

**T.C.
HİTİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇORUM İLİNDE ÜRETİLEN ÇİĞ SÜTLERDE
AFM₁ VARLIĞININ HPLC METODU İLE
BELİRLENMESİ**

Ezgi YIKICI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Fatih ÖZBEY**

**NİSAN 2018
ÇORUM**

ÇORUM İLİNDE ÜRETİLEN ÇİĞ SÜTLERDE AFLATOKSİN M₁ VARLIĞININ HPLC METODU İLE BELİRLENMESİ

Ezgi YIKICI

HİTİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Nisan 2018

ÖZET

Çalışmanın amacı, Çorum merkez ve çevre köylerde üretilen çiğ sütlerdeki AFM₁ varlığını belirlemektir. Üreticilerden dört mevsim direkt olarak temin edilen toplam 200 adet çiğ süt örneği HPLC cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Örneklerin 129 (%64,5)'unda 22-401 ng L⁻¹ arasında farklı konsantrasyonlarda AFM₁ tespit edilirken, geri kalan 71 (%35,5)'inde AFM₁ tespit edilmemiştir. 87 (%43,5) örnek Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen maksimum kabul edilebilir limiti (50 ng L⁻¹) aşmıştır. Pozitif örneklerin aralığı sonbahar mevsiminde 22-289 ng L⁻¹, kış mevsiminde 29-199 ng L⁻¹, ilkbahar mevsiminde 30-177 ng L⁻¹ ve yaz mevsiminde 26-401 ng L⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

Analiz sonuçları, AFM₁ konsantrasyonlarının tüketiciler açısından potansiyel risk taşıdığını göstermektedir. Çorum ve bölgesinde süt ve ürünlerinde aflatoksin oluşumunu ve gelişimini minimum seviyede tutmak için üreticilerin, birliklerin ve kooperatiflerin bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Kullanıma yönelik hayvan yemlerinde ve tarımsal ürünlerde AFB₁ kontaminasyonunu engellemek için önleyici tedbirler alınmalıdır. Üreticilerin bilgilendirilmesinin yanısıra denetimlerin ve takiplerin yapılmasının, AFM₁ oluşumunun periyodik olarak izlenmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler : Aflatoksin M₁, Çiğ Süt

DETERMINATION OF AFLATOXIN M₁ IN RAW MILKS PRODUCED IN ÇORUM PROVINCE BY HPLC

Ezgi YIKICI

HITIT UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

April 2018

ABSTRACT

The aim of study is to determine the presence of AFM₁ in the raw milk produced in the centre and the surrounding villages of Çorum. A total of 200 raw milk samples provided directly from the manufactures during four seasons have been analysed using HPLC device. While AFM₁ has been detected between 22-401 ng L⁻¹ in different concentrations in 129 (%64,5) samples, it hasn't been detected in the rest 71 (%35,5) samples. 87 samples have exceeded the acceptable limits indicated in the Turkish Food Codex (50 ngL⁻¹). The range of positive samples has been figured out as 22-289 ng L⁻¹ in autumn, 29-199 ng L⁻¹ in winter, 30-177 ng L⁻¹ in spring and 26-401 ng L⁻¹ in summer.

The analysis results point that AFM₁ concentrations carry potential risk from the point of consumers. In Çorum and around, manufactures, associations and cooperatives are needed to raise awareness in order to keep the aflatoxin formation and development at minimum level in milk and diary products. In animal feeding stuff and agricultural products, preventive measures should be taken to prevent the AFB₁ contamination. It's been estimated as important to monitor AFM₁ formation periodically; control and monitoring should be done besides manufacturers being acknowledged.

Keywords : Aflatoxin M₁, Raw milk

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimimin başlangıcından itibaren ders döneminde ve tez çalışmam boyunca her türlü öneri, özveri ve yardımları ile beni destekleyen, çalışmalarına yön veren, tezimin yürütülmesine katkı sağlayan Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Bölüm Başkanı değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fatih ÖZBEY'e, analizlerin yapılması aşamasında yardımını ve desteğini gördüğüm hocam Sayın Doç. Dr. Bülent KABAK'a, fikirleri ile beni destekleyen bölümümdeki tüm öğretim üyelerine, örnek temini noktasında gerekli kolaylıkları sağlayan Çorum Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği personeli Sayın Yenal SOYUĞUZ'a, beni bugünlere getiren, hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda hissettiğim aileme içtenlikle teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez çalışmasına, MUH19004.15.005 numaralı proje kapsamında vermiş oldukları destekten dolayı, Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Sütün Tanımı ve Bileşimi	3
2.2. Sütün Mikroflorası ve Kontaminasyon Nedenleri.....	7
2.3. Mikotoksinler ve Mikotoksikozis.....	9
2.4. Mikotoksin Oluşumuna Etki Eden Temel Faktörler.....	15
2.5. Başlıca Mikotoksinler.....	16
2.6. Aflatoksinler ve Özellikleri.....	20
2.6.1. Aflatoksinlerin toksisitesi ve halk sağlığına etkileri.....	22
2.6.2. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksinler.....	24
2.6.3. Yasal düzenlemeler.....	28
3. MATERYAL VE YÖNTEM	34
3.1. Materyal	34
3.1.1. Aflatoksin M ₁ standardı.....	34
3.1.2. Aflatoksin M ₁ immunoaffinite kolonu.....	34

Sayfa

3.2. Yöntem	34
3.2.1. Aflatoksin M ₁ ekstraksiyonu (Örnek hazırlama aşaması).....	35
3.2.2. HPLC analizi.....	36
3.2.3. İstatistiksel analiz.....	37
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	38
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Farklı tür sütlerin ortalama bileşimleri(%).....	6
Çizelge 2.2. Önemli mikotoksinler, üreticileri, riskli gıdalar ve olumsuz etkileri.....	18
Çizelge 2.3. Ülkemizde ve farklı ülkelerde AFM ₁ ile ilgili yapılan bazı çalışmalar.....	27
Çizelge 2.4. Türkiye’ de gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum aflatoksin limitleri.....	30
Çizelge 2.5. Türkiye’ de hayvan yemlerinde bulunmasına izin verilen AFB ₁ miktarının maksimum limitleri	31
Çizelge 3.1. Kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında kullanılan AFM ₁ konsantrasyonları ve pik alanları.....	37
Çizelge 4.1. Çiğ süt örneklerinin AFM ₁ içeriği ve dağılımı.....	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları	21
Şekil 3.1. Oluşturulan kalibrasyon eğrisi.....	37
Şekil 4.1. AFM ₁ içeriği 74 ng L ⁻¹ olan örneğe ait kromatogram.....	40
Şekil 4.2. AFM ₁ içeriği 139 ng L ⁻¹ olan örneğe ait kromatogram.....	40
Şekil 4.3. AFM ₁ içeriği 115 ng L ⁻¹ olan örneğe ait kromatogram.....	40
Şekil 4.4. 100 ng L ⁻¹ AFM ₁ standart çözeltisine ait kromatogram.....	41
Şekil 4.5. 500 ng L ⁻¹ AFM ₁ standart çözeltisine ait kromatogram.....	41

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. AFM ₁ analizinde kullanılan HPLC cihazı	35



SİMGELER VE KISALTMALAR**Simgeler**

L	Litre
ng	Nanogram
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
ppm (mg/L, kg)	Parts per million (Milyonda bir kısım)
ppb (µg/L, kg)	Parts per billion (Milyarda bir kısım)
ppt (ng/L, kg)	Parts per trillion (Trilyonda bir kısım)
nm	Nanometre
aw	Su aktivitesi

Kısaltmalar

AF	Aflatoksin
AFB1	Aflatoksin B1
AFM1	Aflatoksin M1
FAO	Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Organizasyonu)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
IARC	International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kansere Araştırmaları Enstitüsü)
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TS	Türk Standardları
TSE	Türk Standardları Enstitüsü
UHT	Ultra High Temperature
UV	Ultraviyole
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

1. GİRİŞ

Süt, yeni doğan canlının beslenmesinde, toplum sağlığının korunmasında önemli yeri olan sevilerek tüketilen hayvansal bir gıdadır. Yaşamın her evresinde tüketilmesi, birçok yeni ürün için hammadde konumunda olması, farklı ürünlerde bileşimi zenginleştirici ve kaliteyi arttırıcı olarak kullanılması sütü değerli ve üstün kılmaktadır.

Küfler doğada yaygın olarak bulunmakla birlikte gelişimleri için uygun çevre koşulları oluştuğunda özellikle sıcaklık, oksijen ve nem varlığında toksik olan ikincil metabolitlerini üretirler. Mikotoksin olarak adlandırılan ikincil metabolitler arasında, üzerinde birçok çalışma yapılan, tarımsal ve ekonomik açıdan risk taşıyan, kontamine olmuş gıda ve yem maddelerinde sıklıkla karşılaşılan gruplar; aflatoksinler (AF), okratoksin A (OTA), fumonisinler, trikotesenler (deoksinivalenol ve T-2 toksin) zearalenon ve patulindir. Birbirinden farklı kimyasal özelliğe sahip olan bu mikotoksin çeşitlerinin canlılar üzerindeki toksik etkileri de farklılık göstermektedir. AF'ler içerisinde yer alan Aflatoksin B₁ (AFB₁) bilinen en güçlü toksik, kanserojenik, mutajenik, teratojenik etkiye sahip, IARC (Uluslararası Kanser Araştırmaları Enstitüsü) tarafından 1. Gruba dahil edilmiş ve insanlar üzerinde kanserojen etkisi kanıtlanmış tek mikotoksindir. *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius* en önemli aflatoksin üreticileridir. İnsan ve hayvan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri, ticari ve ekonomik açıdan engel teşkil etmeleri aflatoksinler için yasal düzenlemeleri beraberinde getirmiştir. Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi'nde riskli gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum aflatoksin limitleri belirtilmiştir. AF'ler birçok gıda ve tarım ürünüde bulunduğu gibi dolaylı olarak sütte de bulunmaktadır. Süt veren hayvanların AFB₁ ile kontamine olmuş yemle beslenmeleri sonucu bu toksin hedef organ olan karaciğerde biyotransformasyona uğramaktadır. Metabolize olan AFB₁, özellikle vücuda alınan toksin miktarına ve maruziyet süresine bağlı olarak, yaklaşık %1-3 oranında Aflatoksin M₁ (AFM₁) formunda süte geçebilmektedir. Canlılarda meydana gelen akut ve kronik etkiyi belirleyen en önemli faktörler; toksine maruz kalma süresi, toksin çeşidi ve konsantrasyonudur.

İleri aşamalarda çeşitli hastalıklara, karaciğer kanseri ve ölüme neden olan aflatoksinler halk sağlığı üzerinde ciddi sorunlara neden olmaktadır.

Yapılan çalışmanın amacı, Çorum merkez ve çevre köylerden temin edilen sütlerdeki AFM₁ konsantrasyonlarını belirleyerek bölge halkının sağlığı üzerinde oluşabilecek potansiyel riski değerlendirmek ve üreticileri bilinçlendirmektir.



2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Sütün Tanımı ve Bileşimi

Süt meme bezlerinin bir sekresyonu olup, memelilerde doğumu takiben salgılanmaya başlayan biyolojik sıvıdır. Kendine has tat, koku ve kıvamına sahip (viskoz), krem-beyaz renkte, dişi memelilerin süt bezlerinden salgılanan, yavrunun gelişim süreci boyunca ihtiyacı olan temel gıda bileşenlerini önemli ölçüde içeren süt, sevilerek tüketilen hayvansal bir gıdadır (Üçüncü, 2012). Yeni doğan canlının doğum sonrasında tüketime başladığı temel gıda olan süt, yaşamın her evresinde vücudun gelişmesini, sağlığın korunmasını, yapısında bulunan immünoglobulinler, enzimler, anti bakteriyel ajanlar ve hormonlar ile de dış etkilere karşı bağışıklık sisteminin oluşmasını ve kuvvetlenmesini sağladığından yaşam döngüsünde önemli bir yere sahiptir (Iqbal ve ark., 2016). Ülkemizde gıda standartları açısından yetkili kurumlar olan Türk Standardları Enstitüsü (TSE) ile Türk Gıda Kodeksi (TGK) sütü tanımlamıştır. Türk Standardları (TS) 1018 çiğ inek sütü tanımına göre: İnek, koyun, keçi ve mandaların meme bezlerinden salgılanan, kendine özgü tat, koku ve kıvamda olan, içine başka maddeler karıştırılmamış ve içinden herhangi bir maddesi alınmamış beyaz renkli bir sıvıdır (Anonim, 2002). Türk Gıda Kodeksi' ne göre: Çiğ süt; bir veya daha fazla inek, keçi, koyun veya mandanın sağılmasıyla elde edilen, 40 °C'nin üzerinde ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısıdır (Anonim, 2000).

Süt, yaşamsal besin öğelerini diğer gıdalara oranla daha fazla miktarda içermektedir. Uzun süre canlının besin ihtiyacını tek başına karşılayabildiğinden insan beslenmesi açısından mevcut besinler arasında en önemli gıdadır. Bu nedenle beslenme uzmanları tarafından temel besin ögesi olarak kabul edilmektedir. 100'den fazla farklı makro ve mikro bileşen içeren inek sütünün yaklaşık %88'i sudan oluşmaktadır. Demir ve C vitamini dışında canlı için gerekli olan tüm besin öğelerinin yeterli ve dengeli şekilde yapısında olması sütü üstün nitelikli bir gıda yapmaktadır (Kasım ve ark., 2010). Süt ve süt ürünleri kalsiyum, fosfor, potasyum, çinko, magnezyum gibi mineraller ile, özellikle D vitamini, A vitamini, B12,

riboflavin (B2) gibi vitaminler, protein, laktoz ve su açısından önemli bir kaynaktır. Kalsiyum ve fosfor açısından zengin bir besin olması diş ve kemik gelişiminde, sinir ve kas aktivitelerinde oldukça etkilidir. Dolayısıyla başta yetişkin kadınlar, çocuklar ve gençler olmak üzere her yaş grubunda süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi gerekir (Tayar, 2010; Bilgin, 2014). Sütün ana fonksiyonu, yavrunun gelişmesini, hayatta kalabilmesini ve dış etkilere karşı kendini koruyabilmesini sağlamaktır. Süt yapı, tat, koku ve görünüş olarak kendisinden tamamen farklı ürünlerin üretimi için hammadde konumundadır. Süt ürünleri olarak adlandırılan bu grubu; peynir, yoğurt, dondurma, tereyağı, süt tozu ve krema oluşturmaktadır.

Süt proteinini temel olarak kazein ve serum proteinleri oluşturmaktadır. Süt proteininin yaklaşık %80'ini oluşturan kazein, doğada yalnızca sütte bulunan bir bileşendir. Serum proteinleri ise süt proteininin yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır. Süt proteinleri, vücut tarafından sentezlenemeyen ve besinler ile dışarıdan alınması gereken esansiyel ve esansiyel olmayan aminoasitlerin tamamını içerdiğinden yüksek biyolojik değere sahiptir (Gürsoy, 2010; Bilgin, 2014).

Sütün görünüm, tat, lezzet ve dayanıklılığında etkili olan en önemli bileşenlerden biri süt yağı veya geniş anlamda süt lipidleridir. Sütteki yağ oranı çeşitli faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir. Özellikle hayvanın ırkı, yaşı, beslenmesi, sağım şekli, hayvan sağlığı, çevresel faktörler sütteki yağ oranını değiştirmektedir (Üçüncü, 2012). Bu faktörlerden dolayı süt yağı %2,5 ile %5,5 arasında değişebilmektedir (Gürsoy, 2010). Süt yağı sütün fiziksel ve duyuşal özelliklerini belirlemekle birlikte süt ve süt ürünlerinin fiyatlandırılmasında ekonomik bir değere sahiptir. Süt yağının %97-98'i süt serumunda emülsiyon halde bulunan yağ kürecikleri içindeki trigliseridlerden oluşur. Elzem yağ asitlerini yapısında bulundurması, kolay sindirilebilmesi, yağda eriyen vitaminler (A, D, E, K) için kaynak oluşturması ve enerji sağlaması beslenme fizyolojisi açısından önemlidir. %3 yağlı bir litre içme sütünün enerji değeri yaklaşık 615 kcal olmakla birlikte bu değer sütün bileşimine göre değişebilmektedir (Miller ve ark, 2000; Kan, 2015).

Sağlıklı süt memeden çıktığında hafif asidik reaksiyon göstermektedir ve bu asitliğe doğal asitlik denilmektedir. Sütün doğal asitliği bileşimindeki kazein, fosfat ve sitratlar, albumin, globulin ve karbondioksitten kaynaklanmaktadır. Ayrıca doğal asitlik; hayvanın geçirdiği hastalıklar, somatik hücre sayısı, laktasyon dönemi, hayvanın yaşı, ırkı ve türüne bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Asitlik derecesi sütün sağımdan işleneceği zamana kadar geçen sürede uygun koşullarda muhafaza edilip edilemediğinin bir ölçütü ve kalite kriteri olarak kabul edilmektedir (Şahin ve ark., 2014). Asitlik değeri inek sütünde ortalama %0,135- 0,2 arasındadır (Anonim, 2000). Süt içerdiği makro ve mikro bileşenlerinin, mikroorganizmaların gelişimine uygun bir ortam oluşturmasından dolayı hızlı bozulabilen bir gıdadır. Depolama sırasında süte bulaşan mikroorganizmaların hızlı bir şekilde çoğalması, uygun olmayan sağım koşulları ve özellikle laktozu fermente eden laktik asit bakterilerinin etkinlikleri sonucunda (laktik asit ve enerji oluşumu) süt doğal asitliğini koruyamamaktadır. Asitliğin gelişmesiyle birlikte önemli kalite kayıpları ortaya çıkmaktadır (Diler ve Baran, 2014). Asitliği gelişen sütün sıcaklığa karşı dayanıklılığı azalmaktadır. Bu durumda sütte kendiliğinden bir pıhtılaşma görülebildiğinden sütün ürüne işlenmesi zorlaşmakta ve tat kusurları ortaya çıkmaktadır (Üçüncü, 2012).

Toplumların yaşam biçimleri, gelenek ve göreneklere tükettikleri süt çeşidini belirlemektedir. Alındığı canlıya göre sütün bileşimi farklılıklar göstermektedir. İnek, koyun, keçi ve manda sütleri toplumsal yapıya göre farklı miktarlarda tüketilmekle birlikte, dünya üzerinde en yaygın süt veren sağım hayvanı inektir. Başka bir canlı adı belirtilmediği takdirde, süt teknolojisinde süt denildiğinde başta içme sütü olarak kullanılan ve birçok ürün için hammadde konumunda olan inek sütü anlaşılmaktadır (Besler ve Ünal, 2008; Üçüncü, 2012). Çiğ sütün sınıf özellikleri (1. ve 2. sınıf) duyuşal özelliklere, kir, yağ ve yağsız kuru madde miktarına bağlı olarak belirlenmektedir. Hammadde konumunda olan sütün kendine has tat, koku, renk, görünüş ve kıvam gibi duyuşal (organoleptik) özellikleri son ürün kalitesini etkilemektedir (Besler ve Ünal, 2008).

Kuru madde, yağ, protein, mineral madde- kül içeriğindeki değişkenler çiğ sütlerin tür özelliklerini belirlemektedir. Farklı türlere ait sütlerin ana besin öğelerinin ortalama değerleri Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. Farklı tür sütlerin ortalama bileşimleri (%) (Gürsoy, 2010; Hazer, 2011)

Süt Türü	Kuru madde	Süt Yağı	Protein	Laktoz	Kül
İnsan	12,4	3,8	1,0	7,0	0,2
İnek	12,6	3,7	3,4	4,7	0,7
Manda	17,2	7,4	3,5	5,4	0,8
Koyun	19,3	7,4	5,5	4,8	1,0
Keçi	13,2	4,5	3,2	4,1	0,8
Kısrak	11,2	1,9	2,5	6,2	0,5
Deve	13,6	4,5	3,6	5,0	0,7
Fil	23,4	14,3	4,9	3,4	0,8
Eşek	12,0	1,8	2,5	6,1	0,5
Köpek	24,9	10,5	12,2	1,3	0,9
Ada Tavşanı	30,6	10,5	15,5	2,0	2,6
Kedi	17,9	3,3	9,1	4,9	0,6
Fare	30,9	14,8	11,8	2,8	1,5
Domuz	20,5	8,8	7,3	3,3	1,1
Ren Geyiği	33,3	16,9	11,5	2,8	1,4
Balina	37,5	22,0	12,0	1,8	1,7

Süt, her zaman aynı nitelikte salgılanan bir gıda olmadığından kesin bileşimini vermek oldukça zordur. Çeşitli etkenler sütün miktarını, kimyasal ve mikrobiyolojik bileşimini önemli ölçüde etkilemektedir. Uygun olmayan sağım ve depolama koşulları, alet ve ekipman temizliğinin ve soğutma işleminin yetersiz olması, uygulanan teknolojik işlemler, tedavi amaçlı kullanılan ilaçlar (antibiyotik vb.), tarımsal ilaç kalıntıları (pestisit, herbisit vb.) sütte kısa sürede mikrobiyolojik değişikliklere sebep olmakta ve sütün kimyasal bileşimini değiştirmektedir. Özellikle bilinçsiz kullanılan antibiyotik; peynir, yoğurt gibi fermente süt ürünlerinde laktik asit bakterilerinin aktivitelerini durdurmaktadır. Dolayısıyla istenen randıman sağlanamamakta ve ürün kaybı meydana gelmektedir (Özcan, 2006). Hayvanın ırkı, yaşı, kalıtım ve yetiştirme, mevsimler, laktasyon periyodu, hareket, sağım süresi ve

sayısı, yem içeriği, mastitis hastalığı sütün fiziksel ve kimyasal özelliğini belirleyen en önemli unsurlardır (Üçüncü, 2012; Yang ve ark., 2013).

2.2 Sütün Mikroflorası ve Kontaminasyon Nedenleri

Çiğ sütün çeşidi, kimyasal bileşimi, fiziksel, duyuşal ve biyolojik özellikleri son ürünün kalitesi açısından büyük önem taşımaktadır. İdeal bileşimde ve yüksek besleyici özellikte olan süt, patojen ve bozulma etmeni bakterilerin gelişmesi ve çoğalması için uygun ortam oluşturması nedeniyle kontaminasyona açık bir gıdadır (İşleyici ve ark., 2015). Özellikle patojen mikroorganizmaların faaliyetleri sonucu kalite kusurları ortaya çıkmakta ve bazı durumlarda enfeksiyonlara maruz kalılabilmektedir (Beyhan ve ark., 2008).

Çiğ sütteki toplam canlı bakteri sayısındaki artış, çeşitli faktörlerin etkisiyle önemli ölçüde değişmektedir. Sağım hijyeni ve yöntemi, sağım sayısı, barınak koşulları ve zemin temizliği, hayvanın sağlık durumu, meme başının açık yapıda olması, meme lobunun içi (meme lobu enfeksiyonu), alet ve ekipman temizliği, sağım sonrası soğutma işleminin zamanında ve yeteri kadar (+4°C) yapılmaması sütte bakteriyel bulaşmaya neden olmaktadır. Soğutma işleminin doğrudan mikroorganizma sayısını etkilemekle birlikte, işlemler sırasında süte giren bakterilerin üreme hızını yavaşlatarak mevcut sayıyı değiştirmektedir (Acar ve ark., 2012). Mikroorganizma çeşitleri ve aktiviteleri toplam canlı bakterilerin miktarını belirlemektedir (Erdem ve Atasever, 2004; Mundan ve ark., 2015).

Somatik hücre, kanda bulunan akyuvarların yaralanma veya hastalık durumunda süte geçmesiyle ve sağlıklı olmayan memenin salgı dokusundan salınan epitelyum hücrelerinin birleşimiyle oluşmaktadır (Harmon, 1994). Somatik hücre sayısının (SHS) artması süt verimini ve kalitesini olumsuz yönde etkilediğinden ekonomik kayıplar meydana gelmektedir (Şahin ve Kaşıkçı, 2014). SHS ve meme sağlığı süt kalitesini belirlemede kullanılan bir kriter olduğundan, Avrupa Birliği standartlarına göre SHS'nın 2×10^5 hücre/ml'in üzerinde olması mastitis hastalığının göstergesi kabul edilmiştir. Avrupa Birliği kendi pazarına sunulacak çiğ sütte; SHS, bakteri

sayısı ve yağ oranı ile ilgili sınır değerleri belirleyerek bu kriterlere uymayan sütün tüketime sunulmasını yasaklamıştır. Antibiyotik kalıntısı bulunan çiğ sütün tüketime sunulmasını tamamen durdurmuştur (Eryılmaz ve ark., 2012; Şahin ve Kaşıkçı, 2014). Bu kriterler gelişmiş ülkelerde sütün fiyatını belirlemede ve kabulünde, üreticiye prim sağlamasında etkili bir faktördür (Shook, 1989; Lievaart ve ark., 2007). Yapılan çalışmalarda somatik hücre sayısındaki artışın en önemli nedeninin mastitis hastalığından kaynaklandığı tespit edilmiştir. Dolayısı ile günümüzde, SHS sütün endüstrisinde mastitisin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Mundan ve ark., 2015; Önal ve Özder, 2007; Patır ve ark., 2010). Çiğ sütteki somatik hücre sayısının fazla olması, işletmelerde meme sağlığını korumak için kullanılan yöntemlerin ve alınan tedbirlerin yeterli olmadığına göstergesidir (Şahin ve Kaşıkçı, 2015). Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği'ne (2000/6) göre, çiğ sütün (30°C'de) ml'sinde 10^5 hücre/ml seviyesinin altında toplam canlı bakteri sayısının ve 5×10^5 hücre/ml seviyesinin altında somatik hücre sayısının bulunması zorunlu kılınmıştır (Anonim, 2000). Avrupa Birliği Komisyonu 1662/2006 nolu tebliğine göre de inek sütündeki somatik hücre sayısının 4×10^5 hücre/ml den, toplam bakteri sayısının 10^5 hücre/ml seviyesinden az olması gerektiğini kabul görmüştür (Mundan ve ark., 2015; Kaygısız ve Karnak, 2012).

Mastitis; *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* gibi bakterilerin etkisiyle oluşan, sütte somatik hücre sayısının artışına ve verim kaybına neden olan, sütün kalitesini olumsuz yönde etkileyen, sütün sığırları işletmelerinde en yaygın olarak görülen iltihaplı bir meme hastalığıdır (Jeffrey ve Wilson, 1987; Bülbül ve Yılmaz, 2004; Kaygısız ve Karnak, 2012).

Somatik hücre ve mastitisin yanı sıra, saprofit ve patojen bakteriler ve gösterdikleri aktiviteler çiğ sütün biyolojik kalitesini etkilemektedir. İnsan sağlığı açısından saprofit bakteriler birinci derece etkili değildir. Buna rağmen sütün teknolojisinde önemli kalite göstergesi kabul edilmektedir. Karbonhidratları parçalayan bakteriler (laktokoklar ve laktobasiller), proteinleri parçalayan bakteriler (*Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* türleri), lipidleri parçalayan bakteriler (*Pseudomonas*,

Micrococcus, *Aeromonas* ve *Corynebacteria* türleri) saprofit bakterilere örnek olarak verilmektedir (Kesenkaş, 2007).

Süt; dışkı ve hayvan derisi, koliformlar, *Bacillus*, *Clostridium*, *Salmonella* ile; topraktan *Streptomyces*, sporlu bakteriler, küf sporları ile; yataklık ve yemlerden *Lactobacillus* türleri, *Clostridium butyricum* ve *Clostridium tyrobutyricum* (slaj kökenli) ile; sağım ekipmanları ve sütün depolandığı kaplardan, *Micrococcus* ve *Lactobacillus* türleri, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* türleri, *Acinobacter* ve maya türleri ile; personel kaynaklı olarak *Staphylococcus* türleri, solunum ve fekal kontaminantlar yoluyla kontamine olabilmektedir. Kontaminasyon kaynakları arasında ayrıca, hava, su, böcekler, kemirgenler yataklıklar, hijyenik olmayan koşullar yer almaktadır (Hazer, 2011).

Sütte bulunan halk sağlığı açısından en tehlikeli ve hastalık etmeni olan patojen bakteriler *Brucella* spp., *Listeria monocytogenes*, Enteropatojenik *E.coli*, *Campylobacter jejuni*, *Coxiella burnetti*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* olarak belirtilmiştir (Zeighami ve ark., 2015).

2.3 Mikotoksinler ve Mikotoksikozis

Gıdalar gerekli tedbirler alınmadığı takdirde tüketime sunuluncaya kadar özellikle çevresel faktörlerin etkisiyle ve farklı yollarla kontaminasyona maruz kalmaktadır. Bunun doğal bir sonucu olarak da tat, koku, görünüş, kalite ve mikrobiyolojik yapısını kısa sürede olumsuz yönde etkilenerek bozulmalarına neden olmaktadır. Dolayısı ile ekonomik kayıplar meydana gelmekte ve kontamine olmuş gıdaların tüketimi insan ve hayvan sağlığı üzerinde ciddi boyutta toksik etkilere neden olmaktadır. Bu durum gıda katkı maddeleri ve zirai ilaç kalıntılarında daha tehlikelidir. (Bakırcı, 1995; Basmacıoğlu ve Ergül, 2003; Basu ve ark., 2016). Geçmişten günümüze kadar bilimde, endüstride ve teknolojiye küflerden yararlanılmıştır. Bununla birlikte bazı toksijenik küflerin insanlar, hayvanlar ve bitkiler üzerinde potansiyel zararı olduğu bilinmektedir. Küfler, gıdalarda başlıca

bozulmaya neden olan, doğada yaygın olarak bulunan, heteretrof, çevresel faktörlere dirençli, çok hücreli, filamentli (uzantılı), aerobik organizmalardır (Hussein ve Brasel, 2001; Lanyasunya ve ark., 2005; Doğan, 2012; Ashiq ve ark., 2014; Nguyen ve ark., 2017).

Küflerin metabolik aktiviteleri sonucunda birincil ve ikincil metabolit ürünler oluşmaktadır. Birincil metabolitler, yağ asitleri, steroller, proteinler, aromatik aminoasitler olup organizmanın gelişmesi ve üremesinde doğrudan ihtiyaç duyduğu bileşenlerdir. Genel anlamda ‘mikotoksin’ olarak adlandırılan düşük molekül ağırlığındaki ikincil metabolitlerin organizma gelişimi ve büyümesi üzerinde biyokimyasal anlam taşımadıkları bilinmektedir (Hussein ve Brasel, 2001; Patriarca ve Pinto, 2017). Dünya çapında yaygın olarak tüketilen pirinç, mısır ve buğday gibi temel gıdalarda ve yemlerde oluşmaları nedeniyle sadece gelişmekte olan ülkelerde değil, tüm dünyada önemli bir sorun olarak gösterilmektedir (Zain, 2011; Marroquín-Cardona ve ark., 2014).

Mikotoksin denilen eksojen metabolitler, Yunanca küf anlamına gelen *mykes* ve zehir anlamına gelen *toxicum* kelimelerinin birleştirilmesiyle elde edilmiştir (Albay ve Şimşek, 2011; Eroğlu, 2011).

İnsan ve hayvan tüketimine yönelik tarımsal ürünler mikotoksin adı verilen ikincil küf metabolitleri tarafından kontamine olabilirler. Mikotoksinler, özellikle sıcaklık ve rutubetin uygun olduğu durumlarda filamentli (uzantılı) ve çeşitli küf türleri tarafından sentezlenen, insanlar, hayvanlar ve bitkiler üzerinde olumsuz etkiler yaratarak hastalıklara, kalite ve ekonomik kayıplara neden olan, ikincil (sekonder) metabolizma ürünleridir. Genel görüş birliği ile bu terim gıda ürünleri ve hayvan yemi ile ilişkilendirilmiş toksik etkili küfler için kullanılmaktadır. Bitkiler için toksik küf metabolitleri bitki patolojileri tarafından fitotoksin olarak adlandırılmıştır (Kök, 2006; Zain, 2011; Edite Bezerra da Rocha ve ark, 2014).

Toksikojenik küflerin bir veya birden fazla toksik sekonder metabolit ürettiği bilinmektedir. Bilinen tüm küfler ve ikincil metabolitleri toksik değildir (Hussein ve

Brasel, 2001). Doğada 350-400 civarında küf tarafından 300 çeşitten fazla ikincil metabolitin toksik etkisinin varlığı bilinmekte ve meydana gelen mikotoksin konsantrasyonlarının ise, ürünün yapısına, çevre şartlarına, ortamdaki küf çeşidine bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bunların ise 20-25 tanesinin doğada yaygın olarak bulunduğu, insanlar ve hayvanlar üzerinde toksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) tarafından 1985 yılında yıllık üretilen bitkilerin ve tarım ürünlerinin yaklaşık %25'inin mikotoksinlerle kontamine olduğu, belirtilmiştir. Gıda ve yemlerde meydana gelen yıllık ekonomik kayıplar konunun ciddiyeti göstermektedir (Basmacıoğlu ve Ergül, 2003; Özkaya ve Temiz, 2003; Eroğlu, 2011; Sanchis ve ark., 2013; Omak, 2016).

En çok dikkat çeken mikotoksinler; başlıca *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Alternaria* türleri ile pek çok bitki patojeni ve gıdalarda bozulmaya neden olan küfler tarafından üretilir. Mikotoksinler çeşitli kimyasal yapıya sahip, doğal toksik sekonder metabolitlerdir (Tunail, 2000; Ashiq ve ark., 2014; Türköz Bakırcı, 2014). Doğal oluşumları nedeni ile kontaminasyonun tam olarak engellenmesi mümkün değildir (Anfossi ve ark., 2016). Oluşum ve gelişimleri göz önüne alındığında; depo küfleri olarak bilinen *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi küfler depolama aşamasında, bitki patojenleri- tarla küfleri olarak bilinen *Fusarium* ve *Alternaria* cinsi küfler hasat öncesi evrede kontaminasyona neden olmaktadır (Patriarca ve Pinto, 2017).

Belirli küf cinsleri tarafından sentezlenen ikincil toksik bileşiklerin oluşumunda bazı çevresel ve fiziksel etkenler ön plandadır. Uygun olmayan hasat, nakliye ve depolama işlemleri, yeterli sıcaklık ve oksijen, ortam nemi, küf sporlarının mevcudiyeti mikotoksin oluşumunu hızlandırmaktadır (Anagnostopoulos ve ark., 2014).

Üzerinde en fazla durulan ve çalışma yapılan, kontamine olmuş gıda ürünlerinde oldukça fazla karşılaşılan, tarımsal-ekonomik ve sağlık açısından riskli mikotoksin grupları; aflatoksinler (AF), okratoksin A (OTA), fumonisinler, trikotesenler (deoksinivalenol ve T-2 toksin) zearalenon (ZEN) ve patulindir (Kosicki ve ark., 2016; Selvaraj ve ark., 2015; Anfossi ve ark., 2016; Basu ve ark., 2016).

Aflatoksinler süt teknolojisi açısından en önemli mikotoksin grubunu oluşturmaktadır. Gıdalarda bulunan mikotoksinlerin çok düşük konsantrasyonları (mg/L ve µg/L) bile günümüzde tespit edilebilmektedir. Bu toksinleri içeren gıdaların tüketilmesi ile sağlık üzerinde olumsuz ve güçlü toksik etkileri bulunduğu bilinmektedir. İnsanlar ve hayvanlar tarafından mikotoksinler ile kontamine olan gıda ve yemlerin tüketimi sonucu ortaya çıkan hastalıklara ‘mikotoksikozis’ adı verilmektedir. Laboratuvar hayvanları üzerinde yapılan araştırmalar sonucu bilinen farklı mikotoksinler başlıca; akut, kronik, kanserojenik (karsinojenik), mutajenik, teratojenik (embriyonik hasarlar), hemoraljik (doku ve organlarda kanama), dermatitik (deri hastalıkları), hepatoksik (karaciğer sorunları), nefrotoksik (böbrek sistemi sorunları), immunsupresif (bağışıklık sistemi sorunları) hastalıklara neden olabilmektedir. Bu durum ileri aşamalarda ölümle sonuçlanabilmektedir (Basmacıoğlu ve Ergül, 2003; Bakırcı, 1999; Zain,2011; Bilgin, 2014; Türköz Bakırcı, 2014; Benkerroum, 2016).

Ortaya çıkan bu hastalıklar kişinin mikotoksine maruz kalma dozuna ve süresine, mikotoksin çeşidine, vücut direncine, yaşa, cinsiyete vb. faktörlere bağlı olarak farklılık göstermektedir (Hussein ve Brasel, 2001; Doğan, 2012).

Mikotoksikozis olarak nitelendirilen bu hastalıklar bulaşıcı değildir. Tedavi aşaması oldukça zordur. İlaç ve antibiyotiklerin çoğu zaman etkisi yoktur. Salgınlar genellikle belli gıda maddeleriyle ilişkilendirilmektedir. şüpheli gıdalarda yapılan incelemelerde genellikle kf kontaminasyonu tespit edilmektedir (Sanchis ve ark., 2013).

Mikotoksinlerin, birçok hammadde, tarım ürünleri, yem ve gıdalarda yaygın olarak bulunması, hayvancılık ve bitkisel tarım üretimini azaltması, tarım ticaretini ve ihracatını engellemesi, insan ve hayvanlarda çeşitli sağlık sorunlarına neden olması ve ölümcül risk taşıması dünya çapında endişe uyandıran en önemli konulardan biridir (Rocha ve ark., 2014).

Mikotoksinlerin tarım ürünlerinde bulunması; toksin üreten küflerin etkileşimi, ürünün kimyasal yapısı ve duyarlılığı, ürün yetiştirilme evresi, çevresel ve ekolojik koşullar, hasat öncesi ve sonrasındaki işlemler, depolama ortamı ve işleme prosesi ile ilişkilendirilmiştir. Kimyasal maddelere ve ısıya karşı dirençli olduklarından işlenmiş gıdalarda da bulunabilmektedirler (Anfossi ve ark., 2016; Patriarca ve Pinto, 2017). Mikotoksinler besin zincirinde bulunabildikleri gibi farklı doku ve organlarda da birikebilirler. Hayvansal ürünler içerisinde en fazla risk taşıyan ürünler süt, süt tozu, peynir, et ve yumurtadır (Sanchis ve ark., 2013). Mikotoksinler 2 farklı yolla insan ve hayvanların besin zincirine girmektedir. Birincisi toksikojen küfler ile kontamine olmuş gıda ve yem maddelerinde mikotoksin oluşması ve ürünün doğrudan vücuda alınması ile (tahıllar, mısır, meyveler vb.) gerçekleşmektedir. Diğer yol, kontamine olmuş yemle beslenen hayvanlardan elde edilen ürünlerin (süt, yumurta vb.) tüketimi ile dolaylı olarak meydana gelmektedir. Hammadde de mevcut olan küf proses sürecinde ortadan kaldırılmış olsa bile mikotoksin nihai üründe kalmaktadır (Rocha ve ark., 2014; Penas ve ark., 2015).

Toksik etki gösteren mikotoksinlerin çoğu canlı vücudunda veya büyük popülasyonlarda karşılaşılan zehirlenme ve ölümcül vakalar sonucu tespit edilmiştir (Papp ve ark., 2002).

Zehirlenmelere yol açan ve bilinen ilk mikotoksikozis olayı Avrupa'da Orta Çağ'da *Claviceps purpurea* toksinleri ile enfekte olan çavdar ve diğer tahıl tanelerinden yapılan ekmeklerin tüketilmesi sonucu görülen 'ergotizm'dir. Aziz Antonius humması veya Kutsal Ateş olarak nitelendirilen ergotizm, *Claviceps purpurea*'nın toksini ergot alkaloidinden kaynaklanan mikotoksikozistir. Vücutta karıncalanma hissi ve uyuşma semptomları gösteren sinir hastalığı olarak literatüre geçmiştir. Hastalıklar binlerce insanın ölümüne sebep olmuştur. 1925-1978 yılları arasında ABD'de, İngiltere'de, Rusya'da ve Etiyopya'da görülmüştür (Bakırcı; 1995,1999; Kök, 2006; Kantdemir, 2007; Doğan, 2012).

Tarihte diğer önemli mikotoksikozis olayı Rusya'da ikinci dünya savaşı esnasında yaşanmıştır. Uygun olmayan şartlarda depolanan ve mikotoksinlerle kontamine olan

tahıllardan elde edilen besinlerin tüketilmesi toplu ölümlere neden olmuştur (Papp ve ark, 2002).

Japonya'da *Penicillium* türlerinin sarı pirinç üzerinde toksik etki oluşturması sonucu insanlarda zehirlenmeler görülmüştür. Birçok ülkenin İkinci Dünya Savaşı'ndan sonra Japonya'dan pirinç ithal etmesi ile zehirlenme vakaları artmıştır (Tunail, 2000; Özbek, 2006).

İkinci Dünya Savaşı yıllarında (1942-1944), Rusya'nın Orenburg bölgesinde halk tarafından kontamine olan tahılların tüketimi sonucu meydana gelen mikotoksikozis olayında binlerce kişi ölmüştür. Bu hastalık, beslenmeye bağlı toksik etki ile kanda lökosit sayısının düşmesi sonucu oluşan lösemi anlamına gelen 'Alimentary Toxic Aleukia' olarak isimlendirilmiştir. Bu vakaya, savaş nedeniyle tarlada kışlatılan, uygun şartlarda depolanamayan tahılların üzerinde gelişen özellikle de *Fusarium* türlerin salgıladığı toksinlerin neden olduğu belirlenmiştir. Hastalık belirtileri; deri hasarı, hemoraji, kemik iliği harabiyeti ve lökopeni olarak gözlemlenmiş ve bazı bölgelerin %60'a yakın kısmı hastalıktan etkilenmiştir (Tunail, 2000; Papp ve ark., 2002; Kantdemir, 2007).

Aflatoksinlerin tespit edilmesi ile mikotoksinlerin toksik etkileri anlaşılmış ve çalışmalar başlatılmıştır. 1960 yılında İngiltere'de 100.000'den fazla kanatlının (hindi, tavuk, ördek) ve ABD' de 1 000 000 alabalığın (Forelle) ani ölümü endişe ve merak yaratmış, başlangıçta nedeni tam olarak bilinmeyen bu hastalığa 'Hindi X Hastalığı (turkey X diseases)' denilmiştir. Yapılan çalışmalar, Brezilya'dan getirilen küflü yer fıstığı küspelerinin hayvanlara verilen yemle karıştırılmasıyla hastalık belirtilerinin (iştahsızlık, kanatlarda zayıflık, uyuşukluk, karaciğer nekrozu) ve toplu ölümlerin meydana geldiğini göstermiştir. Ortaya çıkan mikotoksikozis olayına, yemlerden izole edilen *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'un salgıladığı aflatoksin olarak adlandırılan toksik metabolitin neden olduğu belirtilmiştir. Bilim insanları bu konuya duyarlılık göstererek, diğer bilinmeyen küf metabolitlerinin ölümcül olabileceği ihtimali üzerinde durmuşlardır. 1960'lı yıllar bilimsel açıdan dönüm noktası olmuştur. Yaklaşık 50 yıldır toksik mikotoksinler ve metabolitleri

üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır (Hussain ve Brasel, 2001; Papp ve ark., 2002; Kök, 2006; Kantdemir, 2007; Zain, 2011; Patriarca ve Pinto, 2017).

Ülkemiz 1967 yılında aflatoksin sorunuyla karşılaşmıştır. Kanada'ya ihraç edilen yaklaşık 10 tonluk iç fındıkta aflatoksin tehlikesi tespit edilmiş ve iadesi yapılmıştır. 1971 yılında Amerika Birleşik Devletleri'ne ihraç edilen Antep fıstığının ve 1973 yılında Danimarka'ya ihraç edilen kuru incirlerin tolere edilemeyecek konsantrasyonlarda aflatoksin içerdiği tespit edilmiş ve iadesi gerçekleştirilmiştir. Bu durum ciddi boyutta ihracat sorunlarına neden olmuş ve mikotoksinlerin ekonomik kayıplar meydana getirdiği anlaşılmıştır (Kök, 2006; Özbek, 2006; Kantdemir, 2007; Şen ve Nas, 2010; Doğan, 2012).

2.4 Mikotoksin Oluşumuna Etki Eden Temel Faktörler

Toksik küflerin birçoğu bitkiler üzerinde patojen olarak yaşarken bir kısmı ürünlerin işlenmesi ve depolanması sırasında kontaminasyona neden olurlar. Küf gelişimi özellikle olumlu çevresel koşullara bağlı olduğundan mikotoksinlerin oluşumu coğrafi bölgeler arasında değişiklik göstermektedir (Anfossi ve ark., 2016). Küf sporları hava, toprak ve su vasıtasıyla kolayca yayılırlar. Gelişebilmeleri için ancak uygun şartların sağlanması gerekmektedir. Küfler ile kontamine olmuş gıda ve yemlerin tüketilmesi çeşitli sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Kantdemir, 2007).

Mikotoksinler, birçok hammadde ve tarım ürünlerinde çok farklı koşullar altında oluşabilen bileşiklerdir. Birçok faktörün küf aktivitesini ve mikotoksin oluşumunu etkilemesine rağmen bunlardan en önemlisi çevresel etkenlerdir. Küflerin ve toksik metabolitlerinin uzun süre besin zincirinde aktivite sürdürmeleri, çevresel faktörlere karşı direnç göstermeleriyle ilişkilendirilmiştir (Kosicki ve ark., 2016; Basu ve ark., 2016).

Küflerin gelişebilmesi ve ürettikleri toksik metabolitlerin konsantrasyonları öncelikle küf cinsine, tahıl veya bitki dokusunun fiziksel bütünlüğüne bağlı olarak farklılık

göstermektedir (Patriarca ve Pinto, 2017). Genel olarak, ortam neminin %50-60, gıda neminin %12-15, gıda su aktivitesinin (aw) 0,70 ve üzeri, ortam ısısının optimum 22-32°C, oksijen miktarının %10-20, pH'nın optimum 5-6 ve 2-4 gün gibi yeterli sürenin bulunduğu koşullarda küflerin gelişim ve üremeleri hızlıdır. Küflerin gelişimi için potasyum, fosfor, karbon ve azotun gerekli olduğu bilinmektedir (Lanyasunya ve ark., 2005; Özbek, 2006; Hazer, 2011; Doğan, 2012).

Bilimsel araştırmalar tarım ürünlerine uygulanan kurutma işleminin küf gelişimini engellediği, ürünlerin daha uzun süre bozulmadan muhafaza edildiğini göstermiştir. Üründe bulunan nem miktarı ile küflerin gelişimi arasında doğru orantı vardır. Başka bir ifadeyle, su aktivitesi düşük olan gıdalarda küf gelişimi ve toksin oluşumu engellenebilmektedir (Tunail, 2000; Kantdemir, 2007).

Gıda ve yem maddesinin bileşimi ve yapısı da küf gelişimini etkileyen önemli faktörlerden biridir. Özellikle mısır, buğday, fındık, pirinç gibi karbonhidrat ve yağ açısından zengin ürünlerde gelişimleri daha hızlıdır. Genellikle hasat sonrası kabuklu, taneli yem ve tahılların yüzeyinde oluşan mekanik hasarlar, bitki üzerindeki böcek hasarları, ezilmeler, kırılmalar ve çatlaklıklar ürün temas yüzeyini artırdığından küf gelişimi olumlu yönde etkilenmektedir (Agag, 2004; Kantdemir, 2007; Doğan, 2012).

2.5 Başlıca Mikotoksinler

Tek başlarına gıda kaynaklı patojen olmayan küfler, gelişebilecekleri uygun ortam koşullarında doğal toksik bileşenler olan mikotoksin üretirler. Tarım ürünlerinde, yem ve gıda maddelerinde yaygın olarak bulunan, insan ve hayvan sağlığı üzerinde kanserojenik, teratojenik, mutajenik, akut ve kronik etkileri olan mikotoksinler son yıllarda kapsamlı olarak incelenmiştir (Benkerroum, 2016). Dünya çapında, gelir farkı gözetmeksizin toplumların en çok tükettiği temel gıda maddelerinin yanı sıra birçok besin kaynağı mikotoksinler ile kontamine olmaktadır. Bu toksik bileşenlerin bir veya daha fazlasının kontamine ettiği gıdalara insan ve hayvanların maruz kalması gün geçtikçe artmaktadır. Bunun yanı sıra, mikotoksinlerin birçok ürünü

etkilemesi ülke ekonomisini olumsuz etkileyerek uluslararası ticareti engellemektedir (Kosicki ve ark., 2016; Gelderblom ve ark., 2017).

IARC kaynaklarında, mikotoksinlerin üzerinde durulması gereken bir konu olduğu, gelir seviyesi düşük ve gelişmekte olan ülkeler için müdahale teknolojilerinin sürekli kullanılması gerektiği, gıda yönetmeliklerinin oluşturulması ve uygulanmasının önemi belirtilmiştir (Anonim, 2015).

Halk sağlığını tehdit eden önemli mikotoksinler 1993 yılında IARC ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından potansiyel kanserojenik etkilerine göre sınıflandırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, AFB₁'in, 'insanlar için güçlü kanserojen' (1. Grup) olduğu, AFM₁, OTA ve fumonisinlerin 'insanlar için muhtemel kanserojen' (2B Grubu) olduğu belirtilmiştir. Trikotesenler ve ZEN'un ise 'insanlar üzerinde kanserojenik etkisinin bulunmadığı' (3. Grup) belirtilmiştir (Hussein ve Brasel, 2001; Zain, 2011; Abdallah, 2016).

Çizelge 2.2. Önemli mikotoksinler, üreticileri, riskli gıdalar ve olumsuz etkileri

Mikotoksinler	Üretici Küf Türleri	Riskli Gıdalar	Olumsuz Etkileri	Kaynak
Aflatoksin	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i> <i>A. nomius</i>	Yer fıstığı, fındık, mısır tohumu, yağlı tohumlar, incir, süt ve ürünleri, baharatlar	Akut ve kronik etkiler, Karaciğerde tümör oluşumu, bağışıklık sisteminde tahribat, kanserojenik, teratojenik etkiler	Pitt, 2000
Okratoksin A	<i>A. ochraceus</i> <i>A. melleus</i> <i>Penicillium verrucosum</i>	Tahıllar, arpa, buğday, pirinç, kurutulmuş meyveler, kakao, kahve çekirdekleri baharatlar, şarap	Bağışıklık sisteminde tahribat, Tümörler Karaciğer ve böbrekte patolojik bozukluklar,	Patriarca ve Pinto, 2017
Fumonisinler	<i>Fusarium moniliforme</i> <i>F. proliferatum</i> <i>F. napiforme</i> <i>F. dlamini</i> <i>F. nygamai</i>	Mısır, tahıl ürünleri	Hayvanların sinir sisteminde tahribat, Karaciğer ve böbrekte patolojik bozukluklar	Basmacıoğlu ve Ergül, 2003; Abdallah,2016
Trikotesenler	<i>F. graminearum</i> <i>F. tricinctum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. roseum</i> <i>F. nivale</i> <i>F. sporotrichioides</i> <i>F. sambucinum</i>	Mısır, arpa, yulaf, buğday, çavdar, hayvansal besinler	Mide bulantısı, Kusma, Kilo kaybı, Ateş Sindirim sistemi sorunları	Abdallah, 2016
Zearalenon	<i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. sporotrichioides</i>	Mısır, buğday, arpa, sorgum,yulaf	Östrojenik etkiler	Zain, 2011
Patulin	<i>P. expansum</i> <i>P. patulum</i> <i>A. clavatus</i>	Elma, elma suyu ve meyve suları	Sinirsel sendromlar, Bağışıklık sistemi ve Sindirim sistemi sorunları	Penas ve ark., 2015

OTA, okratoksinlerin en toksik metabolitidir. Kararlı bileşik olduğundan gıda hazırlama prosesinde yok edilememektedir. Toksin konsantrasyonunu azaltmak için birkaç dakika boyunca 250° C üzerindeki sıcaklıklara ihtiyaç duyulmaktadır (Penas ve ark., 2015).

Fumonisinler birden fazla kimyasal çeşitliliğe sahip olmasına rağmen, grubun en toksik olan metaboliti Fumonisin B₁ (FB₁)'dir. Fumonisin üreten küfler ile aflatoksin üreten küflerin gelişim koşulları birbirine benzediğinden bu iki mikotoksin genellikle birlikte ve mısırdaki görülmektedir (Marroquín-Cardona ve ark., 2014; Patriarca ve Pinto, 2017).

Trikotesenler çok geniş bir gruptur ve A, B, C, D olmak üzere 4 tipte sınıflandırılmıştır. Şimdiye kadar keşfedilen 180'den fazla farklı kimyasal yapıda metaboliti kapsamaktadır. Deoksinivalenol (DON), T-2 ve HT-2 toksin bunların en önemlileridir (Abdallah, 2016). İnsanlar üzerinde kanserojen etki oluşturmamasının yanı sıra duyarlı hayvan türleri, başta domuzlar olmak üzere kanatlılar ve sığırlardır (Rocha ve ark., 2014; Nguyen ve ark., 2017).

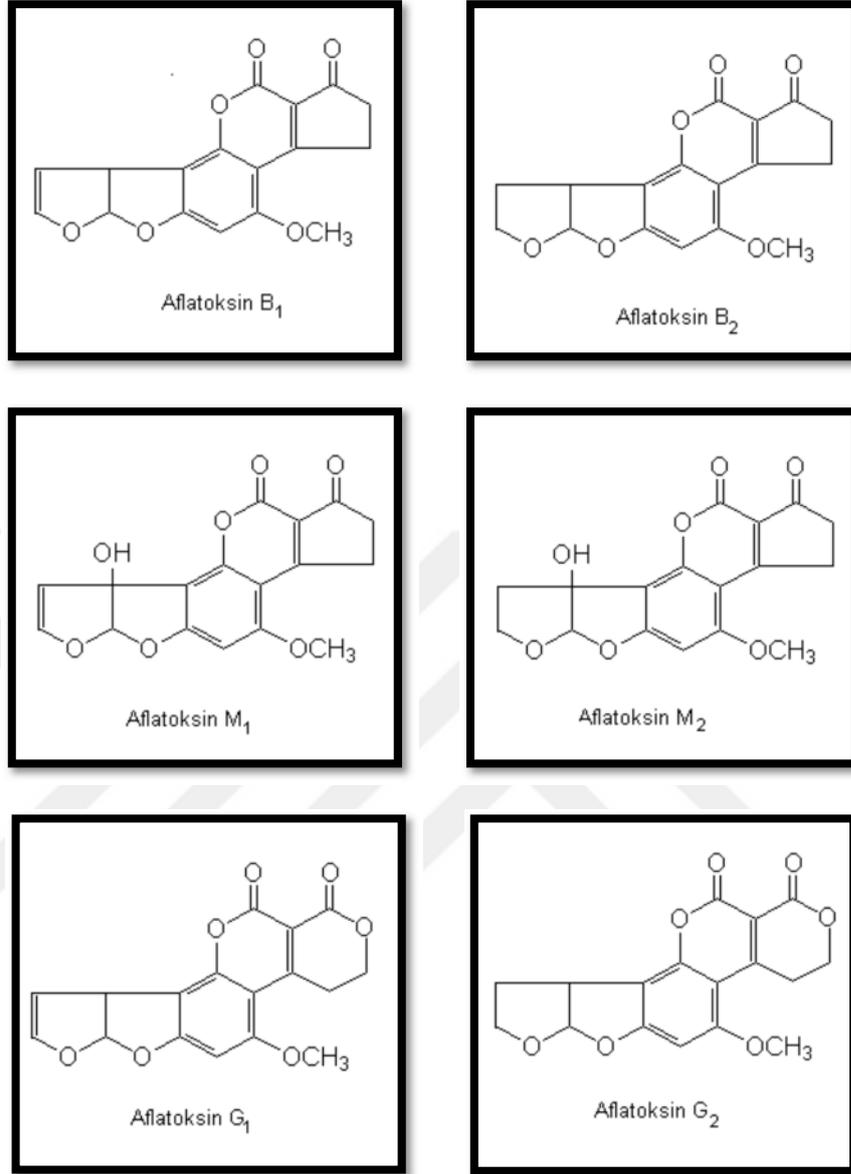
ZEN, genellikle çiftlik hayvanlarında (sığır, koyun, domuz gibi) östrojenik etki gösteren bir bileşiktir (Zain, 2011). ZEN kontaminasyonuna karşı en hassas mahsul mısırdır. ZEN kontaminasyon seviyesi ılıman hava koşullarına (opt. 25°C), hasat öncesi aşamalara ve yüksek nemli ortamlarda uygunsuz depolamayla (0,96 aw) ilişkilendirilmiştir (Patriarca ve Pinto, 2017). Isıya dayanıklı bir bileşik olan ZEN gıda işlenmesi veya pişirilmesi sırasında tahribata uğramamaktadır (Ashiq ve ark., 2014).

Patulin, özellikle *Penicillium expansum*'un aktivitesi ile çoğunlukla elmalarda görülen mikotoksin çeşididir (Patriarca ve Pinto, 2017). Bu toksik metabolit, asidik ortamlarda (elma, meyve öz suları) ve yüksek sıcaklıklarda (125°C'ye kadar) stabildir. Bazik ortamlarda kolayca parçalanırlar (Albay ve Şimşek, 2011).

2.6 Aflatoksinler ve Özellikleri

Tüketime sunulan gıda ve yemlerin çoğu besin zincirinin çeşitli aşamalarında mikotoksinlere maruz kalmaktadır. Tarladan sofraya gıda güvenliği açısından duyarlı bitkilerin ön hasat, hasat sonrası, depolama ve işleme süreçlerinde mikotoksinlere maruz kalmalarını engellemek günümüz tarımsal teknolojisi ile tam anlamıyla mümkün değildir. Dolayısı ile mikotoksinler gıda ve yemlerde kaçınılmaz kontaminant maddeler olarak kabul edilmiştir. Bu toksinler tarih boyunca insanlarda ve hayvanlarda büyük salgınlara ve ölümlere neden olmuştur. Diğer mikotoksinlere kıyasla, duyarlı insan ve hayvanlarda akut, kronik toksik etki, güçlü kanserojen etkiler göstermesi ile tanımlanan aflatoksinler bilim insanları tarafından yoğun araştırma konusu olmuştur. Yapılan sayısız çalışmalar ve sonuçları dünya genelinde endişe uyandırmıştır (Wood, 1992).

Mikotoksinler arasında en toksik ve bilinen en güçlü kanserojen etkiye sahip olan aflatoksinlerdir. Aflatoksinler farklı *Aspergillus* cinsleri olan, *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius* tarafından sentezlenen ikincil metabolitlerdir (Pitt, 2000; Selvaraj ve ark., 2015). Aflatoksin terimi ana üretici olan *Aspergillus flavus*'un ilk harfi 'A, *flavus*'un ilk üç harfi 'fla' ile zehir anlamına gelen 'toksin' kelimesinin bir araya getirilmesiyle türetilmiştir. 1960'ların başında 'turkey X' hastalık salgınının sebebi olarak tanımlanan ilk mikotoksin aflatoksinlerdir. Bu salgın, kontamine olmuş fıstık ezmesi ile beslenen binlerce hindi türünün, ördek yavrularının ve civcivlerin ölümüne neden olmuştur (Rustom, 1997; Arıkan ve Çevik, 2012). Yapılan çalışmalar sonucu aflatoksinin birbirine yakın 18 türevi tespit edilmiştir. Bunlar arasında yer alan B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ önemli aflatoksin türevleri olarak bilinmektedir. Toksinlere verilen rakamlarda 1 ile gösterilenler yüksek toksiteyi, 2 ile gösterilenler daha düşük toksiteyi ifade etmektedir. Adı geçen aflatoksinlerin kimyasal yapıları Şekil 2.1'de gösterilmiştir. İnce tabaka kromatografisinde, uzun dalga boyu UV ışığı altında mavi (blue) floresan veren bileşenler aflatoksin B₁ ve B₂, yeşil (green) floresan veren bileşenler aflatoksin G₁ ve G₂ olarak adlandırılmıştır (Hussein ve Brasel, 2001; Ergun ve ark., 2006; İpçak ve Alçıçek, 2013).



Şekil 2.1. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları (Hussein ve Brasel, 2001)

Aflatoksinler, keşiflerinden bu yana gıda kaynaklı kontaminasyonlarda en sık karşılaşılan ve bildirilen mikotoksin olmuştur. Özellikle yetersiz kurutma ve uygun olmayan depolama işlemleri sonucu aflatoksin kontaminasyonuna en çok maruz kalan gıdalar; fıstık, fındık, yağlı tohumlar, mısır, incir, süt ve ürünleri, baharatlardır (Pitt, 2000; Arıkan ve Çevik, 2012; Patriarca ve Pinto, 2017).

Aflatoksinlerin üremesi ve gelişmesi için sıcaklık ve nem en önemli etkidir. 12-40°C arasında optimum 25-35°C'de ve 0,95-0,99 arasında değişen aw'de meydana gelmektedirler (Albay ve Şimşek, 2011; Öksüztepe ve Erkan, 2016).

2.6.1 Aflatoksinlerin toksisitesi ve halk sağlığına etkileri

Aflatoksinler gıda kaynaklı zehirlenmelerde en çok karşılaşılan, canlılar üzerinde yarattığı ciddi toksik etki sebebiyle üzerinde sayısız çalışmalar yapılmış, önemli mikotoksin grubudur. Dünyanın her yerinde çiftlik hayvanları, evcil hayvanlar, bitkiler ve insanlar aflatoksinlerden etkilenmektedir. Aflatoksinlerin hayvanlar ve insanlar üzerinde yarattığı olumsuz etki bazı faktörlerin etkisi ile değişiklik göstermektedir. Bunlar; aflatoksinlerin alınma miktarı ve sıklığı, maruz kalınan süre, canlı türü, cinsiyet, yaş, vücut direncidir (Özkaya ve Temiz., 2003; Bilgin, 2014). Aflatoksinlerin toksik etkisi en güçlüden zayıfa doğru sırasıyla AFB₁>AFM₁>AFG₁>AFB₂>AFM₂>AFG₂ şeklindedir. (McLean ve Dutton, 1995; Yentür ve Er, 2012; Aliabadi ve ark., 2013; İpçak ve Alçiçek, 2013).

Aflatoksinler güçlü toksik ve kanserojen etkiye sahiptir. Aflatoksin B₁ grubun en yaygın, kanserojenik ve mutajenik özellikte olan bileşimidir. WHO ile IARC tarafından yapılan çalışma sonucunda, insanlardaki kanserojenik etkisi nedeniyle Aflatoksin B₁ yeterli kanıt elde edilmiş insan kanserojeni 1. Grup, Aflatoksin M₁, hayvanlar üzerinde yeterli kanıtlara, insanlarda yetersiz kanıtlara dayanan muhtemel insan kanserojeni olarak 2B Grubu'na dahil edilmiştir. Diğer mikotoksinlere nazaran insanlar üzerinde kanserojen etkisi kanıtlanmış tek mikotoksinin Aflatoksin B₁ olması bu grubun önemini belirtmektedir (Anonim, 1993). Aflatoksinlerin, özellikle AFB₁'in kanserojenik etkisi açısından hedef organ karaciğerdir (Akkaya, 2011; Zain, 2011).

Aflatoksinler insan ve hayvanlarda, akut ve kronik toksisitenin yanı sıra hepatokarsinojenik, genotoksik, mutajenik ve teratojenik etki göstermektedir (Karakaya ve Atasever, 2010; Türköz Bakırcı, 2014).

Belirli düzeyde insan ve hayvan vücuduna alınan aflatoksinler akut ve kronik toksisite göstermektedir. Aflatoksinlerin neden olduğu zehirlenmeler "aflatoksikozis" olarak adlandırılmaktadır (Türköz Bakırcı, 2014). Aflatoksinlere maruz kalma dozu ve süresine bağlı olarak insanlarda önemli aflatoksikozlar meydana gelmektedir.

Yüksek dozda alındıklarında akut toksisiteye, karaciğer hasarlarına, karaciğer sirozuna, karaciğer ve böbrekte tümör oluşumlarına, sarılığa, ödeme, gelişim bozukluklarına, bağışıklık sisteminin zayıflaması ve baskılanmasına, gastrointestinal kanamalara ve ölüme neden olmaktadır (Kabak ve Özbey, 2012a; Öksüztepe ve Erkan, 2016).

Aflatoksikozisin insan ve hayvanlarda gözlemlenen klinik bulguları, karaciğer fonksiyonlarının bozulması, karaciğer renginin açılması, böbrek ve bağırsakta kanamalar, iştah azalması ve ağırlık kaybı, hayvanlarda süt veriminin azalması, sinir sistemi bozuklukları, sarılık, ani kasılmalar ve ölümdür (Akkaya, 2011; Bilgin, 2014).

Tarih boyunca büyük salgınlar, toplu insan ve hayvan ölümleri aflatoksinler ile ilişkilendirilmiştir. Aflatoksikozis toplumu, sürüyü ilgilendiren tehlikeli ve yaygın sorundur (Hazer, 2011).

Aflatoksinlerin ve hepatit B'nin sinerjik etki göstermesi Afrika ve Güneydoğu Asya'nın bazı bölgelerinde ölümlere neden olmuştur. Yapılan araştırmalarda hepatit B virüsü ile enfekte olan hastalarda hepatosellüler karsinom riski arasında pozitif ilişki olduğu tespit edilmiştir (Viridis ve ark., 2008; Yentür ve Er, 2012). 1974 yılında Hindistan'da meydana gelen hepatit salgınından 400 kişinin etkilendiği ve 100 kişinin hayatını kaybettiği literatüre geçmiştir. Hayatını kaybeden insanların 15 mg kg^{-1} kadar yüksek konsantrasyonda aflatoksin ile kontamine olmuş mısır tükettikleri belirlenmiştir (Pitt, 2000). 1967 yılında Tayvan'da $200 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ konsantrasyonunda AFB₁ ile kontamine olmuş pirinç tüketen 26 kişi rahatsızlanmış ve aralarından 3 çocuk karın ağrısı, kusma, karaciğer büyümesi belirtilerinin ardından hayatını kaybetmiştir (Özkaya ve Temiz, 2003).

Asya ve Afrika'nın farklı ülkelerinde yapılan çalışmalarda; beslenme alışkanlıkları, karaciğer kanseri ve aflatoksinle kontamine olmuş gıdaların tüketim düzeyi arasında ilişki gözlenmiştir (Bilgin, 2014).

Özellikle aflatoksinler ve diğer mikotoksinlerin genel ekonomik etkileri arasında, insan ve hayvan yaşamının kaybı, sağlık, bakım ve veterinerlik bakım masraflarının artması, hayvancılık üretiminin azaltılması, kontamine olmuş yiyecek ve yemlerin imha edilmesi ve mikotoksin sorununun şiddetini azaltmak için araştırma ve uygulamalara yapılan yatırımlar yer almaktadır (Hussein ve Brasel, 2001; Zain, 2011).

Mikotoksin zehirlenmelerine karşı etkili tedavi yöntemi yoktur. Dolayısı ile sağlık açısından kontamine gıdaların tüketiminden kaçınılması ve gıda kontaminasyonuna karşı etkin önlemlerin alınması önemlidir (Yentür ve Er, 2012).

2.6.2 Süt ve süt ürünlerinde aflatoksinler

Zengin besin içeriği ve doğumdan itibaren ilk tüketilen gıda olması nedeniyle, bebekler ve çocuklar sütün en büyük tüketicileridir. Yetişkinlere göre bebekler ve küçük yaş grubu çocuklar dışarıdan gelecek tehlikelere ve toksik bileşiklere karşı savunmasızdır. Bu nedenle sütün insan sağlığına zararlı olan toksik bileşikler içermemesi oldukça önemlidir (Penas ve ark., 2015,2017).

Aflatoksinler ile kontamine olan gıdaların tüketilmesi iz miktarlarda dahi olsa metabolizmada tespit edilebilmektedir. Hayvansal ürünler içerisinde aflatoksinler ile en fazla kontamine olan grup süt ve süt ürünleridir. Birçok besin için hammadde konumunda olan sütte AFM₁ varlığı, mikotoksinlerin taşınabilir (carry over) özelliğinin göstergesidir. Aflatoksinlerin süt ve süt ürünlerinde bulunması ve insan vücuduna alınımı iki farklı şekilde gerçekleşmektedir. Birincisi, hayvanların AFB₁ ve AFB₂ içeren yemle beslenmeleri sonucu vücutlarında metabolize olan bu bileşiklerin bir kısmının süte AFM₁ ve AFM₂ olarak geçmesi ile meydana gelmektedir. Bu durum yem içerisindeki toksin konsantrasyonuna bağlı olarak hayvan sağlığını da olumsuz etkilemektedir. İkincisi ise; sütün sağımdan sonraki taşıma, depolama, işleme süreçlerinde direkt olarak aflatoksin sentezleyen küf kontaminasyona maruz kalması sonucu mikotoksin oluşması ve insanlar tarafından bu gıdaların tüketilmesi ile vücuda alınmasıdır. Süt ve ürünlerinde bulunan aflatoksin M₁ ve M₂, gıda ve

yemlerin direkt veya dolaylı olarak kontamine olduğunun göstergesidir (Tunail, 2000; Çetin, 2004; Albay ve Şimşek, 2011; Doğan, 2012; Türköz Bakırcı, 2014).

Gıda ve yem maddelerinde yaygın olarak bulunan AFB₁'e pamuk tohumu küspesi ve mısır içeren hayvan yemlerinde daha sık rastlanmaktadır (Tunail, 2000). Doğal formda canlılar üzerinde toksik etkisi olmayan ancak sindirim sistemine girdiğinde oksidatif tepkimelere bağlı olarak akut toksik, kanserojenik ve mutajenik etki gösteren aflatoksin biyotransformasyonu üzerinde detaylı çalışmalar yapılmıştır (Bilgin, 2014). AFB₁ ile kontamine olmuş yemleri tüketen süt hayvanlarında bu toksinin bir kısmı rumende parçalanarak aflatoksikole dönüşmektedir. Diğer kısım ise sindirim sisteminde emilmektedir ve karaciğerde AFB₁'in baskın metaboliti olan AFM₁ formuna dönüşmektedir (Öksüztepe ve Erkan, 2016). AFB₁'in metabolize edilmesi, karaciğer hücrelerinde bulunan mikrozomal ve sitoplazmik oksijenaz enzim sistemi ile ilişkilendirilmiştir. Kompleks yapıdaki bu enzim sistemi çeşitli hidroksillenmiş türevleri ve yüksek reaktif özelliğe sahip 8-9 epoksid metabolitin oluşmasını sağlamaktadır (Bilgin, 2014). Bu epoksid bileşiğin DNA, RNA ve protein molekülleri ile kovalent bağ kurarak AFB₁-N⁷-Guanin yapısını oluşturduğu ileri sürülmektedir. Oluşan kompleks bileşiğin canlı organizmada kanserojenik ve genotosik etki gösterdiği bildirilmiştir (Özkaya ve Temiz, 2003; Agag, 2004).

AFM₁ ve diğer ikincil metabolitler (AFP₁, AFQ₁) karaciğerde sindirilen AFB₁'in mikrozomal sitokrom P450 tarafından katalizlenmesi ile meydana gelen hidroksillenmiş son ürünüdür (Virdis ve ark., 2008; Aksoy ve ark., 2010; Şahin ve ark., 2001).

Geviş getiren hayvanlardaki rumen mikroflorası; hayvan hastalıkları, beslenme alışkanlıkları ve tüketilen yemdeki yüksek mikotoksin konsantrasyonu ile değişmekle birlikte, toksik bileşiklere karşı savunma mekanizması oluşturmaktadır. Yemle alınan mikotoksinlerin rumendeki metabolizma süreci sonunda daha az toksik etkiye sahip bileşikler meydana gelmektedir. Bazı araştırmacılar tarafından geviş getiren hayvanların diğer hayvanlara göre mikotoksinlerden daha az etkilendikleri düşünülmektedir (Penas ve ark., 2015,2017; Hussein ve Brasel, 2001).

Aflatoksin B₁ ve B₂ ile kontamine olmuş yemle beslenen çiftlik hayvanlarında bu toksinlerin karaciğerde metabolize olması sonucu oluşan aflatoksin M₁ ve M₂ süt ile birlikte salgılanmaktadır. Yalnızca sütte bulunması nedeni ile süt toksini olarak adlandırılmaktadır ve 'M' harfi ile simgelendirilmektedir (Wood, 1992; Bakırcı, 1999; Arıkan ve Çevik, 2012). AFM₁ ve AFM₂, AFB₁ ve AFB₂'nin bir adet hidroksil grubu (-OH) içeren (hidroksillenmiş) metabolitidir (Pitt, 2000).

Sütte bir miktar bulunan ve üzerinde en fazla çalışma yapılan AFM₁'in büyük miktarı idrar ve dışkı ile vücuttan atılmaktadır. Hayvanların AFB₁ ile kontamine olmuş yem tüketmesi sonucu 12-24 saat içerisinde bu metabolit sütte AFM₁ formunda tespit edilebilmektedir. Büyükbaş hayvanlarda alınan AFB₁'in AFM₁ formunda süte taşınma oranı %1-3 arasında değişmektedir. Bu yüzde değişimleri hayvan ırkına, laktasyon periyoduna, sağım zamanı ve aralığına, alınan toksik metabolitin konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir (Özdemir, 2007; Aksoy ve ark., 2010; Muhammad ve ark., 2010; Aliabadi ve ark., 2013). Kodeks Alimentarius Komisyonu kaynaklarında AFM₁'in toksik etki göstermesine rağmen kanserojenik gücünün ana molekül olan AFB₁'e göre yaklaşık 10 kat daha düşük olduğu belirtilmiştir (Anonim, 2001; Özdemir, 2007; Aslan ve ark., 2010; Kabak ve Özbey., 2012b).

AFM₁ ısıtma işlemine karşı dirençlidir, yüksek sıcaklıklarda dahi üründe stabil kalmaktadır. Dolayısı ile hammadde olan sütün işlenmesi sırasında uygulanan pastörizasyon, sterilizasyon ve fermantasyon gibi teknolojik işlemler mevcut AFM₁'i inaktif hale getirmemektedir. Sonuç olarak sadece sütün değil, son ürün olan peynir, yoğurt, tereyağı, süt tozu ve kremanın da AFM₁ konsantrasyonu açısından kontrol edilmesi gerekmektedir. Aflatoksinlerin gıda işleme proseslerinde ısıtma işlemine karşı dirençli olmaları insan ve hayvan sağlığı üzerinde tehlike oluşturmaktadır (McLean ve Dutton, 1995; Özdemir, 2007; Kamkar, 2008).

Süt ve süt ürünlerinde AFM₁ ile ilgili ülkemizde ve farklı ülkelerde yapılan bazı çalışmalar Çizelge 2.3'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.3. Ülkemizde ve farklı ülkelerde AFM₁ ile ilgili yapılan bazı çalışmalar

Örnek	Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	Tespit Aralığı (ng L ⁻¹) (Minimum - Maximum)	Ülke	Kaynak
Çiğ Süt	48	34	<5 – 817	Türkiye	Altıntaş ve Akdemir, 2004
Çiğ Süt	135	76	1 – 68	Türkiye	Arıcı ve ark., 2006
Çiğ Süt	20	20	<5 – 250	Türkiye	Kireççi ve ark., 2007
Çiğ Süt	110	93	6 – 117	Türkiye	Özdemir, 2007
Çiğ Süt	48	34	<5 – >51	İtalya	Virdis ve ark., 2008
Çiğ Süt	92	60	2 – 867	Türkiye	Aslan ve ark., 2010
Çiğ Süt	81	81	6 – 105	Türkiye	Hazer, 2011
Çiğ Süt	143	141	18 – 86	Sudan	Suliman ve Abdalla, 2013
Çiğ Süt	90	56	2 – 131	İran	Aliabadi ve ark., 2013
Çiğ Süt	100	85	<5 – >80	Türkiye	İşleyici ve ark., 2015
Çiğ Süt	20	20	20 – 90	Mısır	Abdallah, 2016
Çiğ Süt	3635	1538	<7 – 408	Makedonya	Uzunov ve ark., 2016
Çiğ Süt	1668	36	18 – 208	İtalya	Bianchi ve ark., 2016
Pastörize Süt	43	32	<20 – 260	Brezilya	Shundo ve Sabino, 2006
UHT Süt	100	67	10 – 630	Türkiye	Tekinşen ve Eken, 2008
UHT Süt	20	20	10 – 80	Türkiye	Kabak ve Var, 2008
UHT Süt	52	52	19 – 94	İran	Kamkar, 2008
UHT Süt	150	89	5 – 185	Türkiye	Atasever ve ark., 2010
UHT Süt	45	33	1 – 59	Türkiye	Aslan ve ark., 2010
UHT Süt	44	42	0,3 – 78	Türkiye	Ayyıldız, 2012
UHT Süt	40	8	<4 – 76	Türkiye	Kabak ve Özbey, 2012b
İnsan Sütü	200	21	6 – 13	Türkiye	Kuyucuoğlu, 2007
İnsan Sütü	75	75	61 – 300	Türkiye	Gürbay ve ark., 2010
İnsan Sütü	136	1	0 – 14	İran	Shokrzadeh ve ark., 2013
Süt Tozu	21	2	0 – 705	Türkiye	Deveci ve Sezgin, 2005
Yoğurt	96	18	19 – 98	Portekiz	Martins ve Martins, 2004
Yoğurt	26	26	143 – 269	Türkiye	Ayyıldız, 2012
Beyaz Peynir	50	50	30 – 1238	Türkiye	Alkan ve Gönülalan, 2006
Beyaz Peynir	20	20	<5 – 650	Türkiye	Kireççi ve ark., 2007
Beyaz Peynir	20	16	54 – 263	Türkiye	Kabak ve Var, 2008
Beyaz Peynir	193	159	52 – 860	Türkiye	Ardıç ve ark., 2009
Beyaz Peynir	150	50	52 – 182	Mısır	Amer ve İbrahim, 2010
Beyaz Peynir	30	18	52 – 25	Türkiye	Hampikyan ve ark., 2010
Kaşar Peynir	20	20	<5 – >650	Türkiye	Kireççi ve ark., 2007
Kaşar Peynir	20	10	40 – 388	Türkiye	Kabak ve Var, 2008
Kaşar Peynir	132	109	50 – 690	Türkiye	Tekinşen ve Eken, 2008
Bebek Maması	62	5	16 – 22	Türkiye	Kabak, 2012
Devam Sütü	60	23	<50 – 340	Türkiye	Kaya Tuz, 2016
Tereyağı	10	3	40 – 70	Türkiye	Kabak ve Var, 2008

Dünyanın her yerinde aflatoksinlerin risk değerlendirmesi ile ilgili yapılan birçok çalışma, bu toksik metabolitlerin insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri ve neden olduğu maruziyetin ciddiyetini belirtmek için yapılmaktadır.

2.6.3 Yasal düzenlemeler

Aflatoksinlerin insan sağlığı üzerinde kanıtlanmış yüksek toksisitesi, tüketici sağlığı ile birlikte yerli ve uluslararası ticareti de etkisi altına almaktadır. Bilinçli tarım uygulamaları, uygun depolama ve işleme koşulları gıda ve yemlerdeki mikotoksin konsantrasyonlarını yok etmemekle birlikte düşük seviyelere indirmektedir. Halk sağlığını olumsuz etkileyen bu konu üzerinde farklı ülkelerde uzun yıllar sayısız çalışmalar yapılarak izleme ve kontrol programları yürütülmüştür. Gıda ve yemlerde doğal olarak oluşan aflatoksin kontaminasyonunun kesin olarak önlenmesinin mümkün olmaması bazı düzenlemeleri beraberinde getirmiştir. Gıda güvenliği ve tüketici sağlığının korunması amacıyla birçok ülkede gıda ve hayvan yemlerinde mikotoksin maruziyetini sınırlandırmak için tolere edilebilir maksimum limitler belirlenmiştir (Arıkan ve Çevik, 2012; Anfossi ve ark., 2016). Besinlerdeki aflatoksin kontaminasyonu belirlenen yasal sınırlara göre kontrol edilmektedir (Ashiq ve ark., 2014).

Ülkemizde 28157 (3. Mükerrer) sayılı Resmi Gazetede yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde riskli gıda maddelerindeki bulaşanların maksimum limitleri belirtilmiştir (Anonim, 2011). Yönetmelik, 1881/2006/EC sayılı 'Gıdalardaki Belirli Bulaşanların Maksimum Limitlerinin Belirlenmesi' hakkında komisyon tüzüğü dikkate alınarak Avrupa Birliği'ne uyum çerçevesinde hazırlanmıştır. Ülkemizde ve Avrupa Birliği ülkelerinde çiğ süt, ısıtılmış süt ve süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt için belirlenen maksimum AFM₁ değeri 0,05 µg L⁻¹, bebek mamaları ve bebeklerin özel tıbbi amaçlı diyet gıdalarında bu değer 0,025 µg L⁻¹'dir (Anonim, 2006; Anonim, 2011).

Çizelge 2.4'de Türkiye'de riskli gıdalarda bulunmasına izin verilen aflatoksin miktarları gösterilmiştir. Buna karşın ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından

tüm sütlerde kabul edilebilir maksimum limit $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak belirlenmiştir (Anonim, 2000; Shundo ve Sabino, 2006). Mevcut olan iki farklı yasal limit; ürün çeşidinden, ülkenin ekonomik yapısından ve gelişmişlik düzeyinden etkilenmektedir (zdemir, 2007; Kamkar, 2008). Çizelge 2.5’de Türkiye’de hayvan yemlerinde bulunmasına izin verilen AFB₁ miktarının maksimum limitleri gösterilmiştir. (Anonim, 2014).



Çizelge 2.4. Türkiye’de gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum aflatoksin limitleri (Anonim, 2011)

No	Gıda Maddesi	Maksimum Limit ($\mu\text{g} / \text{kg}, \text{L}$)		
		B ₁	Toplam (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂)	M ₁
1	Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) * Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar hariç	8	15	-
2	Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12	15	-
3	Fındık ve Brezilya fındığı (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) * Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	8	15	-
4	Sert kabuklu meyveler (2 ve 3’de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8	15	-
5	Kurutulmuş meyveler (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8	10	-
6	Mısır ve pirinç (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5	10	-
7	Çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	-	-	0,050
8	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0,10	-	-
9	Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	-	-	0,025
10	Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,10	-	0,025
11	Baharatların aşağıdaki türleri için; - Kırmızıbiber (<i>Capsicum</i> spp.) (bunların kurutulmuş meyveler, tüm ve öğütülmüş hali dahil) - Karabiber (<i>Piper</i> spp.) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) - Hintceviz / Muskat (<i>Myristica fragrans</i>) - Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) - Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>) - Bunların bir veya birkaçını içeren karışım baharat	5	10	-

Çizelge 2.5. Türkiye’de hayvan yemlerinde bulunmasına izin verilen AFB₁ miktarının maksimum limitleri (Anonim, 2014)

İstenmeyen Madde	Hayvan Yemi Olarak Kullanılan Ürünler	Kabul Edilebilir Maksimum Miktar mg kg ⁻¹ (ppm) (%12 rutubet içeren yeme göre)
AFB ₁	Yem maddeleri	0,02
	Tamamlayıcı ve tam yemler; aşağıdakiler dışında:	0,01
	-Süt sığırları ve buzağılar, süt koyunları ve kuzular, süt keçileri ve oğlaklar, domuz yavruları ve genç kanatlı hayvan karma yemleri	0,005
	-Sığır (süt sığırları ve buzağılar hariç), koyun (süt koyunları ve kuzular hariç), keçi (süt keçileri ve oğlaklar hariç), domuz (domuz yavruları hariç), kanatlı (genç kanatlılar hariç) karma yemleri	0,02

Mikotoksin kontaminasyonunun engellenemediği durumlarda gıdalarda, yemlerde ve hayvan metabolizmasındaki olumsuz etkilerini ve meydana gelen maruziyeti azaltmak için yapılan çalışmalar son yıllarda artış göstermektedir. Özellikle güçlü kanserojen özelliğinden dolayı tehlike olarak görülen aflatoksinleri gıda ve yemlerden uzaklaştırmaya yönelik farklı metodlar üzerine çalışılmaktadır. Mikotoksin kontaminasyonlarının önlenmesinde kullanılan en yaygın yöntem hasat öncesinde tarımsal verimi düşürmemek için kullanılan fungusit uygulamalarıdır. Ancak kimyasal içeriğinden dolayı bu uygulama çevre kirliliğine yol açmaktadır.

Özellikle aflatoksin tahribatı için gıda ve yem maddeleri üzerinde farklı bir uygulama olan ışınlamanın kullanılabilir bir yöntem olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda gama ışının aflatoksinler üzerinde etkisiz olduğu, parçalanma için yüksek dozlarda uygulanması gereken x ışını ve elektron ışın dozunun ise ürünü kullanılamaz duruma getirdiği bildirilmiştir (Akkaya, 2011).

Yemlerin kimyasal maddeler ile muamelesi (organik çözücüler, asitler, bazlar, okside edici ve indirgeyici ajanlar, tuzlar vb.) mikotoksin kontrolünde kullanılmaktadır. Amonyak ve sodyum bisülfid kontamine olmuş yem maddelerinde maruziyeti azaltmak için en fazla tercih edilen kimyasallardır. Ancak az miktarda kullanılan

kimyasalların dahi yem içeriğini ve yapısını olumsuz etkilemesi, tat, koku, renk ve tekstür özelliğini değiştirmesi kullanımı bir dereceye kadar uygun kılmaktadır. Gıda sektöründe ise kimyasal madde kullanımdan kaynaklanan kalıntıların sağlığı olumsuz etkilemesi bu yöntemin uygulanmasını kısıtlamaktadır (Tunail, 2000; Şahin ve ark., 2001; Akkaya, 2011; Yentür ve Er, 2012; İpçak ve Alçiçek, 2013).

Kontamine olmuş tarımsal ürünlerin ve gıdaların detoksifikasyonunda kullanılan fiziksel metotlar ve kimyasal bileşenler, kalıntı problemi yaratmakta, ürün besin içeriğini değiştirmekte, sınırlı etki göstermekte, ekonomik sorunlar nedeni ile kullanımı kısıtlamaktadır (Basmacıoğlu ve Ergül, 2003).

Mikotoksinlerin biyodönüşümünü azaltan ve uygulanan stratejilerden biri de kontamine olmuş yemlerde kullanılan büyük molekül ağırlıklı bileşikler olan mikotoksin bağlayıcı ajanlardır. Bağlayıcı ajanlar, sindirim sisteminde değişikliğe uğramadan (çözülmeden) dışıyla atılmaktadır ve ekonomik kayıpları engellemektedir. Böylece mikotoksinlerin hayvan metabolizmasında toksik etki oluşturması ve hayvansal ürünlere geçmesi önlenmektedir. Tercih edilen bağlayıcı ajanlar; doğal sorbentler, bağlama potansiyeli olan metaller, killer (aktif karbonlar, sepiyolit vb.), bentonit, alüminyum silikatlar, aktif kömür, özel polimerlerdir. Ancak bu ajanların etkinliği, toksinin ve bağlayıcının kimyasal yapısına bağlı olarak değişmektedir. Kullanılan bazı toksin bağlayıcıların ağır metaller içermesi, yüksek vitamin ve mineral içeriğine sahip yemlerde bu yapıları bağlayarak yemin besin değerini azaltması, gübre ile atılımları sonucu toprak biyolojik yapısını olumsuz etkilemesi kullanımı sınırlı kılmaktadır (Hussein ve Brasel, 2001; Şahin ve ark., 2001; Akkaya, 2011).

Son zamanlarda, tüketilen yem ve gıdalarda mikotoksinlerin emiliminin, sindirim sistemdeki mikroorganizmalar tarafından azaltıp azaltılamayacağı konusu üzerine yoğunlaşmıştır. Gelişen teknoloji ile birlikte tehlikeli kimyasalların kullanımını önleyerek, gıda, yem ve besin içeriğini değiştirmeden mikotoksin maruziyetini azaltmak için yapılan günümüzdeki en etkili çalışmalar, toksik bileşikler üzerinde mikrobiyal enzimatik parçalanma temeline dayanan biyolojik yöntemlerdir.

Flavobacterium aurantiacum bakterisinden izole edilen bir enzimin ve diğer bazı mikroorganizmaların (*Corynebacterium rubrum*, *Candida lipolytica*, *Trichoderma viride*, *Neurospora spp.*, *Lactic acid bacteria*) in vitro koşullarda özellikle AFB₁ varlığını ortadan kaldırdığı veya minimuma indirdiği tespit edilmiştir. Bazı bakteri (Lactobasiller vb.) ve mayalardan (*Saccharomyces cerevisiae* vb.) üretilen yüksek besin içeriğine sahip hücre duvarları %95'e kadar aflatoksin bağlama kapasitesi göstermektedir (Basmacıoğlu ve Ergül, 2003; Akkaya, 2011; İpçak ve Alçıçek, 2013). Aflatoksin kontaminasyonunu önlemek için ileri sürülen farklı bir yaklaşım ise *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un toksijenik olmayan suşlarının kullanılarak toksik olan *Aspergillus* suşlarının üremesini engellemek yönündedir (Şahin ve ark., 2001). Akkaya (2011)'nin yaptığı çalışmada AFM₁ içeriği 0,212 µg L⁻¹ konsantrasyonunda olan süt örneğine modifiye maya hücre duvarı (*Saccharomyces cerevisiae*) içeren toksin bağlayıcıların uygulanması sonucu konsantrasyonun 0,114 µg L⁻¹'ye kadar düştüğü rapor edilmiştir.

Kabak ve Özbey (2012a)'in in vitro sindirim modeli kullanarak yaptıkları çalışmada, çeşitli gıda matrislerinde (fıstık, antepfıstığı, fındık, kuru incir, biber, buğday ve mısır) aflatoksinin biyolojik olarak erişilebilirliği araştırılmıştır. Kullanılan probiyotik bakteriler (özellikle laktik asit bakterileri ve bifidobakteriler) ile AF'lerin biyolojik olarak erişilebilirliğinin %10,5 – 35,6 düzeylerinde azaltılabileceği tespit edilmiştir.

Yapılan araştırmalarda direkt olarak sütteki AFM₁'i uzaklaştıracak veya etkisiz hale getirecek bir yöntem henüz geliştirilmemiştir (Şahin ve ark., 2001).

Bilim insanlarının ortak görüşü maruziyeti engellemek ve mikotoksinleri inaktif hale getirmek için ekonomik açıdan kullanıma uygun, son ürünün kimyasal formunu değiştirmeden ve sağlığa zarar vermeden etkili metodlar üzerine daha fazla inceleme yapılması yönündedir (Bakırcı, 1999; Yentür ve Er, 2012).

3.MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada, Çorum İli Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği aracılığıyla merkez ve çevre köylerdeki yerel üreticilerden direkt olarak temin edilen çiğ inek sütleri kullanılmıştır. Sütlerdeki AFM₁ miktarının yıllık mevsimsel olarak değişiminin gözlemlenmesi amacıyla, inek sütü örnekleri kış; ocak-şubat, ilkbahar; nisan-mayıs, yaz; temmuz-ağustos, sonbahar; eylül-ekim aylarında incelenmiştir. Her mevsimde 50 adet olmak üzere toplam 200 adet süt örneği soğuk zincir altında Hitit Üniversitesi Gıda Mühendisliği laboratuvarına getirilerek AFM₁ açısından analize tabi tutulmuştur. Her bir süt örneğine kod numarası verilmiş ve bu numaranın karşılık geldiği üretici veya çiftlik ayrıca not edilmiştir.

3.1.1 Aflatoksin M₁ standardı

Cam ampul içinde, 10 µg ml⁻¹ konsantrasyonunda, 1 ml asetonitril içinde çözündürülmüş Supelco (46019-U, Bellefonte, PA, USA) AFM₁ standart çözeltisi ticari olarak temin edilmiştir. Araştırmada 6 farklı konsantrasyonda çalışma standart çözeltisi (0,05-1µg L⁻¹) hazırlanarak (Çizelge 3.1), kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında kullanılmıştır (Şekil 3.1). AFM₁ standartları buzdolabında 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.2 AFM₁ immunoaffinite kolonu

AFM₁'e karşı spesifik antikorları içeren AFM₁TM immunoaffinity kolon (G1007, AflaM₁, Vicam MA, USA) kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

Laboratuvara getirilen süt örnekleri HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) yöntemi ile AFM₁ varlığı ve miktarı bakımından değerlendirilmiştir.

Örneklerdeki AFM₁ miktarları birimiz laboratuvarında bulunan RF-20AXL floresans dedektörlü, LC-20AD pompa sistemine ve SIL-20AHT otomatik enjeksiyon ünitesine sahip Shimadzu (Tokyo, Japonya) cihazı ile belirlenmiştir. AFM₁ analizi için kolon sıcaklığı 35°C'ye ayarlanmıştır. Kromatografi verilerinin kontrolünde ve belirlenmesinde Shimadzu LC solution yazılım programı kullanılmıştır. Kullanılan standartların kromatogramındaki piklerle, analiz edilen örneklerin kromatogramda aynı alıkonma zamanına ait pikler (retention time) vermesi durumunda AFM₁ varlığı pik alanlarına göre belirlenerek hesaplanmıştır. Kullanılan HPLC cihazı Resim 3.1'de gösterilmiştir.



Resim 3.1. AFM₁ analizinde kullanılan HPLC cihazı (Shimadzu, Tokyo, Japonya)

3.2.1 Aflatoksin M₁ ekstraksiyonu (Örnek hazırlama aşaması)

Süt örneklerinde AFM₁ miktarı TS EN ISO 14501 resmi yöntemine göre yapılmıştır (Anonim, 2002). Tek kullanımlık plastik kaplara 40 ml süt örneği alınarak 37°C'de 15 dakika su banyosunda ısıtılmıştır. Süre sonunda süt örnekleri santrifüj (Sigma 3-30K, Germany) edilmiş (4000xg, 15 dak, 37°C) ve üstteki yağ tabakası uzaklaştırılmıştır. Yağsız süt kaba filtre kağıdından (FR101050, 40x40 cm) geçirilmiştir. Kalan süzütünün tamamı AFM₁'e karşı spesifik antikor içeren AFM₁TM immunoaffinity kolondan geçirilmiştir (saniyede 1-2 damla). Bundan sonraki aşamada, Millipore Direct Q3- UV cihazından elde edilen 20 ml ultra saf su

(2x10 ml), yıkama amacıyla kolondan geçirilmiş ve kolon hava ile kurutulmuştur. Kolon içinde antikorlara tutunmuş olan AFM₁, 3 ml asetonitril (Sigma Aldrich 34851, $\geq 99,9\%$) kullanılarak toplanmıştır. Toplanan eluat, azot gazı (N₂) akımı altında (45°C'de), 0,5 ml kalana kadar buharlaştırılmıştır. Son olarak, eluat 2 ml hareketli faz (su - asetonitril, 75 + 25, v/v) ile çözündürülmüştür. Örnekler HPLC cihazına enjekte edilmeden önce, gözenek çapı 0,45 μm olan (Minisart® NY25, Sep-Pak Filter) membran filtrelerden geçirilerek 2 ml kapasiteli amber HPLC viallerine alınarak numaralandırılmıştır. Enjeksiyon aşamasına kadar vialler 4°C'de buzdolabında bekletilmiştir.

3.2.2 HPLC analizi

AFM₁ analizinde kullanılacak kromatografik koşullar aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur.

Kolon: ODS-3 (150x4,6 mm, 5 μm)

Hareketli faz: Su - asetonitril (75 + 25, v/v)

Hareketli faz akış hızı: 1 ml dak⁻¹

Basınç: Minimum 0 bar, maksimum 200 bar

Analiz süresi: 13 dak.

Alıkonma zamanı: Yaklaşık 9,3 dak.

Enjeksiyon miktarı: 100 μl

Excitation (tahrik dalga boyu): 365 nm

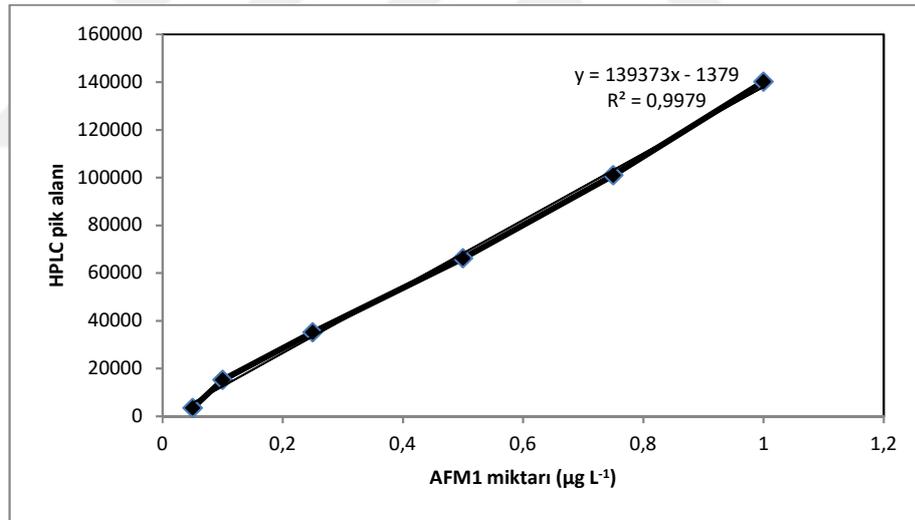
Emission (yayım dalga boyu): 435 nm

Metot oluşumunun tamamlanmasıyla kalibrasyon ayarlarını oluşturmak için farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış olan AFM₁ standart çözeltileri HPLC cihazına enjekte edilmiştir.

Çizelge 3.1. Kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında kullanılan AFM₁ konsantrasyonları ve pik alanları

AFM ₁ Standardı ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Alan
0,05	3470
0,1	15212
0,25	35144
0,5	66160
0,75	100906
1	140171

AFM₁ standartlarına karşılık gelen pik alanlarına göre 6 farklı noktadan oluşturulan kalibrasyon eğrisi ($r^2=0,9979$), Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Oluşturulan kalibrasyon eğrisi

3.2.3 İstatistiksel analiz

Çalışmada elde edilen sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Varyans analizi (ANOVA, Analysis Of Variance) ve SPSS 22,0 paket programı kullanılmıştır. Olasılık, anlamlılık düzeyi (P)<0,05 olan değerler anlamlı kabul edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Türkiye'nin farklı bölgelerinde çiğ sütte AFM₁ ile ilgili birçok çalışma yapılmış olmasına rağmen Çorum ve çevresinde bu konu ile ilgili çalışma mevcut değildir. Yapılan çalışmada Çorum ve çevresinde üretilen sütlerin AFM₁ oranlarının belirlenerek bölge tüketicilerinin maruz kaldıkları riskin ortaya konulması ve bir yıllık süre zarfında konsantrasyon açısından mevsimsel olarak değişimin gözlenmesi de amaçlanmıştır.

Çalışmada Çorum İli Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği aracılığıyla merkez ve çevre köylerdeki 50 farklı yerel üreticiden direkt olarak temin edilen çiğ inek sütleri kullanılmıştır. Analizler 19.01.2016 - 19.10.2016 tarihleri arasında bir yıl boyunca mevsimsel olarak (sonbahar, kış, ilkbahar, yaz) incelenmiştir. Toplam 200 adet çiğ süt örneğinin aflatoxin içeriği belirlenmiştir. Günümüzde kooperatifler, birlikler, küçük ve büyük işletmeler tarafından sütün kuru madde, yağ, antibiyotik durumu günlük olarak alınan numunelerde kayıt altına alınmaktadır. Ancak maliyeti ve analiz sürecinde ayrıntılı hazırlık gerektirmesi, aflatoxin taraması gibi analizlerin yapılmasını engellemektedir. Analiz edilen örneklerin mevsimlere göre sonuçları Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Çiğ süt örneklerinin AFM₁ içeriği ve dağılımı (ng L⁻¹)

Mevsim	Toplam Örn. Sayısı	Pozitif Örn. (%)	Örneklerin Dağılımı			AFM ₁ Miktarı	
			Tespit Edilemeyenler (%)	≤ 50 (%)	>50 (%)	Min.-Max.	Ortalama (X)
Sonbahar	50	33 (%66)	17 (%34)	15 (%30)	18 (%36)	22-289	66
Kış	50	38 (%76)	12 (%24)	9 (%18)	29 (%58)	29-199	84
İlkbahar	50	28 (%56)	22 (%44)	10 (%20)	18 (%36)	30-177	64
Yaz	50	30 (%60)	20 (%40)	8 (%16)	22 (%44)	26-401	117

X: Pozitif örneklerin ortalaması

Analiz edilen toplam 200 örneğin 129 (%64,5)'unda 22- 401 ng L⁻¹ arasında farklı konsantrasyonlarda AFM₁ tespit edilirken, geri kalan 71 (%35,5)'inde AFM₁ tespit

edilmemiştir. Örneklerin 87 (%43,5)'si Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen maksimum kabul edilebilir limiti (50 ng L⁻¹) aşmıştır.

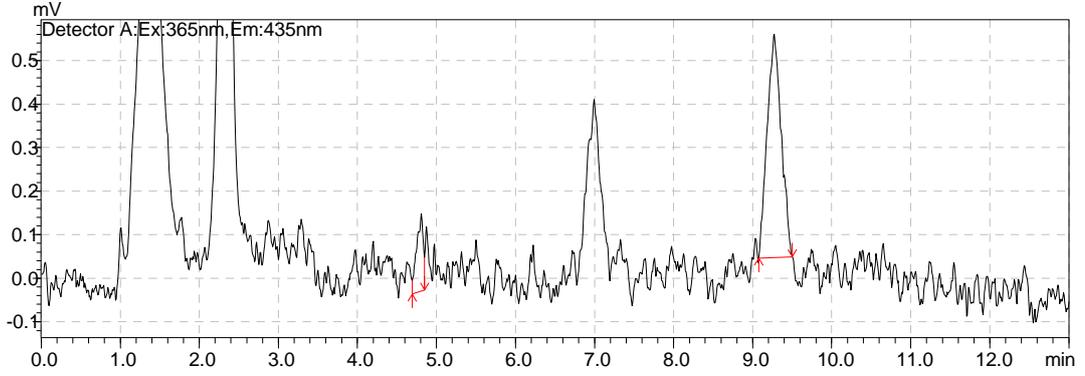
Sonbahar mevsiminde incelenen 50 çiğ süt örneğinin 33 (%66)'ünde 22- 289 ng L⁻¹ arasında değişen miktarlarda AFM₁ saptanmış ve ortalama AFM₁ miktarı 66 ng L⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Örneklerin 18 (%36)'inin 54- 289 ng L⁻¹ arasında değişen miktarlarda AFM₁ içerdiği ve maksimum limiti aşan bu örneklerin ortalama konsantrasyonunun 88 ng L⁻¹ olduğu tespit edilmiştir.

Kış mevsiminde incelenen 50 çiğ süt örneğinin 38 (%76)'inde 29- 199 ng L⁻¹ arasında değişen miktarlarda AFM₁ saptanmış ve ortalama AFM₁ miktarı 84 ng L⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Örneklerin 29 (%58)'unun 51- 199 ng L⁻¹ arasında değişen miktarlarda AFM₁ içerdiği ve maksimum limiti aşan bu örneklerin ortalama konsantrasyonunun 98 ng L⁻¹ olduğu tespit edilmiştir.

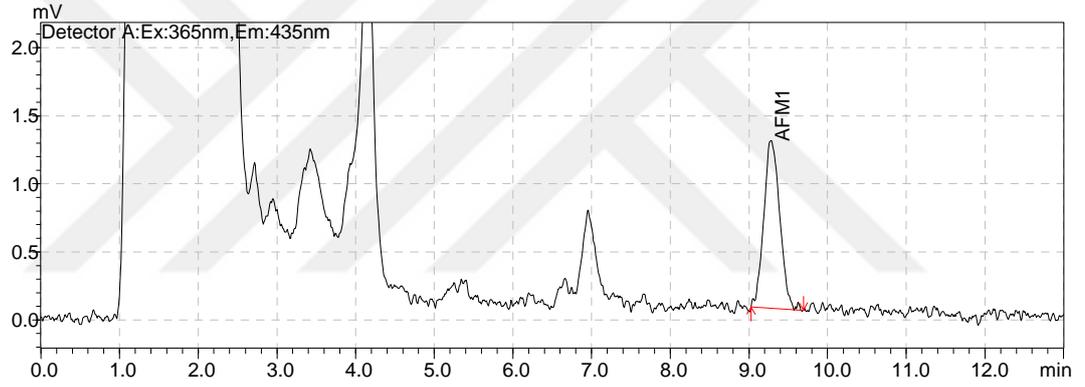
İlkbahar mevsiminde incelenen 50 çiğ süt örneğinin 28 (%56)'inde 30- 177 ng L⁻¹ arasında değişen miktarlarda AFM₁ saptanmış ve ortalama AFM₁ miktarı 64 ng L⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Örneklerin 18 (%36)'sinin 52- 177 ng L⁻¹ arasında değişen miktarlarda AFM₁ içerdiği ve maksimum limiti aşan bu örneklerin ortalama konsantrasyonunun 79 ng L⁻¹ olduğu tespit edilmiştir.

Yaz mevsiminde incelenen 50 çiğ süt örneğinin 30 (%60)'unda 26- 401 ng L⁻¹ arasında değişen miktarlarda AFM₁ saptanmış ve ortalama AFM₁ miktarı 117 ng L⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Örneklerin 22 (%44)'sinin 51- 401 ng L⁻¹ arasında değişen miktarlarda AFM₁ içerdiği ve maksimum limiti aşan bu örneklerin ortalama konsantrasyonunun 140 ng L⁻¹ olduğu tespit edilmiştir.

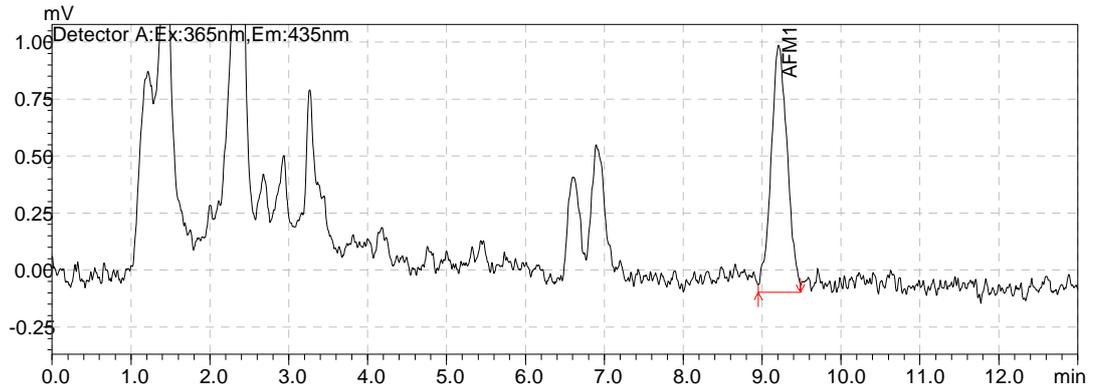
HPLC cihazı ile yapılan sütte AFM_1 analizlerine ait bazı kromatogramlar Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.1. AFM_1 içeriği 74 ng L^{-1} olan örneğe ait kromatogram

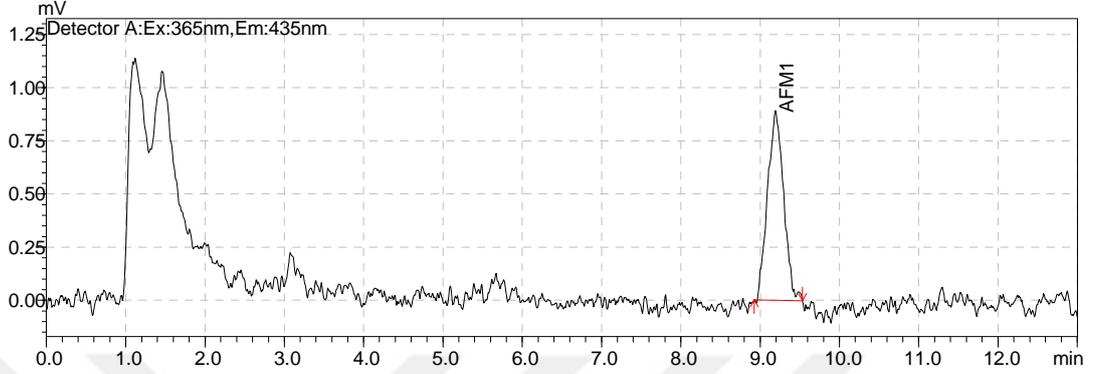


Şekil 4.2. AFM_1 içeriği 139 ng L^{-1} olan örneğe ait kromatogram

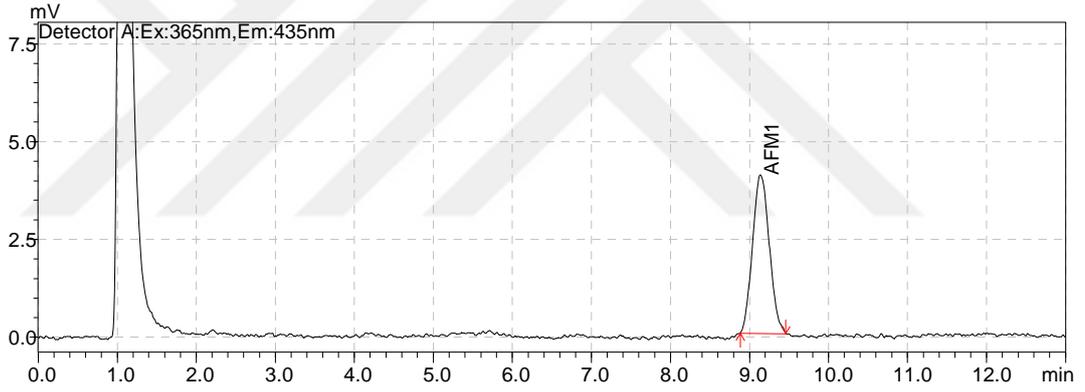


Şekil 4.3. AFM_1 içeriği 115 ng L^{-1} olan örneğe ait kromatogram

Ayrıca kalibrasyon eğrisinin oluşturulmasında kullanılan AFM₁ standart çözeltilerinden 100 ng L⁻¹ için Şekil 4.4'te, 500 ng L⁻¹ için Şekil 4.5'te kromatogramlar gösterilmiştir.



Şekil 4.4. 100 ng L⁻¹ AFM₁ standart çözeltilisine ait kromatogram



Şekil 4.5. 500 ng L⁻¹ AFM₁ standart çözeltilisine ait kromatogram

Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi için gerçekleştirilen varyans analizi sonucunda, süt örneklerindeki AFM₁ miktarlarının, örnekler arası farklılığının önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p > 0,05$). Ancak sonbahar ve ilkbahar mevsimi örnekleri AFM₁ düzeylerinde, düşük düzeylerde bir korelasyon varlığı da yapılan istatistiki değerlendirme sonucunda saptanmıştır. Ayrıca ilkbahar-yaz, kış-ilkbahar ve sonbahar-kış mevsimleri arasındaki farklılığın önemli olduğu ($p < 0,05$) belirlenmiştir. Analizi gerçekleştirilen süt örneklerinde, mevsimlerin kendi arasındaki farklılıklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda ise farklılığın önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).

Türkiye’de AFM₁ üzerine farklı illerde yapılmış birçok çalışma vardır. İşleyici ve ark., (2015)’ı Van ilinde, yaz mevsiminde inceledikleri 100 adet çiğ sütün 53 (%53) tanesinde <5 – >80 ng L⁻¹ konsantrasyonunda AFM₁ tespit etmiştir. Bakırdere ve ark., (2014)’ı inceledikleri 77 çiğ süt örneğinin 61 (%79,22)’inde 5-410 ng L⁻¹ arasında değişen konsantrasyonlarda AFM₁ tespit etmiştir. Gölge (2014)’nin Adana’da yaptığı çalışmada 176 çiğ sütün 53 (%30,1)’ünde kontaminasyon belirlenmiştir. Sonbahar, kış, ilkbahar, yaz mevsimlerine göre pozitif örneklerin aralığı sırasıyla 42-552, 33-1010, 47-150 ve 25-102 ng L⁻¹ olarak rapor edilmiştir. Aslan ve ark., (2010), Mersin’de inceledikleri 92 adet çiğ sütün 60 (%65,22)’inde 2–867 ng L⁻¹ aralığında AFM₁’e rastlamışlardır. Literatürde mevcut olan, yukarıda verilen araştırmalarda olduğu gibi bazı durumlarda çiğ sütte bulunan AFM₁ düzeylerinin kabul edilebilir maksimum limitleri (50-500 ng L⁻¹) aştığı bildirilmiştir. Ayrıca hammadde olarak kullanılan çiğ sütün farklı ürünlere işlenmesi sonucu son ürünlerdeki AFM₁ için yüksek konsantrasyonlar, farklı araştırmacılar (Alkan ve Gönülalan, 2006; Tekinşen ve Eken, 2008; Ayyıldız, 2012) tarafından rapor edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan çalışmada çiğ sütte bulunan AFM₁ miktarının sonbahar, kış, ilkbahar, yaz mevsimlerindeki ortalama konsantrasyonları sırasıyla, 66 ng L⁻¹, 84 ng L⁻¹, 64 ng L⁻¹ ve 117 ng L⁻¹ olarak rapor edilmiştir. Toplam 129 (%64,5) pozitif örnek için en düşük ve en yüksek konsantrasyon sırasıyla 22 ng L⁻¹ ve 401 ng L⁻¹'dir. İncelenen örneklerden 87 (%43,5)'sinin 51- 401 ng L⁻¹ arasında farklı düzeylerde aflatoksin ile kontamine olması ve bu değerlerin ülkemiz için belirlenmiş olan 50 ng L⁻¹ yasal sınırını aşması dikkat çekmektedir. Bu durum bölge halkının sağlığını tehdit etmektedir.

Sonbahar ve kış mevsiminde temin edilen her bir örnek, ortalama 25 ahırdan toplanan sütün paçal edilmiş hali olduğundan kirli-temiz ayrımı yapılamamıştır. İlkbahar ve yaz mevsiminde süt verimindeki artış ile birlikte bu sayı yaklaşık 100 farklı ahıra ulaşmıştır. Numune toplanan köylerdeki çiftçi halkın kişisel ahırındaki hayvan sayısı ise yaklaşık olarak 15-20 arasında değişmektedir. Bu durum süt çeşitliliğinin fazla olduğunun göstergesidir. Dolayısı ile sütün kimyasal yapısı değişebilmektedir.

TÜİK verilerine göre, ülkemizde süt üretimi 2016, 2017 yılı için yaklaşık olarak sırasıyla 19 milyon ton ve 21 milyon tondur (Anonim, 2018). Çorum'da 2016 yılında üretilen çiğ süt miktarı ise yaklaşık olarak 19,8 bin ton, 2017 yılında bu değer yaklaşık 24,6 bin ton olarak hesaplanmıştır. Yapılan değerlendirmeye göre Türkiye'deki süt üretiminin yaklaşık %1,5'i Çorum'dan temin edilmekle birlikte, il genelindeki üretim Türkiye bazında küçük bir paya sahip gibi gözükmektedir. Ancak elde edilen süt farklı süt ürünlerine işlenmesi amacıyla İç Anadolu Bölgesi'nde büyük kapasiteli işletmelere gönderilmektedir. Bu işletmelerde sütün birbirlerine karıştırılması sonucunda da kontamine olmuş süt miktarı artmaktadır. Bu durumun doğal bir sonucu olarak da, son ürünü tüketen tüketicilerin mikotoksin maruziyetinin o oranda arttığı dikkat edilmesi gereken bir sonuçtur. Problemin ileriye doğru artışının önlenmesi ise üzerinde durulması gereken önemli bir konu olarak karşımıza

çıkılmaktadır. Ülke çapında bu tür kontaminasyonların azaltılması için yeni çözümlerin ortaya konma şartı bulunduğu kanaatini taşımaktayız.

Gıda ve yem maddelerindeki aflatoksin konsantrasyonlarına mevsimlerin tam anlamıyla etkisi tartışma konusu olsada, çevre koşullarının, nemli ortamların, besin içeriğinin, depo ortamının, gıda su aktivitesinin toksin faaliyetini arttırdığı kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmada dört mevsim için ortalama sonuçların yasal limitin üstünde olması süt veren çiftlik hayvanlarının sıcaklık ve nem açısından uygun olmayan depolarda bulundurulmuş AFB₁ ile kontamine olmuş yemle beslendiklerinin göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Özellikle yaz mevsimindeki aflatoksin konsantrasyonunun yüksek olmasının nedeni, sınırlı mera alanları, yakın geçmişte kırsal kesimlerde yaşanan çoban probleminin artması, hayvanların ahırlarda tutularak hazır yemlerle beslenmeleri (silaj, karma yem, küspe, kaba yem), meraya çıkarılmadan önce yemlenmeleri ve sınırlı süre meraya salınmaları, depo içi nem, sıcaklık, oksijen ölçümlerinin yapılmaması sonucu aflatoksin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir.

Sonuç olarak, Çorum ve bölgesinde üretilen sütlerin aflatoksin konsantrasyonlarının yüksek olduğu ve bu durumun halk sağlığını olumsuz etkilediği, özellikle bebekler ve çocukların risk altında oldukları tespit edilmiştir. Yemlerde ve son üründe yüksek konsantrasyonlarda aflatoksin oluşumunun önlenmesi dolayısı ile halk sağlığının korunması için süt ve ürünleri alanında faaliyet gösteren direkt üreticiye, birliklere ve kooperatiflere hassasiyetle gerekli eğitimlerin verilmesi, kontrollerin yapılması, üreticinin bilinçlendirilmesi ve denetimlerin artırılması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca modern üretim teknikleri uygulanmalı, küçük hayvan barınakları birleştirilerek ıslah çalışmaları yapılmalı, yem depo yerleri ayrıca inşa edilmelidir.

Gelişmekte olan ülkelerde yerel olarak üretilen gıdalara bağımlı olan nüfus ve kırsal kesimde yaşayanlar gıda kalitesi ve güvenliği sorunu ile daha çok karşılaşmaktadır. Dolayısı ile halk sağlığı üzerindeki kanıtlanmış toksik etkisi ile en riskli mikotoksin olan aflatoksin maruziyetini azaltmak, insan ve hayvanların sağlığını korumak, ekonomik kayıpları önlemek amaçlanmalıdır. Çalışmamızın bizden sonra yapılacak olan çalışmalara ışık tutması temennimizdir.

KAYNAKLAR

- Abdallah, M.F., 2016. Detection of Mycotoxin Levels in Animal Feeds and Raw Milk Samples by Using High Performance Liquid Chromatography and Liquid Chromatography Tandem Mass Spektrometry. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Acar, D.B., Cengiz, M., Baştan, A., 2012. Düvelerde mastitis: prevalansı, risk faktörleri ve patogenezi. Ankara Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 7(2), 137-146.
- Agag, B.I., 2004. Mycotoxins in foods and feeds-aflatoxins. Ass. Univ. Bull. Environ. Res., 7(1), 173-206.
- Akkaya, M.R., 2011. Süt Sığırlarında Aflatoksin B₁ İçeren Yemlerin Toksin Bağlayıcılar İle Kontrolü ve Aflatoksin M₁ Oluşumunun Saptanması. Doktora Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.
- Aksoy, A., Yavuz, O., Guvenc, D., Das, Y.K., Terzi, G., Celik, S., 2010. Determination of aflatoxin level in raw milk, cheese and dehulled hazelnut samples consumed in Samsun province, Turkey. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg., 16, S13-S16.
- Albay, Z., Şimşek, B., 2011. Süt ve ürünlerinde mikotoksinler ve özellikleri. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR, 9(2), 50-60.
- Aliabadi, M.A., Issazadeh, K., Kolavani, M.H., Mohammadi, M., Darsanaki, R.K., 2013. Determination of aflatoxin M₁ levels in raw milk samples in Gilan, Iran. Advanced Studies in Biology, 5(4), 151-156.
- Alkan, Y., Gönülalan, Z., 2006. Amasya ilinde satışa sunulan beyaz peynirlerde aflatoksin M₁, rutubet ve asite değerleri üzerine bir araştırma. Journal of Health Sciences, 15(2), 91-98.
- Altıntaş, A., Akdemir, Ç., 2004. Ankara'da işlenen sütlerde aflatoksin M₁ varlığının ve düzeylerinin HPLC ile araştırılması. Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg., 51, 175-179.
- Amer, A.A., Ibrahim, M.A.E., 2010. Determination of aflatoxin M₁ in raw milk and traditional cheeses retailed in Egyptian markets. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences, 2(4), 50-53.
- Anagnostopoulos, C., Tsiplakou, E., Liapis, K., Haroutounian, S.A., Zervas, G., Determination of mycotoxins in feedstuffs and ruminant's milk using an easy and simple LC-MS/MS multiresidue method. Talanta, 130, 8-19.

- Anfossi, L., Giovannoli, C., Baggiani, C., 2016. Mycotoxin detection. *Current Opinion in Biotechnology*, 37, 120-126.
- Anonim, 1993. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Naturally Occurring Substances, Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. World Health Organization International Agency for Research on Cancer. Volume 56, Lyon, France, 609 p.
- Anonim, 2000. (FDA) Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Action Levels for Poisonous or Deleterious Substances in Human Food and Animal Feed. <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ucm077969.htm#afla> (11.10.2017).
- Anonim, 2000. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. Resmi Gazete 14.02.2000 sayı 23964, Başbakanlık Basımevi, Ankara, 13 s.
- Anonim, 2001. Report Of The 32nd Session Of The Codex Committee On Food Additives And Contaminants. Comments On The Draft Maximum Level For Aflatoxin M1 In Milk. Joint FAO/WHO Standarts Programme Codex Alimentarius Commission, Geneva, Switzerland, 185 p.
- Anonim, 2002. TSE (Türk Standardları Enstitüsü) İnek Sütü- Çiğ. TS 1018 ICS 67.100.10, Bakanlıklar, Ankara, 14 s.
- Anonim, 2002. Türk Standardı. Süt ve süt tozu- Aflatoksin M1 muhtevası tayini- İmmunoafiniti kromatografi ile temizleme ve yüksek performanslı sıvı kromatografi ile tayini. TS EN ISO 14501, ICS 67.100.10. Türk Standardları Enstitüsü, Ankara, 20 p.
- Anonim, 2006. Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. European Commission, Official Journal of the European Union, L364, 21-26 p.
- Anonim, 2011. Gıdalardaki Bulaşanların Maksimum Limitleri. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, Resmi Gazete Tarihi: 29.12.2011, Sayı: 28157 (3. Mükerrer), Başbakanlık Basımevi, Ankara. 15 s.
- Anonim, 2014. Yemlerde İstenmeyen Maddeler Hakkında Tebliğ, Tebliğ No: 2014/11, Resmi Gazete 19.04.2014, Sayı: 28977, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Başbakanlık Basımevi, Ankara. 22 s.
- Anonim, 2015. Mycotoxin Control In Low And Middle Income Countries. IARC (International Agency for Research on Cancer) Report No. 9, Lyon, France, 54 p.

- Anonim, 2018. TÜİK Süt Üretimi (Ton). Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Hayvancılık Genel Müdürlüğü, Ankara, 16 s.
- Ardıç, M., Karakaya, Y., Atasever, M., Adıgüzel, G., 2009. Aflatoxin M₁ levels of Turkish white brined cheese. *Food Control*, 20, 196-199.
- Arıcı, M., Özsunar, A., Gümüş, T., Demirci, M., 2006. Trakya bölgesinde üretilen inek sütlerinde aflatoksin M₁ varlığı. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs, Bolu, 837-840.
- Arıkan, L., Çevik, D., 2012. Aflatoksinler ve süt teknolojisindeki önemi. III. Süt ve Süt Hayvancılığı Öğrenci Kongresi, 21 Mayıs, Aksaray, 71-76.
- Ashiq, S., Hussain, M., Ahmad, B., 2014. Natural occurrence of mycotoxins in medicinal plants. *Fungal Genetics and Biology*, 66, 1-10.
- Aslan, G., Delialioğlu, N., Otağ, F., Öcal, N.D., Emekdaş, G., 2010. Mersin ilinde çiğ ve market sütlerinde aflatoksin M₁ düzeyinin araştırılması. *Mikrobiyol. Bul.*, 44, 87-91.
- Atasever, M., Adıgüzel, G., Aydemir Atasever, M., Özlü, H., Özturan, K., 2010. Occurrence of aflatoxin M₁ in UHT milk in Erzurum-Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 16, S119-S122.
- Ayyıldız, T., 2012. Organik Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M₁ Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- Bakırcı, İ., 1995. Sütlerde AFM₁ Oluşumu ve Ürünlere Geçişi Üzerinde Bir Araştırma. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Bakırcı, İ., 1999. Süt ve ürünlerinde aflatoksinler. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 10(1-2), 122-127.
- Bakırdere, S., Yaroğlu, T, Tırık, N., Demiröz, M., Karaca, A., 2014. Determination of trace aflatoxin M₁ levels in milk and milk products consumed in Turkey by using enzyme-linked immunosorbent assay. *Food and Agricultural Immunology*, 25(1), 61-69.
- Basmacıoğlu, H., Ergül, M., 2003. Yemlerde bulunan toksinler ve kontrol yolları. *Hayvansal Üretim*, 44(1), 9-17.
- Basu, T., Sachdev, T., Chauhan, R., Singh, J., Malhotra, B.D., 2016. Recent advances in mycotoxins detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 81, 532-545.

- Benkerroum, N., 2016. Mycotoxins in dairy products. *International Dairy Journal*, 62, 63-75.
- Besler, H.T., Ünal, R.N., 2008. Beslenmede Sütün Önemi. T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No 727, Ankara, 37 s.
- Beyhan, Y., Bilici, S., Uyar, M.F., Sağlam, F., 2008. Besin Zehirlenmeleri, Nedenleri ve Korunma Yolları. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü. T.C. Sağlık Bakanlığı Yayın No 727, Ankara, 19 s.
- Bianchi, D.M., Bellio, A., Gramaglia, M., Loria, A., Nucera, D., Gallina, S., Gilli, M., Decastelli, L., 2016. Aflatoxin M1 in Cow's milk: method validation for milk sampled in Northern Italy. *MDPI Toxins*, 8(57), 1-12.
- Bilgin, Ö., 2014. İnek, Koyun ve Keçi Sütlerinde Yaz ve Kış Mevsimlerinde Aflatoxin M₁ Düzeyinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Bülbül, A., Yılmaz B., 2004. Mastitisli inek sütlerinde nitrik oksit düzeyi ile somatik l hücre sayısı arasındaki ilişki. *Vet. Bil.Derg.*, 20(2), 95-102.
- Çetin, T., 2004. Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Kaşar Peynirlerinde Olası Aflatoxin M₁ Varlığının HPLC Metodu İle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- 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.
- Diler, A., Baran, A., 2014. Erzurum'un Hınıs ilçesi çevresindeki küçük ölçekli işletme tank sütlerinden alınan çiğ süt örneklerinin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 26(B), 18-24.
- Doğan, E., 2012. Ardahan Yöresinde Toplanan Süt ve Kaşar Peynirlerinde Aflatoxin M₁ Düzeylerinin Mevsimlere Göre Araştırılması. Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Erdem, H., Atasever S., 2004. Süt sığırlarında mastitisin tanımı, teşhisi ve korunma yolları. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(2), 100-108.
- Ergun, B., Altıokka, G., Atkoşar, Z., 2006. Afltoksinler: Tayin yöntemleri üzerine. *Journal of Science and Technology*, 7(1), 75-81.
- Eroğlu, A., 2011. Ege Bölgesinde Tüketilen Bazı Geleneksel Peynirlerdeki Aflatoxin M1 Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.

- Eryılmaz, B., Keskin, K., Mutlu, A., 2012. Çiğ sütte somatik hücre sayısının önemi. III. Süt ve Süt Hayvancılığı Öğrenci Kongresi, 21 Mayıs, Aksaray, 77-85.
- Gelderblom, W.C.A., Alberts, J.F., Lilly, M., Rheeder, J.P., Burger, H-M., Shephard, G.S., 2017. Technological and community-based methods to reduce mycotoxin exposure. *Food Control*, 73, 101-109.
- Gölge, Ö., 2014. A survey on the occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk produced in Adana province of Turkey. *Food Control*, 45, 150-155.
- Gürbay, A., Sabuncuoğlu, A., Girgin, G., Şahin, G., Yiğit, Ş., Yurdakök, M., Tekinalp, G., 2010. Exposure of newborns to aflatoxin M₁ and B₁ from mothers' breast milk in Ankara, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 314-319.
- Gürsoy, A., 2010. Süt Teknolojisi. Süt Kimyası ve Biyokimyası. Editör: A. Yetişemiyen. Ankara, 27-53.
- Hampikyan, H., Bingol, E.B., Cetin, O., Colak, H., 2010. Determination of aflatoxin M₁ levels in Turkish white, kashar and tulum cheeses. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(1), 13-15.
- Harmon, R.J., 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, 77(7), 2103- 2112.
- Hazer, A., 2011. Denizli ve Aydın İllerinden Elde Edilen Çiğ Sütlerde Aflatoksin M₁ Prevelansı ve Miktarının Aranması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Hussein, H.S., Brasel, J.M., 2001. Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167, 101-134.
- Iqbal, H., Ishfaq, M., Abbas, M.N., Wahab, A., Qayum, M., Mehsud, S., 2016. Pathogenic bacteria and heavy metals toxicity assessments in evaluating unpasteurized raw milk quality through biochemical tests collected from dairy cows. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(11), 868-872.
- İpçak, H.H., Alçiçek, A., 2013. Yemlerde aflatoksin gelişimi ve süte geçme durumu. 8. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, Çanakkale, 502-511.
- İşleyici, Ö., Sancak, Y.C., Sancak, H., Mercan Yücel, U., 2015. Ambalajsız olarak satışı sunulan çiğ inek sütlerinde aflatoksin M₁ düzeyinin belirlenmesi. *Van Veterinary Journal*, 26(3), 151-155.
- İşleyici, Ö., Sancak, Y.C., Sancak, H., Mercan Yücel, U., 2015. Determination of aflatoxin M₁ levels in unpackaged sold raw cow's milk. *Van Vet. J.*, 26(3), 151-155.

- Jeffrey, D.C., Wilson, J., 1987. Effect of mastitis-related bacteria on total bacterial count of bulk milk supplies. *Journal of Dairy Technology*, 40(2), 23-26.
- Kabak, B., 2012. Aflatoxin M₁ and ochratoxin A in baby formulae in Turkey: Occurrence and safety evaluation. *Food Control*, 26, 182-187.
- Kabak, B., Özbey, F., 2012a. Assessment of the bioaccessibility of aflatoxins from various food matrices using an *in vitro* digestion model, and the efficacy of probiotic bacteria in reducing bioaccessibility. *Journal of Food Composition and Analysis*, 27, 21-31.
- Kabak, B., Özbey, F., 2012b. Aflatoxin M₁ in UHT milk consumed in Turkey and first assessment of its bioaccessibility using an *in vitro* digestion model. *Food Control*, 28, 338-344.
- Kabak, B., Var, I., 2008. Detection of aflatoxin M₁ in milk and dairy products consumed in Adana, Turkey. *International Journal of Dairy Technology*, 62, 15-18.
- Kamkar, A., 2008. Detection of aflatoxin M₁ UHT milk samples by ELISA. *J. Vet. Res.*, 63(2), 7-12.
- Kan, F., 2015. Afyon Manda Kaymağı ve Kaymakaltı Sütlerinde Bazı Ağır Metallerin ICP-MS İle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Kantemir, M., 2007. Ağrı'da Tüketilen Çiğ ve UHT Sütlerde Aflatoksin M₁ Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Karakaya, Y., Atasever, M., 2010. Mısır silajında aflatoksin B₁ varlığının ve süte geçme durumunun araştırılması. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 16, S12-S127.
- Kasım, A., Akduman, E., Kurt, E., 2010. Beyaz inci. 1. Süt ve Süt Hayvancılığı Kongresi, 21 Mayıs, Bursa, 187-195.
- Kaya Tuz, M., 2016. Devam Sütlerinde Aflatoksin M₁'in Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Kaygısız, A., Karnak, İ., 2012. Kahramanmaraş ili süt sığırı işlemlerinden toplanan çiğ süt örneklerinde somatik hücre sayısının AB normları ve subklinik mastitis bakımından değerlendirilmesi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 15(3), 9-15.
- Kesenkaş, H., 2007. Kaliteli çiğ süt elde edilmesi. II. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 5-6 Aralık, İzmir.

- Kireççi, E., Savaşçı, M., Ayyıldız, A., 2007. Sarıkamış'ta tüketilen süt ve peynir ürünlerinde aflatoksin M₁ varlığının belirlenmesi. *Turkish Journal of Infection*, 21(2), 93-96.
- Kosicki, R., Blajet-Kosicka, A., Grajewski, J., Twaruzek, M., 2016. Multiannual mycotoxin survey in feed materials and feedingstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 215, 165-180.
- Kök, Z., 2006. Aydın İli ve Çevresinde Üretilen Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Kuyucuoğlu, N., 2007. Afyonkarahisar İlindeki Anne Sütü Örneklerinde Aflatoksin M₁ Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Lanyasunya, T.P., Wamae, L.W., Musa, H.H., Olowofeso, O., Lokwaleput, I.K., 2005. The risk of mycotoxins contamination of dairy feed and milk on smallholder dairy farms in Kenya. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(3), 162–169.
- Lievaart, J.J., Barkema, H.W., Kremer, W.D.J., Broek, J., Verheijden, J.H.M., Heesterbeek, J.A.P., 2007. Effect of herd characteristics, management practices, and season on different categories of the herd somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 90(9), 4137-4144.
- Marroquín-Cardona, A.G., Johnson, N.M., Phillips, T.D., Hayes, A.W., 2014. Mycotoxins in a changing global environment. *Food and Chemical Toxicology*, 69, 220-230.
- Martins, M.L., Martins, H.M., 2004. Aflatoxin M₁ in yoghurts in Portugal. *International Journal of Food Microbiology* 91, 315-317.
- McLean, M., Dutton, M.F., 1995. Cellular interactions and metabolism of aflatoxin: an update. *Pharmac. Ther.*, 65, 163-192.
- Miller, G.D., Jarvis, J.K., McBean, L.D., 2000. The Importance of Milk and Milk Products in the Diet. *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*, Editors: Jensen R.G., Kroger M. CRC Press LLC, New York, 17-80.
- Muhammad, K., Tipu, M.Y., Abbas, M., Khan, A.M., Anjum, A.A., 2010. Monitoring of Aflatoxin M₁ in market raw milk Lahore city, Pakistan. *Pakistan J. Zool.*, 42(6), 697-700.
- Mundan, D., Meral, B.A., Demir, A., Doğaner, M., 2015. Süt sığırı işletmelerinde sütteki toplam bakteri ve somatik hücre sayısının ekonomik açıdan değerlendirilmesi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 4(2), 84-89.

- Nguyen, P-A., S, C., Fontana, A., Schorr-Galindo, S., 2017. Crop molds and mycotoxins: Alternative management using biocontrol. *Biological Control*, 104, 10-27.
- Omak, G., Özcan, T., Yılmaz-Ersan, L., 2016. Biyolojik detoksifikasyon ve probiyotikler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30(1), 157-168.
- Öksüztepe, G., Erkan, S., 2016. Mikotoksinler ve halk sağlığı açısından önemi. *Harran Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 5(2), 190-195.
- Önal, A.R., Özder, M., 2007. Trakya’da özel bir süt işleme tesisi tarafından değerlendirilen çiğ sütlerin somatik hücre sayısı ve bazı bileşenlerinin tespiti. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(2), 195-199.
- Özbek, E., 2006. Marmara Bölgesi Askeri Birliklerinde Tüketime Sunulan Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoxin M₁ Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Özcan, G., 2006. Peynir üretiminde kullanılacak çiğ süt kalitesi. *Standard Ekonomik ve Teknik Dergi*. 45(538), 56-61.
- Özdemir, M., 2007. Determination of aflatoxin M₁ levels in goat milk consumed in Kilis province. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 54, 99-103.
- Özkaya, Ş., Temiz, A., 2003. Aflatoxinler: Kimyasal yapıları, Toksisiteleri ve Detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(1), 1-21.
- Papp, E., H-Otta, K., Zaray, G., Mincsovcics, E., 2002. Liquid chromatographic determination of aflatoxins. *Microchemical Journal*, 73, 39-46.
- Patır, B., Can, Ö.P., Gürses, M., 2010. Farklı illerden toplanan çiğ inek sütlerinde somatik hücre sayıları. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veterinerlik Dergisi*, 24(2), 87-91.
- Patriarca, A., Pinto, V.F., 2017. Prevalence of mycotoxins in foods and decontamination. *Current Opinion in Food Science*, 14, 50-60.
- Penas, E.G., Flores, M.E.F., 2017. An LC-MS/MS method for multi-mycotoxin quantification in cow milk. *Food Chemistry*, 218, 378-385.
- Penas, E.G., Flores, M.E.F., Lizarraga, E., Cerain, A.L., 2015. Presence of mycotoxins in animal milk. *Food Control*, 53, 163-176.
- Pitt, J.I., 2000. Toxigenic fungi and mycotoxins. *British Medical Bulletin*. 56(1), 184-192.

- Rocha, M.E.B., Freire, F.C.O., Maia, F.E.F., Guedes, M.I.F., Rondina, D., 2014. Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*, 36, 159-165.
- Rustom, I.Y.S., 1997. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*, 59(1), 57-67.
- Sanchis, V., Cano-Sancho, G., Ramos, A.J., Marin, S., 2013. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218-237.
- Selvaraj, J.N., Zhou, L., Wang, Y., Zhao, Y., Xing, F., Dai, X., Liu, Y., 2015. Mycotoxin detection- Recent trends at global level. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(11), 2265-2281.
- Shokrzadeh, M., Afshar, P., Kalhori, S., Babae, Z., Saeedi Saravi, S.S., 2013. Occurrence of ochratoxin A and aflatoxin M₁ in human breast milk in Sari, Iran. *Food Control*, 31, 525-529.
- Shook, G.E., 1989. Selection for disease resistance. *Journal of Dairy Science*, 72(5), 1349-1362.
- Shundo, L., Sabino, M., 2006. Aflatoxin M₁ in milk by immunoaffinity column cleanup with TLC/HPLC determination. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37, 164-167.
- Suliman, S.E., Abdalla, M.A., 2013. Presence of aflatoxin M₁ in dairy cattle milk in Khartoum state-Sudan. *International Journal of Scientific*, 2, 10-12.
- Şahin, A., Kaşıkçı, M., 2014. Esmer ineklerde somatik hücre sayısı ve bazı çiğ süt parametreleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(5), 220-223.
- Şahin, A., Kaşıkçı, M., 2015. Yetiştirici elinde bulunan esmer ineklerinin çiğ süt somatik hücre sayısı üzerine bazı çevresel faktörlerin etkilerinin belirlenmesi. *Türk Tarım- Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(7), 504-509.
- Şahin, A., Yıldırım, A., Ulutaş, Z., 2014. Anadolu mandalarında bazı çiğ süt parametreleri ile somatik hücre sayısı arasındaki ilişkiler. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(1), 114-121.
- Şahin, G., Başaran, N., Girgin, G., 2001. Dünyada ve Türkiye’de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. *Türk Hij. Den. Biyol. Derg.*, 58(3), 97-118.
- Şen, L., Nas, S., 2010. Fındık ve Antep fıstığının mikotoksin problemi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(1), 49-56.

- Tayar, M., 2010. Süt ve beslenmedeki önemi. 1. Süt ve Süt Hayvancılığı Kongresi, 21 Mayıs, Bursa, 27-46.
- Tekinşen, K.K., Eken, H.S., 2008. Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3287-3289.
- Tunail, N., 2000. Funguslar ve Mikotoksinler, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, 03. Bölüm, 13. Kısım, Ankara, 522 s.
- Türköz Bakırcı, G., 2014. Tahıl ve tahıl ürünlerinin aflatoksin, okratoksin A, zearalenon, fumonisin ve deoksinivalenol mikotoksinleri yönünden incelenmesi. *Academic Food Journal*, 12(2), 46-56.
- Uzunov, R., Stojkovic, E.D., Dimzoska, B.S., Ilievska, G., Stojkovic, G., Musliu, Z.H., Jankuloski, D., 2016. Assessment of aflatoxin contamination in raw milk and feed in Macedonia during 2013. *Food Control*, 59, 201-206.
- Üçüncü, M., 2012. Süt Bileşimi ve Özellikleri. Süt ve Mamulleri Teknolojisi, Meta Basım İzmir, 1-67.
- Virdis, S., Scarano, C., Corgiolu, G., Cossu, F., Spanu, V., De Santis, E., 2008. Aflatoxin M1 in bulk-tank raw milk produced in a low risk area. *The Internet Journal of Toxicology*, 6(1), 1-5.
- Wood, G.E., 1992. Mycotoxins in foods and feeds in the United States. *J. Anim. Sci.* 70, 3941-3949.
- Yang, L., Yang, Q., Yi, M., Pang, Z.H., Xiong, B.H., 2013. Effects of seasonal change and parity on raw milk composition and related indices in Chinese Holstein cows in northern China. *Journal of Dairy Science*, 96(11), 6863-6869.
- Yentür, G., Er, B., 2012. Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(1), 41-52.
- Zain, M.E., 2011. Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*, 15, 129-144.
- Zeighami, H., Haghi, F., Naderi, G., Samei, A., Roudashti, S., Bahari, S., Shirmast, P., 2015. Detection of major food-borne pathogens in raw milk samples from dairy bovine and ovine herds in Iran. *Elsevier Small Ruminant Research*, 131, 136-140.

ÖZGEÇMİŞ**Kişisel Bilgiler**

Soyadı, Adı : YIKICI, Ezgi
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 01.01.1993- Sinop
Medeni Hali : Bekar
Telefon : 0535 017 77 71
e- mail : ezgiyikici@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Hitit Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü	2014
Lise	Sinop Atatürk Anadolu Lisesi	2010

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016-	Zepto Bilimsel Ürünler	Satış Temsilcisi

Yabancı Dil

İngilizce