

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ
ANABİLİM DALI



ELAZIĞ'DA ÜRETİLEN SÜTLERDE
AFLATOKSİN M1 DÜZEYLERİNİN
HPLC İLE ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yavuz BAYGELDİ

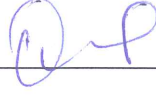
2017

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



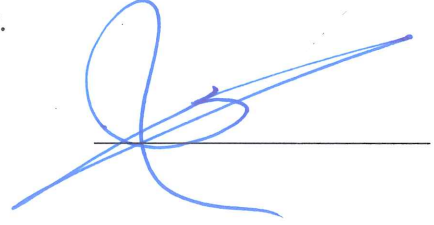
Prof.Dr. Gürdal DAĞOĞLU

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sadettin TANYILDIZI

Danışman

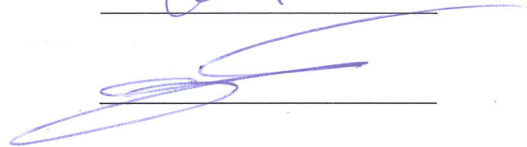
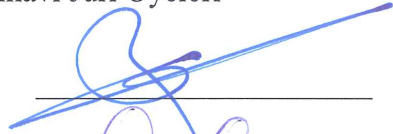


Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Sadettin TANYILDIZI

Prof.Dr. Gürdal DAĞOĞLU

Doç.Dr. Osman ÇİFTÇİ





ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Yavuz BAYGELDİ

Veteriner Hekim

07.12.2017

Prof. Dr. Sadettin TANYILDIZI

Danışman

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sũresince her tũrlũ konuda desteğini esirgemeyen danışman hocam Fırat Őniversitesi Veteriner Fakũltesi Farmakoloji ve Toksikoloji Ana Bilim Dalı ũyesi Prof. Dr. Sadettin TANYILDIZI, Elazığ Gıda Kontrol Laboratuvarında gœrevli Dr. Meltem KIZIL, Fırat Őniversitesi Fen Fakũltesi œęretim ũyesi Yrd.Doç.Dr Gœkhan GœKDERE, Fırat Őniversitesi Tarım ve Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Merkez Mũdũrlũęũnde Gœrevli İdris ACIKLI ve ayrıca benden manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eőim Betũl BAYGELDİ, kızlarım Nisa ve Erva BAYGELDİ'ye sonsuz teőekkũrler.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ONAY SAYFASI.....	ii
ETİK BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	v
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ	3
1.1 Mikotoksin Oluşumuna Etki Eden Faktörler.....	10
1.2. Mikotoksin Düzeylerinin Belirlenme Yöntemleri.....	12
1.3.Aflatoksinlerin Metabolizması.....	13
1.4. Aflatoksinlerin Etkileri.....	14
1.5. Aflatoksinlerin Atılımı.....	17

1.6. Aflatoksinler ile İlgili Yapılan Araştırmalar.....	17
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3. BULGULAR.....	21
4. TARTIşMA.....	24
KAYNAKLAR.....	28
ÖZGEÇMİş.....	33

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Mikotoksin çeşitleri, kaynakları, hedef organ, doku ve etkilenen hayvan türleri	5
Tablo 2. Türk Gıda Kodeksinde bazı gıda maddeleri için belirlenen maksimum aflatoksin düzeyleri	9
Tablo 3. Çeşitli ülkelerde süt ve süt ürünlerinde bulunmasına izin verilen maksimum AFM1 limitleri	10
Tablo 4. Mikotoksin tanımlanmasında kullanılan mikrotitre-plaka test kitleri	12
Tablo 5. Mikotoksinlerin belirlenmesinde hızlı testler	13
Tablo 6. Rumende oluşan biyotransformasyon ürünleri ve yemlerdeki aflatoksinlerin süte geçişi	17
Tablo 7. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Çalışma Şartları	20

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. <i>Aspergillus parasiticus</i> 'un elektron mikroskopundaki görünümü	3
Şekil 2. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları	6
Şekil 3. Reaktif metabolitlerin ve biyogöstergelerin oluşumuna aracılık eden AFB1metabolizması	14
Şekil 4. AFB1'in vücuttaki metabolizması	15
Şekil 5. 60 adet çiğ süt numunesindeki AFM1 miktarının dağılımı	21
Şekil 6. 36 adet çiğ süt numunesindeki AFM1 miktarının analizi	22
Şekil 7. 8 adet çiğ süt numunesindeki AFM1 miktarının analizi	23

KISALTMALAR LİSTESİ

Aflatoksin B1	: AFB1
Aflatoksin B2	: AFM2
Aflatoksin G1	: AFG1
Aflatoksin G2	: AFG2
Aflatoksin M1	: AFM1
Aflatoksin Q1	: AFQ1
Aflatoksin P1	: AFP1
Aflatoksin B2a	: AFB2a
Su aktivitesi	: aw
Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi	: HPLC
İnce Tabaka Kromatografisi	:TLC
Enzim Bağlantılı Bağışıklık Testi	: ELİSA
Dünya Sağlık Örgütü	: WHO
Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu	: IARC

ÖZET

Günlük hayatta tükettiğimiz birçok gıda ürününde; uygunsuz koşullarda üretim veya muhafaza şartlarına bağlı olarak, tek hücreli mantarlar tarafından üretilen ve mikotoksin adı verilen bileşikler bulunmaktadır. Bunların en önemlilerinden biri olan Aflatoksinler; vücuda alınma dozuna bağlı olarak toksik, mutajenik, terotojenik ve kanserojenik etkilere neden olmaktadır. Bu çalışmada; Elazığ merkez ve merkeze bağlı 22 köyden temin edilen süt numunelerinde, insan sağlığı açısından güçlü toksik etkiye sahip Aflatoksin M1 düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Elazığ'da faaliyet gösteren 30 süt üretim işletmesinden elde edilen toplam 60 adet süt numunesi, tek kullanımlık temiz kaplarda ve soğuk zincirde taşınmak suretiyle, Elazığ İl Gıda Kontrol Laboratuvarına getirilerek burada HPLC aracılığıyla, Aflatoksin M1 düzeyi yönünden analiz edilmiştir. Yapılan analiz neticesinde 60 adet çiğ süt numunesinin 16 (%27) tanesinin AFM1 içermediği, 36 (%60) tanesinin yasal sınırlar içinde AFM1 içerdiği ve geri kalan 8 (%13) tanesinin ise yasal sınırların üstünde AFM1 içerdiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Süt, Aflatoksin M1, HPLC, Elazığ

THE DETERMINATION OF AFLATOXIN M1 LEVELS IN MILK BY HPLC SAMPLES PRODUCED IN ELAZIĞ

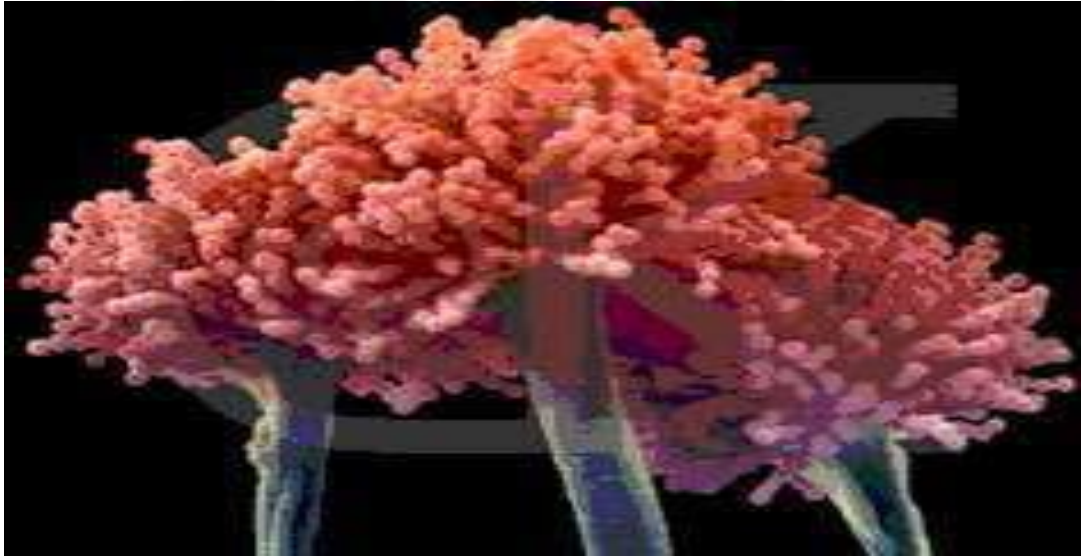
ABSTRACT

Harmful toxins are known as mycotoxins is produced by single-celled fungi and produced in a lot of food consumed in daily life depends on production or storage conditions under unfavorable conditions. Aflatoxins; one of the most important of these, cause toxic, mutagenic, teratogenic and carcinogenic effects depending on the dosage . The aim of this study is determine the levels of aflatoxin M1 in the milk samples produced in the Elazığ and its 22 villages. A total of 60 milk samples obtained from 30 milk production operations operating in Elazığ province were brought to Elazığ Provincial Food Control Laboratory by carrying them in disposable clean cups and cold chain and analyzed here by HPLC in terms of aflatoxin M1 level. As a result of analysis, it was found that 16 (27%) of the 60 raw milk samples did not contain AFM1, 36 (60%) contained AFM1 within the legal limits and the remaining 8 (13%) contained AFM1 above legal limits.

Keywords: Milk, Aflatoxin M1, HPLC, Elazığ

1. GİRİŞ

Mikotoksinler; uygun olmayan şartlarda üretilen veya depolanan yem hammaddeleri veya ürünlerinde tek hücreli mantarlar tarafından üretilen ve bu besinleri tüketen hayvan veya insanlarda zehirlenmeler ile ölüme yol açabilen toksik bileşiklerin genel adıdır (1, 2). Mikotoksin terimi, Grekçe mantar anlamına gelen *myco* ve zehir anlamındaki *toxin* kelimelerinin birleştirilmesinden türetilmiş olup, sebep oldukları zehirlenmelere mikotoksikozis adı verilmektedir (3, 4).



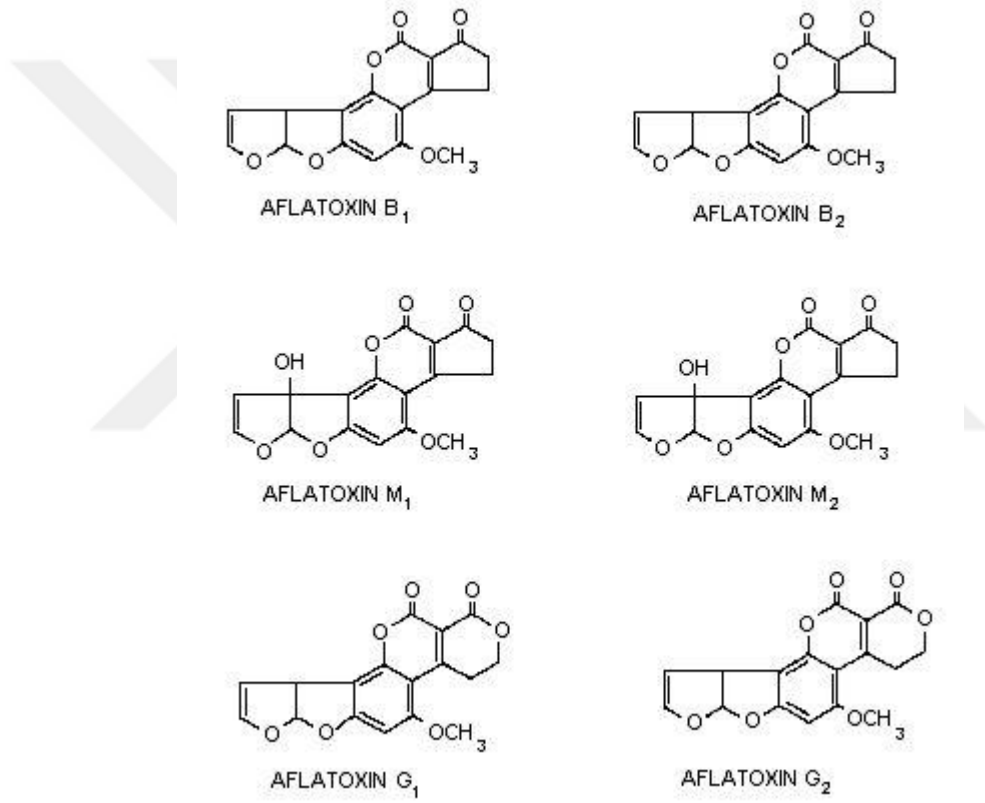
Şekil 1. *Aspergillus parasiticus*'un elektron mikroskobundaki görünümü

Günümüzde 110.000'i aşkın mantar türü belirlenmesine ve her türlü gıda ve yemin bu küflerin saldırısına hedef olmasına rağmen; bu türlerin büyük bir kısmı mikotoksin oluşturmamaktadır (5). Yapılan bazı araştırmalarda; mikotoksin üreten küf sayısının günümüzde yaklaşık olarak 350 civarlarında olduğunu ve bunların 300 çeşitten fazla mikotoksin sentezleyebildikleri belirlenmiştir (6, 7). Mikotoksinlerin üretimini gerçekleştiren mantarlar rüzgâr ve hava akımlarıyla taşınarak her ortamda bulunabilirler (8). Süt ve süt ürünlerinde bulunan en önemli mikotoksinler; *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* tarafından üretilen aflatoksinlerdir (9 - 11).

Tablo 1. Mikotoksin çeşitleri, kaynakları, hedef organ, doku ve etkilenen hayvan türleri

Mantar çeşidi	Mikotoksinler	Kaynaklar	Hedef organ, doku ve oluşan etki	Etkilenen canlılar
<i>A. flavus</i> <i>A. parasiticus</i> <i>P. puberulum</i>	Aflatoksinler	Tahıl, yem ve yağlı tohumlar	Karaciğer; gelişme hızı ve verimde azalma, sarılık, kanama, sürgün, karaciğer kanseri ve bağışıklık sisteminin stimüle	Tüm hayvan türleri ve insanlar
<i>A. ochraceus</i> <i>P. viridicatum</i>	Okratoksinler	Tahıl ürünleri ve otlar	Karaciğer ve böbrekte hasar, iştah kaybı, ishal ve bağışıklık sisteminin stimüle edilmesi	Kanatlılar ve insanlar
<i>P. rubrum</i>	Rubratoksinler	Tahıl, baklagiller ve yağlı tohumlar	Aflatoksinlere benzer etki gösterirler	Tüm hayvan türleri
<i>F. roseum</i> ve diğer <i>Fusarium</i> türleri <i>P. citrinum</i>	Zearelenon Sitrinin	Tahıl ürünleri Tahıl Ürünleri	Östrojenik etki Sinirsel belirtiler, ishal, gelişme geriliği, karaciğer ve böbrek nekrozu, kalp ve iskelet kasında miyopati	Geviş getirenler ve domuz Kanatlılar ve domuzlarda
<i>A. versicolor</i> <i>A. nidulans</i>	Aspertoksin Sterigmatosistin	Tahıl, pirinç ve yem	Karaciğer kanseri	Tüm hayvan türleri
<i>A. clavatus</i> <i>P. patulum</i>	Patulin	Silaj, elma ve yem	Sinirsel belirtiler, beyinde kanama ve deri kanseri	Büyükbaşlar
<i>A. ochraceus</i> <i>P. puberulum</i> <i>Fusarium</i> , <i>Trikoderma</i> , <i>Sefalosporium</i> vb.	Penisillik asit Trikotesenler	Tahıl ve mısır Tahıl ürünleri ve yemler	Deri kanseri ve kanamalar Dermatit, deride nekroz kanama, anemi ve granülositopeni vb.	Tüm hayvan türleri Tüm hayvan türleri
<i>P. citreoviridae</i>	Streoviridin	Pirinç ve tahıl ürünleri	MSS, kalp ve solunum felci ve çırpınmalar	Tüm hayvan türleri
<i>F. tricinctum</i>	Butenolid	Mısır, ot ve tahıl	Bacaklarda gangren ve kuyrukda nekroz	Sığırlar
<i>Penicilium</i> türleri	Penitremler	Tahıl ürünleri	Kas titremeleri, felç ve çırpınmalar	Tüm hayvan türleri
<i>Fusarium</i> türleri	Fuminosinler	Mısır	Beyin ve akciğer yangısı	At, domuz, ve kanatlılar
<i>A. flavus</i> <i>A. oryzae</i> <i>A. niger</i> <i>A. oxalicum</i>	Kojik asit Okzalik asit	Mısır Bitki türleri	Çırpınmalar ve ödem Midede kasılma, MSS ve böbrekte hasar, kanama ve kan kalsiyum düzeyinde azalış	Tüm hayvan türleri Tüm hayvan türleri
<i>C. purpurea</i> <i>C. paspali</i>	Ergot alkaloidler	Tahıl ürünleri	Kuru gangren, aşırı uyarı ve Koagülasyon	Tüm hayvan türleri

Ultraviyole altında mavi floresans veren iki bileşen, AFB₁ ve AFB₂ olarak; sarı-yeşil floresans veren iki bileşen ise AFG₁ ve AFG₂ olarak tanımlanmıştır (12, 13). Ayrıca, aflatoksin içeren yemleri tüketen hayvanların sütlerinde bu toksinlerin bir türevinin daha salgılandığı ortaya çıkmış ve sütte bulunmasından dolayı buna süt toksini anlamına gelen aflatoksin M adı verilmiştir (14).



Şekil 2. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları

1960 yılı mikotoksinlerin incelenmesinde dönüm noktası olup, bu tarihe kadar tarımsal ürünlerin küflenmesi sadece ekonomik bakımdan sorun

oluşturduken; 1960 sonrasında canlılarda oluşturduğu septomlar nedeniyle araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Bu zamana kadar basidiomycota içinde yer alan şapkalı mantarların ölümcül toksinlerinin (amanita toksin, muskarin, küf atrofini) bilinmesine karşın, filamentli funguslar tarafından oluşturulan toksinler üzerine fazlaca bilgi toplanmamış durumdaydı. Ancak, 1960 yılında; canlılar tarafından tüketilmesiyle fazla miktarda toksikasyon görülen, aynı zamanda kanserojen özellikde olan, aflatoksin adı verilen bu metabolitin keşfinden sonra, mikotoksinler bilim dünyasında yoğun araştırılan bir konu haline gelmiştir (15, 16). Halbuki küflerin insan ve hayvanlarda hastalık oluşturdukları, hatta sporadik veya toplu ölümlere yol açtıklarına ilişkin veriler bir hayli eski tarihlere dayanmaktadır. Eski tarihlerden beri bilinen, kayıtlarda en fazla yer alan şapkalı mantarlar dışında küf zehirlenmesi *Claviceps purpurea* (çavdar mahmuzu) ile enfekte olmuş tahıl ürünlerinin tüketilmesiyle, ergotizm adı verilen olay mikotoksikosis olayıdır (17 - 19). Burada zehirlenmeye yol açan madde küfün oluşturduğu ergot alkaloididir (20, 21). M.Ö. 600 yıllarda çavdar mahmuzu adı ile bilinen *Claviceps purpurea* sklerotialarıyla kontamine olmuş tahılların zararlı etkilerinden, o tarihlerde yazılmış olan Asur tabletlerinde söz edilmiştir (22). M.Ö. 400 yılında ise Sparta' da ilk toplu zehirlenmeye ilişkin kayıtlar bulunmuştur (23). Orta çağda binlerce insan ergotizme yakalanmış olup, o tarihlerde Aziz Antonius humması adı verilen vakalar yüksek ateş, el, kol, ayak, bacaklar ile el ve ayak parmaklarında nekroz, gangrenleşme gibi belirtilerin yanı sıra karıncalanma ve uyuşma belirtileri gösteren sinir hastalığı olarak eski kayıtlarda görülmektedir (24, 25). Ülkemizde ilk aflatoksin kontaminasyon olayı 1967 yılında farkedilmiş olup, o yıl Kanada'ya ihraç edilen iç fındıkların bir kısmının küflenme

belirtileriyle geri gönderilmesi ile başlamıştır (26, 27). Daha sonra 1972 ile 1974 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri'ne ihraç edilen Antep fıstıkları, aflatoksin içerdiği için ihraç edilen ürünler iade edilmiştir (28).

Aflatoksinlerin halk sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin ortaya çıkmasıyla, 19 Haziran 1993 yılında Dünya Sağlık Teşkilatına (WHO) bağlı olan, Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu (IARC) ile birlikte harekete geçilmiş ve AFB1 birinci dereceden, AFM2 (insanlar için muhtemel kanserojen madde) ikinci dereceden kanserojen madde grubuna alınmıştır (29, 30).

Aflatoksinlerin zararlı etkilerini minimize etmek amacıyla dünyada hemen hemen bütün ülkeler yasal bazı sınırlamalar getirmek zorunda kalmıştır (31). Ülkemiz de Türk Gıda Kodeksinde gıdalar, için aflatoksin limitleri belirlenmiştir (Tablo 2) (32). Yine Avrupa Birliği de bu konuda hassas davranarak gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen en yüksek aflatoksin düzeylerini belirlemiştir (Tablo 3) (33, 34).

Tablo 2. Türk Gıda Kodeksinde bazı gıda maddeleri için belirlenen maksimum aflatoksin düzeyleri

Gıda Maddesi	Aflatoksin (μ g/kg,L)		
	B1	B1+B2+G1+G2	M1
Fındık, yer fıstığı ve diğer yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, incir, üzüm ve kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar.	5	10	-
Tahıllar	2	4	-
Süt			0.05
Süt tozu			0.5
Peynir			0.25
Bebek mamaları ve devam formülleri			0.05
Bebek mamaları ve bebek gıdaları	1	2	0.01
Baharat	5	10	-

Tablo 3. Çeşitli ülkelerde süt ve süt ürünlerinde bulunmasına izin verilen maksimum AFM1 limitleri

Ülke	Ürünler	Maksimum Limit (µg/kg-l)
Belçika	Süt, süt tozu, kondanse süt	0,1
Romanya	Süt ve mamülleri	0
Avusturya	Çocuk ve bebekler için pastörize sütler	0,01
	Diğer sütler ve süt ürünleri	0,05
ABD	Süt ve ürünleri	0,5
İsviçre	Süt, süt tozu, kondanse süt	0,05
	Bebekler için süt	0,01
İsveç	Sıvı süt ürünleri	0,05
Hollanda	Süt ve diğer sıvı süt ürünleri	0,05
Almanya	Süt	0,05
	Bebek sütleri	0,01
Rusya	Süt ve süt ürünleri	0,05
	Çocuk gıdaları	0
Türkiye	Süt ve süt ürünleri	0,05

1.1.Mikotoksin Oluşumuna Etki Eden Faktörler

Küflenme diye halk dilinde tabir edilen olay, çoğunlukla saprofit özellikli mantarların invazyonuna bağlı olarak, gıda ve tarımsal ürünlerin bozulması ve tozlu lifli bir görünüm alması olarak nitelendirilebilir (35). Küflenme genelde ortam rutubetinin % 50-60'ın üzerinde olduğu, gıda rutubetinin % 9, aw değerinin ise 0.70'in üzerine çıktığı şartlarda küf mantarının optimal üreme şartlarına kavuşması ve mikotoksin üretmesi ile oluşur (36). Aflatoksin sentezleyen *Aspergillus* 10 °C ile 45 °C arası sıcaklıklarda ürerken optimal üremesi için gerekli sıcaklık derecesi; 35-38 °C olup, en fazla toksin sentezledikleri sıcaklık ise 25 °C ile 30 °C arasındır (37). Küfler pH 2,1-11,2 gibi geniş bir aralıkta

üreyebilmelerine karşın; pH 3,0-8,0 arasında optimum üremeleri gerçekleşmektedir. Ancak, genel bir kural olarak bazik ortamlara göre hafif asit pH'lı gıdalar, fungal etkinlikler için daha uygun ortam oluştururlar. Optimum seviyede aflatoksin pH 6,0'da meydana gelir (38). Ortamda oksijen yoğunluğunun % 45'den % 1'e kadar düşürülmesi veya karbondioksit yoğunluğunun % 10'dan daha yukarıya çıkartılması *Aspergillus flavus*'un üremesini ve aflatoksin üretimini azaltıcı bir etki gösterir. Ortamın karbondioksit yoğunluğunun % 20'nin üzerine çıkarıldığı durumlarda ise küflerin meydana gelmesi ve toksin oluşumu kayda değer bir şekilde artmaktadır (39). Besin maddesinin çeşidi ve fiziksel durumu fungal gelişme, çoğalma ve mikotoksin çeşitlerinin sentezi üzerinde etkili olmaktadır. Küfler, üremeleri için organik karbonlara ve diğer enerji kaynaklarına ihtiyaç duymakta olup; glikoz ve diğer düşük molekül yapısına sahip monosakkaridler ile suda çözünebilir organik maddeleri besin kaynağı olarak kullanırlar (40). Ayrıca, küflerin üreyip toksin sentezleyebilmeleri için pepton, polipeptid ve aminoasitler gibi organik maddeleri azot kaynağı olarak kullanmaya; magnezyum (Mg), kalsiyum (Ca), potasyum (K), çinko (Zn), demir (Fe), fosfor (P) gibi elementlere de ihtiyaçları vardır (41). Küfler üreyebilmeleri için bazı uygun ortamlara ihtiyaç duymaktadırlar. Gıda maddelerinin içeriğinde bulunan yağ ve karbonhidrat gibi moleküller mantarların üremesi ve toksin meydana getirmeleri için uygun ortamı sağlarlar. Tahıl gruplarından pirinç, yulaf, buğday, mısır vb. ürünlerle beraber pamuk tohumu, soya fasulyesi, yer fıstığı gibi ürünler, yağ ve karbonhidrat miktarı bakımından zengin olduklarından mikotoksin üreten mantarların üreme ortamları oluşmakta ve üretilen toksin tehlikeli boyutlara ulaşmaktadır (42). Bitkisel ürünlerde özellikle hasat öncesi veya

uygunsuz depolanma şartlarına bağı olarak, hasat sonrası hayvansal ürünlerde ise çoğunlukla kontamine hayvan yemlerinin tüketilmesine bağı olarak da mikotoksinler ortaya çıkabilmektedir (43). Sütte yüksek miktarlara ulaşabilen AFM1 düzeylerinin, çeşitli işleme teknikleri ile ne derece azalabileceğinin incelenmesi sırasında pastörizasyon, sterilizasyon, buharla muamele etme, fırında pişirme, soğutma ve dondurma gibi işlemlere dayanıklı olduğu ve bu işlemlerden önemli düzeylerde etkilenmediği bildirilmiştir (44, 45).

1.2. Mikotoksin Düzeylerinin Belirlenme Yöntemleri

Aflatoksin düzeylerinin belirlenmesinde; Enzyme-linked immuno sorbent assay, gaz kromatografisi, ince tabaka kromatografisi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemleri ve tekniğe bağı olarak kütle spektrometresinden yararlanılmaktadır (46 - 48).

Tablo 4. Mikotoksin tanımlanmasında kullanılan mikrotitre-plaka test kitleri

Mikotoksinler	Test kitleri	Gıda, Ürün,	Duyarlılık (ppb) *	Üretici firmalar
AF M1	Ridascreen	Süt, Peynir	0.005 - 0.1	R-Biopharm, De
	ELISA	Süt	0.005	Riedel-de Häen, De
AF B1	Ridascreen	Hububat, yem	0.625	R-Biopharm, De
	ELISA	Hububat, yem	0.4	Riedel-de Häen, De
	Aflatoksin B1	Hububat, yem	0.055 (0.1) **	Diffchamb, Fr
AF (B1 B2 G1 G2)	Biokit	Hububat	0.016	Cortecs, UK
OTA	Ridascreen	Hububat, yem Domuz serumu, Bira Hububat	0.4 0.1	R-Biopharm, De
	Biokit		0.05	Cortecs, UK
Zearalenon	Ridascreen	Hububat, yem	0.125	R-Biopharm, De
		Bira	0.25	
		Serum, idrar	0.05	
T-2 toksin	Ridascreen	Hububat	5	R-Biopharm, De
Deoksinivalenol	Ridascreen	Hububat, bira	1.25	R-Biopharm, De
Fumonisin	Ridascreen	Mısır	9	R-Biopharm, De

ABD firmalarınca üretilen hızlı testler daha az duyarlı immunofiltrasyon esaslı yöntemlerdir. Avrupa' da pek kabul görmemekle beraber, bu testlerin analiz süreleri 10 dakika olup, bunlardan kalitatif veya yarı kantitatif sonuçlar alınabilmektedir (49).

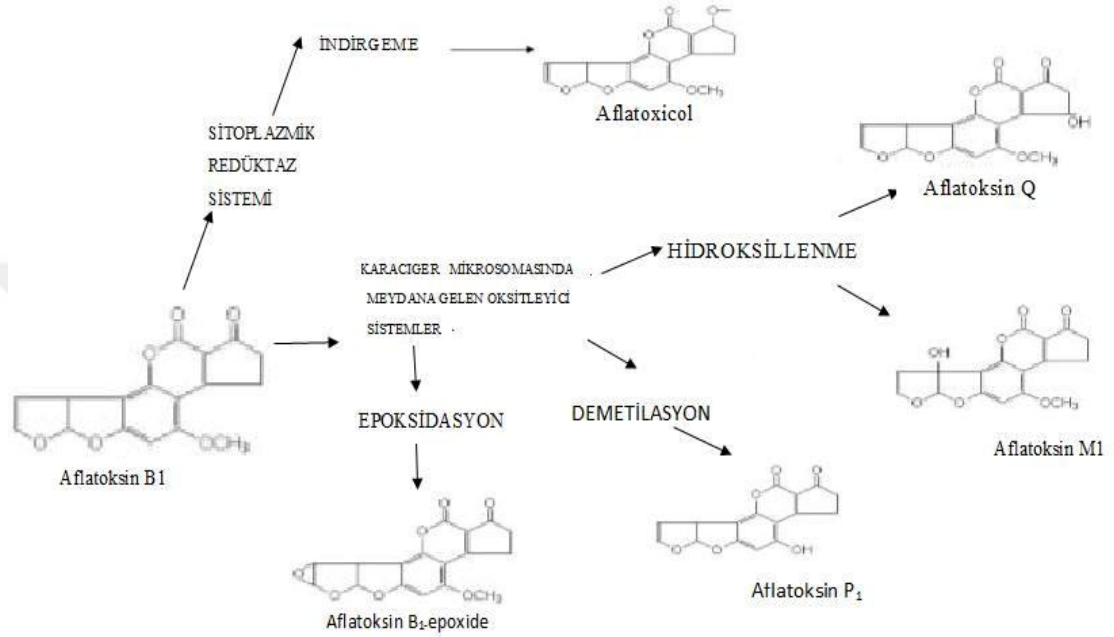
Tablo 5. Mikotoksinlerin belirlenmesinde hızlı testler

Mikotoksinler	Test kiti	Test prensibi	Gıdalar, Ürünler	Duyarlılık(ppb)	Üretici firma
AF B1, B2, G1,	AflaCup EZ-Scr.	İmmf. İmmf.	Mısır, pamuk tohumu yem	10 / 20	Romer Labs, Union ABD Diagnostic
G2	Cite Prb.	İmmf.	Tahıllar, fındık, soya, Mısır	5 / 20	(Editec), Kanada Idexx
AF B1,G1	Agri-Scr. Field Kit	Tüp testi	Mısır, pamuk tohumu. Yer fıstığı,	15	Neogen Lansing, ABD
AF M1	Cite Prb	İmmf.	yem Süt	0.5	Idexx, Almanya
T-2	EZ-Scr.	İmmf.	Tahıl	50	Diagnostic (Editec), Kanada
OTA	EZ-.Scr.	İmmf.	Tahıl	20	Diagnostic (Editec), Kanada
Zearalenon	EZ-Scr.	İmmf.	Tahıl	100	Diagnostic (Editec), Kanada

1.3. Aflatoksinlerin Metabolizması

Bulaşık besinlerle alınan aflatoksinler sindirim kanalından kolayca emilir aflatoksikole dönüşür ve çoğunlukla serum albüminlerine bağlanırlar (50, 51). Aflatoksinlerin az bir kısmı ise makromoleküllerde (karaciğerde hepatositler, DNA, endoplazmik steroidlerin bağlanma yüzeyleri ve çeşitli enzimler gibi) depolanırken, önemli bir bölümü de su ve yağda çözünen metabolitlere (aflatoksin Q1, P1, B2a, aflatoksikol M1 ve M2 gibi) dönüşürler. Ancak, ruminantlarda sindirim kanalında bulunan aflatoksinler, emilmeden önce rumen mikroflorası tarafından kısmen suda çözünebilir konjugasyon ürünlerine çevrilirler (52, 53). Buradan emilerek dolaşıma geçen toksinler, plazmadan hızla ayrılarak başta

etkinliğinin bozulmasına bağlı olarak gösterirler. Aflatoksin-kromatin etkileşmesi sonucunda DNA'ya bağlanmış olan metabolit, mRNA sentezini engellemiş olmakta ve sonuçta DNA'ya bağlı olarak RNA sentezi ve dolayısıyla bazı protein ve enzimlerin sentezi engelleyerek etki göstermektedirler (62 - 64).



Şekil 4. AFB1'in vücuttaki metabolizması

Aflatoksinlerin diğer olumsuz etkilerinden biri de immunoglobulin G, immunoglobulin A, interferon ve komplementinin üretiminde azalmaya neden olmaktır. Ayrıca, bu toksik bileşikler Lenfositlerin göçünü, lenfoblastların gelişmesini ve fagositlerin etkinliğini baskı altına aldığından, vücuttan mikroorganizmaların atılımı ve antijenlerin bağışıklık sistemine girişini baskılamaktadır. Aflatoksinlerin sayılan bu immunotoksik etkileri hayvan denemeleri ile ortaya konulmuş olmakla beraber, insanlardaki immunotoksik

etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (65). Aflatoksinlerin protein sentezi ve karbonhidrat üzerine etkileri ise, glikojen sentezini; glikojen sentetaz ve transglikosilaz enzimlerinin etkinliğini önleyerek ve Glikoz-6-fosfatın yükseltgenmesini hızlandırmak suretiyle karaciğerdeki glikojen miktarının azaltılmasıyla göstermektedir. Yağ metabolizması üzerine olan etkileri ise, karaciğerde yağ asitlerinin sentezi için gerekli olan Sitozolik nikotinamid adenin dinükleotid ve PH düzeyini artırıp karaciğerde yağ birikimine neden olmaktadır. Bu bileşiklerde bulunan trigliserollerle beraber, fosfolipidlerin ve kolesterolün taşınmasını da engellerler (66). Hücre solunumuna olan etkileri ise, mitokondriumlarda gerçekleşen oksidatif fosforilasyon reaksiyonu sırasında olmaktadır. Oksidatif fosforilasyon zincirinin engellenmesi mitokondriumlarda enerjiye bağımlı kalsiyum taşınmasının engellenmesine, ATP ile karşılanan mitokondrium zarının enerji ihtiyacının engellenmesi ve sonuçta ATP'ye bağımlı zar geriliminin kaybolmasına neden olmaktadır (67). Aflatoksinler, insan ve hayvanlarda karsinojenik (karaciğer, kolon ve böbreklerde kanser oluşumu), mutajenik (aflatoksin B1 en mutajen mikotoksindir), teratojenik (protein sentezinin inhibisyonu, canlılarda sakat veya ölü doğumlar), hepatotoksik (karaciğerde yağlanma, soluk renk, nekroz, kanamalar, sarılık ve siroz) etkileri yanında böbreklerde fonksiyon bozuklukları, immün sistemde zayıflama ve interferon oluşumunu azaltarak, genel durum bozukluğu ve verim düşüklüğüne neden olmaktadır (68 - 70). Aflatoksinlerin; ısı uygulamalarına karşı dirençli olmaları nedeniyle, insan ve hayvanlarda tehlikeli sonuçlar meydana getirmektedirler (71). Ayrıca Reye sendromu, kwashiorkor, çocukluk dönemi

şirozu, kısırılık, bağışıklık sisteminin baskılanması, kronik mide yangıları ve bazı solunum yolu hastalıklarına da neden olmaktadır (72, 73).

1.5. Aflatoksinlerin Atılımı

AFM1, AFB1 yemle alındıktan sonra %70-75'lik kısmı ilk 24 saat içerisinde dışkı, %15-20'lik kısmı idrar ve geri kalan kısmı ise değişmeden veya türevleri halinde süttten atılmakta olup, dışkı, idrar ve sütle atılmayan kısmın takriben % 5 civarlarında karaciğerde biriktiği bildirilmektedir (74). Hayvan vücuduna alınan AFB1, 6-24 saat içinde sütte tespit edilmekte, 12-48 saat içinde en yüksek düzeyine ulaşmakta ve AFB1 alımı kesildikten 72-96 saat sonra sütte azalmaktadır (75, 76).

Tablo 6. Rumende oluşan biyotransformasyon ürünleri ve yemlerdeki aflatoksinlerin süte geçişi

	Rumen metabolizması sonucu oluşan ana ürünler	Biyolojik etkinliğinin azaltılması	Tahmini süte geçiş oranları
Aflatoksin B1	Aflatoksikol	Az	n.d. ^a 0-12.4 µg l ^{-1b}
	Aflatoksin M1 ^c	Az	% 2.0-6.2

1.6. Aflatoksinler ile İlgili Yapılan Araştırmalar

Yapılan araştırma sonuçlarına göre, AFM1'in süt ve süt ürünleri miktarlarındaki bulunma düzeylerinde, ülkeler ve ülkelerin coğrafi konumlarına göre büyük farklılıklar tespit edilmiştir (77). Çin Halk Cumhuriyetinde 2013-2015 yılları arasında 1550 çiğ süt numunesinde, HPLC kullanılarak yapılan AFM1 düzeyi tespiti çalışmasında, 2013 yılında 366 çiğ süt numunesinin %2' sinin, 0.01

$\mu\text{g/l}$ ile $0,24 \mu\text{g/l}$ arasında, %11.7'sinin ise $0.05 \mu\text{g/l}$ ve üzerinde AFM1 içerdiği, 2014 yılında 624 çiğ süt numunesinin %28'sinin $0.24 \mu\text{g/l}$ ile $0,25 \mu\text{g/l}$ arasında, %7.7'sinin ise $0.05 \mu\text{g/l}$ ve üzerinde AFM1 içerdiği, 2015 yılında ise 560 çiğ süt numunesinin %14.1'nin $0.01 \mu\text{g/l}$ ile $0,144 \mu\text{g/l}$ arasında, %1.8'sinin ise $0.05 \mu\text{g/l}$ ve üzerinde AFM1 içerdiği tespit edilmiştir (78). 2015-2016 yıllarında İtalya'da yapılan bir çalışmada, 416 çiğ süt numunesinin 51 tanesinde (%12,3) AFM1 yasal sınır düzeyi olan $0.05 \mu\text{g/l}$ üzerinde AFM1 tespit edilmiştir (79). İran'ın Qazvin Eyaletinde, 2015 yılında, süt üretim çiftliklerden toplanan 224 adet çiğ süt numunesinin, 144 (%56,7) tanesinin, AFM1 yasal sınır düzeyi olan $0.05 \mu\text{g/l}$ üzerinde olduğu belirlenmiştir (80). 2016 yılında Malezya'da yayınlanan bir çalışmada 53 adet süt ve süt ürünlerinden oluşan numunelerden 19 (%35,8) tanesinin AFM1 içerdiği, 4 (%7,5) adet numunesinin ise yasal sınırların üzerinde AFM1 içerdiği tespit edilmiştir (81). 2014–2015 yıllarında Pakistan'da yapılan bir çalışmada 74 adet çiğ süt numunesinin 48 (%64) tanesinin AFM1 içerdiği, 60 adet Uht sütün 42 (%70) tanesinin AFM1 içerdiği tespit edilmiştir (82). Türkiye'de, 25 ilden toplanılan çiğ süt örneklerinde, 360 adet örnekten 159 (%44.3) tanesinde AFM1 tespit edilmiş ve bunların 48 (%13,3) tanesinin ise $0.05 \mu\text{g/l}$ 'nin üzerinde AFM1 içerdiği saptanmıştır (83). Yine Mardin ilinde 2016 yılında yapılan araştırmada, 48 adet çiğ süt numunesinden 26 tanesinin AFM1 içerdiği ve bunların da 18 tanesinin yasal limitler üzerinde olduğu belirlenmiştir (84). Trakya bölgesinde yapılan çalışmada 135 adet çiğ süt numunesinin 116 (%86) tanesinde AFM1 içerdiği tespit edilmiş olup, AFM1 bakımından pozitif çıkan örneklerden sadece 1 (%0,74) tanesinde yasal sınırların üzerinde olduğu, AFM1 içeren numunelerin $0,001-0,068 \mu\text{g/l}$ arasında değiştiği saptanırken, genel ortalama $0,008$

$\mu\text{g/l}$ olarak bulunmuştur (85). Aydın ve Denizli illerinde bulunan 2 kooperatife süt veren 3 çiftlikten yaz ve sonbahar dönemleri boyunca 81 süt örneği üzerinde yapılan çalışmada incelenen örneklerinin hepsinin AFM1 içermesi ve bunlardan 20 tanesinin yasal sınırların üzerinde olduğu yapılan çalışmayla belirlenmiştir (86). Kayseri ve köylerindeki inek sütlerindeki Aflatoksin M1 seviyelerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada, 90 çiğ süt örneğinden ELISA yöntemi kullanarak çalışılmış olup; Türkiye gıda kodeksine göre numunelerin 63 (% 70)'un yasal sınırların üzerinde olduğu tespit edilmiştir (87).

Mikotoksin çeşitleri arasında hayvan türleri ve insanlar için zehirli olmaları, ayırım gözetmeksizin her çeşit yem ve besin maddelerinde yaygın kirlenmeye yol açmaları, bir çok hayvan türünde ve insanlarda karsinojenik olmaları, küflü yemleri yiyen hayvanların et ve süt gibi ürünlerinde kalıntılarının rastlanması gibi sebeplerle, aflatoksinler; halen yoğun biçimde araştırılan en önemli mikotoksin grubunu oluşturmaktadır. Yapılan bu araştırmada, Aflatoksinli yemlerle beslenen evcil hayvanlardan elde edilen sütlerin, neden olması muhtemel sağlık risklerinin ciddiyetine bağlı olarak, Elazığ'da bu konuda yapılmış bir çalışmaya literatürlerde rastlanmaması sebebiyle; bu sütlerin kontrolüne dikkat çekmek amacıyla Elazığ'daki 30 farklı süt işletmesinden temin edilen 60 adet çiğ süt numunesinde Aflatoksin M1 düzeylerinin belirlenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

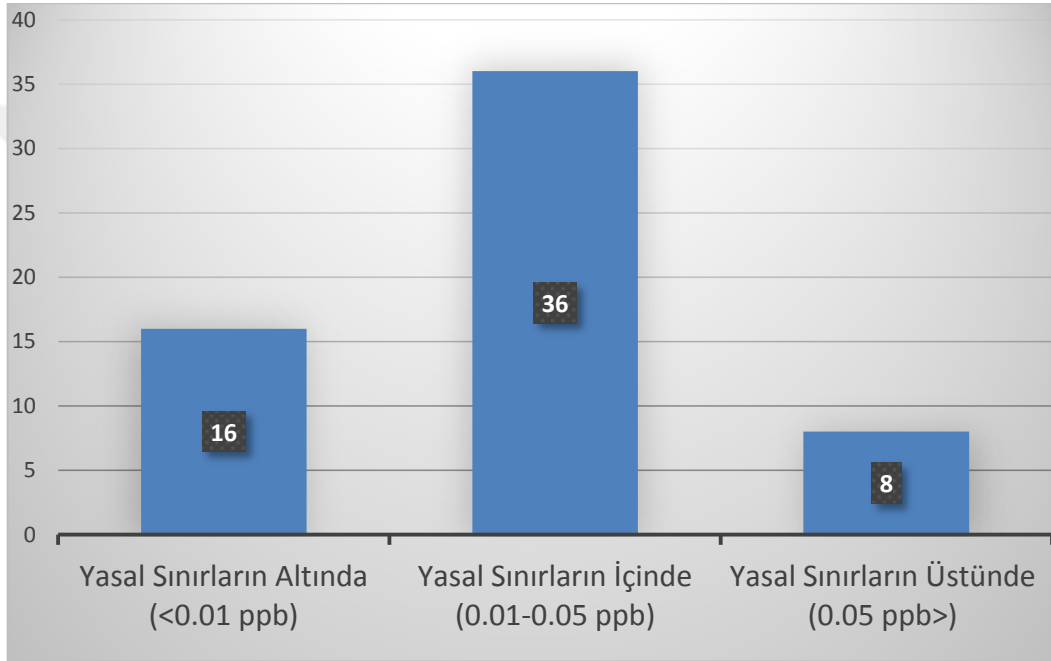
Araştırmada Elazığ merkeze bağlı 22 köyden süt üretimi yapan, en az 20 büyükbaş ve üzeri hayvan bulunduran, 30 ayrı işletmeden, her işletme başına 2 örnek olmak üzere, her hayvandan bireysel veya süt toplama tankından toplam 60 adet çiğ süt örneği Aflatoksin M1 varlığı ve miktarı yönünden analize tabi tutulmuştur. Örnekler, tek kullanımlık temiz kaplarda ve soğuk zincirde taşınmak suretiyle getirilerek Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Elazığ İl Gıda Kontrol Laboratuvarında Aflatoksin M1 yönünden HPLC TS EN ISO 14501 yöntemi ile analiz edilmiştir. Her işletmeye ait süt örnekleri ayrı ayrı kaydedilerek, analiz sonrası elde edilen sonuçlar Aflatoksin M1 düzeyi yönünden değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler aritmetik ortalama yöntemi ile hesaplanmıştır.

Tablo 7. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi Çalışma Şartları

Kolon	HPLC C18 kolon(250x4,6 mm,ID)
Dedektör	FLD
Akış hızı	1 ml/dk
Kolon sıcaklığı	25 °C
Kolon basıncı	300 psi
Enjeksiyon hacmi	100
Dedektör Dalga Boyu	360nm-440 nm
Hesaplama	ng/ml (ppb)

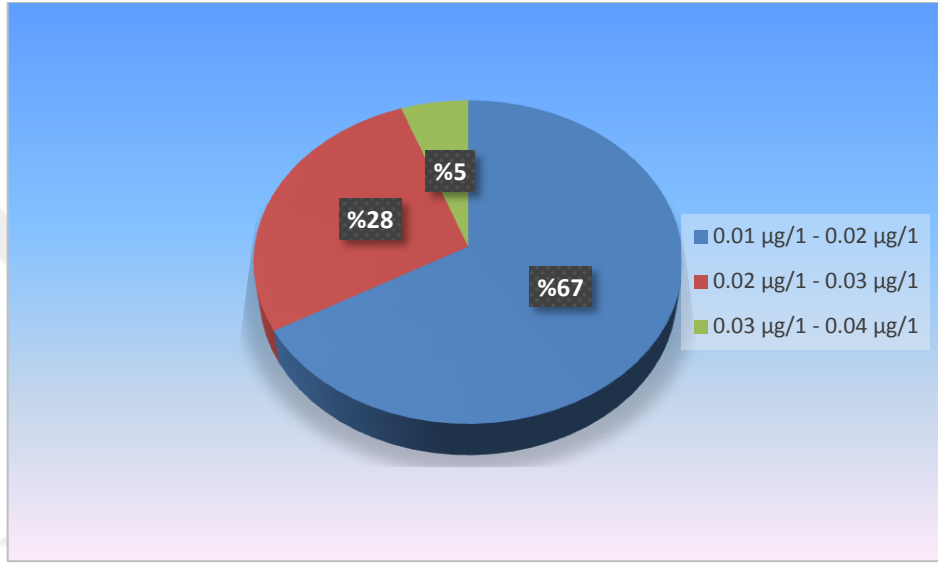
3. BULGULAR

Analizi yapılan 60 adet çiğ süt numunesinin 16 (%27) tanesinin yasal sınırların altında AFM1 içerdiği, 36 (%60) tanesinin yasal sınırların içinde AFM1 içerdiği ve geri kalan 8 (%13) tanesinin ise yasal sınırların üstünde AFM1 içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 5).



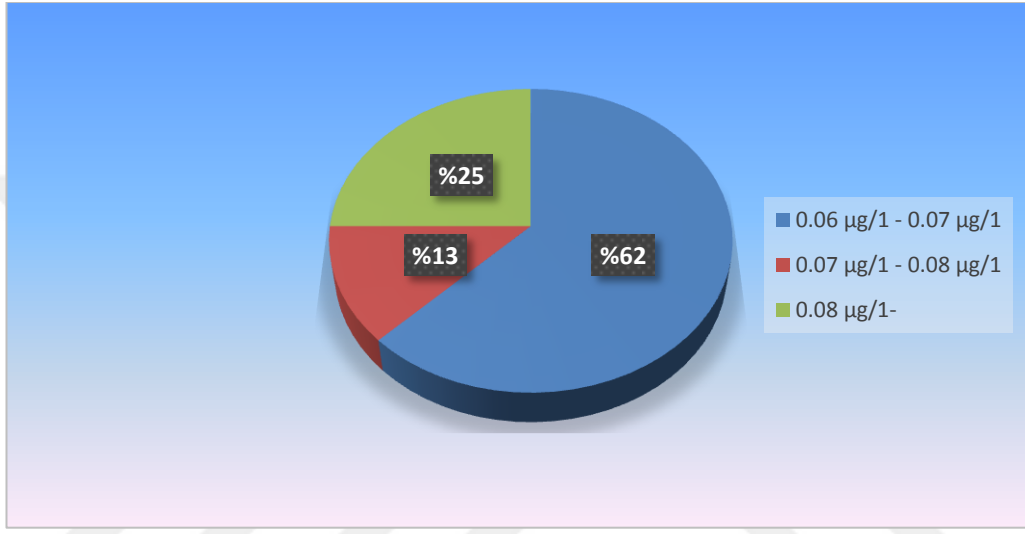
Şekil 5. 60 adet çiğ süt numunesindeki AFM1 miktarının dağılımı

Analizi yapılan 60 adet çiğ süt numunesinin 36 adet tanesinin yasal sınırlar içinde olduğu bunların 24 (%67) tanesinin 0.01 µg/l - 0.02 µg/l arasında olduğu, 10(%28) tanesinin 0.02 µg/l - 0.03 µg/l arasında olduğu 2 (%5) tanesinin 0.03 µg/l -0.04 µg/L arasında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. 36 adet çiğ süt numunesindeki AFM1 miktarının analizi

Analizi yapılan 60 adet çiğ süt numunesinin 8 tanesinin yasal sınırların üzerinde AFM1 bulundurduğu bunların 5 (%62) tanesinin 0.06 µg/l - 0.07 µg/l arasında, 2 (%25) tanesinin 0.07 µg/l - 0.08 µg/l arasında , 1 (%13) tanesinin ise 0.08 µg/l ve üzerinde AFM1 içerdiği tespit edilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. 8 adet çiğ süt numunesindeki AFM1 miktarının analiz

4. TARTIŞMA

Ülkemizde, yem ham maddelerinin aflatoksin içermesinin en önemli sebebi; litaratürlerdende anlaşılacağı üzere, depolanma sırasındaki fiziksel şartların uygunsuzluğudur. Yem maddelerinin daha ucuz ve bulunabilir olduğu dönem sonbahar ayları olduğundan, bu aylarda, işletmelerin yem depolama kapasitesinden daha fazla miktarlarda yem alımı gerçekleşmektedir. Alınan ürünlerden yonca, saman, korunga, fiğ, mısır arpa gibi yem maddeleri depolarda özellikle kış aylarında ürünün pahalı olduğu dönemlerde kullanılmak üzere muhafaza edilmektedir. Hayvancılıkta işletmelerin modernliği ve depolama şartlarına yapılan yatırım ve bakış açısını göz önüne aldığımızda depoların fiziki şartlarının çok da iyi durumda olmadığı aşıkardır. Depolarda tüketilmesi için saklanan ürünler fiziki şartlara bağlı olarak kısa bir süre içerisinde fiziksel ve kimyasal değişikliklere uğramaktadır. Sonuçta yemlerin renk, koku vb. fiziksel özelliklerinin değişmesi yanı sıra kimyasal olarak da DNA yapısının bozulması vb. değişiklikler meydana gelmek de olup, uygunsuz şartlarda depolanan yem ve ham maddelerinde üreyen mantarlara bağlı olarak mikotoksin üretimi hızla artmaktadır.

İnsanoğlunun en önemli besin kaynaklarından biri olan süt içerdiği minareller ve vitaminler bakımından oldukça zengin besleyici değeri yüksek olan vazgeçilmez bir besin kaynağıdır. Küflü, bozuk diye tabir ettiğimiz AFB1 içeren yemlerle beslenen hayvanların sütlerinde, AFMB1'in Hidroksi türevi olan AFM1 diye tanımlanan mikotoksin bulunmaktadır. Sütlerde bulunan AFM1 miktarı ile

yemlerde bulunan AFB1 arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Sütlerde bulunan AFM1'in asıl kaynağı yemlerde bulunan AFB1'dir (88). AFM1 içeren sütlerin kullanımının, insan ve hayvanlar için toksik, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etkilere neden olduğu bilinmektedir (89).

Süt ve süt ürünlerinde aflatoksinlerin varlığı ve seviyelerini tespit etmek için HPLC, TLC ve ELISA yöntemleri kullanılmaktadır (90,91). AFB1 içeren yemleri tüketen hayvanların sütlerinde oluşan AFM1 pastörizasyon, sterilizasyon, kurutma, soğutma, dondurma gibi işlemlerle ya da sütün çeşitli ürünlere dönüştürülmesi ile yok edilememektedir. AFM1 ile kontamine olmuş ürünün içerdiği aflatoksinin detoksifikasyonu için yapılan uygulamalar, bisülfidlerle muamele veya ultraviyole ışığına maruz bırakma gibi bazı yöntemlerle parçalama işlemlerinden ibarettir. Bu tip işlemler, hem pahalı hem de tüketime sunulacak ürünler üzerinde bir takım olumsuz etkilere neden olduğundan toplum sağlığı ve ticari açıdan uygun değildir (92).

Bir çok araştırmacı (93-95), süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M1 varlığında mevsimlere bağlı bir çeşitlilik olduğunu bildirmektedir. Bazı araştırmacılar kış aylarında hayvanların çoğunlukla karışık yemlerden, yaz ve bahar aylarında ise daha ziyade doğadan istifade etmeleri nedeniyle, soğuk mevsimlerde sıcak mevsimlere göre daha yüksek oranda Aflatoksin M1'e rastlandığını ifade etmektedirler. Dolayısıyla kış aylarında özellikle kötü depolama şartlarında muhafaza edilen yem bitkilerinin hayvanlara yedirilmesi sırasında azami dikkat gerekmektedir. Hayvan beslemede son dönemlerde aktif bir şekilde kullanılan doğal toksin bağlayıcıların (sodyum bentonites, polymeric glucomannans vb.), absorpsiyon yeteneklerinin artırılması ile ilgili Aflatoksin

zehirlenmesi açısından hayatı önem arz etmektedir. Bununla birlikte hayvanlar ve insanlarda alınan toksinlerin alım süresi, sıklığı ve dozajı zehirlenmelerin ortaya çıkması açısından, süt hayvanlarına verilen yemlerin iyi kontrol edilmesi ve yemlerde bulunmasına izin verilen AFB1 miktarının daha aşağılara düşürülmesi zorunludur. Ülkemizde yemler için izin verilen AFM1 limit düzeyi karma yemlerde 20 ppb, yem hammaddelerinde ise 50 ppb olarak belirlenmiştir (94). Özellikle bebek ve çocuklarda süt ve süt ürünleri kullanım sıklığı göz önüne alındığında toksikasyona bağlı olmak üzere meydana gelebilecek hastalıkların önüne geçmek toplum sağlığı açısından oldukça önemlidir (95). Özellikle süt ve süt ürünlerinde AFM1 in bulunmasına izin verilen değerler; ülkemizde 0.05 ppb belirlenmiş olsada, Almanya ve İsviçre ülkelerindeki gibi 0.01 ppb değerlerine çekilerek oluşabilecek problemlerin önüne bir nebze olsa geçilebileceği düşünülmektedir. Bunun yanında hem yem bitkilerinde hem de süt ve süt ve ürünlerinde yasal limit düzeylerinin denetim ve kontrollerinin sıklıkla yapılması ve küflü yem satımı ve kullanımının önüne geçilmesi gerekmektedir. Bu tarz işletmelere ağır cezai yaptırımlar uygulanmalı, üreticilerin üretim süreçlerinde aflatoxin oluşumunu nasıl engelleyebilecekleri, tüketicilerin ise tükettikleri gıdalarda aflatoxin bulunması halinde ne gibi zararlı etkilere maruz kalacakları hususunda bilgilendirilmeleri gerekmektedir. Bu konuda Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Sağlık Bakanlığı , Üniversiteler ve Sivil Toplum Örgütleri iş birliği yaparak hem denetim hem de bilinçlendirme konusunda çalışmalar yapması halk sağlığı açısından zorunludur.

Nitekim yapılan bu çalışmada Elazığ ilinde toplanan 60 çiğ süt numunesinin 8 tanesinin belirlenen limitlerin üzerinde olup 0.06-0.08 µg/l

arasında AFM1 içerdiği görülmektedir (Şekil 8). Bu sütler özellikle çocuklar başta olmak üzere insan ve hayvanlar tarafından tüketilmesi durumunda bir çok araştırmada ifade edildiği gibi kanser başta olmak üzere, karaciğer ve böbrek bozuklukları, bağışıklık sistemi, pıhtılaşma bozuklukları vb. bir çok sağlık risklerine neden olması kaçınılmazdır. Bu sebeple, çiftliklerde ve küçük ev işletmelerinde üretilen sütler özellikle toplama merkezleri aracılığıyla rutin kontrollerinin düzenli olarak yapılarak tüketime sunulmadan önce içerdikleri AFM1 başta olmak üzere tüm mikotoksin içeriklerinin belirlenmesi toplum sağlığı açısından hayati önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Van Egmond HP. Current Situation on Regulations for Mycotoxins. Overview of Tolerances and Status of Standard Methods of Sampling and Analysis, Food Additives and Contaminants, 1989; 6: 2, 11-54.
2. Karagözlü N, Karapınar M. Bazı Tahıl ve Ürünlerinde Okratoksin-A ve Fungal Kontaminasyon. Turkish Journal of Biology 2000; 24: 561-572.
3. Richard JL. Some Major Mycotoxins and Their Mycotoxicoses an Overview. International Journal of Food Microbiology 2007; 119: 3-10.
4. Basmacıoğlu, H, Ergül M. Yemlerde Bulunan Toksinler ve Kontrol Yolları. Hayvansal Üretim 2003; 44: 9-17.
5. Gilbert J, Anklam E. Validation of Analytical Methods for Determining Mycotoxins in Foodstuffs. Trends Anal Chem 2002; 21: 468-486.
6. Duarte E, Winston M, Hagler JR, et al. Aflatoxin Binders II Reduction of Aflatoxin M1 in Milk by Sequestering Agents of Cows Consuming Aflatoxin in Feed. Mycopathologia 2004; 00: 1-8.
7. Fallah AA, Fazlollahi R, Emami A. Seasonal Study of Aflatoxin M1 Contamination in Milk of Four Dairy Species in Yazd, Iran. Food Control 2016; 68: 77-82.
8. Concon JM. Mold and Mycotoxin Contamination of Food Products in. Food Toxicolog Part B: Contaminants and Additives, 1988: 677-770.
9. Nadira AF, Rosita J, Norhaizan ME, et al. Screening of Aflatoxin M1 Occurrence in Selected Milk and Dairy Products in Terengganu, Malaysia Farah Nadira et al. Food Control 2017;73: 209-214.
10. Türel GY, Calapoğlu NŞ. Mikotoksinler ve Moleküler Düzeydeki Etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2017; 24: 24-28.
11. Guntekin SE, Ozkan S, Abbasoğlu U. Investigation of Aflatoxin B1 Levels in Red-Scaled Pepper by ELISA. Global Media Journal 2016; 27: 198-200.
12. Ketney O, Santini A, Oancea S. Recent Aflatoxin Survey Data in Milk and Milk Products a Review. International Journal of Dairy Technology 2017; 70: 1-8
13. Dinçel A, Demli F, Durlu-Özkaya F ve ark. Çeşitli Peynir Örneklerinde Aflatoksin M₁ Varlığının HPLC İle Analizi. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2012; 69: 89-96.
14. Longh DH, Vles RD, Van Pelt JG. Investigation of The Milk of Mammals Fed on Aflatoxin Containing Diet. Nature 1964; 202: 466-467.
15. Aiko V, Mehta A. Occurrence Detection and Detoxification of Mycotoxins. Indian Academy of Sciences 2015; 40: 943-954.
16. Tiryaki O. Bitki Sağlığı ve Gıda Güvenliği. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 2016; 4: 65-73
17. Cudejkova MM, Vojta P, Valik J et al. Quantitative and Qualitative Transcriptome Analysis of Four Industrial Strains of *Claviceps Purpurea* with Respect to Ergot Alkaloid Production. New Biotechnology 2016; 33: 1-2.
18. Comte A, Grafenhan T, Links MG, et al. Quantitative Molecular Diagnostic Assays of Grain Washes for *Claviceps Purpurea* are Correlated with Visual Determinations of Ergot Contamination. Plos 2017; 04: 1-5.

19. Cerri M, Reale L, Moretti C, et al. Claviceps Arundinis Identification and İts Role in the Die-Back Syndrome of Phragmites Australis Populations in Central Italy. *Plant Biosystems* 2017; 9: 3-5.
20. Florea S, Panaccione DG, Schardl CL. Ergot Alkaloids of the Clavicipitaceae 2017; 5: 1-5.
21. Panaccione DG, Arnold SL. Ergot Alkaloids Contribute to Virulence in an İnsect Model of Invasive Aspergillosis. *Scientific Reports* 2017; 7: 1-3.
22. Uşlayer V, Başoğlu F. Gıda Zehirlenmelerinde Etkili Olan Mikroorganizmalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Dergisi* 1992; g: 261-272.
23. Jemmali M. Mikotoksinler İn Foodsstusff 1974; 3: 1766.
24. Aydın N. Hayvan Sağlığında Mikotoksinler ve Mikotoksikozisler. *İnfeksiyon Dergisi* 2007; 21: 37-46.
25. Özkaya B. Ergot Toksik Metabolitleri Gelişme Koşulları Kontrolü ve Prosesin Ergot Alkaloidleri Üzerine Etkisi. *Gıda* 2000; 25: 219-225.
26. Kurt T, Aksoy Hİ. Fındıkda Aflatoksin Analizi. 2006; 1: 3-4.
27. Kabak B, Var I. Ülkemiz Açısından Sorun Olan Mikotoksinler ve Riskli Gıda Maddeleri. *Türkiye 9. Gıda Kongresi* 2006; 681-682.
28. Özmenteşe N. İstanbul Piyasasından Sađlanan Süt ve Süt Ürünlerinin Aflatoksin B1 ve M1 İçerikleri Yönünden Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Araştırılması. *Doktora Tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2002.*
29. Hazer A. Denizli ve Aydın İllerinden Elde Edilen Çiğ Sütlerde Aflatoksin M1 Prevalansı ve Miktarının Aranması. *Yüksek Lisans Tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2011.*
30. Ostry V, Malir F, Toman J, et al. Mycotoxins as Human Carcinogens the IARC Monographs Classification. *Mycotoxin Res* 2017; 33: 65-73.
31. Karaman S, Acar B. Uluslararası Gıda Ürünleri Ticareti ve Aflatoksin Yasal Düzenlemeleri. *Doğuş Üniversitesi Dergisi* 2006; 7: 190-197.
32. Resmi Gazete; Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliđi. 2009/25. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2009/02/20090216-8.htm>
33. Resmi Gazete; Türk Gıda Kodeksi Renklendiriliciler ve Tatlandırılıcılar Dışındaki Gıda Maddeleri Tebliđi. 2008/22. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2008/05/20080522-7.htm>
34. Sarlak Z, Rouhi M, Mohammadi R, et al. Probiotic Biological strategies to Decontaminate Aflatoxin M1 in a Traditional Iranian Fermented Milk Drink. *Food Control* 2017; 71: 152-159.
35. Kaya Ş. Silajlarda Görülen Bazı Küf Kaynaklı Aerobik Bozulmaları Anlamak ve Önlemek İçin Pratik Rehber. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Dergisi* 2017; 1: 127-134.
36. Çankırı B, Uyarlar C. Mikotoksinlerin Süt Sığırlarının Beslenmesindeki Yeri ve Önemi. *Kocatepe Veteriner Dergisi* 2013; 2: 57-69.
37. Whitlow LW, Hagler WM, Diaz DE. Mycotoxins in Feeds. *Feedstuffs* 2010; 74-84.
38. Özkaya Ş, Temiz A. Aflatoksinler Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri ve Detoksifikasyonları. *Orlab on Line Mikrobiyoloji Dergisi* 2003; 01: 1-21.
39. Navarro S, Zettler JL. Critical Limits of Sealing for Successful Application of Controlled Atmosphere or Fumigation. 2000; 507-520.
40. Agag BI. Mycotoxins in Foods and Feeds 1-Aflatoxins. *Assiut University Bulletin for Environmental Researches* 2004; 7: 173-195.
41. Kuhn DM, Ghannoum MA. Indoor Mold, Toxigenic Fungi, and Stachybotrys Chartarum Infectious Disease Perspective. *Clinical Microbiology Reviews* 2003; 16: 144-164.

42. Karapınar HS. Bazı Gıdaların Aflatoksin İçeriğinin Hplc Metodu ile Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Karaman: Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2013.
43. Tanyıldızı S. Toksikoloji Ders Notları. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Ana Bilim Dalı 2013.
44. Matabaro E, Ishimwe N, Uwimbabazi E, et al. Current Immunoassay Methods for the Rapid Detection of Aflatoxin in Milk and Dairy Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2017; 00: 1-10.
45. İşleyici Ö, Morul F, Sancak YC. Van'da Tüketime Sunulan UHT Sterilize İnek Sütlerinde Aflatoksin M1 Düzeyinin Araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2012; 23: 65-69.
46. Creppy EE. Update of Survey, Regulation and Toxic Effects of Mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters* 2002; 127: 19-28.
47. Tiryaki O, Seçer E, Temur C. Yemlerde Mikotoksin Oluşumu Toksikite ve Mikotoksin Kalıntı Analizleri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi* 2011; 21: 44-58.
48. Zhao M, Wang P, Guo Y, et al. Detection of Aflatoxin B1 in Food Samples Based on Target Responsive Aptamer Cross Linked Hydrogel Using a Handheld Ph Meter as Readout. *Talanta* 2017; 176: 34-39.
49. Tunail N. Funguslar ve Mikotoksinler Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları 2000; 03: 50.
50. Husseyin HS, Brasel JM. Toxicity Metabolism and Impact of Mycotoxins on Humans and Animals. *Toxicology* 2001; 167: 101-134.
51. Öksüztepe G, Erkan Sümeyye. Mikotoksinler ve Halk Sağlığı Açısından Önemi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016; 2: 190-195.
52. Olsen L, Jorgensen FS, Bonomo S. Dissecting the Cytochrome P450 1A2 and 3A4 Mediated Metabolism of Aflatoxin B1 in Ligand and Protein Contributions. *Chemistry a European Journal* 2017; 23: 2-11.
53. Vilar MS, Malekinejad H, Selman MHJ, et al. in Vitro Assessment of Adsorbents Aiming to Prevent Deoxynivalenol and Zearalenone Mycotoxicoses. *Mycopathologia* 2007; 163: 81-90.
54. Bayram E. Moleküler Baskılanmış Katı Faz Ekstraksiyon Kolonlarının Hazırlanması ve Aflatoksin Ön Deriştirilmesi Uygulamaları. Doktora Tezi, Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2013.
55. Özdemir M. Kilis Bölgesinde Tüketilen Keçi Sütlerinde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2007; 54: 99-103.
56. Algeri TAB, Catagnaro D, Bortoli K, et al. Mycotoxins in Bovine Milk and Dairy Products. *Journal of Food Science* 2016; 81: 544-550.
57. Dinçoğlu AB, Gönülalan Z, Kök F. İzmit Bölgesinde Satışa Sunulan Peynirlerdeki Aflatoksin M1 Düzeylerinin Elisa Yöntemiyle Tespiti. *Journal of New World Sciences Academy* 2012; 7: 1-4.
58. Bbosa GS, Kitya D, Odda J, et al. Aflatoxins Metabolism Effects on Epigenetic Mechanisms and Their Role in Carcinogenesis. *Health* 2013; 5: 14-34.
59. Ueno Y. The Toxicology of Mycotoxins. 2014; 14: 122-126.
60. Kaya S, Bilgili A. Yumurtalarda Aflatoksin Kalıntıları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1989; 36: 641-645.
61. Seyrek K. Türk Silahlı Kuvvetleri'ne Bağlı Birliklerde Tüketilen Beyaz Peynirlerdeki Aflatoksin M1 Seviyesinin ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) Metodu ile Saptanması. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 2001; 72: 51-58.
62. Madalı B, Ayaz A. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 Maruziyet ve Sağlık Riskleri. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi* 2017; 4: 1-11.

63. Güher Y. Tekirdağ ve Çorum İllerinde Üretilen Buğday ve Çavdar Unlarında Aflatoksin Miktarlarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ: Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008.
64. Asamoloye MD, Jonathan SG, Saddaf R, et al. Incidence and Chemical Implications of Aflatoxin in Street Vended Foods. *Indech* 2017; 7: 154-170.
65. Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji İkinci Baskı. 2001; 537-571.
66. Verma RJ, Aflatoxin Cause DNA Damage. *International Journal of Human Genetics* 2004; 4: 231-236.
67. Kantemir M. Ağırda Tüketilen Çiğ ve UHT Sütlerde Aflatoksin Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
68. Yentür G, Er B. Gıdalarda Aflatoksin Varlığının Değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2012; 69: 41-52.
69. Jahanian E, Mahdavi AH, Asgary S, et al. Effect of Dietary Supplementation of Mannanligosaccharides on Growth Performance İleal Microbial Counts and Jejunal Morphology in Broiler Chicks Exposed to Aflatoxins. *Livestock Science* 2016; 2: 35-50.
70. Kireççi E, Savaşçı M, Ayyıldız A. Sarıkamış'ta Tüketilen Süt ve Peynir Ürünlerinde Aflatoksin M1 Varlığının Belirlenmesi. *İnfeksiyon Dergisi* 2007; 21: 93-96.
71. Waliyar F, Reddy SV, Kumar PL. Review of Immunological Methods for the Quantification of Aflatoxins in Peanut and Other Foods. *Peanut Science* 2009; 36: 54-59
72. Sibanda L, De Saeger S, Peteghem CV. Development of a Portable field İmmunoassay for the Detection of Aflatoxin M in Milk. *International Journal of Food Microbiology* 1999; 48: 203-209.
73. Quadri SHM, Niranjana MS, Chaluvaram KC, et al. An Overview on Chemistry Toxicity Analysis and Control of Aflatoxins. *International Journal of Chemical and Life Sciences* 2013; 2: 1071-1078.
74. İpçak HH, Alççek A. Yemlerde Aflatoksin Gelişimi ve Süte Geçme Durumu. 8. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi 2013; 502-510.
75. İşleyici Ö, Sancak YC, Sancak H, ve ark. Determination of Aflatoxin M1 Levels in Unpackaged Sold Raw Cow's Milk. *Van Veterinary Journal* 2015; 26: 151-155.
76. Aksoy U. Aflatoksin. Ege Üniversitesi Tarımsal Uygulama ve Araştırmalar Merkezi 1990; 2: 1-7.
77. Oruç HH. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 (AFM1) ve Türkiye'deki Durumu. *Uludağ University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine* 2003; 22: 121-125.
78. Zheng N, Li SL, Zhang H, et al. A Survey of Aflatoxin M1 of Raw Cow Milk in China During The Four Seasons from 2013 to 2015. *Food Control* 2017; 78: 176-182.
79. Roma AD, Rossini C, Ritieni A, et al. A Survey on the Aflatoxin M1 Occurrence and Seasonal Variation in Buffalo and Cow Milk from Southern Italy. *Food Control* 2017; 81: 30-33.
80. Fallah AA, Barani A, Nasiri Z. Aflatoxin M1 in Raw Milk in Qazvin Province İnan a Seasonal Study. *Food Additives & Contaminants* 2015; 37-41.
81. Nadira AF, Rosita J, Norhaizan ME, et al. Screening of aflatoxin M1 occurrence in selected milk and dairy products in Terengganu, Malaysia. *Food Control* 2017;73: 209-214.
82. İqbal SZ, Asi MR, Malik N. The Seasonal Variation of Aflatoxin M1 in Milk and Dairy Products and Assessment of Dietary İntake in Punjab Pakistan. *Food Control* 2017; 79: 292-296.
83. Akdemir Ç, Altıntaş A. Ankara'da İşlenen Sütlerde Aflatoksin M1 Varlığının ve Düzeylerinin HPLC ile Araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2004; 51: 175-179.
84. Kiraz D. Mardin İlinde Rasyon ile Beslenen Süt Sığırlarında Sütteki Aflatoksin M1 Kontaminasyonuna Mevsim Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2016.

85. Özsunar A. Trakya Bölgesi'nde Üretilen İnek Sütlerinde Aflatoksin M1 Varlığı. Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ: Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2005.
86. Hazer A. Denizli ve Aydın İllerinden Elde Edilen Çiğ Sütlerde Aflatoksin M1 Prevalansı ve Miktarının Aranması. Yüksek Lisans Tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2011.
87. Buldu HM, Koç AN, Uraz G. Kayseri'deki İnek Sütlerinde Aflatoksin M1 Kontaminasyonu. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2011; 35: 87-91.
88. Erkan ME, Vural A, Güran HŞ. Diyarbakır Örgü Peynirinde Aflatoksin M1 ile Verotoksin 1 ve 2 Varlığının Araştırılması. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2009; 1: 19-25.
89. Bircan C. The Determination of Aflatoxins in Spices by Immunoaffinity Column Extraction Using HPLC. *International Journal of Food Science and Technology* 2005; 40: 929-934.
90. Vdovenko MM, Lu CC, Yu FY, et al. Development of Ultrasensitive Direct Chemiluminescent Enzyme Immunoassay for Determination of Aflatoxin M1 in Milk. *Food Chemistry* 2014; 158: 310-314.
91. Kos J, Hajnal JE, Jajiç I, et al. Comparison of ELISA, HPLC-FLD and HPLC-MS/MS Methods for Determination of Aflatoxin M1 in Natural Contaminated Milk Samples. *Acta Chimica Slovenica* 2016; 63: 747-756.
92. Martins ML, Martins HM. Aflatoxin M1 in Raw and Ultra High Temperature-treated Milk Commercialized in Portugal. *Food Additives and Contaminants* 2000; 17: 871-874.
93. Aflatoxicosis. By Gary D. Osweiler, DVM, MS, PhD, Professor Emeritus, Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine, College of Veterinary Medicine, Iowa State University <http://www.msdevetmanual.com/toxicology/mycotoxins/aflatoxicosis> 19.09.2017.
94. Demirhan BE, Demirhan B, Yentür G. Bebek Gıdalarında Aflatoksin Varlığının Önemi. *Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2017; 1: 1-8.
95. Atasever M, Yıldırım Y, Atasever M, ve ark. Assessment of Aflatoxin M1 in Maternal Breast Milk in Eastern Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 2014; 66: 147-149.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Elazığ ilinde doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Elazığ'da tamamladım. 2007 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldum. 2012 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladım. 2008-2013 yılları arasında Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığında veteriner hekim olarak görev yaptım. 2014 yılından itibaren Fırat Üniversitesi Tarım ve Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Merkez Müdürlüğünde veteriner hekim olarak görev yapmaktayım. Evli ve iki çocuk babasıyım.