

**TÜRKİYE'DE ÜRETİLEN İŞLENMİŞ SÜT VE BAZI  
SÜT ÜRÜNLERİ İLE GİRESUN YÖRESİNDE  
ÜRETİLEN ÇİĞ SÜTLERİN AFLATOKSİN M1  
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Esra SARAÇ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR

İKİNCİ DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. Ayla ARSLANER

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ARALIK, 2012

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TÜRKİYE'DE ÜRETİLEN İŞLENMİŞ SÜT VE BAZI SÜT ÜRÜNLERİ İLE  
GİRESUN YÖRESİNDE ÜRETİLEN ÇİĞ SÜTLERİN AFLATOKSİN Mİ  
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Esra SARAÇ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR**

**İKİNCİ DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Ayla ARSLANER**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ARALIK, 2012**

## TEZ ONAY SAYFASI

Esra SARAÇ tarafından hazırlanan “Türkiye’de Üretilen İşlenmiş Süt ve Bazı Süt Ürünleri ile Giresun Yöresinde Üretilen Çiğ Sütlerin Aflatoksin M1 Düzeylerinin Araştırılması” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 21/12/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR

**İkinci Danışman** : Yrd. Doç. Dr. Ayla ARSLANER

**Başkan** : Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR  
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

**Üye** : Yrd. Doç. Dr. Hasan Hüseyin KARA  
Bayburt Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

**Üye** : Yrd. Doç. Dr. Veli GÖK  
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun  
...../...../..... tarih ve  
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mevlüt DOĞAN  
Enstitü Müdürü

**BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI**  
**Afyon Kocatepe Üniversitesi**

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım  
bu tez çalışmasında;**

- Tez içindeki 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,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**14/01/2013**

  
**Esra SARAÇ**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### TÜRKİYE’DE ÜRETİLEN İŞLENMİŞ SÜT VE BAZI SÜT ÜRÜNLERİ İLE GİRESUN YÖRESİNDE ÜRETİLEN ÇİĞ SÜTLERİN AFLATOKSİN M1 DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Esra SARAÇ

Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR

**İkinci danışman:** Yrd. Doç. Dr. Ayla ARSLANER

Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de üretilen işlenmiş süt ve bazı süt ürünleri ile Giresun yöresinde üretilen çiğ sütlerin ve bunlardan üretilen yoğurt ve peynirlerin aflatoksin M1 (AFM1) düzeylerinin belirlenmesidir.

Bu amaçla; yöreden toplanan 18 çiğ süt, 12 yoğurt, 12 peynir ve marketlerde satışı sunulan ulusal markalara ait 22 UHT süt, 10 yoğurt ve 17 peynir olmak üzere toplam 91 örnek HPLC yöntemiyle AFM1 yönünden incelenmiştir. Çalışmada UHT süt örneklerinden 2 tanesinin (%2,2) Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit olan 0,05 ppb nin üstünde, diğer örneklerin AFM1 oranlarının yasal limitin altında olduğu saptanmıştır. Yapılan araştırmada örneklere ait AFM1 oranları dağılımının genel olarak 0,01-0,05 ppb(ng/ml) arasında yoğunlaştığı tespit edilmiştir. En yüksek AFM1 oranı UHT süt örneklerinde 0,098 ppb (17 nolu örnek), çiğ süt örneklerinde 0,048 ppb (12 nolu örnek), yöreden toplanan yoğurt örneklerinde 0,043 ppb (9 nolu örnek), peynir örneklerinde 0,11 ppb (2 nolu örnek) ve marketlerde satılan yoğurt örneklerinde 0,035 ppb (10 nolu örnek), peynir örneklerinde 0,078 ppb (13 nolu örnek) olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; Türkiye’de üretilen işlenmiş süt ve bazı süt ürünleri ile Giresun yöresinde üretilen çiğ sütler ve bunlardan üretilmiş yoğurt ve peynirlerin AFM1 içeriği bakımından toplum sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmadığı görülmüştür.

**2012, viii + 58 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Aflatoksin M1, süt, süt ürünleri, HPLC

**ABSTRACT**  
M.Sc. Thesis

AN INVESTIGATION ON AFLATOXIN M<sub>1</sub> LEVELS PROCESSED MILK AND  
SOME MILK PRODUCTS PRODUCED IN TURKEY WITH RAW MILK  
PRODUCED IN GİRESUN REGION

Esra SARAÇ

Afyon Kocatepe University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

**Supervisor:** Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR

**Second Supervisor:** Yrd. Doç. Dr. Ayla ARSLANER

The aim of this study is to detect the level of aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) of processed milk and some milk products produced in Turkey and raw milk, yogurt and cheese produced in Giresun region.

For this purpose, HPLC system was used for the determination of AFM<sub>1</sub> levels of 91 samples from collected 18 raw milk, 12 yogurt, 12 cheese in Giresun region and from sold 22 UHT milk, 10 yogurt, 17 cheese in grocery stores. In this study, two samples (2,2%) of 22 UHT milk exceeded 0,05 ppb limit of Turkish Food Codex for AFM<sub>1</sub> and the other samples were detected to be below the legal limit of AFM<sub>1</sub> rates. In these studies it is measured that the distribution of rates of AFM<sub>1</sub> belong to samples generally concentrated between 0,01-0,05 ppb(ng/ml). The highest AFM<sub>1</sub> values; in UHT milk sample was 0.098 ppb (sample 17), raw milk sample was 0,048 ppb (sample 12), yogurt samples, cheese samples from collected in region were 0,043 ppb (sample 9) and 0,11 ppb (sample 2) and yogurt samples, cheese samples sold in grocery stores were 0,035 ppb (sample 10) and 0,078 ppb (sample 13).

As a result, it was suggested that with these AFM<sub>1</sub> content, processed milk and some products produced in Turkey and raw milk, yogurt and cheese produced in Giresun region are not a remarkable risk for the human health.

**2012, viii + 58 pages**

**Key Words:** AflatoxinM<sub>1</sub>, milk, dairy products, HPLC

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca değerli bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, büyük ilgi ve yardımlarını gördüğüm danışman hocalarım Afyon Kocatepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Abdullah ÇAĞLAR'a ve Bayburt Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Bölüm Başkanı Sayın Yrd. Doç. Dr. Ayla ARSLANER'e, Bayburt Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Hasan Hüseyin KARA'ya, kurumun laboratuvar imkanlarından yararlanmam hususunda yardımcı olan Sayın Dr. Muhammed ANGIN'a, laboratuvar çalışmalarında desteğini esirgemeyen Gıda Mühendisi Didem TÜRKER ve Uzman Biyolog Hatice KARADENİZ'e, veri toplama aşamasında yardımcı olan Tekniker Aşkın TOKA'ya, çalışmanın yürütülmesinde sağladıkları katkılardan dolayı Mersin Gıda Kontrol Laboratuvarı Mikotoksin Birim Şefi Ziraat Mühendisi Mustafa SARI'ya ve Giresun Gıda Kontrol Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma, çalışmalarım boyunca bana her zaman destek olan çok kıymetli aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Esra SARAÇ

AFYONKARAHİSAR, 2012

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ .....	4
2.1 Tarihçe .....	4
2.2 Aflatoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....	5
2.3 Aflatoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler.....	8
2.4 Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu.....	10
2.5 Aflatoksinlerin Toksisitesi.....	12
2.6 Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin .....	14
2.7 Teknolojik İşlemlerin AFM1'e Olan Etkileri .....	18
2.8 Aflatoksin Sınır Limitleri .....	19
3. MATERYAL VE METOT .....	22
3.1 Materyal.....	22
3.1.1 Süt ve Süt Ürünleri .....	22
3.1.2 Kimyasal Maddeler.....	22
3.1.3 Alet ve Ekipmanlar .....	22
3.2 Metot.....	23
3.2.1 Metot.....	23
3.2.2 Kalibrasyon.....	24
3.2.3 Ekstraksiyon Aşaması .....	24
3.2.4 Süt Numunesinin İmmunoaffinite Aşaması .....	25
3.2.5 Yoğurt ve Peynir Numunelerinin İmmunoaffinite Aşaması.....	25

3.2.6 HPLC Enjeksiyon .....	26
3.2.7 Verim (Geri Kazanılabilirlik) .....	26
4. BULGULAR .....	27
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	42
6. KAYNAKLAR.....	48
6.1 İnternet Kaynakları .....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	58

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

---

kg	Kilogram
ml	Mililitre
ml/dk	Dakika başına düşen mililitre
ng	Nanogram
ppb	Parts per billion
µg	Mikrogram

### Kısaltmalar

---

AFB1	Aflatoksin B1
AFB1N <sup>7</sup> -Gua	Aflatoksin B1-DNA'nın Guanin Bazı
AFB2	Aflatoksin B2
AFB2a	Aflatoksin B2a
AFG1	Aflatoksin G1
AFG2	Aflatoksin G2
AFG2a	Aflatoksin G2a
AFM1	Aflatoksin M1
AFP1	Aflatoksin P1
AFQ1	Aflatoksin Q1
aw	Su aktivitesi
ELİSA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
GSH	Glutasyon
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
IAC	Immunoaffinite Kolon
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu(International Agency for Research on Cancer)
PBS	Phosphate Buffered Saline
Rf	Hareket Hızı
UV	Ultraviyole

---

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 2.1</b> Aflatoksin türevlerinin kimyasal yapıları .....	7
<b>Şekil 2.2</b> AFB1'in DNA molekülüne bağlanması.....	13
<b>Şekil 2.3</b> Pozitif örneklerin sayısı .....	17
<b>Şekil 3.1</b> 2 ppb' lik standarda ait kromotogram .....	24
<b>Şekil 4.1</b> Yöreden toplanan çiğ süt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı.....	29
<b>Şekil 4.2</b> Yöreden toplanan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı.....	31
<b>Şekil 4.3</b> Yöreden toplanan peynir örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı.....	33
<b>Şekil 4.4</b> Marketlerde satışa sunulan UHT süt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı .....	35
<b>Şekil 4.5</b> Marketlerde satışa sunulan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı .....	37
<b>Şekil 4.6</b> Marketlerde satışa sunulan peynir örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı .....	39
<b>Şekil 4.7</b> Giresun bölgesinde yerel olarak üretilen çiğ süt ve süt ürünleri ile marketlerde satılan süt ürünlerinin AFM1 miktarlarına ilişkin grafik.....	39
<b>Şekil 4.8</b> Giresun yöresinde üretilen çiğ sütlerle, ulusal markalar tarafından üretilen UHT sütlerin karşılaştırılması.....	40
<b>Şekil 4.9</b> Giresun yöresinde üretilen yoğurtlarla, ulusal markalar tarafından üretilen yoğurtların karşılaştırılması .....	40
<b>Şekil 4.10</b> Giresun yöresinde üretilen peynirlerle, ulusal markalar tarafından üretilen peynirlerin karşılaştırılması .....	41

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
<b>Çizelge 2.1</b> İncelenen yörelere göre AFM1 varlığının dağılımı ve limit düzeye (0,05ppb) göre değerlendirilmesi .....	18
<b>Çizelge 2.2</b> Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (No:2002/63).....	21
<b>Çizelge 3.1</b> Tavsiye edilen değerler geri kazanabilirlik yüzde değerleri (Türk Gıda Kodeksi Tebliğ no: 2002/25) .....	26
<b>Çizelge 4.1</b> Yöreden toplanan çiğ süt örneklerine ait AFM1 miktarları (ppb=ng/ml)...	28
<b>Çizelge 4.2</b> Yöreden toplanan çiğ süt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı.....	28
<b>Çizelge 4.3</b> Yöreden toplanan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarları (ng/ml=ppb)...	30
<b>Çizelge 4.4</b> Yöreden toplanan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı.....	30
<b>Çizelge 4.5</b> Yöreden toplanan peynir örneklerine ait AFM1 miktarları (ng/ml=ppb) ...	32
<b>Çizelge 4.6</b> Yöreden toplanan peynir örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı.....	32
<b>Çizelge 4.7</b> Marketlerde satışa sunulan UHT süt örneklerine ait AFM1 miktarları (ng/ml=ppb) .....	34
<b>Çizelge 4.8</b> Marketlerde satışa sunulan UHT süt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı .....	35
<b>Çizelge 4.9</b> Marketlerde satışa sunulan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarları (ng/ml=ppb) .....	36
<b>Çizelge 4.10</b> Marketlerde satışa sunulan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı .....	36
<b>Çizelge 4.11</b> Marketlerde satışa sunulan peynir örneklerine ait AFM1 miktarları (ng/ml=ppb) .....	38
<b>Çizelge 4.12</b> Marketlerde satışa sunulan peynir örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı.....	38

## 1. GİRİŞ

Küf mantarları tarafından sentezlenen, insan ve hayvanlar tarafından alındıkları zaman, latent, akut veya kronik karakterde zehirlenmelere neden olan kimyasal maddelere veya metabolitlere mikotoksin denir. Mikotoksin terimi mantar anlamına gelen ‘myco’ ve zehir anlamına gelen ‘toxin’ kelimelerinin birleşmesinden türetilmiştir (Kaya ve Yarsan 1995).

Mikotoksinler; küf mantarlarının metabolizmasında ya da büyümesinde açıkça bir rolü olmayan, logaritmik büyüme fazının sonlarında sentezlenen, küflerin ikincil toksik metabolitleridir (Fallah *et al.* 2009). Hayvan yemi ve insan gıdası olarak üretilen bitkisel ürünlerin üretimi, hasadı, işlenmesi ve depolanması sırasında meydana gelmektedirler (Whitlow and Hagler 2002).

Tanımlanmış mikotoksin sayısı 300’ün üzerinde olup, bunlardan yaklaşık 20’si kanserojen etkilidir. Günümüzde üzerinde önemle durulan mikotoksinler aflatoksinler (B1, B2, G1, G2, M1, M2)’dir (Kireççi ve ark. 2007).

Mikotoksinler gıdalara küfün gıda üzerinde gelişmesi ile doğrudan bulaşabileceği gibi, kontamine hammaddelerin proste kullanımı ile dolaylı olarak bulaşabilirler. Örneğin toksin içeren yemle beslenen hayvanların sütleri ve etleri mikotoksin türevlerini ve kalıntılarını içerebilmektedir (Topçu 2006).

İnsanların aflatoksine doğrudan maruz kalmaları, aflatoksinle bulaşık gıda maddelerini tüketmeleri suretiyle sindirim sistemi ve bulaşık gıdalara temas sonucunda da deri ve solunum yoluyla olmaktadır. Dolaylı olarak maruz kalma ise, aflatoksinlerle bulaşık yem maddelerini tüketen hayvanların karaciğer, süt ve yumurtalarının insanlar tarafından tüketilmesi sonucu meydana gelmektedir (Whitlow and Hagler 2002, Yiannikouris and Jouany 2002).

Aflatoksinlerin insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkilerinin ortaya çıkmasıyla Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu (IARC-International Agency for Research on

Cancer) tarafından 1993 de aflatoksin B1 (AFB1) birinci dereceden (Grup1), aflatoksin M1 (AFM1) ise ikinci dereceden (Grup2B) kanserojen maddeler grubuna dahil edilmiştir (Peraica *et al.* 1999).

AFM1'e maruz kalmanın insanlarda kanser oluşumu riskini artırıcı bir bağ oluşturduğunu göstermektedir (Elkak *et al.* 2012). Özellikle Afrika ve Çin'de, karaciğer kanserli hastalarda yapılan çalışmalar sonucunda, aflatoksinlere yüksek düzeyde maruz kalan insanlarda karaciğer kanserinin oluşumunda, p53 tümör baskılayıcı geninde meydana gelen mutasyonun rol oynadığı bildirilmiştir (Bennett and Klich 2003).

AFM1 AFB1'e oranla daha az kanserojenik ve mutagenik olmasına rağmen yüksek seviyede genotoksik aktivite sergiler ve de DNA yı bağlama ve muhtemel yığılımından dolayı sağlık açısından risk oluşturur (Elzupir and Elhussein 2009).

AFB1 ile kontamine bitkisel ve hayvansal gıdaların tüketilmesi sonucu organizmaya alınan aflatoksin, plasenta aracılığıyla (*transplacental yol*) ve emzirme yoluyla yeni doğanlara da taşınmaktadır (Alkan 2006).

AFM1'in süt ve süt ürünlerinde bulunmasını, insan ve hayvan sağlığı açısından risk oluşturmasını önlemek ve toksik etkilerinden korunmak için, yem ve gıda maddelerinde küf üremesinin ve toksin (AFB1) oluşumunun engellenmesi, AFB1 oluşmuş ise, kontamine yem ve hammaddeler ile gıdaların insan ve hayvanlar tarafından alınımının önlenmesi gerekmektedir (Oruç 2003).

Bütün bu bulgular gıda ve yemlerin aflatoksinlerle kontamine olmasının potansiyel bir halk sağlığı problemi olduğunu göstermektedir. Ayrıca bebek ve çocukların yetişkinlere göre daha fazla süt tüketmek zorunda oldukları ve bünyelerinin de yetişkinlere göre daha duyarlı olduğu dikkate alınacak olursa, süt ve süt ürünlerinde oluşabilen AFM1'in sağlık açısından ne kadar önemli olduğu ortaya çıkmaktadır (Özsunar 2005).

Türkiye'de değişik yörelerde yapılmış benzer çalışmalar bulunmasına karşın Giresun yöresinde konu ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada Giresun

yöresinde üretilen süt ve süt ürünleri ile yine bu yörede marketlerde satışı sunulan ulusal markalara ait süt ve süt ürünleri AFM1 bakımından araştırılarak genel bir durum tespiti ve bulunan aflatoksin miktarlarının ülkemizde yürürlükte olan mevzuatta belirlenen miktar ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## 2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

### 2.1 Tarihçe

Orta çağda Avrupa'da Kutsal Ateş veya St. Anthony's Fire, Aziz Antonius Humması olarak da bilinen *Claviceps purpurea*'dan kaynaklı ergotizm uzun yıllar boyunca görülmüştür (Kuhn and Ghannoum 2003).

Küflerin neden olduğu bilinen en önemli ve en eski mikotoksikozis olayı, ergotizm adı verilen hastalıktır. Çavdarların üzerinde *Claviceps purpurea*'nın gelişmesi ve bu çavdarların tüketilmesiyle oluşan ergotizm hastalığını tarif eden ilk kayıtlar ortaçağa aittir. Hastalığa neden olan bileşik ise hallusinogenil etkiye sahip olan ergot alkaloidleridir. Bu hastalığın yaygın olduğu ortaçağlarda şifa bulmak için manastır ve kiliselere koşan hastalar, buralarda kontamine olmamış hububatların tüketilmesiyle hastalıktan kurtulmuş ve bunu kilisenin mucizesi olarak kabullenmişlerdir (Uylaşer ve Başoğlu 1992). Mikotoksinlerin sebep olduğu hastalıklar uzun zamandır bilinmektedir. İkinci dünya savaşı sırasında Rusya'da kötü koşullarda ambarda depo edilen ve mikotoksinle kontamine olmuş bozuk tanelerden elde edilen besinleri tüketen pek çok insanın öldüğü görülmüştür (Karakaya 2006).

Avrupa' da binlerce insanın ölümüne neden olan bu hastalıkta, *Claviceps purpurea*'nın ürettiği çavdarların unundan yapılan ekmeği yiyen insanlar hastalığa yakalanmıştır. Hastalıkta yüksek ateş, el, kol, ayak, bacaklar ile el ve ayak parmaklarında nekroz ve kangrenler belirti olarak görülmekte fakat hastalığın nedeni bilinmemektedir. Hastalığa *Claviceps purpurea*'nın toksini olan ergot alkaloidinin neden olduğu ancak 19. yüzyılda ortaya konulmuştur. Ergotizm 9. ile 18. yüzyıllar arasında sık görülmekle birlikte, 1925 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde, 1926-1927 yıllarında İngiltere'de, 1928 yılında Rusya'da ve en son olarak da 1978 yılında Etiyopya'da görülmüştür (Özbek 2006).

II. Dünya Savaşı sırasında insanları ve evcil hayvanları etkileyen bir epidemiyi görülmüş ve bu hastalığa Alimentary Toxic Aleukia (ATA) denmiştir. Bu hastalığın, hasat edilememiş, kışı kar altında geçirmiş küflü tahılların (buğday ve darı) yenmesi sonucu

oluştugu, ölüm oranının ise etkilenen toplumda %10, hatta bazı bölgelerde %60'ın üzerinde olduğu bildirilmiştir. Ciddi deri nekrozu, hemoraji, lökopeni ve kemik iliği harabiyeti ile kendini gösteren bu hastalığa *Fusarium poae*, *Fusarium sporotrichoides* ve bazı *Cladosporium* türlerinin neden olduğu anlaşılmıştır. Aynı tarihlerde Japonya'da "sarı pirinç" hastalığı olarak isimlendirilen ve evcil hayvanların yemesi ile karaciğer hasarına neden olan bir başka hastalık tanımlanmıştır. Sarı pirinç örneklerinde, *Penicillium* örn. *P. citreo-viride*, *P. citrinum*, *P. islandicum* ve *P. rugulosum* türleri saptanmış ve bu çalışmaların sonucunda sarı pirinç toksinleri izole edilmiştir (Özmenteşe 2002).

İngiltere'de 1960 yılında "Turkey X Disease" adı verilen zehirlenme olayında yüz bin civarında hindi ölümü meydana gelmiş ve araştırmalar sonucu küflenmiş yarfıstığı katılan yemlerin bu olaya sebep olduğu anlaşılmıştır. Yapılan araştırmada zehirlenmeye neden olan toksinin *Aspergillus flavus* ve *A. paraticus* tarafından sentezlendiği ortaya çıkmıştır (Kuhn and Ghannoum 2003, Agag 2004).

Türkiye'de aflatoksinle ilgili çalışmalar, 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen fındıkların aflatoksin içermeleri nedeniyle iade edilmesinden sonra başlamıştır. Aynı problemle A.B.D.'ne ihraç edilen fıstıkların iade edilmesiyle, 1994 yılında Almanya'ya ihraç edilen kırmızı biberlerin aflatoksin içermeleri nedeniyle karşılaşılmasıdır. Yine son günlerin aktüel konularından biri olmaya devam etmektedir (Özmentese 2002).

## **2.2 Aflatoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri**

Aflatoksin terimi *Aspergillus flavus*'un "A" ve "fla" harflerine zehir anlamına gelen "toksin" eki getirilmesi ile oluşturulmuştur (Papp *et al.* 2002).

Aflatoksinler ince tabaka kromatografisinde, uzun dalga boylu ultraviyole (UV) ışığı altında gözlenen floresan renklerine bağlı olarak B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> olmak üzere başlıca dört ana fraksiyondan oluşmaktadır. Bu isimlendirme, Aflatoksin B<sub>1</sub> ve Aflatoksin B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>)'nin mavi, Aflatoksin G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>) ve Aflatoksin G<sub>2</sub> (AFG<sub>2</sub>)'nin ise yeşil floresan vermesiyle ilişkilidir. Ayrıca, özellikle memelilerde, ana metabolitlerin

biyotransformasyonu sonucu oluşan Aflatoksin P1 (AFP1), Aflatoksin Q1 (AFQ1), Aflatoksin B2a (AFB2a) ve Aflatoksin G2a (AFG2a) adı verilen aflatoksinler de tanımlanmıştır (Bennett and Klich 2003).

Aflatoksinler özellikle *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* olmak üzere, diğer bazı *Aspergillus* ve *Penicillium* ve *Rhizopus* türleri tarafından oluşturulan toksik metabolitler (türevler) dir. B1, B2, G1, G2, M1 ve M2 başta olmak üzere, 6 çeşit ana bileşik, ortak olarak aflatoksinler olarak adlandırılır (Topçu 2006).

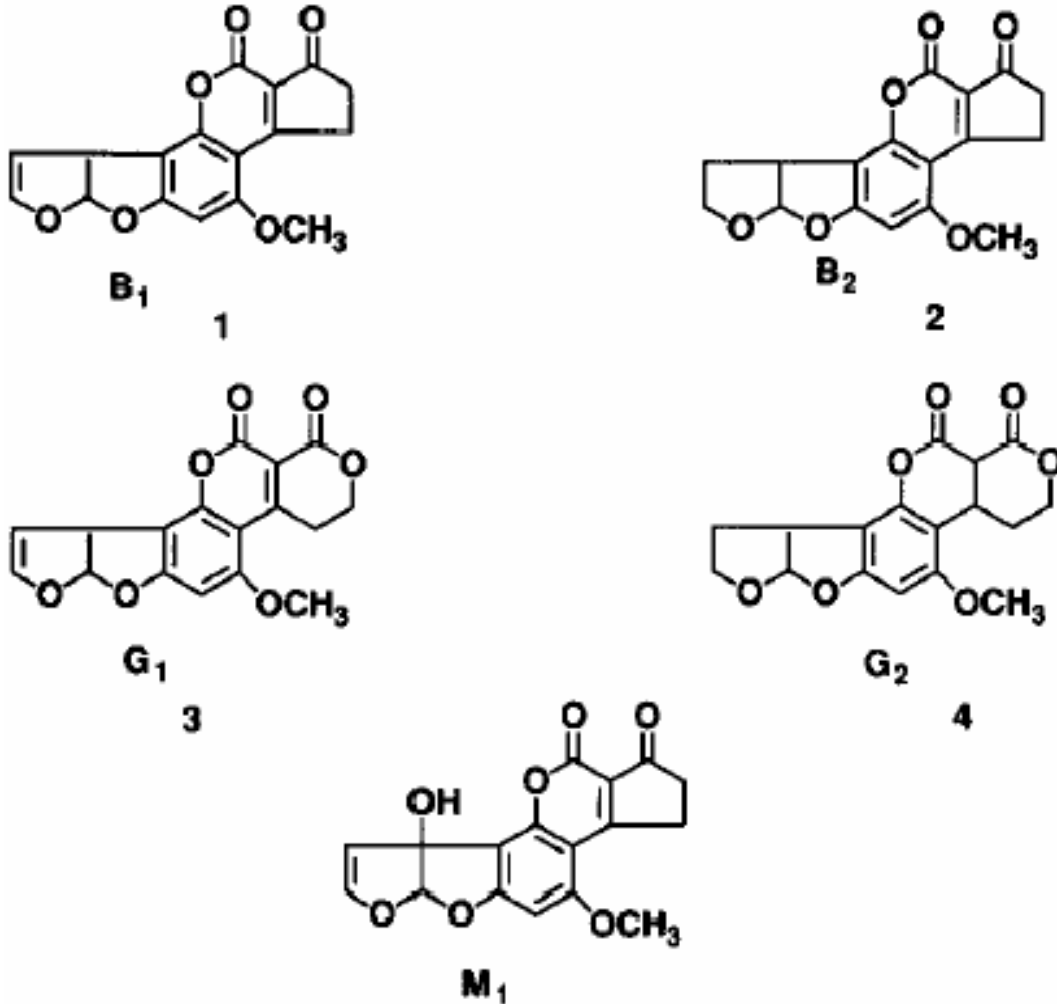
Toksijenik *A.flavus* kültürleri ve aflatoksin ile kontamine olmuş ürünlerdeki biyolojik aktiviteden AFB1 ve daha az olarak da G1 sorumludur. Bu durum, her iki toksinin terminal furan halkasınının 8, 9 karbon pozisyonunda bir doymamış bağa sahip olmasıyla ilişkilendirilmektedir. AFB2, AFB1'in, AFG2 de AFG1'in dihidro türevleridir ve "in vivo" koşullarda metabolik olarak B1 ve G1'e okside olmadıkları sürece biyolojik olarak inaktiftirler. Bu dört aflatoksin dışında aflatoksin M1 (AFM1) ve M2 (AFM2) olarak isimlendirilen önemli iki aflatoksin türevi daha bulunmaktadır. Aflatoksin M toksinleri aflatoksinli yemle beslenen laktasyon devresindeki memeli hayvanların sütlerinden ve idrarlarından izole edilmiştir. Bu toksinler de ince tabaka kromatografisinde, uzun dalga boyu UV ışığı altında mavi floresan verirler ve B toksinlerinden daha düşük R<sub>f</sub> değerlerine sahip olmalarıyla ayrılırlar. AFM1 ve M2, AFB1 ve B2'nin hidroksi türevleridir, AFM2 aynı zamanda, dihidro-AFM1'dir. AFB1 ve G1'in hemiasetal türevleri olan AFB2a ve G2a da *A.flavus*'un doğal metabolitleri olarak izole edilmişlerdir. Bu türevler, AFB1 ve G1'in asit ortamda hidrosillenmesi ile de elde edilmektedir ve bu özellikten AFB1 ve G1'in doğrulanmasında yararlanılmaktadır (Özkaya ve Temiz 2003).

Kimyasal yapıları önemli derecede farklılıklar göstermekle birlikte, hemen hepsi nispeten düşük molekül ağırlıklarına sahiptirler (Alkan 2006).

Doğal olarak küflenmiş tarımsal ürünlerde, yem ve işlenmiş gıdalarda en sık ve en yüksek oranda görülen B1 çeşididir. G1 ve G2 daha az gözlemlenirken, B2 en seyrek saptanan küf toksinidir. M1 (Milk 1) ve M2 (Milk 2) ise, sağmal hayvanlarda B1 ve

B<sub>2</sub>' nin metabolik değişikliğe biyotransformasyona uğratılması sonucu oluşur (Topçu 2006, Potrovita *et al.* 2007).

Aflatoksin oluşturan (sentezleyen) küf türleri ülkemizin hemen her bölgesinde uygun iklim koşulları bulabilmektedir. Tropik ve subtropik bölgeler başta olmak üzere, bütün dünyada yaygın olarak bulunan bu mikroorganizmalar, ülkemizde özellikle oransal nem içeriği yüksek olan kıyı bölgeleri için çok daha önemlidir. İklim bağımlılığı yüksek düzeyde olmayan bu küfler, özellikle 24-25° C çevre sıcaklığında ürünün nem içeriğine göre, 3-4 gün içerisinde yoğun bir küflenmeye neden olurlar (Topçu 2006). Aflatoksin türevlerinin kimyasal yapıları Şekil 2.1 de gösterilmiştir.



**Şekil 2.1** Aflatoksin türevlerinin kimyasal yapıları (Holcomb ve ark. 1992)

Gıda ve yemlerle besin çeşidi de genellikle küflerin gelişmesi ve mikotoksin sentezlemesini etkilemektedir. Küfler, üremeleri için organik karbonlara ve diğer enerji kaynaklarına ihtiyaç duyarlar. Glikoz ve diğer düşük molekül yapısına sahip monosakkaritler ile suda çözünebilen organik maddeleri besin kaynağı olarak kullanabilirler. Ayrıca, küflerin üreyip toksin sentezleyebilmeleri için pepton, polipeptid ve aminoasitler gibi organik maddeleri azot kaynağı olarak kullanmaya ve kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), potasyum (K), demir (Fe), çinko (Zn), fosfor (P) gibi elementlere ihtiyaçları vardır (Özbek 2006). Karbonhidrat ve yağ bakımından zengin gıda ve yem maddeleri küflerin üreyip toksin sentezleyebilmeleri için uygun ortamlardır. Bunun sonucu, mısır, arpa, yulaf, buğday, pirinç, darı gibi tarım ürünleri ile pamuk tohumu, soya, yerfıstığı, fındık ve ayçiçeği gibi yağlı tohumlar ve bunlardan hazırlanan yem ve gıda maddeleri küflerin gelişerek mikotoksin sentezlemeleri için uygun ortamları oluştururlar (Kaya ve Yarsan 1995).

### **2.3 Aflatoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler**

Sıcaklık, pH, nem, hava ve atmosferdeki gazların seviyesi mikotoksinin sentezlenmesinde önemlidir (Kuyucuoğlu 2007). Küflerin aflatoksin sentezlemesi için en uygun sıcaklık aralığı 12-42°C olarak belirlenmiştir ve optimal sıcaklık 25-35°C'dir (Agag 2004). Aflatoksinler başta mısır, pamuk tohumu ve yer fıstığı olmak üzere %15'den yüksek rutubet içeren, hemen her çeşit tahıllar, yem ve yem hammaddeleri ile gıdalarda kolayca çoğalıp mikotoksin sentezleyebilmektedirler. %12-13'den daha düşük nem seviyesinde küf oluşumu engellenmektedir (İnt.Kyn.1). Küfler aerobik canlılardır. Dolayısıyla, ortamdaki CO<sub>2</sub> yoğunluğu %10'un üstüne çıkarılarak mikroflora hızla baskı altına alınmaktadır (Kaya ve Yarsan 1995). Türlerine göre değişmekle beraber, pH değişikliklerine kolayca uyum gösterebilirler. En iyi üreme aralığını pH 2-7.5 arasında gösterirler. Ancak, genel bir kural olarak, bazik ortamlara göre hafif asit pH'lı yiyecekler fungal etkinlikler için daha uygun ortam oluştururlar (Kaya ve Yarsan 1995).

Gıdanın içerisinde bulunduğu ortamın bağıl nemi; o gıdanın su aktivitesinin dengesi ve yüzey mikroorganizmalarının gelişmesi açısından çok önemlidir. Su aktivitesi gıdada bulunan bağlanmamış su miktarıdır. Bir gıdanın su aktivitesi ( $a_w = \text{bağıl nem}/100$ ),

bulunduğu ortamın bağıl nemi ile dengelenmiş olmalıdır. Buna “eşdeğer bağıl nem” denir. Bağıl nem yksek olduğu takdirde gıda maddesi çevreden nem almaya başlar ve su aktivitesi dengeye ulaşıncaya kadar artar. Bkylece gıda üzerinde mikroorganizma aktivitesi artar. Gıdada ki su aktivitesi ( $a_w$ ) kuf için bir gelişme faktkrdur. Belirli bir  $a_w$  değerinin altında mikotoksin üretilmez. Toksin retimi için optimum  $a_w$  değerini 0,99 iken çoğalma için gereken  $a_w$  değerini 0,95’dir. Tarım rnlerindeki su aktivitesini 0,65’altına düşürmek suretiyle kurutmak ve bu seviyeyi korumak kuf gelişimini önler. Kuf gelişimi ve toksin oluşumunu önlemek için depolamada yeterli havalandırma ve sirkülasyonun sağlanması ve ani ısı değişikliklerinden korunması gerekir (Demirtaş 2006).

Mikroorganizma yükü (kuf suşunun toksijenik olup olmadığı, toksijenik ise toksin üretme kabiliyeti) ve mikrobiyal flora, bitki çeşidi, böcek hasarı, ayrıca birden fazla parazit veya kültür türünün mevcut olması da küflerin üremesini ve mikotoksin oluşturmasını etkilemektedir (Kk 2006).

Gerek hasat ve gerekse işlenme sırasında fazlaca mekanik hasar görmüş veya çeşitli parazitlerin hücumuna uğramış ve fiziki bütünlüğünü yitirmiş tarımsal ürünlerin kuf istilasına karşı direnci bütünüyle kaybolabilir. Bunlardan hazırlanan yem ve gıdalarda sıkça kuf istilasına uğrayarak mikotoksinlerle enfekte olabilirler (Grenmels 1999).

Besinlerdeki küflerin derecesi, insidansındaki artış ve mikotoksin problemi özellikle tarım ürünlerinin hava şartlarının etkisi altında, hasat mevsimi ve büyüme devresinde daha belirgindir. Küflü besinler ya da yemler her zaman mikotoksin ya da kuf zehiri (zehirlenme) tehlikesi içermez fakat önemli ölçüde küflerin varlığı, sağlığı ve ürünleri olumsuz yknde etkilemektedir. Tarımda yeterince gelişmiş tekniklerin kullanılmaması sonucu, hasadı takiben tarım ürünlerinin tarlada uzun bir süreyle kalmaları, gerek bu esnada ve gerekse harmanlama ve taşıma sırasında bir çok kez yağmura maruz kalmaları da bunların kflenmelerine ve bkylece mikotoksinlerle enfekte olma tehlikesine yol açmaktadır (Kk 2006).

## 2.4 Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu

Aflatoksin kontaminasyonunun önlenemediği durumlarda üründen aflatoksinin uzaklaştırılması ve detoksifikasyonu amacıyla çok sayıda araştırma yapılmakta ve fiziksel, kimyasal ve biyolojik birçok yöntem denenmektedir (Özkaya ve Temiz 2003).

Fiziksel ayırma yöntemleri arasında, küflü taneleri elle veya elektronik yollarla ayıklamadan aflatoksin düzeylerini azaltmak için yaygın olarak yararlanılmaktadır. Rengi değişmiş, bozulmuş, şekli bozuk taneleri ayıklayarak aflatoksini azaltma yönünde en iyi sonuçlar yerfistığı sektöründe alınmıştır. Mısır veya pamuk tohumu gibi ürünlerde ise bu yöntemi uygulamada güçlüklerle karşılaşıldığından sıklıkla kullanılmamaktadır. Ürünler bir küf bozulması göstermediği halde mikotoksinleri önemli düzeylerde içerebilmektedir. Bu nedenle ayıklama ile son üründe başlangıçtakinden düşük aflatoksin düzeylerine ulaşılsa bile, çoğu kez kontaminasyonun tamamı giderilememektedir (Park 1993).

Sütte AFM<sub>1</sub>'i yıkımlamaya yönelik fiziksel yöntemler, adsorpsiyon ve ışınlamadır. Applebaum ve Marth süte %5 oranında adsorban bir madde olan bentonit ilavesinin sütteki AFM<sub>1</sub>'i %89 düzeyinde tutabildiğini bildirmiştir (Applebaum and Marth 1982a).

Gıda ve yemlere mikotoksinlerin kontaminasyonuna neden olan küflerin harabiyeti için radyasyon ışınlaması 1950'lerin sonunda ilk kez rapor edilmiştir. Bilinen ilk çalışma ise 1971'de *A. flavus*'a karşı gama ışınlaması ile gerçekleştirilmiştir. Bu küf mantarını içeren tüp ortamına 1,6-2,4 kGray radyasyon ışınlaması yapılmış ve yaşama kapasitesinin %30 oranında azaldığı görülmüştür (D'Ovidio *et al.* 2007).

Radyasyon, UV ve gamma ışınlarıyla aflatoksinlerin kısmen degradasyonu sağlanır. Ancak bu uygulama da tam arınma için yetersiz kalmaktadır. Ultraviyole ışınları uygulaması, bu ışınların nüfuz gücünün az olması nedeniyle birçok gıda da aflatoksin inaktivasyonunda başarısızlıkla sonuçlanmıştır, ancak özellikle ince bir tabaka halindeki süte ultraviyole ışın uygulanması inaktivasyonda olumlu sonuç vermektedir. Bu ışının hidrojen peroksit ile birlikte uygulanmasının da M<sub>1</sub> toksininin inaktivasyonunda daha

etkili olduğu bildirilmiştir. Aflatoksinlerin sıcaklık ile inaktive edilmesi için ise yüksek dereceler gerekir ve pratikte sıcaklık ile aflatoksin inaktivasyonu mümkün olmamaktadır (Kök 2006).

Ürünün tarlada iken kimyasal maddelerle gübrenmesi de küflenmeyi azaltabilmektedir. Küflenme ve mikotoksin oluşumunu engellemek için; ürün tam olarak olgunlaşınca hasat edilmeli; hasat esnasında üründe mekanik hasar oluşturulmamalı; özellikle rutubet oranı yüksek bölgelerde hasat edilmiş ürün derhal güvenli nem seviyesine kurutulmalı ve sonra havalandırılması sağlanmalıdır (Kaya ve Yarsan 1995).

Karma yemlerin korunmasında kullanılmak üzere ticarete bir çok madde bulunmaktadır. Bunlar arasında propiyonik asit, laktik asit, sorbik asit gibi maddeler fazlaca kullanılır. Tek asit veya onların tuzlarını kullanmak yerine, daha çok, yukarıda sözü edilen dört asidin karıştırılarak uygulanması tavsiye edilmektedir (Kaya ve Yarsan 1995).

Biyolojik yöntemlerden üzerinde en çok çalışılanlardan biri, mikotoksinin fermantasyon yoluyla giderilmesidir. İki farklı çalışmada, zeralenon ve fumonisine kontamine olmuş mısırlardan etanol eldesi sırasında toksin miktarındaki değişim izlenmiş; her ikisinde de üretilen etanolde toksin bulunmazken, toksinin diğer fraksiyonlarda kaldığı belirlenmiştir (Bennett *et al.* 1981, Bothast *et al.* 1992).

Ciegler ve ark. (1966) tarafından yapılan çalışmada, mikroorganizmaların AFB1 ve AFG'yi parçalama veya biyotransformasyona uğratması yönünde etkileri olup olmadığı test edilmiştir. Çalışmada *Flavobacterium*'un 7 farklı türü de dahil olmak üzere test edilen bütün bakterilerin aflatoksin üzerinde etkisiz olduğu görülürken, yalnız *Flavobacterium aurantiacum* NRRL B-184 suşunun aflatoksini ortamdan uzaklaştırabildiği belirlenmiştir.  $10^7$ - $10^{10}$  adet/mL konsantrasyonda *F. aurantiacum* NRRL B-184 bakteri hücresi tarafından, değişik konsantrasyondaki (270-5000 µg/50mL) AFB1'in 44 saat içinde %38-74 arasında değişen oranlarda uzaklaştırıldığı görülmüştür (Ciegler *et al.* 1966).

Mikotoksinlerin hücreler üzerindeki toksik etki mekanizmaları değerlendirildiğinde serbest radikaller ve reaktif oksijen üretimine aracılık etmesinin son derece önemli olduğu ve oluşan ürünlerin sitotoksisitede ve hepatokarsinogenitede rol oynadığı bildirilmektedir. Bu nedenle, mikotoksinlerle oluşması muhtemel hasarın önlenmesinde antioksidan kullanımının önemi ve geçerliliği ortaya çıkmaktadır (Sabuncuoğlu ve ark. 2008).

## 2.5 Aflatoksinlerin Toksisitesi

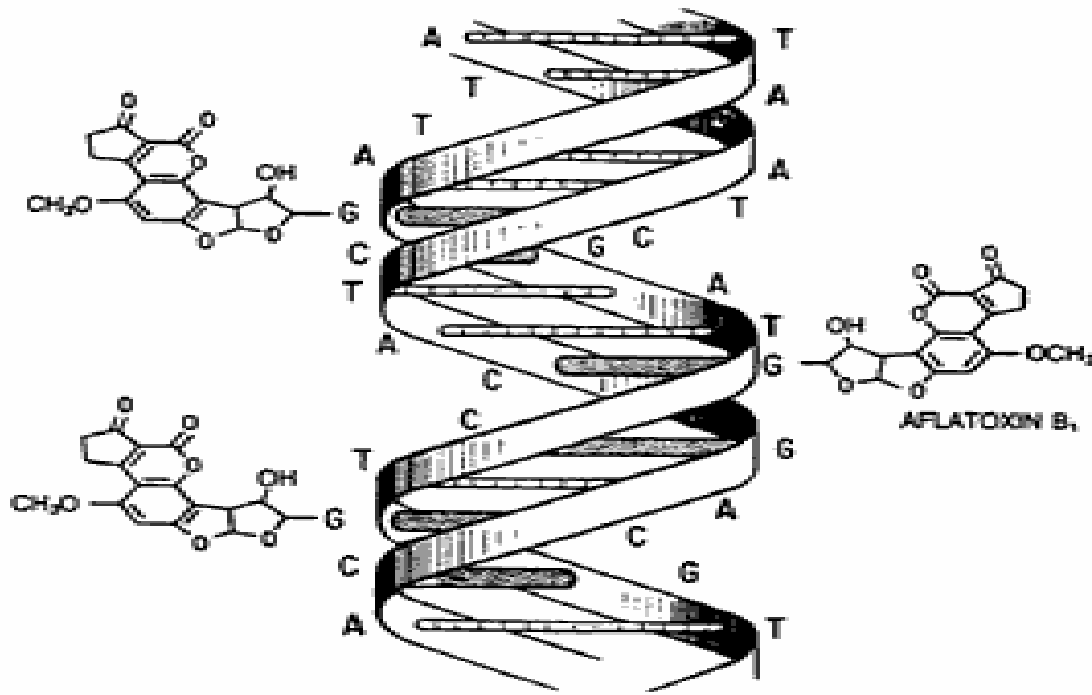
Aflatoksinler kendileri doğrudan etkili değildirler. Karaciğer mikrozomal enzimleri vasıtasıyla, uğradıkları metabolik değişiklikler sonucu oluşan epoksit türevleri (AFB<sub>1</sub>-2,3 epoksit) ile etkili olurlar (Akdemir ve Altıntaş 2004).

Aflatoksinlerin metabolik aktivasyonu sonucu toksik, karsinogenik ve mutajenik etkili metabolitler oluşur. AFB<sub>1</sub>, karaciğer mikrozomal sitokrom P450 enzimleri tarafından oksidasyonu sonucu, DNA ve proteinlere bağlanma yeteneğinde reaktif bir form olan AFB<sub>1</sub>-8,9-epoksit formuna çevrilir (Bennett 2003).

Aflatoksin B<sub>1</sub>'in epoksi formunun bu aktifleşme reaksiyonunun sonucunda DNA ile birleşerek AFLB<sub>1</sub>N<sup>7</sup>-Gua kompleksini oluşturduğu bilinmektedir. Bu kompleks organizma veya hücreler için biyolojik bir tehlike oluşturmakta ve karsinogenik ve genotoksik etkilerin sorumlusu olarak değerlendirilmektedir (Groopman *et al.* 1992, Özkaya ve Temiz 2003, Verma 2004).

Aflatoksinler; RNA polimeraz, ribozomal translokaz (protein sentezini inhibe eder) gibi önemli enzimleri ve DNA formlarını karaciğerde biyoaktivasyon sonrası biyolojik moleküllerle bağlarlar (Agag 2004).

AFB<sub>1</sub>, karaciğer hücrelerindeki DNA'da guanin bazına bağlanır ve hücre büyümesini düzenleyen genetik kodu bozar. Kontrol dışı çoğalan hücreler tümör oluşumuna neden olurlar (İnt.Kyn.2). Bu durum Şekil 2.2 de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.2 AFB1'in DNA molekülüne bağlanması (İnt.Kyn.2)

AFB1-8,9-epoksit, GSH-S-transferaz katalizörlüğünde GSH (gulutatyon) tarafından inaktive hale getirilebilir. GSH tarafından gerçekleştirilen bu inaktivasyon olayı birçok türde AFB1'in detoksifikasyonunda önemli bir yoldur ve AFB1-GSH formu AFB1 in karsinojenik etkilerine karşı korur. AFB1-8,9-epoksit epoksit hidrolaz ile yada kendiliğinden AFB1-8,9-dihydrodiol'e dönüşerek inaktive olur (Coulombe 1993).

Aflatoksinler yüksek dozlarda akut, sub-letal dozlarda ise kronik toksisite göstermektedirler. Düşük dozda sürekli alımları, birçok hayvan denemesinde karsinojen etki ile sonuçlanmıştır. Aflatoksinler içerisinde en yüksek toksisiteyi AFB1 göstermektedir. Aflatoksinlerden hayvanların birçoğu etkilenmektedir, ancak duyarlılık türden türe değişmektedir ve aynı türün genç olanları yaşlı olanlardan daha duyarlıdır. Ayrıca toksik etki, tüketilme miktarı ve sıklığına, hayvanın cinsine, yaşına, cinsiyetine, sağlık durumuna ve beslenmesine bağlı olarak değişmektedir (Özkaya ve Temiz 2003).

Aflatoksinlerin akut toksisitesinin insanlarda akut zehirlenme yaptığını gösteren olaylar da literatüre geçmiştir. Tayvan'da küflü pirinç tüketen 26 kişi hastalanmış ve bunların arasından 3 çocuk, ayaklarda ödem, karın ağrısı, kusma, karaciğerde büyüme gibi

belirtilerden sonra ölmüştür. İncelenen pirinç örneklerinde 200 ppb AFB<sub>1</sub> bulunmuştur. Uganda’da 15 yaşında bir çocuk, Tayvan’daki çocuklara benzer belirtilerle ölmüş ve bu çocuğun da 1.7 ppm aflatoksin içeren “cassava” yediği belirlenmiştir. Patolojik bulgu olarak akciğerde ödem, kalp yetmezliği, karaciğerde nekroz ve yağlanma görülmüştür. Tayland’da da 3 yaşındaki bir çocuk “Reye’s sendromu” sonucu ölmüş ve çocuğun 2 gün önce yediği pirincin 10 ppm aflatoksin içerdiği saptanmıştır (Bullerman 1979).

## 2.6 Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin

Süt ve süt ürünleri yetişkinler özellikle de çocuklar için temel besinler olmasının yanı sıra aflatoksin içirme bakımından en riskli ürünlerdendir (Amer and Ibrahim 2010). Bu riski azaltmak için bir çok gelişmiş ülke, süt ve süt ürünlerinde bulunabilecek AFM<sub>1</sub> miktarı için maksimum sınırlar belirlemişlerdir (Sarimehmetoğlu ve ark. 2004). Günümüzde bu sınırlar ülkelerin gelişme derecesi ve ekonomik durumlarına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Bakırcı 2001, Amer and Ibrahim 2010).

Yemlerle alınan AFB<sub>1</sub> tüketimi ile sütteki AFM<sub>1</sub> içeriği arasında lineer bir ilişki vardır. (Ayçiçek 2005, Fallah *et al.* 2009). Aflatoksin ihtiva eden yemleri tüketen hayvanların sütlerinde bu toksinlerin bir türevinin salgılandığı ortaya çıkmış ve sütte bulunmasından dolayı buna “süt toksini” (milk toxin) anlamında aflatoksin M (AFM) adı verilmiştir (Akdemir ve Altıntaş 2004).

AFB<sub>1</sub>, toksisitesi en fazla olan aflatoksindir ve AFM<sub>1</sub> bunun sütle atılan metabolik ürünü, AFM<sub>2</sub> ise AFB<sub>2</sub>’nin sütle atılan metabolik ürünüdür. AFM<sub>1</sub> ve AFM<sub>2</sub> laktasyondaki hayvanların AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub> içeren yemlerle beslenmesinden sonra sütle atıldığı için süt, peynir, yoğurt, süt tozu ve tereyağı gibi süt ürünlerinde bulunabilmektedir. Ancak AFM<sub>1</sub> sütte en fazla bulunan ve dolayısıyla daha toksik olan aflatoksindir (Oruç 2005).

AFB<sub>1</sub> ile kontamine yemleri tüketen ineklerden elde edilen sütlerde AFB<sub>1</sub>’in AFM<sub>1</sub>’e dönüşüm oranı %1-3 arasında değişkenlik göstermektedir (Markaki and Melissari 1997, Velasco *et al.* 2003). AFM<sub>1</sub>’in, AFB<sub>1</sub> yemle alındıktan sonra 6-24 saat içinde sütte

tespit edilebildiği, 12-48 saat içinde en yüksek düzeyine ulaştığı ve AFB<sub>1</sub> alımının kesilmesini takip eden 2-4 gün içinde sütte tespit edilemediği bildirilmiştir (Van Egmond 1983).

Aflatoksin B<sub>1</sub>'in süte geçmesi hayvandan hayvana, günden güne, bir sağımdan diğerine değişkenlik göstermektedir (Fallah 2010).

Veldman ve ark. (1992)' de yaptıkları bir çalışmada laktasyonun ilk (2-4 hafta) ve son dönemindeki (34-36 hafta) 34-39µg/gün AFB<sub>1</sub> ile kontamine yemi tüketen ineklerde AFB<sub>1</sub>'in AFM<sub>1</sub>'e dönüşüm oranını sırasıyla 0,062 ve 0,018 olarak tespit etmişler ve bu farklılığı süt üretimi miktarındaki farklılaşma ile ilişkili olduğu gibi, AFB<sub>1</sub>'in karaciğerde metabolizmasının bireyden bireye farklılıklar göstermesi ile de ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, yüksek süt verimine sahip ineklerin sütlerinde AFM<sub>1</sub> atılım oranının yüksek olmasının nedenini, meme alveol hücrelerinin membran geçirgenliklerinin fazla olması sonucu ortaya çıktığı kanısına varmışlardır. Mastitisli ineklerde AFM<sub>1</sub> atılım oranının yüksek olmasının nedenini de, membranların geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak gerçekleşmesinin, durumu daha anlaşılabilir bir hale getirdiğini ifade etmişlerdir (Veldman *et al.* 1992).

Araştırmacılar tarafından, 5-80µg AFB<sub>1</sub> alımı ile AFM<sub>1</sub> arasında doğrusal bir ilişki bulunmuş ve durum aşağıda belirtilen şekilde formülize edilmiştir.

$$\text{AFM}_1 \text{ (ng/kg süt)} = 1.2 \times \text{AFB}_1 \text{ alımı (µg/inek/gün)} + 1.9$$

Bu formüle göre, AFM<sub>1</sub>'in sütte bulunmasına izin verilen maksimum limit değerı olan 0,05µg/kg (ppb) atılımı için, her bir ineğin günde ortalama olarak 40µg AFB<sub>1</sub> alması gerekmektedir. İneğin günlük yem tüketimi ortalama 12kg olarak düşünöldüğünde kg yem başına düşen AFB<sub>1</sub> miktarı 3,4µg/kg (ppb) civarında olmalıdır (Harvey *et al.* 1991).

Battacone ve ark. (2003) laktasyonun erken dönemindeki koyunlarda AFM<sub>1</sub>'in atılımını saptamak amacıyla yaptıkları bir çalışmada; AFB<sub>1</sub> alımından 12-24 saat sonra sütte AFM<sub>1</sub> miktarının pik düzeye ulaştığı, 96 saat sonra AFM<sub>1</sub>'e rastlanılmadığı ve AFB<sub>1</sub>'in

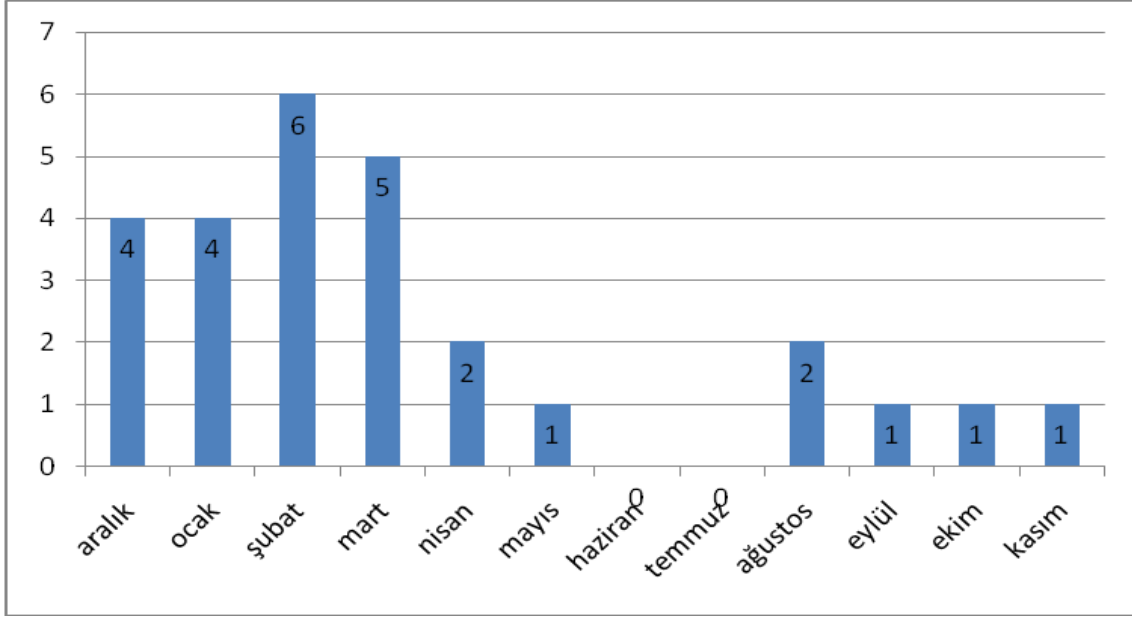
AFM<sub>1</sub>'e dönüşme oranının ortalama %0,032 olduğu bildirilmiştir. Laktasyonun orta döneminde olan koyunlarda da buna benzer sonuçlar elde edilmiş ve AFB<sub>1</sub>'in AFM<sub>1</sub>'e dönüşme oranının koyunlarda ineklere göre daha düşük oranda olduğu tespit edilmiştir. Koyunların AFB<sub>1</sub>'i AFM<sub>1</sub>'e dönüştürme oranının sığır ve keçilere göre daha az olduğu ileri sürülmüştür (Battacone *et al.* 2003).

AFM<sub>1</sub> 'in şekillenmesi karaciğerde gerçekleşir. Süt ineklerinin meme bezlerinden süte salgılanmaktadır ve memeliler tarafından alınan AFB<sub>1</sub> hızlı bir şekilde mide- bağırsak yolu tarafından emilir ve de 15 dakika sonra kanda AFM<sub>1</sub> metabolitleri gözlemlenir (Pei *et al.* 2009).

Süt ve süt ürünlerine AFM<sub>1</sub> kontaminasyonu coğrafyaya, ülkeye ve mevsime bağlı olarak değişir (Özdemir 2007). AFM<sub>1</sub> in kirlilik düzeyi sıcak ve soğuk mevsime göre bile değişkendir. Kış aylarında fazlaca karışık yemlerden, yaz ve bahar aylarında ise daha ziyade doğadan istifade etmeleri nedeniyle; soğuk mevsimlerde sıcak mevsimlere nazaran daha yüksek miktarlarda AFM<sub>1</sub>'e rastlanılmıştır (Ghazani 2009).

Kamkar (2005) İran' da yaptığı bir araştırmada 111 çiğ süt örneğinde aflatoksin analizi yapmıştır ve bunun 85'inde AFM<sub>1</sub> 0,015 ppb ve 0,28 ppb değerleri arasında çıkmıştır. 85 sütün %40'ı Avrupa tarafından belirlenen limit değerlerin üstünde çıkmıştır. En düşük aflatoksin miktarı ağustos ayında (0,024 ppb), en yüksek ise aralık ayında (0,118 ppb) çıkmıştır. AFM<sub>1</sub> miktarı ocak, şubat, nisan ve aralık aylarında diğer aylara göre daha yüksek çıkmıştır (Kamkar 2005).

Çağlar ve Kara (2006) Afyonkarahisar'da yaptıkları araştırmada 120 çiğ süt örneğinde AFM<sub>1</sub> analizi yapmışlardır. Örneklerin %22,5'i Avrupa ve Türkiye tarafından belirlenen limit değerlerin üstünde çıkmıştır. Örneklerin %77,5'inde AFM<sub>1</sub> 0-0,05 ppb arasında ve %4,17 lik kısmı ise bu araştırma için en yüksek AFM<sub>1</sub> aralığı olan 0,11-0,15 arasında bulunmuştur. AFM<sub>1</sub> miktarı aralık, ocak, şubat ve mart aylarında diğer aylara göre daha yüksek çıkmıştır. Yıl boyunca aylara göre pozitif örneklerin dağılımları Şekil 2.3 'de verilmiştir.



Şekil 2.3 Pozitif örneklerin sayısı

Akdemir ve Altıntaş (2004) yapmış oldukları çalışmada, Ankara Yöresi'nde üretim yapmakta olan 2 ayrı süt fabrikasına işlenmek üzere gelen, çeşitli illere ait 12 ayrı kaynaktan alınan toplam 48 adet çiğ süt örneği (inek sütü) AFM1 yönünden incelemiştir. Sonuç olarak, örneklerin %70,83'ünün AFM1 içerdiği ve %33,3'ünde düzeylerin Türkiye için bildirilen limit değerini (0,05 ppb) üzerinde olduğu hesaplanmıştır; yöreler arasında AFM1 düzeyleri açısından belirgin farklılıklar olduğu saptanmıştır. En yüksek AFM1 düzeyi Ankara yöresine ait süt örneklerinde tespit edilmiş (0,817 ppb); Burdur ve yöresinin en riskli yöre olduğu, Eskişehir yöresinin ise risk taşımadığı belirlenmiştir. Araştırmacıların bu çalışma için inceledikleri örneklerin AFM1 değerleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

**Çizelge 2.1** İncelenen yörelere göre AFM1 varlığının dağılımı ve limit düzeye (0,05 ppb) göre değerlendirilmesi

Kaynak il	Kaynak Yöre	Örnek Sayısı	AFM1 Saptanan		Aflatoksin Miktarı ng/ml=ppb		Limiti aşan Örnek	
			Örnek Sayısı	%si	En çok	En az	Sayısı	% si
ESKİŞEHİR	Karakamış	3	0	00	0.000	0,000*	0	0
	Bozan	4	2	50	0,015	0,000*	0	0
	Mihallıçık	4	2	50	0,121	0,000*	1	25
	Alpu	4	0	00	0,000*	0,000*	0	0
	Beylikova	4	1	25	0,01	0,000*	0	0
BURDUR	Seydiköy	5	5	100	0,058	0,039	3	60
	Varollar	5	5	100	0,143	0,047	4	80
NEVŞEHİR	Avanos	5	5	100	0,055	0,029	1	20
BURSA	Karacabey	3	3	100	0,076	0,012	2	66
ANKARA	Merkez	5	5	100	0,817	0,019	3	60
LÜLEBURGAZ	Merkez	1	1	100	0,016	-	0	0
ANTALYA	Bozova	5	5	100	0,119	0,034	2	40
Toplam	12	48	34	70.83	0,817	0,000*	16	33,3

\*Tespit edilebilir limitin altı

## 2.7 Teknolojik İşlemlerin AFM1'e Olan Etkileri

Ne yazık ki; sütteki AFM1 içeriği ne süt endüstrisinde kullanılan pastörizasyon ve ultra yüksek sıcaklık (UHT) gibi ısıl işlemlerden ne de süt ürünlerinin hazırlanma ve depolanması sırasında ki işlemlerden etkilenir (Fallah 2010). Proses ve depolama süresince sütteki AFM1 içeriği sabit ve homojen değildir (Ertas ve ark. 2011). Bununla ilgili olarak pastörizasyon gibi ısıl işlemlerin AFM1 stabilitesine olan etkisini Alcroft ve Carnaghan (1962) ve Patel ve ark. (1981) de sütü 4-5 saat kaynatarak yapmış oldukları çalışmada incelemişler ve değişmediğini tespit etmişlerdir.

Aflatoksin bulaştırılmış yiyeceklerde pişirmenin etkisi araştırılmış ve aflatoksinlerin %60 oranında bozulmamış olduğu saptanmıştır (Abbas *et al.* 1988).

Wiseman ve Marth yaptıkları çalışmada kefir ve yoğurt gibi kültüre edilmiş süt ürünlerinin birkaç ay süreyle donmuş olarak muhafaza edilmesinin AFM1 miktarını etkilemediğini bildirmişlerdir (Wiseman and Marth 1983).

Sütte bulunan AFM1'in süt ürünlerinde dağılımı farklıdır. Örneğin peynirde yaklaşık %40-60, kremada %10 ve yağda %2 den daha az oranda bulunmaktadır (Martins and Martins 2000).

Peynir üretimi çeşitli süreçleri içermektedir. Birinci fazda sütün telemeye preslendiği safhada AFM1 parçalanması gözlenmez, teleme ve peynir altı suyundaki AFM1 miktarı yaklaşık olarak sütün kendisiyle aynıdır. İlerleyen safhalarda AFM1 süt içindeki kazein fraksiyonuna olan ilgisinden dolayı telemede peyniraltı suyundakinden daha yüksektir (JECFA 2001). Yousef and Marth (1989) peynirdeki AFM1 konsantrasyonunun zenginleştirme faktörüyle sütteki AFM1 den yüksek olduğunu ifade etmişlerdir. Bunun üzerine yapılan araştırmaların sonunda araştırmacılar zenginleştirme faktörünün yumuşak peynirlerde 2,5-3,3; sert peynirlerde 3,9-5,8 olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Peynir üretiminin olgunlaşma safhasında AFM1 miktarının azalmadığını genellikle sabit kaldığını bildirmişlerdir.

Sütte bulunan AFM1'in, peynir ve peyniraltı suyunda ki dağılımı oldukça fazla değişkenlik gösterebilmektedir. Bazı araştırmalarda, peynirde daha fazla tespit edilirken , bazı araştırmalarda peyniraltı suyunda daha fazla tespit edilmiş ve ya eşit bulunmuştur. Peynir ve peyniraltı suyundaki AFM1 miktarlarının değişkenlik göstermesinde, peynir tipi ve yapım prosedürü, peynirin yumuşak ve ya sert olması, kontaminasyon miktarı, süt kazein miktarı, lipolitik etki, uygulanan ısı işlemleri, proteolizis (olgunlaşma döneminde), kontamine sütün ışığa maruz kalması ve yetersiz metod kullanımı gibi faktörler önemli rol oynamaktadır (Oruç 2003).

Farklı peynir çeşitlerinin depolanması ve olgunlaşması süresince AFM1 sabittir (Fallah *et al.* 2009).

## **2.8 Aflatoksin Sınır Limitleri**

Mikotoksinlerin gıda ve yemlerle alım miktarı ve süresi göz önüne alındığında, canlılarda çeşitli etkilerinin görülebileceği ve bu nedenle de en güvenli tolerans düzeyinin sıfır olması, yani alınan gıda ve yemlerde mikotoksin bulunmaması gerektiği

kabul edilmektedir. Fakat, gerçekte ise mikotoksinlerin gıda ve yemlerde yaygın bir şekilde doğal olarak bulunması nedeniyle sıfır olması imkansız olarak görülmekte ve bu nedenle de bulunabilecek maksimum tolerans değerleri ölçüt olarak kullanılmaktadır (Özbek 2006).

Her ülke kendi şartlarını göz önünde tutarak, yemlerdeki AFB<sub>1</sub> düzeyine sınırlama getirmiş, süt ve süt ürünlerinde, maksimum bulunabilecek AFM<sub>1</sub> düzeylerini belirlemiş veya önermiştir. Türkiye’de, süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM<sub>1</sub> ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Türkiye’de, süt ve peynirlerde, insan sağlığı için risk oluşturabilecek düzeylerde AFM<sub>1</sub> bulunabilmektedir (Oruç 2003).

Gıdalarda belirli miktarlara kadar aflatoksin’e izin verilmektedir. Fakat Aflatoksinin düşük olması tehlikeyi azaltan bir faktör değildir. Tüketilen gıdalarla sıkça alınması durumunda karaciğerde birikerek benzer etkiler oluşturmaktadır. Alınan toksin miktarının vücut ağırlığına oranının artması, karsinogen etkiyi arttırmaktadır. Özellikle süt ve süt ürünleriyle beslenen küçük çocuklar daha fazla risk altındadır (Demirtaş 2006). Ülkemiz için geçerli olan değerler Çizelge 2.2 de verilmiştir.

Gıdalarda ki aflatoksin düzenleyici limitler 0 ile 50 ppb arasında değişkenlik gösterirken AFM<sub>1</sub> için US daki düzenleyici limit 0,5 ppb, Avrupa ülkelerinde ve Türkiye ‘de 0,05 ppb dir.

**Çizelge 2.2** Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (No:2002/63)

GIDA MADDESİ	MAKSİMUM SEVİYE (ppb)				
	Aflatoksin			Okrotoksin A	Patulin
	B <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>		
Fındık, yer fıstığı ve diğer yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, incir üzüm ve kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar	5	10			
Tahıllar (karabuğday- <i>fagopyrum sp.</i> dahil) ve tahıl ürünleri	2	4			
Süt			0,05		
Süt tozu			0,5		
Peynir			0,25		
Bebek mamaları ve devam formülleri (süt bazlı)			0,05		
Bebek mamaları ve bebek gıdaları	1	2			
Baharat	5	10			
Diğer gıda maddeleri	5	10			
İşlenmemiş tahıl taneleri(çeltik ve karabuğday dahil)				5	
Tahıllardan elde edilen bütün ürünler(tahıl bazlı işlenmiş ürünler ve doğrudan insan tüketimine sunulan tahıl taneleri)				3	
Kuru üzüm				10	
Elma suyu ve elma suyu içeren içecekler ve sirkeler**					50

\*\*Konsantre ürünlerde tarifine uygun hazırlama sonucundaki ürüne de bakılır.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Süt ve Süt Ürünleri

Giresun ili ve ilçelerinde yerel olarak üretilen (18) süt, (12) beyaz peynir ve (12) yoğurt olmak üzere toplam 42 örnek ile Türkiye genelinde ulusal firmalar tarafından üretilen marketlerde satılan (22) UHT süt, (17) beyaz peynir ve (10) yoğurt toplam 49 örnek paralelli çalışılarak araştırmada AFM1 yönünden analiz edilmiştir.

##### 3.1.2 Kimyasal Maddeler

-Aflatoksin M1 standardı	(R-Biopharm BX:ZB478,1000 ng/ml)
-Metanol	(Merck, 106007)
-Asetonitril	(Merck, 100030)
-Kloroform	(Merck, 102445)
-n-Hekzan	(Merck, 104368)
-Diatoma Toprağı	(Merck, Celite 545)
-PBS(Phosphate buffered Saline)	(R-Biopharm Code:RP202)
-Saf su	(Ultra saf su)
-Sodyum Klorür	

##### 3.1.3 Alet ve Ekipmanlar

-Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi	(HPLC, Agilent 1100)
-Rotary Evaporatör + Vakum Pompası	(IKA RV10 + Rocker)
-Hassas Terazı	(Mettler Toledo)
-Blender	(Waring Commercial Blender,1000 ml)
-Ultra Saf Su Cihazı	(Barnstead)
-Santrifüj Cihazı	(Funke)
-Ultrasonik Su Banyosu	(Advantage Lab.)

-Vakum Pompası + Manifold Cihazı	
-Karıştırıcı	(Vortex V-1, Boeco)
-İmmunoaffinity Column	(R-Biopharm, Easi-Extract Aflatoxin)
-Enjektör	(50 ml)
-Vial	(2 ml ve 5 ml)
-Otomatik Pipet	(Eppendorf; 5 ml, 1 ml ve 0.1 ml )
-Kaba Filtre Kağıdı	
-Laboratuvar Cam Malzemeleri	(50 ml'lik mezür, 250 ml'lik erlen, 10ml'lik balon joje, 10 ml'lik santrifüj tüpleri, 5 ml ,1 ml ve 0,1 ml mikropipetler, ayırma hunileri

### 3.2 Metot

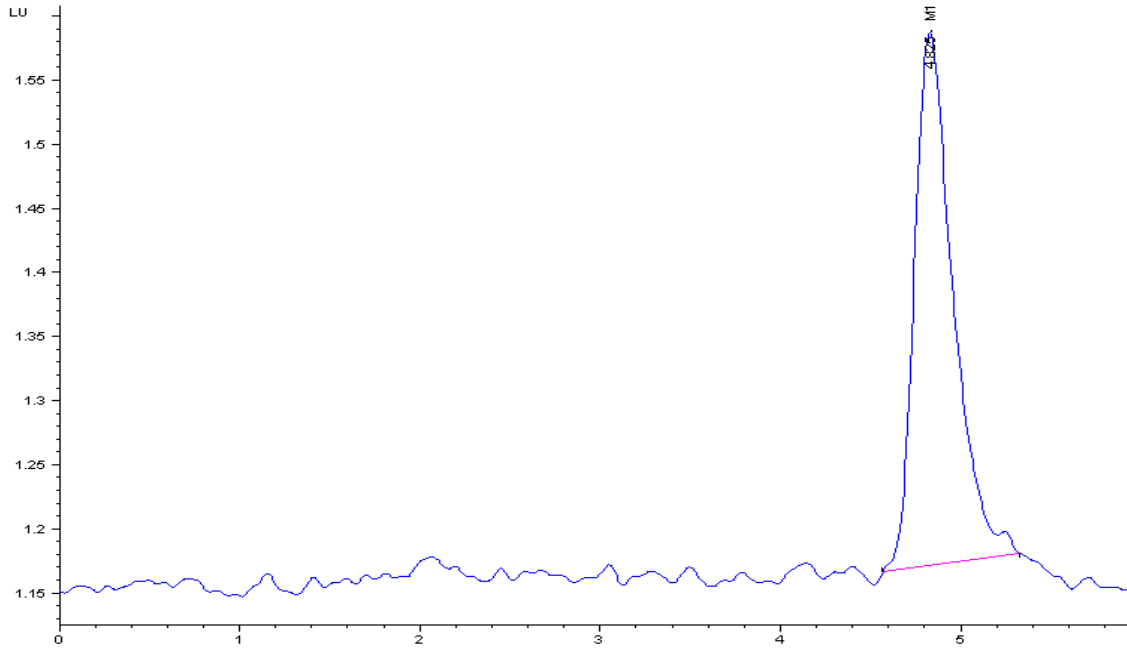
#### 3.2.1 Metot

Süt numunelerinde AFM<sub>1</sub> tayini için R-Biopharm Rhone Ltd. tarafından geliştirilen Aflatoxin M<sub>1</sub> standart solution, Aflaprep M<sub>1</sub> IFU (P04v10) metodundan yararlanılırken, peynir ve yoğurt numuneleri için; maff procedures for IAC clean-up for afl M<sub>1</sub> analysis in milk products metodundan yararlanıldı.

AFM<sub>1</sub> tayini için kullanılan analiz yöntemlerinin numune hazırlama prensibi; örneğe uygulanan ön işlemler yani örnekleme, ekstraksiyon, ekstraktın temizlenmesi, AFM<sub>1</sub>'e karşı monoclonal antibody içeren immunoaffinity kolondan geçirilerek AFM<sub>1</sub> elute edilmesi safhasına sonra HPLC'de AFM<sub>1</sub> standardının alanı ile kıyaslanarak AFM<sub>1</sub> konsantrasyonunun kantitatif olarak hesaplanması ilkesine dayanmaktadır. AFM<sub>1</sub> analizi; kalibrasyon, ekstraksiyon aşaması, süt numunesinin immunoaffinite aşaması, yoğurt ve peynir numunelerinin immunoaffinite aşaması, HPLC enjeksiyon ve verim aşamalarından oluşmaktadır.

### 3.2.2 Kalibrasyon

6 ml 500 ng/ml'lik konsantrasyonu belli olan sertifikalı hazır standarttan 5 ppb' lik 20 ml ara stok hazırlandı. Ara stoktan da 0,25 ppb, 0,50 ppb, 1 ppb, 2 ppb lik 4 ml'lik çalışma standartları hazırlandı. Çalışma standartlarında tamamlayıcı sıvı olarak mobil fazdan yararlanıldı. (Mobil Faz: Saf su/ Asetonitril/ Metanol (50/30/20)(v/v/v)) Çalışma standartları HPLC ye 3'er kez 100 µl olarak enjekte edildi. Okunan değerlerle kalibrasyon eğrisi çizildi. Şekil 3.1'de 2 ppb'lik standarda ait bir kromotogram gösterilmiştir.



Şekil 3.1 2 ppb'lik standarda ait kromotogram

### 3.2.3 Ekstraksiyon Aşaması

Analizi yapılacak süt örneğinin homojenliği sağlandı. Süt numunesi ultrasonik su banyosunda 37°C'ye ısıtıldı. Ilık süt sütte yağ varsa yağın uzaklaştırılması için 4000 devirde 15 dakika santrifüj edildi.

Yoğurt ve peynirden 20 gr örnek numuneyi temsilen alındı. Üzerine 75 ml kloroform, 1 ml doymuş tuz çözeltisi ve 5 gr diatoma toprağı (celite 545) eklendi ve blendırda 2-3 dakika yüksek devirde karıştırıldı.

Kaba filtre kağıdından 250 ml'lik silifli erlene süzöldü. Filtrasyon bittikten sonra süzöntü 50 ml kloroform ile yıkandı. Bu süzöntünün tamamı evaporatörde 30°C de vakum altında uçuröldü. Uçurulan numunenin üzerine 1 ml metanol eklendi, karıştırıldı. 30 ml PBS ilave edildi. Bu karışım yavaşça döndürölerek ayırma hunisine aktarıldı ve çalkalandı. Erlene 30 ml PBS konöldü çalkalanıp ayırma hunisine eklendikten sonra ayırma hunisine 50-100 ml hekzan ilave edildi ve 1-2 dakika çalkalandı. Faz ayrılması gerçekteştikten sonra ayırma hunisindeki alt faz immunoaffinite kolonundan geçirildi.

#### **3.2.4 Süt Numunesinin İmmunoaffinite Aşaması**

İmmunoaffinite kolon vakum manifolda takıldı ve başındaki beyaz kısımdan enjektöre sabitlendi. 50 ml süt immunoaffinite kolonundan 2-3 ml/dk akacak şekilde geçirildi. Daha sonra 10 ml saf su ile yıkama yapıldı. Bu yıkamadaki akış hızı en fazla 5 ml/dk olacak şekilde ayarlandı. Kolondan bir kaç kez kuru hava geçirilerek saf su tamamen çıkarıldı. 1,25 ml (metanol/asetonitril (20/30)) karışımı kolondan yavaşça geçirildi ve AFM1 elutesi 10 ml'lik vialde toplandı. 1,25 ml saf su ile işlem tekrarlandı ve su aynı vialde eklendi ve vortekste iyice karıştırıldı. 2 ml'lik amber renkli viallere alınarak HPLC'ye enjeksiyon yapıldı.

#### **3.2.5 Yoğurt ve Peynir Numunelerinin İmmunoaffinite Aşaması**

İmmunoaffinite kolon vakum manifolda takıldı ve başındaki beyaz kısımdan enjektöre sabitlendi. Ayırma hunisindeki alt faz İmmunoaffinite kolondan 3 ml/dak akacak şekilde geçirildi. Daha sonra kolona 20 ml saf su ile yıkama yapıldı. Bu yıkamadaki akış hızı en fazla 5 ml/dk olacak şekilde ayarlandı. Kolondan bir kaç kez kuru hava geçirilerek saf su tamamen çıkarıldı. 1 ml (metanol/asetonitril (20/30)) karışımı kolondan yavaşça geçirildi ve AFM1 elutesi 10 ml'lik vialde toplandı. 1 ml saf su ile

işlem tekrarlandı ve su aynı vialle eklendi ve vortekste iyice karıştırıldı. 2 ml'lik amber renkli viallere alınarak HPLC 'ye enjeksiyon yapıldı.

### 3.2.6 HPLC Enjeksiyon

HPLC ye yerleştirilen numunelerden 100 µl enjeksiyon yapıldı.

#### HPLC Şartları

Dalga boyu : Excitation:360 Emission:430

Kolon : C18 3µm 120Å(4.6x 150mm)

Dedektör : Floresan dedektör

Sıcaklık : 25°C

Basınç :.....< 200 bar

Akış hızı : 1 ml/dk

Mobil Faz : Saf su/ Asetonitril/ Metanol(50/30/20)(v/v/v)

### 3.2.7 Verim (Geri Kazanılabilirlik)

Standart katma yönteminin (spiked samples) uygulanması için aflatoksin belirlenmemiş süt, yoğurt ve peynir örnekleri seçildi. Bu amaçla, örneklere aflatoksin ilavesinden sonra kalitatif ve kantitatif çalışmalar standardize edildi. Örneklerin içerisine ml konsantrasyonunda aflatoksin katılarak analiz edilip geri kazanılabilirlik (%) ortalamaları ve aralıkları hesaplandı. Çizelge 3.1'e göre yapılan geri kazanım çalışmalarımız uygun olduğu için çalışmalara devam edildi.

**Çizelge 3.1** Tavsiye edilen değerler geri kazanılabilirlik yüzde değerleri (Türk Gıda Kodeksi Tebliğ no: 2002/25)

Kriter	Konsantrasyon Aralığı	Tavsiye Edilen Değer
Geri Alma	0,01-0,05 µg /kg	% 60 - % 120
Aflatoksin M <sub>1</sub>	>0,05 µg /kg	% 70 - % 110

#### 4. BULGULAR

Bu çalışmada; Giresun yöresinde yerel olarak üretilen (18) süt, (12) beyaz peynir ve (12) yoğurt olmak üzere toplam 42 örnek ile Türkiye genelinde ulusal firmalar tarafından üretilen marketlerde satılan (22) UHT süt, (17) beyaz peynir ve (10) yoğurt toplam 49 örnek paralelli çalışılarak AFM<sub>1</sub> yönünden analiz edildi. AFM<sub>1</sub>'in varlığının belirlenmesi ve seviyesinin tespitinde HPLC yöntemi kullanıldı.

Örneklerin incelenmesinde Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (No:2002/63) de yer alan maksimum sınır düzeyleri üzerine değerlendirmeler yapılmıştır.

Yöreden toplanan 18 çiğ süt örneklerine ait AFM<sub>1</sub> miktarları, maksimum, minimum ve ortalama değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Analiz edilen çiğ süt örneklerinde tespit edilen maksimum değer 0,048 ppb dir. Bu değer Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit olan 0,05 ppb nin de altında bir değerdir. Analiz edilen örneklerde AFM<sub>1</sub> in tespit edilemediği değerler de olmuştur. 4 çiğ süt örneğinde herhangi bir değer bulunamamıştır. Analizlerden elde edilen değerlerin ortalaması 0,011 ppb 'dir.

Çiğ süt örneklerinin tamamının limit değer olan 0,05 ppb nin altında olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerin 6 tanesinde (%33,3) 0-0,005 ppb arasında, 4 tanesinde (%22,2) 0,005-0,01 ppb arasında, 8 tanesinde de (%44,4) 0,01-0,05 ppb arasında AFM<sub>1</sub> bulunmuştur. AFM<sub>1</sub> değerlerinin yüzde dağılım oranları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1** Yöreden toplanan çiğ süt örneklerine ait AFM1 miktarları (ppb=ng/ml)

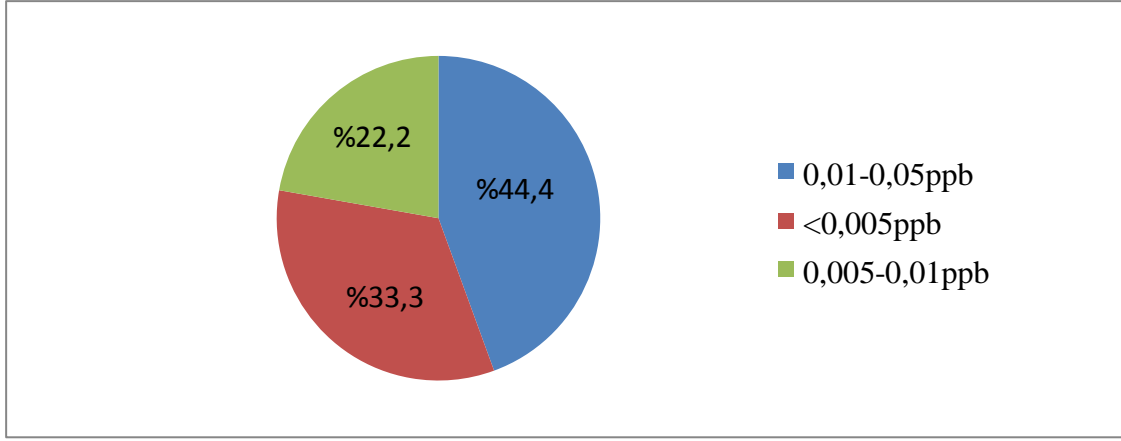
Numune sıra no	AFM1
1	0,0068
2	- <sup>a</sup>
3	0,017
4	0,0095
5	0,0022
6	0,015
7	0,006
8	0,048
9	0,0018
10	0,01
11	0,029
12	0,01
13	- <sup>a</sup>
14	- <sup>a</sup>
15	0,014
16	0,008
17	- <sup>a</sup>
18	0,024
<b>Minimum Değer</b>	-
<b>Maksimum Değer</b>	<b>0,048</b>
<b>Ortalama Değer</b>	<b>0,011</b>

<sup>a</sup>:Tespit edilemedi

**Çizelge 4.2** Yöreden toplanan çiğ süt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

	Örneklere tespit edilen AFM1 (ppb)				Türk Gıda Kodeks
	<0,005	0,005-0,01	0,01-0,05	>0,05	Limiti (ppb)
S	6	4	8	-	<b>0,05</b>
%	33,3	22,2	44,4		

- :Değer yok, S :Analiz edilen örnek sayısı, % :Yüzde oranları



**Şekil 4.1** Yöreden toplanan çiğ süt örneklerine ait AFM<sub>1</sub> miktarlarının dağılımı

Yöreden toplanan 12 yoğurt örneğine ait AFM<sub>1</sub> miktarları, maksimum, minimum ve ortalama değerleri Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Yoğurt örnekleri için kabul edilebilir en yüksek değer bulunmadığı için aflatoksin içeren yoğurt örneklerinin değerlendirilmesinde çiğ sütler için kabul edilebilir en yüksek değer olan 0,05 ppb alınmıştır.

Analiz edilen yoğurt örneklerinde tespit edilen maksimum değer 0,043 ppb dir. Bu değer Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit olan 0,05 ppb nin de altında bir değerdir. Analiz edilen örneklerde AFM<sub>1</sub> in tespit edilemediği değerler de olmuştur. 1 yoğurt örneğinde herhangi bir değer bulunamamıştır. Analizlerden elde edilen değerlerin ortalaması 0,008 ppb ‘dir.

Yoğurt örneklerinin tamamının limit değer olan 0,05 ppb nin altında olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerin 8 tanesinde (%66,6) 0-0,005 ppb arasında, 2 tanesinde (%16,6) 0,005-0,01 ppb arasında, 2 tanesinde de (%16,6) 0,01-0,05 ppb arasında AFM<sub>1</sub> bulunmuştur. AFM<sub>1</sub> değerlerinin yüzde dağılım oranları Çizelge 4.4 ve Şekil 4.2’de verilmiştir.

**Çizelge 4.3** Yöreden toplanan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarları (ng/ml=ppb)

Numune sıra no	AFM1
1	0,0079
2	0,0036
3	0,0016
4	0,0024
5	0,0029
6	0,043
7	0,015
8	0,0053
9	0,0031
10	0,0028
11	- <sup>a</sup>
12	0,0032
<b>Minimum Değer</b>	<b>-</b>
<b>Maksimum Değer</b>	<b>0,043</b>
<b>Ortalama Değer</b>	<b>0,008</b>

-<sup>a</sup>:Tespit edilemedi

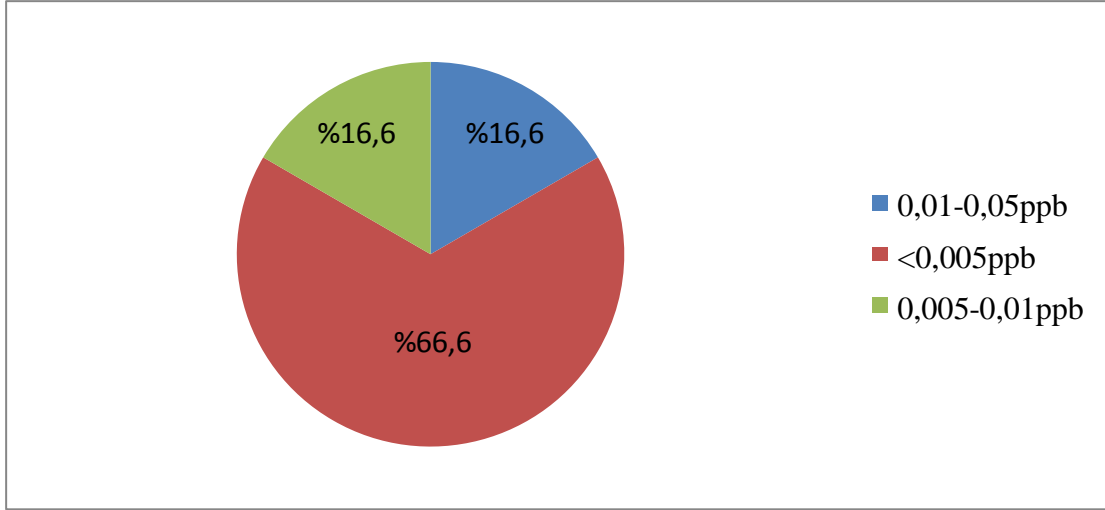
**Çizelge 4.4** Yöreden toplanan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

	Örneklerde tespit edilen AFM1 (ppb)				Türk Gıda Kodeks
	<0,005	0,005-0,01	0,01-0,05	>0,05	Limiti (ppb)
S	8	2	2	-	<b>0,05</b>
%	66,6	16,6	16,6		

- :Değer yok

S :Analiz edilen örnek sayısı

% :Yüzde oranları



**Şekil 4.2** Yöreden toplanan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

Yöreden toplanan 12 peynir örneğine ait AFM1 miktarları, maksimum, minimum ve ortalama değerleri Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Analiz edilen peynir örneklerinde tespit edilen maksimum değer 0,11 ppb dir. Bu değer Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit olan 0,25 ppb nin de altında bir değerdir. Analiz edilen örneklerde AFM1 in tespit edilemediği değerler de olmuştur. 2 peynir örneğinde herhangi bir değer bulunamamıştır. Analizlerden elde edilen değerlerin ortalaması 0,03 ppb ‘dir.

Peynir örneklerinin tamamının limit değer olan 0,25 ppb nin altında olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerin 9 tanesinde (%75) 0-0,05 ppb arasında, 2 tanesinde (% 16,6) 0,05-0,1 ppb arasında, 1 tanesinde de (%8,3) 0,1-0,25 ppb arasında AFM1 bulunmuştur. AFM1 değerlerinin yüzde dağılım oranları Çizelge 4.6 ve Şekil 4.3’de verilmiştir.

**Çizelge 4.5** Yöreden toplanan peynir örneklerine ait AFM1 miktarları (ng/ml=ppb)

Numune sıra no	AFM1
1	0,0043
2	0,011
3	0,035
4	0,002
5	0,009
6	0,11
7	0,0018
8	0,069
9	- <sup>a</sup>
10	- <sup>a</sup>
11	0,023
12	0,097
<b>Minimum Değer</b>	<b>-</b>
<b>Maksimum Değer</b>	<b>0,11</b>
<b>Ortalama Değer</b>	<b>0,03</b>

-<sup>a</sup>: Tespit edilemedi

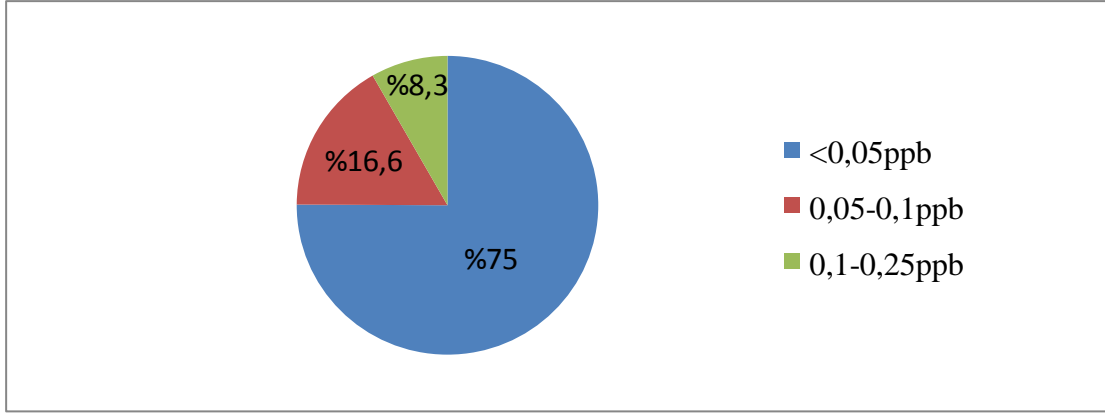
**Çizelge 4.6** Yöreden toplanan peynir örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

	Örneklere tespit edilen AFM1 (ppb)				Türk Gıda Kodeks
	<0,05	0,05-0,1	0,1-0,25	>0,25	Limiti (ppb)
S	9	2	1	-	<b>0,05</b>
%	75	16,6	8,3		

- : Değer yok ,

S : Analiz edilen örnek sayısı ,

% : Yüzde oranları



**Şekil 4.3** Yöreden toplanan peynir örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

Marketlerde satışa sunulan 22 UHT süt örneklerine ait AFM1 miktarları, maksimum, minimum ve ortalama değerleri Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Analiz edilen UHT süt örneklerinde tespit edilen maksimum değer 0,098 ppb dir. Bu değer Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit olan 0,05 ppb nin üstünde bir değerdir. Analiz edilen örneklerde AFM1 in tespit edilemediği değerler olmamıştır. Analizlerden elde edilen değerlerin ortalaması 0,027 ppb’dir.

Süt örneklerinden 2 tanesinin (% 9,1) limit değer olan 0,05 ppb nin üstünde olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerden 2 tanesinde (% 9,1) 0-0,005 ppb arasında, 2 tanesinde (% 9,1) 0,005-0,01 arasında, 16 tanesinde de (%44,4) 0,01-0,05 ppb arasında AFM1 bulunmuştur. AFM1 değerlerinin yüzde dağılım oranları Çizelge 4.8 ve Şekil 4.4’de verilmiştir.

**Çizelge 4.7** Marketlerde satışı sunulan UHT süt örneklerine ait AFM1 miktarları (ng/ml=ppb)

<b>Numune sıra no</b>	<b>Aflatoksin M1</b>
1	0,017
2	0,042
3	0,007
4	0,012
5	0,01
6	0,018
7	0,047
8	0,015
9	0,031
10	0,019
11	0,008
12	0,048
13	0,044
14	0,011
15	0,098
16	0,011
17	0,0039
18	0,0104
19	0,098
20	0,028
21	0,012
22	0,0021
<b>Minimum Değer</b>	<b>0,0039</b>
<b>Maksimum Değer</b>	<b>0,098</b>
<b>Ortalama Değer</b>	<b>0,027</b>

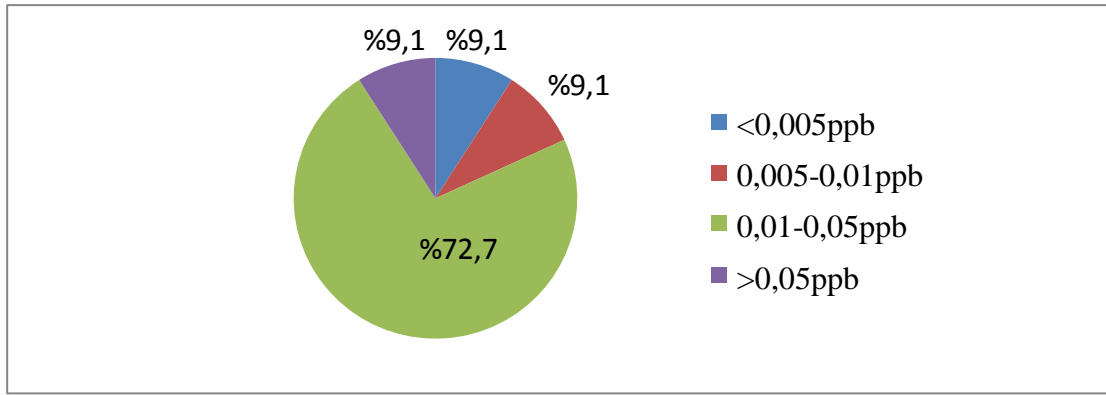
**Çizelge 4.8** Marketlerde satışa sunulan UHT süt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

	Örneklerde tespit edilen AFM1 (ppb)				Türk Gıda Kodeks
	<0,005	0,005-0,01	0,01-0,05	>0,05	Limiti (ppb)
S	2	2	16	2	<b>0,05</b>
%	9,1	9,1	72,7	9,1	

- :Değer yok

S :Analiz edilen örnek sayısı

% :Yüzde oranları



**Şekil 4.4** Marketlerde satışa sunulan UHT süt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

Marketlerde satışa sunulan 10 yoğurt örneğine ait AFM1 miktarları, maksimum, minimum ve ortalama değerleri Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Yoğurt örnekleri için kabul edilebilir en yüksek değer bulunmadığı için aflatoksin içeren yoğurt örneklerinin değerlendirilmesinde çiğ sütler için kabul edilebilir en yüksek değer olan 0,05 ppb alınmıştır.

Analiz edilen yoğurt örneklerinde tespit edilen maksimum değer 0,035 ppb dir. Bu değer Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit olan 0,05 ppb nin de altında bir değerdir. Analiz edilen örneklerde AFM1 in tespit edilemediği değerler de olmuştur. 2 yoğurt örneğinde herhangi bir değer bulunamamıştır. Analizlerden elde edilen değerlerin ortalaması 0,013 ppb'dir.

Yoğurt örneklerinin tamamının limit değeri olan 0,05 ppb nin altında olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerin 4 tanesinde (%40) 0-0,005 ppb arasında, 2 tanesinde (%20) 0,005-0,01 ppb arasında, 4 tanesinde de (%40) 0,01-0,05 ppb arasında AFM1 bulunmuştur. AFM1 değerlerinin yüzde dağılım oranları Çizelge 4.10 ve Şekil 4.5’de verilmiştir.

**Çizelge 4.9** Marketlerde satışa sunulan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarları (ng/ml=ppb)

Numune sıra no	Aflatoksin M1
1	0,021
2	0,026
3	0,0067
4	0,0046
5	- <sup>a</sup>
6	0,0048
7	0,005
8	0,03
9	- <sup>a</sup>
10	0,035
<b>Minimum Değer</b>	-
<b>Maksimum Değer</b>	<b>0,035</b>
<b>Ortalama Değer</b>	<b>0,013</b>

<sup>a</sup>:Tespit edilemedi

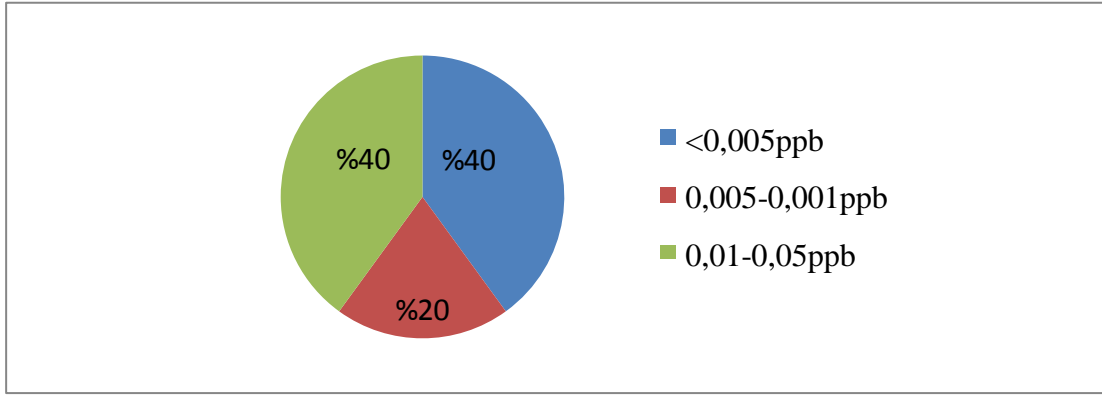
**Çizelge 4.10** Marketlerde satışa sunulan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

	Örneklere tespit edilen AFM1 (ppb)				Türk Gıda Kodeksi
	<0,005	0,005-0,01	0,01-0,05	>0,05	Limiti(ppb)
S	4	2	4	-	<b>0,05</b>
%	40	20	40		

- :Değer yok

S :Analiz edilen örnek sayısı

% :Yüzde oranları



**Şekil 4.5** Marketlerde satışa sunulan yoğurt örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

Marketlerde satışa sunulan 17 peynir örneğine ait AFM1 miktarları, maksimum, minimum ve ortalama değerleri Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Analiz edilen peynir örneklerinde tespit edilen maksimum değer 0,078 ppb dir. Bu değer Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit olan 0,25 ppb nin de altında bir değerdir. Analiz edilen örneklerde AFM1 in tespit edilemediği değerler de olmuştur. 1 peynir örneğinde herhangi bir değer bulunamamıştır. Analizlerden elde edilen değerlerin ortalaması 0,03 ppb’dir.

Peynir örneklerinin tamamının limit değer olan 0,25 ppb nin altında olduğu belirlenmiştir. Bu örneklerin 14 tanesinde (%82,4) 0-0,05 ppb arasında, 3 tanesinde de (% 17,6) 0,05-0,1 ppb arasında AFM1 bulunmuştur. AFM1 değerlerinin yüzde dağılım oranları Çizelge 4.12 ve Şekil 4.6’da verilmiştir.

**Çizelge 4.11** Marketlerde satışı sunulan peynir örneklerine ait AFM1 miktarları (ng/ml=ppb)

Numune sıra no	AFM1
1	0,03
2	0,03
3	0,03
4	0,03
5	0,02
6	0,028
7	0,008
8	0,008
9	0,036
10	0,03
11	0,052
12	0,024
13	0,078
14	0,059
15	0,017
16	0,026
17	- <sup>a</sup>
<b>Minimum Değer</b>	-
<b>Maksimum Değer</b>	<b>0,078</b>
<b>Ortalama Değer</b>	<b>0,03</b>

-<sup>a</sup>:Tespit edilemedi

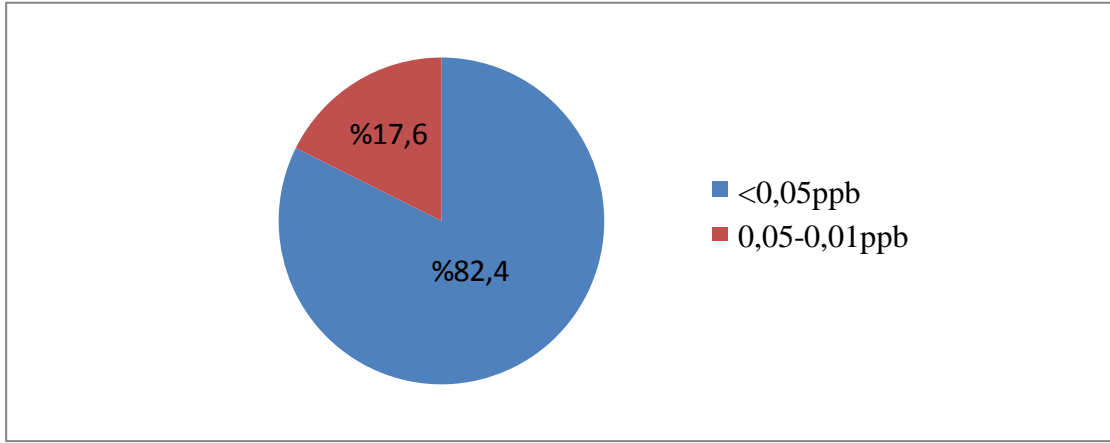
**Çizelge 4.12** Marketlerde satışı sunulan peynir örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

	Örneklere tespit edilen AFM1 (ppb)				Türk Gıda Kodeks
	<0,05	0,05-0,1	0,1-0,25	>0,25	Limiti(ppb)
S	14	3	-	-	<b>0,05</b>
%	82,4	17,6			

- :Değer yok

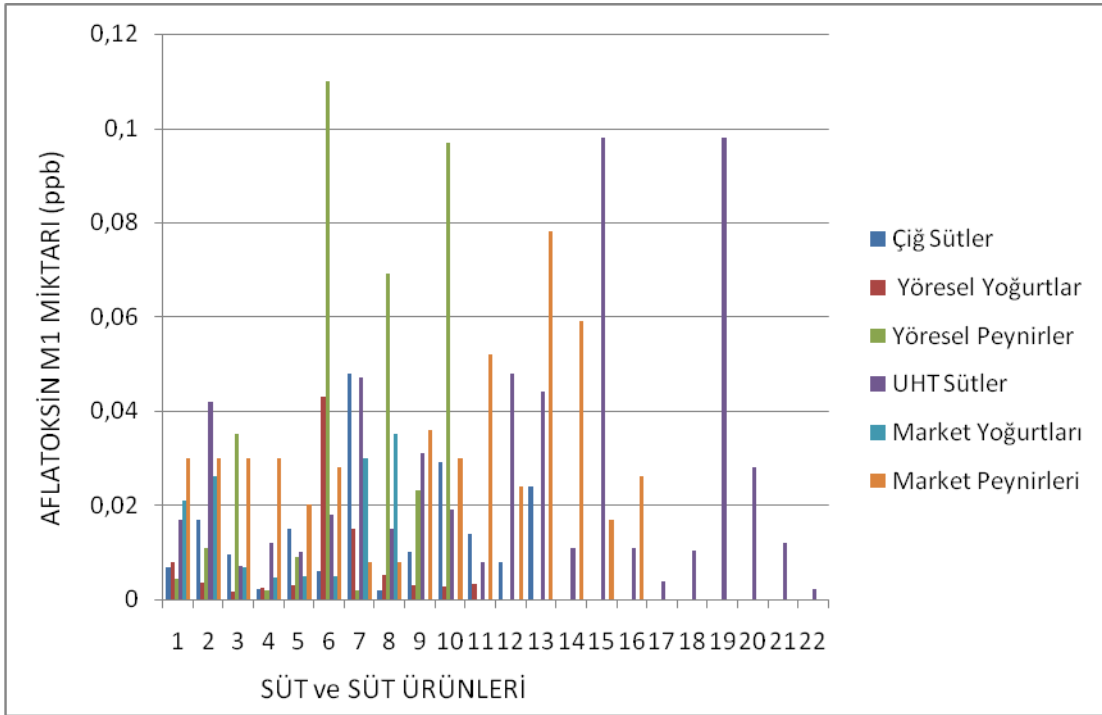
S :Analiz edilen örnek sayısı

% :Yüzde oranları

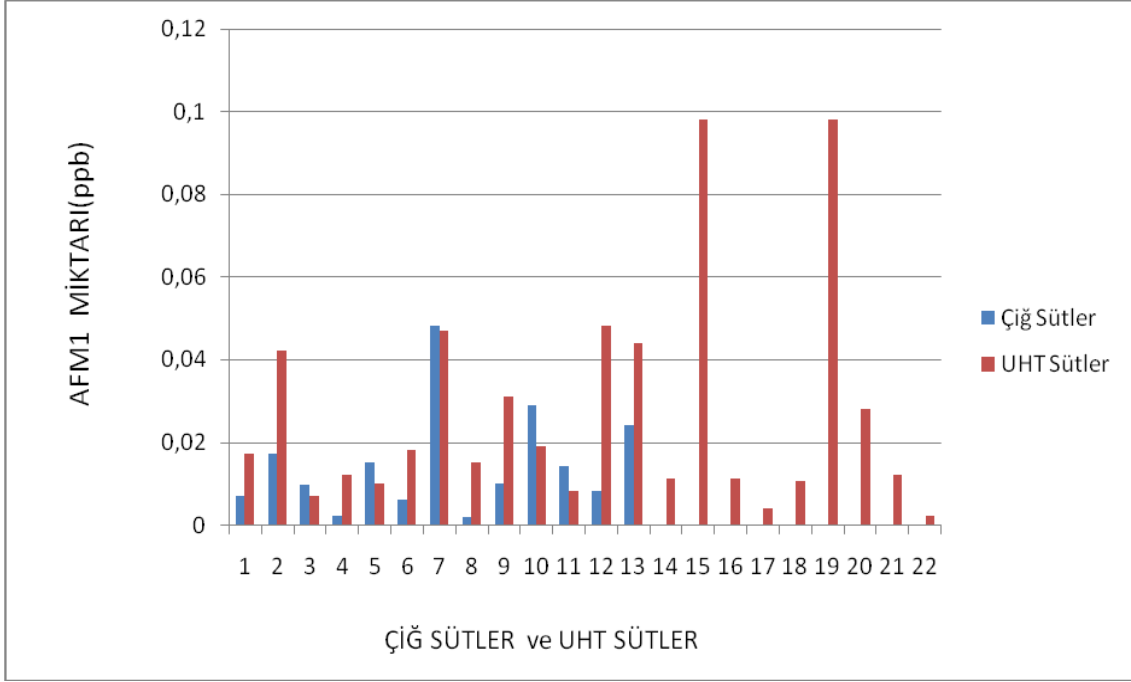


**Şekil 4.6** Marketlerde satışa sunulan peynir örneklerine ait AFM1 miktarlarının dağılımı

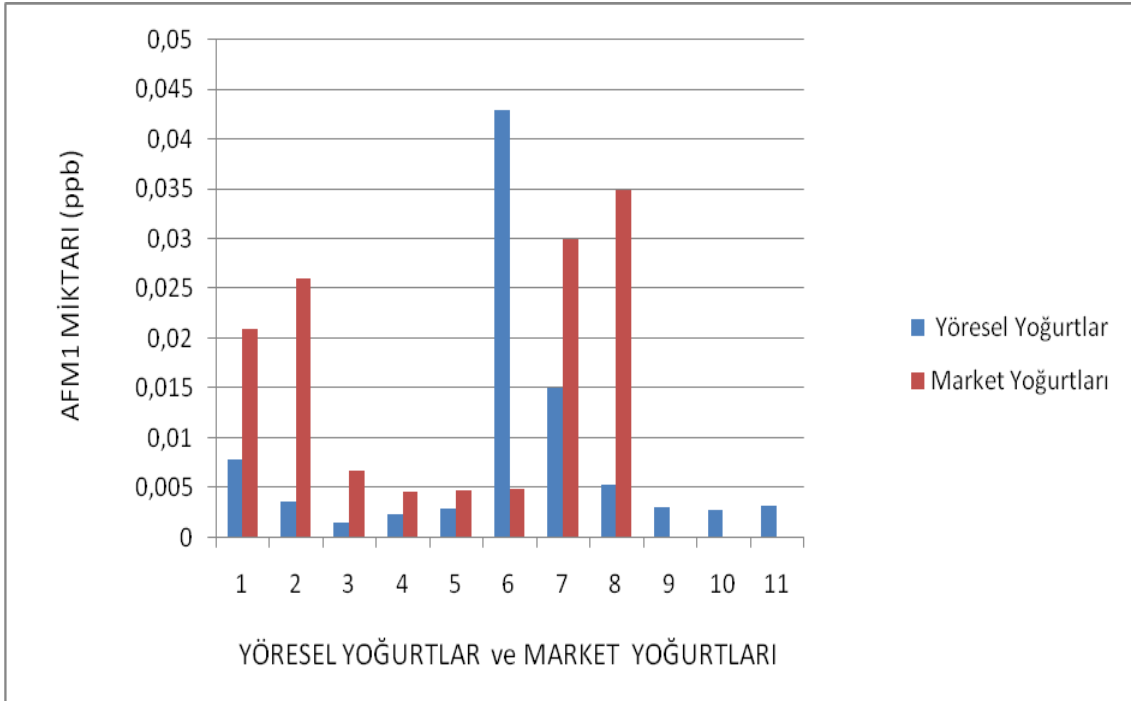
Analiz edilen tüm ürünlere ait AFM1 miktarları Şekil 4.7’de, Giresun yöresinde üretilen çiğ süt ve süt ürünleri ile Türkiye’de üretilen işlenmiş süt ve süt ürünlerine ait AFM1 miktarlarının karşılaştırılması Şekil 4.8, Şekil 4.9 ve Şekil 4.10 da verilmiştir.



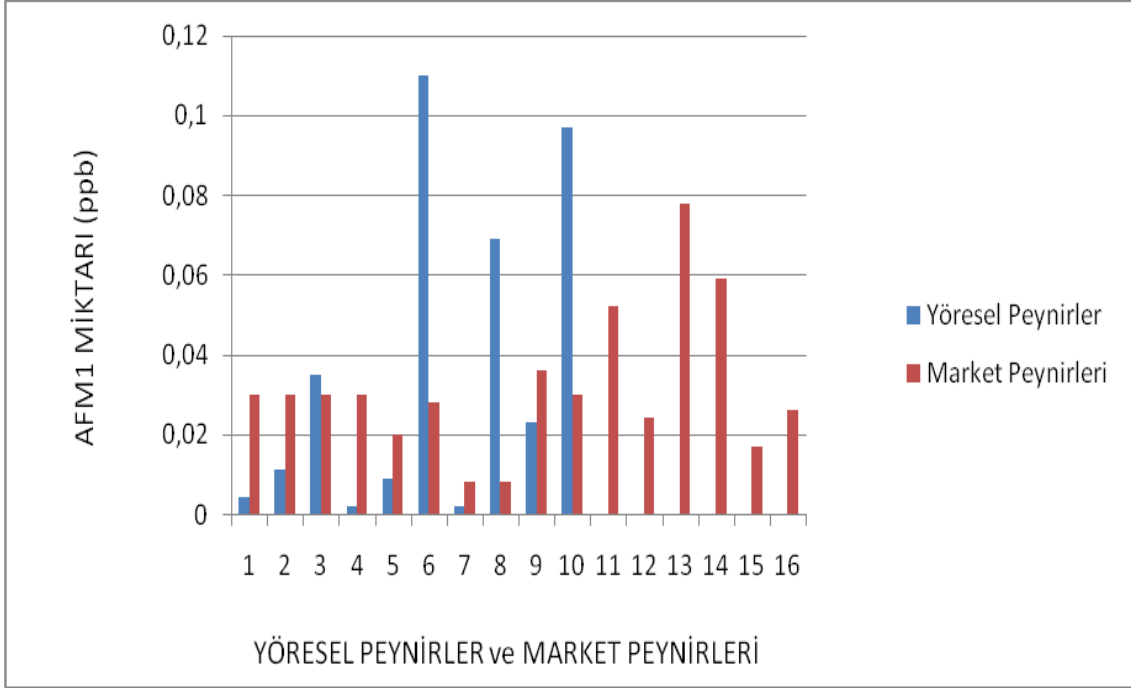
**Şekil 4.7** Giresun bölgesinde yerel olarak üretilen çiğ süt ve süt ürünleri ile marketlerde satılan süt ürünlerinin AFM1 miktarlarına ilişkin grafik



**Şekil 4.8** Giresun yöresinde üretilen çiğ sütlerle, ulusal markalar tarafından üretilen UHT sütlerin karşılaştırılması



**Şekil 4.9** Giresun yöresinde üretilen yoğurtlarla, ulusal markalar tarafından üretilen yoğurtların karşılaştırılması



**Şekil 4.10** Giresun yöresinde üretilen peynirlerle, ulusal markalar tarafından üretilen peynirlerin karşılaştırılması

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye’de ve dünyanın çeşitli ülkelerinde yapılan bir çok araştırmada süt ve süt ürünlerinde AFM1 analizi yapılmıştır ve çalışmamızda ki AFM1 miktarı sonuçlarıyla yapılan bazı çalışmalar kıyaslanmıştır, benzer sonuçlara ulaşıldığı gibi farklı sonuçlarla da karşılaşılmıştır.

36 adet çiğ inek sütü, 50 adet süt ürünü (25’er adet taze beyaz peynir ve kaşar peyniri) ve 50 adet fındık örneği Samsun çevresinden rastgele toplanmıştır. Süt ürünü ve fındık örnekleri sırasıyla AFM1 ve AFB1 yönünden ELISA testi kullanılarak analiz edilmiştir. Çiğ inek sütü, taze beyaz peynir ve kaşar peyniri örneklerinde AFM1 ile bulaşma oranları sırasıyla %61, %12 ve %80 olarak belirlenmiştir. Fındık örneklerinin 43 adedinde (%86) AFB1 tespit edilmiştir (<1 ile 11.3ppb arasında). Süt ve süt ürünlerinde tespit edilen AFM1 miktarlarının Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği tarafından belirlenen en yüksek tolere edilebilir limitlerin altında olduğu, bununla birlikte 2 fındık örneğinde AFB1 miktarının yasal limitlerden yüksek olduğu görülmüştür (Aksoy ve ark. 2010).

Trakya Bölgesi’ndeki sütün kontaminasyon derecesini ölçmek için yapılan çalışmada 135 adet çiğ süt örneği incelenmiştir. 116’sında (%86) AFM1 bulunduğu tespit edilmiştir. AFM1 bakımından pozitif çıkan örneklerden sadece 1 tanesi (%0,74) yasal limitin üzerindedir. Pozitif örneklerde saptanan AFM1 miktarları 0,001-0,068ppb arasında değişirken, genel ortalama 0,008ppb olarak tespit edilmiştir (Özsunar 2005).

Çanakkale ve çevresinde üretilen toplam 25 adet beyaz peynir numunesinde AFM1 seviyeleri HPLC kullanılarak araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 10 adet (%40) beyaz peynir numunesinde AFM1 tespit edilemedi. 2 adet (%8) beyaz peynir numunesinde Türk Gıda Kodeksi limit değeri (0,25ppb) üzerinde AFM1 tespit edilmiş olup, 13 adet (%52) numunede limit değerler altında AFM1 varlığı tespit edilmiştir (Demirtaş 2006).

Kilis'teki bireysel çiftliklerden elde edilen 110 keçi sütü örneklerinde ELISA yöntemiyle AFM1 analizleri yapılmıştır. AFM1 17 (%15,46) örnekte belirlenemezken, 93 (%84,54) süt örneğinde farklı düzeylerde bulunmuştur. AFM1 110 süt örneğinin 70'inde 0,005–0,116 ppb düzeyleri arasındaki yoğunluklarda belirlenmiştir. Örneklerin 7'sinde (%6,36) belirlenen AFM1 düzeyleri Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen maksimum kabul edilebilir limitten (0,05 ppb) daha yüksek düzeyde ölçülmüştür. Sonuç olarak, Kilis ilinde insanlar tarafından tüketilen keçi sütü örneklerinin %84,54'ünde AFM1 belirlenmiş ancak örneklerin %6,36'sı insan sağlığı için risk oluşturacak düzeyde AFM1 içermektedir (Özdemir 2007).

Samsun, Çanakkale, Kilis ve Trakya bölgesinde yapılan çalışmalar bizim çalışma sonuçlarımızla paralellik göstermektedir. Yörede üretilen çiğ sütler ve süt ürünleri üzerine yapmış olduğumuz çalışma ile Samsun'da yapılan çalışma sonunda tespit edilen tüm örneklerin AFM1 miktarları Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği tarafından belirlenen en yüksek tolere edilebilir limitlerin altında çıkmıştır. Trakya bölgesinde ise 135 adet çiğ süttten yalnızca 1 tanesi (%0,74), Çanakkale bölgesinde 25 adet peynirden sadece 2'si (%8), Kilis'te de 110 adet keçi sütü örneğinden sadece 7'si (%6,36) yasal limitlerin üzerindedir.

Van'da yapılan araştırmada 90 tane süt örneği incelenmiştir. %87,77 lik kesmi oluşturan 79 örnekte AFM1 bulunmuştur. %44,30 luk kesim olan 35 örnek ise; Türkiye ve bazı ülkelerde kabul edilen maksimum tolerans limiti olan (0,05 ppb) den yüksektir. İstatiksel değerlendirmeler marttan nisana kadar olan ve marttan mayısa kadar olan dönemlerde toplanan sütlerdeki AFM1 konsantrasyonlarında önemli farklılıklar olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, nisan haziran ve mayıs haziran arasında alınan süt örneklerinin AFM1 konsantrasyonları arasındaki farklılıkların anlamlılık düzeyi  $P < 0,01$ . Süt ürünlerinde AFM1 miktarını belirlemek üzere de 93 örnek toplanmıştır. Pastörize süt, yoğurt, ayran ve peyniraltı suyunda ki AFM1 konsantrasyonları arasında önemli bir istatistiksel fark gözlenmemiştir. AFM1 içeriği salamura beyaz peynir ve kaşar peynir örneklerinde sığır sütü örneklerinden daha yüksekken krema ve yağ örneklerinde daha düşüktür (Bakırcı 2001).

Ankara’da 85 pastörize sütte ELISA yöntemiyle aflatoksin analizi yapılmıştır. Örneklerden 75 (%88,23)’inin aflatoksin içerdiği ve 48(%64)’inin düzeyi Türkiye için bildirilen limit değerin (0,05 ppb) üzerinde olduğu hesaplanmıştır (Sarımehmetoğlu ve ark. 2000).

Erzurum’da yapılan çalışmada toplam 150 UHT süt örneği AFM1 yönünden incelenmiştir. Örnekler Erzurum şehir merkezindeki marketlerden temin edilmiştir. Örneklerin AFM1 içeriği ve konsantrasyonu kompetitif ELISA metoduyla araştırılmıştır. UHT süt örneklerinin %59 unun AFM1 içeriği belirlenmiştir. 16 numunenin (%10,7) AFM1 yönünden Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği tarafından düzenlenen yasal limitleri aştığı belirlenmiştir (Atasever ve ark. 2010).

Aydında 26 mandıraya ait, süt (13), beyaz peynir (7), kaşar peyniri (6), tulum peyniri (6), lor peyniri (6) ve yoğurt (9) olmak üzere toplam 47 adet numune AFM1 yönünden incelenmiştir. Sonuçta, incelenen örneklerde ortalama 0,105 ppb düzeyinde AFM1 belirlenmiştir. AFM1 insidansı %100 ve aralığı 0,027- 0,250 ppb arasında saptanmıştır. İncelenen süt örneklerinin %61,5’i, yoğurt örneklerinin % 77,7’si ve peynirlerin % 4’ünün yasal olarak belirlenen sınırları aştığı saptanmıştır (Kök 2006).

İç Anadolu Bölgesinde marketlerde satılan 129 UHT süt örneğinde AFM1 seviyeleri ELISA kullanılarak incelenmiştir. Çalışma sonucunda 75 adet örnekte (%58.1) AFM1 kontaminasyonu olduğu belirlenmiştir. 68 örnek (%53) Avrupa Topluluğu limiti olan 0,05 ppb nin altında iken, 61’i (%47) izin verilen limitin üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Unusan 2006).

Kayseri’de yapılan çalışmada 90 çiğ süt örneğinde ELISA yöntemi ile AFM1 miktarı tayin edilmiştir. Toplanan 90 örneğin 10’unda AFM1 miktarı 0-0,009 ppb arasında, 3’ünde 0,01-0,019 ppb arasında, 8’inde 0,02-0,039 ppb arasında, 6’sında 0,040-0,049 ppb arasında, 15’inde 0,05-0,079 ppb arasında, 48’inde 0,08 ppb ve üstü arasında çıkmıştır. Bu çalışmada çalışılan 90 süt örneğinden 15’inin değeri Türkiye’de aflatoksin için belirtilen limit değerin (0,05 ppb) üzerinde çıkmıştır (Mavuş 2003).

Yapmış olduğumuz çalışmada sadece 22 UHT süt örneklerinden 2 tanesine ait AFM1 değerleri Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Birliği tarafından düzenlenen yasal limitleri (0,05 ppb) aştığı belirlenmiştir. Türkiye’de diğer bölgelerde yapılan araştırmalarda bu sayı daha yüksektir. Van’da yapılan araştırmada 90 tane süt örneğinden 35 örnek (%44,30), Ankara’da 85 pastörize süttten 48 (%64) örnek, Erzurum’da 150 UHT süt örneğinden 16 örnek (%10,7), Aydın’da 47 süt ve süt ürünü örneğinden incelenen süt örneklerinin 8 (% 61,5)’i, yoğurt örneklerinin 7 (% 77,7)’si ve peynirlerin 1 (% 4)’inde, İç Anadolu bölgesinde 129 UHT süt örneğinden 61’i (%47) ve Kayseri de 90 çiğ süttten 15 örnek (%17) bu yasal limitlerin üzerinde çıkmıştır.

Türkiye’de yapılan bölgesel çalışmalarda ki farklılık Türkiye’de hüküm süren değişik iklim şartlarına bağlıdır. Süt ve süt ürünlerine AFM1 kontaminasyonu coğrafyaya, ülkeye ve mevsime bağlı olarak değişir. Aynı yöreden sağlanan örneklerdeki farklılıkta yemlerdeki AFB1’in bu yemlerle beslenen hayvanların karaciğerinde farklı metabolize olmasıyla ilgilidir.

Dünyada yapılan bazı çalışmalara baktığımızda; 1996 yılında değişik İtalyan kentlerinden aldıkları süt, süt tozu ve yoğurt örnekleri ile yaptıkları çalışmalarda; 161 süt örneğinin 125’inde (%78), 0,001 ile 0,024 ppb arasında değişen seviyelerde, 92 süt tozu örneğinin 49’unda (%53), 0,001 ile 0,08 ppb arasında değişen seviyelerde, 120 yoğurt örneğinin 73’ünde (%61), 0,001 ile 0,032 ppb arasında değişen seviyelerde AFM1 tespit etmişlerdir (Galvano *et al.* 2001).

Portekiz’de incelenen sütlerin % 80,6’sında AFM1 içeriği saptanmıştır. Bunlardan 17 si (%54,8) lik kısım (0,005-0,010 ppb) değerleri arasındayken 2 örnek (% 6,5) (0,011-0,02 ppb) değerleri arasında, 6 tanesi de (%19,3) (0,021-0,050 ppb) değerleri arasında olduğu gözlemlenmiştir (Martins and Martins 2000).

İran’da marketlerden temin edilen 116 pastörize süt ve 109 UHT sütte AFM1 içeriği ELİSA yöntemi ile incelenmiştir. İncelenen UHT sütlerden 3 tanesi ve pastörize sütlerden 2 tanesi US ve İran da AFM1 için belirlenen maksimum limitin (0,5 ppb) üzerindedir. Avrupa birliği tarafından belirlenen limit (0,05 ppb) göz önüne alındığında pastörize

sütlerden 31'i (%26,7) ve UHT sütlerden 19'u (%17,4) bu limitin üzerindedir (Fallah 2010).

Hindistan'ın Andhra Pradesh şehrinde yapılan çalışmada 280 süt örneğinin 146'sında 0,5 ppb'nin altında AFM1 tespit edilirken, 80 örnekte 0,6 ppb ile 15 ppb arasında, 42 örnekte 16 ppb ile 30 ppb arasında, 12 örnekte 31 ppb ile 48 ppb arasında değişen seviyelerde AFM1 tespit edilmiştir (Thirumala *et al.* 2002)

Portekiz ve İtalya da yapılan çalışmalar bizim Türkiye'de Giresun yöresinde yapmış olduğumuz çalışmalarla benzerlik göstermektedir. İran'da yapılan çalışmayla kıyaslandığında ise UHT süt örneklerinin Avrupa Birliği tarafından belirlenen limitin üstünde olan örnek sayısı ve yüzdesi bizim çalışmamızdan yüksek çıkmıştır. Hindistan'da yapılan çalışmaların sonuçları ise oldukça yüksektir.

Yemlerde bulunabilen AFB1'den köken alan AFM1'in süt ve süt ürünlerinde pastörizasyon, sterilizasyon gibi ısı uygulamalarından etkilenmemesi, kimyasal ve biyolojik yollarla detoksifikasyon işlemlerinin çok etkili ve uygun olmaması gibi nedenlerle yemlere küf bulaşması ve aflatoksin üretmelerinin önlenmesi gerekmektedir.

Çiftliklerde aflatoksin ile kontamine yemlerin tüketilmesinde et kalitesinde bozulma ve verimlilikte kayıplar gözlenir (Kamkar 2005). Aflatoksinler tavukların yağ depolarıyla yumuşak dokularına daha çok sızma eğilimindedir (Leeson *et al.* 1995). Bu açıdan değerlendirildiğinde sadece süt ve süt ürünleriyle değil AFB1 ile kontamine yemleri tüketen hayvanların etlerini tüketme ile de toksinin insan vücuduna alınması mümkün olabilmektedir.

Dünyanın her yerinde insanların çoğunluğu özellikle bebekler ve yetişme çağındaki çocuklar tarafından fazla miktarlarda tüketilen süt ve süt ürünlerinde sıklıkla bulunabilen AFM1, dünyada ve özellikle de gelişmekte olan ülkelerde halk sağlığını tehdit edebilecek seviyelerde bulunmaya devam etmektedir.

AFM<sub>1</sub> ile kontamine süt ve süt ürünlerinin insanlar tarafından tüketilmesini önlemek için öncelikle hayvanların tükettiği yemlerin ve yem hammaddelerinin gerek tarlada, gerekse depolama koşullarında AFB<sub>1</sub> ile kontamine olmasının engellenmesi gerekmektedir.

Bu alışma Giresun'da AFM<sub>1</sub> bakımından süt ve süt ürünlerinin önemli bir risk teşkil etmediğini göstermektedir. Ancak AFM<sub>1</sub> riskinin iklimsel faktörlere, tarım uygulamalarına vb. faktörlere bağlı olarak yemlerdeki kf oranıyla ilgili olduğu unutulmamalıdır ve konuyla ilgili taraflar bilgilendirilmeli ve denetimler sistemli ve muntazam bir şekilde sürdürülmelidir.

## 6. KAYNAKLAR

- Abbas, H. K., Mirocha, C.J., Rosiles, R. and Carvajal, M. (1988). Effect of Tortilla Preparation Process on Aflatoxins B1 and B2 in Corn. *Mycotoxin Research*, **4**: 33-36.
- Agag, B.I. (2004). Mycotoxins in foods and feeds. *Ass. Univ. Bull. Environ. Res.*, **7(1)**: 173-205.
- Akdemir, Ç. ve Altıntaş, A. (2004). Ankara’da işlenen sütlerde aflatoksin M1 varlığının ve düzeylerinin HPLC ile araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **51**: 175-179.
- Aksoy, A., Yavuz O., Güvenç, D., Das, Y.K., Terzi, G. and Çelik, S. (2010). Determination of Aflatoxin Levels in Raw Milk, Cheese and Dehulled Hazelnut Samples Consumed in Samsun Province, Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **16**: 13-16.
- Alcroft, R. and Carnaghan, R.B.A. (1962). Groundnut toxicity: *Aspergillus flavus* toxin (aflatoxin) in animal products: Preliminary communication. *Vet. Rec.*, **74**: 863–864.
- Alkan Y. (2006). Amasya İlinde Satışa Sunulan Beyaz Peynirlerde Aflatoksin M1 ,Rutubet ve Asidite Değerleri Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Amer, A.A. and Ibrahim, M.A.E. (2010). Determination of aflatoxin M1 in raw milk and traditional cheeses retailed in Egyptian markets. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, **2(4)**: 50-53.
- Applebaum, R.S. and Marth, E.H. (1982a). Inactivation of aflatoxin M1 in milk using hydrogen peroxide and hydrogen peroxide plus riboflavin or lactoperoxidase. *J. Food Prot.*, **45**: 557–560.

- Atasever, M.A., Adıgüzel, G., Atasever, M., Özlü, H. and Özturan, K. (2010). Occurrence of Aflatoxin M1 in UHT Milk in Erzurum-Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **16**: 119-122.
- Ayçiçek H. (2005). Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey. *Food Control*, **16**: 263-266.
- 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.
- Battacone, G., Nudda, A., Cannas, A., Borlino, A.C. and Bomboi, G. (2003). Excretion of aflatoxin M1 in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B1. *J.Dairy Sci.*, **86**: 2667-2675.
- Bennett, G.A., Lagoda, A.A., Shotwell, O.L. and Hesseltine, C.M. (1981). Utilization of Zearalenone-Contaminated Corn For Ethanol Production. *J. Am.Oil Chem. Soc.*, **58**: 974-976.
- Bennett, J.W. and Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev.*, **16(3)**: 497-516.
- Bothast, R.J., Bennett, G.A., Vancauwenberge, J.E. and Richard, J.L. (1992). Fate of Fumonisin B1 in Naturally Contaminated Corn During Ethanol Fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**: 233-236.
- Bullerman, L.B. (1979). Significance of Mycotoxins to Food Safety and Human Health. *Journal of Food Protection*, **42 (1)**: 65–86.
- Ciegler, A., Lillehoj, E.B., Peterson, R.E. and Hall, H.H. (1966). Microbial Detoxification of Aflatoxin. *Applied Microbiology*, **14(6)**: 934-939.
- Coulombe, A. R. (1993). Biological action of mycotoxins. *J Dairy Sci*, **76**: 880-891.

- Çağlar, A. and Kara, H.H. (2010). Occurrence of aflatoxin M1 in raw cow milk in the Afyonkarahisar province of Turkey. *Archiv Für Lebensmittelhygiene*, **61**: 179-182.
- Demirtaş N.Ö. (2006). Yöresel Peynirlerde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi Yöntemiyle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- D'Ovidio, K.L., Trucksess, M.W., Devries, J.W. and Bean, G. (2007). Effects of Irradiation on Fungi and Fumonisin B1 in Corn, and of Microwave-Popping on Fumonisin in Popcorn. *Food Addit. Contam.*, **24(7)**: 735.
- Elkak, A., Atat, O.E., Habib, J. and Abbas, M. (2012). Occurrence of aflatoxin M1 in cheese processed and marketed in Lebanon. *Food Control*, **25** : 140-143.
- Elzupir, A.O. and Elhussein, A.M. (2009). Determination of aflatoxin M1 in dairy cattle milk in Khartoum State, Sudan. *Food Control*, **21**: 945–946.
- Ertas, N., Gonulalan, Z., Yildirim, Y. and Karadal, F. (2011). A survey of concentration of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Turkey. *Food Control*, **22**: 1956-1959.
- Fallah, A.A., Jafari, T., Fallah, A. and Rahnama, M. (2009). Determination of aflatoxin M1 levels in Iranian white and cream cheese. *Food and Chemical Toxicology*, **47**: 1872-1875.
- Fallah, A.A. (2010). Assessment of aflatoxin M1 contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. *Food and Chemical Toxicology*, **48**: 988-991.

- Galvano, F., Galofaro, V., Ritieni, A., Bognanno, M., De Angelis, A. and Galvano, G. (2001). Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy: second year of observation. *Food Add Cont.* **18(7)**: 644-646.
- Ghazani, M. H. M. (2009). Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Tabriz (northwest of Iran). *Food and Chemical Toxicology*, **47**: 1624–1625.
- Grenmels, J.F. (1999). Mycotoxins: Their implications for human and animal health. *Veterinary Quarterly*, **21**: 115-120.
- Groopman, J.D., Hall, A.J., Whittle, H., Hutson, G.J., Wogan, G.N., Montesano, R. and Wild, C.P. (1992). Molecular dosimetry of aflatoxin-N7-guanine in human urine Obtained in the Gambia, West Africa. *Cancer Epid., Biomarkers & Prevention*, **1**: 221-227.
- Harvey, R.B., Phillips, T.D., Ellis, J.A., Kubena, L.F., Huff, W.E. and Petersen, H.D. (1991). Effects on aflatoxin M<sub>1</sub> residues in milk by addition of hydrated sodium calcium aluminosilicate to aflatoxin-contaminated diets of dairy cows. *Am. J. Vet. Res.*, **52**: 1556–1559.
- Holcomb, M., Wilson, D.M., Trucksess, M.W. and Thompson, H.C. (1992). Determination of aflatoxins in food products by chromatography, *Journal of Chromatography*, **624**: 341-352.
- JECFA, (2001). Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food –Prepared by the 56th meeting of the JECFA (Joint FAO/WHOExpert Committee on Food Additives) – FAO Food and Nutrition Paper 74/WHO Foods Additives Series 47
- 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.

- Karakaya Y. (2006). Mısır Silajında Aflatoksin B1 Varlığının ve Süte Geçme Durumunun Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Kaya, S. ve Yarsan, E. (1995). Yem ve yem hammaddelerinde küflenmenin önlenmesi ve mikotoksinlerle kirletilmiş bu tür yemlerin değerlendirilmesine yönelik uygulamalar. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **42(2)**: 111-122.
- Kireççi, E., Savaşçı, M. and Ayyıldız, A. (2007). Detection of Aflatoksin M1 in milk and cheese products consumed in Sarıkamış, Türkiye. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, **21 (2)**: 93-96.
- Kök Z. (2006). Aydın İli ve Çevresinde Üretilen Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin Varlığının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Kuhn, D.M. and Ghannoum, M.A. (2003). Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys Chartarum*: infectious disease perspective. *Clin. Microbiol. Rev.* **16**: 144–172.
- Kuyucuoğlu N. (2007). Afyonkarahisar İlindeki Anne Sütü Örneklerinde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Leeson, S., Diaz, G.J. and Summers, J.D. (1995). *Poultry Metabolic Disorders and Mycotixns*. University Books, Guelph, Ontario, Canada.
- Markaki, P. and Melissari, E. (1997). Occurrence of aflatoxin M1 in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC. *Food Additives and Contaminants*, **14**: 451-456.

- Martins, M. L. and Martins, H. M. (2000). Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal. *Food Additive and Contaminants*, **17**: 871–874.
- Mavuş H. (2003). Kayseri Yöresinde Satışa Sunulan Sütlerden Aflatoksin Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Oruç, H.H. (2003). Süt ve süt ürünlerinde Aflatoksin M1 (AFM1) ve Türkiye'deki durumu. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.*, **22 (1-2-3)**: 121-125.
- Oruç, H.H. (2005). Mikotoksinler ve tanı yöntemleri. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.*, **24(1-2-3-4)**: 105-110.
- Özbek E. (2006). Marmara Bölgesi Askeri Birliklerinde Tüketime sunulan Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Özdemir M. (2007). Determination of aflatoxin M1 levels in goat milk consumed in Kilis province. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.*, **54**: 99-103.
- Özkaya, Ş. ve Temiz, A. (2003). Aflatoksinler: Kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **1(1)**: 1-21.
- Özmenteşe N. (2002). İstanbul Piyasasından Sağlanan Süt ve Süt Ürünlerinin Aflatoksin B1 ve M1 İçerikleri Yönünden Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Yöntemi ile Araştırılması. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Özsunar A. (2005). Trakya Bölgesi'nde Üretilen İnek Sütlerinde Aflatoksin M1 Varlığı. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

- Papp, E., Otta, H.K., Zaray, G. and Mincsovcics, E. (2002). Liquid chromatographic determination of aflatoxins. *Microchemical Journal*, **73**: 39-46.
- Park, L.D. (1993). Perspectives on Mycotoxin Decontamination Procedures. *Food Additives and Contaminants*, **10(1)**: 49-60.
- Patel, P.M., Netke, S.P., Gupta, D.S. and Dabadghao, A.K. (1981). Note on the effect of processing milk into khoa on aflatoxin M1 content. *Indian J. Anim. Sci.*, **51**: 791-792.
- Pei, S.C., Zhang, Y.Y., Eremin, S.A. and Lee, W.J. (2009). Detection of aflatoxin M1 in milk products from China by ELISA using monoclonal antibodies. *Food Control*, **20**: 1080-1085.
- Peraica, M., Radic B., Lucic, A. and Pavlovic M. (1999). Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization*, **77(9)**: 754-766.
- Petrovita, M., Roman, M. and Plotogea, A. (2007). The variation of aflatoxine in few fodder and food products in brasov county. *Food Control*, **2**: 331-338.
- Sabuncuoğlu, S. A., Baydar, T., Giray, B. ve şahin, G. (2008). Mikotoksinler: Toksik Etkileri, Degredasyonları, Oluşumlarının Önlenmesi ve Zararlı Etkilerinin Azaltılması. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **28**: 63-92.
- Sarimehmetoglu, B., Çelik, T. H., ve Özdemir, H. (2000). Pastörize Sütlerde ELISA Yöntemiyle Aflatoksin M1 Varlığının ve Düzeylerinin Saptanması. IV.Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, Ankara, 26-28 Eylül, 16-17.
- Sarimehmetoglu, B., Kuplulu, O. and Celik, T.H. (2004). Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA. *Food-Control*, **15 (1)**: 45-49.

- Thirumala-Devi, K., Mayo, M.A., Hall, A.J., Craufurd, P.Q., Wheeler, T.R., Waliyar, F., Subrahmanyam, A. and Reddy, D.V. (2002). Development and application of an indirect competitive enzyme-linked immunoassay for aflatoxin M1 in milk and milk-based confectionery. *J. Agric. Food Chem.*, **50(4)**: 933-937.
- Topçu S. Ö. (2006). Ankara Sokak Sütü ve Peynir Örneklerinden Maya İzolasyonu, Sütlerden Aflatoksin M1 Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Türk Gıda Kodeksi. Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ, Tebliğ No: 2002/63, Ek-1 Mikrobiyal Toksinler, 2002.
- Türk Gıda Kodeksi Tebliği, Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Seviyelerini Resmi Kontrolleri İçin Numune Alma ve Analiz Metotları Tebliği, Tebliğ No: 2002/ 25, Resmi Gazete: 25.03.2002 Sayı: 24706, Ankara: Başbakanlık Basımevi.
- Unusan, N. (2006). Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, **44** : 1897–1900.
- Uylaşer, V. ve Başoğlu F. (1992). Gıda zehirlenmelerinde etkin olan mikroorganizmalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **9**: 261-273.
- Van Egmond, H.P. (1983). Mycotoxins in Dairy Products. *Food Chem.*, **11**: 289-307.
- Velasco, M.L.R., Delso, M.M.C. and Escudero, D.O. (2003). ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M1 in raw cow's milk. *Food Additives and Contaminants*, **20**: 276–280.
- Veldman, A., Meijst, J.A.C., Borggreve, G.J. and Heeres, J.J. (1992). Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. *Anim Prod.*, **55**: 163-168.

- Verma, R.J. (2004). Aflatoxin cause DNA damage. *Int. J. Hum. Genet.*, **4(4)**: 231-236.
- Whitlow, L.W. and Hagler, Jr W.M. (2002). Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs*, **74(28)**: 1-10.
- Wiseman, D.W. and Marth, E.H. (1983). Behavior of aflatoxin M1 in yogurt, buttermilk and kefir. *J. Food Prot.*, **46**: 115–118.
- Yiannikouris, A. and Jouany, J.P. (2002). Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim. Res.*, **51**: 81-99.
- Yousef, A.E., and Marth, E.H. (1989). Stability and degradation of aflatoxin M1. In: Van Egmond, H.P., (Eds), *Mycotoxins in dairy products*, Elsevier, London, 127-161.

## 6.1 İnternet Kaynakları

	<b>Erişim Tarihi</b>
1- <a href="http://cospl.coalliance.org/fedora/repository/co:5781">http://cospl.coalliance.org/fedora/repository/co:5781</a>	18.05.2012
2- <a href="http://www.ivis.org/advances/Beasley/cpt10c/ivis.pdf">http://www.ivis.org/advances/Beasley/cpt10c/ivis.pdf</a>	29.08.2012

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Esra SARAÇ  
Doğum Yeri : Kütahya / Gediz  
Doğum Tarihi : 08.03.1986  
Yabancı Dili : İngilizce  
İletişim : 05054372660  
essarac@windowlive.com

### Eğitim Durumu

Lise : Özel Zafer Lisesi (Burslu) (2002-2005)  
Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği  
Bölümü (2005-2009)  
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda  
Mühendisliği Anabilim Dalı (2010-2012)

### Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

- Özlemin Yemek (Gıda Mühendisi), 2010-2011
- Giresun Gıda Kontrol Laboratuvarı ( Gıda Mühendisi), 2011-.....