



**T. C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇİĞ, PASTÖRİZE VE UHT SÜTLERDE AFLATOKSİN M1
OLUŞUMLARININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Mustafa TOPRAK
(20199232009)**

**Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof: Dr. Nevcihan GÜRSOY**

**SİVAS
OCAK 2023**

Mustafa TOPRAK’ ın hazırladığı ve “ÇİĞ, PASTÖRİZE VE UHT SÜTLERDE AFLATOKSİN M1 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI’ nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı	Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Şükrü KURT Adıyaman Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Dr.Öğr.Üyesi Ayşe Burcu AKTAŞ Sivas Cumhuriyet Üniversitesi	

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)' nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.





Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Mustafa TOPRAK, 2023

ETİK

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'
nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

12.01.2023

Mustafa TOPRAK

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca bu çalışmanın yürütülmesi için bilgi, tecrübe ve deneyimlerini hiçbir zaman üzerimizden esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmama katkılarından dolayı Sivas İl Gıda Kontrol Laboratuvarı ekibine ve Mikrobiyoloji Birim Şefi Vet. Hek. Fatih ERDOĞAN hocama teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve Lisansüstü eğitim hayatımda maddi, manevi tüm destekleri için değerli aileme şükranlarımı iletirim.

ÖZET

ÇİĞ, PASTÖRİZE VE UHT SÜTLERDE AFLATOKSİN M1 OLUŞUMLARININ ARAŞTIRILMASI

Mustafa TOPRAK

Yüksek Lisans Tezi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY

2023, 55+xv sayfa

Bu çalışma çiğ, pastörize ve UHT sütlerde Aflatoksin M1 varlığını tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Çalışmada Sivas ve yakın köylerinde üretilen çiğ sütler ile marketlerde satışa sunulan pastörize ve UHT sütlerden oluşan toplam 42 adet örnek materyal olarak kullanılmıştır. Aflatoksin M1 analizinde ELISA ve HPLC yöntemi kullanılmıştır. Analiz sonucunda çiğ sütlerin tamamında (%100) AFM1 tespit edilmiş, değerleri 0,0086-0,0728 µg/L aralığında ve ortalama 0,0339 µg/L olarak belirlenmiştir. Pastörize süt örneklerinin tamamında (%100) AFM1 tespit edilmiş, değerleri 0,0089-0,062 µg/L aralığında ve ortalama 0,0281 µg/L olarak belirlenmiştir. UHT süt örneklerinin ise 12 (%85,72) adedinde AFM1 tespit edilmiş, değerleri 0,009-0,042 µg/L aralığında ve ortalama 0,0216 µg/L olarak belirlenmiştir. HPLC yöntemi ile analiz edilen süt örneklerinde ise 0,017-0,025 µg/L aralığında AFM1 tespit edilmiştir. Çiğ sütlerde 2 (%14,28) örnekte, Pastörize sütlerin 1 (%7,14) örneğinde tespit edilen AFM1 miktarının, TGK' de belirtilen yasal limitin (0,05 µg/L) üzerinde olduğu gözlemlenmiştir. UHT sütlerin tamamı yasal mevzuata uygunluk göstermiştir. Sonuç olarak, analizi yapılan tüm süt örneklerinin %95,24' nün AFM1 ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Bu anlamda üretici ve tüketicilerin AFM1' in önemi ve korunma yolları hakkında bilinçlendirilmeli, Aflatoksin bulaşının önüne geçebilmek için özellikle hayvan beslenmesinde kullanılan yemlerin üretim ve muhafazasına yönelik çalışmalar iyileştirilerek, modern üretim tekniklerinin yaygınlığı sağlanmalıdır.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin M1, ELISA, HPLC, Süt

ABSTRACT

INVESTIGATION OF AFLATOXIN M1 FORMATION IN RAW, PASTEURIZED AND UHT MILK

Mustafa TOPRAK

Master of Science Thesis

Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Nevcihan GÜRSOY

2023, 55+xv pages

This study was carried out to detect the presence of Aflatoxin M1 in raw, pasteurized and UHT milk. In the study, a total of 42 samples consisting of raw milk produced in Sivas and its nearby villages and pasteurized and UHT milk offered for sale in markets were used as material. ELISA and HPLC methods were used for aflatoxin M1 analysis. As a result of the analysis, AFM1 was detected in all of the raw milk (100%), and its values were determined as 0.0086-0.0728 µg/L and an average of 0.0339 µg/L. AFM1 was detected in all (100%) pasteurized milk samples, with values in the range of 0.0089-0.062 µg/L and an average of 0.0281 µg/L. AFM1 was detected in 12 (85.72%) of UHT milk samples, its values were in the range of 0.009-0.042 µg/L and the average was 0.0216 µg/L. AFM1 was detected in the range of 0.017-0.025 µg/L in milk samples analyzed by HPLC method. It was observed that the amount of AFM1 detected in 2 (14.28%) samples of raw milk and in 1 (7.14%) sample of pasteurized milk was above the legal limit (0.05 µg/L) specified in the TGK. All of the UHT milks complied with the legal regulations. As a result, it was determined that 95.24% of all analyzed milk samples were contaminated with AFM1. In this sense, producers and consumers should be made aware of the importance of AFM1 and ways to protect it. In order to prevent aflatoxin contamination, studies on the production and preservation of feeds used in animal nutrition should be improved, and modern production techniques should be widespread.

Key Words: Aflatoxin M1, ELISA, HPLC, Milk.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Süt	3
2.2 Süt Özellikleri ve Bileşimi	3
2.2.1 Pastörize Süt	5
2.2.2 UHT Süt	6
2.3 Mikotoksinler ve Mikotoksikozis.....	6
2.4 Aflatoksinler.....	9
2.4.1 Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri	14
2.4.2 Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 Oluşumu.....	15
2.4.3 Aflatoksin M1 ile İlgili Yasal Düzenlemeler.....	16
2.5 Konu ile İlgili Yapılan Çalışmalar	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28
3.1 Materyal.....	28
3.2 Yöntem	28
3.2.1 Elisa Yöntemi.....	29
3.2.1.1 Örnek Hazırlama ve Ekstraksiyon	29
3.2.1.2 Test Prensibi	29
3.2.1.3 Test Prosedürü	29
3.2.1.4 İstatistiksel Analiz.....	31
3.2.2 HPLC Yöntemi.....	31
3.2.2.1 Yöntemin İlkesi.....	31
3.2.2.2 Yöntem.....	32

4. BULGULAR ve TARTIŞMA	36
5. SONUÇ	45
KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ.....	55



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1	Sütün ortalama bileşimi.....	3
Şekil 2.2	Aflatoksin B1 'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.3	Aflatoksin B2' nin 2 ve 3 boyutlu yapısı.....	12
Şekil 2.4	Aflatoksin G1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2.5	Aflatoksin G2'nin 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.6	Aflatoksin M1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.7	Aflatoksin M2'nin 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı.....	13
Şekil 2.8	Aflatoksin M1' in metabolizasyonu.....	14
Şekil 3.1	Süt örnekleri.....	28
Şekil 3.2	AFM1 Standart ve Numune Ekstraksiyon.....	30
Şekil 3.3	Elisa okuma.....	31
Şekil 3.4	HPLC	32
Şekil 3.5	HPLC kalibrasyon eğrisi.....	33
Şekil 4.1	Çiğ Süt Örnekleri AFM1 Düzeyleri.....	36
Şekil 4.2	Çiğ Süt Örneği HPLC Kromatografisi.....	38
Şekil 4.3	Pastörize Süt Örnekleri AFM1 Düzeyleri.....	38
Şekil 4.4	Pastörize Süt Örneği HPLC Kromatografisi.....	39
Şekil 4.5	UHT Süt Örnekleri AFM1 Düzeyleri.....	40
Şekil 4.6	UHT Süt Örneği HPLC Kromatografisi.....	41
Şekil 4.7	Süt Örneklerinde İstatiksel Analiz Sonuçları.....	42
Şekil 4.8	Süt Örneklerinin Ortalama AFM1 değerleri.....	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1	Sütün protein içeriği.....	4
Çizelge 2.2	Sütte bulunan vitaminler.....	5
Çizelge 2.3	Pastörizasyon işleminde öngörülen zaman ve sıcaklık değerleri.....	6
Çizelge 2.4	Önemli Mikotoksin Türleri.....	7
Çizelge 2.5	Süt ineklerinde farklı beslenme tiplerine bağlı olarak bulunması muhtemel mikotoksin tipleri.....	8
Çizelge 2.6	Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansına göre mikotoksinlerin insan sağlığı açısından oluşturdukları risk düzeylerine göre gruplandırılması.....	9
Çizelge 2.7	425-450 nm dalga boyundaki UV ışıklar Aflatoksinlerin verdiği renkler.....	11
Çizelge 2.8	Türkiye’de ve Farklı ülkelerde süt ve süt ürünlerinde AFM1 için MRL limitleri.....	17
Çizelge 3.1	HPLC Kalibrasyon Tablosu.....	33
Çizelge 3.2	AFM1 için performans kriterleri.....	35

SİMGELER DİZİNİ

dk:	Dakika
Kg:	Kilogram
L:	Litre
°C:	Santigrat Derece
g:	Gram
mg:	Miligram
nm:	Nanometre
ng:	Nanogram
µg:	Mikrogram
ppt:	Part Per Billion (Milyarda Bir)
ppt:	Part Per Trillion (Tirilyonda Bir)
sn:	Saniye

KISALTMALAR DİZİNİ

AFB1	:	Aflatoksin B1
AFB2	:	Aflatoksin B2
AFG1	:	Aflatoksin G1
AFG2	:	Aflatoksin G2
AFM1	:	Aflatoksin M1
AFM2	:	Aflatoksin M2
CÜ	:	Sivas Cumhuriyet Üniversitesi
CONTAM	:	Gıdalarda Bulunan Kontaminantlar
DNA	:	Deoksiribo Nükleik Asit
ELISA	:	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FAO	:	Gıda ve Tarım Örgütü
FB1	:	Fumonisin B1
FB2	:	Fumonisin B2
FDA	:	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FSC	:	Gıda Güvenlik Komitesi
GAP	:	İyi Tarım Uygulamaları
GMP	:	İyi Üretim Uygulamaları
GHP	:	İyi Hijyen Uygulamaları
HPLC	:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IARC	:	Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü
IgA	:	İmmunglobulin A
IgG	:	İmmunglobulin G
IgM	:	İmmunglobulin M
JECFA	:	Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzman Komitesi
mRNA	:	Messenger Ribonükleik Asit
MRL	:	Maksimum Kalıntı Limitleri
OECD	:	Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü
OTA	:	Okratoksin A
RNA	:	Ribonükleik Asit
TGK	:	Türk Gıda Kodeksi
TÜİK	:	Türkiye İstatistik Kurumu
TÜBİTAK	:	Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu

UHT : Ultra High Temperature

UV : Ultraviyole

ZEA : Zearalenon



1. GİRİŞ

Her zaman insan beslenmesindeki önemi ve insan sağlığına olan tartışılmaz faydaları ile gündeme gelen süt, doğumdan itibaren en temel besin kaynakları arasında yer almaktadır.

Süt; biyolojik kapasitesi yüksek protein, yağ asitleri ve amino asit, özellikle A, B2 ve B12 vitaminleri ile birlikte kalsiyum ve fosfor yönünden oldukça zengin bir gıda maddesidir. Laktoz intoleransı ve alerjisi olan insanlar hariç tüm yaş grupları tarafından tüketilmesi gereken bir besindir (Metin, 2012). Bu yönüyle dengeli beslenmenin önemli parçası konumundadır. Dünyada süt ve süt ürünleri tüketimi günden güne önem kazanmakta bu bağlamda süt üretiminde sürekli artış göstermektedir (FAO, 2021).

Süt sektörü ile ilgili çeşitli kuruluşlar dünya genelinde her yıl düzenli olarak raporlar yayınlamaktadırlar. Bunlardan OECD-FAO Agricultural Outlook 2022-2031 verilerine göre dünya süt üretimi 2021’ de %1.1 artarak 887 milyon tona ulaşmıştır. Hindistan 195 milyon ton üretim ile dünyanın en fazla süt üreticisidir. Bu üretimi %81 inek sütü, %15 manda sütü ve %4’ ünü keçi, koyun ve deve sütü oluşturmaktadır. Dünya süt üretiminin yıllık %1.8 oranında artarak 2031 yılında 1060 milyon tona ulaşması beklenmektedir.

FAO (Food and Agriculture Organization; Gıda ve Tarım Örgütü) 2022 yılı Kısa Vadeli Piyasa Görünümü ve Analizi Raporuna göre Dünya’ da kişi başına düşen süt tüketim miktarı 117,8 kg/yıl dır (FAO, 2022)

Türkiye’ de TÜİK 12 Aylık – Süt ve Süt Ürünleri Üretim Raporuna göre 2021 yılında 1.523.165 ton, 2022 ilk 7 ayında 628.123 ton süt üretilmiştir. TÜİK tarafından sağlanan bu rakamlar ile dış ticaret verileri dikkate alındığında 2021 yılında kişi başı içme sütü tüketimi yaklaşık 18,0 kg olarak tahmin edilmektedir (TÜİK, 2022).

Süt ve süt ürünleri her yaş grubu insanlar için vazgeçilmez besinlerdir. Ancak Süt ve süt ürünlerinde Aflatoksin M1 varlığı tüketici için ciddi riskler içermektedir (Baysal, 2011). Dört temel Aflatoksin metaboliti vardır. Bunlar: Aflatoksin B1, Aflatoksin B2, Aflatoksin G1 ve Aflatoksin G2 dir. Bu metabolitler içerisinde toksikolojik etkisi en yüksek olanı Aflatoksin B1 dir. Aflatoksin M1 ve M2 direkt olarak küfler tarafından sentezlenmemektedir. AFB1 ve AFB2 içeren yemleri tüketen süt hayvanları tarafından metabolize edilerek sütlerine geçirmeleri sonucu oluşmaktadır. Bu şekilde süttten izole edilmelerinden dolayı ‘M’ harfi ile simgelenmektedir. Uluslararası Kanseri Araştırma Enstitüsü (IARC) tarafından AFB1 birinci, AFM1 ise ikinci dereceden

kanserojen olarak ilan etmiştir (Bakırcı, 2001). Aflatoksinler karsinojenik etkileri ve en çok etkiledikleri organın karaciğer olmasından dolayı hepatoksin olarak adlandırılmışlardır (Mendonça ve Venâncio, 2005).

Aflatoksinler, mikotoksinler içerisinde önemli bir yere sahiptir. Günümüzde bu toksinler üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış ve bu sebeple de en fazla tanımlanabilen doğal kirletici metabolitlerdir.

Süt yaşam boyu beslenmede temel gıda maddelerinden biridir. Doğrudan tüketildiği gibi, birçok ürüne dönüştürülerek tüketilmektedir. Ancak Aflatoksin M1 sterilizasyon, pastörizasyon gibi ısı işlemlere dirençli olmasından dolayı süt ve süt ürünlerinde sıklıkla rastlanan kirliliktir ve sonucunda ciddi sağlık problemlerine neden olmaktadır. Sütlerden çeşitli ürünlerin üretilmesi, sütlerin pek çok gıda maddesine içerisinde yer alması, sütün ve sütlü ürünlerin özellikle bebekler ve çocuklar dahil bir çok tüketici grubunun beslenmesinde yoğun bir şekilde kullanılması, AFM1'in beslenme ve halk sağlığı açısından ne kadar önemli bir metabolit olduğunu ortaya koymaktadır (Blanco ve ark., 1988; Galvano ve ark., 1996; Özmenteşe, 2002).

Yapılan bu tez çalışması, Sivas ve yakın köylerinde üretilen açık halde satışa sunulan çiğ sütler ile marketlerde satışa sunulan farklı markalara ait pastörize ve UHT sütlerde AFM1 kontaminasyon düzeyinin tespiti yapılarak, Türk Gıda Kodeksi (2011)' inde belirtilen maksimum limitlere uygunluğunun ve halk sağlığı için bir tehlike oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

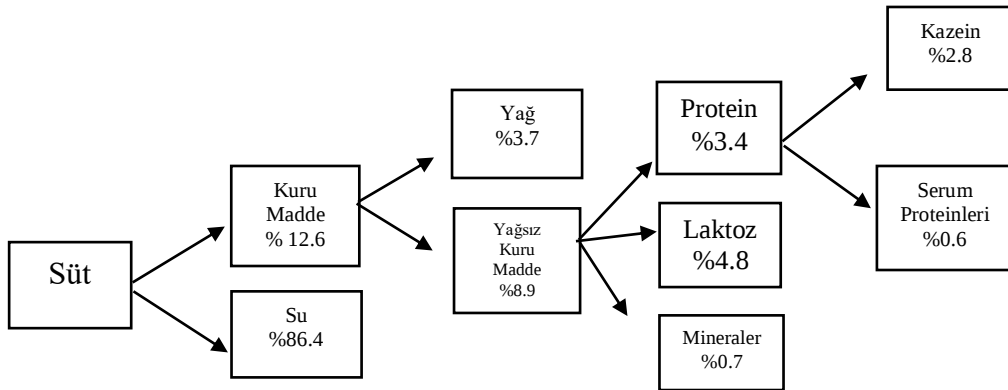
2. GENEL BİLGİLER

2.1 Süt

Süt; inek, koyun, keçi ve mandaların meme bezlerinden salgılanan, doğurdukları yavrularını besleyebilmeleri için gereken tüm besin maddelerini içeren, kendine özgü tat ve porselen beyazı (krem-beyaz) renge sahip sıvıdır. Türk Gıda Kodeks' inde ise sütün tanımı şu şekilde yapılmakta: Çiğ süt; bir veya daha fazla inek, keçi, koyun veya mandanın sağılmasıyla elde edilen 40 °C' nin üzerinde ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi bir işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısıdır (TGK, 2000). Süt, yapısında bulundurduğu protein ve peptid yapılı ögeler ile yağ asitleri, vitamin ve minerallerden oluşan antimikrobiyal ajanlara sahip kompleks bir yapıdır. Bunlar ile yapısında büyüme ve diğer hormonlar ile immünoglobulinler, enzim ve inhibitörlerinide içermektedir. Saymakla bitmeyen birçok önemli içeriğinden dolayı yaşam döngüsünün vazgeçilmezidir.

2.2 Süt Özellikleri ve Bileşimi

Toplumlarda süt çeşidi yeme-içme kültürüne göre farklılıklar gösterebilmektedir. Ülkemizde süt denildiğinde akla ilk gelen inek sütü olmakta ve tüketilen sütler; inek, manda, koyun ve keçi sütleridir (Fox ve Ark. 2003).



Şekil 2.1 Sütün Ortalama Bileşimi (Walstra P. ve Ark. 2006)

İnek sütü yüksek ve kaliteli bir protein kaynağıdır. Süt bileşiminde protein, sütün sağladığı enerjinin %21' ini ve yağsız kuru maddenin ise %39' unu kapsamakta ve toplam içeriği ortalama %3.4' tür (Şekil 2.1). Sütün en temel proteini kazeindir. Kazein; Alfa, beta, gama ve delta olmak üzere dört farklı fonksiyondan oluşmaktadır. Serum proteinleri ise büyük oranda laktoglobulinlerden oluşur ve kazeine göre daha heterojen

yapıdadır. Ayrıca triptofanın süt için önemli bir niasin kaynağıdır. Süt içeriğinde bulunan serum proteinleri; laktoferrin, proteoz pepton, immunoglobulinler (IgA, IgG, IgM) ve serum albumindir. Bu protein konsantrasyonları Çizelge 2.1’ de verilmiştir.

Çizelge 2.1 Sütün protein içeriği

Protein ve Protein Fraksiyonları	Sütteki Konsantrasyonları (g/L)
Toplam protein	36
Kazein:	29.3
• Alfa kazein	15
• Beta kazein	9.9
• Delta kazein	3.1
• Gamma kazein	1.3
Serum proteinleri:	6.7
• Beta laktoglobulin	3.2
• Alfa laktoalbumin	1.2
• Serum albumini	0.4
• İmmunglobulinler	0.8
• Proteoz pepton	1.0

Laktoz, meme salgı bezlerinde salgılanan sütün en temel karbonhidratıdır. Süt bileşiminde karbonhidratlar ortalama %4.8 oranındadır. Bu oran yağsız kuru maddenin toplamda %54’ ünü ve sütün sağladığı enerjini ise %30’ unu karşılamaktadır.

Türkoğlu (2006), Süt yağı, süt ve süt ürünlerine tat ve lezzetin yanı sıra görünüm ve tekstür gibi karakteristik özelliklerde kazandırmaktadır. Bu özelliklere ilave olarak, yağda çözünen vitaminler, esansiyel yağ asitleri ve en önemlisi iyi bir enerji kaynağıdır (German ve Dillard, 1998). Süt yağı; sütün kloroform, benzin ve eter gibi maddelerde çözünen ve çoğunluğunu trigliseridlerin oluşturduğu bileşenidir. Trigliseridler ile birlikte fosfolipidler, diasilgliseroller, kolestrol-kolestrol esterleri, monoasilgliseroller, serbest yağ asitleri ve değişik oranlarda A, D, E, K vitaminlerini içerir. Enerji bakımından ise, sütün sağladığı toplam enerjini %49’ unu karşılar.

Sütte bulunan vitaminlerin büyük bir kısmı insanlar için esansiyel yağlardır. Bunlar Vitamin A, D, E, K dır ve yağ ile birlikte bulunurlar. Vitamin A; hücresel farklılaşma, görme, gen ekspresyonu, embriyolojik gelişim, bağışıklık, büyüme ve gelişme üzerine önemli rol alır (Jensen, 1995). Yağda çözünmüş olarak bulunun Vitamin D ise sağlıklı kemik oluşumu, fosfor ve kalsiyumun bağırsak florasında emilimini sağlamaktadır. Eksikliğinde çocuklarda raşitizm, yetişkinlerde osteomalazi görülmektedir (Anonymus, 1997). Vitamin E sütte çok az miktarlarda bulunur. Antioksidan yapıdadır ve lipoproteinler ile hücre membranını oksidatif hasarlardan korur. Vitamin

K' da Vitamin E gibi sütte çok az miktarlarda bulunur. Kemiklerde koruyucu etkisinin yanı sıra kan pıhtılaşmasını sağlar (Alshannaq A, 2017). Sütte bulunan diğer vitaminler Çizelge 2.2' de verilmiştir.

Çizelge 2.2 Sütte Bulunan Vitaminler (Walstra vd., 2006)

Vitamin/ Kimyasal İsim	Miktar/kg
A / Retinol	0.7–1.3 mg
B1 / Tiamin	0.5 mg
B1 / Riboflavin	1.8 mg
B3 / Niasin	8 mg
B5 / Pantotenik asit	3.4 mg
B6 / Piridoksin	0.6 mg
B12 / Kobalamin	4.5 µg
C / Askorbik asit	10–25 mg
D / Kalsiferol	0.1–0.8 µg
E / Tokoferol	1–1.5 mg
K2 / Menakuinon	10–50 µg

2.2.1 Pastörize Süt

David (2014)' e göre pastörizasyon, sütte bulunan patojen mikroorganizmaları ve bunların vejetatif formlarını inaktive ederek sütün raf ömrünü uzatmak amacıyla, süte 100 °C ve altındaki sıcaklıklarda ısıtma işlemi uygulanmasıdır (Küçük, 2019). TKG içme sütü tebliği' nde pastörize süt şöyle tanımlanmaktadır; Pastörizasyon işlemi uygulanarak üretilen ve üretimden hemen sonra 6 °C'yi geçmeyecek sıcaklığa soğutulan içme sütü (Anonim, 2019).

Pastörizasyon işlemi uygulanan ürünler, alkali fosfataz testinde negatif reaksiyon veren sıcaklık ve zaman koşullarının kombinasyonudur. Genel olarak 72 °C'de 15 sn. kısa süreli olarak uygulansa da 63 °C'de 30 dk. olarak daha uzun sürelerde de gerçekleştirilebilir (Anonim, 2000). Pastörizasyon için ön görülen sıcaklık ve zaman değerleri Çizelge 2.3' te verilmiştir.

Pastörize süt ile çiğ süt besleyicilik ve diğer özellikleri bakımından kıyaslandığında az miktarlarda farklılıklar gösterir. Pastörizasyon işlemi esnasında, patojen mikroorganizmaların vejetatif formları ısıtma işlemi ile inaktive edilirken bazı kimyasal içerikler inaktive olamaz ve insan sağlığı açısından olumsuzluklara neden olabilir (Walstra ve Jennes, 2006).

Çizelge 2.3 Pastörizasyon işleminde öngörülen zaman ve sıcaklık değerleri (FDA, 2017)

Sıcaklık (°C)	Sıcaklık (°F)	Zaman
100	212	0,01 sn
96	204	0,05 sn
94	201	0,1 sn
90	194	0,5 sn
89	191	1,0 sn
72	161	15 sn
63	145	30 dk

2.2.2 UHT Süt

Ultra High Temperature (UHT) teknolojisi çiğ sütün en az 135 °C' de 1 saniye veya uygun zaman-sıcaklık kombinasyonunda yüksek sıcaklıkta kısa süre tutulmasıdır (Anonim, 2001). UHT süt, çiğ sütün oda sıcaklığında saklanabilen, duyuusal vd. özelliklerinde en az değişikliğe yol açılarak, bozulma yapabilen mikroorganizmaların ve bunların oluşturduğu sporların yok edilmesi tekniği ile aseptik şartlarda uygun ambalaj materyali kullanılarak üretilen süttür. UHT işlemi sonrasında sütte kahverengileşme, vitamin kaybı, fizyokimyasal ve enzimatik değişiklikler görülebilmektedir (Walstra ve Jennes, 2006).

UHT teknolojisi, diğer sterilizasyon tekniklerinden farklı olarak sütü doğal niteliklerinde olumsuzluk oluşturabilecek durumları ortadan kaldırmak amacıyla geliştirilmiştir (Demirci, 2005). UHT işleminde süte yüksek ısı uygulaması ile sütte bulunun mikroorganizma ve sporlarının inaktive edilesi, sütün kimyasal bileşiminde en az değişikliğe uğraması sağlanmıştır. Bu ilişki ışığında, UHT yöntemi ile elde edilen süt klasik sterilizasyon yöntemlerine kıyasla beslenme fizyolojisi ve sütün kimyasal ve fiziksel özellikleri açısından en uygun ve yeterli bir ısıl işlem olduğu sonucu çıkarmaktadır (Metin, 2005).

2.3 Mikotoksinler ve Mikotoksikozis

Mikotoksin terimi: Yunanca mykes (mantar) ve Latince toxicum (zehir) kelimelerinin birleşmesiyle oluşmuştur. Kayaalp, 2013' e göre, Mikotoksiler: ipliksi yapıda farklı mantar türlerinin ikincil metabolitleri olup, düşük molekül ağırlıklı toksik maddelerdir (Yavaş, 2022). Mikotoksiler, çok sayıda küf cinsi tarafından üretilmektedir. *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* en önemli mikotoksin üreticisidirler. Küfler tarafından üretilen bu kirleticilerin üremeleri ve gelişimleri için belirli sıcaklık ve nem koşulları gerekmektedir. İnsan ve hayvan sağlığı açısından en önemli mikotoksinler Çizelge 2.4'

de verilmiştir. Gelişimleri için uygun çevresel şartlar oluştuğunda mikotoksin üreticisi yaklaşık 400 adet küf türü olduğu bilinmekte ve bunlardan *Aspergillus* ve *Penicillium* hasat sonrası (kurutma, depolama), *Fusarium* ise hasat öncesi dönemlerde gıdalara kontamine olarak toksin oluşturabilmektedir (Creppy, 2002; Kaya, 2014).

Çizelge 2.4 Önemli Mikotoksin Türleri

Mikotoksin

Aflatoksin	Sitrinin
Okratoksin	Prnitrem
Fumonisinler	Sterigmatosistin
Trikotesenler	Spirodesmin
Zaeralenonlar	Fusarik Asit
Rubratoksinler	Patulin

Hayvan beslenme yemlerinin üretimi ve muhafazasında mikotoksin kontaminasyonu oluşabilmektedir. Bu şekilde kontaminasyona uğrayan yemlerin hayvanlar tarafından tüketilmesi ile mikotoksinler biyotransformize ve metabolize olarak et, süt gibi gıdalarda görülmektedir. Mikotoksin kontamine olan gıdaların insan tarafından tüketilmesi sonucu oluşan zehirlenmelere “mikotoksikozis” adı verilmektedir. Mikotoksinler arasında *A. flavus* ve *A. parasiticus* en yüksek toksik etkiye sahiptir. İnsanlar açısından mikotoksin riski yüksek gıdalar; yer fıstığı, baharatlar, kuru meyveler, yağlı tohumlar, mısır, arpa, buğday, süt ve süt ürünleridir (Kaya, 2014). İnsanlarda mikotoksinlerle maruziyet direkt ve indirekt olarak görülmektedir. Direkt kontaminasyon, kontamine gıdaların (baharatlar, yerfıstığı, tahıllar, vb.) tüketilmesi ile; İndirekt kontaminasyon ise kontamine yemleri tüketen hayvanların yenilebilir dokularının (et, süt ve süt ürünleri) tüketimi ile oluşur (Capriotti vd., 2012).

Küfler, enzimatik faaliyetleri ile bulundukları gıdaların protein, yağ ve karbonhidratlarını parçalayabilmekte akabinde gıdanın yağ içeriğini azalmasına, serbest yağ asidi miktarının artmasına, proteinlerde yapısal bozukluklara, amino asit bileşiminde değişime neden olarak gıdalarda kötü koku, fire kaybı, renk ve tat bozukluklarına yol açmaktadır.

Süt ve süt ürünlerinde mikotoksin riski 1960 yılındaki Aflatoksin M1 insidansına dayanmaktadır. Okratoksin, zaeralenon, fumonisin, deoksinivalenol, T-2 toksini gibi mikotoksinler de süt ve süt ürünlerinde görülebilmektedir (Becker-Algeri vd, 2016).

Süt hayvanlarının beslenme yolu ile mikotoksinlere ve bu toksinlerin aktif metabolitlerine maruziyeti, süt ve ürünlerine geçişi insan sağlığı açısından önemli riskler taşımaktadır. Bu konudaki en büyük endişe, süt hayvanlarının beslemesinde kullanılan yemlerin mikotoksinler ile kontaminasyonu olmasıdır. Ayrıca iklim değişiklikleri ve buna paralel olarak hayvan beslenme orijini kontaminasyon riskini arttıran faktörlerdir (Fink-Gremmels, 2008). Süt ineklerinde, süt veriminin artırılması ve hayvansal enerjinin yükseltilmesi amacıyla hayvansal yemlerde rasyona ihtiyaç duyulmaktadır. Bu şekilde oluşturulan rasyonlarda farklı içerikli yem maddeleri mikotoksin riskini arttırabilir (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5 Süt ineklerinde farklı beslenme tiplerine bağlı olarak bulunması muhtemel mikotoksin tipleri (Fink-Gremmels, 2008).

Mikotoksin	Besleme Tipi
Aflatoksinler Fumonisinler Zearalenon Trikotesenler Ergot Alkaloidleri	Konsantre
Lolitrems Paspalitrems Penitrems A Ergovaline Ve İlgili ergot Alkaloidleri Trikotesenler	Mera otları
Patulin Mikofenolik Asit Rokfortinler Fumitremorgen Verrukulojen Monakolinler Ve Diğerleri	Silaj

Tarımsal ürünler ve bunlarla beslenen hayvanların yenilebilir dokuları ile hayatımıza giren mikotoksinler: Karaciğer, böbrek ve immün sistemlerde rahatsızlıklara neden olmaktadır (Coppock ve Christian, 2007; Kaya, 2014). Mikotoksinler etki ettikleri organ ve dokuya göre sınıflandırılmaktadır. Karaciğere etki eden mikotoksinler “hepatotoksik”, deriye etki eden mikotoksinler “dermatoksik”, böbreklere etki eden mikotoksinler “nefrotoksik”, sinir sistemine etki eden mikotoksinler “nörotoksik” ve bağışıklık sistemine etki eden mikotoksinler ise “immunotoksik” veya “immunosupresif” dir. Mikotoksinlerin ileri seviye maruziyeti sonucu kanserojenik, teratojenik, östrojenik ve mutajenik etkilerde görülmektedir (Tunail, 2000).

Mikotoksinler, Uluslararası Kansere Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından insan sağlığı açısından oluşturdukları risk düzeyine göre kategorize edilmiştir (Çizelge 2.6). Bu

değerlendirmeye göre, Aflatoksinler, kanserojen (Grup1) olarak sınıflandırılmaktadır (IARC 2012). Huffman ve Ark. (2010)' a göre mikotoksinler içerisinde insan sağlığına en tehlikeli olanı Aflatoksinlerdir (Budagova, 2022).

Çizelge 2.6 Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansına göre mikotoksinlerin insan sağlığı açısından oluşturdıkları risk düzeylerine göre gruplandırılması.

Grup 1: İnsanlar için kanserojen ajanlar	AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFM1	IARC, (2006; 2012; 2019)
Grup 2A: İnsanlar için olası kanserojen ajanlar		
Grup 2B: İnsanlar için olasılığı daha düşük kanserojen ajanlar	OTA FB1, FB2 Sterigmatocystin Fusarin C	IARC, (1993b) IARC, (2019) IARC, (1987a) IARC, (1993a)
Grup 3: İnsanlar için kanserojen olma özelliği açısından sınıflandırılmayan ajanlar	DON ZEA Fusarenone X Sitrinin Patulin	IARC, (1993a) IARC, (1993a) IARC, (1993a) IARC, (1987b) IARC, (1987b)
Grup 4: İnsanlar için muhtemelen kanserojen olmayan ajanlar		

2.4 Aflatoksinler

Aflatoksinler tüm canlılarda karsinojenite, mutajenite ve teratojeniteye sebep olan ve genellikle *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* küfleri tarafından üretilen doğal toksik metabolitlerdir. Tarihte ilk olarak 1960 yılında "Turkey-X Disease" ismiyle İngiltere' de 100.000' den fazla hindinin ölmesi ile keşfedilmiştir. Hayvanlarda ölümcül gelişen bu salgına Brezilya kökenli küflenmiş yer fıstığından kontamine olan *Aspergillus flavus*' un neden olduğu tespit edilmiştir (Bennett, 2010). Ülkemizde ise Aflatoksin sorunu 1967 yılında Kanada' ya ihraç edilen fındık ve 1971 yılında ABD' ye ihraç edilen antep fıstığını toksin içerdiği gerekçesi ile geri çevrilmesi sonucu ortaya çıkmıştır (Özer, 2009)

Aflatoksin kelimesi *Aspergillus flavus*' un ilk harflerinden türetilmiştir (Türkeşsiz, 2020). Aflatoksin B1 (AFB1), Aflatoksin B2 (AFB2), Aflatoksin M1 (AFM1), Aflatoksin M2 (AFM2), Aflatokin G1 (AFG1) ve Aflatoksin G2 (AFG2) doğal

aflatoksin türleridir (Şekil 2.2-2.7). Bu türler içerisinde Aflatoksin B1 (AFB1) toksititesi en yüksek, Aflatoksin M1 ve Aflatoksin G1' in ise toksititesi nispeten daha azdır.

Mikotoksinler içerisinde Aflatoksin grubu, biyolojik olarak en güçlü karsinojen maddeler olduğu bilinmektedir. Aflatoksinler laboratuvar hayvanlarına karşı kansorejen yapısı ve insanlarda akut toksikolojik etkileri sebebiyle mikotoksinlere nazaran daha çok ilgi duyulmaktadır. (Günşen ve Büyükyörük, 2003; Gürses ve ark., 2004).

Aflatoksinler birbirlerine çok benzer yapılara sahiptir. Yüksek oksijenlenmiş yapıları ile birlikte doğal heterosiklik bileşiklerden oluşur. Kontamine ürünlerdeki biyolojik aktivitelerden ve toksijenik *Aspergillus Flavus* kültürlerinden AFB1 ve AFG1 sorumludur. Bu durum, her iki toksininde yapılarında bulunan terminal furan halkasının 8, 9 karbon pozisyonunda doymamış bağa sahip olması ile ilişkilendirilmektedir. Bu toksinlerden farklı olarak AFM1, AFB1' in hidroksi türevidir. AFM1' in keşfi ilk kez Aflatoksin B1 ile kontamine yemleri tüketen hayvanların sütlerinden izole edilmesi ile gerçekleşmiştir. Bu şekilde süttten izole olmasında dolayı M olarak isimlendirilmiştir.

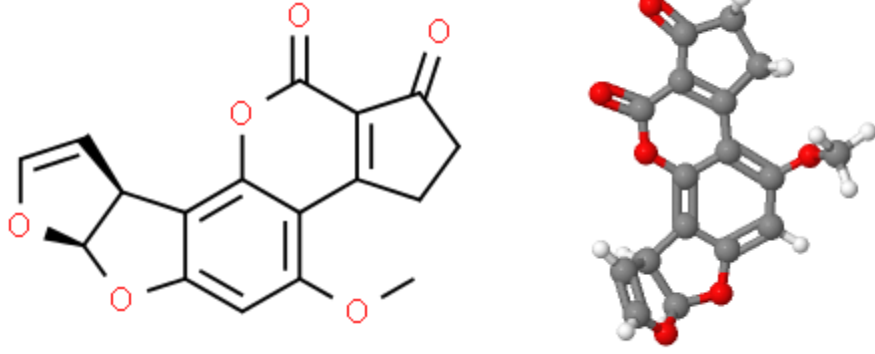
Süt hayvanlarının beslenmesinde kullanılan yemlerin AFB1 ile kontaminasyonuyla alınan bu toksin karaciğer sitokrom P450 enzimi ile çeşitli metabolitler oluşturur. Bu metabolitlerden en önemlisi AFM1' dir (Şekil 2.3). AFM1 hidroksil gruba sahip olmasıyla suda iyi çözünme yeteneği vardır ve böylece hayvan idrar ve dışkıında görülebilir. Bu geçişlerden en dikkat edilmesi gerekeni toksinin safra yolu ile süte geçebiliyor olmasıdır (Van Egmond, 1983). AFB1' in AFM1' e metabolizasyon süreci kontamine yemin tüketilmesinin ardından 12-24 saat içerisinde gerçekleşebilir ve bu süreç 3 güne kadar devam edebilmektedir. Veldman ve Ark (1992)' göre süt ineklerinde AFB1' in AFM1' e metabolize edilme olasılığı %1-2 arasındadır. Bu olasılığın artmasında; beslenme rejimi, sindirme oranı, hayvanın genel sağlığı, karaciğer biyotransfarmasyon kapasitesi gibi besinsel ve fiziksel faktörler ile süt üretimi gibi etmenler etkilidir. Yüksek konsantre yem ile beslenme rejiminde AFM1' in süte geçiş oranı % 6.2 seviyesine kadar çıkabilmektedir (Türkoğlu, 2018).

Aflatoksinler belirli dalga boyundaki UV ışıklarda farklı renkler vermektedirler (Çizelge 2.6) (Van Egmond, 1994).

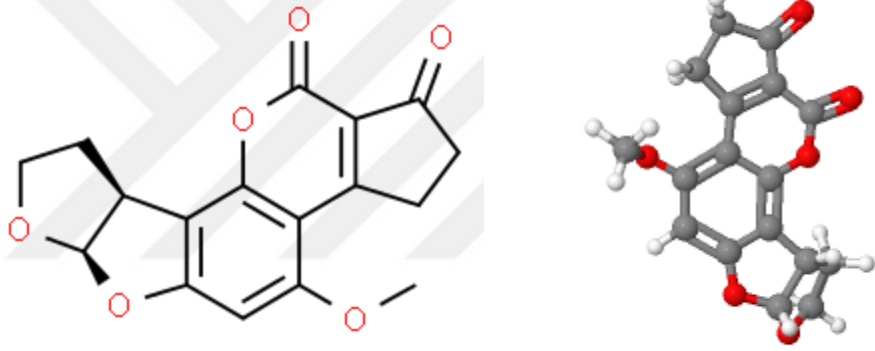
Çizelge 2.7 425-450 nm dalga boyundaki UV ışıklar Aflatoksinlerin verdiği renkler

Aflatoksin	Renk
AFB1	Mavi Fluoresans
AFB2	Mavi Fluoresans
AFM1	Mavi
AFM2	Mavi
AFG1	Yeşil Fluoresans
AFG2	Yeşil Fluoresans

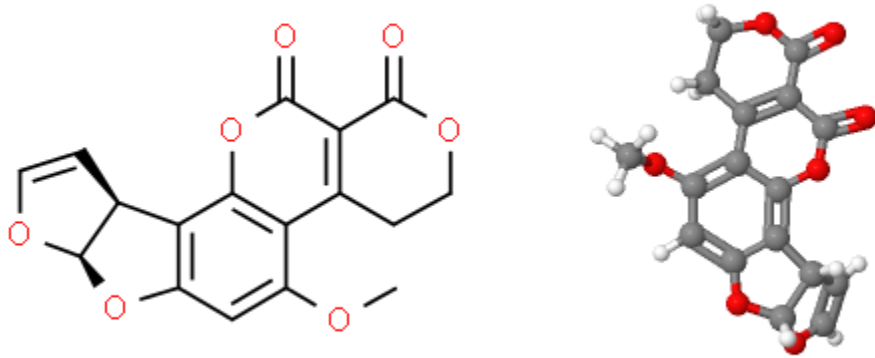
Bu türdeki mikotoksinler, 10-12 °C'den 42-43 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda 2,1 ila 11,2' lik pH değerleri arasında gelişebilmektedir. Küflerin gelişmesi için optimum sıcaklık 24-34 °C ve nispi nemlilik %70' in üzerindedir (Gürses ve Ark. 2004)



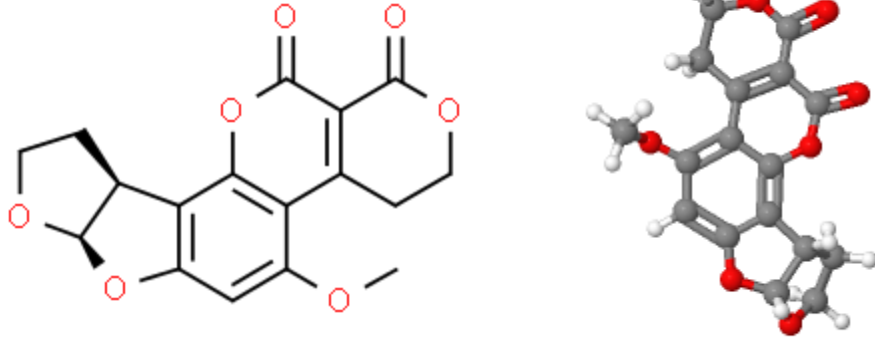
Şekil 2.2 Aflatoksin B1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı (Url-2)



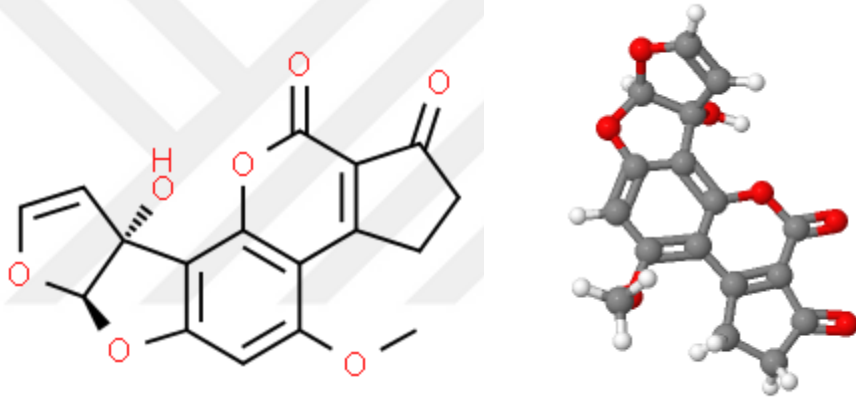
Şekil 2.3 Aflatoksin B2' nin 2 ve 3 boyutlu yapısı (Url-3)



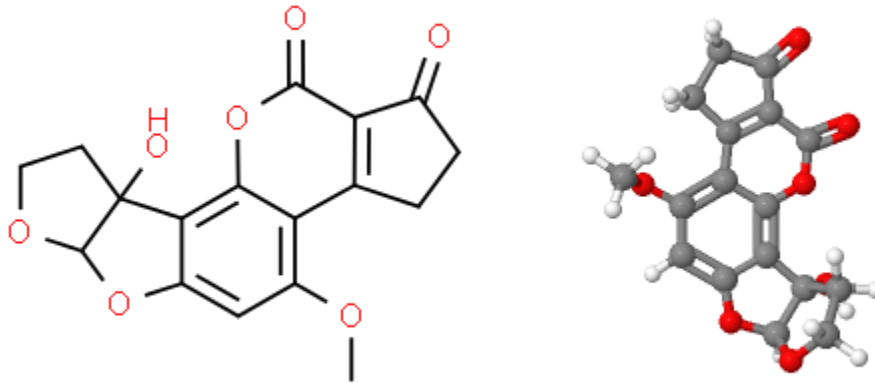
Şekil 2.4 Aflatoksin G1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı (Url-4)



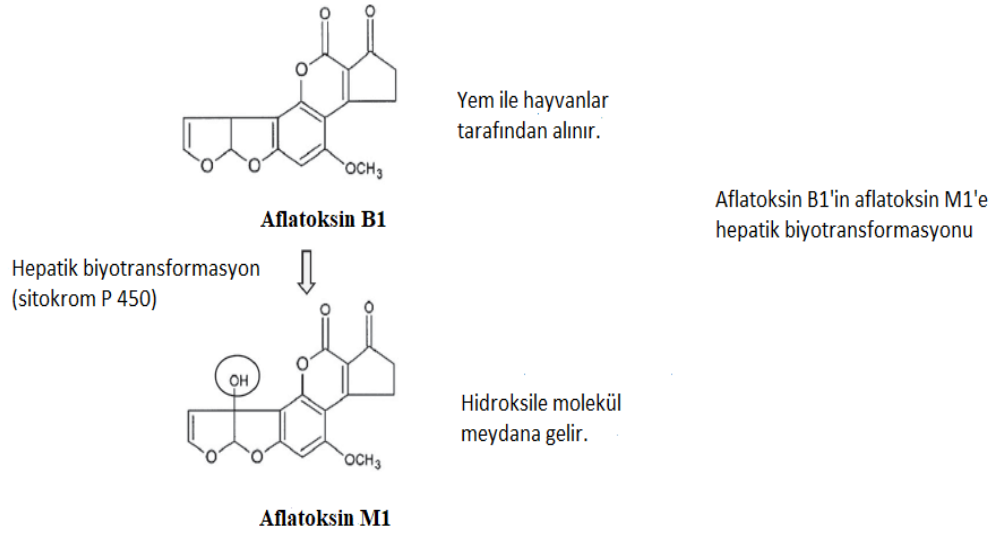
Şekil 2.5 Aflatoksin G2'nin 2 ve 3 boyutlu Kimyasal yapısı (Url-5)



Şekil 2.6 Aflatoksin M1'in 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı (Url-6)



Şekil 2.7 Aflatoksin M2'nin 2 ve 3 boyutlu kimyasal yapısı (Url-7)



Şekil 2.8 Aflatoksin M1' in metabolizasyonu (Becker-Algeri ve Ark. 2016).

2.4.1 Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Williams ve ark. (2004)' a göre, dünyada Aflatoksinlere maruz kalan insanların Aflatoksin seviyesi ve yaygınlığı incelenmiş, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde 5 milyara yakın insanın büyük ölçüde toksine kronik olarak maruz kaldığını ve ayrıca 4 milyara yakın insanın ise Aflatoksin maruziyeti ile ilişkili HCC (Hepatosellüler Karsinoma) yani; karaciğerin primer kanseri görüldüğünü bildirmişlerdir.

AFM1, AFB1' in en toksik alt tipidir (Shan, 2020). AFB1' in AFM1' e metabolizasyonu tipik detoksifikasyon olarak kabul edilir. Bunun sebebi ise AFM1' in karsinojenitesi AFB1' in ile kıyasla %10 oranındadır (İsmail vd., 2015).

Aflatoksin maruziyetinin akut sonuçları; yorgunluk, iştahsızlık, ataksi ve yağlı karaciğer semptomları şeklindedir. Kronik maruziyetin sonucunda ise; azalan gıda alınımları, sarılık ve iştah kaybı şeklinde devam etmektedir. Gong vd., (2016)' ne göre aflatoksin maruziyeti hastalıklara karşı vücut direncini ve aşıllara olan bağımlılığı azaltabilir (Demirer vd., 2021). Aflatoksinin toksik etki mekanizması ise DNA çift sarmalını sarmal olarak kullanıp, mRNA sentezini gerçekleştiren RNA polimerazın DNA' ya bağlanmasını engellemesidir (Seyrek, 2001).

Aflatoksinler lipofilik moleküllerdir ve karaciğerde ağırlıklı olarak lipofilik bir organ olduğundan, kan akımı ile taşınan tüm bileşikler hepatositlerde depolanır ve konsantre edilir. AFB1 yüksek karsinojenitesi sebebiye 1 µg/kg' lık seviyesi karaciğerde toksiteye

ve sonucunda tümör oluşuma neden olabilmektedir (Timbrell, 1989). Karaciğer haricinde, pankreas, mesane, böbrek, kemik ve diğer organlarda da aflatoksin maruziyetinden kaynaklanan patolojiler bildirilmiştir (Fouand vd., 2019; Marchese vd., 2018).

Gıdalarla alınan AFB1 karaciğer sitokrom P450 enzimleri tarafından yüksek oranda 809-epoksit oluşturmak üzere metabolize edilir ve daha sonra guanin eklentileri oluşturmak için DNA ile; serum lizin eklentileri oluşturmak için albümin ile reaksiyona girer (Bennet vd., 2003; Leong vd., 2012). Oluşturduğu bu epoksit form, hidroliz, glutasyon konjugasyonu ve DNA eklenmesi olmak üzere üç farklı yol ile metabolize olabilmektedir. DNA üzerinde bu eklenti oluşumu karsinogenezin neden olabilmektedir (Rushing ve Selim, 2018).

Yetişkin bireyler üzerinde etkileri nispeten daha fazla araştırmacılar tarafından çalışılmış olsa da özellikle gebelik dönemindeki toksin maruziyeti hem anne hem de çocuk üzerinde etkileri oldukça önemlidir. Annede metemoral anemi, oksidatif stresin artması gibi etkiler gösterirken, fetüste büyüme geriliği, plasental yetmezlik, yeni doğan sarılığı gibi etkilere de yol açabilmektedir (Demirer ve Özdemir, 2021b).

Süt ve süt ürünlerinde ağız yolu ile alınan Aflatoksinler vücuttan %0,09-0,43 aralığından atılabildiği düşünülmektedir. Alınan miktara göre atılan miktarın çok düşük olduğu göz önüne alınırsa Aflatoksinlere karşı maruziyetin anne ve bebek sağlığı açısından önemi daha iyi anlaşılmaktadır (Mangipudy ve Mehendale, 2005).

2.4.2 Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 Oluşumu

İnsan doğumundan itibaren ihtiyacı olan en temel gıdalar arasında süt ve süt ürünleri yerini almaktadır. Özellikle bebek ve çocukların sağlıklı beslenmesindeki önemi göz önüne alındığında, süt ve süt ürünlerindeki risklerde bile o kadar önemini arttırmaktadır. Süt, hayvanların yenilebilir dokuları arasında en fazla Aflatoksin kalıntısı içeren gıda olduğu bilinmektedir. Bu sebeple süt ve süt ürünleri, Aflatoksin maruziyeti açısından halk sağlığını tehdit eden önemli sorunlardan biri olarak kabul edilir (Deveci ve Sezgin, 2005).

Sütte mikotoksin varlığı direkt veya indirekt kontaminasyonlardan oluşmaktadır. Direkt kontaminasyon süt sağımından sonra, depolama, işleme veya muhafaza sırasında Aflatoksin sentezleyen küflerin süte kontamine olması ve toksinini sentezlemesi ile gelişir. Fakat bazı peynir üretim proseslerinde mikotoksin üreticisi küfler kasıtlı olarak

sütlerde kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları; Ülkemizde üretilen Tulum peyniri, Fransa’ da mavi damarlı P. roqueforti peynirleri, İspanya’ da Cabrales türü peynirlerdir. Ancak bu şekilde ticari amaçlar için üretilen peynirlerdeki mikotoksinlerin toksin değerleri ve insanlara karşı mikotoksizis durumu net olarak kanıtlanmamıştır.

İndirekt kontaminasyon ise, AFB1 ile kontamine yemler ile beslenmiş laktasyon dönemindeki hayvanların AFB1’ i metabolize ederek AFM1’ e dönüştürmesidir. Bu metabolize dönüşüm süt sığırlarında %0,1, koyunlarda ise %0,01 olarak bildirilmiştir (Karakaya, 2006). AFM1, sütte bulunabilecek en tehlikeli kalıntı ve süt toksini olarak bilinmektedir. Sütteki AFM1 içeriği ile yemlerle alınan AFB1 arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Kontaminasyonda mevsim, çevresel faktörler ve hayvan genetik durumu etkili olmaktadır (Kaya, 2014).

Aflatoksinler, pastörizasyon ve sterilizasyon gibi ısı işlemlere oldukça dirençlidirler. 300 °C ve üzerindeki ısı uygulamalarında ancak stabilitesi bozularak inaktive olurlar (Sabuncuoğlu ve Ark., 2008).

Sütte aflatoksin miktarı mevsimlere göre değişiklik gösterir. Bunun sebebi; Süt hayvanlarının kış aylarında mısır, buğday gibi depolanan karma kesif yemler ile beslenmesinden kaynaklı yemlerde AFB1 riskidir ve bu aylarda süt veriminin düşük olmasından dolayı AFM1 düzeyi sütlerde yoğun olarak bulunmasıdır (Galvano ve Ark., 1996; Bakırcı, 2001; Coşkun ve Şanlı, 2016; Madalı ve Ayaz, 2017).

2.4.3 Aflatoksin M1 ile İlgili Yasal Düzenlemeler

Gıda ve yemlerde mikotoksinlere bağlı oluşan kontaminasyonlar, gıda güvenliği konusunda tehlike oluşturarak halk sağlığını olumsuz bir şekilde etkilemekte ve sektörde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Uluslararası Kanseri Araştırma Ajansı (IARC, 2002), AFM1’ i Grup 1’e (İnsanlar için kanserojen ajanlar) olarak kategorilendirmiştir. Bu toksinin süt ve süt ürünlerindeki yüksek insidansı nedeniyle, gıdalardaki varlığı halk sağlığı için ciddi bir konu olduğunu bildirilmektedir. Birçok uluslararası organizasyon, araştırmacı mikotoksinlerin insan sağlığı üzerindeki zararlı etkilerini araştırmakta ve bu çalışmalardan yola çıkarak dünyanın bazı bölgelerinde mikotoksinler için gıda ve yemlerde izin verilen maksimum kalıntı limitlerinin (MRL) belirlenmesinde oldukça önemlidir (Scudamore, 2005).

Kabak ve Var, (2019)’ a göre; Gıda Katkı Maddeleri Ortak Uzmanlar Komitesi (JECFA) tolere edilebilir alım düzeyi için herhangi bir limit bildirmemiştir çünkü dünya

apındaki maksimum AFM1 seviyeleri konusunda uluslararası bir anlaşma henüz yoktur.

Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğine göre; çiğ süt, ısıt işlem görmüş süt ve süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt’ te maksimum Aflatoksin M1 limiti 0,05 µg/kg’dır. Bebek formülleri ve devam formüllerinde ise 0,025 µg/kg olarak bildirilmiştir (Anonim, 2011). Gıdalarda Bulunan Kontaminantlar paneli (CONTAM, 2007) ve Gıda Güvenlik Komitesi’ nin (FSC) 2013 raporuna göre, AFM1 için ALARA’ nın (alınabilecek en düşük düzeylerde alım) olması gerektiği bildirilmiştir. (Food Safety Commission of Japan, 2013) (Çizelge 2.6).

Çizelge 2.8 Türkiye’de ve Farklı ülkelerde süt ve süt ürünlerinde AFM1 için MRL limitleri (Becker-Algeri vd., 2016)

Ülke	Süt (µg/kg)	Süt Ürünleri (µg/kg)
Türkiye	0,05	0,025 (Bebek Sütleri)
Avrupa Birliği	0,05	0,05
Avusturya	0,05	0,02 (Tereyağı) 0,01 (Devam Sütü) 0,40 (Süt Tozu)
Almanya	0,05	---
ABD	0,05	---
Belçika	0,05	---
Fransa	0,05	0,03 (Bebek Sütleri)
İsviçre	0,05	0,025 (Peynir, Tereyağı)
Arjantin	0,05	0,50
İran	0,50	---
Fas	0,05	0,50 (Süt Tozu) 0,03 (Bebek Sütleri)
Çin	0,50	---
Hollanda	0,05	0,2 (Peynir) 0,02 (Tereyağı)
Mısır	0	0
Nijerya	1,0	---

2.5 Konu ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Türkiye’ de ve farklı ülkelerde, süt ve süt ürünlerinde Aflatoksin M1 varlığının incelendiği bazı çalışmaların bulgu ve sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

Özsunar ve ark. (2005), Trakya bölgesinde inek sütlerinin AFM1 kontaminasyon derecelerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, 135 adet çiğ süt örneğini analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda örneklerden 76’sında (%56,3) AFM1 bulunduğunu tespit etmişlerdir. Örneklerde saptanan AFM1 miktarları 0,0-0,0068 µg/L arasında değişirken genel ortalama 0,008 µg/L bulunmuştur. AFM1 bakımından pozitif çıkan örneklerden sadece 1 tanesi (%0,74) yasal mevzuat limitin üzerinde bulunmuştur.

Çelik ve ark. (2005), yaptıkları çalışmada dünya genelinde çocuklar dahil tüm yaş gruplarının tükettiği pastörize sütlerde AFM1 kontaminasyon düzeyini belirlemek amacıyla 85 adet pastörize süt örneğini analiz etmişlerdir. Çalışma sonucunda 75 numunenin (%88,23) AFM1 ile kontamine olduğu ve 48 numunenin (%64) Türk Gıda Kodeksi ve Codex Alimentarius limitine (0,05 µg/L) göre sütteki yasal AFM1 seviyesini aştığı tespit etmişlerdir.

Kamkar (2005), İran’ da 111 adet çiğ süt örneği analizi çalışmasında 85 adet örnekte (%76,6) AFM1 tespit etmiştir. Çalışma sonucunda AFM1 düzeyi 15-280 ng/L aralığında ve 34 adet (%40) örneğinde ise 0,05 µg/L üzerinde bulunmuştur.

Özturan (2005), Konya ve Erzurum illerinde askeri birliklere numune olarak gönderilen ve piyasada açık olarak satışa sunulan 40 adet çiğ süt örneğinin analizinde, 34 örnekte (%90) AFM1 tespit edilmiş ve AFM1 düzeyi 18-185 ng/L aralığındadır. 13 örnekte (%32,5) ise AFM1 düzeyi 50 ng/L üzerinde bulunmuştur.

Çoksöyler vd. (2006), Van’ da üretilen çiğ sütlerde AFM1 oluşumu ve nedenlerini araştırmak için yaptığı Tubitak (proje no: 101Y098) projesinde 203 adet çiğ süt numunesini incelemiş ve çalışma sonucunda sadece 8 adedinin 0,010 µg/Kg ve üzerinde toksin içerdiği ve bu numunelerden hiçbirinin 0,05 µg/kg olan yasal mevzuat limitini aşmadığını bildirmiştir.

Tajik ve Ark. (2007), İran’ da yaptıkları bazı süt çeşitlerinde AFM1 kontaminasyonu çalışmasında, toplamda 114 adet çiğ ve pastörize süt örneklerini incelemişlerdir. Çalışma sonuçları, pastörize süt örneklerinde 5,1-28,5 ng/L, çiğ süt örneklerinde 4,3-91,8 ng/L aralığında AFM1 tespit etmişler ve çiğ süt örneklerinin %6,25’ i 50 ng/L üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Kantemir (2007), Ağrı’ da perakende olarak satışa sunulan çiğ ve UHT sütlerde AFM1 seviyelerinin belirlenmesi ve AFM1 kontaminasyonunun mevsimlere göre farklılıklarının araştırılması çalışmasında, 2006 Ocak-Aralık döneminde her ay düzenli olarak toplanan toplamda 156 adet çiğ ve 156 adet UHT süt örnekleri ELISA yöntemi ile incelemiştir. Analiz edilen çiğ süt örneklerinin 119 adedinde (%76,28), UHT süt örneklerinin ise 129 adedinde (%82,70) AFM1 tespit edilmiştir. AFM1 tespit edilen çiğ süt örneklerinde 39 adedi (%24,99), UHT süt örneklerinin ise 27 adedinde (%17,30) belirlenen AFM1 seviyesi Türk Gıda Kodeksinde belirtilen yasal limitleri aştığını bildirmiştir. Çalışmanın ikinci kısmı olan AFM1 kontaminasyonunun mevsimsel farklılığı ise, çiğ sütlerde en düşük Temmuz-Ağustos, en yüksek Mart ve Nisan aylarında olduğunu, UHT süt örneklerinde ise en düşük Haziran, en yüksek Ocak-Mart dönemlerinde gözlemlendiğini bildirmiştir.

Hussain ve Anwar (2008), Pakistan’ ın 14 farklı bölgesinden düzenli olarak topladıkları 168 adet çiğ süt örneğinde AFM1 varlığını araştırmışlardır. Analiz edilen tüm örneklerde AFM1 tespit edilmiş ve kontaminasyon seviyeleri; 161 (%99,4) örnekte (10-700 ng/L ve 50 ng/L üzerinde olduğunu, 5 (%3) örnekte ise bu seviyenin 500 ng/L’ de yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Kamkar (2008), İran Tahran ilinde farklı süt işletmelerine ait 52 adet UHT süt örneğini ELISA yöntemi kullanarak AFM1 seviyelerini incelediği araştırmasında, örneklerin tamamında AFM1 tespit edildiğini, kontaminasyon aralıklarının yaz ve sonbahar mevsimlerine göre; yaz dönemi örneklerinin 22.40-84.80 ng/kg aralığında ve ortalama 69.22 ng/kg, sonbahar dönemi örneklerinin ise 19.40-93.60 ng/kg aralığında, ortalama 65.60 ng/kg olarak bildirmiştir. Analiz sonucunda yaz ve sonbahar döneminde AFM1 kontaminasyonlarında önemli bir farklılık olmadığını ve örneklerin %79,92’ sindeki AFM1 miktarı bazı Avrupa ülkelerinde belirtilen maksimum üst limiti (50 ng/kg) aştığını bildirmiştir.

Çeçen (2009), Ahırda ve merada beslenen hayvanların sütlerinde AFM1 karşılaştırması amacıyla yaptığı çalışmada, Van ilinin farklı noktalarındaki meralarda beslenen hayvanlardan 31 adet; Ankara ilinde farklı ahırlarda kesif yemle beslenen hayvanlardan 30 adet olmak üzere toplam 61 çiğ süt örneği kullanmıştır. Örneklerdeki AFM1 miktarlarının tespitinde HPLC ile gerçekleştirmiştir. Analiz sonucunda meralarda beslenen hayvanlardan alınan süt örneklerinin sadece 1 (%3,22) tanesinde AFM1 tespit ederken, ahırda kesif yem ile beslenen hayvanlardan alınan süt örneklerinin ise 23’ ünde

(%76,66) farklı düzeylerde AFM1 tespit edildiğini bildirmiştir ve süt hayvanlarında beslenme tipinin Aflatoksin M1 düzeyinde önemli farklılıklar gösterdiğini tespit etmiştir.

Gündinç ve Filazi (2009), Bursa’ da tüketim için satışa sunulan farklı markalara ait 50 adet UHT tam yağlı sütlerde AFM1 tespiti çalışmalarında, AFM1 testinde ELISA tekniğini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda örneklerin tamamında (%100) AFM1 tespit edildiğini, ortalama değerlerin ise 101,2 +/- 53,8 ng/L olduğunu ve örneklerden 10’ u (%20) Avrupa Topluluğu (Commission Regulation (2010)) ve TKG’ inde belirtilen yasal limitin üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Lee ve ark. (2009), Güney Kore’ de 100 adet çiğ sütü örneği analizinde, 48 örnekte AFM1 tespit etmişlerdir. AFM1 düzeyi 2-80 ng/L arasında, ortalama 26 ng/L olarak bildirmişlerdir.

Ghazani (2009), İran’ ın Tebriz şehrinde farklı süpermarketlerden 6 ay boyunca (Aralık-Temmuz) topladığı 50 adet pastörize süt örneğinin AFM1 kontaminasyonunu ELISA yöntemi ile analiz etmiştir. Analiz sonucunda örneklerin tamamında (%100) AFM1 tespit edildiğini ve örneklerin %62’ sini Avrupa Birliği tolerans sınırı (50ng/L) üzerinde olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Tebriz şehrinde satılan pastörize süt örneklerinin AFM1 düzeyinin halk sağlığı açısından ciddi risklere, ekonomik kayıplara neden olabileceği ve süt ineklerinin beslenmesinde kullanılan yemlerin mümkün olduğunca küf kontaminasyonundan uzak tutulması önerilerinde bulunmuştur.

Delialioğlu ve ark. (2010), AFM1’ in toksik ve kanserojen etkilerinden yola çıkarak, çiğ ve UHT sütlerde AFM1 düzeyinin araştırılmasını amaçladıkları çalışmada, materyal olarak 39 adet çiğ keçi sütü, 53 adet çiğ inek sütü ve 45 adet UHT sütü HPLC yöntemi (HPLC: Aflaprep M, İmmunoaffinite Kolonu: R-Biopharm Rhone ltd) ile analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda 14 adet (%35,8) çiğ keçi sütü, 46 adet (%86,7) çiğ inek sütü ve 33 adet (%73,3) UHT süt örneğinde AFM1 kontaminasyonu tespit etmişlerdir. AFM1 kontaminasyon aralığı çiğ süt örneklerine (inek, keçi) 0,0021-0,8666 ug/L, UHT süt örneklerinde 0,001-0,059 ug/L aralığında olduğunu ve çiğ keçi sütü örneklerinin 4 adedi (%10,2), çiğ inek sütü örneklerinin 39 adedi (%73,5) ve UHT süt örneklerinin 1 adedi (%2,2) TKG sınır değeri (0,05 ug/L) üzerinde olduğunu tespit etmişlerdir. Öneri olarak çalışmanın yapıldığı mersin ilinde özellikle çiğ üt üretimi yapılan işletmelerde

yem, süt ve süt rnlerinde AFB1 ve AFM1 kontaminasyonundan korunmak için önleyici tedbirler alınması gerektiğini sunmuşlardır.

Atasever ve ark. (2010), Erzurum’da 150 adet UHT süt örneğini ELISA yöntemiyle araştırdıkları çalışmalarında, örneklerin 89 (%59) adedinde AFM1 içerdiğini ve 16 (%10.7) adedinin ise Commission Regulation (2010) ve TGK (2011)’ inde belirtilen maksimum limit değerı (0.05 µg/L) aştığını bildirmişlerdir.

Tita ve ark. (2010), Romanya’da 5 ayrı çiftlikten 1 yıllık süreç içerisinde toplanan 120 çiğ süt örneğinin analizinde, 4 örnekte (%3,3) AFM1 tespit etmişlerdir. AFM1 düzeyi (50-57 ng/L) 50 ng/L üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Heshmati ve Milani (2010), İran Tahran şehrinde 4 farklı ayda topladıkları UHT sütlerde AFM1 seviyesinin belirlenmesi çalışmalarında toplam 210 adet rneği incelemişlerdir. Çalışma sonucunda örneklerin 116 adedinde (%55,2) AFM1 saptanmış ve 70 örneğin (%33,3) ise Avrupa lkeleri tarafında kabul edilen maksimum değerin (0,05 µg/l) zerinde olduğunu, numunelerin hiçbirinin ABD düzenlemelerinin öngördüğü limiti aşmadığını bildirmişlerdir. Çalışma sonucuna ek olarak yapılan istatistiksel değerlendirmede, süt numunelerinin aylara göre kıyaslaması yapıldığında en yüksek kontaminasyonun (0,087 µg/l) şubat ayında, en düşük ise (0,021 µg/l) Ağustos ayında olduğunu gözlemlemişlerdir.

Hazer (2011), Denizli ve Aydın illerinde 3 çiftlikten ayrı dönemlerde aldığı 81 adet çiğ süt örneklerini ELISA yöntemiyle AFM1 prevalansı ve miktarının aranması çalışmasında örneklerin tamamında AFM1 tespit etmiştir. AFM1 düzeyi (5.76-105.45 ng/l) aralığında ve 20 örnekte (%24.7) ise yasal limitin üzerinde olduğunu saptamıştır. Örneklerdeki AFM1 kontaminasyon sebebi olarak yetersiz hijyen ve mastisit ile ilişkilendirilebileceği bildirmiştir.

Oruç ve ark. (2011), Bursa’ da süt sığırcılığı işletmelerinden toplanan 30 adet çiğ süt ile, perakende satışa sunulan 54 adet UHT süt rneklerinin AFM1 düzeylerini ELISA tekniği ile belirlemişlerdir. Analiz sonucunda örneklerin tamamında AFM1 tespit edilmiş olup ortalama AFM1 miktarı 6.40-0.42 ng/kg olarak saptamışlardır.

Buldu ve ark. (2011), Kayseri ili köylerindeki inek sütlerinin AFM1 kontaminasyonu belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada 90 adet süt numunesini ELISA yöntemi ile incelemişlerdir. alışmalarında AFM1 düzeyinin ortalama 59,9 ng/L, %95 güven

aralığında 54,4-65,5 ng/L olduğunu, 63 örnek (%70) ise Avrupa Birliği limit değeri ile TKG maksimum değerin büyük ölçüde üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Han ve ark. (2013), Çin’ de süt üretim merkezlerinden topladıkları 200 adet çiğ süt örneğinin analizinde, örneklerin %32,5’ inde AFM1 tespit etmişlerden. Tespit edilen AFM1 miktarı 5,2-59,6 ng/L aralığındadır. AFM1 düzeyi 3 örnekte 50 ng/L üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Duarte ve ark. (2013), Portekiz’ de toplam 40 adet UHT yarım yağlı ve pastörize süt örneklerini ELISA yöntemiyle inceledikleri çalışmalarında, örneklerin 11 adedi (% 27,5) AFM1 kontaminasyonuna sahip olduğunu ve tüm örneklerin 2 adedinin (% 5) AFM1 miktarı standartlarda belirtilen maksimum limit değeri (50 ng/L) üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Kos ve ark. (2013), Sırbistan’ da toplam 150 adet çiğ süt örneğinin analizinde, 148 adet (% 98,7) örnekte AFM1 tespit etmişlerdir. Saptanan AFM1 düzeyi 10-200 ng/L aralığındadır. 129 adet (%86) örnekte ise AFM1 düzeyi 50 ng/L üzerinde olduğu bulunmuştur.

Picinin ve ark. (2013), Brezilya Minas Gerais eyaletinden toplanan çiğ sütlerde farklı iklim koşullarında AFM1 oluşumları üzerine yaptıkları çalışmada materyal olarak kuru, geçiş ve yağış dönemlerinde toplam 129 adet süt örneği ve ELISA tekniği ile incelemişlerdir. Analiz edilen süt numunelerinden AFM1 konsantrasyonu 0,05 µg/l üzerinde olan numuneler doğrulayıcı yöntem olarak HPLC-FD ile analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda ise tüm örneklerde AFM1 tespit edildiği, tespit edilen miktarların Brezilya mevzuatına göre sütte izin verilen (0.50 µg/l) miktarın altında olduğunu fakat 18 örneğin (%13,95) Codex Alimentarius ve Avrupa Komisyonu tarafından belirlenen maksimum limit değerin (0,05 µg/l) üzerinde olduğunu bildirmişlerdir. Sütte AFM1 oluşumu mevsimlere (dönem) göre önemli ölçüde farklılık gösterdiğini kontaminasyonun en yüksek kuru dönemlerde gözlemlendiği belirtmişlerdir.

Kara ve İnce (2014), Afyonkarahisar ilinde inek ve manda sütlerindeki mikotoksin varlığının araştırılmasını amaçladıkları çalışmalarında; 124 adet çiğ inek sütü ve 126 adet çiğ manda sütü örneklerini HPLC yöntemi ile analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda çiğ inek sütlerinde AFM1 tespit edilmediği ve çiğ manda sütü örneklerinin 34 adedinde (%27) 0,008-0,032 µg/l aralığa AFM1 kontaminasyonu tespit edildiğini bildirmişlerdir.

İşleyici ve ark. (2015), Van ili merkezde ambalajsız olarak satılan çiğ inek sütündeki AFM1 düzeylerini belirlemek amacıyla yaz aylarında (Haziran, Temmuz ve Ağustos) topladıkları 100 süt örneğini ELISA yöntemiyle incelemişlerdir. Analiz sonucunda 15 örnekte (%15) AFM1 bulamazken, 53 örnekte (%53) saptama sınırının altında (5ppt), 6 ile 76.96 ng/l arasında, 21 örnekte (%21) ortalama 24.60 ± 17.89 ng/l ve 11 örnekte (%21) ise 80 ng/l üzerinde tespit etmişlerdir.

Rama ve ark. (2015), Kosova Piriştine' de pastörize ve UHT sütlerde AFM1 kalıntılarının belirlenmesi ve halk sağlığına olan etkilerini araştırmak üzere yaptıkları çalışmada toplamda 178 süt örneğini (84 adet pastörize, 94 adet UHT) ELISA yöntemi ile analiz etmişlerdir. Analiz bulgu ve sonucunda; analiz edilen tüm örneklerin %81' inde AFM1 kontaminasyonu tespit edildiğini, pastörize ve UHT süt örneklerinin sıraya %83,3, %78,7' sinin AFM1 ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Pastörize süt örneklerinde AFM1 seviyesi 5,16-110 ng/l, UHT sütlerde ise 5,02-62 ng/l aralığında ve kontamine olan pastörize süt örneklerinin 18 adedi (%21,4), UHT süt örneklerinin ise 4 adedi (%4,2) Avrupa Birliği maksimum limit değeri (50 ng/l) üzerinde olduğu gözlemlenmiştir.

Madalı (2016), Ankara'da marketlerde satışa sunulan UHT ve pastörize süt türlerinde Aflatoksin M1 varlığının araştırılması çalışmasında; şubat, mayıs, temmuz dönemlerine ait 105 adet UHT 30 adet pastörize süt örneğini analiz etmiştir. Çalışma sonucunda toplamda 135 adet süt örneği incelenmiş ve bunlarında %73,3' ünde AFM1 tespit etmiştir. Çalışma bulguları dikkate alındığında UHT süt örneklerinin ortalama AFM1 değeri (9.3 ± 4.58 ng/L), pastörize süt örneklerinin ortalama AFM1 değerinden (6.3 ± 3.76 ng/L) daha yüksek olduğunu ve ısıtma işlem uygulamasının AFM1' i inaktive etmekte yeterli olmadığını bildirmiştir. Ayrıca analizi yapılan süt örneklerinin tamamının TGK bulaşanlar yönetmeliğinde belirtilen yasal limiti (0.5 µg/kg) altında olduğu gözlemlenmiştir.

Uluçay (2016), Iğdır ve çevresinde üretilen çiğ sütlerin AFM1 miktarı ve bazı fizyokimyasal özelliklerini belirlemek amacıyla yaptığı araştırma çalışmasında, 25 adet çiğ inek sütü kullanmış ve örneklerin tamamında AFM1 tespit etmiştir. Örneklerde tespit edilen AFM1 miktarının ortalama $0.132 \mu\text{g/kg} \pm 0.107$ olduğunu ve 20 adet (%80) örneğin ise TGK Bulaşanlar Yönetmeliğinde belirtilen maksimum limit değeri (0,05 µg/kg) aştığını bildirmiştir.

Stojkovic ve ark. (2016), Makedonya’ da 2013 Şubat ve 2014 Ocak döneminde toplam 3635 adet çiğ inek sütü örneğini AFM1 yönünden ELISA yöntemi ile taramışlardır. Yöntemin doğrulanması HPLC-FD ile gerçekleştirilmiştir. Analiz edilen süt numunelerinin %2,9’ unda belirlenen AFM1 miktarı izin verilen maksimum limiti aştığını ve en yüksek konsatrasyonun ise 408,1 ng/kg olduğunu bildirmişlerdir. Analiz çalışmasına ek olarak hayvan beslenmesinde kullanılan yemlerin AFB1 içeri HPLC-FD yöntemi ile tespit edilmiştir. İncelenen yemlerin %31,8’ inde kontaminasyon tespit edildiğini ve AFB1’ in AFM1’ e taşınımı %0,22 ile %3,47 aralığında olduğunu düşünmektedirler.

Şimşek (2017), Sivas ve yöresinde açık olarak satılan sütlerde AFM1 varlığı ve kalıntı düzeyi araştırmasında, toplanan 60 adet çiğ süt örneğinin 55 adedinde (%91.6) AFM1 tespit etmiştir. AFM1 miktarları 1.56-133.78 ve ortalama $36,59 \pm 3,98$ ng/L olarak tespit etmiştir. AFM1 düzeyi 12 örnekte (%21.8) 50 ng/L üzerinde olduğunu ve 5 örnekte (%8.3) tespit edilebilir olmadığını bildirmiştir.

Alatalı (2017), Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği yasal limitleri (0,05 µg/kg) dikkate alınarak yaptığı çalışmasında, 75 adet pastörize ve 75 adet UHT sütte AFM1 varlığını incelemiştir. Analiz çalışması sonucunda pastörize süt örneklerinin tamamında (%100) farklı düzeylerde AFM1 tespit edildiğini ve bu örneklerin ise hiçbirinin yasal limitleri aşmadığı, UHT süt örneklerinin ise 69 adedinde (%92) AFM1 tespit edildiğini ve örneklerde 3 adedinin (%4) yasal limiti aştığını bildirmiştir.

Kızıl ve ark. (2017), Elazığ’ da üretilen çiğ sütler ile marketlerde satışa sunulan UHT sütlerde AFM1 varlığının incelenmesi çalışmalarında; 2013-2017 yıllarında Elazığ İl Gıda Kontrol Laboratuvarına getirilen 50 adet çiğ ve 50 adet UHT süt örnekleri HPLC metoduyla incelenmiş. Analiz sonucunda çiğ süt örneklerinin 16 adedinde 0,005-0,23 µg/kg aralığında, UHT süt örneklerinin ise 1 adedinde 0,018 µg/kg AFM1 tespit edilmiştir. Analiz edilen örnekler TGK Bulaşanlar Yönetmeliği maksimum limitlere göre değerlendirildiğinde sadece çiğ süt örneklerinden 1 tanesinin (0,23 µg/kg) aştığını bildirmişlerdir.

Türkoğlu (2018), Çiğ, pastörize ve UHT sütlerde Aflatoksin M1 ve Okratoksin A (OTA) varlığının araştırılması çalışmasında, toplamda 105 süt örneği (35 çiğ, 35 pastörize ve 35 UHT) ELISA yöntemiyle analiz etmiştir. Çalışma sonucunda sütlerde

ortalama 19.54 ng/L AFM1 tespit edilmiştir. AFM1 tespit edilen süt örneklerinin 8 adedi (%7.61) Türk Gıda Kodeksi limit değeri (50 ng/L) üzerinde olduğunu bildirmiştir.

Yıldırım ve ark. (2018), Kırıkkale yöresindeki süt çiftliklerinden toplanan süt ve yem örneklerinde AFM1 ve AF (Toplam Aflatoksin) kontaminasyonu incelenmesi çalışmalarında, 2012 Haziran-2013 dönemlerinde 154 adet süt örneği ile 154 adet süt hayvanlarının beslenmesinde kullanılan yem örneği ELISA tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda incelenen süt ve yem örneklerinin tamamında (%100) AFM1 tespit edildiğini, süt örneklerinde tespit edilen AFM1 kontaminasyon seviyeleri yasal limitlerin altında olduğunu, yem örneklerinin ise 5 (%3,25) adedinde tespit edilen AF kontaminasyonu 20 ng/kg üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Hassan ve ark. (2018), Katar’ da pazarlanan süt ve süt ürünlerinde Aflatoksin M1 insidansı araştırmak için yaptıkları çalışmada, toplamda 72 adet pastörize ve UHT süt örneğinin; 61 adedinde (%85) AFM1 tespit etmişlerdir. Süt örneklerinden pastörize ve UHT’ deki AFM1 seviyeleri arasında pek fark olmadığını, örneklerde tespit edilen AFM1 seviyesinin 50 ng/L üzerinde olmadığını bildirmişlerdir.

Diler (2019), Bursa’ da tüketime sunulan çiğ ve pastörize süt örneklerinde AFM1 insidansı ve kontaminasyon seviyelerinin belirlenmesi çalışmasında, toplamda 120 adet süt örneği incelemiş sonucunda; 60 çiğ süt örneğinin 51’ inde (%85) ve 60 pastörize süt örneğinin 37’ sinde (%61.7) değişik miktarlarda AFM1 tespit etmiştir. AFM1 tespit edilen çiğ süt örneklerinin 15’ inin (%25) ve pastörize süt örneklerinin 7’ sinin (%11.7), TGK yasal limiti (0.05 µg/kg) aşan düzeylerde olduğunu bildirmiştir.

Orakçı (2019), Bursa’ da tüketime sunulan çiğ ve pastörize süt örneklerinde AFM1 insidansını belirlenmesi çalışmasında, 2017 Kasım-Haziran döneminde 10 ar adet olmak üzere topladığı toplam 60 adet çiğ ve 60 adet pastörize süt örneklerini HPLC tekniği ile incelemiştir. Analiz sonucunda çiğ süt örneklerinin 51 adedinde (%85), pastörize süt örneklerinin ise 37 adedinde (%61,7) AFM1 tespit edildiğini ayrıca aylara göre kıyaslama yapıldığında çiğ süt örneklerinde en yüksek ortalamanın 0,05 µg/kg ile kasım ayında, pastörize süt örneklerinde ise ortalama 0,026 µg/kg Haziran ayında gözlemlendiğini bildirmiştir. Çalışma bulgularına göre çiğ süt örneklerinin 15’ inde (%25) ve pastörize süt örneklerinin ise 7’ sinde (%11,7) belirlenen AFM1 değeri Türk Gıda Kodeksi yasal limit (0,05 µg/kg) üzerinde olduğunu tespit etmiştir.

Daou ve ark. (2020), Lübnan’ da çiğ, pastörize ve UHT sütlerde Aflatoksin M1 oluşumu çalışmaları için topladıkları 868 inek sütü örneğinin incelemesinde, çiğ, pastörize ve UHT süt örneklerinde sırasıyla 0.011–0.440 µg/l, 0.013–0.219 µg/L ve 0.015–7.350 µg/L aralığında kontaminasyon olduğunu ve AFM1’ in Avrupa Komisyonu Tolere Edilebilir sınırının (MTL) üzerinde olduğu örneklerinde sırasıyla %28, %54.5 ve %45.5’ i olduğunu bildirmişlerdir.

Tarannum ve ark. (2020). Bangladeş’ te çiğ ve işlenmiş sütte Aflatoksin M1 varlığının tespiti çalışmalarında, 50 adet çiğ, 25 adet pastörize ve 25 adet UHT süt örneklerini ELISA yöntemi ile incelemişlerdir. Analiz sonucunda toplam örneklerin %53’ ünde AFM1 kontaminasyonu tespit edilirken, çiğ sütlerin %70’ inde 22.79 – 1489.28 ng/kg, pastörize sütlerin %52’ sinde 18.11 – 672.18 ng/kg, UHT sütlerin ise %20’ sinde 25.07 – 48.95 ng/kg arasında değişen AFM1 kontaminasyonu tespit edildiğini ve tüm pozitif örneklerinde %75’ inin Codex Alimentarius Komisyonu kabul edilebilir sınırını (50 ng/kg) aştığını bildirmişlerdir.

Okay (2021). Piyasada satışa sunulan UHT ve UHT organik sütlerde AFM1 kontaminasyonunun belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada; 75 adet UHT süt ve 54 adet UHT organik süt örneğini HPLC metodu ile incelemiştir. Çalışma sonucunda UHT süt örneklerinin tamamında (%100) 0,0072-0,439 µg/kg aralığında, UHT organik süt örneklerinin ise 48 adedinde (%88,89) <LOD-0.0478 µg/kg aralığında AFM1 tespit edildiğini ve analizi yapılan hiç bir süt örneğinin TGK’ inde belirtilen yasal limiti aşmadığını bildirmiştir.

Mannani ve ark. (2021). Fas’ ta 4 şehirde pastörize ve UHT sütlerde AFM1 çalışmalarında, topladıkları 67 süt örneğinde AFM1 seviyelerini belirledi. Analiz sonucunda örneklerden 9 (%13.4) tanesinin pozitif ve 10-77 ng/L aralığında olduğunu, ayrıca pozitif örneklerden sadece bir tanesinin maksimum düzenleyici limit sınırı (50 ng/L) aştığını bildirmişlerdir.

Mollayusefian ve ark. (2021). Farklı süt türlerinde (inek, manda, keçi, koyun, deve, eşek ve koyun) Aflatoksin M1 konsantrasyonu ve prevalansı için 199 makaleden (320 veri raporu ve 51252 örnek) sistematik bir inceleme ve meta-analiz çalışması yapmışlardır. Çalışma sonucunda çiğ sütteki en düşük ve en yüksek AFM1 konsantrasyonu Libya (1,58 ng/L) ve Tunus’ ta (14000,00 ng/L) olduğunu, çiğ sütte en yüksek konsantrasyonun inek sütünde, (ortalama: 79.65 ng/L) en düşük konsantrasyonun ise

manda sütünde (2.35 ng/L) olduğunu, Pastörize sütteki en düşük ve en yüksek konsantrasyon sırasıyla keçi sütünde (7.67 ng/L) ve inek sütünde (87.20 ng/L) gözlemlendiğini; Ayrıca AFM1 insidansı, süt ve süt ürünlerinde sıkı bir şekilde izlenmeli ve kontrol edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Topi ve ark. (2022). Arnavutluk perakende pazarında UHT ve pastörize süt numunelerinde AFM1 kontaminasyonu çalışmalarında, toplanan 119 inek sütü örneğinin 62' sinde (%52.10) AFM1 tespit edildiğini ve pastörize süt örneklerinde UHT örneklerden daha fazla AFM1 kontaminasyonu olduğunu, (sırasıyla %59.68 ve %43.86) pozitif örneklerin ise 7 tanesinin (%5.88) Avrupa Birliği Maksimum kalıntı izin verilen seviyesinin üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Sivas bölgesindeki süt toplama ünitelerinden 14 adet çiğ süt ve marketlerde satışa sunulan değişik firmalara ait 14 adet pastörize ve 14 adet UHT süt olmak üzere toplam 42 süt örneği periyodik olarak toplandı. Örnekler soğuk zincir altında Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Nano Gıda Teknolojisi Laboratuvarına getirildi ve bekletilmeden analiz yapıldı.

Çiğ süt örneklerinin toplanmasında IDF (Uluslararası Sütçülük Federasyonu)' in uygun gördüğü steril cam kavanozlar kullanıldı. Cam kavanozlar 121 °C' de 20 dakika otoklav edildi. Çiğ süt örnek alma işlemi aseptik şartlar altında ve diğer süt örnekleri ile birlikte her bir numuneye bir kod numarası verildi ve kod numarasının karşılık geldiği marka, üretici kooperatif yada çiftlik ayrıca not edildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Süt Örnekleri

3.2 Yöntem

Çiğ, Pastörize ve UHT süt örneklerinde AFM1 düzeyi CD-ELISA (Competitive Direct – Enzim Linked Immuno Sorbent Assay) ve Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi ile belirlendi. CD-ELISA analizinde Veratox® for Aflatoxin M1 test kiti kullanıldı.

3.2.1 Elisa Yöntemi

3.2.1.1 Örneklerin Hazırlanması

Analiz öncesinde süt örnekleri 15 ml' lik falcon tüplere alınarak vorteks ile homojenize edildi.

1. Homojen hale getirilmiş süt örnekleri, 5 ml' lik test tüpüne alındı ve +4 °C' de 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
2. İnkübasyon sonunda süt örnekleri 10 °C' de 3500 d/d' da yağları ayırmak için santrifüj edildi.
3. Santrifüjden sonra üstteki yağ tabakası pastör pipeti ile alındı

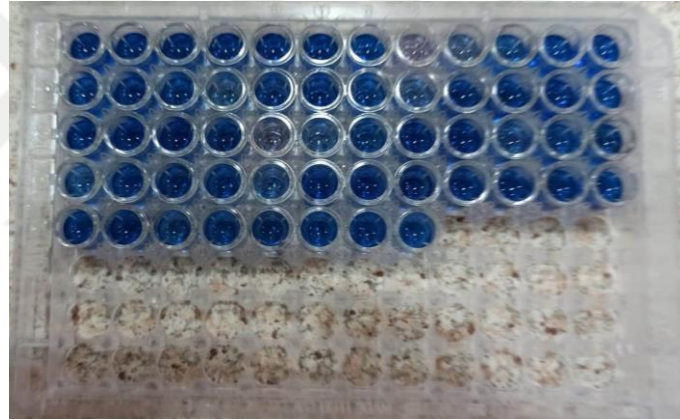
3.2.1.2 Test Prensibi

CD-ELISA testi direkt olarak yarışmalı enzim bağlamış bağışıklık deneyleri (ELISA) prensibine dayanmaktadır. Örnekler, Veratox® Aflatoksin M1 için bildirilen yöntem kullanılarak analiz edilmiştir. Analizlerde farklı seviyelerde ($\mu\text{g/kg}$) toksin standartları (0, 5, 15, 30, 60 ve 100 ppt) kullanılmıştır.

3.2.1.3 Test Prosedürü

1. Kullanılmadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirildi.
2. Test edilecek her örnek ve 6 adet kontrol için kırmızı işaretli karıştırma kuyucukları hazırlandı.
3. 250 μl kontrol ve numuneler her biri için yeni pipet kullanarak kırmızı karıştırma kuyucuklarına eklendi.
4. Kırmızı işaretli karıştırma kuyucuklarından antikor kaplı kuyucuklara 2 paralel olacak şekilde 100 μl transfer edildi (Şekil 3.2).
5. Mikrokuyucuk tutucu otomatik çalkalayıcıya yerleştirildi ve oda sıcaklığından 20 dakika boyunca durmaksızın çalkalamaya bırakıldı.
6. Antikor kaplı kuyucuklardan sıvı boşaltıldı. Kuyucukları seyreltik su tamponu ile iyice yıkandı, bu işlem 5 kere tekrarlandı. Emici havlu ile fazla suyu alındı.
7. 100 μl konjugat kuyucuklara transfer edildi.
8. Mikrokuyucuk tutucu otomatik çalkalayıcıya yerleştirildi ve oda sıcaklığından 10 dakika boyunca durmaksızın çalkalamaya bırakıldı.

9. Antikor kaplı kuyucuklardan sıvı boşaltıldı. Kuyucukları seyreltik su tamponu ile iyice yıkandı, bu işlem 5 kere tekrarlandı. Emici havlu ile fazla suyu alındı.
10. 100 µl substrat kuyucuklara transfer edildi.
11. Mikrokuyucuk tutucu otomatik çalkalayıcıya yerleştirildi ve oda sıcaklığından 15 dakika boyunca durmaksızın çalkalamaya bırakıldı.
12. 100 µl kırmızı renkli stop solüsyonu, kuyucuklara transfer edildi. Mikrokuyucuk tutucuyu düz bir zeminde ileri geri hareket ettirerek karıştırıldı.
13. Son olarak standart ve örneklerin absorbans değerleri 650 nm dalga boyunda ELISA cihazında ölçüldü (Şekil 3.3).
14. Elde edilen absorbans değerleri hesaplamasında Varettox v3 programı kullanılarak absorbanslara karşılık gelen AFM1 miktarları “ µg\L” olarak hesaplandı.



Şekil 3.2 AFM1 Standart ve Numune Ekstraksiyon



Şekil 3.3 Elisa Okuma

3.2.1.4 İstatistiksel Analiz

Örneklerde tespit edilen AFM1 değerlerinin tanımlayıcı istatistiği ve değerler arasındaki ilişkiler SPSS 22.00 paket programında analiz edildi (Sümbüllüoğlu ve Sümbüllüoğlu, 2014).

3.2.2 HPLC Yöntemi

3.2.2.1 Yöntemin İlkesi

Numunedeki Aflatoksin M1' in numune hazırlama prosedürüne göre hazırlanmış olan ekstraktın Aflatoksin M1' e karşı monoklonal antibody içeren immünoaffinity kolondan geçirilerek Aflatoksin M1' in elue edilmesi, HPLC' de Aflatoksin M1 standardının alanı ile kıyaslanarak Aflatoksin M1 konsantrasyonunun hesaplanmasıdır.



Şekil 3.4 HPLC

3.2.2.2 Yöntem

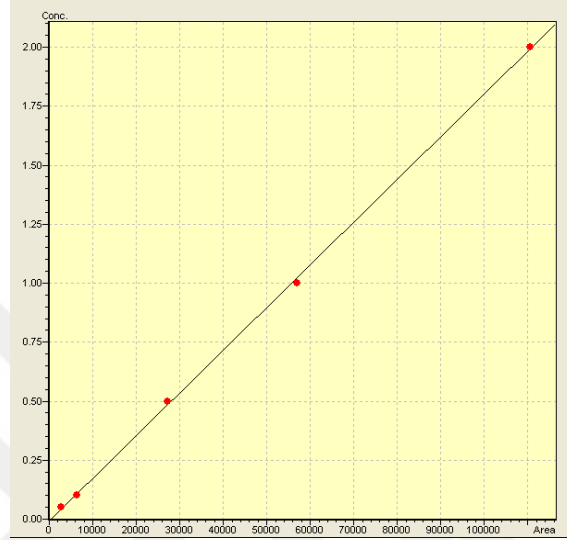
HPLC yöntemi, cihazın kalibrasyonu, örneğin ekstraksiyonu, HPLC enjeksiyonu ve geri kazanım (verim) aşamalarından oluşur.

a) Kalibrasyon

- Kristal haldeki Aflatoksin M1 standardı ($3.05 \mu\text{g M1}$) 6,1 asetonitril içinde çözüldü.
- Bir gece oda sıcaklığında bekletildi ve konsantrasyonu 500 ng/ml olan stok solüsyon elde edildi.
- Hazırlanan 500 ng/ml' lik stok standarttan 80 μl alınıp 1 ml' mobil faz (50:saf su + 30: asetonitril + 20:metanol) ile tamamlandı ve konsantrasyonu 40 ng/ml olan çalışma standardı hazırlandı.
- Hazırlanan çalışma standartlarından 0,1 – 0,2 – 0,5 – 1 – 2 ppb' lik Aflatoksin M1 standartları HPLC' de 5 er kez enjeksiyon yapılarak 5 noktalı kalibrasyon eğrisi çizdirildi. HPLC cihazına uygulanan kalibrasyon tablosu (Çizelge 3.1) ve HPLC cihazında okunan kalibrasyon eğrisi verilmiştir (Şekil 3.5).

Çizelge 3.1 HPLC kalibrasyon tablosu

Vial No	AFM1 Konsantrasyonu (ng/L)	Area
1	0.0500000	2862
2	0.1000000	6415
3	0.5000000	27134
4	1.0000000	56930
5	2.0000000	110489



$$Y = aX + b$$
$$a = 1.810237e-005$$
$$b = -7.95913e-003$$
$$R^2 = 0.9996313$$
$$R = 0.9998156$$

External Standard
Curve Fit Type: Linear
Origin: Not Forced
Weigh: None

Mean RF :
2.743099e-005
RF SD : 1.101465e-006

Şekil 3.5 HPLC Kalibrasyon Eğrisi

b) Ekstraksiyon

- Analizi yapılacak süt numunesi 37 °C' de ısıtılıp 2000 dev/dk.' da santrifüj edildi. Santrifüj edilen sütlerin yağsız kısmı alınarak Whatman no: 4 ten süzüldü.
- Süzülen süttten 50 ml alınarak immünoaffinity kolondan geçirildi (3 ml/dk).
- 20 ml saf su ile 1-2 damla/sn hızla AFM1 immünoaffinity kolondan geçirilerek kolon yıkaması yapıldı.
- Kolon içerisine 1,25 ml Metanol: Asetonitril (20:30) kolondan geçirildi ardından 1,25 ml saf suda kolondan geçirildi. Süzüntü cam vialde toplandı.

c) Enjeksiyon

- HPLC sistemi açıldı ve sistem kontrol edildi.
- Kolonda bulunan bekleme çözeltisi boşaltılması için pompa emiş ucu bekleme çözeltisinden çıkarılarak mobil faz (68 su: 24 asetonitril: 8 methanol) şişesine konuldu.

- Cihaza bu konumda iken hava alma (purge) işlemi yaptırılarak tüpler içerisinde havanın çıkışı sağlandı.
- Hava alma işleminden sonra sırasıyla cihaza 0,5 ml ve 1,0 ml akış hızlarında olacak şekilde cihaza akış yaptırıldı. Böylelikle kolon içerisindeki bekleme çözeltisi yerini mobil faza bırakması sağlandı. Bu işlem 20 dakika sürdürüldü.
- HPLC parametreleri hazırlandıktan sonra süt örnekleri okutma yaptırıldı ve örneklerle ait grafikler kaydedildi (Şekil 4.2, Şekil 4.4, Şekil 4.6)
- HPLC’ de okunan değerler sonrasında, örneklerin Aflatoksin M1 (µg/L) miktarları hesaplandı.

$$\text{Aflatoksin (µl/L)} = \frac{A}{(K \times E) / V}$$

A: HPLC’ de okunan kromatogram sonucu

K: Kolondan geçen hacim (50ml)

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

V: Vial içeriği (2500 µl)

Aflatoksin M1 (µl/L): A / 2

d) Geri Kazanım (Verim)

- Hazırlanan 40 ng/L çalışma standardı numune hazırlama prosedürüne göre ve Avrupa Birliği, Türk Gıda Kodeksi Limitleri göz önünde bulundurularak Spike Standart olarak kullanıldı. (Numune: Aflatoksin M1 içermeyen süt)
- Sütte belirli derişimde standart ilave edilerek 1-2 saat oda sıcaklığında bekletildi. Numuneye uygulanan aynı işlemler uygulandı.
- Sonuçlar standart çözeltilerle hazırlanan kalibrasyon kurvesi ile hesaplanmış ve sonuçların lineritesi kontrol edilmiştir.

$$R = (S \times 100) / Se$$

S: Standart ilave edilmiş numuneden elde edilen pikin yüksekliği veya alanı

Se: Standart çözeltiden elde edilen pikin yüksekliği veya alanı

Çizelge 3.2 AFM1 için performans kriterleri (Anonim, 2018).

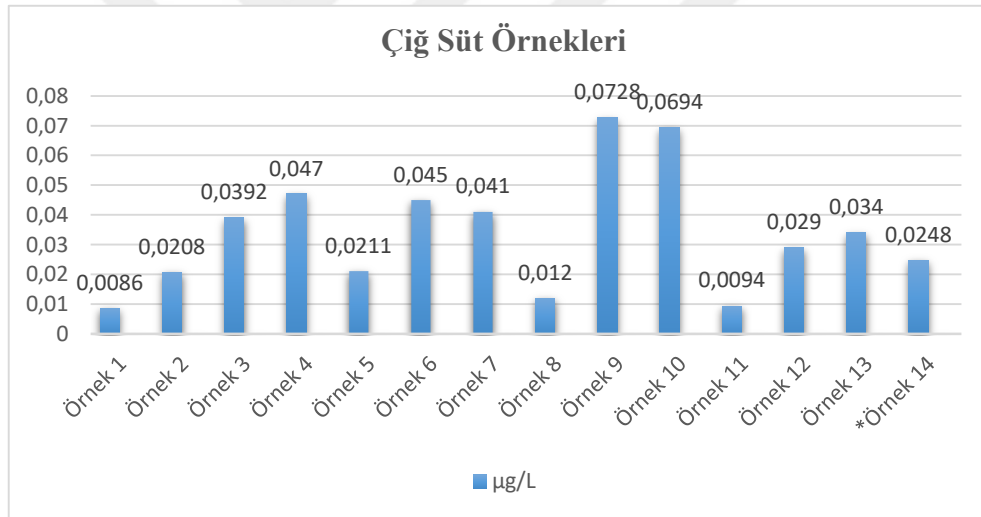
Kriter	Konsantrasyon Aralığı	Tavsiye Edilen Değer
Geri Alma	0.01-0.05 (µg/kg)	% 60-120
AFM1	>0.05 (µg/kg)	% 70-110

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada; Sivas ve yakın köylerinde üretilen açık olarak satışa sunulan çiğ inek sütleri ile marketlere satılan ulusal markalara pastörize ve UHT inek sütlerinde AFM1 varlığı ELISA ve HPLC yöntemiyle analiz edildi.

Çalışma sonucunda ELISA okuyucu ile elde edilen Aflatoksin M1 değerleri Varetox v3 programı kullanılarak okunan absorbanslara karşılık gelen AFM1 miktarları “ $\mu\text{g/L}$ ” olarak belirlendi. Aflatoksin M1 analizi için 0, 5, 15, 30, 60 ve 100 ppt standartlar kullanıldı.

Çiğ süt örneklerinde tespit edilen AFM1 düzeyleri (Şekil 4.1) ve HPLC yöntemi ile belirlenen AFM1 miktarına ait kromatogram grafiği (Şekil 4.2) aşağıda verilmiştir.



*: HPLC’ de çalışılan çiğ süt örneği

Şekil 4.1 Çiğ Süt Örnekleri AFM1 Düzeyleri

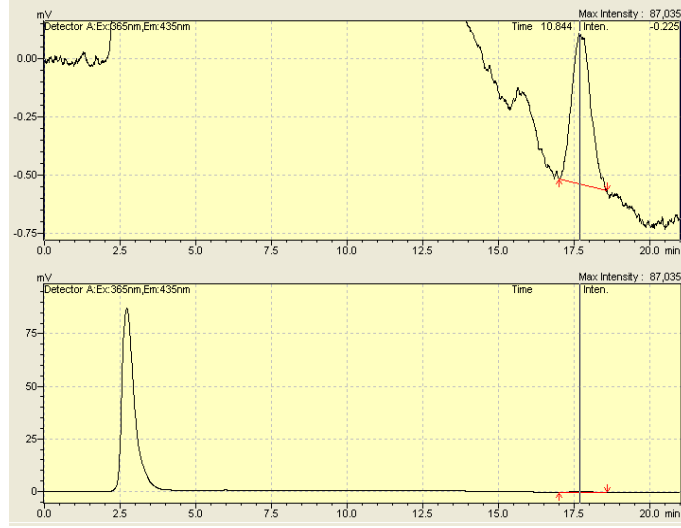
Çiğ süt analiz bulgularına göre örneklerin tamamının (%100) AFM1 ile bulaşık olduğu belirlenmiş, örneklerdeki AFM1 miktarı 0,0086-0,0728 $\mu\text{g/L}$ aralığındadır. Örneklerde tespit edilen AFM1 miktarının ortalama değeri 0,0339 $\mu\text{g/L}$ (Şekil 4.8) olarak belirlenmiştir. Analizi yapılan çiğ süt örnekleri incelendiğinde AFM1 seviyesi en düşük “Örnek 1” kodlu üretici/kooperatif ten temin edilen süt örneğinde olduğu (0,0086 $\mu\text{g/L}$), en yüksek değer ise “Örnek 9” kodlu üretici/kooperatif ten temin edilen süt örneğinde (0,0728 $\mu\text{g/L}$) olduğu gözlemlenmiştir. Örneklerde tespit edilen AFM1

miktarları aynı iklim koşullarında yetişen hayvanlardan elde edilmesine rağmen arasındaki farklılıklarda; Sivas ilinden temin edilen süt örneklerinin bölgesel farklılıkları, süt hayvanlarının beslenme rejimi, genel sağlık durumu ve sütün elde edildiği ortamın hijyen ve sanitasyonu gibi etmenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca analiz bulguları incelendiğinde çiğ süt örneklerinin 2 (%14,28) adedinde tespit edilen AFM1 miktarı Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde belirtilen maksimum limiti (0,05 µg/L) aştığı tespit edilmiştir.

Çiğ süt analizinde elde edilen veriler (Şekil 4.1) ile Çiğ sütlerde yapılan AFM1 düzeyi üzerine yapılan benzer literatür çalışmaları irdelendiğinde tespit edilen AFM1 düzeylerinin, bazı araştırmacıların (Özsunar ve ark. (2015); Çoksöyler vd. (2006); Han ve ark. (2013); Kara ve İnce (2014); Stokovic ve ark. (2016)) bulgu ve sonuçlarından yüksek olduğu, bazı araştırmacıların ise (Kamkar (2005); Özturan (2005); Hussain ve Anwar (2008); Oruç ve ark. (2011); Buldu ve ark. (2011); Kos ve ark. (2013); İşleyici ve ark. (2015); Uluçay (2016); Diler (2019); Tarannum ve ark. (2020)) maksimum ve ortalama değerlerinden düşük olduğu gözlemlenmiştir.

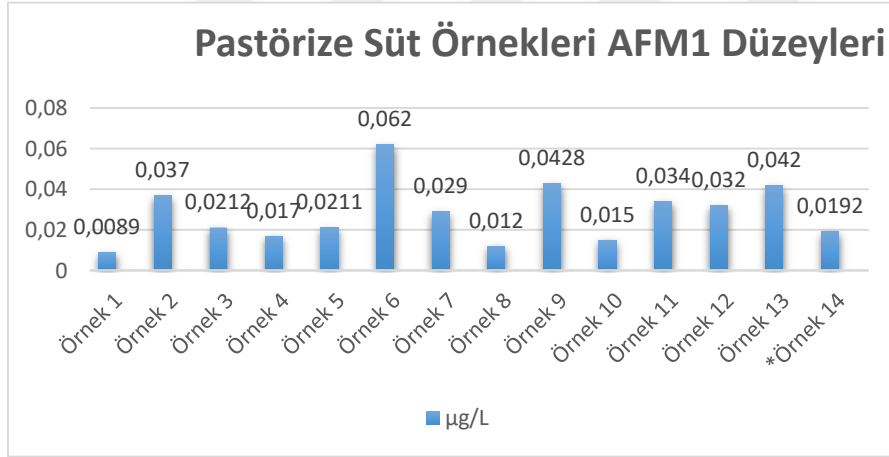
Çiğ süt örneklerinde tespit edilen AFM1 düzeyleri, Şimşek (2017) tarafından Sivas' ta yapılan ve Tita ve ark. (2010), Lee ve ark. (2009), Picinin ve ark. (2013)' nın çalışmaları ile benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Çiğ sütlerde HPLC yöntemi ile analiz edilen örnekten elde edilen kromatografi grafiği Şekil 4.2' de verilmiştir. Yapılan yöntemin hesaplamasında grafikte okunan kromatogram sonucu ile verilen hesaplama denklemi kullanılarak çiğ süt örneğindeki AFM1 miktarı '0,0248 µg/L' olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.2 Çiğ Süt Örneği HPLC Kromatografisi

Pastörize süt örneklerinde tespit edilen AFM1 düzeyleri (Şekil 4.3) ve HPLC yöntemi ile belirlenen AFM1 miktarına ait kromatogram grafiği (Şekil 4.4) aşağıda verilmiştir.



*:HPLC' de çalışılan pastörize süt örneği

Şekil 4.3 Pastörize Süt Örnekleri AFM1 Düzeyleri

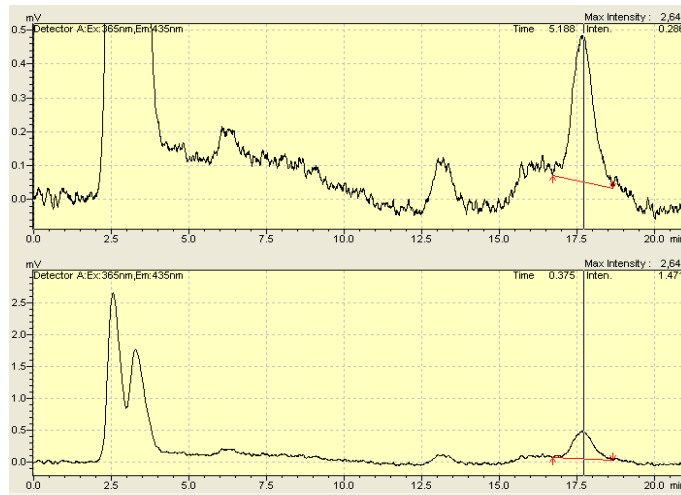
Pastörize süt analiz bulgularına göre örneklerin tamamının (%100) AFM1 ile bulaşık olduğu belirlenmiş, örneklerdeki AFM1 miktarı 0,0089-0,062 µg/L aralığındadır. Pastörize süt örneklerinde tespit edilen AFM1 miktarının ortalama değeri 0,0281 µg/L olarak belirlenmiştir (Şekil 4.8). Analizi yapılan pastörize süt örnekleri incelendiğinde AFM1 seviyesinin, en düşük ‘Örnek 1’ kodlu markaya ait örnekte olduğu (0,0089 µg/L), en yüksek ise ‘Örnek 6’ kodlu markaya ait örnekte olduğu (0,062 µg/L)

gözlemlemiştir. Pastörize süt örneklerinde belirlenen AFM1 seviyelerindeki farklılığın, analizi yapılan örneklerin her birinin farklı markalara ait olması, bu markalar incelendiğinde ülkemizde farklı bölge ve illerde üretildiği, üretilen bölgelerin iklim koşulları, elde edilen hayvanların beslenme rejimleri, markalara ait üretim prosesleri ve bu proseslerin hijyen ve sanitasyonu gibi etmenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca analiz bulguları incelendiğinde pastörize süt örneklerinin 1 (%7,14) adedinde tespit edilen AFM1 miktarı Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde belirtilen maksimum limiti (0,05 µg/L) aştığı gözlenmiştir.

Pastörize süt örneklerinde yapılan bu analiz ile benzer literatür çalışmaları kıyaslandığında, elde edilen sonuçların Kızıl ve ark. (2017), Hassan ve ark. (2018), Diler ve ark. (2019)' ın yaptıkları çalışmalardan elde ettikleri AFM1 düzeylerinden yüksek olduğunu ve Çelik ve ark. (2005), Ghazani (2009), Rama ve ark.(2015)' ın çalışmalarından elde ettikleri AFM1 düzeylerinden ise düşük olduğu gözlemlenmiştir.

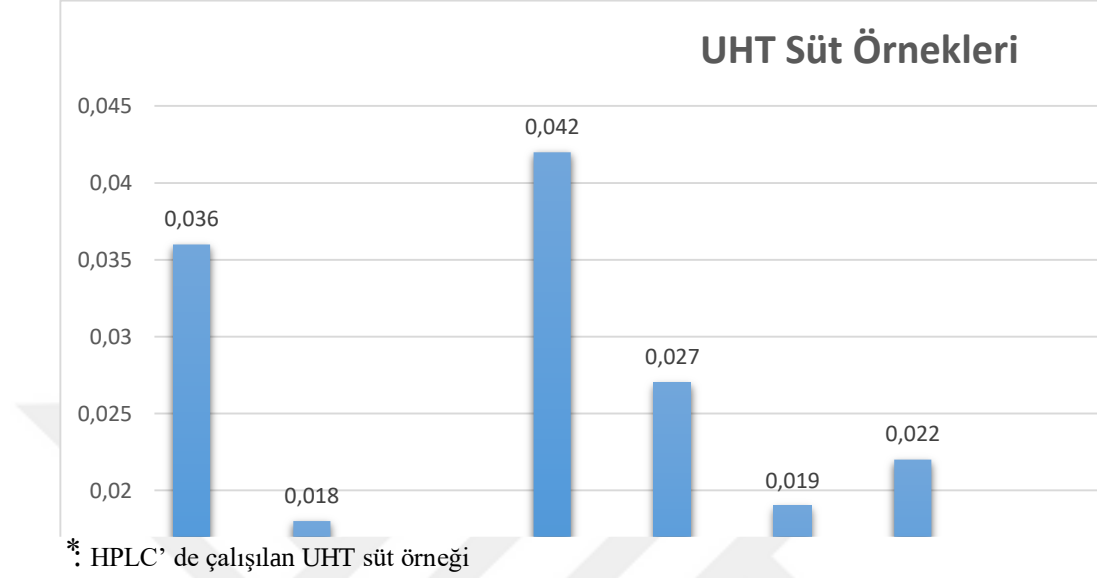
Pastörize sütlerde yapılan bu çalışmada, Tajik ve ark. (2007) ve Orakçı (2009) tarafından yapılan çalışmalar ile benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Pastörize sütlerde HPLC yöntemi ile çalışılan örnekten elde edilen kromatografi grafiği Şekil 4.4' de verilmiştir. Yapılan yöntemin hesaplamasında grafikte okunan kromatogram sonucu ile verilen hesaplama denklemi kullanılarak pastörize süt örneğindeki AFM1 miktarı ‘‘0,019 µg/L’’ olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.4 Pastörize Süt Örneği HPLC Kromatografisi

UHT süt örneklerinde tespit edilen AFM1 düzeyleri (Şekil 4.5) ve HPLC yöntemi ile belirlenen AFM1 miktarına ait kromatogram grafiği (Şekil 4.6) aşağıda verilmiştir.

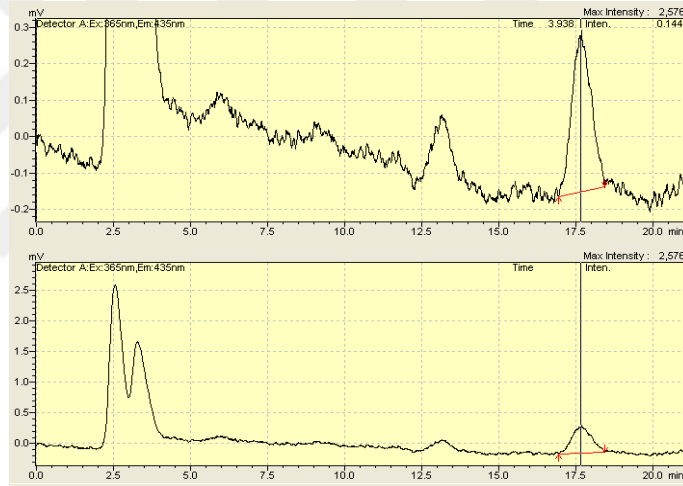


Şekil 4.5 UHT Süt Örnekleri AFM1 Düzeyleri

UHT süt örneklerinin analiz bulgularına göre örneklerin 12 (%85,72) adedinin AFM1 ile bulaşık olduğu belirlenmiş, örneklerdeki AFM1 miktarı 0,009-0,042 µg/L aralığındadır. İncelenen örneklerin 2 (%14,28) adedinde AFM1 tespit edilememiştir. UHT süt örneklerinde tespit edilen AFM1 miktarının ortalama değeri 0,0216 µg/L olarak saptanmıştır (Şekil 4.8). Analizi yapılan UHT süt örnekleri incelendiğinde AFM1 seviyesinin, “Örnek 10, Örnek 13” kodlu markalara ait örneklerde tespit edilemeyerek en düşük olduğunu, en yüksek seviyenin ise “Örnek 4” kodlu markaya ait örnekte (0,042 µg/L) olduğu gözlemlenmiştir. Analiz edilen UHT süt örneklerinde tespit edilen AFM1 miktarındaki farklılığın örneklerin farklı markalara ait olması ve bundan dolayı ülkemizin farklı bölge ve illerinde üretilmesinden kaynaklanabileceğini ayrıca farklı bölgelerde üretilmesinden ötürü farklı iklim koşulları, süt hayvanlarının beslenme rejimleri, üretilen proses ve bu proseslerin hijyen ve sanitasyonu gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca analiz bulguları incelendiğinde UHT süt örneklerinde tespit edilen AFM1 miktarı Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde belirtilen maksimum limiti (0,05 µg/L) aşmadığı tespit edilmiştir.

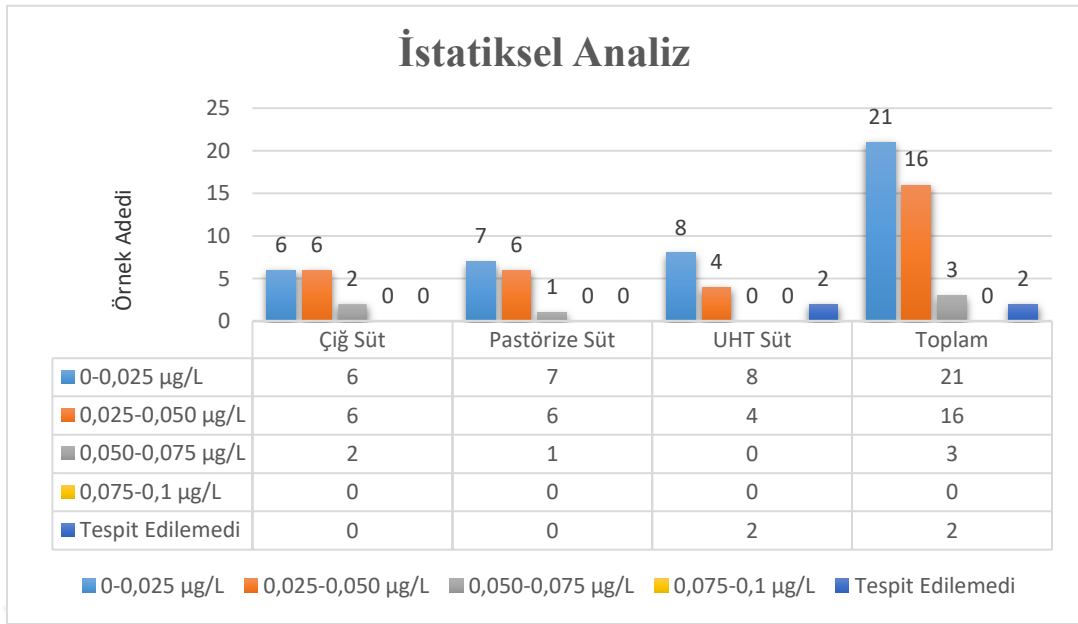
UHT sütlerde yapılan bu analiz çalışmasından elde edilen AFM1 miktarları ile benzer literatür çalışmaları kıyaslandığında, elde edilen sonuçların Madalı (2016)' nın çalışmasından elde ettiği AFM1 miktarlarından yüksek olduğu, Daou ve ark. (2020), Heshmati ve Milani (2010), Atasever ve ark. (2010)' nın çalışmalarından düşük olduğu ve Türkoğlu (2018), Okay (2021) tarafından yapılan çalışmalar ile benzer sonuçlar gözlemlenmiştir.

UHT sütlerde HPLC yöntemi ile çalışılan örnekten elde edilen kromatografi grafiği şekil 4.6' de verilmiştir. Yapılan yöntemin hesaplamasında grafikte okunan kromatogram sonucu ile verilen hesaplama denklemi kullanılarak pastörize süt örneğindeki AFM1 miktarı "0,017 µg/L" olarak belirlenmiştir.

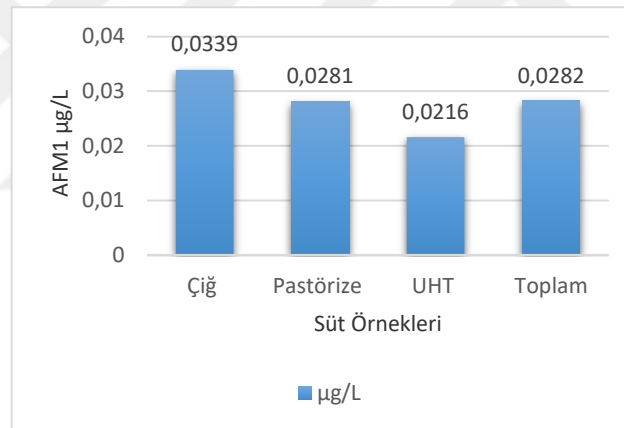


şekil 4.6 UHT Süt rneği HPLC Kromatografisi

AFM1 analizi yapılan tüm süt örneklere ait sonuçların istatistiksel analizi ve ortalama değerleri şekil 4.7, şekil 4.8' de verilmiştir.



Şekil 4.7 Süt Örneklerinde İstatiksel Analiz Sonuçları



Şekil 4.8 Süt Örneklerinin Ortalama AFM1 değerleri

Analizi yapılan tüm süt örneklerinde tespit edilen AFM1 miktarlarına ait istatistiksel analiz (Şekil 4.7) irdelendiğinde: incelenen örneklerin %50' sinde tespit edilen AFM1 miktarlarının 0-0,025 µg/L aralığında olduğu belirlenmiştir. Çiğ süt örneklerinin ortalama AFM1 miktarının (0,0339 µg/L) en yüksek olduğu, UHT süt örneklerinin ise ortalama AFM1 miktarı ile (0,0216 µg/L) en düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.8).

Yapılan bu analiz çerçevesinde bir kıyaslama yapılacak olursa AFM1 kontaminasyonu çiğ>pastörize>UHT şeklinde bir sıralama sağlanmıştır. Türkoğlu (2018) ve Daou ark. (2020) tarafından çiğ, pastörize ve UHT sütlerde yapılan benzer AFM1 çalışması bu yaklaşımı desteklemektedir.

Türkiye’ de süt ve süt ürünlerinde AFM1 varlığı ve kalıntı miktarının incelendiği bilimsel çalışmalarda, örneklerin bir kısmının AFM1 yönünden Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği (Anonim, 2011)’ nde belirtilen yasal limite (0,05 µg/L) uygun olmadığı bildirilmiştir. Ülkemizde değişik bölgelerde farklı yıllarda yapılan araştırmalar ile Sivas ve yakın köylerinde üretilen çiğ sütler ile markatlerde satışa sunulan pastörize, UHT sütlerde tespit edilen AFM1 varlığı çalışması toplam ortalama (Şekil 4.8) olarak değerlendirildiğinde bazı araştırmacıların (Kandemir (2007); Gündinç ve Filazi (2009); Delialoğlu ve ark. (2010); Atasever ve ark. (2010); İşleyici ve ark. (2015); Alatalı (2017); Türkoğlu (2018)) çalışmaları ile benzer ortalama değerleri göstermektedir.

Aflatoksinler ısıt işlemlere karşı oldukça dirençli yapılardır. Erime noktasına kadar olan sıcaklıklarda etkilerini sürdürebilmektedirler. Tamamen yıkımlanabilmeleri için 300 °C ve üzerinde ısıt işleme tabi tutulmaları gerekmektedir. Yapılan bu çalışmada süt örneklerinde tespit edilen AFM1 seviyeleri arasında farklılık olduğu ve bu durumun süte uygulanan sterilizasyon, pastörizasyon gibi ısıt işlem ile oluşmadığı, üretim prosesleri, beslenme rejimlerindeki farklılıklar ve bölgesel farklılıklar gibi etmenlerin olduğu düşünülmektedir.

Aflatoksin oluşumu hayvan beslenmesi ile doğrudan ilişkili olmaktadır. Geçmiş yıllarda yapılan bazı araştırmalar (Çeçen (2009); Heshmati ve Milani (2010); Bilgin (2014)) hayvan beslenmesindeki farklılıkların AFM1 üzerine etkisini göstermektedir. Yapılan bu çalışmalar incelendiğinde ahırda kesif yem ile ve merada doğal beslenen ile yaz ve kış aylarında beslenen hayvanlardan elde edilen sütlerin AFM1 insidasnlarıdaki fark oldukça açıktır.

Aflatoksinlerin gıdalardaki miktarı ve maksimum limit değerleri gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında önemli farklılıklara sahiptir. Mollayusefian ve ark. (2021)’ ı farklı süt türlerinde AFM1 kontaminasyonu ve prevalansı için 199 makaleden sistematik ve meta-analiz çalışması yapmışlardır. Çalışma sonucunda çiğ sütte en düşük ve en yüksek kontaminasyonun Libya (1,58 ng/L) ile Tunus (14000,0 ng/L) olduğunu ve süt

grubunda en yüksek konsantrasyonun inek sütünde (ortalama: 79,65 ng/L), en düşük konsantrasyonun ise manda sütünde (ortalama: 2,35 ng/L) olduğunu bildirmişlerdir.

Süt ve süt ürünlerinde AFM1 varlığı üzerine yapılan araştırma çalışmalarından elde edilen bulgu ve sonuçlardaki farklılıklar genellenecek olursa; Çalışmaların farklı yıllarda ve değişik coğrafyalarda yapılmış olması, süt hayvanlarının laktasyon periyodu, genetik, çevresel ve mevsimsel faktörler, ülkelere ve mevsim şartlarına göre oluşturulan beslenme rejimleri, analizde kullanılan yöntemlerin aynı hassasiyette olmaması gibi etmenlerden kaynaklandığı şeklinde yorumlanabilir.



5. SONUÇ

Bu çalışmada Sivas ve yakın köylerinde üretilen açık halde satışa sunulan çiğ sütler ile marketlerde satışa sunulan farklı markalara ait pastörize ve UHT sütlerdeki AFM1 varlığının belirlenmesi amacıyla toplanan örnekler ELISA ve High Performance Liquide Chromatography (HPLC) yöntemiyle incelenmiştir.

ELISA testi sonucunda çiğ, pastörize ve UHT süt örneklerinde 0,0086 – 0,0728 µg/L aralığında, HPLC’ de çalışılan örneklerde ise 0,017 – 0,025 µg/L aralığında toksin içerdiği bulunmuştur.

Aflatoksin kontaminasyonu süt ve süt ürünleri açısından incelendiğinde en fazla maruziyetin süt grubunda olduğu, sıralama ise süt>peynir>tereyağı>yoğurt olarak bulunmuştur (Tadesse ve ark. 2020).

Yaygın ve her yaş grubu tarafından tüketilen sütlerin AFM1 yönünden sürekli olarak kontrol edilmesi ve aflatoksinlerin olumsuz etkileri önlenerek halk sağlığının korunması açısından önemlidir. Bu anlamda; bilinçsiz olarak yapılan tarım uygulamaları, yem üretimleri, uygunsuz depolama koşulları sonucu küflerin üremesine ve kontrolsüz toksin oluşumuna neden olmaktadır.

Süt ve süt ürünlerinde Aflatoksin M1 varlığını en aza indirebilmek için hayvan beslenmesinde kullanılan yemlerin Aflatoksin B1 varlığı ve yoğunluğu yetkili kişiler ve otoriteler tarafından etkin bir şekilde denetlenmesi gerekmektedir. Üreticiler Aflatoksin kaynaklı riskler ve sonuçları hakkında bilgilendirilmeli, alınacak önlemler konusunda gerekli eğitim vs. desteklenmelidir. Süt hayvanlarının beslenmesinde kullanılan yemlerin üretim ve muhafazasına yönelik iyileştirme, modern üretim teknikleri, İyi Tarım Uygulamaları (Good Agriculture Practices, GAP), İyi Üretim Uygulamaları (Good Manufacturing Practices, GMP), İyi Hijyen Uygulamaları (Good Hygiene Practices, GHP)’ nın yaygınlaştırılması halk sağlığı açısından önemlidir.

Sonuç olarak; bu çalışmada çiğ, pastörize ve UHT süt örneklerinin 40 adedinde (%95,24) AFM1 tespit edilirken bunlardan sadece 3 adedinin (%7,14) Türk Gıda Kodeksi’ nde belirtilen yasal limiti (0,05 µg/L) aştığı gözlenmiştir. Örneklerin %95,24’ nün AFM1 ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç süt ve süt ürünlerinin bebekler ve çocuklar tarafından daha çok tüketildiği dikkate alındığında AFM1 kontaminasyonu daha önemli bir boyut kazanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Alatalı, C.** (2017). Pastörize Günlük Süt ve UHT Süt Örneklerinde Aflatoksin M1 Varlığı ve Düzeyinin Araştırılması. *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 49s, İstanbul.
- Alshannaq A, Yu JH** (2017). Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *Int J Environ Res Public Health.*, 14, 632–652.
- Anonim** (2000). Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. (23964 Mükerrer). T.C Resmi Gazete, 14 Şubat, 2000/6
- Anonim** (2001). TS 1192: Uzun ömürlü süt standardı. *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara.
- Anonim** (2011). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği (28157 3.Mükerrer). T.C Resmi Gazete, 29 Aralık, 1-3
- Anonim** (2018). Gıdalardaki Mikotoksin Seviyelerinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği (30361 Mükerrer). T.C Resmi Gazete, 15 Mart
- Anonim** (2019). İçme Sütleri Tebliği (28157 Mükerrer). T.C Resmi Gazete, 27 Şubat, 2019/12
- Anononymus** (1997). Institute of Medicine, Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride, National Academy Press, Washington, D.C.
- Atasever, M., Adıgüzel, G., Atasever, M., Özlü, H., Özturan, K.** (2010). Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Erzurum-Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 119-22.
- Bakırcı, I.** (2001). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control*, 12, 47-51.
- Baysal, A.** (2011). *Beslenme*. 1. Bölüm, 13. Baskı, Hatipoğlu Yayınları, Ankara.
- Razzaghi-Abyaneh** (Ed.), *Aflatoxins - Recent Advances and Future Prospects, inc.*, 239-266, Croatia.
- Becker-Algeri TA., Castagnaro, D., Bortoli, K., Souza, C., Drunkler, DA., and Badiale-Furlong, E.** (2016). Mycotoxins in Bovine Milk and Dairy Products: A Review. *J Food Sci.*, 81, 544–552.
- Bennett, J. W.** (2010). An overview of the genus *Aspergillus*: molecular biology and genomics. *Caister Academic Press.*;1-17.
- Bennett, J. W., Klich, M.** (2003). Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev*, 16, 497–516.
- Bilgin, Ö.** (2014). İnek, koyun ve keçi sütlerinde yaz ve kış mevsimlerinde aflatoksin m1 düzeyinin belirlenmesi. *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 65s. Aydın
- Budagova, G.** (2022). Piyasada Satışa Sunulan Kahvaltılık Gevreklerde LC-MS/MS Yöntemi İle Mikotoksin Tayini. *İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü*. (Yüksek Lisans Tezi. 62s, İstanbul

- Buldu, M.H., Koç, A.N., Uraz, G.** (2011). Kayseri’de inek sütünde Aflatoksin M1 kontaminasyonu. *Türk Veteriner ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 32(2), 87-91. (<https://doi.org/10.3906/vet-0810-5>). Erişim tarihi: 12.08.2022.
- Capriotti, A.L., Caruso, G., Cavaliere, C., Foglia, P., Samperi, R., and Laganà, A.** (2012). Multiclass mycotoxin analysis in food, environmental and biological matrices with chromatography/mass spectrometry. *Mass spectrometry reviews*, 31 4, 466-503.
- Cheraghali, A. M., Yazdanpanah, H., Doraki, N., Abouhossain, G., Hassibi, M., Ali-Abadi, S., and Hashemi, T.** (2007). Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts. *Food and Chemical Toxicology*, 45(5), 812-816.
- Coppock, R.W., Christian, R.G.** (2007). Aflatoxins. **Gupta, R.C.** (Ed.), *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principle*, 939-50, New York.
- Coşkun, T., Şanlı, T.** (2016). Süt ve Süt Ürünlerinde Kalıntılar. *Akademik Gıda*, 14(1), 67-74.
- Creppy EE.** (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Letters*. 127(1-3):19-28.
- Çeçen, A.** (2009). Ahırda ve merada beslenen hayvanların sütlerinde Aflatoksin M1 oluşumunun karşılaştırılması. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 45s, Van.
- Çelik, T.H., Sarımehtetoğlu, B., Küplülü, Ö.** (2005). Aflatoxin M1 contamination in pasteurised milk. *Veterinarski arhiv*, 75(1), 57-65. (<https://hrcak.srce.hr/67058>) Erişim tarihi: 11.08.2022.
- Çoksöyler, N., Aşkın, O., Andiç, S., Karadaş, F., Tuncel, M., Altıokka, G., Özkaya, Ş., Başaran, A.** (2006). Van Yöresinde Üretilen Sütlerde Aflatoksin M1 Oluşumu ve Nedenlerinin Araştırılması (Sonuç Raporu). *Tübitak (Proje No:101Y098)*, 27s, Van.
- Daou, R., Afif, C., Joubrane, K., Khabbaz, L.R., Maroun, R., Ismail, A.** (2020). Occurrence of aflatoxin M1 in raw, pasteurized, UHT cows milk, and dairy products in Lebanon. *Food Control*. 111, 107055. (<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107055>). Erişim Tarihi: 19.09.2022.
- David, S.D.** (2014). Raw milk and the first amendment: Implications for public health policy and practice. *Public Health Reports*, 129, 455-457.
- Delialioğlu, N., Otağ, F., Öcal, N., Aslan, G., Emekdaş, G.** (2010). Mersin ilinde çiğ ve market sütlerinde Aflatoksin M1 düzeyinin araştırılması. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 44(1), 87 - 91.
- Demirci, M.** (2005). Beslenme. *Onur Grafik*, 2. Baskı, 297 s, Tekirdağ.
- Demirer, B. Özdemir, M.** (2021b). Aflatoksinlerin Anne ve Çocuk Sağlığına Etkileri. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 22(5), 432-438. (doi: 10.18229/kocatepetip.751953). Erişim Tarihi: 10.08.2022.
- Demirer, B., Özdemir, M.** (2021). Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksinler: Olası Riskler. *Academic Platform Journal of Halal Lifestyle*, 3(2), 108-117. (DOI: 10.53569/apjhl.1023523). Erişim Tarihi: 10.08.2022.
- 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, F.B.** (2019). Bursa’ da tüketime sunulan çiğ pastörize süt örneklerinde Aflatoksin M1 kontaminasyonunun değerlendirilmesi. *Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 74s, Bursa.
- Diñçel, A., Demli, F., Özkaya, FD., Alatan, F., Uzun, R., Subaşı, SA.** (2012). Çeşitli peynir örneklerinde aflatoksin M1 varlığının HPLC ile analizi. *Türk Hij Den Biyol Derg.* 69, 89-96.
- Duarte, SC., Almeida, AM., Teixeira, AS., Pereira, AL., Falcão, AC., Pena. A.** (2013). Aflatoxin M1 in marketed milk in Portugal: Assessment of human and animal exposure. *Food Control*, 30(2), 411-17.
- FAO 2021** Livestock Primary. Available online: <https://www.fao.org/faostat/en>, 03.08.2022
- FAO 2022**, <http://www.fao.org/faostat/en/#compare>, 03.08.2022
- FDA.** (2017). Grade “A” Pasteurized Milk Ordinance-2017 Revision. (<https://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocuments/RegulatoryInformation/Milk/UCM612027.pdf>). Erişim Tarihi: 08.08.2022.
- Fink-Gremmels, J.** (2008). Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. Food additives & contaminants. *Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, 25(2), 172–180. (<https://doi.org/10.1080/02652030701823142>). Erişim Tarihi: 09.08.2022
- Food Safety Commission of Japan (FSCJ)** (2013). Aflatoxin M1 in Milk and AflatoxinB1 in Feeds (Rapor No: 526). (http://www.fsc.go.jp/english/evaluationreports/nm_toxins/aflatoxin_m1_b1_fs526.pdf). Erişim Tarihi: 10.08.2022.
- Fouad, A. M., Ruan, D., El-Senousey, H. K., Chen, W., Jiang, S., Zheng, C.** (2019). Harmful Effects and Control Strategies of Aflatoxin B₁ Produced by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* Strains on Poultry: Review. *Toxins (Basel)*, 11(3), 176. (doi:10.3390/toxins11030176). Erişim Tarihi: 10.08.2022.
- Galvano, F., Galofaro, V., Galvano. G.** (1996). Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products. *A worldwide review. J Food Prot*, 59(10), 1079-90.
- German, JB. Dillard, CJ.** (1998). Fractionated milk fat: composition, structure, and functional properties. *Food Technol.*, 52, 33.
- Ghazani, M. H. M.** (2009). Aflatoxin M1 contamination in pasteurized Milk in Tabriz (northwest of Iran). *Food and Chemical Toxicology*, 47(7), 1624–1625. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691509001653?via%3DIhub>). Erişim Tarihi: 12.08.2022
- Gong, Y. Y., Watson, S., Routledge, M. N.** (2016). Aflatoxin Exposure and Associated Human Health Effects, a Review of Epidemiological Studies. *Food Saf (Tokyo)*, 4(1), 14-27. (doi:10.14252/foodsafetyfscj.2015026).
- Gündinç, U., Filazi, A.** (2009) Detection of aflatoxin M1 concentrations in UHT milk consumed in Turkey markets by ELISA. *Pakistan J Biol Sci*, 12(8), 653-6.
- Günşen, U., Büyükyörük, İ.** (2003). Piyasadan temin edilen taze kaşar peynirlerinin bakteriyolojik kaliteleri ile aflatoksin M1 düzeylerinin belirlenmesi. *Türk J Vet. Anim Sci*, 27, 821-825.

- Gürses, M., Erdoğan, A., Çetin, B.** (2004). Occurrence of Aflatoxin M1 in some cheese types sold in Erzurum, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(3), 527-530.
- Han, R.W., Zheng, N., Wang, J.Q., Zhen, Y.P., Xu, X.M., Li, S.L.** (2013). Survey of aflatoxin in dairy cow feed and raw milk in China. *Food Control*, 34(1), 35-39.
- Hassan, Z.U., Al-Thani, R., Atia, A.F., Almeer, S., Balmas, V., Migheli, Q., Jaoua, S.** (2018). Evidence of low levels of aflatoxin M1 in milk and dairy products marketed in Qatar. *Food Control*, 92, 25-29. (<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.038>). Erişim Tarihi: 19.08.2022.
- Hazer, A.** (2011). Denizli ve Aydın illerinden elde edilen çiğ sütlerde aflatoksin M1 prevalansı ve miktarının aranması, *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 66s, Aydın.
- Heperkan, D., Dazkır, G. S., Kansu, D. Z., Karbancıoğlu, Güler, F.** (2009). Influence of temperature on citrinin accumulation by *Penicillium citrinum* and *Penicillium verrucosum* in black table olives. *Toxin Reviews*, 28(2-3), 180-186.
- Heshmati, A., Milani, M.J.** (2010). Contamination of UHT milk by aflatoxin M1 in Iran. *Food Control*, 1(1), 19–22.
- Huffman, J., Gerber, R. ve Du, L.** (2010). Recent advancements in the biosynthetic mechanisms for polyketide-derived mycotoxins. *Biopolymers*, 93(9), 764-776.
- Hussain, I., Anwar, J.** (2008). A study on contamination of aflatoxin M1 in raw milk in the Punjab province of Pakistan. *Food Control*, 19, 393-395.
- IARC** (1987a). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans – IARC, 10, 440. (<https://monographs.iarc.fr/iarc-monographs-on-the-evaluation-of-carcinogenic-risks-to-humans-80>). Erişim Tarihi: 09.08.2022
- IARC** (1987b). IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, 40, 452.
- IARC** (1993a). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 56, 599. (<https://monographs.iarc.fr/iarc-monographs-on-the-evaluation-of-carcinogenic-risks-to-humans-65/>). Erişim Tarihi: 09.08.2022.
- IARC** (1993b). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 56, 397– 444.
- IARC** (2002). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. In Traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene (Vol.82). Lyon: IARC Press.
- IARC** (2006). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans PREAMBLE. (<https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/CurrentPreamble.pdf>). Erişim Tarihi: 09.08.2022.
- IARC** (2012). Aflatoxins. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. *Chemical agents and related occupations*, 100F, 225– 248. (<http://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Chemical-Agents-And-Related-Occupations-2012>). Erişim Tarihi: 09.08.2022.

- IARC** (2019). Agents classified by the IARC monographs. Volumes 1–123. IARC. (<https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>). Erişim Tarihi: 09.08.2022.
- Ismail, A., Akhtar, S., Levin, R.E., Ismail, T., Riaz, M., Amir, M.** (2015). Aflatoxin M1: Prevalence and decontamination strategies in milk and milk products. *Critical Reviews in Microbiology*, 1–10. (doi:10.3109/1040841x.2014.958051).
- İşleyici, Ö., Sancak, Y.C., Sancak, H., Yücel, UM.** (2015). Determination of aflatoxin M1 levels in unpackaged sold raw cow's milk. *Van Vet J.* 26(3), 151-5. (<https://dergipark.org.tr/en/pub/vanvetj/issue/23565/251040>). Erişim Tarihi: 17.08.2022
- Kabak, B., Var, I.** (2008). Factors affecting the removal of aflatoxin M1 from food model by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*, 43(7), 617–624. (<https://doi.org/10.1080/03601230802234740>)
- Kamkar A.** (2008). The study of aflatoxin M1 in UHT milk samples by ELISA. *J Vet Res*, 63(2):7-12.
- Kamkar, A.** (2005). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Control*, 16, 593-599.
- Kantemir, M.** (2007). Ağrı'da tüketilen çiğ ve UHT sütlerde aflatoksin M1 tayini. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tez), 84s, Van.
- Kara, R., Ince, S.** (2014). Aflatoxin M1 in buffalo and cow milk in Afyonkarahisar, Turkey. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 7(1), 7-10.
- Karakaya, Y.** (2006). Mısır silajında Aflatoksin B1 varlığının ve süte geçme durumunun araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi)*, 39s Erzurum.
- Kaya S.** (2014). Mikotoksinler, **Kaya, S.** (Ed.) *Veteriner Toksikoloji*. 3. Baskı. Medisan Yayınevi, 488s, Ankara.
- Kızıl, M., Demir, P., Erkan, S., Öksüztepe, G.** (2017). Elazığ İlinde Satılan Çiğ Süt ve UHT Sütlerde Aflatoksin M1 Düzeyi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 10 (2), 115-121. (<https://dergipark.org.tr/en/pub/duvetfd/issue/33477/386312>). Erişim Tarihi: 19.08.2022.
- Kireççi, E., Savaşçı, M., Ayyıldız, A.** (2007). Sarıkamış'ta tüketilen süt ve peynir ürünlerinde aflatoksin M1 varlığının belirlenmesi. *İnfeksiyon Dergisi*, 21(2), 93-96.
- Kos, J., Mstilovic, J., Hajnal, E.J., Saric, B.** (2013). Natural occurrence of aflatoxins in maize harvested in Serbia during 2009-2012. *Food Control*, 34, 31-34.
- Küçük, S.C., Yıbar, A.** (2019). Çiğ süt ve pastörize süt tüketiminin halk sağlığı üzerine etkileri. *Food and Health*, 5(3), 197-204. (<https://doi.org/10.3153/FH19021>). Erişim Tarihi: 08.08.2022.
- Lee, J.E., Kwak, B.M., Ahn, J.H., Jeon, T.H.** (2009). Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk in South Korea using an immunoaffinity column and liquid chromatography. *Food Control*, 20, 136-138.

- Leong, Y. H., Latiff, A. A., Ahmad, N. I., and Rosma, A.** (2012). Exposure measurement of aflatoxins and aflatoxin metabolites in human body fluids. A short review. *Mycotoxin Research*, 28, 79–87. (doi:10.1007/s12550-012-0129-8). Erişim Tarihi: 10.08.2022.
- Madah, B.** (2016). Farklı st trlerinin Aflatoksin M1 düzeyi açısından değerlendirilmesi. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 104s, Ankara.
- Madah, B., Ayaz, A.** (2017). Aflatoxin M1 in dairy products: exposure and health risks. *H Sağlık Bil Fak Derg*, 4(1), 1-14.
- Mangipudy, R. S., Mehendale, H. M.** (2005). Aflatoxin. **P. Wexler** (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology*, 54-55, USA.
- Mannani, N., Tabarani, A., Adlouni, E.C., Abdennebi, E.H., Zinedine, A.** (2021). Aflatoxin M1 in pasteurized and UHT milk marked in Morocco. *Food Control*, 124, 107893. (<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107893>). Erişim Tarihi: 20.09.2022
- Marchese, S., Polo, A., Ariano, A., Velotto, S., Costantini, S., and Severino, L.** (2018). Aflatoxin B1 and M1: Biological Properties and Their Involvement in Cancer Development. *Toxins (Basel)*, 10(6), 214. (doi: 10.3390/toxins10060214). Erişim Tarihi: 10.08.2022.
- Mendonça, C. Venâncio, A.** (2005), Fate of aflatoxin M1 in cheese whey processing. *J Sci Food Agric*: 2067-70.
- Metin, M.** (2005). Süt Teknolojisi. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları* No:33, 6. baskı, 802 s, Bornova – İzmır.
- Metin, M.** (2012). Sütün Yapısı ve zellikleri, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmır.
- Mohammadian, B., Khezri, M., Ghasemipour, N., Mafakheri, S.H., Langroudi, P.** (2010). Aflatoxin M1 contamination of raw and pasteurized milk produced in Sanandaj, Iran. *Archives of Razi Institute*, 65, 99-104.
- Mollayusefian, I., Ranaei, V., Pilevar, Z., Cabral-Pinto, MS. M., Rostami, A., Nematollahi, A., Khedher, M.K., Thai, V.N., Fakhri, Y., Khaneghah, A.M.** (2021). The concentration of aflatoxin M1 in raw and pasteurized milk: A worldwide systematic review and meta-analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 115, 22-30. (<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.033>). Erişim Tarihi: 21.09.2022.
- Nile, S.H., Park, S.W., Khobragade, C.N.** (2016). Occurrence and analysis of aflatoxin M1 in milk produced by Indian dairy species. *Food and Agricultural Immunology*, 27(3), 358-366.
- Okay, D.N.** (2021). Uht Sütlerde ve Uht Organik Sütlerde Aflatoksin M1 Varlığının Araştırılması. *Van Yznc Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 63s, Van.
- Orakçı, B. F.** (2019). Bursa’ da Tüketime Sunulan iğ ve Pastörize Süt rneklerinde Aflatoksin M1 Kontaminasyonunun Değerlendirilmesi. *Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 74s, Bursa.

- Oruç, H. H., Temelli, S., Sorucu, A.** (2011). Bursa’da Çiğ Süt ve UHT Sütlerde Aflatoksin M1 Düzeyleri. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 30 (2) , 1-4 . (<https://dergipark.org.tr/en/pub/uluvfd/issue/13519/163527>). Erişim Tarihi: 12.08.2022.
- Özer, H.** (2009). Fındıklara Uygulanan Fiziksel ve Isıl Süreçlerin Aflatoksinler Üzerine Etkisi. *Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Doktora Tezi), 119s. İstanbul
- Özsunar, A., Arıcı, M., Gümüş, M.** (2005). Trakya Bölgesinde Üretilen İnek Sütlerinde Aflatoksin M1 Varlığı. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs, 837-840, Bolu.
- Özturan, K.** (2005). Süt ve süt ürünlerinde ELISA yöntemiyle Aflatoksin M1 aranması. *Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 76s, Konya.
- Picinin, L.C.A., Cerqueira, M.M.O.P., Vargas, E.A., Lana, Â.M.Q., Toaldo, I.M., Bordignon-Luiz, M.T.** (2013). Influence of climate conditions on aflatoxin M1 contamination in raw milk from Minas Gerais State, Brazil. *Food Control*, 31(2),419-24. Publication, 467 p., New York.
- Rama, A., Latifi, F., Bajraktari, D., Ramadani, N.** (2015). Assessment of aflatoxin M1 levels in pasteurized and UHT milk consumed in Prishtina, Kosovo. *Food Control*. 57:351-54.
- Rushing, B. R., Selim, M. I.** (2018). Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. *Food and Chemical Toxicology*, 124, 81-100. (doi:10.1016/j.fct.2018.11.047). Erişim Tarihi: 10.08.2022.
- Sabuncuoğlu, S.A., Baydar, T., Giray, B., Şahin, G.** (2008). Mikotoksinler: toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 28(1), 63-92.
- Scudamore, K. A.** (2005). Mikotoksinler ve Gıda Zincirinde Kontrolleri. *European Mycotoxin Seminar Serie*, 3, 19- 37.
- Seyrek, K.** (2001). Türk Silahlı Kuvvetleri’ne Bağlı Birliklerde Tüketilen Beyaz Peynirlerdeki Aflatoksin M1 Seviyesinin ELİZA (Enzyme-Linked immunosorbent Assay) Metodu ile Saptanması. *Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi*. 12, 55-57.
- Shan, Y.** (2020). The Toxic Effects of Aflatoxin B1: An Update. (Doi:10.5772/intechopen.88775).
- Stojkovic, E.D., Dimzoska, B.S., Ilievska, G., Uzunov, R., 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.
- Şimşek, G.** (2017). Sivas’ ta tüketilen çiğ sütlerde Aflatoksin M1 varlığı. *Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 40s, Sivas.
- Tadesse, S., Berhanu, T., Woldegiorgis, Z.** (2020). Aflatoxin M1 in milk and milk products marketed by local and industrial producers in Bishoftu town of Ethiopia. *Food Control*, 118, 107386. (<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107386>). Erişim Tarihi: 19.09.2022.

- Tajik, H., Rohani, S.M.R., Moradi, M.** (2007). Detection of aflatoxin M1 in raw and commercial pasteurized milk in Urmia, Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(22), 4103-4107.
- Tarannum, N., Nipa, N. M., Das, S., Parveen, S.** (2020). Aflatoxin M1 detection by ELISA in raw and processed milk in Bangladesh. *Food Control*, 7, 1339-1343. (<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.09.012>). Erişim Tarihi: 19.09.2022.
- Tekinşen, K.K., Eken, H.S.** (2008). Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey. *Food Chem Toxicol.* 46(10):3287-89. (<https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.014>). Erişim Tarihi: 11.08.2022.
- Timbrell, J. A.** (1989). Introduction to Toxicology. 18, 78-79.
- Tita, O., Tita, M.A., Ketney, O., Tifrea, A.M.** (2010). Assessment of aflatoxin M1 in raw milk in the Maramures profince of Romania. *Food Industry*, 59(10), 1079-1090.
- Topi, D., Spahiu, J., Raxhepi, A., Marku, N.** (2022). Two-year survey of aflatoxin M1 in milk marketed in Albania, and human exposure assessment. *Food Control*, 136, 108831. (<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.108831>). Erişim Tarihi: 21.09.2022
- Tunail, N.** (2000). Funguslar ve Mikotoksinler. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Gıda Mühendisliği Bölümü Yayını*, 2-32, Ankara.
- Türkeşsiz, K.** (2020). Bazı Tahıl Unlarında Mikotoksinlerin ve Mikotoksikojenik Küflerin Varlığı Üzerine Araştırmalar. *İstanbul Aydın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü* (Doktora Tezi), 90s İstanbul.
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)** (2022). Süt ve Süt Ürünleri Üretimi. 7
- Türkoğlu, Ç.** (2018). Çiğ, Pastörize ve UHT Sütlerde Aflatoksin M1 ve Okratoksin A Varlığının Araştırılması. *Burdur Mehmet Akif Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 68s, Burdur.
- Uluçay, B.** (2016). Iğdır ve yöresinde üretilen sütlerin bazı kimyasal özellikleri ve Aflatoksin M1 miktarının belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 42s, Iğdır.
- Url-1** <<https://aspergillosis.org/tr>>, alındığı tarih: 08.08.2022
- Url-2** <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.162470.html>>, alındığı tarih: 09.08.2022.
- Url-3** <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2006507.html>>, alındığı tarih: 09.08.2022.
- Url-4** <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2006508.html>>, alındığı tarih: 09.08.2022.
- Url-5** <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2006509.html>>, alındığı tarih: 09.08.2022.
- Url-6** <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21169428.html>>, alındığı tarih: 09.08.2022.
- Url-7** <<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.21805.html>>, alındığı tarih: 09.08.2022.

- Van Egmond, HP.** (1983). Mycotoxins in dairy products. *Food Chem.*, 11, 289-307.
- Van Egmond, HP.** (1994). Aflatoxins in milk. The toxicology of aflatoxins: human health, veterinary, and agricultural significance. *Academic Press Inc.* 365-81.
- Veldman, A., Meijst, JAC., Borggreve, GJ., Heeres-van, Tol JJ.** (1992). Carry-over of aflatoxin from cow's food to milk. *Anim Prod.*, 55, 163–168.
- Walstra P, Wouters JTM & Geurts TJ,** (2006). Colloidal particles of milk, *Dairy Science and technology*, 2nd,. CRC press, p: 18-108, New York.
- Walstra, P., Jenness, R.** (1984). Dairy Chemistry and Physics, *Wiley Interscience*
- Williams, J. H., Phillips, T. D., Jolly, P. E., Stiles, J. K., Jolly, C. M., Aggarwal, D.** (2004). Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80(5), 1106-1122.
- Yavaş, A** (2022). Isparta İlinde Toplana Çiğ, Pastörize ve UHT Sütlerde Ochratoxin A Miktarının Tespiti. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* (Yüksek Lisans Tezi), 76s, Isparta.
- Yıldırım, E., Macun, H. C., Yalçınkaya, İ., Şahin, F., Ekici, H.** (2018). Kırıkkale'deki Yem ve Süt Örneklerinde Aflatoksin Kalıntısının Araştırılması. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 65, 199–204.