

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AMASYA İLİNDE SATIŞA SUNULAN BEYAZ
PEYNİRLERDE AFLATOKSİN M1, RUTUBET VE ASİDİTE
DEĞERLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

**Tezi Hazırlayan
Yaşar ALKAN**

**Tezi Yöneten
Doç.Dr.Zafer GÖNÜLALAN**

**Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Haziran 2006
KAYSERİ**

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**AMASYA İLİNDE SATIŞA SUNULAN BEYAZ
PEYNİRLERDE AFLATOKSİN M1, RUTUBET VE ASİDİTE
DEĞERLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

**Tezi Hazırlayan
Yaşar ALKAN**

**Tezi Yöneten
Doç.Dr.Zafer GÖNÜLALAN**

**Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBT-06-12 nolu
proje ile desteklenmiştir.**

**Haziran 2006
KAYSERİ**

Doç. Dr. Zafer GÖNÜLALAN danışmanlığında **Yaşar ALKAN** tarafından hazırlanan “**Amasya İlinde Satışa Sunulan Beyaz Peynirlerde Aflatoksin M₁, Rutubet ve Asidite Değerleri Üzerine Bir Araştırma**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

30 /06/ 2006

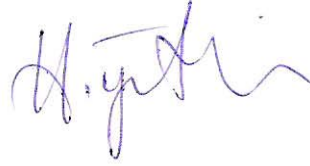
JÜRİ

Üye : Prof. Dr. Fuat AYDIN

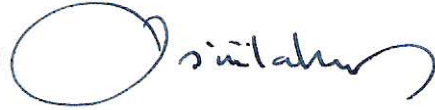
İmza



Üye : Prof. Dr. Hasan YETİM



Üye : Doç. Dr. Zafer GÖNÜLALAN (Danışman)



ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih vesayılı kararı ile onaylanmıştır.

.... / 07 / 2006

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında değerli bilgi, öneri ve eleştirileri ile çalışmalarına yön veren, her konuda destek olan, büyük ilgi ve yardımlarını gördüğüm tez danışmanı hocam Sayın Doç.Dr.Zafer GÖNÜLALAN'a, tez süresince verdiği desteklerinden dolayı Amasya 15.Piyade Eğitim Tugayı Erkan Başkanı Piyade Albay Sayın Sezai TEZSEVER'e, 15.Piyade Eğitim Tugayı Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı Toksikoloji laboratuvarında yaptığım deneysel çalışmalara katkıları ve sağladığı her türlü kolaylık ve gösterdiği anlayış nedeni ile Gıda Kontrol Müfreze Komutanı Veteriner Hekim Binbaşı Sayın Abdullah KARACA'ya, tez çalışmamın düzenlenmesi aşamasında yardımlarını gördüğüm Dr.Yeliz YILDIRIM ve Araş.Gör.Nurhan ERTAŞ'a, en başından beri tez çalışmamın her aşamasında emeği bulunan, hiçbir zaman yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Araş.Gör.Fulya ÜSTÜN'e, bana maddi ve manevi her türlü desteği veren aileme en içten teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

**AMASYA İLİNDE SATIŞA SUNULAN BEYAZ PEYNİRLERDE AFLATOKSİN M₁,
RUTUBET VE ASİDİTE DEĞERLERİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

ÖZET

Bu çalışmanın amacı, Amasya ilinde satışa sunulan beyaz peynir örneklerinde Aflatoksin M₁ (AFM₁) varlığının belirlenmesi ve rutubet ve asidite değerlerinin incelenmesidir. Bu amaçla Aralık 2005 – Ocak 2006 ayları arasında Amasya ilindeki büyük marketler ile semt pazarlarında satışa sunulan farklı markalardaki 50 adet beyaz peynir örneği analiz edilmiştir.

Araştırmada Aflatoksin M₁ seviyesini tespit etmek için Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi, rutubet ve asidite değerlerini saptamak için ise A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists) yöntemleri kullanılmıştır.

İncelenen beyaz peynir örneklerinin tamamında Aflatoksin M₁ saptanırken, 50 örnekten sadece 1 tanesinin (% 2) AFM₁ yönünden Türk Gıda Kodeksinde belirlenen değerin üzerinde diğerlerinin ise standarda uygun olduğu belirlenmiştir. Beyaz peynir örneklerinin 27 adedinin (% 54) rutubet oranı, Türk Standartları Enstitüsü Beyaz Peynir Standardı'nda (TS 591) belirtilen maksimum limit değerin (% 60) altında, 23 adedinin (% 46) ise rutubet oranı bu değerin üzerinde bulunmuştur. Asidite değerleri bakımından, incelenen beyaz peynirlerin tamamının (% 100), TS 591'de belirtilen maksimum limit değerin (% 3 LA) altında olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizinde, numune olarak kullanılan peynir örneklerinin AFM₁ düzeyi ile rutubet içerikleri arasında önemli bir ilişki bulunamazken ($r=0,078$), AFM₁ miktarı ile asidite değerleri arasında yine istatistiksel açıdan önemsiz ($r=-0,145$) bir ilişki tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, Amasya ilinde bir yıl içerisinde satışa sunulan beyaz peynirlerin toplum sağlığı açısından ciddi bir risk olarak değerlendirilen Aflatoksin M₁ içeriği ile rutubet ve asidite değerleri açısından standartlara da büyük ölçüde uygun olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin M₁, beyaz peynir, asidite, rutubet

AN INVESTIGATION ON AFLATOXIN M₁ LEVELS, MOISTURE CONTENT AND ACIDITY VALUES IN WHITE CHEESES RETAILED IN AMASYA PROVINCE

ABSTRACT

The aim of this study was to detect the presence of Aflatoxin M₁ and to determine the moisture, acidity values in white pickled cheese samples retailed in Amasya city of Turkey. For this purpose, fifty white pickled cheese samples were collected from the local markets and bazaars in Amasya through December 2005-January 2006.

ELISA test was used for the determination of Aflatoxin M₁ (AFM₁) levels of samples, also A.O.A.C. procedures were applied to detect moisture and acidity contents.

Different levels of AFM₁ were detected from all of the analysed cheese samples; only one sample (2%) exceeded limits of Turkish Food Codex for AFM₁ and 49 samples met the standarts of concern. For moisture content; 27 out of 50 samples (54%) had moisture content under the limits established by Turkish Standarts Institute whereas the moisture content of 23 samples (46%) exceeded that limits. The acidity value of all cheese samples (100%) found to be under the maximum limits (3% LA) laid down in quality standart of White Cheese Standart (T.S. 591). The statistical analyses of the data obtained in this study indicated no significant correlation between the AFM₁ levels and moisture content ($r=0.078$) and between AFM₁ levels and acidity ($r=-0.145$) of the cheese samples analysed.

As a result, white cheeses retailed in Amasya province were generally match the standarts in respect to moisture contents, acidity values and especially AFM₁ levels which is considered to be a potential risk for public health.

Key words: Aflatoxin M₁, white cheese, acidity, moisture

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
İÇİNDEKİLER	VI
KISALTMALAR	VII
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. AFLATOKSİNLER.....	4
2.1.1. Aflatoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	5
2.1.2. Aflatoksinlerin Toksisitesi	8
2.1.2.1. Aflatoksinlerin İnsanlar Üzerine Olan Etkileri.....	11
2.1.2.2. Aflatoksinlerin Hayvanlar Üzerine Olan Etkileri.....	13
2.2. AFLATOKSİN M ₁ VE M ₂	15
2.2.1. Aflatoksine Karşı Süt Sığırlarında Oluşan Cevaplar.....	16
2.2.1.1. Rumen.....	16
2.2.1.2. Yem Alımı ve Süt Üretimi.....	17
2.3. SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE AFLATOKSİN	18
2.3.1. Çiğ Sütte AFM ₁ 'in Stabilitesi.....	18
2.3.2. Sütte AFM ₁ Oluşumunun Önlenmesi (Sütte AFM ₁ 'in İnaktivasyonuna Yönelik Uygulamalar).....	19
2.3.3. Süte Uygulanan Teknolojik İşlemlerin AFM ₁ 'e Olan Etkileri.....	20
2.3.4. Peynirlerde Küf Oluşumu ve Aflatoksin Oluşumunun Sınırlandırılmasına İlişkin Uygulamalar.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
4. BULGULAR.....	32
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
6. KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

ABD	:	Amerika Birleşik Devletleri
ADI	:	Acceptable Daily Intake
AFB₁	:	Aflatoksin B ₁
AFB₂	:	Aflatoksin B ₂
AFG₁	:	Aflatoksin G ₁
AFG₂	:	Aflatoksin G ₂
AFGM₁	:	Aflatoksin GM ₁
AFGM₂	:	Aflatoksin GM ₂
AFGM_{2a}	:	Aflatoksin GM _{2a}
AFM₁	:	Aflatoksin M ₁
AFM₂	:	Aflatoksin M ₂
AOAC	:	Association of Official Analytical Chemists
EIA	:	Enzim immunoassay
ELISA	:	Enzim linked immunosorbent assay
GSH	:	Glutasyon
GST	:	Glutasyon-transferaz
HPLC	:	High Pressure Liquid Chromatography
HSCAS	:	Hidroksi sodyum kalsiyum alüminyum silikat
H₂O₂	:	Hidrojen peroksid
IARC	:	International Agency for Research on Cancer
LA	:	Laktik asit
LD₅₀	:	Letal doz 50
n	:	Örnek sayısı
p	:	Önem derecesi
r	:	Korelasyon katsayısı
RIA	:	Radio immunoassay
R_f	:	Rate of flow
TGK	:	Türk Gıda Kodeksi
TS 591	:	Türk Standartları Beyaz Peynir Standardı
UV	:	Ultraviyole
WHO	:	World Health Organisation

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1.	Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	6
Tablo 2.2.	Değişik hayvan türlerine tek doz halinde verilen aflatoksinin, hayvan türlerine göre ortalama LD ₅₀ değerleri.....	15
Tablo 2.3.	Türkiye’de gıda ve yemlerde bulunmasına izin verilen aflatoksin düzeyleri	25
Tablo 4.1.	Çalışmada incelenen peynir örneklerinin AFM ₁ , rutubet ve asidite değerleri	33
Tablo 4.2.	Çalışmada incelenen peynir örneklerinin ortalama değerleri	34
Tablo 4.3.	Çalışmada incelenen peynir örneklerinin ortalama AFM ₁ miktarları ve yüzde oranları	34
Tablo 4.4.	Çalışmada incelenen peynir örneklerinin AFM ₁ miktarlarının TGK limit değerine göre kıyaslanması	35
Tablo 4.5.	Çalışmada incelenen peynir örneklerinin rutubet değerleri ve yüzde oranları....	36
Tablo 4.6.	Çalışmada incelenen peynir örneklerinin rutubet değerlerinin TS 591 limit değerine göre kıyaslanması	36
Tablo 4.7.	Çalışmada incelenen peynir örneklerinin asidite değerleri ve yüzde oranları	36
Tablo 4.8.	Çalışmada incelenen peynir örneklerinin asidite değerlerinin TS 591 limit değerine göre kıyaslanması	37
Tablo 4.9.	Rutubet, asidite ve AFM ₁ değerleri arasındaki korelasyon.....	37
Şekil 2.1.	Aflatoksin türevlerinin kimyasal yapıları.....	7
Şekil 2.2.	AFB ₁ ’in vücuttaki metabolizması	9
Şekil 2.3.	AFB ₁ ’in DNA molekülüne bağlanması	10
Şekil 4.1.	Test kitinin absorbans konsantrasyon eğrisi	35
Şekil 4.2.	Test kitinin standartlarının ortalama absorbans değerleri	35

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Toplum içerisinde çok sayıda bireyin, günlük yaşamda ve diyet uygulamalarında sıklıkla süt ve süt ürünlerini tercih etmeleri, aynı zamanda bu ürünlerin bebekler ve çocuklar tarafından gelişimleri esnasında daha çok tüketilmesi, süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM₁ düzeyinin tespitini halk sağlığı açısından oldukça önemli kılar.

Dünyada en önemli süt ürünü olarak kabul edilen peynir, ülkemizde de süt ürünleri içerisinde en çok tüketilen ürün çeşidini oluşturmakta ve Türkiye’de peynir çeşitleri arasında beyaz peynir tüketimi ilk sırada yer almaktadır.

Aflatoksinler özellikle *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nomius* ve bazı *Penicillium* türleri tarafından sentezlenen karsinojenik, mutajenik ve teratojenik etkilere sahip metabolitlerdir. Aflatoksin türevleri içinde toksik ve kanser yapıcı etkisi en fazla olan Aflatoksin B₁ (AFB₁)’dir. Aflatoksin B₁ ile bulaşık yemleri tüketen çiftlik hayvanları, yemlerdeki AFB₁’i metabolize ederek AFM₁ şeklinde sütleri ile dışarı atmaktadırlar. Aflatoksinlerin hayvan ve halk sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinin ortaya çıkması sonucunda bir çok ülkede uzun yılları kapsayan çeşitli kontrol ve izleme programları yürütülmüş ve elde edilen sonuçlara göre, ülke şartları da dikkate alınarak çeşitli gıda ve hayvan yemlerinde bulunmasına izin verilen en yüksek aflatoksin düzeyleri belirlenmiştir. Ülkemizde de Türk Gıda Kodeksi hazırlanmış ve bu bileşikler için yasal kontrol kriteri olarak kullanılmaktadır.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği ve Avrupa Birliği tarafından, peynirlerdeki AFM₁ için limit değer 0,25 µg/kg (0,25 ppb) olarak belirlenmiştir.

Bu alışma, Amasya ilindeki farklı satış noktalarından temin edilen beyaz peynir rneklelerinde AFM₁ düzeyleri ile rutubet ve asidite değerlerinin tespit edilmesini amaçlamaktadır.

AFM₁ mikroorganizma kaynaklı, başta karaciğer olmak üzere bir çok organda ciddi hastalık semptomlarına ve kansere neden olan önemli bir halk sağlığı sorunu olması dolayısı ile araştırma bölge insanının halk sağlığı bakımından da önem taşımaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

Mikotoksinler, filamentöz yapıdaki çeşitli fungus türleri tarafından sentezlenen ve bu toksinlerle bulaşık yem ve yiyecekleri tüketen insan ve hayvanlarda latent, akut veya kronik karakterde zehirlenmelere neden olan, düşük molekül ağırlıklı sekonder toksik metabolitlerdir. Bu metabolitler, kimyasal ve toksijenik özellikleri bakımından farklı gruplara ait olmalarına rağmen, insanlarda ve diğer omurgalılarda hastalık ve ölüm meydana getirmelerinden dolayı mikotoksin grubu altında toplanırlar (1-3).

Mikotoksin üreten funguslar (küfler) dünyanın her tarafında yaygın olarak bulunurlar. Heterotrofik tabiata sahip olmaları nedeniyle çok farklı çevresel koşullara kolayca adapte olup hemen hemen her türlü gıda niteliği taşıyan organik maddede gelişebilmektedirler. Günümüzde 100.000 dolayında küf türünün bulunduğu, bunların büyük bir kısmının hava ve suda tespit edilebilecek düzeylerde olduğu bilinmekle beraber, bunların ancak 400 kadarının toksinojenik özelliğinin olduğu ve % 5 kadarının ise toksin ürettiği bildirilmektedir (4, 5).

Mikotoksinlerin insan sağlığı üzerinde oluşturduğu etkilere ilişkin yeterli bilgi olmamakla birlikte eski zamanlardan beri çeşitli insan toplulukları üzerinde oluşturdukları zararlı etkilere ait kayıtlar bulunmaktadır. Mikotoksinlerin varlığıyla ilgili bilgiler yaklaşık 5000 yıl öncesine ait, Çin'lilerin ergot ve mantar zehirlenmelerine ait kayıtlarıdır. Fransa'nın Paris şehrinde 1843 yılında askeri birlik tüketimine sunulmuş olan küflü karavanaya bağlı zehirlenme olayı bildirilmekle birlikte, 1861 yılında Rusya'da mikotoksikozisle ilgili şüpheli vakalar belirtilmiş ve 1891 yılında da

Japonya’da küflü pirinç yenilmesine bağlı olan zehirlenmelere ait bilgiler bulunmaktadır (6).

Mikotoksinlerin sınıflandırılması, farklı kimyasal yapılara sahip olmaları, biyosentetik orijinlerinin, biyolojik etkilerinin, sentezleyen türlerinin çeşitlilik göstermesi dolayısı ile oldukça güçtür ve sınıflandırmayı yapan kişiye göre de farklılıklar gösterebilmektedir. Mikotoksinler etki yerlerine göre, hepatotoksinler, nefrotoksinler, nörotoksinler, immunotoksinler şeklinde sınıflandırılabilirken, jenerik özelliklerine göre teratojenler, mutajenler, karsinojenler ve allerjenler, organik yapılarına göre laktonlar ve kumarinler, biyosentetik orijinlere göre poliketidler ve aminoasit deriveleri, oluşturduğu hastalık tablosuna göre Saint Antonio ateşi, stachybothryotoksikozis ya da toksini oluşturan fungusun cinsine göre *Aspergillus*, *Penicillium* toksinleri olarak sınıflandırılabilirler. Bilinen başlıca fungal toksinler; aflatoksinler, okratoksinler, zearalenon, sitrinin, patulin, kojik asit, sterigmatosistin, trikotesenler, *Penicillium roqueforti* toksini (P.R. toksin), penisillik asit, sporidesmin, ergot alkaloidleri, streoviridin, alternariol, tenuazonik asit, rubratoksinler, sikloklorotin, luteosikrin, tremorin A ve okzalik asittir (2, 7-9).

2.1. AFLATOKSİNLER

Mikotoksikozisten sorumlu bir ajana ilişkin ilk çalışma, 1960 yılında İngiltere’de, 100.000’den fazla hindi palazının, Brezilya’dan ithal edilen yer fıstıklarının tüketmesi sonucu ölmeleri ile başlamıştır. Yapılan otopsiler sonucunda ölen hindi palazlarında karaciğer nekrozu ve safra kanalı hiperplazisi görülmüştür. Önceleri, hindi palazlarındaki ani ölümlerin sebebi anlaşılammış ve hastalığa “hindi X hastalığı” ismi verilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, yer fıstıklarından *Aspergillus flavus* adı verilen toksijenik bir mantar türü izole edilmiş ve sonraları ince tabaka kromatografi yöntemi ile yemlerin analizleri neticesinde bir dizi floresan bileşikler ortaya çıkarılmıştır. Aflatoksin adı verilen bu bileşikler ani ölümlerin sorumlusu olarak gösterilmiştir (2, 3, 5, 10-12).

Mikotoksinler içinde, en yaygın ve bilinen risk aflatoksinlerden ileri gelmektedir. Aflatoksinler son derece yüksek karsinojenik ve mutajenik niteliği olan kimyasal yapılardır ve halk sağlığı açısından üzerinde önemle durulan ilk mikotoksik ajandır. Aflatoksin kontaminasyonu çoğunlukla sıcak ve rutubetli iklimin hüküm sürdüğü Afrika, Asya ve Güney Amerika ülkelerinde görülmekle birlikte, Kuzey Amerika ve Avrupa'da da yaygındır (10).

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 (11).

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius*'un sekonder metabolitleri olup, yapısal olarak birbirine son derece benzeyen okside olmuş heterosiklik bileşiklerdir (7, 12, 13).

2.1.1. Aflatoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Aflatoksinler B₁, B₂, G₁ ve G₂ olmak üzere başlıca dört ana fraksiyondan oluşmaktadır. Bu isimlendirme, ince tabaka kromatografisinde, uzun dalga boylu ultraviyole (UV) ışığı altında Aflatoksin B₁ ve Aflatoksin B₂ (AFB₂)'nin mavi, Aflatoksin G₁ (AFG₁) ve Aflatoksin G₂ (AFG₂)'nin ise yeşil floresan vermesiyle ilişkilidir. Ayrıca, özellikle memelilerde, ana metabolitlerin biyotransformasyonu sonucu oluşan Aflatoksin P₁ (AFP₁), Aflatoksin Q₁ (AFQ₁), Aflatoksin B_{2a} (AFB_{2a}) ve Aflatoksin G_{2a} (AFG_{2a}) adı verilen aflatoksinler de tanımlanmıştır (2, 7).

Aflatoksinler bir poliketid ara yolu üzerinden sentezlenen difuranokumarin derivatlarıdır (2). Kumarin çekirdeğinin bir yanında bifuran sistemi, diğer yanında ise, B grubu toksinlerde siklopentenon halkası, G grubu toksinlerde ise lakton halkası bulunmaktadır (7).

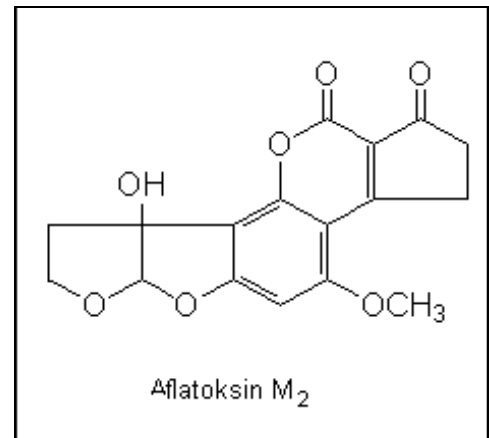
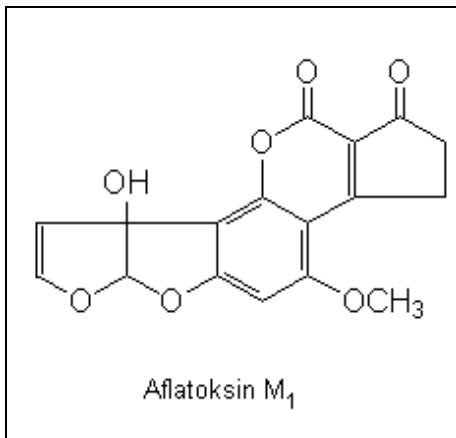
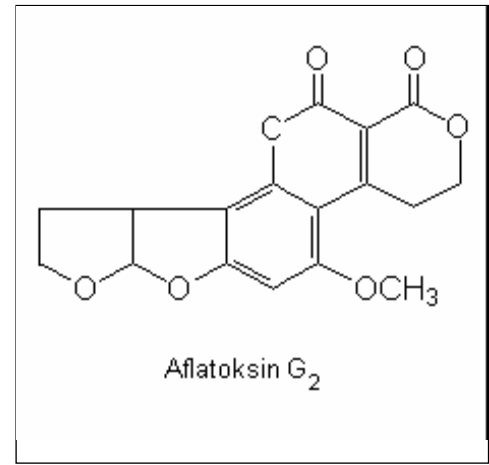
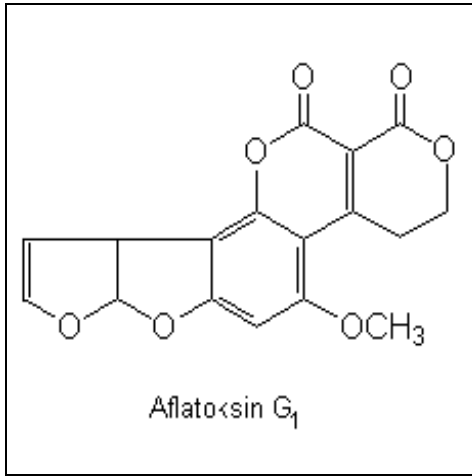
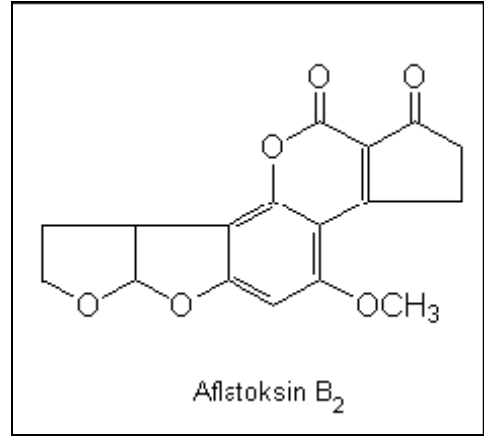
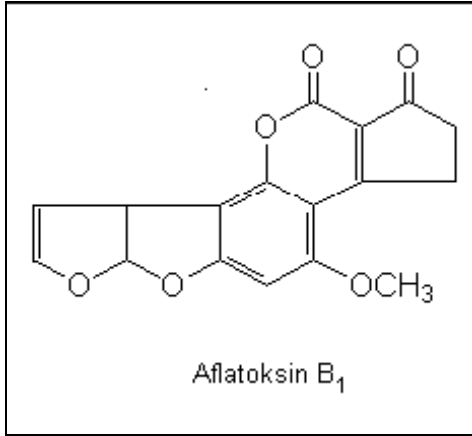
Kimyasal yapıları önemli derecede farklılıklar göstermekle birlikte, hemen hepsi nispeten düşük molekül ağırlıklarına sahiptirler (14).

Aflatoksinler, suda az (10-30 µg/ml), metanol, kloroform ve diğer bir çok organik çözücüde kolay çözünürler. Isıya karşı stabildirler. Aflatoksin B₁, 268-269 °C ergime noktasında, renksiz kristaller oluşturur (7, 15).

Aflatoksinlerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2.1.'de, kimyasal yapıları Şekil 2.1.'de gösterilmiştir (7).

Tablo 2.1. Aflatoksinlerin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Aflatoksin	Moleküler Formülü	Moleküler Ağırlığı (Dalton)	Kaynama Noktası (°C)
B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	268-269
B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289
G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	244-246
G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240
M ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299
M ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293



Şekil 2.1. Aflatoxin Türevlerinin Kimyasal Yapıları

2.1.2. Aflatoksinlerin Toksisitesi

Aflatoksinler, akut toksik, immunosupresif, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik bileşiklerdir. Toksisite ve karsinojenitede başlıca hedef organ karaciğerdir (14, 16).

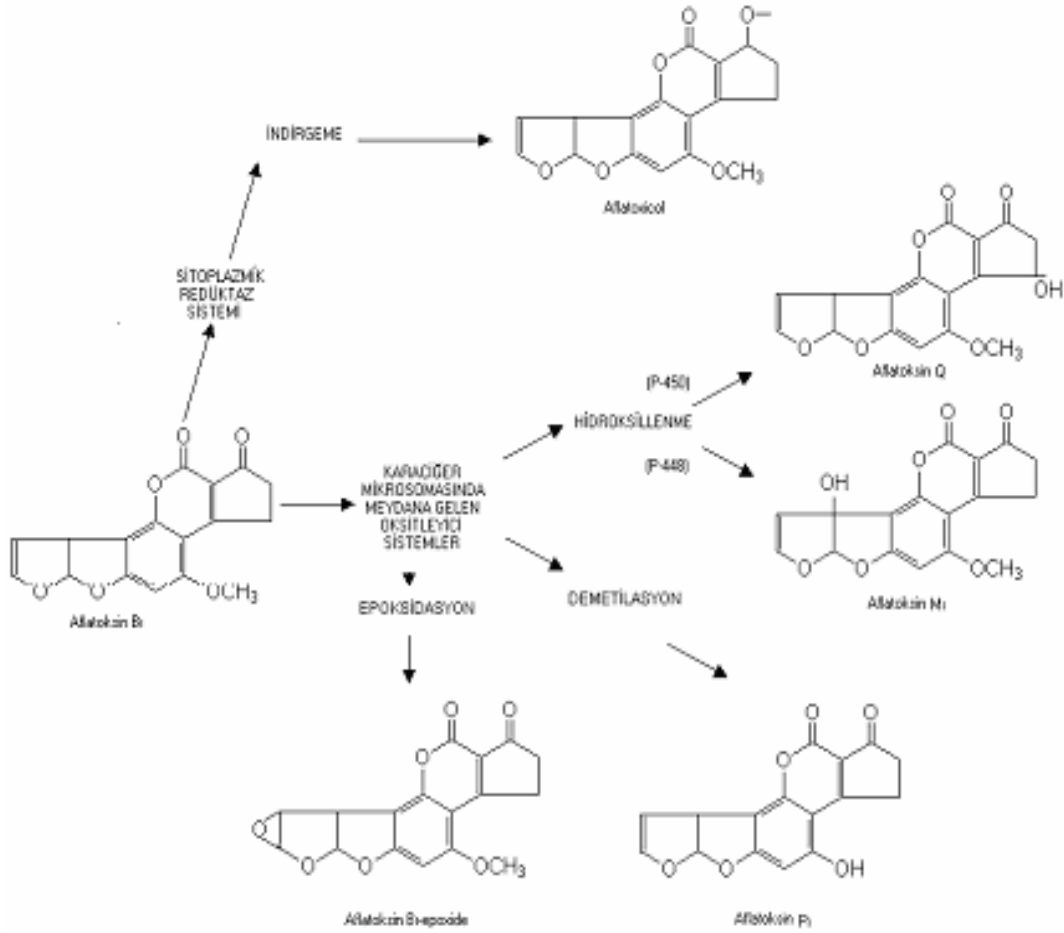
Kimyasal yapıda meydana gelen değişiklik, aflatoksinlerin biyolojik aktivitesinde de değişikliğe neden olmaktadır. Örneğin, AFB₁'in dihidro derivatı olan AFB₂, AFB₁'den daha az toksiktir. B grubu toksinlerde bulunan siklopentenon halkasının terminal 5 halkasında laktona olan değişim sonucunda G grubu toksinler meydana gelmektedir (7). Aflatoksin türevleri içinde toksik ve kanser yapıcı etkisi en fazla olan AFB₁ dir. Bunu azalan sırayla AFG₁, AFB₂, ve AFG₂ izler (2, 3, 12).

Dünya Sağlık Teşkilatı'na (WHO) bağlı Uluslar arası Kanser Araştırma Merkezi (IARC) tarafından 19 Haziran 1993 tarihinde, AFB₁, yeterli kanıt elde edilmiş insan karsinojeni, AFM₁ ise insanlar için muhtemel karsinojenik bileşik olarak kabul edilmiş ve sınıflandırılmıştır (17).

Avrupa Birliği'nin "Gıda Maddelerinde Bazı Bulaşanların Maksimum Düzeylerini Belirleyen Komisyon Direktifi"nde; özellikle AFB₁ olmak üzere, aflatoksinlerin genotoksik karsinojen maddeler olduğu, bu nedenle herhangi bir NOEL (No Observable Effect Level; gözlenebilir etki oluşturmayan düzey) ve ADI (Acceptable Daily Intake; kabul edilebilir günlük alım miktarı) değerlerinin belirlenemediği bildirilmektedir (18).

Aflatoksinlerin metabolik aktivasyonu sonucu toksik, karsinojenik ve mutajenik etkili metabolitler oluşur. AFB₁, karaciğer mikrozomal sitokrom P450 enzimleri tarafından oksidasyonu sonucu, DNA ve proteinlere bağlanma yeteneğinde reaktif bir form olan AFB₁-8,9-epoksit formuna çevrilir. AFB₁-8,9-epoksit, GSH-S-transferaz katalizörlüğünde, GSH (Glutatyon) ile birleşerek veya *epoksit hidrolaz* ile yada kendiliğinden AFB₁-8,9-dihydrodiol'e dönüşerek inaktive olur. Bu inaktivasyon olayı, bir çok türde AFB₁'in detoksifikasyonunda oldukça önemli bir yoldur (2, 9, 16, 19, 20).

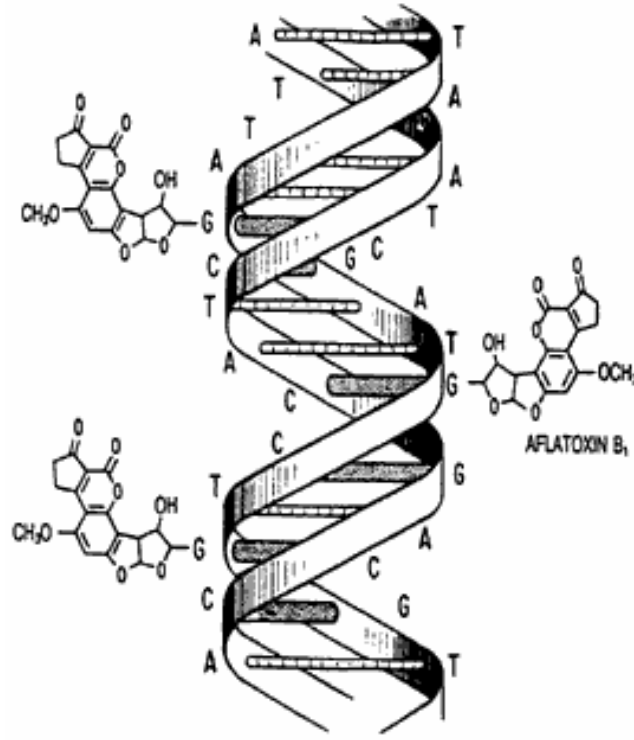
Aflatoksin B₁'in vücuttaki metabolizması Şekil 2.2.'de gösterilmiştir (21).



Şekil 2.2. Aflatoksin B₁'in vücuttaki metabolizması

AFB₁-8,9-epoksit, DNA, RNA ve protein gibi hücresel makromoleküllerdeki çeşitli nükleofilik merkezlere kovalent olarak bağlanabilir. AFB₁'in epoksi formunun bu aktifleşme reaksiyonunun sonucunda DNA ile birleşerek AFB₁-N⁷-Gua kompleksini oluşturduğu bilinmektedir. Bu kompleks, organizma veya hücreler için biyolojik bir tehlike oluşturmakta, karsinojenik ve genotoksik etkilerin sorumlusu olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca DNA polimeraz enziminin DNA çift sarmalına bağlanmasını engelleyip mRNA sentezini yavaşlatmakta ve sonuç olarak protein sentezi engellenmekte ve hücresel bütünlük bozulmaktadır (14, 22).

AFB₁, karaciğer hücrelerindeki DNA'da guanin bazına bağlanır ve hücre büyümesini düzenleyen genetik kodda hataya neden olur. Kontrol dışı çoğalan hücreler tümör oluşumuna neden olurlar (Şekil 2.3) (22).



Şekil 2.3. AFB₁'in DNA molekülüne bağlanması

Araştırmacılar tarafından yapılan in vitro çalışmalarda da aflatoksinlerin mutajenik etkili bileşikler olduğu saptanmıştır (23, 19).

Aflatoksinlerin mikrozomal hidroksilasyon ve demetilasyon reaksiyonları sonucunda oluşan AFP₁ ve AFQ₁ metabolitleri, mutajenik aktivitesi AFB₁'den daha düşük olan metabolitlerdir. Bu nedenle bu reaksiyonlar, bir bakıma detoksifikasyon işlemi olarak kabul edilmektedir. Buna karşın; AFB₁ molekülündeki siklopentano halkasının NADPH'a bağımlı sitosolik enzimler tarafından hidroksillenmesiyle oluşan aflatoksikol metaboliti, AFB₁'e kısmen geri dönüşümü nedeniyle detoksifiye bir metabolit olarak kabul edilmez (16).

2.1.2.1. Aflatoksinlerin İnsanlar Üzerine Olan Etkileri

İnsanların aflatoksine doğrudan maruz kalmaları, aflatoksinle bulaşık gıda maddelerini tüketmek suretiyle sindirim sistemi ve bulaşık gıdalara temas sonucunda da deri ve solunum yoluyla olmaktadır. Dolaylı olarak maruz kalma ise, aflatoksinlerle bulaşık yem maddelerini tüketen hayvanların karaciğer, süt ve yumurtalarının insanlar tarafından tüketilmesi sonucu meydana gelmektedir (1).

İnsanlar mikotoksinlere daha çok sindirim yoluyla daha az olarak da solunum ve deri yoluyla maruz kalmaktadır. Mikotoksikozis olgusunun şiddeti; maruz kalma sıklığına, yaşa, beslenmeye ve diğer kimyasal maddelerle sinerjistik etkileşimine bağlıdır (14, 23).

AFB₁ ile kontamine bitkisel ve hayvansal gıdaların tüketilmesi sonucu organizmaya alınan aflatoksin, plasenta aracılığıyla (*transplasental yol*) ve emzirme yoluyla yeni doğanlara da taşınmaktadır (20).

Aflatoksinlerin yüksek dozları karaciğer hasarına ve bunu takiben akut şiddetli intoksikasyon ve ölüme, kronik subletal dozlar ise beslenme bozukluklarına ve bağışıklık sisteminin baskılanmasına neden olmaktadır (24).

Akut aflatoksikoziste, karaciğerde hemorajik nekroz, safra kanallarının proliferasyonu, ödem ve uyku hali (*letarji*) meydana gelir. Akut zehirlenmelere yetişkinler yüksek bir direnç gösterirler fakat çocuklarda ölüm şekillenebilir. Yüksek miktarda aflatoksin alımına bağlı olarak şekillenen akut aflatoksikozisteki ölüm oranı yaklaşık % 25'tir (24, 25).

Vücutta akümülyasyon eğilimi olan aflatoksinlerin uzun süreli düşük miktarda alınması kanser oluşumuna neden olabilmektedir (24).

Dünyanın çeşitli bölgelerinde aflatoksinle bulaşık gıdalarla beslenen insanlarda karaciğer kanseri, siroz ve özellikle çocuklarda Reye's Sendromu vakalarına zaman zaman rastlanmıştır. Çocuklarda görülen bu sendrom maymunlarda aflatoksikoziste görülen klinik semptomlarla seyredir. Şiddetli malnutrisyon sendromu olan Kwashiorkor hastalığının da pediatrik aflatoksikozisin bir formu olduğu varsayılmaktadır (2, 14).

Özellikle Afrika ve Çin’de, karaciğer kanserli hastalarda yapılan çalışmalar sonucunda, aflatoksinlere yüksek düzeyde maruz kalan insanlarda karaciğer kanserinin oluşumunda, p53 tümör baskılayıcı geninde meydana gelen mutasyonun rol oynadığı bildirilmiştir (2, 20, 24, 26).

Bir çok epidemiyolojik çalışmada, yüksek seviyede aflatoksine maruz kalan insanlarda, hepatoselüler karsinoma insidensi ile Hepatit B virusuna yakalanma oranının yüksek olduğu ve Hepatit B virusu taşıyan insanlarda aflatoksinin olumsuz etkilerinin çok daha fazla arttığı gözlemlenmiştir (2, 9, 20, 23, 26).

Van Rensburg ve ark. (27) Mozambik’in bir çok bölgesinde yaptıkları araştırmada hepatoselüler karsinoma insidensi ile aflatoksin’e maruz kalma oranı arasında önemli derecede korelasyon bulunduğunu saptamışlardır.

Hindistan’da 1974 yılında mısırdaki 0.01-1.1 ppm düzeyindeki AFB₁’e bağlı olarak meydana gelen ve 97 kişinin ölümüne neden olan aflatoksikozis olgusunda insanlarda grip, kusma, ayaklarda ödem, sarılık, ascites, karaciğer ve dalakta büyüme semptomları ile karaciğer histopatolojisinde safra kanallarında kalınlaşma ve fibrozis gözlemlenmiştir (28).

Peraica ve ark. (14) bildirdiğine göre, Amerika’da 1966 yılında genç bir kadının 2 gün içinde 5.5 mg AFB₁ ve 6 ay sonra 2 hafta içinde toplam 35 mg AFB₁’e maruz kaldığı bildirilmiştir. İlk maruz kalmadan sonra hastaneye bulantı, baş ağrısı ve deri döküntüsü, 2. kez maruz kalmada ise sadece bulantı şikayeti ile başvurduğu bildirilmiştir. Her iki durumda da fiziksel, radyolojik, laboratuvar muayeneleri ve karaciğer biyopsisi normal olarak gözlemlenmiştir. 14 yıllık inceleme süresi içerisinde herhangi bir hastalık semptomuna veya lezyonuna rastlanmamıştır. Bu bulgulardan hareketle iyi beslenen insanlarda AFB₁’in hepatotoksitesininin düşük olduğu bildirilmiştir.

Yapılan klinik araştırmalarda, kemoterapötik bir ajan olan oltipraz’ın, aflatoksinlerin karsinojenik forma dönüşümünü sağlayan metabolizmayı yavaşlatarak ve oluşan metabolitlerin detoksifikasyonunu artırarak, aflatoksinlerin biyolojik etkin dozunu düşürdüğü bildirilmektedir (26).

İnsan hepatositleriyle in vitro ve sıçanlarla in vivo olarak yapılan çalışmalar sonucunda, anti şistozomal bir ilaç olan Oltipraz'ın; epoksit oluşumunu bloke etmek ve aflatoksin detoksifikasyonunda görevli enzim olan glutatyon-S-transferazı (GST) indüklemek suretiyle, AFB₁'den epoksit ve AFM₁ oluşum metabolizmasını bloke ettiği saptanmıştır (29).

2.1.2.2. Aflatoksinlerin Hayvanlar Üzerine Olan Etkileri

Aflatoksinlere duyarlılık hayvan türü, cins, yaş, cinsiyet, sağlık durumu, beslenme koşulları, alınan toksin miktarı ve sıklığı ile vücuda alınış yoluna bağlı olarak değişmektedir (2, 7).

Domuz, hindi, ördek ve alabalıklar aflatoksinle son derece duyarlı canlılar olarak bilinmektedirler. Broilerler, sayılan türlere göre aflatoksinle daha dirençli olmasına karşın, yumurtacı tavuklardan daha duyarlıdır (1).

Coulombe (16), çiftlik hayvanları içinde, sığır, domuz ve kanatlıların AFB₁'den en çok etkilenen türler olduğunu, bu hayvanlarda ortalama 2 ppm'e kadar olan AFB₁ alımı sonucu canlı ağırlık artışında azalma, kanatlılarda 2-10 ppm arasındaki maruz kalma neticesinde ise yumurta veriminde düşme, karaciğer nekrozu, kanama ve ölümlerin gözlemlendiğini bildirmektedir.

Applebaum ve ark. (7), aflatoksinin, koyun ve keçilerin karaciğerindeki metabolizmasının, sığır ve bufaloların karaciğerindeki metabolizmasından daha hızlı olduğunu, bu durumda aflatoksinin metabolizması ile tür duyarlılığı arasında muhtemel bir korelasyondan bahsetmenin mümkün olabileceğini belirtmektedirler. Yine aynı araştırmacılar tarafından, evcil hayvanlardan sığır, domuz, hindi, tavuk ve ördeklere, birkaç gün boyunca sub letal dozda aflatoksin alımı sonucu, toksisiteye bağlı ilk değişikliklerin karaciğerde ortaya çıktığı ve karaciğer hasarı meydana geldiği, karaciğerde hasar meydana getirebilecek kümülatif toksin miktarının ortalama olarak 0.3-15 ppm düzeyinde olduğu bildirilmiştir.

Eraslan ve ark. (30) broiler piliçlerde aflatoksinlerin bağışıklık sistemi üzerine etkisini incelemek üzere yaptıkları bir çalışma neticesinde, deneysel yolla aflatoksinle buluşturulmuş yemle beslenerek, otuz gün süre ile 0.5 ppm ve 1 ppm aflatoksin alan civcivlerin bağışıklık sisteminde baskılanma tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Aflatoksinlerin yüksek dozlarda alınmaları neticesinde hayvanların çoğunda gözlenen akut aflatoksikozisin klinik bulguları; iştah azalması, ağırlık kaybı, solunum güçlüğü, burun akıntısı, durgunluk, bitkinlik, uyku hali (*letarji*), kansızlık, öksürük, kanlı ishal, nörolojik anormallikler, mukoz membranlarda sarılık, kapillar damar dayanıklılığının azalması sonucu doku ve organlarda kanama, vücut boşluklarında sıvı birikimi, kasılma ve en sonunda birkaç saat ile birkaç gün içinde meydana gelen ölümdür. Karaciğerde rengin açılması veya tamamen renksizleşme ve yağ infiltrasyonu belirgin olarak görülür (1).

Kronik zehirlenmeler, hayvanlarda özellikle bağışıklık sisteminin baskı altına alınmasına ve kazanılmış direncin kırılmasına yol açarak, bir çok hastalığın ön plana çıkmasına sebep olabildiğinden, çoğu kez gözden kaçabilmektedir. Kronik zehirlenme; iştahın azalması, büyüme hızı, yem tüketimi ve yemden yararlanmanın azalması, kıl örtüsünün bozulması, kansızlık, özellikle broylerlerde karkas kalitesinde düşme, ette berelenme ve çürüme, karın boşluğunda sıvı toplanmasından dolayı karnın büyümesi, hafif sarılık, sığırlarda yavru atma ve süt veriminde azalma, kanatlılarda yumurta verimi, yumurtadan yavru çıkma oranı ve yumurta ağırlığında azalma gibi bozukluklarla seyreder. Büyüme hızı ve canlı ağırlık artışının azalması, protein, yağ ve karbonhidrat metabolizmasında meydana gelen karışıklığa bağlanmaktadır (1, 12, 31).

Yapılan araştırmalar sonucunda AFB₁'in, timus gelişmesinde gerilik, fagositik aktivitede baskılanma, T-lenfositlerin fonksiyonları ve sayıları ile komplement aktivitesinde azalma meydana getirdiği saptanmıştır (32).

Yenilebilen mantarların yapısındaki polisakkaritler ve glikoproteinlerin hayvansal organizmalara ait sistemlerde anti tümoral, karaciğer koruyucu, antiviral, antibakteriyel özellikler gösterdiği gibi, karaciğeri aflatoksikozis'e karşı koruyucu bir özelliğinin de bulunduğu ifade edilmektedir (33-35).

Değişik hayvan türlerine tek doz halinde verilen aflatoksinin hayvan türlerine göre ortalama letal doz (LD_{50}) değerleri Tablo 2.2.'de gösterilmiştir (7).

Tablo 2.2. Değişik hayvan türlerine tek doz halinde verilen aflatoksinin hayvan türlerine göre ortalama letal doz (LD_{50}) değerleri

Hayvan Türü	LD_{50} (mg / kg vücut ağırlığı)
Ördek yavrusu	0.3-0.6
Domuz	0.6
Alabalık	0.8
Köpek	1.0
Gine Domuzu	1.4-2.0
Koyun	2.0
Merkep	2.2
Rat	5.5-17.9
Tavuk	6.3
Fare	9.0

2.2. AFLATOKSİN M_1 VE M_2

Aflatoksin M_1 ve M_2 , “*milk toxin*” yani süt toksininin kısaltılmış şekli olup, çiftlik hayvanları tarafından AFB_1 ve AFB_2 ile bulaşık yemlerin tüketilmesi sonucu süt ile dışarı atılan, AFB_1 ve AFB_2 ’nin hidroksillenmiş metabolitleridir. AFM_1 ’in karsinojenik gücü AFB_1 ’in 1/10’u kadardır. Memeli hayvanların AFB_1 ile kontamine yemleri tüketmeleri sonucunda toksini sütleri ile salgıladıkları tespit edilmiştir (Carry-Over etki) (3, 7, 12, 16, 36).

AFB_1 ’in AFM_1 ’e dönüşmesi, karaciğer mikrozomal oksidaz sistemiyle olmaktadır. Sütteki AFM_1 , vücuttaki AFB_1 molekülünün 4 ncü karbon atomunun hidroksilasyonu sonucunda meydana gelmektedir. AFM_2 de, AFB_2 molekülünün 4 ncü karbon atomunun hidroksilasyonu sonucunda oluşmaktadır. Sütte bulunan diğer M serisi aflatoksinler, Aflatoksin GM_1 ($AFGM_1$), Aflatoksin GM_2 ($AFGM_2$), Aflatoksin M_{2a} (AFM_{2a}) ve Aflatoksin GM_{2a} ($AFGM_{2a}$)’dır. Bunlar da, AFG_1 , AFG_2 , AFB_{2a} ve AFG_{2a} ’nın hidroksile olmuş derivatlarıdır (7).

Bu toksinler de ince tabaka kromatografisinde, uzun dalga boylu UV ışığı altında mavi floresan verirler ve B toksinlerinden daha düşük R_f (Rate of flow) değerlerine sahip olmalarıyla ayrılırlar. Uzun dalga boyuna sahip UV ışığı altında göstermiş oldukları floresan formlarının farklı olması, aflatoksinlerin tayininde kullanılan bir çok tekniğin temelini oluşturmaktadır (3, 7, 12).

Galvano ve ark. (37), AFM_1 'in pastörizasyon işlemine olan dayanıklılığına ilişkin yapılan çok sayıdaki araştırmaya bağlı olarak, AFM_1 'in silindir metodu ile süt tozu üretimi ve pastörizasyonu işlemlerinden etkilenmediği, ısı işlem uygulamasının süt proteinleri üzerindeki ve süt tuzlarının çözünürlüğü üzerinde oluşturduğu etkilere bağlı olarak AFM_1 'in ekstraksiyonunda değişimlerin olabileceğini ifade etmektedirler.

2.2.1. Aflatoksin Karşı Süt Sığırlarında Oluşan Cevaplar

2.2.1.1. Rumen

Aflatoksinlerin zararlı etkilerine genç ruminantların, yaşlı ruminantlara oranla daha duyarlı oldukları bildirilmiştir. Bu durumun, yaşlı ruminantların rumen mikroflorasının, aflatoksinleri detoksifiye etme yeteneğine sahip olmaları ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (38, 39).

Mathur ve ark. (38) AFB_1 'in rumen mikroflorasına etkilerini ve rumen mikroorganizmalarının toksini diğer bileşiklere metabolize etme yeteneğini saptamak amacıyla yaptıkları çalışma sonucunda elde ettikleri kromatografik bulgular AFB_1 'in rumen mikroflorası tarafından diğer floresan bileşiklere dönüşmediğini göstermiştir. Bu bulgular, ruminant dokularında floresan metabolitlerin bulunduğu ve yemlerde bulunan aflatoksinin, dokulardaki metabolizması sonucu floresan maddelerin açığa çıktığı hipotezini desteklemektedir. Diğer taraftan AFB_1 'in rumen mikroflorası (karışık kültür ve *Streptococcus bovis* saf suşu) üzerine etkisi sonucu bakterinin morfolojisinin ve fizyolojisinin toksin tarafından değiştirildiğini bildirmişlerdir. Beuchat ve Lechowich (40) de *Bacillus megaterium* bakterisini kullanarak benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Mathur ve ark. (38) AFB_1 'in *S. bovis* saf suşu ve karışık kültürleri üzerine bildirdikleri etkileri, Fehr ve Delage (41) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları için açıklama sağlamaktadır. Fehr ve Delage (41) AFB_1 'in rumen mikroflorası üzerine etkisini saptamak amacıyla yaptıkları in vitro çalışma sonucunda, rumende uçucu yağ asitlerinin sentezinin azaldığını saptamışlardır. Esansiyel yağ asitleri, ineklerde enerji ve süt sentezi için gereklidir. Rumende mikrobiyal aktiviteye bağlı olarak meydana gelen

uçucu yağ asitlerinin sentezindeki azalmanın, aflatoksinli yem tüketen ineklerde süt verimindeki azalmadan sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür.

Applebaum ve ark. (7), AFB₁'in ineklerin sindirim kanalında uğradığı değişiklikleri inceleyen çalışmalarda, yemle birlikte verilen AFB₁'in sadece % 2-5'inin bağırsaklara ulaştığını ve % 0.6'sının sütle AFM₁ şeklinde atıldığını, ineklerin rumen ve abomasumundan alınan örneklerde de AFB₁ ve AFM₁ saptanarak, AFB₁'in rumende yıkımlandığını bildirirken, rumen sıvısına aflatoksin ilave ederek yapılan in vitro deneylerde AFB₁'in yaklaşık % 40'ının yıkımlandığını belirtmektedir.

2.2.1.2. Yem Alımı ve Süt Üretimi

AFB₁ ile kontamine yemleri tüketen ineklerden elde edilen sütlerde AFB₁'in AFM₁'e dönüşüm oranı % 0.2–4 arasında değişkenlik göstermektedir. AFM₁'in, AFB₁ yemle alındıktan sonra 6-24 saat içinde sütte tespit edilebildiği, 12-48 saat içinde en yüksek düzeyine ulaştığı ve AFB₁ alımının kesilmesini takip eden 2-4 gün içinde sütte tespit edilemediği bildirilmiştir (7, 8, 13, 31, 42).

Veldman ve ark. (43) yaptıkları bir çalışmada laktasyonun ilk (2-4 hafta) ve son dönemindeki (34-36 hafta) 34-39 µg/gün AFB₁ ile kontamine yemi tüketen ineklerde AFB₁'in AFM₁'e dönüşüm oranını (carry-over) sırasıyla 0.062 ve 0.018 olarak tespit etmişler ve bu farklılığı süt üretimi miktarındaki farklılaşma ile ilişkili olduğu gibi, AFB₁'in karaciğerde metabolizmasının bireysel farklılıklar göstermesi ile de ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, yüksek süt verimine sahip ineklerin sütlerinde AFM₁ atılım oranının yüksek olmasının nedenini, meme alveol hücrelerinin membran geçirgenliklerinin fazla olması sonucu ortaya çıktığı kanısına varmışlardır. Mastitisli ineklerde AFM₁ atılım oranının yüksek olmasının nedenini de, membranların geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak gerçekleşmesinin, durumu daha anlaşılabilir bir hale getirdiğini ifade etmişlerdir.

Araştırmacılar tarafından, 7-57 µg/gün AFB₁ alımı ile AFM₁ arasında doğrusal bir ilişki bulunmuş ve durum aşağıda belirtilen şekilde formülize edilmiştir.

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

Bu formüle göre, AFM₁'in sütte bulunmasına izin verilen maksimum limit değeri olan 0.05 µg/kg atılımı için, her bir ineğin günde ortalama olarak 40 µg AFB₁ alması gerekmektedir. İneğin günlük yem tüketimi ortalama 12 kg olarak düşünüldüğünde kg yem başına düşen AFB₁ miktarı 3.4 µg/kg civarında olmalıdır (13, 43).

Laktasyonun erken dönemindeki koyunlarda AFM₁'in atılımını saptamak amacıyla yapılan bir çalışmada AFB₁ alımından 12-24 saat sonra sütte AFM₁ miktarının pik düzeye ulaştığı, 96 saat sonra AFM₁'e rastlanılmadığı ve AFB₁'in AFM₁'e dönüşme oranının ortalama % 0.032 olduğu bildirilmiştir. Laktasyonun orta döneminde olan koyunlarda da buna benzer sonuçlar elde edilmiş ve AFB₁'in AFM₁'e dönüşme oranının koyunlarda ineklere göre daha düşük oranda olduğu tespit edilmiştir. Koyunların AFB₁'i AFM₁'e dönüştürme oranının sığır ve keçilere göre daha az olduğu ileri sürülmüştür (44).

Polan ve ark. (45) inek sütünde saptanabilir düzeyde AFM₁ oluşumunu sağlayan minimum AFB₁ miktarını saptamak amacıyla yaptıkları bir çalışmada; 50 ppb düzeyinde AFB₁ alan hayvanların sütünde AFM₁ saptamışlar, 10 ppb düzeyinde AFB₁ alan ineklerin sütünde ise AFM₁ saptayamamışlardır. Konsantre yemdeki AFB₁ miktarının 46 ppb'yi aştığı durumda sütle AFM₁ şeklinde ortaya çıkabileceğini göstermişlerdir. AFB₁ alımı kesildikten 2 gün sonra sütte AFM₁ saptayamadıklarını ve günlük alınan AFB₁'in % 0.17–0.3 oranında AFM₁ şeklinde süte geçtiğini bildirmişlerdir.

2.3. SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE AFLATOKSİN

2.3.1. Çiğ Sütte AFM₁'in Stabilitesi

Stoloff ve ark. (46) deneysel olarak AFM₁ ile kontamine ettikleri çiğ sütle yaptıkları bir çalışmada, bir grubu pastörize etmeden 4 °C'de 17 gün süreyle muhafazaya alırken diğer grubu 63 °C'de 30 dakika pastörize ettikten sonra diğer grup ile aynı şartlarda muhafazaya almışlar, depolanma süresi sonunda AFM₁'in stabil kaldığını saptarken; 68. gün her iki grupta da AFM₁'in ekstraksiyonunda azalmanın bulunduğunu, 120. gün ise ekstraksiyon düzeyinin % 45 oranında azaldığını bildirmişlerdir.

Kiermeier ve Mashaley (42) hem doğal olarak hem de deneysel olarak AFM₁ ile kontamine çiğ sütlerin 5 °C'de 1-3 gün süreyle depolanmasının AFM₁ miktarında % 11-25 oranında düşüşe neden olduğunu ve bu düşüşün doğal olarak kontamine olmuş sütlerde deneysel olarak kontamine olmuşlara oranla daha hızlı ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

2.3.2. Sütte AFM₁ Oluşumunun Önlenmesi (Sütte AFM₁'in İnaktivasyonuna Yönelik Uygulamalar)

Süt ve süt ürünlerinde AFM₁ ve AFM₂'nin elimine edilmesindeki en iyi yol ineklerin tükettiği yemlerde mikotoksin oluşumunun önlenmesidir. Mikotoksin oluşumunun önlenmesi, uygun depolama ve işleme prosedürleri ile taşıma koşullarının yerine getirilmesini, gerektiğinde antifungal ajanların uygulanmasını içermektedir. Birçok profilaktik önlemin alınmasına rağmen fungal gelişme ve aflatoksin üretimi dolayısıyla sütlerin aflatoksinlerle kontaminasyonu engellenememektir. Bu amaçla sütlerde aflatoksinin inaktive edilmesine yönelik birçok kimyasal, fiziksel ve biyolojik yöntem geliştirilmiştir (7, 13, 15).

Doğal olarak AFM₁ ile bulaşmış çiğ sütün, hidrojen peroksit (H₂O₂), riboflavin ilaveli H₂O₂, laktoperoksidaz ilaveli H₂O₂ gibi kimyasal maddelerin sahip olduğu singlet O₂ ve/veya hipokloröz asit gibi reaktif iki tür kimyasal ajan ile etkileşime girmesine bağlı olarak AFM₁'in % 98'e varan oranlarda yıkımlanabildiği ifade edilmektedir (47).

Yapılan bir araştırmada, doğal yoldan AFM₁ ile bulaşmış çiğ sütün % 0.4'lük potasyum bisülfid ile 25 °C'de 5 saat süreyle muamele edilmesiyle sütteki AFM₁ konsantrasyonunun % 45'e kadar azaldığı ve bisülfidin yüksek konsantrasyonlarının AFM₁'i yıkımlamada daha az etkili olduğu bildirilmiştir (13).

Deneysel olarak AFM₁ ile kontamine edilmiş çiğ süte % 1 oranında hidrojen peroksit ilave edilmesini takiben 36 °C'de 30 dakika, 75 °C'de 15 saniye ve 5 dakika süreyle kaynatma gibi ısı işlemlerinin uygulanması sonucu AFM₁'in sırasıyla % 27.8, % 28.8 ve % 45.1 oranlarında inaktive olduğu saptanmıştır (48).

Deneysel olarak AFM₁ ile bulaşık sütlere % 0.5 oranında formaldehit katılmasının 1.1 µg düzeyindeki AFM₁'i 0.05 µg düzeylerine düşürdüğü bildirilmiştir (49).

Sütte AFM₁'i yıkılamaya yönelik fiziksel yöntemler, adsorpsiyon ve ışınlamadır. Süte % 5 oranında adsorban bir madde olan bentonit ilavesinin sütteki AFM₁'i % 89 düzeyinde tutabildiği, ayrıca yemlere hidroksikalsiyum alüminyum silikat, aktif kömür ve sodyum bentonit gibi adsorban maddeler katılarak aflatoksinlerin sindirim kanalından absorpsiyonunun engellenebileceği, AFB₁ ile kontamine yemleri tüketen hayvanların sütlerinde AFM₁ oluşumunun bu yolla azaltılabileceği bildirilmiştir (13, 15, 50-52).

Laktasyondaki ineklerin yemlerine 100 ve 200 ppb düzeyinde AFB₁ ve % 0.5 ve % 1 oranında HSCAS katılarak yapılan bir çalışmada sütle atılan AFM₁ miktarında % 24-44 oranında düşüşlerin gözlemlendiği bildirilmiştir (52).

Galvano ve ark. (53) tarafından yapılan bir çalışmada, AFB₁ ile kontamine yemlere % 2 düzeyinde aktif karbon ve HSCAS katılması sonucunda sütle atılan AFM₁ miktarında sırasıyla, ortalama % 50 ve % 36 oranlarında düşüş meydana geldiği saptanmıştır.

Sütteki AFM₁'in, UV radyasyonla muamele edilme süresine (2-60 dak), kullanılan sütün miktarına ve H₂O₂ (% 1) gibi oksitleyicilerin kullanılmasına bağlı olarak % 3.6-100 oranlarında yıkımlandığı bildirilmiştir (54).

AFM₁'in sulu çözeltilerde UV enerjisiyle parçalanmasının, toksinin furan halkasındaki çift bağın açılmasıyla gerçekleştiği kabul edilmektedir. Işınlama süresi kısa tutulduğunda toksinin süttten uzaklaşması daha hızlı gerçekleşirken, uzun süreli ışınlamalar parçalanmanın daha yavaş gerçekleşmesine neden olmaktadır (11).

2.3.3. Süte Uygulanan Teknolojik İşlemlerin AFM₁'e Olan Etkileri

Süt endüstrisinde sıklıkla kullanılan işlemler, yoğurt yapımı gibi süt bileşenlerini ayırmayı içermeyen uygulamalar ile kurutma, peynir ve tereyağ yapımı gibi süt bileşenlerini ayırmayı içeren uygulamalar olarak ikiye ayrılabilir (13). Sütün işlenmesi sırasında uygulanan teknolojik işlemlerin AFM₁ düzeyine etkisini saptamak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Applebaum ve ark. (7), Grant ve Carlson isimli araştırmacıların deneysel olarak kontamine edilmiş süttten peynir yaptıkları bir çalışmada AFM₁'in, sütün hacminin % 20'sini oluşturan telemede % 50, peynir altı suyunda % 40 ve yıkama suyunda ise % 10 oranında bulunduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, Stubblefield ve Shannon'un AFM₁ ile deneysel olarak kontamine edilmiş süttten uzun ve kısa süreli üretim teknikleri

uygulayarak peynir yapımı sonucunda, uzun süreli metotta peynir altı suyunda % 47, teleme % 45 oranında AFM₁, kısa süreli metotta ise peynir altı suyunda % 71, teleme % 40 oranında AFM₁ saptadıklarını bildirmişlerdir. Kısa süreli işlemde peynir altı suyunda uzun süreli işleme göre daha yüksek oranda AFM₁ toplanmasının nedeni olarak da peynir suyunun zorla süzülerek ayrılması işlemini göstermişlerdir.

Mendonça ve Venâncio (55), deneysel olarak kontamine edilen süttten ultra filtrasyon yöntemi ile peynir altı suyu kısmını ayırmışlardır. AFM₁'in proteinden zengin kısımda % 72.6-86.4 oranında, laktozdan zengin kısımda ise % 2.4-14.7 oranında bulunduğunu saptamışlar ve AFM₁'in proteinden zengin kısma affinitesinin olduğunu bildirmişlerdir.

Oruc ve ark. (56) beyaz salamura peynir yapımı ve olgunlaşması sırasında AFM₁'in dağılımını ve stabilitesini saptamaya yönelik olarak yaptıkları deneysel çalışmada, 50, 250, 750 ng/lit miktarlarında AFM₁ ilave edilen sütlerden yapılan peynirlerde, telemenin; imal edildiği süütün 3.6, 3.8 ve 4.0 katı daha yüksek düzeylerde AFM₁ içerdiğini saptamışlardır. Peynirlerin 3 ay süreli olgunlaşma süresi sonunda da peynirdeki AFM₁ kaybının sırasıyla % 9.15, % 6.70 ve % 4.35 olduğunu bildirmişler ve peynirdeki AFM₁ miktarının olgunlaşma aşamasında değişmediğini buradan hareketle peynir yapımı ve olgunlaşması aşamalarında AFM₁'in oldukça stabil olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Galvano ve ark. (37) Brick, Limburger, Camembert, Tilsit, Cheddar, Gouda, Manchego, Permesan ve Mozarella peynirlerinde olgunlaşma ve depolama sırasında AFM₁ düzeyinin stabil kaldığını bildirmişlerdir.

Doğal ve deneysel olarak kontamine olan sütlerden kremanın ayrılması ve tereyağın oluşumu sırasında AFM₁'in ayrışması üzerine çalışmalar yapılmıştır. Her iki yolla kontamine olan sütte AFM₁'in dağılımının yaklaşık aynı olduğu ve AFM₁'in süütün kaymak kısmında birikmeye eğilimli olduğu belirtilmiştir. Doğal ve deneysel yolla kontamine olmuş sütlerde AFM₁'in sırasıyla % 84 ve % 75 oranlarında kaymakta kaldığı bildirilmiştir (42).

Wiseman ve ark. (57) doğal yolla AFM₁ ile kontamine olan sütlerde AFM₁'in büyük çoğunluğunun kaymakta toplandığını ve sütte bulunan AFM₁'in % 2-14'ünün kremaya geçtiğini saptamışlardır. Krema ve kaymağın 64 °C'de 30 dakika süreyle pastörize edilmesi sonucu AFM₁'in stabil kaldığını tespit etmişlerdir.

Deveci ve Sezgin (58) tarafından yapılan bir çalışmada ise yapay olarak AFM₁ ile kontamine edilmiş pastörize süt tozunun muhafazasının 3. ve 6. aylarında AFM₁ tespit oranlarında sırasıyla %2 ve %4 düzeyinde azalmalar meydana geldiği saptanmıştır.

Kefir ve yoğurt gibi kültüre edilmiş süt ürünlerinin birkaç ay süreyle donmuş olarak muhafaza edilmesinin AFM₁ miktarını etkilemediği bildirilmiştir (59).

Peynir ve peynir altı suyundaki AFM₁ tespit miktarlarının değişkenlik göstermesinde, sütün kalitesi, kontaminasyon miktarı, peynir tipi ve yapım prosedürleri, süt kazein miktarı, lipolitik etki, uygulanan ısı işlemleri, olgunlaşma döneminde meydana gelen proteolizis, farklı metodların uygulanması ve sonuçların farklı değerlendirilmesi gibi faktörlerin önemli rol oynadığı bildirilmektedir (55, 60, 61).

Peynirlerde yapılan çalışmalarda yumuşak peynirlerin sert peynirlere oranla daha düşük oranda AFM₁ içerdiği saptanmış ve AFM₁'in peynir altı suyu ile peynir fraksiyonları arasındaki dağılımının peynir tipine göre değiştiği bildirilmiştir. López ve ark. (62) ev yapımı peynirlerde süte yapay yolla 1.7-2.0 µg/l oranında kattıkları toksinin % 60'ının peynir altı suyunda % 40'ının ise peynirde toplandığını saptamışlardır.

Kaniou-Grigoriadou ve ark. (61) Yunanistan'da AFM₁ ile kontamine 54 adet koyun sütü örneği ve bunlardan yapılan teleme ve Feta peyniri örneklerinde AFM₁ miktarını saptamak amacıyla yaptıkları çalışma sonucunda, sütlerde tolerans düzeyinin çok altında (18.2 ng/l), bunlardan elde edilen teleme örneklerinde sütlerden ortalama 4.9 kat daha yüksek oranda AFM₁ saptadıklarını, olgunlaşmış peynir örneklerinde ise AFM₁ saptayamadıklarını bildirmişlerdir. Telemede süttten daha yüksek oranda AFM₁ değerlerinin elde edilmesinin nedenini peynir yapımı aşamasında çiğ sütün yoğunlaştırılması olarak açıklamışlardır. Bu görüşü destekleyen bir başka çalışmada da Wiseman ve Marth (60) doğal yolla AFM₁ ile kontamine süttten peynir yapımı sırasında AFM₁'in telemede, yapıldığı sütteki AFM₁ miktarından 2.84 kat daha yüksek oranda bulunduğunu saptamışlardır.

Brackett ve Marth (63) cheddar peyniri yapımı sırasında AFM₁'in telemede süte oranla 4.3 kat daha fazla oranda bulunduğunu, toksinin % 45'inin peynire geçtiğini ve olgunlaşma sırasında başlangıçta peynirdeki toksin miktarının giderek düştüğünü, 18-24. haftalarda toksinin en yüksek değerlere ulaştığını ve 1 yıl sonra toksin miktarının giderek başlangıçtaki düzeye düştüğünü saptamışlardır.

2.3.4. Peynirlerde Küf Oluşumu ve Aflatoksin Oluşumunun Sınırlandırılmasına İlişkin Uygulamalar

Peynirlerde küf oluşumu başlıca problemler arasında yer almaktadır. Doğada yaygın olarak bulunan sporlar süt ürünlerine bulaşabilirler. Aflatoksin üreten bazı küflerin sağlık için tehlike oluşturduğu bilinmektedir. 153 yerli ve ithal peynir örneğinde yapılan bir çalışma sonucunda, peynirlerden izole edilen küflerin % 4'ünün mikotoksin sentezleme özelliğine sahip olduğu saptanmıştır (64).

Küflerin aflatoksin sentezleyebilmeleri birçok çevresel faktöre bağlıdır. Bu faktörlerden en önemlisi sıcaklıktır. Küflerin 12–43 °C sıcaklık aralığında aflatoksin ürettikleri, optimum üreme sıcaklıklarının ise 33 °C olduğu bildirilmiştir (7, 11).

Küf oluşumu ve aflatoksin gibi sekonder metabolitlerin gelişimini etkileyen diğer faktörler ise rutubet ve pH'dır. *A. flavus*'un gelişimi için gerekli minimum su aktivitesi değeri (a_w) 0.78, optimum değer ise 0.93 olarak belirtilmiştir. Aflatoksinlerin sentezinde pH'nın etkisini saptamak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Lie ve Marth'ın kazein üzerinde gelişen küfün hem asidik hem de alkali pH'da ürettiği aflatoksini yüksek düzeyde saptadıkları, diğer bazı araştırmacıların ise değişik substratlar kullanarak, aflatoksin akümülyasyonunun hafif asidik ortamda ($pH \geq 4$) yüksek daha düzeyde oluştuğunu tespit ettikleri Applebaum ve ark. (7) tarafından bildirilmektedir.

Atmosferik gazlar, *Aspergillus* gelişimi ve aflatoksin sentezi üzerinde önemli etkiye sahiptirler. Düşük konsantrasyonlardaki CO₂, mantarların gelişimini ve metabolik aktivitelerini stimüle etmekte, CO₂ oranı % 20'yi geçtiğinde ise bu etkisinin yavaşladığı belirtilmektedir. Yüksek düzeydeki CO₂ ve N₂ ile aynı zamanda oluşan O₂ miktarındaki azalma, aflatoksin üretimini inhibe etmektedir. Peynirlerin olgunlaştığı ortamdaki veya paketleme ortamındaki CO₂ konsantrasyonlarının yüksek olmasının, küf türlerinin gelişimi üzerinde inhibitörük etki gösterdiği bildirilmektedir (1, 7).

Karbonhidrat yönünden zengin olan gıda maddelerinde aflatoksin üretiminin yüksek olduğu bildirilmiştir. Sodyum klorürün genellikle gıdalarda koruyucu etkiye sahip olduğu, % 1-3 oranındaki konsantrasyonlarının aflatoksin üretimini artırdığı, % 3'ten yüksek olan konsantrasyonlarının ise toksin üretimini düşürdüğü bildirilmiştir (7).

Peynirlerin fungistatik ajanlar ile muamele edilmesiyle küf oluşumunun inhibe edildiği böylelikle ürünlerin raf ömürlerinin uzun olmasının sağlandığı belirtilmiştir. Bu amaçla en sıklıkla kullanılan bileşik sorbik asittir. Gelişme ortamında sorbatın bulunmasının *A. parasiticus*'un kolonizasyonunda gerilemeye neden olduğu bildirilmiştir (7, 65).

Peynirlerde kullanımı önerilen antifungal ajan primarisindir. Kiermeier ve Zierer (66) primarisinin sadece küf oluşumu başlamadan önce peynirlerde kullanıldığında etkin olduğunu, küf oluşumunu inhibe edebildiğini, buna bağlı olarak aflatoksin sentezinin de inhibe olacağını bildirmişlerdir.

Nisin, sütte doğal olarak bulunan *Streptococcus lactis* suşları tarafından üretilen polipeptid yapıda bir antibiyotiktir. Birçok mikroorganizma nisin tarafından inhibe edilmektedir. Bu etki mikroorganizmalara ve çevresel koşullara bağlıdır (67).

Yousef ve ark. (68) tarafından yapılan bir in vitro çalışma sonucunda, nisin ilave edilen kültürlerde *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen aflatoksinin sentezinin baskılandığı bildirilmiştir. Buradan hareketle nisinin, peynirlerde küf oluşumunun ve aflatoksin sentezinin önlenmesinde kullanılabileceği ifade edilmiştir.

Dünyada en önemli süt ürünü olarak kabul edilen peynirlerde, halk sağlığı açısından önemli bir risk faktörü olan aflatoksin miktarının tayin edilmesine yönelik olarak bir takım çalışmalar yapılmıştır (69-73).

Türkiye'de de süt ve süt ürünlerinde aflatoksin miktarının saptanmasına yönelik olarak son yıllar da gerçekleştirilmiş çok sayıda çalışma ile konu önemli araştırma alanlarından birisi haline gelmiştir (74-92).

Türkiye'de gıda ve yemlerde bulunmasına izin verilen aflatoksin düzeyleri Tablo 2.3.'de gösterilmiştir (93).

Tablo 2.3. Türkiye’de gıda ve yemlerde bulunmasına izin verilen aflatoksin düzeyleri (ppb)

Gıda ve Yem Maddesi	AFB ₁	Toplam Aflatoksin (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂)	AFM ₁
Gıdalar			
Fındık, yerfıstığı ve diğer yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, incir, üzüm ve diğer kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar	5.0	10.0	-
Baharat	5.0	10.0	-
Tahıllar ve tahıl ürünleri	2.0	4.0	-
Peynir	-	-	0.25
Süt	-	-	0.05
Süt tozu	-	-	0.5
Bebek mamaları ve devam formülleri (süt bazlı)	-	-	0.05
Bebek mamaları ve bebek gıdaları	1	2	-
Diğer gıda maddeleri	5	10	-
Yemler			
Yem hammaddeleri	50	-	-
Geviş getiren hayvanların karma yemleri (kuzu-buzağı yemleri hariç)	50	-	-
Kümes kanatlıları karma yemleri (gençlerin yemleri hariç)	20	-	-
Diğer karma yemler	10	-	-

Süt ve süt ürünlerinde AFM₁'in tespitinde kullanılan analitik metodlardan başlıcaları; ince tabaka kromatografisi, yüksek basınçlı likit kromatografi (HPLC), immunoaffinite kolon, minikolon tekniği, florometrik metod, radioimmunoassay (RIA), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) ve çok kısıtlı kullanım alanı bulunan kütle spektrofotometresi olarak sınıflandırılabilir. Tüm bu teknikler içerisinde en yaygın ve pratik kullanım alanına sahip olan yöntem ELISA'dır (13, 94-97).

Immunolojik yöntemlerden olan enzim immunoassay yöntemi (EIA), antijen antikor reaksiyonlarının direkt olarak saptandığı primer bir reaksiyondur. Bu tip primer reaksiyonlarda, antikorun antijene bağlanıp bağlanmadığı direkt olarak saptanmaktadır. EIA yöntemleri, heterojen ve homojen immunoassay olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Homojen immunoassay yönteminde test sistemi; antikor, işaretlenmiş antijen ve örnek antijeni olmak üzere 3 faktör içerir. Homojen immunoassay reaksiyonu yarışmalı bir reaksiyon olup, bu reaksiyonda örnek antijeni ve işaretlenmiş antijen, ortamda sınırlı miktarda bulunan spesifik antikorla bağlanma yarışına girerler. Sistemde işaretleme amacıyla kullanılan enzim, antijene kovalent olarak bağlanmıştır, bu komplekse antikor bağlandığına enzimin yapısında değişiklik meydana gelir ve aktivitesini kaybeder. Bu yöntem heterojen immunoassay yöntemine kıyasla daha kolay ve pratik olmasına karşın, duyarlılığı az ve ortamda mevcut diğer maddelerle meydana gelebilecek istenmeyen reaksiyonlar açısından da riskli bir yöntemdir. Heterojen bir immunoassay yöntemi olan ELISA yöntemi, enzim-antijen veya enzim-antikor konjugatlarından birinin kullanıldığı yarışmalı teknik ve yarışmasız teknik olmak üzere iki şekilde uygulanır. Bu yöntemde, homojen immunoassay yönteminden farklı olarak, antijen ve antikor reaksiyonu sonucu işaretlemede kullanılan enzim aktivitesinde bir değişme söz konusu değildir. Antijen ile birleşmeyen işaretlenmiş antikor veya antikorla birleşmeyen işaretlenmiş antijen, enzim-antijen-antikor kompleksinden ayrıldıktan sonra her iki fraksiyondan birinde enzim aktivitesi ölçülür (67).

Türk Standartları Enstitüsü Beyaz Peynir Standardında (TS 591) beyaz peynirlerde rutubet oranının en çok % 60, titrasyon asitliğinin ise en çok % 3 L.A. (Laktik asit cinsinden) olması gerektiği belirtilmiştir (98).

Bu çalışma, Amasya ilinde satışı sunulan beyaz peynir örneklerinin AFM₁ düzeyleri ile rutubet ve asidite değerlerini incelemeyi amaçlamaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Aralık 2005 - Ocak 2006 ayları arasında Amasya ilindeki büyük marketler ile semt pazarlarında satışa sunulan farklı markalardaki 50 adet beyaz peynir örneği, AFM₁'in varlığı ve seviyesi, rutubet ve asidite değerleri yönünden incelendi. Örnekler, makroskobik bakıda küflenmenin bulunmadığı belirlenen peynirlerden alınmıştır.

AFM₁ seviyesini tespit etmek için Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi (94), rutubet ve asidite değerlerini saptamak için A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists) yöntemleri (99) kullanıldı.

3.1. ENZİM İMMUNOASSAY (EIA) PROSEDÜRÜ

Gıda maddelerinde, küf, bakteri, virüs ve biyokimyasal maddelerin saptanmasında duyarlı, hızlı ve güvenilir bir analiz tekniği olan ELISA testi günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır. Bu testle gıdalardaki mikrobiyel toksinlerin varlığı ng/kg (ppt) düzeyinde tespit edilebilmektedir (94).

3.1.1. Uygulamada Dikkat Edilen Hususlar

1. Kullanmadan önce bütün reaktifler oda ısısına getirildi.
2. Kullandıktan sonra kitin içeriğindeki bütün reaktifler derhal + 2-8 °C'ye kaldırıldı.
3. Test prosedürünün basamakları arasında mikro kuyucukların kurumamasına dikkat edildi.

4. Herhangi bir EIA'nın sonuçlarının doğruluğu büyük ölçüde mikro kuyucukların yıkanmasındaki tutarlılığa bağlı olduğundan, yıkama işlemlerinde EIA prosedüründe belirtilen yıkama talimatlarına dikkatlice uyuldu. Bu amaçla EL_x 50 ELISA otomatik strip yıkayıcı (BioTek Instruments, Inc) kullanıldı.
5. Tüm inkübasyonlar sırasında direkt güneş ışığı ile temastan kaçınıldı.
6. İnkübasyonlar sırasında mikrotiter pleytin üzeri örtüldü.

3.1.2. Aflatoksin M₁ Test Kitinin İçeriği (Ridascreen® r-biopharm, Germany, Art.no:R1101)

1. 1 x mikrotiter pleyt (8 ayrılabilir kuyulu 12 strip) 96 kuyu AFM₁'e karşı oluşmuş antikorlarla kaplanmıştır.
2. 6 x Aflatoksin standart solüsyonları, her biri 1.2 ml

Standart 1 :	0 ppt
Standart 2 :	5 ppt
Standart 3 :	10 ppt
Standart 4 :	20 ppt
Standart 5 :	40 ppt
Standart 6 :	80 ppt
3. 1 x Konjugat, 1.3 ml (peroksidaz konjugatlı AFM₁, konsantre)
4. 1 x Substrat, 7 ml (üre peroksit içerir)
5. 1 x Kromojen, 7 ml (tetrametil benzidin içerir)
6. 1 x Stop reaktifi, 14 ml (1N sülfürik asit içerir)
7. 1 x Buffer 1, 20 ml (numune dilüsyon buffer)
8. 1 x Buffer 2, 12 ml (konjugat dilüsyon buffer)

3.1.3. AFM₁ Ekstraksiyonu

Analizde kullanılacak peynir örneği, homojen hale getirildikten sonra herhangi bir sıvı ilavesi yapılmadan iyice karıştırıldı. Karışımdan 2 g peynir örneği alınarak stomacher (Interscience BagMixer®, 400P) torbasına konuldu, üzerine 40 ml diklorometan (Merck, 1.06049) ilave edilerek 2 dakika süreyle stomacherde çalkalandı. Süspansiyon süzgeç kağıdı (Whatman No:1) kullanılarak süzüldü. Süzme sonucunda 10 ml süzüntü alınarak deney tüpüne aktarıldı ve 60–65 °C'lik su banyosunda (Nüve®, BM402), tüpün dibinde yağlı kalıntı kalıncaya kadar uçuruldu. Altta kalan yağlı kalıntı üzerine 0,5 ml metanol (Merck, 1.06007), 0,5 ml PBS-buffer (pH 7.2, 0.55 g NaH₂PO₄·xH₂O+2.85 g

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 9 \text{ g NaCl}$; 1000 ml suya tamamlanmış) ve 1 ml n-heptan (Merck, 1.04365) ilave edildi ve tüp elle iyice çalkalandı. 15 °C'de 3000 devirde 15 dakika süreyle santrifüj (Nüve®, NF1215) edildi. Santrifüj sonrası tüpün alt kısmında 3 faz oluştu. En üstteki heptan tabakası ile metanolik sıvı tabakası arasında kalan çok ince faz pastör pipetiyle tamamen alındı. En altta kalan metanolik-sıvı fazdan 100 µl alınarak başka bir tüpe aktarıldı. Üzerine 400 µl kit içeriğinde bulunan Buffer 1 ilave edilerek % 10'luk metanol içeriği haline getirildi. Bu karışımdan 100 µl alınarak ELISA testinde kullanıldı.

3.1.4. Test Prosedürü

Standartlar ve örnekler için yeterli sayıda mikrotiter kuyucuk pleyte yerleştirildi. Standart solüsyonlarından ve hazırlanmış örneklerden 100'er µl alınarak kuyucuklara ilave edildi ve oda ısısında karanlık ortamda 60 dakika süre ile inkübe edildi. Mikrotiter kuyucuklar inkübasyon sonunda EL_x 50 ELISA otomatik strip yıkayıcıda 2 kez yıkatıldı. Her bir kuyucuğa 100'er µl dilüe edilmiş enzim konjugat (konsantre konjugat / buffer 2 = 1/11) ilave edilerek tekrar oda ısısında karanlık ortamda 60 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda mikrotiter kuyucuklar EL_x 50 ELISA otomatik strip yıkayıcıda 3 kez yıkatıldıktan sonra her bir kuyucuğa 50 µl substrat ve 50 µl kromojen ilave edildi ve iyice karıştırılarak oda ısısında karanlık ortamda 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu koyularak kuyucuklardaki reaksiyonun durması sağlandı. Pleyt, elle hafif şiddette vurmak suretiyle iyice karıştırıldı. EL_x 800 ELISA otomatik okuyucuda (BioTek Instruments, Inc) 450 nm dalga boyunda hava körüne karşı ölçüldü.

3.1.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

ELISA testi sonuçlarının değerlendirilmesinde Ridascreen® (r-biopharm) tarafından üretilen, otomatik okuyucuya özel Rida® Soft Win programı kullanıldı. EL_x 800 ELISA otomatik okuyucu tarafından; standartlar ve örnekler için bulunan absorbans değerlerinin ortalama değerleri, birinci standartın (0 ppt standardı) absorbans değerine bölündü ve 100 ile çarpıldı. Böylece 0 standardı % 100'e eşit hale getirildi ve absorbans değerleri yüzde olarak bulundu. Standartlar için hesaplanan değerler, semilogaritmik grafik kağıdı üzerine ng / L (ppt) cinsinden aflatoksin M_1 konsantrasyonuna karşı koordinatlar sistemine girildi. Her örneğin aflatoksin M_1 konsantrasyonu eğri üzerinden ng / L cinsinden okundu. Sonuçlar hesaplanırken kalibrasyon eğrisi üzerinden elde

edilen konsantrasyonlar peynir çeşitleri için 10 olarak belirlenen dilusyon faktörü ile çarpıldı (100).

3.2. RUTUBET ANALİZİ PROSEDÜRÜ

Homojen hale getirilen peynir örneğinden alınan 2-3 g numune rutubet ölçüm tabağının (Santis, SA76154720) zeminine yayıldı. Kapağı açık bir şekilde, 130 ± 1 °C’de dengeye gelen hava ceryanlı fırına konuldu ve 1 saat 15 dakika kurumaya bırakıldı. Kurutma sonrasında sıkıca kapağı kapatılarak fırından çıkarıldı, soğutuldu ve tartıldı. Tartım sonundaki ağırlık kaybı rutubet olarak kaydedildi (99).

3.3. ASİDİTE ANALİZİ PROSEDÜRÜ

Homojen hale getirilmiş peynir örneğinden alınan, 10 g numune erlenmayere aktarıldı. Üzerine 40 °C sıcaklıktaki su ilave edilerek 105 ml’ye tamamlandı. Kuvvetlice çalkalandı ve süzgeç kağıdından (Whatman No:1) süzüldü. Süzüntüden 25 ml (2.5 g örnek içerir) alındı ve birkaç damla fenolfitaleyn (Ateks Kimya) ilave edildikten sonra 0.1 M NaOH ile pembe renk oluşup kaybolmayıncaya kadar titre edildi. 1 ml 0.1 M NaOH’in 0.0090 g laktik aside denk geldiği formülasyonundan, harcanan NaOH miktarı formülde yerine konularak laktik asit cinsinden asidite hesaplandı (99).

Formül: 1 ml 0.1 M NaOH = 0.0090 g laktik asit

3.4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmada bütün analizler 2 paralelli ve 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirildi. Çalışmada incelenen örneklerin sahip olduğu AFM₁ düzeyinin rutubet ve asidite ile olan ilişkisini incelemek amacı ile SPSS paket programı kullanılarak korelasyon analizi yapılmış, Spearman korelasyon katsayısı ile parametreler arasındaki ilişki incelenmiştir (101).

4. BULGULAR

Bu çalışmada Aralık 2005–Ocak 2006 ayları arasında Amasya ilindeki büyük marketler ile semt pazarlarında satışı sunulan farklı markalardaki 50 adet beyaz peynir örneği, AFM₁'in varlığı ve seviyesi, rutubet ve asidite değerleri yönünden incelendi.

İncelenen 50 peynir örneğinin % 100'ünün AFM₁ ile kontamine olduğu saptanmıştır. Peynir örneklerinin % 98'inin Türk Gıda Kodeksinde belirtilen limit olan 0,25 ppb'nin altında olduğu ve % 2'sinin (1 örnek) 0,25 ppb'yi aştığı belirlenmiştir. Limit değer olan 0,25 ppb'yi aşmayan peynir örneklerinin 9 adedinde (%18) 0-0,05 ppb arasında, 22 adedinde (% 44) 0,05-0,1 ppb, 13 adedinde (% 26) 0,1-0,15 ppb, 4 adedinde (% 8) 0,15-0,2 ppb ve 1 adedinde (% 2) 0,2-0,25 ppb arasında AFM₁ bulunmuştur.

Çalışmada incelenen peynir örneklerinin AFM₁, rutubet ve asidite değerleri Tablo 4.1'de, ortalama değerleri Tablo 4.2'de, AFM₁ değerlerinin yüzde dağılım oranları Tablo 4.3'de, rutubet ve asidite değerleri yüzde dağılım oranları sırasıyla Tablo 4.5 ve Tablo 4.7'de, gösterilmiştir. Çalışmada tespit edilen AFM₁, rutubet ve asidite değerlerinin Türk Gıda Kodeksi ve TS 591 limit değerlerine göre kıyaslanması ise Tablo 4.4, Tablo 4.6 ve Tablo 4.8'de belirtilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin AFM₁, rutubet ve asidite değerleri

Numune Sıra No	AFM ₁ değerleri (ppt)	Rutubet değerleri (%)	Asidite değerleri (% LA)
1	115,27	59,26	2,16
2	36,57	54,52	1,08
3	30,37	54,64	1,06
4	115,57	59,04	1,04
5	160,90	52,57	1,32
6	57,57	62,89	0,89
7	47,50	60,20	1,45
8	39,90	62,76	1,80
9	94,13	59,54	1,37
10	75,20	58,64	1,14
11	122,83	51,60	0,97
12	38,70	60,43	1,81
13	210,60	61,90	1,21
14	47,87	58,22	1,93
15	92,50	62,30	1,24
16	59,90	56,02	0,93
17	113,57	58,54	1,15
18	1237,80	55,41	1,07
19	99,07	51,95	1,25
20	178,17	70,68	1,00
21	83,33	58,94	1,28
22	78,03	62,46	1,34
23	85,40	52,21	1,34
24	78,67	65,64	0,97
25	108,83	53,45	1,82
26	39,93	65,69	1,26
27	31,43	62,04	0,82
28	91,70	66,86	1,36
29	40,77	58,11	2,14
30	111,63	65,98	1,39
31	135,57	63,88	1,12
32	189,73	66,37	2,44
33	98,50	63,77	0,36
34	54,20	56,70	0,60
35	78,90	61,73	0,26

Tablo 4.1'in devamı

Numune Sıra No	AFM ₁ değerleri (ppt)	Rutubet değerleri (%)	Asidite değerleri (% LA)
36	105,37	56,80	0,34
37	97,47	61,26	0,41
38	91,10	61,05	0,37
39	57,93	44,68	2,28
40	78,07	47,29	0,56
41	73,17	40,68	1,27
42	134,10	31,57	0,37
43	121,03	44,22	0,77
44	77,63	32,49	0,95
45	100,63	49,22	0,72
46	153,53	60,70	0,64
47	140,13	63,70	0,32
48	104,17	62,68	0,41
49	81,20	63,22	0,37
50	80,27	59,83	0,19

Tablo 4.2. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin ortalama değerleri

	Ortalama Değer X	Standart Sapma (SH)	Minimum	Maksimum
Aflatoksin, (ppt)	115.53	23.62	30.37	1237.80
Rutubet, %	57.49	1.15	31.57	70.68
Asidite, % (LA)	1.09	0.08	0.19	2.44

Tablo 4.3. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin AFM₁ miktarları (ppb) ve yüzde oranları

Peynirlerdeki AFM ₁ miktarları (ppt) ve yüzde oranları						
	0 – 0,05	0,05 – 0,1	0,1 – 0,15	0,15 – 0,2	0,2 – 0,25	0,25 >*
N ¹	9	22	13	4	1	1
% ²	18	44	26	8	2	2

¹ Analiz edilen numune sayısı² Toplam numune içindeki yüzdesi

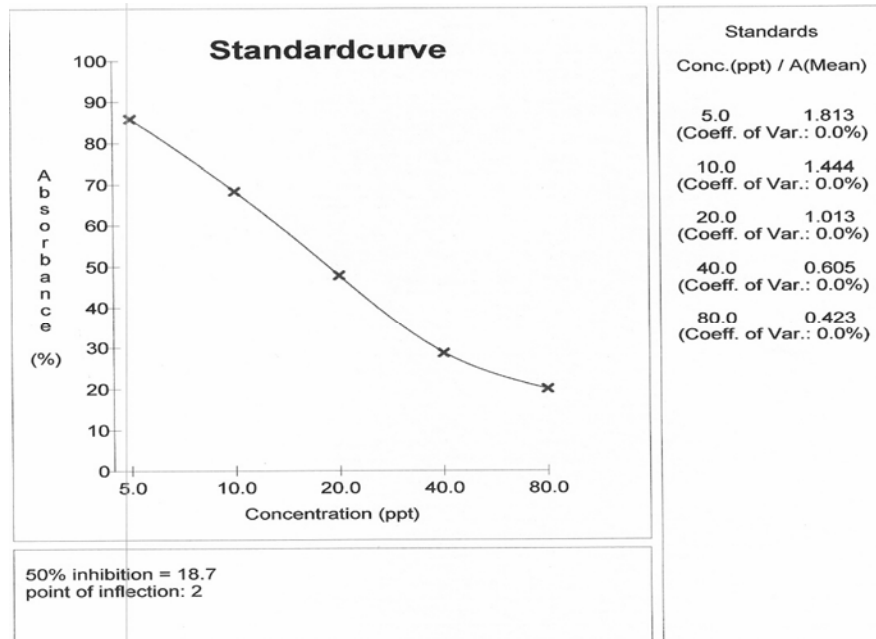
* En yüksek değer 1,237 ppb bir numunede

* En düşük değer 0,03 ppb bir numunede

Tablo 4.4. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin AFM₁ miktarlarının TGK limit değerine göre kıyaslanması

Numune sayısı	Türk Gıda Kodeksi limit değerinin (0.25 ppb) altında	Türk Gıda Kodeksi limit değerinin (0.25 ppb) üzerinde	Toplam
50	49	1	50
Yüzde oranı (%)	98	2	100

Test kitinin absorbans konsantrasyon eğrisi ve standartların ortalama absorbans değerleri Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Test kitinin absorbans konsantrasyon eğrisi

Ser. No.	Concentration ppt	Standards		B/B0 (%)	calculated ppt	Deviation (%)
		Absorbance (Mean)	(CV)			
1	0.0	2.114	0.0	100.0		
2	5.0	1.813	0.0	85.8	5.0	0.0
3	10.0	1.444	0.0	68.3	10.0	0.0
4	20.0	1.013	0.0	47.9	20.0	0.0
5	40.0	0.605	0.0	28.6	40.2	0.5
6	80.0	0.423	0.0	20.0	79.5	0.6

Şekil 4.2. Test kitinin standartlarının ortalama absorbans değerleri

Çalışmamızda incelenen 50 beyaz peynir örneğinin 27 adedinin (% 54) rutubet oranı, TS 591’de belirtilen maksimum limit değerin (% 60) altında, 23 adedinin (% 46) rutubet oranı bu değerin üzerinde bulunmuştur.

Tablo 4.5. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin rutubet değerleri (%) ve yüzde oranları

Peynirlerdeki rutubet değerleri (%) ve yüzde oranları				
	< 50 %	50 – 60 %	60 – 70 %	70 % >*
N¹	7	20	22	1
%²	14	40	44	2

¹ Analiz edilen numune sayısı

² Toplam numune içindeki yüzdesi

* En yüksek değer % 70.68 bir numunede

* En düşük değer % 31.57 bir numunede

Tablo 4.6. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin rutubet değerlerinin TS 591 limit değerine göre kıyaslanması

Numune sayısı	Türk Standartları Enstitüsü peynir standardı (TS 591) limit değerinin (% 60) altında	Türk Standartları Enstitüsü peynir standardı (TS 591) limit değerinin (% 60) üzerinde	Toplam
50	27	23	50
Yüzde oranı (%)	54	46	100

Asidite değerleri bakımından, incelenen beyaz peynirlerin tamamının (% 100), TS 591’de belirtilen maksimum limit değerin (% 3 LA) altında olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.7. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin asidite değerleri (% LA) ve yüzde oranları

Peynirlerdeki asidite değerleri (% LA) ve yüzde oranları					
	< 0.5 %	0.5 – 1.0 %	1.0 – 1.5 %	1.5 – 2.0 %	2.0 % >*
N¹	10	11	21	4	4
%²	20	22	42	8	8

¹ Analiz edilen numune sayısı

² Toplam numune içindeki yüzdesi

* En yüksek değer % 2.44 bir numunede

* En düşük değer % 0.19 bir numunede

Tablo 4.8. Çalışmada incelenen peynir örneklerinin asidite değerlerinin TS 591 limit değerine göre kıyaslanması

Numune sayısı	Türk Standartları Enstitüsü peynir standardı (TS 591) limit değerinin (% 3 LA) altında	Türk Standartları Enstitüsü peynir standardı (TS 591) limit değerinin (% 3 LA) üzerinde	Toplam
50	50	0	50
Yüzde oranı (%)	100	0	100

Rutubet ve asidite değerlerinin AFM₁ değerleri ile olan etkileşimini tespit etmek amacıyla SPSS paket programı kullanılarak korelasyon analizi yapılmış, Spearman korelasyon katsayısı ile parametreler arasındaki ilişki incelenmiştir. Rutubet, asidite ve AFM₁ değerleri arasındaki korelasyon Tablo 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Rutubet, asidite ve AFM₁ değerleri arasındaki korelasyon

Spearman Test		Rutubet	Asidite	AFM ₁
Rutubet	r	1.00	-.003	.078
	p	.	.982	.590
	n	50	50	50
Asidite	r	-.003	1,00	-.145
	p	.982	.	.316
	n	50	50	50
AFM₁	r	.078	-.145	1.00
	p	.590	.316	.
	n	50	50	50

r : Korelasyon Sabiti

p :Önem

n: Örnek Sayısı

Çalışma sonucunda elde edilen verilerin yapılan istatistiksel analizinde numune olarak kullanılan peynir örneklerinin AFM₁ düzeyi ile rutubet içerikleri arasında önemli bir ilişki bulunamaz iken ($r=0,078$), AFM₁ miktarı ile asidite arasında negatif ancak istatistiksel açıdan önemsiz olduğu belirlenen ($r=-0,145$) bir ilişki tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Toplum içerisinde çok sayıda bireyin, günlük yaşamda ve beslenmelerinde sıklıkla süt ve süt ürünlerini tercih etmeleri, aynı zamanda süt ve süt ürünlerinin bebekler ve çocuklar tarafından gelişimleri esnasında daha çok tüketilmesi ve bu yaş gruplarının mikotoksinlerin yan etkilerine karşı daha duyarlı olmalarından dolayı süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM₁ düzeyinin tespiti, halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Tablo 4.3 ve 4.4'den de anlaşılacağı üzere incelenen peynir örneklerinin % 100'ünde AFM₁ saptanmış; % 2'sinde (1 adet) AFM₁ düzeyleri Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen limitlerin üzerinde bulunmuştur.

Dünyadaki çeşitli ülkelerde peynirlerle yapılan çalışmalara baktığımızda, Prado ve ark. (72), 1996-1998 yılları arasında Brezilya'da inceledikleri 75 adet "Minas peyniri" numunesinin 56 adedinde (% 74.7) 0.02-6.92 ppb düzeyinde AFM₁ tespit ettiklerini, Elgerbi ve ark. (73), Libya'nın kuzeybatısındaki 20 farklı süt işleme tesisinden sağlanan 20 adet beyaz peynir örneğinin % 75'inde AFM₁ saptadıklarını, Finoli ve Vecchio (70), Batı Sicilya'daki marketlerden ve çiftliklerden sağlanan farklı çeşitteki 30 adet peynir numunesinin 4'ünde (% 13) AFM₁ tespit ettiklerini, peynirlerdeki AFM₁ oranlarının ise hiçbir numunede, Hollanda'nın peynirler için belirlediği yasal limit olan 200 ng/kg'ı aşmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca Trucksess ve Page (69), Amerika Birleşik Devletleri'nde (A.B.D.) çeşitli ülkelerden ithal edilen 118 peynir numunesinde aflatoksin analizi yapmışlar, analiz sonucunda 8 peynir numunesinde 100-1000 ng/kg düzeylerinde AFM₁ saptadıklarını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda incelenen 50 adet peynir örneğinin tamamında (% 100) 0.03 ppb ve üzerinde AFM₁ tespit edilmiş olup, dört araştırmacının da bildirdiği değerlerin üzerindedir. Bu durum ülkemizde yetiştirilen ve üretilen yem ve yem maddelerinin mikotoksinler (özellikle AFB₁) ile kirlendiğini ortaya koymakta olup bunun yanı sıra coğrafi bölge, ülke, mevsim ve peynir yapım prosedürlerindeki farklılığı da akla getirmektedir. Nitekim peynir ve peynir altı suyundaki AFM₁ miktarlarının değişkenlik göstermesinde, sütün kalitesi, kontaminasyon miktarı, peynir tipi ve yapım prosedürleri, süt kazein miktarı, lipolitik etki, uygulanan ısı işlemleri, olgunlaşma döneminde meydana gelen proteolizis, farklı metodların uygulanması ve sonuçların farklı değerlendirilmesi gibi faktörlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir (55, 60, 61).

Pietri ve ark. (71), İtalya'nın Po ovası çevresinde peynir imalatı yapan 11 çiftlikten, 1991-1994 yılları arasında topladıkları, sert yapıda ve uzun olgunlaşma süresine sahip 223 adet Grana Padano peyniri örneğinde yaptıkları bir araştırmada, sadece bir adet peynir örneğinin Avrupa Birliği tarafından kabul edilen maksimum tolerans düzeyini (250 ng/kg) geçtiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da araştırmacının bildirdiğine paralel olarak, sadece bir adet peynir örneğinin AFM₁ düzeyi, Türk Gıda Kodeksinde belirtilen maksimum tolerans düzeyinin (250 ng/kg) üzerinde bulunmuştur.

Türkiye'de de süt ve süt ürünlerinde aflatoksin miktarının saptanmasına yönelik olarak son yıllarda gerçekleştirilmiş çok sayıda çalışma ile konu önemli araştırma alanlarından birisi haline gelmiştir.

Demirer (78), süt, peynir, süt tozu, tereyağı, yoğurt ve ayran olmak üzere toplam 334 numuneyi, Kardeş (79), Türk Silahlı Kuvvetleri'ne bağlı birliklere alınan beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirlerinden aldığı toplam 150 adet numuneyi, Kıvanç (80), Van'daki marketlerden sağladığı 25 adet Van otlu peyniri ve 25 adet salamura beyaz peynir numunesini, Gürbüz ve ark. (81), Konya'da farklı çeşitteki 240 adet peynir numunesini analiz etmişler ve bu çalışmalarını sonucunda numunelerinde tespit edilebilir sınırlar içerisinde AFM₁ saptamadıklarını bildirmişlerdir.

Araştırmacıların çalışmalarının hepsinde ortak olarak ince tabaka kromatografisi kullanılmış ve sonuçta tespit edilebilir düzeylerde aflatoksin saptanamamıştır (78-81).

Bu bulguların aksine ve çalışmamızdakine benzer şekilde Türkiye’de yapılan diğer çalışmalarda peynirlerde aflatoksin tespit edildiği de birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (74-77, 82-92).

Analizlerde farklı yöntemlerin kullanılması ve yöntemlerin duyarlılık derecelerinin farklı olması, aflatoksinlerin saptanma seviyelerinde farklı sonuçlar elde edilmesine neden olabilmektedir. Kardeş (79), çalışmasında AFM₁ tespit düzeyinin ince tabaka kromatografisinde 1 ng aflatoksin/g (ppb) olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda kullandığımız yöntemle göre peynir örneklerinde AFM₁ 50 ppt düzeyinde saptanabilmektedir.

ELISA yöntemiyle yapılan çalışmalarda, Gürses ve ark. (88), Erzurum ilinde tüketime sunulan 23 adedi beyaz peynir, 14 adedi kaşar peyniri, 11 adedi tulum peyniri, 9 adedi civil peyniri ve 6 adedi lor peyniri olmak üzere toplam 63 adet peynir örneğini incelemişler, beyaz peynir örneklerinin % 28.08’inde ve toplam örneklerin % 44.44’ünde AFM₁ tespit ettiklerini bildirmişler, Türk Gıda Kodeksi yasal limitinin üzerinde AFM₁ içeren numune bulunmadığını belirtmişlerdir.

Dağoğlu ve ark. (76), Van’dan sağlanan 50 adet otlu peynir ve İstanbul’dan sağlanan 25 adet beyaz peynir numunesinin toplam % 45.2’sinde AFM₁ tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Yaroğlu (82), Türk Silahlı Kuvvetleri’ne bağlı birliklere alınan beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirlerinin her birinden 100’er adet olmak üzere toplam 300 adet numunenin % 7.66’sında AFM₁ tespit etmiş, % 1.66’sındaki AFM₁ düzeyinin ise Türk Gıda Kodeksi limit değeri olan 0.25 ppb’nin üzerinde olduğunu belirtmiştir. Yaroğlu ve ark. (83), yaptığı bir diğer çalışmada Türkiye’nin çeşitli bölgelerinden sağlanan beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirlerinin her birinden 200’er adet olmak üzere toplam 600 adet numune’nin %5’inde AFM₁ tespit etmiş ve beyaz peynir örneklerinin % 1’indeki ve toplam örneklerin %1’indeki AFM₁ düzeyinin ise Türk Gıda Kodeksi limit değerinin üzerinde olduğunu belirtmiştir.

Tekinşen ve Tekinşen (77), 50 adet beyaz salamura peynir numunesinin % 62’sinde AFM₁ tespit etmişler ve numunelerin % 40’ının Türk Gıda Kodeksi limit değerlerini aşan düzeyde AFM₁ içerdiğini bildirmişlerdir

Yurdun (74), 1991-2001 yılları arasında İstanbul'da satışa sunulan 15 adet peynir örneğinin tamamında AFM₁ tespit etmiş, numunelerin %13.3'ünün (2 örnek) 0.25 ppb'nin üzerinde AFM₁ içerdiğini bildirmiştir.

Dağoğlu ve ark. (76), Tekinşen ve Tekinşen (77), Yaroğlu (82), Yaroğlu ve ark. (83) ve Gürses ve ark. (88), yaptıkları çalışmalarda AFM₁ tespit edilen numune yüzdeleri, çalışmamızın bulgularından daha düşük oranda, Yurdun'un (74) yaptığı çalışmada ise çalışmamızla eşdeğerdir. Türk Gıda Kodeksi limit değeri üzerinde olan numune yüzdeleri ise, Gürses ve ark. (88) yaptığı çalışmada çalışmamızdan düşük, Yurdun (74) ve Tekinşen ve Tekinşen'in (77) yaptığı çalışmalarda çalışmamızdan yüksek, Yaroğlu (82) ile Yaroğlu ve ark. (83) yaptıkları çalışmalarda ise bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Türkiye'de ELISA yöntemiyle yapılan diğer çalışmalara baktığımızda, Günşen ve Büyükyörük (84), Bursa'daki marketlerden sağlanan farklı çeşitteki 130 adet peynir numunesinin 110'unda (% 85.46) AFM₁ tespit etmişler, pozitif numunelerin 17'sindeki (% 15.45) AFM₁ düzeyinin, Türk Gıda Kodeksi limit değerini aştığını bildirmişlerdir.

Oruç ve Sonal (75), Bursa'daki marketlerden ve sokak sütçülerinden sağlanan 57 adet beyaz peynir ve 10 adet süt örneğini (5 adedi çiğ, 5 adedi pastörize) incelemişler; beyaz peynirlerin % 89.47'sinde ve çiğ sütlerin % 10'unda AFM₁ tespit etmişler, peynirlerin % 12.28'indeki AFM₁ düzeyinin Türk Gıda Kodeksi yasal limiti olan 0.25 ppb'yi aştığını bildirmişlerdir.

Ayçiçek ve ark. (86), İstanbul'da askeri birliklere alınan 186 adet beyaz peynir ve 64 adet tereyağı numunelerinin sırasıyla % 65 ve % 81'inde AFM₁ tespit etmişler, beyaz peynirlerin % 19'u ile tereyağ numunelerinin % 31'indeki AFM₁ düzeylerinin, Türk Gıda Kodeksi limit değerlerini aştığını bildirmişlerdir.

Aydın ve ark. (87), 2002-2004 yılları arasında İstanbul ilinde farklı satış noktalarında tüketime sunulan 131 adedi beyaz peynir, 132 adedi eritme peyniri ve 100 adedi kaşar peyniri olmak üzere toplam 363 adet peynir örneğini incelemişler, beyaz peynir örneklerinin % 25.19'unda Türk Gıda Kodeksi yasal limiti olan 0.25 ppb'nin üzerinde AFM₁ tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Ayçiçek ve ark. (91), Ankara'daki marketlerde satışa sunulan 49 adedi eritme peyniri, 94 adedi beyaz peynir, 53 adedi kaşar peyniri ve 27 adedi tereyağı olmak üzere toplam 223 süt ürününü incelemişler, beyaz peynir örneklerinin % 12.76'sındaki AFM₁ düzeyinin Türk Gıda Kodeksi limit değerlerini aştığını bildirmişlerdir.

Sarımehtemoğlu ve ark. (92), Ankara'da satışa sunulan 100'er adet beyaz peynir, kaşar peyniri, tulum peyniri ve eritme peyniri olmak üzere toplam 400 adet peynir örneğini incelemişler, beyaz peynir örneklerinin % 27'sindeki AFM₁ düzeyinin Türk Gıda Kodeksi limit değerlerini aştığını bildirmişlerdir.

Yukarıda belirtilen 6 çalışmada da AFM₁'in peynirlerde bulunma insidensi çalışmamızın bulguları ile benzerlik göstermekte, Türk Gıda Kodeksi limit değeri üzerinde olan numune yüzdelerinin sonuçlarımızdan daha yüksek olduğu görülmektedir. Nitekim bu çalışmaların hepsinde çeşitli illerde marketlerde satılan peynirler incelenmiş ve Türk Gıda Kodeksi limit değeri üzerinde olan AFM₁ düzeyleri % 10'un üzerinde bulunmuştur. Çalışmamızda bulduğumuz limit değer üzerindeki oran (% 2) ise tamamen semt pazarlarından temin ettiğimiz köy peynirlerinden kaynaklanmaktadır. Bu durum peynirlerin yapım aşamasında hijyen koşullarına dikkat edilmediğini akla getirmektedir.

Çalışmamız sonucunda elde edilen bulgular Amasya ilindeki marketlerde satışa sunulan beyaz peynirlerin diğer illere kıyasla, Türk Gıda Kodeksi'ndeki limit değeri aşmaması bakımından daha güvenilir olduğunu düşündürmektedir.

Bu araştırmada, Amasya ilinde tüketime sunulan tüm beyaz peynir numunelerinin AFM₁ ile kontamine olduğu, sadece 1 adet beyaz peynir numunesinin Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre peynirlerde bulunmasına müsaade edilen limit değer olan 0.25 ppb'nin üzerinde AFM₁ içerdiği gerçeğinden hareketle, AFM₁ ile kontamine beyaz peynirlerin insanlar tarafından uzun süreli tüketilmesi durumunda önemli sağlık sorunlarına yol açabileceği söylenebilir.

Çalışmamızda incelenen 50 beyaz peynir örneğinin 27 adedinin (% 54) rutubet oranı, TS 591'de belirtilen maksimum limit değerinin (% 60) altında, 23 adedinin (% 46) rutubet oranı bu değer üzerinde bulunmuştur.

Asidite değerleri bakımından, incelenen beyaz peynirlerin tamamının (% 100), TS 591'de belirtilen maksimum limit değerinin (% 3 LA) altında olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmada incelenen peynir örneklerinin rutubet ve asidite bakımından TS 591 Beyaz Peynir Standardına büyük ölçüde uygun olduğunu söylemek mümkündür.

Sonuç olarak, Amasya ilinde satışa sunulan beyaz peynirlerin aflatoksin M₁ ile kirlenme durumunun tüketiciler sağlığını ilgilendiren önemli bir sorun olarak ele alınması gerektiğini ifade etmek mümkündür. AFM₁ ile kontamine süt ve süt ürünlerinin insanlar tarafından tüketilmesini önlemek için öncelikle hayvanların tükettiği yemlerin ve yem hammaddelerinin gerek tarlada, gerekse depolama koşullarında AFB₁ ile kontamine olmasının engellenmesi gerekmektedir. Sorunun çözümlenmesinin ancak üreticilerin ve tüketici gruplarının bu konuda bilinçlendirilmesi ve eğitimleri ile mümkün olabileceğini ifade edebiliriz.

6. KAYNAKLAR

1. Whitlow L.W, Hagler Jr W.M. Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs* 2002; 74(28):1-10
2. Bennett J.W, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(3):497-516
3. Bankole A.S, Adebajo A. Mycotoxins in food in West Africa: current situation and possibilities of controlling it. *African Journal of Biotechnology* 2003 ; 2 (9):254-263
4. Bata A, Lasztity R. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. *Trends Food Sci Tech* 1999; 10: 223-228
5. Vanderzant C and Splittstoesser DF. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. (3rd Ed.) American Public Health Association, Edwards Brothers, Ann Arbor ISBN: 0-87553-173-3, 1992: 239-245.
6. Semple RL, Frio AS, Hicks PA and Lozare JV. Mycotoxin prevention and control in foodgrains. A collaborative publication of the UNDP/FAO Regional Network Inter-Country Cooperation on Preharvest Technology and Quality Control of Foodgrains (REGNET) and the ASEAN Grain Postharvest Programme, Thailand Bangkok. 1989.
7. Applebaum R.S, Brackett R.E, Wiseman D.W, Marth E.H. Aflatoxin : Toxicity to dairy cattle and occurrence in milk and milk products. *J Food Protect* 1982; 45(8):752-777
8. Van Egmond H.P. Mycotoxins in dairy products. *Food Chem* 1983; 11:289-307
9. Moss M.O. Recent studies of mycotoxins. *J App Microbiol. Symposium Supplement* 1998; 84:62S-76S

10. Dohlman E. Mycotoxin Hazards and Regulations: Impacts on Food and Animal Feed Crop Trade,” *International Trade and Food Safety: Economic Theory and Case Studies*, Jean Buzby (editor), Agricultural Economic Report 828. USDA, ERS, 2003; 97-108.
11. Rustom İ.Y.S. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chem* 1997; 59(1):57-67
12. D’Mello J.P.F, Macdonald A.M.C. Mycotoxins. *Anim Feed Sci Tech* 1997; 69:155-166
13. Henry S.H, Whitaker T, Rabbani I, Bowers J, Park D, et al. Aflatoxin M₁. Summary of Evaluations Performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Report TRS 906-JECFA 56/8.2001
14. Peraica M, Radić B, Lucić A, Pavlović M. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization* 1999; 77(9):754-766
15. Doyle M.P, Applebaum R.S, Brackett R.E, Marth E.H. Physical, Chemical and Biological Degradation of Mycotoxins in Foods and Agricultural Commodities. *J Food Protect* 1982; 45(10):964-971
16. Coulombe A R. Biological action of mycotoxins. *J Dairy Sci* 1993; 76:880-891
17. International Agency for Research on Cancer, IARC Monographs on the evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, Vol 56, World Health Organisation, Lyon, 1993
18. EC, 1998, 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*
19. Caloni F, Stammati A, Friggè, Angelis I.D. Aflatoxin M₁ absorption and cytotoxicity on human intestinal in vitro model. *Toxicon* 2006; 47:409-415
20. Goldman, R, Shields P.G. Food Mutagens. *J Nutr* 133 Suppl 3, 2003; 965-973.
21. Ueno Y. The toxicology of mycotoxins. *CRC Crit Rev Toxicol* 1985; 14(2):99-132
22. Beasley V. Mycotoxins that Affect the Liver, In: *Veterinary Toxicology*, International Veterinary Information Service, Ithaca NY. 1999.
23. Wogan N.G, Hecht S.S, Felton S.J, Conney H.A, Loeb A.L. Environmental and chemical carcinogenesis. *Seminars in Cancer Biol* 2004; 14: 473–486
24. Williams J.H, Phillips T.D, Jolly P.E, Stiles J.K, Jolly C.M, et al. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1106-1122

25. Meerdink G.L. Mycotoxins. *Chnmal Techniques in Equine Practice* 2002; 1(2):89-93
26. Jackson P.E, Groopman J.D. Aflatoxin and liver cancer. *Baillière's Clin Gastroenterol* 1999; 13(4):545-555
27. Van Rensburg S. J, Cook-Mozaffari P, Van Schalkwyk D.J, Van der Watt J. J, Vincent T. J, Purchase I.F. Hepatocellular carcinoma and dietary aflatoxin in Mozambique and Transkei. *Br J Cancer* 1985; 51(5):713-26) (Abst.)
28. Krishnamachari K.A, Bhat R.V, Nagarajan V, Tilak T.B. Hepatitis due to aflatoxicosis. An outbreak in Western India. *Lancet* 1975 May 10(1):1061-3. (Abst.)
29. Creppy E.E. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Lett* 2002; 127:19-28
30. Eraslan G, Karagöz E, Bilgili A, Öncü M, Eşsiz D, ve ark. Aflatoksinlerin etçi piliçlerde bağışıklık sistemi üzerine etkisi. *YYÜ Vet Fak Derg* 2003; 14(1):114-117
31. Applebaum R.S, Brackett R.E, Wiseman D.W, Marth E.H. Responses of Dairy Cows to Dietary Aflatoxin: Feed Intake and Yield, Toxin Content, and Quality of Milk Cows Treated with Pure and Impure Aflatoxin. *J Dairy Sci* 1982; 65:1503-1508
32. Reddy, R. V, Taylor, M. J, Sharma, R. P. Studies of immune function of CD-1 mice exposed to aflatoxin B₁. *Toxicology* 1987; 43(2):123-132 (Abst.)
33. Wasser, SP, Weis AL. Therapeutic effects of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: a modern perspective. *Crit Rev Immunol* 1999; 19(1):65-96 (Abst.)
34. Didukh M, Vilgalys R, Wasser SP, Isikhuemhen OS, Nevo E. *Mycol Res. Notes on Agaricus section Duploannulati using molecular and morphological data.* 2005:729-40. (Abst.)
35. Slamenova D, Labaj J, Krizkova L, Kogan G, Sandula J, Bresgen N, Eckl P. Protective effects of fungal (1-->3)-beta-D-glucan derivatives against oxidative DNA lesions in V79 hamster lung cells. *Cancer Lett* 2003; 198(2):153-60 (Abst.)
36. Galvano F, Galofaro V, Ritieni A, Bognanno M, Angelis A, Galvano G. Survey of the occurrence of aflatoxin M₁ in dairy products marketed in Italy: Second year of observation. *Food Addit Contam* 2001; 18 (7):644-646.
37. Galvano F, Galofaro V, Galvano G. Occurrence and Stability of Aflatoxin M₁ in Milk and Milk Products: A Worldwide Review. *J Food Protect* 1996; 59(10):1079-1090

38. Mathur C.F, Smith R.C, Hawkins G.E. Growth and morphology of *Streptococcus bovis* and of mixed rumen bacteria in the presence of aflatoxin B₁, in vitro. J Dairy Sci 1976; 59:455-458
39. Lynch P.G. Mycotoxins in feedstuffs and their effect on dairy cattle. J Dairy Sci 1972; 55(9):1243-1255
40. Beuchat L.R, Lechowich R.V. Biochemical alterations in *Bacillus megaterium* as produced by aflatoxin B₁. Appl Microbiol 1971; 21(1):119-123
41. Fehr P.M, Delage J. Effect of aflatoxin on rumen fermentations. C R Acad Sci Paris (Series D) 1970; 270(3):550-553
42. Kiermeier F, Mashaley R. Influence of raw milk processing on the aflatoxin M content of milk products. Z Lebensm Unters Forsch 1977; 164(3):183-187 (Abstr.)
43. Veldman A, Meijst J.A.C, Borggreve G.J, Heeres J.J. Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. Anim Prod 1992; 55:163-168
44. Battacone G, Nudda A, Cannas A, Borlino A.C, Bomboi G, et al. Excretion of aflatoxin M₁ in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B₁. J Dairy Sci 2003; 86:2667-2675
45. Polan C.E, Hayes J.R, Campbell T.C. Consumption and fate of aflatoxin B₁ by lactating cows. J Agri Food Chem 1974; 22(4):635-638
46. Stoloff L, Trucksess M, Hardin N, Francis OJ, Hayes JR, et al. Stability of aflatoxin M in milk. J Dairy Sci 1975; 58(12):1789-1793 (Abstr.)
47. Applebaum R.S, Marth E.H. Inactivation of Aflatoxin M₁ in Milk Using Hydrogen Peroxide and Hydrogen Peroxide plus Riboflavin or Lactoperoxidase. J Food Protect 1982; 45(6):557-560
48. Aman I. Reduction of aflatoxin M₁ in milk using hydrogen peroxide and hydrogen peroxide plus heat treatment. Zentralbl Veterinarmed B 1992; 39(9):692-694
49. Piva G, Galvano F, Pietri A, Piva A. Detoxification methods of aflatoxins, a review. Nutr Res 1995; 15(5):767-776
50. Diaz D.E, Hagler Jr W.M, Blackwelder J.T, Eve J.A, Hopkins B.A, et al. Aflatoxin Binders II: Reduction of aflatoxin M₁ in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. Mycopathologia 2004; 157:233-241
51. Huwig A, Freimund S, Käppeli O, Dutler H. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. Toxicol Lett 2001; 122:179-188

52. Harvey R.B, Phillips T.D, Ellis J.A, Kubena L.F, Huff W.E, et al. Effects on aflatoxin M₁ residues in milk by addition of hydrated sodium calcium aluminosilicate to aflatoxin-contaminated diets of dairy cows. *Am J Vet Res* 1991; 52(9):1556-1559
53. Galvano F, Pietri A, Bertuzzi T, Fusconi G, Galvano M, et al. Reduction of Carryover of Aflatoxin from Cow Feed to Milk by Addition of Activated Carbons. *J Food Protect* 1996; 59(5):551-554
54. Yousef A.E, Marth E.H. Degradation of Aflatoxin M₁ in Milk by Ultraviolet Energy . *J Food Protect* 1985; 48(8):697-698
55. Mendonça C, Venâncio A. Fate of aflatoxin M₁ in cheese whey processing. *J Sci Food Agric* 2005; 85:2067-2070
56. Oruç H.H, Cıbık R, Yılmaz E, Kalkanlı O. Distribution and stability of Aflatoxin M₁ during processing and ripening of traditional white pickled cheese. *Food Addit Contam* 2006; 23(2):190-195
57. Wiseman D.W, Applebaum R.S, Brackett R.E, Marth E.H. Distribution and Resistance to Pasteurization of Aflatoxin M₁ in Naturally Contaminated Whole Milk, Cream and Skim Milk. *J Food Protect* 1983; 46(6):530-532
58. Deveci O, Sezgin E. Changes in concentration of aflatoxin M₁ during manufactura and storage of skim milk powder. *J Food Protect* 2006; 69(3):682-685 (Abstr.)
59. Wiseman D.W, Marth E.H. Behavior of Aflatoxin M₁ in Yogurt, Buttermilk and Kefir. *J Food Protect* 1983; 46(2):115-118
60. Wiseman D.W, Marth E.H. Behaviour of Aflatoxin M₁ During Manufacture and Storage of Queso Blanco and Bakers' Cheese. *J Food Protect* 1983; 46(10):910-913
61. Kaniou-Grigoriadou I, Eleftheriadou A, Mouratidou T, Katikou P. Determination of aflatoxin M₁ in ewe's milk samples and the produced curd and Feta cheese. *Food Control* 2005; 16:257-261
62. López C, Ramos L, Ramadán S, Bulacio L, Perez J. Distribution of aflatoxin M₁ in cheese obtained from milk artificially contaminated. *Int J Food Microbiol* 2001; 64:211-215
63. Brackett R.E, Marth E.H. Fate of Aflatoxin M₁ in Cheddar Cheese and in Process Cheese Spread. *J Food Protect* 1982; 45(6):549-552
64. Bullerman L.B. Incidence and control of mycotoxin producing molds in domestic and imported cheeses. *Ann Nut Aliment* 1977; 31(4-6):435-446 (Abstr.)

65. Luck E. Food applications of sorbic acid and its salts. *Food Addit Contam* 1990; 7(5):711-715 (Abstr.)
66. Kiermeier F, Zierer E. Effect of primaricin on moulds and their aflatoxin formation in cheese. *Z Lebensm Unters Forsch* 1975; 157 (5): 253-262 (Abstr.)
67. Ünlütürk A ve Turantaş F. *Gıda Mikrobiyolojisi (Birinci Baskı)*, Mengi Tan Basımevi. İzmir, ISBN: 975-483-383-4:189, 573-578
68. Yousef A.E, El-Gendy S.M, Marth E.H. Growth and biosynthesis of aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in cultures containing nisin. *Z Lebensm Unters Forsch* 1980; 171(5):341-343 (Abstr.)
69. Trucksess M.W, Page S.W. Examination of imported cheeses for aflatoxin M₁. *J Food Protect* 1986; 49(8):632-633
70. Finoli C, Vecchio A. Occurrence of aflatoxins in feedstuff, sheep milk and dairy products in Western Sicily. *Ital J Anim Sci* 2003; 2:191-196
71. Pietri A, Bertuzzi T, Bertuzzi P, Piva G. Aflatoxin M₁ occurrence in samples of Grana Padano cheese. *Food Addit Contam* 1997; 14 (4):341-344.
72. Prado G, Oliveira M.S, Pereira M.L, Abrantes F.M, Santos L.G, et al. Aflatoxin M₁ in samples of "Minas" cheese commercialized in the city of Belo Horizonte-Minas Gerais/Brazil. *Ciênc Tecnol Aliment* 2000; 20(3)
73. Elgerbi M.A, Aidoo E.K, Candlish G.A, Tester F.R. Occurrence of aflatoxin M₁ in randomly selected North African milk and cheese samples. *Food Addit Contam* 2004; 21 (6):592-597.
74. Yurdun T. İstanbul piyasasından sağlanan çeşitli besin maddelerinde mikotoksinlerin araştırılması: 1991-2001, 1.Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiri Kitabı, ss 23-29, 18-19 Eylül 2003, İstanbul.
75. Oruç H.H, Sonal S. Determination of aflatoxin M₁ levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey. *Vet Human Toxicol* 2001; 43(5):292-293
76. Dağoğlu G, Keleş O, Yıldırım M. Peynirlerde aflatoksin düzeylerinin ELISA testi ile araştırılması. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg* 1995; 21(2):313-317
77. Tekinşen K.K, Tekinşen O.C. Aflatoxin M₁ in white pickle and Van otlı (herb) cheeses consumed in southeastern Turkey. *Food Control* 2005; 16:565-568
78. Demirer M.A. Süt ve süt mamüllerinde aflatoksin M₁ ve B₁ aranması üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1973; 1:421-443

79. Kardeş E. Türk Silahlı Kuvvetlerine Bağlı Birliklere Alınan Peynirlerde Aflatoksin B₁ ve M₁ Varlığının ve Seviyelerinin Saptanması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 2000
80. Kıvanç M. Mold growth and presence of aflatoxin in some Turkish cheeses. *J Food Safety* 1990; 10:287-294
81. Gürbüz Ü, Nizamlıoğlu M, Nizamlıoğlu F, Dinç İ, Doğruer Y. Bazı et, süt ürünleri ile baharatlarda aflatoksin B₁ ve M₁ aranması. *Veterinarium* 1999; 10(1):34-41
82. Yaroğlu T. Türk Silahlı Kuvvetlerine Bağlı Askeri Birliklerde Tüketime Sunulan Peynirlerde Aflatoksin M₁ Düzeylerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa 2002
83. Yaroglu T, Oruc H.H, Tayar M. Aflatoxin M₁ levels in cheese samples from some provinces of Turkey. *Food Control* 2005; 16:883-885
84. Günsen U, Büyükyörük İ. Aflatoxins in retail food products in Bursa, Turkey. *Vet Human Toxicol* 2002; 44(5):289-290
85. Günsen U, Büyükyörük İ. Piyasadan Temin Edilen Taze Kaşar Peynirlerinin Bakteriyolojik Kaliteleri ile Aflatoksin M₁ Düzeylerinin Belirlenmesi. *Turk J Vet Anim Sci* 2003; 27:821-825
86. Ayçiçek H, Yarsan E, Sarımeahmetoğlu B, Çakmak Ö. Aflatoxin M₁ in white cheese and butter consumed in İstanbul, Turkey. *Vet Human Toxicol* 2002; 44(5):295-296
87. Aydın A, Başkaya R, Yıldız A, Bostan K. İstanbul' da satışa sunulan bazı peynir çeşitlerinde aflatoksin M₁ düzeyleri üzerine bir çalışma, 2.Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiri Kitabı, ss. 118-123, 23-24 Mayıs 2005, İstanbul.
88. Gürses M, Erdoğan A, Çetin B. Occurrence of aflatoxin M₁ in some cheese types sold in Erzurum, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2004; 28:527-530
89. Başkaya R, Atasever M. Civil peynirinde aflatoksin M₁ düzeyinin belirlenmesi, 2.Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Bildiri Kitabı, ss 128-133, 23-24 Mayıs 2005, İstanbul.
90. Kamber U. Aflatoxin M₁ contamination of some commercial Turkish cheeses from markets in Kars, Turkey. *Fresen Environ Bull* 2005; 14(11):1046-1049
91. Aycicek H, Aksoy A, Saygi S. Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey. *Food Control* 2005; 16:263-266
92. Sarımeahmetoğlu B, Kuplulu Ö, Çelik T.H. Detection of aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA. *Food Control* 2004; 15:45-49

93. Anonim. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (2002/63)
94. Stroka J, Anklam E. New strategies for the screening and determination of aflatoxins and the detection of aflatoxin-producing moulds in food and feed. Trends in analytical chemistry 2002; 21(2):90-95
95. Duncan H.E, Hagler W.M. Aflatoxins and other mycotoxins. National Corn Handbook; 2105.1-2105.6
96. Stubblefield R.D. Determination of Aflatoxin M₁ in Dairy Products. J Am Oil Chem Soc 1979; 56:800-802
97. Trucksess M.W. Committee on natural toxins, mycotoxins. J AOAC Int 1999; 82(2):488-495
98. Anonim. Beyaz Peynir Standardı (TS 591) 1995. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara
99. Association of Official Analytical Chemists, International. 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. AOAC, Arlington, VA
100. Anonim. R-Biopharm: Ridascreen[®] Aflatoksin M₁.R-Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany
101. Zar, J.H.: Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ. 1984; 718 pp.

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Zonguldak'ta doğdu. İlköğrenimini Zonguldak Gazi İlköğretim Okulu'nda, orta ve lise öğrenimini Zonguldak Atatürk Anadolu Lisesi'nde tamamlayarak 1996 yılında mezun oldu. Aynı yıl İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne girdi ve 2001 yılında mezun oldu. Eylül 2004 tarihinde Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. 2003 yılı Ağustos ayından bu yana Kara Kuvvetleri Komutanlığı bünyesinde Veteriner Hekim Subay olarak görev yapmaktadır.

Adres:

Amasya Orduevi Subay Bölümü

AMASYA

Tel: 0 (358) 242 09 09

e-mail: yasaralkantr@yahoo.com