

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**SEMT PAZARLARINDA SATIŞA SUNULAN KEÇİ
PEYNİRLERİNDE AFLATOKSİN M₁ VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

MEHMET AKYOL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Sadık BÜYÜKYÖRÜK

AYDIN-2020

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında başından sonuna kadar yanımda olan danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Sadık BÜYÜKYÖRÜK'e, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim tüm Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üye ve yardımcılara, sahadaki çalışmalarım esnasında numune toplama işlemlerimde yardımcı olan iş arkadaşlarıma, tezin yazım aşamasında tüm tecrübelerini aktaran Dr. Öğr. Üyesi Banu ATALAY'a, çalışmamın başlangıcından itibaren beni motive eden, kendi tezini hazırlar gibi özveri ile ince eleyip sık dokuyan ve laboratuvar ortamını hazırlayan Vet. Kd. Bçvş. Hayati KORKMAZ'a, son olarak da yoğun çalışmalarım sırasında tüm zorlukları benimle göğüsleyen, bana sabırla katlanan aileme ve özellikle eşim Meryem AKYOL ile sürekli çalışmama izin verdiği için küçük aşkıım kızım Azra Ada AKYOL'a çok teşekkür ederim.

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim eşim ile tüm Besin Hijyeni ve Teknolojisi AD Öğretim Üye ve yardımcılara minnettarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Dünya ve Türkiye’deki Peynir Üretim ve Tüketim Durumuna Genel Bakış	3
2.1.1. Dünyadaki Peynir Üretim ve Tüketim Durumuna Genel Bakış.....	3
2.1.2. Türkiye’deki Peynir Üretim ve Tüketim Durumuna Genel Bakış	3
2.2. Mikotoksinler ve Mikotoksikozis	4
2.3. Aflatoksinler	6
2.3.1. Genel Bilgiler	6
2.3.2. Aflatoksinlerin Oluşumu, Fiziksel ve Kimyasal Yapıları	6
2.3.3. Aflatoksinlerin Biyotransformasyonu ve Toksikokinetiği	8
2.3.4. Aflatoksinlerin İnsanlarda ve Hayvanlarda Etkileri	10
2.3.5. Süt Ve Süt Ürünlerinin Aflatoksin ile Kontaminasyonu	11
2.3.6. Peynirin Aflatoksinlerle Kontaminasyonu	12
2.3.7. Aflatoksin Belirleme Yöntemleri	17
2.3.8. Süt Ürünlerinde Aflatoksinler ile İlgili Yasal Düzenlemeler	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Peynir Numunelerinin Toplanması.....	21
3.2. Yöntem	22
3.2.1. Peynir Numunelerinin ELISA Ölçümü İçin Hazırlanması.....	22
3.2.2. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Prensibi	22
3.2.3. Ölçüm Prosedürü	21
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA.....	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	35

KAYNAKLAR.....	37
ÖZGEÇMİŞ.....	47



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AF	: Aflatoksin
AFB₂	: Aflatoksin B ₂
AFB₁	: Aflatoksin B ₁
AFG₂	: Aflatoksin G ₂
AFG₁	: Aflatoksin G ₁
AFM₁	: Aflatoksin M ₁
AFM₂	: Aflatoksin M ₂
AFL	: Aflatoksikol
ELISA	: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü
LC-MS	: Sıvı Kromatografi – Kütle Spektrofotometresi
ng	: Nano gram
nm	: Nano metre
ppb	: Parts per billion
TGK	: Türk Gıda Kodeksi

TLC : İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography)

TS : Türk Standardı

UV : Ultraviyole

WHO : Dünya Sağlık Örgütü



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Aflatoksin B ₁ ve Aflatoksin M ₁ (AFM ₁)'in moleküler yapıları	7
Şekil 2. Aflatoksinlerin hidroksillenmiş metabolitleri	9
Şekil 3. Aflatoksin M ₁ standardı kalibrasyon eğrisi.....	23
Şekil 4. Aflatoksin M ₁ ELISA sonuçlarına ait bilgisayar görüntüleri.....	27
Şekil 5. Aflatoksin M ₁ ELISA sonuçlarına ait bilgisayar görüntüleri.....	27
Şekil 6. Aflatoksin M ₁ 'in LC-MS pik görüntüsü	28

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Dünya’da peynirlerde aflatoksin varlığını araştıran alışmalar.....	14
Tablo 2. Farklı ülkelere ait AFM ₁ ile ilgili yasal düzenlemeler	18
Tablo 3. Türkiye’de İlgili yasal düzenlemeler ile AFM ₁ limitleri	19
Tablo 4. Peynir numunesi alınan ilçeler ve numunelerin % dağılımı.....	21
Tablo 5. LC-MS koşulları.....	24
Tablo 6. ELISA analiz sonucuna göre pozitif örneklerdeki Aflatoksin M ₁ (AFM ₁) konsantrasyonları (ppt) ve grup ortalamasından sapma yüzdeleri (%)	25
Tablo 7. AFM ₁ Pozitif rneklerin Konsantrasyon (ppt) Dağılım Aralıkları ve TGK Limitini Aşan rnek Sayısı	26
Tablo 8. İncelenen rnek grubunun minimum, maksimum ve ortalama AFM ₁ miktarları (ppt) ve Grubun Standart Sapması (SD)	26

ÖZET

SEMT PAZARLARINDA SATIŞA SUNULAN KEÇİ PEYNİRLERİNDE AFLATOKSİN M₁ VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Akyol M. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2020.

Bu çalışmanın amacı starter kültür kullanılmadan ve semt pazarlarında satışa sunulan keçi peynirlerinde Aflatoksin M₁ (AFM₁) varlığının ELISA ve Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrofotometresi (LC-MS) teknikleri ile belirlemektir. ELISA ile analiz edilen 82 adet keçi peyniri örneğinden 20 tanesininin (%24,40) 5,68 – 18,57 ng/kg (ppt) düzeyleri arasında AFM₁ ile kontamine olduğu belirlenmiştir. Daha sonra AFM₁ ile kontamine bu 20 adet peynir örneğinden rasgele 10 adedi seçilerek LC-MS ile analiz edilmiştir. ELISA sonuçlarına göre AFM₁ ile kontamine hiçbir peynir örneğinin Türk yasal limitlerini (250 ng/kg) aşmadığı belirlenmiştir. Aynı zamanda AFM₁ ile kontamine olan ve rastgele seçilen 10 peynir örneğinin LC-MS değerleri, tespit edilebilir düzeylerin üzerinde (≥ 200 ng/kg) olmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada keçi peynirlerinde belirlenen AFM₁ düzeylerinin ciddi bir halk sağlığı tehlikesine sahip olmadığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin, AFM₁, Halk sağlığı, Keçi peyniri.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF AFLATOXIN M₁ PRESENCE IN GOAT CHEESES RETAILED AT OPEN BAZAAR

Akyol M. Aydin Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Department of Food Hygiene and Technology, Master's Thesis, 2020.

The aim of this study was to detect the presence of Aflatoxin M₁ (AFM₁) in goat cheeses produced without used starter culture and retailed in open bazaar by ELISA and Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometer (LC-MS) techniques. The mean contamination rate was between 5,68 – 18,57 ng/kg (ppt) in 20 from 82 (24,40%) goat cheese samples analyzed by ELISA. Then, 10 cheese samples randomly chosen from 20 samples contaminated with AFM₁ and analyzed by LC-MS. None of the cheese samples contained AFM₁ levels above the Turkish legal limit (250 ng/kg) according to ELISA results. According to the data, 10 randomly selected cheese samples contaminated with AFM₁ were not over the detectable levels (≥ 200 ng/kg) analyzed by LC-MS. Consequently, the AFM₁ contamination levels determined in this study in goat cheese were not considered to pose a serious public health hazard.

Key Words: Aflatoxin, AFM₁, Goat cheese, Public health.

1. GİRİŞ

Mikotoksinler, aromatik halka ya da daha düşük oranda alifatik bileşiklerden oluşan ve küflerin oluşturduğu sekonder metabolitler olup özellikle tahılların üretimi ve depolanması sırasında oluşan bileşiklerdir. Çoğunlukla *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* türleri tarafından üretilmektedir (Li ve ark, 2017). Aflatoksinlerin başlıca, aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ türevleri bulunmaktadır. *Aspergillus parasiticus* ve *A. nomius* hem B, hem de G tipi aflatoksinleri üretirken *A. flavus*, sadece B tipi aflatoksini üretmektedir. Bunlar arasında en toksik, karsinojenik ve en yaygın olan tür, aflatoksin B₁'dir. AFM₁ ise AFB₁'in karaciğerde metabolize olduktan sonra süt ile atılan türevidir (Prodanov-Radulović ve ark, 2018). Mikotoksinler, doğrudan veya metabolitleri ile dolaylı olarak DNA'ya bağlanmakta ve teratojenik ve/veya mutajenik etkilerini göstermektedirler (Malissiova ve ark, 2013). Mikotoksinlerin gıda ve yemlerle alım miktarı ve süresi dikkate alındığında, farklı etkilerinin görülebileceğinden dolayı tolerans düzeyinin sıfır olması, yani alınan gıda ve yemlerde mikotoksin bulunmaması gerektiği kabul edilmekle birlikte bu toksinlerin gıda ve yemlerde doğal olarak bulunması nedeniyle "bulunabilecek maksimum tolerans değerleri" ölçüt olarak kullanılmaktadır (Gücüköğlü ve ark, 2010).

Süt ve süt ürünleri, özellikle de peynirler, patojen organizmalar, toksinler ve kimyasal kalıntılar sonucu halk sağlığı için tehlike arz edebilmektedirler. (Çağlar ve ark, 1996; Atasever ve Keleş, 1998). AFM₁'in en önemli özelliklerinden birisi kazeine olan affinitesidir. Bu ilginin yüksek olmasından dolayı AFM₁'in peynirde bulunma riski, daha da artırmaktadır (Prandini ve ark, 2009).

2. GENEL BİLGİLER

Süt, içerdiği besin elementleri ile tam bir protein kaynağı olup tüm esansiyel aminoasitleri yeter ve dengeli bir biçimde içermektedir. Ayrıca yüksek kalorili bir besin maddesi olan süt, kısa sürede tazeliğini ve güvenilir bir şekilde tüketilebilirliğini kaybettiği için raf ömrü daha uzun olan ürünlere işlenmektedir. Bunlar arasında yoğurt, tereyeği ve peynir en çok tercih edilen ürünler grubunu oluşturmaktadır. Türk Gıda Kodeksi (TGK) 2015/6 sayılı Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde peynirin tanımı şöyle yapılmıştır; “Hammaddenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin, tekniğine uygun olarak işlenmesiyle üretilen, üretim aşamalarındaki farklılıklara göre taze veya olgunlaştırılmış olarak tanımlanabilen, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren salamuralı ürün”.

Mikotoksin, küfün metabolizma ve/veya gelişmesinde önemli rolü olmayan, küfler tarafından hızlı üreme döneminin sonunda oluşturulan toksik metabolitlerdir. Mikotoksinler; *Aspergillus*, *Penicilium* ve *Fusarium* tarafından birçok gıdada belirli şartlar altında üretilmektedirler. Mikotoksinlerin alt grubu olan aflatoksinler ise *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius* tarafından üretilen toksik, karsinojenik, teratojenik ve mutajenik bileşiklerdir. Aflatoksin kelimesi cins ismi olan *Aspergillus*'un ilk harfi “A” ile tür ismi *flavus*'un ilk üç harfi olan “FLA” harflerinin birleştirilmesi ve sonuna latince zehir anlamına gelen “TOKSİN” kelimesinin eklenmesiyle oluşturulmuştur (Yangılar ve Oğuzhan, 2013). Aflatoksinler başlıca B1, B2, G1, G2, M1 ve M2 olmak üzere altı bileşikten oluşmaktadır. Aflatoksin B1 (AFB1), güçlü bir karsinojen olup süt hayvanları bu toksini rasyonları ile aldığı zaman; hepatic biotransformasyon ile (microsomial cytochrome P450) Aflatoksin M1'e metabolize olmaktadır. Hayvan yemlerinin yaklaşık %1-3'ünün AFB1 ile kontamine olduğu tahmin edilmektedir (Öksüztepe ve Erkan, 2016). Bu isimlendirme, spektrofotometrede aflatoksin B1 ve B2'nin mavi (Blue), aflatoksin G1 ve G2'nin ise yeşil (Green) floresan vermesiyle ilişkilidir. Aflatoksin M1 ve M2 ise küf oluşumunun şekillendiği yemlerle beslenen hayvanların karaciğerinde AFB1'in katabolize olması ile şekillenmekte ve süt salgısıyla birlikte salgılanmaktadır. Bu toksinler, ilk kez aflatoksinli yemlerle beslenen hayvanların sütlerinden tespit edildiğinden dolayı M (Milk) olarak gösterilmişlerdir (Temiz ve Özkaya, 2003).

Gıda ve yemlerde doğal kontaminant olarak bulunan insan ve hayvan sağlığı bakımından önem taşıyan aflatoksinler dışında dikkate değer diğer başlıca mikotoksinler ise Okratoksinler, Trikotesenler, Rubratoksinler, Sterigmosterinler, Zearalenon, Strinin, Patulin, Penisillik asit, PR toksin, Kojik asit, Sporidesmin ve Ergot alkaloidleri olarak sıralanabilmektedir (Kaya ve ark, 2002).

Mikotoksinlerle kontamine yem ve gıdalar, hayvanlarda toksikasyonlara sebep olurken, kronik mikotoksikozise maruz kalan hayvanların dokularına da geçmektedir. Bu hayvanlardan elde edilen ürünlerin tüketime arz edilmesiyle mikotoksikozis, insan sağlığı açısından çok geniş boyutlu potansiyel bir tehlike oluşturabilmektedir. Bununla birlikte Aflatoksinler, insan ve hayvanlarda yüksek toksisiteye sahip bilinen en tehlikeli mikotoksinler. Bu grup mikotoksinler, başlıca *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* olmak üzere, çeşitli *Aspergillus* türleri ile *Penisillium* (*Penisillium ruber* gibi) ve *Rhizopus* türleri tarafından üretilen mikotoksinlerdir (Meki ve ark, 2004).

2.1. Dünyada ve Türkiye’de Peynir Üretim ve Tüketim Durumuna Genel Bakış

2019 yılında dünya genelinde 852 milyon ton süt üretimi gerçekleştiği ve 2018 yılına göre %1,4 oranında arttığı bildirilmiştir. Süt ürünleri ise (süte eşdeğer) 7,6 milyon ton olup, bir önceki yıla göre %0,8 oranında artmıştır (WEB-1).

2016 yılında dünya genelinde inek sütü üretimi 488.812.000 ton olup, bunun 189.080.000 tonu (%39) Avrupa Birliği ve Doğu Avrupa’da üretilmektedir. Amerika kıtası, 155.637.000 ton (%32) ile ikinci sırada yer almaktadır. Asya’da 113.340.000 ton (%23) ve Okyanusya’da kayıtlı süt üretimi 30.755.000 tondur (%6). Avrupa Birliği’nin 2013 yılı peynir üretimi 645.776.815 ton olup, Suudi Arabistan 231.341.350 ton, Yeni Zelanda 269.306.317 ton, ABD 170.262.254 ton, Mısır 160.111.100 ton ve Avustralya 163.163.170 ton peynir üretmiştir (WEB-1).

Keçi sütü ve ürünlerinin Avrupa Biriliği ülkelerinde ve genel olarak dünya ülkelerinde tüketilme oranları her geçen gün artıyor olmasına rağmen, Türkiye’de keçi sütü ve ürünlerinin üretiminin yetersiz düzeyde olduğu söylenebilir. Nitekim 1980-2008 yılları arasında dünyada toplam keçi sütü üretimi %98 oranında artarken, bu oran Türkiye’de %57 oranında azalmıştır (WEB-1).

Türkiye’de keçi sütü ve ürünleri üretiminde kıl keçileri oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Elde edilen keçi sütleri ise genellikle koyun ve/veya inek sütü ile karıştırılarak

peynire işlenmekte veya doğrudan dondurma üretiminde kullanılmaktadırlar (Gülmez ve ark, 2003). Ülkemizde yüksek oranda peynir tüketiminin olduğu bilinmektedir (Aydemir Atasever ve ark, 2010).

Aynı zamanda ülkemizde son yıllarda keçi sütü ve ürünlerinin üretimi konusunda olumlu gelişmeler yaşanmaktadır. Özellikle Trakya, Marmara, Ege ve İç Anadolu Bölgesi'nde saf Saanen ve Saanen melezlerine dayalı işletmeler kurulmuştur. Türkiye'de keçi sütü ve ürünlerinin ortaya konulmasındaki bu gelişmeler, Türkiye'de süt üretim miktarının artırılması, ürünlerinin çeşitlendirilmesi, belirli bir istihdam yaratması, belirli bir katma değer oluşturması gibi etkileriyle olumludur (Savran ve ark, 2011).

2.2. Mikotoksinler ve Mikotoksikozis

Küflerin gelişimi ve mikotoksin oluşturmaları, ortam ile yem ve besin maddelerinin nispi nem içeriği ile ortamın ya da ürünün oksijen durumu, tane besinlerde mekanik hasar, pH ve diğer birçok etkene göre değişkenlik göstermektedir. Küf ve mayaların zorunlu aerob mikroorganizmalar olduğu ve ortamda oksijen varlığının çok önemli olduğu unutulmamalıdır. Aynı zamanda ortamın ısı ve rutubeti ile besin ve yemlerin nem içeriği, toksin oluşturulmasında önemli etkenlerdir (Kaya ve ark, 2002).

Mikotoksinler, sekonder metabolitler olarak tanımlanmışlardır. Zira normal fungal gelişim için doğrudan gerekli değildir ve sıklıkla düşük moleküler ağırlığa sahip bileşiklerdir. Doğal olarak meydana gelen moleküllerdir ve karmaşık ekosistemler içerisinde üretildikleri suşa karşı seçici bir avantaj sağladıkları düşünülmektedir. Üretilen bu toksinlerin rolleri, diğer organizmalarla temasa geçmek, yarışmak ve aynı trofik oyukta yer alan diğer rakiplerinin gelişmesini ve üremesini engellemektir (Magan ve Aldred, 2007; Fox ve Howlett, 2008). Bu metabolitler, çeşitli gıda ve yem ürününde yaygın olarak bulunmaktadır. Gerçekten de küfler, bir dizi substrat (hububatlar, et, kuru yemişler, peynir, üzüm, kahve çekirdeği, elma ve bunlardan köken alan ürünleri içeren) üzerinde üretim alanlarının herhangi bir safhasında, hasat sonrası depolama süresince ve geniş aralıktaki iklim şartları altında gelişebilmektedirler. Ayrıca mikotoksinlerin, endüstriyel proseslere oldukça dayanıklı oldukları da bilinmektedir. Mikotoksin üretim profilinin substratın bileşimine (Kokkonen ve ark, 2005), sıcaklık, su aktivitesi, pH veya oksijen konsantrasyonu gibi ekofizyolojik faktörlere ve mikrobiyel etkileşimleri kapsayan biyotik faktörleri içeren farklı fungal gelişim şartları altında değişebileceği belirlenmiştir (Magan ve Aldred, 2007).

Küflenme, küf ve/veya mantar sporlarının yayılması ile ilişkilidir. Bu sporlar çoğalmaları için uygun olmayan şartlarda yıllarca canlı kalabilirler. Şartların normale dönmesiyle birlikte, çok süratli bir şekilde üreyerek bir yandan yem ve gıda maddelerinin bozulmasına, diğer yandan mikotoksin sentezleyerek ve sentezledikleri bu toksinleri buldukları ortama bırakmak suretiyle, yem ve gıdaların mikotoksin ile kontaminasyonuna sebep olmaktadır (Çetin, 1990).

Mikotoksinlerle kontamine olmuş yem ve gıdalar, hayvanlarda toksikasyonlara sebep olurken, kronik mikotoksikozise maruz kalan hayvanların dokularına da geçmektedir. Bu hayvanlardan elde edilen ürünlerin tüketime arz edilmesiyle mikotoksikozis, insan sağlığı açısından çok geniş boyutlu potansiyel bir tehlike oluşturmaktadır (Çetin, 1990).

Mikotoksikozisle savaşta kontamine yemlere adsorbanların ilave edilmesi üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Adsorban materyali, seçici olarak sindirim süresince adsorbanları bağlar. Bu, gastrointestinal sistemde mikotoksinlerin emilimini önler/azaltır ve böylece toksik etkileri azaltır. Bu adsorbanlardan, esterifiye bir glukanın en etkili olduğu belirtilmektedir (Dvorska ve Surai, 2001).

2.3. Aflatoksinler

Aflatoksinler (AFler), başlıca *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius* türü mantarlar tarafından üretilen bir sekonder toksik metabolit grubudur. Bu türler, doğada yaygın olarak bulunmaktadır ve kuru meyve, yağlı tohumlar, tahıllar ve baharatları kontamine edebilmektedir. Bu kontaminantlar, sahadaki bitkileri, ekinleri, nakliye araçlarını ve depoları etkileyebilir (Hussein and Brasel, 2001).

AF'lerin memeli vücuduna ana giriş yolu, kontamine yem ve gıdaların sindirim yoluyla alınması olarak belirtilmektedir. Vücuda alındıklarında başlıca etkilenen hedef organ karaciğerdir (Carvajal, 2013). AF'ler, hayvanlara ve insanlara zarar verir ve DNA'ya bağlanabildikleri ve bu şekilde yıllarca saklı kalabildikleri için en kuvvetli doğal mutajenler ve karsinojenler olarak düşünülmektedirler. Aflatoksin B₁ (AFB₁), insanlar için kanıtlanmış Grup I karsinojen olarak sınıflandırılmaktadır. Aflatoksin M₁ ise IARC tarafından Grup 2B karsinojen olarak sınıflandırılmaktadır (Carvajal ve ark, 2012). AF alımı ile ilgili akut semptomlar, kusma, hemoraji, diyare ve ölümdür. Kronik semptomlar ise bağışıklık sisteminin baskılanması, fetal malformasyonlar, siroz, hepatit ve hepatosellüler karsinom,

kolorektal, servikal, meme, pankreatik ve akciğer kanserleri gibi bazı kanserler türlerini kapsamaktadır (Shephards, 2003).

Bu toksinler özellikle, sıcak ve nemli iklime sahip bölgelerde, hububat ve taneli bitkilerde, aflatoksin üremesinin takip ve kontrolünün eksik olduğu gelişmekte olan ülkelerde problemdir (Otim ve ark, 2005).

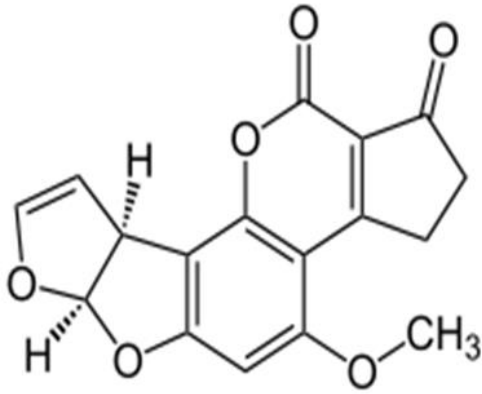
Çiğ süttten üretilen peynirler gerek taşıdıkları mikroorganizmalar gerekse süt toksini olarak nitelendirilen AFM₁'i içermesi halk sağlığı bakımından risk olarak nitelendirilir (Bulca ve Bircan, 2013). Süt ürünlerinde en yüksek aflatoksin düzeylerine peynirlerde rastlanılmaktadır (Ayaz ve Madalı, 2017).

2.3.1. Aflatoksinlerin Oluşumu, Fiziksel ve Kimyasal Yapıları

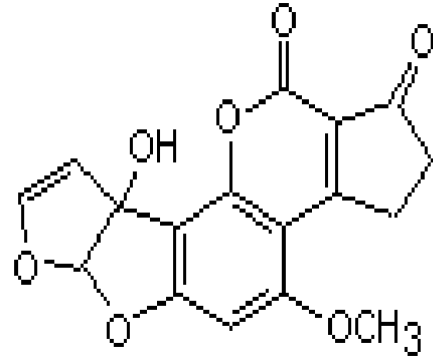
Aflatoksinler insan ve hayvanlarda yüksek toksisiteye sahip bilinen en tehlikeli mikotoksinler (Meki ve ark, 2004) olup başlıca *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* olmak üzere, çeşitli *Aspergillus* türleri ile *Penisillium* (*Penisillium ruber* gibi) ve *Rhizopus* türleri tarafından üretilen mikotoksinlerdir. Bunlardan *A. flavus* daha ziyade AFB₁ ve AFB₂, *A. parasiticus* ise çeşitli oranlarda AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂ üretmektedir. Özellikle sayılan iki tür yeryüzünde toprak ve havada yaygın şekilde bulunmaktadır (Kaya ve ark, 2002).

Aflatoksin M₁, Aflatoksin B₁'in 4-hidroksi türevidir ve 328 Da'luk nisbi moleküler ağırlığa sahiptir (Şekil1). Moleküler formülü C₁₇H₁₂O₇'dir (Wagacha ve Muthomi, 2008).

Aflatoksinlerin ve özellikle de AFM₁'in biyokimyası ve metabolizması kapsamlı olarak gözden geçirilmiş ve AFB₁ metabolizmasının, AFM₁'e nazaran daha karsinojenik olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda insnaların, sıçanlar kadar yüksek miktarda AFB₁ 8,9 epoksit oluşturmadıklarını, fakat insanların bu epoksida karşı yüksek spesifik aktiviteye sahip glutatyon S transferaz (GST) izoenzimlerine sahip olmadıkları ileri sürülmüştür Aflatoxin B1 metabolizması ve bağlanmasında önemli derecede bireysel farklılıkların bulunması, genetik ve/veya çevresel faktörlerin varlığının, duyarlılıkta büyük farklılık meydana gelmesiyle sonuçlanabileceğini ileri sürmektedir. İnsan karaciğer mikrozomlarında AFM₁ ve AFB₁ ile yapılan bir çalışmada, AFM₁ epoksidasyonunu katalize etme konusunda çok sınırlı yeteneğe sahip oldukları bildirilmiştir (Wagacha ve Muthomi, 2008).



Aflatoxin B1



Aflatoxin M1

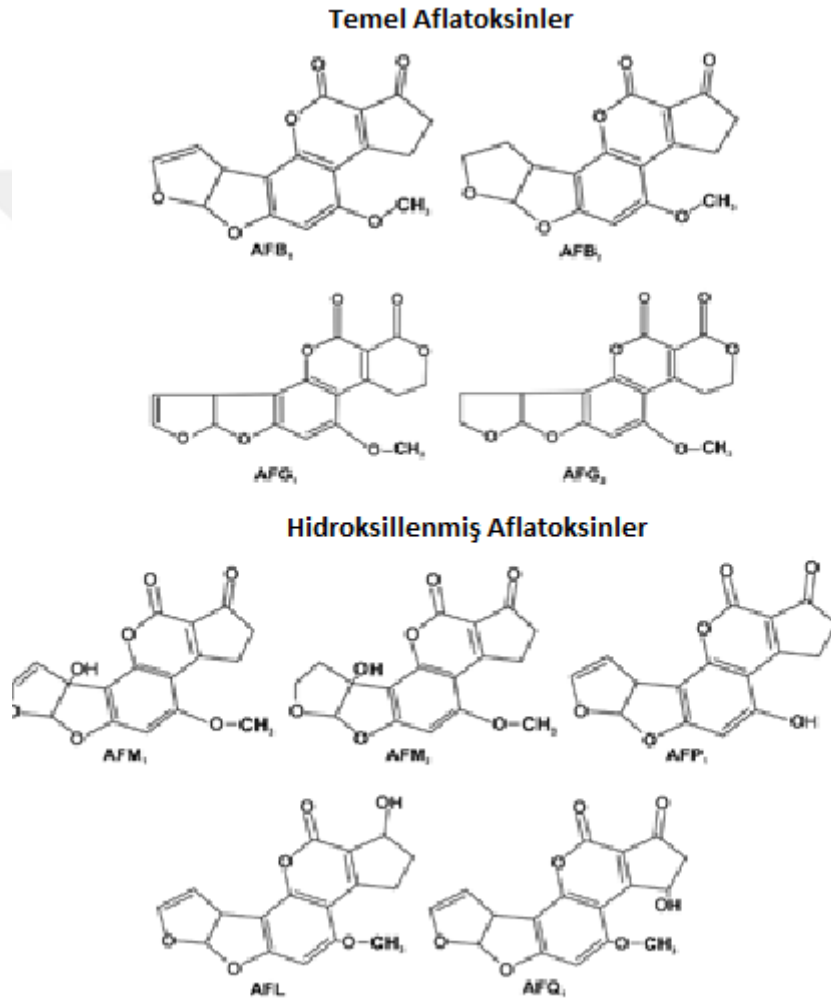
Şekil 1. Aflatoxin B₁ ve Aflatoxin M₁ (AFM₁)'in moleküler yapıları

2.3.2. Aflatoxinlerin Biyotransformasyonu ve Toksikokinetiği

Yem ve gıdalarla alınan aflatoxinler, sindirim kanalında düşük oranda emilirler. Kan dolaşımına geçen bu toksinler plazmadan hızlı bir şekilde ayrılır ve başlıca karaciğer ve kas dokusuna dağılma eğilimindedirler. Vücuda giren AFB₁'in %85-90'ı ilk 24 saat içinde dışkı (%75), idrar (%15-20) ve sütle değişmemiş ve/veya metabolitleri halinde atılmaktadır. Aynı zamanda dışkıyla bu kadar yüksek oranda atılması, ağızdan alınan toksinin sindirim kanalından sınırlı ölçüde emildiğinin bir göstergesi sayılabilir. Toksinle kontamine yem veya mikotoksinin alımının durmasını takiben 3-6 gün sonra sütle, 6-9 gün sonra da idrar ve dışkıda aflatoxin izlerine rastlanmamaktadır (Kaya ve ark, 2002).

Aflatoxin, karaciğerde sitokrom p450 grubu enzimler tarafından metabolize edilmektedir ve türün genetik yatkınlığına bağlı olmak üzere aflatoksikol, aflatoxin Q₁, aflatoxin P₁ ve AFM₁ gibi farklı metabolik ürünlere dönüştürülmektedir. Bunlarla birlikte aflatoxin 8,9 epoksit isimli başka bir metabolit de oluşmaktadır. Oluşan bu metabolit, DNA'daki guanin bölgeleri ile eklenti (addukt) oluşturmak suretiyle DNA'nın yapısına girerek mutasyonları indükleyebilir. Bu sebeple aflatoxin 8, 9 epoksit miktarı, türlerin duyarlılığını belirlemektedir (Smela ve ark, 2001). Memelilerde kontamine yem ve gıdalar yoluyla sindirim kanalı ile alınan aflatoxin B₁ (AFB₁), aflatoxin M₁'e metabolize olmaktadır ve başlıca süt ve süt ürünleri yoluyla atılmaktadır. Aflatoxin M₁ sütle ilave olarak idrar, kan ve iç organlarda da belirlenebilmektedir. Aflatoxin B₁, laktasyondaki ineklerin sütünde başlıca aflatoxin M₁ (AFM₁) olarak atılmaktadır ve rezidü miktarı, diyetdeki AFB₁

konsantrasyonunun yaklaşık %1-3'üne eşdeğerdir (Van Egmond, 1989). AFM₁'in en önemli özelliklerinden birisi kazeine olan affinitesidir. Bu durumda AFM₁'in peynirde bulunma riskini daha da artırmaktadır. AFM₁ kazeinlere daha zayıf bağ olarak nitelendirilen hidrofobik bağlarla bağlanır. AFM₁ konsantrasyonu peynir çeşidine bağlı olarak değişir. Yumuşak peynirlerde 2,5-3,3 kat, sert peynirlerde 3,9-5,8 katına kadar çıkmaktadır. Peynirle ilgili *Aspergillus* spp. için AF biyosentetik yolağının, 70 kb'lık bir bölgede kümelenmiş 25 geni içerdiği ve en az 23 enzimatik reaksiyonu kapsadığı bildirilmiştir (Yu ve ark, 2004; Huffman ve ark, 2010).



Şekil 2. Aflatoksinlerin hidrosillenmiş metabolitleri

AFM₁ genotoksitesi, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla gösterilmiştir. AFM₁'in karsinojenite potansisi, AFB₁'den %2 ila %10 oranında daha zayıftır. AF ve hidrosilat metabolitleri (Şekil 2), aynı zamanda genotoksik karsinojenlerdir ve çiftlik hayvanlarının ürünlerinde bulunmaları da daha yüksek olasılıktadır. Bu nedenle yemin AFB₁

kontaminasyonu ve sütün AFM₁ kontaminasyonunun olabildiğince düşürülmesi gerekmektedir. Özellikle de 1 kg vücut ağırlığı için süt tüketim miktarının infantlarda diğer yaş gruplarına nazaran daha yüksek olduğu gerçeğine dikkat edilmelidir (FSJC, 2013).

2.3.3. Aflatoksinlerin İnsanlarda ve Hayvanlarda Etkileri

Aflatoksinler, mutajen ve karsinojen maddeler olarak sınıflandırılmaktadır (IARC, 2002). Aflatoksin ve ekstraktlarına maruz kalma ile etkilerini belirleme, deneysel veri eksikliğinden dolayı güçtür. Aflatoksin M₁'in, in vitro insan hepatositlerinde sitotoksik olduğu gösterilmiştir ve bazı türlerde akut toksisitesi, aflatoxin B₁ toksisitesine benzer ve diyetel aflatoksin alımı ile karaciğer kanseri ilişkilendirilmiştir (Henry ve ark, 2001; Makun ve ark, 2012). Aflatoksin M₁, yüksek genotoksik aktivite sergilemektedir ve şüphesiz ki birikme ve DNA'ya bağlanma olasılığından dolayı sağlığı tehdit eden bir risk teşkil etmektedir (Shundo ve Sabino, 2006; Makun ve ark, 2012). Üstelik daha yüksek seviyelerde AFB₁ kontaminasyonunun, yenidoğanlarda düşük doğum ağırlığı ve sarılıkla korele olduğu bildirilmiştir. İnfantlarda vücuttaki karsinojenlerin biyotransformasyon kapasitesi, genel olarak yetişkinlerden daha yavaştır ve kimyasallar dolaşımında daha uzun süre kalabilmektedir (Sadeghi ve ark, 2009).

Çeşitli dozlarda Aflatoksikol (AFL) verilen sıçanlarda ve balıklarda hepatosellüler karsinom insidansı, aynı dozajda AFB₁ uygulanan hayvanlardan daha düşük bulunmuştur. Sütte AFL bulunması, özellikle de süt temelli diyetle beslenen bebeklerde olmak üzere sağlık açısından hala tehlikeli olabilir. AFM₁, en çok bulunan AF değildir ve süte AFL kontaminasyonu eklendiği zaman risk de artmaktadır (Vargas-Ortis ve ark, 2017).

AFB₁ metabolitlerinin yaklaşık %95'i anne sütü ile AFM₁ olarak atılmaktadır (Gong ve ark, 2004). İnfantların AFLere ve AFM₁'e maruz kalmasının muhtemel etkileri konusunda yapılan çalışmalar, anne karnında iken aflatoksinlere maruz kalan çocuklarda gelişme geriliğini ve bazı hayvanlarda fetal büyüme retardasyonunu ortaya koymuştur (Gong ve ark, 2004). Ayrıca hamile kadınların kanında AF ve emziren kadınların sütünde de değişen konsantrasyonlarda AFM₁ varlığı doğrulanmıştır. Örneklerdeki bu düzeyin, ABD ve Avrupa (25 ppb) veya Avustralya ve İsveç için (10 ppb) kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu bildirilmiştir (Weidenborner, 2011).

2.3.4. Süt ve Süt Ürünlerinin Aflatoksin ile Kontaminasyonu

AF miktarını belirlemek için en çok kullanılan kantitatif teknik, %60 sıklıkla ELISA olup, bunu %38 sıklıkla HPLC takip etmiştir. AFM₁ en çok belirlenen AF (%92) çeşidi olup özellikle peynirlerde daha yüksek seviyede bulunmaktadır (Camarillo ve ark 2016, Urban ve ark 2009). AFB₁'li yemle beslenen büyükbaş hayvanlardan AFM₁ olarak süt ürünlerine geçiş yüzdeleri peynir için %40-60, yağsız süt için %10 ve tereyağı için <%2 oranındadır. AFM₁'in yaz aylarına oranla kış aylarında sütte daha fazla bulunduğunu belirten yurt içi ve yurt dışı çalışmalar bulunmaktadır. Bunun nedeni; kış aylarında çayır, yeşil ot vb taze yemlerle daha az beslenmesi olarak açıklanmaktadır (Asi ve ark, 2012; Dutton ve ark, 2012; Ayaz ve Madalı, 2017).

Sütçü inekler AFB₁ veya AFB₂ ile kontamine yem tükettikleri zaman bu toksinler hızla absorbe olur. Hayvanın karaciğeri ve mikrobiyal metabolizma, AF molekülüne bir hidroksil (OH-) grubu ekleyerek, toksinlerin suda çözünmesini sağlayarak süt ve idrarla vücuttan uzaklaştırılmasına olanak sağlayan hidroksilat metabolitleri oluşturmak suretiyle toksinlerin zararlı etkilerini hafifletir. Yemlerle alınan AFB₁, AFB₂, AFG₁ ve AFG₂; AFM₁, AFM₂, AFP₁ ve aflatoksikole (AFL) biyotransforme olur ve daha az toksik ama yine de karsinojenik olan bu hidroksilat molekülleri, süt ile atılmaktadır (Shephards, 2003).

Sütte ve süt ürünlerinde AF'ler ve özellikle de AFM₁ stabilitesi hakkında çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Süt ve süt ürünlerinde pastörizasyon, kaynatma veya ultrapastörizasyondan sonra bile AFM₁ konsantrasyonunda önemli değişiklik olmadığını bildirmekle birlikte AFM₁'in stabil kaldığı bildirilmiştir (Henry ve ark, 2001). Süt tozundaki stabilite ölçümleri, hem kısa hem de uzun dönemli stabilite çalışmalarında önemli eğilimler olmadığını göstermiştir (Josephs ve ark, 2005).

AF'lerin ve AFM₁'in sağlığa zarar verme potansiyelinden dolayı, tüketicinin güvenliği açısından hayvan yemlerinin kalitesinin kontrol edilmesi ile de süt ve süt ürünlerinde AFM₁ seviyesinin izlenmesi ve düzenlenmesi önemlidir (Whitlow ve ark, 2010).

2.3.5. Peynirin Aflatoksinlerle Kontaminasyonu

Aflatoksinlerin oluşmasında ortamın ve/veya gıdanın nispi nemi, oksijen içeriği ve sıcaklık önemli etkenlerdir. Aflatoksijenik küflerin gelişmesi için ortam sıcaklığının optimum 24–35°C arasında olması ve nisbi nem içeriğinin %70'in üzerinde olması önemli bir yer

tutmaktadır. Ayrıca gıdalarda aflatoksin oluşturulması ile küf misellerinin gelişimi; oksijen durumu, sıcaklık ve su aktivitesi (a_w) ile kontrol altına alınabilmektedir. Bu nedenle açıkta ve kontrolsüz şartlarda kurutulmuş tahıl, pamuk, yerfıstığı ve fındık gibi tohumlarda yaygın bir etken olabilmektedirler. Küf gelişimi için gerekli olan sıcaklık ve su aktivitesi (a_w) değerleri, toksin oluşumu için gereksinim duyulan değerler ile aynı olmamakta toksin oluşumu için organizma lehine daha iyi şartların bulunması gerekmektedir. Örneğin *A. flavus*'un gelişmesi ve mikotoksin üretiminde a_w sırasıyla 0,73 ve 0,85'dir. Bu durumda nem içeriği de %8-12 ve %17-19'dur. Küflerin, obligat aerob organizmalar olduğu unutulmamalı ve ürünlerin vakumlu ambalajda muhafaza edilmesi, koruma kontrolde en önemli basamağı oluşturduğu unutulmamalıdır. Küf ve toksin oluşumu için gerekli minimum sıcaklık değerleri de farklılık göstermektedir. *A. parasiticus*'un gelişmesi için en düşük sıcaklık aralığı 6-8°C iken 25-35°C'de optimum gelişme sağlanmaktadır. *A. flavus* için ise en iyi gelişme aralığı 12-42°C iken 19-35°C arasında toksin üretilebilmektedir (Tirmenstein ve Mangipudy, 2014).

Dünya genelinde peynirde AFM1 varlığını belirleyen çeşitli çalışmalar bulunmakta ve AF varlığı, bir halk sağlığı sorunu olarak bildirilmektedir (Mulunda ve ark, 2013). Peynirde, ayrıca AF prekürsörü olan sterigmatosistin (STC) gibi diğer mikotoksinler de belirlenmiştir. Mikotoksinle peynirin kontaminasyonu, dolaylı yoldan sütün kontaminasyonu ile veya mikotoksin üreten bozunma ajanları ya da filamentöz mantarlar ile doğrudan kontaminasyon ile meydana gelebilmektedir (O'Brien ve ark, 2004).

AFler, hidrofobik etkileşim yoluyla süt kazeini gibi proteinlere bağlanmaktadır (Brackett ve Marth, 1982). Bu nedenle kontamine süt kullanıldığı zaman, peynirde AFM₁ bulunmaktadır. AFM₁, peynirin üretim tekniğine bağlı olarak pıhtı ve peynir altı suyu arasında %40-60 oranında bağlanmaktadır (Yousef ve Marth, 1989). AFM₁, bileşenlerine ayrışmadan önce 320°C'ye kadar sıcaklıklara dayanabilmektedir ve peynirin işlenmesi süreçlerinde kullanılan pastörizasyon, ultrapastörizasyon ve asidifikasyon gibi ısı uygulamalarına dirençlidir (Deveci, 2007; Oruç ve ark, 2006). AFM₁, AFB₁'den dah az toksik olmasına rağmen hala karsinojeniktir ve süt ürünlerinde en sık olarak bildirilen aflatoksindir. Yine de süt ürünlerinin tüketilmesi dolayısı ile oluşan diğer AFler ile ilişkili riske elbette iştirak etmektedir. Bu nedenle çoğu ülkede süt ve süt ürünlerinde AF'lerin tolere edilebilir maksimum seviyeleri için yönetmelikler belirlenmiştir (El Khoury ve ark, 2011).

Peynirde AFM₁ konsantrasyon değişiklikleri üzerine yapılan bir çalışmada 3 aylık depolama sonrasında bile konsantrasyonda önemli değişiklik olmadığını göstermiştir (Deveci, 2006). Ancak Khoury ve ark, (2011), AFM₁'in *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* gibi laktik asit bakterilerine (LAB) bağlanma yeteneğini incelemiş ve bu

bakterilerin, sıvı kültür ortamında ve yoğurt yapım sürecinde serbest AFM₁ içeriği miktarını azaltmada etkili olduğunu bulmuşlardır. Bu nedenle bu çalışma, AFM₁'i uzaklaştırmada LAB'nin oynayacağı kapasiteyi ve AFM₁ indirgenmesi için biyolojik bir ajan olarak kullanılabilirliğini gösteren ilk çalışmadır. Bununla birlikte işleme ve depolama süresince AFM₁'in stabilitesinin onu tehlikeli hale getirebileceğini belirten çalışmalar da bulunmaktadır (Khoury ve ark, 2011; Darsanaki ve Marjan, 2013).

Tablo 1. Dünya’da peynirlerde aflatoksin varlığını araştıran çalışmalar (Rojas-Marin, 2018)

Ülke	Peynir tipi	+/toplam örnek veya örnek %si	Aflatoksin	Konsantrasyon (µg kg-1)
Brezilya	Prato, Parmesan	0/36		Belirtilmemiş
		48/58		
	Minas peyniri	13/48		0,04-0,31
Çek Cumhuriyeti	Artisan Parmesan	%3,2		0,16
	Edam tipi	%29,20		5-66
Çin		4/4		
Kolombiya	Artisan Taze Beyaz Peynir	37/37		5-351
Kostarika		10/70		31-276
Danimarka	Mavi ve Beyaz Küf	0/10		Belirtilmemiş
Ekvador	Artisan Taze Beyaz Peynir	7/33		0,04-0,83
Mısır	Kareish & Damietta	20/50		1,95-14,75
Finlandiya	Beyaz ve Mavi Küf	0/10		Belirtilmemiş
Fransa		0/10		Belirtilmemiş
Almanya		0/10		Belirtilmemiş
Yunanistan	Feta & Teleme	0/127		Belirtilmemiş
		%8,87		Belirtilmemiş
		195/360		50,5-309
		52/100		50,2-424
İran	Beyaz Peynir	188/545		-
		26/40		52,5-272
		35/39		0,004-0,023
		56/75		0,12
İtalya	Peynir	161/210		52,1-785,4
		%6,83		50-400
		%50,8		50-100
	Taze Artisan	44/265		50-250
		11/24		5,0-20
		12/24		0,05
0/41			Belirtilmemiş	
Kore	Taze Artisan	83/108		0,02-0,14
Kuveyt		32/40		23,8-452

Tablo 1. Devamı

Ülke	Peynir tipi	+/toplam örnek veya örnek %si	Aflatoksin	Konsantrasyon ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
Meksika	Taze Oaxaca	19/30	M ₁ , M ₂	0,01-3,4
		30/30	B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , M ₁ , M ₂ , P ₁ , AFL	0,1-19,1
	Keçi peyniri	3/20		0-0,23
Hollanda	Taze keçi peyniri	3/20		0,23
	Olgunlaşmış salamura	-/88		
Kuzey Afrika	Yumuşak beyaz peynir	%20,75		110-520
Portekiz	Olgunlaşmış peynir	8/128		>0,05
Romanya	Olgunlaşmış salamura	9/50		<50
İspanya	Peynir	%35,44	M ₁	20-200
	Manşego	%50		-
	Taze Beyaz Artesan	0/72		0
	Manşego,	80/82		
Slovenya	Ham artisan peyniri	%10		>50 ng/kg
ABD	İsveç peyniri			
	Parmesan&Mozzarella		M ₁	

Peynirde mikotoksin kontaminasyonu dolaylı yoldan süt kontaminasyonu yoluyla veya doğrudan mikotoksin üreten bozulma ajanları veya teknolojik filamantöz mantarlar tarafından meydana gelebilir (O'Brien ve ark, 2004).

Doğrudan mikotoksin kontaminasyonu, peynir yapımı süresince küf kontaminasyonunun varlığı ile ekzojen veya mikotoksin üreten ticari fungal kültürlerin varlığı ile endojen olabilir.

2.3.6. Aflatoksin Belirleme Yöntemleri

Süt ürünlerinde AFM₁'in belirlenmesine yönelik bazı yöntemler vardır ve yöntemin seçiminde güncel standartlarla uyumlu olduğundan emin olmak için duyarlılık, kesinlik ve yöntemin güvenilirliği gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. AFM₁ analizi, örnekleme, örnek hazırlama, arındırma ve analiz (tanımlama ve miktar belirleme) adımlarına dayanmaktadır.

Ekstraksiyon ve arındırma adımlarından (uygulanabildiği yerde) sonra aflatoksin miktarının belirlenmesi gerekir. Son 10 yıl süresince süt ürünlerinde AFM₁ miktarının belirlenmesi amacıyla bazı yöntemler geliştirilmiştir ve halen kullanılmaktadır (Mulunda ve ark, 2013). İnce tabaka kromatografi (TLC), 1990'dan beri aflatoksinlerin analizi için standart

bir AOAC yöntemidir. Gıda ürünlerinde miktar tayini analizi ve kalite kontrol amacı ile dünya genelinde kullanılmaktadır (Rahmani ve Jinap, 2009; Espinoza-Calderon ve ark, 2011; Iqbal ve ark, 2015).Yüksek performanslı ince tabaka kromatografi (HP-TLC), TLC'den geliştirilmiştir. TLC ve HP-TLC arasındaki en önemli farklılık, durağan fazdaki partikül boyutları, örneklere uygulama yapılması esnasında kullanılan özen ve elde edilen verilerin işlenme tarzıdır (Espinoza-Calderon ve ark, 2011; Ketney ve Santini, 2017). TLC'deki başka bir varyasyon aşırı basınçlı tabaka kromatografisi (OPLC) kullanımınıdır. Bu teknik, HPLC ve TLC'nin faydalı yönlerini bir araya getirmek üzere tasarlanmıştır (De Saager, 2011). TLC yönteminin zayıflığı, mikotoksin konsantrasyonunu kusursuz belirleme konusundaki sorunlardır (Mulunda ve ark, 2013). Bu nedenle TLC temelli tarama yöntemlerinin sütte AFM₁ için geniş bir ölçeğe uygulanıyor olmasına rağmen (Fallah, 2010; Kamkar, 2005), yeterli bir LOQ sağlayamadıklarından kullanım olanakları düşüktür (Espinoza-Calderon ve ark, 2011, Ketney ve Santini, 2017). Tarama yöntemleri arasında AFM₁ tayini için ELISA, basitliği, duyarlılığı ve uyarlanabilir olması nedeniyle pastörize ve UHT süt, bebek maması, süt tozu, yoğurt, dondurma ve peynir gibi farklı gıda matrislerinde en sık olarak kullanılanlardan biridir (Sarımehmetoğlu ve ark, 2004; Motawee ve McMahon, 2009; Hussain, 2011; Mohamadi Sani ve ark, 2012; Ketney ve Santini, 2017). Biyoassayler, mikotoksin belirlenmesine yönelik kimyasal analizden önce hızlı bir tarama prosedürü olarak gittikçe artan oranda kullanılmaktadır (Hymery ve ark 2014). AFM₁ belirlenmesine yönelik immünoassay tarama ölçümleri, enzyime-linked immunosorbent assays (ELISAs), elektrokemilüminesans ile belirlemeyi kapsayan immünokimyasal ölçümler (ECL-IA), florimetrik dedektörlü ELISA ve daha yakın zamanda da biyosensör ölçümler en sık kullanılanlar arasındadır (Matabaro ve ark, 2017; Santos ve ark, 2019). Magliulo ve ark (2005), 0,001µg/L'ye ulaşan daha spesifik bir kemilüminesans ölçüm tekniğini bildirmişlerdir. Son iki adımdan sonra mikotoksinlerin miktarı belirlenir. Bu bileşiklerin belirlenmesine ve miktar tayinine izin veren çeşitli yöntemler bulunmaktadır ve en güncel yöntemler kromatografik yöntemler ve biyoassayler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Hem kromatografik yöntemler hem de biyoassayler AFM₁ varlığını belirleyebilir; ancak bioassayler taramalar için yaygın olarak kullanılan tekniklerdir. Çünkü immünolojik yöntemler, yanlış pozitif sonuçlara sebep olabilir. Bu durum antikorların, karşı geliştikleri antijenlere spesifik olmalarına rağmen diğer maddelerle de reaksiyona girebilmelerinden dolayıdır. Bu sebeple ELISA gibi immünolojik yöntemlerin kullanımı, çalışma altındaki toksinle kontamine olan örnekleri diğer örneklerden ayırmak için bir başlangıç aşaması olarak kullanılabilir. Bunun ardından sonuçları doğrulamak için diğer yöntemler kullanılmaktadır.

Çalışmalarda alıntı yapılan bazı yöntemler arasında süt ürünlerinde AFM₁'in belirlenmesine yönelik en uygun yöntemlerin, floresan dedektörlü veya kütle spektroskopisi ile eşleştirilmiş kromatografik yöntemlerden biri olduğu bildirilmektedir. Bunun ardından sonuçları doğrulamak için diğer yöntemler kullanılmaktadır. Çalışmalarda alıntı yapılan bazı yöntemler arasında süt ürünlerinde AFM₁'in belirlenmesine yönelik en uygun yöntemlerin, floresan dedektörlü veya kütle spektroskopisi ile eşleştirilmiş kromatografik yöntemlerden biri olduğu bildirilmektedir (Andrea Vaz ve ark, 2020). Son yıllarda mikotoksijenik mantarların belirlenmesine yönelik Polimerize Zincir Reksiyonu (PCR) kullanımı uygulanmaktadır (Stark, 2010). Bhatnagar ve ark (2006) AF'lerin üretimi ve düzenlenmesi süreçlerinde en az 25 genin, yer aldığını göstermiştir. Tarama yöntemleri arasında enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), AFM₁ için en sık kullanılan bir tarama yöntemidir (Sarimehmetoğlu ve ark, 2004b). Yöntem, yarışmalı ELISA'ya göre değişmemektedir. ELISA mikrotitreli pleytler, AFM₁'e karşı bağlı bir antikor ile kaplanmışlardır ve belirleyici reaktif, bu mikotoksin ve genellikle horseradish peroksidaz veya alkalın fosfataz enziminin kovalent bir kompleksidir. Reaktif, mikotoksin ekstrakt örneği ile karıştırılır ve karışım kuyucuklarda bırakılır. Kontrol kuyucuğunda (örnekte mikotoksin yokluğu için), mikotoksin-enzim konjugatı, bağlı antikorun doyurabilir ve kromojenik bir substratın eklenmesi ile renk gelişimi olur. Test kuyucuğunda ekstrattaki serbest mikotoksin molekülleri, bağlı antikor için konjugatla yarışır. Daha yüksek mikotoksin konsantrasyonu, daha az konjugat, bağlı antikorla reaksiyona girebilir ve daha zayıf renk gelişimi oluşur. Yarışmalı ELISA, LC-MS metoduna benzer. Ancak 0.05 µg/L'den düşük konsantrasyonlarda olmak üzere ELISA'nın çapraz etkileşimlerden dolayı, tam olarak güvenilir olmamasına dikkat etmek gerekir (Stark, 2010). ELISA basit olmasına rağmen, uzun inkübasyon süresi, birkaç kez yıkama ve karıştırma aşaması gerektirmesi gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Buna dayanarak son yıllarda süt ve süt ürünlerinde AFM₁'in daha iyi belirlenmesine yönelik birkaç modifiye ELISA yöntemi geliştirilmiştir (Ketney ve Santini, 2017, Matabaro ve ark, 2017). Ticari olarak piyasada mevcut kompetatif immünoassay formatına dayanan ELISA kitleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (Liquid chromatography-mass spectrometry/LC-MS), sıvı kromatografinin (veya HPLC) fiziksel ayırma yeteneklerini kütle spektrometrisinin (MS) kütle analizi yetenekleriyle birleştiren analitik bir kimya tekniğidir. Birleştirilmiş kromatografi - MS sistemleri, kimyasal analizde popülerdir çünkü her tekniğin bireysel yetenekleri sinerjik olarak geliştirilmiştir. Sıvı kromatografi, birden çok bileşenli karışımları ayırırken, kütle spektrometresi, yüksek moleküler özgüllük ve algılama hassasiyeti ile ayrı bileşenlerin yapısal kimliğini sağlar. Bu ikili teknik, çevresel ve biyolojik kaynaklı

karmaşık örneklerde yaygın olarak bulunan biyokimyasal, organik ve inorganik bileşikleri analiz etmek için kullanılabilir. Bu nedenle, LC-MS, biyoteknoloji, çevre izleme, gıda işleme ve ilaç, tarım kimyası ve kozmetik endüstrileri dahil olmak üzere çok çeşitli sektörlerde uygulanabilir (Claus, 2014). Sıvı kromatografi ve kütle spektrometrisi cihazlarına ek olarak, bir LC-MS sistemi, ayrılmış bileşenleri LC kolonundan MS iyon kaynağına verimli bir şekilde aktaran bir arayüz içermektedir. Bu arayüz gereklidir çünkü LC ve MS aygıtları temelde uyumsuzdur. Bir LC sistemindeki mobil faz basınçlı bir sıvı iken, MS analizörleri genellikle yüksek vakum altında çalışır (yaklaşık 10^{-6} Torr / 10^{-7} "Hg). Bu nedenle, eluatu LC kolonundan MS kaynağına doğrudan pompalamak mümkün değildir. Genel olarak, arayüz, maksimum miktarda analiti aktaran, LC'de kullanılan mobil fazın önemli bir bölümünü ortadan kaldıran ve kromatografi ürünlerinin kimyasal kimliğini (kimyasal olarak inert) koruyan, LC-MS sisteminin mekanik olarak basit bir parçasıdır. Bir gereklilik olarak arayüz, MS sisteminin iyonlaştırma verimine ve vakum koşullarına müdahale etmemelidir. Günümüzde, en yaygın olarak uygulanan LC-MS arayüzleri, elektrosprey iyonizasyon (electrospray ionization/ESI), atmosferik basınçlı kimyasal iyonizasyon (atmospheric-pressure chemical ionization/APCI) ve atmosferik basınçta foto-iyonizasyon (atmospheric pressure photo-ionization/APPI) gibi atmosferik basınç iyonizasyon (atmospheric pressure ionization/API) stratejilerine dayanmaktadır (Pitt JJ, 2009).

2.3.7. Süt Ürünlerinde Aflatoksinler ile İlgili Yasal Düzenlemeler

AF'ler için dünya genelinde tolere edilebilir sınırlar, 10-20 ppb arasında değişmektedir. Whitlow ve ark. (2010), laktasyondaki süt sığırlarının beslenmesinde rasyon kuru maddesinde 20 ppb AFB₁ konsantrasyonunun bulunması, sütte FDA'in izin verdiği 0,5 ppb'lik sınırın altında AFM₁ seviyeleri ile sonuçlanacağını belirtmiştir. Avrupa Birliği ve diğer bazı ülkeler, süt için kabul edilebilir AFM₁ seviyesini 0.05 ppb olarak belirlemiştir.

Tablo 2. Farklı ülkelere ait AFM₁ ile ilgili yasal düzenlemeler (Vaz ve ark, 2020)

Ülke	Süt (µg/kg)	Süt Ürünü (µg/kg)
Arjantin	0,05	0,50 süt ürünleri; 0,25 peynir
Brezilya	0,5	5 süt tozu; 2,5 peynir
Çin	0,5	0,5 süt ürünleri
Mısır	0	0
Honduras	0,05	0,250 peynir
İran	0,05	0,50 süt tozu; 0,020 tereyağı; 0,250 peynir
Nijerya	1	Belirtilmemiş
İsviçre	0,05	0,25 peynir
Türkiye	0,05	0,25 peynir
Amerika	0,5	Belirtilmemiş
	0,05; süt	0,5
Avrupa Birliği	0,025; yeni doğan ve küçük çocuk gıdalarında katkı maddesi olarak süt	
Avusturya	0,01; yeni doğan pastörize sütü	0,020 tereyağı; 0,25 peynir; 0,40 süt tozu
Fransa	0,03; 3 yaşından küçük çocuklar için	
İtalya		0,25 yumuşak peynirler; 0,45 sert peynirler
Hollanda		0,020 tereyağı; 0,20 peynir

Tablo 3. Türkiye’de ilgili yasal düzenlemeler ile AFM₁ limitleri

Gıda	Maksimum Limit
Aflatoksin M ₁	
Çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt ¹	0,050 µg/kg; ppb 50 ng/kg; ppt
Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil) ¹	0,025 µg/kg; ppb 25 ng/kg; ppt
Peynir ²	0,25 µg/kg; ppb 250 ng/kg; ppt

¹:Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğine göre (2011)²: Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğe göre (2002)

Koyun ve keçi sütlerinin büyük kısmı peynir yapımı için işlenmesi sebebiyle, bu sütlerde potansiyel bulunabilecek AFM₁’in kazeine bağlanma ilgisinin olmasından dolayı ile peynirlerde AFM₁ riski önem kazanmaktadır (Battacone ve ark, 2005).

Bu çalışma; Çanakkale iline bağlı 9 ilçeden, starter kültür kullanılmadan üretilmiş ve yerel pazarlarda satışa sunulan keçi peynirlerinde aflatoksin M₁ (AFM₁) düzeylerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarla, bu peynirlerin halk sağlığı açısından bir risk taşıyıp taşımadığı açısından önerilerde bulunulmuştur.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Peynir Numunelerinin Toplanması

Çalışmada analiz edilecek keçi peyniri numuneleri 2018 yılında Çanakkale ilinin 9 farklı ilçesinde (Ayvacık, Bayramiç, Biga, Çan, Eceabat, Ezine, Gelibolu, Lapseki ve Yenice) kurulan yerel halk pazarlarında açıkta satışa sunulan keçi peynirlerden rastgele örnekleme yöntemi ile seçilmiştir (Tablo 4). Toplamda 9 farklı ilçeden 16 ayrı kaynaktan toplamda 82 (seksen iki) adet keçi peyniri numunesi, en az 150 g olacak şekilde steril stomacher poşetlerine alınarak +4°C'lik soğuk zincirde laboratuvara getirildi ve -18°C'de depolandı. Numunenin alınmasını takiben 3 gün içerisinde analize alındı.

Tablo 4. Peynir Numunesi Alınan İlçeler ve Numunelerin % Dağılımı

No	İlçe	Numune sayısı	Toplam numune sayısına göre %
1	Ayvacık	10	12,20
2	Bayramiç	12	14,63
3	Biga	8	9,77
4	Çan	5	6,98
5	Eceabat	5	6,98
6	Ezine	16	19,51
7	Gelibolu	16	19,51
8	Lapseki	5	6,98
9	Yenice	5	6,98
	TOPLAM	82	100,00

3.2. Yöntem

3.2.1. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Prensipli

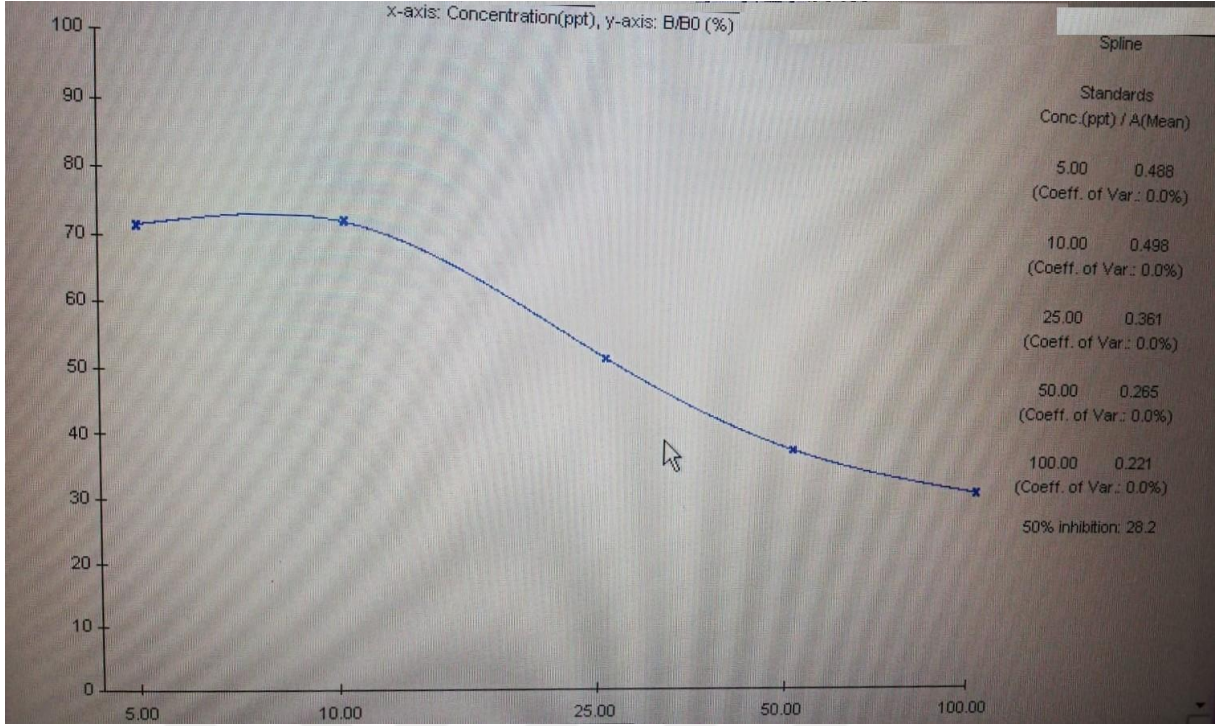
Toplanan her bir peynir örneğinden 1 g alınıp 5 mL saf metanol ile 5 dk karıştırıldı. Karışım 5000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra, üstte toplanan süpernatanttan 0,5 mL alındı ve aynı miktarda yağsız süt ilavesi ile birlikte 1 dk vortekslendi. Bu üründen, 5 dk beklenilmesinden sonra 200 µL alındı ve ELISA test kiti (Aflatoxin M₁ Assay, Helica Biosystems Inc., Santa Ana, CA) ile üretici firma talimatları doğrultusunda analize alındı.

Ölçüm ise fotometrik olarak 450 nm'de ELISA okuyucuda (MR-96A; Mindray Medical Germany GmbH, Bensheim, Germany) yapılmıştır. AFM₁ test kitinin 2 ng/kg olan tespit edilebilir absorban değerleri, Helica Biosystems Inc. proramında değerlendirilmiştir (Temamogullari ve Kanici, 2014).

3.2.3. Ölçüm Prosedürü

Analiz prosedürü üretici firmanın talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Kullanım öncesi tüm reaktifler oda ısısına (19-25°C arası) getirilmiştir. Yalıtımlı paket açılmış ve içerisinden test edilecek standart ve örnek sayısına uygun sayıda kuyucuk çıkarılmıştır. Standart solüsyonlar (0, 5, 10, 25, 50 ve 100 ppt (ng/L) konsantrasyonda AFM₁ içeren solüsyonlar) ve hazırlanan peynir örnekleri için yeterli sayıda kuyucuk hazırlanmıştır.

Kuyucuklarda dublike (çiftli) çalışma planlandı ve her örnekte pipet uçları değiştirilmek suretiyle ayrılan her bir kuyucuğa 200 mikrolitre (µl) standart veya örnek dağıtılmıştır. Örneklerin buharlaşmanı önlemek ve UV ışınlarından korumak amacıyla pleytin üzeri yalıtım bandı ile kapatılarak 2 saat oda ısısında (19-25°C) inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda kuyucuklarda bulunan sıvı, uygun bir kaba boşaltılmış, çok kanallı bir pipet yardımıyla tüm kuyucuklar PBS Tween 20® ile doldurularak yıkanmıştır. Yıkama solüsyonları kuyucuklardan boşaltılmış, bu işlem üç tekrar edilmiştir. Son yıkama işleminde yıkama tamponunun tamamen uzaklaştırılması için emici bir kağıdın üzerine ters yüz edilmiştir. Her bir kuyucuğa 100 µl konjugat eklenmiştir. Pleytin üzeri yalıtım bandı ile tekrar kapatılmış ve oda ısısında 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Yıkama adımı tekrarlanmıştır. Her bir kuyucuğa 100 µl enzim substratı (TMB) eklenerek 15-20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 100 mikrolitre stop solüsyonu eklenmiş, mavi renk sarıya döndüğü gözlenmiştir. Kit pleyti, Biotek Instruments Inc marka ELx50 Auto Strip Washer model mikropleyt okuyucusunda marka mikropleyt okuyucusuna yerleştirilerek hava körüne karşı veya 630 nm dalga boyunda bir ayrıştırıcı filtre kullanılarak 450 nm dalga boyunda optik dansitesi okunmuştur.



Şekil 3. Aflatoksin M1 Standardı Kalibrasyon Eğrisi

Şekil 3’de yer alan kalibrasyon eğrisi hazırlanırken ticari kit paketi ile temin edilen stabilize süt tozu içerisindeki 0, 5.0, 10.0, 25.0, 50.0 ve 100.0 ng/mL (ppt) konsantrasyonlardaki Aflatoksin M₁ standardı kullanıldı. Standartlar için tahsis edilen kuyucuklara numune yerine sırayla kitin içerisinde çıkan standartlardan eklendi ve aynı işlem prosedürü tekrarlandı. Sonrasında elde edilen absorbans değerleri kullanılarak standart kalibrasyon eğrisi hesaplandı ve numunelerdeki aflatoksin içeriğinin hesaplanmasında bu eğri baz alındı.

Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrofotometresi (LC-MS) ölçümü ile ilgili koşullar, aşağıdaki Tablo 5’de verilmiştir (Kamel ve ark, 2017).

Tablo 5. LC-MS Koşulları

Kolon	Optima ODS-H, 50 mm x 2.1 mm x 3 µm particle size
S/N	ODS-H-OL3-36550
B/N	2122/1414
Mobil faz	10 mM of asetonitril, metanol ve amonyum asetat (sırasıyla 2:6:15 oranlarında)
Akış hızı	0.2 mL/dk
Kolon sıcaklığı	40°C
Prob voltajı	4.5Kv
İyonizasyon	ESI-pozitif mod
Desolvasyon sıcaklığı	350°C
İyon kaynağı sıcaklığı	120°C
Desolvasyon gaz akışı	350 L/saat
Koni gaz akışı	50 L/saat
Tarayıcı aralığı	200–400 m/z
SIM görüntüleme iyonları	329.1 m/z
Sistem	Kuaterner pompa ve Waters örnek yöneticili Waters 2695 ayırma modülü (Waters, Milford, MA, ABD)
Kütle dedektörü	Waters Micromass ZQ MS detektör

4. BULGULAR

Bu çalışmada toplam 82 adet keçi peyniri örneği kullanılmıştır. Yapılan ELISA analiz sonucuna göre pozitif örneklerdeki Aflatoksin M₁ (AFM₁) konsantrasyonları (ppt) ve grup ortalamasından sapma yüzdeleri (%) Tablo 5’de, AFM₁ pozitif örneklerin konsantrasyon (ppt) dağılım aralıkları ve TGK limitini aşan örnek sayısı Tablo 6’da ve incelenen örnek grubunun minimum, maksimum ve ortalama AFM₁ miktarları (ppt) ve grubun standart sapması (SD) da Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 6. ELISA Analiz Sonucuna Göre Pozitif Örneklerdeki Aflatoksin M₁ (AFM₁) Konsantrasyonları (Ppt) ve Grup Ortalamasından Sapma Yüzdeleri (%)

+ Örnek no	AFM ₁ konsantrasyonu (ppt)	Sapma miktarı (ppt, ng/L)	Sapma yüzdesi (%)
1	5,73	-3,43	-37,45
2	11,01	+1,85	+20,20
3	5,79	-3,37	-36,80
4	8,07	-1,09	-11,90
5	11,55	+2,39	+26,09
6	6,65	-2,51	-27,40
7	9,57	+0,41	+4,48
8	8,64	-0,52	-5,68
9	7,98	-1,18	-12,88
10	8,36	-0,8	-8,73
11	8,50	-0,66	-7,21
12	7,78	-1,38	-15,07
13	6,71	-2,45	-26,75
14	14,21	+5,05	+55,13
15	7,98	-1,18	-12,88
16	5,68	-3,48	-37,99
17	8,64	-0,52	-5,67
18	8,68	-0,48	-5,24
19	13,17	+4,01	+43,78
20	18,57	+9,41	+102,73

Tablo 6 incelendiğinde, ELISA analiz sonuçlarına göre 82 keçi peyniri numunesinin sadece 20 tanesinde belirlenebilir düzey üzerinde AFM₁ ölçülmüştür ve tabloda sadece bu veriler yer almıştır. Pozitif özellik gösteren her bir değer, grup ortalamasından sapma değeri

hesaplanmış, grup ortalamasının üzerinde olan değerlerin önüne artı (+), altında olan değerlerin önüne ise eksi (-) işareti konmuştur (Şekil 4-5).

Tablo 7. ELISA- AFM1 Pozitif Örneklerin Konsantrasyon (ppt) Dağılım Aralıkları ve TGK Limitini Aşan Örnek Sayısı

	Örnek sayısı (n=82)				
	AFM ₁ miktarına göre (ppt) örneklerin dağılımı			Pozitif	TGK limitini aşan
	<5 veya TE	5-250	>250		
N ¹	62	20	0	20	0
% ²	%75,61	%24,40	%0	%24,40	%0

TE: Tespit edilmedi

¹: Analiz edilen numune sayısı

²: Toplam numune içindeki yüzdesi

Tablo 8. ELISA ile İncelenen örnek grubunun minimum, maksimum ve ortalama AFM₁ miktarları (ppt) ve Grubun Standart Sapması (SD)

Konsantrasyon ^a			Standart Sapma (SD)
Minimum	Maksimum	Ortalama	
5,68 ^a	18,57 ^a	9,16 ^a	3,20

^a: ppt

Ridasoft Win - [Helica M1, filter: 450]

File Edit Results View Window Help

Standards

Ser. No.	Concentration ppt	Absorbance (Mean) (CV)	B60 (%)	calculated ppt	Deviation (%)
1	0.00	2.357 0.0	100.0		
2	5.00	2.082 0.0	88.3	5.03	0.6
3	10.00	1.981 0.0	84.0	9.99	0.1
4	25.00	1.552 0.0	65.8	24.90	0.4
5	50.00	0.964 0.0	40.9	50.27	0.5
6	100.00	0.589 0.0	25.0	99.71	0.3

Samples

Ser. No.	ID	Absorbance (Mean) (CV) (%)	calculated ppt	*	=	ppt
1		2.353 0.0 99.8	+5.00	1.00		+5.00
2		2.106 0.0 89.4	+5.00	1.00		+5.00
3		2.188 0.0 92.8	+5.00	1.00		+5.00
4		2.275 0.0 96.5	+5.00	1.00		+5.00
5		2.290 0.0 96.7	+5.00	1.00		+5.00
6		2.373 0.0 100.7	+5.00	1.00		+5.00
7		2.346 0.0 99.5	+5.00	1.00		+5.00
8		2.313 0.0 98.1	+5.00	1.00		+5.00
9		2.376 0.0 100.8	+5.00	1.00		+5.00
10		2.239 0.0 95.0	+5.00	1.00		+5.00
11		2.263 0.0 96.0	+5.00	1.00		+5.00
12		2.302 0.0 101.1	+5.00	1.00		+5.00
13		2.376 0.0 100.8	+5.00	1.00		+5.00
14		2.489 0.0 105.6	+5.00	1.00		+5.00
15		2.399 0.0 101.8	+5.00	1.00		+5.00
16		2.441 0.0 103.6	+5.00	1.00		+5.00
17		2.465 0.0 104.6	+5.00	1.00		+5.00
18		2.304 0.0 97.8	+5.00	1.00		+5.00
19		2.266 0.0 96.1	+5.00	1.00		+5.00
20		2.231 0.0 94.7	+5.00	1.00		+5.00
21		2.336 0.0 99.1	+5.00	1.00		+5.00
22		2.331 0.0 98.9	+5.00	1.00		+5.00

Plate Values | Plate Layout | Method | Comment | Graph | Samples

For Help, Press F1

Başlat | heps | Arama Sonuçları | Ridasoft Win - [Helica... | TR | 18.53

Presario 2800

Ridasoft Win - [Helica M1, filter: 450]

File Edit Results View Window Help

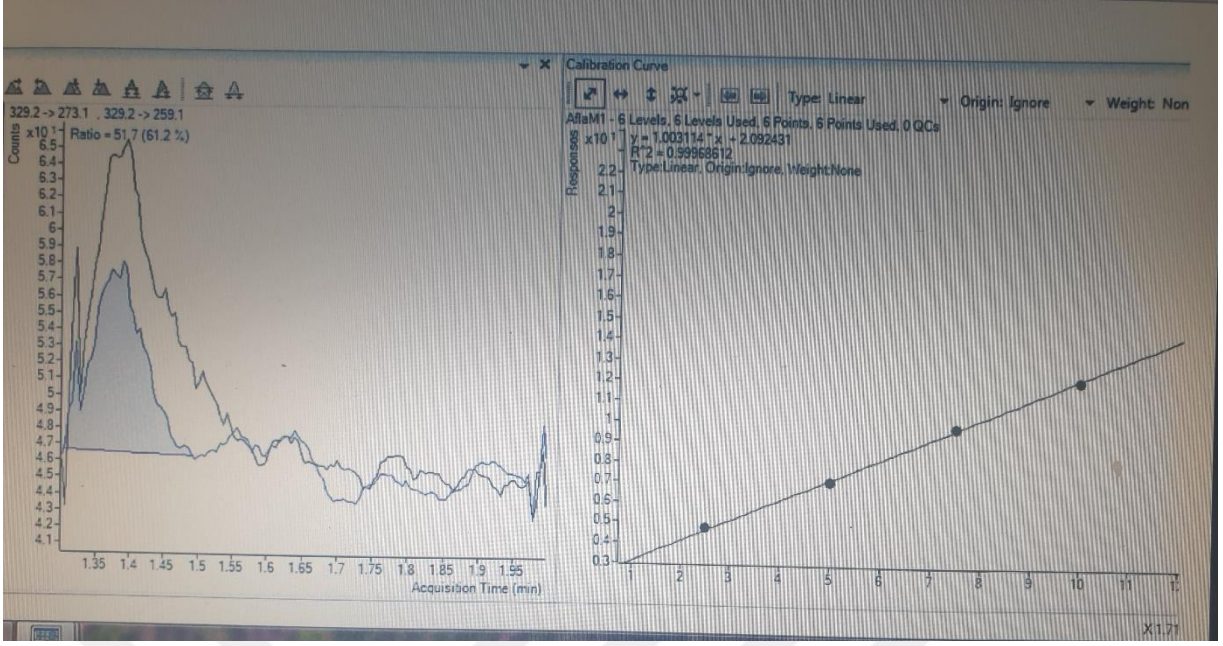
52		2.200 0.0 93.3	+5.00	1.00		+5.00
53		2.227 0.0 94.5	+5.00	1.00		+5.00
54		2.302 0.0 97.7	+5.00	1.00		+5.00
55		2.237 0.0 94.9	+5.00	1.00		+5.00
56		2.211 0.0 93.8	+5.00	1.00		+5.00
57		2.162 0.0 91.7	+5.00	1.00		+5.00
58		1.991 0.0 94.5	9.57	1.00		9.57
59		2.012 0.0 95.4	9.64	1.00		9.64
60		2.026 0.0 86.0	7.98	1.00		7.98
61		2.121 0.0 90.0	+5.00	1.00		+5.00
62		2.180 0.0 92.8	+5.00	1.00		+5.00
63		2.201 0.0 93.4	+5.00	1.00		+5.00
64		2.224 0.0 94.4	+5.00	1.00		+5.00
65		2.202 0.0 93.4	+5.00	1.00		+5.00
66		2.018 0.0 85.6	8.36	1.00		8.36
67		2.119 0.0 89.9	+5.00	1.00		+5.00
68		2.015 0.0 85.5	8.50	1.00		8.50
69		2.141 0.0 90.8	+5.00	1.00		+5.00
70		2.030 0.0 86.1	7.78	1.00		7.78
71		2.142 0.0 90.9	+5.00	1.00		+5.00
72		2.051 0.0 87.0	6.71	1.00		6.71
73		2.124 0.0 90.1	+5.00	1.00		+5.00
74		1.870 0.0 79.3	14.21	1.00		14.21
75		2.064 0.0 88.4	+5.00	1.00		+5.00
76		2.026 0.0 89.0	7.98	1.00		7.98
77		2.161 0.0 91.7	+5.00	1.00		+5.00
78		2.070 0.0 87.8	5.68	1.00		5.68
79		2.012 0.0 85.4	8.64	1.00		8.64
80		2.011 0.0 85.3	8.68	1.00		8.68
81		1.999 0.0 80.6	13.17	1.00		13.17
82		1.743 0.0 73.9	18.57	1.00		18.57

Plate Values | Plate Layout | Method | Comment | Graph | Samples

For Help, Press F1

Başlat | heps | Arama Sonuçları | Ridasoft Win - [Helica... | TR | 18.53

Şekil 4-5. Aflatoksin M₁ ELISA sonuçlarına ait bilgisayar görüntüleri



Şekil 6. Aflatoksin M1'in LC-MS pik görüntüsü

ELISA tekniği kullanılarak analiz edilen keçi peynirlerinden 20 adedinde tespit edilebilir düzeylerde AFM₁ bulunurken bu düzeyler, Türk Gıda Kodeksinde belirtilen düzeyleri geçmemektedir. Bu 20 adet peynir numunesinden rastgele alınan 10 peynir örneği, sıvı kromatografi-kütle spektrofotometri tekniği (LC/MS) ile tekrar incelenmiştir. Bu teknik ile tespit edilebilir düzeylerin (0,2 µg/kg) üzerinde bir sonuç bulunmamış olup buna ait pik görüntüsü Şekil 6'da yer almaktadır.

5. TARTIŞMA

Süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM1 düzeyinin tespiti, halk sağlığı açısından oldukça önem taşımaktadır. Tablo 6, Tablo 7 ve Tablo 8'den anlaşılacağı üzere ELISA ile incelenen peynir örneklerinin %24,40'ında (20/82) değişen konsantrasyonlarda AFM1 saptanmış olup, belirlenen tüm pozitif vakalardaki AFM₁ düzeyleri, Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen limitlerin üzerine çıkmamıştır.

Gücükoğlu ve ark (2010), analiz ettiği süt ve peynir örneklerinin %67'sinde AFM₁'i tespit etmekle birlikte bu tespit ettikleri miktarların %13'ünün, Türk Gıda Kodeksi, gıda maddelerindeki bulaşanların maksimum limitlerini aşan seviyelerde olduğunu bildirmişlerdir. İşleyici ve ark (2011), analiz ettikleri 55 adet Divle Tulum peynirinden 33 tanesinde (%60) değişen düzeylerde AFM₁ tespit etmişler fakat bu düzeylerin hiç birinin yasal sınırları aşmadığını bildirmişlerdir. Yeşil ve ark (2019) ise analiz ettikleri 217 adet peynir numunesinden 26 adedinin (%12) Avrupa Birliği Normlarındaki maksimum düzeyini (250 ng/kg) geçtiğini belirtmiştir. Aksoy ve Sezer (2019), analiz ettikleri 50'şer adet küflü çeçil peyniri, kaşar peyniri ve gravyer peynirinden, sırasıyla 8 (%16), 18 (%36) ve 34 (%68)'ünde değişen oranlarda AFM₁ tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, tespit edilen bu sonuçların Türk Gıda Kodeksinde belirtilen maksimum limitleri geçmediğini bildirmişlerdir.

Güney Afrika'da kırsal geçim kapısı işletmelerden ve ticari çiftliklerden aldıkları süt örnekleri arasında bir karşılaştırma çalışması yapılmıştır (Mwanza, 2012). Analiz edilen örneklerde, kırsal küçük işletmelerden alınan örneklerde AFM₁ kontaminasyonunun %86,0; ticari çiftliklerden alınan örneklerde ise kontaminasyon insidansının %100 olduğunu açığa çıkarmıştır. Kırsal süt örneklerinde AFM₁ kontaminasyonunun ticari çiftliklere nazaran daha düşük frekansta bulunması, ticari çiftliklerdeki hayvanların toksijenik mantar ve aflatoksinlerle kontamine konsantre yem ve silaj ile beslenirken, kırsal işletmelerdeki hayvanların günlük beslenmesinin ticari yemle değil büyük oranda çok az takviye katılmış veya hiç takviye yapılmamış zayıf otlaklarda bulunan dönemsel mahsüllerden arta kalanlara dayanması ile izah edilmiştir (Mwanza, 2007).

Gelişmekte olan ülkelerde yapılan taramalar, analiz edilen çok sayıda süt örneğinde Fransa (Boudra ve ark, 2007), İtalya (Decastelli ve ark, 2007) Portekiz ve İspanya (Martins ve ark, 2005) gibi gelişmiş ülkelerden elde edilen verilere kıyasla yüksek seviyede AFM₁ kontaminasyonu (>0.05 µg/L) bulunduğunu göstermiştir. Gelişmiş ülkelerde elde edilen

sonuçlar, çoğunlukla düşük olup, az sayıda örnekte 0.05 µg/L'lik Avrupa Komisyonu düzenlemesinin üzerinde idi. Bu farklılık, gelişmiş ülkelerde hayvan beslemede kullanılan yemlerin kalitesinin sıkı kontrol getirilmesi ve dolayısı ile aflatoksinle kontaminasyon olasılığını azaltması ile izah edilebilir. Bu düzenlemeler, çoğu gelişmekte olan ülkede henüz yürürlükte değildir.

Montagna ve ark (2008), yapmış oldukları çalışmada koyun sütünden elde edilen 94 peynir örneğinin 12 tanesinde (%12,8), inek sütünden üretilen 92 peynir örneğinin 25 tanesinde (%27,2), koyun ve keçi sütü karışımından üretilen 16 peynirin 5 tanesinde (%31,3), keçi sütünden elde edilen 12 peynirden 2 tanesinde (%16,7) AFM₁ yönünden tespit edilebilir sonuçlar bulurken, manda sütünden üretilen 51 peynirin hiç birisinde tespit edilebilir düzeyde AFM₁ bulamamışlardır.

Prado ve ark (2000), analiz ettikleri Minas peynirlerinden 56 tanesinde (%74,7), 0.02-6.92 ppb düzeyinde AFM₁ tespit edildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca Finoli ve Vecchio (2003), farklı çeşitteki 30 adet peynir numunesinin 4'nde (%13) AFM₁ tespit etmişler, ancak bu tespit edilen miktarın ülke yasal limit sınırı olan 200 ng/kg'ı aşmadığını bildirmişlerdir.

Gürses ve ark (2004), Erzurum ilinde tüketime sunulan 23 adet beyaz peynir, 14 adet kaşar peyniri, 11 adet tulum peyniri, 9 adet civil peyniri ve 6 adet lor peyniri olmak üzere toplam 63 adet peynir örneğini analiz etmişlerdir. İncelenen beyaz peynirlerin %28.08'inde ve toplam örneklerin %44,44'nde AFM₁ tespit edilmiş olmakla birlikte, Türk Gıda Kodeksi yasal limitinin üzerinde AFM₁ içeren örnek bulunmadığını belirtmişlerdir.

Dağoğlu ve ark (1995), 50 adet Van otlu peyniri ile 25 adet beyaz peynir numunesinin %45,2'sinde AFM₁ tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Yaroğlu (2002), Türk Silahlı Kuvvetleri'ne bağlı birliklere temin edilen 300 adet beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirlerinin (100'er adet) %7,66'sında AFM₁ pozitif reaksiyon verirken, %1,66'sının AFM₁ düzeyi, Türk Gıda Kodeksi st limit değeri olan 0,25 ppb'nin üzerinde olduğunu bildirmiştir.

Yaroğlu ve ark (2005), yaptıkları bir çalışmada; Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden temin edilen beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirinden oluşan 600 adet örneğin %5'inde AFM₁ tespit etmişlerdir. Aynı zamanda analiz edilen beyaz peynir örneklerinin %1'inin ve toplam örneklerin %1'inin AFM₁ düzeyi açısından yasal limit değerini aştığı belirtilmiştir.

Günşen ve Büyükyörük (2002), Bursa'daki marketlerden sağlanan farklı çeşitteki 130 adet peynir numunesinin 110'unda (%85,46) AFM₁ tespit ederken pozitif numunelerin 17'sinin (%15,45) AFM₁ düzeyi, yasal limit değerlerini aştığı bildirilmiştir.

Oruç ve Sonal (2001), yapmış oldukları çalışmada ise marketlerden sağladıkları 57 adet beyaz peynir örneğinde, bu peynirlerin %89,47'sinde AFM₁ tespit etmişler ve incelenen bu peynirlerin %12,28'indeki AFM₁ düzeyinin Türk Gıda Kodeksi yasal limit değerleri aştığını bildirmişlerdir.

Ayçiçek ve ark (2002), İstanbul'da askeri birliklere alınan 186 adet beyaz peynir ve 64 adet tereyağı örneğini incelemişler ve sırasıyla %65 ve %81'inde AFM₁ tespit etmişlerdir. Bunlardan beyaz peynirlerin %19'u ile tereyağlarının %31'indeki AFM₁ düzeylerinin, Türk Gıda Kodeksi limit değerlerini aştığını bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızla paralel özellikte olacak şekilde, Gürbüz ve ark (1999), analiz ettikleri 150 adet peynirde, Gürses ve ark (2004), 11 adet tulum peynirinde, yasal limitlerin üzerinde AFM₁ tespit etmemişlerdir. Farklı şekilde Sarımehmetoglu ve ark. (2004), 100 adet tulum peyniri numunelerinden %24'ünün yasal limitlerin üzerinde AFM₁ içerdiğini belirtmişlerdir. Aynı şekilde Aksoy ve Sezer (2019), analiz ettikleri 50'şer adet küflü çeçil peyniri, kaşar peyniri ve gravyer peynirinden, sırasıyla 8 (%16), 18 (%36) ve 34 (%68)'ünde değişen oranlarda AFM₁ tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, tespit edilen bu sonuçların Türk Gıda Kodeksinde belirtilen maksimum limitleri geçmediğini bildirmişlerdir.

Alkan ve Gönülalan (2006), Amasya ilinde satışı sunulan beyaz peynirlerde AFM₁ varlığı, rutubet ve asidite arasındaki ilişkileri inceleyen çalışmalarında, ELISA yöntemi ile belirledikleri AFM₁ değerlerinden 50 örnekten sadece bir tanesinin TGK sınırları üzerinde olduğunu (%2), AFM₁ içeriği ile rutubet ve asidite özellikleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamadığını belirtmişlerdir.

Bakırcı (2001) ve Battacone ve ark (2005), koyunlarda yemlerle alınan AFB₁ miktarının, sütlerdeki ve bu sütlerden yapılan peynir ve peynir altı suyundaki AFM₁ miktarına doğrudan etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda sütte bulunan AFM₁'in stabilitesinin yüksek olduğu ve süte uygulanan ısı işlemler ile peynir yapım basamaklarında uygulanan işlemlerden etkilenmediği ve peynirlerde de bulunmaya devam ettiği bilinmektedir (Yaroğlu ve ark, 2005; Tekinşen ve Uçar, 2008). Daha önce yapılan çalışmalarda koyun sütü ve koyun sütünden üretilen peynirin, inek sütü ve inek sütünden üretilen peynirinden daha düşük oranlarda AFM₁ içerdiği belirtilmiştir (Montagna ve ark, 2008; Rahimi ve ark, 2010; Hussain ve ark, 2010). Bununla ilgili çeşitli hipotezler öne sürülmüş olup, detaylı olarak incelenmeleri gerekmektedir.

Çeşitli çalışmalar ile tespit edilmiş olan farklı düzeylerdeki AFM₁ oranları, peynir üretiminde kullanılan sütlerin farklı kaynaklardan temin edilmesine ve bu hayvanların da farklı rasyonlara sahip olmasına bağlanabilir. Peynir numunelerinde tespit edilen AFM₁ oranlarının diğer peynir çeşitlerinden farklı çıkmasının nedeni ise peynir yapımında hammadde olarak kullanılan sütün farklı oranlarda ve farklı hayvan türlerinden elde edilmesine bağlanabilmektedir. Ülkemizde ve dünyada tüketilen peynir çeşitlerinin üretiminde kullanılan tekniklerin birbirinden farklı olması da örneklerin farklı yöntem ya da metotlar ile incelenmesinden dolayı da AFM₁ seviyeleri farklı sonuçlar vermektedir (Bakırcı, 2001; Ardıç ve ark, 2009).

Son yıllarda Kars ilinde tüketime sunulan çiğ inek sütü, küflenmiş çeçil, kaşar ve gravyer peyniri örneklerinde AFM₁ kontaminasyonu değerlendirmek için yapılan bir analiz çalışmasında; ELISA yöntemi kullanılarak 200 peynir örneği incelenmiştir. Analizler sonunda küflenmiş çeçil, kaşar ve gravyer peyniri örneklerinin sırasıyla 8 (%16), 18 (%36) ve 34 (%68)'ünde belirlenebilen düzeyde AFM₁ ölçülmüştür. Ancak pozitif bu örneklerin tamamının AFM₁ açısından Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Komisyonu'nca izin verilen limitlere uygun olduğu belirlenmiştir. Çiğ sütteki AFM₁ seviyesinin incelenen peynir örneklerine nazaran düşük bulunduğu ve bunun da muhtelemen daha önceki çalışmalara atıfla aflatoksinin kazanına olan ilgisinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Aksoy ve Sezer, 2019).

Türk Gıda Kodeksi'nde çiğ süt, ısıtılmış süt, süt temelli ürünlerin üretiminde kullanılan süt için AFM₁ maksimum limit değeri 50 ng/kg olarak belirtilmiştir (Türk Gıda Kodeksi, 2011). Peynirler için AFM₁ maksimum limit değeri hem ülkemiz hem de Avrupa Birliği Komisyonu'nda 250 ng/kg olarak kabul etmektedir. Buna göre incelediğimiz peynir örneklerinin tamamının Türk Gıda Kodeksi ve Avrupa Komisyonu tarafından izin verilen yasal limitlere uygun olduğu belirlenmiştir.

Karadeniz bölgesinde vakumlu kaşar peyniri örneklerinde AFM₁ seviyelerini araştıran bir çalışmada, AFM₁ düzeyleri HPLC ile analiz edilmiş ve pozitif örneklerin %11,11'inin Türk Gıda Kodeksi'ne göre kabul edilebilir maksimum sınırların üzerinde olduğu bulunmuştur (Gül ve Dervişoğlu, 2014).

Torkar ve Vengust (2007), soğuk mevsimlerde üretilen çiğ süt örneklerindeki AFM₁ konsantrasyonlarının, sıcak mevsimlerde üretilen ürünlerdeki seviyelerden daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Yine benzer şekilde Ghiasian ve ark (2006), yaz ve kış mevsimlerinde toplanan 186 süt örneğinde AFM₁ varlığının sırasıyla %56,6 ve %71,8 olduğunu belirlemiştir.

Bu durumun muhtemel nedeni, kış aylarında hayvanların AF üreme ihtimali bulunan depolanmış yem ile beslenmesine bağlanabilir.

Diyarbakır İli'nde çeşitli peynir örneklerinde ELISA yöntemi ile AFM₁ varlığını araştıran bir çalışma, peynir örneklerinin %11,98'inin, süt örneklerinin %53,84'ünün ve tereyağı örneklerinin %83,34'ünün belirlenen AFM₁ seviyesinin Avrupa Komisyonu ve Türk Gıda Kodeksi'nin izin verdiği sınırları aştığı (Yeşil ve ark, 2019).

Buraya kadar ülkemizde çeşitli özelliklere sahip peynir örneklerinde AFM₁ varlığının taranmasına yönelik yapılan araştırma bulguları incelendiğinde peynirlerle ilgili çok farklı araştırma sonuçlarına ulaşıldığı görülmektedir. AFM₁'in baskın bir şekilde kazein ile ilgili olduğu bilinmektedir. Bu nedenle peynir pıhtısında AFM₁ konsantrasyonu peynir altı suyuna göre daha yüksektir. AFM₁'in kazeine olan ilgisi, peynir yapımı sırasında AFM₁ için bir zenginleştirme faktörü olarak ifade edilmektedir. Yapılan çalışmalar AFM₁ konsantrasyonunun birçok yumuşak peynirde yaklaşık üç kat, sert peynirlerde ise yaklaşık beş kat süttten daha fazla olduğunu göstermiştir. Bazı çalışmalar, peynirin olgunlaşmasının ve kazeinin proteolizinin, doğal olarak kontamine süttten AFM₁'in geri kazanımını arttırdığını göstermiştir. Prandini ve ark. (2009) bunu; proteolizin, AFM₁ oluşumuna neden olan kazein ilişkili moleküller üzerindeki hidrofobik bölgeleri etkileyebileceği şeklinde yorumlamışlardır (Prandini ve ark. 2009). Toksini ekstrakte etme tekniği, analiz yöntemi, türü, konsantrasyonu, peynir yapımında kullanılan süttün kalitesi ve sonuçların değerlendirilme yönteminin de belirlenen AFM₁ konsantrasyonunu etkilediği yapılan araştırmalar sonucunda gösterilmiştir (Bulca ve Bircan, 2013).

Bununla birlikte ülkemizde yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanılarak AFM₁ varlığını araştıran çalışmalar da bulunmaktadır. Turgay ve ark (2010), 46 adet yarı sert peynir örneğinde (22 adet inek, 18 adet keçi, 6 adet koyun süttünden yapılmış) AFM₁ varlığını ortaya koymuştur. Koyun peynirlerinde AFM₁ bulunmazken, inek ve keçi peynirlerinin 32 tanesinde 0,069-1,2 ng/g ve 0,06-0,22 ng/g oranında AFM₁ tespit edilmiştir. Baygeldi ve Tanyıldızı (2018), inceledikleri 60 adet çiğ süt numunesinin 16'sının (%27) AFM₁ içermediği, 36'sının (%60) yasal sınırlar içinde AFM₁ içerdiği ve geri kalan 8'inin (%13) ise yasal sınırların üstünde AFM₁ içerdiğini tespit etmişlerdir. Dinçel ve ark. (2012), 20'şer adet Civil, Mihalıç, Otlu peynirleri, Kars kaşarı ve Urfa peynirlerinde AFM₁ varlığını araştırmış ve sadece Urfa peynirinin 10 adedinde (%50) yasal limitleri geçmeyen oranda bu toksini belirlemişlerdir. Aksoy ve ark (2016), ELISA ve HPLC teknikleri ile analiz ettikleri 40 adet tereyağı numunesinde AFM₁'i tespit edememişlerdir. Yılmaz ve Altıncı (2019), immunoaffinite kolon ile saflaştırıldıktan sonra HPLC ile analiz ettikleri süttlerin %61,5'inde,

beyaz beynirlerin %40'ında, kaşar peynirlerin %65,4'ünde ve tereyağların %29,6'sında AFM₁ tespit ederken 53 örnekte (%50,96) AFM₁ tespit edilmemiştir. Tespit edilen bu 51 örnekteki (%49.04) AFM₁ değerleri 2,4 – 47,8 ng/L/kg değerleri arasında bulunurken bu düzeylerin Türk Gıda Kodeksi sınırlarını aşmadığı (50 ng/L/kg) bildirilmiştir.

LC-MS tekniği güncel bir teknik olup, artık süt ve süt ürünlerinde AFM₁ varlığının konfirme edilmesinde HPLC tekniğinin yerini almaktadır. Peynir örneklerinde AFM₁ varlığını ve seviyelerini ELISA ile araştıran pek çok çalışmanın bulguları tam anlamıyla kendi aralarında uyuşmadığı gibi bizim bulgularımızla da birebir örtüşmemektedir. Bilindiği üzere ELISA yöntemi aflatoksin miktarını belirleme açısından ppt düzeyinde değerlendirme yapmakta, yani hassasiyeti oldukça yüksek olmaktadır. Bunun yanısıra hızlı sonuç vermesi oldukça önemlidir. LC-MC tekniği de benzer şekilde doğru ve hassas sonuçlar vermesi önemlidir. Bizim çalışmamızda da AFM₁ varlığı tespit edilen örneklerin 10 tanesinin LC-MS taraması sonrasında negatif sonuç vermesi, analiz edilen keçi peynirlerinin halk sağlığını ciddi derecede tehdit edecek düzeyde AFM₁ içermediğini desteklemektedir. Coğrafi farklılıklar, örneklerin temin edildiği mevsim, peynir çeşidi, peynirin içeriği, peynir üretim teknolojisindeki farklılıklar, depolama koşulları, olgunlaşma süresi, peynir yapımında kullanılan sütün AFM₁ ile kontaminasyon derecesi gibi birçok faktörden dolayı farklı lokasyonlarda yapılan analizlerin farklı sonuçlar vermesi de doğaldır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, çalışma yapılan dönemler itibarı ile Çanakkale ili ilçelerinde satışı sunulan keçi peynirlerinin AFM₁ ile kontaminasyon durumunu, tüketici sağlığını tehdit eder boyutlarda olmadığı tespit edilirken, AFM₁ riskinin her zaman ele alınması gereken bir durum olduğunu ve yapılacak çalışmalar ile sürekli kontrol mekanizmasını oluşturmanın gerektiği ifade edilebilir. Korunma ve kontrol basamaklarının en başında çiftlikten sofraya güvenli gıda kapsamında, çiftlik hayvanlarının rasyonlarında ya da yem hammaddelerinde AFB₁ ile kontaminasyonun önüne geçilmelidir. Bu kavramların anlaşılabilmesi adına da üreticinin bu konuda bilinçlendirilmesi ve eğitimleri adına çalışmalar yapılmalıdır.

Başta aflatoksinler olmak üzere pek çok mikotoksin, insan sağlığı özellikle çocuklar üzerinde ciddi etkilerinin bulunması, uzun dönemli maruziyetlerin karaciğer yetmezliği, kanser gibi kötü huylu hastalıklara sebep olması, ürünün işlenmesi ve paketlenmesi esnasında sterilizasyon ve pastörizasyon işlemlerine dayanıklı olmaları nedeniyle bulaşma kaynaklarının sürekli izlenmesi gereken önemli bileşiklerdir. Çiftlikten sofraya kadar her aşamada gerekli koruyucu önlemlerin alınması gereklidir. Özellikle süt yetiştiriciliği yapan kişiler ile süt ve süt ürünleri üreticilerinin aflatoksinlerin neden olduğu potansiyel sağlık problemleri ve sonuçları konusunda bilgilendirilmelerine yönelik eğitim programlarına ağırlık verilmelidir. Süt ve süt ürünlerinde AFM₁ kontaminasyonunu minimize etmek için birinci adım, hayvan yemlerinin belirli periyotlarla AFB₁ açısından kalite kontrollerinin yapılması, modern üretim tekniklerinin yaygınlaştırılması, süt hayvanlarının beslenmesinde kullanılan yem maddelerinin depolanma koşullarının iyileştirilmesi ve yemlerde mikotoksin üremesinin önüne geçmek için mikotoksin bağlayıcı özelliğe sahip katkı maddeleri ile takviye edilmeleri önem arz etmektedir. İyi tarım uygulamalarının hayata geçirilmesi, üretici ve tüketici bilincinin artırılması ile halk sağlığı korunacaktır.

Süt, toplum beslenmesinde ve sağlığının korunmasında çok önemli yeri olan bir besin kaynağı olmakla birlikte, her yeni doğan canlının ilk ve temel besini olup insanın doğumundan ölümüne kadar geçen yaşam sürecinin her devresinde en önemli gıdadır. Süt ayrıca; yoğurt, peynir, tereyağı, kaymak, süt tozu, kazein vb. ürünlerin temeli olmasıyla önem arz etmektedir. Sütün pastörize edilmesi halinde bile raf ömrünün düşük sürelerde olmasından dolayı süt, ürünlere işlenmektedir. Bu ürünlerden en çok tercih edileni ise dünya üzerinde birçok çeşidi bulunan peynir olarak belirtilmektedir. Aflatoxin B₁, güçlü bir karsinogen olup

süt hayvanları AFB₁'i rasyonlarında aldığı zaman hepatik biyotransformasyon ile Aflatoksin M₁'e metabolize etmektedir. Süt ve süt ürünlerinde AFM₁ bulunması, bu ürünleri daha çok tüketen bebek ve çocuklar açısından da oldukça önem arz etmektedir. Bebek ve çocukların mikotoksinlerin olumsuz etkilerine karşı daha hassas olmasından dolayı Aflatoksin M₁'in süt ve ürünlerinde bulunmasının önemi artmaktadır.



KAYNAKÇA

Aksoy A, Atmaca E, Yazıcı F, Güvenç D, Gül O, Dervişoğlu M. Comparative analysis of aflatoxin M1 in marketed butter by ELISA and HPLC. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016, 22 (4): 619-621.

Aksoy A, Sezer Ç. Evaluation of Aflatoxin m1 presence in raw milk and some cheese types consumed in Kars. *Kocatepe Veterinary Journal* 2019, 12(1): 39-44.

Andreia Vaz I, Ana C. Cabral Silva, Paula Rodrigues and Armando Venâncio, detection methods for aflatoxin M1 in dairy products, *Microorganisms* 2020, 8: 246.

Anonim. Türk Gıda Kodeksi. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011, Sayı: 28157, 2011.

Anonim. Türk Gıda Kodeksi. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ. Resmi Gazete, 23 Eylül 2002, Sayı: 24885, 2002.

Anonymous. Commission Regulation (EC) No.1525/98 of July 1998, Amending Regulation (EC) No.194/97 of 31 Jan. 1997, Setting Maximum Levels For Certain Contaminants in FoodStuffs. Official Journal of The European Communities.

Ardıç M, Karakaya Y, Atasever M, Adıguzel G. Aflatoxin M1 levels of Turkish white brined Cheese. 3. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi Bildiri Kitabı, 229-233, 14-16 Mayıs 2009, Bursa.

Asi MR, Iqbal SZ, Arino A, Hussain H. Effect of seasonal variations and lactation times on aflatoxin M1 contamination in milk of different species from Punjab, *Pakistan Food Control* 2012, 25, 34-38.

Atasever M, Keleş A. İnsan beslenmesinde kalsiyumun rolü ve önemi. *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi* 1998, 10(3), 21-23.

Ayaz Y, Madalı B. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M1: maruziyet ve sağlık riskleri. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi* 2017, 4 (1).

Ayçiçek H, Yarsan E, Sarımehmetoğlu B, Çakmak Ö. Aflatoxin M₁ in white cheese and butter consumed in İstanbul, Turkey. *Veterinary Human Toxicology* 2002, 44, 295-296.

Aydemir Atasever M, Adıgüzel G, Atasever M, Özturan K. Determination of aflatoxin M₁ Levels in some cheese types consumed in Erzurum-Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2010, 16 (Suppl-A), 87-91.

Bakırcı I. A study on the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control* 2001, 12, 47-51.

Battacone G, Nudda A, Palomba M, Pascale M, Nicolussi P, Pulina G. Transfer of aflatoxin B₁ from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. *Journal of Dairy Science* 2005, 88 (9): 3063-3069.

Baygeldi Y. ve Tanyıldızı S. Elazığ'da üretilen inek sütlerinde aflatoksin M₁ düzeylerinin HPLC ile araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2018, 32 (3): 191- 195.

Bhatnagar D, Cary JW, Ehrlich K, Yu J, Cleveland TE. Understanding the genetics of regulation of aflatoxin production and *Aspergillus flavus* development. *Mycopathologia* 2006, 262: 255-266.

Boudra H, Barnouin J, Dragacci S, Morgavi DP. Aflatoxin M₁ and Ochratoxin A in raw bulk milk from French dairy herds. *Journal of Dairy Science* 2007, 90: 3197-3201.

Bulca S, Bircan C. Peynirlerde aflatoksin M₁ varlığı ve aflatoksin M₁ konsantrasyonu üzerine etki eden faktörler. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 2013, 10 (1), 31 – 38.

Camarillo EH, Moreno MC, Olvera VJR, Ortiz MAV, Cervantes MAS. Quantifying the levels of the mutagenic, carcinogenic hydroxylated aflatoxins (AFM₁ and AFM₂) in artisanal Oaxaca-Type cheeses from the City of Veracruz, Mexico. *Journal of Microbiology Biochemistry Technology* 2016, 8: 491-497.

Carvajal M, Berumen J, Guardado-Estrada M. The presence of AFB₁- FAPY adduct and human papilloma virus in cervical smears from cancer patients in Mexico. *Food Additive Contaminants Part A Chemical Analytic Control Exponential Risk Assessment* 2012, 29: 258-268.

Carvajal M. Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1-ADN. *TIP Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 2013, 16: 109-120.

Claus J. (Ed.) The modern art of identification of natural substances in whole plants. *Recent Advances in Redox Active Plant and Microbial Products* (İngilizce). Springer, Netherlands. ss. 31, 2014.

Dağoğlu G, Keleş O, Yıldırım M. Peynirlerde aflatoksin düzeylerinin ELISA testi ile araştırılması. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1995, 21, 313-317.

Darsanaki RZ, Marjan M. Aflatoxin M1 contamination in dairy products. *Journal of Science and today's world* 2013, 2: 500-514.

De Saeger S. Determining Mycotoxins and Mycotoxigenic Fungi in Food and Feed; Woodhead Publishing Limited: Cambridge, UK, s.s 456. 2011.

Decastelli D, Lai J, Gramaglia M, Monaco A, Nachtmann C, Oldano F, RuYer, Sezian A, Bandirola B. Aflatoxins occurrence in milk and feed in Northern Italy during 2004-2005. *Food Control* 2007, 18: 1263-1266.

Deveci O. Change in the concentration of aflatoxin M1 during manufacture and storage of white pickled cheese. *Food Control* 2007, 18, 1103-1107.

Dinçel A, Demli F, Durlu-Özkaya F, Alatan F, Uzun R, Subaşı SA. Çeşitli peynir örneklerinde aflatoksin M1 varlığının HPLC ile analizi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2012, 69(2): 89-96.

Dorner JW, Cole RJ, Erlington DJ, Sukksapath S, Mc Dowell GH, Bryden WL. Cyclopiazonic acid residues in milk and eggs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 1994, 42: 1616-1618.

Dutton MF, Mwanza M, de Kock S, Khilosia LD. Mycotoxins in South African foods: a case study on aflatoxin M1 in milk. *Mycotoxin Research* 2012, 28: 17-23.

Eaton DL, Gallagher EP. Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. An Review. *Pharmacology and Toxicology* 1994, 34: 135-172.

- Eaton DL, Ramsdell HS, Neal GE.** Biotransformation of aflatoxins. In: Eaton DL, Groopman JD, editors. *The toxicology of aflatoxins: human health, veterinary and agricultural significance*. San Diego Calif.: Academic Press., ss 45-47, 1994.
- El Khoury A, Atoui A, Yaghi J.** Analysis of aflatoxin M1 in milk and yogurt and AFM1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. *Food Control* 2011, 22, 1695-1699.
- Er B, Yentür G.** Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2012, 69(1), 41-52.
- Erkan ME, Vural A, Güran HŞ.** Diyarbakır örgü peynirinde aflatoksin M1 ile verotoksin 1 ve 2 varlığının araştırılması. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2009, 1(1): 19-25.
- Espinosa-Calderón A, Contreras-Medina LM, Muñoz-Huerta RF, Jesús Roberto Millán-Almaraz, González RGG, Torres-Pacheco I.** Methods for Detection and Quantification of Aflatoxins. In *Aflatoxins –Detection, Measurement and Control*; Torres-Pacheco, I., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, ss. 109-128, 2011.
- Fallah AA.** Aflatoxin M1 contamination in dairy products marketed in Iran during winter and summer. *Food Control* 2010, 21, 1478-1481.
- Filazi A, İnce S, Temamoğulları F.** Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in cheeses produced by dairy ewe's milk in Urfa city, Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2010, 57, 197-199.
- Finoli C, Vecchio A.** Occurrence of aflatoxins in feedstuff, sheep milk and dairy products in Western Sicily. *Italy Journal of Animal Science* 2003, 2: 191-196.
- Fox EM, Howlett BJ.** Secondary metabolism: regulation and role in fungal biology. *Current Opinion in Microbiology* 2008, 11: 481-487.
- FSCJ, Food Safety Commission of Japan.** Food Safety. Official Journal of Food Safety Commission. November 20th, 2013.
- Gallo A, Moschini M, Masoero F.** Aflatoxins absorption in the gastro-intestinal tract and in the vaginal mucosa in lactating dairy cows. *Italy Journal of Animal Science* 2008, 8: 53-63.

Ghiasian SA, Maghsood AH, Neyestani TR, Mirhendi SH. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk during the summer and winter seasons in Hamedan, Iran. *Journal of Food Safety* 2006, 27: 188–198.

Gong YY, Hounsa A, Egal S, Turner PC, Sutcliffe AE. Postweaning exposure to aflatoxin results to impaired child growth: a longitudinal study In Benin, *West Africa. Environmental Health Perspectives* 2004, 112: 1033-1035.

Gücükoğlu A, Çadırcı Ö, Özpınar N. UHT süt ve peynir örneklerinde aflatoksin M1 varlığının belirlenmesi. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 2010, 21: 45-50.

Gül O, Dervişoğlu M. Occurrence of aflatoxin m1 in vacuum packed kashar cheeses in Turkey, *International Journal of Food Properties* 2014, 17: 273–282.

Gülmez M, Güven A, Sezer Ç, Duman B. Evaluation of microbiological and chemical quality of ayran samples marketed in Kars and Ankara cities in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2003, 9 (1): 49-52.

Günsen U, Büyükyörük İ. Aflatoxins in retail food products in Bursa, Turkey. *Veterinary and Human Toxicology* 2002, 44: 289-290.

Gürbüz Ü, Nizamlıoğlu M, Nizamlıoğlu F, Dinç İ, Doğruer Y. Bazı et, süt ürünleri ile baharatlarda aflatoksin B1 ve M1 aranması. *Veterinarium* 1999, 10: 34-41.

Gürses M, Erdoğan A, Çetin B. Occurrence of aflatoxin M1 in some cheese types sold in Erzurum, Turkey. *Turk Journal of Veterinary Animal Science* 2004, 28: 527-530.

Henry SH, Whitaker T, Rabbani I, Bowers J, Park D, Price W, Bosch FX. Aflatoxin M1. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), ss. 47, 2001.

Huffman J, Gerber R, Liangcheng D. Recent advancements in the biosynthetic mechanisms for polyketide-derived mycotoxins. *Biopolymers* 2010, 93: 764-776.

Hussain I, Anwar J, Asi MR, Munawar MA, Asi MR. Variation of levels Aflatoxin M1 in raw milk from different localities in the central areas of Punjab, Pakistan. *Food Control* 2008, 19: 1126-1129.

Hussain I. Aflatoxin Measurement and Analysis. In *Aflatoxins—Detection, Measurement and Control*, Torres-Pacheco, I., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, 129-160, 2011.

Hussein HS, Brasel JM. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* 2001, 167, 101-134.

Hymery N, Vasseur V, Coton M, Mounier J, Jany JL, Barbier G, Coton E. Filamentous fungi and mycotoxins in Cheese: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2014, 13, 437-456.

International Agency for Research on Cancer (IARC), Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. Monograph Volume 82, <http://monographs>, 2002.

Iqbal SZ, Jinap S, Pirouz AA, Ahmad Faizal AR. Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges: A review. *Trends Food Science Technology* 2015, 46, 110-119.

İşleyici Ö, Sancak YC, Morul F. Divle Tulum peynirinde aflatoksin M1 düzeyi üzerine bir araştırma. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi* 2011, 22 (2): 105-110.

Josephs RD, Ulberth F, Van Egmond HP, Emons H. Aflatoxin M1 in milk powders: processing, homogeneity and stability testing of certified reference materials. *Food Additives and Contaminants* 2005, 22(9): 864-874.

Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Control* 2005, 16, 593-599.

Kamel Essam, Bazalou Mohamed, Sdeek A Fayza and Konuk Muhsin. Comparison of liquid chromatography instruments with single quadrupole and tandem mass spectrometry for trace level analysis: aflatoxin M1 (AFM1) in white cheese. *International Journal of Food Properties* 2017, (20):2, 2294–2304.

Ketney O, Santini A, Oancea S. Recent aflatoxin survey data in milk and milk products: A review. *International Journal of Dairy Technology* 2017, 70, 320-331.

- Khoury A El, Atoui A, Yaghi J.** Analysis of aflatoxin M1 in milk and yogurt and AFM1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. *Food Control* 2011, 22: 1695-1699.
- Kokkonen M, Jestoi M, Rizzo A.** The effect of substrate on mycotoxin production of selected *Penicillium* strains. *International Journal of Food Microbiology* 2005, 99: 207-14.
- Li S, Min L, Wang P, Zhang Y, Zheng N, Jiaqi W.** Occurrence of aflatoxin M1 in pasteurized and UHT milks in China in 2014-2015. *Food Control* 2017, 78, 94-99.
- Magan N, Aldred D.** Why do fungi produce mycotoxins? In: Dijkserhuis J, Samson RA, editors. *Food mycology: a multifaceted approach to fungi and food*. New York: CRC Press/Taylor and Francis Group, ss. 121-33, 2007.
- Magliulo M, Mirasoli M, Simoni P, Lelli R, Portanti O, Roda A.** Development and validation of an ultrasensitive chemiluminescent enzyme immunoassay for aflatoxinM1 in milk. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 2005, 53: 3300-3305.
- Makun HA, Dutton MF, Njobeh PB, Gbodi TA, Ogbadu GH.** Aflatoxin contamination in foods and feeds: a special focus on Africa.in: Trends in vital food and control engineering. *In Technology* 2012, 188-234.
- Malissiova E, Tsakalof A, Arvanitoyannis IS, Katsafliaka A, Katsioulis A, Tserkezou P, Koureasa M, Govarise A, Hadjichristodoulou C.** Monitoring Aflatoxin M1 levels in ewe's and goat's milk in Thessaly, Greece; potential risk factors under organic and conventional production schemes. *Food Control* 2013, 34, 241-248.
- Martins HM, Guerra MM.** Bernardo A six year survey (1999-2004) of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products produced in Portugal. *Mycotoxin Research* 2005, 21, 192-195.
- Matabaro E, Ishimwe N, Uwimbabazi E, Lee BH.** Current immunoassay methods for the rapid detection of aflatoxin in milk and dairy products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2017, 16, 808-820.

Mohamadi Sani A, Khezri M, Moradnia H. Determination of aflatoxin M1 in milk by ELISA technique in Mashad (Northeast of Iran). *International Scholarly Research Network Toxicology*, Article ID 121926, 2012.

Montagna MT, Napoli C, De Giglio O, Iatta R, Barbuti G. Occurrence of aflatoxin M1 in dairy products in southern Italy. *International Journal of Molecular Science* 2008, 9, 2614-2621.

Motawee MM, McMahon DJ. Fate of aflatoxin M1 during manufacture and storage of feta cheese. *Journal of Food Science* 2009, 74, 42-45.

Mulunda M, Ngoma L, Mathe N, Motsei L, Bakunzi F. A Decade of Aflatoxin M1 Surveillance in Milk and Dairy Products in Developing Countries (2001-2011): A Review. In *Mycotoxin and Food Safety in Developing Countries Techniques*; Makun, H.A., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, ss. 39-60, 2013.

Mwanza M. A comparative study of fungi and mycotoxin contamination in animal products from selected rural and urban areas of South Africa with particular reference to the impact of this on the health of rural black people. Thesis, University of Johannesburg Library, 2012.

Nageswara Rao SB, Chopra RC. Influence of sodium bentonite and activated charcoal on Aflatoxin M1 excretion in milk of goats. *Small Ruminant Research* 2001, 41, 203-213.

O'Brien NM, O'Connor TP, O'Callaghan J, Dobson ADW. Toxins in cheese. in: *cheese: chemistry, physics and microbiology*. Elsevier Applied Science, Amsterdam, 2004.

Oruc HH, Çıbık R, Yılmaz E, Kalkanlı O. Distribution and stability of Aflatoxin M1 during processing and ripening of traditional white pickled cheese. *Food Additives & Contaminants* 2006, 23, 190-195.

Oruç HH, Sonal S. Determination of aflatoxin M1 levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey. *Veterinary Human Toxicology* 2001, 43, 292-293.

Öksüztepe G, Erkan S. Mikotoksinler ve halk sağlığı açısından önemi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2016, 5, 2, 190-195.

Pitt JJ. Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. *Clinical Biochemistry Review* 2009, 30(1): 19-34.

Prado G, Oliveira MS, Pereira ML et al. Aflatoxin M1 in samples of “Minas” cheese commercialized in the city of Belo Horizonte Minas Gerais/Brazil. *Ciênc Tecnol Aliment* 2000, 20, 398-400.

Prandini A, Tansini G, Sigolo S, Filippi L, Laporta M, Piva G. On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food Chemical Toxicology* 2009, 47, 984-991.

Prodanov-Radulović J, Živkov-Baloš M, Jakšić S, Grgić Z, Stojanov I, Bojkovski J, Tassis, P. Aflatoxin M1 levels in sow milk. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society* 2018, 68(3), 341-346.

Rahimi E, Bonyadian M, Rafei M, Kazemeini HR. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. *Food Chemical Toxicology* 2010, 48 (1), 129-131.

Rahmani A, Jinap S, Soleimany F. Qualitative and Quantitative Analysis of Mycotoxins. *Comprehensive Reviews of Food Science and Food Safety* 2009, 8, 202-251.

Rojas-Marin V, Carvajal-Moreno M, Gonzales-Villasenor MC, Garcia-Hernandez EA, Gonzales-Mendoza A. Presence of Aflatoxin Carcinogens in Fresh and Mature Cheeses. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 9/3 , 2018.

Sadeghi N, Oveisi MR, Jannat B, Hajimahmoodi M, Bonyani H, Jannat F. Incidence of Aflatoxin M1 in human breast milk in Tehran, Iran. *Food Control* 2009, 20, 75-78.

Santos AO, Vaz A, Rodrigues P, Veloso ACA, Venâncio A, Peres AM. Thin films sensor devices for mycotoxins detection in foods: applications and challenges. *Chemosensors* 2019, 7: 3.

Sarımehmetoğlu B, Kuplulu O, Celik TH. Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA. *Food Control* 2004a, 15, 45-49.

Sarımehmetoğlu B, Kuplulu O, Celik HT. Detection of aflatoxin M1 in cheese by ELISA. *Food Chemistry* 2004b, 24, 981-984.

Sarımehmetoğlu B, Kuplulu O, Haluk Çelik T. Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA. *Food Control* 2004, 15, 45–49.

Savran, F, Aktürk D, Dellal İ, Tatlıdil F, Dellal G, Pehlivan E. Türkiye’de seçilmiş bazı

illerde keçi sütü ve ürünleri tüketimine etkili faktörler. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2011, 17 (2), 251-256.

Sengun IY, Yaman DB, Gonul SA. Mycotoxins and mould contamination in cheese: a review. *World Mycotoxin Journal* 2008, 1, 291- 298.

Shephards GS. Aflatoxin and food safety: Recent African Perspectives. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews* 2003, 22, 267-286.

Shundo L, Sabino M. Aflatoxin M₁ determination in milk by immunoaffinity column cleanup with TLC/HPLC. *Brazilian Journal of Microbiology* 2006, 37, 164-167.

Smela ME, Currier SS, Bailey EA. The chemistry and biology of aflatoxin B₁: from mutational spectrometry to carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2001, 22(4), 535-545.

Stark AA. Mycotoxins Molecular Mechanism of Detection of Aflatoxins and Other Mycotoxins. in M. Rai and A. Varma (eds.). *Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons*, DOI: 10.1007/978-3-642-00725-5_2, 2010.

Tekinşen KK, Uçar G Aflatoxin M₁ levels in butter and cream cheese consumed in Turkey. *Food Control* 2008, 19, 27-30.

Temamogullari F and Kanici A Short communication: Aflatoxin M₁ in dairy products sold in Şanlıurfa; Turkey. *Journal of Dairy Science* 2014, 97: 162–165.

Tirmenstein MA, Mangipudy R. Aflatoxin. In P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology* (104-106). Oxford: Academic Press, 2014.

Torkar KG, Vengust A. The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M₁ in raw milk and cheese in Slovenia. *Food Control* 2007, 19, 570–577.

Turgay Özlem, Aksakal Didem Hilkat, Sünnetçi Selim, Çelik Ali Bahadır. A survey of aflatoxin M₁ levels in Kahramanmaraş cheese. *Turkish Journal of Veterinary Animals and Science* 2010, 34, 6, 497-500.

Urbán G, Pérez J, Martínez F, Salas J, Díaz G, et al. Niveles de aflatoxina M₁ en quesos frescos producidos en diferentes zonas de México. *Revista de Salud Animal* 2009, 31, 115-121.

Vargas-Ortiz M, Carvajal-Moreno M, Hernández-Camarillo E, Ruiz-Velasco S, Rojo-Callejas F. Unreported aflatoxins and hydroxylate metabolites in artisanal Oaxaca cheese from Veracruz, Mexico. *Biochemical Analytical Biochemistry* 2017, 6, 2.

Wagacha JM, Muthomi JW. Mycotoxin problem in Africa current status implications to food safety and health and possible management strategies. *International Journal of Food Microbiology* 2008, 124, 1-12.

WEB-1. www.fao.org, 2010. Erişim tarihi: 25.04.2019.

Weidenborner M. Mycotoxins and their metabolites in human and animals. Springer Science, Business Media, LLC, 2011.

Whitlow WM, Hagler Jr, Diaz Mycotoxins in feeds. Quality feed Mycotoxins. *Feedstuffs* 2010, 83.

Yangılar F, Oğuzhan P. Süt ve süt ürünlerinde bulunan başlıca mikotoksin türü: aflatoksinler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 2013, 6 (2), 106-111.

Yaroglu T, Oruc HH, Tayar M. Aflatoxin M1 levels in cheese samples from some provinces of Turkey. *Food Control* 2005, 16, 883-885.

Yaroğlu T. Türk Silahlı Kuvvetlerine Bağlı Askeri Birliklerde Tüketime Sunulan Peynirlerde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2002.

Yaşar Alkan, Zafer Gönülalan. Amasya İlinde Satışa Sunulan Beyaz Peynirlerde Aflatoksin M1, Rutubet Ve Asidite Değerleri Üzerine Bir Araştırma. *Sağlık Bilimleri Dergisi* 2006, 15, 2, 91-98.

Yeşil ÖF, Hatipoğlu A, Yıldız A, Vural A, Erkan ME. A research on the determination of aflatoxin M1 levels in milk and dairy products for sale in Diyarbakır by ELISA, *Erzincan University Journal of Science and Technology* 2019, 12(1), 479-488.

Yılmaz SÖ and Altıncı A. Incidence of aflatoxin M1 contamination in milk, white cheese, kashar and butter from Sakarya, Turkey. *Food Science and Technology* 2019, 39 (1): 190-194.

Yu JJ, Chang PK, Ehrlich KC, Cary JW, Bhatnagar D, Cleveland TE, Payne GA, Linz JE, Woloshuk CP, Bennett JW. Clustered pathway genes in aflatoxin biosynthesis. *Applied and Environmental Microbiology* 2004, 70, 1253- 1262.

