

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**MARMARA BÖLGESİ ASKERİ BİRLİKLERİNDE  
TÜKETİME SUNULAN SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE  
AFLATOKSİN M<sub>1</sub> DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Ender ÖZBEK

Danışman : Doç. Dr. Belgin SIRIKEN

Samsun  
Eylül – 2006

T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından Besin Hijyeni ve Teknolojisi (Veteriner) Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Belgin SIRIKEN  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Haydar ÖZDEMİR  
Ankara Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç Dr. Özgür ÇADIRCI  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurul'unca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Süleyman ÇELİK  
Enstitü Müdürü

## TEŐEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimize başladıktan sonra gerek ders, gerekse tez çalışmam esnasında öneri ve yardımları ile bana her konuda destek olan Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı Başkanı ve danışmanım sayın Doç. Dr. Belgin SIRIKEN ile Ana Bilim Dalında görev yapan tüm personele, çalıştığım birlik olan Gıda Kontrol ve Araştırma Merkezi Başkanlığı (Gemlik)'nda görev yapan tüm personele, bu çalışma süresince beni fedakârca destekleyen eşim Özlem ve oğlumuz Onur'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

**ÖZET****MARMARA BÖLGESİ ASKERİ BİRLİKLERİNDE TÜKETİME SUNULAN SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDE AFLATOKSİN M<sub>1</sub> DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ****Ender ÖZBEK, Yüksek Lisans Tezi****Ondokuz Mayıs Üniversitesi Samsun, Eylül 2006**

Bu çalışma; Marmara Bölgesinde konuşlandırılan, Gıda Kontrol ve Araştırma Merkezi Başkanlığı (Gemlik)'nin sorumluluğunda bulunan birlik ve kurumlara satın alma aşamasındaki süt ve süt ürünleri ile Samsun'da tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinde ELISA yöntemi ile aflatoksin M<sub>1</sub> varlığını ve seviyelerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, süt, tereyağı, beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirleri'nin her birinden 50'şer adet olmak üzere toplam 250 adet örnek materyal olarak kullanılmıştır. Analiz bulguları çerçevesinde; 35 süt, 14 tereyağı, 36 beyaz peynir, 37 kaşar ve 29 eritme peyniri olmak üzere toplam 151 (% 60.4) örnekte aflatoksin M<sub>1</sub> saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksi (1997)'nde izin verilen maksimum düzey süt için 50 ppt, beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peyniri için 250 ppt olarak belirlenmiştir. Tereyağı için aynı kodekste üst limit belirtilmemiştir. Bu çerçevede; 4 (% 8) süt, 2 (% 4) beyaz peynir, 5 (% 10) kaşar peyniri ve 1 (% 2) eritme peyniri olmak üzere toplam 12 (% 4.8) örnek Türk Gıda Kodeksi'ne aflatoksin M<sub>1</sub> yönünden uygun değildir. Dört tereyağı örneğinde ise aflatoksin M<sub>1</sub> miktarı >50 ppt olup, 65 ile 130 ppt arasında saptanmıştır.

Sonuç olarak, süt ve süt ürünlerde aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma oranı oldukça yüksektir. Özellikle iki kaşar peynirinde bulunan 416 ppt ve 489 ppt'lik değerler ile dört tereyağı örneğinde bulunan 65-130 ppt arasındaki değerler, aflatoksin M<sub>1</sub>'in insan sağlığını tehdit edebilecek düzeylerde olabileceğini ve bu miktarların aşağılara çekilmesi gerektiğini göstermektedir. Bu nedenle, yemlere küf bulaşmasını önlemek amacıyla konuyla ilgili kamu ve özel kuruluşlar tarafından süt üreticilerine ve çiftçilere yönelik eğitim çalışmaları ile bilimsel çalışmalar artırılarak devam ettirilmelidir.

**ABSTRACT****DETERMINATION OF AFLATOXIN M<sub>1</sub> LEVELS IN MILK AND DAIRY PRODUCTS, THAT PRESENTED TO CONSUMPTION IN MILITARY UNIT OF MARMARA REGION****Ender ÖZBEK, Master of Science Thesis****University of Ondokuz Mayıs Samsun, September 2006**

This study was designed to determine aflatoxin M<sub>1</sub> levels with ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) in milk, butter, white, kashar and produced cheeses which were bought for military units in responsibility of The Presidency of Food Control and Research Centre (Gemlik) located in Marmara region and consumption in Samsun province. For this purpose, a total of 250 samples (50 samples for each of milk, butter, white, kashar and produced cheeses) were used as a material. According to analyses, it was detected in a total of 151 (60.4%) samples (35 milk, 14 butter, 36 white cheese, 37 kashar cheese and 29 produced cheese samples). The maximum levels of aflatoxin M<sub>1</sub> limited by Turkish Food Regulations (1997) are 50 ppt for milk and 250 ppt for white, kashar and produced cheeses. In this respect, a total of 12 (4.8%) samples [4(1.6%) milk, 2 (0.8%) white cheese, 5 (2%) kashar cheese, 1 (0.4%) produced cheese] for aflatoxin M<sub>1</sub> levels were found high. It was also detected >50 ppt (65-130 ppt) in four butter samples.

As a result, the incidence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and dairy products is relatively high. Aflatoxin M<sub>1</sub> was detected in 416 and 489 ppt levels for two kashar cheese samples and 65-130 ppt levels for four butter samples. For these reasons, milk and dairy products may be potential risk of human health. The precaution measured must be taken to decrease the aflatoxin M<sub>1</sub> frequency and levels. For instance, stock farmer and manufacturer must be awareness by private sector and government for reducing aflatoxin contamination in milk and dairy product and, scientific studies must be increasingly carried out for aflatoxin.

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

ng/l	Nanogram / Litre
ng/kg	Nanogram / Kilogram
ppt	Nanogram / Kilogram (Litre)
µl	Mikrolitre
ATA	Alimenter Toksik Aleucia
a <sub>w</sub>	Water Activity
TLC	Thin Layer Chromotography
UV	Ultra Viole
WHO	World Health Organisation
IARC	International Agency for Research on Cancer
LD	Letal Doz
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
RNA	Ribo Nükleik Asit
mRNA	Massenger Ribo Nükleik Asit
IgG	Immunoglobulin G
IgA	Immunoglobulin A
NADPH	Nikotin Amid Adenin Di Phosphat
ATP	Adenozin Tree Phosphat
GSH-S	Glutasyon Transferaz Enzimi
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
PBS	Phosphat Buffer Solüsyonu
UHT	Ultra High Temperature
HPLC	High Pressure Liquid Chromotography

**İÇİNDEKİLER**

ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Mikotoksinler	4
2.1.1. Küflerin Üremesi ve Mikotoksin Sentezini Etkileyen Faktörler	10
2.2. Aflatoksinler	16
2.2.1. Aflatoksinlerin Toksisitesi ve Etkileri	25
2.2.2. Gıda Maddelerinde Aflatoksinler	28
2.2.3. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksinler	29
2.2.4. Gıda Maddelerinde Küflenmenin Önlenmesi ve Aflatoksin Detoksifikasyonu	40
3. MATERYAL VE METOD	43
3.1. ELISA Testi'nin Prensibi	43
3.2. Kolondan Geçirme İşleminin Prensibi	44
3.3. Örneklerin Hazırlanması	44
3.3.1. Süt Örneklerinin Hazırlanması	44
3.3.2. Tereyağı Örneklerinin Hazırlanması	44
3.3.3. Peynir Örneklerinin Hazırlanması	45
3.4. ELISA Testi'nin Uygulanması	45
3.4.1. Aflatoksin M <sub>1</sub> Enzim Konjugat	45
3.4.2. Yıkama Solüsyonu	45
3.4.3. Antibody Kaplanmış Mikrotiter Stripler	46
3.4.4. Standart Solüsyonları	46
3.4.5. Test Prosedürü	46
3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi	46
4. BULGULAR	48
5. TARTIŞMA	52

6. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR	65
ÖZGEÇMİŞ	77



## 1. GİRİŞ

Mikotoksinler, küfler (funguslar) tarafından oluşturulan ve bunları içeren yem, yem ham maddeleri ve besinleri yiyen hayvan ve insanlarda zehirlenmelere ve ölüme yol açabilen maddelerdir. Mikotoksin terimi Yunanca küf anlamına gelen *mykes* ve zehir anlamına gelen *toxicum* kelimelerinin birleştirilmesinden kökenini almıştır (Bakırcı, 1995; Hopmans, 1997; Özmenteşe, 2002). Gıda maddeleri ve yemlerde bulunabilen küfler denildiğinde genelde taksonomide *Mycobiota* (funguslar alemi) içinde *Zygomycota*, *Ascomycota* ve *Deuteromycota* bölümleri içinde yer alan değişik cins ve türdeki küfler anlaşılmaktadır (Tunail, 2000).

Mikotoksin oluşturan küfler dünyanın her tarafında yaygın olarak bulunurlar. Gerek sahada ve gerekse harmanlanma, depolanma, taşınma ve hazırlanma safhalarında, özellikle ısı ve rutubet gibi şartlar mantarların gelişmesine uygun olduğunda yem ve besinler küflerin istilasına uğrayarak mikotoksinlerle kirlenebilirler (Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2002; 2005, Agag, 2004). Küfler tarafından uygun şartlarda sekonder metabolit olarak oluşturulan mikotoksinler gerek insan gerekse hayvanlarda akut toksik, kanserojenik, mutojenik, teratojenik, östrojenik, genotoksik, neurotoksik, immunotoksik etkiler gösterirler (Bakırcı, 1995; Akdemir, 2001, Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Mikotoksinler arasında en önemli ve üzerinde en çok çalışılan aflatoksinlerdir. Aflatoksinler *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve çeşitli toksijenik *Aspergillus* soyu ile bazı *Penicillium* ve *Rhizopus* soyuna bağlı küfler tarafından sentezlenen mikotoksinlerdir (Harvey ve ark., 1991; Steyn, 1998). Aflatoksinler, aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub> olmak üzere başlıca altı ana bileşikten oluşurlar. Aflatoksin bileşikleri arasında en toksik ve en yaygın olanı ise aflatoksin B<sub>1</sub>'dir. Aflatoksin M<sub>1</sub> ise aflatoksin B<sub>1</sub>'in karaciğerde metabolize olduktan sonra süt ile atılan türevidir (Applebaum ve ark., 1982; Rao ve Chopra, 2001).

Çiftlik hayvanları aflatoksin B<sub>1</sub>'i yemler vasıtasıyla kolayca alır ve alınan bu toksinin %85-90'ı ilk 24 saat içerisinde dışkı ve idrar ile atılır. Vücutta kalan aflatoksin B<sub>1</sub> karaciğerde metabolize olup aflatoksin M<sub>1</sub>'e dönüşür ve yemlerle birlikte ilk alımından 12-24 saat sonra sütle atılmaya başlar. Süt ile atılan aflatoksin M<sub>1</sub> miktarı yemler vasıtasıyla alınan toplam aflatoksin B<sub>1</sub> miktarının % 0.1-0.3'ü (Kaya, 2001), bazı yazarlara göre ise % 0.4-3'ü oranında olduğu bildirilmiştir (Mc Kinney ve ark.,

1973; Stoloff, 1980; Yiannikouris ve Jouany, 2002). Genel olarak aflatoksin B<sub>1</sub>'in aflatoksin M<sub>1</sub>'e dönüşüm oranının hayvandan hayvana, günden güne ve süttten süte farklılık gösterdiği ve bu oranın % 1-3 arasında olduğu kabul edilmektedir (Van Egmond, 1989; Cathey ve ark., 1994; Smith ve ark., 1994; Pittet, 1998; Sibanda ve ark., 1999). Süt ve süt ürünlerine yemler dışında aflatoksinlerin bulaşması bu ürünlerin küflerle, işleme ve depolama aşamalarında sekonder olarak bulaşması şeklinde olmaktadır (Blanco ve ark., 1993; Barrios ve ark., 1997).

Temel gıda maddelerinden biri olan süt, insan beslenmesi açısından büyük bir öneme sahip olup, doğrudan süt olarak veya değişik lezzet, aroma, şekil ve yapıda birçok ürüne dönüştürülerek süt ürünleri şeklinde tüketilmektedir (Galvano ve ark., 1996; Gürses, 2002). Ancak, süt ve süt ürünlerinde sıklıkla bulunan aflatoksin M<sub>1</sub> önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Aflatoksin M<sub>1</sub>'in yemlerde bulunan ve kaynağını aldığı aflatoksin B<sub>1</sub>'e yakın bir kanserojenik etki gösterdiği pek çok klinik çalışmalar neticesinde ortaya konulmuştur. Süt ve süt ürünlerinin özellikle bebekler ve yetişme çağındaki çocuklar tarafından çok miktarda tüketilmesi bu problemin ciddiyetini daha da arttırmaktadır. Birçok ülke tarafından bu soruna, gerek halk sağlığı gerekse ekonomik açıdan verdiği zararlardan dolayı, gün geçtikçe daha fazla önem verilmektedir. Süt ve süt ürünlerindeki aflatoksin M<sub>1</sub> oluşumu çevresel koşullara bağlı olduğundan bu koşulların iyileştirilmesi sorunun daha kolay ve daha ekonomik yollardan çözülmesini sağlayacaktır (Galvano ve ark., 1996; Franco ve ark., 1998; Akdemir, 2001; Akdemir ve Altıntaş, 2004; Özmenteşe, 2002; Van Egmond ve Jonker, 2004).

Türk Silahlı Kuvvetlerine alımı yapılan gıda maddelerinin laboratuvar muayeneleri, Milli Savunma Bakanlığı ve Kara Kuvvetleri Komutanlığı Teknik Şartnamelerinde istenen şartlar doğrultusunda yapılmaktadır. Söz konusu şartnamelerden süt (İçme Sütü (UHT) Teknik Şartnamesi, 2004; İçme Sütü (Pastörize) Teknik Şartnamesi, 2004), tereyağı (Tereyağı Teknik Şartnamesi, 2000; Tereyağı ve Sadeyağ Teknik Şartnamesi, 2005), beyaz peynir (Beyaz Peynir Teknik Şartnamesi, 2005), kaşar peyniri (Kaşar Peyniri Teknik Şartnamesi, 2005) ve eritme peyniri (Eritme Peyniri Teknik Şartnamesi, 2005) Teknik Şartnameleri aflatoksin M<sub>1</sub> seviyelerinin "Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ"de belirtilen limitlere uygun olmasını istemektedir.

Bahse konu tebliğde ise Aflatoksin M<sub>1</sub> için belirlenen kabul edilebilecek üst sınır seviyeleri; süt ve tereyağı için 0,05 ppb (50 ppt [ng/l] ), beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirleri için 0,25 ppb (250 ppt [ng/kg] ) olarak belirlenmiştir (Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, 1997).

Bu tez çalışması; çok sayıda personele sahip olması nedeni ile toplu beslenmenin yoğun bir şekilde gerçekleştirildiği Türk Silahlı Kuvvetleri ile Samsun'da tüketilen süt, tereyağı, beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirinde Aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı ile düzeylerini belirlemek ve tüketilen süt ve süt ürünlerinin sağlık güvenliğini ortaya koymak amacıyla planlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mikotoksinler

Mikotoksinler toksin salgılayan küflerin metabolitleri olup, hayvan yemi ve insan gıdası olarak üretilen bitkisel ürünlerin üretimi, hasadı, işlenmesi ve depolanması sırasında şekillenir (Abramson ve ark., 1997; Whitlow ve Hagler, 2002). Mikotoksinli yemlerin tüketimi sonucu hayvanlarda akut ve kronik zehirlenme, verim kaybı, ağırlık artışında azalma ve immunosupresyona neden olur. Ayrıca mikotoksinler genotoksik etkilerinin yanı sıra, aflatoksin, okratoksin ve fumonisin gibi mikotoksinlerin çeşitli kanser tiplerinin oluşumunda rol oynaması ve bu hayvanlardan elde edilen besinler aracılığı ile insanlarda meydana getirecekleri sorunların boyutu nedeniyle halk sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir (Sonal ve Oruç, 2000; Kaya, 2001; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Küf sporları bitki, gıda ve yemlerin yanı sıra hava, su, toprak gibi yollarla da bulaşabilmekte, buralarda sporları üreyip gelişebilmekte ve gelişme fazının sonunda miselleri içinde mikotoksin sentezlenmektedirler. Mikotoksinli yemleri yiyen hayvanların et, süt, yumurta gibi ürünlerinin veya doğrudan mikotoksinli bitkinin insanlar tarafından tüketilmesi ile de insanlara mikotoksin bulaşması olmaktadır (Tunail, 2000; Whitlow ve Hagler, 2001; Mavuş, 2003).

Gıda ve yemler çok çeşitli küflerin saldırısına hedef olmakla beraber, incelenen binlerce küf türünden büyük çoğunluğu mikotoksin oluşturmamaktadır. Mikotoksin üreten küf sayısının bugün yaklaşık olarak 350 civarında olduğu, bunlardan da sayıları 20-25 civarında olan bir kısmının doğada yaygın olarak bulunduğu bildirilmektedir. Mikotoksin üreticisi olarak en çok bilinen küfler *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* türleridir (Gilbert ve Anklam, 2002; Whitlow ve Hagler, 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

İnsan ve hayvanlara toksik ve karsinojenik etkileri ile zarar veren mikotoksinlerle ilgili olarak yapılmış çalışmaların büyük bir kısmını aflatoksinler oluşturmaktadır. Aflatoksinlerle birlikte tahıllarda, tohum ve mısırdaki bulunan okratoksin A, trikotesenler, patulin ve fumonisin insan ve hayvan sağlığı açısından büyük problemler oluşturmaktadır (Sonal ve Oruç, 2000; Creppy, 2002; Gilbert ve Anklam, 2002; Whitlow ve Hagler, 2005).

Küflerin insan ve hayvanlarda hastalık yaptıklarına, hatta sporadik veya toplu ölümlere yol açtıklarına ilişkin bilgiler hayli eski tarihlere gider. Bilinen ilk mikotoksikozis, çavdar ve diğer tahıl tanelerinde üreyen *Claviceps purpurea*'nın salgıladığı ergot alkaloidinden kaynaklanan “Ergotizm” adı verilen mikotoksikozistir. M.Ö. 600 yılında çavdar mahmuzu adı ile anılan *Claviceps purpurea* sklerotialarıyla bulaşmış tahılların zararlı etkilerinden Asur tabletlerinde söz edilmiştir. M.Ö. 400 yılında Sparta'da ilk toplu zehirlenmeye ilişkin kayıtlar bulunmuştur (Bakırcı, 1995; Yiannikouris ve Jouany, 2002; Kuhn ve Ghannoum, 2003).

Kutsal Ateş veya St. Anthony's Fire, Aziz Antonius Humması olarak da bilinen Ergotizm, orta çağda Avrupa' da uzun yıllar boyunca görülmüştür. Avrupa' da binlerce insanın ölümüne neden olan bu hastalıkta, *Claviceps purpurea*'nın ürettiği çavdarların unundan yapılan ekmeği yiyen insanlar hastalığa yakalanmıştır. Hastalıkta yüksek ateş, el, kol, ayak, bacaklar ile el ve ayak parmaklarında nekroz ve gangrenler belirti olarak görülmekte fakat hastalığın nedeni bilinmemekteydi. Hastalığa *Claviceps purpurea*'nın toksini olan ergot alkaloidinin neden olduğu ise ancak 19. yüzyılda ortaya konulmuştur. Ergotizm 9. ile 18. yüzyıllar arasında sık görülmekle birlikte, 1925 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde, 1926-1927 yıllarında İngiltere'de, 1928 yılında Rusya'da ve en son olarak da 1978 yılında Etiyopya'da görülmüştür (Van Egmond, 1989; Bakırcı, 1995; Hopmans, 1997; Tunail, 2000; Ender 2001; Gürses, 2002; Özmenteşe, 2002; Kuhn ve Ghannoum, 2003).

Diğer bir mikotoksikozis olayı, Rusya'nın Orenburg bölgesinde ikinci dünya savaşı yıllarında (1942-1944) görülmüştür. *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* türleri ve özellikle de *Fusarium graminearum*'la bulaşık tahıllardan (buğday, darı, çavdar) yapılan ekmeğin yenmesi sonucu meydana gelen hastalık “Alimenter Toxic Aleucia (ATA)” olarak adlandırılmıştır. Savaş nedeniyle hasat yapılamadığı için kışı kar altında geçiren tahılları yiyen evcil hayvanlar ve insanlarda hastalık meydana gelmiştir. Bu olayda hastalığın çıktığı bölgelerde halkın ortalama %10'u hatta bazı bölgelerde ise %60'a yakın bir kısmı hastalıktan etkilenmiş ve binlerce insan ölmüştür. Hastalanan kişilerde deride nekroz, hemoraji, kemik iliği harabiyeti ve lökopeni görülmüştür. Günümüzde ise bu hastalıkta *Fusarium graminearum*'un T-2 toksininin yanında trikotesenlerin de ölüme rol oynadığı bilinmektedir (Tunail, 2000, Ender, 2001; Özmenteşe, 2002; Mavuş, 2003).

Yine, Japonya’da pirinç tüketimi ile meydana gelen bir hastalık 1890 yılından beri Japon patoloji uzmanları tarafından bilinmekteydi. İkinci dünya savaşı yıllarında da Japonya’da “Sarı Pirinç Hastalığı” olarak isimlendirilen, evcil hayvanların pirinç yemeleri sonucu hastalanmaları ve karaciğer harabiyeti ile sonuçlanan hastalıkta etken saptanamamıştır. Sarı pirinçlerde görülen bu toksisite olayının aydınlanması 1960’lı yıllarda olmuştur. Günümüzde ise artık, sarı pirinçlerde *Penicillium citreoviridae*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium islandicum* ve *Penicillium rugulosum* türleri ile bunların oluşturdukları luteosikrin, sitrinin ve sitreoviridin gibi mikotoksinlerin hastalığa neden oldukları bilinmektedir (Tunail, 2000; Ender,2001; Özmenteşe, 2002).

1928 yılında Almanya ve İskandinav ülkelerinde, daha sonra balkan ülkelerinden Yugoslavya, Bulgaristan ve Romanya’nın Tuna nehri kıyıları ile Güney Afrika, Tunus ve tropikal bölgelerde ağır böbrek rahatsızlığı tablosu ile seyreden bir hastalık görülmüş ve Balkan Endemik Nefropatisi (BEN) olarak adlandırılmıştır. Bu hastalığa neden olan bazı *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerinin ürettiği okratoksin ise çok daha sonra tanımlanmıştır (Tunail, 2000; Ender, 2001; Özmenteşe, 2002).

1960 yılında İngiltere’de 100.000’den fazla hindi palazının ölümüne, Amerika Birleşik Devletleri’nde de 1.000.000 genç alabalığın (Forelle) ölümüne neden olan bir hastalık olayının araştırma sonuçları, olayın bir mikotoksikozis olduğunu göstermiş ve hastalığa “Turkey X Disease” ya da “Hindi X Hastalığı” adı verilmiştir. Yapılan araştırmada, İngiltere’ye Brezilya’dan getirilen, küflenmiş yer fıstığı küspelerinin katıldığı yemlerin hindiler tarafından yenmesi ile meydana gelen hastalığa; *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarafından salgılanan toksinlerin neden olduğu ortaya çıkmıştır. Bu olaya kadar meydana gelen mikotoksikozis vakaları çok önemsenmemiş ve sıradan hastalıklar olarak görülmüştür. Fakat, çok sayıda ölüme neden olan Hindi X Hastalığı ile mikotoksinlere ve özellikle de aflatoksinlere karşı büyük bir ilgi ve merak oluşmuş, araştırmalar bu yönde yoğunlaşmıştır. 1960 yılında meydana gelen bu vaka mikotoksikozis olayları için tam bir dönüm noktası olmuştur. Aslında 1910 yılında bir araştırmacının küflenmiş Brezilya cevizinden *Aspergillus flavus*’u izole ettiğini ve bunun toksisiteye neden olduğunu bildirdiği halde bunun üzerinde çok fazla durulmadığı, 1980 yılında yapılan bir çalışma ile bu konunun doğrulandığı bildirilmektedir (Stoloff, 1980; Bakırcı, 1995; Hopmans, 1997; Kardeş, 2000;

Akdemir,2001; Ender, 2001; Whitlow ve Hagler, 2001; Gürses, 2002; Özmenteşe, 2002; Mavuş, 2003; Agag, 2004).

Küflenmiş yer fıstığı küspesinden izole edilen *Aspergillus flavus*'un salgıladığı toksinden kaynaklanan ve çok ilgi çeken Hindi X Hastalığı'ndan sonra yapılan çalışmalar neticesinde bulunan toksine de *Aspergillus flavus*'un "A" ve "fla" harfleri ile "toxin" kelimesinin birleştirilmesinden türetilen "aflatoxin" adı verilmiştir (Stoloff, 1980; Applebaum ve ark., 1982).

Ülkemiz tarihinde ise aflatoksin sorunu ilk olarak, 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen fındık içlerinden on tonluk bir miktarının geri gönderilmesi ile başlamıştır. 1972 ve 1974 yıllarında Amerika Birleşik Devletlerine ihraç edilen Antep Fıstıkları aflatoksin içermeleri nedeniyle geri gönderilmiştir. Kuru incir ihracatımızda, 1972 yılında Danimarka ile 1973 ve 1974 yıllarında Amerika Birleşik Devletleri ile sorunlar yaşanmış, 1986, 1987 ve 1988 yıllarına gelindiğinde ise tüm ihracatın alıcılar tarafından durdurulması ile karşılaşmıştır. 1995 yılı sonlarında Almanya ve İsviçre'ye ihraç edilen kırmızı biberlerimizin bakkal ve marketlerden alınan örneklerinde aflatoksin tespit edildiği bildirilmiş fakat ürünler geri gönderilmemiştir (Ender, 2001, Özmenteşe, 2002).

Mikotoksinlerin gıda ve yemlerle alım miktarı ve süresi göz önüne alındığında, canlılarda çeşitli etkilerinin görülebileceği ve bu nedenle de en güvenli tolerans düzeyinin sıfır olması, yani alınan gıda ve yemlerde mikotoksin bulunmaması gerektiği kabul edilmektedir. Fakat, gerçekte ise mikotoksinlerin gıda ve yemlerde yaygın bir şekilde doğal olarak bulunması nedeniyle sıfır olması imkansız olarak görülmekte ve bu nedenle de bulunabilecek maksimum tolerans değerleri ölçüt olarak kullanılmaktadır (Sonal ve Oruç, 2000).

Küfler tarafından üretilen mikotoksinleri, sentezlerini gerçekleştiren küf cins veya türlerine göre sınıflandırmak mümkün değildir. Çünkü, bir mikotoksin farklı küf türleri tarafından sentezlenebildiği gibi, bir küf türü de aynı anda farklı mikotoksinler sentezleyebilmektedir. Örneğin patulin mikotoksini; *Byssochlamys nivea*, *Byssochlamys fulva*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus giganteus*, *Penicillium patulum*, *Penicillium claviforme*, *Penicillium expansum*, *Penicillium roquefortii chemotyp II*, *Penicillium aurantiogriseum* türleri tarafından sentezlenmektedir. Patulin sentezleyen *Penicillium aurantiogriseum* aynı zamanda penisilikasit, okratoksin A,

tremortin A ve B ile siklopiazonikasit de üretmektedir. Aynı şekilde *Penicillium viridicatum*; sitrinin, okratoksin A ve penisilikasit oluşturmaktadır. Bu örnekleri bu şekilde daha da arttırmak mümkündür. *Penicillium* cinsine bağlı küflerin 97 toksik metabolit, *Aspergillus* cinsine bağlı küflerin 64 toksik metabolit sentezlediği göz önüne alınırsa, bu mikotoksinlerin bazılarının her iki cins tarafından da sentezlenen aynı mikotoksinler olabileceğ değişik araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Tunail, 2000; Whitlow ve Hagler, 2001; Kuhn ve Ghannoum, 2003).

Doğal kirletici olarak besin ve yemlerde bulunabilen, insan ve hayvan sağlığı yönünden önem taşıyan mikotoksinler, kaynakları, hedef organ ve dokularda oluşturdukları etkiler ile etkilenen canlılar Tablo 1’de özetlenmiştir (Kaya, 2001).



**Tablo 1.** Mikotoksin çeşitleri, kaynakları, hedef hayvan, doku veya organlar ve etkileri (Kaya, 2001)

Mantar çeşidi	Mikotoksinler	Kaynaklar	Hedef organ, doku ve oluşan etki	Etkilenen canlılar
<i>A. flavus</i> <i>A. parasiticus</i> <i>P. puberulum</i>	Aflatoksinler	Tahıllar, yemler, yağlı tohum küspeleri	Karaciğer; gelişme hızı ve verimde azalma; sarılık, kanama, sürgün, karaciğer kanseri, bağışıklık sisteminin baskılanması	Tüm hayvan türleri ve insanlar
<i>A. ochraceus</i> <i>P. viridicatum</i>	Okratoksinler	Tahıllar, otlar	Karaciğer ve böbrek hasarı, iştah kaybı, sürgün, bağışıklık sisteminin baskılanması	Kanatlılar ve insanlar
<i>P. rubrum</i>	Rubratoksinler	Tahıllar, baklagiller, yağlı tohumlar	Aflatoksinlere benzer etki gösterirler	Tüm hayvan türleri
<i>F. roseum</i> ve diğer <i>Fusarium</i> türleri	Zearelonon	Tahıllar	Östrojenik etki	Gevişenler ve domuzlar
<i>P. citrinum</i>	Sitrinin	Tahıllar	Sinirsel belirtiler, sürgün, gelişme geriliği, karaciğer ve böbrek nekrozu, kalp ve iskelet kasında miyopati, karaciğer kanseri	Kanatlılar ve domuzlarda
<i>A. versicolor</i> <i>A. nidulans</i>	Aspertoksin Sterigmatosistin	Tahıllar, pirinç, yemler	Karaciğer kanseri	Tüm hayvan türleri
<i>A. clavatus</i> <i>P. patulum</i>	Patulin	Silaj, elma, yemler	Sinirsel belirtiler, beyin kanaması, deri kanseri	Sığırlar
<i>A. ochraceus</i> <i>P. puberulum</i>	Penisillik asit	Tahıllar, mısır	Deri kanseri, kanamalar	Tüm hayvan türleri
<i>Fusarium</i> , <i>Trikoderma</i> , <i>Sefalosporium</i> vb.	Trikotesenler	Tahıllar, yemler	Dermatit, deride nekroz, kanamalar, anemi, granülositopeni vb.	Tüm hayvan türleri
<i>P. citreoviridae</i>	Streoviridin	Pirinç, tahıllar	MSS, kalp ve solunum felci, çarpınmalar	Tüm hayvan türleri
<i>F. tricinctum</i>	Butenolid	Mısır, ot, tahıllar	Bacaklarda gangren, kuyrukta nekroz	Sığırlar
<i>P. islandicum</i> <i>P. rugulosum</i>	Luteoskirin Sikloklorotin Rugulosin	Pirinç	Karaciğer hasarı ve kanseri	Kanatlılar
<i>S. bakeri</i>	Sporidesminler	Tahıllar, ot	Karaciğer hasarı, safra kanalı tıkanması, ışığa aşırı duyarlılık	Gevişenler
<i>Penicillium</i> türleri	Penitremler	Tahıllar	Kas titremeleri, felç, çarpınmalar	Tüm hayvan türleri

**Tablo 1'in devamı** Mikotoksin çeşitleri, kaynakları, hedef hayvan, doku veya organlar ve etkileri (Kaya, 2001)

<i>Acremonium loliae</i>	Lolitremler	Çavdar vb.	Tremorlar, hareket düzensizlikleri, çarpınmalar, şok, spazm	Gevişenler, at
<i>Fusarium türleri</i>	Fuminosinler	Mısır	Beyin ve akciğer yangısı	At, domuz, kanatlılar
<i>Fusarium solanii</i>	4-ipomeanol	Küflü tatlı patates	Akciğer ödemi, pnömoni, amfizem	Sığır
<i>A. flavus</i> <i>A. oryzae</i>	Kojik asit	Mısır	Çarpınmalar, ödem	Tüm hayvan türleri
<i>A. niger</i> <i>A. oxalicum</i>	Okzalik asit	Bitkiler	Mide irkiltisi, MSS ve böbrek hasarı, kanama, kan kalsiyum düzeyinde azalma	Tüm hayvan türleri
<i>C. purpurea</i> <i>C. paspali</i>	Ergot alkaloidler	Tahıllar	Kuru gangren, aşırı uyarı, kanın pıhtılaşması	Tüm hayvan türleri
<i>Stachybotrys atra</i>	Satratoksinler	Tahıllar, otlar	Kemik iliği, deri, mukozalar	Tüm hayvan türleri
<i>Aspergillus</i> , <i>Zygosporium</i> , <i>Nigrosabulum vb.</i>	Sitakalasanlar		Hücre zarları, pıhtılaşma, fagositoz vb	Tüm hayvan türleri
<i>A. terreus</i>	Territremler	Tahıllar, otlar	MSS, tremorlar, nöro-muskuler kavşaklar	Tüm hayvan türleri
<i>S. sclerotiorum</i>	Psoralenler	Kereviz vb.	Deri yangısı	Tüm hayvan türleri

### 2.1.1. Küflerin Üremesi ve Mikotoksin Sentezini Etkileyen Faktörler

Küflerin önemli bir kısmı yem ve besin maddelerinde saprofit olarak bulunup, bitki veya hayvan hücrelerinin yüzeyi veya içinde yaşarlar ve lifli-tozlu bir görüntü verirler. Bu olaya yem veya besinlerde “küflenme” denilmektedir (Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2005).

Küflenme olayının meydana gelmesi için öncelikli şart küf sporunun bulunmasıdır. Küflerde eşeysiz üreme, eşeyli üremeye (seksüel üreme) göre daha fazla önemlidir. Seksüel çoğalma ve oluşturulan seksüel organ ve oluşumlar ise onların taksonomik sınıflandırmalarında önem arz eder. Sporlar doğada hava ve su ile kolay bir şekilde yayılarak bulaşmaya neden olurlar. Gelişmelerine uygun şartları bulduklarında çoğalarak yem ve besinleri küflendirirler. Gelişmelerine uygun şartlar yok ise yıllarca spor formunda kalabilirler. Yani küfler tarafından her zaman ve her ortamda mikotoksin sentezi yapılamaz. Mikotoksin sentezi için o küfe ait şartların oluşması gerekir (Tunail, 2000; Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2005).

Her ürünün yapısına, bileşimine, içerdiği nem oranına, bulunduğu ortam koşullarına göre ürünün üzerinde gelişen küf cinsleri, türleri, oranları, oluşturdukları

mikotoksin çeşitleri ve miktarları değişmektedir. Besin ve yemlerin küflenmesine neden olan küfleri bulaşma kaynaklarına göre üç gruba ayırabiliriz. Birincisi, bitkinin tarlada büyümesi aşamasında bitki paraziti olarak yaşayan ve uygun ortamlarda üreyen *Fusarium*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Claviceps* ve *Pullaria* gibi küflerdir. İkincisi, hasat işlemi esnasında tahıllara bulaşan ve tarla ortamına göre daha düşük sıcaklık ve nispi rutubet şartlarına sahip olan ambar ortamına alışan *Aspergillus* ve *Penicillium* türleridir. Üçüncüsü ise depo şartlarında iyi gelişen *Fusarium*, *Sardaria*, *Populasporea*, *Trichoderma* ve *Stachybothria* gibi küflerdir (Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2001; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Hasat esnasında besin ve yemlere bulaşan ve bunlarla depolara taşınan depo küfleri (*Aspergillus*, *Penicillium*) siloların yetersiz temizliği nedeniyle depolarda devamlı bulunur ve gelen ürünleri bulaştırır. Hasat esnasında bulaşmada toprak, sap ve yapraklardan ziyade ürünün biçilme yöntemi önemlidir. Elle yapılan biçmeye nazaran, makinalarla yapılan biçmede bulaşma çok daha fazla olmakta, makinaların depo ve elevatörleri bulaşmayı sağlamaktadır (Abramson ve ark., 1997; Tunail, 2000).

Hasat esnasında kontamine olan daneler usulüne uygun bir depolamada, danelerdeki nem içeriği % 13.5-14'ü geçmeyecek şekilde kurutulup temizliği iyi yapılmış silolarda 10-15 °C' de tutulurlarsa küflerin gelişmeleri ve toksin üretmeleri önlenir. Ülkemiz gibi subtropik iklime sahip ülkelerde, hasat mevsimine ve hava sıcaklığına bağlı olarak, soğuk ve nemli ülkelere nazaran daha az küflenme meydana gelir. Avrupa ülkeleri ve Kanada gibi nemli ve soğuk ülkelerde besin ve yemlerin, özellikle tahılların ve daneli yemlerin, özel kurutma tesislerinde belli bir rutubet oranına kadar kurutulup depolanmaları küf üremesinin engellenmesi bakımından çok önemlidir (Tunail, 2000).

Küflerin üremelerini ve mikotoksin sentezlemelerini genel olarak etkileyen başlıca faktörler; rutubetin etkisi, sıcaklığın etkisi, pH'nın etkisi, oksijen ve karbondioksitin etkisi, gıda maddesinin yapısının etkisi, sürenin etkisi ve diğer faktörler olarak adlandırılabilir.

### **Rutubetin Etkisi**

Küflerin gıda ve besin maddelerinde gelişebilmelerinde ortamın ve besin maddesinin rutubetinin büyük etkisi vardır. Ortamın relatif rutubet oranı arttıkça küflerin üremeleri ve toksin üretmeleri kolaylaşır, ortamın ve gıdanın rutubet oranı azaldıkça zorlaşır. Dolayısı ile gıdaların rutubet oranları ayarlanarak küf üremesi ve toksin sentezinin önüne geçilmiş olur (Tunail, 2000; Zettler ve Navarro, 2001; Gürses, 2004).

Küflerin üremesi ve toksin sentezleyebilmeleri için gereken rutubet oranları birbirinden farklıdır. Küflerin üreyebilmesi için gereken rutubet oranı toksin salgılayabilmeleri için gereken rutubet oranından daha düşüktür. Küflerin kullanımlarına uygun, gıda içinde bağlı olmayan suyu ifade eden su aktivitesi ( $a_w$ ) değeri besinin rutubeti konusunda bize gıdanın yüzde (%) su içeriğine göre daha geniş bilgi sunar. Atmosferin veya gıda maddesinin bulunduğu ortamın rutubeti ile gıdanın su aktivitesi değeri arasında sıkı bir ilişki vardır. Ortamın rutubeti arttıkça gıdanın da içerdiği rutubet ve su aktivitesi değeri artar (Tunail, 2000; Gürses, 2004).

Küfler, türüne göre değişmekle birlikte, genel olarak ortamın rutubetinin %50-60'ın üzerine çıktığı, gıdanın rutubetinin %9'un üzerine, su aktivitesi değerinin de 0.70'in üzerine çıktığı şartlarda kolayca ürer ve mikotoksin sentezleyebilirler (Whitlow ve Hagler, 2002; Yaroğlu, 2002).

*Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium*'ların su aktivitesi değerleri karşılaştırıldığında, *Penicillium* ve *Fusarium*'lar daha yüksek su aktivitesi değerleri istemektedirler. Bazı önemli *Aspergillus* türlerinin minimum Su aktivitesi  $< 0.80$  değerlerinin altında, ( $a_w$ : 0.70 – 0.71 değerlerinde) bile gelişebildikleri görülür. Bu nedenle *Aspergillus*'lar kserofilik küflerden sayılırlar. *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi depo küfleri %13-18 arasında rutubete sahip, su aktivitesi değeri en az 0.80 olan gıdalarda, deponun rutubetinin %50-60'ın üzerine çıktığı ortamlarda kolay ürerler. *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'un toksin sentezleyebilmeleri için depoda rutubetin %85'e artması ve gıdanın rutubetinin %17-19'a, su aktivitesinin 0.83- 0.87'e kadar yükselmesi gerekir (Tunail, 2000; Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2001; Zettler ve Navarro, 2001; Gürses, 2004).

### **Sıcaklığın Etkisi**

Sıcaklık, küflerin üremesi ve gelişmesinin yanı sıra mikotoksin sentezlemelerine ve sentezlenen mikotoksinlerin türü üzerine de etkilidir. Küflerin üremeleri geniş sıcaklık aralıklarında olabilir, fakat her küf türünün optimum üreme sıcaklığı farklılık gösterir. Küflerin en yüksek miktarda mikotoksin sentezlemeleri ise o küf türünün optimum üreme sıcaklığında veya bu sıcaklık değerinin biraz altında olmaktadır (Tunail, 2000; Kaya, 2001; Agag, 2004).

Küfler, 10 ile 40 °C'ler arasında üreyebilmekle birlikte, optimum üreme sıcaklığı 20 °C ile 30 °C'ler arasındadır. *Penicillium* ve *Fucarium*'lar <5 °C kadar düşük sıcaklık derecelerinde gelişebilmelerine karşın, *Aspergillus*'lar daha yüksek sıcaklık derecelerinde ürer ve toksin sentezlerler (Whitlow ve Hagler, 2001). Aflatoksin sentezleyen *Aspergillus*'lar 10 °C ile 45 °C arası sıcaklıklarda ürerken, 13 °C ile 42 °C arası sıcaklıklarda toksin sentezlerler. Optimum üreme sıcaklık dereceleri 35 °C ile 38 °C olup, en yüksek toksin sentezini ise 25 °C ile 30 °C arası sıcaklıklarda gerçekleştirirler (Roy ve Chourasia, 1989; Zettler ve Navarro, 2001; Whitlow ve Hagler, 2002; Agag, 2004). *Aspergillus flavus*'un sentezlediği aflatoksin miktarları da sıcaklığa göre farklılık göstermektedir. *Aspergillus flavus* 20 °C'de 15. günden, 30 °C'de 11. günden sonra en yüksek miktarda aflatoksin sentezlemektedir. *Aspergillus*'lar içinde sadece *Aspergillus ochraceus* diğer türlere nazaran daha düşük sıcaklık derecelerinde üreyebilmekte ve okratoksin A sentezleyebilmektedir (Tunail, 2000; Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2002; Yaroğlu, 2002; Gürses, 2004).

Gıda ve yemlerde küf gelişmesinin engellenmesi bakımından gıda ve yemlerin depolanmasında depo sıcaklığının 10 °C ile 15 °C arasında olduğu ve ürün rutubetinin %13.5'in altında olduğu şartlar tavsiye edilmektedir. Depo sıcaklığının daha aşağı derecelere çekilebilme imkanı var ise ürünün rutubetinin biraz daha yüksek olmasında sakınca yoktur (Roy ve Chourasia, 1989; Tunail, 2000; Özmenteşe, 2002)

### **pH'nın Etkisi**

Küfler pH 1.5 ile 11 gibi geniş bir aralıkta üreyebilmelerine karşın, pH 5 ile 6 arasında optimum üremelerini gerçekleştirmekte ve özellikle de asit ortamlarda daha iyi üreme göstermektedirler. *Aspergillus* türleri pH 2.5 ile 6 arasında olan asidik ortamlarda

toksin sentezleyebilmelerine karşın, maksimum pH 5'tir (Whitlow ve Hagler, 2002; Ehrlich ve ark., 2005).

### **Oksijen ve Karbondioksitin Etkisi**

Küfler, üremeleri ve toksin sentezleyebilmeleri için oksijene ihtiyaç duymaları nedeni ile aerobik organizmalardır (Whitlow ve Hagler, 2002). Ortamdaki oksijen miktarının azaltılması veya karbondioksit miktarının arttırılması küflerin gelişmelerini ve toksin sentezlemelerini olumsuz yönde etkiler. Ortamın oksijen yoğunluğunun % 45'den % 1'e düşürülmesi veya karbondioksit yoğunluğunun % 10'dan daha yukarı çıkartılması *Aspergillus flavus*'un üremesini ve aflatoksin sentezini önemli seviyede azaltır. Ortamın karbondioksit yoğunluğu % 20'nin üzerine çıkarıldığında küflerin üremesi ve toksin sentezleri önemli ölçüde etkilenir. Oksijen ve karbondioksitin küfler üzerindeki bu etkilerinden dolayı gıda ve yemlerin depolanmalarında önem arz edebilirler (Tunail, 2000; Kaya, 2001; Zettler ve Navarro, 2001; Yaroğlu, 2002).

### **Gıda Maddesinin Yapısının Etkisi**

Gıda ve yemlerin yapısı ve bileşimleri küflerin üremesi ve mikotoksin sentezini etkileyen faktörlerdendir. Küfler, üremeleri için organik karbonlara ve diğer enerji kaynaklarına ihtiyaç duyarlar. Glikoz ve diğer düşük molekül yapısına sahip monosakkaridler ile suda çözünebilen organik maddeleri besin kaynağı olarak kullanabilirler. Ayrıca, küflerin üreyip toksin sentezleyebilmeleri için pepton, polipeptid ve aminoasitler gibi organik maddeleri azot kaynağı olarak kullanmaya ve kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), potasyum (K), demir (Fe), çinko (Zn), fosfor (P) gibi elementlere ihtiyaçları vardır. Karbonhidrat ve yağ bakımından zengin gıda ve yem maddeleri küflerin üreyip toksin sentezleyebilmeleri için uygun ortamlardır. Özellikle mısır, buğday, arpa, yulaf, pirinç gibi ürünler ile yer fıstığı, fındık, ayçiçeği, soya fasulyesi, pamuk tohumu gibi yağlı ürünlerde küfler sıklıkla üremekte ve mikotoksin sentezlemektedirler. Bu ürünlerde sıklıkla aflatoksin oluşumuna rastlanılmaktadır (Kaya, 2001; Yaroğlu, 2002; Kuhn ve Ghannoum, 2003; Agag, 2004).

### **Sürenin Etkisi**

Küflerin gıda ve besinlerde üremeleri ve mikotoksin sentezleyebilmeleri için belirli bir sürenin geçmesi gerekir. Depolama süresinin uzunluğu üreme ve mikotoksin sentezinin artmasına neden olmaktadır. Küf sporları ile bulaşık bir üründe başta sıcaklık ve rutubet olmak üzere şartların uygun olması halinde 2 ile 4 gün arasında küfler üremekte ve sağlıklı tehdit eden miktarlarda mikotoksin sentezleyebilmektedirler (Kaya, 2001; Yaroğlu, 2002).

### **Diğer Faktörlerin Etkileri**

Küflerin üremesi ve mikotoksin sentezine etki eden diğer faktörler olarak gıda ve besin maddelerinde meydana gelen mekanik hasarlar, ortamın bileşimi, ortamın ışık durumu, birden fazla küf türünün bulunması, gıda ve yemlerin hasat zamanı, iklim şartları ve havalandırma sayılabilir (Tunail, 2000; Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2002).

Tarlada hasat öncesi tahıllar ve bitkisel ürünler, dışarıdan kabuk veya tohum kabuğu ile çevrili olmaları, dış dokularında eter yapısındaki yağlar, antibiyotik etkili maddeler, fitositlerin bulunması gibi nedenlerle küflenmeye karşı koruma altındadırlar. Fakat hasat esnasında veya daha sonraki işlemler esnasında çizilerek, parçalanarak, ezilerek, kırılarak mekanik hasara uğrarlar ve aynı zamanda bu işlemler sırasında küflerin etki edebilecekleri yüzeylerde genişlemiş olur. Bu tür hasara uğramış ürünlerde küflerin üremesi ve toksin sentezlemeleri daha kolay meydana gelmektedir (Tunail, 2000; Kaya, 2001).

Tarlada yetişen ürünlerin zamanında hasat edilmemesi, iklim şartlarının yağışlı ve rutubetli olması, depolardaki gıdaların az miktarda ışık alması, havalandırmasının yetersiz olması gibi şartların etkileri ile küflerin üremeleri ve mikotoksin sentezleme oranları değişebilmektedir (Kaya, 2001; Yaroğlu, 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

## 2.2. Aflatoksinler

Aflatoksinler başta *Aspergillus flavus* ile *Aspergillus parasiticus* ve az miktarda da *Aspergillus nomius* olmak üzere çeşitli *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Rhizopus* türlerinin ürettiği, çok kuvvetli toksik, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etkili mikotoksinlerdir (Wilson ve Payne, 1994; Goto ve ark., 1996; Pittet, 1998; Anon., 2002). Son yıllarda yapılan çalışmalarla *Aspergillus pseudotamarii* (Ito ve ark., 2001), *Aspergillus bombycis* (Peterson ve ark., 2001) ve *Aspergillus ochraceoroseus*'un da (Klich ve ark., 2000) aflatoksin sentezledikleri bildirilmektedir (Yu ve ark., 2004). Kumarin halkası ile bağlanmış halde dihidro veya tetrahidrofuran halkası içeren heterosiklik doymamış bileşiklerdir (Ehrlich ve ark.,2004). Aflatoksinler 200 ile 250 C° gibi yüksek ısılarla dayanıklıdır. Aseton, asetonitril, etanol, benzol, kloroform gibi birçok organik çözücüde çözünmekle beraber, su içinde sınırlı, hekzan, izooktan, eter ve petroleterde ise çözünmezler. Bulaşık gıdalarla alınan aflatoksinler sindirim kanalından emilimi takiben çoğunlukla serum albuminlerine bağlanmış olarak taşınırlar (Kaya, 2001; Seyrek, 2001; Creppy, 2002).

Aflatoksinlerden en sık karşılaşılan ve en yaygın olarak bilinenleri aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub>'dir. Aflatoksin sentezleyen *Aspergillus* türlerinden *Aspergillus flavus* sadece aflatoksin B<sub>1</sub> ve B<sub>2</sub> üretirken, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* ise hem aflatoksin B<sub>1</sub> ve B<sub>2</sub>, hem de aflatoksin G<sub>1</sub> ve G<sub>2</sub> üretebilme yeteneğine sahiptir. Bu gruptan en toksik ve en karsinojenik olanı aflatoksin B<sub>1</sub>'dir (Stubblefield ve Shannon, 1974; Van Egmond, 1989; Pittet, 1998; Creppy, 2002).

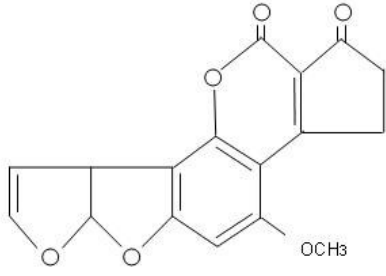
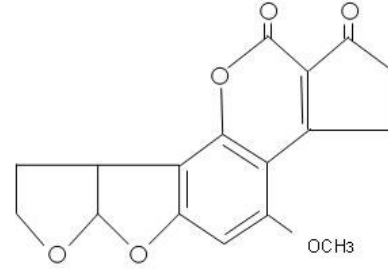
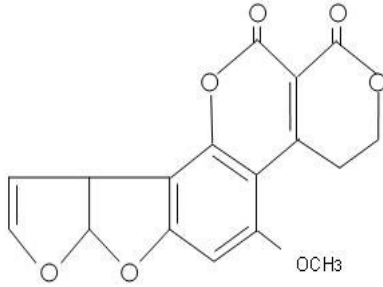
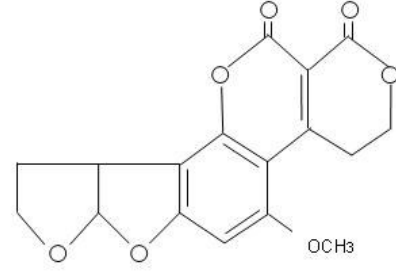
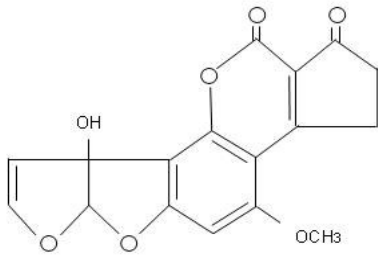
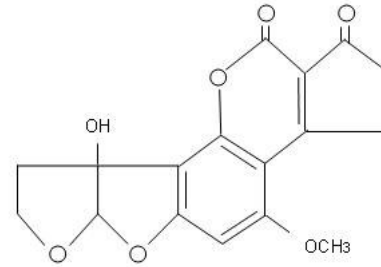
Hindi X Hastalığından sonra yapılan çalışmalar neticesinde bulunan aflatoksin metabolitinin önceleri tek bir komponent olduğu sanılmıştır. Fakat, daha sonra İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) ile yapılan çalışmalarda aflatoksin metabolitinin dört farklı bileşik olduğu saptanmıştır. Ultra viole (UV) ışığı altında mavi renk veren iki bileşik aflatoksin B<sub>1</sub> ve aflatoksin B<sub>2</sub>, sarı-yeşil renk veren iki bileşik aflatoksin G<sub>1</sub> ve aflatoksin G<sub>2</sub> olarak adlandırılmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda aflatoksin içeren yemleri tüketen hayvanların sütlerinde yeni bir aflatoksin bileşiği tespit edilmiş ve süt ile atılmasından dolayı adına aflatoksin M yani Süt Toksini (Milk Toxin) denilmiştir. Aflatoksin M'in tespit edilmesinden sonra yapılan çalışmalarla da süt toksininin hayvanların yemleri ile aldıkları aflatoksin B<sub>1</sub> ve aflatoksin B<sub>2</sub>'nin 4-hidroksi türevi olduğu ve aflatoksin M<sub>1</sub> ve aflatoksin M<sub>2</sub> şeklinde süt ile atıldığı ortaya konarak yeni iki



bileşik bulunmuştur (Bakırcı, 1995; Galvano ve ark., 1996; Akdemir, 2001; Akdemir ve Altıntaş, 2004; Kaya, 2001; Rao ve Chopra, 2001; Verma, 2004).

Günümüzde ise aflatoksinlerin, hem doğal olarak küfler tarafından üretilenler hemde vücutta oluşanlar göz önüne alındığında; B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, B<sub>2a</sub>, B<sub>3</sub>, G<sub>2a</sub>, GM<sub>1</sub>, GM<sub>2</sub>, GM<sub>2a</sub>, M<sub>2a</sub>, P<sub>1</sub>, Q<sub>1</sub>, R<sub>0</sub> ve aflatoksikol gibi bileşikler olmak üzere toplamda sayıları 17'yi bulan bir grup olduğu bilinmektedir ( Pittet, 1998).

Önemli bazı aflatoksin bileşiklerinden olan Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub>'nin kimyasal yapıları Şekil 1'de (Kos ve Krska, 2006), fiziksel ve kimyasal özellikleri Tablo 2'de sunulmuştur (Reddy ve Waliyar, 2006).

Aflatoksin B<sub>1</sub>Aflatoksin B<sub>2</sub>Aflatoksin G<sub>1</sub>Aflatoksin G<sub>2</sub>Aflatoksin M<sub>1</sub>Aflatoksin M<sub>2</sub>

**Şekil 1.** Aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub>'nin Kimyasal yapıları (Kos ve Krska, 2006)

**Tablo 2.** Önemli bazı aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Reddy ve Waliyar, 2006)

AFLATOKSİN	MOLEKÜLER FORMÜLÜ	AĞIRLIĞI (g/mol)	ERİME NOKTASI (°C)
B <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	312	268-269
B <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314	286-289
G <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	244-246
G <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	237-240
M <sub>1</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	328	299
M <sub>2</sub>	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	330	293

Aflatoksinler en fazla fıstık ezmesinde, ikinci olarak karışık yemlerde bulunmasına rağmen; antep fıstığı, yer fıstığı, fındık, badem, ayçiçeği gibi yağlı tohumlarda, mısır, buğday, yulaf, çavdar gibi tahıl ve tahıl ürünlerinde, mercimek, fasulye, nohut gibi bakliyalarda, kırmızı biber, kara biber, nane, kimyon gibi baharatlarda, süt, süt ürünleri, et, et ürünleri, yumurta gibi hayvansal ürünlerde bulunabilmektedir (Anon., 2002; Özmenteşe, 2002; Whitlow ve Hagler, 2005).

Aflatoksinlerin insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkilerinin ortaya çıkması sonucunda bu konuyla ilgili kuruluşların etkili çalışmaları ile 19 Haziran 1993'te Dünya Sağlık Teşkilatı'na (WHO-World Health Organisation) bağlı Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu (IARC-International Agency for Research on Cancer) tarafından aflatoksin B<sub>1</sub> birinci dereceden, aflatoksin M<sub>1</sub> ise ikinci dereceden kanserojen maddeler grubuna dahil edilmiştir (Anon., 1992; Cathey ve ark., 1994; Bakırcı, 1995; Dragacci ve ark., 1995; Akdemir, 2004).

Aflatoksinlerin akut toksisitesi üzerinde hayvanlarda çok çalışma yapılmış ve aflatoksin B<sub>1</sub>'in hayvanlarda hepatokarsinomaya sebep olduğu tespit edilmiştir. İnsanlarda ise fıstık ve fıstık ürünlerinin tüketimi ile insan karaciğer kanseri riskinin arttığı gözlenmiştir. Aflatoksinlerin bu tehlikelerinden dolayı dünyanın her yerinde besinlerde ve yemlerde kabul edilebilecek en üst seviyeleri bildirilmiştir (Franco ve ark., 1998; Özmenteşe, 2002).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) aflatoksin M<sub>1</sub>'in potansiyel risklerinin minimum düzeye indirilmesi amacıyla, henüz mantıklı bir maruz kalma seviyesi belirlenemediğinden, tüketiminin çok düşük seviyelerde olmasını tavsiye etmektedir.

Bu riskleri azaltmak amacıyla pek çok gelişmiş ülke süt ve süt ürünlerinde izin verilen maksimum aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerini kendi şartlarına göre belirlemiştir (Lopez ve ark., 2001; Van Egmond ve Jonker, 2004).

Aflatoksin B<sub>1</sub> ile kontamine yemleri tüketen hayvanlardan ve en çok da sığırlardan elde edilen süt ve bu sütlerden üretilen besinlerin tüketilmesi ile aflatoksin M<sub>1</sub>'in özellikle bebek ve çocuklar tarafından alınması risk oluşturmaktadır. Çünkü süt ve süt kaynaklı besinler bebek ve çocukların temel gıda maddeleri içinde en ön sırada gelmektedir (Galvano ve ark., 1996; Lopez ve ark., 2003; Oruç, 2003).

Bazı Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde besinler için belirlenmiş maksimum aflatoksin ve diğer bazı mikotoksinlerin seviyeleri Tablo 3'de (Creppy, 2002), ülkemizde gıda maddelerinde belirlenmiş maksimum aflatoksin ve diğer bazı mikotoksinlerin seviyeleri Tablo 4'de sunulmuştur (Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, 1997).

**Tablo 3.** Avrupa Ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde Gıdalar İçin Belirlenmiş Maksimum Aflatoksin ve Bazı Mikotoksinlerin Seviyeleri (Creppy, 2002)

Mikotoksin	Ülke	Maksimum Düzey ( $\mu\text{g/kg}$ yada $\mu\text{g/l}$ , ppb)	Besinler
AFB <sub>1</sub>	Finlandiya	2	Tüm besinler
	Almanya	2	Tüm besinler
	Hollanda	5	Tüm besinler
	Belçika	5	Tüm besinler
	Portekiz	25	Yer fıstığı
		5	Çocuk gıdaları
		20	Diğerleri
	Avusturya	1	Tüm besinler
		2	Tahıllar, Fındık
	İsviçre	1	Tüm besinler
		2	Mısır, Tahıllar
	İspanya	5	Tüm besinler
	Lüksemburg	5	Tüm besinler
	İrlanda	5	Tüm besinler
Danimarka	5	Tüm besinler	
Yunanistan	5	Tüm besinler	
Aflatoksin B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> ve G <sub>2</sub>	İsveç	5	Tüm besinler
	Norveç	5	Yer fıstığı, Brezilya fıstığı, Karabuğday
	Finlandiya	5	Tüm besinler
	Almanya	4	Tüm besinler
		0.05	Enzim ve enzim formülasyonları
	İngiltere	4	Fındık ve kurutulmuş incir
	Fransa	10	Tüm besinler
	İtalya	50	Yer fıstığı
	Avusturya	5 (B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub> )	Tüm besinler
		0.02 (M <sub>1</sub> + B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub> )	Çocuk besinleri
	İsviçre	5 (B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub> )	Tüm besinler
0.01		Bebek besinleri	

**Tablo 3'ün devamı** Avrupa Ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde Gıdalar İçin Belirlenmiş Maksimum Aflatoksin ve Bazı Mikotoksinlerin Seviyeleri (Creppy, 2002)

Aflatoksin B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , G <sub>1</sub> ve G <sub>2</sub>	A.B.D.	20	Tüm besinler
	Belçika	5	Yer fıstığı
	Bosna	1 (B <sub>1</sub> + G <sub>1</sub> )	Tahıllar
5		Fasulyeler	
Aflatoksin M <sub>1</sub>	İsveç	0.050	Sıvı süt ürünleri
	Avusturya	0.050	Süt
	Almanya	0.050	Süt
	Hollanda	0.050	Süt
		0.020	Tereyağı
		0.200	Peynir
	Rusya	0.5	Süt ve süt ürünleri
	İsviçre	0.020	Bebek besinleri
		0.050	Süt ve süt ürünleri
		0.250	Peynir
	Belçika	0.050	Süt
	A.B.D.	0.50	Süt
	Çek Cum.	0.1	Çocuk sütleri
		0.5	Yetişkin sütleri
	Fransa	0.03	Çocuk sütleri
0.05		Yetişkin sütleri	
Bulgaristan	0.5	Süt ve süt ürünleri	
Deoksinival enol	A.B.D.	1000	Buğday
	Rusya	1000	Tahıllar
	Avusturya	750	Buğday
Okrotoksin A	Romanya	5	Tüm besinler
	Çek Cum.	1	Bebek besinleri
		20	Tüm besinler
	Danimarka	5	Tahıllar
		25	Domuzlar
	Avusturya	5	Tahıllar
	İsviçre	2	Tahıllar
Yunanistan	20	Tüm besinler	

**Tablo 3'ün devamı** Avrupa Ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde Gıdalar İçin Belirlenmiş Maksimum Aflatoksin ve Bazı Mikotoksinlerin Seviyeleri (Creppy, 2002)

Okrotoksin A	Fransa	5	Tüm besinler
	Hollanda	0	Tahıllar
	Yunanistan	20	Tüm besinler
	Fransa	5	Tüm besinler
	Hollanda	0	Tahıllar
Fumonisin B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	İsviçre	1000	Mısır
Zearelenon	Romanya	30	Tahıllar, Bitkisel yağlar
	Avusturya	60	Tahıllar
	Fransa	200	Tahıllar, Bitkisel yağlar
	Rusya	1000	Tahıllar, Bitkisel yağlar
T <sub>2</sub> Toksin	Rusya	100	Tüm besinler

**Tablo 4.** Ülkemizde Gıda Maddelerindeki Maksimum Aflatoksin ve Bazı Mikotoksinlerin Seviyeleri (Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, 1997)

Gıda Maddesi	Maksimum Seviye ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ yada $\mu\text{g}/\text{l}$ , ppb)				
	Aflatoksin			Okrotoksin A	Patulin
	B <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> +B <sub>2</sub> +G <sub>1</sub> +G <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>		
Fındık, yer fıstığı ve diğer yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, incir, üzüm ve kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar	5	10			
Tahıllar (Karabuğday- <i>fagopyrum sp.</i> dahil) ve tahıl ürünleri	2	4			
Süt			0.05		
Süt tozu			0.5		
Peynir			0.25		
Bebek mamaları ve devam formülleri (Süt bazlı)			0.05		
Bebek mamaları ve bebek gıdaları	1	2			
Baharat	5	10			
Diğer gıda maddeleri*	5	10			
İşlenmemiş tahıl taneleri (Çeltik ve karabuğday dahil)				5	
Tahıllardan elde edilen bütün ürünler (Tahıl bazlı işlenmiş ürünler ve doğrudan insan tüketimine sunulan tahıl taneleri)				3	
Kuru üzüm				10	
Elma suyu ve elma suyu içeren içecekler ve sirkeler**					50

\* Bulunması muhtemel riskli gıdalar

\*\* Konsantr ürünlerde tarifine uygun hazırlama sonucundaki üründe bakılır

Aflatoksinin bulunuşundan sonra toksik etkili sekonder metabolitler olan mikotoksinler önem kazanmış ve dünya genelinde yıllardır birçok araştırmacının yapıldığı oldukça geniş bir madde grubu oluşmuştur. Mikotoksinler içinde ise üzerinde en çok çalışılan ve hakkında en çok bilgiye sahip olunan grubu aflatoksinler oluşturmaktadır (Smith ve ark., 1994; Sonal ve Oruç, 2000; Tunail, 2000; Kaya, 2001).

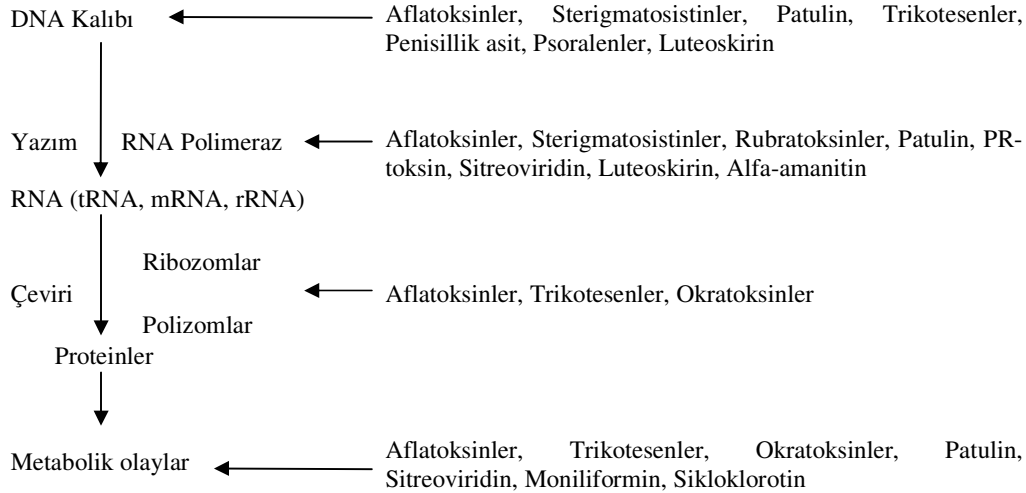
Ülkemizde yapılan çalışmaların değerlendirilmesi neticesinde, mikotoksin probleminin yıldan yıla koşullara bağlı olarak değişkenlik gösterdiği ve farklı ürünlerde



beklenmeyen anlarda ortaya çıktığı da dikkate alındığında, sorunun henüz hangi boyutlarda olduğu kesin olarak değerlendirilememekte ve çalışmalar devam etmektedir.

### 2.2.1. Aflatoksinlerin Toksisitesi ve Etkileri

Mikotoksinlerin toksisitesi konusunda insanlar üzerinde direk araştırmalar yapılamayacağı için, çalışmalar en duyarlı hayvan olan ördek yavruları, fareler ve ratlar kullanılarak yapılmaktadır. Bir günlük ördek yavrularında aflatoksin B<sub>1</sub>'in LD<sub>50</sub> değeri 0.24 mg/kg, aflatoksin M<sub>1</sub>'in LD<sub>50</sub> değeri 0.32 mg/kg olarak bildirilmektedir. Hayvan denemelerinde akut ve kronik etkileri görülen mikotoksinlerin insanlar için de tehlikeli olacağına şüphe yoktur. Bu nedenle bu mikotoksinlerin gıda ve besin maddelerinde bulunması tolere edilmemelidir (Galvano ve ark., 1996; Tunail, 2000; Agag, 2004). Aflatoksinlerin, difuran halkasının ikinci ve üçüncü karbon atomları arasındaki 2,3-vinil eter çift bağının elektrofilik atakları ile kanserojenik etkilerini gösterdikleri düşünülmektedir (Stoloff, 1980). Aflatoksinler ve diğer mikotoksinler doğrudan veya metabolik değişiklikler sonucu oluşan metabolitleri aracılığı ile Şekil 2'de ana hatları belirtilen etki şekillerinden biri yada birkaçını kullanarak etkilerini gösterirler (Kaya, 2001).



Şekil 2. Bazı mikotoksinlerin etki şekilleri (Kaya, 2001)

Gıdalarla alınan aflatoksinler doğrudan etki göstermezler. Sindirim sisteminden emilimden sonra kan dolaşımında serum proteinlerine, özellikle albumine bağlı olarak taşınırlar ve hızla plazmadan ayrılarak öncelikli olarak karaciğer ve kaslara dağılırlar.

Karaciğerde sitozolik ve sitokrom P450 sistemiyle, sitokrom P450 enzimi vasıtasıyla, bazı metabolitlere, özellikle de epoksit türevlerine (Aflatoksin B1-8,9 epoksit) çevrilerek etkilerini gösterirler. Oluşan epoksit türevleri karaciğerde DNA, sitoplazmadaki steroid hormon reseptörleri, enzimler gibi moleküllere kovalent olarak bağlanır ve steroid hormon reseptörlerine bağlanmaları ribozomlarda bozulmalara neden olabilmektedir (Groopman ve ark., 1992; Raney ve ark., 1992; Anon., 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002; Verma, 2004).

Aflatoksin molekülleri DNA ve RNA polimeraz enzimlerinin etkisini süratle engeller. DNA çift sarmalını şablon olarak kullanıp RNA (mRNA) sentezini gerçekleştiren RNA polimeraz enziminin DNA'ya bağlanmasını engelleyerek pıhtılaşma proteinlerinin sentezi ve antikör oluşumu gibi önemli protein sentezlerini bozar. Aflatoksin molekülü RNA polimeraz enzimine doğrudan etki etmez, aflatoksin-kromatin etkileşmesi sonucunda bozulan kromatin kalıp etkinliğinin dolaylı sonucu olarak etki gösterir. Aflatoksin-kromatin etkileşmesi sonucunda DNA'ya bağlanmış olan aflatoksin, mRNA sentezini engellemiş olmakta ve bu şekilde DNA'ya bağlı olarak RNA sentezi ve dolayısı ile de bazı protein ve enzimlerin sentezi engellenmiş olmaktadır. Sonuç olarak protein ve enzim sentezi yazım aşamasında engellenmiş olmaktadır (Wang ve Groopman, 1999; Kuhn ve Ghannoum, 2003; Agag, 2004; Verma, 2004).

Protein sentezindeki bu engellemeler öncelikli olarak bazı antikörlerin oluşmasında azalma olarak kendini gösterir. Aflatoksinler IgG, IgA, interferonun ve komplementin (C4) üretiminde azalmaya neden olurlar, lenfositlerin göçünü, lenfoblastların gelişmesini ve fagositlerin etkinliğini baskı altına alırlar. Bu etkileri ile hem vücuttan mikroorganizmaların atılması engellenmiş olurken, hem de antijenlerin bağışıklık sistemine verilmesi baskılanmış olur. Aflatoksinlerin sayılan bu immunotoksik etkileri hayvan denemeleri ile ortaya konulmuş fakat insanlardaki immunotoksik etkileri henüz tam aydınlatılamamıştır (Moon ve ark., 2000; Sonal ve Oruç, 2000; Kuhn ve Ghannoum, 2003; Agag, 2004; Williams ve ark., 2004).

Aflatoksinler protein sentezinin yanı sıra karbonhidrat ve yağ metabolizması ile hücre solunumuna da etkilidirler (Cheeke ve Shull, 1985). Glikojen sentezini glikojen sentetaz ve transglikosilaz enzimlerinin etkinliğini önleyerek bozarlar. Glikoz-6-fosfatın yükseltgenmesini hızlandırarak karaciğerdeki glikojen miktarını azaltırlar. Ayrıca

glikoz-6-fosfatın glikoz-1-fosfata dönüştürülmesini katalize eden fosfoglukomutaz enziminin etkisini de engellerler. Yağ metabolizmasına ise, karaciğerde yağ asitlerinin sentezi için gerekli olan sitozolik NADPH düzeyini arttırıp karaciğerde yağ birikimine neden olarak etki gösterirler. Ayrıca trigliserollerin, fosfolipidlerin ve kolesterolün taşınmasını da engellerler (Verma, 2004). Hücre solunumuna olan etkileri mitokondriumlarda gerçekleşen oksidatif fosforilasyon reaksiyonu esnasında olur. Oksidatif fosforilasyon zincirinin engellenmesi mitokondriumlarda enerjiye bağımlı kalsiyum taşınmasının engellenmesine, ATP ile karşılanan mitokondrium zarının enerji ihtiyacının engellenmesine ve sonuçta ATP'ye bağımlı zar geriliminin kaybolmasına neden olur (Fagian ve ark., 1990; Kaya, 2001; Verma, 2004).

Aflatoksinlerin gıda maddeleri ile alımından sonra vücutta oluşan epoksit türevleri normalde *glutasyon transferaz* enzimi (GSH-S) aracılığında indirgenmiş glutasyonla (GSH) birleştirilerek veya *epoksi hidrataz* enzimi vasıtasıyla *aflatoksikola* dönüştürülerek etkisiz hale getirilirler (Creppy, 2002; Verma, 2004). Fakat, uzun süre ve fazla miktarlarda aflatoksin alınması işleyen bu etkisizleştirme mekanizmasına baskın gelerek fazla miktarda epoksit türevlerinin oluşmasına ve bu da aflatoksinlerin istenmeyen etkilerinin görülmesine neden olur ( Yiannikouris ve Jouany, 2002).

İnsan ve hayvanlarda aflatoksinlerin toksisitesi; alınan toksin miktarı, çeşidi, alım süresi, cinsiyet, yaş, ırk gibi birçok faktöre bağılı olarak değişiklik göstermektedir. Ayrıca karoten, vitamin B12 ve protein eksiklikleri ile riboflavin ve ışığa maruz kalma ile toksisiteleri artmaktadır (Whitlow ve Hagler, 2002; Agag, 2004). Hayvanlar içinde en duyarlı olanlar ördek ve hindi palazları, alabalık, kedi, köpek sayılabilir. Orta derecede duyarlı olanlara; at, sığır, koyun, keçi, kobay, bildırcın, en az seviyede duyarlı olanlara ise fare, maymun ve ördek gösterilebilir. Hayvanların çoğunda toksik etki gösterebilecek yemlerdeki aflatoksin miktarı 10 ile 100 ppm seviyelerindedir. En duyarlı olan ördeklere bu değer 0.3 ppm'dir (Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2002; Özkaya ve Temiz, 2003; Williams ve ark., 2004).

Aflatoksinler alım miktarı, süresi, cinsiyet, duyarlılık gibi faktörlere bağılı olarak akut, subakut ve kronik şekillerde seyreden toksisite gösterirler. Akut formda ani ölüm görülebileceği gibi, durgunluk, solunum güçlüğü, öksürük, kanlı ishal, karaciğer hasarı, doku ve organlarda kanamalar ve ölüm görülebilir. Subakut formda sarılık, hematom, bağırsaklarda kanama, trombosit sayısında azalma, karaciğer hasarı, sarılık

görülebilmektedir. Kronik formda yem tüketiminin ve yemden yararlanmanın azalması, gelişme hızında yavaşlama, kansızlık, kıl örtüsünün yapısının bozulması, hafif sarılık, bağışıklık sisteminin bozulması gibi belirtiler görülür. Akut, subakut ve kronik tipte olan etkilerin ortak yönü hepsinde de karaciğer hasarı, kanın pıhtılaşmasında azalma, bağışıklık sisteminin baskı altına alınmasının değişik derecelerde görülmesidir (Cathey ve ark., 1994; Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2002; Agag, 2004).

Hayvanların yemleri ile birlikte düşük seviyelerde uzun süre aldıkları aflatoksinler ile meydana gelen kronik tipteki olaylar akut ve subakut forma göre daha fazla görülmekte ve hayvanlardan elde edilen ürünlerin miktarında azalmaya neden olarak büyük ekonomik zararlara yol açmaktadır (Whitlow ve Hagler, 2001).

Aflatoksinler içerisinde gıda ve besinlerde en sık bulunanı, insan ve hayvanlarda oluşturdukları toksik ve karsinojenik etkiler bakımından en tehlikeli olarak kabul edilen aflatoksin B<sub>1</sub>'dir (Franco ve ark., 1998; Yiannikouris ve Jouany, 2002; Williams ve ark., 2004). İnsan ve hayvanlardaki toksik etkileri göz önüne alınarak bir sıralama yapmak gerekirse, B<sub>1</sub>>M<sub>1</sub>>G<sub>1</sub>>B<sub>2</sub>>M<sub>2</sub>>G<sub>2</sub> şeklinde sıralayabiliriz, fakat her tür ve ırkta farklılıklar göstermektedir (Ender, 2001; Yaroğlu, 2002; Verma, 2004).

İnsan hepatositlerindeki *in vitro* ve bazı türlerde yapılmış çalışmalar aflatoksin M<sub>1</sub>'in aflatoksin B<sub>1</sub>'e benzer şekilde akut toksisite sergilediğini ve sitotoksik olduğunu ortaya koymaktadır. Yavru ördek ve farelerde aflatoksin M<sub>1</sub>'in akut ve kısa dönem toksisitesi aflatoksin B<sub>1</sub>'e benzemektedir. Karsinojenite çalışmalarında aflatoksin M<sub>1</sub>'in aflatoksin B<sub>1</sub>'e göre 1/10 oranında daha az karsinojen olduğu ortaya çıkmıştır. Aflatoksin M<sub>1</sub>'in genotoksitesinin yapılan *in vitro* çalışmalar sonucunda aflatoksin B<sub>1</sub>'e benzediği bulunmuştur (Galvano ve ark., 1996; Anon., 2002).

### 2.2.2. Gıda Maddelerinde Aflatoksinler

Dünyanın, özellikle ılıman ve rutubetli olan bölgelerinde üreme şartlarının uygun olduğu ortamlarda aflatoksin üreten küfler rahatlıkla ürer ve toksin sentezlerler (Verma, 2004). Genel olarak ortam rutubeti %50-60'ın üzerine çıktığı, gıdanın rutubetinin % 9'un üzerine, su aktivitesi değerinin de 0.70'in üzerine çıktığı, 10 ile 45 °C arası sıcaklık gibi şartlarda kolayca ürerler. Ortamın rutubetinin % 80'in, gıdanın rutubetinin % 13'ün üzerine ve ortam sıcaklığının 12-13 °C'nin üstüne yükseldiği

şartlarda da aflatoksin sentezlerler (Tunail, 2000; Kaya, 2001; Yaroğlu, 2002; Gürses, 2004).

Aflatoksinlere en fazla bitkisel ürünlerde rastlanır. Bitkisel ürünlere küf bulaşması hasattan önce ve hasat esnasında olmakla birlikte, küflerin üremesi ve aflatoksin sentezi en çok depo ortamında meydana gelmektedir. Bu nedenle aflatoksin oluşumunun önlenmesinde en iyi strateji ürünlerin doğru olarak depolanması ve iyi bir şekilde işlenmesi olacaktır (Whitlow ve Hagler, 2002).

Gıda maddeleri içinde yer fıstığı, fındık, Antep fıstığı, çam fıstığı, badem, ceviz, ayçiçeği gibi yağlı tohumlarda ve bunların ürünleri olan fıstık ezmesi, fındık ezmesi, badem ezmesinde, mısır, pirinç, buğday, arpa, çavdar, yulaf gibi tahıllarda ve bu tahılların ürünlerinde, kırmızı toz biber, pul biber, kara biber, nane, kimyon gibi baharatlarda, mercimek, nohut, fasulye gibi bakliyalarda, kurutulmuş meyvelerden incirde, süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, yumurta gibi hayvansal ürünlerde aflatoksinler bulunabilmektedirler (Tunail, 2000; Özmenteşe, 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002; Agag, 2004).

Adı geçen gıda maddelerinde uygun şartlar oluştuğunda küf üremesinin ve aflatoksin sentezinin daha sıklıkla görülmesinin nedeni bu gıda maddelerinde küflerin üremeleri için gerekli olan bağılı olmayan suyun miktarının yüksek olmasındandır (Tunail, 2000).

### **2.2.3. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksinler**

Bitkisel ürünlere göre bulunma sıklığı ve miktarı az olmakla birlikte hayvansal ürünler içinde en fazla aflatoksine süt ve süt ürünlerinde rastlanmaktadır. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin bulunması iki kaynaktan köken almaktadır. Birincisi süt veren hayvanların yedikleri yemleri ile aldıkları aflatoksin B<sub>1</sub> ve B<sub>2</sub>'nin süte aflatoksin M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub> şeklinde geçmesi ile olmaktadır. İkincisi ise sağımdan sonraki taşıma, işleme ve depolama işlemleri esnasında süt ve süt ürünlerine aflatoksin sentezleyen küflerin bulaşmaları ve aflatoksin üretmeleri ile olmaktadır (Van Egmond, 1983; Blanco ve ark., 1993; Barrios ve ark., 1997; Nilüfer ve Boyacıoğlu, 2003; Sarımeahmetoğlu ve ark., 2004).

Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin bulunması taşıma, işleme ve depolama işlemleri esnasında bu besinlerin aflatoksin üreten küflerin bulaşmasına maruz

kalmasından daha çok çiftlik hayvanlarının aflatoksinlerle bulaşık yemleri tüketmelerinden köken almaktadır. Süt ürünlerinden özellikle peynirler çeşitli işleme ve depolama yöntemleri nedeni ile en fazla küf kontaminasyonuna maruz kalan grubu oluşturmaktadır. Küf kontaminasyonu özellikle olgunlaştırma süresi uzun olan peynirlerin kabuk kısmında görülmekte ve oluşan aflatoksinler 6-8 cm derinliğe kadar ilerleyebilmektedir. Aflatoksinler düşük sıcaklıklarda sentezlenemediği için aflatoksin üreticisi küflerle kontamine peynirlerin 4 °C'de depolanmaları aflatoksin sentezini önleyecektir (Lopez ve ark., 2001; Nilüfer ve Boyacıoğlu, 2003; Gürses, 2004).

Piyasada bulunan ticari sütlerde aflatoksin M<sub>1</sub>'in görülme sıklığı, ham çiftlik sütündeki sıklığına göre daha fazla olmaktadır. Çünkü farklı kaynaklardan toplanan aflatoksin M<sub>1</sub> ile bulaşık birkaç litre süt karıştığı diğer sütlerin tamamının bulaşmasına neden olmaktadır (Oruç, 2003)

Çiftlik hayvanlarının aflatoksin B<sub>1</sub> ile bulaşık yemleri tüketmelerinden köken alan aflatoksin M<sub>1</sub>'in süt içinde dağılımı homojenite göstermemekte ve süttten kremanın ayrılması işleminde dağılım etkilenecek şekilde %10 civarında bir kısmı yağa geçmekte, % 80'inden fazlası kazeine bağlanma özelliğinden dolayı yağsız süt kısmında kalmaktadır ( Galvano ve ark., 1996; Pittet, 1998).

Sütün pastörize edilmesi veya diğer süt ürünlerine işlenmesi aşamalarında aflatoksin M<sub>1</sub>'de yıkılma meydana gelmemekte, çeşitli oranlarda ürünlere geçmektedir (Anon., 2002; Badea ve ark., 2004). Aflatoksin M<sub>1</sub> içeren sütler peynir yapımında kullanıldığında aflatoksin M<sub>1</sub> hem peyniraltı suyuna, hem de telemeye geçmektedir. Aflatoksin M<sub>1</sub>'in kazeine olan ilgisinden dolayı telemeye geçen miktarı çok daha fazla olmakta ve dolayısı ile peynirde üretildiği süte oranla 3.2 ile 4.4 misli arasında değişen oranlarda daha fazla bulunmaktadır. Salamura içinde olgunlaştırılan peynirlerde ise peynirin salamura içinde bekleme süresi arttıkça, ilerleyen zaman içinde aflatoksin M<sub>1</sub> salamuraya geçmekte ve peynirdeki miktarı azalmaktadır. Süt tozunda ise aflatoksin M<sub>1</sub> konsantrasyonu üretildiği sütteki oranına göre 8 katına kadar çıkabilmektedir (Stoloff, 1980; Pittet, 1998; Govaris ve ark., 2001; Kaniou-Grigoriadou ve ark., 2005).

Süt ve süt ürünleri arasında peynir aflatoksin M<sub>1</sub> kaynağı olarak en önde gelen grubu oluşturur. Çünkü aflatoksin M<sub>1</sub> süt içindeki kazein fraksiyonuna olan ilgisinden

dolayı peynir içinde oldukça yoğun olarak bulunur (Wiseman ve Marth, 1983; Galvano ve ark., 1996; Lopez ve ark., 2001; Tekinşen ve Tekinşen, 2005).

Süt ürünleri açısından araştırmalar incelendiğinde peynirlerde hazırlanma aşamalarında kullanılan ısı, emülsifiye edici tuzlar tek tek veya her ikisi birden aflatoksin M<sub>1</sub> seviyesini arttırmada etkili olabilmektedir. Aynı zamanda peynirin olgunlaştırılma şartları, işleme prosedürleri ve aflatoksin M<sub>1</sub>'in peynirden ekstrakte edilme prosedürleri de aflatoksin M<sub>1</sub> miktarını etkilemektedir (Wiseman ve Marth, 1983).

Ülkemizde ve dünyanın değişik bölgelerinde süt ve süt ürünlerinde Aflatoksin M<sub>1</sub>'in saptanmasına yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmaların ortak yönü miktarının değişik olmasına karşın genelinde süt ve süt ürünlerinin aflatoksin içeriyor olmasıdır. Özellikle tüketim sıralamasında üst sıralarda yer alan süt ve peynir türleri bu araştırmalarda en çok incelenmiş örnekleri oluşturmaktadır.

Meerarani ve arkadaşlarının 1993 yılında Hindistan'ın Madras şehrinde süt örneklerinde yaptıkları incelemelerde 325 süt örneğinin 36'sında (% 11'inde), 120 ile 1000 ng/l arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub>'e rastlamışlardır (Meerarani ve ark., 1997).

Domagala ve ark. (1997) Polonya Cracow'da 1993 ve 1994 yıllarında yaptıkları çalışmalarının birinde 10 farklı çiftlikten belirli aralıklarla aldıkları 30 süt örneğinin 6'sında (% 20'sinde) 3.6 ile 10.6 ng/l arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Yaptıkları çalışmanın diğerinde ise 5 farklı toplama noktasından aldıkları 157 süt örneğinin 37'sinde (% 23.6'sında), en yüksek 25 ng/l olmak üzere farklı seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Galvano ve ark. (1998) 1995 yılında değişik İtalyan kentlerinden aldıkları süt, süt tozu ve yoğurt örneklerinde yaptıkları çalışmalarda; 159 süt örneğinin 136'sında (% 86'sında) 1 ile 108.5 ng/l arasında değişen seviyeler, 97 süt tozu örneğinin 81'inde (% 84'ünde), 1 ile 101.3 ng/kg arasında değişen seviyelerde, 114 yoğurt örneğinin 91'inde (%80'inde), 1 ile 496.5 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Galvano ve ark. (2001) 1996 yılında yine değişik İtalyan kentlerinden aldıkları süt, süt tozu ve yoğurt örnekleri ile yaptıkları çalışmalarda; 161 süt örneğinin 125'inde (% 78'inde), 1 ile 23.5 ng/l arasında değişen seviyelerde, 92 süt tozu örneğinin 49'unda (% 53'ünde), 1 ile 79.6 ng/kg arasında değişen seviyelerde, 120

yoğurt örneğinin 73'ünde (% 61'inde), 1 ile 32.1 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Barrios ve ark. (1996) 1995 yılında güney İspanya'da yaptıkları çalışmada, 35 peynir örneğinin 16'sında (%44.7'sinde), 20 ile 200 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Markaki ve Melissari (1997) 1996 yılında Yunanistan'ın Atina şehrinde pastörize sütlerde yaptıkları çalışmada, 81 adet ticari pastörize süt örneğinin 63'ünde (% 77.77'sinde), 0.5 ile 5 ng/l arasında değişen miktarlarda aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Prado ve ark. (2000) Brezilya'nın Belo Horizonte şehrinde, 1996 ile 1998 yılları arasında, Minas tipi peynirlerde yaptıkları çalışmada, 75 adet peynir örneğinin 56'sında (% 74.66'sında), 20 ile 620 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Lopez ve ark. (2003) Arjantin'de 1999 yılında kısmi üretilen sütlerden yaptıkları çalışmada, 77 süt örneğinin 18'inde (% 23.4'ünde), 10 ile 30 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Aynı bölgede daha önce yaptıkları bir çalışmada ise 50 süt örneğinin 2'sinde (%4'ünde), 220 ve 330 ng/l seviyesinde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Kamkar (2004) İran'ın Sarab şehrinde 2001 yılının tüm aylarını kapsayacak şekilde yaptığı çalışmada, 111 adet süt örneğinin 85'inde (% 76.6'sında), 15 ile 280 ng/l arasında değişen seviyelerde olmak üzere aflatoksin M<sub>1</sub>'e rastlamıştır.

Sassahara ve ark. (2005) Brezilya Parana'da 2001 ve 2002 yıllarında çeşitli hayvan yemleri ve sütleri kapsayan çalışmalarında, 42 adet süt örneğinin 10'unda (% 24'ünde), 295 ile 1974 ng/l arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Martins ve Martins (2004) 2001 yılında Portekiz'in Lizbon şehrinde doğal ve çilekli yoğurtlardan oluşan 96 örnekte yaptıkları araştırmalarda, toplam 18 örnekte (% 18.8'inde), 19 ile 98 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. İncelenen 48 doğal yoğurt'un 2 adetinde (% 4.2'si), 43 ve 45 ng/kg miktarında, 48 çilekli yoğurt'un ise 16'sında (%33.3'ünde), 19 ile 98 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub>'e rastlanmıştır.

Rastogi ve ark. (2004) Hindistan'ın Lucknow şehrinde 2002 yılında süt ve çeşitli süt kaynaklı bebek gıdalarında yaptıkları çalışmada, toplamda 87 adet örneğin



76'sında (% 87'sinde), 28 ile 1012 ng/l arasında değişen seviyelerde, süt olarak ise 12 örneğin 4'ünde (% 33'ünde), 28 ile 164 ng/l arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Kaniou-Grigoriadou ve ark. (2005) 2002 yılında Yunanistan'da yaptıkları çalışmada, 54 adet koyun sütünün 27'sinde (%50'sinde), 10 ile 18.2 ng/l arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Ülkemizde aflatoksin M<sub>1</sub> konusunda yapılan çalışmalarda ise, Bakırcı (2001) 1994 yılının mart, nisan ve mayıs aylarında Van'da yaptığı çalışmada, örneklenen 90 adet sütün 79'unda (% 87.77'sinde), 12.5 ile 123.6 ng/l arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmiştir.

Özmenteşe (2002) 1999 ile 2000 yılları arasında İstanbul'da değişik kaynaklardan elde ettiği süt, peynir, yoğurt ve süt tozu örneklerinde yaptığı çalışmada, 87 süt örneğinin 69'unda (%79.3'ünde), 7 ile 567 ng/l arasında değişen seviyelerde, 15 adet peynirin tamamında (%100'ünde), 16 ile 713 ng/kg arasında değişen seviyelerde, 15 adet yoğurt örneğinin tamamında (%100'ünde), 14 ile 1041 ng/kg arasında değişen seviyelerde ve bulabildiği 1 süt tozu örneğinde 21 ng/kg seviyesinde olmak üzere aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmiştir.

Günşen ve Büyükyörük (2003) 1999 yılı Ekim ayı ile 2000 yılı Aralık ayı arasında, Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkezi Komutanlığı Gıda Kontrol ve Araştırma Laboratuvarı(Gemlik-Bursa)'nda taze kaşar peynirlerinde yaptıkları çalışmada, 125 adet taze kaşar peyniri örneğinin 86'sında (% 68.8'inde), 10 ile 740 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub>'e rastlamışlardır.

Akdemir ve Altıntaş (2004) 2001 yılında yaptıkları çalışmada, Ankara'da bulunan 2 ayrı süt fabrikasına çeşitli illerdeki 12 kaynaktan gelen 48 adet süt örneğinin 34'ünde (% 70.83'ünde), 10 ile 817 ng/l arasında değişen seviyelerde olmak üzere aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Ayçiçek ve ark. (2002) 2001 yılında İstanbul bölgesinde, beyaz peynir ve tereyağında yaptıkları çalışmada, 183 beyaz peynir örneğinin 121'inde (% 65'inde), 40 ile 4890 ng/kg arasında değişen seviyelerde, 64 tereyağı örneğinin 52'sinde (% 81'inde), 10 ile 2200 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub>'e rastlamışlardır.

Seyrek (2001) 2001 yılında, Marmara ve Batı Karadeniz bölgesindeki Türk Silahlı Kuvvetleri birlikleri için tedarik edilen, değişik bölgelerden toplanan 110 adet beyaz peynir örneğinde yaptığı çalışmada, örneklerin 101'inde (% 91.8'inde), 10 ile 2000 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmiştir.

Bostan ve ark. (2005) 2001 yılının Mayıs ve Ağustos ayı arasında, İstanbul'da çeşitli perakende satış noktalarından temin ettikleri pastörize ve UHT sütlerde yaptıkları çalışmada, 21 pastörize süt örneğinin 19'unda (% 90.47'sinde), 10 ile 144 ng/l arasında değişen seviyelerde, 46 UHT süt örneğinin 42'sinde (% 91.3'ünde), 10 ile 161 ng/l arasında değişen seviyelerde, toplamda ise 67 içme sütü örneğinin 61'inde (% 91.04'ünde), 10 ile 161 ng/l arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Yaroğlu ve ark. (2004) 2001 yılı Ocak ayı ile 2002 yılı Şubat ayı arasında, ülkemizin değişik bölgelerinden elde ettikleri beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirinin her birisinden 200'er adet olmak üzere yaptıkları toplam 600 örnekli çalışmada; 200 adet beyaz peynir'in 10'unda (% 5'inde), 100 ile 600 ng/kg arasında değişen seviyelerde, 200 adet kaşar peyniri'nin 12'sinde (% 6'sında), 120 ile 800 ng/kg arasında değişen seviyelerde, 200 adet eritme peyniri'nin 8'inde (% 4'ünde), 100 ile 700 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Toplamda ise 600 adet peynir örneğinin 30'unda (%5'inde), 100 ile 800 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> bulunmuştur.

Sarımehmetoğlu ve ark. (2004) 2001 yılı Eylül ayı ile 2002 yılı Temmuz ayları arasında, Ankara'da çeşitli marketlerden elde ettikleri beyaz peynir, tulum peyniri, kaşar peyniri ve eritme peynirlerinin her birinden 100'er adet olmak üzere toplam 400 adet peynir örneğinde yaptıkları çalışmada; beyaz peynirlerinin % 82'sinde, tulum peynirlerinin % 81'inde, kaşar peynirlerinin % 85'inde, eritme peynirlerinin % 79'unda, toplamda ise 400 adet peynirin 327'sinde (% 81.75'inde) değişik seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Peynir örneklerinde bulunan aflatoksin M<sub>1</sub> seviyeleri 50 ile 800 ng/kg arasında değişmekle birlikte, sadece 1 tulum peyniri ve 4 kaşar peynirinde seviyenin 800 ng/kg'ı geçtiği görülmüştür.

Mavuş (2003) 2002 yılı şubat ayında Kayseri'nin dört farklı köyünden elde ettiği süt örneklerinde yaptığı çalışmada, 90 süt örneğinin 81'inde (%90'ında) en az 5 ng/l olmak üzere değişik seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmiştir.

Sarımehmetoğlu ve ark. (2003) 2002 yılının Şubat ayından Temmuz ayına kadar, Ankara'da farklı marketlerden rastgele topladıkları yoğurtlarda yaptıkları çalışmada, 132 yoğurt örneğinin 49'unda (% 32.12'sinde), 50 ile 800 ng/kg arasında değişen oranlarda aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Tekinşen ve Tekinşen (2005) 2002 yılının Eylül ayı ile 2003 yılının Mayıs ayı arasında ülkemizin Van ve Hakkari illerinde Van otlu peyniri ve beyaz peynirlerde yaptıkları çalışmada, 60 adet otlu peynir örneğinin 52'sinde (% 86.7'sinde), 160 ile 7260 ng/kg arasında değişen seviyelerde, 50 adet beyaz peynir örneğinin 31'inde (% 62'sinde), 100 ile 5200 ng/kg arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Sayılan bu örneklerin aksine Demirer (1973) 1973 yılında yaptığı çalışmasında, 150 süt, 102 peynir, 24 süt tozu, 22 tereyağı, 21 yoğurt ve 15 ayran olmak üzere toplam 334 örneğin hiç birisinden tespit edilebilir seviyede aflatoksin M<sub>1</sub>'e rastlamadığını bildirmiştir. Yine, Kardeş (2000) 1999 yılı Ocak ve Temmuz ayları arasında yaptığı çalışmasında, M.S.B. İç Tedarik Bölge Başkanlığı-Ankara ile 70 . Mekanize Piyade Tugay Komutanlığı-Mardin'den temin ettiği 50 adet beyaz peynir, 50 adet kaşar peyniri ve 50 adet eritme peyniri olmak üzere toplam 150 adet peynir örneğinin hiç birisinde aflatoksin M<sub>1</sub> varlığına rastlamamıştır. De Sylos ve ark. (1996), Brezilyada, 1989 ile 1990 yıllarında yaptıkları çalışmada; pastörize süt, süt tozu, peynir ve yoğurttan oluşan toplam 152 adet örnekten hiç birisinde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edemediklerini, fakat 1992 yılında yaptıkları çalışmada 52 pastörize süt örneğinin 4'ünde 73 ile 370 ng/l arasında aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Taguchi ve ark. (1995) Japonya'nın Osaka şehrinde 41 adet peynir örneğinde yaptıkları çalışmada hiç birisinde tespit edilebilir düzeyde aflatoksin M<sub>1</sub>'e rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Srivastava ve ark. (2001) Kuveyt'te, süt, süt tozu, yoğurt ve bebek mamalarından oluşan toplam 54 adet örnekte yaptıkları çalışmada, 14 süt örneği ile 1 yoğurt örneğinde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettikleri halde süt tozu ve bebek mamalarında aflatoksin M<sub>1</sub>'e rastlamadıklarını bildirmişlerdir.

Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub> konusunda değişik ülkelerde yapılan çalışmalara ait özet bilgiler Tablo 5'de, ülkemizde yapılan çalışmalara ait özet bilgiler Tablo 6'da sunulmuştur.

**Tablo 5.** Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub> konusunda değişik ülkelerde yapılan çalışmalara ait özet bilgiler.

Ürün Adı	Çalışmanın Yapıldığı Ülke Adı ve Yılı	Örnek Sayısı	Aflatoksin M <sub>1</sub> Tespit Edilen Örnek Sayısı ve Yüzde Oranı	Minimum ve Maksimum Seviyeler (ng/kg yada ng/l, ppt)	Kaynak
SÜT	Brezilya 1992	52	4 (% 7.69)	73-370	De Sylos ve ark., 1996
SÜT	Hindistan- Madras 1993	325	36 (% 11)	120-1000	Meerarani ve ark., 1997
SÜT	Polonya- Cracow 1993- 1994	30	6 (% 20)	3.6-10.6	Domagala ve ark., 1997
SÜT	Polonya- Cracow 1993- 1994	157	37 (% 23.6)	3-25	Domagala ve ark., 1997
SÜT	İtalya 1995	159	136 (% 86)	1-108.5	Galvano ve ark., 1998
SÜT	İtalya 1996	161	125 (% 78)	1-23.5	Galvano ve ark., 2001
SÜT	Yunanistan- Atina 1996	81	63 (%77.77)	0.5-5	Markaki ve Melissari, 1997
SÜT	Arjantin 1997	50	2 (% 4)	200-330	Lopez ve ark., 2003
SÜT	Arjantin 1999	77	18 (% 23.4)	10-30	Lopez ve ark., 2003
SÜT	Kuveyt 2001	14	3 (%21.4)	<210	Srivastava ve ark., 2001
SÜT	İran-Sarab 2001	111	85 (% 76.6)	15-280	Kamkar, 2004

**Tablo 5'in devamı** Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub> konusunda değişik ülkelerde yapılan çalışmalara ait özet bilgiler.

SÜT	Brezilya-Parana 2001-2002	42	10 (% 24)	295-1974	Sassahara ve ark., 2005
SÜT	Hindistan-Lucknow 2002	12	4 (% 33)	28-164	Rastogi ve ark., 2004
SÜT	Yunanistan-Thessaloniki 2002	54	27 (%50)	10-18.2	Kaniou-Grigoriadou ve ark., 2005
SÜT TOZU	İtalya 1995	97	81 (% 84)	1-101.3	Galvano ve ark., 1998
SÜT TOZU	İtalya 1996	92	49 (% 53)	1-79.6	Galvano ve ark., 2001
PEYNİR	Japonya-Osaka 1995	41	-	-	Taguchi ve ark., 1995.
PEYNİR	Güney İspanya 1995	35	16(%44.7)	20-200	Barrios ve ark., 1996
PEYNİR	Brezilya-Belo Horizonte 1996-1999	75	56 (% 74.66)	20-620	Prado ve ark., 2000
YOĞURT	İtalya 1995	114	91 (%80)	1-496.5	Galvano ve ark., 1998
YOĞURT	İtalya 1996	120	73 (% 61)	1-32.1	Galvano ve ark., 2001
YOĞURT	Portekiz-Lizbon 2001	96	18 (% 18.8)	19-98	Martins ve Martins, 2004
YOĞURT	Kuveyt 2001	3	1 (% 33)	30	Srivastava ve ark., 2001

**Tablo 6.** Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub> konusunda Türkiye’de yapılan çalışmalara ait özet bilgileri

Ürün Adı	Çalışmanın Yapıldığı Ülke Adı ve Yılı	Örnek Sayısı	Aflatoksin M <sub>1</sub> Tespit Edilen Örnek Sayısı ve Yüzde Oranı	Minimum ve Maksimum Seviyeler (ng/kg yada ng/l, ppt)	Kaynak
SÜT	Türkiye-Ankara	150	-	-	Demirer, 1973.
SÜT	Türkiye-Van 1994	90	79 (% 87.77)	12.5-123.6	Bakırcı, 2001
SÜT	Türkiye-İstanbul 1999-2000	87	69(% 79.3)	7-567	Özmenteşe, 2002
SÜT	Türkiye-Ankara 2001	48	34 (% 70.83)	10-817	Akdemir ve Altıntaş, 2004
SÜT	Türkiye-İstanbul 2001	67	61 (% 91.04)	10-161	Bostan ve ark., 2005
SÜT	Türkiye-Kayseri 2002	90	81 (%90)	5- >80	Mavuş, 2003
SÜT TOZU	Türkiye-Ankara 1973	24	-	-	Demirer, 1973
SÜT TOZU	Türkiye-İstanbul 1999-2000	1	1 (%100)	21	Özmenteşe, 2002
TEREYAĞI	Türkiye-Ankara 1973	22	-	-	Demirer, 1973
TEREYAĞI	Türkiye-İstanbul 2001	64	52 (% 81)	10-2200	Ayçiçek ve ark., 2002
PEYNİR	Türkiye-Ankara 1973	102	-	-	Demirer, 1973
PEYNİR	Türkiye- Ankara,Mardin 1999	150	-	-	Kardeş, 2000
PEYNİR	Türkiye-İstanbul 1999-2000	15	15 (% 100)	16-713	Özmenteşe, 2002
PEYNİR	Türkiye-Bursa 1999-2000	125	86 (% 68.8)	10-740	Günşen ve Büyükyörük, 2003
PEYNİR	Türkiye-İstanbul 2001	183	121 (% 65)	40-4890	Ayçiçek ve ark., 2002
PEYNİR	Türkiye-Bursa 2001	110	101 (% 91.8)	10-200	Seyrek, 2001
PEYNİR	Türkiye-Bursa 2001-2002	200 (Beyaz Peynir)	10 (% 5)	100-600	Yaroğlu ve ark., 2004

**Tablo 6'nın devamı** Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub> konusunda Türkiye'de yapılan çalışmalara ait özet bilgiler

PEYNİR	Türkiye-Bursa 2001-2002	200 (Kaşar Peyniri)	12 (% 6)	120-800	Yaroğlu ve ark., 2004
PEYNİR	Türkiye-Bursa 2001-2002	200 (Eritme Peyniri)	8 (% 4)	100-700	Yaroğlu ve ark., 2004
PEYNİR	Türkiye- Van/Hakkari 2002-2003	60 (Otlu Peynir)	52 (% 86.7)	160-7260	Tekinşen ve Tekinşen, 2005
PEYNİR	Türkiye- Van/Hakkari 2002-2003	50 (Beyaz Peynir)	31 (% 62)	100-5200	Tekinşen ve Tekinşen, 2005
PEYNİR	Türkiye-Ankara 2001-2002	100 (Beyaz Peynir)	82 (% 82)	50-800	Sarımehmet- oğlu ve ark., 2004
PEYNİR	Türkiye-Ankara 2001-2002	100 (Tulum Peyniri)	81 (% 81)	50- >800	Sarımehmetoğlu ve ark., 2004
PEYNİR	Türkiye-Ankara 2001-2002	100 (Kaşar Peyniri)	85 (% 85)	50- >800	Sarımehmetoğlu ve ark., 2004
PEYNİR	Türkiye-Ankara 2001-2002	100 (Eritme Peyniri)	79 (% 79)	50-650	Sarımehmetoğlu ve ark., 2004
YOĞURT	Türkiye-Ankara 1973	21	-	-	Demirer, 1973
YOĞURT	Türkiye-İstanbul 1999-2000	15	15 (% 100)	14-1041	Özmenteşe, 2002
YOĞURT	Türkiye-Ankara 2002	132	49 (% 32.12)	50-800	Sarımehmetoğlu ve ark., 2003
AYRAN	Türkiye-Ankara 1973	15	-	-	Demirer, 1973

#### 2.2.4. Gıda Maddelerinde Küflenmenin Önlenmesi ve Aflatoksin Detoksifikasyonu

Mikotoksikozis olaylarından korunmanın en etkin yöntemi, hayvan ve insan gıdalarında küflenmenin önüne geçilmesi veya küflenmiş gıdaların insanlar ve hayvanlar tarafından tüketimlerinin önlenmesidir (Kardeş, 2000; Oruç, 2003).

Bitkisel ürünlerde hasat öncesinde ve hasat esnasında; küf üremesi ve toksin sentezine dirençli tarım ürünü yetiştirilmesi, modern üretim yöntemlerinin kullanılması, tarım zararlıları ile mücadele edilmesi, ürünün tam olgunluğa ulaştığında hasat edilmesi, hasat sırasında hasar meydana getirilmemesi, yeterince kurutulması, yağmur ve kırağıdan korumak için tarladan çabuk uzaklaştırılması gibi tedbirlerle küf üremesi engellenebilir (Kardeş, 2000; Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002; Williams ve ark., 2004).

Hasat edilen ürünün nakledilmesi ve depolanmasında, nakil araçlarının temiz ve rutubetsiz olması, küflü ürünlerin depoya alınmaması, deponun temiz olması, deponun ve ürünün böcek ve küflere karşı ilaçlanması, özellikle düşük ortam rutubeti (% 65'in altında), düşük sıcaklık (20 °C'nin altında), düşük ürün rutubeti (Yer fıstığı, fındık gibi yağlı tohumlarda % 9'dan az, tahıllarda % 12'den az) gibi hususlara dikkat edilmesi küflenmenin önüne geçmede yararlı olmaktadır. Depoda bulunan tahıllar ve yemler ise laktik asit, asetik asit, sorbik asit, benzoik asit, propiyonik asit ve tuzları, bakır sülfat gibi kimyasal maddelerle koruyucu uygulamalar yapılarak küflenmeye karşı korunabilir. Bu maddelerden en çok kullanılanları propiyonik asitin sodyum ve kalsiyum tuzları ile asetik asit, sorbik asit ve amonyum propiyonat içeren piyasa müstahzarlarıdır (Kardeş, 2000; Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2001; 2005; Williams ve ark., 2004).

Gıda maddelerinde aflatoksin oluşumu ve konsantrasyonu yukarıda bahsettiğimiz şekilde iyi bir hasat, işleme ve depolanma ile azaltılabilir. Eğer koruyucu önlemler alınmazsa veya toksin oluşumunun önüne geçilemezse gıdalardaki aflatoksin düzeyleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik uygulamalarla da azaltılabilir (Van Egmond, 1983). Fiziksel işlemlere ısı, mikrodalga, gamma ışınları, X-ray, ultraviole lambalar, adsorbsiyon örnek verilebilir. Aflatoksinleri azaltmada en başarılı kimyasal yöntem amoniasyondur. Biyolojik yöntem olarak da bakterilerden faydalanılır (Smith ve ark., 1994; Tunail, 2000; Kaya, 2001; Anonim, 2002; Creppy, 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002).



Aflatoksinle bulaşık gıdaların detoksifikasyonu maksadıyla bugüne kadar birçok yöntem denenmiştir. Aflatoksinlerin ısıya olan dirençlerinden dolayı ısı uygulamaları sınırlı oranda etkili olmaktadır. Pastörizasyon, buharla muamele etme, fırında pişirme, sterilizasyon gibi işlemlerle aflatoksinlerin parçalanmaları mümkün değildir. Sütte bulunan aflatoksin M<sub>1</sub>'in pastörizasyon ve sterilizasyon ile yıkımlanması olanaksızdır. Ancak yer fıstığı tanelerinin 160 °C'de 30 dakika süreyle kavrulma işlemiyle aflatoksin seviyesinde % 90 azalma olmaktadır. Tahıllar ve yem tanelerinin ince yayılmış bir halde iki gün süresince güneş ışığında tutulmaları aflatoksin seviyesini büyük oranda azaltmaktadır. Su, tuz çözeltileri ve organik çözücülerle (etanol, propanol gibi) aflatoksinlerin detoksifikasyonu çalışmaları arzulanan seviyede iyi sonuçlar vermemiştir. Fıstık, fındık, mısır, kuru kayısı, kuru incir gibi ürünlerde, ultra viole ışık altında mavi-yeşil renk verenlerin seçilmek suretiyle elimine edilmesi ile aflatoksin miktarı büyük oranda (% 50) azaltılabilmektedir. İyonize ışınlarla da aflatoksinler detoksifiye edilebilmektedir, fakat yüksek dozlara gereksinim olması nedeni ile Dünya Sağlık Teşkilatı (World Health Organisation) tarafından sakıncalı görülmektedir (Tunail, 2000; Kaya, 2001).

Çok sayıda kimyasal madde aflatoksinleri inaktive etme özelliğine sahiptir. Aflatoksinlerin yapısındaki lakton bağı alkalilere karşı duyarlıdır. Oksidan maddelere karşı da aflatoksinler dayanıksızdır. Aflatoksinlere karşı en etkili kimyasal maddeler amonyak, klorür gazı, hidrojenperoksit, sodyumhipoklorit, sodyumbisülfid ve ozondur. Bu kimyasal maddelerin kullanılması ile aflatoksinlerin detoksifikasyonu sağlanabilmesine rağmen, bunların kullanımı ile gıda ve yemlerde istenmeyen değişiklikler meydana geldiğinden ve bazı gıdaların besin değeri azaldığından, özellikle gıda sektöründe kullanılmaları uygun değildir. Yemlerin detoksifikasyonunda bir dereceye kadar alkali uygulamasından yararlanılabilmektedir. Bu maksatla yem maddelerine amonyak gazı verilmesi (amoniasyon) en fazla kullanılan yöntemdir. Fakat bunun da yemde keskin bir koku bırakması, yemin rutubet çekmesine neden olması ve mısırdaki renk değişikliğine neden olması gibi olumsuzlukları vardır. Yemlere hidrat sodyum kalsiyum alüminyum silikat, amonyum karbonat, bentonit, polivinilpirolidon, kolestimamin katılması da mikotoksinleri bağlar ve bağırsaktan emilimlerini azaltır. En çok kullanılan hidrat sodyum kalsiyum alüminyum silikat yemlere 5-10 g/kg dozda katılarak aflatoksinlerin emilimini ve dolayısı ile sütle çıkarılan aflatoksin miktarını

önemli oranda (% 50) azaltır (Kan, 1994; Smith ve ark., 1994; Tunail, 2000; Kaya, 2001; Rao ve Chopra, 2001; Whitlow ve Hagler, 2001; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Aflatoksinlerin biyolojik olarak detoksifikasyonunda, bazı mikroorganizmaların aflatoksinleri metabolize edip daha az toksik bileşiklere dönüştürdükleri bilinmektedir. *Aspergillus niger* grubundan bazı küfler aflatoksin B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'i daha az toksik olan aflatoksin B<sub>2a</sub> ve G<sub>2a</sub>'ya çevirebilirler. Bakteriler üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda *Flavobacterium aurantiacum*'un aflatoksinleri adsorbsiyon ile detoksifiye etme özelliğine sahip olduğu bulunmuştur. *Flavobacterium aurantiacum* kullanılarak tahıllar, yer fıstığı ve sütte bulunan aflatoksin 20 °C' de 12 saat sonunda detoksifiye edilmiştir. Fakat bakterinin adsorbe ettiği aflatoksinin, bakterinin ölmesi sonucunda yapısında herhangi bir değişiklik olmadan tekrar ortama salınması ve uygulamadan kaynaklanan zorluklar nedeni ile biyolojik detoksifikasyon kullanılamamakta ve bu konuda çalışmalar devam etmektedir (Ciegler ve ark., 1966; Lillehoj ve ark., 1967; Smiley ve Draughon, 2000; Tunail, 2000; Özkaya ve Temiz, 2003). Son yıllarda yapılan çalışmalarda da laktik asit bakterileri (*Lactobacillus ssp.*) ile aflatoksinin uzaklaştırılmasından olumlu sonuçlar alındığı bildirilmektedir (Özkaya ve Temiz, 2003; Haskard ve ark., 2001; Zinedine ve ark., 2005).

### 3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma, Gıda Kontrol ve Araştırma Merkezi Başkanlığı'nın (Gemlik) sorumluluğuna verilen, Marmara Bölgesinde konuşlu bulunan, Türk Silahlı kuvvetlerine ait birlik ve kurumlarından, 2006 yılı Mart, Nisan ve Mayıs aylarında temin edilen, satınalma aşamasındaki çeşitli markalara ait süt ve süt ürünleri ile Samsun'da tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinde Aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yapıldı. Bu amaçla, süt, tereyağı, beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirlerinin her birinden 50'şer adet olmak üzere toplam 250 adet örnek materyal olarak kullanıldı.

Örneklerde aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı ve seviyeleri ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile Ridascreen Aflatoksin M<sub>1</sub> (r-biopharm, R 1101) test kiti kullanılarak belirlendi. Kullanılan test kitinin ölçme limiti 5 ppt'dir. Örneklerle göre duyarlılık limiti süt için 5 ppt, tereyağı için 25 ppt, peynirler için 50 ppt'dir. Geri alma oranı süt ve tereyağı için ortalama % 95, peynir örnekleri için ortalama % 102'dir (Ridascreen Aflatoxin M<sub>1</sub>, 2006). Tereyağı örneklerinin aflatoksin M<sub>1</sub> analizinden önce temizlenmesi maksadıyla Rida Aflatoksin Kolon (r-biopharm, R 5001 / R 5002) kullanıldı. Kullanılan kolonun geri alma oranı ortalama %90'dır (Rida Aflatoxin Column, 2006).

#### 3.1. Elisa Testinin Prensibi

Testin ana prensibi antijen-antikor reaksiyonuna dayanmaktadır. Mikrotiter pleyttteki kuyucuklar aflatoksin M<sub>1</sub>'e özel antikorlarla kaplanmıştır. Aflatoksin M<sub>1</sub> içeren standart solüsyonların ve örneklerin kuyucuklara ilavesi ile aflatoksin M<sub>1</sub> konsantrasyonuna karşı antikor bağlı siteler nispeten tutulur. Geride kalan bağlanmamış siteler bir sonraki aşamada enzim konjugat tarafından bağlanır. Bağlanmamış enzim konjugatlar yıkama işlemi ile uzaklaştırılır. Substrat (üre peroksidaz) ve kromojenin (tetrametilbenzidin) kuyucuklara ilave edilmesi ile kromojen, bağlı enzim konjugatı mavi bir renge dönüştürür. Stop (sülfirik asit) solüsyonu ilavesi reaksiyonu durdurur ve mavi rengin sarıya dönüşmesine neden olur. Sonuç olarak okunan absorbans değeri örnek içindeki aflatoksin M<sub>1</sub> konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

### 3.2. Kolondan Geçirme İşleminin Prensibi

Kolondan geçirmenin prensibi de yine antijen-antikor reaksiyonuna dayanmaktadır. Kolon, monoklonal antikorlarla kovalent olarak bağlı, bir jel süspansiyon içermektedir. Bu antikorlar aflatoksin M<sub>1</sub>'e özel antikorlardır. Örnek kolondan geçerken mevcut olan aflatoksin M<sub>1</sub> antikorlar tarafından tutulur, diğer maddeler tutulmaz. Elüent olarak kolondan geçirilen metanol, aflatoksin M<sub>1</sub>-antikor kompleksindeki antikorları denatüre ederek aflatoksin M<sub>1</sub>'in elüent içinde serbest olarak kalmasını sağlar. Kolondan geçirme işlemi sonunda alınan elüent testte kullanılır.

### 3.3. Örneklerin Hazırlanması

#### 3.3.1. Süt Örneklerinin Hazırlanması

Yağın alınması amacıyla süt, soğutmalı santrifüjde 3500 devirde, 10 °C'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi takiben tüpün üst kısmındaki yağ tabakası pastör pipeti kullanılarak uzaklaştırıldı ve yağı alınmış süt (yağsız supernant) testte direk olarak kullanıldı. Bu şekilde hazırlanan süt örnekleri için dilüsyon faktörü 1'dir.

#### 3.3.2. Tereyağı Örneklerinin Hazırlanması

Tereyağı örneklerinden stomacher torbasına 5 g alınarak 37 °C'de eritildi ve üzerine 25 ml %70'lik metanol ilave edildi. Daha sonra karışım, yağın erime noktasına kadar tekrar ısıtıldı. Eritilen karışım stomacher'de 10 dakika homojenize edildikten sonra soğutmalı santrifüjde 3000 devirde, 10 °C'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj işlemi takiben elde edilen süspansiyon filtre kağıdından (Whatman No:1, 125 mm) filtre edildi. Elde edilen ekstrakt daha sonra kolondan geçirildi.

Kolondan geçirme işlemi; yukarıdaki şekilde hazırlanan ekstraktan 5 ml alındı, üzerine 15 ml distile su ve 2 ml PBS Buffer ilave edildi. Önce kolon 2 ml distile su ile yıkanarak ekalibre edildi. Ekalibre edilen kolona 1 ml numune ekstraktı dolduruldu. 20 ml'lik enjektör kolonun üstüne takıldı ve numune haznesi olarak kullanıldı. Enjektörün pompa kısmı çıkartılarak içine kalan numune ekstraktı dolduruldu. Pompa kısmı tekrar takılarak numune ekstraktı kolondan saniyede 1 damla akış hızı olacak şekilde, yavaşça ve devamlı olarak geçirildi. Kolondan geçen solüsyon atıldı. Daha sonra kolon 10 ml distile su ile yıkandı ve geçen solüsyon yine atıldı. Kolonda kalan bütün bufferın

uzaklaştırılması maksadıyla kolondan birkaç ml hava geçirildi. Bu yıkama işleminden sonra kolonun altına ağzı kapanabilir ependorf tüpü yerleştirildi ve kolon 0.5 ml metanol (%100) ile elüe edildi. Kolonda tutulan aflatoksin'in tamamen elüe edilebilmesi maksadıyla, metanol yavaş bir şekilde (saniyede 1 damla) geçirildi ve alınan elüe tekrar kolondan geçirildi. Daha sonra kolondan iyice hava geçirilerek tüm elüent alındı. Elüentten 100 µl alınarak 900 µl Buffer 1 ile karıştırıldı ve bu içerikten 100 µl alınarak analizde kullanıldı. Bu şekilde hazırlanan tereyağı örnekleri için dilüsyon faktörü 5'dir.

### **3.3.3. Peynir Örneklerinin Hazırlanması**

Peynir örnekleri homojenize edilip 2 g tartılarak stomacher torbasına alındı, üzerine 40 ml diklorometan ilave edildi ve stomacher'de 2 dakika homojenize edildi. Bu şekilde hazırlanan süspansiyon filtre kağıdından (Whatman filtre No:1, 125 mm) filtre edildi. Elde edilen ekstraktan deney tüpüne 10 ml alınarak 60 °C'de zayıf nitrojen gazı altında tüpün dibinde yağlı tabaka kalıncaya kadar buharlaştırıldı. Yağlı kalıntı bulunan deney tüpüne sırasıyla, 0.5 ml metanol, 0.5 ml PBS buffer ve 1 ml heptan ilave edilerek iyi bir şekilde karıştırıldı. Karışım soğutmalı santrifüjde 2700 devirde, 15 °C'de, 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üstteki heptan tabakası alındı. Metanolik sıvı fazla heptan tabakası arasındaki çok ince faz pastör pipeti kullanılarak alındı. Aşağıda kalan metanolik sıvı fazdan 100 µl alındı, 400 µl Buffer 1 ilavesi ile %10'luk metanol içeriği haline getirildi ve bu içerikten 100 µl alınarak analizde kullanıldı. Bu şekilde hazırlanan peynir örnekleri için dilüsyon faktörü 10'dur.

## **3.4. Elisa Testi'nin Uygulanması**

### **3.4.1. Aflatoksin M<sub>1</sub> Enzim Konjugat**

Aflatoksin M<sub>1</sub> konjugat konsantre halde olduğu için, kullanılmadan önce sulandırıldı. Bu amaçla, enzim konjugatı buffer 2 ile 1/11 oranında dilüe edildi. Testte her bir kuyucuğa dilüe edilmiş konjugattan 100 µl ilave edildi.

### **3.4.2. Yıkama Solüsyonu**

Bir paket yıkama tuzu 1 litre distile su içinde eritilerek yıkama solüsyonu elde edildi. Hazırlanan yıkama solüsyonu 4 °C'de muhafaza edildi.

### 3.4.3. Antibody Kaplanmış Mikrotiter Stripler

Mikrotiter striplerin bulunduğu alüminyum torba yapıştırılan kısmının gerisinden kesildi. Gereken sayıda kuyucuk ve pleyt dışarı çıkarıldı. Kullanılmayan kuyucuklar nem tutucu ile birlikte alüminyum torbaya konarak ağzı iyice kapatıldı ve buzdolabında (2-8 °C'de) saklanmaya devam edildi.

### 3.4.4. Standart Solüsyonları

Standart solüsyonların aflatoksin M<sub>1</sub> konsantrasyonları 0, 5, 10, 20, 40 ve 80 ppt'dir.

### 3.4.5. Test Prosedürü

1. Standart solüsyonları ile hazırlanan süt, tereyağı ve peynir örnekleri için yeterli sayıda mikrotiter kuyucuk pleyte yerleştirildi.
2. Standart solüsyonların ve hazırlanan örneklerin her birinden 100 µl alındı ve kuyucuklara ilave edildi. Oda ısısında, karanlık ortamda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon sonunda pleyt otomatik yıkayıcıda (B<sub>10</sub>-Tek Instruments, Inc., EL X 50) iki kez yıkatıldı.
4. Her bir kuyucuğa 100 µl dilüe edilmiş enzim konjugat ilave edildi. Oda ısısında, karanlık ortamda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonunda pleyt otomatik yıkayıcıda üç kez yıkatıldı.
6. Her bir kuyucuğa sırayla 50 µl substrat ve 50 µl kromojen ilave edilerek iyice karıştırıldı ve oda ısısında, karanlık ortamda 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
7. Her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu konularak iyice karıştırıldı ve absorbans değeri ELISA okuyucuda (B<sub>10</sub>-Tek Instruments, Inc., EL X 800) 450 nm'de okutuldu. Okumanın 60 dakika içerisinde yapılmasına dikkat edildi.

### 3.5. Sonuçların Değerlendirilmesi

Standart solüsyonlar ve örnekler için bulunan absorbans değerlerinin ortalama değerlerinin birinci standart'ın (0 standart) absorbans değerine bölünmesi ve 100 ile çarpılması, standartlar için hesaplanan değerlerin semilogaritmik grafik kâğıdı üzerinde ng/l veya ng/kg cinsinden aflatoksin M<sub>1</sub> konsantrasyonuna karşı koordinatlar sistemine

girilmesi, elde edilen konsantrasyonların süt, tereyağı ve peynir örneklere için farklı olan dilüsyon faktörü ile çarpılması işlemleri ELISA okuyucusu tarafından otomatik olarak yapılmakta ve sonuçları ng/l (ppt) veya ng/kg (ppt) olarak verilmektedir.

#### 4. BULGULAR

Süt örneklerinde tespit edilen aflatoksin M<sub>1</sub> miktarları Tablo 7’de gösterilmiştir. Tablo 7’de görüldüğü üzere aflatoksin M<sub>1</sub>, 50 adet süt örneğinin 35’inde (% 70) saptanırken (> 5 ppt), 15’inde (% 30) saptanamamıştır. Aflatoksin M<sub>1</sub> bulunan örneklerin 4’ü (% 8) Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (1997) ve Süt Teknik Şartnamesi’nde (2004) belirtilen maksimum sınır düzeyinin üzerinde (>50 ppt) tespit edilmiştir.

**Tablo 7.** Süt örneklerine ait aflatoksin M<sub>1</sub> miktarı dağılımları

<b>Aflatoksin M<sub>1</sub> Miktarı (ppt=ng/l)</b>	<b>Örnek Sayısı (n=50)</b>	<b>Yüzdesi (%)</b>
< 5 *	15	30
5 - 50	31	62
> 50	4	8
<b>Toplam (n=250)</b>	<b>4</b>	<b>1.6</b>

\* Tespit edilemeyen miktar

Tereyağı örneklerinde tespit edilen aflatoksin M<sub>1</sub> miktarları Tablo 8’de gösterilmiştir. Tablo 8’de gösterildiği üzere, analiz edilen 50 adet tereyağı örneğinin 14’ünde (% 28) > 25 ppt düzeyinde aflatoksin M<sub>1</sub> saptanırken, 36’sında (% 72) saptanamamıştır. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ’de (1997) tereyağı için herhangi bir üst sınır belirtilmemiştir. Aflatoksin M<sub>1</sub> saptanan örneklerin 4’ünde (% 8) 50 ppt’yi aşan seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilmiştir.



**Tablo 8.** Tereyağı örneklerine ait aflatoksin M<sub>1</sub> miktarı dağılımları

Aflatoksin M <sub>1</sub> Miktarı (ppt=ng/kg)	Örnek Sayısı (n=50)	Yüzdesi (%)
< 25 *	36	72
25 – 50	10	20
> 50	4	8
<b>Toplam (n=250)</b>	<b>4</b>	<b>1.6</b>

\* Tespit edilemeyen miktar

Analiz yapılan 50 adet beyaz peynir örneğinin 36'sında (% 72) >50 ppt düzeyinde aflatoksin M<sub>1</sub> saptanırken, 14'ünde (% 28'inde) saptanamamıştır (Tablo 9). Aflatoksin M<sub>1</sub> bulunan örneklerin 2'sinde (% 4) Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ'de (1997) ve Beyaz Peynir Teknik Şartnamesi'nde (2005) belirtilen maksimum düzey olan 250 ppt'yi aşan seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilmiştir.

**Tablo 9.** Beyaz peynir örneklerine ait aflatoksin M<sub>1</sub> miktarı dağılımları

Aflatoksin M <sub>1</sub> Miktarı (ppt=ng/kg)	Örnek Sayısı (n= 50)	Yüzdesi (%)
< 50 *	14	28
50 – 250	34	68
> 250	2	4
<b>Toplam (n=250)</b>	<b>2</b>	<b>0.8</b>

\* Tespit edilemeyen miktar

Analizi yapılan 50 adet kaşar peyniri örneğinin 37'sinde (% 74) >50 ppt düzeyinde aflatoksin M<sub>1</sub> saptanırken, 13'ünde (% 26) saptanamamıştır (Tablo 10). Aflatoksin M<sub>1</sub> bulunan örneklerin 5'i (% 10) Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ'de (1997) ve Kaşar Peyniri Teknik Şartnamesi'nde (2005) belirtilen maksimum üst sınır olan 250 ppt'yi aşan seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilmiştir.

**Tablo 10.** Kaşar peyniri örneklerine ait aflatoksin M<sub>1</sub> miktarı dağılımları

Aflatoksin M <sub>1</sub> Miktarı (ppt=ng/kg)	Örnek Sayısı (n= 50)	Yüzdesi (%)
< 50 *	13	26
50 – 250	32	64
> 250	5	10
<b>Toplam (n=250)</b>	<b>5</b>	<b>2.0</b>

\* Tespit edilemeyen miktar

Analizi yapılan 50 adet eritme peyniri örneğinin 29'unda (% 58) > 50 ppt düzeyinde aflatoksin M<sub>1</sub> saptanırken, 21'inde (% 42) saptanamamıştır. Aflatoksin M<sub>1</sub> bulunan örneklerin 1'inde (% 2) Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ'de (1997) ve Eritme Peyniri Teknik Şartnamesi'nde (2005) belirtilen maksimum sınırın (250 ppt) üzerinde saptanmıştır (Tablo 11).

**Tablo 11.** Eritme peyniri örneklerine ait aflatoksin M<sub>1</sub> miktarı dağılımları

Aflatoksin M <sub>1</sub> Miktarı (ppt=ng/kg)	Örnek Sayısı (n= 50)	Yüzdesi (%)
< 50 *	21	42
50 – 250	28	56
> 250	1	2
<b>Toplam (n=250)</b>	<b>1</b>	<b>0.4</b>

\* Tespit edilemeyen miktar

Her birisinden 50'şer adet olmak üzere süt, tereyağı, beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirlerinden oluşan örneklerde yapılan aflatoksin M<sub>1</sub> analizi sonucunda, toplam 250 örneğin 151'inde (% 60.4) tespit edilebilir seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> saptanmış, 99 örnekte (% 39.6) ise saptanamamıştır. Aflatoksin bulunan örneklerin 12'sinde (% 4.8) Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ'de (1997) ve Teknik Şartnamelerde (İçme Sütü Teknik Şartnamesi, 2004; Beyaz Peynir Teknik şartnamesi, 2005; Kaşar Peyniri Teknik Şartnamesi, 2005; Eritme Peyniri teknik Şartnamesi, 2005) belirtilen maksimum düzeylerini aşan seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilmiştir (Tablo 12).

**Tablo 12.** Örnek türlerine göre özet analiz bilgileri.

Örnek Adı	Örnek Sayısı	Aflatoksin M <sub>1</sub> Tespit Edilen		Aflatoksin M <sub>1</sub> Tespit Edilemeyen		Teknik Şartname Üst Sınır Değerlerini Aşan	
		Örnek Sayısı	Yüzdesi (%)	Örnek Sayısı	Yüzdesi (%)	Örnek Sayısı	Yüzdesi (%)
Süt	50	35	70	15	30	4	8
Tereyağı	50	14	28	36	72	-	-
Beyaz Peynir	50	36	72	14	28	2	4
Kaşar Peyniri	50	37	74	13	26	5	10
Eritme Peyniri	50	29	58	21	42	1	2
<b>Toplam</b>	<b>250</b>	<b>151</b>	<b>60.4</b>	<b>99</b>	<b>39.6</b>	<b>12</b>	<b>4.8</b>

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışma bulguları çerçevesinde, analiz edilen toplam 250 örneğin 151'inde (% 60.4) aflatoksin M<sub>1</sub> saptanırken, 99 örnekte (% 39.6) saptanamamıştır. Örnek dağılımı incelendiğinde; 50 süt örneğinin 35'inde (% 70) aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilmiş olup, 15 (% 30) örnekte ise saptanamamıştır. Aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyleri 31 (% 62) sütte 5 ppt ile 50 ppt arasında belirlenmiş olup, 4 (% 8) sütte ise maksimum yasal sınırın (50 ppt) üzerinde bulunmuştur. Maksimum düzeyi aşan örneklerdeki aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin 52-59 ppt arasında değiştiği görülmektedir. Süt örneklerine genel olarak bakıldığında, 50 örneğin 31'inde (% 62) 5 ppt ile 50 ppt düzeylerinde saptanmış olması, genel olarak sütlerdeki aflatoksin M<sub>1</sub> seviyelerinin düşük fakat bulunma sıklığının yüksek olduğunu göstermektedir. Analizi yapılan süt örnekleri Marmara ve Ege bölgesi ile Samsun orjinli sütler olup, sütler genelde toplanma tanklarında depolanmaktadır. Sütlerin tanklarda depolanmaları sırasında aflatoksin M<sub>1</sub> içeren sütler aflatoksin M<sub>1</sub> içermeyen sütleri kontamine eder. Aynı zamanda aflatoksin M<sub>1</sub> içermeyen sütler toplama merkezlerindeki depolar ile süt işleme merkezlerindeki tanklarda aflatoksin M<sub>1</sub> içeren sütleri dilüe ederek mevcut olası aflatoksin M<sub>1</sub> miktarını düşürür. Bu çalışma bulguları sonuçları, bu teoriyi desteklemektedir.

Analizi yapılan 50 tereyağı örneğinin 14 (% 28)'ünde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilmiş olup, 36 (% 72) örnekte ise saptanamamıştır. Aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilen 14 (% 28) örneğin 10 (% 20)'unda 25 ppt ile 50 ppt düzeylerinde, 4 (% 8) örnekte ise >50 ppt düzeylerinde aflatoksin M<sub>1</sub> saptanmıştır. Dört tereyağı örneğinde aflatoksin M<sub>1</sub> miktarları 65 ile 130 ppt arasında saptanmıştır. Toplam 50 örneğin 4 (% 8)'ünde 50 ppt'yi aşan miktarlarda aflatoksin M<sub>1</sub> saptanmış olması düşük düzeyde olduğu izlenimi vermekle beraber, söz konusu tereyağı olduğu için bu oran yüksektir. Çünkü, tereyağının yapım aşamaları sırasında süt içerisinde bulunabilecek olası aflatoksin M<sub>1</sub>'in büyük bir kısmı (% 80'den fazlasının) yağsız süt kısmında kalmakta, çok az bir oranda (% 10) yağa geçmektedir. Dolayısıyla % 8'lik oran tereyağı için yüksek bir orandır.

Tereyağında aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı ve düzeyleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Tereyağının üretim aşamasında, süt içerisinde bulunabilen aflatoksin M<sub>1</sub> az bir oranda (% 10) kremaya ve tereyağına geçmekte, büyük oranı ise (% 80) kazeine

bağlanma özelliğinden dolayı süt içinde kalmaktadır. Bu nedenle genel olarak tereyağı'nın aflatoksin yönünden risk grubu gıdalar arasında yer almadığı düşünülmektedir. Fakat tereyağlarında yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalarda, tereyağında aflatoksin  $M_1$ 'in insan sağlığını tehdit edebilecek düzeylerde bulunabildiğini görmekteyiz. Ülkemizde yapılan bir çalışmada Demirer (1973) 1973 yılında süt ve süt ürünlerinde yaptığı çalışmasında analiz ettikleri toplam 22 tereyağı örneğinin hiçbirisinde aflatoksin  $M_1$  saptayamazken, Ayçiçek ve ark. (2002) 2001 yılında İstanbul bölgesinde, beyaz peynir ve tereyağı örneklerinde yaptıkları çalışmalarında, 64 tereyağı örneğinin 52'sinde (% 81) 10 ppt ile 2200 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin  $M_1$  tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada tereyağı örneklerinin 20'sinde (% 31.25') bulunan aflatoksin  $M_1$  değerlerini >50 ppt düzeyinde saptamışlardır. Bildirilen bu çalışma sonucunda elde edilen aflatoksin  $M_1$ 'in tereyağlarında bulunma oranı, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz % 28'lik sonuca göre daha yüksektir. Aflatoksin  $M_1$ 'in tereyağında bulunma miktarı bakımından ise 2002 ile 2003 yıllarında yaptıkları çalışmanın sonuçları bizim bulduğumuz sonuçlara benzerlik gösterse de, 2001 yılında yaptıkları çalışmada 20 örnekte (% 31.25) bulunan 50 ppt'yi aşan değerler bizim sonuçlarımıza göre çok daha yüksek seviyelerdedir.

Genel olarak analiz edilen toplam 150 peynir örneğinin 102'sinde (%68) aflatoksin  $M_1$  saptanırken, 48 (%32) örnekte saptanmamıştır. Aflatoksin  $M_1$  beyaz, kaşar ve eritme peynirlerinde sırasıyla 36, 37 ve 29 örnekte saptanmıştır. Bu durum bize bu toksinin analiz edilen peynir çeşitlerinde yaygın olarak bulunduğunu göstermektedir. Türk Gıda Kodeksinde (1997) peynirlerde izin verilen maksimum aflatoksin  $M_1$  miktarı 250 ppt olarak belirlenmiştir. Bu açıdan örnekler değerlendirildiğinde, 2 beyaz peynir (260 ppt-300 ppt düzeylerinde), 5 kaşar peyniri ( 260-489 ppt düzeylerinde) ve 1 eritme peyniri örneği (301 ppt) olmak üzere toplam 8 örnekte >250 ppt düzeyinde aflatoksin  $M_1$  tespit edilmiştir.

Peynir türlerinde aflatoksin  $M_1$ 'in bulunma oranının süt örneklerine göre daha yüksek olması aflatoksin  $M_1$ 'in kazeine olan ilgisinden kaynaklanmaktadır (Wiseman ve Marth, 1983; Galvano ve ark., 1996). Peynirlerin içerdiği kazein oranı süte oranla çok daha yüksektir. Nitekim analiz edilen peynir örneklerinde aflatoksin  $M_1$ 'in bulunma oranı ile düzeyleri tereyağı örneklerine göre de çok daha yüksek olması bu görüşü desteklemektedir.

Peynir üretimi sırasında aflatoksin  $M_1$ 'in dağılımı üzerine yapılan birçok araştırmada, peynir imalatına farklı süt kirlilik seviyeleri ile başlanmasından dolayı, aflatoksin  $M_1$ 'in teleme ile peynir altı suyundaki seviyelerinin farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir. Bazı yazarlar yaptıkları çalışmalarda sütte bulunan aflatoksin  $M_1$ 'in yarısının veya yarısından daha fazlasının peynir altı suyunda kaldığını gözlemlemişlerdir. Sütte bulunan aflatoksin  $M_1$ 'in Grand ve Carlson (1971) % 50'sinin, Stubblefield ve Shannon (1974) % 50'sinin, Lopez ve ark. (2001) % 60'ının, Wiseman ve Marth (1983) % 61'inin, Blanco ve ark. (1988a) % 66'sının, Stoloff ve ark. (1975) % 86'sının, Purchase ve ark. (1972) % 100'ünün peynir altı suyunda kaldığını bildirmişlerdir. Bu görüşün aksine bazı yazarlar da sütte bulunan aflatoksin  $M_1$ 'in çoğunun telemeye geçtiğini bildirmişlerdir. Bu yazarlardan Govaris ve ark. (2001) % 54- % 60 oranında, Marshaly ve ark. (1986) % 66- % 72 oranında, El Deeb ve ark. (1992) % 73-% 77 oranında, McKinney ve ark. (1973) % 80 oranında, Allcroft ve Carnaghan (1963) % 100 oranında telemeye geçtiğini bildirmişlerdir. Bu farklılıklar ekstraksiyon tekniğine, kullanılan metoda, süt kirliliğinin tipine ve derecesine, süt kalitesindeki farklılıklara, bulunan sonuçları yorumlamadaki farklılıklara, teleme ve peynir altı suyunun miktarları ile peynir üretim tekniğindeki farklılıklardan da kaynaklanabilir (Blanco ve ark., 1988b; Galvano ve ark., 1996; Lopez ve ark., 2001).

Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin  $M_1$  miktarı mevsimsel ve bölgesel (coğrafi) farklılıklardan etkilenmektedir. Taze ve yeşil ot tüketim miktarının arttığı, kesif yem tüketim miktarının azaldığı ilkbahar ve yaz aylarında süt ve süt ürünlerinde aflatoksin  $M_1$  miktarı düşerken, kesif yem tüketiminin arttığı kış aylarında aflatoksin  $M_1$  miktarı yükselmektedir (Galvano ve ark., 1996; Bakırcı, 1995, 2001; Sarımehtemoğlu ve ark., 2004). Bu çalışmada da, analiz edilen son 25 süt örneği Nisan ve Mayıs aylarında üretilmiş olup, bu aylarda analiz edilen süt örneklerinde aflatoksin  $M_1$  düzeyi düşük ve/veya negatif bulunmuştur. Bu sonuç analiz edilen tereyağı örneklerinde de görülmektedir. Peynirlerde ise süt ve tereyağında görülen mevsimsel farklılığın tersi gözlenmiştir. Bu görüşün aksine, Markaki ve Melissari (1997) ise süt ve süt ürünlerinde bulunabilecek aflatoksin  $M_1$  miktarının mevsimsel değişikliklerle ilgisi olmadığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada incelenen tüm örneklerin sonuçlarına baktığımızda, toplam 250 örneğin 151'inde (% 60.4) aflatoksin M<sub>1</sub> saptandığı, 99'unda (% 39.6) ise saptanamadığı görülmüştür. Toplam 12 (% 4.8) örnek ise Türk Gıda Kodeksinde (1997) bulunmasına izin verilen maksimum aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyinden yüksek bulunmuştur. Süt, beyaz peynir ve eritme peyniri örneklerinde aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma oranı yüksek olmasına karşın, bulunma seviyeleri ise düşüktür. Kaşar peyniri örneklerinde ise bulunma sıklığının yüksek olması ile birlikte özellikle iki örnekte aflatoksin M<sub>1</sub> buluma düzeyi yüksektir.

Ülkemizde ve dünyada süt ve süt ürünlerinde aflatoksin varlığı ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların birinde Finoli ve Vecchio (2003), İtalya'nın Sicilya şehrinde, 2001 yılı Kasım ayı ile 2002 Haziran ayları arasında analiz ettikleri 40 süt örneğinin 12 sinde (% 30) 4 ile 23 ppt düzeylerinde, 30 peynir örneğinin ise 4'ünde (% 13.3) 21 ile 101 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub>'i tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Süt ve peynir örneklerinin hiçbirisinde aflatoksin M<sub>1</sub> miktarı Avrupa Birliğinin süt ve peynir için kabul ettiği 50 ppt ve 250 ppt'lik yasal sınırları aşmamıştır. Shundo ve Sabino (2006) Brezilya'nın Sao Paulo ve Marilia şehirlerinde, 2002 ile 2003 yıllarında, 22 çiğ süt, 42 UHT süt ve 43 pastörize süt olmak üzere toplam 107 süt örneğini aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı yönünden analiz ettiklerini ve sonuç olarak, 79 süt örneğinde (% 73.8) 20 ile 260 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilen örneklerin 7'sinde (% 6.5) 50 ppt'yi aşan miktarlarda bulunmuştur. Bu çalışmada bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığının yüksek olduğu görülmektedir. Alborzi ve ark. (2005) İran'ın Shiraz şehrinde bir peynir fabrikasından elde ettikleri 48 süt, 48 UF peyniri ve 48 geleneksel peynir örneğinde yaptıkları çalışmada, süt örneklerinin % 30'unda 50 ppt'yi aşan miktarlarda aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirmişlerdir. UF peyniri örneklerinde 27 ile 137 ppt arasında değişen seviyelerde, geleneksel peynir örneklerinde ise 25 ile 88 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişler, aynı çalışmada UF peyniri ve geleneksel peynir üretiminde aflatoksin M<sub>1</sub>'in sırasıyla % 61.9 ve % 77.1 oranlarında peynir altı suyunda kaldığını bildirmişlerdir. Peynir örneklerinde tespit edilen en yüksek düzey 137 ppt olarak saptanmış ve miktarları <250 ppt düzeyinde bulunmuştur.

Pereira ve ark. (2005) Brezilya'nın Minas şehrinde 2003 yılında, çiğ ve pastörize sütlerden oluşan örneklerde yaptıkları çalışmada, 36 çiğ süt örneğinin 19'unda (% 52.8), 34 pastörize süt örneğinin ise 13'ünde (% 38.2) aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilen çiğ ve pastörize sütlerde sırasıyla 74.1 ppt ve 58.9 ppt ortalama değerler bulunmuştur. Bulunan ortalama değerler Brezilya sağlık bakanlığı tarafından belirlenen 500 ppt'lik yasal sınırın altında kalmakla birlikte genel olarak dünyada ve ülkemizde süt için kabul edilen 50 ppt'lik sınırın üstünde bir ortalama olmakta ve bizim çalışmamızda sütlerde tespit ettiğimiz sonuçlar ile farklılık göstermektedir.

Roussi ve ark. (2002), Yunanistan'da farklı süt üreticilerinden elde ettikleri çeşitli sütlerde 1999 yılı Aralık ayı ile 2000 yılı Mayıs ayları arasında birincisini, 2000 yılı Aralık ayı ile 2001 yılı Mayıs ayları arasında ikincisini olmak üzere iki çalışma yapmışlardır. İlk yıl yapılan çalışmada pastörize, UHT ve konsantre sütlerden oluşan 114 örnek ile 52 çiğ inek sütü, 52 çiğ koyun sütü ve 52 çiğ keçi sütü örneğinde aflatoksin M<sub>1</sub> seviyelerini araştırmışlardır. Pastörize, UHT ve konsantre sütlerden oluşan örneklerde aflatoksin M<sub>1</sub> sırasıyla % 85.4, % 82.3 ve % 93.3 gibi yüksek oranda bulunmuştur. 52'şer örneğin kullanıldığı çiğ inek, koyun ve keçi sütlerinde sırasıyla % 73.3, % 66.7 ve % 40'lık bulunma sıklığı elde edilmiş ve bunlardan inek ve koyun sütlerindeki bulunma sıklığı bizim elde ettiğimiz sonuçlara paralellik göstermesine karşın, keçi sütündeki bulunma sıklığı bizim çalışmamızın sonuçlarından daha düşük olmuştur. İkinci yıl tekrarlanan çalışmada, 54 pastörize süt örneği, 23 çiğ tank sütü örneği ile 55'şer çiğ inek, koyun ve keçi sütü örneklerinde aflatoksin M<sub>1</sub> analizi yapılmıştır. İkinci yıl yapılan çalışmada pastörize süt, çiğ tank sütü, çiğ inek, koyun ve keçi sütü örneklerinde sırasıyla % 79.6, % 78.3, % 64.3, % 73.3 ve % 66.7 gibi oranlarda saptanan aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma oranı, bizim yaptığımız çalışma sonucuna (%70) yakın değerlerdir. Çalışmalarında ayrıca ilk yıl analiz ettikleri 270 süt örneğinden sadece 1 çiğ inek sütü ile 2 konsantre süt örneği olmak üzere toplam 3 örnekte (% 1.1) aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyi >50 ppt olarak saptanmıştır. İkinci yıl çalışılan 242 süt örneğinden ise sadece 1 çiğ inek sütü ile 1 çiğ koyun sütü olmak üzere toplam 2 örnekte (% 0.82) >50 ppt düzeyinde saptanmıştır. Yasal sınırın üstünde bulunan örnek sayısı açısından baktığımızda, her iki yılda da çıkan sonuçlar bizim çalışmamız sonucunda süt örneklerinde bulduğumuz % 8'lik oranın altında kalmıştır.



Her iki yılda da elde edilen ortalama % 1'lik yasal sınır aşım oranı, aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma miktarı bakımından iyi bir sonuç olarak değerlendirilebilir. Araştırmacıların Yunanistan'da yaptıkları bu araştırmada saptadıkları aflatoksin miktarı bu çalışmada saptanan değerlerden daha düşük olmakla birlikte, bu çalışma sonucunda olduğu gibi süt örneklerinde aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığının yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Blanco ve ark. (1988b) İspanya'nın kuzeybatı bölgesinden elde ettikleri ticari UHT süt örneklerinde yaptıkları araştırmada, 47 süt örneğinden 14'ünde (% 29.8) 20 ile 100 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. 29 süt örneğinde (% 61.7) aflatoksin M<sub>1</sub> saptanamazken, 4 örneğin de (% 8.5) şüpheli olduğunu bildirmişlerdir. Alborzi (2004) İran'ın Shiraz şehrinde, 2003 yılında yaptığı çalışmada 624 pastörize süt örneğinin tümünde (% 100'ünde) aflatoksin M<sub>1</sub>'e rastladığını ve 111 süt örneğinde (% 17.8'inde) aflatoksin M<sub>1</sub> seviyesinin 50 ppt'nin üzerinde olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, bizim çalışma sonuçlarımızdan yüksek olmakla birlikte, aflatoksin M<sub>1</sub>'in özellikle gelişmekte olan ülkelerde ne kadar çok yaygın olarak bulunduğunu göstermesi bakımından bu çalışma önem taşımaktadır. Vesely ve Vesela (1983) Çek Cumhuriyetinde, 1980 ve 1982 yıllarında iki çalışma yapmışlardır. 1980 yılında yaptıkları çalışmalarında, 67 süt örneğinin 9'unda (% 13.43) 50 ile 100 ppt arasında aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini, 1982 yılında inceledikleri 50 süt örneğinde ise aflatoksin M<sub>1</sub>'i saptayamadıklarını bildirmişlerdir. Aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığı bakımından bu çalışmadan çıkan sonuçlar bizim çalışma sonuçlarımıza göre düşük olmasına rağmen, aflatoksin M<sub>1</sub> bulunan 9 örneğin tümü 50 ppt'lik tolerans sınırını geçmiş bulunmaktadır. Salem (2002)'in 1999 yılı Ekim ayından 2000 yılının Şubat ayına kadar Mısır'ın Assiut şehrindeki çeşitli çiftliklerden elde ettiği çiğ süt örneklerinde yaptığı çalışmasında, analiz ettiği 85 örneğin 50'sinde (% 58.8'inde) ve ≤15 ppt düzeyinde aflatoksin M<sub>1</sub>'i saptadıklarını bildirmiştir. Bu çalışma sonucunda bulunan % 58.8'lik aflatoksin M<sub>1</sub> oranı bizim çalışmamızda elde ettiğimiz % 70'lik orandan biraz düşüktür. Bu çalışmada elde edilen 15 ppt'lik en yüksek değer ve aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilen 55 örnekten sadece 16'sının 10 ppt ile 15 ppt arasındaki değerlerde olması aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma seviyesinin bizim bulduğumuz sonuçlara nazaran daha düşük olduğunu göstermektedir.

Oliveira ve ark. (2006) Brezilya'nın Sao Paulo şehrinde, 2004 yılının Temmuz ve Aralık ayları arasında yaptıkları araştırmada, 48 süt örneğinin 37'sinde (% 77.1), 11 ppt ile 251 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamız sonucunda bulduğumuz % 70'lik bulunma sıklığından bir miktar yüksek olan, bu çalışmanın % 77.1'lik sonucu aflatoksin M<sub>1</sub>'in yaygın bir şekilde bulunduğunu göstermekte, ayrıca en yüksek 251 ppt'lik bulunma seviyeside her ne kadar Brezilya'da kabul edilen 500 ppt'lik yasal sınırın altında gibi görünsede dünyada genel olarak kabul gören 50 ppt'lik değer çok üstündedir.

Bu çalışmaya benzer şekilde aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığının yüksek olduğu bir başka araştırmada Bognanno ve ark. (2006) İtalya'nın Sicilya şehrinde, 2000 yılının Temmuz ve Ekim ayları arasında, 240 koyun sütü örneğinde aflatoksin M<sub>1</sub> varlığını araştırmışlardır. HPLC (Yüksek basınçlı sıvı kromatografi) yöntemi ile analiz ettikleri 240 örneğin 194'ünde (% 81'inde) 2 ile 108 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub>'i saptamışlardır. Örneklerin sadece 3'ünde (% 1.25) maksimum tolerans limiti olan 50 ppt'yi aşan seviyede aflatoksin M<sub>1</sub> bulunmuştur. Bu sonuçlara göre aflatoksin M<sub>1</sub>'in yaygın bir şekilde bulunmasına karşın, bulunan miktarların insan sağlığını ciddi şekilde tehdit edecek seviyelerde olmadığı fakat koyun sütlerinin özellikle peynir yapımında kullanılması ve aflatoksin M<sub>1</sub>'in kazeine olan ilgisinden dolayı üretilen peynirlerde sıklıkla ve yüksek seviyelerde bulunabileceğini ve bunun da tehlike oluşturabileceğini bildirmişlerdir.

Elbergi ve ark. (2004) Libya'nın kuzey batısında, 49 çiğ inek sütü ve 20 beyaz peynir örneğinde yaptıkları çalışmada hem süt örnekleri hemde peynir örneklerinden çıkan sonuçlar aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığı bakımından bizim çalışmamızın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar, aflatoksin M<sub>1</sub> yönünden analize tabi tuttıkları 49 süt örneğinin 35'inde (% 71.4) 30 ile 3130 ppt arasında, 20 beyaz peynir örneğinin 15'inde (% 75) 110 ile 520 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini ve aflatoksin M<sub>1</sub>'in peynir örneklerinde, süt örneklerine göre daha düşük seviyelerde bulunduğunu bildirmişlerdir.

Thirumala-Devi ve ark. (2002) Hindistan'ın Andhra Pradesh şehrinde süt örneklerinde yaptıkları çalışmanın sonuçları aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığı ve miktarlarının yüksekliği konusunda yine önemli örneklerden birini oluşturmaktadır.

Yaptıkları çalışmada 280 süt örneğinin 146'sında 500 ppt'nin altında aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilirken, 80 örnekte 600 ppt ile 15000 ppt arasında, 42 örnekte 16000 ppt ile 30000 ppt arasında, 12 örnekte 31000 ppt ile 48000 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> bulduklarını ve bu sonuçlarla Hindistan halkının süt ve süt ürünleri tüketimi ile büyük risk altında olduklarını bildirmişlerdir. Çok yüksek bulunma sıklığı ve seviyesi ile dikkati çeken bu çalışmada kullanılan sütlerin insanlar tarafından tüketilmesinin büyük sağlık sorunlarına neden olacağı aşikârdır.

Kim ve ark. (2000) Kore'nin Seoul şehrinde değişik sayılarda pastörize süt, yoğurt, bebek maması ve süt tozundan oluşan toplam 180 örnekte aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı ve seviyeleri ELISA yöntemi ile araştırmışlar ve bu ürünlerde sırasıyla % 76, % 83, % 85, % 75 oranlarında, yine sırasıyla 18 ppt, 29 ppt, 46 ppt ve 200 ppt ortalama seviyelerde olmak üzere aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu araştırmanın sonuçları da bize süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığının yüksekliği konusunda bilgi vermektedir. Bebek mamalarında bulunan % 85'lik bulunma sıklığı ile 46 ppt'lik bulunma seviyesi ortalamaları, bebeklerin daha duyarlı oldukları da dikkate alındığında aflatoksin M<sub>1</sub>'in gerçekten önemli sağlık sorunlarına yol açabileceğini ortaya koymaktadır.

Piva ve ark. (1988) 1984 yılında İtalya'da 225 Almanya kaynaklı süt örneğinin 31'inde (% 13.8), 88 Fransa kaynaklı süt örneğinin 11'inde (% 12.5), toplamda ise 313 süt örneğinin 42'sinde (% 13.41) en yüksek 23 ppt seviyesinde olmak üzere aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada 159 peynir örneğininde aflatoksin M<sub>1</sub> yönünden analiz etmişler ve sonuçta Fransa kaynaklı 82 peynir örneğinin 16'sında (% 19.5), Almanya kaynaklı 34 peynir örneğinin 9'unda (% 26.5), Hollanda kaynaklı 43 peynir örneğinin 23'ünde (% 53.5), toplamda ise 159 peynir örneğinin 48'inde (% 30.18) düşük seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini ve sadece 2 Fransız kaynaklı peynir örneğinin maksimum tolerans limiti olan 250 ppt'nin üzerinde aflatoksin M<sub>1</sub> ihtiva ettiğini bildirmişlerdir. Piva ve ark. (1988) 1985 yılında yaptıkları ikinci çalışmalarında ise aflatoksin M<sub>1</sub> yönünden analiz ettikleri 276 süt örneğinin 70'inde (% 25.3) aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini ve bunlardan sadece 7'sinin (% 2.5) 50 ppt'nin üstünde aflatoksin M<sub>1</sub> içerdiğini, analize tabi tuttıkları 416 peynir örneğinin ise 130'unda (% 31.3) aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini ve bunlardan sadece 9'unun (% 2.2) 250 ppt'nin üstünde aflatoksin M<sub>1</sub> içerdiğini bildirmişlerdir.

Finoli ve ark. (1983) 1982 yılında İtalya'da, 50 adet peynir örneğinin 4'ünde (% 8) 50 ile 100 ppt arasında aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini, Paul ve Thurm (1983) 1982 yılında Almanya'da, TLC (Thin Layer Chromatografi-İnce tabaka kromatografisi) yöntemi ile 142 çiğ süt ve 70 süt tozu örneğinden sadece 2 süt tozunda (% 2.85) aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirdirmişlerdir. Yapılan diğer araştırmalardan, Stoloff ve ark. (1981) 1979 yılında Amerika'da, yağsız süt, vanilyalı dondurma, yoğurt, cheddar peyniri ve ev yapımı peynirlerden oluşan örneklerde yaptıkları çalışmada, toplam 992 örnekten sadece 1 cheddar peynirinde 80 ppt seviyesinde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini, Fritz ve Engst (1981) ise 60 kış sütü örneğinin sadece 4'ünde (% 6.66'sında) aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini, inceledikleri diğer süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub> bulamadıklarını bildirmişlerdir. Hisada ve ark. (1984) Japonya'da çok sayıda peynir örneğinde yaptıkları çalışmalarda, 126 adet peynir örneğinin 56'sında (% 44.44) 110 ile 300 ppt arasında, 128 adet peynir örneğinin 111'inde (% 86.71) 25 ile 1060 ppt arasında, 32 adet peynir örneğinin 13'ünde (% 40.62) 12 ile 2520 ppt arasında, 132 adet peynir örneğinin 120'sinde (% 90.9) 10 ile 200 ppt arasındaki seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Japonyada yapılan bu çalışma, aflatoksin M<sub>1</sub>'in süt ve süt ürünlerinde, bizim çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar gibi, yaygın olarak bulunabildiğini ve bu bulunuşun insan sağlığını tehdit edebilecek düzeylerde olabileceğini göstermektedir.

Barbieri ve ark. (1994) İtalya'nın Modena bölgesinde, 1991 yılında, parmesan peynirlerinde yaptıkları araştırmada, inceledikleri 200 peynir örneğinin sadece 18'inde (% 9) aflatoksin M<sub>1</sub>'i tespit ettiklerini ve 182 örnekte (% 91) ise tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Aflatoksin M<sub>1</sub>'in, bulunan örneklerde en yüksek seviyesinin 190 ppt olduğunu ve dolayısıyla 250 ppt'lik yasal sınırı geçen örnek olmadığını bildirilmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen % 9'luk bulunma oranı bizim yaptığımız araştırmada üç peynir türünde bulunan ortalama % 68'lik orandan çok daha düşük seviyelerde kalmıştır. Ayrıca bu çalışmada bulunan 190 ppt'lik en yüksek seviye bizim araştırmamızda bir kaşar peyniri örneğinde bulduğumuz 489 ppt'lik en yüksek seviyenin yanında daha düşük kalmıştır. Aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığı ve seviyesi bakımından bizim çalışmamızın sonuçları Barbieri ve arkadaşlarının yaptığı araştırma sonuçlarına göre daha yüksek çıkmıştır.

Ülkemizde son yıllarda aflatoksin M<sub>1</sub> konusunda yapılan ve bulunma sıklığı ve miktarı bakımından bizim çalışmamızda çıkan sonuçlar ile yakın değerlere sahip araştırmalardan biri olan, Gürbay ve ark. (2004) Ankara'da farklı süpermarketlerden topladıkları çeşitli süt örneklerinde HPLC (Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) yöntemi ile yaptıkları çalışmada, 27 süt örneğinin 16'sında (% 59.3) 10 ile 50.5 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişler ve sadece 1 örneğin (% 3.7) 50.5 ppt'lik miktar ile maksimum tolerans limiti olan 50 ppt'yi geçtiğini bildirmişlerdir.

Gürses ve ark. (2004) Erzurum'da 21 farklı marketten topladıkları peynir örneklerini aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı yönünden ELISA yöntemi ile analiz etmişlerdir. Analiz ettikleri 23 beyaz peynir örneğinin 9'unda (% 39.13) 11 ile 106 ppt arasında, 14 kaşar peyniri örneğinin 6'sında (% 42.85) 7 ile 68 ppt arasında, 11 tulum peyniri örneğinin 7'sinde (% 63,63) 11 ile 202 ppt arasında, 9 civil peyniri örneğinin 4'ünde (% 44.44) 12 ile 18 ppt arasında ve 6 lor peyniri örneğinin 2'sinde (% 33.33) 13 ile 19 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit edilmiştir. Aflatoksin M<sub>1</sub> seviyesi, bulunan örneklerin hiçbirisinde peynirler için maksimum tolerans limiti olan 250 ppt'yi geçmemiştir. Bu çalışmada bulunan ortalama % 44.44'lük aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığı ve 202 ppt'lik en yüksek buluma miktarı, bizim çalışmamızda bulduğumuz % 68'lik bulunma sıklığı oranı ve 489 ppt'lik en yüksek bulunma miktarına göre daha düşük seviyede olmakla birlikte, her iki çalışma da aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığının yüksek olmasını işaret etmesi bakımından benzerlik göstermektedir.

Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub>'in yaygın olarak bulunmasına, Deveci ve Sezgin (2005)'in 2002 yılı Mart ayı ile 2003 yılı Şubat ayları arasında, 7 farklı süt tozu üreticisinden, mevsimlere göre 4 farklı sezonda aldıkları süt tozu örneklerinde HPLC yöntemi ile aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı ve seviyesini araştırdıkları çalışmaları örnek gösterilebilir. 4 farklı mevsimde 7 firmadan alınan toplam 21 süt tozu örneğinin 19'unda (% 90.5) 193 ile 705 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Süt tozu örneklerinin 2'sinde (% 9.52) 535 ppt ve 705 ppt olarak bulunan seviyeler, süt tozu için ülkemizde 500 ppt olarak kabul edilen maksimum tolerans limitini aşan değerler olmuştur. Araştırmacılar yaptıkları araştırma sonucunda süt tozu örneklerinde aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığının yaygın, fakat bulunma miktarlarının düşük olduğunu ayrıca, süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma oranının mevsimsel değişikliklere göre değişebileceğini bildirmişlerdir.

Nitekim yaptıkları çalışma bulguları çerçevesinde, yaz mevsiminde üretilen süt tozlarında aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma sıklığı ve miktarının kış aylarına oranla daha düşük olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışma sonuçlarımıza yakın bulunma sıklığı değerleri olarak, Özkaya ve ark. (2002) 25 farklı ilden elde ettikleri süt örneklerinde yaptıkları çalışmalarında, 360 süt örneğinin 159'unda (% 44.3) aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişler ve örneklerin 48'inde (% 13.3) >50 ppt düzeyinde saptamışlardır. Çeşitli illerden toplanan örneklerden elde edilen aflatoksin M<sub>1</sub> ortalamalarını incelediğimizde, Ankara'da 57 ppt, Konya'da 60 ppt, Antalya'da 64 ppt, Elazığ'da 94 ppt, Kahramanmaraş'ta 94 ppt, Bursa'da 142 ppt, Balıkesir'de 145 ppt olarak bulunan ortalamaların 50 ppt'lik tolerans seviyesini aştığını görmekteyiz. Ayrıca Denizli'de 80 ppt, Trabzon'da 103 ppt, Adana'da 128 ppt, Sivas'ta 225 ppt, Diyarbakır'da 263 ppt, Balıkesir'de 1200 ppt, Bursa'da 1400 ppt seviyelerinde bulunan bireysel olarak tolerans limitini aşan miktarlar ve özellikle Balıkesir ve Bursa'dan elde edilen sonuçlar dikkat çekicidir. Özkaya ve arkadaşları yine aynı çalışmada Ankara ve İzmir'den elde ettikleri 49 peynir örneğinin 22'sinde (% 44.9) Aflatoksin M<sub>1</sub> tespit etmişler ve bir örneğin o tarihte yasal sınır olarak kabul edilen 500 ppt'nin üzerinde aflatoksin M<sub>1</sub> içerdiğini bildirmişlerdir. Ülkemizin 25 ilini kapsayan bu araştırma sonuçları da aflatoksin M<sub>1</sub>'in süt ve süt ürünlerimizde bulunma sıklığının yüksek olduğunu ve bu ürünlerin halkımızın sağlığını etkileyebilecek seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> ile kontamine olduğunu göstermektedir.

Oruç ve Sonal (2001), 2000 yılının Ağustos ayında Bursa'daki market ve sütçülerden elde ettikleri süt ve peynir örneklerinde ELISA yöntemi ile yaptıkları çalışmada, 10 süt örneğinin 1'inde (% 10), 57 peynir örneğinin 51'inde (% 89.47) değişik seviyelerde aflatoksin M<sub>1</sub> tespit ettiklerini, peynir örneklerinin 7'sinde (% 12.28) bulunan değerlerin peynir için maksimum tolerans limiti olarak kabul edilen 250 ppt'nin üstünde olduğunu ve tam yağlı bir beyaz peynirde en yüksek 810 ppt seviyesinde aflatoksin M<sub>1</sub> bulduklarını bildirmişlerdir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada, ELISA yöntemi kullanarak aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı ve seviyelerini araştırdığımız süt, tereyağı, beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirlerinin her birinden 50'şer adet olmak üzere toplam 250 örnekten % 60.4'ünde (151) aflatoksin M<sub>1</sub> saptanırken, % 39.6'sında (99) saptanamamıştır. Elde edilen % 60.4'lük bulunma sıklığı ülkemizde süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub>'in yaygın bir şekilde bulunduğunu göstermektedir. Özellikle süt ve peynirlerde % 70 civarındaki oranlar, bahsedilen ürünlerde bulunma sıklığının daha yüksek olduğunu göstermektedir. İncelenen 250 örnekten 12 (% 4.8)'sinin maksimum tolerans seviyelerini aşmaları ve analiz edilen örneklerden özellikle iki tereyağında tespit edilen 110 ppt ve 130 ppt'lik değerler ile iki kaşar peynirinde tespit edilen 416 ppt ve 489 ppt'lik değerler aflatoksin M<sub>1</sub>'in bulunma seviyesinin insan sağlığını tehdit edebilecek düzeylerde olabileceğini ve bu miktarların aşığılara çekilmesi gerektiğini göstermektedir.

Çok sayıda personele sahip olması nedeni ile toplu beslenmenin yoğun bir şekilde gerçekleştirildiği Türk Silahlı Kuvvetleri personelinin ve dolayısı ile halkımızın büyük miktarda tükettiği süt, tereyağı, beyaz peynir, kaşar peyniri ve eritme peynirinde aflatoksin M<sub>1</sub> varlığını ve düzeyini kontrol etmek ve tüketilen süt ve süt ürünlerinin sağlık güvenliğini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirdiğimiz çalışmamız neticesinde, Samsun ilimizde tüketime sunulan süt ve süt ürünleri ile Türk Silahlı Kuvvetleri birlik ve kurumlarına satın alma aşamasındaki süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M<sub>1</sub>'in yaygın olarak bulunduğu ve bulunan bazı miktarların insan sağlığını tehdit edebilecek seviyelerde olduğunu görmekteyiz. Türk Silahlı Kuvvetleri'nde gıda güvenliği ve kalitesinin sağlanması konusunda Veteriner Hekimlere ve Gıda Kontrol Müfreze Komutanlıklarına önemli vazifeler düşmekte ve bu personel ve birlikler tarafından yerine getirilmektedir. Bu nedenle, bu çalışma sonucu elde edilen bulgular süt ve süt ürünlerinde aflatoksin varlığı konusunda yol gösterici olacaktır. Bu tez çalışmasında incelediğimiz süt ve süt ürünlerinden aflatoksin M<sub>1</sub> seviyesi, yasal sınırlara uygun olmadığı tespit edilenlere ret raporu verilerek satın alınmaları önlenmiş ve bunları tüketecek olan askerlerimizin yani halkımızın sağlığının korunması sağlanmıştır.

Dünyanın her yerinde insanların çoğunluğu tarafından sevilerek ve çok miktarda tüketilen, besleyicilik değeri ile öneme haiz süt ve süttten üretilen çok çeşitli ürünlerde sıklıkla bulunabilen aflatoksin  $M_1$ , dünyada ve özellikle de gelişmekte olan ülkelerde halk sağlığını tehdit edebilecek seviyelerde bulunmaya devam etmektedir. Süt ve süt ürünlerinin özellikle bebekler ve yetişme çağındaki çocuklar tarafından fazla miktarlarda tüketildiği ve aflatoksinlerin toksik, kanserojenik ve mutojenik etkilerine daha fazla duyarlı oldukları göz önüne alındığında, süt ve süt ürünlerinde bulunan aflatoksin  $M_1$  sorununun boyutları daha iyi anlaşılmış olacaktır.

Yemlerde bulunabilen aflatoksin  $B_1$ 'den köken alan aflatoksin  $M_1$ 'in süt ve süt ürünlerinde pastörizasyon, sterilizasyon gibi ısı uygulamalarından etkilenmemesi, kimyasal ve biyolojik yollarla detoksifikasyon işlemlerinin çok etkili ve uygun olmaması gibi nedenlerle yemlere küf bulaşması ve aflatoksin üretmelerinin önlenmesi çalışmaları daha önemlidir. Ülkemiz gibi sıcaklık ve rutubet şartları açısından, küf gelişimine müsait ülkelerde hayvanların tükettiği yemlerde aflatoksin üreticisi küflerin gelişmeleri ve toksin sentezlemelerine daha sık rastlanılması nedeni ile bu konu ile ilgili kuruluşlar olan tarım ve sağlık bakanlığı ile üniversitelerimizin halkı bilgilendirecek organizasyonlar ve çalışmalar yapmaları, özellikle de süt üreticiliği yapan kişilere yönelik olarak, hem yukarıda bahsettiğimiz resmi kuruluşlar, hemde büyük ölçekli süt ve yem fabrikaları gibi konu ile ilgili özel kuruluşlar tarafından bilgilendirme çalışmalarının düzenli olarak yapılması gerekmektedir. Aflatoksin  $M_1$ 'in süt hayvanlarının tükettiği yemlerde bulunan aflatoksin  $B_1$ 'den köken alması nedeni ile hayvanlar tarafından tüketilen bu yemlerde, tarlada üretim ve hasattan başlayarak, işleme ve depolama aşamalarında küf bulaşması ve gelişimini engelleyecek tedbirlerin nasıl alınacağı konusunda yetiştiricilerin ve süt üreticilerinin yeterince bilgilendirilmesi, süt ve süt ürünlerinde sıklıkla bulunan aflatoksin  $M_1$ 'in bulunma sıklığı ve seviyesinin azaltılmasında en önemli ve en ucuz maliyetli çözüm yolu olacaktır.



## KAYNAKLAR

- Abramson, D., Mills, J.T., Marquardt, R.R., Frohlich, A.A. (1997). Mycotoxins in fungal contaminated samples of animal feed from Western Canada, 1982–1994. *Can. J. Vet. Res.*, **61**, 49-52.
- Agag, B.I., (2004). Mycotoxins in foods and feeds. *Ass. Univ. Bull. Environ. Res.*, **7(1)**, 173-205.
- Akdemir, Ç. (2001). Ankara’da İşlenen Sütlerde Aflatoksin M<sub>1</sub> Varlığının ve Düzeylerinin HPLC ile Araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.*
- Akdemir, Ç., Altıntaş, A. (2004). Ankara’da İşlenen Sütlerde Aflatoksin M<sub>1</sub> Varlığının ve Düzeylerinin HPLC ile Araştırılması. *Ankara Üniversitesi Vet. Fak. Derg.*, **51**, 175-179.
- Alborzi, S. (2004). Determination of the quantity of aflatoxin M<sub>1</sub> in pasteurised milk in Shiraz. *14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 1-4 Mayıs 2004, Prague / Czech Republic.*
- Alborzi, S., Pourabbas, B., Hanifpour, M.A., Rashidi, M. (2005). Determination of the quantity of aflatoxin M<sub>1</sub> contamination in traditional and UF cheese in Shiraz, Iran. *Clin. Microbiol. Infec.*, **11(2)**, 649.
- Allcroft, R., Carnaghan, R.B.A. (1963). Groundnut toxicity: an examination for toxin in human food products from animals fed toxic groundnut meal. *Vet. Rec.*, **75**, 259-263.
- Anonymous (1992). Aflatoxin food protection report. *Mountly by Charles Felix Assoc. 8:1.* (Akdemir, 3)
- Anonymous (2002). Evaluation of certain mycotoxins in food. *Fifty-sixth report of the Joint FAO / WHO Expert committee on Food Additives.*
- Applebaum, R.S., Brackett, R.E., Wiseman, D.W., Marth, E.H. (1982). Responses of dairy cows to dietary aflatoxin: feed intake and yield, toxin content and quality of milk of cows treated with pure and impure aflatoxins. *J. Dairy Sci.*, **65**, 1503-1508.
- Aycicek, H., Yarsan, E., Sarımehtetoğlu, B., Çakmak, Ö. (2002). Aflatoxin M<sub>1</sub> in white cheese and butter consumed in İstanbul, Turkey. *Vet Human Toxicol.*, **44(5)**, 295-296.
- Badea, M., Micheli, L., Messia, M.C., Candigliota, T., Marconi, E., Mottram, T., Velasco-Garcia, M., Moscone, D., Palleschi, G. (2004). Aflatoxin M<sub>1</sub> determination in raw milk using a flow-injection immunoassay system. *Anal. Chim. Acta*, **520**, 141–148.

- Bakırcı, İ. (1995). Sütlerde Aflatoksin M<sub>1</sub> Oluşumu ve Ürünlere Geçiş Üzerinde Bir Araştırma. *Doktora Tezi, Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.*
- Bakırcı, İ. (2001). A study on the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Cont.*, **12**, 47-51.
- Barbieri, G., Bergamini, C., Ori, E., Resca, P. (1994). Aflatoxin M<sub>1</sub> in Parmesan cheese: HPLC determination. *J. Food Sci.*, **59(6)**, 1313-1331.
- Barrios, M.J., Gualda, M.J., Cabanas, J.M., Medina, L.M., Jordano, R. (1996). Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in cheeses from the South of Spain. *J. Food Prot.*, **59**, 898-900.
- Barrios, M.J., Medina, L.M., Cordoba, M.G., Jordano, R. (1997). Aflatoxin producing strains of *Aspergillus flavus* isolated cheese. *J. Food Prot.*, **60 (2)**, 192-194.
- Beyaz Peynir Teknik Şartnamesi (2005). M.S.B., Şubat 2005, TEK.H.: 06-2G.
- Blanco, J.L., Domingues, L., Gomez-Lucia, E., Garayzabal, J.F.F., Goyache, J., Suarez, G. (1988a). Behavior of aflatoxin during the manufacture, ripening and storage of Manchego-type cheese. *J. Sci.*, **53**, 1373-1376.
- Blanco, J.L., Domingues, L., Gomez-Lucia, E., Garayzabal, J.F.F., Garcia, J.A., Suarez, G. (1988b). Presence of aflatoxin M<sub>1</sub> in commercial ultra high temperature treated milk. *Appl. Environ. Microbiol.*, **54(6)**, 1622-1623.
- Blanco, J.L., Carrion, B.A., Liria, N., Diaz, S., Garcia, M.E., Dominguez, L., Suarez, G. (1993). Behavior of aflatoxins during manufacture and storage of Yoghurt. *Milchwiss.*, **48 (7)**, 385-387.
- Bognanno, M., La Fauci, L., Ritieni, A., Tafuri, A., De Lorenzo, A., Micari, P., Di Renzo, L., Ciappellano, S., Sarullo, V., Galvano, F. (2006). Survey of the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in ovine milk by HPLC and its confirmation by MS. *Mol. Nutr. Food Res.*, **50(3)**, 300-305.
- Bostan, K., Çetin, Ö., Büyükcinal, S.K., Ergün, Ö. (2005). İstanbul'da satışa sunulan içme sütü örneklerinde aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyleri üzerine bir araştırma. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi*, **4(7)**, 15-20.
- Cathey C.G., Huang Z.G., Sarr A.B., Clement B.A., Philips T.D. (1994). Development and evaluation of a minicolumn assay for the detection of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk. *J. Dairy Sci.*, **77**, 1223-1231.
- Cheeke, P.R., Shull, L.R. (1985). Natural toxicants in feeds and poisonous plants. *AVA-Van Nostrand-Reinold, New York*. İn: Whitlow, L.W., Hagler, W.M. (2001). Mycotoxin contamination of feedstuffs – an additional stress factor for dairy cattle. 25. *symposium sur les bovins laitiers held on October 17, 2001 in St-Hyacinthe, Quebec.*

- Ciegler, A., Lillehoj, E.B., Peterson, R.E., Hall, H.H. (1966). Microbial detoxification of aflatoxin. *Appl. Microbiol.*, **14(6)**, 934-939.
- Creppy, E.E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol. Lett.*, **127**, 19-28.
- De Sylos, C.M., Rodriguez-Amaya, D.B., Carvalho, P.R., (1996). Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and dairy products commercialized in Campinas, Brazil. *Food Addit Contam.*, **13(2)**, 169-172.
- Demirer, M.A. (1973). Süt ve mamüllerinde aflatoxin M<sub>1</sub> ve B<sub>1</sub> aranması üzerine araştırmalar. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **20(2)**, 421-443.
- Deveci, O., Sezgin, E. (2005). Aflatoxin M<sub>1</sub> levels of skim milk powders produced in Turkey. *J. Food Drug Anal.*, **13(2)**, 139-142.
- Domagala J., Kiswa J., Blüthgen A., Heeschen W. (1997). Contamination of milk with aflatoxin M<sub>1</sub> in Poland. *Milchwissenschaft*, **52 (11)**, 631-633.
- Dragacci, S., Gleizes, E., Fremi, J.M., Candlish, A.A.G. (1995). Use of immunoaffinity chromatography as a purification step for the determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in cheeses. *Food Add. Cont.*, **12(1)**, 59-65.
- Ehrlich, K.C., Chang, P.K., Yu, J., Cotty, P.J. (2004). Aflatoxin biosynthesis cluster gene *cypA* is required for G aflatoxin formation. *Appl. Environ. Microbiol.*, **70(11)**, 6518-6524.
- Ehrlich, K.C., Montalbano, B.G., Cotty, P.J. (2005). Divergent regulation of aflatoxin production at acidic pH by two *Aspergillus* strains. *Mycopathologia*, **159**, 579-581.
- Elbergi, A.M., Aidoo, K.E., Candlish, A.A., Tester, R.F. (2004). Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in randomly selected North African milk and cheese samples. *Food Addit. Contam.*, **21(6)**, 592-597.
- Ender, G. (2001). Kaşar Peynirinin Olgunlaştırılması Aşamasında Aflatoxin M<sub>1</sub> Düzeyinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.*
- El Deeb, S.A., Zaki, N., Shoukry, Y.M.R., Kheadr, E.E. (1992). Effect of some technological processes on stability and distribution of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk, Egypt. *J. Food Prot.*, **20**, 29-42.
- Eritme Peyniri Teknik Şartnamesi (2005). M.S.B., Şubat 2005, TEK.H.: 06-47B.

- Fagian, M.M., Pereira-da-Silva, L., Martins, I.S., Vercesi, A.E. (1990). Membrane protein thiol cross-linking associated with the permeabilization of the inner mitochondrial membrane by Ca<sup>2+</sup> plus prooxidants. *J. Biol. Chem.*, **265**, 19955-19960.
- Finoli, C., Bellavita, V.M., Cerruti, G. (1983). Sulla presenza di aflatoxina M<sub>1</sub> in latte e derivati. *Latte Latticini Conserve Animal*, **8(9)**, 611-625.
- Finoli, C., Vecchio, A. (2003). Occurrence of aflatoxins in feedstuffs, sheep milk and dairy products in Western Sicily. *Ital. J. Anim. Sci.*, **2**, 191-196.
- Franco, C.M., Fente, C.A., Vazquez, B.I., Cepeda, A., Mahuzier, G., Prognon, P. (1998). Interaction between cyclodextrins and aflatoxins Q<sub>1</sub>, M<sub>1</sub> and P<sub>1</sub> fluorescence and chromatographic studies. *J. Chrom. A*, **815**, 21-29.
- Fritz, W., Engst, R. (1981). Survey of selected mycotoxins in food. *J. Environ. Sci. Health B.*, **16(2)**, 193-210.
- Galvano, F., Galofaro, V., Galvano, G., (1996), Occurrence and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk product: a worldwide review. *J. Food Protec.*, **59 (10)**, 1079-1090.
- Galvano, F., Galofaro, V., Angelis, A., Galvano, M., Bognanno, M., Gavano, G. (1998). Survey of the Occurrence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Dairy products Marketed in Italy. *J. Food Protec.* **61(6)**, 738-741.
- Galvano, F., Galofaro, V., Ritieni, A., Bognanno, M., De Angelis, A., Galvano, G. (2001). Survey of the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in dairy products marketed in Italy: second year of observation. *Food Add Cont.* **18(7)**, 644-646.
- Gilbert, J., Anklam, E. (2002). Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs. *Trends Anal. Chem.*, **21**, 468-486.
- Goto, T., Wicklow, D.T., Ito, Y. (1996). Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by a sclerotium-producing *Aspergillus tamaris* strain. *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 4096-4038.
- Govaris, A., Roussi, V., Koidis, P.A., Botsoglou, N.A. (2001). Distribution and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> during processing, ripening and storage of Teleme cheese. *Food Addit. Contam.*, **18(5)**, 437-443.
- Grant, D.W., Carlson, F.W. (1971). Partitioning behavior of aflatoxin M<sub>1</sub> in dairy product. *Bull. Environ. Toxicol.*, **6**, 521-524. In: Galvano, F., Galofaro, V., Galvano, G., (1996), Occurrence and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk product: a worldwide review. *J. Food Prot.*, **59 (10)**, 1079-1090.

- Groopman, J.D., Hall, A.J., Whittle, H., Hutson, G.J., Wogan, G.N., Montesano, R., Wild, C.P. (1992). Molecular dosimetry of aflatoxin-N7-guanine in human urine Obtained in the Gambia, West Africa. *Cancer Epid., Biomarkers & Prevention*, **1**, 221-227.
- Günşen, U., Büyükyörük, İ. (2003). Piyasadan temin edilen taze kaşar peynirlerinin bakteriyolojik kaliteleri ile aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin belirlenmesi. *Türk J Vet Anim Sci.*, **27**, 821-825.
- Gürbay, A., Aydın, S., Girgin, G., Engin, A.B., Şahin, G. (2004). Assessment of aflatoxin M<sub>1</sub> levels in milk in Ankara, Turkey. *Food Cont.* (Baskıda).
- Gürses, M. (2002). Tulum Peynirinde Farklı Depolama Şartlarında Aflatoksin Oluşum Potansiyelinin Belirlenmesi. *Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.*
- Gürses, M. (2004). Farklı depolama şartlarının *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 küf suşu ile aşılanan tulum peynirinde aflatoksin oluşumu üzerine etkisi. *Türk J. Vet. Anim. Sci.*, **28**, 233-238.
- Gürses, M., Erdoğan, A., Çetin, B. (2004). Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in some cheese types sold in Erzurum, Turkey. *Türk J.Vet.Anim.Sci.*, **28**, 527-530.
- Harvey, R.B., Philips, T.D., Ellis, J.A., Kubena, L.F., Huff, W.E., Peterson, H.D. (1991). Effects on aflatoxin M<sub>1</sub> residues in milk by addition of hydrated sodium calcium aluminosilicate to aflatoxin contaminated diets of dairy cows. *Am. J. Vet.*, **52(9)**, 1556-1558.
- Haskard, C.A., El-Nezami, H.S., Kankaanpaa, P.E., Salminen, S., Ahokas, J.T. (2001). Surface binding of aflatoxin B<sub>1</sub> by lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **67(7)**, 3086-3091.
- Hisada, K., Yamamoto, K., Tsubouchi, H., Sakabe, Y. (1984). Natural occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in imported and domestic cheese. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **25**, 543-548.
- Hopmans, E.C. (1997). Patulin: a mycotoxin in apples. *Perishables Handling Quarterly*, **Issue No:91**, 5-6.
- Ito, Y., Peterson, S.W., Wicklow, D.T., Goto, T., (2001). *Aspergillus pseudotamarii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section *flavi*. *Mycol. Res.*, **105**, 233-239.
- İçme Sütü (UHT) Teknik Şartnamesi (2004). M.S.B., Kasım 2004, TEK.H.: 06- 95.

- İçme Sütü (Pastörize) Teknik Şartnamesi (2004). M.S.B., Aralık 2004, TEK.H.: 06-96.
- Kamkar, A. (2004). A study on the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Cont.* (Baskıda)
- Kan, C.A. (1994). Factors affecting absorption of harmful substances from the digestive tract of poultry and their level in poultry products. *World's Poultry Sci. J.*, **50**, 39-53.
- Kaniou-Grigoriadou, I., Eleftheriadou, A., Mouratidou, T., Katikou, P. (2005). Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in ewe's milk samples and the produced curd and Feta cheese. *Food Cont.*, **16**, 257-261.
- Kardeş, E. (2000). Türk Silahlı Kuvvetleri'ne bağlı birliklere alınan peynirlerde aflatoxin B<sub>1</sub> ve aflatoxin M<sub>1</sub> varlığının ve seviyelerinin saptanması. *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.*
- Kaşar Peyniri Teknik Şartnamesi (2005). M.S.B., Şubat 2005, TEK.H.: 06-3F.
- Kaya, S. (2001). Mikotoksinler. *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji, ikinci Baskı.* Editör(ler), Kaya, S., Pirinççi, İ., Bilgili, A. Medisan Yayınevi, 537-571.
- Kim, E.K., Shon, D.H., Ryu, D., Park, J.W., Hwang, H.J., Kim, Y.B. (2000). Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. *Food Addit. Contam.*, **17(1)**, 59-64.
- Klich, M.A., Mullaney, E.J., Daly, C.B., Cary, J.W. (2000). Molecular and physiological aspects of aflatoxin and sterigmatocystin biosynthesis by *Aspergillus tamaris* and *Aspergillus ochraceoroseus*. *Appl. Microbiol. Biotech.*, **53**, 605-609.
- Kos, G., Krska, R. (2006). Fact Sheets on Analytical Methods, 7. Aflatoxins. *European Mycotoxin Awareness Network.*
- Kuhn, D.M., Ghannoum, M.A. (2003). Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: infectious disease perspective. *Clin. Microbiol. Rev.*, **16**, 144-172.
- Lillehoj, E.B., Ciegler, A., Hall, H.H. (1967). Aflatoxin B<sub>1</sub> uptake by *Flavobacterium aurantiacum* and resulting toxic effects. *J. Bacteriol.*, **93(1)**, 464-471.
- Lopez, C.E., Ramos, L., Ramadan, S., Bulacio, L., Perez, J. (2001). Distribution of aflatoxin M<sub>1</sub> in cheese obtained from milk artificially contaminated. *Int. J. Food Microbiol.*, **64**, 211-215.
- Lopez, C.E., Ramos, L.L., Ramadan, S., Bulacio, L.C. (2003). Presence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk for human consumption in Argentina. *Food Cont.*, **14**, 31-34.

- Mc Kinney, J.D., Cavanaugh, G.C., Bell, J.T., Bell, A.S., Hoversland, A.S., Nelson, D.M., Pearson, J., Selkirk, R.J. (1973). Effects of ammoniation on aflatoxins in rations fed lactating cows. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **50**, 79-84.
- Markaki, P., Melissari, E. (1997). Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC. *Food Addit Contam.*, **14(5)**, 451-456.
- Marshaly, R.I., Deep, S.A., Safwat, N.M. (1986). Distribution and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> during processing and storage of Karish cheese. *Alexandria J. Agric. Res.*, **31**, 219-228.
- Martins, M.L., Martins, H.M. (2004). Aflatoxin M<sub>1</sub> in yoghurts in Portugal. *Int. J. of Food Microbiol.*, **91**, 315-317.
- Mavuş, H. (2003). Kayseri yöresinde satışa sunulan sütlerden aflatoxin tayini. *Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*.
- Meerarani S., Ramadass P., Padmanaban V.D., Nachimuthu K. (1997). Incidence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Milk Samples Around Chennai (Madras) City. *J. Food Sci. Technol.* **34(6)**, 506-508.
- Moon, E.Y., Rhee, D.K., Pyo, S. (2000). Alteration of kinase-mediated signalings in murine peritoneal macrophages by aflatoxin B<sub>1</sub>. *Cancer Letters*, **155(1)**, 9-17.
- Nilüfer, D., Boyacıoğlu, D. (2003). Süt ve süt ürünlerinde mikotoksin riski ve analizi. *SEYES 2003, Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu, 22-23 Mayıs 2003, İzmir*.
- Oliveira, C.A., Rosmaninho, J., Rosim, R. (2006). Aflatoxin M<sub>1</sub> and cyclopiazonic acid in fluid milk traded in Sao Paulo, Brazil. *Food Addit. Contam.*, **23(2)**, 196-201.
- Oruç, H.H. (2003). Süt ve süt ürünlerinde aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) ve Türkiye'deki durumu. *Uludağ Üniv. Vet. Fak. Der.*, **22**, 121-125.
- Oruç, H.H., Sonal, S. (2001). Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey. *Vet. Hum. Toxicol.*, **43(5)**, 292-293.
- Özkaya, Ş., Başaran, A., Kaymak, T., Dikmen, O., Kocabey, M., Demirkazık, G., Altındış, N., Ramis, R. (2002). Türkiyede üretilmekte olan süt ve peynirlerde aflatoxin M<sub>1</sub> aranması. *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü, Gıdalarda Katkı-Kalıntı ve Bulaşanlarının İzlenmesi II*, Bursa, 80-92.
- Özkaya, Ş., Temiz, A. (2003). Aflatoxinler: kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **1**, 1-21.

- Özmenteşe, N. (2002). İstanbul piyasasından sağlanan süt ve süt ürünlerinin aflatoksin B<sub>1</sub> ve M<sub>1</sub> içerikleri yönünden yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile araştırılması. *Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.*
- Paul, P., Thurm, V. (1983). Determination and occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and dried milk products. *Nahrung*, **27(9)**, 877–882.
- Pereira, M.M.G., De Carvalho, E.P., Prado, G., Da Rocha Rosa, C.A., Veloso, T., De Souza, L.A.F., Ribeiro, J.M.M. (2005). Detection of aflatoxins in dairy cattle feed and milk in Lavras, Minas Gerais-Brazil. *Cienc. Agrotec.*, **29(1)**, 106-112.
- Peterson, S.W., Ito, Y., Horn, B.W. and Goto, T. (2001). *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, *A. nomius*. *Mycologia*, **93**, 689–703.
- Pittet, A. (1998). Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an updated review. *Med. Vet.*, **149 (6)**, 479-492.
- Piva, G., Pietri, A., Galazzi, L., Curto, O. (1988). Aflatoxin M<sub>1</sub> occurrence in dairy products marketed in Italy. *Food Addit. Contam.*, **5(2)**, 133-139.
- Prado, G., Oliveira, M.S., Pereira, M.L., Abrantes, F.M., Santos, L.G., Veloso, T. (2000). Aflatoxin M<sub>1</sub> in samples of “Minas” cheese commercialized in the city of Belo Horizonte-Minas Gerais/Brazil. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **20(3)**.
- Purchase, I.F.H., Steyn, M., Rinsma, R., Tustin, R.C. (1972). Reduction of the aflatoxin M<sub>1</sub> in milk by processing. *Food Cosmet. Toxicol.*, **10**, 383-387.
- Raney, K.D., Shimada, T., Kim, D.H., Groopman, J.D., Haris, T.M., Guengerich, F.P. (1992). Oxidation of aflatoxins and sterigmatocystin by human liver microsomes: significance of aflatoxin Q<sub>1</sub> as a detoxication product of aflatoxin B<sub>1</sub>. *Chem. Res. Toxicol.*, **5**, 202-210.
- Rao, S.B.N., Chopra, R.C. (2001). Influence of sodium bentonite and activated charcoal on aflatoxin M<sub>1</sub> excretion in milk of goats. *Small Ruminant Research*, **41**, 203–213.
- Rastogi, S., Dwivedi, P.D., Khanna, S.K., Das, M. (2004). Detection of Aflatoxin M<sub>1</sub> contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Cont.*, **15**, 287-290.
- Reddy, S.V., Waliyar, F. (2006). Properties of aflatoxin and it producing fungi. Erişim: [www.aflatoxin.info/aflatoxin.asp](http://www.aflatoxin.info/aflatoxin.asp)
- Rida Aflatoxin Column, (2006). Immunoaffinity column for sample clean up prior to analysis of aflatoxins, Art.No.:R5001/R5002. *R-Biopharm AG*, Darmstadt, Germany.



- Ridascreen Aflatoxin M<sub>1</sub>, (2006). Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M<sub>1</sub>, Art.No.:R1101. *R-Biopharm AG*, Darmstadt, Germany.
- Roussi, V., Govaris, A., Varagouli, A., Botsoglou, N.A. (2002). Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw and market milk commercialized in Greece. *Food Addit.Contam.*, **19(9)**, 863-868.
- Roy, A.K., Chourasia, H.K. (1989). Effect of temperature on aflatoxin production in *Mucuna pruriens* seeds. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55(2)**, 531-532.
- Salem, D.A. (2002). Natural occurrence of aflatoxins in feedstuffs and milk of dairy farms in Assiut province, Egypt. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, **89**, 86-91.
- Sarımehmetoğlu, B., Kuplulu, Ö., Aycicek, H. (2003). Detection of the aflatoxin M<sub>1</sub> in yogurt by ELISA. *Milchwissenschaft*, **58 (11/12)**, 643-645.
- Sarımehmetoğlu, B., Kuplulu, Ö., Çelik, T.H. (2004). Detection of aflatoxin M<sub>1</sub> in cheese samples by ELISA. *Food Cont.*, **15**, 45-49.
- Sassahara, M., Netto, D.P., Yanaka, E.K. (2005). Aflatoxin occurrence in foodstuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk in the North of Parana State. *Food Chem. Toxicol.*, **43**, 981-984.
- Seyrek, K. (2001). Türk Silahlı Kuvvetleri'ne bağlı birliklerde tüketilen beyaz peynirlerdeki aflatoxin M<sub>1</sub> seviyesinin ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) metodu ile saptanması. *Vet. Hek. Der. Derg.*, 55-58.
- Shundo, L., Sabino, M. (2006). Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk by immunoaffinity column clean up with TLC/HPLC determination. *Braz. J. Microbiol.*, **37(2)**, 1517-1523.
- Sibanda, L., De Saeger, S., Peteghem, C.V. (1999). Development of a portable field immunoassay for the detection of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk. *Int. J. Food Microbiol.*, **48**, 203-209.
- Smiley, R.D., Draughon, F.A. (2000). Preliminary evidence that degradation of aflatoxin B<sub>1</sub> by *Flavobacterium aurantiacum* is enzymatic. *J. Food Prot.*, **63(3)**, 415-418.
- Smith, E.E., Phillips, T.D., Ellis, J.A., Harvey, R.B., Kubena, L.F., Thompson, J., Newton, G. (1994). Dietary hydrate sodium calcium aluminosilicate reduction of aflatoxin M<sub>1</sub> residue in dairy goat milk and effect on milk production and components. *J. Anim. Sci.*, **72**, 677-682.
- Sonal, S., Oruç, H.H. (2000). Bursa bölgesindeki tavuk çiftliklerinden sağlanan yemlerde mikotoksin düzeyleri. *Y.Y.Ü. Vet.Fak.Derg.*, **11(2)**, 1-6.

- Srivastava, V.P., Bu-Abbas, A., Alaa-Basuny, Al-Johar, W., Al-Mufti, S., Siddiqui, M.K.J. (2001). Aflatoxin M<sub>1</sub> contamination in commercial samples of milk and dairy products in Kuwait. *Food Addit.Contam.*, **18(11)**, 993-997.
- Steyn, P.S. (1998). The biosynthesis of mycotoxins. *Rev. Med. Vet.*, **149(6)**, 469-678.
- Stoloff, L. (1980). Aflatoxin M in Perspective. *J. Food Prot.* **43**, 226–230. In: Seyrek, K. (2001). Türk Silahlı Kuvvetleri'ne bağlı birliklerde tüketilen beyaz peynirlerdeki aflatoxin M<sub>1</sub> seviyesinin ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) metodu ile saptanması. *Vet. Hek. Der. Derg.*, 55-58.
- Stoloff, L., Trucksess, M., Hardin, N., Francis, O.S., Hayes, J.R., Polan, C.E., Campbell, T.C. (1975). Stability of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk. *J. Dairy Sci.*, **58**, 1789-1793.
- Stoloff, L., Wood, G., Carter, L. (1981). Aflatoxin M<sub>1</sub> in manufactured dairy products produced in the United States in 1979. *Dairy Sci.*, **64(12)**, 2426-2430.
- Stubblefield, R.D., Shannon, G.M. (1974). Aflatoxin M<sub>1</sub> analysis in dairy products and distribution in dairy foods made from artificially contaminated milk. *J. Assoc. Off Anal. Chem.*, **57**, 847-851.
- Taguchi, S., Fukushima, S., Sumimoto, T., Yoshida, S., Nishimune, T. (1995). Aflatoxins in food collected in Osaka, Japan, from 1988 to 1992. *J. Assoc. Off Anal. Chem.*, **78**, 325–327.
- Tekinşen, K.K., Tekinşen, O. C. (2005). Aflatoxin M<sub>1</sub> in white pickle and Van otlı (herb) cheeses consumed in southeastern Turkey. *Food Cont.*, **16**, 565-568.
- Tereyağı Teknik Şartnamesi (2000). M.S.B., Eylül 2000, TEK.H.: 06-4A.
- Tereyağı ve Sadeyağ Teknik Şartnamesi (2005). M.S.B., Haziran 2005, TEK.H.: 06-4B.
- Thirumala-Devi, K., Mayo, M.A., Hall, A.J., Craufurd, P.Q., Wheeler, T.R., Waliyar, F., Subrahmanyam, A., Reddy, D.V. (2002). Development and application of an indirect competitive enzyme-linked immunoassay for aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk-based confectionery. *J. Agric. Food Chem.*, **50(4)**, 933-937.
- Tunail, N. (2000). *Funguslar ve Mikotoksinler*, **ikinci Baskı**. Editör, Tunail, N. Medisan Yayınevi, 4–34.
- Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (1997). *Yürütme ve İdare Bölümü*, Sayfa: 32 (23 Eylül 2002 tarih ve 24885 sayılı Resmi Gazete değişikliği).
- Van Egmond, H.P. (1983). Mycotoxin in dairy products. *Food Chem.*, **11(4)**, 289-307.(Abstract)

- Van Egmond, H.P. (1989). Introduction. *Mycotoxins in dairy products*. 1-10. In: Tekinşen, K.K., Tekinşen, O. C. (2005). Aflatoxin M<sub>1</sub> in white pickle and Van otlu (herb) cheeses consumed in southeastern Turkey. *Food Cont.*, **16**, 565-568.
- Van Egmond, H.P., Jonker, M.A. (2004). Worldwide regulations on aflatoxins- The situation in 2002(Absract). *J. Toxicol.*, **23**, 273-293.
- Verma, R.J. (2004). Aflatoxin cause DNA damage. *Int. J. Hum. Genet.*, **4(4)**, 231-236.
- Vesely, D., Vesela, D. (1983). Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and proof of its toxicity in chick embryos. *Vet.Med.(Praha)*, **28**, 57-61.
- Wang, J.S., Groopman, J.D. (1999). DNA damage by mycotoxins. *Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mugag.*, **424**, 167-181.
- Whitlow, L.W., Hagler, W.M. (2001). Mycotoxin contamination of feedstuffs – an additional stres factor for dairy cattle. *25. symposium sur les bovins laitiers held on October 17, 2001 in St-Hyacinthe, Quebec*.
- Whitlow, L.W., Hagler, W.M. (2002). Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs*, **74(28)**.
- Whitlow, L.W., Hagler, W.M. (2005). Mycotoxins in dairy cattle: occurrence, toxicity, prevention and treatment. *Proc. Southwest Nutr. Conf.*, 124-138.
- Williams, J.H., Phillips, T.D., Jolly, P.E., Stiles, J.K., Jolly, C.M., Aggarwal, D. (2004). Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am. J. Clin. Nutr.*, **80(5)**, 1106-1122.
- Wilson, D.M., Payne, G. A. (1994). Factors affecting *Aspergillus flavus* group infection and aflatoxin contamination of crops. In: David L. Eaton and John D. Groopman (ed.), *The Toxicology of Aflatoxins. Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*, Academic Press, Inc., San Diego, pp. 383- 406.
- Wiseman, D.W., Marth, E.H. (1983). Behaviour of aflatoxin M<sub>1</sub> during manufacture and storage of queso Blanco and Bakers' cheese. *J. Food Prot.*, **46 (10)**, 910-913.
- Yaroğlu, T. (2002). Türk Silahlı Kuvvetlerine Bağlı Birliklerde Tüketime Sunulan Peynirlerde Aflatoksin M<sub>1</sub> Düzeylerinin Araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa*.
- Yaroğlu, T., Oruc, H.H., Tayar, M. (2004). Aflatoxin M<sub>1</sub> levels in cheese samples from some provinces of Turkey. *Food Cont.*(Baskıda)
- Yiannikouris, A., Jouany, J.P. (2002). Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim. Res.*, **51**, 81-99.

- Yu, J., Chang, P.K., Ehrlich, K.C., Cary, J.W., Bhatnagar, D., Cleveland, T.E., Payne, G.A., Linz, J.E., Woloshuk, C.P., Bennet, J.W. (2004). Clustered pathway genes in aflatoxin biosynthesis. *Appl. Environ. Microbiol.* **70(3)**, 1253–1262.
- Zettler, J.L., Navarro, S. (2001). Effect of modified atmospheres on microflora and respiration of California prunes. *Proc. Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Fresno, C.A. 29 Ekim-03 Kasım 2000, Executice Printing Services Clovis, C.A., U.S.A.*, 169-177.
- Zinedine, A., Faid, M., Benlemlih, M. (2005). In Vitro reduction of aflatoxin B<sub>1</sub> by strains of lactic acid bacteria isolated from moroccan sourdough bread. *Int. J. Agri. Biol.* **7(1)**, 67-70.

## ÖZGEÇMİŞ

15 Kasım 1975’de Denizli ilimizin Çivril ilçesinde doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimimi Çivril’de tamamladım. 1992 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesinde eğitime başladım ve 1997 yılında mezun oldum. 1997 yılında Yedek Subay olarak askerlik hizmetime başladım, 1999 yılında Kara Kuvvetleri Komutanlığı tarafından açılan Muvazzaf Subaylık sınavını kazandım ve muvazzaf subay olarak göreve başladım. Hakkari ve Kıbrıs’ta bulunan çeşitli birliklerde görev yaptıktan sonra Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkezi Komutanlığı (Gemlik)’na atandım ve halen adı geçen birlikte görev yapmaktayım.