ve karaciğer fonksiyonlarının bozulmasıdır. Yüksek düzeylerde maruziyetin olduğu durumlarda ölüme bile yol açabilir. Bazı mikotoksinler, ilk olarak protein sentezini engeller ve immün yetersizliğe neden olarak deri hassasiyeti ve nekroze kadar değişen bulgu ve belirtiler gösterebilirler. Diğer mikotoksin türleri ise hayvanlarda düşük dozda, devamlı titremeye neden olabilen nörotoksinlerdir. Fakat daha yüksek düzeylerde kalıcı beyin hasarı ve ölüme neden olabilirler (34).

Düşük düzeyde uzun süreli mikotoksin maruziyetinin sonuçları farklılık gösterir. Birçok mikotoksinin ilk dönemdeki kronik etkisi özellikle karaciğer kanserine neden olmasıdır. Bazı toksinler DNA replikasyonunu etkiler. Bu yüzden teratojenik ve mutajenik etkileri oluşabilirler (34).

Mikotoksin zehirlenmelerinin semptomları, kimyasal yapılarına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Bazı bileşenler ölüme neden olana kadar çok az bulgu ve belirtigösterirken, bazıları da deri nekrozis, lökopeni ve immünosupresyon gibi çok şiddetli etkilere neden olabilir. Kronik hastalıklara neden olan dozlar genellikle akut etkilere neden olan dozların oldukça altındadır. Bu yüzden kanser ve tümör oluşumu gibi uzun süreli etkiler, alındığı dönemle aynı zamanda belirlenemez (34).

Mikotoksinlerden aflatoksinlerin karsinojenik olduğu kanıtlanmıştır (140,141). Besinlerde en fazla bulunan ve toksisitesi en yüksek olan aflatoksin türü ise, aflatoksin B1'dir. Toksisiteleri açısından aflatoksinler; AFB1> AFG1> AFB2>

AFG2 olarak sıralanır (40). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansına (IARC) göre aflatoksin B1 insanlar ve hayvanlarda kanser yapıcı etkisinden dolayı Grup 1'de sınıflandırılırken, aflatoksin M1 ise grup 2B'de (insanlarda kanser oluşturması şüpheli) sınıflandırılmaktadır. Aflatoksin M1'in hedef organı aflatoksin B1 gibi karaciğerdir (142,143).

Mikotoksinlerin oluşumuna neden olan küf türleri ve oluşturdukları mikotoksinler, besin ve yemlerde bulunma durumları, toksisiteleri ve etkiledikleri canlılar Tablo 2.6'da verilmiştir.

Tablo 2. 6. Küf türleri, mikotoksinler, kaynakları, hedef organ, doku ve etkileri (71).

Küf Türü	Mikotoksin	Kaynaklar	Hedef organ, doku ve oluşan etki	Etkilediği canlılar
<i>Asp. flavus</i> <i>Asp. parasiticus</i> <i>P. puberulum</i>	Aflatoksinler	Tahıllar, yemler ve yağlı tohum küspeleri	Karaciğer; gelişme hızında azalma, sarılık, kanama, ishal, karaciğer kanseri ve bağışıklık sisteminin baskılanması	Tüm hayvan türleri ve insanlar
<i>Asp. ochraceus</i> <i>P. viridicatum</i>	Okratoksinler	Tahıllar ve otlar	Karaciğer ve böbrek hasarı, iştah kaybı, ishal ve bağışıklık sisteminin baskılanması	Kanatlılar ve insanlar
<i>P. rubrum</i>	Rubratoksinler	Tahıllar, baklagiller ve yağlı tohumlar	Aflatoksinlere benzer etki	Tüm hayvan türleri
<i>F. roseum</i> ve diğer <i>Fusarium</i> türleri	Zearelenon	Tahıllar	Östrojenik etki	Geviş getirenler ve domuzlar
<i>P. citrinum</i>	Sitrinin	Tahıllar	Nörolojik belirtiler, ishal, gelişme geriliği, karaciğer ve böbrek nekrozu, kalp ve iskelet kasında miyopati ve karaciğer kanseri	Kanatlılar ve domuzlarda
<i>Asp. versicolor</i> <i>Asp. nidulans</i> <i>Aspertoksin</i>	Sterigmatosistin	Tahıllar, pirinç ve yemler	Karaciğer kanseri	Tüm hayvan türleri

Tablo 2. 6. (Devam) Küf türleri, mikotoksinler, kaynakları, hedef organ, doku ve etkileri (71).

Küf Türü	Mikotoksinler	Kaynaklar	Hedef organ, doku ve oluşan etki	Etkilediği canlılar
<i>Asp. Clavatus</i>	Patulin	Silaj, elma ve yemler	Nörolojik belirtiler, beyin kanaması ve deri kanseri	Sığırlar
<i>P. patulum</i>				
<i>Asp. ochraceus</i>	Penisillik asit	Tahıllar ve mısır	Deri kanseri ve kanamalar	Tüm hayvan türleri
<i>P. puberulum</i>				
<i>Fusarium,</i> <i>Trikoderma,</i> <i>Sefalosporium vb.</i>	Trikotesenler	Tahıllar ve yemler	Dermatit, deride nekroz, kanamalar, anemi ve granulositopeni vb.	Tüm hayvan türleri
<i>P. citreoviridae</i>	Streoviridin	Pirinç ve tahıllar	MSS, kalp ve solunum felci ve Nöbet geçirme	Tüm hayvan türleri
<i>F. tricinctum</i>	Butenolid	Mısır, ot ve tahıllar	Bacaklarda kangren	Sığırlar
<i>Penicilium</i> <i>Türleri</i>	Penitremler	Tahıllar	Kas titremeleri, felç ve nöbet geçirme	Tüm hayvan türleri
<i>Stachybotrysatra</i>	Satratoksinler	Tahıllar, otlar	Kemik iliği, deri, mukozalar	Tüm hayvan türleri

Tablo 2. 6. (Devam) Küf türleri, mikotoksinler, kaynakları, hedef organ, doku ve etkileri (71).

Küf türü	Mikotoksinler	Kaynaklar	Hedef organ, doku ve oluşan etki	Etkilediği canlılar
<i>Asp. flavus</i>	Kojik asit	Mısır	Nöbet geçirme ve ödem	Tüm hayvan türleri
<i>Asp. oryzae</i>				
<i>Asp. niger</i>	Okzalik asit	Bitkiler	Reflü, MSS ve böbrek hasarı, kanama ve kan kalsiyum düzeyinde azalma	Tüm hayvan türleri
<i>Asp. oxalicum</i>				
<i>C. purpurea</i>	Ergot	Tahıllar	Kuru gangren, aşırı uyarı ve kanın pıhtılaşması	Tüm hayvan türleri
<i>C. paspali</i>	Alkoloidler			
<i>Aspergillus,</i> <i>Zygosporium,</i> <i>Nigrosabulumvb.</i>	Sitakalasanlar		Hücre zarları, pıhtılaşma, fagositoz vb	Tüm hayvan türleri
<i>Asp. terreus</i>	Territremler	Tahıllar, otlar	MSS ve tremor	Tüm hayvan Türleri
<i>S. sclerotiorum</i>	Psoralenler	Kereviz vb.	Deri yangısı	Tüm hayvan türleri
<i>Acremonium</i> <i>Loliae</i>	Lolitremler	Çavdar vb	Tremorlar, hareket düzensizlikleri, nöbet geçirme, şok, spazm	Geviş getirenler, at
<i>Fusarium türleri</i>	Fuminosinler	Mısır	Beyin ve akciğer iltihabı	At, domuz ve kanatlılar

2.8.1. Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkisi

Aflatoksinle kontamine olmuş besin ve yemler, hayvan ve insan sağlığında ciddi sonuçlara neden olabilir. Gelişmekte olan ülkelerde aflatoksinle kontamine olmuş besinlerin tüketiminden dolayı kronik aflatoksin maruziyeti olan insanların sayısının 5 milyardan fazla olduğu ve 4 milyardan fazla insanda da aflatoksinle ilişkili olan karaciğer kanseri özellikle hepatosellüler karsinoma gelişimine neden olduğu tahmin edilmektedir (138). Örneğin, Batı Hindistan'da 1974'te aflatoksinle etkilenen 397 kişiden 108'i aflatoksin zehirlenmesi sonucu hayatını kaybetmiştir. Kenya'da 2004 yılında, günlük beslenmesinde aflatoksinle kontamine olmuş mısır tüketen 317 kişiden 125'i ölmüştür. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre (WHO), aflatoksinlerin hem akut hem de kronik toksisitesi bulunmaktadır (144-146).

Fakir ve gelişmemiş olan ülkelerde yaşayan insanların orta ve düşük düzeyde aflatoksine uzun süreli maruz kalması sonucu, bireyler kronik aflatoksikozisle karşılaşabilirler. Aflatoksin zehirlenmesinin ilk semptomları kilo kaybı ve anoreksiyadır (140). Aflatoksin, özellikle gelişmemiş ülkelerde yaşayan çocukların çoğunda marasmus ve kwashiorkorla ilişkilendirilmiştir. Aflatoksin, anne sütü aracılığıyla anneden bebeğe geçebilmektedir. Maternal ve kordon kan örnekleri incelendiğinde, insanlarda aflatoksinin transplental geçişinin olduğu gösterilmiştir (147). Ağız yoluyla alınan aflatoksinin sütle birlikte %0.09-0.43 arasında atımının olduğu düşünülmektedir (140). Aynı zamanda aflatoksin, fetüsün gelişimini de olumsuz yönde etkilemektedir (138). Bazı toplumlarda karaciğer kanserinin erken başlangıcında rol oynadığı düşünülmesine rağmen prenatal maruziyetinin aflatoksin maruziyetinde önemli bir yerinin olmadığı gösterilmiştir (140). Hayvan çalışmalarında, aflatoksinin TNF- α düzeyinde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (148,149). Aflatoksin immünoşupresan olduğu için HIV ve tüberkülozla da ilişkilendirilmektedir. Yapılan çalışmalarda, aflatoksinlerin Reye sendromuyla ilişkili olduğu belirtilmiştir (138,150,151). Reye sendromu, genellikle influenza (grip) veya suçiçeği gibi bir viral enfeksiyonlardan sonra özellikle aspirin alınmasıyla ortaya çıkar. Tam olarak sebebi bilinmese de mitokondri yapılarının metabolik fonksiyonlarındaki bozulmayla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Başta karaciğer ve beyin olmak üzere birçok organ etkilenmektedir (152).

Aflatoksinlerin Akut ve Kronik Toksisitesi

Aflatoksikozis hem hayvanlar hem de insanlarda aflatoksinin neden olduğu bir durumdur. İki şekilde ortaya çıkar;

1.Aflatoksinin yüksek-orta düzeyde vücuda alınması sonucu ortaya çıkan tablo akut aflatoksikozis olarak tanımlanır. Hastalığın spesifik akut etkileri; hemoraji, akut karaciğer hasarı, ödem, sindirim sisteminde bozukluklar, besinlerin sindirimi ve metabolizmasındaki değişimler ve olası ölümlerdir. AFB1'in diyetle kısa süreli maruziyetinde ise, akut hepatik hasara neden olduğu belirtilmiştir (153).

2.Kronik aflatoksikozis ise aflatoksinin az-orta düzeyde uzun süreli maruziyeti sonucunda ortaya çıkar. Bulguları genelde belirgin değildir ve saptanması zordur (153). Kronik aflatoksikozisin etkileri; **1.Teratojenik etki**; konjenital malformasyonla ilişkilidir, **2.Mutajenik etki**; aflatoksinler DNA'da değişikliklere neden olurlar. Bu mutasyonlar kromozamların ayrılması, ayrılan kromozom parçalarının farklı bölgelere yeniden eklenmesi ya da genlerde değişimlere neden olmasıdır. **3. Karsinojenik etki**; aflatoksin B1 DNA ile kompleks oluşturabilen elektrofilik kimyasal karsinojenlerden biridir. Bu karsinojen, genleri değiştirerek genotoksik etki gösterir. Kronik aflatoksikozisin karsinojenik etkisi bu durumla açıklanmaktadır. Aflatoksin B1'e uzun süreli maruziyette belirli organlarda ya da dokularda AFB1 birikebilir ya da diğer karsinojenlerle birlikte yüksek genotoksik etkiye neden olabilir (138,154). Aflatoksinler, fagositik aktivitenin ve T hücrelerinin sayısının azalmasına neden olarak normal vücut savunma sistemine zarar verirler. Bu şekilde aflatoksinin kronik etkisi ortaya çıkar. Çocuklarda ve bebeklerde büyüme hızı ve aflatoksin maruziyeti arasında doz cevap ilişkisi rapor edilmiştir (138,155). Aflatoksinler aynı zamanda A ve D vitamini gibi besin öğelerinde de yetersizliğe neden olabilmektedir (34,138).

Hayvanların çoğu aflatoksikozise karşı duyarlıdır. Bu duyarlılık doza, maruziyet süresine, türe, yaşa, cinsiyete ve beslenme örüntüsüne bağlı olarak değişir (156). Aflatoksin B1'in letal toksisitesi, hayvanların hassasiyetine göre değişir. Aşırı hassas olanlar koyun, rat ve köpekler iken, dirençli olanlar ise maymun, tavuk ve faredir (138).

Aflatoksinler hayvanlarda da karsinojeniktirler. Aflatoksin B1-2,3-oksit temel karsinojendir. Yapılan çalışmalarda karsinojenik potansiyelleri malnütrisyonda özellikle pridoksin yetersizliğinde artışa neden olmasıyla ilişkilendirilmektedir (140,141) .

Hayvanlarda aflatoksikozis sendromu kusma, abdominal ağrı, pulmoner ödem, çarpıntı, koma ve serebral ödem sonucu oluşan ölüm ve karaciğer, böbrekler ve kalpte yağlanma ile karakterizedir. Süt ve besi sığırında akut toksikozisin bulguları anoreksiya, depresyon, süt üretiminde belirgin azalma, kilo kaybı, letarji, asit gibi gastrointestinal disfonksiyon, hepatoensefalopati ve ölümdür (77,138). *İn vitro* çalışmalarda aflatoksin B1 maruziyetinin rat embriyolarında nöral tüp defektine neden olduğu gösterilmiştir (155,157). Aflatoksin ratlarda transplasental karsinojen olabilir (140).

Yapılan bir çalışmada, erkek keçilerin 0.7 ppm aflatoksin içeren yemlerle beslenmesinin testiküler dejenerasyona neden olduğu rapor edilmiştir (158). Aynı zamanda Japon bıldırcınlar üzerinde yapılan bir çalışmada AFB1, fizyolojik ve davranışsal olarak cinsel olgunlaşmada ve aynı zamanda testiküler gelişmede gecikmeye neden olabileceği gösterilmiştir (159). Fakat klinik kısırlık ve aflatoksin arasındaki ilişkinin olduğuna dair kesin bir kanıt bulunmamaktadır (140).

2.9. Mikotoksin Oluşumunun ve Zararlı Etkilerinin Azaltılması

İnsanların mikotoksinlere maruziyetini azaltmak için temel yaklaşım, mikotoksin düzeyinin düşük düzeylerde tutulmasıdır. Bu da tarımsal depolama ve işleme süreçleri için en iyi uygulamaların yapılmasıyla gerçekleştirilebilir (160,161). Birçok strateji aflatoksin düzeyini azaltmaya yönelik olarak geliştirilmiştir. Bu stratejilerin ilk aşaması besin kaynaklı maruziyetin azaltılmasıdır. Aflatoksin duyarlı olan besinlerde toksin üretimi ve toksijenik küf gelişimini azaltmak ya da atımını sağlamak, mikotoksin kontaminasyonunu önlemenin en etkili yoludur. Hasat edilmiş ürünlerin doğru depolanması, hızlı kurutma, etkili küf koruyucularının kullanımı ve uygun hasat sonrası uygulamalar yapılarak da mikotoksin kontaminasyonu önlenir (54).

2.9.1. Aflatoksinlerin Zararlı Etkilerini Azaltma Yöntemleri

Aflatoksin kontaminasyonu kaçınılmaz olduğundan bu kontaminasyonu azaltmak için sayısız strateji önerilmiştir. Kontamine olmuş besin ya da yemlerdeki aflatoksin düzeyini azaltmak için fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler uygulanmaktadır (162,163). Fiziksel yöntemler; mekanik ayırma metotları, yıkama, yoğunluk farkını kullanarak ayırma ve ışınlama yardımıyla oksidasyonu içerir (164). Fakat bu uygulamaların etkinliği aflatoksinin kontaminasyon düzeyine bağlıdır. Aynı zamanda fiziksel yöntemler kesin sonuç vermez ve göreceli olarak pahalıdır. Bunlara ek olarak yemlerdeki temel besin öğelerinde azalmaya neden olabilirler (165). Aflatoksin detoksifikasyonu için temel olarak uygulanan stratejilerin bir diğeri ise kimyasal yöntemlerdir. Kimyasal yöntemlerin etkili olması büyük oranda besin ve yemlerin türüne bağlıdır. Mikotoksinle kontamine olmuş besinler için ısı işlemler gibi fiziksel yöntemlerle kimyasal yöntemlerin birlikte kullanılması mikotoksin düzeyini azaltmada daha etkindir (160). Biyolojik yöntemler ise mikotoksinlerin toksisitesini ve potansiyel karsinojenitelerini azaltmaktadır. Biyolojik yöntemlerde aflatoksinlerin detoksifikasyonu ve degradasyonunun sağlanması için enzimler kullanılır. Böylece toksik ürünlerin düzeyinde azalma olur (161).

Kimyasal Uygulamaların Sonrasında Yapısal Degradasyon

Bazı kimyasallar aflatoksini indirgeme ve inaktive etme özelliğine sahiptirler. Bu kimyasalların çoğu aflatoksinleri etkili bir şekilde yok edebilir. Fakat çoğu pratik değildir ya da ürünlerin organoleptik özelliklerinde ve besinlerin yapısında değişikliklere neden olabilir. Aynı zamanda toksik rezidülerin formasyonundan dolayı da güvenli değildir. Aflatoksinlerin azaltılmasına yönelik iki kimyasal yaklaşım vardır. Bunlar; amonyaklaştırma ve sodyum bisülfitle reaksiyona girmesidir (92,166). Yapılan çalışmalarda amonyaklaştırmanın kontamine olmuş mısır ve diğer ürünlerdeki aflatoksin düzeyini azaltmada etkili bir yol olduğunu göstermiştir (167,168). Bu yöntemdeki temel mekanizma, başlıca aflatoksin bileşiklerinin kimyasal yapısının değiştirilmesi ve lakton zincirlerinin hidrolize edilmesine dayanır (92).

Aflatoksinlerin azaltılmasında kullanılan diğere bir kimyasal ise sodyum bisülfittir. Uygun koşullar altında sodyum bisülfidin aflatoksinle reaksiyona girerek aflatoksin düzeyinde azalmaya neden olduğu çalışmalarda belirtilmiştir (166,169,170).

Diyet Kimyasalları Tarafından Toksisitenin Azaltılması

Diyette bulunan kimyasallar, vücuda alınan toksinlere karşı verilen cevabı değiştirdiği için mikotoksinlerin toksisitelerini önemli ölçüde etkileyebilirler. Besin öğeleri (diyet proteini, yağ, vitamin ve iz elementler gibi), besin ve yemlere eklenen katkı maddeleri (antibiyotik ve koruyucular gibi) ve bunun yanı sıra diğere kimyasallar hayvanlarda, aflatoksinlerin düzeyini etkileyebilir (171).

Aflatoksin Kimyasal Çözücüler Tarafından Biyoyararlılığının Değiştirilmesi

Aflatoksinlerin detoksifikasyonu için uygulanan yeni yaklaşımlardan biri hidratlaştırılmış sodyum kalsiyum alüminosilikat (HSCAS) gibi inorganik çözücülerin hayvanların diyetine eklenmesidir. HSCAS hayvanların sindirim sistemi boyunca aflatoksinlerin hareketini engeller ve aflatoksinlere güçlü bir şekilde bağlanarak biyoyararlılığını azaltırlar (92,172).

2.10. Mikotoksinlere Yönelik Yasal Düzenlemeler

Aflatoksinlerin besinlerdeki düzeyi ve insanlarda maruziyeti kesin olarak belirlenemediği için Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzmanlar Komitesi (JECFA) tolere edilebilir alım düzeyi için herhangi bir limit bildirmemiştir. Bunun yerine potansiyel riskleri minimize etmek için diyetle aflatoksinlerin alımının en düşük düzeylerde tutulması ve azaltılmayacak düzeylerde aflatoksin içeren besinlerin tüketiminin ise sınırlandırılması için ülkeler tarafından önlemlerin alınması gerektiğini vurgulamaktadır (168).

ABD Besin ve İlaç Dairesi (FDA) yem ve besinlerde aflatoksinlerin kabul edilebilir düzeyleri ile ilgili olarak özel bir kılavuz hazırlamıştır. Bu kılavuzda insanların tüketimine sunulan yiyecekler için toplam aflatoksin düzeyinin 20 ppb

olması gerektiği belirtilmektedir. Bu besinlerden sadece sütlerde aflatoksin M1 düzeyi 0.5 ppb olarak belirlenmiştir (92).

Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'ne (2011) göre çiğ süt, ısıtılmış süt ve süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan sütlerde aflatoksin M1'in maksimum limiti 0.050 µg/kg'dır. Bu düzey bebek formülleri ve devam formüllerinde 0.025 µg/kg'dır (22).

Besinlerde Bulunan Kontaminantlar (CONTAM) paneli (2007) ve Besin Güvenlik Komitesi'nin (FSC)2013'teki raporuna göre, AFM1 ve AFB1 için ALARA'nın (alınabilecek en düşük düzeylerde alım) olması gerektiği bildirilmiştir (29,173). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (JECFA), besinlerde ve yemlerde aflatoksinler tamamen yok edilemeyeceği için Tolere Edilebilir Tahmini Haftalık Alım Düzeyi (PTWI) ve Tolere Edilebilir Tahmini Günlük Alım Düzeyi'ni (PTDI) belirtmemiştir. Bunun yerine toksinler için alınabilecek en düşük düzeylerde alımı (ALARA) vurgulamaktadır (174).

Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nün 1997'de yayınladığı bir raporda, AFB1 için bireylerin maruziyeti kişi başı ortalama 4 µg/kg, toplam aflatoksinler için ortalama 8 µg/kg olarak bildirilmiştir. Maruziyet düzey aralığı AFB1 için 0 µg/kg'dan 30 µg/kg'a kadar değişirken, toplam aflatoksin için 0 µg/kg'dan 50 µg/kg'a kadar değiştiği rapor edilmiştir. Fakat JECFA, Avrupa ülkeleri ya da diğer ülkeler için toplam aflatoksin alımının tahmin edilmemesi gerektiğini ve bu düzeylerin gerçeği yansıtmadığını bildirmiştir (143).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Süt Örneklerinin Toplanması

Bu çalışmada, Şubat 2015 ile Temmuz 2015 tarihleri arasında Ankara piyasasındaki 3 tane hipermarket ve 6 tane süpermarketten toplam 135 adet süt örneği market raflarından rastgele olacak şekilde satın alınmıştır. Numuneler alınırken numunelerin farklı marka ve seri numarasında olmasına dikkat edilmiştir. Numunelerin alındığı süper ve hipermarketler seçilirken özellikle bireylerin ulaşabileceği merkezi marketler seçilmiştir.

Analizi yapılan sütler, Ankara piyasasında hipermarket ve süpermarketlerde satışa sunulan 20 farklı markaya ait toplam 135 adet farklı ısıtılmış (UHT, pastörize) yağsız, yarım yağlı ve tam yağlı farklı süt türleri (inek, keçi) satın alınmıştır (Tablo 3.1). Sütler yılın 3 farklı döneminde (şubat, mayıs ve temmuz ayları) en az 500 ml en fazla 1000 ml olacak şekilde orijinal ambalajlarında satın alınmıştır. Ondokuz farklı markaya ait 35 adet UHT süt örnekleri (inek, keçi sütleri) son tüketim tarihinden en az 2 ay öncesinde olacak şekilde, 7 farklı markaya ait 10 adet pastörize süt örneği (inek, keçi sütleri) ise son tüketim tarihinden en az 2 gün öncesinde olacak şekilde satın alınıp son tüketim tarihinden önce analiz edilmiştir. Pastörize sütler, taşıma süresince kendi ambalajlarında soğuk zincir kırılmadan soğutucu çantalarla laboratuvara taşınmış ve analiz edilene kadar buzdolabı koşullarında muhafaza edilmiştir. Dört farklı markaya ait farklı ısıtılmış (UHT, pastörize) görmüş 6 adet keçi sütü örneği de son kullanma tarihinden önce satın alınıp analiz edilmiştir. Analizler dublike olacak şekilde yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen farklı süt örneklerinin ısıtılmış işlem türleri ve yağ miktarlarına göre dağılımları Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Farklı ısıt işlem görmüş sütlerin markalarına göre dağılımları.

Markalar	Isıl İşlem Türü***	
	Pastörize Süt Sayı (n:10)	UHT Süt Sayı (n:35)
A*	2	-
B**	2	1
C	2	3
D	1	3
E	1	1
F	1	2
G	1	1
H	-	1
I	-	2
İ*	-	1
J	-	2
K	-	5
L	-	2
M	-	1
N	-	1
O	-	2
P	-	2
R	-	2
S*	-	2
T	-	1

* Sütlerden 1 tanesi keçi sütüdür.

** Sütlerin tamamı keçi sütüdür.

*** Sütler şubat (n:45), mayıs (n:45) ve temmuz ayı (n:45) olmak üzere 3 farklı dönemde alınmıştır

Tablo 3.2. Sütlerin ısıtıl işlem türü ve yağ miktarına göre dağılımı.

Isıl işlem türü	Yağ Miktarı	Süt türü**		
		İnek Sütü	Keçi Sütü	Toplam
UHT	Tam yağlı	15 *	2	17
	Yarım yağlı	12	1	13
	Yağsız	5*	0	5
Pastörize	Tam yağlı	6	2	8
	Yarım yağlı	0	0	0
	Yağsız	1	1	2
TOPLAM		39	6	45

*Sütlerden bir tanesi organiktir.

** Sütler şubat (n:45), mayıs (n:45) ve temmuz ayı (n:45) olmak üzere 3 farklı dönemde alınmıştır

Şubat ayı içerisinde toplanan sütler satın alındığı gün 2 numune olacak şekilde 40'ar ml alınarak -20°C'de dondurulmuştur. Dondurarak depolama işleminin AFM1 düzeyi üzerine herhangi bir etkisi bulunmamaktadır (19). Bu 2 numune, dondurucularda oluşabilecek herhangi bir bozulma ihtimaline karşı farklı dondurucularda depolanmıştır. Şubat ayı içerisinde toplanan süt örnekleri farklı günlerde satın alınmıştır. Kitte bulunan kimyasalların miktarına göre analizlerin aynı gün yapılması ve herhangi bir mikrobiyolojik bozulma olmaması için süt örnekleri dondurularak depolanmıştır. Mayıs ve temmuz ayı içerisinde toplanan tüm süt örnekleri aynı gün satın alınmış ve alındığı gün analiz edilmiştir.

3.2. Yöntem

Farklı süt örneklerindeki AFM1 düzeyleri, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü araştırma laboratuvarında, antijen-antikor reaksiyonlarının direkt olarak saptandığı bir enzim immunoassay yöntemi olan ELISA ile Helica Aflatoksin M1 test kiti kullanılarak belirlenmiştir. Analizlerde, ELISA test kitinde (Helica, USA) belirtilen çalışma protokolü izlenmiştir.

3.2.1. ELISA Çalışma Protokolü

- Homojenize olan yağsız süt numuneleri doğrudan test için kullanılmıştır.
- Homojenizasyon işlemi ile yağ globülleri stabil hale geldiği için yüksek santrifüjle ayırmanın mümkün olmaması ve homojenize yağlı süttten plazma elde etmek zor olduğu için testte homojenize tam yağlı ve yarım yağlı sütler de doğrudan kullanılmıştır.
- Kit içerisindeki bütün solusyonlar oda ısısına getirilmiştir.
- Kitin içerisinde bulunan standartlar sırasına dikkat edilerek çıkarılmış, 1dk santrifüj edilmiş ve kuyucuklara pipet yardımıyla 200 mikrolitre aktarılmıştır.
- Hazırlanan süt numuneleri santrifüj edilerek sıradaki kalan kuyucuklara dublike olacak şekilde 200 mikrolitre aktarılmıştır.
- Mikroplate'in hava almasını önlemek için üzeri kapatılarak karanlık ortamda oda ısında (19° - 25°C) 2 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra kuyucuklardaki sıvının tamamen dışarı boşaltılması sağlanıp yıkama işlemi uygulanmıştır. Yıkama prosedürü 3 kez, hazırlanan yıkama solüsyonuyla tekrarlanmıştır.
- Yıkama tamamladıktan sonra bütün kuyucuklara Aflatoksin HRP konjugat (Yeşil Kapak)'tan 100 mikrolitre eklenerek 15 dk oda ısında (19° - 25°C) ışık görmeyen bir yerde inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyondan sonra 3 kez yıkama işlemi yapılmıştır.
- Yıkamayı tamamladıktan sonra bütün kuyucuklara TBM Substrat (Mavi Kapak)'tan 100 mikrolitre eklenerek 20 dk inkübasyona bırakılmıştır.
- Her bir kuyucuğa Stop Solüsyon (Kırmızı Kapak)'dan 100 mikrolitre eklenmiştir.
- Rengin maviden sarıya döndüğü gözlenmiştir.

- Kuyucuklar Chromate 4300 Mikro Elisa Plaka Okuyucu ile 450 nm (OD450) absorbansta 3 kez okunmuştur ve ortalamaları alınmıştır.
- Standartların absorban değerleri kullanılarak standart eğri elde edilmiş ve analiz edilen süt numunelerinin aflatoksin M1 düzeyi hesaplanmıştır (**EK-1**).
- AFM1 düzeyinin belirlenmesinde dedeksiyon limiti (LOD) 5 ng/L'dir. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'ne (2011) göre ısıtma işlem görmüş sütlerde maksimum limit ise 50 ng/L olarak belirtilmiştir (22).

3.2.2. Bireylerin AFM1'e Maruziyet Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Aflatoksin M1'e maruziyetin değerlendirilmesinde; $(AFM1(\mu g) \times \text{besin maddesi (kg)}) \times \text{tüketilen besin (kg)} / \text{vücut ağırlığı (kg)}$ formülü kullanılmıştır (89). Bu araştırma sonuçlarına göre maruziyet değerlendirilmesi yapılırken, TBSA 2010 verilerinden yararlanılmıştır. Yetişkin erkeklerin ortalama vücut ağırlığı 77 kg, yetişkin kadınların ise 71 kg olarak alınmıştır (175).

Bu çalışmada bireylerin AFM1'e maruziyet düzeyleri Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberinde (2015), süt ve süt ürünlerinin tüketimine yönelik önerilen miktarlar dikkate alınarak da değerlendirilmiştir. Farklı yaş gruplarında bulunan bireylerin süt grubundan sadece süt tükettikleri (önerilen porsiyon miktarlarının tamamının süttan karşılanması) ve bireylerin, önerilen miktarların sadece 1 porsiyonunu süttan (200 ml) karşıladıkları düşünülerek hesaplamalar yapılmıştır. Farklı yaş ve cinsiyete göre günlük önerilen süt ve süt ürünlerinin porsiyon miktarları (g/gün), 1-3 yaş grubu çocuklar için 4 porsiyon, 4-6 yaş grubunda 3-4 porsiyon, 7-9 yaş grubunda ise 3 porsiyon olarak belirtilmiştir (176). Erkek bireylerde bu miktarlar; 10-18 yaş arası bireylerde 4 porsiyon, 19-65 yaş arası yetişkin bireylerde 3 porsiyon, 65 yaş üzeri bireylerde ise 4 porsiyondur. Kadınlarda; 10-18 yaş arası, 51-65 yaş arası ve 65 yaş üstü bireyler için 4 porsiyon, 19-50 yaş arası bireylerde ise 3 porsiyondur (176).

Maruziyetin değerlendirilmesinde kullanılacak vücut ağırlıkları için TBSA 2010 verileri kullanılmıştır (175). Buna göre; 1-3 yaş arası ortalama vücut ağırlığı 11 kg, 3-5 yaş arası 16 kg ve 6-8 yaş arası 24 kg'dır. Erkek bireylerin vücut ağırlığı; 9-

18 yaş arası ortalama 49 kg, 19-64 yaş arası ortalama 77 kg ve 65 yaş üstü bireylerde ise ortalama 74 kg'dır. Kadın bireylerde ise; 9-18 yaş arası ortalama vücut ağırlığı 47 kg, 19-50 yaş arası 73 kg, 51-64 yaş arası 77 kg ve 65 yaş üstü kadınlar için ortalama vücut ağırlığı 69 kg'dır.

AFM1 için tolere edilebilir alım düzeyi (TDI) $0.2 \text{ ng v.a.}(\text{kg})^{-1}\text{gün}^{-1}$ olarak belirtilmektedir (177).

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde; IBM SPSS Statistics 23.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) programından yararlanılmıştır. Satın alınan sütlerin hayvanın türüne göre (inek, keçi sütü) ve ısıl işlemin türüne göre (UHT, pastörize süt) AFM1 düzeyleri açısından farklılık olup olmadığının değerlendirilmesinde Mann-whitney U testi kullanılmıştır. Farklı aylarda satın alınan (şubat, mayıs, temmuz ayları) ve farklı yağ miktarına sahip olan sütlerin (tam yağlı, yarım yağlı, yağsız sütler) AFM1 düzeyleri arasında farklılık olup olmadığının belirlenmesinde ise Kruskal-Wallis testinden yararlanılmıştır. Analiz edilen süt örneklerinin ısıl işlemin türü, yağ miktarı ve hayvanın türüne göre AFM1 düzeyleri için tanımlayıcı istatistik olarak; aritmetik ortalama (\bar{x}), standart sapma (SS), alt değer ve üst değerler kullanılmıştır. Bu çalışmada yapılan tüm analizlerde sonuçlar istatistiksel anlamlılık $p<0.05$ ve $p<0.01$ değerleri ile değerlendirilmiştir (178).

4. BULGULAR

Araştırma kapsamında alınan farklı türde ve farklı ısıl işlem görmüş sütlerin aflatoksin M1 düzeyleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

4.1.Farklı Süt Türlerinin AFM1 Düzeyleri Açısından Değerlendirilmesi

Araştırma kapsamında alınan farklı türde ve farklı ısıl işlem görmüş sütlerin ortalama AFM1 düzeyi 8.6 ± 4.57 ng/L’dir. Isıl işlemin özelliği dikkate alınarak süt örnekleri incelendiğinde; UHT süt örneklerinin ortalama AFM1 düzeyi (9.3 ± 4.58 ng/L), pastörize süt örneklerinin ortalama AFM1 düzeyinden (6.3 ± 3.76 ng/L) daha yüksek bulunmuştur. UHT süt örneklerinde en yüksek AFM1 düzeyi 21.9 ng/L iken, pastörize süt örneklerinde ise 15.2 ng/L’dir. Farklı ısıl işlem uygulanmış süt örnekleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p < 0.01$) (Tablo 4.1).

Sütlerin yağ miktarına göre en yüksek ortalama AFM1 düzeyi yarım yağlı sütlerde (10.5 ± 5.01 ng/L), en düşük ortalama AFM1 düzeyi ise yağsız süt örneklerinde (6.8 ± 3.61 ng/L) bulunmuştur. Aradaki farklılık istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p = 0.007$). En düşük AFM1 düzeyinin tam yağlı süt (2.3 ng/L) örneklerinde, en yüksek AFM1 düzeyinin ise yarım yağlı süt örneklerinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Hayvanın türüne göre; 117 adet inek sütü ve 18 adet keçi sütü örneği incelenmiştir. İnek ve keçi sütlerinin ortalama AFM1 düzeyleri sırasıyla; 9.0 ± 4.68 ng/L, 6.4 ± 2.98 ng/L’dir ($p = 0.032$) İnek sütü örneklerindeki AFM1 düzeyi 2.3-21.9 ng/L, keçi sütü örneklerinde ise 2.5-11.9 ng/L arasında değişmektedir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Farklı süt türlerinin ısıt işlem türü ve yağ miktarlarına göre AFM1 düzeylerinin ortalama ve standart sapma ($\bar{x} \pm SS$) ile alt-üst değerleri.

Değişkenler		Sayı	$\bar{x} \pm SS$	Alt-üst	p değeri
Isıl işlem	UHT	105	9.3±4.58	2.5-21.9	0.000 ^a
	Pastörize	30	6.3±3.76	2.3-15.2	
Yağ miktarı	Tam yağlı	75	8.2±4.29	2.3-21.9	0.007 ^b
	Yarım yağlı	39	10.5±5.01	2.7-21.7	
	Yağsız	21	6.8±3.61	2.6-18.3	
Hayvanın türü	İnek	117	9.0±4.68	2.3-21.9	0.032 ^c
	Keçi	18	6.4±2.98	2.5-11.9	
Toplam		135	8.6±4.57	2.3-21.9	

^aMann Whitney U testi (p<0.01).^b Kruskal-Wallis testi (p<0.01).

^c Mann Whitney U testi (p<0.05).

4.2. Farklı Süt Türlerinin Aylara Göre AFM1 Düzeyleri Açısından Değerlendirilmesi

Satın alınan farklı türdeki pastörize ve UHT sütlerin yağ içeriğine ve satın alındıkları aylara göre AFM1 düzeyleri Tablo 4.2-Tablo 4.3'te verilmiştir.

Şubat ayında satın alınan pastörize süt örneklerinin tamamında, mayıs ayında satın alınan sütlerin %30.0'unda ve temmuz ayında satın alınan sütlerin ise %20.0'sinde AFM1 tespit edilmiştir (Tabloda verilmemiştir). Pastörize sütlerin satın alındıkları aylara göre, ortalama AFM1 düzeylerinin en yüksekten en düşüğe doğru sıralanışı; şubat (9.6±3.48ng/L)>mayıs (4.9±3.86 ng/L)>temmuz (4.5±0.10ng/L)'dur. Şubat ayında satın alınan pastörize sütlerin AFM1 düzeyleri 5.0-15.2 ng/L, mayıs ayında 2.3-15.1 ng/L ve temmuz ayında ise 2.6-6.1 ng/L arasında değişmektedir. Aralarındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0.001) (Tablo 4.4). Pastörize süt örnekleri yağ miktarına göre incelendiğinde; tam yağlı sütlere kıyasla, yağsız sütlerin ortalama AFM1 düzeyinin daha düşük olduğu bulunmuştur. Pastörize keçi sütleri aylara göre AFM1 düzeyleri açısından karşılaştırıldığında; en yüksek AFM1 düzeyinin şubat ayında (11.9 ng/L), en düşük AFM1 düzeyinin ise mayıs ayında

satın alınan keçi sütünde (2.5 ng/L) olduğu belirlenmiştir. Pastörize inek sütü örneklerinde ise; keçi sütlerinde olduğu gibi en yüksek AFM1 düzeyi şubat ayında (15.2 ng/L), en düşük AFM1 düzeyi ise mayıs ayında satın alınan inek sütlerinde (2.3 ng/L) saptanmıştır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Pastörize sütlerin satın alındıkları aylara göre AFM1 düzeyleri (ng/L).

Sütün Özelliği	AFM1 düzeyleri (ng/L)**		
	Şubat	Mayıs	Temmuz
Tam Yağlı Süt			
Örnekleri			
1	12.2	6.3	4.0
2*	11.9	2.8	4.6
3	5.0	2.3	3.8
4	15.2	6.0	4.6
5	13.9	15.1	6.1
6*	7.4	2.5	3.6
7	6.3	3.6	4.9
8	7.8	4.0	5.5
$\bar{x} \pm SS$	10.0±3.79	5.3±4.25	4.6±0.86
Alt değer	5.0	2.3	3.6
Üst değer	15.2	15.1	6.1
Yağsız Süt Örnekleri			
1	6.9	3.6	4.8
2*	9.1	2.8	2.6
$\bar{x} \pm SS$	8.0±1.58	3.2±0.53	3.7±1.56
Alt değer	6.9	2.8	2.6
Üst değer	9.1	3.6	4.8

*Sütler, keçi sütüdür.

**Kruskal Wallis Testi (p=0.001)

Şubat ayında satın alınan UHT sütlerin %97.1'inde, mayıs ayında satın alınan sütlerin %51.4'ünde ve temmuz ayında satın alınan sütlerin ise %94.3'ünde AFM1

tespit edilmiştir (Tabloda verilmemiştir). Tam yağlı ve yarım yağlı UHT süt örneklerinin satın alındıkları aylara göre ortalama AFM1 düzeylerinin çoktan aza doğru sıralanışı sırasıyla; şubat (9.7 ± 4.12 ng/L; 11.3 ± 5.73 ng/L) temmuz (9.0 ± 3.57 ng/L; 10.5 ± 3.11 ng/L), mayıs (8.0 ± 5.07 ng/L; 9.5 ± 5.96 ng/L)'tır. Yağsız UHT süt örneklerinde ise; temmuz ayında satın alınan sütlerin ortalama AFM1 düzeyinin en yüksek (10.3 ± 4.88 ng/L), mayıs ayında satın alınan sütlerin ortalama AFM1 düzeyinin ise en düşük (4.1 ± 1.13 ng/L) olduğu saptanmıştır (Tablo 4.3). UHT süt örneklerinin ortalama AFM1 düzeyleri; şubat ayında (10.0 ± 4.59 ng/L) ve temmuz ayında satın alınan (9.8 ± 3.58 ng/L) sütlerde benzer olup, mayıs ayında (8.0 ± 5.28 ng/L) daha düşük bulunmuştur ($p=0.014$) (Tablo 4.4).

Tam yağlı UHT süt örneklerinin en yüksek (21.9 ng/L) ve en düşük (2.5 ng/L) AFM1 düzeyleri mayıs ayında satın alınan süt örneklerinde bulunmuştur. Tam yağlı UHT sütlerde belirlenen AFM1 düzeyleri şubat ayında $4.9-18.9$ ng/L, temmuz ayında ise $4.5-16.1$ ng/L arasında değişmektedir. Yarım yağlı UHT süt örneklerinin AFM1 düzeyleri; şubat ayında $5.9-21.7$ ng/L, mayıs ayında $2.7-21.6$ ng/L ve temmuz ayında ise $6.1-15.1$ ng/L arasında değişmektedir. Yağsız UHT süt örnekleri AFM1 düzeyleri açısından değerlendirildiğinde; şubat ayında satın alınan sütlerde saptanan en düşük AFM1 düzeyinin organik sütte (7.1 ng/L), mayıs ve temmuz aylarında satın alınan sütlerde ise en düşük AFM1 düzeyinin organik olmayan inek sütlerinde olduğu bulunmuştur (sırasıyla; 2.9 ng/L ve 6.1 ng/L) (Tablo 4.3).

En yüksek AFM1 düzeyi mayıs ayında satın alınan tam yağlı UHT inek sütünde belirlenmiştir (21.9 ng/L). UHT inek sütlerinde şubat ayında ortalama AFM1 düzeyi 10.3 ± 4.72 ng/L, mayıs ayında 8.1 ± 5.47 ng/L, temmuz ayında ise 10.0 ± 3.62 ng/L olarak bulunmuştur (Tabloda verilmemiştir). UHT keçi sütü örneklerinde ise şubat, mayıs ve temmuz aylarında satın alınan sütlerin ortalama AFM1 düzeyleri benzer bulunup, sırasıyla; 7.5 ± 1.56 ng/L, 7.4 ± 3.05 ng/L, 7.5 ± 2.40 ng/L'dır (Tabloda belirtilmemiştir). Ankara piyasasında satılan organik sütlerin ortalama AFM1 düzeylerine bakıldığında; şubat ayında satın alınan tam yağlı organik süütün en yüksek AFM1 düzeyine sahip olduğu saptanmıştır (12.3 ng/L). Tam yağlı organik süütün AFM1 düzeyi (12.3 ng/L), şubat ayında satın alınan tam yağlı UHT süt örneklerinin ortalama AFM1 düzeyinden (9.7 ± 4.12 ng/L) daha yüksektir (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. UHT sütünlerin satın alındıkları aylara göre AFM1 düzeyleri (ng/L).

Sütün Özelliği	AFM1 düzeyleri (ng/L)***		
	Şubat	Mayıs	Temmuz
Tam Yağlı Sütün			
Örnekleri			
1	4.9	2.5	4.5
2	16.7	12.4	6.4
3*	6.0	4.0	6.1
4	6.8	4.8	4.8
5	7.2	4.9	7.0
6**	12.3	4.8	7.1
7	8.9	3.5	6.7
8	18.9	11.5	8.3
9	12.7	9.7	12.9
10	5.2	5.0	9.1
11*	7.5	8.6	6.1
12	12.3	8.7	8.0
13	7.0	4.3	11.8
14	14.2	14.3	16.1
15	6.9	4.3	10.2
16	7.8	11.3	14.9
17	9.6	21.9	13.3
$\bar{x} \pm SS$	9.7±4.12	8.0±5.07	9.0±3.57
Alt değer	4.9	2.5	4.5
Üst değer	18.9	21.9	16.1

*Sütünler, keçi sütünüdür.

** Sütünler, organiklidir.

***Kruskal Wallis Testi (p=0.014).

Tablo 4.3. (Devam) UHT sütünlerin satın alındıkları aylara göre AFM1 düzeyleri (ng/L).

Sütün Özelliği	AFM1 düzeyleri (ng/L)***		
	Şubat	Mayıs	Temmuz
Yarım Yağlı Süt			
Örnekleri			
1	9.9	4.2	7.2
2	6.0	2.7	7.5
3	21.3	16.2	6.1
4	5.9	3.9	10.2
5	13.6	16.9	13.7
6	10.8	21.6	14.0
7	18.5	11.0	12.4
8	7.3	4.5	9.7
9	21.7	4.2	6.1
10*	9.1	9.8	10.3
11	6.6	12.6	15.1
12	6.6	6.3	11.3
13	9.6	10.1	13.7
$\bar{x} \pm SS$	11.3±5.73	9.5±5.96	10.5±3.11
Alt değer	5.9	2.7	6.1
Üst değer	21.7	21.6	15.1
Yağsız Süt Örnekleri			
1	7.2	3.3	6.6
2	7.2	4.4	6.1
3**	7.1	5.8	10.1
4	9.3	2.9	10.5
5	8.7	4.5	18.3
$\bar{x} \pm SS$	7.9±1.01	4.1±1.13	10.3±4.88
Alt değer	7.1	2.9	6.1
Üst değer	9.3	5.8	18.3

*Sütler, keçi sütüdür.

** Sütler, organiktir.

***Kruskal Wallis Testi (p=0.014).

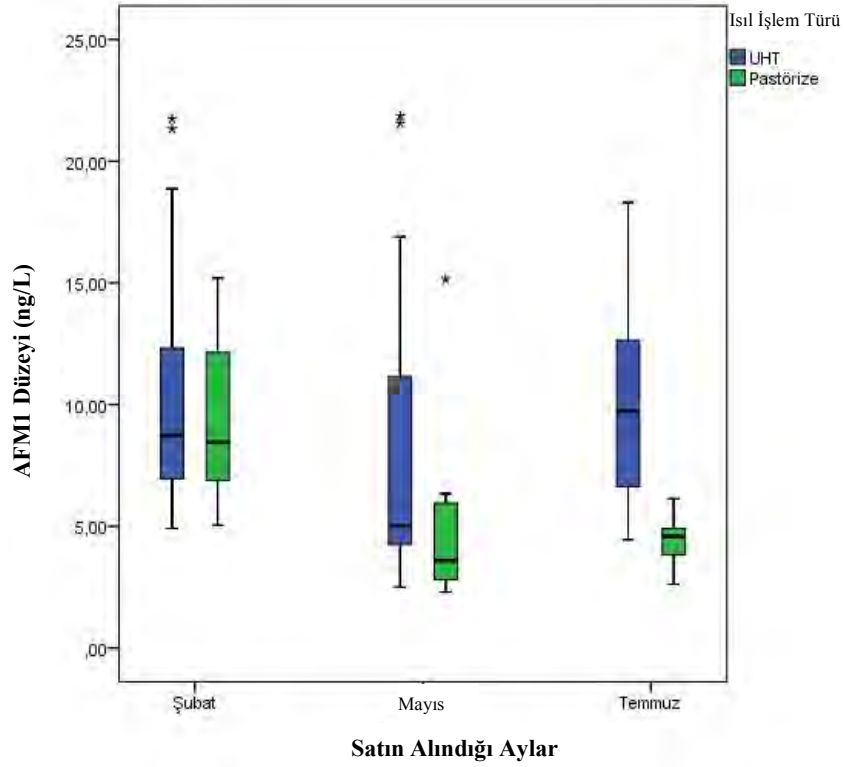
Tablo 4.4. Farklı ısıtım işlem görmüş sütlerin satın alındıkları aylara göre AFM1 düzeyleri (ng/L).

Isıl İşlem Türü	AFM1 düzeyleri (ng/L)		
	Şubat (n:45)	Mayıs (n:45)	Temmuz (n:45)
UHT Süt Örnekleri*			
$\bar{x} \pm SS$	10.0±4.59	8.0±5.28	9.8±3.58
Alt değer	4.9	2.5	4.5
Üst değer	21.7	21.9	18.3
Pastörize Süt Örnekleri**			
$\bar{x} \pm SS$	9.6±3.48	4.9±3.86	4.5±0.10
Alt değer	5.0	2.3	2.6
Üst değer	15.2	15.1	6.1
Toplam			
$\bar{x} \pm SS$	9.9±4.33	7.3±5.13	8.6±3.88
Alt değer	4.9	2.3	2.6
Üst değer	21.7	21.9	18.3

*Kruskal Wallis Testi (p=0.014).

**Kruskal Wallis Testi (p=0.01).

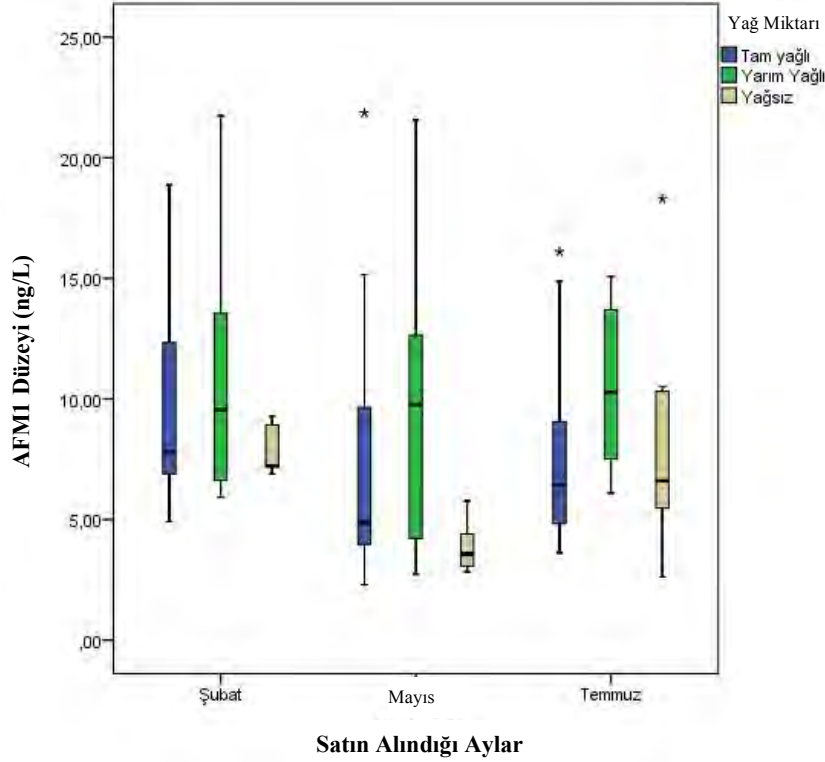
Şubat ve mayıs aylarında satın alınan UHT ve pastörize süt örneklerinin ortalama AFM1 düzeyleri birbirine yakın düzeydedir. Temmuz ayında satın alınan pastörize sütlerin ortalama AFM1 düzeyleri, UHT süt örneklerinden daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Sütlerin satın alındığı aylardaki ısıl işlemin türüne göre ortalama AFM1 düzeyleri (ng/L).

*Aşırı uç değerleri göstermektedir.

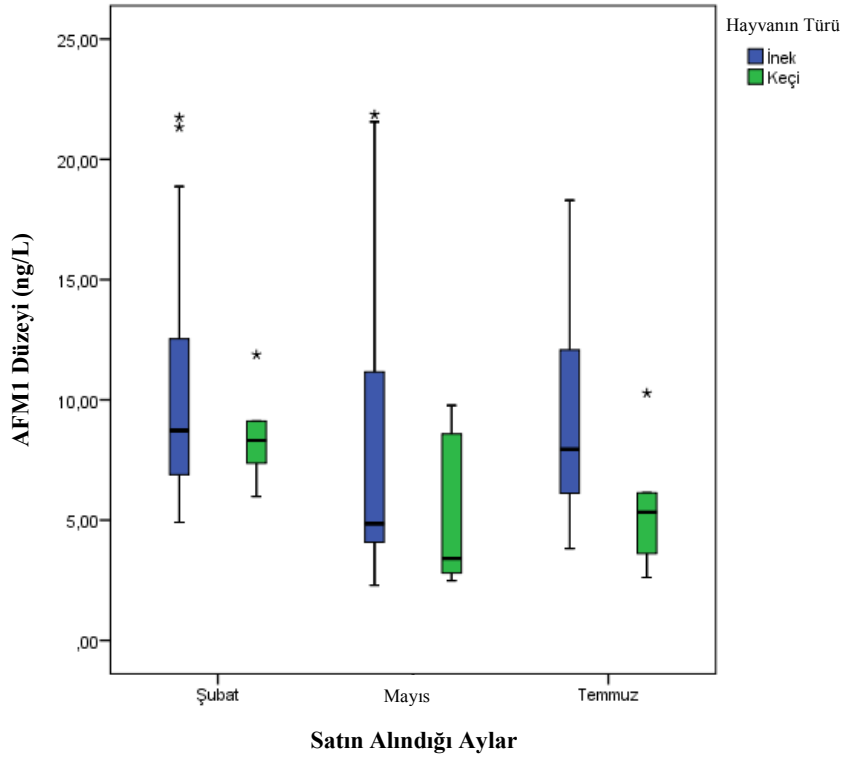
Sütlerin satın alındığı 3 farklı dönemde de yarım yağlı sütlerin ortalama AFM1 düzeyleri, tam yağlı ve yağsız sütlerin ortalama AFM1 düzeylerine göre daha yüksek bulunmuştur. Tam yağlı ve yağsız sütlerin şubat, mayıs ve temmuz aylarındaki ortalama AFM1 düzeyleri ise birbirine yakındır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Sütlerin satın alındığı aylardaki yağ miktarına göre ortalama AFM1 düzeyleri (ng/L).

*Aşırı uç değerleri göstermektedir.

Hayvanın türüne göre satın alınan sütlerin AFM1 düzeylerine bakıldığında; şubat ayında inek ve keçi sütlerinin ortalama AFM1 düzeylerinin birbirine benzer olduğu saptanmıştır. Şubat ayında satın alınan sütler içerisinde en yüksek AFM1 düzeyi inek sütünde bulunmuştur. Mayıs ayında satın alınan inek sütünün maksimum AFM1 düzeyi keçi sütüne göre yüksektir. Ortalama AFM1 değerleri ise birbirine yakındır. Temmuz ayında satın alınan inek sütlerinin AFM1 düzeyleri, keçi sütlerinin AFM1 düzeylerine kıyasla daha geniş bir aralıkta değişmektedir. Temmuz ayında satın alınan inek sütlerinin ortalama AFM1 düzeyi keçi sütüne kıyasla daha yüksektir (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Sütlerin satın alındığı aylardaki hayvanın türüne göre ortalama AFM1 düzeyleri (ng/L).

*Aşırı uç değerleri göstermektedir.

4.3. Farklı Süt Türlerinin AFM1 Düzeylerinin Türk Gıda Kodeksine Göre Değerlendirilmesi

Satın alınan süt örneklerinde AFM1 tespit edilen ve edilmeyen örnek sayısı ile Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'ne (2011) göre kabul edilebilir maksimum yasal limiti aşan örnek sayısının aylara göre dağılımı Tablo 4.5'te verilmiştir. Şubat ayı içerisinde satın alınan sütlerin %97.8'inde AFM1 belirlenmiştir. Mayıs ve temmuz aylarında ise AFM1 saptanan sütlerin oranları sırasıyla; %46.7 ve %77.8 olarak bulunmuştur. Mayıs ayında satın alınan sütlerin çoğunda (%53.3) AFM1 düzeyi 5 ng/L'nin altındadır. Şubat ayında satın alınan sütlerin %64.5'inin AFM1 düzeyleri 5-10 ng/L arasında değişmektedir. Temmuz ayında satın alınan sütlerin %40.0'ının AFM1 düzeyleri 5-10 ng/L, %37.8'inin ise 10-25 ng/L arasında değişmektedir.

Tablo 4.5. Sütlerde AFM1 tespit edilen örnek sayısı ve yasal limiti aşan örnek sayısı.

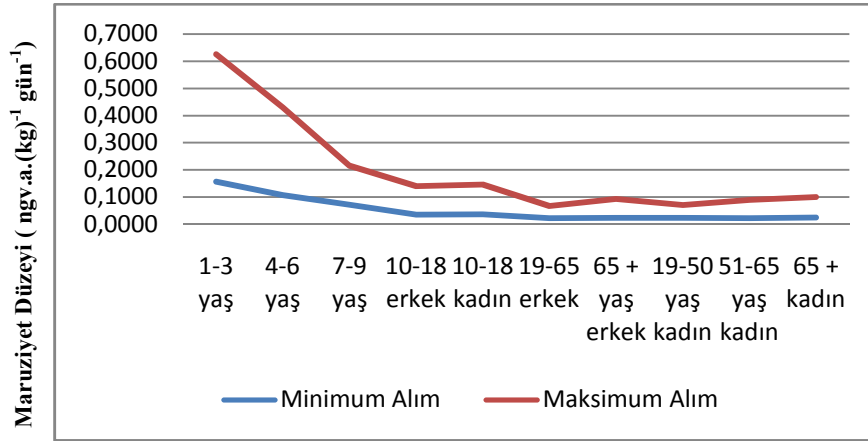
Aylar	Toplam örnek Sayısı	AFM1 Düzeyi (ng/L)					AFM1 Tespit edilen örnek sayısı
		<5 *	5-10	10-25	25-50	>50 **	
Şubat	45	1 (%2.2)	29 (%64.5)	15 (%33.3)	0	0	44 (%97.8)
Mayıs	45	24 (%53.3)	9 (%20.0)	12 (%26.7)	0	0	21 (%46.7)
Temmuz	45	10 (%22.2)	18 (%40.0)	17 (%37.8)	0	0	35 (%77.8)

* AFM1 tespit edilemeyen örnek sayısı

** Yasal limiti aşan örnek sayısı

4.4. Sütlerin AFM1 Düzeyine Göre Maruziyetin Değerlendirilmesi

Şekil 4.4'te, farklı yaş ve cinsiyete göre önerilen süt miktarları kullanılarak bireylerin AFM1 maruziyet düzeyleri (ng v.a.(kg)⁻¹ gün⁻¹) verilmiştir. Bireylerin yaşı arttıkça, AFM1'e maruziyetin azaldığı görülmektedir (Şekil 4.4). Özellikle 1-3 yaş grubu çocuklarda AFM1 maruziyeti daha yüksektir (0.6255ng v.a.(kg)⁻¹gün⁻¹). Yapılan bu çalışma sonucuna göre ise, 1-9 yaş grubu çocukların günlük tüketmesi önerilen süt grubunun tamamının süttten karşılandığı düşünüldüğünde, AFM1 maruziyetinin TDI düzeyinden (0.2ng v.a.(kg)⁻¹gün⁻¹) daha yüksek olduğu görülmektedir.



Şekil 4.4. Önerilen süt miktarlarına göre bireylerin AFM1 maruziyet düzeyleri (ngv.a.(kg)⁻¹ gün⁻¹).

5. TARTIŞMA

Türkiye’de ve dünyada besinlerin aflatoksin düzeyini saptamaya yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır (2,17,51,128,129). Özellikle süt ve süt ürünlerinin her yaş grubu tarafından tüketilmesi ve AFM1 açısından riskli besin olması, araştırmacıların bu konu üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur. Bu yüzden toplum sağlığını etkileyen AFM1 düzeyinin doğru bir şekilde belirlenmesi için analiz yöntemi çok önemlidir. Özellikle süt ve süt ürünlerindeki AFM1 düzeyinin ölçümü için birçok yöntem geliştirilmiştir. Fakat yöntem belirlenirken, sütün yapısı ve özelliklerine (çiğ ya da belirli süre depolanmış olması, pastörize olması, sıvı ya da süt tozu şeklinde olması veya peynir ya da diğer süt ürünleri) uygun olması büyük önem taşır. Çünkü yöntemin yanlış seçilmesi, çalışmanın sonucunu etkileyebilir ve yanlış değerlendirmelere neden olabilir (179). Seçilen yöntemin aynı zamanda hızlı, ucuz ve hassas olması da önemlidir. Çünkü aflatoksinler, besinlerde çok düşük konsantrasyonlarda bulunduğu için ölçülmesi zordur (10). Yayınlanan raporlarda, AFM1 düzeyini belirlemek için kullanılan yöntemler arasında; İnce- Tabaka Kromatografisi (TLC) ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) bulunmaktadır. Bu yöntemler zaman alıcı olup, kullanılan kimyasallar korozif olduğu için bu cihazlara zarar verebilir (180-182). AFM1 düzeyinin belirlenmesinde kullanılan bir diğer yöntem ise, Kütle Spektrometresi (MS)’tir. MS çok hassas ve duyarlı olduğu için avantajlı bir yöntem olabilir. Fakat araştırmalarda en yaygın olarak kullanılan yöntem Enzime Bağlı İmmunosorbent Analizi (ELISA)’dir (183). Bu yöntem hızlı olup, maliyeti düşüktür. Ayrıca özellikle sütlerde bulunan AFM1 düzeylerinin belirlenmesi için hassas ve kullanımı da kolay bir yöntemdir (182,184). Tüm bu avantajlarından dolayı bu çalışmada ELISA yöntemi tercih edilmiştir.

5.1. Farklı Süt Türlerinin AFM1 Düzeyleri Açısından Değerlendirilmesi

Bu çalışmada pastörize sütlerin ortalama AFM1 düzeyi $6.3 \pm 3.76 \text{ ng/L}$, UHT sütlerin ise $9.3 \pm 4.58 \text{ ng/L}$ ’dir (Tablo4.1). Santos ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada (185), 28 tane UHT süt örneğinin ortalama AFM1 düzeyi $0.04 \pm 0.02 \mu\text{g/L}$, 7 tane pastörize sütün ortalama AFM1 düzeyi ise $0.02 \pm 0.01 \mu\text{g/L}$ olarak bulunmuştur. Rahimi ve diğerlerinin İran’da yaptığı çalışmada ise (2), 48 tane UHT ve pastörize sütün ortalama AFM1 düzeyleri sırasıyla; 65 ng/L , 56 ng/L ’dir. Rama ve diğerlerinin

2015 yılında yaptığı çalışmada (186), 84 tane pastörize sütün ortalama AFM1 düzeyi $27.8 \pm 27.0 \text{ ng/L}$, 94 tane UHT süt örneğinde ise $22.6 \pm 21.7 \text{ ng/L}$ olarak belirlenmiştir. Zheng ve diğerlerinin 2013 yılında yaptığı çalışmada (187), 26 tane pastörize sütün ortalama AFM1 düzeyinin $72 \pm 41 \text{ ng/L}$, 153 tane UHT sütün ise $48 \pm 47 \text{ ng/L}$ olduğu bildirilmiştir. Fallah'ın 2010 yılında yaptığı bir çalışmada (188), 83 tane pastörize sütün ortalama AFM1 düzeyinin 52.8 ng/L , 68 tane UHT sütün ise 46.4 ng/L olduğu saptanmıştır. Oliveira ve Ferraz'ın 2007 yılında yaptığı çalışmada ise (189), pastörize sütlerin ortalama AFM1 düzeyi 72 ng/L , UHT sütlerde ise 58 ng/L olarak bildirilmiştir. Çalışmaların sonuçlarına bakıldığında, pastörize sütlerin ortalama AFM1 düzeyinin UHT sütlere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu bulunmamıştır. Yapılan çalışmalarda; bu farklılığın coğrafik konum ve çevresel etmenlerden kaynaklanabileceği belirtilmektedir (6,18,19) . Bu çalışmada ise UHT süt örneklerindeki AFM1 düzeyinin pastörize sütlere göre daha yüksek düzeyde olması; çalışma kapsamında sütlerin satın alındığı süpermarket ve hipermarketlerde UHT sütlerin oda sıcaklığındaki ortamlarda, pastörize sütlerin ise buzdolabı sıcaklığında bekletilmesiyle açıklanabilir. AFM1 düzeyinin $+4^\circ\text{C}$ ve altındaki sıcaklıklarda artmadığı, uygun sıcaklıklarda ise AFM1 düzeyinde bir artış olduğu bildirilmektedir (105).

Bu çalışmada tam yağlı, yarım yağlı ve yağsız süt örneklerinde ortalama AFM1 düzeyleri sırasıyla; $8.2 \pm 4.29 \text{ ng/L}$, $10.5 \pm 5.01 \text{ ng/L}$ ve $6.8 \pm 3.61 \text{ ng/L}$ olarak bulunmuştur (Tablo 4.1). Panariti ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada (190), yarım yağlı ve yağsız sütlerin, tam yağlı sütlere oranla daha düşük düzeyde AFM1 içerdiği belirtilmiştir. Bu durum, çalışmada yağ alma işlemi sırasında AFM1 kalıntılarının yağ ile birlikte uzaklaştırılmasıyla açıklanmaktadır. Ayrıca bu araştırmada, tam yağlı sütlerin ortalama AFM1 düzeyleri ile yarım yağlı ve yağsız sütlerin toplamının ortalama AFM1 düzeyleri karşılaştırılmıştır. Bu da sonucu etkilemektedir. Bu araştırmanın sonuçları (190), yapılan çalışmanın sonuçlarıyla uyumlu bulunmamıştır (yarım yağlı süt > tam yağlı süt > yağsız süt).

Portekiz'de 2000 yılında yapılan başka bir çalışmada ise (191); süpermarketlerden 70 tane UHT süt örneği AFM1 düzeyi açısından analiz edilmiştir.

Yağ miktarlarına göre AFM1 düzeylerinin çoktan aza doğru sıralanışı sırasıyla; yarım yağlı, tam yağlı, yağsız olarak bulunmuştur. Bu araştırmada bulunan sonuçlar, çalışmada bulunan sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Tsakiris ve diğerlerinin 2013 yılında Yunanistan'da yaptığı çalışmaya göre (139), yağsız sütlerde ortalama AFM1 düzeyi 11.7ng/L, yarım yağlı sütlerde 6.5ng/L, tam yağlı sütlerde ise 9.5ng /L olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, sütler yağ içeriklerine göre değerlendirilirken, diğer etmenler tamamen göz ardı edilmiştir. Aynı zamanda coğrafik özelliklerin farklı olması da, çalışmanın sonucunda bulunan AFM1 düzeyleriyle benzerlik göstermemesine neden olabilir. Yapılan bir başka çalışmada ise (192), çok yüksek düzeyde yağ içeriğine sahip olan sütlerin düşük yağ içeriğine sahip olan sütlere göre daha fazla AFM1 ile kontamine olabileceği belirtilmiştir ($p=0.067$). Çalışmada aynı zamanda, yağ miktarı yüksek olan sütlerde AFM1 düzeyi kabul edilebilir yasal limitin üzerinde olduğunda, kontaminasyon riskinin daha yüksek olabileceği belirtilmektedir (192). Fakat bu çalışmada, Türkiye ve Avrupa ülkeleri tarafından belirlenen kabul edilebilir maksimum AFM1 düzeyini aşan örnek bulunmamaktadır. Bu yüzden çalışmamızın sonucuyla uyumlu değildir.

Yapılan çalışmalarda sütlerin yağ içerikleriyle ilgili olarak farklı sonuçlar bulunmuştur (139,190). Sütte bulunan AFM1 düzeyini etkileyen birçok etken olduğu için, yağ ile olan ilişkisi çalışmalarda tam olarak açıklanamamaktadır.

Laktasyon dönemindeki farklı hayvanların sütünde bulunan AFM1 düzeyi değişkenlik gösterebilir. Bu durum hayvanların farklı metabolizmalarından kaynaklanmaktadır. Sindirilen AFB1'in sütte bulunan AFM1'e oranı; inekler için %4, koyunlar için %1-3, keçilerde ise yaklaşık %0.26'dır (193). Yapılan bu çalışmada, piyasada satışa sunulan farklı özellikteki inek ve keçi sütleri analiz edilmiştir. Çalışma sonunda, inek sütlerinin ortalama AFM1 düzeyi 9.0 ± 4.68 ng/L, keçi sütlerinin ise 6.4 ± 2.98 ng/L bulunmuştur ($p=0.032$) (Tablo 4.1). Santini ve diğerlerinin 2013 yılında yaptığı çalışmaya göre (53), 73 tane farklı türde süt örneği analiz edilmiştir. Çalışmanın sonunda inek sütlerinin %50'sinde ve keçi sütlerinin ise %33.3'ünde AFM1 tespit edilmiştir. Analiz edilen inek sütü örneklerindeki AFM1 düzeylerinin <3-10 ng/L arasında, keçi sütlerinde ise <3-5 ng/L arasında değiştiği bildirilmiştir. Hassan ve Kassaify'nin 2014 yılında Lübnan'da yaptığı çalışmaya göre

(194); 8 tane keçi sütünün ortalama AFM1 düzeyi $5.7 \pm 0.15 \text{ ng/L}$, 19 tane inek sütünün ise $22.2 \pm 5.80 \text{ ng/L}$ olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Ghanem ve Orfi'nin yaptığı çalışmada (195), 11 tane keçi sütünde ortalama AFM1 düzeyi $19 \pm 13.8 \text{ ng/L}$, 74 tane inek sütünde ise $143 \pm 53.22 \text{ ng/L}$ olarak saptanmıştır. Bahrami ve diğerlerinin İran'da yaptığı çalışmada (196), 64 tane inek sütü ve 56 tane keçi sütü AFM1 düzeyleri açısından analiz edilmiştir. Çalışmanın sonunda inek sütlerinin ortalama AFM1 düzeyi $59.3 \pm 6.2 \text{ ng/L}$, keçi sütlerinin ise $33.6 \pm 4.7 \text{ ng/L}$ olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$). Yine benzer şekilde yapılan çalışmalarda (12,20), keçi sütünün AFM1 düzeyinin inek sütüne oranla daha düşük düzeylerde olduğu bulunmuştur. Yapılan tüm bu araştırmalar, çalışma sonucunu desteklemektedir. Çalışmalarda, inek sütündeki AFM1 düzeyinin diğer hayvan türlerine göre daha yüksek olması temel olarak hayvanların tükettikleri yeme bağlanmaktadır. İnekler daha çok çiftliklerde yaşayıp tahıllarla beslenirken, keçilerin yüksek bölgelerde yaşayıp taze yeme daha fazla ulaştıkları bildirilmiştir. Ayrıca keçilere verilen tahıllar en fazla 2-3 ay depolandığı için uzun depolanan yemlere göre AFM1 düzeyinin daha düşük olabileceği çalışmalarda belirtilmektedir (194,195,197).

Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda başta organik süt ve süt ürünleri olmak üzere, organik ürünlerin tüketiminin arttığı belirtilmiştir (198,199). Toplumda yaygın olarak organik ürünlerin, geleneksel ürünlere göre daha sağlıklı, daha besleyici ve daha güvenli olduğu görüşü yaygındır. Fakat organik tarım uygulamalarının daha sağlıklı ve daha güvenli olduğunun garantisi verilmemektedir. Organik ürünlerin en az geleneksel olarak üretilen besinler kadar riskli olduğu bildirilmektedir (200). Çalışmamızda piyasada satışa sunulan 6 tane organik süt analiz edilmiştir. Organik sütlerin ortalama AFM1 düzeyi, organik olmayan sütlerin ortalama AFM1 düzeylerine benzer bulunmuştur. Sadece şubat ayında satın alınan tam yağlı organik sütün AFM1 düzeyi (12.3 ng/L) ve mayıs ayında satın alınan yağsız organik sütün ortalama AFM1 düzeyi (5.8 ng/L), aynı özellikteki organik olmayan sütlerin ortalama AFM1 düzeylerinden (sırasıyla ortalama AFM1 düzeyi $9.7 \pm 4.12 \text{ ng/L}$; $4.1 \pm 1.13 \text{ ng/L}$) daha yüksektir. Malissiova ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada (199), organik sütlerin AFM1 ile kontaminasyonunun geleneksel sütlere kıyasla %20 daha fazla olabileceği belirtilmiştir. Fakat örneklem sayısı çok az olduğu için sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). Toroviç'in yaptığı çalışmaya (201)

göre, en düşük AFM1 düzeyi organik sütlerde belirlenmiştir. Tosun ve Ayyıldız'ın yaptığı çalışmada ise (200), UHT organik sütlerin ortalama AFM1 düzeyi 65 ng/L olarak bulunmuştur. Bu düzey, yapılan çalışma sonucuna kıyasla (7.9 ± 2.83 ng/L) oldukça yüksek düzeydedir. Yapılan araştırmaların sonuçları değerlendirildiğinde, bu çalışmada olduğu gibi, geleneksel olanlara göre organik ürünlerin AFM1 düzeyinin daha yüksek olduğu belirtilmektedir (199,200). Bunun sebebi, bir ürünün organik olarak nitelendirilebilmesi için, üretiminde fungusit ya da diğer kimyasal koruyucular kullanılmadığından küflere karşı daha duyarlı hale gelmesine bağlanmaktadır. Bu yüzden de AFB1 oluşumunun organik ürünlerde daha fazla olabileceği belirtilmektedir (200).

5.2. Farklı Süt Türlerinin Aylara Göre AFM1 Düzeyleri Açısından Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, şubat ayında alınan sütlerin ortalama AFM1 düzeyi 9.9 ± 4.33 ng/L, mayıs ayında 7.3 ± 5.13 ng/L ve temmuz ayında ise 8.6 ± 3.88 ng/L olarak bulunmuştur (Tablo 4.4). Gölge'nin yaptığı bir çalışmada (202), ilkbahar ve yaz dönemlerinde toplanan sütlerin AFM1 düzeyinin, sonbahar ve kış dönemlerinde toplanan sültere kıyasla daha yüksek düzeylerde olduğu belirtilmiştir. Silva ve diğerlerinin 2015 yılında Brezilya'da yaptığı bir çalışmada ise (203); 152 tane UHT inek süt örnekleri 4 farklı dönemde analiz edilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre, AFM1 düzeyinin en yüksekten en düşüğe doğru sıralanışı sırasıyla; sonbahar >kış >yaz >ilkbahar'dır. Araştırmanın sonucu, bu çalışmanın sonuçlarıyla (şubat> temmuz> mayıs) benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmanın sonucunda, temmuz ayında alınan sütlerin ortalama AFM1 düzeyi (8.6 ± 3.88 ng/L), mayıs ayında alınan sütlerin ortalama AFM1 düzeyinden (7.3 ± 5.13 ng/L) daha yüksektir (Tablo 4.4). Picinin ve diğerlerinin yaptığı çalışmada (9); kurak dönemlerde, yağışlı olan dönemlere kıyasla sülterde bulunan AFM1 düzeyinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir ve bu durum çalışmamızı destekler niteliktedir. Ayrıca yapılan farklı çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmuştur (19,204-206). Kurak dönemlerde sütte daha yüksek düzeyde AFM1 olması, laktasyon dönemindeki hayvanların AFB1 ile kontamine olmuş yemlerle beslenmesine bağlanmaktadır.

Bu çalışmanın sonuçları Doğan'ın yaptığı çalışmayla (207) karşılaştırıldığında; kış (ocak; ortalama AFM1, 11.6ng/L) ve ilkbahar (nisan; ortalama AFM1, 25.2ng/L) mevsiminde toplanan süt örneklerinin AFM1 düzeyinin, daha yüksek olduğu, yaz mevsimindeki (temmuz) düzeyin (<5 ng/L) ise daha düşük olduğu saptanmıştır.

Pakistan'da 2016 yılında Ismail ve diğerlerinin yaptığı bir çalışmada (208), toplam 520 tane çiğ süt örneği 2013-2014 yılları arasında analiz edilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre, sütlerdeki en yüksek AFM1 düzeyleri sırasıyla; kış> ilkbahar> sonbahar> yaz olarak bulunmuştur. Fakat çalışmada; şubat ve mart ayları ilkbahar dönemi; nisan, mayıs, haziran, temmuz ve ağustos ayları yaz dönemi; eylül ve ekim ayları sonbahar dönemi; kasım, aralık ve ocak ayları ise kış dönemi olarak alınmıştır. Şubat ayında analiz edilen sütlerin ortalama AFM1 düzeyinin 120 ng/L, mayıs ayında 90 ng/L ve temmuz ayında ise 30 ng/L olduğu bildirilmiştir. Bu araştırmanın sonuçları, yapılan çalışma sonuçlarıyla uyumlu bulunmamıştır. Bu farklılık, mevsimsel farklılıklar ve coğrafik bölgenin özelliklerinin farklı olmasıyla açıklanabilir.

5.3. Farklı Süt Türlerinin AFM1 Düzeylerinin Türk Gıda Kodeksine Göre Değerlendirilmesi

Bu çalışma kapsamında farklı türdeki 135 adet süt örneği, ELISA yöntemiyle analiz edilmiştir. UHT ve pastörize sütlerde saptanan ortalama AFM1 düzeyleri, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğine göre kabul edilebilir maksimum yasal limiti (50 ng/L) aşmamaktadır (Tablo 4.5). Yapılan bir çalışmada (133), 41 tane UHT süt örneği ELISA yöntemiyle analiz edilmiş ve sadece 3'ünün yasal limiti aştığı bulunmuştur. Kabak ve Özbey'in yaptığı bir çalışmada ise (209), süpermarketlerden rastgele alınan 40 tane UHT süt örneği analiz edilmiştir. Çalışmanın sonunda sütlerin sadece %5'inin kabul edilen yasal limitin üzerinde olduğu bulunmuştur. Özellikle 2010 yılından sonra Türkiye'de yapılan çalışmalarda, UHT süt örneklerinde AFM1 düzeyi açısından yasal limiti aşan örnek sayısının oldukça düşük olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmalar, araştırmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (126-128,131,133). Bu tarihten önce (2010 yıl öncesi) , AFM1 düzeyini saptamaya yönelik yapılan çalışmalara bakıldığında ise, yasal limiti aşan örnek sayısının daha

fazla olduğu bildirilmektedir (118,124). Bu durum, hayvana verilen yemlerin kalitesinin artması ve süt fabrikalarında gelişen teknolojiyle beraber depolama koşullarının daha uygun hale getirilmesiyle açıklanabilir.

Farklı ülkelerde de sütlerin AFM1 düzeylerini saptamaya yönelik çalışmalar yapılmıştır (191,210,211). Roussi ve diğerlerinin yaptığı çalışmada (210), UHT süt örneklerinin hiç birinin yasal limiti aşmadığı bildirilmiştir. Benzer şekilde, Cano-Sancho ve diğerlerinin 2010 yılında yaptığı çalışmada ise (211), 72 tane UHT süt örneğinde saptanan AFM1 düzeylerinin, kabul edilebilir yasal sınırlar içinde olduğu belirtilmiştir. Martins ve Martins'in yaptığı çalışmada (191) 70 tane UHT süt örneğinin %2.9'unun, Shundo ve Sabino'nun Brezilya'da yaptığı çalışmada (212), 42 tane süt örneğinin %7.1'inin, Shundo ve diğerlerinin yaptığı çalışmada (213) 40 tane UHT süt örneğinin %2.5'inin, İran'da Fallah ve diğerlerinin yaptığı çalışmada ise (188), 109 tane UHT süt örneğinin %17.4'ünün yasal limitin üzerinde AFM1 içerdiği bulunmuştur. Bu çalışmalar, Türkiye ve diğer Avrupa ülkeleri tarafından kabul edilen yasal limiti aşan örnek sayısının düşük oranlarda olduğunu göstermekte ve bu çalışma sonucunu destekler niteliktedir. Rahimi ve diğerlerinin 2009 yılında İran'da yaptığı çalışmada (2), 48 tane UHT süt örneğinden, 35'inin (%72.9) yasal limiti aştığı belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucu, Rahimi ve diğerlerinin bulduğu sonuçla benzerlik göstermemektedir. Çalışmalarda bulunan AFM1 düzeyinin ülkelere göre farklılık göstermesi; ülkelerin coğrafik konumuna ve özelliklerine, sıcaklık, nem ve kuraklık gibi çevresel etmenlere, ülkelerin gelişmişlik düzeyine ve AFM1 düzeyini belirlemede kullanılan yöntemlerin farklı olmasına bağlanabilir.

Yapılan çalışmalarda, süt ve süt ürünlerinin farklı düzeylerde AFM1 içerdiği bulunmuştur. Bu çalışmada ise, 105 tane UHT ve 30 tane pastörize süt örneğinin sırasıyla 84'ünde (%80.9) ve 15'inde (%50.0) AFM1 saptanmıştır (Tabloda verilmemiştir). Bu çalışmanın sonucunda bulunan oranlar, bu konuda yapılan çalışmaların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (118,124-133). Farklı ülkelerde yapılan çalışmalara bakıldığında ise; Alborzi ve diğerlerinin İran'da yaptığı bir çalışmada (214), süpermarketlerden 6 ay süresince toplanan 624 tane pastörize sütün tamamında, Oliveira ve diğerlerinin 2006 yılında yaptığı çalışmada (215) 48 tane UHT süt örneğinin %77.1'inde AFM1 saptamışlardır. Rama ve diğerlerinin 2015

yılında Kosovo’da yaptığı çalışmada (186) 84 tane pastörize sütün %83.3’ünde ve 94 tane UHT sütün %78.7’sinde AFM1 tespit edilirken, Kos ve diğerlerinin 2014 yılında yaptığı çalışmada ise (216), 150 tane inek sütünün %98.7’sinde AFM1 belirlenmiştir. Bazı araştırmalarda ise AFM1 tespit edilen sütlerin oranının, yapılan bu çalışmaya kıyasla daha düşük oranlarda olduğu bulunmuştur (190,217-219).

Sütlerde bulunan AFM1 düzeyleri mevsimlere göre farklılıklar gösterebilir. Yapılan bu çalışmada, şubat ayında satın alınan sütlerin %97.8’inde, mayıs ayında satın alınan sütlerin %46.7’sinde ve temmuz ayında satın alınan sütlerin ise %77.8’sinde AFM1 bulunmuştur (Tablo 4.5). Yapılan çalışmalarda (30,190,204-206,220-222) ilkbahar ve yaz aylarına göre, kış aylarında analiz edilen sütlerde saptanan AFM1’in, daha yüksek oranlarda olduğu ve bu çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik gösterdiği bulunmuştur.

5.4. Sütlerin AFM1 Düzeyine Göre Maruziyetin Değerlendirilmesi

Araştırma kapsamına alınan sütlerin AFM1 düzeyi ortalaması 8.6 ± 4.57 ng/L bulunmuştur (Tablo 4.1). Ulusal Süt Konseyi’nin 2013 yılında süt tüketiminin belirlenmesine yönelik yaptığı çalışmanın sonuçları dikkate alınarak değerlendirme yapıldığında (102 g/kişi/gün), sadece süt tüketimiyle tüm bireylerde AFM1 maruziyeti $0.0119 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ iken, yetişkin erkeklerde AFM1 maruziyeti $0.0114 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$, kadınlarda ise $0.0124 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Kabak ve Özbey’in yaptığı çalışmada (209), bireylerin AFM1 maruziyet düzeyi $0.008 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Bu maruziyet düzeyi ($0.008 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$), Ulusal Süt Konseyinin verilerine göre hem kadın ($0.0124 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$) hem de erkekler ($0.0114 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$) için belirlenen maruziyet düzeylerinden oldukça düşük bulunmuştur. Bunun nedeni, Kabak ve Özbey’in yaptığı çalışmada bireylerin ortalama vücut ağırlıklarının 60 kg, süt tüketim miktarlarının ise 71 g/kişi/gün olarak alınması gösterilebilir.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre Türkiye’deki bireylerin maruziyet düzeyinin ($0.0119 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$); Latin Amerika (223) ($0.058 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$), Avrupa (223) ($0.11 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$), Uzak Doğu (223) ($0.200 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$), Orta Doğu (223) ($0.100 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$), Pakistan (224) ($3.1 \text{ ng v.a. (kg)}^{-1} \text{ gün}^{-1}$),

Arjantin (225) ($0.122 \text{ ng v.a.}(\text{kg})^{-1}\text{gün}^{-1}$), Morocco (226) ($0.054 \text{ ng v.a.}(\text{kg})^{-1}\text{gün}^{-1}$), İspanya (211) ($0.036\text{-}0.043 \text{ ng v.a.}(\text{kg})^{-1}\text{gün}^{-1}$) ve Tayland'da (206) ($0.04 \text{ ng v.a.}(\text{kg})^{-1}\text{gün}^{-1}$) yapılan çalışma sonuçlarından daha düşük, Afrika (223) ($0.002 \text{ ng v.a.}(\text{kg})^{-1}\text{gün}^{-1}$) ve İrlanda'da (227) ($0.0086\text{-}0.0093 \text{ ng v.a.}(\text{kg})^{-1}\text{gün}^{-1}$) yapılan çalışma sonuçlarından ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

6. SONUÇ

Araştırmada, Ankara’da süpermarket ve hipermarketlerde satışa sunulan; farklı tür (keçi, inek sütü) ve ısıt işlem görmüş (UHT pastörize sütler) tam yağlı, yarım yağlı ve yağsız süt örneklerinin AFM1 düzeyi, ELİSA yöntemiyle belirlenmiştir. Üç farklı dönemde (şubat, mayıs, temmuz ayları) analiz edilen süt örneklerinin AFM1 düzeyleri saptanmıştır. Araştırmada aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur:

1. Araştırma sonucunda 135 tane süt örneğinin %73.3’ünde AFM1 saptanmıştır. UHT süt örneklerinin (105 tane) %80.9’unda, pastörize süt örneklerinin (30 tane) %50.0’ında AFM1 tespit edilmiştir. Ortalama AFM1 düzeyi ise 8.6 ± 4.57 ng/L’dir.
2. UHT süt örneklerinde ortalama AFM1 düzeyi 9.3 ± 4.58 ng/L, pastörize süt örneklerinde ise ortalama AFM1 düzeyi ise 6.3 ± 3.76 ng/L’dir ($p < 0.01$).
3. Sütlerin yağ miktarlarına göre AFM1 düzeyleri değerlendirildiğinde, tam yağlı süt örneklerinin (75 tane) ortalama AFM1 düzeyi 8.2 ± 4.29 ng/L, yarım yağlı süt örneklerinin (39 tane) 10.5 ± 5.01 ng/L, yağsız süt örneklerinin (21 tane) ise 6.8 ± 3.61 ng/L’dir ($p < 0.01$).
4. İncelenen inek sütlerinin (117 tane) ortalama AFM1 düzeyi 9.0 ± 4.68 ng/L, keçi sütlerinde (18 tane) ortalama AFM1 düzeyi ise 6.4 ± 2.98 ng/L’dir ($p < 0.05$).
5. Şubat ayında incelenen sütlerin (45 tane) ortalama AFM1 düzeyi 9.9 ± 4.33 ng/L, mayıs ayında incelenen (45 tane) sütlerin ortalama AFM1 düzeyi 7.3 ± 5.13 ng/L, temmuz ayında incelenen (45 tane) sütlerin ortalama AFM1 düzeyi ise 8.6 ± 3.88 ng/L olarak bulunmuştur ($p < 0.05$).
6. Şubat ayında satın alınan pastörize sütlerin ortalama AFM1 düzeyi 9.6 ± 3.48 ng/L, UHT süt örneklerinin ise 10.0 ± 4.59 ng/L’dir. Mayıs ayında satın alınan pastörize sütlerin ortalama AFM1 düzeyi (4.9 ± 3.86 ng/L), UHT süt örneklerinin AFM1 düzeyinden (8.0 ± 5.28 ng/L) düşük bulunmuştur. Temmuz ayında ise analiz edilen pastörize sütlerin ve UHT sütlerin ortalama AFM1 düzeyleri sırasıyla; 4.5 ± 0.10 ng/L ve 9.8 ± 3.58 ng/L’dir.

7. Şubat ayında satın alınan yarım yağlı sütlerin ortalama AFM1 düzeyi (11.3 ± 5.73 ng/L), tam yağlı sütlerin (9.8 ± 3.95 ng/L) ve yağsız sütlerin (7.9 ± 1.05 ng/L) ortalama AFM1 düzeyinden daha yüksektir. Mayıs ayında satın alınan tam yağlı sütlerin (7.2 ± 4.91 ng/L), yarım yağlı sütlerin (9.5 ± 5.96 ng/L) ortalama AFM1 düzeyleri, yağsız sütlerin ortalama AFM1 (3.9 ± 1.06 ng/L) düzeylerinden yüksek bulunmuştur. Temmuz ayında satın alınan tam yağlı, yarım yağlı ve yağsız sütlerin ortalama AFM1 düzeyleri ise sırasıyla; 7.6 ± 3.61 ng/L, 10.5 ± 3.12 ng/L, 8.4 ± 5.16 ng/L'dir.

8. Şubat ayında satın alınan inek sütü örneklerinin ortalama AFM1 düzeyi 10.2 ± 4.56 ng/L, keçi sütü örneklerinin ise 8.5 ± 2.03 ng/L olarak bulunmuştur. Mayıs ayında satın alınan inek ve keçi sütlerinin ortalama AFM1 düzeyleri sırasıyla; 7.7 ± 5.31 ng/L, 5.1 ± 3.24 ng/L'dir. Temmuz ayında satın alınan inek ve keçi sütlerinin ortalama AFM1 düzeyleri ise; 9.1 ± 3.85 ng/L, 5.6 ± 2.70 ng/L olarak saptanmıştır.

9. Sütlerin satın alındıkları aylara göre ortalama AFM1 düzeylerinin çoktan aza doğru sıralanışı sırasıyla; şubat > temmuz > mayıs olarak bulunmuştur ($p < 0.05$).

10. UHT ve pastörize sütlerde saptanan ortalama AFM1 düzeyleri, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğine göre kabul edilebilir maksimum yasal limiti (50 ng/L) aşmamaktadır.

11. Süt örneklerinin AFM1 düzeyleri yağ miktarlarına göre değerlendirildiğinde; tam yağlı süt örneklerinin (75 tane) %70.7'sinde, yarım yağlı süt örneklerinin (39 tane) %87.2'sinde, yağsız sütlerin (21 tane) %61.9'unda AFM1 belirlenmiştir.

12. Hayvanın türüne göre AFM1 düzeyleri değerlendirildiğinde, inek sütünün %75.2'sinde, keçi sütünün %61.1'inde AFM1 tespit edilmiştir.

13. Şubat ayında satın alınan süt örneklerinin %97.8'inde, mayıs ayında satın alınan süt örneklerinin %46.7'sinde, temmuz ayında satın alınan süt örneklerinin %77.8'inde AFM1 saptanmıştır.

14. Çalışma sonucunda sütlerde bulunan ortalama AFM1 düzeyleri kullanılarak, Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi'ne göre farklı yaş grubundaki bireylere önerilen süt miktarları göz önünde bulundurulduğunda; yaş arttıkça AFM1' maruziyet düzeyi azalmaktadır. Buna göre, AFM1'e maruziyet açısından en riskli grup 1-3 yaş grubundaki çocuklardır.

7. ÖNERİLER

Küflerin ürettiği mikotoksinler, tarladan sofraya kadar her aşamada besini kontamine ederek insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olan önemli bir doğal kirleticidir. Besinlerin yeterli kurutma işlemi yapılmadan, uygun olmayan koşullarda depolanması veya taşınması, nem oranının yüksek olduğu yerlerde bekletilmesi mikotoksin kontaminasyonunun başlıca nedenleridir.

Sütlerde bulunan AFM1, AFB1 ile kontamine olmuş yemlerle beslenen laktasyon dönemindeki hayvanların metabolizmaları sonucunda oluşur. Özellikle taze yeme ulaşılamayan kış dönemi başta olmak üzere yılın tüm dönemlerinde hayvanlara verilen yemlerde AFB1 oluşumunun önlenmesi, sütlerin AFM1 düzeyi açısından üzerinde durulması gereken önemli bir konudur. Bunun için; yemlerin hasat döneminden başlayarak depolanmasına kadar geçen her aşamada AFB1 oluşmasını engelleyecek sürdürülebilir tedbirlerin alınması gereklidir.

Avrupa Birliğinde besin güvenliğinin tanımı, çiftlikten-çatala anlayışı çerçevesinde besinlerin üretim, hasat, işleme, dağıtım ve tüketimini içeren gıda zincirinin tüm aşamalarını kapsamaktadır. Gıda zincirinde kirleticilerin besine geçişi hiçbir zaman tümüyle engellenemez. Bu nedenle kirletici kaynağının bilinmesi hem çevre sağlığı hem de insan sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Bu açıdan ele alındığında süt üretiminden tüketimine kadar geçen her aşamada AFB1 kontaminasyonunu önlemeye yönelik iyi tarım uygulamalarının benimsenmesi ve bunun için resmi kontrol ve yaptırım mekanizmalarının sağlıklı ve etkin bir şekilde sürdürülmesi gereklidir. Aflatoksinler ile mücadelede; hasat öncesi, hasat sonrası, depolama ve üretim süreçlerinin kontrolünü sağlayacak HACCP sistemlerinin uygulanması etkin bir yöntemdir. Koruyucu tedbirlerden birisi de; toplum ve halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturan aflatoksinlerin önlenmesi konusunda üretici firmalara düzenli aralıklarla, bu konuda eğitim almış uzman kişiler tarafından eğitimlerin verilmesidir.

Ülkemizde AFM1 düzeyi üzerine yapılan çalışmalarda genellikle süt ürünlerindeki ve çiğ sütlerdeki AFM1 düzeyleri araştırılmıştır. Oysaki piyasada satışa sunulan ve özellikle büyük şehirlerde yaşayan bireylerin çoğunlukla tükettiği

farklı türde ve özellikteki sütlerde bulunan AFM1 düzeyini araştıran çalışma sayısı yetersizdir. Türkiye’de bireylerin tükettiği süt miktarını saptamaya yönelik son yıllarda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca piyasada satışa sunulan farklı türde, farklı yağ miktarına sahip UHT ve pastörize sütlerin günlük tüketim miktarına göre farklı yaş gruplarındaki bireylerin AFM1’e maruziyetini değerlendiren çalışma sayısı da oldukça azdır. Bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ayaz, A.,Yurttagül, M.(2008). Besinlerdeki Toksik Öğeler-II. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara.*
2. Rahimi, E., Shakerian, A., Jafariyan, M., Ebrahimi, M.,Riahi, M.(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.
3. Kamkar, A., Fallah, A.A.,Mozaffari Nejad, A.S.(2014). The review of aflatoxin M1 contamination in milk and dairy products produced in Iran. *Toxin Reviews*, 33(4), 160-168.
4. Bilandžić, N., Božić, Đ., Đokić, M., Sedak, M., Kolanović, B.S., Varenina, I. ve diğerleri.(2014). Seasonal effect on aflatoxin M1 contamination in raw and UHT milk from Croatia. *Food Control*, 40, 260-264.
5. European Food Safety Authority (EFSA). (t.y.). Aflatoxins in food. Erişim: 20 Ağustos2015, Ağ Sitesi:<http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/aflatoxins>
6. Behfar, A., Khorasgani, Z.N., Alemzadeh, Z., Goudarzi, M., Ebrahimi, R.,Tarhani, N.(2012). Determination of Aflatoxin M1 Levels in Produced Pasteurized Milk in Ahvaz City by Using HPLC. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 7(2), 80.
7. Kamkar, A.(2008). Detection of aflatoxin M1 in UHT milk sample by ELISA. *J Vet Res*, 63(2), 7-12.
8. Nogaim, Q.A., Al-Dalali, S., Al-Badany, A.,Farh, M.(2014). Aflatoxins M1 and M2 in Dairy Products. *Journal of Applied Chemistry*, 2(4), 13-18.
9. Picinin, L.C.A., Cerqueira, M.M.O.P., Vargas, E.A., Lana, Â.M.Q., Toaldo, I.M.,Bordignon-Luiz, M.T.(2013). Influence of climate conditions on aflatoxin M1 contamination in raw milk from Minas Gerais State, Brazil. *Food Control*, 31(2), 419-424.
10. Mulunda, M., Bakunzi, F., Motsei, L., Ngoma, L.,Nyirenda, M. (2013). A Decade of Aflatoxin M1 Surveillance in Milk and Dairy Products in Developing Countries (2001-2011): A Review. H. A. Makun (Ed.). *Mycotoxin and Food Safety in Developing Countries* (s. 39-60). Croatia: INTECH Open Access Publisher

11. Choudhary, P., Sharma, R., Borkhartria, V.(1998). Effect of chilling and heating on aflatoxin M1 content of contaminated Indian cow's milk. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 26, 223-230.
12. Van Egmond, H., Paulsch, W., Veringa, H., Schuller, P., Sizoo, E., Wilhelmina, E. ve diğeri.(1977). The effect of processing on the aflatoxin M1 content of milk and milk products. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 54, 381.
13. Wiseman, D., Marth, E.(1983). Heat and acid stability of aflatoxin M1 in naturally and artificially contaminated milk. *Milchwissenschaft*, 38(8), 464-466.
14. Kiermeier, F., Mashaley, R.(1977). Einfluß der molkereitechnischen Behandlung der Rohmilch auf den Aflatoxin-M1 Gehalt der daraus hergestellten Produkte. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 164(3), 183-187.
15. Motawee, M., McMahon, D.J.(2009). Fate of aflatoxin M1 during manufacture and storage of feta cheese. *Journal of Food Science*, 74(5), T42-T45.
16. Choudhary, P., Chandrahas, S., Kushal, S.(2007). Aflatoxin M1 in Milk and Milk Products in Different Localities of Chhattisgarh. *Indian Journal of Dairy Science*, 60(5), 327-330.
17. Bakırcı, I.(2001). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control*, 12, 47-51.
18. Kanungo, L., Bhand, S.(2014). A survey of Aflatoxin M1 in some commercial milk samples and infant formula milk samples in Goa, India. *Food and Agricultural Immunology*, 25(4), 467-476.
19. Prandini, A., Tansini, G., Sigolo, S., Filippi, L., Laporta, M., Piva, G.(2009). On the occurrence of aflatoxin M 1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, 47(5), 984-991.
20. Sibanda, L., De Saeger, S., Van Peteghem, C.(1999). Development of a portable field immunoassay for the detection of aflatoxin M 1 in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 48(3), 203-209.
21. Matsuda, Y., Wakai, T., Kubota, M., Osawa, M., Sanpei, A., Fujimaki, S.(2013). Mycotoxins are conventional and novel risk biomarkers for hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 19(17), 2587.

22. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği.(2011).AğSitesi:<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8.htm>.
23. Škrbić, B., Živančev, J., Antić, I., Godula, M. (2014). Levels of aflatoxin M1 in different types of milk collected in Serbia: Assessment of human and animal exposure. *Food Control*, 40, 113-119.
24. Kafle, P., Sedai, D., Rai, K.P.,Pokharel, B.B.(2014). Study on the Level of Aflatoxin M1 Contamination in Raw and Processed Milk Marketed in Kathmandu Valley. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 7, 52-56.
25. Van Egmond, H., Svensson, U.,Fremy, J. (1997). Mycotoxins. In: Residues and contaminants in milk and milk products. Brussels: International Dairy Federation.
26. Rastogi, S., Dwivedi, P.D., Khanna, S.K.,Das, M.(2004). Detection of aflatoxin M1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Control*, 15(4), 287-290.
27. Lopez, C., Ramos, L., Ramadan, S.,Bulacio, L.(2003). Presence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina. *Food Control*, 14(1), 31-34.
28. Didwania, N.,Joshi, M.(2013). Mycotoxins: A critical review on occurrence and significance. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, 1005-1010.
29. Food Safety Commission of Japan (FSCJ) (Temmuz 2013). *Aflatoxin M1 in Milk and Aflatoxin B1 in Feeds (Rapor No: 526)*. Erişim: 26 Ocak 2015, Ağ Sitesi:http://www.fsc.go.jp/english/evaluationreports/nm_toxins/aflatoxin_m1_b1_fs526.pdf
30. Iqbal, S.Z., Asi, M.R.,Ariño, A. (2013). Aflatoxins. S. Maloy & K. Hughes (Ed.). Brenner's Encyclopedia of Genetics (2 bs., s. 43–47). USA: Institute of Molecular Sciences
31. Trucksess, M.W., Diaz-Amigo, C. (2011). Mycotoxins in Foods. J. O. Nriagu (Ed.). Encyclopedia of Environmental Health (s. 888-897). Burlington: Elsevier
32. Dragacci, S. (2005). Toxins- Mycotoxins. P. W. T. Poole (Ed.). Encyclopedia of Analytical Science (2 bs., s. 124-134). Oxford: Elsevier

33. Coppock, R.W., Jacobsen, B.J. (2009). Mycotoxins in animal and human patients. *Toxicology and Industrial Health*, 25(9-10), 637-655.
34. Pitt, J.I. (2014). Mycotoxins: Mycotoxins – General. Y. Motarjemi (Ed.). *Encyclopedia of Food Safety* (s. 283-288). Waltham: Academic Press
35. Bruegel, P. (Ocak 2003). Mycotoxins: Risks in Plant, Animal and Human Systems (Rapor No: 139): USA: Council for Agricultural Science and Technology.
36. Kumar, V., Basu, M., Rajendran, T. (2008). Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. *Crop Protection*, 27(6), 891-905.
37. Bhatnagar, D., Payne, G.A., Cleveland, T.E., Robens, J.F. (2004). Mycotoxins: Current issues in USA. D. Barug (Ed.). *Meeting the Mycotoxin Menace* (s. 20): Wageningen Academic Pub.
38. Newberne, P.M., Russo, R., Wogan, G.N. (1966). Acute toxicity of aflatoxin B1 in the dog. *Pathologia Veterinaria Online*, 3(4), 331-340.
39. Newberne, P.M., Wogan, G.N., Hall, A. (1966). Effects of dietary modifications on response of the duckling to aflatoxin. *The Journal of Nutrition*, 90(2), 123-130.
40. Coppock, R.W., Christian, R.R.G., Jacobsen, B.J. (2012). Chapter 88 - Aflatoxins. R. C. Gupta (Ed.). *Veterinary Toxicology* (Second Edition) (s. 1181-1199). Boston: Academic Press.
41. Richard, J.L. (2008). Discovery of Aflatoxins and Significant Historical Features. *Informa Health Care*, 27(3-4), 171-201.
42. Bennett, J.W. (2010). *An overview of the genus Aspergillus*: Caiser Academic Press, Portland.
43. Huffman, J., Gerber, R., Du, L. (2010). Recent advancements in the biosynthetic mechanisms for polyketide-derived mycotoxins. *Biopolymers*, 93(9), 764-776.
44. Jamali, M., Ebrahimi, M.-A., Karimipour, M., Shams - Ghahfarokhi, M., Dinparast-Djadid, N., Kalantari, S. ve diğ erleri. (2012). An insight into the distribution, genetic diversity, and mycotoxin production of *Aspergillus* section Flavi in soils of pistachio orchards. *Folia Microbiologica*, 57(1), 27-36.

45. Pitt, J.I. (2014). Mycotoxins: Aflatoxins. Y. Motarjemi (Ed.). Encyclopedia of Food Safety (s. 289-294). Waltham: Academic Press
46. Kalantari, H., Kalantari, G. (2007). Evaluation Of Aflatoxins Contamination In Baby Food Supplements (Mamana & Ghoncheh). *Jundushapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 6(1), 42-50.
47. Zain, M.E. (2011). Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15(2), 129-144.
48. Kamkar, A., Khaniki, G.R.J., Alavi, S. (2011). Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Ardebil of Iran. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 8(2), 133-140.
49. Tavakoli, H.R., Kamkar, A., Riazipour, M., Mozaffari Nejad, A., Rafati, H. (2013). Assessment of aflatoxin M1 levels by Enzyme-linked Immunosorbent Assay in yoghurt consumed in Tehran, Iran. *Asian J Chem*, 25, 2836-2838.
50. Creppy, E.E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127(1), 19-28.
51. Cavaliere, C., Foglia, P., Guarino, C., Marzioni, F., Nazzari, M., Samperi, R. ve diğeri. (2006). Aflatoxin M1 determination in cheese by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1135(2), 135-141.
52. Rahimi, E., Nilchian, Z., Behzadnia, A. (2012). Presence of aflatoxin M1 in pasteurized and UHT milk commercialized in Shiraz, Khuzestan and Yazd, Iran. *Journal of Chemical Health Risks*, 1(1).
53. Santini, A., Raiola, A., Ferrantelli, V., Giangrosso, G., Macaluso, A., Bognanno, M. ve diğeri. (2013). Aflatoxin M1 in raw, UHT milk and dairy products in Sicily (Italy). *Food Additives & Contaminants: Part B*, 6(3), 181-186.
54. Food and Agriculture Organization (FAO). (t.y.). Prevention of aflatoxin in pistachios. Erişim: 03 Ocak 2015, Ağ Sitesi: <http://www.fao.org/docrep/W9474T/w9474t06.htm>
55. Yaroğlu, T. (2002). *Türk Silahlı Kuvvetlerine Bağlı Birliklerde Tüketime Sunulan Peynirlerde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa.

56. Cleveland, T., Cary, J., Brown, R., Bhatnagar, D., Yu, J., Chang, P. ve diğeri.(1997). Use of biotechnology to eliminate aflatoxin in preharvest crops. *Bull Inst Compr Agric Sci Kinki Univ*, 5, 75-90.
57. Paterson, R.R.M.,Lima, N.(2010). How will climate change affect mycotoxins in food. *Food Research International*, 43(7), 1902-1914.
58. Pestka, J.J.,Casale, W.L. (1989). Naturally occurring fungal toxins. Simmons M. S. ve Nriagu J. (Ed.). *Food Contaminations from Environmental Sources*. Chichester: John Wiley and Sons.
59. Williams, J.H., Phillips, T.D., Jolly, P.E., Stiles, J.K., Jolly, C.M.,Aggarwal, D.(2004). Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(5), 1106-1122.
60. Cotty, P.J.,Jaime-Garcia, R.(2007). Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1), 109-115.
61. Glazebrook, J.,Ausubel, F.M.(1994). Isolation of phytoalexin-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana* and characterization of their interactions with bacterial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(19), 8955-8959.
62. Paterson, R.,Lima, N.(2011). Further mycotoxin effects from climate change. *Food Research International*, 44(9), 2555-2566.
63. Şanlı, Y.,Kaya, S. (1995). Mikotoksinler. *Veteriner Klinik Toksikoloji*, (s.283-328). Ankara: Medisan Yayınevi.
64. Tunail, N. (2000). *Funguslar ve Mikotoksinler* N. Tunail (Ed.). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları (2 bs., s. 522). Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası.
65. Ayyıldız, T.(2012). **Organik Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 Varlığının Araştırılması**. Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Manisa.
66. Sandris, V.,Magan, N.(2004). Environmental profiles for growth and mycotoxin production. *Mycotoxin in food: detection and control*. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd.

67. Ayhan, K. (2000). Gıdalarda Mikroorganizma Gelişmesini Etkileyen Faktörler. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları (2 bs.). Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası
68. Metin, M., Öztürk, G.F. (2006). Süt işletmelerinde sanitasyon. Temizlik ve Dezenfeksiyon (4 bs., s. 410). İzmir: Ege Üniversitesi Basım Evi
69. Kılıç, S. (2010). Süt Mikrobiyolojisi. İzmir: Sidas Medya.
70. Semeniuk, G. (1954). Storage of Cereal Grains and their Products. J. A. Anderson & A. Walcock (Ed.). Microflora (s. 77-151). St Paul Minnesota: Am Assoc Cereal Chemists.
71. Kaya, S. (2001). Mikotoksinler (2 bs.). Ankara: Medisan Yayınevi.
72. Landers, K.E., Davis, N., Diener, U. (1967). Influence of atmospheric gases on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in peanuts. *Phytopathology*, 57(10), 1086.
73. Davis, N.D., Diener, U., Eldridge, D. (1966). Production of aflatoxins B1 and G1 by *Aspergillus flavus* in a semisynthetic medium. *Applied Microbiology*, 14(3), 378-380.
74. Reddy, T., Viswanathan, L., Venkatasubramanian, T. (1979). Factors affecting aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in a chemically defined medium. *Journal of General Microbiology*, 114(2), 409-413.
75. Mateles, R., Aye, J. (1965). Production of aflatoxins in submerged culture. *Applied Microbiology*, 13(2), 208-211.
76. Davis, N., Diener, U., Agnihotri, V. (1967). Production of aflatoxins B1 and G1 in chemically defined medium. *Mycopathologia et mycologia applicata*, 31(3-4), 251-256.
77. Agag, B. (2004). Mycotoxins in foods and feeds: 1-aflatoxins. *Ass. Univ. Bull. Environ. Res*, 7(1), 173-205.
78. Kuhn, D.M., Ghannoum, M.A. (2003). Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: infectious disease perspective. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(1), 144-172.
79. Skrinjar, M., Stubblefield, R., Vujčić, I., Stojanović, E. (1991). Distribution of aflatoxin-producing moulds and aflatoxins in dairy cattle feed and raw milk. *Acta Microbiologica Hungarica*, 39(2), 175-179.

80. Pinto, V.E.F., Vaamonde, G., Brizzio, S.B., Apro, N. (1991). Aflatoxin production in soybean varieties grown in Argentina. *Journal of Food Protection*, 54(7), 542-545.
81. Cotty, P.J., Probst, C.,Jaime-Garcia, R. (2008). Etiology and management of aflatoxin contamination. J. F. Leslie (Ed.). *Mycotoxins: Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade* (s. 287-300). USA: CABI
82. Khlangwiset, P., Shephard, G.S.,Wu, F.(2011). Aflatoxins and growth impairment: a review. *Critical Reviews in Toxicology*, 41(9), 740-755.
83. Egmond, H.P.,Jonker, M.A. (2003). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), *Mycotoxin regulations in 2003 and current developments*.
Erişim:15Ocak2015,AğSitesi:<http://www.fao.org/docrep/007/y5499e/y5499e07.htm#bm07>
84. Henry, S.H., Bosch, F.X., Troxell, T.C.,Bolger, P.M.(1999). Reducing Liver Cancer, Global Control of Aflatoxin. *Science*, 286(5449), 2453-2454.
85. Coppock, R.W.,M. Dziwenka, M. (2014). *Mycotoxins*. R. C. Gupta (Ed.). *Biomarkers in Toxicology* (s. 549-562). Boston: Academic Press
86. Tirmenstein, M.A.,Mangipudy, R. (2014). *Aflatoxin*. P. Wexler (Ed.). *Encyclopedia of Toxicology* (s. 104-106). Oxford: Academic Press
87. Raad, F., Nasreddine, L., Hilan, C., Bartosik, M.,Parent-Massin, D. (2014). Dietary exposure to aflatoxins, ochratoxin A and deoxynivalenol from a total diet study in an adult urban Lebanese population. *Food and Chemical Toxicology*, 73, 35-43.
88. Duarte, S.C., Pena, A.,Lino, C.M.(2011). Human ochratoxin A biomarkers-from exposure to effect. *Critical Reviews in Toxicology*, 41(3), 187-212.
89. Shephard, G., Van der Westhuizen, L.,Sewram, V. (2007). Biomarkers of exposure to fumonisin mycotoxins: a review. *Food Additives and Contaminants*, 24(10), 1196-1201.
90. Scussel, V.M. (2005). *Aflatoxin and Food Safety: Recent South American Perspectives*. H. K. Abbas (Ed.). *Aflatoxin and Food Safety* (s. 39). USA: CRC Press

91. Soubra, L., Sarkis, D., Hilan, C., Verger, P. (2009). Occurrence of total aflatoxins, ochratoxin A and deoxynivalenol in foodstuffs available on the Lebanese market and their impact on dietary exposure of children and teenagers in Beirut. *Food Additives and Contaminants*, 26(2), 189-200.
92. Anon. (t.y.). Aflatoxins : Occurrence and Health Risks. Erişim: 15 Ocak 2015, Ağ Sitesi: <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/aflatoxin/aflatoxin.html>
93. Yentür, G., Er, B. (2011). Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(1), 41-52.
94. Lizárraga-Paulín, E.G., Miranda-Castro, S.P., Moreno-Martínez, E., Torres-Pacheco, I., Lara-Sagahón, A.V. (2013). Novel Methods for Preventing and Controlling Aflatoxins in Food: A Worldwide Daily Challenge. *Aflatoxins-Recent Advances And Future Prospects*, 93.
95. Banu, N., Muthumary, J. (2010). Taxol as chemical detoxificant of aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* isolated from sunflower seed. *Health*, 2(07), 789.
96. Deveci, O., Sezgin, E. (2005). Aflatoxin M1 levels of skim milk powders produced in Turkey. *Journal of Food and Drug Analysis*, 13(2), 139-142.
97. Ulusal Süt Konseyi, Dünya ve Türkiye’de Süt Sektör İstatistikleri. (2013). Erişim: 28 Ağustos 2015, Ağ Sitesi: http://www.ulusalsutkonseyi.org.tr/kaynaklar/arastirma_dosyalar/2014_05_22_905419.pdf
98. Batı Akdeniz Kalkınma Ajansı (2011). Erişim: 28 Ağustos 2015, Ağ Sitesi: <http://www.baka.org.tr/uploads/1303486719SUT-URUNLERi-TURKCE-KATALOG.pdf>
99. International Dairy Federation (IDF). (2010). Erişim: 28 Ağustos 2015, Ağ Sitesi: http://www.milksa.co.za/sites/default/files/KORINL070_world_dairy_situation_2010.pdf
100. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü (TEPGE). (2007-2008). Erişim: 28 Ağustos 2015, Ağ Sitesi: <http://www.tepge.gov.tr/Dosyalar/Yayinlar/0897b61d4dd14cbb854ab77ca24a2fe3.pdf>
101. Arslan, P., Mercanlıgil, S., Özel, H.G., Akbulut, G.Ç., Dönmez, N., Çiftçi, H. ve diğerleri. (2009). Nutritional habits and nutritional patterns of participants of

- the Turkish Adult Risk Factor Survey 2003-2004. *Türk Kardiyol Dern Ars*, 37(6), 425-434.
102. Arslan, P., Mercanlıgil, S., Özel, H., Akbulut, G., Dönmez, N., Çiftçi, H. ve diğerleri.(2006). TEKHARF 2003–2004 taraması katılımcılarının genel beslenme örüntüsü ve beslenme alışkanlıkları. *Türk Kardiyol Dern Arş*, 34(6), 331-339.
103. Çelik, T.H., Sarimehmetoglu, B.,Kuplulu, O. (2005). Aflatoxin M1 contamination in pasteurised milk. *Veterinarski Arhiv*, 75(1), 57-65.
104. Arikan, L.,Çevik, D.Aflatoksinler ve Süt Teknolojisindeki Önemi. *Aksaray Üniversitesi Aksaray Meslek Yüksek Okulu Süt Topluluğu* 71.
105. Galvano, F., Galofaro, V.,Galvano, G.(1996). Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products: a worldwide review. *Journal of Food Protection*, 59(10), 1079-1090.
106. Yangılar, F.,Oğuzhan, P.(2013). Süt ve Süt Ürünlerinde Bulunan Başlıca Mikotoksin Türü: Aflatoksinler *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 6 (2), 106-111.
107. Mckinney, J.D., Cavanagh, G.C., Bell, J., Hoversland, A., Nelson, D., Pearson, J. ve diğerleri.(1973). Effects of ammoniation on aflatoxins in rations fed lactating cows. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 50(3), 79-84.
108. Stoloff, L., Wood, G.,Carter, L.(1981). Aflatoxin M 1 in manufactured dairy products produced in the United States in 1979. *Journal of Dairy Science*, 64(12), 2426-2430.
109. Özmenteşe, N.(2002). ***İstanbul Piyasasından Sağlanan Süt ve Süt Ürünlerinin Aflatoksin B1 ve M1 İçerikleri Yönünde Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Yönetimi ile Araştırılması.*** Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, İstanbul.
110. Akkaya, L., Birdane, Y.O., Oguz, H.,Cemek, M.(2006). Occurrence of aflatoxin M 1 in yogurt samples from Afyonkarahisar, Turkey. *Bulletin-Veterinary Institute In Pulawy*, 50(4), 517.
111. Var, I.,Kabak, B.(2009). Detection of aflatoxin M1 in milk and dairy products consumed in Adana, Turkey. *International Journal of Dairy Technology*, 62(1), 15-18.

112. Kendirci, P.(2002). ***Kefir ve Kefir Tanesinde Aflatoksin M1 Yayın Yönetiminin Geliştirilmesi ve Kontamine Sütlerden Kefire ve Kefir Tanelerine Aflatoksin M1 Geçişinin Araştırılması.***Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir.
113. Akdemir, Ç.,Altıntaş, A.(2004). Ankara'da işlenen sütlerde aflatoksin-M1 varlığının ve düzeylerinin HPLC ile araştırılması. *Am J Vet Res*, 35, 303-310.
114. Oruç, H., Kalkanlı, Ö., Cengiz, M.,Sonal, S.(2005). Bursa'nın ova ve dağ köylerinden toplanan çiğ sütlerde aflatoksin M1 düzeyleri. II. *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu*, 23-24.
115. Özsunar, A.(2005). ***Trakya Bölgesinde Üretilen İnek Sütlerinde Aflatoksin M1 Varlığı.*** Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Edirne.
116. Topcu, S.(2006). ***Ankara sokak sütü ve peynir örneklerinden maya izolasyonu, sütlerden aflatoksin M1 tayini.*** Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
117. Atasever, M., Nizamlıoğlu, M., Özturan, K., Karakaya, Y.,Ünsal, C.(2006). Erzurum bölgesinde tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinin aflatoksin M1 yönünden incelenmesi. 2. *Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi (Uluslar arası katılımlı) Bildiri Kitabı*, sh, 231-240.
- 118.Unusan, N.(2006). Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 44(11), 1897-1900.
119. Gürbay, A., Aydın, S., Girgin, G., Engin, A.,Şahin, G.(2006). Assessment of aflatoxin M 1 levels in milk in Ankara, Turkey. *Food Control*, 17(1), 1-4.
120. Kök, Z.(2006). ***Aydın ili ve çevresinde üretilen süt ve süt ürünlerinde aflatoksin varlığının araştırılması.*** Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.
121. Kireççi, E., Savaşçı, M.,Ayyıldız, A.(2007). Sarıkamış'ta Tüketilen Süt Ve Peynir Ürünlerinde Aflatoksin M1 Varlığının Belirlenmesi. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 21(2), 93-96.
122. Özdemir, M.(2007). Determination of aflatoxin M1 levels in goat milk consumed in Kilis province. *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg*, 54, 99-103.
123. Özdemir, M.,Kuyucuoğlu, N.(2007). Afyonkarahisar İlindeki Hastanelerde Doğum Yapan Kadınların Sütlerinde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Belirlenmesi. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 8(1), 23-29.

124. Tekinşen, K.K., Eken, H.S.(2008). Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 46(10), 3287-3289.
125. Gündinç, U., Filazi, A.(2009). Detection of aflatoxin M1 concentrations in UHT milk consumed in Turkey markets by ELISA. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 12(8), 653-656.
126. Gücükoğlu, A., Çadircı, Ö., Özpınar, N.(2010). UHT süt ve peynir örneklerinde aflatoxin M1 varlığının belirlenmesi. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 21, 45-50.
127. Delialioğlu, N., Otağ, F., Ocal, N.D., Aslan, G., Emekda, G. (2010). Investigation of aflatoxin M1 levels in raw and market milks in Mersin Province, Turkey. *Mikrobiyoloji bülteni*, 44(1), 87-91.
128. Atasever, M., Adiguzel, G., Atasever, M., Özlü, H., Özturan, K.(2010). Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Erzurum-Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16(Suppl A), 119-S122.
129. Buldu, H.M., Koc, A.N., Uraz, G.(2011). Aflatoxin M1 contamination in cow's milk in Kayseri (central Turkey). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 35(2), 87-91.
130. İşleyici, Ö., Morul, F., Sancak, Y.C.(2012). Van'da Tüketime Sunulan UHT Sterilize İnek Sütlerinde Aflatoxin M1 Düzeyinin Araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(2), 65-69.
131. Temamogullari, F., Kanici, A.(2014). Short communication: Aflatoxin M 1 in dairy products sold in Şanlıurfa, Turkey. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 162-165.
132. Er, B., Demirhan, B., Yentür, G.(2014). Short communication: Investigation of aflatoxin M 1 levels in infant follow-on milks and infant formulas sold in the markets of Ankara, Turkey. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3328-3331.
133. Kocasari, F.S.(2014). Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk and infant formula samples consumed in Burdur, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(10), 6363-6368.
134. Hussein, H.S., Brasel, J.M.(2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167(2), 101-134.

135. Caloni, F., Stamatii, A., Friggè, G., De Angelis, I. (2006). Aflatoxin M 1 absorption and cytotoxicity on human intestinal in vitro model. *Toxicon*, 47(4), 409-415.
136. Troxel, C.M., Reddy, A.P., O'Neal, P.E., Hendricks, J.D., Bailey, G.S. (1997). In Vivo Aflatoxin B 1 Metabolism and Hepatic DNA Adduction in Zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 143(1), 213-220.
137. Neal, G., Eaton, D., Judah, D., Verma, A. (1998). Metabolism and Toxicity of Aflatoxins M 1 and B 1 in Human-Derived in Vitro Systems. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 151(1), 152-158.
138. Bbosa, G.S., Lubega, A., Kyegombe, D.B., Kitya, D., Ogwal-Okeng, J., Anokbonggo, W.W. (2013). Review of the biological and health effects of aflatoxins on body organs and body systems. M. Razzaghi-Abyaneh (Ed.). *Aflatoxins - Recent Advances and Future Prospects* (s. 239-266). Croatia: INTECH Open Access Publisher.
139. Tsakiris, I.N., Tzatzarakis, M.N., Alegakis, A.K., Vlachou, M.I., Renieri, E.A., Tsatsakis, A.M. (2013). Risk assessment scenarios of children's exposure to aflatoxin M1 residues in different milk types from the Greek market. *Food and Chemical Toxicology*, 56, 261-265.
140. Mangipudy, R.S., Mehendale, H.M. (2005). Aflatoxin. P. Wexler (Ed.). *Encyclopedia of Toxicology* (2 bs., s. 54-55). USA: Academic Press.
141. Dhanasekaran, D., Panneerselvam, A., Thajuddin, N., Shanmugapriya, S. (2011). Aflatoxins and aflatoxicosis in human and animals. R. G. Guevara-Gonzalez (Ed.). *Aflatoxins - Biochemistry and Molecular Biology* (s. 221-254). Croatia: INTECH Open Access Publisher.
142. Apostu, S., Pop, C.R., Duma, M., Rotar, A.M., Semeniuc, C.A. (2013). The Incidence of Aflatoxin M1 in Raw and Pasteurized Milk from Transylvania County. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*, 70(1), 187-188.
143. World Health Organization (WHO). (t.y.). Aflatoxins. Erişim: 14 Ekim 2014, Ağı Sitesi: <http://www.iarc.fr/search.php?cx=009987501641899931167%3Ajwf5bx4tx78&cof=FORID%3A9&ie=UTF-8&ie=ISO-8859->

[1&oe=ISO-8859-](#)

[1&sa=&q=aflatoxin#gsc.tab=0&gsc.q=aflatoxin&gsc.page=1.](#)

144. Yu, J.(2012). Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. *Toxins*, 4(11), 1024-1057.
145. Lewis, L., Onsongo, M., Njapau, H., Schurz-Rogers, H., Lubber, G., Kieszak, S. ve diğeri.(2005). Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in eastern and central Kenya. *Environmental Health Perspectives*, 1763-1767.
146. Consolandi, C., Cremonesi, P., Severgnini, M., Bordoni, R., Peano, C., Bellis, G.D. ve diğeri. (2012). Array Platform for Food Safety and Quality. N. Benkeblia (Ed.). OMICs Technologies: Tools for Food Science (s. 13-57). USA: Taylor & Francis.
147. Denning, D.W., Allen, R., Wilkinson, A.P.,Morgan, M.R.(1990). Transplacental transfer of aflatoxin in humans. *Carcinogenesis*, 11(6), 1033-1035.
148. Abbès, S., Salah-Abbès, J.B., Abdel-Wahhab, M.A.,Ouslati, R.(2010). Immunotoxicological and biochemical effects of Aflatoxins in rats prevented by Tunisian Montmorillonite with reference to HSCAS. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 32(3), 514-522.
149. Moon, E., Rhee, D.,Pyo, S.(1999). Inhibition of various functions in murine peritoneal macrophages by aflatoxin B1 exposure in vivo. *International journal of immunopharmacology*, 21(1), 47-58.
150. Anon. (t.y.). Aflatoxin a synthesis of the research in health, agriculture and trade. Feed the Future. Erişim: 13 Ocak 2015, Ağ Sitesi: http://www.danya.com/portfolio/aflatoxin_report.pdf.
151. Barrett, J.R.(2005). Liver cancer and aflatoxin: New information from the Kenyan outbreak. *Environmental Health Perspectives*, 113(12), A837.
152. Barrett, M.J., Hurwitz, E.S., Schonberger, L.B.,Rogers, M.F.(1986). Changing epidemiology of Reye syndrome in the United States. *Pediatrics*, 77(4), 598-602.
153. Food and Drug Administration (FDA). (t.y.). Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook Aflatoxins. Erişim: 13 Ocak

2015, Ağ Sitesi: <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/ucm071020.htm>.

154. Liu, Y., Chang, C.-C.H., Marsh, G.M., Wu, F.(2012). Population attributable risk of aflatoxin-related liver cancer: systematic review and meta-analysis. *European Journal of Cancer*, 48(14), 2125-2136.
155. Wangikar, P.B., Sinha, N., Dwivedi, P., Sharma, A.(2007). Teratogenic Effects of Ochratoxin A and Aflatoxin B 1 Alone and in Combination on Post-Implantation Rat Embryos in Culture. *Journal of the Turkish-German Gynecological Association*, 8(4).
156. Murthy, T., Jemmali, M., Henry, Y., Frayssinet, C.(1975). Aflatoxin residues in tissues of growing swine: effect of separate and mixed feeding of protein and protein-free portions of the diet. *Journal of Animal Science*, 41(5), 1339-1347.
157. Geissler, F., Faustman, E.M.(1988). Developmental toxicity of aflatoxin B1 in the rodent embryo in vitro: contribution of exogenous biotransformation systems to toxicity. *Teratology*, 37(2), 101-111.
158. Maryamma, K., Sivadas, C.(1975). Aflatoxicosis in goats (an experimental study). *Indian veterinary journal*, 52, 385-392.
159. Doerr, J., Ottinger, M.(1980). Delayed reproductive development resulting from aflatoxicosis in juvenile Japanese quail. *Poultry Science*, 59(9), 1995-2001.
160. Zaki, M.M., El-Midany, S., Shaheen, H., Rizzi, L.(2012). Mycotoxins in animals: Occurrence, effects, prevention and management. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 4(1), 13-28.
161. Samuel, S.M., Aiko, V., Panda, P., Mehta, A.(2013). Aflatoxin B1 Occurance, Biosynthesis and its Degradation *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 7(2).
162. Abdel-Wahhab, M., Kholif, A.(2008). Mycotoxins in animal feeds and prevention strategies: A review. *Asian J Anim Sci*, 2(1), 7-25.
163. Allcroft, R., Carnaghan, R.(1963). Groundnut toxicity: an examination for toxin in human food products from animals fed toxic groundnut meal. *Veterinary Record*, 75, 259-263.
164. Awad, W.A., Ghareeb, K., Böhm, J., Zentek, J.(2010). Decontamination and detoxification strategies for the Fusarium mycotoxin deoxynivalenol in animal

- feed and the effectiveness of microbial biodegradation. *Food Additives and Contaminants*, 27(4), 510-520.
165. Kolosova, A., Stroka, J. (2011). Substances for reduction of the contamination of feed by mycotoxins: a review. *World Mycotoxin Journal*, 4(3), 225-256.
166. Petchkongkaew, A. (2007). Reduction of mycotoxin contamination level during soybean fermentation. Degree of Doctor. Suranaree University of Technology, France.
167. Burgos-Hernández, A., Price, R.L., Jorgensen-Kornman, K., López-García, R., Njapau, H., Park, D.L. (2002). Decontamination of aflatoxin B1 contaminated corn by ammonium persulphate during fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(5), 546-552.
168. Food and Agriculture Organization (FAO). (t.y.). Risk analysis of mycotoxins by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Erişim: 3 Ocak 2015, Ağ Sitesi: <http://www.fao.org/docrep/x2100t/x2100t04.htm>
169. Hagler, W. (1991). Potential for detoxification of mycotoxin-contaminated commodities. *Mycotoxins, Cancer and Health*, Louisiana State University Press, Baton Rouge, 253-269.
170. Altuğ, T., Yousef, A.E., Marth, E.H. (1990). Degradation of aflatoxin B1 in dried figs by sodium bisulfite with or without heat, ultraviolet energy or hydrogen peroxide. *Journal of Food Protection*, 53(7), 581-628.
171. Huchchannavar, S., Balol, G.B. (2011). Aflatoxins in food chain and their management. *Current Biotica*, 5(2), 250-263.
172. Tajik, H., Rohani, S.M.R., 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.
173. Armendáriz, C.R., Fernández, Á.J.G., Gironés, M.C.L.R., de la Torre, A.H. (2014). Mycotoxins. P. Wexler (Ed.). *Encyclopedia of Toxicology* (3 bs., s. 424-427). Oxford: Academic Press.
174. Food and Agriculture Organization (FAO). (t.y.) Erişim: 29 Temmuz 2015, Ağ Sitesi: <http://www.fao.org/3/a-y5499e.pdf>.

175. Besler, H.T., Ersoy, G., Karaağaoğlu, N., Mercanlıgil, S.M., Pekcan, A.G., Rakıcıoğlu, N. ve diğerleri. (2014). Beslenme Durumu ve Alışkanlıklarının Değerlendirilmesi Sonuç Raporu.
176. Besler, H.T., Rakıcıoğlu, N., Ayaz, A., Demirel Büyüktuncer, Z., Özel Gökmen, H., Samur Eroğlu, G. ve diğerleri. (2015). Türkiye'ye Özgü Besin ve Beslenme Rehberi (1. bs.). Ankara.
177. Kuiper-Goodman, T.(1990). Uncertainties in the risk assessment of three mycotoxins: aflatoxin, ochratoxin, and zearalenone. *Can J Physiol Pharmacol*, 68(7), 1017-1024.
178. Alpar, R. (2014). Spor Sağlık ve Eğitim Bilimlerinde Örneklerle Uygulamalı İstatistik ve Geçerlilik-Güvenilirlik (3 bs.). Ankara: Detay Anatolia Akademik Yayıncılık.
179. Chen, C.-Y., Li, W.-J.,Peng, K.-Y.(2005). Determination of aflatoxin M1 in milk and milk powder using high-flow solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(22), 8474-8480.
180. Dragacci, S., Grosso, F.,Gilbert, J.(2001). Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography for determination of aflatoxin M1 in liquid milk: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 84(2), 437-443.
181. Dutton, M.F., Mwanza, M., de Kock, S.,Khilosia, L.D.(2012). Mycotoxins in South African foods: a case study on aflatoxin M1 in milk. *Mycotoxin Research*, 28(1), 17-23.
182. Rodriguez Velasco, M., Calonge Delso, M.,Ordonez Escudero, D.(2003). ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M 1 in raw cow's milk. *Food Additives & Contaminants*, 20(3), 276-280.
183. Sarımehtemoglu, B., Kuplulu, O.,Celik, T.H.(2004). Detection of aflatoxin M 1 in cheese samples by ELISA. *Food Control*, 15(1), 45-49.
184. Kim, E., Shon, D., Ryu, D., Park, J., Hwang, H.,Kim, Y.(2000). Occurrence of aflatoxin M1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. *Food Additives & Contaminants*, 17(1), 59-64.
185. Joice Sifuentes dos Santos, V.R.F., Shiguedy Katto, Elsa H W Santana.(2015). Aflatoxin M1 in pasteurized, UHT milk and milk powder commercialized in

- Londrina, Brazil and estimation of exposure. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 65(3).
186. Rama, A., Latifi, F., Bajraktari, D., Ramadani, N. (2015). Assessment of aflatoxin M1 levels in pasteurized and UHT milk consumed in Prishtina, Kosovo. *Food Control*, 57, 351-354.
 187. Zheng, N., Sun, P., Wang, J., Zhen, Y., Han, R., Xu, X. (2013). Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk and pasteurized milk in China market. *Food Control*, 29(1), 198-201.
 188. Fallah, A.A. (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.
 189. Oliveira, C., Ferraz, J. (2007). Occurrence of aflatoxin M1 in pasteurised, UHT milk and milk powder from goat origin. *Food Control*, 18(4), 375-378.
 190. Panariti, E. (2001). Seasonal variations of aflatoxin M1 in the farm milk in Albania. *Arhiv za Higijenu Rada I Toksikologiju*, 52(1), 37-41.
 191. Martins, M.L., Martins, H.M. (2000). Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal. *Food Additives & Contaminants*, 17(10), 871-874.
 192. Carvajal, M., Bolaños, A., Rojo, F., Méndez, I. (2003). Aflatoxin M1 in pasteurized and ultrapasteurized milk with different fat content in Mexico. *Journal of Food Protection*, 66(10), 1885-1892.
 193. Osweiler, G. (2011). Ruminant Toxicology, An Issue of Veterinary Clinics: Food Animal Practice. G. Osweiler (Ed.). USA: Elsevier Health Sciences.
 194. Hassan, H.F., Kassaify, Z. (2014). The risks associated with aflatoxins M1 occurrence in Lebanese dairy products. *Food Control*, 37, 68-72.
 195. Ghanem, I., Orfi, M. (2009). Aflatoxin M1 in raw, pasteurized and powdered milk available in the Syrian market. *Food Control*, 20(6), 603-605.
 196. Bahrami, R., Shahbazi, Y., Nikousefat, Z. (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, 250-256.

197. Rahimi, E., Bonyadian, M., Rafei, M., Kazemeini, H. (2010). Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. *Food and Chemical Toxicology*, 48(1), 129-131.
198. Liu, Z., Kanter, C.A., Messer, K.D., Kaiser, H.M. (2013). Identifying significant characteristics of organic milk consumers: a CART analysis of an artefactual field experiment. *Applied Economics*, 45(21), 3110-3121.
199. Malissiova, E., Tsakalof, A., Arvanitoyannis, I., Katsafliaka, A., Katsioulis, A., Tserkezou, P. ve diğeri. (2013). Monitoring Aflatoxin M1 levels in ewe's and goat's milk in Thessaly, Greece; potential risk factors under organic and conventional production schemes. *Food Control*, 34(1), 241-248.
200. Tosun, H., Ayyıldız, T. (2013). Occurrence of aflatoxin M1 in organic dairy products. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 5(3), 215-219.
201. Torović, L. (2015). Aflatoxin M1 in processed milk and infant formulae and corresponding exposure of adult population in Serbia in 2013–2014. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 8(4), 235-244.
202. Golge, O. (2014). A survey on the occurrence of aflatoxin M 1 in raw milk produced in Adana province of Turkey. *Food Control*, 45, 150-155.
203. Silva, M.V., Janeiro, V., Bando, E., Machinski Jr, M. (2015). Occurrence and estimative of aflatoxin M 1 intake in UHT cow milk in Paraná State, Brazil. *Food Control*, 53, 222-225.
204. Hussain, I., Anwar, J. (2008). A study on contamination of aflatoxin M 1 in raw milk in the Punjab province of Pakistan. *Food Control*, 19(4), 393-395.
205. Nemati, M., Mehran, M.A., Hamed, P.K., Masoud, A. (2010). A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in milk samples in Ardabil, Iran. *Food Control*, 21(7), 1022-1024.
206. Ruangwises, N., Ruangwises, S. (2010). Aflatoxin M1 contamination in raw milk within the central region of Thailand. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85(2), 195-198.
207. Doğan, E. (2012). *Ardahan Yöresinden Toplanan Süt ve Kaşar Peynirlerinde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Mevsimlere Göre Araştırılması*. Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi, Kars.

208. Ismail, A., Riaz, M., Levin, R.E., Akhtar, S., Gong, Y.Y., Hameed, A. (2016). Seasonal prevalence level of aflatoxin M 1 and its estimated daily intake in Pakistan. *Food Control*, 60, 461-465.
209. Kabak, B., Ozbey, F. (2012). Aflatoxin M 1 in UHT milk consumed in Turkey and first assessment of its bioaccessibility using an in vitro digestion model. *Food Control*, 28(2), 338-344.
210. Roussi, V., Govaris, A., Varagouli, A., Botsoglou, N. (2002). Occurrence of aflatoxin M1 in raw and market milk commercialized in Greece. *Food Additives & Contaminants*, 19(9), 863-868.
211. Cano-Sancho, G., Marin, S., Ramos, A.J., Peris-Vicente, J., Sanchis, V. (2010). Occurrence of aflatoxin M 1 and exposure assessment in Catalonia (Spain). *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(3), 130-135.
212. Shundo, L., Sabino, M. (2006). Aflatoxin M1 in milk by immunoaffinity column cleanup with TLC/HPLC determination. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37(2), 164-167.
213. Shundo, L., Navas, S.A., Lamardo, L.C.A., Ruvieri, V., Sabino, M. (2009). Estimate of aflatoxin M 1 exposure in milk and occurrence in Brazil. *Food Control*, 20(7), 655-657.
214. Alborzi, S., Pourabbas, B., Rashidi, M., Astaneh, B. (2006). Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Shiraz (south of Iran). *Food Control*, 17(7), 582-584.
215. Oliveira, C., Rosmaninho, J., Rosim, R. (2006). Aflatoxin M1 and cyclopiazonic acid in fluid milk traded in São Paulo, Brazil. *Food Additives and Contaminants*, 23(2), 196-201.
216. Kos, J., Lević, J., Đuragić, O., Kokić, B., Miladinović, I. (2014). Occurrence and estimation of aflatoxin M1 exposure in milk in Serbia. *Food Control*, 38, 41-46.
217. Nachtmann, C., Gallina, S., Rastelli, M., Ferro, G.L., Decastelli, L. (2007). Regional monitoring plan regarding the presence of aflatoxin M 1 in pasteurized and UHT milk in Italy. *Food Control*, 18(6), 623-629.
218. Gallina, G., Rama, A., Lucatello, L., Benetti, C., Bajraktari, D., Uka, K. ve diğerleri. (2013). Aflatoxin M1 Contamination and Antibacterial Residues in

- Milk in Kosovo. C. Boiti, A. Ferlazzo, A. Gaiti ve A. Pugliese (Ed.). Trends in Veterinary Sciences (s. 109-113). Berlin: Springer.
219. Blanco, J.L., Domínguez, L., Gómez-Lucía, E., Garayzabal, J., García, J.A.,Suárez, G.(1988). Presence of aflatoxin M1 in commercial ultra-high-temperature-treated milk. *Applied and Environmental microbiology*, 54(6), 1622-1623.
 220. Tajkarimi, M., Aliabadi, F.S., Nejad, M.S., Pursoltani, H., Motallebi, A.,Mahdavi, H.(2007). Seasonal study of aflatoxin M 1 contamination in milk in five regions in Iran. *International Journal of Food Microbiology*, 116(3), 346-349.
 221. Ozsunar, A., Gumus, T., Arici, M.,Demirci, M.(2010). Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk in Trakya region, Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 22(3), 1879.
 222. Heshmati, A.,Milani, J.M.(2010). Contamination of UHT milk by aflatoxin M 1 in Iran. *Food Control*, 21(1), 19-22.
 223. Henry, S.H., Whitaker, T., Rabbani, I., Bowers, J., Park, D., Price, W. ve diğerleri. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). (t.y.). Erişim: 13 Ocak 2015, Ağ Sitesi:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je02.htm#7.2>
 224. Jawaid, S., Talpur, F.N., Nizamani, S.M.,Afridi, H.I.(2015). Contamination profile of aflatoxin M1 residues in milk supply chain of Sindh, Pakistan. *Toxicology Reports*, 2, 1418-1422.
 225. Signorini, M., Gaggiotti, M., Molineri, A., Chiericatti, C., de Basílico, M.Z., Basílico, J. ve diğerleri.(2012). Exposure assessment of mycotoxins in cow's milk in Argentina. *Food and Chemical Toxicology*, 50(2), 250-257.
 226. Zinedine, A., Gonzalez-Osnaya, L., Soriano, J., Moltó, J., Idrissi, L.,Manes, J.(2007). Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. *International Journal of Food Microbiology*, 114(1), 25-29.
 227. Coffey, R., Cummins, E.,Ward, S.(2009). Exposure assessment of mycotoxins in dairy milk. *Food Control*, 20(3), 239-249.

EK 1- Farklı dönemlerdeki (sırasıyla şubat, mayıs, temmuz) AFM1 Analizleri için Kalibrasyon Eğrileri.

