T.C.

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİMDALI

VBH – YL – 2013 - 001

AYDIN VE İZMİR İLLERİNDE SATIŞA SUNULAN TAZE KAŞAR VE ERİTME PEYNİRLERDE AFLATOKSİN M_1 VARLIĞININ ELISA YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI

HAZIRLAYAN

Fırat KÖGÜSTÜN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Filiz KÖK

AYDIN-2013

T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİMDALI
VBH – YL – 2013 - 001

AYDIN VE İZMİR İLLERİNDE SATIŞA SUNULAN TAZE KAŞAR VE ERİTME PEYNİRLERDE AFLATOKSİN M_1 VARLIĞININ ELISA YÖNTEMİYLE ARAŞTIRILMASI

HAZIRLAYAN
Fırat KÖGÜSTÜN

DANIŞMAN
Doç. Dr. Filiz KÖK

AYDIN-2013

T.C
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğrencisi Fırat KÖGÜSTÜN tarafından hazırlanan "Aydın ve İzmir İllerinde Satışa Sunulan Taze Kaşar ve Eritme Peynirlerde Aflatoksin M_1 Varlığının ELISA Yöntemiyle Araştırılması" başlıklı tez, 27.09.2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Unvanı, Adı ve Soyadı:	Üniversite:	İmza
Doç. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY	Adnan Menderes Üniversitesi	
Prof. Dr. Cengiz GÖKBULUT	Adnan Menderes Üniversitesi	
Doç. Dr. Filiz KÖK	Adnan Menderes Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... Sayılı kararıyla ...../...../..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Sacide KARAKAŞ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Süt ve süt ürünlerinin beslenmedeki yeri ve önemi oldukça büyüktür. Peynirler özellikle yüksek kaliteli protein, yağ, mineral madde ve vitaminler yönünden oldukça zengindir. Peynir, konsantre bir besin maddesi olması nedeniyle, süte oranla protein yağ ve mineral maddeleri fazla miktarda içermektedir. İçerdiği proteinlerin yüksek biyolojik değerlikli olması, kolay sindirilmesi, diğer besinlerin sindirimine yardımcı olması dolayısıyla peynir; zayıflayan vücut dokularının güçlendirilmesinde, harap karaciğer hücrelerinin onarım ve yenilenmesinde, hastalık ve hastalık sonrası nekahet döneminde, tüberküloz hastalarında ve çocukların beslenmesinde önemli bir yere sahiptir.

Son derece yararlı bir besin maddesi olan peynir; kalitesiz ham madde kullanımı, sağlıklı olmayan koşullarda üretim ve muhafaza durumunda ise birçok gıda kökenli hastalığın kaynağını da teşkil edebilmektedir. Peynir sadece patojen bakterileri değil gıda kontaminantlarını da içermesi dolayısıyla halk sağlığı açısından riskli gıdalar arasındadır. En önemli gıda kontaminantlarından biride mikotoksinlerdir. Mikotoksinler, küflerin meydana getirdiği, insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan, antijenik özellik göstermeyen sekonder metabolik ürünlerdir. Mikotoksinlerle kontamine olmuş gıda ve yemlerin tüketilmesi ile ortaya çıkan intoksikasyona ise mikotoksikozis denilmektedir. Mikotoksinlerin en az 14 tanesinin karsinojenik etkisi saptanmış olup, bir çoğu akut ve kronik çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Günümüzde 400 kadar mikotoksin bilinmekte olup mikotoksin üreten cinslerin en önemlilerinden biri de *Aspergillus*'lardır. *Aspergillus*'lar içerisinde *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus*'un ürettiği toksik fungal metabolitler ise aflatoksinlerdir. Aflatoksinler bilinen toksik etkisi en kuvvetli mikotoksinlerdir. Aynı zamanda gıda kontaminantı olarak bulunan ilk mikotoksindir. Bu mikotoksinlerin gıda ve yem maddeleri ile insan ve hayvanlar tarafından alınması sonucu oluşan akut ve kronik bozukluklara aflatoksikozis denilir.

Besinler, yem ve yem maddeleri, üretim tüketim zinciri arasındaki herhangi bir aşamada uygun olmayan koşullarda depolandıklarında mantarlar üreyerek toksik metabolitler sentezlerler. Özellikle süt ineklerinin rasyonlarında 400 ppb veya fazla miktarda aflatoksin bulunması aflatoksinin sütle atılmasına neden olur. Toksinli sütlerin veya bu sütlerden elde edilen ürünlerin tüketilmesi halk sağlığı açısından büyük tehlike

oluşturmaktadır. Bu yüzden halk sağlığını korumak adına, sevilerek tüketilen süt ve süt ürünlerinin düzenli olarak kontrolünün yapılması oldukça önemlidir.

Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projelerince desteklenen bu çalışma; Aydın ve İzmir Bölgesindeki farklı market ve satış noktalarından temin edilen kaşar peynir ve eritme peynirlerinin AFM_1 düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda aflatoksikosise neden olan toksik metabolitlerden AFM_1'in kaşar ve eritme peynirlerinde varlıkları araştırılmış ve ortaya çıkan bulgular ışığında alınması gereken tedbirler ifade edilmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kabul ve Onay Sayfası	i
Önsöz	ii
İçindekiler	iv
Tablolar	vi
Şekiller	vii
Simgeler	viii
Kısaltmalar	ix
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1.Mikotoksinlerin Tarihçesi	4
2.2. Mikotoksinler	5
2.3. Aflatoksinler	9
2.3.1. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin	11
2.4. Aflatoksin Oluşumunda Etkili Eden Faktörler	16
2.4.1. Depolama Aşamasına Kadar Etkili Olan Faktörler	16
2.4.2. Depolama Süresince Etkili Olan Faktörler	16
2.4.3. Gıda Maddesinin Bileşimi	17
2.5. Çevre Koşullarının Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi	18
2.5.1.Ortam Neminin Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi	18
2.5.2.Ortam Sıcaklığının Etkisi	18
2.5.3. Oksijenin Etkisi	19
2.5.4. pH'nın Etkisi	19
2.6. Aflatoksikozis	19

2.6.1. Akut Etkiler 20

2.6.2. Kronik Etkiler 21

2.7. Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu 22

3. MATERYAL VE METOT 25

3.1. Materyal 25

3.1.1. Aletler 25

3.1.2. Aflatoksin Standardı 25

3.1.3. Malzemeler 25

3.1.4.Süt Ürünleri 25

3.2. Metot 26

3.2.1. Metot 26

3.2.1. Ekstraksiyon 26

4. ARAŞTIRMA BULGULARI 28

5. TARTIŞMA 30

6. SONUÇ 34

ÖZET 35

ABSTRACT 36

TEŞEKKÜR 37

KAYNAKLAR 38

ÖZGEÇMİŞ 45

TABLOLAR

Tablo **Sayfa No**

1. Bazı Önemli Toksijenik Funguslar ve Ürettikleri Toksinler 5

2. Türkiye ve AB Ülkelerin'de Aflatoksinler İçin Belirlenen Kabul Edilebilir En Yüksek Değerler 8

3. Aflatoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri 10

4. Türkiye'de üretilen bazı peynirlerde AFMı seviyeleri ve Türk Gıda Kodeksinde Verilen Limiti (500ng/kg) Aşan Örnek Sayısı 14

5. Kaşar ve Eritme Peynirlerinde Aflatoksin Mı Varlığı 28

6. Kaşar Peynir Örneklerine Ait Aflatoksin Mı Miktarı Dağılımları 29

7. Eritme Peynir Örneklerine Ait Aflatoksin Mı Miktarı Dağılımı 29

ŞEKİLLER

Şekil **Sayfa No**

1. Aflatoksinlerin Kimyasal Yapısı 9

SİMGELER

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda bulunmaktadır.

Simgeler	Açıklama
l	Litre
µg	Mikrogram
mg	Miligram
ng	Nanogram
ppm (mg/l)	Parts per million
ppb (µg/l)	Parts per billion
ppt (ng/l)	Parts per thousand
ml	Mililitre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

KISALTMALAR	Açıklama
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
a_w	Su aktivitesi
AFB_1	Aflatoksin B_1
AFB_2	Aflatoksin B_2
AFG_1	Aflatoksin G_1
AFG_2	Aflatoksin G_2
AFM_1	Aflatoksin M_1
LAB	Laktik asit bakterileri
Lb.	Lactobacillus
Lc.	Lactococcus
Leu.	Leuconostoc
$MgSO_4$	Magnezyum sülfat
Fe	Demir

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun her geçen gün hızla artması, bilim çevrelerini düşündüren çeşitli sorunları beraberinde getirmektedir. Bunların başında şüphesiz beslenme sorunu gelmektedir. Artan nüfusa karşılık azalan tarım alanları, bilim adamlarını yeni teknikler ve kaynaklar aramaya zorlamaktadır. Dünyada gıda yetersizliği nedeniyle birçok ülkede insanların açlıktan ölmesi yanında gıda zehirlenmeleri nedeniyle de önemli sorunlar ortaya çıkmaktadır. Gıda ve yem maddeleri üretim ve tüketim zincirinin herhangi bir aşamasında uygun olmayan koşullarda depolandıklarında insan ve hayvan sağlığı açısından zararlı bir hale gelebilmektedir (Erdem ve Özen, 1990).

Gıdalar hasat, üretim ve depolama gibi evrelerin her hangi aşamasında sağlık için zararlı kontaminatlarla bulaşabilmektedir. Doğal kontaminatlar ya kimyasal ya da biyolojik orjinli olabilmektedir. Mikotoksinler biyolojik orjinli küf mantarlarının sekonder metabolitleridir. Gıdaların ve yemlerin mikotoksinlerle kontaminasyonu tüm dünyada önemli bir sorundur. Fungal kontaminantları kontrol altında tutmak amacıyla ciddi mücadelelere rağmen; küflerin doğada her yerde yaygın bulunması nedeniyle tahıl, ceviz ve meyve gibi duyarlı tarım ürünlerinin düzenli olarak bulaşması engellenememektedir (Murphy ve ark., 2006).

Küfler doğada yaygın olarak bulunduğundan, gıdaya bulaştıktan sonra, uygun çevre şartlarında hızla çoğalarak ürünün kalitesini bozmakta, çoğalmanın ileri safhalarında, ürünleri kullanılmayacak bir duruma getirerek ekonomik kayıplara yol açabilmekte ve daha da önemlisi, salgıladıkları toksinlerle insan ve hayvan sağlığı için risk ve sağlık sorunlarına neden olabilmektedirler (Özay, 1988).

Mikotoksin kelimesi Yunanca mantar anlamına gelen "Mykes'' ve latince zehir anlamına gelen "Toxicum" isimlerinin birleşmesiyle oluşmuştur (Turner ve ark., 2009). Küflerin ikincil (sekonder) metabolitleri olan mikotoksinler iz miktarda (mg/L ve µg/L seviyelerinde) meydana gelirler ve çok düşük miktarlarda dahi insan sağlığına etki ederler. Mikotoksinler yem ve besin maddeleri ile alındığında insan ve hayvanlarda zehirlenmelere ve ölümlere yol açabilmektedir (Kaya, 2002).

Bazı mantar türleri tarafından üretilen bu toksik sekonder metabolitlerin bulaşık gıda ve yem ile alınması sonucu insan ve hayvanlarda meydana gelen hastalık ve bozuklukların hepsini birden 'mikotoksikozis' adı verilir (Leslie ve ark., 2008).

Mikotoksikozlar, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkeler için küflerin gelişiminde uygun zemin hazırlayan çevresel, sosyal ve ekonomik şartların meteorolojik koşullarla (nem, sıcaklık) birleşmesiyle önemli sorunlara yol açmaktadır (Ayçiçek ve ark., 2005).

Mikotoksinlerin kimyasal yapıları incelendiğinde çoğunun aromatik yapıda olduğu, daha az bir kısmının da alifatik bileşiklerden oluştuğu görülür. Genellikle yüksek sıcaklıklara dirençlidirler, mikotoksin çeşitlerine, sıcaklık derecelerine ve uygulama sürelerine göre farklı stabilite gösterirler. Genellikle kendilerinin sentezledikleri toksinlerden olumsuz etkilenmezler. Mikotoksinler bakteri toksinlerinin aksine küçük moleküllü bileşikler olduğundan bunların immunolojik yöntemlerle belirlenmesinde poliklonal antikorlar (antiserumlar) yeterli olmaktadır. Oysa bakteriyel toksinlerin belirlenmesinde monoklonal antikorlara gereksinilmektedir. Bazı mikotoksinler endotoksin olarak misel içinde birikirken, birçoğunun miselden substrata doğru salgılandığı ve diffüze olduğu görülür. O nedenle küflü gıda ve yemlerden miseller uzaklaştırılsa bile ürünün mikotoksin tehlikesi ortadan kalkmamaktadır (Tunail, 2000).

İnsanlar ilk çağlardan beri bazı küflerden yiyeceklerini olgunlaştırmada yararlanmışlardır. Ayrıca çok sayıda küf çeşidinin de insan sağlığını tehdit ettiği yapılan çalışmalarda saptanmıştır (Evren, 1999). Özellikle tarlada küfle enfekte olmuş bitkilerde hasatlama, depolama ve taşıma esnasında mikotoksinler üreyebilmektedir (Hussein ve Brasel, 2001). Gıdalarda en sık analiz edilen mikotoksinler; aflatoksinler, okratoksin (OTA), zearalenone (ZEA) ve deoksinivalenol'dür (DON). Bununla birlikte aflatoksinlerin hayvan yemlerindeki yasallarla limitleri belli iken ZEA ve DON ve fumonisin B_1/B_2 için bu değerler tartışmalıdır. Günümüzde 18'in üzerinde aflatoksin bilinmesine karşın sadece bunların 4'ü (B_1, B_2, G_1 ve G_2) gıda ve yemlerde tespit edilmiştir (Decastelli ve ark., 2007).

Yemlerde aflatoksin varlığı sadece hayvan sağlığı açısından değil aynı zaman da insan sağlığı açısından da çok önemlidir. Bunun nedeni toksin içeren yemlerle beslenen laktasyon devresindeki süt hayvanların sütlerinde de toksinin bulunmasıdır (Veldman ve ark., 1992).

Aflatoksinler bilinen en güçlü karaciğer karsinojenidirler. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından aflatoksin B_1 (AFB_1) grup 1 karsinojen, AFB_1'in vücutta metabolize olması ile meydana gelen ve sütle atılan formu olan aflatoksin M_1 (AFM_1) ise grup 2B karsinojeni olarak tanımlanmıştır (İşleyici ve ark., 2011).

Bu nedenle süt ve süt ürünlerinde bulunan aflatoksinler insan sağlığı açısından potensiyel bir risk oluşturmaktadır. Bu çalışma, Aydın ve İzmir bölgesinde satışa sunulan eritme ve kaşar peynirlerinde AFM_1 varlığı ve düzeyleri ile elde edilen sonuçların yasal limitler ile karşılaştırması amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikotoksinlerin Tarihçesi

Küflerin neden olduğu bilinen en önemli ve en eski mikotoksikozis olayı, Ortaçağ Avrupa'sında 'kutsal ateş' olarak bilinen *Claviceps purpurea* toksinleri ile enfekte olan çavdarın yenmesi sonucu görülen "*ergotizm*"dir (Vural, 1992). Bu hastalıkla ilgili ilk kayıtlar 10. yüzyıla kadar uzanmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş, 1998). Hastalığa neden olan bileşik ise hallusinogenil etkiye sahip olan ergot alkaloidleridir (Uylaşer ve Başoğlu, 1992). Ergot alkoloidleri tıpta kanamayı durudurucu ilaç olarak kullanılmakla birlikte yüksek dozları toksik etkilidir. Ergotizm dokularda gangrene sebep olmaktadır. Bu hastalığın yaygın olduğu ortaçağda şifa bulmak için manastır ve kiliselere koşan hastalar, buralarda kontamine olmamış hububatları tüketmeleriyle hastalıktan kurtulmuş ve bunu kilisenin mucizesi olarak kabullenmişlerdir (Uylaşer ve Başoğlu, 1992).

Tarihte diğer önemli mikotoksikozis olayı ikinci dünya savaşı sırasında Rusya'da görülmüştür. Ambarda depo edilen bozuk tanelerden elde edilen besinleri tüketen insanlarda ölümler gözlenmiştir (Papp ve ark., 2002). 1942-1944 yılları arasında Rusya'nın Orenburg bölgesinde binlerce insanın ölümü ile sonuçlanan "*Alimentary Toxic Aleukia* (beslenmeye bağlı toksik etki ile kanda lökosit sayısının düşmesi sonucu oluşan lösemi)"; 1930 yılında yine Rusya'da binlerce atın ölümüne neden olan *Stachybotryotoxicosis,* Uzak Doğu'da görülen *Sarı Pirinç Hastalığı* ve 1960 yılında 100.000 hindi palazının ölümüne neden olan aflatoksikozis en büyük mikotoksin zehirlenmeleridir.

Bulgaristan ve Romanya gibi ülkelerde görülen ve okratoksin A'nın neden olduğu Balkan Endemik Nefropatisi ile aflatoksinlerin, ortaya çıkmasında rol oynadığı bilinen Hepatosellular Karsinoma ve Reye's Sendromu da önemli mikotoksin kaynaklı hastalıklardır (Coker, 1984; Smith, 2001; Uylaşer ve Karaman, 2005; Richard, 2007).

2.2. Mikotoksinler

Mikotoksinler, gıdalarda ve yemlerde gelişen küfler tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir. Genel olarak, sıcağa dayanıklı, düşük molekül ağırlıklı, antijenik özellik göstermeyen, farklı metabolik yollarla meydana gelen, kimyasal olarak çok çeşitli madde gruplarına giren bileşiklerdir (Smith, 2001; Uylaşer ve Sağdıç, 2003).

Tablo 1. Bazı Önemli Toksijenik Funguslar ve Ürettikleri Toksinler (Smith, 2001)

Türler	**Toksinler**
Aspergillus flavus	Aflatoksin B_1, B_2; siklopiazonik asit
A. parasiticus	Aflatoksin B_1, B_2, G1, G_2
A.ochraceus	Okratoksin A; penisillik asit
A.versicolor	Sterigmatosistin, siklopiazonik asit
Penicillium verrucosum	Okratoksin A, sitrinin
P.purpurogenum	Rubratoksin
P.expansum	Patulin, sitrinin
Fusarium sporotrichioides	T-2 toksin
F. moniliforme	Fumonisin B_1
F. graminearum	Deoksinivalenol, nivalenol, zearalenon
Alternaria alternata	Satratoksin
Stachybotrys atra	Tenuazonik asit

Bazı mikotoksinler belli başlı küfler tarafından üretilirken, bazıları farklı genuslara dahil birçok küf türü tarafından üretilmektedir. Günümüzde 400 civarında mikotoksin izole edilip tanımlanmış olmasına rağmen, gıda ve yemlerde bunların yaklaşık 20 tanesine sıkça ve önemli miktarlarda rastlanmaktadır (Smith, 2001).

Gıdalarda en sık rastlanan, yüksek toksisiteye sahip oldukları bilinen, üzerinde en çok araştırma yapılmış, insan ve hayvanlardaki toksik etkileri ortaya konmuş olanlar;

aflatoksinler (B_1, B_2, G_1, G_2, M_1), okratoksinler (A,B), zearalenon, patulin, trikotesenler, fumonisinler (B_1, B_2), ergot alkaloidleri, sterigmatosistin ve sitrinin'dir (Hussein ve Brasel, 2001; Richard, 2007).

Mikotoksinler insan ve hayvanların besin zincirine direkt veya indirekt kontaminasyon yoluyla girmektedirler. Direkt kontaminasyon gıda ve yemlerin toksijenik küflerle enfekte olması sonucunda meydana gelirken, indirekt kontaminasyon üretimin herhangi bir aşamasında toksinli materyalin prosese girmesi sonucunda meydana gelmektedir (Smith, 2001). Mikotoksinler çeşitli bitkisel ve hayvansal orijinli gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadırlar. Aflatoksinler yağlı tohumlar, fındık, ceviz gibi sert kabuklu yemişler, hububat, baklagiller, baharatlar ve süt ürünlerinde; okratoksin A, hububat, mısır ve baklagillerde; patulin, meyve sularında; zearalenon, hububat, mısır ve hayvan yemlerinde; sitrinin ve trikotesenler, hububatta bulunmaktadır. Bitkisel ürünlerde kontaminasyon hasat öncesi veya sonrası olabilirken, süt ve süt ürünleri, et, yumurta gibi hayvansal ürünlerde çoğunlukla kontamine hayvan yemlerinin kullanılması sonucu gerçekleşmektedir (Coker, 1984).

Süt ve süt ürünlerinde ayrıca küflü peynir üretiminin kontrolsüz koşullarda doğal olarak yapılması ve üretim sırasında mikotoksijenik küflerle kontaminasyon sonucunda da çeşitli mikotoksinler oluşmaktadır. Bunlar aflatoksinler başta olmak üzere okratoksin, sterigmatosistin, penisillik asit, patulin, mikofenolik asit, rokfortin, siklopiazonik asittir (Karagözlü ve Karagözlü, 2000). Kontamine gıdaların ve yemlerin kullanılması sonucu insan ve hayvanlarda değişik hastalık ve zehirlenmeler ortaya çıkmaktadır. Bu durum bir taraftan büyük işgücü kaybına diğer taraftan ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Karagözlü ve Karagözlü, 2000).

Mikotoksinler özellikle karaciğer, böbrek gibi organlarda hastalıklar, dejenerasyonlar, bağışıklık sisteminde bozukluklar, kusurlu ve eksik organ oluşumları, deri nekrozları, üremede azalma ve kilo kaybı gibi sorunlara neden olmaktadır. Yüksek dozda alındıklarında ise akut toksik etki meydana gelmekte, gıda ve yemin tüketilmesinden kısa bir süre sonra ölüm görülebilmektedir (Tunail, 2000). Mikotoksin çeşidine bağlı olarak vücutta etkilenen organ ve sistemler farklıdır. Aflatoksinler özellikle karaciğeri, okratoksin A böbrekleri, fumonisin böbrek ve ösefagial sistemi, trikotesenler mukoz

membranları, zearalenon ise ürogenital sistemi etkilemektedir. Bunlar içinde aflatoksinler; toksijenik, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik bileşikler olduklarından diğerlerine göre daha tehlikeli olarak kabul edilmektedir (Heperkan, 2003).

Mikotoksinlerin bir kısmı küflerin hasattan önceki kontaminasyonu ile ilgili olduğu için kaçınılmaz olarak değerlendirilmekte ve gıdalardaki miktarı, yıldan yıla ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı dünya genelinde tarımsal ürünlerin % 25'inin ciddi boyutta mikotoksinlerle kontaminasyona uğradığını bildirmektedir. Mikotoksin içeren gıdaların üretimden kaldırılması veya ihraç ediliyorsa satıcı ülkeye iadesi ekonomik açıdan büyük kayıplara neden olmaktadır (Heperkan, 2003). Dünya genelinde, ihracatı yapılan gıda maddelerinin mikotoksin nedeniyle etkilenen kısmının parasal karşılığının 2002 verilerine göre 100 milyar dolar civarında olduğu ifade edilmektedir (Boutrif ve Pineiro, 2002). ABD ve Kanada'da, mikotoksin bulaşması nedeniyle, sadece yem ve hayvancılık sektöründe meydana gelen yıllık kaybın 5 milyar ABD doları olduğu tahmin edilmektedir (Charmley ve ark., 1995).

Türkiye'de mikotoksin problemi ilk defa 1967 yılında Kanada'ya ihraç edilen 10 ton iç fındığın ve ikinci defa da 1971 yılında Amerika Birleşik Devletleri'ne ihraç edilen 45 parti Antep fıstığının 36 partisinin aflatoksin ihtiva ettiği gerekçesiyle kabul edilmemeleri ile ortaya çıkmıştır. Bu yıllardan itibaren Antep fıstığı ve diğer ihraç edilen ürünlerde aflatoksin analizleri yapılmaya başlanmıştır. 1972 yılı sonunda Danimarka'ya ihraç edilen kuru incirlerde de 938 µg/kg gibi yüksek miktarda aflatoksin bulunduğu bildirilmiştir (Özçelik ve ark., 2003).

1994 yılında Türkiye'den Almanya'ya ihraç edilen kırmızı pul biberin limitlerin üzerinde aflatoksin içerdiği gerekçesiyle iade edilmesi, 1994'de 2522 ton olan kırmızı pul biber ihracatımızın 1996 yılında 527 tona düşmesine yol açmıştır. Bu kaybın parasal karşılığı ise 2.126.000 dolar olmuştur (Heperkan, 2003).

ABD ve Avrupa ülkeleri olmak üzere birçok ülkede, gıdalarda bulunabilecek mikotoksin özellikle de aflatoksin miktarları için kısıtlamalar vardır. Ülkemizde de, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ'de (Anonim, 2002);

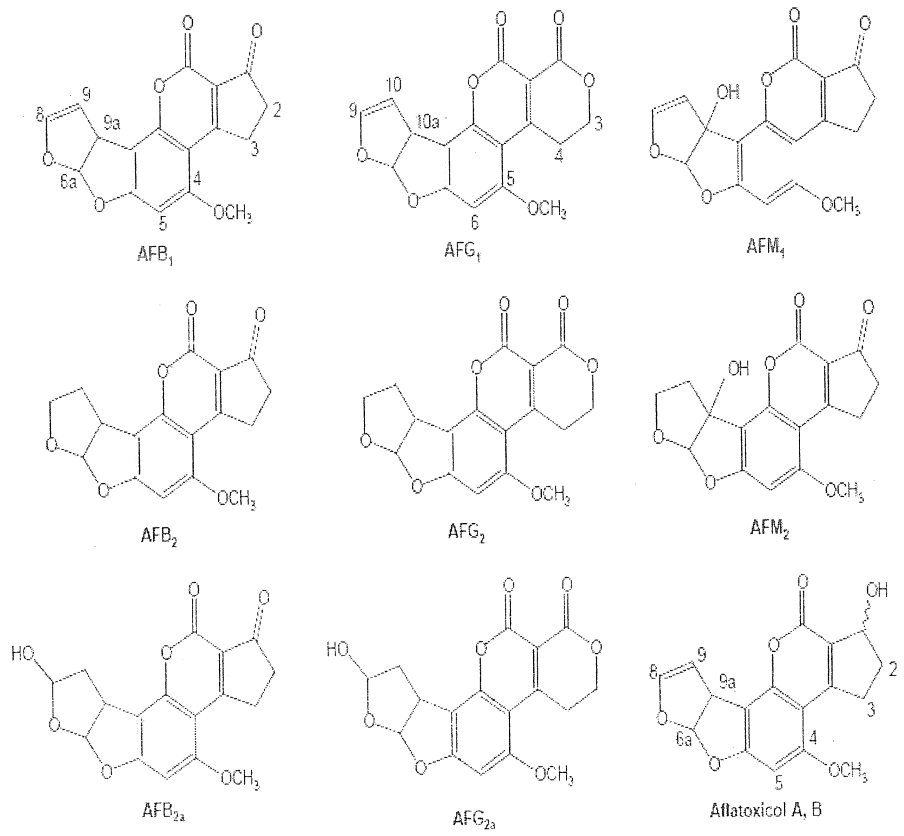
baharatlar, hububatlar, hububat unları, tüm gıda maddeleri, peynir, süt ve süt ürünleri, bebek mamaları ve devam formülleri ile bebek gıdaları ve hazır karışımların kapsayabilecekleri en yüksek kabul edilebilir aflatoksin miktarları ve elma sularında patulin için en yüksek kabul edilebilir miktarları bildirmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Türkiye ve AB Ülkelerinde Aflatoksinler İçin Belirlenen Kabul Edilebilir En Yüksek Değerler (Anonim, 2002)

Mikotoksin	**Gıda Maddesi**	**Türkiye'de Kabul Edilebilir En Yüksek Değer (µg/kg, ppb)**	**AB Ülkeleri'nde Kabul Edilebilir En Yüksek Değer (µg/kg, ppb)**
Aflatoksin B_1	Baharatlar	5	5
Aflatoksin B_1	Hububatlar	2	2
Aflatoksinler (B_1+ B_2+, G_1+ G_2)	Hububat ve Hububat Ürünleri	2	4
Aflatoksin M_1	Peynir	0,25	0,25
Aflatoksin M_1	Süt ve süt ürünleri	0,05	0,05(süt için)
Aflatoksin M_1	Bebek mamaları ve devam formülleri	0,02	0,5
Aflatoksin M_1	Bebek gıdaları ve hazır karışımlar	0,01	0,05
Aflatoksin B_1	Bebek mamaları ve bebek gıdaları	-	1
Aflatoksinler (B_1+ B_2+, G_1+ G_2)	Bebek gıdaları ve hazır karışımlar	0,01	2
Aflatoksinler (B_1+ B_2+, G_1+ G_2)	Tüm gıda maddeleri	10	10
Patulin	Meyve Suları	50	-

2.3. Aflatoksinler

Bu toksinlere Aspergillus'un (A) harfi, flavusunda (fla) harfleri alınarak Afla, sonuna da toksin kelimesi ilave edilerek Aflatoksin adı verilmiştir (Frazler, 1986). Mikotoksinler listesi içinde aflatoksinler yalnızca bir grubu oluşturmaktadırlar. Aflatoksinler, *Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nomius* ve *Aspergillus flavus*'un iki alt suşu *A. Flavus var.columnaris* ile *A. parasiticus var. Globosus* tarafından üretilmektedirler (Kurtzman ve ark., 1987; Gourama ve Bullerman, 1995; Gourama ve Bullerman, 1995a ;Line ve Brackett, 1994;Uylaşer ve Sağdıç, 2005). Bunlar furan ve piranon halkalarından meydana gelmiş dihidrofuran türevi büyük moleküllü kimyasal bileşiklerdir (Şekil-1). Başlangıçta aflatoksinin B_1, B_2, G_1, G_2, M_1, M_2 olarak 6 tipi tespit edilmiştir (Tablo-3). Kültür filtratlarında en çok B_1 ve G_1 görülür. M tipleri B_1 ve B_2'nin sütteki hidroksil formlarıdır. Sonraki araştırmalarda B_2 ve G_2'nin hidroksi derivatları olan B_{2a} ve G_{2a} da belirlenmiştir (Evren, 1999).



Şekil 1. Aflatoksinlerin Kimyasal Yapısı (Tabata, 2002)

Tablo 3. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri (İnal, 1992).

Aflatoksin	Molekül Formülü	Molekül Ağırlığı	Erime Noktası	360 nm UV. abs.
B_1	$C_{17}H_{12}O_6$	312	268-269	21.800
B_2	$C_{17}H_{14}O_6$	314	286-289	24.000
G_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	244-246	17.700
G_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	237-240	17.100
M_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	299	21.250
M_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	293	22.900

Aflatoksinin, yapılan kromotografik araştırmalardan önce 4 bileşenden meydana geldiği, UV ışığı altında ikisinin mavi, diğer ikisinin yeşil floresan verdiği ve renklerine göre mavi floresan verenlere mavi anlamına gelen "blue" kelimesinin ilk harfi alınarak aflatoksin B_1 ve aflatoksin B_2, yeşil floresan verenlere de yeşil anlamına gelen "green" kelimesinin ilk harfi alınarak aflatoksin G_1 ve aflatoksin G_2 adları verilmiştir. Bunlardan başka hayvanların sütüyle dışarı çıkan süt toksinleri M_1 ve M_2 bulunmaktadır. Aflatoksin B_1, hayvanların karaciğerinde metabolize edilerek aflatoksin M_1, aflatoksin D_1, aflatoksin Q_1, aflatoksin P_1 gibi daha az aktif toksinlere dönüştürülür. Bunlar süt, idrar ve dışkı ile dışarı atılırlar (Frazler, 1986).

Aflatoksinler toksisitesi yüksek olan mikotoksinler arasında yer almaktadırlar. Aflatoksinin toksisite sıralanışı $B_1 > G_1 > B_2 > G_2$ tarzındadır. Tüm aflatoksinlerin en aktif ve en toksik olanı B_1'dir. Çünkü hem kanser hem de mutasyon yapabilme yönünden en uygun moleküler yapıya sahiptir (Frazler, 1986). Bunların toksijenik, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik bileşikler olduklarından diğerlerine göre daha tehlikeli olarak kabul edilmektedir (Heperkan, 2003).

Aflatoksin B_1 birçok hayvan türünde en etkili hepatokarsinojendir. Asya ve Afrika'daki birçok ülkede aflatoksinle kontamine olmuş yiyeceklerin tüketimi ile karaciğer kanserinin görülme sıklığındaki artış arasındaki pozitif korelasyon nedeniyle, aflatoksinler Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü (IARC) tarafından grup 1A karsinojenler sınıfına dahil edilmiştir (Anonim, 1993).

Aflatoksin en çok bitkisel ürünlerde görülür. Yer fıstığı, fındık, Antep fıstığı, badem, çam fıstığı ve ceviz en riskli gıdalardır. Tahıllardan; buğday, çavdar, arpa, yulaf, pirinç ve bunların değirmencilik-fırıncılık ürünleri de aflatoksin yönünden risk taşımaktadır. Baklagiller içerisinde ise soya fasulyesi öne çıkmakta, ancak fasulye, bezelye, börülce, mercimekte de görülebilmektedir. Yağlı tohumlardan pamuk, ayçiçeği, susam ve kolza tohumlarında sıklıkla aflatoksine rastlanmaktadır. Baharatlardan özellikle kırmızı toz biber, pul biber, karabiber ve kuru meyvelerden incir aflatoksin açısından önde gelen riskli ürünlerdir (Uylaşer ve Karaman, 2005).

2.3.1. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksinler

Aflatoksin M_1 (AFM_1), laktasyon dönemindeki süt hayvanlarının, aflatoksin B_1 ile kontamine olmuş yemleri tüketmeleri sonucu sütte bulunmaktadır (Bakırcı , 2001; Martins ve Martins, 2004). Aflatoksin M_1, aflatoksin B_1'in karaciğerde biyotransformasyonu neticesinde oluşmakta ve meme bezlerinden süte salgılanmaktadır. Süt hayvanlarının aflatoksin B_1 ile kontamine yemleri tüketmelerini takiben, aldıkları toksinin bir kısmı rumende parçalanmakta ve aflatoksikol'e dönüşmektedir. Geriye kalan ise pasif difüzyon yolu ile sindirim sisteminde emilmekte ve karaciğerde aflatoksin M_1'e dönüşmektedir. Oluşan aflatoksin M_1 ya glukuronik asit ile birleşmekte ve daha sonra safra yolu ile atılmakta ya da sistemik döngüye girmektedir. Döngüye giren aflatoksin M_1 ise ya idrar yoluyla atılmakta ya da süte geçmektedir (Fink ve Gremmels, 2008).

Birçok araştırmacı yemlerdeki aflatoksin B_1 miktarı ile sütteki aflatoksin M_1 miktarı arasında doğrusal bir ilişki olduğunu bildirmektedirler (Bakırcı, 2001; Tekinşen ve Uçar, 2008). Toksinin yemden süte geçiş düzeyinde, hayvanın beslenme şekli, tüketilen toksinli yem miktarı, sindirim derecesi, hayvanın sağlığı, karaciğer biyotransformasyon kapasitesi ve süt miktarı gibi besinsel ve fizyolojik faktörler etkili olmaktadır. Buna göre

aflatoksinin absorbsiyon oranı ve süte salgılanması hayvandan hayvana, laktasyon periyoduna ve bir sağımdan diğerine değişiklik göstermektedir (Fink ve Gremmels, 2008). Aflatoksin M_1, aflatoksin B_1 yemle alındıktan sonra, 6-24 saat içinde sütte tespit edilmekte, 12-48 saat içinde en yüksek düzeyine ulaşmakta ve aflatoksin B_1 alımı kesildikten 72-96 saat sonra sütte azalmaktadır (Oruç, 2003).

Aflatoksin B_1'in, sütte M_1'e dönüşümünün % 0,8-2,2 oranında olduğu belirtilmektedir. Süte geçme oranının % 6'ya kadar ulaşabildiğini ileri süren çalışmalar da vardır (Özkaya ve Temiz, 2003). Veldman (1992), süt verimi yüksek olan ineklerin fazla miktarda konsantre yem tüketmeleri durumunda bu oranın % 6,2'ye çıktığını rapor etmişlerdir. Concon (1988); yaptığı çalışmada, kilogramında 250 µg aflatoxin B_1 içeren kuru yem tüketildiği zaman sütün litresinde 1 µg aflatoksin M_1 meydana geldiğini bildirmiştir. Sütteki aflatoksin M_1 kontaminasyonuna mevsimin etkisi birçok araştırmacı tarafından vurgulanmıştır. Buna göre kış mevsiminde yaz mevsimine kıyasla sütlerde daha yüksek aflatoksin M_1 miktarları tespit edilmektedir. 1993 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Örgütü (IARC) tarafından yapılan sınıflamada aflatoksin M_1 "Muhtemel insan karsinojenleri (1A)" sınıfında yer almıştır. Süt ve ürünlerinde aflatoksin M_1 bulunması, bu ürünleri daha çok tüketen bebek ve çocuklar açısından oldukça önemlidir. Çünkü bebek ve çocuklar mikotoksinlerin olumsuz etkilerine karşı oldukça hassastır (Oruç, 2003). Dünyanın birçok yerinde çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar süt ve süt ürünlerinin aflatoksin M_1 ile önemli düzeyde kontamine olduklarını ortaya koymuştur (Concon, 1988; Barrios ve ark., 1996; Martins ve Martins, 2004). Türkiye'de de süt ve süt ürünlerinde bulunan aflatoksin M_1 ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Tablo-4). Türkiye'de süt ve peynirlerde, insan sağlığı için risk oluşturabilecek düzeylerde aflatoksin M_1 belirlenmiştir (Oruç, 2003).

Bakırcı (2001), ince tabaka kromatografisi yöntemi ile Van'da üretilen süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M_1 düzeylerini incelemiş, 90 adet çiğ süt örneğinin % 87,77'sinin aflatoksin M_1 içerdiğini ve bunların % 44,3'ünün 0.05 ppb'nin üzerinde olduğunu bulmuştur. Dinçel ve Ark., (2011) Ankara'da çeşitli peynir örneklerinde aflatoksin M_1 varlığını HPLC yöntemi ile araştırmış, incelenen farklı yörelerden toplanmış 100 adet peynir numunesinden sadece Urfa yöresine ait peynirlerde Gıda Tebliğinde (Anonim,

2002) belirtilen konsantrasyon değerinin altında Aflatoksin M_1'e rastladıklarını bildirmişlerdir.

Yine aynı yöntemi kullanarak, 30 ilden temin ettikleri toplam 543 çiğ süt örneğini analiz eden Özkaya ve Temiz (2003), 18 ilden alınan örneklerde % 16,7 ile % 100 oranında aflatoksin M_1 kontaminasyonu olduğunu, bu örneklerin % 6,2-58,8'inin limit değeri aştığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, bölgeler arasında aflatoksin M_1 düzeyleri açısından belirgin farklılıklar olduğunu, ülkemizde üretilen sütlerde bölgesel olarak sorun olduğunu, sorunun olduğu bölgelerde aflatoksin kaynaklarının araştırılması ve önlemlerin alınması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Aflatoksin M_1 oldukça stabildir ve pastörizasyon gibi ısıl işlem uygulamalarından etkilenmemektedir. Bu nedenle toksinli sütten üretilen süt ürünlerinde, ürünün yapısına bağlı olarak çeşitli oranlarda bulunabilmektedir (Tekinşen ve Uçar, 2008). Bostan (2003); İstanbul'daki perakende satış noktalarından topladıkları 21'i pastörize, 46'sı UHT olmak üzere toplam 67 içme sütü örneğinin 16'sında limit değerin üzerinde aflatoksin tespit ettiğini bildirmiştir. Ayrıca Türkiye'de üretilen birçok peynir çeşidi ile birlikte tulum peynirlerinde de AFM_1 varlığı bildirilmiştir. (Gürbüz ve ark., 1999; Gürses ve ark, 2004; Sarımehmetoğlu ve ark., 2004).

Peynir üretimi sırasında enzimatik koagulasyonla sütün pıhtılaşmasının toksine etkisi olmamaktadır. Ancak, pıhtılaşmadan sonraki safhada toksinin peynirde kalma ve peyniraltı suyuna geçme oranlarıyla ilgili çok farklı bulgular mevcuttur. Araştırmacıların bir kısmı aflatoksin M_1'in yarısının hatta yarısından fazlasının peynir suyuna geçtiğini bildirirken diğer bir kısmı toksinin çoğunun pıhtıda kaldığını bildirmektedirler (Govaris ve ark., 2001; Galvano ve ark., 1996). Peynirin, üretildiği sütteki aflatoksin M_1 konsantrasyonundan daha yüksek konsantrasyonda aflatoksin M_1 içermesi, kimyasal yapısı itibariyle suda çözünebilen bir bileşik olan aflatoksin M_1'in kazeine bağlanması ile açıklanmaktadır. Kazeinin hidrofobik bölgeleri vardır ve aflatoksin M_1 bu bölgelere bağlanmaktadır (Dosako ve ark., 1980). Yumuşak peynirlerde, peynirin üretildiği süttekinden 2.5-3.5 kat, sert peynirlerde ise 3.5-5.8 kat daha yüksektir (Dragacci ve ark., 1995). Govaris ve ark., (2001); deneysel olarak aflatoksin M_1 ile kontamine ettikleri sütten ürettikleri teleme peynirlerinde toksin konsantrasyonunun süttekinin 3.9 ile 4.4 katı olduğunu tespit etmişlerdir.

Tablo 4.Türkiye'de üretilen bazı peynirlerde AFM_1 seviyeleri ve Türk Gıda Kodeksinde verilen limiti (250 ng / kg) aşan örnek sayısı (İşleyici, 2011).

Peynir	Numune Sayısı	Tespit aralığı	Pozitif Örnek	Limiti Aşan Örnek	Literatür
Beyaz peynir	70	-	58(%82,86)	19(%27,14)	Atasever ve ark. 2006
Beyaz peynir	85	58-860ng/kg	70(%82,4)	14(%16,5)	Atasever ve ark. 2010
Beyaz peynir	50	30,3-1237,8 ppt	50(%100)	1(%2)	Alkan ve ark.2006
Beyaz peynir	100	-	82(%82)	27(%27)	Sarımehmetoğlu ve ark.2004
Beyaz peynir	93	52-860 ng/kg	159(%82,4)	51(%26,4)	Ardıç ve ark.2009
Beyaz peynir	23	11-106 ng/kg	9(%39,1)	-	Gürses ve ark.2004
Kaşar peyniri	75	55-850 ng/kg	65(%80)	11(%14,7)	Atasever ve ark.2010
Kaşar peyniri	125	10-740 ng/kg	86(%68,8)	28(%32,55)	Günşen ve ark.2003
Kaşar peyniri	14	7*68 ng/kg	6(%42,9)	-	Gürses ve ark.2004
Kaşar peyniri	200	120-800 ng/kg	12(%6)	2(%1)	Yaroğlu ve ark.2005
Kaşar peyniri	100	-	85(%85)	34(%34)	Sarımehmetoğlu ve ark.2004
Kaşar peyniri	132	50-690 ng/kg	109(%82,6)	36(%27,3)	Tekinşen ve ark. 2008
Tulum peyniri	11	11-202 ng/kg	7(%63,6)	-	Gürses ve ark.2004
Tulum peyniri	100	-	81(%81)	24(%24)	Sarımehmetoğlu ve ark.2004
Tulum peyniri	45	-	-	-	Gürbüz ve ark.1999
Küflü Tulum	75	-	-	-	Gürbüz ve ark.1999
İvriz Peyniri	30	-	-	-	Gürbüz ve ark.1999
Urfa peyniri	50	-	14(%28)	5(%10)	Filazi ve ark.2010
Civil peyniri	62	51-116 ng/kg	12(%19,4)	-	Atasever ve ark.2010
Civil peyniri	9	12-18 ng/kg	4(%44,4)	-	Gürses ve ark.2004
Krem peynir	82	52-860 ng/kg	69(%84,2)	5(%6,1)	Atasever ve ark.2010
Krem peynir	100	0-4100 ng/kg	99(&99)	18(%18)	Tekinşen ve ark.2008
Krem peynir	200	100-700 ng/kg	8(%4)	2(%1)	Yaroğlu ve ark.2005
Lor peyniri	6	13-19 ng/kg	2(%33,3)	-	Gürses ve ark.2004

Olgunlaştırma ve depolama süresince toksinin peynirdeki stabilitesi ile ilgili elde edilen veriler de değişiklik göstermektedir. Cheddar, brick ve limburger peynirlerinde olgunlaşmanın başlangıcında aflatoksin konsantrasyonunun arttığı daha sonra azaldığı, parmesan peynirinde ise tam tersi şekilde olgunlaşmanın ilk aylarında toksin miktarının azaldığı sonrasında yavaş yavaş arttığı gözlenmiştir (Brackett ve ark., 1982; Brackett ve Marth, 1982a; Brackett ve Marth, 1982b). Yine aynı araştırıcılar; mozzarella peynirinde 4.5 aylık olgunlaştırma süresi boyunca önemli sayılacak düzeyde bir değişim gözlemediklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılara göre (Brackett ve Marth, 1982c), olgunlaşma sürecinde kazeinin proteolizi, sütten aflatoksin M_1'in geri kazanımını %31 arttırmaktadır. Cheddar peynirinin olgunlaşma sürecinde meydana gelen aflatoksin M_1 konsantrasyonundaki artış da muhtemelen kazeinin kısmi proteolizinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Brackett ve Marth., 1982a)

Bakırcı (2001); işlenmek üzere işletme tankında toplanan çiğ süt ile bu sütten üretilmiş pastörize süt, yağsız süt, yoğurt, yayık altı ve peynir altı suyundaki aflatoksin M_1 miktarları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığını; ancak beyaz ve kaşar peyniri örneklerindeki toksin miktarının çiğ sütün toksin miktarından yüksek olduğunu belirtmiştir. Krema ve tereyağı örneklerinde ise çiğ süttekinden daha düşük düzeyde toksin bulduğunu ifade etmiştir.

Ayçiçek ve ark. (2005); Ankara'daki satış yerlerinden topladıkları 49 adet krem peynir örneğinin 44'ünde, 27 adet tereyağı örneğinin 25'inde, 94 adet beyaz peynir örneğinin 86'sında ve 53 adet kaşar peyniri örneğinin 47'sinde aflatoksin M_1 tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, 12 adet beyaz peynir, 1 adet tereyağı ve 7 adet kaşar peynirindeki toksin miktarının Türk Gıda Kodeksi (Anonim, 2002) tarafından bildirilen kabul edilebilir değerin üzerinde olduğunu belirlemişlerdir.

Tekinşen ve Uçar (2008), Türkiye'nin 5 büyük şehrindeki perakende satış yerlerinden topladıkları 92 adet tereyağı örneğinin tamamında, 100 adet krem peynir örneğinin % 99'unda aflatoksin M_1 tespit etmişlerdir. Araştırmacılar tereyağı örneklerinin % 28'inin, krem peynir örneklerinin de % 18'inin limit değerin üzerinde aflatoksin M_1 içerdiğini bildirmişlerdir.

2.4. Aflatoksin Oluşumunda Etkili Olan Faktörler

Aflatoksin oluşumuna yol açan küf mantarlarının gıda maddelerinde gelişmesinde çeşitli faktörler rol oynar. Bunları üç başlık altında incelemek mümkündür (Çömezoğlu, 1997):

- Depolama aşamasına kadara etkili olan faktörler,
- Depolama süresince etkili olan faktörler.
- Gıda maddesinin bileşimidir.

2.4.1. Depolama Aşamasına Kadar Etkili Olan Faktörler:

Kuru ortamlarda yetişen ürünlerde hasat öncesi toksin oluşumu nemli ortamlarda yetişenlere oranla daha fazladır. Bu nedenle bitkinin zarar görmeyeceği derecede sulamaya önem verilmesi gerekmektedir (Çömezoğlu, 1997).

Ürünün beslenmesinin yetersiz oluşu, zayıf yetişmesine neden olmaktadır. Böyle bitkiler gerek patojen küf mantarlarının ve gerekse zararlıların etkisi nedeniyle, toksin oluşturan küfler için uygun bir ortam hazırlarlar. Fazla yağış, dolu ve don zararlıları, uzun süren kuraklık dönemi, toksin oluşumunu dolaylı olarak etkiler (Çömezoğlu, 1997).

Hasat şekli, özellikle ürünün hasat sırasında yaralanması ve zarar görmesi, kabuklu ürünlerin tahrip olması toksin oluşumunu teşvik eder. Hasat ile kurutma arasındaki gecikme aflatoksin oluşumunu hızlandırır. Kurutmada esas, tane neminin 4-5 gün içinde emniyetle depolama yapılabilecek düzeye düşürülmesidir. Bu da küf mantarlarının gelişmesine ve dolayısıyla toksin oluşumuna engel olur. Taşıma ve ürünün işlenmesi sırasında diğer ürünlerle karışma da bulaşmayı artırmaktadır (Dağlıoğlu ve Gümüş, 1996).

2.4.2. Depolama Süresince Etkili Olan Faktörler:

Depolama süresi toksin oluşumunda önemli faktörlerden birisidir. Toksin oluşturan küf mantarları depo küfleri olduğundan depolama şartları son derece önemlidir. Hasattan sonra depolanan üründeki nem miktarı, sıcaklık, depolama süresi, deponun nispi nemi ve

depolanan üründeki zararlı yoğunluğu gibi faktörler küflerin gelişmesinde etkilidir (İnal, 1992).

Aflatoksin oluşumunda sıcaklık, su aktivitesi, hava, atmosferik gazlar ve atmosferik nem oldukça etkilidir. Belirli bir su aktivitesi (a_w) değerinin altında *A. flavus* ve *A. paraciticus* türü küfler toksin üretemezler (Hayes, 1992).

A. flavus'un gelişebilmesi için en az a_w 0,82, optimum a_w 0,98, optimum sıçaklık 33 ^{0}C'dir (12-43 ^{0}C arasında gelişebilir). Toksin üretebilmesi için en az a_w ise 0,83 'dür (Hayes, 1992).

A. parasiticus'un gelişebilmesi için en az a_w 0,82, optimum a_w 0,98, toksin üretebilmesi için en az a_w 0,87'dir (Hayes, 1992). Toksin oluşumu için optimum sıcaklık 24-28 ^{0}C dolayındadır (Jay, 1994). Örneğin; *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un gelişebilmesi için nispi nemin % 80'den toksin oluşturabilmeleri için ise % 85'den yukarı olması gerekir (Dağlıoğlu ve Gümüş, 1996).

Depolanan ürünlerin depo zararlıları ile bulaşık olması ürünün kalite ve kantitesinde kayıplara neden olduğu gibi toksin oluşumu ile de yakından ilişkilidir. Zararlı yoğunluğu arttıkça toksin oranının da arttığı tespit edilmiştir (Çömezoğlu, 1997).

2.4.3. Gıda Maddesinin Bileşimi

Gıda maddesinin bileşimi de toksin oluşumunda etkilidir. Aflatoksinler doğal olarak birçok gıda ve yemlerde bulunabilirler. Örneğin; yağlı tohumlar, küspeler, kuru yemişler, ekmek, buğday, arpa, mısır, pirinç, fasulye, bakla, bezelye, bira, şarap, turşu, peynir, süt, et, yumurta, kuru balık, incir, hurma, kuru üzüm, karabiber, beyaz biber, kırmızı biber türleri vb. sayılabilir (Hayes, 1992).

A. flavus grubundaki organizmalar, gıda maddelerinde bulunan sakkaroz, glikoz, früktoz, ksiloz, riboz gibi karbonhidratlardan yararlanarak aflatoksin oluştururlar. Azotlu maddelerden yararlanarak aflatoksin oluşumu, *A. flavus* türlerinin özelliklerine olduğu kadar, ortamın bileşimine de bağlıdır. Bazı durumlarda yalnız inorganik azot kaynağı, bazen de ek olarak organik asit kaynağı bulunduğunda maksimum aflatoksin üretimi

gerçekleşmektedir. İnorganik azot kaynaklarından amonyum sülfat ve potasyum nitrat'ın aflatoksin üretiminde önemli etkisi vardır. Çeşitli vitaminlerin örneğin; tiamin ve biotinin küf gelişimi ve buna bağlı olarak aflatoksin üretimini arttırdığı bilinmektedir. Riboflavin ve pridoksinin ise aflatoksin üretiminde bir etkisi yoktur. Aminobenzoik asitin, sülfamilamid ve anthranilic asidin aflatoksin üretimini engelleyici etkisi olduğu saptanmıştır . *A. flavus*'un gelişmesi ve aflatoksin oluşumu, ortamda $MgSO_4$ ve Fe olduğu zaman artmaktadır. İz elementlerin, özellikle çinkonun aflatoksin oluşumuna büyük etkisi olduğu söylenmektedir (Çömezoğlu, 1997).

2.5. Çevre Koşullarının Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi

2.5.1. Ortam Neminin Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi

Aflatoksin oluşturan küf mantarlarının çeşitli besinlerde gelişmesi için o besindeki en uygun nem miktarı araştırmacılar tarafından % 14-30 arası belirlenmiş (Erdem ve Özen, 1990). Bunun yanında *Aspergillus* cinslerinin % 13-18 gibi çok az nem içeren besinlerde dahi gelişebileceği saptanmıştır. Küflerin gelişebilmesi için hava nispi neminin en az % 65 olması gerekir (Evren, 1999).

2.5.2. Ortam Sıcaklığının Etkisi

Genellikle küf mantarlarının en uygun gelişme sıcaklıkları 20-30° C arasındadır. Buna karşı en düşük ve en yüksek gelişme sıcaklık sınırları küf türlerine göre değişik olmaktadır (Evren, 1999). 10°C'nin altında oluşumun durduğu saptanmış (Şahin, 2000) ancak diğer faktörlere de bağlı olarak 7,5- 40° C arasında aflatoksin üretilebildiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (Yıldırım, 1992). Örneğin; *A. flavus* için gelişme sıcaklıkları en düşük 7°C, en iyi 32°C ve en yüksek 45°C olarak verilmiştir. Buna karşın toksin üretimi 8°C de başlamakta en fazla 27°C olmakta ve 42°C' ye kadar sürmektedir (Evren, 1999).

2.5.3. Oksijenin Etkisi

Mantarların aerobik mikroorganizmalar olmaları nedeniyle oksijenin % 45'ten % 1' e düşmesi özellikle *A. flavus'* un gelişimini ve dolayısıyla ve aflatoksin üretimini önemli derecede azaltmaktadır (Erdem ve Özen, 1990). Olağan koşullarda küf mantarları aerob mikroorganizmalar grubunda olmalarına ve gelişmek için oksijene ihtiyaç duymalarına karşın % 1 gibi düşük bir oksijen varlığı bile küfün gelişmesi için yeterli olmakta ve toksin üretebilmektedirler (Evren, 1992).

2.5.4. pH'nın Etkisi

Küf mantarları gelişmeleri için genelde nötr veya nötre yakın pH derecelerini tercih ederler. Bu nedenle pH 6,5 - 8,5 arsında gelişmelerine uygun düzeydedir (Evren, 1999). Bu faktörlerin yanı sıra tarlada, hasatta ve depolamada görülen mekanik hasar, ürün karıştırma, kızışma noktaları, süre, ortamın bileşimi, madensel elementler, kimyasal işlemler, bitki dayanıklılığı, küf enfeksiyonu, bitki varyete farklılığı, spor yükü ve mikrobiyal ekosistem toksin oluşumu üzerine etkili faktörlerdir (Evren, 1999).

2.6. Aflatoksikozis

Aflatoksikozis, insan ve hayvanlarda aflatoksinler (genellikle B_1) tarafından oluşturulan akut veya kronik klinik tablo ile karakterize olan bir mikotoksikozistir (Vurgeç, 1988).

Aflatoksikozis'e neden olan aflatoksin birçok *Aspergillus* ve *Penicillium* türü küfler tarafından sentezlenir. Aflatoksinler; vücuttaki birçok organları etkileyerek işleyişlerini bozmaktadır. Enfeksiyondan en fazla etkilenen organın karaciğer olduğu bildirilmektedir (Sarımehmetoğlu ve ark., 2004).

Gıdalarda küflenme sonucu oluşabilen mikotoksinlerin çoğunluğunun insanlarda tedavisi olanaksız rahatsızlıklara yol açtığı kesinlik kazanmıştır. Bu nedenle gıdalardaki küfler üzerinde araştırmalar yapılmıştır (Evren, 1999). Yapılan araştırmalarla besin ve

besin hammaddeleri hasat ve işlenmesi sırasında veya sonrasında küf gelişimi sonucu ortaya çıkan, en önemli ve ne fazla korkulan mikotoksinlerin aflatoksinler olduğu ortaya çıkmıştır (Şahin, 2000).

Aflatoksinler, insanlarda akut ve kronik etkilerle kendilerini göstermektedir (Evren, 1999). Bu etki doza ve toksinin vücuda alınma sıklığına bağlı olarak değişmektedir. Aflatoksinlerin insanlar ve hayvanlar için toksijenik, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etkileri olduğu bilinmektedir (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

2.6.1. Akut Etkiler

Akut zehirlenmeler ani ölüm, iştahsızlık, solunum güçlüğü, burun akıntısı, durgunluk, kansızlık, öksürük, kanlı sürgün, çırpınmalar, bitkinlik, akut karaciğer hasarı, kapillar damar dayanıklılığının azalması sonucu doku ve organlarda kanama, kanın pıhtılaşma süresinin uzaması ve hızlı ölümle (birkaç saat-birkaç gün) seyreder. Ölüm oranı % 15-25 arasında değişir; ciddi durumlarda % 100'e kadar çıkabilir (Kaya ve ark., 2002). Ayrıca mukoz membranlarda sarılık ve karaciğerde yaygın olarak sentrilobuler nekrozlar ve yağ birikimi oluşur (Erdem ve Özen, 1990). Bu şekilde zehirlenme belirtileri çok fazla değildir. Kanada'da yediği etli börek ve spagettiden aflatoksin üreten küfler izole edilen bir hastada, ağır hazım bozukluğu ve bilinen hastalık belirtilerine benzemeyen bulgular tespit edilmiştir. Yine ölen erkek bir hastada, sarı karaciğer distrofisi belirlenmiş ve hastanın ölümünden önce çok fazla miktarda ceviz yediği saptanmıştır. Ölünün karaciğerinde de aflatoksin B_1 bulunmuştur (Evren, 1999). Reye's sendromu olarak bilinen kusma, hipoglisemi, çırpınma, karaciğer, böbrek ve kalpte yağ infiltrasyonu ile beyin ödemi ve koma ile karakterize olan, çoğu kez de ölümle sonuçlanan hastalığın aflatoksin alımı ile ilişkisi olabileceği bir çok araştırmada vurgulanmıştır (Özkaya ve Temiz 2003).

Aflatoksinlerin akut toksitesi üzerine yapılan araştırmalar, en kuvvetli etkiye B_1 tipinin sahip olduğunu göstermiştir. Toksik etkinin ölçü birimi olarak "LD_{50}" alınır. Bu tanım vücut ağırlığı üzerinden denemede tatbik edilen ve deney hayvanlarının% 50'sinin öldüğü dozu ifade eder ve "Letal Doz" olarak isimlendirilir (Evren, 1999).

2.6.2. Kronik Etkiler

Kronik aflatoksikozis gıda ile uzun süre aflatoksin alınımında görülür. Sıcak bölgelerde risk oldukça yüksektir (Evren, 1999). Karaciğer sirozu ve kaslarda sarılık kronik olaylarda ortaya çıkan belirgin semptomlardır (Erdem ve Özen, 1990). Bunun yanında primer karaciğer kanseri, kalın bağırsak kanseri, mide kanseri, akciğer kanseri başta olmak üzere iç organlarda yağlı dejenerasyonlarla beliren Reye's sendromu diğer hastalıklardandır (Evren, 1999).

Denemeler sonucu, aflatoksin alımı sonucunda insanlarda özellikle karaciğer kanseri vakalarında pozitif bir artış olduğu ortaya konmuştur. Aflatoksin molekülü karaciğerde bir etkileşim aşaması geçirmektedir. Bu molekül karaciğer hücreleri ile birçok noktada reaksiyona girmekte, DNA ve RNA polimerazlar hızlı bir inhibasyona uğramakta, özellikle mRNA sentezindeki değişiklilerden etkilenerek protein sentezini önemli derecede bozmaktadır. Sonuçta da DNA'ya bağlı RNA sentezi ve bazı proteinlerin sentezi azalmakta ve hücre ölmektedir (Erdem ve Özen, 1990).

Yerfıstığının günlük diyette büyük payının olduğu Uganda, Kenya, Swaziland ve Mozambik gibi Afrika ülkelerinde alınan gıdalardaki aflatoksin miktarının artması ile de primer karaciğer kanseri vakalarında da artma olduğu saptanmıştır. Tayland, Kenya, Mozambik ve Swaziland'da gıdalardaki aflatoksin konsantrasyonu ile örneklerin alındığı bölgelerdeki primer karaciğer vakaları arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Çocuklardaki Reye's sendromundan da aflatoksinlerin sorumlu olduğu bildirilmiştir. Önceleri yalnız Afrika için bir tehlike olduğu düşünülürken, şimdilerde Çek Cumhuriyeti ve A.B.D. gibi gelişmiş ülkelerde de bildirilmektedir (Sarımehmetoglu ve ark., 2004).

Aflatoksikozis bir hayvandan diğerine veya insana bulaşmaz. Aflatoksini olan hayvanların, süt, yumurta ve etlerinde bu toksin bulunabildiği gibi süt mamüllerine de geçer. Bu yönden insan sağlığı için tehlike gösterir. Ancak, aflatoksin vücuttan çabuk atılır ve uzun bir süre kalmaz. Aflatoksinin büyük bir kısmı gaita ve idrarla dışarı çıkar. Sadece %5-6'lık bir bölümü karaciğerde birikme olasılığına sahiptir. Aflatoksine karşı memeliler (insan, sığır, maymun, at, domuz, keçi, köpek, sansar, kobay, rat, sıçan, fare vs.), kanatlılar (ördek, hindi, tavuk, sülün vs.) ve balıklar (özellikle alabalıklar) duyarlıdırlar. Gençler ve gebeler, erginlerden daha kolayca hastalanırlar (Sarımehmetoğlu ve ark., 2004).

2.7. Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu

Gıdaların toksijenik küflerle bulaşmasını önlemek, mikotoksinlerin oluşumunu, dolayısıyla neden olacakları problemleri önlemek açısından en rasyonel ve ekonomik yaklaşım olmasına karşın bu yöntem mevcut tarımsal koşullarda ve depolama koşullarında her zaman mümkün olmamaktadır. Bu nedenle toksinlerle kontamine olmuş gıdaların kullanılabilir hale gelmesinde detoksifikasyon büyük önem kazanmaktadır (Samarajeewa, 1990).

Kullanılan detoksifikasyon yöntemi, şu temel özellikleri taşımalıdır (Bata ve Lasztity, 1999):

- Mikotoksini toksik olmayan bileşiklere dönüştürerek inaktive etmeli,
- Küf sporlarını ve misellerini tahrip ederek yeni toksinlerin oluşumunu önlemeli,
- Gıdaların ve yemlerin besin değerinde tat ve aromasında değişikliğe yol açmamalı,
- Hammaddenin fiziksel özelliklerini önemli derecede değiştirmemeli,
- Maliyeti düşük olmalıdır.

Mikotoksinler ile kontamine olmuş gıdaların ve yemlerin detoksifikasyonu için şimdiye kadar birçok fiziksel ve kimyasal yöntem önerilmiştir. Fakat bunlardan sadece birkaçının (örneğin aflatoksinin amonyakla parçalanması) pratikte kullanımı kabul görmüştür. Kullanılan yöntemler bir dereceye kadar başarılı olmalarına rağmen büyük dezavantajlara ve yüksek maliyete sahiptirler. Ayrıca Avrupa Birliği ve ülkemizde çıkan son yasa ve tüzükler gıdaların detoksifikasyonunda kimyasal madde kullanımını yasaklamıştır (Anonim, 2002; Sabancı, 2003).

Birçok araştırmacı, mikotoksinlerin, gıdaların besin değerinde ve lezzetinde kayıplar oluşturmadan, zararlı kimyasallar kullanılmaksızın, uygun koşullar altında detoksifikasyonunun, ancak seçilmiş mikroorganizmaların kullanılmasıyla mümkün olacağı savunmaktadırlar (Bata ve Lasztity, 1999).

Aflatoksinlerin mikroorganizmalarla detoksifikasyonu ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve bu çalışmalarda birçok mikroorganizma denenmiştir. Konuyla ilgili literatürde rastlanan ilk bilgi Ciegler ve ark. (1966) yayınlamış oldukları çalışmanın sonuçlarıdır. Araştırmacılar mayalar, küfler ve bakterileri içeren 1000'den fazla mikroorganizmanın

aflatoksinleri azaltma yeteneği üzerinde çalışmışlar ve bunlardan sadece tek bir bakterinin, *Flavobacterium aurantiacum*'ün hem sıvı hem de katı ortamlardaki aflatoksin B_1'i geriye dönüşsüz olarak uzaklaştırdığını tespit etmişlerdir (Ciegler ve ark., 1966). Daha sonra yapılan çalışmalarda, ortamdaki aflatoksin B_1'in bakterinin metabolik aktivitesi sonucu suda çözünen bileşikler ile CO_2'e parçalandığı (Line ve Brackett, 1994), azaltma mekanizmasının enzim özelliği taşıyan bir proteine bağlı olduğu belirlenmiştir (Smiley ve Draughon, 2000).

Laktik asit bakterileri birçok gıdanın özellikle de süt ürünlerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Asitlik oluşturma, aroma maddeleri meydana getirme ve proteolitik aktivite gösterme gibi yetenekleriyle ürünlerin yapı, kıvam ve tekstürünü etkilerken oluşturdukları antimikrobiyal maddelerle de koruyucu ve terapötik etki göstermektedirler. Oluşturdukları laktik asit, asetik asit, diasetil, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler sayesinde önemli antimikrobiyal etkilere sahiptirler. Gastrointestinal sistemde birçok hastalığa sebep olan patojenler ve bazı küf türleri üzerinde de etkileri belirlenmiştir. Laktik asit bakterileri, küf gelişimi ve mikotoksin üretiminin inhibisyonu ayrıca mevcut toksinin detoksifikasyonu amacıyla yaklaşık 30 yıldan bu yana araştırma materyali olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar bazı laktik asit bakterilerinin küf gelişimini ve mikotoksin üretimini engellediğini ortaya koymuştur (Güley ve ark., 2004).

Yapılan çalışmalarda laktik asit bakterilerinin aflatoksinleri detoksifiye edebilme yetenekleri iki yaklaşımla incelenmiştir (Güley ve ark., 2004):

1. Küf gelişimi inhibe edilerek ortamda aflatoksin oluşumunun engellenmesi: Bunu temel alan çalışmalarda laktik asit bakterilerinin küf gelişimi ve aflatoksin üretimi üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. Ortamda varolan toksinin bakteri hücrelerine bağlanması yoluyla ortamdan uzaklaştırılması: Bu amaçla canlı ve cansız laktik asit bakterilerinin toksini bağlama yetenekleri araştırılmış ve bu mekanizma açıklanmaya çalışılmıştır.

Laktik asit bakterileri geleneksel yöntemle üretilen ürünlerde doğal olarak bulunmakta veya endüstriyel üretimde saf kültür olarak ilave edilmektedirler. Geleneksel yöntemle üretilen ürünlerin özellikle de fermente süt ürünlerinin ve peynirin starter olmayan laktik bakteri florası son yıllarda birçok araştırmanın konusu olmuştur (Cogan ve

ark., 1997; López ve ark., 2000; Bulut ve ark., 2004; Østlie ve ark., 2004; González ve ark., 2007). Çünkü doğal mikroflora yeni ve farklı özelliklere (inhibitör madde üretimi, faja direnç vb.) sahip bakteri tür veya suşlarının elde edilmesinde büyük potansiyele sahiptir (Limsowtin ve ark., 1996).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada, Aydın ve İzmir il ve ilçelerinde bulunan marketlerden toplanan 45'er adet kaşar ve eritme olmak üzere toplam 90 adet peynir örneği araştırma materyali olarak kullanılmıştır. Örnekler soğuk zincirle aseptik şartlarda laboratuara getirilmiş olup, getirildiği gün işlenmeyecek ürünler en kısa sürede analize alınmak üzere buzdolabı şartlarında muhafaza edilmiştir.

3.1.1. Aflatoksin Standardı:

- ELISA 5 Helica marka (961AFLM01M)

3.1.2.Aletler:

- ELİSA Cihazı (Mindray)
- Stomacher (Bag Mixer- İntersience)
- Shaker (Mixer-MS1)
- Santrifüj cihazı (Nüve, NF 800R, Türkiye)
- Etüv (Nüve, FN 500)

3.1.3.Malzemeler

- Pipet (5-10 ml)
- Stomacher poşeti 500 mlt (filtresiz)
- Micropipetler (100-200 µl)
- Cam santrifüj tüpleri (10ml)
- Metanol

3.1.4. Süt ürünleri

-45 adet kaşar peyniri

-45 adet eritme peynir

3.2.Metot

3.2.1. Metot

Bu çalışma ELİSA yöneteminden faydalanılarak yapılmıştır; testin ana prensibi antijen-antikor reaksiyonuna dayanmaktadır. Mikrotiter pleytteki kuyucuklar aflatoksin M_1'e özel antikorlarla kaplanmıştır. Aflatoksin M_1 içeren standart solüsyonların ve örneklerin kuyucuklara ilavesi ile aflatoksin M_1 konsantrasyonuna karşı antikor bağlı siteler nispeten tutulur. Geride kalan bağlanmamış siteler bir sonraki aşamada enzim konjugat tarafından bağlanır. Bağlanmamış enzim konjugatlar yıkama işlemi ile uzaklaştırılır. Substrat (üre peroksidaz) ve kromojenin (tetrametilbenzidin) kuyucuklara ilave edilmesi ile kromojen, bağlı enzim konjugatı mavi bir renge dönüştürür. Stop (sülfirik asit) solüsyonu ilavesi reaksiyonu durdurur ve mavi rengin sarıya dönüşmesine neden olur. Sonuç olarak okunan absorbans değeri örnek içindeki aflatoksin M_1 konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

3.2.2. Ekstraksiyon

Laboratuvara soğuk zincirle getirilen peynir örnekleri ELISA 5 Helica marka (961AFLM01M)'de belirtildiği şekilde incelendi. Numuneler analize alınmadan önce, kaşar peyniri örnekleri rendelenerek, krem peynir örnekleri ise iyice yumuşaması sağlanarak analize hazırlandı. Daha sonra homojen hale getirilmiş peynir örneklerinden 1 g alınarak cam santrifüj tüplerine konuldu. Cam tüpteki peynir örnekleri üzerine 5 ml absolut metanol ilave edilerek kapakları kapatıldı ve 5 dk süre ile iyice çalkalandı. Daha sonra tüpler 5000 g'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonunda süpernatanttan 5 ml alınarak başka bir boş tüpe aktarıldı ve tüpteki metanolün uçması için 60 °C'de bekletildi. Metanolden arındırılmış yarı kıvamlı sıvı daha sonra M_1'den ari yağsız sütten 0.5 ml ilave edilerek 1 dk süre ile vortexlendi ve süre sonunda tüp içeriğinin çökmesi için 5 dk kadar beklenildi. Böylece elde edilen ekstratlar ELISA test için kullanıma hazır hale getirilmiş oldu.

Ticari ELISA test kitleri ile çalışmaya başlamadan önce kitler oda ısısına getirildi ve kit prosedüründe belirtilen sıraya göre örnekler analize alındı. Pleytlere ilk 6 kuyucuğa 0, 5 10, 25, 50 ve 100 ng/L standartardan diğer kuyuculara da analize hazırlanmış örneklerin ekstratlarından 200 µl ilave edildi ve 2 saat karanlık ortamda inkübasyona

bırakıldı. İçerik süre sonunda dikkatlice döküldü, pleytlerin kuyucuklarına yıkama solüsyonundan 300 µl doldurarak yıkandı ve işlem 3 kez tekrarlandı. Her kuyucuğa 100 µl Aflatoksin HRP konjugattan ilave edilip, oda ısında 15 dakika inkübasyona alındı. Süre sonunda tekrar 3 kez yıkama işlemi yapılarak kuyucuklara TBM substrattan 100 µl eklenerek 20 dakika beklendi. Sonrasında stop solüsyonundan 100 µl eklenerek mikropleytler ELISA okuyucusunda 450 nm'de okutuldu ve sonuçlar standartla karşılaştırılarak kantitatif olarak değerlendirildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışma Aydın ve İzmir ili ve ilçelerinde satışa sunulan 45'er adet kaşar ve eritme peyniri olmak üzere toplam 90 peynir örneği aflatoksin M_1 varlığının ELISA yöntemi ile belirlemek amacıyla yapılmıştır. Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ'de (Anonim, 2002), tüm peynir örneklerinin 52'sinde (% 57,8) AFM_1 düzeyi izin verilen limitlerin altında olduğu gözlenmişken, 38 örnekte (% 42,2) AFM_1 düzeyi izin verilen limitlerin üstünde bulunmuştur.

Tablo 5. Kaşar ve Eritme peynirlerinde Aflatoksin M_1 varlığı.

Aflatoksin M_1 Düzeyi (ng/kg)	Numune Sayısı	Aflatoksin M_1 Bulunma Oranı (%)
< 25	52	%42,2
>25	38	%57,8

Analizi yapılan 45 adet kasar peyniri örneğinin 20'sinde (% 44,4) > 250 ppt düzeyinde aflatoksin M_1 saptanırken, 25'i (% 55,6) < 250 ppt değerinin altında bulunmuştur (Tablo 6). Kaşar peyniri örneklerinin 20'si (% 44,4) Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ'de (Anonim, 2002) belirtilen maksimum üst sınır olan 250 ppt'yi aşan seviyelerde olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 6. Kaşar peynir örneklerine ait aflatoksin M_1 miktarı dağılımları

Aflatoksin M_1 Miktarı Ppt (ng/kg)	Örnek sayısı (n=45)	Aflatoksin M_1 Yüzdesi (%)
< 50	-	-
50-250	25	55,6
> 250	20	44,4

Analizi yapılan 45 adet eritme peyniri örneğinin 18'inde (% 40) >250 ppt düzeyinde aflatoksin M_1 saptanırken, 27 eritme peynir örneğinin 50-250 ppt (% 60) değerleri arasında olduğu görülmüştür (Tablo 7). Aflatoksin M_1 bulunan örneklerin 18'i (% 40) Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ'de (Anonim, 2002) belirtilen maksimum üst sınır olan 250 ppt'yi aştığı görülmüştür.

Tablo 7. Eritme peynir örneklerine ait aflatoksin M_1 miktarı dağılımları

Aflatoksin M_1 Miktarı Ppt (ng/kg)	Örnek sayısı (n=45)	Aflatoksin M_1 Yüzdesi (%)
< 50	-	-
50-250	27	60
> 250	18	40

5. TARTIŞMA

Önemli derece kanserojen bir madde olan aflatoksin miktarının gıda maddelerinde kontrolü, izlenmesi ve korunması halk sağlığı açısından çok önemlidir. Aflatoksinin vücutta etkilediği organların başında karaciğer gelmekte ve bu yüzden toksin, hepatoksin olarak sınıflandırılmaktadır. Aflatoksinler akut etkiler oluşturabildikleri gibi uzun süre küflü besinlerin tüketilmesi sonucu sinsi bir şekilde de ortaya çıkabilmektedirler. Aflatoksin oluşturabilen ürünlerden bazıları şunlardır; bazı hayvansal ürünler (süt, peynir, yumurta, sakatat), yağlı tohumlar (pamuk tohumu), sert kabuklu yağlı-kuru meyveler (fındık, yer fıstığı, antep fıstığı), bazı kuru meyveler (kuru incir, kuru üzüm) ve kırmızı biber, karabiber, hindistan cevizi gibi baharatlardır (Mendonça ve Venancio, 2005; Stroka ve ark., 2001).

Yapılan bu araştırmada, toplam 90 adet peynir örneğinin 38'inde (% 42,2) Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ'ine göre sınırları aştığı gözlenmiştir. Numunelerin 52'sinde (% 57,8) AFM_1 yasal sınırlar içerisindedir. Numunelerin 45 adeti kaşar peyniri, 45 adet eritme peyniridir. Aflatoksin saptama oranı sırasıyla kaşar peynirinde 20 adet (% 44,4), eritme peynirinde 18 adettir (% 40). Bu durum aflatoksin M_1'in analiz edilen peynir örneklerinde yaygın olarak bulunduğunu göstermektedir. Türk Gıda Kodeksine (Anonim, 2002) göre peynirlerde izin verilen M_1 miktarı 250 ppt (250ng/kg) 'dir.

Peynir türlerinde aflatoksin M_1'in bulunma oranının süt örneklerine göre daha yüksek olması aflatoksin M_1'in kazeine olan ilgisinden kaynaklanmaktadır. Peynirlerin içerdiği kazein oranı süte oranla çok daha yüksektir (Wiseman ve ark., 1983; Galvano ve ark., 1996).

Peynirde Aflatoksin varlığı üç şekilde görülmektedir; Aflatoksin içeren yemlerin tüketimi sonucu çiğ sütte toksin oluşması, peynirlerin yüzeyinde gelişen *A. flavus* ve *A.paraticus* türü küflerin toksin oluşturması, peynir ve yoğurt yapımı sırasında kullanılan katkı maddelerinin ve süt tozunda bulunan toksinlerin süt ürünlerine geçmesi seklinde olmaktadır. AFM_1'in sütte dağılımı homojen değildir ve % 80'i sütün yağsız kısmında bulunmaktadır. Peynir imalatı sırasında toksin hidrofobik bağlanma nedeniyle kazein fraksiyonuna geçer. Bu nedenle süt ürünleri içinde en çok aflatoksin içeren ürün de peynir olarak karşımıza çıkmaktadır (Trucksess ve ark., 1986). Aflatoksinin peynire hangi

aşamada bulaştığını öğrenmek ve bunun engellemek için üretim basamaklarının denetimi sağlanmalıdır. Bu amaçla HACCP uygulamaları denetim açısından önemlidir (Kireçci ve ark., 2004)

Gerek Türkiye'de gerekse diğer birçok ülkede yapılmış çok sayıda çalışmada peynirlerde AFM_1 varlığı bildirilmiştir (Kireçci ve ark., 2004; Sarımehmetoğlu ve ark., 2004, Yapar ve ark, 2004; Yaroğlu ve ark., 2005, Kök, 2006; Atasever ve ark., 2009; İşleyici ve ark, 2011; Dinçoğlu ve ark., 2012)

Atasever ve ark. (2009) Erzurum'da yaptıkları çalışmada, ELISA yöntemiyle inceledikleri 304 peynir numunesinin 216 tanesinin Gıda Kodeksi (TGK) tarafından izin verilen maksimum değerleri aştığı tespit etmişlerdir.

Sarımehmetoğlu ve ark. (2004) ELISA yöntemi ile inceledikleri 100 adet peynir numunesindeki AFM_1 kontaminasyon oranını % 81,75 olarak bulmuştur. Araştırmacılar inceledikleri kaşar, tulum, beyaz ve işlenmiş peynirlerdeki kontaminasyon oranlarını sırasıyla % 85, % 81, % 82 ve % 79; bu peynirlerden Türk Gıda Kodeksi (TGK) tarafından izin verilen maksimum değerleri aşan örneklerin oranlarını ise sırasıyla % 34, % 24, % 27 ve % 25 olarak tespit etmişlerdir.

Kireçci ve ark. (2004) ELISA yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada AFM_1 kontaminasyon oranı açısından yasal limitleri aşan süt, kaşar, eritme ve beyaz peynir oranını sırasıyla % 90, % 30, % 10 ve % 20 düzeyinde bildirmişlerdir.

Yapar ve ark. (2004) taze kaşar, eski kaşar, çivil, gravyer ve beyaz peynir örneklerinden sırasıyla % 24, % 20, % 80, % 40 ve % 28'indeki AFM_1 kontaminasyon oranının Türk Gıda Kodeksi tarafından izin verilen maksimum değerlerin üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Filazi ve ark. (2010) Urfa'da TLC (Thin Layer Chromatography) yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmalarında kontaminasyon oranı açısından 50 adet koyun peyniri örneğinin 28'inde (% 14) AFM_1'e rastladıklarını vurgulamışlardır.

Tekinşen ve ark. (2011) Urfa'da ELISA yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada 127 adet beyaz peynir örneğinin 36 (% 28,3) adedinde AFM_1'e rastladıklarını söylemişlerdir.

Dinçoğlu ve ark., (2011) İzmit'te ELISA yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada satışa sunulan 102 adet beyaz peynir ve 82 adet kaşar peynir örneklerinin sırasıyla 75 (% 73,5) ve 48 (% 57,8)'inde AFM_1'e rastlanmıştır.

Dinçel ve Ark., (2011) Ankara'da çeşitli peynir örneklerinde aflatoksin M_1 varlığının HPLC yöntemi ile tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada, incelenen 100 peynir numunesinde, farklı yörelerden toplanan peynir numunelerinden sadece Urfa yöresine ait peynirlerde Gıda Tebliğinde belirtilen konsantrasyon değerinin altında Aflatoksin M_1 rastladıklarını vurgulamışlardır.

Fallah ve ark., (2009), İran'da ELISA yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada incelenen 94 adet krem peynir örneğinin 68 (% 72,3) adedinde AFM_1'e rastlanmışlardır.

Trucksess ark. (1986) Amerika'da 118 peynir örneğinin % 6.80'inde 100-1000 ng/kg arasında AFM_1 bulunmuştur. Yine Amerika'da yöresel ev peynirlerinde yapılan bir araştırmada 209 örnek araştırılmış bunların % 0,4'ünde AFM_1 'e rastlanmıştır (Yasal limit:50 ng / kg).

Gürses ve ark. (2004) Erzurum'da 21 farklı marketten topladıkları peynir örneklerini aflatoksin M_1 varlığını ELISA yöntemi ile analiz etmişlerdir. Analiz ettikleri 23 beyaz peynir örneğinin 9'unda (% 39,13) 11 ile 106 ppt arasında; 14 kaşar peyniri örneğinin 6'sında (% 42,85) 7 ile 68 ppt arasında; 11 tulum peyniri örneğinin 7'sinde (% 63,63) 11 ile 202 ppt arasında;, 9 civil peyniri örneğinin 4'ünde (% 44,44) 12 ile 18 ppt arasında ve 6 lor peyniri örneğinin 2'sinde (% 33,33) 13 ile 19 ppt arasında değişen seviyelerde aflatoksin M_1 tespit edilmiştir. Aflatoksin M_1 seviyesi, bulunan örneklerin hiçbirisinde peynirler için maksimum tolerans limiti olan 250 ppt'yi geçmemiştir.

Tekinşen ve ark. (2011) çalışmalarında, 127 adet peynir örneğinin 36 (% 28,3)'sında aflatoksin M_1 tespit etmişlerdir.

Genel olarak yapılan çalışmalara bakıldığında, tespit edilen AFM_1 oranları çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Çeşitli illerden toplanan örneklerden elde edilen aflatoksin M_1 ortalamalarını incelediğimizde ülkemizin birçok ilini kapsayan araştırma sonuçlarında aflatoksin M_1'in süt ve süt ürünlerimizde bulunma sıklığının yüksek

olduğunu ve bu ürünlerin halkımızın sağlığını etkileyebilecek seviyelerde aflatoksin M_1 ile kontamine olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada örneklerin % 42,2'isinde AFM_1 in tespit edilmesi yapılan diğer çalışmalarda elde edilen bulgular ile benzerlik göstermektedir. 38 örnekte 0,25 ppb'in üzerinde AFM_1'e rastlanılmıştır ve bulunan en yüksek değer olan 893 ng/kg diğer çalışmalarda bulunan en yüksek AFM_1 değerlerinden de yüksek olduğu gözlenmiştir. Süt ve süt ürünlerinin aflatoksin ile kirlenmeleri coğrafi bölgelere, ülkelere ve mevsimlere göre farklılık göstermektedir. Çalışmamız sadece bir bölgede üretilen peynirleri kapsadığından bu bölgenin hayvanlarının sütlerinin AFM_1 bakımından durumlarını da yansıtması açısından önemlidir.

Sonuç olarak; süt ve süt ürünlerinde AFM_1 varlığı halk sağlığı açısından büyük bir risktir. Bu nedenle süt ve süt ürünlerinde AFM_1 varlığını en aza indirgemek için hayvan yemlerinde *Aspergillus* türleri gibi küf mantarlarının üremesinin ve aflatoksin oluşumunun önlenmesi çok önemlidir. Ayrıca, süt ve süt ürünlerindeki AFM_1 miktarının minimum düzeylerde tutulabilmesi için, modern üretim teknikleri uygulanmalı, süt hayvanlarına verilen yemlerin depolanma koşulları uygun hale getirilerek gerekli kontroller yapılmalı ve süt üreticilerinin üretim süreçlerinde aflatoksin oluşumunu nasıl engelleyebilecekleri hususunda bilgilendirilmeleri gerekmektedir.

6. SONUÇ

Bu araştırmada incelenen eritme ve kaşar peynirlerinin % 57,8'nin AFM_1 ile kontamine olduğu ve bu örneklerin % 42,2'sinin yasal mevzuatın izin verdiği değerlerin üzerinde AFM_1 düzeylerine sahip olduğu görülmüştür. Sonuçlar peynir örneklerinin AFM_1 açısından halk sağlığı riski oluşturduğunu göstermektedir. Kış aylarında entansif besiciliğin yaygın olmasından dolayı, uygun olmayan koşullarda muhafaza edilen hayvan yemlerinde küf üremesi ve aflatoksin üretiminin daha fazla olabileceği düşünülmektedir.

Eritme peyniri ve kaşar peyniri üretim teknolojisinin standardize edilmesi, modern ve hijyenik işletmelerde üretimin teşvik edilmesi, hammaddeden başlayarak tüm aşamalarda sıkı denetimlerin uygulanmasının olası halk sağlığı risklerini önlemede etkin rol oynaması mümkündür. Ayrıca çiftlikten sofraya gıda güvenliği çerçevesinde hayvan beslemede kullanılan yemlerin hijyenik eldesi ve üretimi oldukça önemlidir.

ÖZET

Aydın ve İzmir İllerinde Satışa Sunulan Taze Kaşar ve Eritme Peynirlerde Aflatoksin M_1 Varlığının ELISA Yöntemiyle Araştırılması

Aflatoksinler *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* gibi küfler tarafından üretilen toksik metabolitlerdir. Aflatoksinler, 1993 yılında, Dünya Sağlık Örgütünün Uluslararası Kanser Araştırma Kurumu tarafından 1. Grup karsinojenler olarak sınıflandırılmıştır. Tahıllar aflatoksinlerin 4 tipi olan B_1, B_2, G_1 ve G_2'nin bir veya birkaçı ile kontamine olabilmektedir. Aflatoksinin başka alt türleri olmasına rağmen en tehlikelisi ve toksik olanı B_1'dir.. Aflatoksin M_1 laktasyon dönemindeki hayvanların sütünde görülen, aflatoksin B_1'in hidroksilenmiş bir derivatıdır. Hayvansal yemlerde başlangıçta bulunan Aflatoksin B_1 miktarının % 1-3'lük kısmının sütte AFM_1 olarak ortaya çıktığı tesbit edilmiştir. Peynirde aflatoksinin varlığı ise bulaşık yemden ineğin sütüne geçen AFM_1'in çiğ sütte bulunması nedeniyle olabilmektedir.

Bu çalışmada 90 peynir örneği (45 kaşar, 45 eritme peynir) AFM_1 yönünden incelendi. Örneklerin AFM_1 içeriği ve konsantrasyonu kompetitif ELISA metoduyla araştırıldı. Türk Gıda Kodeksi'ne göre AFM_1 yönünden yasal limitleri (250 ng/kg) aşan numune oranı kaşar peynirlerde % 44.4, eritme peynirlerde % 40 olarak belirlendi. Bu sonuçlardan anlaşılacağı gibi yüksek AFM_1 düzeyi Türkiye'de halk sağlığını tehdit eden önemli bir problemdir.

ABSTRACT

Investigating The Presence of Aflatoxin M_1 by ELISA Method in Kashar and Cream Cheeses Sold in Retail Market in Aydın and İzmir Provinces

Aflatoxins are toxic metabolites produced by a variety of molds such as *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. Aflatoxins were classified as Group 1 carcinogens in 1993by the WHO International Agency for Research on Cancer. Crops may be contaminated by one or more of the four following sub-types of aflatoxin: B_1, B_2, G_1 and G_2. While the other sub-types of aflatoxin present a significant danger at high concentration levels, aflatoxin B_1 is the most toxic and frequently detected form. Aflatoxin M_1 is a hidroxilated derivative of aflatoxin B_1 (AFB_1), which occurs in the milk of lactating animals. It is estimated that approximately 1 to 3% of the AFB_1 initially present in animal foodstuff appears as AFM_1 in milk. The presence of aflatoxin in cheese can be due to the contamination of AFM_1 in raw milk as a consequence of the carry over of AFM_1 from contaminated dairy cow feed to milk.

In this study the total 90 cheese samples (45 kashar cheese, 45 cream cheese) were examined in terms of AFM_1. The AFM_1 content and concentrations of the samples were researched by competitive ELISA method. According to Turkish Food Codex limit (250 ng/kg), the sample incidence exceeding the acceptable limits were 44.4 % kashar cheese and 40 % cream cheese samples, respectively. As understood from these results, high AFM_1 level determined in some cheese types is an important problem threatening the public health in Turkey.

TEŞEKKÜR

Bu tezin her aşamasında bilgi ve emeğini esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. Filiz KÖK'e, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY nezdinde tüm anabilim dalı çalışanlarına ve Farmakoloji Anabilim dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Cengiz GÖKBULUT'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

Anonim, International Agency for Research on Cancer, Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Costituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, IARC, Lyon, vol. 56, 1993.

Anonim, Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Teblig/63, 2002.

Atasever, M.A., Adıgüzel, G., Atasever, M., Özturan, K., Türkiye (Erzurum)'de Tüketilen Bazı Peynir Çeşitlerinde Aflatoxin M1 Seviyesinin Belirlenmesi, Erzurum, 2009.

Ayçiçek, H., Aksoy, A., Saygı, S., Determination of Aflatoxin Levels in Some Dairy and Food Products Which Consumed in Ankara, Turkey, Food Control, 16(3), 263–266, 2005.

Bakırcı, İ. A, Study on the Occurance of Aflatoxin M1 in Milk and Milk Products Produced in Van Province of Turkey, Food Control, 12: 47 – 51, 2001.

Barrios M.J., Gualda, M.J., Cabanas, J.M., Medina, L.M., Jordano, R., Occurance ofAflatoxin M_1 in Cheeses from the South of Spain, Journal of Food Protection, 59(8):898-900, 1996.

Bata, A., Lasztity, R., Detoxification of Mycotoxin Contaminated Food and Feed by Microorganisms. Trends in Food Science and Technology, Vol. 10, 223–228, 1999.

Boutrif, E., Pineiro, M., Global Priorities and Food Safety Does Harmonisation Hold the Key, International Workshop on Mycotoxin, July 22-26, FDA and JIFSAN, University of Maryland, USA, 2002.

Brackett, R.E., Applebaum, R.S., Wiseman, D.W., Marth, E.H., Fate of Aflatoxin M1 in Brick and Limburger-like Cheese. Journal of Food Protection, 45: 553–556, 1982.

Brackett, R.E., Marth, E.H., Association of Aflatoxin M_1 with Casein, Z. Lebensm.Unters. Frosch., 174: 439-441, 1982c.

Brackett, R.E., Marth, E.H., Fate of Aflatoxin M_1 in Cheddar Cheese and in Process Cheese Spread. Journal of Food Protection, 45: 549–552, 1982a.

Brackett, R.E., Marth, E.H., Fate of Aflatoxin M_1 in Parmesan and Mozzarella Cheese, Journal of Food Protection, 45: 597–600, 1982b.

Bulut, Ç., Güneş, H., Okuklu, B., Harsa, Ş., Kılıç, S., Çoban H.S., Yenidünya, A.F., Homofermentative lactic acid bacteria of a traditional cheese, Comlek peyniri from Cappadocia region. Journal of Dairy Research, 71: 1–6, 2004.

Charmley, L.L., Trenholm, H.L., Prelusky, D.B., Rosenberg, A., Economic Losses and Decontamination, Natural Toxins, 3: 199-203, 1995.

Ciegler, A., Lillehoj, E.B., Peterson, R.E., Hall, H.H., Microbial Detoxification of Aflatoxin. Applied Microbiology, 14: 934–939, 1966.

Cogan, T.M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P.S.,Fernandes, I., Gomez, J., Gomez, R., Kalantzopoulos, G., Ledda, A., Medina, M., Rea,M.C., Rodriguez, E., Characterization of the Lactic Acid Bacteria in Artisanal Dairy Products, Journal of Dairy Research, 64: 409-421, 1997.

Coker, R.D., High Performance Liquid Chromatography and Other Chemical Quantification Methods Used in the Analysis of Mycotoxins in Foods, 207-263,Analysis of Food Contaminants, J. Gilbert (Ed.), Elsevier Applied Science Publishers Ltd, Pp: 386, 1984.

Concon, J.M., Mold and Mycotoxin Contamination of Food Products, Food Toxicology,Part B: Contaminants and Additives, Marcel Dekker Inc New York and Basel, 1371p, 1988.

Çömezoğlu, M., Balık Yemi ve Yem Hammaddelerinde Aflatoksin Miktarının Tespiti, Lisans Semineri, Eğirdir (Yayınlanmamıştır), 1997.

Dağlıoğlu, O., Gümüş, T., Tahıllarda Mikotoksin Problemi, Un Mamülleri Dergisi Yayınları, 3 : 15 –26, 1996.

Decastelli, L, Lai, J., Gramaglia, M., Monaco, A., Nachtmann, C., Oldano, F., Ruffier, M., Sezian, A., Bandirola, C., Aflatoxins Occurence in Milk and Feed in Northern Italy during 2004-2005, Food Control, 18, 1263-1266, 2007.

Dinçel, A., Demli, F., Durlu-Özkaya, F., Alatan, F., Uzun, R., Subaşı, S.A., Çeşitli Peynir Örneklerinde Aflatoksin M_1 varlığının HPLC ile Analizi, Ankara, 2011.

Dinçoğlu, A.H., Gönülalan, Z., Kök, F., İzmit Bölgesinde Satışa Sunulan Peynirlerdeki Aflatoksin M1 Düzeylerinin Elısa Yöntemiyle Tespiti. İzmit, 2011.

Dosako, S., Kaminogawa, S., Taneya, S., Yamauchi, K., Hydrophobic Surface Areas and Net Charges of s1-k Casein, Casein Complex. *Journal of Dairy Research*, 7: 123-129, 1980.

Dragacci, S, Gleizes, E., Fremy, J.M., Candlish, A.A.G., Use of Immunoaffinity Chromatography as a Purification Step for the Determination of Aflatoxin M1 in cheeses, Food Additives and Contaminants, 12(1): 59-65, 1995.

Erdem, H, Özen, N., Aflatoksinlerin İnsan ve Hayvan Sağlığı Açısından Önemi, O.M.Ü. Ziraat fakültesi Dergisi, Cilt:5, Sayı:1-2, Samsun, 1990.

Evren, M., Aflatoksinlerin Etki Şekilleri, Gıdalarda Bulunma Durumları ve Önleme Çareleri, O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 14(2): 159-172, 1999.

Fallah, A., Jafari, T., Determination of aflatoxin M1 levels in Iranian white and cream cheese. İran. 2009

Filazi, A., İnce, S.,Survey of the Occurrence of Aflatoxin M1 in Cheeses Produced by dairy Ewe's Milk in Urfa City, Turkey. 2010.

Fink, j., Gremmels, J., Mycotoxins in Cattle Feeds and Cary-Over to Dairy Milk: A Review,Food Additives and Contaminants, 25(2): 172-180, 2008.

Frazler, W.C., Food Microbiology, Universty of Wisconsin, Madison 440-461, 1986.

Galvano, F., Galofaro, V., Galvano, G., Occurence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk product: a worldwive review. J. Food Protec., 59 (10), 1079- 1090, 1996.

González, L., Sandoval, H., Sacristán, N., Castro, J.M., Fresno, J.M., Tornadijo, M.E.,Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated From Genestoso Cheese Throughout Ripening and Study of Their Antimicrobial Activity, Food Control, 18: 716-722 , 2007.

Gourama, H., Bullerman L.B., Antimycotic and Antiaflatoxigenic Effect of Lactic Acid Bacteria: A Review, Journal of Food Protection, 58(11) 1275-1280, 1995.

Gourama, H., Bullerman L.B., Inhibition of Growth and Aflatoxin Production ofAspergillus flavus by Lactobacillus Species. Journal of Food Protection, 58(11): 1249–1256, 1995a.

Govaris, A., Roussi, V., Koidis, P.A., Botsoglou, N.A., Distribution and Stability of Aflatoxin M1 During Processing, Ripening and Storage of Telemes Cheese, Food Additives and Contaminants, 18(5): 437-443, 2001.

Güley, Z., Uysal, H., Kılıç, S., Laktik Asit Bakterilerinin Aflatoksin Oluşturan Küfler,Aflatoksin Üretimi ve Aflatoksinler Üzerine Etkileri, Akademik Gıda, Mayıs-Haziran, 2(9):41-45, 2004.

Gürbüz Ü, Nizamlıoğlu M, Nizamlıoğlu F, Dinç İ, Doğruer Y., Bazı Et, Süt Ürünleri ile Baharatlarda Aflatoksin B_1 ve M_1 Aranması, Veterinarium, 10, 34-41, 1999.

Gürses M, Erdoğan A, Çetin B., Occurrence of Aflatoxin M_1 in Some Cheese Types Sold in Erzurum, Turkey. Turk J Vet Anim Sci, 28, 27-530, 2004.

Hayes, P. R., Food Microbiology and Hygiene, Deparment of Microbiology, Universty of Leeds, UK 76-80, 1992.

Heperkan, D., Gıdalarda Mikotoksinler ve Ülkemiz Açısından Önemi. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu 18–19 Eylül 2003, İstanbul sayfa1–7, 2003.

Hussein, H.S., Brasel, J.M., Toxicity, Metabolism and Impact of Mycotoxins on Humans and Animals, Toxicology, 167: 101-134, 2001.

İnal, T., Besin Hijyeni, Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, Final Ofset, İstanbul, 245-250, 1992.

İşleyici Ö., Sancak Y.C., Morul F., YYU Veteriner Fkültesi Dergisi 22-2 105-110, 2011.

Jay, J.M., Modern Food Microbiology, Reinhold Book Corporation, New York, 1970.

Karagözlü, N., Karagözlü, C., Süt ve Süt Ürünlerinde Okratoksinler, Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Mayıs 2000, Tekirdağ, Tebliğler Kitabı (Ed. M. Demirci), 390-398, 2000.

Kaya, S., Bilgili, A., Akar, F., Veteriner Toksikoloji Kitabı: 2.Baskı, 636-637-817, Ankara, 2002.

Kireçci, E., Savaşcı, M., Ayyıldız, A. Sarıkamış'ta tüketilen süt ve peynir ürünlerinde aflatoksin M1 Varlığının Belirlenmesi. İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal Of Infection), 21(2), 93-96, 1997.

Kök, Z., Aydın İli ve Çevresinde Üretilen Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin Varlığının Arastırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 66s. Aydın, 2006.

Kurtzman, C.P., Horn, B.W., Hesseltine, C.W., Aspergillus nomius, a New Aflatoxin-Producing Species Related to Aspergillus flavus and Aspergillus tamarii, Antonic van Leeuwenhoek, 53: 147-158, 1987.

Leslie, J.F., Bondyopadhyay, R. and Angela, V., Mycotoxins Detection Methods Mangement Public Health an Agricultural Trade, CABI North American Office, USA, 2008.

Limsowtin, G.K.Y, Powell, I.B., Parente, E., Types of Starters, 101-129, Dairy Starter Cultures ,T.M. Cogan, J.P. Accolas (Eds)., Wiley-VCH, 277p., 1996.

Line, J.E., Brackett, R.E., Wilkinson, R.E., Evidence for Degradation of Aflatoxin B1 by *Flavobacterium aurantiacum*. *Journal of Food Protection*, 57(9): 788–791, 1994.

López-Díaz, T.M., Alonso, C., Román, C., García- López, M.L., Moreno, B., Lactic Acid Bacteria Isolated From a Hand-Made Blue Cheese, Food Microbiology, 17: 23-32, 2000.

Martins, M.L., Martins, H.M., Aflatoxin M_1 in Yoghurts in Portugal, International Journal of Food Microbiology, 91: 315-317, 2004.

Mendonça C, Venâncio A. Fate of aflatoxin M1 in cheese whey processing, Journal of the science of food and agriculture. 85(12): 2067-70, 2005.

Murphy, P.A., Hendrich, S., Landgren, C. And Bryant, C.M., food Mycotoxins: An Update, Journal of Food Science, 71 (5):51-63, 2006.

Oruç, H. H., "Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M_1 (AFM_1) ve Türkiye'deki Durumu", Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med., 22 (1-2-3): 121-125, 2003.

Østlie, H. M., Eliassen, L., Florvaag, A., Skeie, S., "Phenotypic and PCR-based characterisation of the microflora in Norvegia cheese during ripening" International Journal of Food Microbiology, 94: 287-299, 2004.

Özçelik, S., Sağdıç, O., Gıdalarda ve Yemlerde Toksijenik Küflerin Gelişimi ve Mikotoksin Oluşumu, Mikotoksinler Biyoteknolojisi Sorunlar ve Çözümler Çalıştayı 17-20 Haziran 2003 Bornova-İzmir, Çalıştay Notları (Editörler: R. Eltem, U. Aksoy,K.B., Meyvacı), sayfa1-9, Tibyan Yayıncılık, İzmir, 2003.

Özkaya, Ş., Temiz, A., Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri ve Detoksifikasyonları, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 1(1): 1-21. www.mikrobiyoloji.org/pdf/702030101.pdf, 2003.

Papp, E., H.K. Otta, G. Zaray, E. Mincsovics. Liquid Chromatographic Determination of Aflatoxins. Microchemical Journal, 73: 39-46, 2002.

Richard, J.L., Some Major Mycotoxins and Their Mycotoxicoses - An Overview, International Journal of Food Microbiology, 119: 3-10, 2007.

Sabancı, R., Mikotoksinlerle İlgili Türkiye ve AB Ülkelerindeki Yasal Düzenlemeler,Mikotoksinler Biyoteknolojisi Sorunlar ve Çözümler Çalıştayı 17-20 Haziran 2003 Bornova-İzmir, Çalıştay Notları(Editörler: R. Eltem, U. Aksoy, K.B., Meyvacı) sayfa 105-123, Tibyan Yayıncılık, İzmir, 2003.

Samarajeewa, U., Sen, A.C., Cohen, M.D., Wei, C.I., Detoxification of Aflatoxins in Foods and Feeds by Physical and Chemical Methods. Journal of Food Protection,53(6): 489–501, 1990.

Sarımehmetoglu B, Kuplulu O, Celik TH., Detection of Aflatoxin M_1 in Cheese Samples by ELISA. Food Control, 15, 45-49, 2004.

Smiley, R.D., Draughon, F.A., Preliminary Evidence that Degradation of Aflatoxin B1 by Flavobacterium aurantiacum is Enzymatic. Journal of Food Protection, 63(3): 415-418, 2000.

Smith, J.E., Mycotoxins, Food Chemical Safety Volume 1: Contaminants, Ed.: Watson,D.H. Woodhead Publishing Limited and CRC Pres LLC, Pp: 322, 2001.

Stroka J, Anklam E, Joerissen U, Gilbert J. Determination of aflatoxin B1 in baby food (ınfant formula) by Immunoaffinity column cleanup liquid chromatography with postcolumn bromination: Collaborative study, J. AOAC International, 84(4): 1116-23, 2001.

Şahin, İ., "Küf, Gıda ve İnsan", Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayınları, Bursa 117 , 2000.

Tabata, S., Aflatoxins and Related Compounds Encyclopedia of Dairy Microbiology, Eds. Roginski, H., Fuquay, J., Fox, P., Academic Press, London, p. 2087-2095, 2002.

Tekinşen, K., Uçar, G., Aflatoxin Levels in Butter and Cream Cheese Consumed in Turkey, Food Control, 19: 27-30, 2008.

Trucksess M.V. and Page S.V., , Examination of Imported Cheese for Aflatoxin M_1, Journal of Food Protection 49, 632–633, 1986.

Tunail, N., Mikrobiyel Enfeksiyonlar ve İntoksikasyonlar, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Sim Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara, 81–202, 2000.

Turner, N.W., Subrahmanyam, S. And Piletsky, S.A. Analytical Methods for Determination of Mycotoxins: A Review , Analytica Chimica Acta, 632 (2): 168-180, 2009.

Uylaşer, V., Başoğlu, F., Gıda zehirlenmelerinde etkin olan mikroorganizmalar, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 9: 261-273, 1992.

Uylaşer, V., Karaman, B., Kazancı, Y.T., Mikotoksinler ve İnsan Sağlığına Etkileri, Hasad, 21(244): 43-48, 2005.

Ünlütürk, A., Turantaş, F., Gıda Mikrobiyolojisi, Ege Üniversitesi Yayınları,1.Baskı, İzmir, 1998.

Veldman, A., Meijs, J. A. C., Borggreve, G. J., Heeres-van der Tol, J. J., Carry-over of Aflatoxin B1 from Cow's Food to Milk, Animal Production, 55, 163-168, 1992.

Vural, N., Besin Analizleri. Yayın no: 69: 137, 1992.

Vurgeç, E., Gıdalarda Aflatoksin Zehirlenmesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Lisans Semineri Eğirdir (Yayınlanmamıştır), 1988.

Wiseman, D.W., Marth, E.H., Behaviour of aflatoxin M1 during manufacture and storage of queso Blanco and Bakers' cheese. J. Food Prot., 46 (10), 910-913, 1983.

Yaroğlu, T., Oruc, HH., Tayar, M. Aflatoxin M1 Levels in Cheese Samples from Some Provinces of Turkey, Food Control, 16, 883-885, 2005.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Çıldır'da doğdum. 2001 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandım ve 2007 yılında aynı fakülteden mezun oldum. 2009 yılının şubat ayında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine hak kazandım . 2010 ağustos ayında Hasankeyf Gıda, Tarım ve Hayvancılık İlçe Müdürlüğüne veteriner hekim olarak atandım. Halen aynı ilçede görevime devam etmekteyim.