

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AĞRI'DA TÜKETİLEN ÇİĞ VE UHT SÜTLERDE  
AFLATOKSİN M<sub>1</sub> TAYİNİ**

VETERİNER HEKİM Mustafa KANTEMİR  
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Emrullah SAĞUN

VAN-2007

T.C.  
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**AĞRI'DA TÜKETİLEN ÇİĞ VE UHT SÜTLERDE  
AFLATOKSİN M<sub>1</sub> TAYİNİ**

VETERİNER HEKİM Mustafa KANTEMİR  
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Yakup Can SANCAK  
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Emrullah SAĞUN  
Üye

Yrd. Doç. Dr. Yusuf TUNÇTÜRK  
Üye

TEZ KABUL TARİHİ  
/07/2007

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tez konusunun seçiminde, araştırmaların yürütülmesinde ve her konuda yol gösteren saygıdeğer tez danışmanım Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Emrullah SAĞUN'a ayrıca araştırmamda desteklerini gördüğüm Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yakup Can SANCAK'a, aynı Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden, Doç. Dr. Sema AĞAOĞLU, Doç. Dr. Mustafa ALIŐARLI, Doç. Dr. Kamil EKİCİ, Dr. Süleyman ALEMDAR'a, çalışmamda her türlü kolaylığı sağlayan 12 nci Mekanize Piyade Tugay B Tipi Gıda Kontrol Müfreze Komutanı Uzm. Veteriner Hekim Yüzbaşı Erol Gazi HİSOĞLU'na ayrıca benden manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Gökşen KANTEMİR ve kızım Beren KANTEMİR'e teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

Kabul ve onay.....	I
TEŞEKKÜR .....	II
İÇİNDEKİLER .....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	VI
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	VII
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	5
2.1. Mikotoksinler ve Mikotoksikozis.....	5
2.2. Mikotoksinlerin Oluşumu.....	10
2.3. Mikotoksin Oluşumuna Etki Eden Faktörler.....	11
2.3.1. Rutubet .....	13
2.3.2. Sıcaklık .....	13
2.3.3. pH.....	14
2.3.4. Oksijen ve karbondioksit.....	14
2.3.5. Gıda maddesinin yapısı.....	15
2.4.6. Süre.....	15
2.4.7. Mekanik hasar.....	16
2.7.8. Diğer faktörler.....	16
2.4. Aflatoksinler.....	16
2.4.1. Aflatoksinlerin özellikleri.....	17
2.4.2. Çeşitli teknolojik işlemlerin aflatoksinler üzerine etkileri.....	22
2.4.2.1. Isıl işlem.....	22
2.4.2.2. Sütün diğer ürünlere işlenmesi.....	24
2.4.3. Aflatoksinlerin toksisitesi.....	27
2.4.4. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin.....	32
2.4.4.1. Süt.....	35
2.4.4.2. Peynir.....	38

2.4.4.3. Yoğurt.....	40
2.4.4.4. Diğer süt ürünleri.....	40
2.5. Sık Karşılaşılan Diğer Mikotoksinler.....	41
2.5.1. Ergot alkaloidleri.....	41
2.5.2. Zearalenon.....	42
2.5.3. Patulin.....	43
2.5.4. Okratoksinler.....	43
2.6. Yasal Düzenlemeler.....	44
2.7. Küflenmenin Önlenmesi ve Detoksifikasyon.....	48
2.7.1. Küflenmenin önlenmesi.....	48
2.7.2. Detoksifikasyon.....	50
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	54
3.1. Gereç.....	54
3.2. Yöntem.....	54
3.2.1. Elisa yönteminin prensibi.....	54
3.2.2. Uygulamada dikkat edilecek hususlar.....	55
3.2.3. Analizin yapılışı.....	55
3.2.3.1. Örneklerin hazırlanması.....	55
3.2.3.2. Test prosedürü.....	55
4. BULGULAR.....	57
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	64
6. ÖZET.....	72
7. SUMMARY.....	73
8. KAYNAKLAR.....	74
9. ÖZGEÇMİŞ.....	84

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AFB <sub>1</sub>	: Aflatoksin B <sub>1</sub>
AFB <sub>2</sub>	: Aflatoksin B <sub>2</sub>
AFB <sub>2a</sub>	: Aflatoksin B <sub>2a</sub>
AFG <sub>1</sub>	: Aflatoksin G <sub>1</sub>
AFG <sub>2</sub>	: Aflatoksin G <sub>2</sub>
AFG <sub>2a</sub>	: Aflatoksin G <sub>2a</sub>
AFM <sub>1</sub>	: Aflatoksin M <sub>1</sub>
AFM <sub>2</sub>	: Aflatoksin M <sub>2</sub>
ATA	: Alimentary Toxic Aleukia
ATP	: Adenosine Triphosphate
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ELISA	: Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay
HPLC	: High Performance Liquid Chromotography
HSCAS	: Hydrated sodium calcium aluminosilicate
IARC	: International Agency for Research in Cancer
IgA	: Immun Globulin A
IgG	: Immun Globulin G
LD <sub>50</sub>	: Letal Doz 50
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
OA	: Okratoksin A
RNA	: Ribonükleik asit
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TFA	: Trifloroasetik asit
TLC	: Thin Layer Chromatography
UHT	: Ultra High Temperature
UV	: Ultra Viyole
WHO	: World Health Organisation

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	<i>Aspergillus flavus</i> 'un elektron mikroskopundaki görüntüsü.....	17
Şekil 2.	Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları.....	21
Şekil 3.	Süt ve süt ürünlerine aflatoksinin bulaşma yolları.....	33
Şekil 4.	Çiğ ve UHT süt örneklerinde tespit edilen ortalama AFM <sub>1</sub> düzeylerinin karşılaştırılması.....	63

## ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1.	Ağrı'daki süt üretimi.....	4
Çizelge 2.	Mikotoksin çeşitleri, bunların kaynakları, hedef hayvan, doku veya organlar ve etkileri.....	9
Çizelge 3.	Aflatoksinler ve bunları sentezleyen fungus türleri.....	18
Çizelge 4.	<i>Aspergillus</i> soyuna bağlı küflerin gelişme değerleri.....	20
Çizelge 5.	Önemli bazı aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	22
Çizelge 6.	Değişik Avrupa Ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde gıdalar için belirlenmiş aflatoksin ve bazı mikotoksinlerin maksimum seviyeleri.....	45
Çizelge 7.	Ülkemizde gıda maddelerindeki aflatoksin ve bazı mikotoksinlerin maksimum seviyeleri .....	48
Çizelge 8.	Ağrı ilinde satışa sunulan çiğ sütlerde tespit edilen AFM <sub>1</sub> düzeyleri ve aylık ortalamaları .....	58
Çizelge 9.	Ağrı ilinde satışa sunulan UHT sütlerde tespit edilen AFM <sub>1</sub> düzeyleri ve aylık ortalamaları .....	59
Çizelge 10.	Çiğ sütlerde tespit edilen AFM <sub>1</sub> miktarlarının genel görünümü.....	60
Çizelge 11.	UHT sütlerde tespit edilen AFM <sub>1</sub> miktarlarının genel görünümü.....	61
Çizelge 12.	İncelenen süt örneklerindeki AFM <sub>1</sub> miktarının genel görünümü.....	62



## 1. GİRİŞ

Aflatoksinler *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nominus* olmak üzere çeşitli *Aspergillus* türleri ile bazı *Penicillium* ve *Rhizopus* soyuna bağlı küfler tarafından sentezlenen mikotoksinlerdir (Kaya, 1984; Steyn, 1995; D’Mello ve Macdonald, 1997; Başkaya ve Atasever, 2005).

Binlerce küf türü arasında yaklaşık 350 civarında küf, mikotoksin üretmekte olup bunlardan da 20-25 tanesi doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Bu küf türleri tarafından üretilen çok sayıda mikotoksin çeşidi vardır (Steyn, 1995; Whitlow ve Hagler, 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Yapılan tahminlere göre, dünya genelinde üretilen besin maddeleri ve diğer tarım ürünlerinin % 5-10’u, küfler tarafından, insan ve hayvanların tüketemeyecekleri düzeyde bozulmaya uğratılmaktadır. Kayıpların büyük bir bölümünün geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerde olması, bu ülkelerdeki yetersiz ve dengesiz beslenme sorunları da dikkate alındığında, alınabilecek önlemlerin önemi ortaya çıkmaktadır (Topal, 1993).

Mikotoksikozis insanlar tarafından çok eski tarihlerden beri bilinmektedir. Bilinen ilk mikotoksikozis olayı çavdar ve diğer tahıl tanelerinde üreyen *Claviceps purpurea*’nın salgıladığı ergot alkaloidinden kaynaklanan “Ergotizm” adı verilen mikotoksikozistir. Avrupa’da binlerce insanın ölümüne neden olan bu mikotoksikozis, kutsal ateş veya Aziz Antonius humması (St. Anthony’s fire) olarak isimlendirilmiştir (Tunail, 2000).

Aflatoksinler, insanlar ve tüm sıcakkanlı hayvanlarda toksikasyona sebebiyet vermeleri, her çeşit yem ve gıda maddesinde bulunabilmeleri, küflü yemleri yiyen hayvanlardan elde edilen et, süt, yumurta ve diğer ürünlerde kalıntılarına rastlanması, kanser başta olmak üzere akut, subakut ve kronik olarak seyreden pek çok hastalığa sebep olması nedeniyle halen üzerinde yoğun biçimde araştırma yapılan en önemli mikotoksin grubudur (Kaya, 1989; Tunail, 2000; Creppy, 2002).

Ülkemizde ilk aflatoksin problemi 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen iç fındıkların bir kısmının geri gönderilmesi ile başlamıştır. 1972 ve 1974 yıllarında da Amerika Birleşik Devletleri'ne ihraç edilen Antep fıstıkları, aflatoksin içerdiği için geri gönderilmiştir (Kaya, 1989; Özmenteşe, 2002).

Aflatoksin sorunu, insan sağlığı için büyük bir tehlike oluşturmasının yanısıra, birçok ülke için ekonomik yönden de önem taşımaktadır. Aflatoksinle kontamine olan gıdaları tüketmek veya ihraç etmek mümkün olmayıp, çoğu kez ürün imha edilmek zorunda kalınmakta ya da denetim mekanizması yetersiz olan ülkelerde iç pazarda tüketime sunulmaktadır. Bu durum, ağır ekonomik kayıplara yol açmakta ve söz konusu ülkelerde insan sağlığını tehdit etmektedir. Ürünlerde aflatoksin oluşumunun bilinçsiz üretim ile hijyen ve sanitasyon kurallarını yeterli düzeyde uygulamama gibi çeşitli nedenlere bağlı olarak çoğu kez önlenemediği de bir gerçektir (Özkaya ve Temiz, 2003).

İnsanlar ve hayvanlar için en toksik olan aflatoksin, yemlerde ve gıda maddelerinde sıklıkla bulunan aflatoksin B<sub>1</sub> olup bunu aflatoksin M<sub>1</sub> takip etmektedir. Aflatoksin M<sub>1</sub>, aflatoksin B<sub>1</sub> içeren yemlerle beslenen hayvanların karaciğerinde toksinin metabolize olarak sütle salgılanan şeklidir (Van Egmond, 1989; Wood, 1991).

Süt temel gıda maddelerinden biri olup insan beslenmesi açısından büyük bir öneme sahiptir. Doğrudan süt olarak tüketildiği gibi, birçok ürüne dönüştürülerek ürünler halinde de tüketilmektedir. Ancak süt ve süt ürünlerinde sıklıkla rastlanan AFM<sub>1</sub> önemli bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Sütlerden çeşitli ürünlerin üretilmesi, sütlerin pek çok gıda maddesine katılması, sütün ve sütlü ürünlerin özellikle bebek ve çocukların beslenmesinde yoğun bir şekilde kullanılması ve süte uygulanan çeşitli teknolojik işlemlerle (pastörizasyon, sterilizasyon, kurutma, soğutma, dondurma) tamamen yıkımlanamaması aflatoksin M<sub>1</sub>'in beslenme ve halk sağlığı açısından ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır (Blanco ve ark., 1988; Galvano ve ark., 1996; Özmenteşe, 2002). Ayrıca yetişkinlere göre daha fazla süt tüketmek zorunda olan bebek ve çocukların biyotransformasyon kapasitelerinin daha düşük olması nedeniyle aflatoksin M<sub>1</sub>'e yetişkin insanlara göre daha duyarlı olması da yine bu toksinin sağlık açısından ne kadar önemli

olduğunu ortaya koymaktadır. Bütün bu bulgular gıda ve yemlerin aflatoxinlerle kontaminasyonunun potansiyel bir halk sağlığı problemi olduğunu göstermektedir (Bakırcı, 1995; Oruç, 2003).

Birçok ülkede yoğun önlemler alınmasına rağmen, aflatoxin içermeyen süt üretimi her zaman mümkün olmamaktadır. İşlenmiş sütlerde yüksek AFM<sub>1</sub> düzeylerinin nadir olarak gözlenmesine rağmen, büyük hacimdeki sütlerin birkaç litre kontamine süt ile kolayca bulaşması nedeniyle, ticari sütlerde AFM<sub>1</sub>'in bulunma sıklığı çiğ sütlere kıyasla daha yüksektir. Buna ilave olarak, modern analitik metotlar sayesinde sütteki çok düşük AFM<sub>1</sub> düzeyleri dahi belirlenebilmekte ve bunun sonucunda pozitif örneklerin yüzdesi artmaktadır (Govaris ve ark., 2001).

Süt ve ürünlerinin aflatoxin bulunma oranı coğrafi bölgelere, ülkelere ve mevsimlere göre farklılıklar göstermektedir. AFM<sub>1</sub> ile kontaminasyon oranları, sıcak veya soğuk mevsimlere göre de değişmektedir. Çünkü bahar ve yaz mevsiminde çayır, mera, ot, kaba yem çeşitleri kış mevsimine göre daha bol miktarda bulunmaktadır. Buna bağlı olarak, hayvanların toksinsiz yemlerle beslenmesi sonucu, sütleri ile aflatoxin atmaları azalmakta veya tamamen kaybolmaktadır. Dolayısıyla süt ve süt ürünlerinde AFM<sub>1</sub> seviyesi saptanamayacak düzeylere düşmektedir (Blanco ve ark., 1988; Pittet, 1998; Özkaya ve ark., 2002; Sarımehmetoğlu ve ark., 2004).

Türkiye'de süt hayvancılığı sektöründe son 30 yılda çok önemli gelişmeler olmasına rağmen, sektörün yapısal özelliklerinden kaynaklanan bir çok problem mevcuttur. Bu sektörde karşılaşılan en yaygın problemler sütün işlenmesi ve pazarlanması ile ilgili sorunlardır. Türkiye'de üretilen çiğ sütün yarıya yakın bir kısmı işlenmeden, çiğ süt olarak tüketiciye sunulurken, geriye kalan sütün önemli bir kısmı düşük kalite ve standartlardaki mandıralarda, çok az bir kısmı da modern teknolojiye sahip birimlerde işlenmektedir (Anonim, 2001).

Ağrı ilinin ekonomisi büyük ölçüde tarım ve hayvancılığa bağlıdır. 1.5-2 milyon hayvanın bulunduğu Ağrı ilinde 2003 yılına ait süt üretimi 234.850 (Çizelge 1) tondur (Anonim, 2004).

Çizelge 1. Ağrı'daki süt üretimi (ton) (Anonim, 2004)

ÜRÜNLER	YILLAR							
	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
SÜT	133.270	156.174	187.085	201.246	217.504	223.187	230.150	234.850

Ağrı'da sokak sütçülüğü genelde marketler aracılığıyla ve uygun olmayan koşullarda yapılmaktadır. Süt ve süt mamullerinin, ambalajlama eksikliği nedeniyle daha çok dışarıdan gelen ürünler pazar bulmaktadır. Üretilen sütler, peynir, yoğurt vb. şekilde aile içinde tüketilmekte; ihtiyaç fazlası, il içinde yerel pazarlarda satılmakta ya da büyük şehirlerdeki akrabalara gönderilmektedir (Anonim, 2004).

Bu araştırma; 12 ay süreyle Ağrı ilindeki çeşitli satış noktalarından temin edilen UHT ve çiğ süt örneklerindeki AFM<sub>1</sub> düzeylerini tespit etmek, mevsimsel farklılıkları belirlemek ve bu sütlerin Türk Gıda Kodeksi (TGK)'ne (Anonim, 2002) uygunluğunu tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Mikotoksinler ve Mikotoksikozis

Mikotoksinler, mantarlar (küfler) tarafından meydana getirilen ve bunları içeren yemleri tüketen hayvanlar ile besinleri yiyen insanlarda zehirlenmelere ve ölüme yol açabilen maddelerin genel adıdır. Mikotoksin terimi Grekçe mantar anlamına gelen *myco* ve zehir anlamındaki *toxin* kelimelerinin birleştirilmesinden türetilmiştir. İnsan ve hayvanlarda mikotoksinlerin sebep oldukları zehirlenme olaylarına, bu sebeple mikotoksin zehirlenmesi veya *mikotoksikozis* adı verilmektedir (Şanlı, 2002).

Mikotoksinli yemlerin tüketilmesi, hayvanlarda akut ve kronik zehirlenme, verim kaybı, ağırlık artışında azalma ve bağışıklık sisteminin baskılanmasına neden olur. Ayrıca mikotoksinler genotoksik etkilerinin yanı sıra, aflatoksin, okratoksin ve fumonisin gibi mikotoksinlerin çeşitli kanser tiplerinin oluşumunda rol oynaması ve hayvanlardan elde edilen besinler aracılığı ile insanlarda meydana getirecekleri sorunların boyutu nedeniyle halk sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir (Kaya, 2001; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Binlerce küf türünden büyük çoğunluğu mikotoksin oluşturmamaktadır. Mikotoksin üreten küf sayısının bugün yaklaşık olarak 350 civarında olduğu, bunlardan da sayıları 20-25'i bulan bir kısmının doğada yaygın olarak bulunduğu bildirilmektedir. Mikotoksin üreticisi olarak en çok bilinen küfler *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Claviceps* türleridir (Steyn, 1995; Whitlow ve Hagler, 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Küflerin insan ve hayvanlarda hastalık yaptıklarına dair bilgiler çok eski tarihlere kadar dayanmaktadır. Bilinen ilk mikotoksikozis olayı çavdar ve diğer tahıl danelerinde üreyen *Claviceps purpurea*'nın salgıladığı ergot alkaloidinden kaynaklanan "Ergotizm" adı verilen mikotoksikozisdir. 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; Tunail, 2000; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Kutsal ateş veya Aziz Antonius humması (St. Anthony's fire) olarak da bilinen ergotizm Orta Çağ'da, Avrupa'da, uzun yıllar boyunca görülmüştür. Avrupa'da binlerce insanın ölümüne neden olan bu hastalık, *Claviceps purpurea*'nın ürettiği çavdarların unundan yapılan ekmeği yiyen insanlarda görülmüştür. Hastalıkta yüksek ateşin yanı sıra; el, kol, ayak, bacaklar ile el ve ayak parmaklarında nekroz gibi belirtiler görülmekte fakat hastalığın nedeni bilinmemektedir. 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 Devletleri'nde, 1926-1927 yıllarında İngiltere'de, 1928 yılında Rusya'da ve en son olarak da 1978 yılında Etiyopya'da görülmüştür (Bakırcı, 1995; Tunail, 2000; Ender, 2001; Özmenteşe, 2002).

Diğer bir mikotoksikozis olayı, Rusya'nın Orenburg bölgesinde ikinci dünya savaşı yıllarında görülmüştür. *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* türleri ve özellikle de *Fusarium graminearum* mantar türü ile bulaşık tahıllardan (buğday, darı, çavdar) yapılan ekmeklerin yenmesi sonucu meydana gelen hastalık beslenmeye bağlı toksik etki ile kanda lökosit sayısının düşmesi sonucu oluşan lösemi anlamına gelen "Alimentary Toxic Aleukia (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 lökosit sayısında düşme (lökopeni) görülmüştür. Günümüzde ise bu hastalıkta *Fusarium graminearum*'un T-2 toksininin yanında trikotesenlerin de insanların ölümüne sebep olduğu bilinmektedir (Tunail, 2000; Özmenteşe, 2002).

Mikotoksinler arasında en önemlisi ve üzerinde en çok çalışılanı, başta *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus niger* olmak üzere çeşitli *Aspergillus* türleri ile bazı *Penicillium* ve *Rhizopus* soyuna bağlı küfler tarafından sentezlenen aflatoksinlerdir (Kaya, 1984; Steyn, 1995; D'Mello ve Macdonald, 1997; Başkaya ve

Atasever, 2005).

1960 yılında İngiltere'de 100 000'den fazla hindi palazının ölümüne, Amerika Birleşik Devletleri'nde de 1 000 000 alabalığın 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. Çok sayıda ölüme neden olan Hindi X Hastalığı ile mikotoksine 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 (Marth, 1979; Bakırcı, 1995; Whitlow ve Hagler, 2001).

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 Devletleri'ne 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 Türkiye'den Almanya ve İsviçre'ye ihraç edilen kırmızı biberlerin bakkal ve marketlerden alınan örneklerinde aflatoksin tespit edildiği bildirilmiş; fakat ürünler geri gönderilmemiştir (Kaya, 1989; Ender, 2001; Özmenteşe, 2002).

Doğal kirletici olarak gıda ve yemlerde bulunabilen, insan ve hayvanların sağlığı yönünden önemli mikotoksinlerden bazıları; aflatoksinler, okratoksinler, zearalenon, sitrinin, patulin, sterigmatosistin, trikotesenler (T-2 toksin, deoksinivalenol gibi), PR toksin, penisillik asit, sporidesmin, ergot alkaloidleri, streoviridin, alternariol, tenuazonik asit, rubratoksinler, sikloklorotin, slaframin, luteoskyrin, rugulosin, tremorin A, kojik asit, okzalik asittir (Kaya, 1989).

Besin ve yemlerde bulunabilen, insan ve hayvan sağlığı yönünden önem taşıyan mikotoksinler, bunların kaynakları, hedef organ ve dokularda oluşturdukları etkiler ile etkilenen canlılar Çizelge 2’de özetlenmiştir (Kaya, 2001).



Çizelge 2. Mikotoksin çeşitleri, bunların 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 ve yağlı tohum küspeleri	Karaciğer; gelişme hızı ve verimde azalma, sarılık, kanama, sürgün, karaciğer kanseri ve bağışıklık sisteminin baskılanması	Tüm hayvan türleri ve insanlar
<i>A. ochraceus</i> <i>P. viridicatum</i>	Okratoksinler	Tahıllar ve otlar	Karaciğer ve böbrek hasarı, iştah kaybı, ishal ve bağışıklık sisteminin baskılanması	Kanatlılar ve insanlar
<i>P. rubrum</i>	Rubratoksinler	Tahıllar, baklagiller ve yağlı tohumlar	Aflatoksinlere benzer etki gösterirler	Tüm hayvan türleri
<i>F. roseum</i> ve diğer <i>Fusarium</i> türleri	Zearelenon	Tahıllar	Östrojenik etki	Geviş getirenler ve domuzlar
<i>P. citrinum</i>	Sitrinin	Tahıllar	Sinirsel belirtiler, ishal, gelişme geriliği, karaciğer ve böbrek nekrozu, kalp ve iskelet kasında miyopati ve karaciğer kanseri	Kanatlılar ve domuzlarda
<i>A. versicolor</i> <i>A. nidulans</i>	Aspertoksin Sterigmatosistin	Tahıllar, pirinç ve yemler	Karaciğer kanseri	Tüm hayvan türleri
<i>A. clavatus</i> <i>P. patulum</i>	Patulin	Silaj, elma ve yemler	Sinirsel belirtiler, beyin kanaması ve deri kanseri	Sığırlar
<i>A. ochraceus</i> <i>P. puberulum</i>	Penisillik asit	Tahıllar ve mısır	Deri kanseri ve kanamalar	Tüm hayvan türleri
<i>Fusarium</i> , <i>Trikoderma</i> , <i>Sefalosporium</i> vb.	Trikotesenler	Tahıllar ve yemler	Dermatit, deride nekroz, kanamalar, anemi ve granülositopeni vb.	Tüm hayvan türleri
<i>P. citreoviridae</i>	Streoviridin	Pirinç ve tahıllar	MSS, kalp ve solunum felci ve çırpınmalar	Tüm hayvan türleri
<i>F. tricinctum</i>	Butenolid	Mısır, ot ve tahıllar	Bacaklarda gangren ve kuyrukda nekroz	Sığırlar
<i>Penicilium</i> türleri	Penitremler	Tahıllar	Kas titremeleri, felç ve çırpınmalar	Tüm hayvan türleri
<i>Fusarium</i> türleri	Fuminosinler	Mısır	Beyin ve akciğer yangısı	At, domuz, ve kanatlılar
<i>A. flavus</i> <i>A. oryzae</i>	Kojik asit	Mısır	Çırpınmalar ve ödem	Tüm hayvan türleri
<i>A. niger</i> <i>A. oxalicum</i>	Okzalik asit	Bitkiler	Mide irkiltisi, MSS ve böbrek hasarı, kanama ve kan kalsiyum düzeyinde azalma	Tüm hayvan türleri
<i>C. purpurea</i> <i>C. paspali</i>	Ergot alkaloidler	Tahıllar	Kuru gangren, aşırı uyarı ve kanın pıhtılaşması	Tüm hayvan türleri

## 2.2. Mikotoksinlerin Oluşumu

Mikotoksinler toksin salgılayan küflerin metabolitleri olup; hayvan yemi ve insan gıdası olarak üretilen bitkisel ürünlerin üretimi, hasadı, işlenmesi ve depolanması sırasında şekillenir (Kaya, 1989; Tunail, 2000; Whitlow ve Hagler, 2002).

Genellikle tahıl çeşitlerinde tek hücreli mantarların aşırı ölçüde çoğalmasıyla ilgili olarak kullanılan *küf* sözcüğü, bir sınıflandırma terimi değildir. Çoğunlukla, saprofit nitelikli mantarların invazyonuna bağlı olarak, tarımsal ürünlerin ve hazır yiyeceklerin bozulup tozlu ve lifli bir görünüm alması *küflenme* olarak nitelenir (Şanlı, 2002). Küflenme ile besin maddeleri ve yemlerde, gözle görülebilir renk ve şekil değişiklikleri yanında, ortamda üreyen mantar topluluğuna bağlı olarak gelişen enzimatik ve kimyasal tepkimeler sonucu hızla bozulmalar başlar. Böylece, besin ve yemler su ve kuru madde kaybeder; başta nişastalı maddeler ve yağlar olmak üzere besin maddeleri parçalanarak, gıdaların besleyici değerleri azalır (Kaya, 1989).

Bu duruma göre mikotoksinler; küflenmiş tarımsal ürünlerde, bitkisel ve hayvansal besinlerde hızla çoğalan tek hücreli mantarlar tarafından sentezlenerek, aynı ortama salıverilen doğal kirleticiler niteliğindedir (Kaya ve Yarsan, 1995). Mikotoksinler, mantarlar öldükten sonra da yem ve besinlerde uzun süre kalırlar. Anılan maddelerde, görülebilir bir küflenme olmadığında bile mikotoksinler tehlikeli düzeylerde bulunabilir. Normal pişirme ve işleme uygulamaları sırasında, özellikle aflatoksinler olmak üzere, mikotoksinlerin önemli bir kısmının parçalanmadan kalması, konunun önemini daha da artırmaktadır (Kaya, 2001).

Küf sporları bitki, gıda ve yemlerin yanı sıra hava, su, toprak gibi yollarla da bulaşabilmekte, buralarda da küf sporları üreyip gelişebilmekte ve gelişme fazının sonunda miselleri içinde mikotoksin üretebilmektedirler (Reddy ve Waliyar, 2007). Mikotoksinli yemleri yiyen hayvanların et, süt ve yumurtalarının tüketilmesi sonucu veya doğrudan mikotoksinli bitkilerin ve küflenmiş çeşitli gıda maddelerinin insanlar tarafından tüketilmesi

ile de, insanlarda mikotoksikozis görülebilmektedir (D'Mello ve Macdonald, 1997; Whitlow ve Hagler, 2001; Şanlı, 2002).

Gıda ve yem maddelerinde çok çeşitli küfler üremekle beraber, bunların büyük çoğunluğu mikotoksin oluşturmamaktadır. Mikotoksin üreticisi olarak en çok bilinen küf türleri *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium*'dur (Kaya, 1984; Steyn, 1995; Whitlow ve Hagler, 2001; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Küfler tarafından üretilen mikotoksinleri, bunları sentezleyen küf cins veya türlerine göre sınıflandırmak mümkün değildir. Çünkü bir mikotoksin farklı küfün türleri tarafından sentezlenebildiği gibi, bir küf türü de aynı anda farklı mikotoksinler sentezleyebilmektedir. Örneğin patulin mikotoksini; *Byssoschlamys nivea*, *Byssoschlamys 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 penisilik asit, okratoksin A, tremortin A ve B ile siklopiazonik asit de üretmektedir. Aynı şekilde *Penicillium viridicatum*; sitrinin, okratoksin A ve penisilik asit oluşturmaktadır (Tunail, 2000; Whitlow ve Hagler, 2001).

### **2.3. Mikotoksin Oluşumuna Tesir Eden 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 (Şanlı, 2002).

Küflenme olayının meydana gelmesi için öncelikli şart, küf sporunun bulunmasıdır. Küflerde eşeysiz üreme, eşeyli üremeye (seksüel üreme) göre daha önemlidir. 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).

Her ürünün yapısına, bileşimine, içerdiği nem oranına, bulunduğu ortam koşullarına göre ürünün üzerinde gelişen küf cinsleri, 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 (20°C) ve nisbi rutubet (% 60 dolaylarında) şartlarına sahip olan ambar ortamına alışan *Aspergillus* ve *Penicillium* türleridir. Üçüncüsü ise depo şartlarında iyi gelişen *Fusarium*, *Sardaria*, *Populaspora*, *Trichoderma* ve *Stachybothria* gibi küflerdir (Kaya, 1989; 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 ürünlere bulaşır. Hasat esnasında bulaşmada toprak, sap ve yapraklardan ziyade ürünün biçilme yöntemi önemlidir. Elle yapılan biçmeye nazaran, makinalarla yapılan biçmede bulaşma çok daha fazla olup; makinaların depo ve elevatörleri bulaşmaya neden olmaktadır (Tunail, 2000).

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 kurutulularak depolanmaları, küf üremesinin engellenmesi bakımından çok önemlidir (Tunail, 2000).

Küflerin üremelerini ve mikotoksin sentezlemelerini genel olarak etkileyen başlıca faktörleri; rutubet, sıcaklık, pH, oksijen ve karbondioksit, gıda ve yem maddesinin yapısı, süre, mekanik hasar ve diğer faktörler olarak sıralayabiliriz (Kaya ve Yarsan, 1995; Kaya, 1989).

### 2.3.1. Rutubet

Küflerin gıda ve besin maddelerinde gelişmelerinde 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 (Şanlı, 2002; Gürses ve ark., 2004).

Küflerin üremesi ve toksin sentezleyebilmesi için gereken rutubet oranları birbirinden farklıdır. Küflerin üreyebilmesi için gereken rutubet oranı toksin salgılayabilmeleri için gereken rutubet oranından daha düşüktür. Ortamın rutubeti arttıkça gıdanın da içerdiği rutubet ve su aktivitesi ( $a_w$ ) değeri artar (Tunail, 2000).

Küfler, türlere göre değişmekle birlikte, genel olarak ortam rutubetinin % 50-60'ın üzerine çıktığı, gıda rutubetinin % 9'un üzerine,  $a_w$  değerinin de 0.70'in üzerine çıktığı şartlarda kolayca ürer ve mikotoksin sentezleyebilirler (Kaya, 2001; Yaroğlu, 2002).

*Penicillium* ve *Fusarium*'lar üreyebilmeleri için *Aspergillus*'lardan daha yüksek su aktivitesine ihtiyaç duyarlar. Bazı önemli *Aspergillus* türlerinin ihtiyaç duyduğu minimum  $a_w$  değeri olan 0.80'nin altında, hatta  $a_w$  0.70-0.71 değerlerinde bile gelişebilirler. Bu nedenle *Aspergillus*'lar kserofilik (kuru ortamı seven) 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 çıkması ve gıda rutubetinin % 17-19'a, su aktivitesinin 0.83-0.87'e kadar yükselmesi gerekir (Tunail, 2000; Whitlow ve Hagler, 2001; Gürses ve ark., 2004).

### 2.3.2. Sıcaklık

Sıcaklık, küflerin üremesi ve gelişmesinin yanı sıra mikotoksin sentezlemelerine ve sentezlenen mikotoksinlerin türüne 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 (Şanlı, 2002).

Küfler, 10 ile 40 °C'ler arasında üreyebilmekle birlikte, optimum üreme sıcaklığı 20 -30°C'ler arasındadır. *Penicillium* ve *Fucarium*'lar 5°C'den daha düşük sıcaklık derecelerinde gelişebilmelerine karşın, *Aspergillus*'lar daha yüksek sıcaklık derecelerinde ürer ve toksin sentezlerler (Tunail, 2000; Whitlow ve Hagler, 2001). Aflatoksin sentezleyen *Aspergillus*'lar 10 ile 45°C arası sıcaklıklarda ürerken optimum üreme sıcaklık dereceleri 35-38°C olup, 13-42°C arasında toksin üretirken en fazla toksin sentezledikleri sıcaklık ise 25 ile 30°C arasındadır (Whitlow ve Hagler, 2002; Gürses ve ark., 2004). *Aspergillus*'lar içinde sadece *Aspergillus ochraceus* diğer türlere nazaran daha düşük sıcaklık derecelerinde (12-37°C) üreyebilmekte ve okratoksin A sentezlemektedir (Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2002).

Uzun süre depolanacak tahıllarda küf gelişimini önlemek için danelerin rutubet oranının % 13.5 veya altında olması ve 10-15°C'lerde depolanması önerilmektedir. Depo sıcaklığının daha aşağı derecelere çekilebilme imkanı var ise ürünün rutubetinin biraz daha yüksek olmasında bir sakınca olmadığı bildirilmiştir (Özmenteşe, 2002).

### **2.3.3. pH**

Küfler pH 1.5 ile 11 gibi geniş bir aralıkta üreyebilmelerine karşın, optimum üreme pH değeri 5-6 arasında olup, özellikle de asitli ortamlarda daha iyi üreyebilmektedirler. *Aspergillus* türlerinin optimum üreme pH'ları 5 olmakla birlikte pH 2.5 ile 6 arasında olan asitik ortamlarda toksin sentezleyebilmektedirler (Şanlı, 2002; Whitlow ve Hagler, 2002).

### **2.3.4. Oksijen ve karbondioksit**

Küfler aerobik organizmalar olmakla birlikte üremeleri ve mikotoksin sentezlemeleri için oksijene olan ihtiyaçları bakımından mantar türleri arasında önemli farklar bulunur. Ortamdaki oksijen miktarının azaltılması veya karbondioksit miktarının artırılması küflerin gelişmelerini ve toksin sentezlemelerini olumsuz yönde etkiler.

Ortamın oksijen yoğunluğunun % 45'den % 1'e kadar 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. Hava değişimi sınırlı, oksijensiz yer veya silolarda depolanan tarım ürünleri, yem ve yem maddelerinde küflenme baskı altında tutulur (Kaya, 1989; Whitlow ve Hagler, 2002).

### **2.3.5. Gıda maddesinin yapısı**

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 monosakkaritler ile suda çözünebilen organik maddeleri besin kaynağı olarak kullanabilirler. Ayrıca, küflerin üreyip toksin sentezleyebilmeleri için pepton, polipeptit 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 ise en sık olarak aflatoksin oluşumu ile karşılaşılmaktadır (Şanlı, 2002; Yaroğlu, 2002).

### **2.3.6. Süre**

Küflerin gıda ve yem maddelerinde üremeleri ve mikotoksin sentezleyebilmeleri için belirli bir sürenin geçmesi gerekir. Depolama süresinin uzunluğu üremeye 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 sağlığı tehdit eden miktarlarda mikotoksin sentezleyebilmektedirler (Şanlı, 2002). *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 (Yaroğlu, 2002).

### **2.3.7. Mekanik hasar**

Tarlada hasat öncesi tahıllar ve bitkisel ürünler, dışarıdan kabuk veya tohum kabuğu ile çevrili olmaları, dış dokularında bulunan eter yapısındaki yağlar, antibiyotik etkili maddeler, fitositlerin bulunması gibi nedenlerle küflenmeye karşı koruma altındadırlar. Ürünler hasat esnasında veya daha sonraki işlemler sırasında çizilerek, parçalanarak, ezilerek, kırılarak mekanik hasara uğrarlar ve aynı zamanda bu işlemler sırasında küflerin etki edebilecekleri yüzeyler de genişlemiş olur. Bu tür hasara uğramış ürünlerde küflerin üremesi ve toksin sentezlemeleri daha kolay meydana gelmektedir. Karma yemlerde, yem maddeleri zaten parçalanmış veya ezilmiş halde bulduklarından bu durum yemlerin küflenmelerini ve mikotoksinlerle kirlenmelerini kolaylaştırır (Kaya, 2001).

### **2.3.8. Diğer faktörler**

Küflerin üremesi ve mikotoksin sentezine etki eden diğer faktörler olarak ortamın bileşimi ve ışık durumu, birden fazla küf türünün bulunması, gıda ve yemlerin hasat zamanı, iklim şartları ve havalandırma sayılabilir (Kaya, 1984; Kaya, 2001; Yaroğlu, 2002).

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 üremelerinde ve mikotoksin sentezlemelerinde değişiklikler olabilmektedir (Yiannikouris ve Jouany, 2002; Yaroğlu, 2002).

## **2.4. Aflatoksinler**

Aflatoksin terimi *Aspergillus*’un A ve *flavus*’un fla harflerinin birleştirilip toksin kelimesinin ilavesiyle oluşturulmuştur (Kaya, 1984; Gürbüz ve ark., 1999).



Aflatoksinler hemen tüm hayvan türleri ve insanlar için zehirli olmaları, her çeşit yem ve gıda maddesinde yaygın kirlenmeye yol açmaları, birçok hayvan türünde ve insanlarda karsinojenik etkilerinin görülmesi, küflü yemleri yiyen hayvanların et, süt ve diğer ürünlerinde kalıntılarına rastlanması sebebiyle, halen üzerinde yoğun biçimde araştırma yapılan en önemli mikotoksin grubunu oluşturmaktadırlar (Kaya, 1989).

#### 2.4.1. Aflatoksinlerin özellikleri

Aflatoksinler, özellikle *Aspergillus flavus* (Şekil 1), *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* olmak üzere, diğer bazı *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Rhizopus* türleri tarafından uygun sıcaklık ve rutubet koşullarında sentezlenen toksik, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik fungal metabolitlerdir (Steyn, 1995; D'Mello ve Macdonald, 1997; Govaris ve ark., 2001; Başkaya ve Atasever, 2005). 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 bildirilmiştir. Aflatoksinler ve bunları sentezleyen fungus türleri Çizelge 3'te sunulmuştur (Özturhan, 2005).



Şekil 1. *Aspergillus flavus*'un elektron mikroskobundaki görüntüsü (Anonim, 2006)

Çizelge 3. Aflatoksinler ve bunları sentezleyen fungus türleri (Özturhan, 2005).

Fungus Türleri	Aflatoksinler			
	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
<i>A. flavus</i>	+	+	+	+
<i>A. flavus var. columnaris</i>		+		
<i>A. oryzae</i>	+	+		
<i>A. parasiticus</i>	+	+	+	+
<i>A. parasiticus var. globosus</i>	+	+	+	+
<i>A. niger</i>	+			
<i>A. ventii</i>	+			
<i>A. ruber</i>	+			
<i>A. ostianus</i>	+	+		
<i>A. ochraceus</i>	+			
<i>P. variable</i>	+			
<i>P. puberulum</i>	+	+	+	+
<i>P. citrinum</i>	+			
<i>P. frequentas</i>	+			

Önceleri aflatoksinin tek bir bileşik olduğu sanılmıştır. Fakat daha sonra ince tabaka kromatografisi (TLC) ile yapılan çalışmalarda aflatoksinin dört farklı bileşik olduğu belirlenmiştir. Ultra viyole ışığı altında mavi (blue) renk veren iki bileşik aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) ve aflatoksin B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>); sarı-yeşil (green) renk veren iki bileşik aflatoksin G<sub>1</sub> (AFG<sub>1</sub>) ve aflatoksin G<sub>2</sub> (AFG<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 çalışmalarda, 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; Kaya, 2001; Akdemir ve Altıntaş, 2004; Verma, 2004). Aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) ve Aflatoksin M<sub>2</sub> (AFM<sub>2</sub>), AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>'nin süt veren hayvanların karaciğerinde metabolize olarak OH içeren türevlere dönüşmesi ve sütle salgılanmasıyla ortaya çıkarlar (Wood, 1991). AFM<sub>2</sub> aynı zamanda dihidro-aflatoksin M<sub>1</sub>'dir. AFM<sub>1</sub>'in karsinojenik gücü AFB<sub>1</sub>'den 10 kat daha düşüktür (Lopez ve ark., 2001). Aflatoksinlere verilen rakamlar ise, toksisite derecesini göstermektedir. Numara "1" ile simgelenenler yüksek toksisiteyi, numara "2" ile gösterilenler ise daha düşük toksisiteyi ifade etmektedirler (Tunail, 2000).

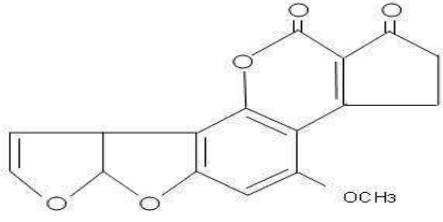
Günümüzde aflatoksinler, aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub> olmak üzere başlıca altı ana bileşikten oluşmaktadırlar. Bunlara ilave olarak, aflatoksinlerin sayıları gerek küflü kültürlerden gerekse hayvan vücudundan elde edilmiş metabolitleri ile (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>O</sub> ve aflatoksikol gibi) 17'yi bulmaktadır (Marth, 1979; Pittet, 1998; Anonymous, 2003).

Aflatoksin sentezleyen toksijenik *Aspergillus* küfleri, bütün dünyada yaygın olarak bulunurlar. Bu küfler çevre sıcaklığının 25°C civarında olduğu ortamlar ile a<sub>w</sub> değeri 0.80 ve üzerinde olan bütün ürünlerde üreyebilirler. *Aspergillus* soyuna bağlı küf türleri Çizelge 4'de gösterilen ortamlarda rahatlıkla gelişerek aflatoksin sentezleyebilirler (Jay, 1992).

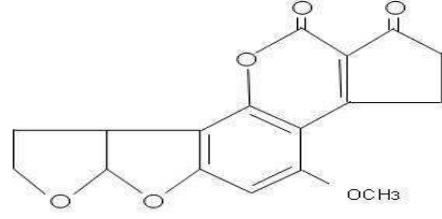
Çizelge 4. Aspergillus soyuna bağlı küflerin gelişme değerleri (Jay, 1992).

<b>Sıcaklık</b>	10-45°C
<b>a<sub>w</sub></b>	0.80 ve üzeri
<b>pH</b>	1.6-9.3
<b>Relatif rutubet</b>	% 60 ve üzeri

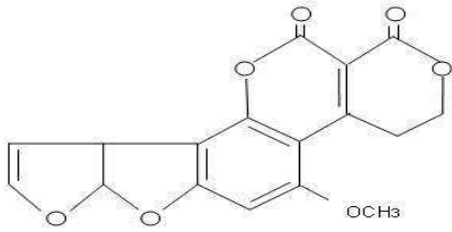
Aflatoksin ile kontamine olmuş ürünlerdeki biyolojik aktiviteden AFB<sub>1</sub> ve daha az olarakda AFG<sub>1</sub> sorumludur. Bu durum, her iki toksinin terminal furan halkasının 8,9 karbon pozisyonunda bir doymamış bağa sahip olmasıyla ilişkilendirilmektedir. Aflatoksin B<sub>2</sub>, B<sub>1</sub>'in, aflatoksin G<sub>2</sub>'de G<sub>1</sub>'in dihidro türevleridir. AFB<sub>2</sub> ve AFG<sub>2</sub> in vivo koşullarda metabolik olarak B<sub>1</sub> ve G<sub>1</sub>'e okside olmadıkları sürece biyolojik olarak inaktiftirler (Özkaya ve Temiz, 2003). 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 2'de (Özkaya ve Temiz, 2003; Reddy ve Waliyar, 2007), fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 5'de sunulmuştur (Anonymous, 2003; Reddy ve Waliyar, 2007).



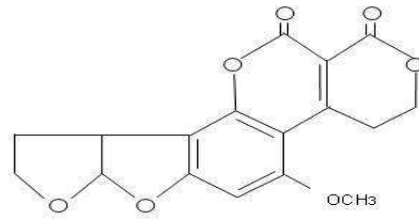
Aflatoxin B<sub>1</sub>



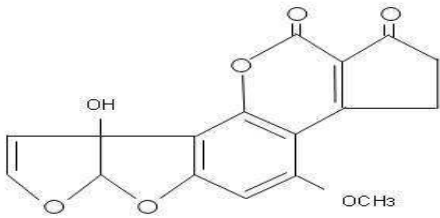
Aflatoxin B<sub>2</sub>



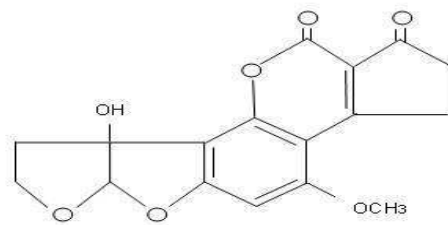
Aflatoxin G<sub>1</sub>



Aflatoxin G<sub>2</sub>



Aflatoxin M<sub>1</sub>



Aflatoxin M<sub>2</sub>

Şekil 2. Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları (Özkaya ve Temiz, 2003; Reddy ve Waliyar, 2007).

Çizelge 5. Önemli bazı aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Anonymous, 2003; Reddy ve Waliyar, 2007).

AFLATOKSİN	MOLEKÜLER FORMÜLÜ	ERİME NOKTASI (°C)	AĞIRLIĞI (g/mol)	UV. 365 nm de fluresan renk
B1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	268-269	312	Mavi
B2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	286-289	314	Mavi
G1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	244-246	328	Yeşil
G2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	237-240	330	Yeşil
M1	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	299	328	Mavi
M2	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	293	330	Mavi

Aflatoksinler; renksiz ya da sarı renkli, iğne şeklinde kristallerdir. Orta polarlıktaki çözücülerde (kloroform, metanol, etanol ve dimetilsülfoksit gibi) kolayca çözünebilen aflatoksinler, suda en fazla 10-20 mg/L'ye kadar çözünebilmektedir. Aflatoksinler, kuvvetli alkali ve oksitleyici maddelerle (sodyum hipoklorid, amonyak ve potasyum permanganat gibi) reaksiyona girince çabukca parçalanırlar (Özkaya ve Temiz, 2003; Anonymous, 2003).

#### 2.4.2. Çeşitli teknolojik işlemlerin aflatoksinler üzerine etkileri

##### 2.4.2.1 Isıl işlem

Sütte yüksek miktarlara ulaşabilen AFM<sub>1</sub>'in, çeşitli işleme teknikleri ile ne derece azalabileceğinin incelenmesi önemli araştırma konularından biri olmuştur. Bu amaçla en çok uygulanan yöntemler pastörizasyon, sterilizasyon, farklı sıcaklık ve sürelerde dondurarak ve soğutarak depolama işlemleridir (Van Egmond, 1989; Şanlı, 2002).

Sıcaklığın ve kurutmanın AFM<sub>1</sub> üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılan ilk çalışmada, Allcroft ve Carnaghan (1963) AFM<sub>1</sub> ile kontamine olmuş sütleri iki gruba ayırarak pastörize süte ve süt tozuna işlemleridir. Daha sonra bu ürünlerden ağız yoluyla

ördek palazlarına vermişlerdir. Elde edilen bulgulara göre, ne pastörizasyon işleminin ne de süt tozuna işlemenin, mevcut toksini azaltmada herhangi bir etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir.

Stolof ve ark. (1975) sütün 63°C'de 30 dakika ve 77°C'de 16 saniye süreyle pastörize edilmesi ile AFM<sub>1</sub> miktarında bir azalmanın meydana gelmediğini; ancak çiğ sütün -18°C'de depolanmasıyla, 68 gün sonra AFM<sub>1</sub> miktarında azalmanın başladığını ve 120 gün sonunda bu azalmanın başlangıç değerinin % 45'ine ulaştığını belirtmişlerdir.

Sütün soğukta depolanmasına ilişkin farklı birçok veri bulunmaktadır. Stolof ve ark. (1981)'nin yaptıkları bir çalışmada -18°C'de depolanan sütün 53 gün sonra AFM<sub>1</sub> seviyesinin önemsenmeyecek seviyelere düştüğünü kaydetmişlerdir. Kiermeier ve Meshaley (1977) sütün AFM<sub>1</sub> düzeyinde 5°C'de 3. gün sonunda % 11-25 ve 0°C'de 4. ve 6. gün sonunda sırasıyla % 40 ve % 80 oranlarında azalma olduğunu gözlemlemişlerdir.

Yer fıstığı ve mısır yağlarındaki AFB<sub>1</sub> miktarında 250°C ye kadar bir değişiklik meydana gelmeyebileceği, rafine yer fıstığı yağlarında 250°C'de 10 dakika ısıtma ile % 96.0 oranında azalma olduğu, 160°C'de 30 dakika kavrulan yerfıstıklarında ise 100 ppm'den 5 ppm'e düştüğü, mısırdaki, 145-165°C'de kavrulma işleminden sonra AFB<sub>1</sub>'in içeriği % 40-80 oranında azalabildiği bildirilmiştir. Bununla beraber bu yüksek ısı uygulamaları yem maddeleri ve gıdaların organoleptik kalitesi ile besin değerinin azalmasına yol açmaktadır (Şanlı, 2002).

Yüksek sıcaklıklara dayanıklı olan aflatoksinler, ancak 300°C'den sonra parçalanabildikleri için pastörizasyon işleminden etkilenmezler. Bu nedenle aflatoksinlerle kirlenmiş olan besinlerin, her aşamada halk sağlığı yönünden sakıncalı olabileceği bildirilmiştir (Kaya, 2001; Şanlı, 2002).

Görüldüğü gibi ısı uygulamalarıyla ilgili farklı sonuçlar bildirilmiştir. Bununla birlikte aflatoksinlerin gıdalara uygulanan pastörizasyon, sterilizasyon, buharla muamele etme, fırında pişirme, soğutma ve dondurma gibi işlemlere dayanıklı olduğu ve bu

işlemlerden önemli düzeylerde etkilenmediği kabul edilmektedir (Tunail, 2000; Şanlı, 2002).

#### **2.4.2.2. Sütün diğer ürünlere işlenmesi**

Birçok ülkede, yapılan analizler sonucu ticari süt ve süt ürünlerinde AFM<sub>1</sub> bulunduğu görülmüştür. Bulunan AFM<sub>1</sub> düzeyleri mevsimsel bir değişim gösterdiği gibi, işlendiği ürünlerdeki (peynir, yoğurt gibi) miktarı da farklılık arz etmektedir (Wood, 1991).

AFM<sub>1</sub>'in dağılımını araştıran birçok araştırmacı, peynir yapımı sırasında doğal ve yapay olarak kontamine olmuş sütün peynire dönüşümü süresince, bu toksinin yıkılmadığı konusunda birleşmişlerdir (Govaris ve ark., 2001). AFM<sub>1</sub>'in işlenmiş süt ve ürünlerinde daha kararlı olduğu, peynir yapımı ve pastörizasyon işlemlerinden etkilenmediği; dolayısıyla eğer çiğ süt, AFM<sub>1</sub> ile kontamine olmuş ise bu sütün üretilen peynirin de AFM<sub>1</sub> ile kontamine olacağı belirtilmektedir (Sarımehmetoğlu ve ark., 2004).

AFM<sub>1</sub> süt ve süt ürünlerinde gıda hijyeni açısından ciddi sorunlar oluşturmaktadır. AFM<sub>1</sub>'in sütteki dağılımı homojen olmayıp kremanın ayrılması işlemi sırasında değişmektedir. Sütten kaymağın ayrılması durumunda AFM<sub>1</sub> miktarının % 80'i kaymağa geçer; geri kalan kısmı kazeine bağlanma özelliğinden dolayı sütte kalır (Galvano ve ark., 1996)

Peynirde bulunan AFM<sub>1</sub> düzeyindeki değişiklikler peynirin tipi, yapım teknolojisi, miktarı, sütün kazein miktarı, lipolitik etki, uygulanan sıcaklık işlemleri, proteolizis (olgunlaşma döneminde), kontamine sütün ışığa maruz kalması ve yapım işlemi sırasında peyniraltı suyunun uzaklaştırılması gibi nedenlere bağlı olabileceği bildirilmektedir (Galvano ve ark., 1996).

Birçok araştırmacı AFM<sub>1</sub> içeren sütün peynir yapımında, aflatoksin dağılımı hakkında farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Grant ve Carlson (1971)'un yaptığı araştırmada, aflatoksinin % 40.0'nun peyniraltı suyuna, % 10.0'unun yıkama suyuna geçtiğini ve geri kalan % 50.0'sinin ise peynirde kaldığını belirlemişlerdir. Buna karşılık Purchase ve ark.



(1972) yaptıkları araştırmada aflatoksinin hemen hemen tamamının peyniraltı suyuna geçtiğini tespit etmiştir. Wiseman ve Marth (1983) AFM<sub>1</sub> miktarının yarısından fazlasının peyniraltı suyunda kaldığını belirtirken, bazı araştırmacılar ise pıhtıda kaldığını belirtmişlerdir (Blanco ve ark., 1988). Ev yapımı peynir üretildikten sonra peynirde ve peyniraltı suyunda, AFM<sub>1</sub> seviyeleri ELISA yöntemiyle tespit edilmiş ve AFM<sub>1</sub>'in % 60'lık kısmının peyniraltı suyuna geçtiği, % 40'lık kısmının ise peynirde kaldığı belirtilmiştir (Lopez ve ark., 2001).

Blanco ve ark. (1988) Manchgo peynirlerinde yaptıkları bir çalışmada, peynire işlenen sütlerde ortalama olarak 0.80 ppb düzeyinde AFM<sub>1</sub> bulmuşlardır. Yapılan analizler sonucunda bu sütlerden imal ettikleri peynir pıhtısında 1.71 ppb, peyniraltı suyunda 0.66 ppb oranında AFM<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda sütte bulunan AFM<sub>1</sub> miktarının peynir pıhtısında 2.14 kat arttığı, peyniraltı suyunda ise toksin düzeyinin % 12.3 oranında bir azalma olduğu görülmüştür.

Dragacci ve ark. (1995) 0.26 ppb düzeyinde AFM<sub>1</sub> içerdiği tespit edilen sütlerden Camembert peyniri yapmışlar ve daha sonra peynir örneklerini AFM<sub>1</sub> yönünden analize tabi tutmuşlardır. Yapılan analizler sonucunda; peyniraltı suyunda 0.12 ppb (süttekinin yaklaşık % 46'sı kadar), pıhtıda 1.12 ppb (süttekenden 4.3 kat daha fazla), taze peynirde 0.95 ppb (süttekenden 3.65 kat daha fazla) ve 15 gün süre ile olgunlaşmaya bırakılmış peynirde 0.68 ppb (2.6 kat daha yüksek) düzeylerinde AFM<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Peynirde AFM<sub>1</sub> üzerine yapılan çalışmalardan çıkartılabilecek genel bir kanı şudur ki; peynir yapımı süresince peynir altı suyunun uzaklaştırılması, sütteki toksin miktarını önemli ölçüde azaltmakla birlikte elde edilen peynir, genelde üretildiği süte kıyasla daha yüksek konsantrasyonda AFM<sub>1</sub> içermektedir. Bunun nedeninin AFM<sub>1</sub>'in süt proteini olan kazein ile birleşmesi olduğu düşünölmektedir (Brackett ve Marth, 1982). Ayrıca AFM<sub>1</sub>'in, peynirlerde diğer süt ürünlerine göre daha yüksek oranlarda (yaklaşık 2.5-5.8 kat daha fazla) bulunduğu ve bu durumun, toksinin kazein fraksiyonuna olan ilgisinden kaynaklandığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Wood, 1991).

Wiseman ve Marth (1983) yoğurtta AFM<sub>1</sub>'in stabilitesini araştırmışlar ve yoğurt üretiminin ve depolanmasının AFM<sub>1</sub> içeriği üzerine etkisi olmadığını belirtmişlerdir. Rasic

ve ark. (1991) ise, yoğurdun AFM<sub>1</sub> içeriğinde büyük düzeylerde azalmalar gözlemlenmiştir.

Yunanistan'da yapılan bir araştırmada, yoğurdun üretimi ve soğutulmuş depolanması sırasında, AFM<sub>1</sub>'in dağılımı, stabilitesi ve yoğurt fermantasyonu süresince, AFM<sub>1</sub>'in laktik asit starter kültürleri üzerine etkisi ve aynı zamanda süzme yoğurt üretimi süresince AFM<sub>1</sub>'in dağılımı incelenmiştir (Govaris ve ark., 2002). Yapay olarak 0.050 ve 0.100 g/L düzeylerinde AFM<sub>1</sub> ile kontamine edilmiş inek sütünden üretilen yoğurtlar, pH 4.0 ve 4.6 olacak şekilde fermente edilmişlerdir. pH'ı 4.6 olan yoğurt, aynı zamanda süzme yoğurt eldesinde kullanılmıştır. Bu yoğurtlar 4 hafta süresince +4 C'de depolanmıştır. Yoğurt örneklerindeki AFM<sub>1</sub> düzeyleri, süte katılan AFM<sub>1</sub> düzeyleriyle karşılaştırıldığında bir azalma olduğu görülmüştür. Yüksek konsantrasyonlarda toksin içeren yoğurtlarda, yalnızca *Streptococcus thermophilus*'un gelişiminde bir azalma gözlenmiş; ancak diğer laktik asit kültür bakterilerinin AFM<sub>1</sub> ile kontamine yoğurtlardaki gelişimlerinde bir farklılık gözlenmemiştir. Fermantasyon sonunda pH'sı 4.0 olan yoğurtların AFM<sub>1</sub> düzeyleri, pH'sı 4.6 olan yoğurtlarıki ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Soğukta depolama süresince AFM<sub>1</sub>, pH'sı 4.6 olan yoğurtlarda, pH'sı 4.0 olanlara göre daha kararlı olduğu, sütteki AFM<sub>1</sub>'in başlangıç miktarındaki azalma pH'sı 4.6 ve 4.0 olan yoğurtlar için sırasıyla fermantasyon sonunda % 13 ve % 22, depolama sonunda % 16 ve % 34 olarak gözlemlenmiştir (Govaris ve ark., 2002).

Wiseman ve Marth (1983) doğal yolla kontamine olmuş sütlerden yoğurt, kefir ve ayran yapmışlar ve daha sonra bu ürünleri AFM<sub>1</sub> yönünden analize tabi tutmuşlardır. Analiz sonucunda yoğurttaki AFM<sub>1</sub> oranında herhangi bir değişim olmadığını, kefirdeki AFM<sub>1</sub> oranında bir miktar düşme, ayranda ise yükselme görüldüğünü bildirmişlerdir.

Bakırcı (2001) AFM<sub>1</sub> ile kontamine süttten yapılan tereyağı, krema ve ayranda AFM<sub>1</sub> seviyelerini tespit etmek için yaptığı bir çalışmada, tereyağında bulunan AFM<sub>1</sub> miktarının başlangıçta sütte bulunan AFM<sub>1</sub>'in % 33.80'i kadar, ayrandaki ortalama AFM<sub>1</sub> seviyesi ise başlangıç sütündeki AFM<sub>1</sub> seviyesinin % 83.0'ü, kremada ise ortalama AFM<sub>1</sub> değeri, başlangıç sütündeki AFM<sub>1</sub> değerinin % 64.4'ü kadar olduğunu belirlemiştir.

Kendirci (2002), 0.1, 0.2 ve 0.5 µg/L düzeylerinde AFM<sub>1</sub> ile kontamine sütlerden yapılan kefir ve kefir tanesine AFM<sub>1</sub> 'in geçiş oranlarını araştırmıştır. Yapılan alışmalar sonunda 0.1 µg/L oranında AFM<sub>1</sub> ile kontamine sütten yapılan kefire, başlangıç sütünde bulunan AFM<sub>1</sub> 'in % 60 'ı, kefir tanesinde ise % 1.6 olmak üzere toplam % 61.6 'sının geçtiği, 0.2 µg/L AFM<sub>1</sub> ile kontamine sütten yapılan kefire, başlangıç sütünde bulunan AFM<sub>1</sub> 'in % 60 'ı, kefir tanesinde ise % 2.6 olmak üzere toplam % 62.6 'sının ve 0.5 µg/L AFM<sub>1</sub> ile kontamine sütten yapılan kefire, başlangıç sütünde bulunan AFM<sub>1</sub> 'in % 80 'i, kefir tanesine ise % 2.6 olmak üzere toplam % 82.6 'sının geçtiği bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlar kontamine sütten kefir üretiminde, kefirdeki AFM<sub>1</sub> miktarının süte kıyasla yaklaşık olarak % 40 (0.1, 0.2 µg/L kontaminasyon düzeyinde) ve % 20 (0.5 µg/L kontaminasyon düzeyinde) oranlarında azaldığı belirlenmiştir. Bu azalmaların kefir ve kefir tanesinde bulunan mikroorganizmaların faliyeti sonucunda meydana geldiği bildirilmiştir. 0.1, 0.2 µg/L kontaminasyonundaki sütlerden kefire geçiş oranınının 0.5 µg/L kontaminasyonuna göre düşük olmasının nedeni olarak süt içerisinde bulunan AFM<sub>1</sub> konsantrasyonunun daha düşük olmasının nedeni ile kefir içindeki organizmaların degradasyonda daha etkili olabilmesine bağlı olduğu bildirilmiştir.

### **2.4.3. Aflatoksinlerin toksisitesi**

Aflatoksinler, alınma miktarına ve süresine bağlı olarak insanlarda ve hayvanlarda akut, subakut ve kronik tip zehirlenmelere neden olabilirler. Vücuda alınan aflatoksinin neden olduğu mikotoksikozise, *aflatoksikozis* denir (Tunail, 2000; Creppy, 2002).

Bilinen en güçlü karaciğer karsinojeni olan aflatoksinler, insan ve hayvanlarda karsinojenik (karaciğer, kolon ve böbreklerde kanser oluşumu), mutajenik (aflatoksin B<sub>1</sub> en mutajen mikotoksindir), teratojenik (protein sentezinin inhibisyonu, canlılarda sakat veya l doğumlar), hepatotoksik (karaciğerde yağlanma, soluk renk, nekroz, kanamalar, sarılık ve siroz) etkileri yanında böbreklerde fonksiyon bozuklukları, immun sistemde zayıflama (C<sub>4</sub>, IgG, IgA ve interferon oluşumunu, akyuvarların gn, lenfoblastların gelişmesini ve fagositlerin etkinliğini azaltarak), genel durum bozukluğu ve verim dşklğine neden olurlar (Steyn, 1995; şanlı, 2002; Yaroğlu, 2002).

Aflatoksinler; karsinojenik, mutajenik ve teratojenik etkileri yanında, ısı uygulamalarına karşı dirençli olmaları nedeniyle de insan ve hayvanlarda tehlike yaratmaktadırlar (Veldman ve ark., 1992; Govaris ve ark., 2001; Reddy ve Waliyar, 2007). Aflatoksinlerin ayrıca Reye sendromu, kwashiorkor, çocukluk dönemi sirozu, kronik mide yangıları ve bazı solunum hastalıklarına da neden olabileceği bildirilmiştir (Sibanda ve ark., 1999; Tunail, 2000).

Akut aflatoksikoziste vücudun direkt etkilenen bölgesi karaciğerdir. Akut zehirlenmelerde genellikle sarılık, anoreksi, hemolitik anemi ve ishal görülebilir. Ayrıca karaciğer paranzim hücrelerinin hasar görmesi, karaciğer ve safra kanallarındaki hücrelerin hızlı bir şekilde bölünmesi ve sinir sisteminin etkilenerek görevlerini yerine getiremez bir hal alması beklenebilir. Bu etkilerin sonucunda kramplar, felçler, denge bozuklukları meydana gelebilir. Kronik toksisitede belirtiler, uzun süre AFB<sub>1</sub>'in yemlerle tüketilmesi sonucunda ortaya çıkar. Karaciğer kanseri ve bu organdaki şekil bozuklukları ile kolon ve böbreklerde kanser oluşumuna rastlanılabilmektedir. Bunun yanında karaciğerin, aflatoksinlerden en fazla etkilenen organ konumunda olması nedeniyle hepatotoksik etkileri de bulunabilmektedir (Kaya, 2001; Creppy, 2002).

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; Şanlı, 2002).

Bulaşık besinlerle alınan aflatoksinler sindirim kanalından kolayca emilir ve çoğunluğu serum albuminlerine bağlanmış halde bulunur. Aflatoksinlerin az bir kısmı makromoleküllere (karaciğerde hepatositler, DNA, endoplazmik steroidlerin bağlanma yüzeyleri ve çeşitli enzimler gibi) bağlanırken, önemli bir bölümü suda ve yağda çözünen metabolitlere (aflatoksin Q<sub>1</sub>, P<sub>1</sub>, B<sub>2a</sub>, aflatoksikol M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub> gibi) çevirilirler. Yalnız ruminantlarda sindirim kanalında bulunan aflatoksinler emilmeden önce rumen mikroflorasınca kısmen suda çözünebilir konjugasyon ürünlerine çevirilirler. Dolaşıma geçen toksinler, plazmadan çabuk ayrılarak başta karaciğer ve kaslar olmak üzere yumuşak

dokulara dağılırlar. Perifer kanda bulunan toksinlerin büyük çoğunluğu karaciğerde tutulur. Vücuda giren AFB<sub>1</sub>'in % 80-90'ı ilk 24 saat içinde, dışkı (% 75), idrar (% 15-20) ve sütle değişmemiş veya metabolitleri halinde çıkarılır. Dışkıyla bu ölçüde atılma durumu, ağızdan alınan toksinin sindirim kanalından sınırlı şekilde emildiğini gösterir. Bulaşık yem veya toksinin verilmesinin durdurulmasını takiben 3-6 gün sonra sütle, 6-9 gün sonra da idrar ve dışkıda aflatoksin kalıntılarına rastlanabilmektedir (Kaya, 2001; Şanlı, 2002).

Normalde toksik olmayan aflatoksinler karaciğerde mikrozomal enzim sistemiyle metabolik değişikliğe uğratarak epoksit türevlerine (aflatoksin B<sub>1</sub> 2,3 epoksit gibi) çevrildikten sonra toksik etkinlik kazanırlar. Akut ve kronik toksisite ile karsinojenik etkilerden sorumlu olan bu türevler öncelikle karaciğer hücrelerinde makromoleküler düzeyde tepkimeye girerler. Böylece ribozomal bozukluklara, DNA ve RNA polimeraz enzimlerinin inhibisyonu ile protein sentezinin engellenmesine yol açarlar (Kaya, 1989; Kaya ve Yarsan, 1995).

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 antikor 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 (Kaya, 1984; Seyrek, 2001; Verma, 2004).

Protein sentezindeki bu engellemeler öncelikli olarak bazı antikorların oluşmasında azalma olarak kendini gösterir. Aflatoksinler IgG, IgA, interferon ve komplementin (C<sub>4</sub>) 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 aydınlatılmamıştır (Kaya, 2001).

Aflatoksinler protein sentezinin yanısıra karbonhidrat ve yağ metabolizması ile hücre solunumuna da etkilidirler. Glikojen sentezini glikojen sentetaz ve transglikosilaz enzimlerinin etkinliğini önleyerek bozarlar. Glikoz-6-fosfatın yükseltgenmesini hızlandırarak karaciğerdeki glikojen miktarını azaltırlar. 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 (Kaya, 2001; 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 (Kaya, 2001; Verma, 2004).

İnsan ve hayvanlar için en toksik olan, gıda ve yemlerde en sık bulunan aflatoksin, AFB<sub>1</sub>'dir. Aflatoksin M<sub>1</sub>'de potansiyel karsinojen olup rat ve alabalıklarda hepatosellüler karsinojenik etkiye neden olmaktadır. Aflatoksinlerin insan ve hayvanlardaki toksik etkileri B<sub>1</sub>>M<sub>1</sub>>G<sub>1</sub>>B<sub>2</sub>>M<sub>2</sub> ve G<sub>2</sub> şeklinde sıralanmaktadır (Yaroğlu, 2002; Jay, 1992; 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 görülmüştür (Galvano ve ark., 1996; Özkaya ve Temiz, 2003).

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 şüphesizdir. Bu nedenle bu mikotoksinlerin gıda ve besin maddelerinde bulunması tolere edilmemelidir (Galvano ve ark., 1996; Özkaya ve Temiz, 2003).

İnsan ve hayvanlarda aflatoksinlerin toksisitesi; alınan toksin miktarı, çeşidi, alım süresi, cinsiyet, yaş, ırk gibi birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ayrıca karoten, vitamin B<sub>12</sub> ve protein eksiklikleri ile toksisiteleri artmaktadır (Kaya, 1984). Hayvanlar içinde en duyarlı olanlar ördek ve hindi palazları, alabalık, kedi, köpek sayılabilir. Orta derecede duyarlı olanlara; at, sığır, koyun, keçi, kobay, bildircin, en az seviyede duyarlı olanlara ise fare, maymun ve ördek gösterilebilir. Evcil hayvanların çoğunda zehirlenme oluşturabilen yemlerdeki aflatoksin düzeyleri 10-100 ppm arasındadır. Bu değerler ördek palazları için 0.3 ppm, buzağılar için 2.2 ppm dolaylarındadır. 10 ppb'den fazla miktarda toksin içeren yemleri yiyen hayvanların süt ve yumurtalarında kalıntı bulunabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (Kaya, 1984; Whitlow ve Hagler, 2002).

Aflatoksin M<sub>1</sub>'in toksik etkileri hakkında çok sayıda araştırma bulunmaktadır. İlk çalışmalar, aflatoksinle kontamine olmuş ceviz ve fındık gibi sert kabuklu meyvelerin kaba ununu tüketen hayvanların sütlerinde tespit edilen toksin ekstrakte edilerek ördek palazlarına verilmiş ve yapılan incelemeler sonucu bu hayvanların karaciğerlerinde lezyonların oluştuğu gözlenmiştir. Toksikolojik çalışmalar ve çeşitli hayvansal denemeler sonucu AFM<sub>1</sub>'in özellikle yetişkinlere göre daha duyarlı olan bebek ve çocukların başlıca gıdaları olan süt ve ürünlerinde bulunması, dolayısıyla insan sağlığını doğrudan ilgilendirmesi açısından bu bileşik daha da önem kazanmaktadır (Bakırcı, 1999; Wood, 1991).

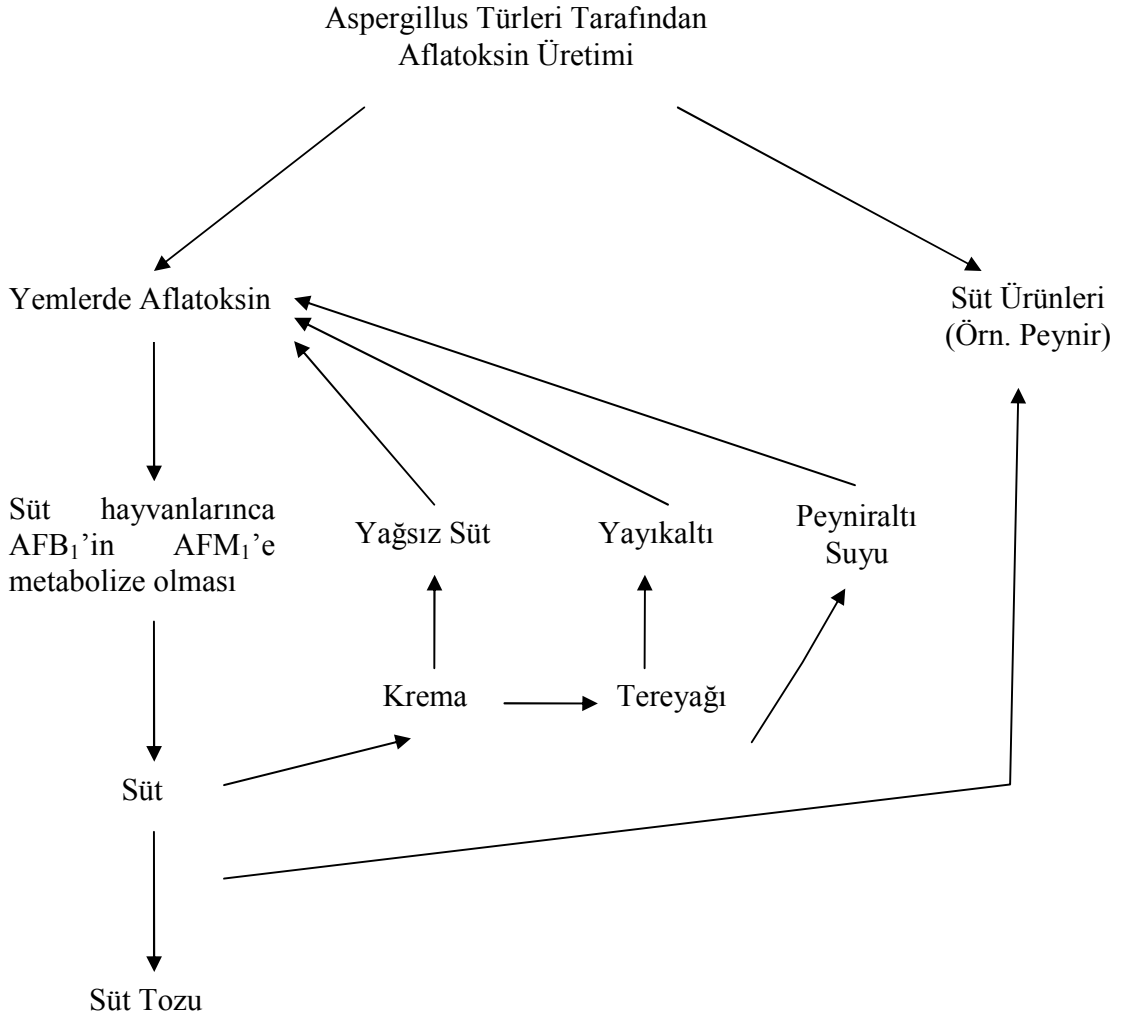
Aflatoksinlerden dolayı insanlarda akut zehirlenme olayları, seyrek olmak üzere genelde Afrika'da ve Asya'da rapor edilmektedir. Malezya'da 1990 yılında meydana gelen bir olayda, yüksek oranda aflatoksinle kontamine olmuş şehriyenin tüketilmesi sonucunda, yaklaşık olarak 40 kişi etkilenmiş ve bunların içinden 13 çocuk ölmüştür (Pittet, 1998; Anonymous, 2003). Bu örnekten de anlaşılacağı üzere, çocuklar aflatoksinlere karşı daha duyarlıdır ve karsinojen maddeleri biyotransformasyon kabiliyetleri yetişkinlere kıyasla daha yavaştır (Lopez ve ark., 2003). Bu nedenle süt ve süt ürünlerinin çocukların ve özellikle bebeklerin ana besin kaynağı olmasından dolayı, AFM<sub>1</sub>'in süt ve süt ürünlerinde bulunuşu önemli bir sorundur (Galvano ve ark., 2001).

Aflatoksinlerin halk sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinin ortaya çıkmasıyla, bu konuyla ilgili olarak çeşitli uluslararası kuruluşlar harekete geçmiş ve 19 Haziran 1993 yılında Dünya Sağlık Teşkilatı'na (WHO, World Health Organization) bağlı Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu (IARC, International Agency for Research in Cancer) tarafından AFB<sub>1</sub> birinci sınıf (yeterli kanıt elde edilmiş insan karsinojeni) AFM<sub>1</sub> ise ikinci sınıf (2B sınıf, muhtemel insan karsinojeni) kanserojen maddeler grubuna alınmıştır (Bakırcı, 1995; Dragacci ve ark., 1995; Govaris ve ark., 2002; Oruç, 2003).

#### **2.4.4. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin**

Sütler, laktasyon dönemindeki hayvanların AFB<sub>1</sub> içeren yemlerle beslenmesi sonucunda AFM<sub>1</sub> ile kontamine olurlar. Süt ürünleri ise AFM<sub>1</sub> ile kontamine süttten yapılmaları ve süt ürünlerinde aflatoksin üreten küflerin üremesine bağlı olarak birkaç aflatoksin çeşiti ile kontamine olabilirler (Marth, 1979; Van Egmond, 1989). Özellikle peynirler, toksijenik *Aspergillus*'un gelişimi için uygun şartları sağlıyorlar ise AFB<sub>1</sub> ve aflatoksinin diğer formlarını da içerebilirler (Marth, 1979). Aflatoksinlerin süt ve ürünlerine başlıca bulaşma yolları Şekil 3'te gösterilmektedir





Şekil 3. Süt ve süt ürünlerine aflatoksinin bulaşma yolları (Marth, 1979)

Toksinin süte geçmesi için 0.02 ppm ve üzerinde toksin içeren yemin yenilmesi gerekir (Kaya, 1984).

Süt ve ürünlerindeki aflatoksinin miktarları coğrafi bölgelere, ülkelere ve mevsimlere göre farklılıklar gösterdiği, bahar ve yaz mevsiminde kış mevsimine oranla sütlerde daha az miktarlarda AFM<sub>1</sub> bulunduğu, dolayısıyla bu mevsimlerde yapılan süt ürünlerinde de AFM<sub>1</sub> miktarının önemsenmeyecek düzeylerde görülebileceği bildirilmiştir

(Panariti, 2001; Kamkar, 2004; Birdane ve ark., 2006). Hindistan'da yapılan bir çalışmada köylerde ve şehirlerde beslenen hayvanların sütlerindeki AFM<sub>1</sub> miktarı analiz edilmiş ve AFM<sub>1</sub> konsantrasyonunun en fazla şehirlerde beslenen hayvanlarda ortaya çıktığı bildirilmiştir (Thirumala ve ark., 2002).

Mevsimsel farklılığın AFM<sub>1</sub> düzeyleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Panariti (2001) Arnavutluk'da bulunan çiftliklerden temin edilen sütlerin AFM<sub>1</sub> seviyelerini belirlemek amacıyla yaptığı bir çalışmada, 120 adet süt numunesini incelemiştir. Bu çalışmaya göre kışın alınan örneklerin % 13.0'ü, 0.5 µg/kg (0.05 ppb=50 ppt) seviyesini aşarken, yazın alınan örneklerin sadece % 3.0'ünün bu seviyeyi geçtiğini rapor etmiştir.

Kamkar (2004) İran'da 111 adet çiğ süt numunesini AFM<sub>1</sub> yönünden analiz etmiş ve numunelerden 85 (% 76.6) adedinde 0.015-0.28 µg/L arasında AFM<sub>1</sub> kontaminasyonu bulunmuş ve kontaminasyon düzeylerinin aylara göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. En yüksek kontaminasyonun Aralık ayı, en düşük kontaminasyonun ise Ağustos ayı sütlerinde tespit edildiği bildirmiştir. Numunelerin % 40.0'ünün ise Avrupa Birliği tarafından bildirilen maksimum tolerans limit olan 0.05 µg/L'den daha fazla olduğunu rapor etmiştir.

Birdane ve ark. (2006) Afyonkarahisar'da tüketime sunulan 310 adet süt örneğini AFM<sub>1</sub> konsantrasyonu yönünden analiz etmişler ve bunlardan 158 (% 51.05) adedinin değişik düzeylerde AFM<sub>1</sub> ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Yaz aylarında (Haziran, Temmuz ve Ağustos 2005) toplanan 158 (121 adet çiğ süt ve 37 adet UHT süt) adet süt örneğinin 74 (% 46.83) adedinin AFM<sub>1</sub> ile kontamine olduğu ve bunların yalnızca 1 (% 0.63) adedinin yasal sınır olan 50 ppt'yi aştığı bildirilmiştir. Buna karşın kış aylarında (Aralık 2005-Ocak, Şubat 2006) toplanan 152 (119 adet çiğ süt ve 33 adet UHT süt) adet süt örneğinin 84 (% 55.27) adedinde değişik düzeylerde AFM<sub>1</sub> tespit edilmiş olup 5 (% 3.28) adedinin de yasal sınır olan 50 ppt'yi aştığı bildirilmiştir.

#### 2.4.4.1. Süt

Süt veren hayvanların yemlerle beraber aldıkları AFB<sub>1</sub>'in hangi oranlarda AFM<sub>1</sub>'e dönüştüğünü saptamak amacıyla yapılmış çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda farklı sonuçlar elde edilmekle birlikte genel bir yargı olarak, tüketilen yemdeki AFB<sub>1</sub>'in % 1-3 arasında değişen oranlarda süte geçtiği bildirilmiştir (Marth, 1979; Veldman ve ark., 1992; Creppy, 2002; Velasco ve ark., 2003). Pittet (1998) bu oranın % 6'ya kadar çıkabileceğini bildirmiştir. AFB<sub>1</sub>'in AFM<sub>1</sub>'e dönüşüm oranının; hayvandan hayvana, günden güne, bir süt verme döneminden diğerine, sağım zamanına hatta sağım aralığına ve hayvanın süt verim düzeyine bağlı olarak değişebileceği ifade edilmektedir (Van Egmond, 1989; Wood, 1991; Veldman ve ark., 1992).

AFB<sub>1</sub> içeren yemlerin tüketilmesinden 12–24 saat sonra AFM<sub>1</sub> hayvanın sütünde belirlenebilmektedir (Martins ve Martins, 2000; Lopez ve ark., 2003). Sütteki AFM<sub>1</sub>'in en yüksek düzeyine, yemin tüketilmesinden 3 ya da 4 gün sonra ulaştığı bildirilmiştir (Van Egmond, 1989). AFB<sub>1</sub> içeren yemlerin alımı bırakıldıktan ancak 72 saat sonra sütteki AFM<sub>1</sub> konsantrasyonunun belirleme limitinin altına düştüğü saptanmıştır (Van Egmond, 1989; Martins ve Martins, 2000).

Birçok ülkede, süt ve ürünlerinde bulunan AFM<sub>1</sub> düzeylerini araştıran değişik araştırmalar yapılmıştır. Kim ve ark. (2000) Kore'de inceledikleri pastörize süt örneklerinin % 76.0'sında ortalama 18 pg/g düzeyinde AFM<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Galvano ve ark. (2001) İtalya'nın dört büyük şehriden elde ettikleri 161 adet süt örneğinin % 78.0'inde ortalama 6.28 ng/L düzeyinde AFM<sub>1</sub> saptamışlar ve süt örneklerinde belirledikleri AFM<sub>1</sub> düzeyinin Avrupa Birliği'nin 1999'da bildirdiği yasal sınırların üzerinde olmadığını ve dolayısıyla halk sağlığı açısından bir problem teşkil etmediğini belirtmişlerdir.

Roussi ve ark. (2002) Aralık 1999-Mayıs 2000 tarihleri arasında inceledikleri 82 adet pastörize süt örneğinin 70 (% 85.4)'inde, 30 adet çiğ inek sütü örneğinin 22 (% 73.3)'sinde, 12 adet çiğ koyun sütü örneğinin 8 (% 66.7)'inde, 10 adet çiğ keçi sütü

örneğinin 4 (% 40.0)'ünde 17 adet UHT süt örneğinin 14 (% 82.3)'ünde ve 15 adet konsantre süt örneğinin 14 (% 93.3)'ünde çeşitli düzeylerde AFM<sub>1</sub> belirlediklerini, bunlardan 1 (% 3.3) adet çiğ inek sütü örneğinin ve 2 (% 13.3) adet konsantre süt örneğinin yasal sınırların üzerinde AFM<sub>1</sub> içerdiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmada Aralık 2000-Mayıs 2001 tarihleri arasında incelenen 54 adet pastörize süt örneğinin 43 (% 79.6)'ünün, süt tankından alınan 23 adet süt örneğinin 18 (% 78.3)'inin, 28 adet çiğ inek sütünün 18 (% 64.3)'inde, 15 adet çiğ koyun sütünün 11 (% 73.3)'inin, 12 adet çiğ keçi sütünün 8 (% 66.7)'inin AFM<sub>1</sub> içerdiği, bunlardan 1 (% 3.6) adet çiğ inek sütü ve 1 (% 6.7) adet çiğ koyun sütü örneğinin yasal limitlerin üzerinde AFM<sub>1</sub> ihtiva ettiği belirlenmiştir.

Garrido ve ark. (2003) Brezilya'daki süpermarketlerden topladıkları 60 adet UHT süt örneğinin 17 (% 28.3)'sinin ve 79 adet pastörize süt örneğinin 12 (% 15.2)'sinin olmak üzere toplam 29 (% 20.9) adet örneğin AFM<sub>1</sub> düzeyinin Avrupa Birliği'nin belirlediği üst limit olan 50 ng/L'yi geçtiği halde Brezilya'da üst limit olarak belirlenen 500 ng/L'nin altında kaldığını belirtmişlerdir.

Nakajima ve ark. (2004) Japonya'nın 11 bölgesinden kış mevsiminde (Aralık, Ocak, Şubat) topladıkları 208 adet pastörize süt örneğinin 207 (% 99.5)'sinde 0.001-0.029 µg/kg düzeylerinde AFM<sub>1</sub> tespit etmişler ve hiçbir örneğin yasal limiti geçmediğini bildirilmişlerdir.

Bognanno ve ark. (2006) İtalya'nın Sicilya şehrinde, 2000 yılının Temmuz ve Ekim ayları arasında, 240 adet koyun sütü örneğinde AFM<sub>1</sub> varlığını araştırmışlardır. Yapılan analizler sonucu 240 adet örneğin 194 (% 81.0) adedinde 2-108 ppt arasında değişen seviyelerde AFM<sub>1</sub> bulduklarını bildirmişlerdir. AFM<sub>1</sub> tespit edilen süt örneklerinin sadece 3 (% 1.25) adedinde maksimum tolerans limiti olan 50 ppt'yi aşan seviyede bulunduğu bildirilmiştir.

Elbergi ve ark. (2004) Libya'nın kuzey batısında, 49 adet çiğ inek sütü ile yaptıkları çalışmada 35 (% 71.4) adedinde 30 ile 3130 ppt arasında değişen seviyelerde AFM<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

Thirumala ve ark. (2002) Hindistan'ın Andhra Pradesh şehrinde süt örneklerinde yaptıkları çalışmanın sonuçları AFM<sub>1</sub>'in bulunma sıklığı ve miktarlarının yüksekliği konusunda yine önemli örneklerden birini oluşturmaktadır. Yaptıkları çalışmada 280 adet süt örneğinin 146 (% 52.14) adedinde 500 ppt'nin altında AFM<sub>1</sub> tespit edilirken, 80 (% 28.57) adet örnekte 600 ppt ile 15000 ppt arasında, 42 (% 14.99) adet örnekte 16000 ppt ile 30000 ppt arasında, 12 (% 4.28) adet örnekte 31000 ppt ile 48000 ppt arasında değişen seviyelerde AFM<sub>1</sub> bulduklarını ve bu sonuçlarla Hindistan halkının süt ve süt ürünleri tüketimi ile büyük risk altında olduklarını bildirmişlerdir.

Blanco ve ark. (1988) İspanya'nın kuzeybatı bölgesinden elde ettikleri ticari UHT süt örneklerinde yaptıkları araştırmada, 47 adet süt örneğinden 14 (% 29.8) adedinde 20-100 ppt arasında değişen seviyelerde AFM<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. 29 (% 61.7) adet süt örneğinde AFM<sub>1</sub> saptanamazken, 4 (% 8.5) adet süt örneğinin de ise şüpheli olduğunu bildirmişlerdir.

Özkaya ve ark. (2002) tarafından Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan 543 adet çiğ süt örneğinde AFM<sub>1</sub> düzeylerini tespit etmek amacıyla yapılan çalışma kapsamında 6 ilden (Bursa, Erzurum, Kars, Kastamonu, Samsun ve Trabzon) gelen süt örneklerinin hiçbirinde tespit edilebilir düzeyde AFM<sub>1</sub>'e rastlanmamıştır. 6 ilden (Ankara, Balıkesir, Bolu, Erzincan, Kırklareli ve Van) gelen süt örneklerinde ise Türkiye limitini aşan düzeylerde AFM<sub>1</sub> tespit edilememiştir. Bu illerin dışında kalan 18 ilde ise çeşitli düzeylerde AFM<sub>1</sub> sorunu görülmektedir. Bu illerdeki kontaminasyon %16.7 ile %100 arasında değişmekte ve örneklerin %6.2 ile %58.8'nin AFM<sub>1</sub> yönünden 50 ppt'lik limitin üzerinde olduğu görülmektedir.

Atasever ve ark. (2006), Erzurum'daki muhtelif satış yerlerinden halka satışa sunulan 127 adet çiğ süt örneğini AFM<sub>1</sub> yönünden incelemişler ve 73 (%57.49) adet süt örneğinde değişik oranlarda AFM<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. Çiğ süt numenelerinden 14 (%11.02) adedinde ise TGK (Anonim, 2002)'nin kabul ettiği üst sınır olan 50 ppt'lik düzeyi geçtiğini bildirmişlerdir.

Gürbay ve ark. (2004), Ankara’da farklı süpermarketlerden topladıkları çeşitli süt örneklerinde yaptıkları çalışmada, 27 adet süt örneğinin 16 (%59.3) adedinde 10-50.5 ppt arasında değişen seviyelerde AFM<sub>1</sub> tespit etmişler ve sadece 1 (%3.7) adet örneğin 50.5 ppt ile tolerans limit olan 50 ppt’yi geçtiğini bildirmişlerdir.

Bakırcı (2001) Van ilinden toplanan 90 adet çiğ süt örneğinin % 44.30’unda Türkiye’de kabul edilen limitin (0.05 µg/kg) üzerinde AFM<sub>1</sub> bulunduğunu bildirmiştir.

Çelik ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada 85 adet pastörize süt örneği AFM<sub>1</sub> kontaminasyonu yönünden incelenmiş, 75 (%88.23) adet örneğin değişik oranlarda AFM<sub>1</sub> ile kontamine olduğu, 48 (%56.47) adet örnekte ise AFM<sub>1</sub> konsantrasyonunun TGK (Anonim, 2002)’da bildirilen yasal sınırın üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

#### **2.4.4.2. Peynir**

Peynir söz konusu olduğunda, aflatoksinin ortamda bulunmasının üç temel nedeni olabilir: (1) Süt hayvanlarının AFB<sub>1</sub> içeren yemlerle beslenmeleri sonucunda, peynirin AFM<sub>1</sub> ile kontamine olmuş sütten üretilmesi, (2) karbonhidratların çok az olması uygun substrate oluşturmasa da, peynirde gelişen *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* gibi küflerin AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> ve AFG<sub>2</sub> sentezlemesi, (3) peynir üretiminde kullanılan sütü zenginleştirmek amacı ile ilave edilen süt tozunun AFM<sub>1</sub> içermesidir (Lopez ve ark., 2001). Ancak peynirler toksik *Aspergillus*’lar tarafından aflatoksin üretimi için uygun gıdalar değildirler. Bunun nedenleri; peynirlerin küflerin aflatoksin üretmesi için ihtiyaç duyduğu karbonhidrat yönünden fakir olması, peynirin genellikle aflatoksin üretimi için gerekli olan minimum sıcaklığın (11-13°C) altında depolanması ve peynir üzerindeki diğer küflerle *Aspergillus*’ların rekabet edememesidir (Marth, 1979).

Truckness ve Page (1986), 13 ülkeden temin ettikleri toplam 118 adet peynir numunesini AFM<sub>1</sub> yönünden incelemişlerdir. Analizi yapılan peynir örneklerinin 8 (% 6.8) adedinde 0.1-1.0 ng/kg düzeylerinde AFM<sub>1</sub> bulduklarını bildirmişlerdir.

Başkaya ve Atasever (2005) Erzurum'da inceledikleri 50 adet civil peynir örneğinin 47 (% 94.0) adedinde TGK (Anonim, 2002)'da belirtilen limit değerlerin altında, 3 (% 6) adet örnekte ise üst limit olan 250 ng/kg'ın üzerinde AFM<sub>1</sub> tespit ettiklerini bildirmişlerdir.

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 örneğini incelemişler ve beyaz peynirlerin % 82.0'sinde, tulum peynirlerinin % 81.0'inde, kaşar peynirlerinin % 85.0'inde, eritme peynirlerinin % 79.0'unda, olmak üzere toplam 400 adet peynir örneğinin 327 (% 81.75) adedinde 50-800 ng/kg arasında AFM<sub>1</sub> tespit etmişlerdir. İncelenen beyaz peynir örneklerinin 27 (% 27) adedi tulum peynirleri örneklerinin 24 (% 24) adedi, kaşar peyniri örneklerinin 34 (% 34) adedi ve eritme peynir örneklerinin 25 (% 25) adedi olmak üzere toplam 110 (% 27.5) adet peynir örneğinde tespit edilen AFM<sub>1</sub> düzeyi TGK (Anonim, 2002)'nin üst limiti olan 250 ng/kg'ı geçtiğini bildirmişlerdir.

Ayçiçek ve ark. (2002) İstanbul'dan temin ettikleri 183 adet beyaz peynir örneğinin 121 (% 65.0) adedinde 40-4890 ng/kg arasında değişen seviyelerde AFM<sub>1</sub> belirlemişlerdir. Beyaz peynir örneklerinin 35 (% 19.0) adedinin TGK (Anonim, 2002)'da belirtilen yasal üst sınırı (250 ng/kg) aştığını bildirmişlerdir.

Tekinşen ve Tekinşen (2005) 2002 yılının Eylül ayı ile 2003 yılının Mayıs ayı arasında Van ve Hakkari'den temin ettikleri 60 adet otlu peynir örneğinin 52 (% 86.7) adedinde 160-7260 ng/kg arasında değişen seviyelerde; 50 adet beyaz peynir örneğinin 31 (% 62.0) adedinde, 100-5200 ng/kg arasında değişen seviyelerde AFM<sub>1</sub> tespit etmişlerdir.

Günşen ve Büyükyörük (2002), Bursa'da yaptıkları bir çalışmada marketlerden rastgele toplanan 130 adet peynir örneğinin (35 tam yağlı beyaz peynir, 35 taze kaşar, 35 eski kaşar, 20 gravyer peynir ve 15 krem peynir) AFM<sub>1</sub> seviyelerini belirlemişlerdir. Yapılan incelemeler sonucu ortalama AFM<sub>1</sub> düzeyleri tam yağlı beyaz peynirde 178.4 ng/kg, taze kaşarda 184.4 ng/kg, eski kaşarda 91.2 ng/kg, gravyer peynirde 169.4 ng/kg ve

krem peynirde 207.5 ng/kg olarak bildirilmiştir. AFM<sub>1</sub> tespit edilen örneklerden % 15.45'i TKG (Anonim, 2002)'nin üst sınırı olan 250 ng/kg'ın üzerinde olduğu bildirilmiştir.

#### **2.4.4.3. Yoğurt**

Yoğurt çok tüketilen bir süt ürünü olmasına rağmen yoğurtlarda AFM<sub>1</sub> varlığı yönünden yapılan çalışmalar sınırlı kalmıştır.

Galvano ve ark. (1998) İtalya'dan temin ettikleri 114 adet yoğurt örneğini AFM<sub>1</sub> yönünden incelemişlerdir. Yapılan çalışmalar sonunda 91 (% 80.0) adet yoğurt örneğinde 1-496.5 ng/kg düzeyinde, 2 (% 1.75) adet örnekte ise yasal limitin üzerinde AFM<sub>1</sub> bulduklarını bildirmişlerdir.

Kim ve ark. (2000) Güney Kore'nin Seul şehrinden topladıkları 60 adet yoğurt örneğinin 50 (% 83.0) adedinde 3-172 pg/g arasında ortalama 29 pg/g düzeyinde AFM<sub>1</sub> bulduklarını bildirmişlerdir.

Portekiz'de yapılan bir araştırmada; 96 adet ticari yoğurt örneği (48 adet sade yoğurt ve 48 adet çilekli yoğurt) AFM<sub>1</sub> içeriği bakımından incelenmiştir. Örneklerin 18 (% 18.8) adedinde AFM<sub>1</sub> miktarı, 19-98 ng/kg arasında tespit edilmiş ve geri kalan 78 adet örnekte (% 81.2) ise AFM<sub>1</sub> belirlenmemiştir. Sade yoğurt örneklerinin sadece 2 (% 4.2) adedinde 43 ve 45 ng/kg düzeyinde, çilekli yoğurtta ise 16 (% 33.3) adet örnekte ise 19-98 ng/kg arasında değişen düzeylerde AFM<sub>1</sub> tespit etmişlerdir (Martins ve Martins, 2004).

#### **2.4.4.4. Diğer süt ürünleri**

Ayçiçek ve ark. (2002) İstanbul'da satışa sunulan 64 adet tereyağı örneğinin 52 (% 81.0) adedinde 10-2200 ng/kg arasında değişen seviyelerde AFM<sub>1</sub> bulmuşlardır. AFM<sub>1</sub> pozitif tereyağı örneklerinin 20 (% 31.0) adedinin TKG (Anonim, 2002)'da belirtilen (50 ng/kg) yasal üst sınırı aştığını bildirmişlerdir.

Kim ve ark. (2000) Güney Kore'nin Seul şehrinden temin edilen 26 adet bebek mamasının 22 (% 85.0) adedinde 3-93 pg/g ortalama 46 pg/g düzeyinde ve inceledikleri 24



adet süt tozu örneğinin 18 (% 75.0) adedinde 26-331 pg/g, ortalama 200 pg/g düzeyinde AFM<sub>1</sub> bulduklarını bildirmişlerdir.

İtalya'da 92 adet süt tozu ve bebek maması AFM<sub>1</sub> yönünden incelenmiş ve örneklerin 49 (% 53.0, ortalama seviye 32.2 ng/L) adedinde AFM<sub>1</sub> bulduklarını bildirmişlerdir. Ancak örneklerin hiç birinde Avrupa Birliğinin'in koyduğu yasal limitlerin üstünde AFM<sub>1</sub> tespit edemediklerini bildirmişlerdir (Galvano ve ark., 2001).

Rastogi ve ark. (2004) Hindistan'ın Lucknow şehrinde 2002 yılında süt ve çeşitli süt kaynaklı bebek gıdalarında yaptıkları çalışmada, toplam 87 (18 sütlü bebek maması, 17 bebek karışımı, 40 süt bazlı tahıllı sütten kesme maması ve 12 sıvı süt) adet örneğin 76 (% 87.3) adedinin 28-1012 ng/l arasında değişen seviyelerde AFM<sub>1</sub> ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. AFM<sub>1</sub> kontaminasyonunun dağılımı bebek süt ürünlerinde (65-1012 ng/L), sıvı süte (28-164 ng/L) göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Kontamine olmuş ürünlerin % 99.0'unu limit değerlerinin üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Deveci (2003) 7 farklı firmadan 4 değişik dönemde temin ettiği 21 adet yağsız süt tozu örneğinin AFM<sub>1</sub> düzeylerini incelemiştir. Birinci dönem (Mart-Nisan-Mayıs) topladığı süt tozlarında 0.193-0.535 µg/kg olmak üzere ortalama 0.335 µg/kg düzeylerinde, ikinci dönem (Haziran-Temmuz-Ağustos) topladığı süt tozlarında 0.00-0.324 µg/kg olmak üzere ortalama 0.190 µg/kg düzeylerinde, üçüncü dönem (Eylül-Ekim-Kasım) topladığı süt tozlarında 0.262-0.705 µg/kg olmak üzere ortalama 0.440 µg/kg düzeylerinde ve dördüncü dönem (Aralık-Ocak-Şubat) topladığı süt tozlarında 0.350-0.372 µg/kg olmak üzere ortalama 0.358 µg/kg düzeylerinde AFM<sub>1</sub> bulduğunu bildirmiştir. Bu çalışma sonunda incelenen 21 adet süt tozu örneğinin sadece 2 (% 9.5) adedinde AFM<sub>1</sub> tespit edilemediğini bildirmiştir. AFM<sub>1</sub> tespit edilen 19 (% 90.5) adet süt tozu örneğinde ise birinci dönem ve üçüncü dönemden birer adet olmak üzere toplam 2 (% 9.5) tanesinde TGK (Anonim, 2002)'da süt tozu için yasal üst sınır olan 0.5 µg/kg'in üzerinde olduğunu bildirmiştir.

## 2.5. Sık Karşılaşılan Diğer Mikotoksinler

### 2.5.1. Ergot alkaloidleri

Ergot, çavdar ve diğer tahıllarda parazit olarak yaşayan *Claviceps purpurea* isimli mantarın ürünüdür. Ergot, aminli ve amino asitli mikotoksinlerin yanı sıra, histamin, tiramin, kolin, asetil kolin gibi pek çok madde daha içerir. Ergot alkaloidleri, tıpta kanamayı durdurucu ilaç olarak kullanılmakla birlikte yüksek dozları toksiktir. Çayır otları, çavdar, yulaf ve diğer hububat ürünlerinin paraziti olan bu küfün sklerotiumları ile bulaşmış olan taneler, bulaşıklı tanelerden hazırlanmış unlar veya bu küfler ile enfekte olmuş otlar, hayvan veya insanlar tarafından tüketildiğinde ergotizm ortaya çıkar (Kaya, 2001).

İnsanlarda ergotizmin akut (gangrenöz) ergotizm ve kronik (konvulziv) ergotizm olmak üzere iki şekli görülebilir. Gangrenöz ergotizmde hastaların çoğu kol ve bacaklarında kutsal bir ceza olarak açıkladıkları yanma hisseder ve bu Kutsal Ateş veya St. Anthony's fire olarak bilinir (Steyn, 1995).

Akut zehirlenmede daha ziyade Merkezi Sinir Sistemi ile ilgili belirtiler dikkati çeker, çoğu geçici özellikte olan bu belirtilerin başlıcaları uyuşukluk, sendeleme, tökezleme, ara sıra sağırılık ve körlük, deride duyarlılık azalması veya çoğalması, gebelerde yavru atma, vücudun bir kısmına veya bir bacağına sınırlı çarpınma, takiben geçici felç ve komadır (Kaya, 2001; Şanlı, 2002).

Kronik zehirlenmede bacaklar, kuyruk ucu, ibik gibi vücudun çıkıntılı yerlerinde soğuma, şişme, önce kızarma ama sonra morarma, doku ölümü, kıl veya tüylerin dökülmesi soğuğa dayanamama, süt veriminde azalma, yem tüketimi ve ağırlık kazanmada azalma, gelişme hızında yavaşlama, su tüketiminde artış, yerel dolaşım bozukluğundan dolayı topallık, bulantı ve kusma görülür (Kaya, 2001; Şanlı, 2002).

### 2.5.2. Zearalenon (F-2 Toksin)

Başta *Fusarium graminearum* ve *F. tricinctum* gibi *Fusarium* türleri tarafından üretilen bu mikotoksin mısır, buğday, saman, yulaf, arpa, susam, silaj gibi yemlerde bulunmaktadır. Ancak en çok rastlandığı gıda mısır olup hem tarlada hem de depolama sırasında bu üründe toksin üretimi oluşabilir. Zearalenon beyaz renkte, kristalize bir tozdur. Su, karbonsülfür ve karbontetraklorürde çözünmezken asetonitril, alkoller, benzol, kloroform ve seyreltik alkalilerde iyi çözünür (Whitlow ve Hagler, 2001; Şanlı, 2002).

Zearalenon östrojenik etkili bir mikotoksindir. Düşük miktarda zearalenon içeren yemlerin dişi hayvanlara uzun süre verilmesi sonucu vulva ve vajinanın şişip kızarması, vajinal akıntılarının artması, vajinanın geriye doğru çıkması, uterus kanaması, memelerin büyümesi, süt gelmesi, yumurtalıkların küçülmesi, kızgınlığın görülmemesi veya sık sık olması, yavru atma, kısırlık gibi belirtiler ortaya çıkabilir (Whitlow ve Hagler, 2001).

### 2.5.3. Patulin

*A. clavatus*, *P. patulum* ve *P. expansum* başta olmak üzere, tabiatta yaygın şekilde bulunan 50'ye yakın mantar türü veya suşu tarafından üretilen bir mikotoksindir. Patulin alkali şartlarda kolayca parçalanırken, elma vb. meyve özü ve öz sularındaki asidik ortamlara oldukça dayanıklıdır. Bu mikotoksin daha ziyade silaj ve meyve sularında bulunur (Pittet, 1998).

Patulin hayvanlarda öncelikle beyin kanaması ve ödemi, sinirsel belirtiler, sindirim kanalında kanlanma, kanama ve ülser, dalak, karaciğer ve böbrekte kapillar damar hasarına ve sonuçta ölüme yol açar (Kaya, 2001).

### 2.5.4. Okratoksinler

Okratoksinler genellikle *A. ochraceus* grubuna ait türler başta olmak üzere *Aspergillus* grubu küflerin değişik tür ve suşları tarafından üretilen toksik metabolitler olup bunlar içerisinde en toksik olanı Okratoksin A (OA)'dır. OA renksiz, kristalize, suda az

organik çözücüler ve seyreltik sulu bikarbonat çözeltilerinde iyi çözümler (Kaya, 2001; Şanlı, 2002).

Bu toksin nefrotoksik özellikte olup böbrek hasarına, karaciğer nekrozisi ve enteritise neden olmaktadır. Balkan Endemik Nefropati hastalığının yaygın olduğu bölgelerdeki gıdaların OA ile kontamine olması ve bu hastalık ile OA'nın stimüle ettiği domuz nefropati hastalığı arasındaki benzerlikler, bu toksinin Balkan Endemik Nefropati etmeni olduğu görüşünü kuvvetlendirmektedir (Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2001).

Okratoksinler hayvanlarda akut, subakut ve kronik zehirlenmelere sebep olurlar; ayrıca, teratojenik, mutajenik, immunotoksik ve karsinojenik etkileri de vardır. OA ile zehirlenmede böbrekler başlıca hedef organ konumundadır. Dolayısıyla akut ve kronik tipte zehirlenmiş hayvanlarda değişmeyen bir bulgu halinde akut ve kronik nefropati gelişir. Böbrek ve karaciğer büyür, proksimal tubuluslarda yaygın dejenerasyon, tubulus epitellerinde atrofi, kortekste intersitisyel fibrozis ve glomeruluslarda hyalinizasyon meydana gelir. Okratoksinlerle zehirlenmelerde diğer organlarda görülen değişiklikler ikinci planda kalır (Steyn, 1995).

## **2.6. Yasal Düzenlemeler**

Dünya Sağlık Örgütü (WHO-World Health Organisation) AFM<sub>1</sub>'den meydana gelecek riskleri minimize edebilmek için kontamine ürünlerin tüketiminin azaltılmasını önermiştir. Gelişmiş ülkelerde AFM<sub>1</sub> riskini minimize etmek amacıyla yasal düzenlemelerle süt ve süt ürünlerinde limit değerler belirlenmiştir (Lopez ve ark., 2001).

Bebek ve çocuklar mikotoksinlerin olumsuz etkilerine karşı oldukça duyarlıdır. Bu nedenle birçok ülke AFM<sub>1</sub>'e maruz kalma risklerini azaltmak için çeşitli araştırma ve kontrol programları uygulamıştır. Bu kapsamda bazı Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde besinler için belirlenmiş maksimum aflatoksin ve diğer bazı mikotoksinlerin seviyeleri Çizelge 6'da (Creppy, 2002), ülkemizde gıda maddelerinde belirlenmiş maksimum aflatoksin ve diğer bazı mikotoksinlerin seviyeleri Çizelge 7'de sunulmuştur (Anonim, 2002).

Çizelge 6. Değişik Avrupa Ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde gıdalar için belirlenmiş aflatoksin ve bazı mikotoksinlerin maksimum seviyeleri (Creppy, 2002)

Mikotoksin	Ülke	Maksimum Düzey ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ yada $\mu\text{g}/\text{l}$ , 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	
Total 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 (M1 + 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	

Çizelge 6 (devam)

Total 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 Hersek	1 (B <sub>1</sub> + G <sub>1</sub> )	Tahıllar
		5	Fasulye
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 Cumhuriyeti	0.1	Çocuk sütleri
		0.5	Yetişkin sütleri
	Fransa	0.03	Çocuk sütleri
		0.05	Yetişkin sütleri
Bulgaristan	0.5	Süt ve süt ürünleri	
Deoksinivalenol	A.B.D.	1000	Buğday
	Rusya	1000	Tahıllar
	Avusturya	750	Buğday
Okratoksin A	Romanya	5	Tüm besinler
	Çek Cumhuriyeti	1	Bebek besinleri
		20	Tüm besinler
	Danimarka	5	Tahıllar
		25	Domuz yemleri
	Avusturya	5	Tahıllar
	İsviçre	2	Tahıllar
Yunanistan	20	Tüm besinler	

Çizelge 6 (devam).

Okrotoksin A	Hollanda	0	Tahıllar
	Yunanistan	20	Tüm besinler
	Fransa	5	Tüm besinler
Fumonisin B <sub>1</sub> ve 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

Çizelge 7. Ülkemizde gıda maddelerindeki aflatoksin ve bazı mikotoksinlerin maksimum seviyeleri (Anonim 2002)

Gıda Maddesi	Maksimum Seviye (µg/kg yada µg/l, ppb)				
	Aflatoksin			Okratoksin A	Patulin
Toksin Çeşidi	B <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> +B <sub>2</sub> +G <sub>1</sub> +G <sub>2</sub> (Aflatoksin Total)	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

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

## 2.7. Küflenmenin Önlenmesi ve Detoksifikasyon

### 2.7.1. Küflenmenin önlenmesi:

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



Tarım ürünlerinde ve gıdalarda hasat öncesinde ve hasat esnasında; küf ve toksin gelişimine genetik yönden daha dayanıklı ürünler geliştirilmesi, mantarlarla bulaşık olduğu anlaşılan ekim alanlarının dinlenmeye bırakılması, üretim esnasında modern tekniklerin uygulanması, ürünlerin optimum olgunlukta hasat edilmesi, hasat edilen ürünün yağmur altında bırakılmaması ve hasattan önce böceklerle mücadele edilmesi gibi tedbirlerle küf üremesi engellenebilir (Kaya ve Yarsan, 1995; Whitlow ve Hagler, 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002; Mishra ve Das, 2003).

Hasat edilen ürünün nakledilmesi ve depolanması sırasında; nakil araçlarının temiz, rutubetsiz olması ve tarım ürünlerini taşımadan önce uygun pestisitlerle muamele edilmesi, küfler ve toksinler uygun rutubet ve sıcaklıkta geliştiğinden tarım ürünleri iyice kurutulup nem oranı düşürüldükten sonra depolanması, depoların kuru olması, su ve diğer sıvı maddelerin sızmasına olanak vermemesi, depolardaki sıcaklık ve rutubet düzeyleri ayarlanarak düzenli bir şekilde kontrol edilmesi, depolarda fazla miktarda yem çuvalı üst üste konulmayarak yığınlar arasında hava akışının düzenli bir şekilde sağlanması ve gerek depolarda gerekse ürünlerde böcek ve mantarlara karşı koruyucu olarak ilaçlama yapılması, yem hammaddeleri ve diğer tarımsal ürünlerde küflenmenin engellemesinde yararlı olabilmektedir (Whitlow ve Hagler, 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Küflenmenin önlenmesi için bazı kimyasal maddeler de kullanılabilir. Kimyasal muhafaza temeline dayanan bu uygulama sayesinde, bir yandan tarım ürünleri ve yem hammaddelerinin dayanıklılığı artırılıp depolanma ömürleri uzatılırken, diğer taraftan küflenme ve mikotoksinlerle bulaşma olasılığı da azaltılabilmektedir. En fazla kullanılan kimyasal maddeler propiyonik asit, formik asit, fumarik asit, asetik asit, laktik asit ve sitrik asit gibi organik asit çeşitleri, üre ve jansiyan viyole gibi boya maddeleri ile aureofungin, tiram, kaptan, ortafenilfenat ve bordo bulamacı bulunmaktadır. Küflenmenin kontrolü amacıyla, gaz halinde amonyak uygulamalarına da başvurulmaktadır (Şanlı, 2002).

### **2.7.2. Detoksifikasyon**

Aflatoksinler arasında etkisi en güçlü olan AFB<sub>1</sub>'in moleküler yapısı fiziko-kimyasal

ve biyokimyasal olarak incelendiğinde, toksikolojik etkiye sebep olan iki önemli yapıdan söz edilebilir. Birinci yapı, furan halkasında bulunan 8 ile 9'uncu karbon atomları arasındaki çift bağıdır. Aflatoksin ile DNA ve protein yapıları arasındaki etkileşme bu yapıdan kaynaklanır ve sonuçta hücresel düzeyde zararlı etkiler ve biyokimyasal fonksiyonlarda değişimler meydana gelebilir (Mishra ve Das, 2003). İkinci yapı ise kumarin türevlerdeki laktan halkasıdır. Aflatoksinlerin yıkılmasında etkili olan bu yapı kolaylıkla hidrolize olabilir niteliktedir. Yıkılma, furan halkasındaki çift bağı doyurulmasıyla veya laktan halkasının hidrolize olup açılmasıyla gerçekleşebilir. Buradaki değişiklikler önce laktan halkasında başlar ve sonra furan halkasının çift bağı doyurularak toksinin yıkılmasını sağlar (Kaya ve Yarsan, 1995)

Koruyucu önlemlerin alınmadığı veya toksin oluşumunun önüne geçilemediği durumlarda gıdalardaki aflatoksin düzeyleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik uygulamalarla azaltılabilir (Özkaya ve Temiz, 2003).

**Fiziksel yöntemler:** Yem ve gıda maddelerinde mikotoksinlerin detoksifikasyonu için kullanılan fiziksel yöntemler; ayırma, ısı uygulamaları, güneş ışınları ile kurutma, ultra viyole lambalar ve iyonize radyasyon ile ışınlama işlemlerinden ibarettir (Kaya ve Yarsan, 1995; Tunail, 2000; Kaya, 2001; Yılmaz ve Özay, 2001).

Ayırma işlemi, elektronik göz adı verilen cihazlarla küflü danelerin sağlam danelerden ayrılması ya da flotasyon (yüzdürme) yöntemiyle, küfle kontamine danelerin seyreltik NaCl çözeltisinde yüzdürülerek bunların yüzeyde kalmasıyla sağlamlardan ayrılmaları prensibine dayanır (Yılmaz ve Özay, 2001; Özkaya ve Temiz, 2003).

Aflatoksinlerin ısıya olan dirençlerinden dolayı ısı uygulamaları sınırlı oranda etkili olmaktadır. Pastörizasyon, buharla muamele, fırında pişirme, sterilizasyon gibi işlemlerle aflatoksinlerin parçalanmaları mümkün değildir. Sütte bulunan AFM<sub>1</sub>'in pastörizasyon ve sterilizasyonda yıkılmasında olanaksızdır. Ancak rafine edilmemiş yerfıstığı yağları, 250 °C'de 10 dakika ısıtıldıklarında AFB<sub>1</sub> miktarı % 96.0 oranında azalmakta, 160°C'de 30 dakika kavrulan yerfıstıklarında ise aflatoksin miktarı 100 ppm'den 5 ppm'e düşmektedir (Kaya ve Yarsan, 1995).

Aflatoksinlerin yıkımlanması amacıyla güneş ışınları özellikle ürünün kurutulması aşamasında etkili olabilmektedir. Tahıllar ve yem tanelerinin ince serilmiş bir halde iki gün süresince güneş ışığında tutulmaları, aflatoksin seviyesini büyük oranda azaltmaktadır (Yılmaz ve Özay, 2001).

Ultra viyole lambalar kullanılarak fıstık, fındık, mısır, kuru kayısı, kuru incir gibi ürünlerde ışık altında mavi-yeşil renk verenlerin seçilmesi suretiyle elimine edilmesi suretiyle aflatoksin miktarı büyük oranda (% 50) azaltılabilmektedir. Fakat UV ile muamele sonucu gıda maddelerinde ve tarımsal ürünlerde oksidatif değişiklikler ve kalitede bozulmalar meydana gelebilir (Şanlı, 2002).

Tarımsal ürünlerde bulunan aflatoksin miktarının azaltılması veya yıkımlanması amacıyla iyonize radyasyon uygulamalarından da yararlanılmaktadır. Işınlamada en etkili olan ve en çok kullanılan gama ışınıdır. İyonize radyasyonla ışınlama esasına dayanan uygulamalarda yüzlerce ton yem hammaddesi, karma yem ve yiyecek maddelerinin ışınlanması, bir yandan oldukça pahalı yatırımlar gerektirmekle birlikte öte yandan ışınlanan ürünlerde organoleptik kalitenin bozulması ve zehirli parçalanma ürünlerinin şekillenmesine sebep olması nedeniyle ışınlama işlemi deneysel çalışmalardan ileri gidememiştir (Şanlı, 2002).

**Kimyasal yöntemler:** Yem ve gıda maddelerinde mikotoksinlerin detoksifikasyonu için kullanılan çok sayıda kimyasal madde bulunmaktadır. Aflatoksinlere karşı en etkili kimyasal maddeler amonyak, klorür gazı, hidrojen peroksit, sodyum hipoklorit, sodyum bisülfid ve ozondur. Bu kimyasal maddelerin kullanılması ile aflatoksinlerin detoksifikasyonu sağlanabilir. Ancak bunların kullanımı ile gıda ve yemlerde istenmeyen değişiklikler meydana geldiğinden ve bazı gıdaların da besin değeri azaldığından, özellikle gıda sektöründe kullanılmaları uygun değildir (D'Mello ve Macdonald, 1997; Kaya, 2001; Whitlow ve Hagler, 2001; Whitlow ve Hagler, 2002; Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Yemlerin detoksifikasyonunda bir dereceye kadar alkali uygulamasından yararlanılabilir. Başta aflatoksinler olmak üzere, tüm mikotoksinler alkalilerin yıkımlayıcı etkilerine karşı duyarlıdırlar. 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 (Kaya ve Yarsan, 1995). Sodyum hidroksit ve sodyum karbonat detoksifikasyon için kullanılabilir. Alkalilerle yıkımlama işlemlerinde lakton halkasında hidroliz meydana gelerek AFB<sub>1</sub>, AFQ'ya dönüşür. Yapılan bir çalışmada % 30 rutubet içeren yerfıstığının, % 20'lik NaOH solusyonunda 90 dakika bırakılmasıyla aflatoksin miktarının 111 ppm'den 17 ppm'e düştüğü tespit edilmiştir (Kaya ve Yarsan, 1995).

Mikotoksinlerin detoksifikasyonu için çeşitli bağlayıcı (adsorbant) maddeler kullanılarak, yem hammaddeleri ve karma yemlerde bulunan mikotoksinlerin kalıcı biçimde bağlanması suretiyle, hayvanların sindirim kanalından emilmelerinin engellenmesi ve zararlı etkilerinin önlenmesi sağlanabilir. Bu amaçla kil mineralleri, sodyum bentonit, zeolitler, polivinilpolipirrolidon ve benzeri polimerler, aktif kömür ve Hydrated sodium calcium aluminosilicate (HSCAS) kullanılmaktadır (Şanlı, 2002). Harvey ve ark. (1991) yemlerine HSCAS katılan ineklerin sütlerinde, AFM<sub>1</sub> miktarının azaldığını ve azalmanın yeme katılan HSCAS'ın miktarına bağlı olarak % 44.0'e kadar çıktığını bildirmişlerdir.

Uygulanan tüm fiziksel ve kimyasal işlemler sonucunda, AFM<sub>1</sub> miktarında % 3.6-100 arasında bir azalma olabileceği ancak uygulanan bu metodların en azından şimdilik, süt endüstrisinde uygulanabilirliğinin söz konusu olmadığı belirtilmektedir. Çünkü bu şekilde muamele edilen ürünlerin; biyolojik güvenilirliği, besin değeri, fonksiyonel özellikleri ve organoleptik kaliteleri hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Dolayısıyla, bu konuda daha fazla araştırma ve incelemeye ihtiyaç olduğu bildirilmektedir (Van Egmond, 1994; Mishra ve Das, 2003).

**Biyolojik yöntemler:** Biyolojik yöntemlerin esası; yem hammaddeleri ve karma yemlerde bulunan mikotoksinleri etkin bir şekilde parçalayabilen mutant bakteriler, maya ve küf türlerinin kullanılması esasına dayanır. Karma yemlere katılan *Flavobacterium aurantiacum* adlı bakterinin ve *Saccharomyces cerevisiae* adlı maya kültürünün, sakıncalı

boyutlardaki aflatoksin miktarını önemli derecede azalttıkları saptanmıştır (Şanlı, 2002; Mishra ve Das, 2003).

Bazı mikroorganizmaların aflatoksinleri metabolize edip daha az toksik bileşiklere dönüştürdükleri bilinmektedir. *Aspergillus niger*, *Corynebacterium rubrum* ve *Mucor ambigatus* gibi küfler AFB<sub>1</sub> ve AFG<sub>1</sub>'i daha az toksik olan AFB<sub>2a</sub> ve AFG<sub>2a</sub>'ya çevirebilirler (Yılmaz ve Özay, 2001). Bakteriler üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda *Flavobacterium aurantiacum*'un aflatoksinleri adsorbsiyon ile detoksifiye etme özelliğine sahip olduğu belirlenmiştir. *Flavobacterium aurantiacum* kullanılarak tahıllar, yer fıstığı ve sütte bulunan aflatoksinler 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 (Tunail, 2000; Özkaya ve Temiz, 2003). Son yıllarda yapılan çalışmalarda da laktik asit bakterileri (*Lactobacillus spp.*) ile aflatoksinin uzaklaştırılmasından olumlu sonuçlar alındığı bildirilmektedir (Yılmaz ve Özay, 2001; Özkaya ve Temiz, 2003).

Özkaya ve ark. (2003) yaptıkları bir çalışmada *Flavobacterium. aurantiacum* NRRL B-184 suşunun, ülkemizde aflatoksin sorunu yaşanan kuru kırmızı biber ve yer fıstıklarında AFB<sub>1</sub>'in azaltılması veya giderilmesinde etkili olup olmadığı araştırılmıştır. *Flavobacterium aurantiacum* NRRL B-184 suşu, AFB<sub>1</sub> düzeyini 48 saat içinde yer fıstığında % 92.6-99.8, kırmızı biberde ise % 88.7-100 oranında azalttığı gözlemlenmiştir.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

Bu çalışmada, Ağrı ilinde Ocak 2006 ile Aralık 2006 tarihleri arasında 12 ay boyunca semt pazarları ve marketlerde satışa sunulan 156 adet çiğ süt ile süpermarket ve marketlerden temin edilen 156 adet UHT süt olmak üzere toplam 312 adet süt örneği gereç olarak kullanıldı. Mevsimsel farkları görebilmek amacıyla her ay 13 adet çiğ ve 13 adet UHT süt örneği alındı. Çiğ süt örnekleri en az 250 ml olacak şekilde steril şişelere dolduruldu, UHT sütler ise orijinal ambalajlarında (250, 500, 1000 ml) alındı ve analiz zamanına kadar +4°C'de muhafaza edildi.

#### **3.2. Yöntem**

Süt örneklerin AFM<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 ve geri alma oranı süt için ortalama % 95'dir (Anonymous, 2006). Sonuçların hesaplanması eliza cihazında yüklü bulunan RIDAWIN isimli bilgisayar programı kullanılarak otomatik olarak yapıldı.

##### **3.2.1. Elisa yönteminin prensibi**

Testin ana prensibi antijen-antikor reaksiyonuna dayanmaktadır. Mikrotiter pleyttteki kuyucuklar AFM<sub>1</sub>'e özel antikorlarla kaplanmıştır. AFM<sub>1</sub> içeren standart solüsyonların ve örneklerin kuyucuklara ilavesi ile standartlar ve örneklerde bulunan AFM<sub>1</sub> kuyucuklardaki antikor siteleri tarafından tutulur. Geride kalan AFM<sub>1</sub> bağlanmamış antikor sitelerine bir sonraki aşamada enzim konjugat (enzimle işaretlenmiş antijen) bağlanır. Antikor sitelerine bağlanmamış enzim konjugatlar yıkama işlemi ile uzaklaştırılır. Daha sonra kuyucuklara substrat (üre peroksidaz) ve kromojen (tetrametilbenzidin) ilave edilmesi ile substratın kopardığı enzim konjugat kromojen tarafından mavi bir renge dönüştürülür. Stop (sülfirik asit) solüsyonu ilavesi reaksiyonu durdurur. Örneklerde bulunan AFM<sub>1</sub> absorbans değerleri otomatik olarak elisa okuyucuda 450 nm'de okutulur. Sonuç olarak

okunan absorbans değerleri örneklerde bulunan AFM<sub>1</sub> konsantrasyonları ile ters orantılıdır (Anonymous, 2006).

### **3.2.2. Uygulamada dikkat edilecek hususlar**

Reaktifler 2-8°C’de saklanmalı kullanılmadan önce bütün reaktifler oda ısısına getirilmelidir. Basamaklar arasında mikro kuyucukların kurumamasına özen gösterilmelidir. Sonuçların doğruluğu büyük ölçüde mikro kuyucukların yıkanmasındaki tutarlılığa bağlı olduğundan, yıkama işlemlerinde prosedür de belirtilen hususlara uyulmalıdır. Tüm inkübasyonlar sırasında direkt güneş ışığı ile temastan kaçınılmalı, ayrıca mikrotiter pleytin üzerinin inkübasyonlar sırasında kapatılması sağlanmalıdır. AFM<sub>1</sub> konjugat, konsantre şekildedir. Dilüe edilmiş konjugatın dayanıklılığı sınırlı olduğundan, sadece ihtiyaç kadarı sulandırılmalıdır. Konjugat yoğun tuz solüsyonu şeklinde olduğundan pipetlemeden önce dikkatlice çalkalanmalıdır (Anonymous, 2006).

### **3.2.3. Analizin yapılışı**

#### **3.2.3.1. Örneklerin hazırlanması**

Süt örneklerinin yağını almak için 5 ml süt 3500 devirde, 10°C’de 10 dakika süreyle santrifüje edildikten sonra tüpün üstündeki yağ tabakası pastör pipeti ile çekilerek alındı. Yağı alınmış süt (yağsız supernatant) testte direkt olarak kullanıldı (Anonymous, 2002; Anonymous, 2006).

#### **3.2.3.2. Test prosedürü**

Standart solüsyonlar (standart solüsyonların aflatoksin M<sub>1</sub> konsantrasyonları 0, 5, 10, 20, 40, 80 ppt) ve hazırlanan süt örnekleri için yeterli sayıda mikrotiter kuyucuk pleyte yerleştirildi. Standart solüsyonların ve hazırlanan örneklerin her birinden 100 µl alındı ve kuyucuklara aktarıldı. Oda ısısında, karanlık ortamda 60 dakika süre ile bekletildi. Daha sonra pleyt otomatik yıkayıcıda (Bio-Tek Instruments, Inc., EL X 50) iki kez yıkatıldı. Yıkanan her bir kuyucuğa 100 µl dilüe edilmiş (1:11) enzim konjugat ilave edildi. Oda

ısısında, karanlık ortamda 60 dakika bekletildikten sonra pleyt otomatik yıkayıcıda üç kez yıkatıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa sırayla 50 µl substrat ve 50 µl kromojen ilave edilerek iyice karıştırıldı ve oda ısısında, karanlık ortamda 30 dakika daha bekletildi. Son olarak her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu konularak iyice karıştırıldı ve ELISA okuyucuda (Bio-Tek Instruments, Inc., EL X 800) 450 nm'de okutuldu. Okumanın 60 dakika içerisinde yapılmasına dikkat edildi (Anonymous, 2002; Anonymous, 2006).



#### 4. BULGULAR

Ağrı'da 2006 yılı boyunca piyasadan alınan çiğ süt örneklerinde belirlenen AFM<sub>1</sub> miktarları izelge 8'de, UHT süt örneklerinde belirlenen AFM<sub>1</sub> miktarları ise izelge 9'da sunuldu.

Çizelge 8 incelendiğinde analizi yapılan çiğ süt örneklerindeki en düşük ortalama AFM<sub>1</sub> değeri 11.80 ppt ile Temmuz ayında en yüksek ortalama AFM<sub>1</sub> değeri 57.90 ppt ile Mart ayında alınan örneklerde belirlendiği, örnek bazında ise en yüksek değerin 136.10 ppt ile Mart ayında alınan örnekte tespit edildiği görülmektedir.

Çizelge 9 incelendiğinde analizi yapılan UHT süt örneklerindeki en düşük ortalama AFM<sub>1</sub> değeri 17.39 ppt ile Haziran ayında en yüksek ortalama AFM<sub>1</sub> değeri 43.94 ppt ile Mart ayında alınan örneklerde tespit edildiği, örnek bazında ise en yüksek değerin 106.10 ppt ile Mart ayında alınan örnekte belirlendiği görülmektedir.

Çiğ süt örneklerinde AFM<sub>1</sub> tespit edilen örnek sayıları, TGK (Anonim, 2002)'ya uygun olmayan örnek sayıları ve bunların aylara göre dağılımı izelge 10'da, UHT süt örneklerinde AFM<sub>1</sub> tespit edilen örnek sayıları, TGK (Anonim, 2002)'ya uygun olmayan örnek sayıları ve bunların aylara göre dağılımı izelge 11'de sunuldu.

Çizelge 8. Ağrı ilinde satışa sunulan çiğ sütlerde tespit edilen AFM<sub>1</sub> düzeyleri ve aylık ortalamaları (ppt= ng/lt.)

Örnek No	Ocak 2006	Şubat 2006	Mart 2006	Nisan 2006	Mayıs 2006	Haziran 2006	Temmuz 2006	Ağustos 2006	Eylül 2006	Ekim 2006	Kasım 2006	Aralık 2006
1	St2>	78.70	74.47	41.40	24.89	18.54	St2>	12.42	18.31	27.56	21.46	28.42
2	92.53	82.65	89.20	15.26	55.16	51.30	16.42	St2>	23.07	17.63	60.54	36.40
3	8.42	31.81	35.40	84.28	St2>	St2>	32.10	St2>	St2>	84.59	35.19	17.62
4	18.90	9.17	28.15	42.10	23.96	St2>	8.16	39.16	64.10	St2>	73.80	St2>
5	55.36	64.92	<b>136.10</b>	96.25	35.98	38.16	St2>	17.43	St2>	78.16	St2>	96.14
6	32.42	St2>	18.32	77.40	8.46	28.17	St2>	St2>	St2>	51.40	30.26	32.44
7	78.81	77.72	111.06	10.24	St2>	St2>	St2>	34.17	54.12	St2>	18.17	17.60
8	59.64	64.12	42.18	86.23	68.54	63.15	27.14	St2>	19.10	18.40	St2>	24.45
9	St2>	33.29	75.63	52.10	72.54	St2>	7.40	6.25	25.16	9.75	54.20	43.50
10	18.64	16.40	St2>	St2>	32.42	9.10	St2>	St2>	St2>	37.16	87.14	67.10
11	72.27	St2>	84.10	36.16	St2>	St2>	42.14	28.64	29.12	St2>	9.78	St2>
12	44.21	68.50	26.06	48.14	22.08	34.15	20.16	St2>	17.65	57.60	25.76	14.70
13	30.56	32.10	32.12	24.10	32.64	28.15	St2>	16.98	11.48	43.14	26.83	35.15
<b>EN AZ</b>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>
<b>EN ÇOK</b>	92.53	82.65	136.10	96.25	72.54	63.15	42.14	39.16	64.10	84.59	87.14	96.14
<b>ORTALAMA</b>	<b>39.36</b>	<b>43.02</b>	<b>57.90</b>	<b>47.20</b>	<b>28.97</b>	<b>20.82</b>	<b>11.80</b>	<b>11.92</b>	<b>20.16</b>	<b>32.72</b>	<b>34.08</b>	<b>31.80</b>
<b>STANDART SAPMA</b>	30.53	30.98	40.24	31.05	24.58	21.64	14.51	14.31	20.23	28.94	27.33	26.36

St2> : Elisa'da kullanılan Standart 2'nin AFM<sub>1</sub> konsantrasyonundan (5 ppt) daha düşük düzeyde AFM<sub>1</sub> içeren dolayısıyla tespit edilemeyen numune.

Çizelge 9. Ağrı ilinde satışa sunulan UHT sütlerde tespit edilen AFM<sub>1</sub> miktarları ve aylık ortalamaları (ppt= ng/lt.).

Numune No	Ocak 2006	Şubat 2006	Mart 2006	Nisan 2006	Mayıs 2006	Haziran 2006	Temmuz 2006	Ağustos 2006	Eylül 2006	Ekim 2006	Kasım 2006	Aralık 2006
1	28.16	26.50	<b>106.10</b>	24.20	24.54	72.10	St2>	18.17	24.15	St2>	23.54	71.10
2	67.41	69.40	19.70	31.80	9.68	8.65	32.24	St2>	32.40	29.90	St2>	28.36
3	33.62	24.15	63.40	16.40	St2>	35.23	7.65	33.44	St2>	15.12	29.89	St2>
4	84.26	17.60	St2>	63.15	59.16	St2>	21.35	24.54	58.34	39.35	71.16	17.64
5	St2>	86.42	26.10	St2>	14.42	St2>	31.10	St2>	73.60	17.22	21.15	82.10
6	62.42	St2>	17.65	28.40	42.46	27.68	St2>	55.16	20.14	63.92	St2>	10.72
7	15.40	54.40	38.44	31.46	8.65	St2>	38.46	28.15	St2>	11.46	24.04	34.58
8	18.85	36.68	53.14	75.16	St2>	7.42	21.35	19.02	32.10	52.14	68.80	St2>
9	68.73	16.40	77.40	42.46	36.40	St2>	17.47	41.19	23.20	19.05	17.21	59.14
10	8.44	7.44	92.16	St2>	65.10	44.93	St2>	St2>	19.20	St2>	St2>	17.36
11	14.70	62.15	24.10	6.60	19.17	23.40	35.14	28.49	34.22	25.22	33.42	6.68
12	30.40	18.40	11.42	15.10	31.34	St2>	24.60	48.23	8.12	39.17	8.23	38.60
13	33.13	10.60	17.46	24.16	23.95	6.70	26.67	32.46	20.14	28.14	15.13	27.36
<b>EN AZ</b>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>	St2>
<b>EN ÇOK</b>	84.26	86.42	106.10	75.16	65.10	72.10	38.46	55.16	73.60	63.92	71.16	82.10
<b>ORTALAMA</b>	<b>35.80</b>	<b>33.08</b>	<b>43.94</b>	<b>27.60</b>	<b>25.75</b>	<b>17.39</b>	<b>19.69</b>	<b>25.29</b>	<b>26.58</b>	<b>26.20</b>	<b>24.04</b>	<b>30.28</b>
<b>STANDART SAPMA</b>	28.33	28.87	35.85	24.56	22.12	24.80	14.17	18.88	23.30	20.66	24.80	28.23

St2> : Elisa'da kullanılan Standart 2'nin AFM<sub>1</sub> konsantrasyonundan (5 ppt) daha düşük düzeyde AFM<sub>1</sub> içeren dolayısıyla AFM<sub>1</sub> tespit edilemeyen numune.

Çizelge 10. Çiğ sütlerde tespit edilen AFM<sub>1</sub> miktarlarının genel görünümü

AYLAR	AFM <sub>1</sub> Tespit Edilemeyen Örnek Sayısı (< 5ppt= ng/Lt.)	5-50 ppt düzeyinde AFM <sub>1</sub> tespit edilen örnek sayısı	Türk Gıda Kodeksine Uygun Olmayan Örnek Sayısı (> 50ppt= ng/Lt. )	AFM <sub>1</sub> Pozitif Örnek Sayısı	Toplam Örnek Sayısı
<b>Ocak 06</b>	2 (% 15.38)	6 (% 46.16)	5 (% 38.46)	11 (%84.62)	13
<b>Şubat 06</b>	2 (% 15.38)	5 (% 38.46)	6 (% 46.16)	11 (%84.62)	13
<b>Mart 06</b>	1 (% 7.70)	6 (% 46.16)	6 (% 46.16)	12 (%92.30)	13
<b>Nisan 06</b>	1 (% 7.70)	7 (% 53.84)	5 (% 38.46)	12 (%92.30)	13
<b>Mayıs 06</b>	3 (% 23.07)	7 (% 53.84)	3 (% 23.07)	10 (%76.93)	13
<b>Haziran 06</b>	5 (% 38.46)	6 (% 46.16)	2 (% 15.38)	8 (%61.54)	13
<b>Temmuz 06</b>	6 (% 46.16)	7 (% 53.84)	0 (% 0)	7 (%53.84)	13
<b>Ağustos 06</b>	6 (% 46.16)	7 (% 53.84)	0 (% 0)	7 (%53.84)	13
<b>Eylül 06</b>	4 (% 30.78)	7 (% 53.84)	2 (% 15.38)	9 (% 69.22)	13
<b>Ekim 06</b>	3 (% 23.07)	6 (% 46.16)	4 (% 30.78)	10 (%76.93)	13
<b>Kasım 06</b>	2 (% 15.38)	7 (% 53.84)	4 (% 30.78)	11 (%84.62)	13
<b>Aralık 06</b>	2 (% 15.38)	9 (% 69.24)	2 (% 15.38)	11 (%84.62)	13
<b>TOPLAM</b>	<b>37 (% 23.72)</b>	<b>80 (% 51.29)</b>	<b>39 (% 24.99)</b>	<b>119 (% 76.28)</b>	<b>156</b>

Çizelge 10 incelendiğinde, 156 adet çiğ süt örneğinin 119 (% 76.28) adedinde çeşitli oranlarda AFM<sub>1</sub> tespit edilirken, 37 (% 23.72) örnekte AFM<sub>1</sub> bulunamadığı, AFM<sub>1</sub> tespit edilen süt örneklerinin 80 (% 51.29) adedinin TGK (Anonim, 2002)'ya göre kabul edilebilir limit olan 50 ppt'nin altında AFM<sub>1</sub> içerdiği, 39 (% 24.99) örneğin ise TGK

(Anonim, 2002)'nin üst sınır olarak belirlediği 50 ppt'nin üzerinde AFM<sub>1</sub> içerdiği görülmektedir.

Çizelge 11. UHT sütlerde tespit edilen AFM<sub>1</sub> miktarlarının genel görünümü

AYLAR	AFM <sub>1</sub> Tespit Edilemeyen Örnek Sayısı (< 5ppt= ng/l.)	5-50 ppt düzeyinde AFM <sub>1</sub> tespit edilen örnek sayısı	Türk Gıda Kodeksine Göre Uygun Olmayan Örnek Sayısı (> 50ppt= ng/l. )	AFM <sub>1</sub> Pozitif Örnek Sayısı	Toplam Örnek Sayısı
<b>Ocak 06</b>	1 (% 7.70)	8 (% 61.54)	4 (% 30.77)	12 (%92.30)	13
<b>Şubat 06</b>	1 (% 7.70)	8 (% 61.54)	4 (% 30.77)	12 (%92.30)	13
<b>Mart 06</b>	1 (% 7.70)	7 (% 53.84)	5 (% 38.46)	12 (%92.30)	13
<b>Nisan 06</b>	2 (% 15.38)	9 (% 69.23)	2 (% 15.38)	11 (%84.62)	13
<b>Mayıs 06</b>	2 (% 15.38)	9 (% 69.23)	2 (% 15.38)	11 (%84.62)	13
<b>Haziran 06</b>	5 (% 38.46)	7 (% 53.84)	1 (% 7.7)	8 (%61.54)	13
<b>Temmuz 06</b>	3 (% 23.07)	10 (% 76.93)	0 (% 0)	10 (%76.93)	13
<b>Ağustos 06</b>	3 (% 23.07)	9 (% 69.23)	1 (% 7.7)	10 (%76.93)	13
<b>Eylül 06</b>	2 (% 15.38)	9 (% 69.23)	2 (% 15.38)	11 (%84.62)	13
<b>Ekim 06</b>	2 (% 15.38)	10 (% 76.93)	1 (% 7.7)	11 (%84.62)	13
<b>Kasım 06</b>	3 (% 23.07)	8 (% 61.54)	2 (% 15.38)	10 (%76.93)	13
<b>Aralık 06</b>	2 (% 15.38)	8 (% 61.54)	3 (% 23.07)	11 (%84.62)	13
<b>TOPLAM</b>	<b>27 (% 17.30)</b>	<b>102 (% 65.40)</b>	<b>27 (% 17.30)</b>	<b>129 (% 82.70)</b>	<b>156</b>

Çizelge 11 incelendiğinde, 156 adet UHT süt örneğinin 129 (% 82.70) adedinde çeşitli oranlarda AFM<sub>1</sub> tespit edilirken 27 (% 17.30) örnekte AFM<sub>1</sub>'e rastlanmadığı, AFM<sub>1</sub> tespit edilen örneklerin 102 (% 65.40) adedinde TGK (Anonim, 2002)'ya göre kabul edilebilir limit olan 50 ppt'nin altında AFM<sub>1</sub> tespit edildiği ve örneklerin 27 (% 17.30)

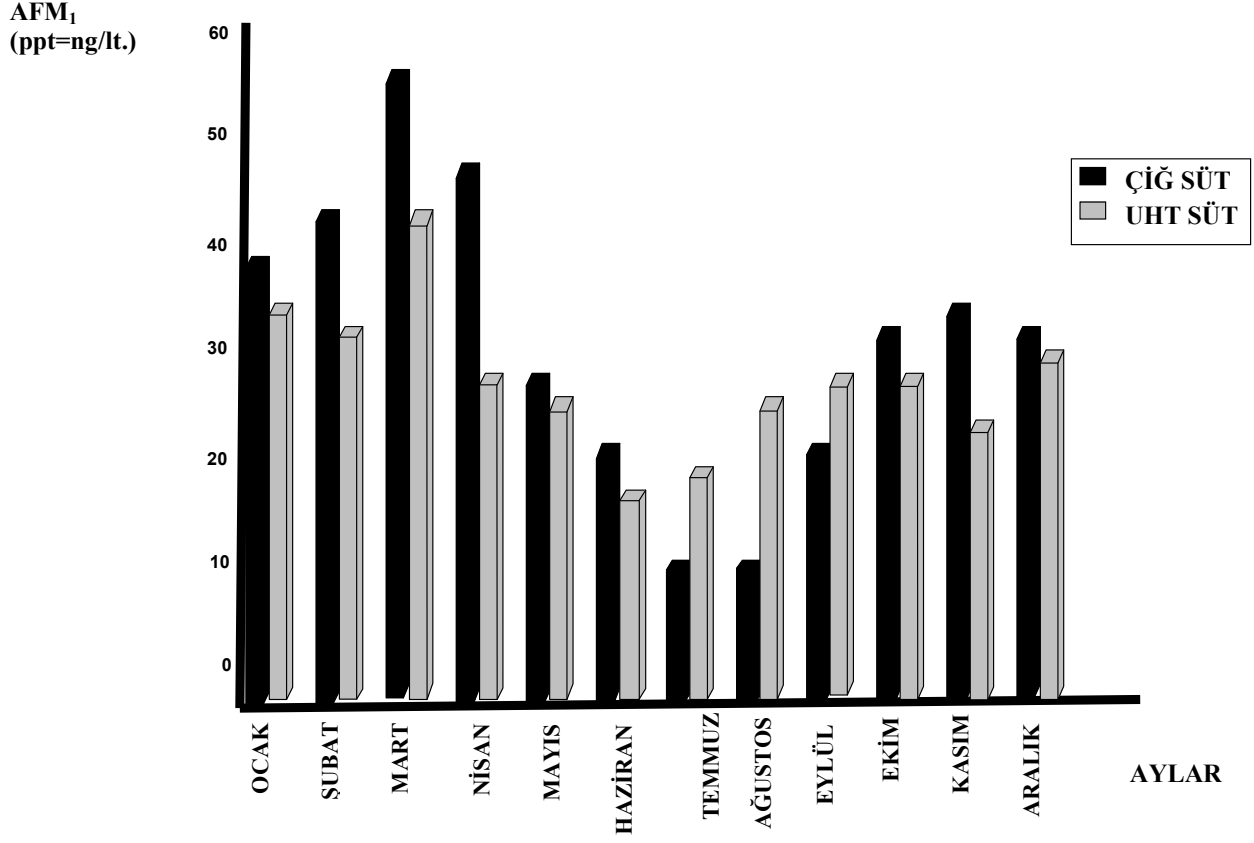
adedinin ise TGK (Anonim, 2002)'nin üst limit olarak belirlediği 50 ppt'nin üzerinde AFM<sub>1</sub> içerdiği görülmektedir.

Bu araştırmada incelenen toplam 312 adet süt örneğinin 248 (% 79.49) adedinde değişik oranlarda AFM<sub>1</sub> tespit edildi, 64 (% 20.51) adetinde ise tespit edilebilir limitlerin içerisinde AFM<sub>1</sub> bulunamadı. Toplam 66 (% 21.15) süt numunesinde ise TGK (Anonim, 2002)'da belirtilen maksimum limitlerin üzerinde AFM<sub>1</sub> tespit edildi (Çizelge 12).

Çizelge 12. İncelenen süt örneklerindeki AFM<sub>1</sub> miktarlarının genel görünümü.

Örnekler	AFM <sub>1</sub> Tespit Edilemeyen Örnek Sayısı (< 5ppt= ng/lt.)	5-50 ppt düzeyinde AFM <sub>1</sub> tespit edilen örnek sayısı	Türk Gıda Kodeksine Göre Uygun Olmayan Örnek Sayısı (> 50ppt= ng/lt.)	AFM <sub>1</sub> Pozitif Örnek Sayısı	Toplam Örnek Sayısı
Çiğ Süt	37 (% 23.72)	80 (% 51.29)	39 (% 24.99)	119 (% 76.28)	156
UHT Süt	27 (% 17.30)	102 (% 65.40)	27 (% 17.30)	129 (% 82.70)	156
<b>TOPLAM</b>	<b>64 (% 20.51)</b>	<b>182 (% 58.34)</b>	<b>66 (% 21.15)</b>	<b>248 (% 79.49)</b>	<b>312</b>

Analizi yapılan çiğ ve UHT sütlerdeki ortalama AFM<sub>1</sub> miktarları ve bunların aylara göre dağılımı Şekil 4'de sunuldu. Çiğ sütlerde en düşük değerler Temmuz ayında belirlenirken UHT sütlerde Haziran ayında belirlenmiştir. En yüksek değerler ise her iki üründe de Mart ayında belirlendi (Şekil 4).



Şekil 4. Çiğ ve UHT süt örneklerinde tespit edilen ortalama AFM<sub>1</sub> düzeylerinin karşılaştırılması.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu araştırmada Ağrı'da tüketime sunulan 156 adet çiğ süt örneği ile 156 adet UHT süt örneği AFM<sub>1</sub> varlığı ve TGK (Anonim, 2002)'ya uygunluğu yönünden ELISA yöntemi kullanılarak incelendi.

156 adet çiğ süt örneğinin 119 (% 76.28) adedinde değişik oranlarda AFM<sub>1</sub> tespit edilirken 37 (% 23.72) adedinde ise tespit edilebilir düzeyde AFM<sub>1</sub> bulunamadı. 39 (% 24.99) adet çiğ süt numunesinde ise TGK (Anonim, 2002)'nın izin verdiği limitlerin üzerinde AFM<sub>1</sub> tespit edildi (Çizelge 10).

İncelenen 156 adet UHT süt örneğinin 129 (% 82.70) adedinde değişik oranlarda AFM<sub>1</sub> tespit edilirken 27 (% 17.30) adedinde ise tespit edilebilir düzeyde AFM<sub>1</sub> bulunamadı. 27 (% 17.30) adet UHT süt numunesinde ise TGK (Anonim, 2002)'nin izin verdiği limitlerin üzerinde AFM<sub>1</sub> tespit edildi (Çizelge 11).

Çiğ sütlerde en düşük ortalama değer 11.80 ppt ile Temmuz ayında, en yüksek ortalama değer 57.90 ppt ile Mart ayında alınan örneklerde belirlenirken, örnek bazında ise en yüksek değer 136.10 ppt ile Mart ayında alınan örnekte belirlendi (Çizelge 8). UHT süt örneklerinde ise en düşük ortalama değer 17.39 ppt ile Haziran ayında, en yüksek ortalama değer 43.94 ppt ile Mart ayında alınan örneklerde belirlenirken örnek bazında ise en yüksek değer 106.10 ile Mart ayında alınan örnekte belirlendi (Çizelge 9).

Bu çalışmada incelenen toplam 312 adet çiğ ve UHT süt örneğinin 248 (% 79.49) adedinde değişik oranlarda AFM<sub>1</sub> tespit edilmiş olup, 64 (% 20.51) adedinde ise AFM<sub>1</sub> tespit edilemedi. Toplam 66 (% 21.15) adet çiğ ve UHT süt örneğinde ise TGK (Anonim, 2002)'da belirtilen limitleri üzerinde AFM<sub>1</sub> tespit edildi (Çizelge 12).

Bu araştırmada mevsimsel farkları da ortaya koymak için 12 ay süreyle örnek alındı. Çiğ sütlerde aylara göre tespit edilen AFM<sub>1</sub> miktarları ve pozitif örnek sayıları çizelge 10'da sunuldu. Çizelge 10 incelendiğinde AFM<sub>1</sub> pozitif örnek sayısı en düşük Temmuz ve Ağustos (7 örnek) aylarında en yüksek Mart ve Nisan (12 örnek) aylarında belirlendi. Yine



Temmuz ve Ağustos aylarında alınan örneklerin hiçbirisinde TGK (Anonim, 2002)'da belirtilen limitleri aşan örnek bulunmazken TGK (Anonim, 2002)'da belirtilen limitlerin üzerinde AFM<sub>1</sub> içeren en fazla örnek Şubat ve Mart (6 örnek) aylarında belirlendi. UHT sütlerde aylara göre tespit edilen AFM<sub>1</sub> miktarları ve pozitif örnek sayıları çizelge 11'de sunuldu. Çizelge 11 incelendiğinde AFM<sub>1</sub> pozitif örnek sayısı en düşük Haziran (8 örnek) ayında en yüksek Ocak, Şubat ve Mart (12 örnek) aylarında alınan örneklerde belirlendi. Yine Temmuz ayında alınan örneklerin hiçbirisinde TGK (Anonim, 2002)'ya uygun olmayan örnek bulunmazken TGK (Anonim, 2002)'da belirtilen limitlerin üzerinde AFM<sub>1</sub> içeren en fazla örnek Ocak (4 örnek), Şubat (4 örnek) ve Mart (5 örnek) aylarında belirlendi.

İncelenen örneklerde 5-50 ppt arasında AFM<sub>1</sub> içeren örnek sayısı çiğ sütlerde 80 (%51.29) adet ve UHT sütlerde ise 102 (%65.40) adet olarak bulundu. İncelenen çiğ süt örneklerinde AFM<sub>1</sub> tespit edilemeyen örnek sayısı 37 (%23.72) adet iken bu sayı UHT sütlerde 27 (%17.30) adet olarak bulundu. Çiğ sütlerde AFM<sub>1</sub> pozitif olan 119 (%76.28) adet örneğin 39 (%24.99) adedi TGK (Anonim, 2002)'ya uygun bulunmazken UHT sütlerde AFM<sub>1</sub> pozitif olan 129 (82.70) adet örneğin 27 (%17.30) adedi TGK (Anonim, 2002)'ya uygun bulunmadı. Görüldüğü gibi çiğ sütlerde AFM<sub>1</sub> pozitif örnek sayısı UHT sütlerden daha az ancak TGK (Anonim, 2002)'ya uygun olmayan örnek sayısı UHT sütlerden daha fazla çıkmıştır. Yani UHT sütlerdeki AFM<sub>1</sub> miktarı çiğ sütlerden daha düşük bulundu.

Bu araştırmada UHT sütlerdeki AFM<sub>1</sub> miktarının çiğ sütlerden daha düşük çıkmasının nedeni UHT sütlerin tanklarda toplanması ve üretim esnasında kontamine birkaç litre sütün AFM<sub>1</sub> içermeyen sütleri kontamine etmesidir. Aynı zamanda bu esnada AFM<sub>1</sub> içermeyen sütler toplama ve süt işleme merkezlerinde karıştırılması esnasında AFM<sub>1</sub> içeren sütleri dilüe ederek AFM<sub>1</sub> miktarı düşürülmüş olur ve bu nedenle ilgili standartları aşan örnek sayısı ticari sütlerde daha az çıkar. Bu araştırmada elde edilen bulgular ticari sütlerdeki AFM<sub>1</sub> kontaminasyon seviyelerinin daha düşük olduğunu bildiren araştırmacıların bulgularıyla benzerlik göstermektedir (Galvano ve ark., 1996; Ender, 2001; Oruç, 2003).

Hayvan yemleri, genellikle ucuz yem temini amacıyla daha çok sonbaharda toptan alınmakta veya üreticilerin kendi mahsulleri olan çayır otu, yonca, korunga gibi diğer kaba yemler yığın halinde bekletilmektedir. Uygun olmayan yerlerde ve olumsuz iklim şartlarında uzun süre bekletilen yemler küflenmekte ve buna bağlı olarak da yemlerde AFB<sub>1</sub> oluşmaktadır. AFB<sub>1</sub> içeren yemlerin süt hayvanlarına yedirilmesi sütlerde AFM<sub>1</sub> oluşumunun en önemli etkenlerinden birini teşkil etmektedir (Van Egmond, 1989; Van Egmond, 1994; Bakırcı, 1995).

Aylara göre AFM<sub>1</sub> konsantrasyonundaki değişimler Şekil 5'te sunuldu. Şekil 5 incelendiğinde çiğ süt örneklerinde en düşük AFM<sub>1</sub> düzeyi Temmuz ve Ağustos aylarında UHT sütlerde ise Haziran ve Temmuz aylarında alınan örneklerde belirlenmiş olup en yüksek değerler çiğ sütlerde Mart ve Nisan aylarında belirlenirken UHT sütlerde Mart ayında alınan örneklerde belirlendi.

Yaz aylarında hayvanlar merada otlatıldığı ve bu dönemde taze ve yeşil ot tüketiminin artması ve kesif yem tüketim miktarının düşmesine bağlı olarak sütlerdeki AFM<sub>1</sub> miktarı düşük çıktı. Kesif yem tüketiminin arttığı kış ve bahar aylarında AFM<sub>1</sub> miktarı yüksek çıkmıştır. Kış aylarında hayvanlar daha çok kesif yemlerle beslendiği için toksin miktarı yüksek çıkmaktadır (Bakırcı,1995; Galvano ve ark., 1996; Panariti, 2001; Kamkar, 2004; Birdane ve ark., 2006).

Yaptıkları araştırmalarda Blanco ve ark. (1988), Özkaya ve ark. (2002), Pittet (1998), Birdane ve ark. (2006), Kamkar (2004), Bakırcı (2001) ve Panariti (1997), bu çalışmada olduğu gibi taze ve yeşil ot tüketim miktarının arttığı, kesif yem tüketim miktarının azaldığı ilkbahar ve yaz aylarında süt ve süt ürünlerinde AFM<sub>1</sub> miktarının düştüğünü, kesif yem tüketiminin arttığı kış aylarında AFM<sub>1</sub> miktarının yükseldiğini bildirmişlerdir. Yukarıdaki araştırmacıların aksine Markaki ve Melissari (1997) ise inceledikleri süt örneklerinde mevsimsel bir fark bulunmadığını bildirmişlerdir.

Bilindiği gibi sütlerde bulunan AFM<sub>1</sub> miktarı ile yemlerde bulunan AFB<sub>1</sub> arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Sütlerde bulunan AFM<sub>1</sub>'in asıl kaynağı yemlerde bulunan AFB<sub>1</sub>'dir (Van Egmond, 1989; Wood, 1991).

Ülkemizde yemlerde AFB<sub>1</sub> belirlemek için yapılan çalışmalar daha çok kanatlı hayvan yemleri üzerine olup süt hayvanlarına yedirilen yemlerle ilgili çalışmalar daha azdır. Bunun nedeni aflatoksinlere daha duyarlı olan kanatlı hayvanların çiftliklerde toplu ölümlerine yol açması sebebiyle meydana gelen ekonomik kayıpların önüne geçmektir. Süt hayvanlarında aflatoksinlerin kanatlılarda olduğu gibi akut etkilerinin görülmemesi sebebiyle süt hayvanlarına yedirilen yemlerdeki toksinler üzerinde pek fazla durulmamaktadır. Buna ilaveten kanatlılara yedirilmeyen küflü yemlerin süt hayvanlarının yemlerine katıldıkları da zaman zaman müşahade edilmektedir. Küflü hayvan yemlerinin normal yemlere belirli oranlarda katılarak süt hayvanlarına yedirilmesi bu hayvanların sütlerinde düşük düzeylerde de olsa AFM<sub>1</sub> bulunmasına yol açmakta, bu husus da halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır.

Halk sağlığı için büyük önem arz eden bu hususta alınacak ilk önlem yemlerde aflatoksin oluşumunun kontrol altına alınmasıdır. Süt ve süt ürünlerindeki AFM<sub>1</sub> miktarını minimum düzeylerde tutabilmek için yemlerdeki AFB<sub>1</sub> oluşumunu önlemeye çalışmak gerekir. Bu amaçla süt hayvanlarına verilen yemler uygun şartlarda depolanmalı, gerekli kontroller yapılmalı ve süt üreticileri bu konuda bilinçlendirilmelidir (Özturhan, 2005).

İncelenen toplam 312 süt örneğinin 182 (% 58.34) adedinde TGK (Anonim, 2002)'da belirtilen sınırların altında AFM<sub>1</sub> tespit edildi. Bu durum incelenen süt örneklerinin halk sağlığı açısından tehlike taşımadığı anlamına gelmemelidir. Bilindiği gibi, sütü en fazla tüketenler, bebekler ve çocuklardır. Yetişkinlere göre daha fazla süt tüketmek zorunda olan bebek ve çocukların biyotransformasyon kapasitelerinin gelişmemiş ve daha düşük olması nedeniyle, AFM<sub>1</sub>'e yetişkin insanlardan daha duyarlı olması, bu toksinin sağlık açısından ne kadar önemli olduğunu ortaya koymaktadır (Bakırcı, 1995; Oruç, 2003). Bu nedenle yetişkinler için 0.05 ppb olan sınır değer, bazı Avrupa ülkelerinde (Fransa, İsviçre) bebek ve çocukların beslenmesinde kullanılan süt ve sütlü mamüllerde 0.02-0.03 ppb'ye düşürülmüştür (Creppy, 2002). Ülkemizde kabul edilen tolerans değer süt için 0.05 ppb düzeyinde olup bebek ve çocukların tüketimine sunulan süt ve ürünleri için de aynı miktar geçerlidir (Anonim, 2002).

İncelenen örneklerde limit değerlerinin altında AFM<sub>1</sub> bulunması halk sağlığı açısından bebek ve çocuklarda olduğu gibi yetişkinlerde de önem taşımaktadır. Halk sağlığı açısından aflatoksinlerin en büyük riski, kümülatif etkisinden kaynaklanmaktadır. Düşük düzeylerde aflatoksinin uzun süre alınmasına bağlı olarak; karaciğer kanseri, kronik hepatitis, sarılık ve siroz riski arttığı ve Reye sendromu, kwashiorkor gibi bir dizi hastalığın oluşumunda da rol alabileceği bildirilmiştir. Bunlara ilave olarak aflatoksinler beyinde de birikebilmektedirler (Sibanda ve ark., 1999; Tunail, 2000; Kaya, 2001). Bu hipoteze kanıt olarak, Nijerya'da 18 kwashiorkorlu çocuktan ve çeşitli hastalıklardan dolayı ölen 19 çocuktan alınan beyin örneklerinin % 81.0'inde aflatoksinin bulunduğu gösterilebilir (Sibanda ve ark., 1997).

Tüketilen gıdalarla düşük dozlarda uzun süre AFM<sub>1</sub> alınması yetişkinlerde ve özellikle bebek ve çocuklarda çeşitli hastalıklara sebebiyet vermesi nedeniyle gıdalarda bulunmasına izin verilen limit değerler düşürülmelidir. Hiç olmazsa Türkiye'de bebek ve çocukların tükettiği gıdalardaki 0.05 ppb olan limit değer bazı Avrupa ülkelerinde olduğu gibi 0.02 ppb düzeylerine düşürülmelidir.

Bilindiği gibi pastörizasyon, sterilizasyon, kurutma, soğutma, dondurma gibi termik işlemler ile sütün çeşitli ürünlere işlenmesi sütteki AFM<sub>1</sub>'i tamamen ortadan kaldırmamaktadır. Ayrıca AFM<sub>1</sub> ile kontamine olmuş ürünün içerdiği aflatoksinin detoksifikasyonu için yapılan uygulamalar, bisülfitle muamele ve ultraviyole ışığına maruz bırakma gibi bazı yöntemlerle parçalama işlemlerinden ibarettir. Bu tip işlemler ise, hem pahalı hem de tüketime sunulacak ürünler üzerinde bir takım olumsuz etkiler yapmaktadır. Dolayısıyla sütlerde bulunan AFM<sub>1</sub> miktarının minimuma indirilmesinin en kolay ve kestirme yolu, yemlerde AFB<sub>1</sub> oluşumunu engellemektir. Bunun için de, birçok ileri batı ülkelerinde olduğu gibi, süt hayvanlarına verilen yemlerin iyi kontrol edilmesi ve yemlerde bulunmasına izin verilen AFB<sub>1</sub> miktarının daha aşağılara düşürülmesi gerekmektedir. Ülkemizde yemler için izin verilen limit karma yemlerde 20 ppb, yem hammaddelerinde ise 50 ppb olarak belirlenmiştir (Bakırcı, 1995; Kaya, 2001).

Çiğ ve UHT sütlerde Dünya’da ve Türkiye’de yapılan çalışmalarda çok değişik sonuçlar alınmıştır.

Çiğ sütlerle ilgili yapılan çalışmalarda, çiğ sütlerde; Roussi ve ark. (2002) % 73.3, Elbergi ve ark. (2004) % 71.4, Kamkar (2004) % 76.6, Martins ve Martins (2000) % 80.6 ve Akdemir ve Altıntaş (2004) % 70.83 oranlarında AFM<sub>1</sub> bulduklarını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bizim çiğ sütlerde bulduğumuz % 76.28’lik bulunma oranı ile benzerlik göstermektedir.

İnceledikleri çiğ süt örneklerindeki AFM<sub>1</sub> miktarlarını %52.8 olarak belirleyen Pereira ve ark (2005), % 25.37 olarak belirleyen Saitanu (1997), % 5.43 olarak belirleyen Velasco ve ark. (2003) ve % 57.49 olarak belirleyen Atasever ve ark. (2006)’nın bildirdikleri değerler bu araştırmada çiğ sütlerde belirlenen (%76.28) değerlerden daha düşüktür

İnceledikleri çiğ süt örneklerindeki AFM<sub>1</sub> miktarlarını % 87.77 olarak belirleyen Bakırcı (2001), % 90.0 olarak belirleyen Özturhan (2005), % 99.13 olarak belirleyen Oruç ve ark. (2003), % 86.0 olarak belirleyen Galvano ve ark. (1998) ve % 87.3 olarak belirleyen Rastogi ve ark. (2004)’nın bildirdikleri değerler ise bu araştırmada çiğ sütlerde belirlenen (%76.28) değerlerden daha yüksektir.

Yapılan araştırmalarda inceledikleri çiğ süt örneklerinin Alborzi ve ark. (2005) % 30.0’unun, Kamkar (2004) % 40.0’inin, Rastogi ve ark. (2004) % 99.0’unun, Bakırcı (2001) % 44.30’unun ve Oruç ve ark. (2003) % 56.67’sinin yasal limitlerin üzerinde AFM<sub>1</sub> içerdiklerini bildirmişlerdir. Bu araştırmacıların bildirdikleri değerler bu araştırmada belirlenen limit değeri geçen örnek oranının (% 24.99) üzerindedir.

İnceledikleri çiğ süt örneklerinin Srivastava ve ark. (2001), % 6.0’sının, Birdane (2006), % 1.93’ünün ve Atasever ve ark. (2006), % 11.02’sinin yasal limitlerin üzerinde AFM<sub>1</sub> içerdiğini, Saitanu (1997) ise incelediği süt örneklerinin hiçbirinde yasal limitin üzerinde AFM<sub>1</sub> bulunmadığını bildirmişlerdir. Bu araştırmacıların bildirdikleri değerler bu araştırmada belirlenen limit değeri geçen örnek oranının (% 24.99) altındadır.

İnceledikleri UHT süt örneklerinin; % 82.3'ünde AFM<sub>1</sub> belirleyen Roussi ve ark. (2002) ve % 84.2'sinde AFM<sub>1</sub> belirleyen Martins ve Martins (2000)'nın, bildirdikleri değerler bu çalışmada UHT sütlerde belirlenen (% 82.70) değerlere benzerlik göstermektedir. UHT süt örneklerinin % 29.8'inde AFM<sub>1</sub> belirleyen Blanco ve ark. (1988) ve % 28.3'ünde AFM<sub>1</sub> belirleyen Garrido ve ark. (2003)'nın bildirdikleri değerler bu çalışmada belirlenen değerlerden (% 82.70) daha düşük, % 91.04'ünde AFM<sub>1</sub> belirleyen Bostan ve ark. (2005)'nin bildirdikleri değerler ise daha yüksektir.

İncelenen UHT süt örneklerinde Bostan ve ark. (2005) % 23.88'inde, Saitanu (1997) % 11.66'sında yasal limitlerin üzerinde AFM<sub>1</sub> belirlemişlerken, Roussi ve ark. (2002) inceledikleri hiçbir örnekte yasal sınırın üzerinde AFM<sub>1</sub> tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada UHT sütlerde yasal limiti geçen örnek oranı (% 17.30), Bostan ve ark. (2005)'nin bulduğu sonuçlardan düşük, Saitanu (1997) ve Roussi ve ark. (2002)'nin buldukları sonuçlardan daha yüksektir.

Türkiye'de pek çok alanda olduğu gibi bu konuda da denetim ve kontroller yetersizdir. Süt ve süt ürünlerindeki AFM<sub>1</sub> miktarlarını en aza indirmek için yemler ve gıdalar küf ve aflatoksin yönünden kontrol edilmeli, gerekli kontroller yapılarak küf ve aflatoksin içeren yemlerin süt hayvanlarına yedirilmesi önlenmeli ve gerekirse cezai yaptırımlar uygulanmalıdır. Bunun yanında süt hayvanlarına yedirilen yemlerin depolama şartları uygun hale getirilmeli küflü yemlerin hayvan yemlerine katılarak değerlendirilmesi uygulamasından vazgeçilmeli ve üreticiler bu konularda bilinçlendirilmelidir. Bu konuda tarım ve sağlık bakanlığı ile üniversiteler işbirliği yaparak halkı bilgilendirecek organizasyonlar ve çalışmalar yapmaları, yem fabrikaları ve süt üreticilerine yönelik olarak bilgilendirme çalışması yapmaları yararlı olacaktır.

Sonuç olarak; bu araştırma ile Ağrı'da tüketilen sütlerin değişik düzeylerde AFM<sub>1</sub> içerdiği ilk defa ortaya konuldu. Bu çalışmada incelenen 156 adet çiğ süt örneğinin 119 (% 76.28) adedinin AFM<sub>1</sub> içerdiği ve bunların da 39 (% 24.99) adedinin TGK (Anonim, 2002)'da belirtilen limitin üzerinde olduğu, incelenen 156 adet UHT süt örneğinin 129 (% 82.70) adedinin de AFM<sub>1</sub> içerdiği ve bunların da 27 (% 17.30) adedinin TGK (Anonim,

2002)'da belirtilen limitin üzerin de AFM<sub>1</sub> içerdğinin belirlenmiş olması bu sütlerin tüketilmesinin halk sağlığı açısından bir risk oluşturduğu sonucuna varıldı.

## ÖZET

**KANTEMİR M, Ağrı'da Tüketilen Çiğ ve UHT Sütlerde AFM<sub>1</sub> Tayini, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2007.**

Bu araştırmada, Ağrı ilinde satışı sunulan çiğ ve UHT sütlerdeki AFM<sub>1</sub> seviyelerini ve mevsimsel farklılıkları belirlemek amacıyla Ocak 2006-Aralık 2006 tarihleri arasında 12 ay süreyle alınan 156 adet çiğ süt ve 156 adet UHT süt örneği incelendi. AFM<sub>1</sub> seviyelerinin belirlenmesinde ELISA metodu kullanıldı. İncelenen 156 adet çiğ süt örneğinin 119 (% 76.28) adedinin AFM<sub>1</sub> içerdiği ve bunların da 39 (% 24.99) adedinin TGK'inde belirtilen limitin üzerinde olduğu, incelenen 156 adet UHT süt örneğinin 129 (% 82.70) adedinin de AFM<sub>1</sub> içerdiği ve bunların da 27 (% 17.30) adedinin TGK'nde belirtilen limitin üzerinde AFM<sub>1</sub> içerdiği belirlendi. Çiğ sütlerde AFM<sub>1</sub> bulunan örnek sayısı en düşük Temmuz ve Ağustos aylarında en yüksek Mart ve Nisan aylarında belirlendi. UHT sütlerde AFM<sub>1</sub> bulunan örnek sayısı en düşük Haziran ayında en yüksek Ocak, Şubat ve Mart aylarında alınan örneklerde belirlendi. Sonuç olarak, Ağrı'da tüketime sunulan çiğ ve UHT sütlerin değişik düzeylerde AFM<sub>1</sub> içerdiği bu sütlerin tüketilmesinin halk sağlığı açısından bir risk oluşturduğu kanaatine varıldı.

**Anahtar sözcükler:** Aflatoksin, AFM<sub>1</sub>, Ağrı, Çiğ süt, ELISA, Türkiye, UHT süt.



## SUMMARY

**Kantemir M., Detection of AFM<sub>1</sub> in Raw and UHT Milk Consumed in Ağrı, University of Yüzüncü Yıl, Institute of Health Science, Department of Food Hygiene and Technology, Masters Thesis, Van, 2007.**

In this research 156 raw milk and 156 UHT milk samples, taken during a period of 12 months, between January 2006 and December 2006, inspected to determine AFM<sub>1</sub> levels and its seasonal variations in raw and UHT milk sold in Ağrı province. ELISA method was used to determine AFM<sub>1</sub> level. It has been determined that 119 (% 76.28) of the 156 inspected raw milk samples contained AFM<sub>1</sub> and 39 (% 24.99) were over the TGK stated acceptable limit, and 129 (% 82.70) of the 156 inspected UHT milk samples contained AFM<sub>1</sub> and 27 (% 17.30) were over the TGK stated acceptable limit. Among the raw milk samples the number of AFM<sub>1</sub> contaminated samples were lowest in July and August, highest in March and April. Among the UHT milk samples the number of AFM<sub>1</sub> contaminated samples were lowest in June, highest in January, February and March. In conclusion, raw and UHT milk sold in Ağrı contain various levels of AFM<sub>1</sub>, thus it was determined consumption of such milk is hazard to public health.

**Key Words:** Aflatoxin, AFM<sub>1</sub>, Ağrı, ELISA, Raw milk, Turkey, UHT milk.

## KAYNAKLAR

Alborzi S, Pourabbas B, Hanifpour M.A and 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 and Carnaghan R.B.A (1963). Groundnut toxicity: An examination for toxin in human food products from animals feed toxic groundnut meal. Vet. Res., 75, 259-66 (ALINMIŞTIR- Özturhan (2005). Süt ve süt ürünlerinde ELISA yöntemiyle aflatoksin M<sub>1</sub> aranması. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Konya).

Akdemir Ç ve Altıntaş A (2004). Ankara'da işlenen sütlerde aflatoksin M<sub>1</sub> varlığının ve düzeylerinin HPLC ile araştırılması. Ankara Üniversitesi Vet. Fak. Derg., 51, 175-179.

Anonim (2001). Devlet Planlama Teşkilatı, Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı, Gıda Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Süt ve Süt Ürünleri Sanayi Alt Komisyon Raporu, DPT:2636-ÖİK:644, Ankara.

Anonim (2002). Türk Gıda Kodeksi, Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ. Resmi Gazete, 2002 / 63.

Anonim (2004). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ağrı Tarım İl Müdürlüğü AĞRI Master Planı.

Anonim (2006). Gıda laboratuvar personeli için yardımcı broşür. Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkezi Komutanlığı.

Anonymous (2002). Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products. Immunolab GmbH, Darmstadt, 1-6, Germany.

Anonymous (2003). Micotoxinas online the aflatoxins. www. Micotoxinas.com.br.

Anonymous (2006). Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M<sub>1</sub>. Art.No.:R1101. R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany.

- Atasever M, Nizamlıoğlu M, Özturhan K, Karakaya Y ve Ünsal C (2006). Erzurum bölgesinde tüketime sunulan süt ve ürünlerinin aflatoksin M<sub>1</sub> yönünden incelenmesi. 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 18-20 Eylül 2006, s.:231-240, İstanbul.
- Ayçiçek H, Yarsan E, Sarımehmetoğlu B ve Çakmak Ö (2002). Aflatoxin M<sub>1</sub> in white cheese and butter consumed in İstanbul, Turkey. *Vet Hum Toxicol*, 44 (5), 295-296.
- Bakırcı İ (1995). Sütlerde aflatoksin M<sub>1</sub> oluşumu ve ürünlere geçişi üzerinde bir çalışma. Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Müh.Anabilim Dalı Doktora Tezi, Van.
- Bakırcı İ (1999). Süt ve ürünlerinde aflatoksinler. Yüzüncü Yıl Üniv., Vet. Fak. Derg., 10 (1-2), 122-127.
- 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 Control*, 12, 47-51.
- Başkaya R ve Atasever M (2005). Erzurum bölgesindeki civil peynirlerinde AFM<sub>1</sub> düzeylerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, İTÜ, 23-24 Mayıs 2005, s.:128-133, İstanbul.
- Birdane Y, Akaya L, Başkaya R, Cemek M ve Bulut S (2006). Afyonkarahisar'da tüketime sunulan UHT sütler ile çiğ sütlerdeki AFM<sub>1</sub> miktarının belirlenmesi. 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 18-20 Eylül 2006, s.:373-374, İstanbul.
- Blanco J.L, Dominguez L, Gomez-Lucia E, Garayzabal J.F.F, Garcia J.A and Suarez G (1988). Presence of aflatoxin M<sub>1</sub> in commercial Ultra-High-Temperature-treated milk. *Applied and Enviromental Microbiology*, 54 (6), 1622-1623.
- Bognanno M, La Fauci L, Ritieni A, Tafuri A, De Lorenzo A, Micari P, Di Renzo L, Ciappellano and 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 ve Ergün Ö (2005). İstanbul'da satışa sunulan ime sütü örneklerinde aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyleri üzerine bir araştırma. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi*, Sayı: 7, s.: 15-20.

Brackett R.E and Marth E.H (1982). Association of aflatoxin M<sub>1</sub> with casei. *Z Lebensm Unters Forsch*, 6, 439-441.

Creppy E.E (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127, s.:19-28.

Çelik H.T, Sarımehtemoğlu B ve K p l    (2005). Aflatoxin M<sub>1</sub> contamination In pasteurised milk. *Veterinarski Arhiv.*, 75(1), 57-65.

Deveci O (2003). İnek sütlerinden üretilen yağsız s ttozlarının aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyi ve prodesteki değişimi. Ankara  niv., Fen Bilimleri Enstitüsü S t Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara.

D'Mello J.P.F and Macdonald A.M.C (1997). Mycotoxins. *Animal Feed Science Technology*, 69, s.:155-166.

Dragacci S, Gleizes E, Fremi J.M and Candlish A.A.G (1995). Use of immunoaffinity chromatography as a purification step for the determination of aflatoksin M<sub>1</sub> in cheeses. *Food Add. Cont.*, 12 (1), 59-65.

Elbergi A.M, Aidoo K.E, Candlish A.A and 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 aflatoksin M<sub>1</sub> düzeyinin belirlenmesi üzerine bir araştırma” Ege  ni., Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, İzmir.

Galvano F, Galofaro V and Galvano G (1996). Occurrence and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products: A worldwide Review. *Journal of Food Protection*, 59 (10), 1079-1090.

Galvano F, Galofaro V, De Angelis A, Galvano M, Bognanno M and Galvano G (1998). Survey of the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in dairy products marketed in Italy. *Journal of Food Protection*, 61,738-741.