

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

**SÜT BAZLI İNFANT FORMÜLLERİNDE AFLATOKSİN M1
DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ**

MUSTAFA TALHA OK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-18026 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Mustafa Talha OK tarafından hazırlanan “Süt Bazlı İnfant Formülalarında Aflatoksin M1 Düzeyinin Belirlenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 27/11/2019

Üye : Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY
(Tez Danışmanı)

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Filiz KÖK

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Murat METLİ

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi



ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim sürecinde; her zaman ve her konuda desteği ile hep yanımda olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ergün Ömer GÖKSOY'a, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyeleri, Prof. Dr. Filiz KÖK'e, Dr. Öğr. Üyesi Devrim BEYAZ'a ve Dr. Öğr. Üyesi Sadık BÜYÜKYÖRÜK'e, yardımlarını esirgemeyen, Arş. Gör. Dr. Pelin KOÇAK KIZANLIK'a ve Arş. Gör. Dr. Cemil ŞAHİNER'e, lisans eğitim hayatıma ilk başladığım andan beri her zaman yol gösteren kıymetli hocalarım Doç. Dr. Ayşe Demet KARAMAN'a ve Dr. Öğr. Üyesi Filiz YILDIZ-AKGÜL'e,

Hayatım boyunca layık olmaya çalıştığım Annem ve Babama, her anımda yanımda olan kardeşim Gıda Müh. Hasan Basri OK'a, nişanlım Dr. Tutku DEMİR'e

Sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Mikotoksinler	3
2.2. Toksin Bağlayıcılar	4
2.3. Aflatoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Yöntemlerle Detoksifikasyonu	6
2.4. Aflatoksinler	7
2.5. Aflatoksinler İçin Belirlenen Yasal Değerler	11
2.6. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1	13
2.7. Aflatoksin M1'in İnsan Sağlığına Etkisi	17
2.8. Mikotoksinleri Gıdalarda Belirleme Yöntemleri	17
2.8.1. Kültürel Yöntemler	17
2.8.1.1. Mavi floresan yöntemi	18
2.8.1.2. Sarı pigment belirleme	18
2.8.1.3. Amonyum hidroksit buharı ile muamele etme işlemi	19
2.8.2. Analitik Yöntemler	19
2.8.2.1. Örnekleme	20
2.8.2.2. Ekstraksiyon ve ekstrenin temizlenmesi	20
2.8.2.3. İnce tabaka kromatografi (İTK).....	21
2.8.2.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC).....	21
2.8.2.5. Gaz kromatografi (GC)	21
2.8.2.6. Kapilarelektroforez (CE)	22

2.8.2.7. Enzim bağlanmış immunoabsorbant yöntemi (ELISA)	22
2.8.3. Diğer Analiz Yöntemleri	22
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Gereç.....	23
3.2. Yöntem	23
3.2.1. Aflatoksin M1'in HPLC Cihazında Belirlenmesi	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA.....	27
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	31
KAYNAKLAR.....	32
EKLER	45
ÖZGEÇMİŞ.....	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Ca(OH)₂	: Kalsiyum Hidroksit
CCA	: Coconut Agar
CE	: Kapiler Elektroforez (Capillary Electrophoresis)
cm	: Santimetre
ELISA	: Enzim Bağlanmış İmmunoabsorbant Yöntemi (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
GC	: Gaz Kromatografi (Gas Chromatography)
GCMS	:Gaz Kromatografi-Katı Kromatografi (Gas Chromatography–Mass Spectrometry)
GLC	: Gaz-Sıvı Kromatografi (Gas Liquid Chromatography)
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit (Hydrogen Peroxide)
HPLC	:Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi (High Performance Liquid Chromatography)
HSCAS	: Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate
İAK	: İmmuno Aktif Kolon
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
kg	: Kilogram
mg	: Mikrogram
MS	: Kütle Spektrometre (Mass Chromatography)
NaOH	: Sodyum Hidroksit
ng	: Nano Gram
PVP	: Poli Vinil Prolidon
rpm	: Dönüş-Devir Hızı (Revolutions Per Minute)
SPE	: Katı-Faz Ekstraksiyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Aflatoksinlerin kimyasal yapısı	9
Şekil 2. Aflatoksin M1'in kimyasal yapısı.....	13
Şekil 3. Aflatoksin M1 standardı kalibrasyon eğrisi	26

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Sarı pigment belirleme yöntemi.....	19
Resim 2. İncelenen infant formülalardan elde edilen kromatogram sonuçları	25

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği	12
Tablo 2. Süt ve süt ürünlerinde AFM1'in maksimum limitleri	16
Tablo 3. Bebek Maması örneklerine (0,025 ppb aflatoksin M1 içeren) ilave edilen 0,01 ppb Aflatoksin M1 geri kazanım oranları	26

ÖZET

SÜT BAZLI İNFANT FORMÜLLERİNDE AFLATOKSİN M1 DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

Ok M. T. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi (Veteriner) Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2019.

Bu çalışma Türkiye piyasasında tüketime sunulan süt bazlı infant formüllerinde bebek sağlığı üzerine ciddi toksikolojik etkisi olabilen mikotoksin çeşitlerinden birisi olan Aflatoksin M1 (AFM1)'in varlığı ve düzeyinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, materyal olarak 30 adet süt bazlı infant formülü incelenmiştir. Süt bazlı infant formüle örnekleri uygun taşıma koşullarıyla laboratuvara getirilmiş ve Aflatoksin M1 düzeyini belirlemek amacıyla yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen AFM1 düzeylerinin uygunluğu Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde bebek formülleri için belirtilen AFM1 limit değerleriyle karşılaştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda infant formüllerinde örneklerinde Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen 0,025 µg/kg sınır değerini geçen bir örneğe rastlanılmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Aflatoksin M1, HPLC, infant formülü.

ABSTRACT

DETERMINATION OF AFLATOXIN M1 LEVEL IN MILK BASED INFANT FORMULAS

Ok M. T. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Food Hygiene and Technology (Veterinary) Programme Master Thesis, Aydın, 2019.

This study was conducted to determine Aflatoxin M1 (AFM1) levels in infant formulas sold in Turkey. AFM1 in infant formulas might have very serious toxicological effects on infant health. A total of 30 milk-based infant formulas were collected from the supermarkets and brought to the laboratory under appropriate conditions of transportation and high performance liquid chromatography (HPLC) method was used to determine AFM1 level in the samples. The level of AFM1 levels obtained was compared with AFM1 limit values specified for infant formulas in Turkish Food Codex Contaminants Regulation. As a result of this research, none of the samples analysed exceeded the limit value of 0.025 µg/kg specified in Turkish Food Codex Contaminants Regulation for infant formulas.

Key words; Aflatoxin M1, HPLC, infant formula.

1. GİRİŞ

Mikotoksinler, küflerin gelişimi sırasında ortaya çıkan ve normal metabolizmaları için önemli olmayan ikincil metabolik ürünler olup (IARC, 2002), insan ve hayvanların besin zincirine direkt veya indirekt yolla bulaşmaktadır. Direkt kontaminasyon gıda ve yemlerin toksijenik küflerle kontamine olması sonucunda meydana gelirken, indirekt kontaminasyon üretimin herhangi bir aşamasında toksinli materyalin prosese girmesi sonucunda şekillenebilmektedir (Smith, 2001). Mikotoksinlerin insan ve hayvanlarda oluşturduğu bozukluklar; kanserojenik, mutajenik, teratojenik ve östrojenik olarak sıralanabilir. Bununla birlikte, immun sistemde üzerine baskılayıcı özelliğe de sahip olan mikotoksinlerin halk sağlığı açısından önemleri daha da artmaktadır (IARC, 2002). Kontamine gıdaların ve yemlerin kullanılması sonucu insan ve hayvanlarda şekillenen hastalık ve zehirlenmeler bir taraftan büyük işgücü kaybına sebep olurken diğer taraftan da ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Mikotoksinler, günümüzde gıda ve yemlerdeki en önemli bulaşanlardan biri olarak kabul edilmektedir (WEB_1). Toprak, hava, su gibi doğal ortamdaki kaynaklar ile depolama ve taşıma işlemi gerçekleştirilirken yem ham maddeleri ve işlenmiş yem ürünlerine bulaşan küfler, ürünün kalitesinde zararlara yol açarken, ikincil metabolizma ürünleriyle insanlarda ve hayvanlarda sağlık risklerine neden olabilmektedir. Bu nedenle yem hammaddelerinde ve yemlerdeki mikotoksin düzeyleri, gıda güvenliği zincirinin önemli bir unsuru olarak ortaya çıkmaktadır. Sağlık açısından bazı önemli mikotoksinler; aflatoksinler (B1, B2, G1, G2, M1, M2), okratoksin-A, deoksinivalenol (vomitoksin), zearalenon, fumonisinler ile birlikte T2 toksin olarak sayılabilir (Whitlow ve Halger, 2005; Reyneri, 2006).

Aflatoksinler (AF) gıdaları, tarladan başlayıp sofraya kadar hemen her aşamada, örneğin ürünün gelişme, hasat, sevk aşamasında, uygun olmayan depolama şartları, üretim sırasındaki koşulları ve raf ömrü esnasında kontamine edebilmektedir. İnsanların aflatoksinlere maruz kalma şekilleri, direk, mesleki neden ya da bulaşık gıdalarla olabilmektedir (Girgin ve ark, 2001). Bu gıdaların başında da hayvansal ürünler; et, süt ve yumurta gelmektedir.

Bilindiği gibi süt ve süt ürünleri insan beslenmesinde önemlidir ve günlük tüketilmektedir. Dolayısıyla süt ürünlerinin AFM1 ile bulaşma olması ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Süt ve süt ürünlerinin genellikle küçük çocukların ve gelişme

dönemindeki çocukların yüksek miktarda tükettiği göz önüne alındığında tehlikenin boyutları daha belirgin olarak görülmektedir. Bu sebeple pek çok ülkede hayvan beslemede kullanılan yemlerde kabul edilebilir AFB1 miktarı ile süt ve süt ürünlerinde bulunabilecek maksimum AFM1 miktarları yasalar ile güvence altına alınmıştır (Kabak ve Var, 2004).

Ülkemizde süt ürünlerinde aflatoksin oluşumuna ilişkin pek çok çalışma yapılmıştır (Karagözlü ve Karagözlü, 2000; Kamber, 2005; Yaroğlu ve ark, 2005; Tekinşen ve Uçar, 2008; Kabak ve Özbey, 2012; Gölge, 2014). Bu çalışmalar incelendiğinde maalesef süt ve süt ürünlerinin AFM1 içeriğinin hiç de iç açıcı olmadığı gözlenmektedir. Yapılan literatür araştırmalarında süt ve süt ürünlerinde aflatoksinlerle ilgili olarak yapılmış pek çok çalışmanın yanında bebek beslenmesinde kullanılan bebek sütü ve devam sütü mamalarında yapılmış çalışmalar daha sınırlı sayıda da olsa bulunmaktadır.

Bu sebeple gerçekleştirilen bu tez çalışmasında Türkiye’de satışa sunulan süt bazlı bebek formüllerinde (infant formüla) AFM1 düzeylerinin Türk Gıda Kodeksi sınır değerlerine uyup uymadığının araştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikotoksinler

Yunanca fungus “Mykis” anlamını ve Latince’de zehir “Toxikon” anlamını karşılayan mikotoksinler, küflerin ikincil metabolitleridir ve iz miktarda (ppm ve ppb seviyelerinde) oluşum gösterirler. Küçük dozları bile insanlarda olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Gıda maddelerinde toksin oluşturduktan sonra tamamen yok olan küf mantarlarının meydana getirdiği toksin, tüketilen o gıda maddelerinde insanlar için toksik etki oluşturmaktadır (Charles ve Hurburg, 1995).

Mikotoksinlerin sebep olduğu zehirlenmelere ve hastalıklara “mikotoksikoz” denilmektedir. Orta çağda Kuzey Avrupa’da *Claviceps purpurea*’nın oluşturduğu ergotalkaloidleri ile enfekte olmuş tahılların tüketilmesi sonucu görülen ve binlerce insanın ölümüne neden olan ergotizm bilinen en eski mikotoksikozdur. Ergotizm dokularda gangrene sebep olmaktadır (Coker, 1984; Smith, 2001; Uylaşer ve ark, 2005; Richard, 2007).

Dünya çapında insan sağlığı ve gıda güvenliği açısından büyük tehdit oluşturan mikotoksinler Türkiye’de de ciddi sorunlara yol açmaktadır. Özellikle de kökeni ve işlenmişliği açısından yüksek oranda fungus barındırabilecek tipteki gıdalar mikotoksin içerikleri açısından bir risk faktörü oluşturmaktadır. Oldukça iyi tanımlanmış yaygın mikotoksijenik funguslar olan *Aspergillus*, *Penicillium* ile *Fusarium* türlerine ait sadece gıda tüketimi ile değil, hasat ve gıda işleme sürecinde kontaminasyona neden olduklarından dolayı alerjik ve toksijenik reaksiyonlara da sebep olabilmektedir (Gürbay ve ark, 2006).

Binder (2007) Avrupa’da önemli hayvan üretim bölgelerinde yemlerde ve yem ham maddelerinde 2 yıl süreyle yapmış olduğu mikotoksin taramasında test edilen örneklerin %52’sinde elde edilen değerlerin oldukça yüksek olduğunu bildirmektedir. Hayvanlar metabolizmalarıyla toksinleri üre ve dışkıyla vücutlarından atabilmelerine rağmen, toksinler tavuklarda yumurtaya, memelilerde ise süte geçebilirler. Yumurtadaki mikotoksin kalıntısı ile ilgili olarak 10,000 µg/kg konsantrasyonda yem ile beslenen tavukların yumurtalarında ancak 0,3 µg/kg düzeyinde aflatoksin kalıntısı bulunduğu bildirilmektedir (EFSA, 2009).

2.2. Toksin Bağlayıcılar

Kontamine olmuş yemlerin yapısındaki mikotoksinlerin etkilerini ortadan kaldırmak oldukça zor olmakla birlikte son yıllarda rasyon toksinlerin olumsuz etkenlerini yok etmek ya da minimuma çekmek için toksin bağlayıcılara başvurulmaktadır. Bu amaçla kullanılan toksin bağlayıcılar rasyona katıldığında rasyon bileşiminde bulunan mikotoksinleri tutarak vücut tarafından alınmasını belirli bir ölçüde engellemektedirler. Dolayısıyla, vücuda alınmayan toksinlerin hayvana vereceği zarar önemli ölçüde ortadan kaldırılmış olmaktadır. Toksin bağlayıcıların besi performansına olumlu etkisi, yemdeki toksin miktarının artmasına bağlı olarak değişmektedir. Birçok toksin bağlayıcı mineral killerdir. Bunlar aflatoksinin bağırsaktan emilimini engellerler. Toksin bağlayıcıların doğru seçimi ve uygun kullanımı çok önem arz etmektedir (Yalçın ve ark, 2019).

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

İnsan ve hayvan sağlığına zarar veren, hayvansal üretimi olumsuz yönde etkileyerek önemli ekonomik kayıplara neden olan mikotoksinlerin detoksifiye edilmeleri yönünde değişik yöntemler denenmiştir. Bu bağlamda fiziksel yöntemler üzerinde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak bunların uygulanması sırasında gerek pahalı oluşu, gerekse yemlerin bileşenlerindeki besin maddelerinin olumsuz yönde etkilenişi nedeniyle bu tür yöntemlerin pratiğe aktarılmasını olumsuz yönde etkilemiştir (Kessel ve Hiang-Chek, 2004).

Gıdalarda kullanılan detoksifikasyon yöntemleri, şu temel özellikleri taşımalıdır:

- 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 (Bata ve Lasztity, 1999).

Mikotoksinler ile kontamine olmuş gıdaların ve yemlerin detoksifikasyonu için birçok fiziksel ve kimyasal yöntem önerilmiştir. Bu konuda çalışan çeşitli araştırmacılar, mikotoksinlerin, gıdaların besin değerinde ve lezzetinde kayıplar oluşturmadan, zararlı kimyasallar kullanılmaksızın, uygun koşullar altında detoksifikasyonunun, ancak seçilmiş mikroorganizmaların kullanılmasıyla mümkün olacağı fikrini savunmaktadırlar (Bata ve

Lasztity, 1999). Bu fikir paralelinde 1966 yılından bu yana mikotoksinlerin özellikle de aflatoksinlerin mikroorganizmalarla detoksifikasyonu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Smiley ve Draughon, 2000).

Dünya pazarında mevcut olan bazı toksin bağlayıcılar arasında sodyum kalsiyum alümina silikatlar, inorganik orjinal mineral kaynakları, maya hücre duvarı, aktive edilmiş odun kömürü, alfalfa, kolestiramin (cholestyramine), kaolen, mannan ve glikomannan, sodyum bentonit, polivinilpirolidon (PVP) sayılabilir (Magan ve Olsen, 2004). Bazı toksin bağlayıcıların mikotoksinleri bağlama özelliğine sahip oldukları ilk olarak 1980'li yıllarda in-vitro ortamda tespit edilmiştir (Phillips ve ark, 1988). Hydrated Sodium Calcium Aluminosilicate'ın (HSCAS) AFB1 için yüksek bağlayıcı özellikte olduğunu göstermişlerdir (Huwig ve ark, 2001).

HSCAS; sodyum, kalsiyum, alüminyum ve silika gibi mineral maddeleri içeren bir toksin bağlayıcıdır. Rat, tavuk, hindi, domuz, koyun, keçi ve sığırlarda yemde yapılan araştırmalar, HSCAS'nin aflatoksinlerin oluşturduğu zararlı etkileri önemli düzeyde engellediğini, aflatoksinlerin biyodönüşümünü azalttığını ve AFB1'in süte geçişini engelleyerek sütlerdeki AFM1 miktarını düşürdüğünü göstermiştir (Magan ve Olsen, 2004).

Killerin aflatoksinlerden başka diğer mikotoksinleri bağlamada yetersiz kalmaları, modifiye maya (*Saccharomyces cerevisiae*) hücre duvarından yapılmış doğal bir bağlayıcıyı ortaya çıkarmıştır (Dawson ve ark, 2001). Mikotoksinleri bağlayan ve biyoaktivitelerini azaltan bağlayıcılar mikotoksinlerin sebep olduğu toksikozisin etkisini azaltmak için kullanılmaktadır.

Yüksek bağlama ve tutma kapasitesine sahip olan maya hücre duvarı ekstraktı yemlerde doğal olarak meydana gelen mikotoksinlerin kontrolüne yardımcı olmak amacıyla kullanılmaktadır (Dawson ve ark, 2001). Maya hücre duvarı ekstraktı aflatoksinler, deoksinivalenol ve zearalenon gibi mikotoksinler için güçlü bağlayıcı etkiye sahiptir. Geniş bir pH aralığında aflatoksinleri %58-75 oranında bağlayabilmektedir (Jouany, 2001). Maya hücre duvarından elde edilen organik maddelerin kullanımı, diyetle alınan mikotoksinlerin sindirim sisteminde tutulmasını sağlamakta ve hayvanlarda mikotoksinlerin zararlı etkilerini azaltmaktadır (Yiannikouris ve ark, 2003).

2.3. Aflatoksinlerin Fiziksel ve Kimyasal Yöntemlerle Detoksifikasyonu

Günümüzde aflatoksinlerin zararlı etkilerinin önlenmesinde toksin bağlayıcı maddelerin yemlerde kullanımı en sık uygulanan yöntemdir. Bu şekilde aflatoksinlerin sindirim sisteminde emilimi önlenebilmekte, kana geçişi ve hedef organda birikmesi engellenebilmekte ve olumsuz bir etki meydana gelmeden aflatoksinler vücuttan atılabilmektedir (Davidson ve ark, 1987). Bununla birlikte her toksin bağlayıcı aynı düzeyde etkili olmamaktadır. Bazı mikotoksin bağlayıcıları besin maddelerinden yararlanmada azalmalara neden olabilmektedir (Scheideler, 1993).

Çeşitli adsorbant maddeler aflatoksinleri bağlama kabiliyetine sahiptir ve sulu çözeltilerden uzaklaştırılmalarına olanak sağlamaktadır. Bu maddeler içerisinde en yaygın olarak kullanılanlar bentonit ve aktif kömürdür. Bu yolla toksin %94-100 arasında solüsyondan uzaklaştırılabilmekte ve diğer metotlara göre daha avantajlı olduğu kabul edilmektedir. Çünkü bu metot toksini parçalama yerine bağlamaktadır (Bakırcı, 2001). Adsorbe etme özelliği olan diğer maddeler üzerinde yapılan araştırmalar HSCAS'ın aflatoksini yüksek oranda bağladığını ve toksik etkisini önemli düzeyde azalttığını ortaya koymuştur. Yapılan bir çalışmada, in vitro koşullarda, HSCAS, sulu çözeltilerdeki aflatoksin B1'in %80'inden fazlasını adsorbe ettiği belirlenmiştir (Ellis ve ark, 1991; Meerdink, 2002).

Aflatoksinler termostabil yani sıcaklık uygulamasına dayanıklıdır. Bu nedenle besinlerin üretimi ve hazırlanması sırasında sıcaklık uygulamasıyla etkisizleştirilmeleri oldukça zordur (Evren, 1999). Yüksek sıcaklık uygulaması, özellikle evlerde uygulanan pişirme işlemlerindeki (kavurma, haşlama) sıcaklık dereceleri sitrinin gibi bazı mikotoksinlerin parçalanmasına yol açarken aflatoksinler üzerine fazla etkili olmamaktadır. Aflatoksinin kısmi parçalanması için gerekli sıcaklık derecesinin 150°C'nin üzerinde olması (237-306°C) gerektiği, ısı ile mikotoksinlerin parçalanmasında ürünün nemi ve uygulama süresinin de etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca su, aflatoksin B1'in lakton halkasının açılarak karboksilik asit oluşumuna yol açarken; iyonik tuzlar gibi bazı maddelerin varlığı aflatoksinlerin parçalanma süresinin uzamasına yol açmaktadır (Heperkan ve ark, 2003).

Aflatoksinler UV ışınlarına hassas olup, işlem süresine bağlı olarak toksin miktarında azalma meydana gelmektedir. İşlem sonrasında meydana gelen ürünlerin ise daha az toksik olduğu bildirilmektedir (Heperkan ve ark, 2003). Sütteki AFM1'in, UV enerjisiyle muamele edilme süresine, kullanılan süt miktarına ve H₂O₂ (%1) gibi oksitleyicilerin kullanılmasına bağlı olarak %3,6-100 oranında parçalandığı saptanmıştır (Bakırcı, 2001). Aflatoksin B1 ve

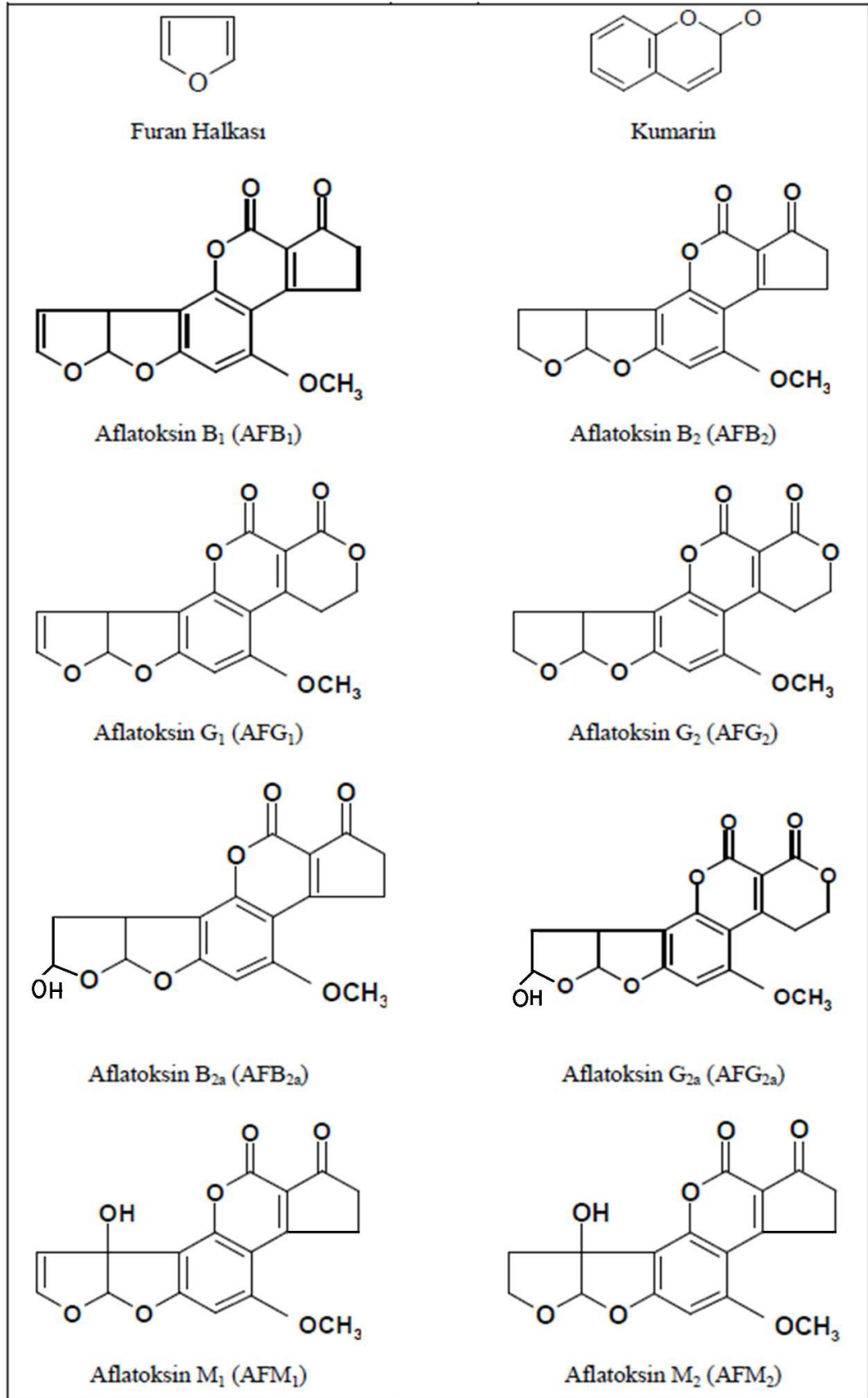
AFM1'in UV ışınlatma sonrasında 12 yeni parçalanma ürünü meydana geldiği ve bunların bazılarının tavuk embriyolarına toksik etki gösterdikleri bildirilmiştir (Samarajeewa ve ark, 1990). Ayrıca 8 saat UV ışığı ile muamele edilmiş aflatoksinli yer fıstığı unları ördeklere yedirildiğinde, ördeklerde karaciğer lezyonları görüldüğü bildirilmiştir (Ellis ve ark, 1991).

Aflatoksinlerin detoksifikasyonunda kullanılabilecek birçok kimyasal madde üzerinde çalışılmıştır. Bunlar, asitler, alkaliler, oksitleyici ajanlar, aldehitler, gazlar ve bisüfitlerdir (Ellis ve ark, 1991). Kuvvetli asitler aflatoksinleri etkili biçimde parçalamalarına karşın çok kuvvetli olduklarından ürünün özelliklerini değiştirmektedirler. Ayrıca asitler aflatoksin B2 ve G2 üzerinde pek de etkili değildirler. Birçok araştırma inorganik veya organik bazların kullanımının aflatoksinlerin detoksifikasyonu için nispeten daha ucuz ve daha etkili yöntemler olduğunu ortaya koymuştur (Ellis ve ark, 1991). Bu nedenle sodyum hidroksit (NaOH) rafine yağlarda, kalsiyum hidroksit ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) de yer fıstığı ve pamuk tohumu unlarındaki aflatoksin düzeyini azaltmak için kullanılmaktadırlar. Formaldehit de yer fıstığı unundaki aflatoksini azaltmaktadır. Amonyak kullanımı hayvan yemlerindeki aflatoksinin uzaklaştırılmasında en etkili ve ekonomik yöntem olarak görülmektedir. Kuru gaz olarak, yüksek sıcaklıklarda ve basınçta kullanıldığında yer fıstığı unundaki toplam aflatoksin konsantrasyonunda %95-98 oranında azalma sağladığı bildirilmiştir (Ellis ve ark, 1991). Bu yemlerle beslenen ineklerin sütlerinin nispeten daha düşük düzeyde AFM1 içerdiği, etlerinin ise az miktarda veya hiç aflatoksin B1 içermediği belirlenmiştir. Amonyaklama işlemi Amerika Birleşik Devletleri'nin bazı eyaletlerinde, Fransa, Senegal ve Sudan'da yasaların öngördüğü şekilde endüstriyel ve ticari boyutta kullanılmaktadır (Samarajeewa ve ark, 1990). Bu uygulama AFB1'in lakton halkasını hidrolize ederek AFB1'in daha az toksik bileşiklere dönüşmesini sağlamaktadır (Meerdink, 2002). Ancak, amonyakla muamele edilmiş hayvan yemlerinin protein kalitesinde azalma, lizin ve metiyonin içeriğinde önemli düşüş olması, dolayısıyla besin değerinde kayıplar meydana gelmesi, ayrıca hidrolizasyon sonucu toksik kalıntıların ortaya çıkması amonyaklama işleminin kabul edilebilirliğini azaltmaktadır (Samarajeewa ve ark, 1990).

2.4. Aflatoksinler

Mikotoksinler içerisinde aflatoksinler yalnızca bir grubu oluşturmaktadırlar ve *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Alternaria* ile *Claviseps* türlerine ait mantarlar üremesine yol açar. Tanımlanan üç yüzden fazla mikotoksin bulunmasına rağmen bunlardan yaklaşık 30'unun toksik özellikler taşıdığı belirlenmiştir (Kaya, 2011; Şahin ve Şehu, 2015).

Aflatoksinler furan ve pıranon halkalarından meydana gelmiş dihidrofuran türevi büyük molekülü kimyasal bileşiklerdir. Başlangıçta sadece aflatoksinin B1, B2, G1, G2, M1, M2 tipleri tespit edilmiştir. Kültür filtratlarında en çok B1 ve G1 görölmektedir. M tipleri B1 ve B2'nin sütteki hidroksil formlarıdır. Sonraki araştırmalarda B2 ve G2'nin hidroksi derivatları olan B2a ve G2a da belirlenmiştir (Kurtzman ve ark, 1987; Gourama ve Bullerman, 1995; Evren, 1999; Uylaşer ve ark, 2005). Aflatoksinlerin kimyasal yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Aflatoksinlerin kimyasal yapısı (Tabata, 2002)

İnsanların, aflatoksin bulaşmış incir, zeytin, fıstık, fındık, süt ürünleri, toz biber ve birçok gıdaları tüketmesi ölüm vakaları ile sonuçlanan durumlara neden olabilmektedir. Bununla birlikte aflatoksin bulunma durum ve etkileri, iklimsel, bölgesel ve tutundukları gıda çeşidine göre değişiklik göstermektedir. Aflatoksinlerin insan sağlığına vermiş oldukları olumsuz etkileri ve neden oldukları ekonomik kayıplar değerlendirildiğinde kontrol edilebilirliğinin son derece önemli olduğu görülmektedir (Yentür ve Er, 2012).

Canlılarda mikotoksinlerin neden olduğu toksisite sendromu mikotoksikozis, aflatoksinlerin neden olduğu mikotoksikozis ise aflatoksikozis olarak tanımlanmaktadır (Bhatnagar ve Garcia, 2001). Aflatoksikozis birincil ve ikincil formlarda bulunmaktadır. Birincil, primer, formu da akut ve kronik olmak üzere iki farklı şekilde varlık göstermektedir. Akut primer aflatoksikozis, orta ya da yüksek miktarda alınması durumunda canlının ölümüne neden olmaktadır. Bu durumda ortaya çıkan semptomların başında, nefritis, hemoraji, karaciğerde yağlanma, karaciğer enzimlerinde artış, renk bozulmaları, solgunluk, serum proteinlerinde azalma ve gastrointestinal sisteminde kanamalar meydana gelmektedir. Akut aflatoksikozis vakalarının en şiddetlileri, tropikal, gelir düzeyinin düşük ve gıda tüketimlerinin mısır ve pirinç ağırlıklı olduğu ülkelerde görülmektedir. Tayvan'da 1967 yılında 200 ppb aflatoksin B1 içeren pirinç nedeniyle toplam 26 köylü zehirlenmiş, bu olay 3 çocuk ölümü ile sonuçlanmıştır (Pitt ve Hocking, 1997).

Kronik aflatoksikozis ise düşük ve orta seviyede alınan aflatoksine uzun zaman maruz kalan canlılarda görülmektedir. Kronik aflatoksikozis semptomlarının başında, karaciğer ve safra kesesi epitelyum hücrelerinde proliferasyon, karaciğerde ve nekrotik bölgelerinde kanama ve tıkanıklık, fertilitede düşüş, akut gastrointestinal etki ve böbrek kanamaları şeklindedir (Peraica ve ark, 1999).

İkincil, sekonder, aflatoksikozis de ise canlıda düşük seviyede aflatoksin alımı sonucunda bağışıklık hücrelerinin azalması ve bağışıklığın sınırlandırılması şekillenmekte ve sonuçta bakteri, virüs ve küfler tarafından ikincil enfeksiyonlar meydana gelmektedir (Desphande, 2002).

2.5. Aflatoksinler İçin Belirlenen Yasal Değerler

Mikotoksinlerin ürünlere bulaşması, küflerin hasattan önce kontaminasyonuna bağlı olduğu için kaçınılmazdır. Mikotoksinin gıdalardaki oranı ise seneden seneye ve çevresel etkenlere göre değişim göstermektedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı tüm dünyada tarımsal ürünlerin %25'inin önemli boyutta mikotoksinlerle kontaminasyona uğradığını duyurmuştur (FAO, 1995). Mikotoksin ile kontamine gıdaların piyasadan çekilmesi, üretiminin durdurulması veya alınan ülkeye geri verilmesi ekonomik açıdan ciddi kayıp nedeni olabilmektedir (Heperkan, 2003). FAO (1995) dünya genelinde her yıl tarım ürünlerinin %25'inde tamamen ya da kısmi olarak küflenme sonucu kaybedildiğini bildirerek; bu durumun sağlık ve ekonomik açıdan ciddi sorunlara yol açtığını belirtmektedir. Örneğin Amerika Birleşik Devletleri (ABD) için yıllık kaybın yaklaşık 0,5-1,5 milyar dolar seviyelerinde olduğunu tespit edilmiştir (Schmale ve ark, 2017). Türkiye'de mikotoksin problemi ilk kez 1967 yılında Kanada'ya ihracatı gerçekleşen 10 ton iç fıstığın ve ikinci defa da 1971 yılında ABD'ye ihracı yapılmış olan 45 parti Antep fıstığının 36 ürün partisinde aflatoksin ihtiva etmesi gerekçesiyle kabul edilmemeleri ile belirlenmiştir. Bu yıllardan itibaren Antep fıstığı ve diğer ihraç edilen ürünlerde aflatoksin analizleri yapılmaya başlanmıştır. Danimarka'ya 1972 yılı sonunda ihraç edilen kuru incirlerde de 938 µg/kg gibi yüksek miktarda aflatoksin bulunduğu bildirilmiştir (Özçelik ve Sağdıç, 2003). Türkiye'den Almanya'ya 1994 yılında ihracı gerçekleşen kırmızı pul biberin yasal sınırların üzerinde aflatoksin ihtiva etmesi gerekçesiyle iade edilmesi, 1994'de 2522 ton olarak gerçekleşen kırmızı pul biber ihracatının 1996 yılında 527 tona seviyelerine gerilemesine sebep olmuştur. Bu kaybın maddi karşılığı 2.126,000 dolar olmuştur (Heperkan, 2003).

Başta ABD ve Avrupa ülkeleri olmak üzere birçok ülkede, gıdalarda bulunabilecek mikotoksin özellikle de aflatoksin miktarları için kısıtlamalar mevcuttur. Türkiye'de gıdalarda bulunabilen belirli bulaşanların maksimum limitleri, TGK Bulaşanlar Yönetmeliği (2011) hükümleri ile düzenlenmektedir (Tablo 1). Bu Yönetmelik ile belirlenen maksimum limitler ülkemiz tarafından üretilen ve ihraç edilen bazı ürünler hariç olmak üzere AB'nin 1881/2006 sayılı Komisyon Tüzüğü kararı ile birebir uyumludur (WEB_2). 1881/2006 sayılı Komisyon Tüzüğü kararına göre doğrudan tüketime sunulan gıdalarda aflatoksin limit değerleri belirlenmiş ve 165/2009 sayılı Tüzük kararı kapsamında bu limitlerde bir değişikliğe gidilmemiştir.

Tablo 1. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, (2011).

Gıda ⁽¹⁾	Maksimum Limit (µg/kg=ppb)		
	B ₁	B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	M ₁
2.1.AFLATOKSİN			
2.1.1.Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar ⁽³⁾ (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) — Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar hariç	8,0 ⁽⁶⁾	15,0 ⁽⁶⁾	—
2.1.2.Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12,0 ⁽⁶⁾	15,0 ⁽⁶⁾	—
2.1.3.Fındık ve Brezilya fındığı (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) — Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	8,0 ⁽⁶⁾	15,0 ⁽⁶⁾	—
2.1.4.Sert kabuklu meyveler (Bölüm 2.1.2 ve 2.1.3’de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8,0 ⁽⁶⁾	15,0 ⁽⁶⁾	—
2.1.5.Yerfıstığı, diğer yağlı tohumlar ⁽⁵⁾ ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) — Rafine edilecek bitkisel ham yağ ve rafine bitkisel yağ hariç	5,0 ⁽⁶⁾	10,0 ⁽⁶⁾	—
2.1.6.Badem, Antepfıstığı ve kayısı çekirdeği ⁽⁷⁾ (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0 ⁽⁶⁾	10,0 ⁽⁶⁾	—
2.1.7.Fındık ve Brezilya fındığı ⁽⁷⁾ (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındıklar hariç	5,0 ⁽⁶⁾	10,0 ⁽⁶⁾	—
2.1.8.Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 2.1.6 ve 2.1.7’de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	5,0 ⁽⁶⁾	10,0 ⁽⁶⁾	—
2.1.9.Kurutulmuş meyveler (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0	10,0	—
2.1.10.Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 2.1.11, 2.1.14 ve 2.1.16’de belirtilenler hariç)	2,0	4,0	—
2.1.11.Mısır ve pirinç (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,0	10,0	—
2.1.12.Çiğ süt ⁽⁸⁾ , ısıtılmış süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	—	—	0,05
2.1.13.Baharatın aşağıdaki türleri için; Kırmızıbiber (Capsicum spp.) (bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dahil), Karabiber (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil), Hintcevizi/Muskat (Myristica fragrans), Zencefil (Zingiber officinale) Zerdeçal (Curcuma longa), Bunların bir veya birkaçını içeren karışım baharat	5,0	10,0	—
2.1.14.Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ⁽³⁾ , ⁽⁹⁾	0,10	—	—
2.1.15.Bebek formülleri ve devam formülleri ⁽⁴⁾ , ⁽¹⁰⁾ (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	—	—	0,025
2.1.16.Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdaları ⁽¹¹⁾ , ⁽¹²⁾	0,10	—	0,025

*Numaralandırmaların açıklamaları Ek 1’de verilmiştir.

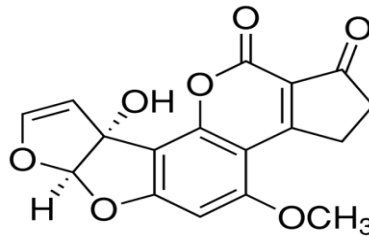
2.6. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1

Süt ve süt ürünlerinde AFM1 genellikle iyi koşullarda depolanmamış, bozuk ve küflü yemlerin hayvanlara yedirilmesi ile bulaşmaktadır. Küflü yemlerde AFB1 olan mikotoksin hayvan vücudunda AFM1'e dönüşmekte ve sütün sentezlenmesi sırasında süte geçmektedir. Sütte bulunan AFM1 ise teknolojik işlemlerden (pastörizasyon, homojenizasyon vb.) çok fazla etkilenmediği içinde süt ürünlerine geçebilmektedir.

AFB1'in, sütte M1'e dönüşümünün %0,8-2,2 oranında olduğu belirtilmektedir. Süte geçme oranının %6'ya kadar ulaşabildiğini ileri süren çalışmalar da mevcuttur (Özkaya ve ark, 2003). Veldman ve ark (1992), süt verimi yüksek olan ineklerin fazla miktarda konsantre yem tüketmeleri durumunda bu oranın %6,2'ye çıktığını rapor etmişlerdir. Concon (1988), McKinney ve ark (1973) ve Polan ve ark (1974)'e atfen, kilogramında 250 µg AFB1 içeren kuru yem tüketildiği zaman sütün litresinde 1µg AFM1 meydana geldiğini bildirmektedir.

Sütteki AFM1 kontaminasyonuna mevsimin etkisi birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir (Madalı ve Ayaz, 2017). Buna göre kış mevsiminde yaz mevsimine kıyasla sütlerde daha yüksek AFM1 miktarları tespit edilmektedir. International Agency for Research on Cancer (IARC) tarafından 1993 yılında yapılan sınıflamada AFM1 "Muhtemel insan karsinojenleri (2B)" in sınıfında yer almıştır. Süt ve ürünlerinde AFM1 bulunması, bu ürünleri daha çoktüketen 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 AFM1 ile önemli düzeyde kontamine olduklarını ortaya koymuştur (Concon, 1988; Barrios ve ark, 1996; Martins and Martins, 2004).



Şekil 2. Aflatoksin M1'in kimyasal yapısı.

Bakırcı (2001), ince tabaka kromatografisi yöntemi ile Van'da üretilen süt ve süt ürünlerinde AFM1 düzeylerini incelemiş, 90 adet çiğ süt örneğinin %87,77'sinin AFM1 içerdiğini ve bunların %44,3'ünün 0,05ppb'nin üzerinde olduğunu bulmuştur. Akdemir ve Altıntaş (2003), immunoaffinite kolon ile temizlemeyi takiben floresan dedektörlü HPLC

metodu ile Ankara bölgesinde inceledikleri toplam 48 adet çiğ inek sütü örneğinin %72,9'unun AFM1 içerdiğini, bunların %33,3'ünün Türkiye için bildirilen limit değerin üzerinde olduğunu belirlemişlerdir.

Yine aynı yöntemi kullanarak, 30 ilden temin ettikleri toplam 543 çiğ süt örneğinin analiz eden Özkaya ve ark (2003), 18 ilden alınan örneklerde %16,7 ile %100 oranında AFM1 kontaminasyonu olduğunu, bu örneklerin %6,2-58,8'inin limit değeri aştığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, bölgeler arasında AFM1 düzeyleri açısından belirgin farklılıklar olduğunu, ülkemizde üretilen sütlerde bölgesel olarak sorun olduğunu; sorunun olduğu bölgelerde aflatoxin kaynaklarının araştırılması ve önlemlerin alınması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Araştırmacıların bir kısmı AFM1'in yarısının hatta yarısından fazlasının peynir suyuna geçtiğini bildirirken diğer bir kısmı toksinin çoğunun pıhtıda kaldığını bildirmektedirler (Galvano ve ark, 1996; Govaris ve ark, 2001). Peynirin, üretildiği sütteki AFM1 konsantrasyonundan daha yüksek konsantrasyonda AFM1 içermesi, kimyasal yapısı itibariyle suda çözünebilir bir bileşik olan AFM1'in kazeine bağlanması ile açıklanmaktadır. Kazeinin hidrofobik bölgeleri vardır ve AFM1 bu bölgelere bağlanmaktadır (Dosako ve ark, 1980).

Olgunlaşma ve depolama süresince toksinin peynirdeki stabilitesi ile ilgili elde edilen veriler de değişiklik göstermektedir. Cheddar (Brackett ve Marth, 1982), Brick ve Limburger peynirlerinde olgunlaşmanın başlangıcında aflatoxin konsantrasyonunun arttığı daha sonra azaldığı (Brackett ve Marth, 1982), Parmesan peynirinde ise tam tersi şekilde olgunlaşmanın ilk aylarında toksin miktarının azaldığı sonrasında yavaş yavaş arttığı gözlenmiştir (Brackett ve Marth 1982). Yine aynı çalışmada Mozzarella peynirinde 4,5 aylık olgunlaştırma süresi boyunca önemli sayılabilecek düzeyde bir değişim belirlenmemiştir. Araştırmacılara göre, olgunlaşma sürecinde kazeinin proteolizi, sütten AFM1'in geri kazanımını %31 oranında arttırmaktadır (Brackett ve Marth, 1982). Cheddar peynirinin olgunlaşma sürecinde meydana gelen AFM1 konsantrasyonundaki artış da muhtemelen kazeinin kısmi proteolizinden kaynaklanmaktadır (Brackett ve Marth, 1982).

Bakırcı (2001), işlenmek üzere işletme tankında toplanan çiğ süt ile bu sütten üretilmiş pastörize süt, yağsız süt, yoğurt, yayık altı ve peynir altı suyundaki AFM1 miktarları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığını, ancak beyaz peynir ve kaşar peyniri örneklerindeki toksin miktarının çiğ sütün toksin miktarından yüksek olduğunu belirlemiştir. Krema ve tereyağı örneklerinde ise çiğ süttekinden daha düşük düzeyde toksin bulunmuştur.

Tekinşen ve Uçar (2008), Türkiye'nin 5 büyük şehrindeki perakende satış yerlerinden topladıkları 92 adet tereyağı örneğinin tamamında, 100 adet krem peynir örneğinin de

99'unda AFM1 tespit etmişlerdir. Araştırmacılar tereyağı örneklerinin %28'inin, krem peynir örneklerinin de %18'inin limit değerin üzerinde AFM1 içerdiğini bildirmişlerdir.

Omar (2016) yılında ELISA yöntemini kullanarak yaptığı çalışmada 2014-2015 yılları arasında Ürdün marketlerinden toplamış olduğu 175 taze süt örneğinden %66'sının Avrupa limitlerine göre değerlendirildiğinde sınır limiti aştığını, Amerikan standardına göre değerlendirildiğinde ise %23 oranında aştığını belirlemiştir. Bebek formüla örneklerinin %85'inde bulunan AFM1 seviyesi Avrupa ve ABD tarafından kabul edilen sınırdan daha yüksek bulunmuştur.

Elaridi ve ark. (2019) yılında yaptığı çalışmasında Lübnan pazarında bulunan infant formülalarıyla ilişkili olarak yaptığı çalışmada 2017 ve 2018 yıllarında 42 markanın ürünlerini toplamış ve toplam 84 adet numuneyi ELISA yöntemi kullanarak analiz etmiş olup bu analiz sonucunda 74 numunenin %88'inin AFM1 ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Bunlar içerisinde 13 markaya ait örneklerin %31'inin Avrupa komisyonu değerlerinin üzerinde bir seviyeye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Rastogi ve ark (2004) ELISA yöntemiyle AFM1 varlığını araştırdığı çalışmada Hindistan'da süt bazlı infant mamaları ve sıvı süt örneklerinin (87 örnek) %87,3'ünde AFM1 tespit etmişlerdir. Bu örneklerin %99'nun Avrupa, %9'nun ise ABD sınır limitini aştığı belirtilmiştir.

Azarikia ve ark (2018) yılında ELISA yöntemiyle yaptıkları çalışmada İran'da kentsel ve kırsal alanlardan topladıkları 88 anne sütü örneğinin AFM1 ve AFB1 açısından analizini yapmışlar ve örneklerin %93,2'sinde AFB1, %100'ünde ise AFM1 tespit etmişlerdir.

Türkiye'de de süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM1 ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Türkiye'de süt ve peynirlerde, insan sağlığı için risk oluşturabilecek düzeylerde AFM1 belirlenebilmiştir (Oruç, 2003). Koçak (2016) Şanlıurfa'da anne sütündeki AFM1 varlığının belirlenmesi üzerine 89 anne sütü örneğinin 83 (%93,25)'ü AFM1 pozitif olarak saptanmış olup, AFM1 miktarının ise 8,1 pg/ml düzeylerinde olduğunu belirtmiştir. Çetin (2004) Ankara'da satılmakta olan farklı üreticiler tarafından üretilen toplamda 25 adet kaşar peyniri örneğinde AFM1 varlığını ve seviyelerini tespit etmeyi amaçlamıştır. Çalışmanın sonucunda ulaşılan örneklerin %56'sında 0,01-0,40 µg/kg arasında değişen düzeylerde AFM1 belirlenmiştir. Ayçiçek ve ark (2002) ise yaptıkları çalışmada İstanbul ilinde satışa sunulan beyaz peynirleri AFM1 içeriklerini belirlemek üzere ELISA yöntemi ile analiz etmişlerdir. Araştırma sonucunda analiz edilen 183 adet peynir örneğinin 121'inde 40-4890 ng/kg arasında değişen düzeylerde AFM1 saptadığı bildirilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre 85 adet peynir örneğinde toksin düzeyinin Türkiye'deki yasal limitlerin üzerinde olduğu ortaya

çıkılmıştır. Virdis ve ark (2010) İtalya’da yaptıkları çalışmada, keçi sütü ve keçi sütünden yapılan peynirlerin AFM1 ile kontaminasyon durumunu tespit etmeyi amaçlamışlardır. 41 peynir örneğinin 4 (%9,8)’ünde AFM1’i 79,5-389 ng/kg seviyeleri arasında bulduklarını belirtmişlerdir. Torkar ve Vengust (2008) Slovenya’da yaptıkları çalışmada çiğ süt ve peynir örneklerinde maya, küf ve AFM1 varlığını araştırmışlardır. Peynir örneklerinin 4 (%10)’ünde AFM1 seviyesinin 51–223 ng/kg arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Bazı ülke ve bölgelerin AFM1 maksimum limitleri Tablo 2’de verilmiştir (Mohammadi 2011, T.C. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011, sayı: 28157, Oliveria ve ark, 2013).

Tablo 2. Süt ve süt ürünlerinde AFM1’in maksimum limitleri (Mohammadi 2011, T.C. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011, sayı: 28157, Oliveria ve ark, 2013).

Ülke	Çiğ Süt ($\mu\text{g}/\text{kg}=\text{ppb}$)	Süt Ürünleri Türevleri ($\mu\text{g}/\text{kg}=\text{ppb}$)
AB	0,05	0,05
Almanya	0,05	-
Belçika	0,05	-
İtalya	-	0,01 (Çocuk Gıdaları İçin)
İsveç	-	0,05 (Sıvı Süt Gıdaları)
Uruguay	0,5	0,5
Barbados	0,005	-
Kıbrıs	0,5	0,5
Moritus	10	10
Avusturya	0,05	0,02 (Tereyağ), 0,25 (Peynir), 0,4 (Süt Tozu)
Fransa	0,05, 0,03 (3 Yaşından Küçük Çocuklar İçin)	0,05, 0,03 (3 Yaşından Küçük Çocuklar İçin Süt Tozu)
İsviçre	0,05	0,025 (Peynir Altı Suyu ve Ürünleri), 0,25 (Peynir), 0,02 (Yağ), 0,10 (Süt Tozu)
Bulgaristan	0,5	0,1 (Süt Tozu), 0 (Süt Tozu Ve Bebek Mamaları), 0,02(Bebek Mamaları)
Romanya	0	-
Çek Cumhuriyeti	0,05	5, 0,1 (Bebek Mamaları)
Brezilya	0,5	0,50 (Sıvı Süt), 5,0 (Süt Tozu)
Arjantin	0,05	0,50, 0,05 (Süt Tozu)
Honduras	0,05	0,25 (Peynir), 0,02 (Bebek Mamaları)
Nijerya	1	-
Mısır	0	0
Türkiye	0,05	0,25 (Peynir)
ABD	0,5	0,50
İran	0,50	-
Fas	0,05, 0,03 (3 Yaşından Küçük Çocuklar İçin)	0,05, 0,5 (Süt Tozu), 0,03 (Süt Tozu ve 3 Yaşından Küçük Çocuklar İçin)
Kore	0,5	-
Avustralya	0,2 (Çocuk Sütlerinde)	-

2.7. Aflatoksin M1'in İnsan Sağlığına Etkisi

İçerisinde aflatoksin olan besinler insana bulaşması durumunda ilk olarak kan dolaşımına geçerek hücre membranlarından emilirler. Kan yoluyla farklı dokulara, karaciğere ve ksenobiyotik metabolizmasının temel organlarına dağılım gösterirler. Aflatoksinler, temelde daha az zararlı olan AFM1 için hidroksilata ya da reaktif epokside karaciğer tarafından metabolize edilirler (Bbosa ve ark, 2013). Metabolize edilmesinde sitokrom P450 enzim sistemi rol oynamaktadır (Tirmenstein ve Mangipudy, 2014).

Sitokrom P450 enzimleri hem içeren proteinlerdir ve birincil olarak karaciğerde bulunurlar. "450" rakamı; hem içeren karaciğer pigmentlerinin, karbonmonoksit bağlandıktan sonra absorbe ettiği ışığa ait dalga boyunun nanometre olarak en yüksek değerini ifade eder. P450 enzim sistemi; dışarıdan alınan ilaçlar, kimyasal maddeler, insektisidler, petrol ürünleri vb. maddeleri metabolize eden sistemdir (Yüksel 2001).

İnsanlarda aflatoksinlerin Reye sendromu, kwashiorkor ve hepatit gibi hastalıkların gelişiminde etken olduğu düşünülmektedir (Peraica ve ark, 1999; Deshpande, 2002). Tayvan'da kusma, hipoglisemi, konvülsiyonlar, hiperamonemi, koma ve diğer akut klinik semptomlarla karakterize bir hastalık olan Reye sendromu görülmüş ve bu aflatoksin maruziyeti ile ilişkilendirilmiştir. Yeni Zelanda'da görülen Reye sendromlu iki vakada dokularda aflatoksin tespit edilmiştir. Akut aflatoksikoziste de aynı klinik semptomların görülmesi bu görüşü desteklemektedir (Cullen ve Newberne, 1994; Peraica ve ark, 1999). Protein enerji malnutrisyonu olarak da bilinen kwashiorkor hastalığı ise özellikle gelişmekte olan ülkelerde 5 yaşın altındaki çocuklarda ölümle sonuçlanan bir hastalık olup proteince fakir gıdalarla beslenmeyle birlikte aflatoksin alımı ile de ilişkilendirilmektedir (Pitt ve Hocking, 1997).

2.8. Mikotoksinleri Gıdalarda Belirleme Yöntemleri

2.8.1. Kültürel Yöntemler

Aflatoksinler, sitrinin, kojik asit, mikofenolik asit, 3-nitropropionik asit, okratoksinler, patulin, penisilik asit, PR-toksin, T-2 toksin ve zearalenon gibi ekstrasellüler mikotoksinlerin belirlenmesi için kültürel yöntemler kullanılabilir (Filtenborg ve ark, 1983). Kültürel yöntemler; ucuz olması, büyük bir cihaz gerektirmemesi, teknik beceri seviyesi gelişmiş ve

gelişen ülkeler için uygun olması gibi bazı avantajlara sahiptir (Abbas ve ark. 2004). Ancak roquefortin C, penitrem A, sterigmatosistin ve diğer hücre içi mikotoksinlerin belirlenebilmesinin mümkün olmaması (Filtenborg ve ark, 1983), mikotoksin tipinin ayırt edilememesi, miktarının belirlenememesi, analitik yöntemlere göre düşük hassasiyete sahip olması gibi bazı dezavantajlara da sahiptir. Mikotoksijenik küflerin belirlenmesi için kullanılan kültürel yöntemler;

- β -siklodekstrin gibi bazı maddeler ile ortamın zenginleştirilmesine dayalı mavi floresan yöntemi (FL),
- Koloni alt kısmında sarı pigmentin belirlenmesi,
- Kültürün amonyum hidroksit buharı ile muamele edilmesi sonrası sarı pigmentin erik kırmızısına dönüşmesinin belirlenmesidir.

2.8.1.1. Mavi floresan yöntemi

Mikotoksinlerin mavi floresan özelliği, uygun ortamlarda geliştirilen kültürlerin mikotoksin üretme yeteneklerini belirleme yönünde kullanılmaktadır. Bu amaçla; patates dekstroz agar ve coconut agar gibi katı ortamlar kullanılabildiği gibi siklodekstrin ve iyodin gibi çeşitli floresan uyarıcılar ile zenginleştirilmiş katı ortamlar, mısır likörünün ilave edilmesi ile czapeks agarın modifiye edilmesi sonucu elde edilen aflatoksin üretme yeteneği ortamı kullanılabilmektedir. Ancak katı ortamda üretilmiş olan mikotoksinin gözlemlenmesi oldukça basittir. Gelişme süresinin sonrasında uzun dalga boylu UV ışığı altında mavi floresan gözlenmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmektedir (Arseculeratne ve ark, 1971; Filtenborg ve ark, 1983; Dyer ve McCammon, 1994; Heenan ve ark, 1998; Abbas ve ark, 2004).

2.8.1.2. Sarı pigment belirleme

Kültürel ortamda sarıdan turuncuya kadar değişen koloni arka yüzeyinin oluşması mikotoksijenik küflerin ayırımında kullanılmaktadır. Kültür gelişimi esnasında kültür merkezinde başlayan parlak sarı rengin mikotoksijenik küflerde daha yoğun olduğu belirlenmiş ve mikotoksijenik küflerin ayırımında kullanılmıştır. Ancak tüm ortamlarda mikotoksin ve mikotoksijenik küflerin ayırımında geçerli bulunmamıştır (Abbas ve ark, 2004). Diğer bir ortam olan *Aspergillus flavus parasiticus* agar (AFPA) kültür gelişimi ile oluşan

turuncu renkli koloni arka yüzeyinin oluşması ile aflatoksijenik küflerin ayırt edilmesinde kullanılmaktadır (Dyer ve McCammon, 1994; Samson ve ark, 2014).



Resim 1. Sarı pigment belirleme (Günkaya ve ark, 2016).

2.8.1.3. Amonyum hidroksit buharı ile muamele etme işlemi

Bu yöntemde incelenen küf patates dekstroz agar gibi bir ortamda petrinin ortasında tek bir koloni olarak geliştirilir. Petri ters olarak tutularak petri kapağına 1–2 damla konsantre amonyum hidroksit solüsyonu damlatılır. Aflatoksin üreten kolonilerinin alt yüzü hızlı bir şekilde erik kırmızısına dönüşür. Kolonilerde renk değişimi coconut agar (CCA) gibi zenginleştirilmiş ortamlar kullanıldığında daha kuvvetli ve belirgin olmaktadır (Abbas ve ark, 2004).

2.8.2. Analitik Yöntemler

Canlılarda alınma dozuna ve direncine bağlı olarak mikotoksinlerin ölüme neden olabileceği gibi kanserojen, teratojen, tremorgen, hemoraljik, dermatitik, hepatotoksik, nefrotoksik ve nörotoksik etkilerde de bulunabilmektedir. Mikotoksinler sahip oldukları etkileri oldukça düşük dozlarda gösterebilmekte ve bu miktarda olan hastalık bulaşma düzeylerinin belirlenmesi gerekliliği, tespitini sağlayacak yöntemlerin varlığını gerektirmektedir. Bu amaçla değişik gıda maddelerinden mikotoksinlerin ayırımı ve teşhisi için birçok farklı yöntem geliştirilmiştir (Var ve ark, 2004).

Analizi yapılacak olan mikotoksinlerin öncelikle örneklenmesi, ekstraksiyonu ve ekstraktın temizlenmesi, yoğunlaştırılması sonrasında da kromatografik ayırım, kalitatif ve kantitatif tayininin yapılması mikotoksinlerin analizlerinde izlenen temel bir yoldur (Var ve ark, 2004).

2.8.2.1. Örnekleme

Belirlenen örneklerin, uygulandığı evreni yansıtması dahilinde olması gerekliliktir (Var ve ark, 2004). Örnek değişkenliğini etkileyen iki önemli faktör vardır. Bunlardan birincisi; örnek seçim prosedürü, ikincisi ise parti içerisindeki kontamine olmuş partiküller dağılımdır. Genellikle uygun örnekleme ekipmanının ve yönteminin kullanılmasıyla örnek seçimi üzerindeki etki en aza indirilebilmektedir. Kontamine olmuş partiküllerdeki dağılımdan kaynaklanan sorun ise örnek hacminin artırılması ile sağlanabilmektedir (Whitaker, 2001).

2.8.2.2. Ekstraksiyon ve ekstrenin temizlenmesi

Ekstraksiyonun amacı, mikotoksinin işlemden kullanılan solventle reaksiyona geçmesidir. İşlemden solventin seçiminde, uygulamaya alınacak mikotoksinin polarlık derecesi belirleyicidir. İşlem, High Performance Liquid Chromatography (HPLC) kullanımında ekstraksiyon immuno aktif kolonlarda da yapılmaktadır. Bu ekstraksiyon yöntemi İTK (İnce Tabaka Kromatografisi) için de önerilmiştir (Özkaya ve ark, 1999).

Immuno Aktif Kolonlarda Temizleme (İAK); mikotoksin analizlerinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. İAK katı destek üzerine immobilize edilmiş olan anti-mikotoksin antikorları içermektedir. Örnek ekstraktı belirli mikotoksinler için spesifik antikorları içeren İAK uygulanır. Bu aşamada mikotoksin antikorlara tutunmakta ve sonrasında su geçirilerek mikotoksin dışındaki diğer kirlilikler kolondan uzaklaştırılmaktadır. Daha sonra söz konusu toksin için uygun çözücü geçirilerek antikorlara bağlı olan mikotoksin kazanılmaktadır (Zheng ve ark, 2006).

Katı-Faz Ekstraksiyon (SPE); yöntemi oldukça hızlı ve ekonomik bir yöntemdir. En yaygın kullanılan kolon materyali silika jel, C18 bağlı silika jel, florisil ya da iyon değiştirme reçineleridir. Örneğin uygulanması ile SPE materyali analizatı adsorbe eder, sonrasında elüsyon işlemi uygulanır. Bu işlemde mikotoksin elüe edilirken, mikotoksin dışında kalan kirlilikler kolon materyalinde kalmaktadır (Zheng ve ark, 2006).

2.8.2.3. İnce tabaka kromatografi (İTK)

İTK yöntemi fizikokimyasal analizlerde yaygın olarak tercih edilmektedir. Çünkü her bir örnekte birden fazla mikotoksin bulunabilir ve bunlar İTK yöntemi ile belirlenebilmektedir. Temel prensip her bir bileşiğin belirli organik çözücünde göç etme hızlarının farkına dayalı olarak göç faktörlerinin yürüme hızı (Rf) belirlenmesi ve ilgili saf standartlar ile kıyaslanmasına dayanmaktadır. Ancak bu yöntemde dikkat edilmesi gereken önemli nokta kimyasal olarak farklı maddelerin birbiri ile benzer Rf değerlerine sahip olabileceğidir (Muro-Cacho, 2004; Turner ve ark, 2009).

2.8.2.4. Yüksek basınçlı sıvı kromatografi (HPLC)

HPLC, mikotoksinler ve mikotoksinler gibi düşük molekül ağırlıklarına sahip diğer bileşiklerin analizinde son yıllarda üzerinde en çok çalışılan cihazlarından birisidir (Var ve ark, 2004). HPLC’de hareketli faz sıvı (asetonitril, metanol, etanol, tetrahidrofur, etil asetat, su gibi çözücüler) ve sabit faz çok küçük katı parçacıklardan (kolonun dolgu maddeleri olan silisyum dioksit, alüminyum oksit, gözenekli polimer ve iyon değiştirici reçineler gibi) oluşmaktadır. HPLC ile mikotoksin analizinde bilinmesi gereken en önemli faktörlerden biri, hangi mikotoksinin hangi dedektörle aranacağına bilinmesidir (Oruç, 2003; Turner ve ark, 2009).

2.8.2.5. Gaz kromatografi (GC)

Gas Chromatography (GC), hareketli gazlardan oluşmakla birlikte, sabit faz sıvı veya katı olabilir. Oluşumu küçük katı parçacıklara dayanmaktadır. Gaz kromatografi, Mass spectrometry (MS) ve Gas Liquid Chromatography (GLC) olmak üzere iki türdür. Mikotoksinlerin analizinde GC’ye kütle spektrometre (MS) dedektörü bağlanarak mikotoksinler atomlarına kadar parçalanabilmekte ve böylece ölçümleri yapılabilmektedir. Ancak mikotoksinlerin analizi GC/MS ile yapılabilmekle birlikte diğer sistemler daha pratik olduğundan GC/MS pek tercih edilmemektedir (Oruç, 2003; Turner ve ark, 2009).

2.8.2.6. Kapiler elektroforez (CE)

Birbiri ile yakın ilişkili toksinlerin ayrımında kullanılan hassas bir yöntemdir. Bileşiklerin etkin ayrımı; elektriksel yük ve kütlelerine bağlı olarak elektriksel bir akım alanında göç etme farklılıklarına göre gerçekleşmektedir. Hızlı ayırım, organik çözücü olmaksızın sıvı tampon ortamında gerçekleştirilmektedir. Capillary Electrophoresis (CE) sisteminin floresan dedektör ile birlikte kullanımı, mikotoksinlerin belirlenmesi ve ölçümünde etkin bir sonuç oluşturmaktadır (Maragos ve Greer, 1997; Pena ve ark, 2003; Turner ve ark, 2009).

2.8.2.7. Enzim bağlanmış immunoabsorbant yöntemi (ELISA)

Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) yöntemi 13 yıldan fazla süredir mikotoksin analizinde kullanılmaktadır. Spesifik antikorların spesifik mikotoksinlerin üç boyutlu yapısı ile bağlanma yeteneğine sahiptir (Zheng ve ark, 2006). Bu yöntemde önemli olan nokta ise; mikotoksinlerin antijenik reaksiyon vermemesidir (Var ve ark, 2004). İşlem katı yüzeylere bağlanmış az miktarda antikor (antibadi) ile örneklerde bulunan toksin ve toksin ile işaretlenmiş enzimlerin bağlanma mücadelesini temel almaktadır. Yapılan yıkama sonrası bağlanmamış enzimler ayrılmakta, kullanılan belirli substrat ile meydana gelen renkli madde miktarı ile toksin miktarı ters orantılı olarak bulunan toksin miktarının hesaplanmasını sağlamaktadır (Oruç, 2003).

2.8.3. Diğer Analiz Yöntemleri

Yaygın olarak kullanılan kromatografik ve immünolojik yöntemlere ilaveten sürekli gelişen ve yenilenen teknoloji ile mikotoksin analiz yöntemlerine yeni ve hızlı teknikler eklenmektedir. Bunlar arasında; membran esaslı immünoassay, florometrik analiz, floresan polarizasyonu, dalga boyu kaybı teknolojisi, moleküler dalgalı polimerler, mikroarray teknolojisi, luminex MAP teknolojisi, biyosensörler bulunmaktadır (Zheng ve ark, 2006).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışmada, Türkiye piyasasında satışı sunulan 30 farklı süt bazlı infant bebek formülleri materyal olarak kullanılmıştır. Süpermarketlerden, alışveriş merkezlerinden ve bebek malzemeleri satan mağazalardan temin edilen örnekler kendi ambalajında laboratuvara getirilmiş ve HPLC cihazında AFM1 varlığı açısından analiz edilmiştir.

3.2. Yöntem

Laboratuvara getirilen bebek maması örnekleri aflatoksin analizi için TS EN ISO 14501 (2008), (R-Biopharm Milk Extraction Method for Aflatoksin M1 Ref No:A11-RP71/70N.V2) metoduna göre ekstrakte edilmiştir. HPLC analizi için numunelerden 10'ar gram tartılıp üzerine 80 ml 35°C su eklenerek, homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizatlar 35°C'deki su banyosunda 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında numunelere 20 ml 35°C su eklenip tekrar homojenize edilmiştir. Homojenizasyonun ardından numuneler oda sıcaklığında 4000 rpm'de 15 dakika hitachi marka himac CT6 model cihazla santrifüj edilip, dilüsyon işlemine geçilmiştir. Dilüsyon işleminde ekstrakt, whatman no:4 filtre kağıdından süzölmüştür. Süzme işlemi tamamlandıktan sonra ekstrakt filtratından 50 ml alınıp, adsorbsiyon işlemine geçilmiştir. Oda sıcaklığındaki R-Biopharm Easi-Extract Aflatoxin RP71 / RP70N (IAC Immunoaffinity Column) AFM1 kolonların ağzı açılıp 4-5 damla PBS (Phosphate Buffer Saline) akıtılarak kolon kontrolü sağlanmıştır. 50 ml'lik filtrat akış hızı 3 ml/dakika (saniyede 1 damla) olacak şekilde kolondan geçirilmiştir. Kolon 10 ml su ile iki kere yıkanarak ve kolondan 3-5 kez hava geçirilerek kuruması sağlanarak elüsyon işlemine geçilmiştir. Elüsyon işleminde kolonun içerisinde tutulan AFM1 2 aşamalı olarak; önce immunoaffinity kolondan 1,25 ml metanol:asetonitril (2:3 v/v) karışımı geçirilmiş ve kendiliğinden vial içine akması beklenmiştir. İkinci aşamada ise 1,25 ml HPLC grade özellikte su kolondan geçirilerek toplam 2,5 ml'lik eluat vial içerisinde toplanmıştır. HPLC için yürütücü akışkan olarak mobil faz içeriği Metanol / Asetonitril / Su (2:3:5 v/v/v) bu şekilde hazırlanan Aflatoksin M1 mobil fazı yaklaşık 15 dakika ultrasonik banyoda bekletilir

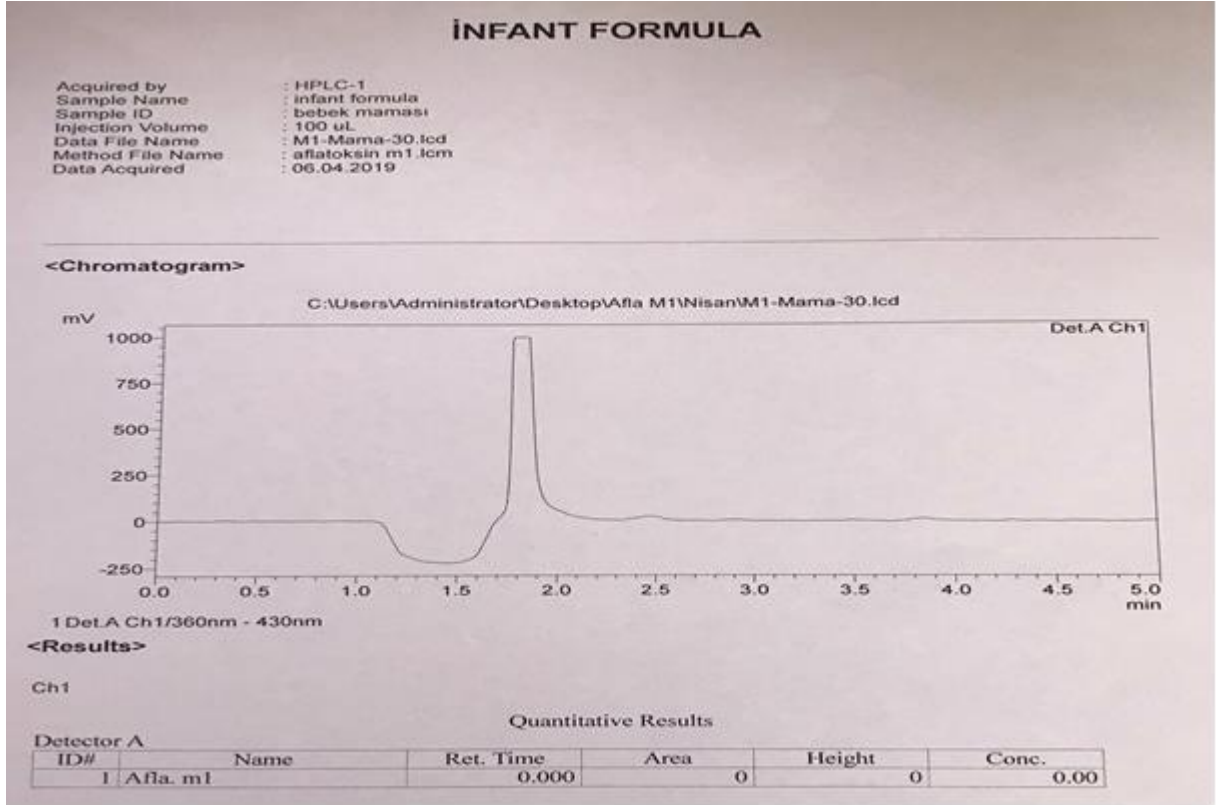
ve degaze edilmiştir. Analiz için HPLC cihazına yüklenmiştir. Örnekler HPLC cihazında (Nexera XR, Shimadzu, Japonya) analiz edilmiştir. Kullanılan dedektör RF 20 Axs ve C18 5µm x 25 cm x 5mm kolondur. HPLC'ye numunenin aktarımı oto-örnekleyici (Nexera XR, Shimadzu, Japonya) ile yapılmıştır.

3.2.1. Aflatoksin M1'in HPLC Cihazında Belirlenmesi

Pompa akış hızı 1 ml/dakika olacak şekilde floresans dedektörde ekstraksiyon dalga boyu 360 nm, emisyon dalga boyu 430 nm olarak ayarlanıp, kolon fırın sıcaklığı 25°C'de HPLC kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. AFM1 standartıyla geri kazanım oranı hesaplanmıştır. Sonraki aşamada HPLC cihazının oto-yükleyicisine yerleştirilen numunelere 100 µl enjeksiyon hacminde analiz işlemi yapılmıştır.

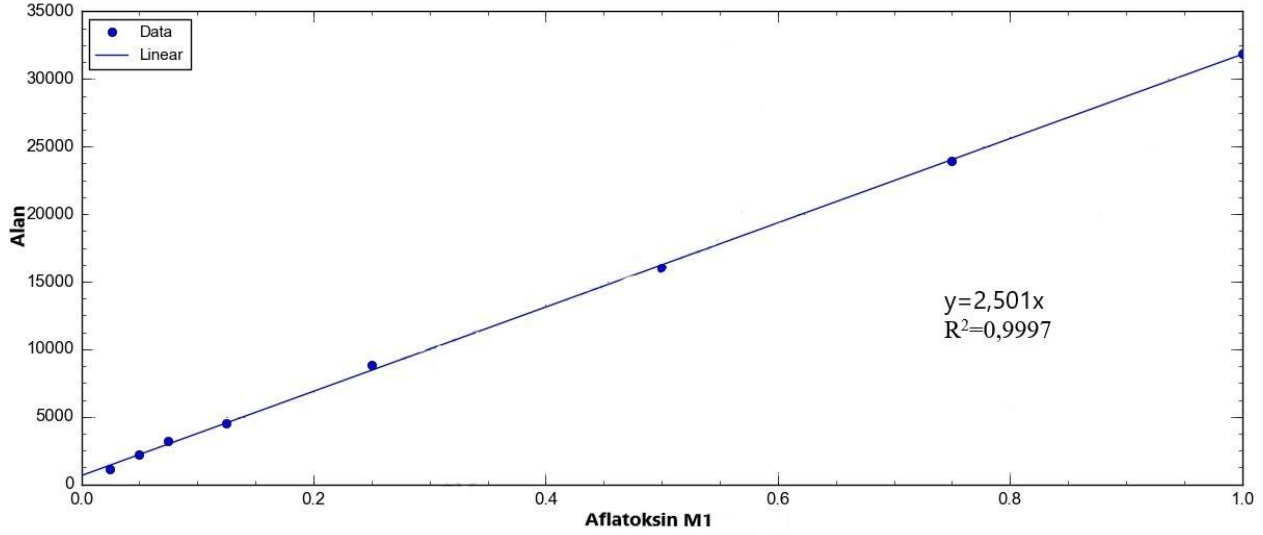
4. BULGULAR

Türkiye piyasasında satılan 30 adet süt bazlı infant formülasının içerisindeki AFM1'in düzeyinin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde AFM1 için belirtilen en yüksek sınır değer olan 0,025 µg/kg değerini aşıp aşmadığı HPLC metoduyla incelemeye alınmış olup, analizleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda süt bazlı infant formülalarında bu sınırı aşan herhangi bir örneğin varlığı tespit edilememiştir. Analizi yapılan tüm örneklerde HPLC kromatogramları Resim 2'te gösterildiği gibidir.



Resim 2. İncelenen infant formülalardan elde edilen kromatogram sonuçları

8 farklı yoğunluğun uygulanmasıyla elde edilen standart kalibrasyon eğrisi Şekil 3'te verilmiştir. Araştırmada saptama sınır değeri 0,01 ng/ml ve ölçüm sınır değeri 0,025 ng/ml olarak saptanmıştır.



Şekil 3. Aflatoksin M1 standardı kalibrasyon eğrisi

Analizler sonucunda aflatoksin içeren örneklerin ortalama geri kazanım miktarları Tablo 3'te belirtilmiştir.

Tablo 3. Bebek Maması örneklerine (0,025 ppb aflatoksin M1 içeren) ilave edilen 0,01 ppb Aflatoksin M1 geri kazanım oranları

Bebek Maması örneğinde ilave edilen Aflatoksin M1 (ppb)	Tespit edilmek istenen Aflatoksin M1 (ppb)	Analizde elde edilen Aflatoksin M1 (ppb)	Geri kazanım oranı (%)
0,010	0,035	0,0253	72,3
0,010	0,035	0,0295	84,3
0,010	0,035	0,0241	68,9
		Ortalama:	75,1±2,6

5. TARTIŞMA

Aflatoksinler öncelikle *A. flavus*'un bazı suşları ve *A. parasiticus*'un tüm suşları tarafından üretilmektedir. Başlıca dört adet aflatoksin tipi bulunmaktadır. Bunlar; B1, B2, G1 ve G2'dir. AFM1 ise küfle kontamine olmuş yemlerle beslenen hayvanların karaciğerinde oluşur ve süt salgısıyla birlikte atılır. Bu aflatoksinler ilk kez aflatoksinli yemlerle beslenen hayvanların sütlerinden izole edilmişlerdir ve bundan dolayı M olarak gösterilmişlerdir. Süt ineklerinde yem ile alınan aflatoksin B1'in %1-3'ü kadar bir miktarın M1 olarak süttten izole edilebileceği bildirilmiştir (Demli ve ark, 2012).

Süt ve süt ürünleri başta çocuklar olmak üzere hemen her yaş grubu insan tarafından tüketilen gıda ürünleridirler. Süt özellikle insan beslenmesi açısından biyokimyasal çeşitliliği ve esansiyel amino asitleri sağlaması açısından önemli bir besin maddesidir. Silva ve ark (2007) dünya üzerinde bulunan çocukların %80'den fazlasınının alışkanlıkları ve beslenme ile aldıkları besin maddesini süt ürünlerinin oluşturduğunu belirtmektedir.

Her ne kadar süt ve süt ürünleri insanlar özellikle de çocuklar için hayvansal protein, kalsiyum, vitamin ve esansiyel yağ asidi gibi besin maddeleri için iyi bir kaynak olsalar da aynı zamanda aflatoksinler açısından da potansiyel kaynaktırlar (Pei ve ark, 2009). AFB1'in alınmasından 12–24 saat sonrasında sütte AFM1 saptanabilmektedir. Süt bazlı diğer ürünlerde de AFM1 ürün işlenme basamaklarından etkilenmemektedir (Sarımehmetoğlu ve ark, 2004). Bununla birlikte, AFM1 süte uygulanan pastörizasyon işlemine dayanıklıdır (Pei ve ark, 2009). Süt ve süt ürünleri açısından getirilen yasal kısıtlamalarda; çiğ süt, ısıtılmış süt ve süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan sütlerde maksimum AFM1 miktarının 0,05 µg/kg olması gerektiği belirtilmiştir (TGK, 2011). Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları için ise maksimum AFB1 miktarı ise 0,10 µg/kg olarak belirtilmiştir. Ayrıca, bebek mamalarında (bebek sütleri ve devam sütleri dahil) maksimum AFM1 0,025 µg/kg, bebeklerin özel tıbbi amaçlı diyet gıdalarında maksimum AFB1 ve AFM1 sırasıyla 0,10 µg/kg ve 0,025 µg/kg olarak bildirilmektedir. Aflatoksin bulunması muhtemel riskli gıdalar için ise genel olarak maksimum değerler AFB1, toplam aflatoksin ve AFM1 için sırasıyla 5,0, 10,0 ve 0,5 µg/kg olarak belirtilmiştir (TGK, 2011).

Yeni doğan bebeklerin anneleri tarafından emzirilerek beslenmeleri anne sütünün bebek için gerekli besin öğelerini en mükemmel şekilde içermesi nedeniyle hiç şüphe yok ki en iyi beslenme tarzıdır. Ayrıca, bu beslenme tarzı anne sütünün içerdiği antimikrobiyal ve

immünolojik ajanlar nedeniyle yeni doğanın gelişmesi, büyümesi ve sağlığının daha da iyileşmesine büyük katkı sağlamaktadır (Elaridi ve ark, 2017). Diğer taraftan ise infant formülaları emzirerek beslemeye alternatif olarak kullanılan en popüler beslenme tarzı olup, bebeğin doğumunu takiben 1 ay içerisinde, çoğunlukla en temel ve bazen de tek gıda kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadırlar (Meucci ve ark, 2010).

Mikotoksine maruz kalma durumunda mikotoksinlerin toksik etkileri nedeniyle infantlar ve küçük çocukların yanında, teratojenik etkileri göz önüne alındığında da elbette ki hamile kadınlar ve çocuklar en savunmasız olan gruplar arasında yer almaktadırlar (Landrigan ve ark, 2002; Murphy ve ark, 2006; Sherif ve ark, 2009; Raiola ve ark, 2015). Yeni doğanlarda biyotransformasyon kapasiteleri yetişkinlere oranla daha yavaş olduğundan, ağız yoluyla alınan ksenobiotikler kan dolaşımında daha yüksek oranlarda bulunabilmektedirler (Sadeghi ve ark, 2009). Bu nedenle özellikle 12 aylıktan küçük çocuklar mikotoksinlerin olumsuz etkilerine düşük vücut ağırlıkları yetişkinlere göre daha fazla gıda, su/kg oranının olması, hızlı büyüme oranları, tam gelişmemiş detoksifikasyon sistemleri, yüksek metabolik hızları ve tam gelişmemiş organ ve dokuları özellikle merkezi sinir sistemi nedeniyle erişkinlerden daha duyarlı olmaktadır (WHO, 1986; Etzel, 2006; Fakhri ve ark, 2010; Atasever ve ark, 2014; Lombard, 2014).

AFM1 *Aspergillus* türleri tarafından üretilen Aflatoksin B1'in hidroksile edilmiş toksik bir metabolitidir. İnsanların AFM1'e maruz kalması için en önemli risk faktörlerinden bir tanesi de süttür. İnfantların genellikle süt tüketiyor olmaları onların AFM1'e maruz kalma olasılığını arttırmaktadır (Shundo ve ark, 2009). Diğer taraftan süt sadece sıvı süt olarak tüketilen bir gıda maddesi olmayıp, infant formülalarının hazırlanmasında, peynir yoğurt gibi süt ürünlerinde, ayrıca çikolata ve tatlılar gibi çeşitli gıda maddelerinin yapımında da kullanılmaktadır (Sweeney ve Dobson, 1998; Gürbay ve ark, 2006). Bu nedenle süttten hazırlanan bu tip ürünlerde bulunan AFM1 miktarlarının belirlenmesi özellikle çeşitli yaşlarda bulunan tüketicileri tehlikelerden korumak adına çok önem arz etmektedir (Fallah ve ark, 2009). İnfantların süt bazlı formüllularla beslenmeleri de AFM1'in bu yolla bebeklere bulaşabilen, olası bir zoonotik hastalık Aflatoksikozis M1 olma ihtimalini güçlendirmektedir (El Tras ve El Kady, 2011). Bebeklerin AFM1'e maruz kalmaları etkenin International Agency for Research on Cancer tarafından grup 2B muhtemel karsinojenik olması nedeniyle önem arz etmektedir (IARC, 2002). Çocukların AFM1'e kronik olarak maruz kalması malnutrisyon, karaciğer kanseri, düşük vücut ağırlığı ile bebeklikte ve ileri ki yaşlarda düşük gelişmeye neden olmaktadır (Gong ve ark, 2002;2004; Tchana ve ark, 2010; Sherif ve ark, 2009).

Burada rapor edilen çalışmada farklı markalara ait 30 infant formülası piyasadan satın alınmış ve HPLC kullanılarak bu formülalarda ki AFM1 düzeyi belirlenmeye çalışılmıştır. Analizler sonucunda incelenen 30 örneğin hiç birisinde, uygulanan metodun saptama sınırları içerisinde, AFM1 tespit edilememiştir. AB komisyonu, işlem görmüş tahıl temelli ve bebek gıdalarında AFB1 en yüksek limit değerini 0,1 µg/kg; tıbbi amaçlı bebek diyet gıdaları ve devam sütlerinde ise 0,025 µg/kg olarak belirlemiştir (European Commission, 2010). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde (2011) AFM1 seviyesi için en yüksek değer 0,025 µg/kg olarak kabul edilmektedir. Omar (2016) tarafından Ürdün'de ELISA kullanılarak yapılan bir çalışmada analize edilen 175 süt ve süt ürünü örneği içerisinde bulunan 20 infant formüle örneğinin hepsinin 16,55 ile 154,14 ng/kg arasında değişen değerlerle AFM1 ile kontamine olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada incelenen infant formülalarının %85'inin AB'nin kabul ettiği sınırları aştığı belirlenmiştir. İncelenen diğer ürünlerde ise bu oran taze sütler için %66, pastörize sütler için %12 ve evapore sütler için ise %100 olarak rapor edilmiştir. Elaridi ve ark (2019) Lübnan'da satılan 84 infant formülasi örneğinde ELISA yöntemi kullanılarak yaptıkları araştırmada test edilen formülaların 74 tanesinin (%88) ortalama 20,1±1,3 ng/kg düzeyinde AFM1 ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmada incelenen pozitif örneklerden %31'inin AB yasal sınırlarını aştığı belirlenmiştir. Alvito ve ark (2010) yılında Portekiz'de yapmış oldukları çalışmada incelemiş oldukları 27 bebek gıdasında bulunan aflatoksinleri ve okratoksin A'yı HPLC yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada incelenen 27 örneğin 4 tanesinin AFM1 ile 17–41 ng/kg düzeyleri arasında kontamine olduğunu saptamışlardır. Meucci ve ark (2010) İtalya'da yapmış oldukları araştırmada inceledikleri 185 infant formüle örneğinin 2'sinin, değerleri AB'nin kabul ettiği en yüksek değer olan 25 ng/kg değerinin altında olsa da (11,8–15,3 ng/kg), AFM1 ile kontamine olduğunu bulmuşlardır. Baydar ve ark, (2007) Ankara'da süpermarket ve eczanelerden topladıkları 63 infant formülaları ve bebek gıdalarında ELISA kullanarak yapmış oldukları çalışmada incelenen örneklerin %36,5'inin AFM1 ile kontamine olduğunu göstermişlerdir. Yunanistan'da yapılan diğer bir çalışmada ise ELISA yöntemiyle incelenen süt örneklerinin %46,5'inin AFM1 ile kontamine olduğunu rapor etmişlerdir. Çoğunlukla çocuklar tarafından tüketilen bu tip sütlerde kontaminasyon seviyesinin genellikle 5 ile 10 ng/kg arasında olduğu rapor edilmiştir.

Li ve ark (2016) Çin'de yapmış oldukları bir çalışmada infant formülaları için süt tozu yapan fabrikalardan almış oldukları sütlerde (1207 adet) ELISA yöntemi kullanılarak AFM1 varlığını araştırmışlardır. Çalışmada 56 örneğin (%4,6) AFM1 açısından pozitif olduğunu

ancak bu örneklerin de Amerikan standartlarına göre 0,05 µg/kg yüksek olmasına rağmen Çin için yasal sınırların (62,5 ng/L) altında olduğunu rapor etmişlerdir.

Brezilya'da Ishikawa ve ark (2016) tarafından yapılan bir çalışmada anne sütü ve piyasada tüketime sunulan infant formülalarında AFM1 varlığı ve seviyesi üzerine yaptıkları çalışmada toplamış oldukları 94 anne sütü örneğini ve 16 infant formülayı incelemişlerdir. Araştırmacılar inceledikleri 5 anne sütü örneğinin (%5,3) ve 7 infant formülünün (%43,8) sırasıyla ortalama 0.003 ng/g ve 0.011 ng/g miktarlarında AFM1'le kontamine olduğunu göstermişlerdir.

Er ve ark (2013) ELISA tekniği kullanarak incelemiş oldukları 85 bebek gıdası örneğinin (35 infant formüla ve 50 devam sütü) 32 tanesinin çeşitli değerlerde (0,0055 ile 0,0201 µg/kg arasında) AFM1 ile kontamine olduğunu, ancak elde edilen sonuçların bebekler için bir sağlık riski oluşturmayacağını belirtmişlerdir.

Sibaja ve ark (2019) Kolombiya'da (QuEChERS Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) ekstraksiyon ve high-performance liquid chromatography (HPLC) yöntemi kullanarak yapmış oldukları çalışmada incelemiş oldukları 51 süt tozu örneğinin hepsinin çeşitli oranlarda AFM1 ile kontamine olduğunu (0,20 ile 1,19 µg/kg arasında) ve bunların %55'inin Kolombiya ve AB'nin süt için kabul ettiği değerleri (0,5 µg/kg) aştığını belirtmişlerdir.

Burada rapor edilen çalışmada kullanılan HPLC metodunun saptama limiti kullanılan kolon uzunluğu nedeniyle 0,025 µg/kg'dir ki bu değer aynı zamanda yönetmeliklerde AFM1 için süt bazlı formülalarda bulunmasına izin verilen en yüksek sınır değerdir. İncelenen formülalarda bu sınırın altında kalan AFM1 düzeyleri tespit edilememiş ancak sınır değeri aşan örneklerin varlığı araştırılmıştır. Bu nedenle çalışmamızla yukarıda belirtilen farklı metotlar ve farklı saptama sınırları içeren çeşitli araştırmalar arasında AFM1 bulunma oranlarında farklılıklar şekillenebilmektedir. Bu durum süt bazlı infant formülalarında bulunan AFM1 miktarlarının farklı olabileceği gerçeğinden kaynaklanabileceği gibi, bu çalışmada kullanılan kolonun diğer çalışmalarda kullanılan kolanlardan daha kısa olmasından ve saptama sınırının altında ki değerleri belirleyememesinden de kaynaklanmaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Özellikle bebek beslenmesinde infant formülalarında kullanılan süt ve tarımsal kaynaklı gıda maddelerinde bulunan çeşitli mikotoksin türleri henüz gelişimini tamamlamamış bebeklerde ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Mikotoksinler taşınma (carry over) özellikleriyle, etkinliklerini akut olarak çok kronik olarak birikme yaparak gösterdiklerinden dolayı sağlık açısından tehlikeli kimyasal maddelerdir. Mikotoksinlerin kontaminasyonundan önce dikkat edilmesi gereken üremesini sağlayacak unsurların ortadan kaldırılması olmalıdır. AFM1 oluşumuna sebep olabilecek, Sütünden yararlanılacak hayvanın rasyonundaki besinlerin AFB1 içermemesi bebek mamalarında kullanılan hammaddenin kalitesini direkt olarak etkilemektedir. Süt bazlı bebek mamaları için süte uygulanacak sterilizasyon yönteminin dahi engelleyemeyecek olduğu mikotoksin üremesi bebek formülusunun kontemine olmasına sebep olacaktır. Hammadde aşamasındayken ürün kalitesi, üreticinin gıda hijyenine vermiş olduğu önem ve üretilen ortamın gıda güvenliği ve hijyeni gibi kalite unsurları söz konusu olmaktadır.

Bebekler immun sistemlerinin daha gelişme aşamasında ve yetersiz olması sebebiyle yetişkinlere göre mikotoksikozis olgusunda daha ciddi sağlık sorunlarıyla karşı karşıyadırlar. Gıdalardaki mikotoksin oranlarında tüm dünya ülkelerinde belirlenen maksimum yasal limitlerle bu patojenik küf gruplarını sınırlı tutulmuştur. Ülkemizde bu konuda ciddi çalışmalar ve denetimler devam etmekte olup riski en aza indirmek için gerekli adımlar atılmaktadır.

Burada rapor araştırmada Türkiye piyasasında satılan süt bazlı 30 adet infant formülusunun içerisindeki AFM1 varlığı ve düzeyi açısından HPLC cihazıyla yapılan analizler sonucunda süt bazlı infant formülalarında herhangi bir AFM1 tespit edilmemiş olup Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde 0,025 µg/kg sınır değeri geçen bir bulguya rastlanılmamıştır.

KAYNAKLAR

Abbas HK, Zablutowicz RM, Weaver MA, Horn BW, Xie W, Shier WT. Comparison of cultural and analytical methods for determination of aflatoxin production by Mississippi Delta *Aspergillus* isolates. *Canadian journal of microbiology* 2004, 50(3), 193-199.

Akdemir Ç, Altıntaş A. Ankara'da İşlenen Sütlerde Aflatoksin M₁ Varlığının Ve Düzeylerinin HPLC İle Araştırılması, *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu* İstanbul, 18-19 Eylül 2003, 87-92.

Alvito PC, Sizoo EA, Almeida CMM, Van Egmond HP. Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in baby foods in Portugal. *Food Analytical Methods* 2010, 3, 22–30.

Arseculeratne SN, De Silva LM. Aflatoxin contamination of coconut products. *Ceylon Journal of Medical Science* 1971, 20(2), 60-75.

Atasever M, Yildirim Y, Atasever M, Tastekin A. Assessment of aflatoxin M₁ in maternal breast milk Eastern Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 2014,66, 147-149.

Ayçiçek H, Yarsan E, Sarımehmetoğlu B, Çakmak O. Aflatoksin M₁ in white cheese and butter consumed in Istanbul. *Veterinary and Human Toxicol* 2002, 44(5), 295-296.

Azarikia M, Mahdavi R, Nikniaz L. Occurrence and dietary factors associated with the presence of aflatoxin B₁ and M₁ in breast milk of nursing mothers in Iran. *Food Control* 2018, 86, 207-213.

Bakırcı İ. A Study On The Occurance Of Aflatoxin M₁ İn Milk And Milk Products Produced İn Van Province Of Turkey. *Food Control* 2001, 12, 47-51.

Barrios MJ, Gualda MJ, Cabanas JM, Medina LM, Jordano R. Occurence of aflatoxin M₁ in cheeses from the South of Spain. *Journal of Food Protection* 1996, 59: 898-900.

Bata A, Lasztity R. Detoxification of mycotoxin contaminated food and feed by microorganisms. *Trends In Food Science And Technology* 1999, 10, 223-228.

Bbosa GS, Lubega A, Kyegombe DB, Kitya D, Ogwal-Okeng J, Anokbonggo WW. Review Of The Biological And Health Effects Of Aflatoxins On Body Organs And Body Systems, *Aflatoxins - Recent Advances And Future Prospects* 2013, 239-266.

Bhatnagar D, Garcia S. Aspegillus İn Guide To Food borne Pathogens, USA, 2001, 35-50.

Binder EM, Tan LM, Chin LJ, Handl J, Richard J. Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Animal Feed Science and Technolog* 2007, 137(3-4), 265-282.

Bostan K, Çetin Ö, Büyüğünal SK, Ergün Ö. İstanbul'da Satışa Sunulan İçme Sütü Örneklerinde Aflatoksin M1 Düzeyleri Üzerine Bir Araştırma, *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu*, İstanbul, 18-19 Eylül 2003, 176.

Boutrif E, Pineiro M. Global Priorities And Food Safety Does Harmonisation Hold The Key, International Workshop On Mycotoxin, FDA And JIFSAN, University Of Maryland, USA, July 22-26 2002.

Brackett RE, Marth EH. Fate of aflatoxin M1 in Cheddar cheese and in process cheese spread. *Journal of Food Protection* 1982, 45(6), 549-552.

Charles R, Hurburg JR. Mycotoxins in the Grain Market. *World Grain*, October, 23-26. 1995.

Charmley LL, Trenholm HL, Prelusky DB, Rosenberg A. Economic losses and decontamination. *Natural Toxins* 1995, 3, 199-203.

Coker RD. High Performance Liquid Chromatography And Other Chemical Quantification Methods Used İn The Analysis Of Mycotoxins In Foods, Elsevier Applied Science Publishers Ltd, 1984, 207-263, 386p.

Concon JM. Mold And Mycotoxin Contamination Of Food Products, Food Toxicology, Part B: Contaminants And Additives, Marcel Dekker Inc New York And Basel, 1988, 1371.

Creppy EE. Update Of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe, *Toxicology Letters*. 2002, 127, 19-28.

Cullen JM, Newberne PM. Acute Hepatotoxicity Of Aflatoxins, In The Toxicology Of Aflatoxins: Human Health, Veterinary And Agricultural Significance USA, 1994, 3-21.

Çetin T. Ankara Piyasasında Satışa Sunulan Kaşar Peynirlerinde Olası Aflatoksin M1 Varlığının HPLC Metodu İle Belirlenmesi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2004.

Dalkılıç KG. Süt Ürünleri Ve Bebek Mamalarında *Enterobacter Sakazakii* (*Cronobacter Spp.*) Varlığının Araştırılması Ve Gelişmesine Sıcaklık Ve Şeker Çeşitlerinin Etkisi, Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2011.

Davidson EW, Shellabarger C, Meyer M, Bieber AL. Binding of the Bacillus sphaericus mosquito larvicidal toxin to cultured insect cells. *Canadian journal of microbiology* 1987, 33(11), 982-989.

Dawson KA, Evans J, Kudupoje M. Understanding the adsorption characteristics of yeast cell wall preparations associated with mycotoxin. Science and Technology in the Feed Industry. *Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium* 2001.

Demli F, Dinçel A, Özkaya F, Alatan F, Uzun R, Subaşı SA. Analysis of aflatoxin M1 by hplc in various cheese products. *Türk Hijyen Ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2012, 69 (2), 89-96.

Deshpande SS. Handbook of food toxicology. CRC Press, 2002.

Dosako S, Kaminogawa S, Taneya S, Yamauchi K. Hydrophobic surface areas and net charges of S1-K casein, Casein Complex. *Journal Of Dairy Research* 1980, 7, 123-129.

Dyer SK, McCammon S. Detection of toxigenic isolates of *Aspergillus flavus* and related species on coconut cream agar. *Journal of Applied Bacteriology* 1994, 76(1), 75-78.

EFSA Bilimsel Komitesi. EFSA tarafından gerçekleştirilen Risk Değerlendirmelerinin Bilimsel Yönünde Şeffaflık Bilimsel Komitesinin Rehberliği. *EFSA Dergisi* 2009, 7(7), 1051.

Elaridi J, Bassil M, Kharma J, Daou F, Hassan H. Analysis of aflatoxin M1 in breast milk and its association with nutritional and socio-economic status of lactating mothers in Lebanon. *Journal of Food Protection* 2017, 80, 1737–1741.

Elaridi J, Dimassi H, Hassan H. Aflatoxin M1 and ochratoxin A in baby formulae marketed in Lebanon: Occurrence and safety evaluation. *Food Control* 2019, 106.

Ellis WO, Smith JP, Simpson BK, Oldham JH. Aflatoxins in food: Occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control,-. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition* 1991, 30(3), 403-439.

El-Tras WF. NN, El-Kady AA. Tayel **Infants exposure to aflatoxin M₁ as a novel foodborne zoonosis.** *Food and Chemical Toxicology* 2011, 49, 2816-2819.

Er B, Demirhan B, Yentür G. Short communication: Investigation of aflatoxin M1 levels in infant follow-on milks and infant formulas sold in the markets of Ankara, Turkey. *Journal of Dairy Science* 2013, 97: 3328–3331

Etzel RA. What the primary care pediatrician should know about syndromes associated with exposures to mycotoxins. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care* 2006, 36, 282–305.

Evren M. Aflatoksinlerin etki şekilleri, gıdalarda bulunma durumları ve önleme çareleri. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 1999, 14(2), 159-172.

Fakhri Y, Ghorbani R, Taghavi M, Keramati H, Amanidaz N, Moradi B. Concentration and prevalence of aflatoxin M1 in the Iranian human breast milk: Systematic review, meta-analysis, and carcinogenic risk assessment. *Journal of Food Protection* 2010, 10, 25–36.

Fallah A, Jafari T, Fallah A, Rahnama M. Determination of Aflatoxin M1 levels in Iranian white and cream cheese. *Food and Chemical Toxicology* 2009, 47, 1872-1875.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. General Standard For Contaminants and Toxins in Food and Feed 1995, 193.

Filtenborg O, Frisvad JC. Classification of terverticillate penicillia based on profiles of mycotoxins and other secondary metabolites. *Appl. Environ. Microbiol* 1983, 46(6), 1301-1310.

Galvano F, Galofaro V, Galvano G. Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products: A worldwide review. *Journal Of Food Protection* 1996, 59(10), 1079-1090.

Girgin G, Başaran N, Şahin G. Dünyada ve Türkiye’de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. *Türk Hijyen Ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2001, 58 (3), 97-118.

Golge Ö. A survey on the occurrence of aflatoxin M1’in raw milk produced Adana Province Of Turkey. *Food Control* 2014, 45, 150-155.

Gong Y, Hounsa A, Egal S, Turner PC, Sutcliffe AJ, Hall C. Wild post weaning exposure to aflatoxin results in impaired child growth: a longitudinal study in Benin, West Africa. *Environmental Health Perspectives* 2004, 112 (13), 1334-1338.

Gong YY, Cardwell KA, Egal HS, Turner PC, Hall AJ. Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Benin and Togo: cross sectional study. *British Medical Journal* 2002, 325, 20-21

Gourama H, Bullerman LB. Inhibition Of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* by *Lactobacillus* Species. *Journal Of Food Protection* 1995, 58 (11), 1249-1256.

Govaris A, Roussi V, Koidis PA, Botsoglou NA. Distribution and stability of aflatoxin M1 during processing, ripening and storage of Teleme cheese. *Food additives & contaminants* 2001, 18(5), 437-443.

Günkaya Z, Demirel R, Banar M. Portakal kabuklarından üretilen biyokompozit ambalaj filminin aflatoksinlere karşı etkisinin incelenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilim Dergisi* 2016, 22(6), 513-516.

Gürbay A, Aydın G, Girgin B, Engin S. Assessment of aflatoxin M1 levels in milk in Ankara, Turkey. *Food Control* 2006, 17:1-4.

Gürbay A, Aydın S, Girgin G, Engin AB, Şahin G. Assessment of aflatoxin M1 levels in milk in Ankara, Turkey. *Food Control* 2006, 17 (1), 1-4.

Gürsel A. Süt Esaslı Ürünler Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, 2007, 1554.

Heenan CN, Show KJ, Pitt JL. Ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* and *A.niper* isolates and detection using coconut cream agar. *Journal of Food Mycology* 1998, 1, 67-72.

Heperkan D. Gıdalarda Mikotoksinler Ve Ülkemiz Açısından Önemi. *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu*, İstanbul, 18-19 Eylül 2003, 1-7.

Huwig A, Freimund S, Kappeli O, Dutler H. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters* 2001, 122, 179-188.

IARC. International Agency for Research on Cancer. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene, IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man. 2002, 82, 1–556.

Ishikawa AT, Takabayashi-Yamashita CR, Ono EYS, Bagatin AK, Rigobello FF, Kawamura O, Hirooka EY, Itano EN. Exposure Assessment of Infants to Aflatoxin M1 through Consumption of Breast Milk and Infant Powdered Milk in Brazil *Toxins*, *Toxins* 2016, 8, 246.

Jouany JP. The impact of mycotoxins on performance and health of dairy cattle. *Science and Technology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium*. Nottingham University Press (Ed. TP Lyons and KA Jacques), UK. 2001.

Kabak B, Ozbey F. Aflatoxin M1'in UHT milk consumed in Turkey and first assessment of its bioaccessibility using an in vitro gestion model. *Food Control* 2012, 28, 338-344.

Kabak B, Var I. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M1 problemi. *Gıda* 2004, 29 (4), 275-279.

Kamber U. Aflatoxin m1 contamination of some commercial turkish cheeses from markets in Kars. *Fresenius Environmental Bulletin* 2005, 14, 11.

Karagözlü N, Karagözlü C. Süt Ve Süt Ürünlerinde Okratoksinler, Süt Mikrobiyolojisi Ve Katkı Maddeleri, *VI. Süt Ve Süt Ürünleri Sempozyumu*, Tekirdağ, 2000, 390-398.

Kaya G. Süt Ürünleri Ve Bebek Mamalarında *Enterobacter Sakazakii*(*Cronobacter Spp.*) Varlığının Araştırılması Ve Gelişmesine Sıcaklık Ve Şeker Çeşitlerinin Etkisi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İstanbul, 2011, 15.

Koçak D. Şanlıurfa İlindeki Anne Sütü Örneklerinde Aflatoksin M1 Varlığının Belirlenmesi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 2016, 18.

- Kurtzman CP, Horn BW, Hesseltine CW.** *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin- producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus Tamaritii*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1987, 53, 147-158.
- Landrigan PJ, Sonawane B, Mattison D, McCally M, Garg A.** Chemical contaminants in breast milk and their impacts on children's health: An overview. *Environmental Health Perspectives* 2002, 110, A313–A315.
- Li Z, Ge W, Li K, Gan J, Zhang Y, Zhang Q, Xi M.** Prevalence and characterization of *Cronobacter sakazakii* in retail milk-based infant and baby foods in Shaanxi, China. *Foodborne pathogens and disease* 2016, 13(4), 221-227.
- Lombard MJ.** Mycotoxin exposure and infant and young child growth in Africa: what do we know? *Annals of Nutrition and Metabolism* 2014, 64, 2, 42-52.
- Madalı B, Ayaz A.** Aflatoxin M1 in dairy products: Exposure and health risks. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi* 2017, 4, 1.
- Magan N, Olsen M.** Mycotoxins In Food, *Woodhead Publishing*, 2004, 61, 274-276.
- Maragos CM, Greer JL.** Analysis of aflatoxin B1 in corn using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Journal of agricultural and food chemistry* 1997, 45(11), 4337-4341.
- Martins ML, Martins HM.** Aflatoxin M1 in yoghurts in Portugal. *International Journal of Food Microbiology* 2004, 91(3), 315-317.
- Meerdink G.** Mycotoxins. *Clinical Techniques in Equine Practice* 2002, 1, 89–93.
- Meucci V, Razzuoli E, Soldani G, Massart F.** Mycotoxin detection in infant formula milk in Italy. *Food Additives & Contaminants* 2010, 27, 64–71.
- Mohammadi H.** A Review Of Aflatoxin M1, Milk, And Milk Products, *Aflatoxins – Biochemistry and Molecular Biology Journal*, 2011, 978-953-307-395-8.
- Murphy PA, Hendrich S, Landgren C, Bryant CM.** Food mycotoxins: An update. *Journal of Food Science* 2006 71, 51–65.

Nora N, Feltrin AC, Sibaja K, Badiale-Furlong E, Garda-Bufferon J. Ochratoxin A reduction by peroxidase in a model system and grape juice. *Brazilian Journal of Microbiology* 2019, 50, 10.1007/s42770-019-00112-3.

Oliveria CP, Soares NFF, Oliveria TV, Junior JCB, Silva WA. Aflatoxin M1 occurrence in ultra high temperature (UHT) treated fruit milk from Minas Gerais, Brazil. *Food Control* 2013, 30, 90-92.

Omar S. Aflatoxin M1 levels in raw milk, pasteurised milk and infant formula. *Italian Journal of Food Safety* 2016, 5, 158-160.

Oruç HH. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M1 (AFM1) ve Türkiye'deki durumu. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2003, 22 (1-2-3), 121-125.

Özçelik S, Sağdıç O. Gıdalarda Ve Yemlerde Toksik Küflerin Gelişimi Ve Mikotoksin Oluşumu. *Mikotoksinler Biyoteknolojisi Sorunlar ve Çözümler Çalıştayı*, İzmir, 17-20 Haziran 2003, 1-9.

Özkaya Ş, Başaran A, Topuz F, Akdemir Ç. Türkiye'de Üretilen Sütlerde Aflatoksin M1 Aranması, *Ulusal Mikotoksin Sempozyumu*, İstanbul, 18-19 Eylül 2003, 93-98.

Özkaya Ş, Taydaş EE, Başaran A, Avcı B, Hızlı S. Tarım Ve Köy İşleri Bakanlığı Ankara İl Kontrol Laboratuvarı Aflatoksin Analiz Kurs Notları, Ankara, 7-14 Ağustos 1999.

Özkaya Ş, Temiz A. Aflatoksinler: kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 2003, 1(1), 1-21.

Pei SC, Zhang YY, Eremin SA, Lee WJ. Detection Of Aflatoxin M1 In Milk Products From China By ELISA Using Monoclonal Antibodies *Food Control* 2009, 20 (12), 1080-1085.

Peña-Méndez E, Tomas H, Havel J, Patocka J. Capillary electrophoresis determination of huperzine A: A new prospective anti-dementia drug. *Journal of Applied Biomedicine* 2003, 1. 10.32725/jab.2003.015.

Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin Of World Health Organization* 1999, 77, 754-766.

Phillips TD, Kubena LF, Harvey RB, Taylor DR, Heidelbaugh ND. Hydrated sodium calcium aluminosilicate: a high affinity sorbent for aflatoxin. *Poultry science*, 1988, 67(2), 243-247.

Pitt JI, Hocking AD. *Aspergillus Flavus* Link, In: *Fungi And Food Spoilage*, Blackie Academic And Professional, UK, 1997.

Pitt JI. Fungal Ecology And The Occurrence Of Mycotoxins, In *Mycotoxins And Phycotoxins*, Wageningen Academic Publishers, Netherlands, 2004, 33-36.

Raiola A, Tenore GC, Manyes L, Meca G, Ritieni A. Risk analysis of main mycotoxins occurring in food for children: An overview. *Food and Chemical Toxicology* 2015, 84, 169–180.

Rastogi S, Dwivedi PD, Khanna SK, Das M. Detection of Aflatoxin M1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Control* 2004, 15, 287-290.

Reyneri A. The Role of Climatic Condition on Micotoxin Production in Cereal. *Vet Res Commun*, 2006, 30, 87-92.

Richard JL. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses - An overview. *International Journal Of Food Microbiology* 2007, 119, 3-10.

Rozman KK, Klaassen CD. Absorption, Distribution, And Excretion Of Toxicants, Casarett And Doll's Toxicology, The Basic Science Of Poisons, New York, 2001, 107-132.

Sadeghi N, Oveisi M, Jannat B, Hajimahmoodi M, Bonyani H, Jannat F. Prevalence of aflatoxin M1 in human breast milk in Tehran, Iran. *Food Control* 2009, 20, 75–78.

Samarajeewa U, Sen AC, Cohen MD, Wei CI. Detoxification Of Aflatoxins In Foods And Feeds By Physical And Chemical Methods, *Journal Of Food Protection* 1990, 53(6), 489-501.

Samson RA, Visagie CM, Houbraeken J, Hong SB, Hubka V, Klaassen CH, Varga J. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in mycology* 2014, 78, 141-173.

Sarimehmetoğlu B, Kuplulu O, Çelik TH. Detection of aflatoxin M1 in cheese samples by ELISA. *Food Control* 2004, 15 (1), 45-9.

Scheideler SE. Effects of various types of aluminosilicates and aflatoxin B1 on aflatoxin toxicity, chick performance, and mineral status. *Poultry Science* 1993, 72(2), 282-288.

Sherif SO, Salama EE, Abdel-Wahhab MA. Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2009, 212, 347–368.

Shundo L, Navas SA, Lamardo LCA, Ruvieri V, Sabino M. Estimate of aflatoxin M1 exposure in milk and occurrence in Brazil. *Food Control* 2009, 20, 655– 657.

Sibaja KVM, Gonçalves KDM, Garcia SDO, Feltrin ACP, Nogueira WV, Badiale-Furlong E, Garda-Buffon J. Aflatoxin M1 and B1 in Colombian milk powder and estimated risk exposure. *Food Additives & Contaminants: Part B* 2019, 12, 2, 97–104.

Silva RA, Chalfoun SM, Silva MAM, Pereira MC. Inquerito sobre o consumo de alimentos possíveis de contaminação por micotoxinas na ingesta ~ alimentar de escolares da cidade de Lavras, MG. *Ciencia e Agrotecnologia* 2007, 31, 439-447.

Smiley RD, Draughon FA. Preliminary evidence that degradation of aflatoxin B1 by *Flavobacterium aurantiacum* is enzymatic. *Journal of food protection* 2000, 63(3), 415-418.

Smith JE. Mycotoxins, Food Chemical Safety Volume 1, Contaminants, Ed, Watson, D.H. Wood Head Publishing Limited And CRC Pres LLC, 2001, 322-324.

Songli L, Li M, Gang W, Dagang L, Nan Z, Jiaqi W. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk from manufacturers of infant milk powder in China. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2018, 15 (5), 879.

Sweeney MJ, Dobson ADW. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology* 1998, 43, 141–158.

Şahin T, Şehu A. Yemlerde Mikotoksinler ve Toksinleri Azaltma Yolları. *Turkiye Klinikleri Animal Nutrition and Nutritional Diseases-Special Topics* 2005, 1(1), 54-65.

Tabata S. Aflatoxins And Related Compounds Encyclopedia Of Dairy Microbiology, Academic Press, London, 2002, 2087-2095.

Tchana AN, Moundipa PF, Tchouanguiep MT. Aflatoxin contamination in food and body fluids in relation to malnutrition and cancer status in Cameroon. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2010, 7, 178-188.

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

Tirmenstein MA, Mangipudy R. Aflatoxin, Encyclopedia Of Toxicology, 2014, 104-106.

Torkar KG, Vengušt A. The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M1 in raw milk and cheese in Slovenia. *Food control* 2008, 19(6), 570-577.

Tsakiris I, Tzatzarakis M, Alegakis A, Vlachou M, Renieri E, Tsatsakis A. Risk Assessment Scenarios Of Children's Exposure To Aflatoxin M1 Residues in Differe, 2013.

Tunail N. Mikrobiyel Enfeksiyonlar Ve İntoksikasyonlar, Gıda Mikrobiyolojisi Ve Uygulamaları, Ankara, 2000.

Turner N, Subrahmanyam S, Piletsky S. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica chimica acta.* 2009, 632. 168-80. 10.1016/j.aca.2008.11.010.

Türk Gıda Kodeksi Bebek Formülleri Tebliğ, T.C. Resmi Gazete, 15 Ağustos 2014, Sayı: 29089.

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ, T.C. Resmi Gazete, 29 Aralık 2011, Sayı: 28157.

Uylaşer V, Karaman B, Kazancı YT. Mikotoksinler ve insan sağlığına etkileri. *Hasad* 2005, 21(244), 43-48.

Van Kessel TFM, Hiang-Chek NG. Aflatoxin binders-how to get the best value for money." *International Poultry Production* 2004, 12(4), 33-35.

Var I, Kabak B, Özkarslı M. Mikotoksin Aranmasında Kullanılan Analiz Yöntemleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 2004, 2(11): 1-11.

Virdis S, Scarano C, Cossu F, Spanu V, Spanu C, De Santis EPL. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci isolated from goats with subclinical mastitis. *Veterinary medicine international*, 2010.

WEB_1. Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı. 2014, <https://www.tarimorman.gov.tr>, (21.08.2019).

WEB_2. Türkiye Cumhuriyeti Devlet Teşkilatı Merkezi Kayıt Sistemi. 2012, <https://kms.kaysis.gov.tr>, (07.11.2019).

Whitaker J. Foreword. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* 2001, 1.

Whitlow LW, Hagler WM. Mycotoxins in dairy cattle: Occurrence, toxicity, prevention and treatment. *Proc Southwest Nutr Conf*, 2005, 124-138.

WHO. World Health Organization. Principles for evaluating health risk from chemicals during infancy and early childhood: the need for a special approach. International Program on Chemical Safety. Geneva: Environmental Health Criteria 59, 1986.

Wilson N, McMaster N, Gantulga D, Soyars C, McCormick S, Knott K, Schmale D. Modification of the mycotoxin deoxynivalenol using microorganisms isolated from environmental samples. *Toxins* 2017, 9(4), 141.

Yalçın R, Asım KART. Fumonisin: Adverse effects on human and animal health. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2019, 6(2), 95-108.

Yaroğlu T, Oruç HH, Tayar M. Aflatoxin M1 levels in cheese samples from some provinces of Turkey. *Food Control* 2005, 16 (10), 883-885.

Yentür G, Er B. Gıdalarda aflatoksin varlığının değerlendirilmesi. *Türk Hijyen Ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2012, 69 (1), 41-52.

Yiannikouris A, Poughon L, Cameleyre X, Dussap CG, Francois J, Bertin G, Jouany JP. A novel technique to evaluate interactions between *Saccharomyces cerevisiae* cell wall and mycotoxins: Application to zearalenone. *Biotechnology Letters*, 2003, 25, 783-789.

Yu W, Zheng H, Houl JH, Dauwalder B, Hardin PE. PER-dependent rhythms in CLK phosphorylation and E-box binding regulate circadian transcription. *Genes & development*, 2006, 20(6), 723-733.

EKLER

Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği EK 1.

(¹) Meyve, sebze ve hububat için Türk Gıda Kodeksi – Pestisitlerin Maksimum

Kalıntı Limitleri Yönetmeliğinde yer alan sınıflandırma esas alınır. Buna göre; karabuğday (*Fagopyrum spp.*) hububat ve karabuğdaydan elde edilen ürünler ise hububat ürünleri kapsamında değerlendirilir. Meyveler için belirlenen maksimum limitler sert kabuklu meyveleri kapsamaz.

(³) Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar.

(⁴) Maksimum limit; üretici tarafından beyan edilen kullanım talimatına göre hazırlanan veya doğrudan tüketime hazır olarak piyasaya arz edilen ürünler için geçerlidir.

(⁵) GTİP 1201, 1202, 1203, 1204, 1205, 1206, 1207 kapsamındaki yağlı tohumları ve GTİP 1208'den üretilen ürünler; GTİP 1207 99 kavun tohumu hariç

(⁶) Maksimum limit; yerfıstığı ve sert kabuklu meyvelerin yenilebilir kısımlarına uygulanır. Yerfıstığı ve sert kabuklu meyveler kabuklarıyla analiz edilirse Brezilya fıstığı hariç, aflatoksin miktarı hesaplanırken tüm bulaşanın yenilebilir kısım üzerinden olduğu kabul edilir.

(⁷) İşlenmiş ürünlerin tamamı veya hemen hemen tamamı bahse konu sert kabuklu meyvelerden üretiliyorsa bu sert kabuklu meyveler için belirlenen maksimum limit; işlenmiş ürünü için de kullanılır. Aksi halde 6 ıncı maddenin birinci, ikinci ve üçüncü fıkraları uygulanır.

(⁸) Hayvansal Gıdalar için Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliğinde tanımlanan ürünleri kapsar.

(⁹) Maksimum limit; kuru madde üzerinden geçerlidir. Kuru madde, mikotoksin limitlerinin resmi kontrolü için gıdalardan numune alma, numune hazırlama ve analiz metodu kriterleri ilgili mevzuatında belirtilen şekilde hesaplanır.

(¹⁰) Bebek formülleri ve devam formülleri ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar.

(¹¹) Özel tıbbi amaçlı diyet gıdaları ilgili mevzuatında tanımlanan ürünleri kapsar.

(¹²) Maksimum limit; süt ve süt ürünleri için üretici tarafından beyan edilen kullanım talimatına göre hazırlanan veya doğrudan tüketime hazır olarak piyasaya arz edilen ürünlere uygulanırken süt ve süt ürünleri dışındaki ürünler için ise kuru madde üzerinden geçerlidir. Kuru madde, mikotoksin limitlerinin resmi kontrolü için gıdalardan numune alma, numune hazırlama ve analiz metodu kriterleri ilgili mevzuatında belirtilen şekilde hesaplanır.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı	: OK Mustafa Talha
Uyruk	: T.C.
Doğum yeri ve tarihi	: Sakarya / 03.02.1993
E-mail	: talhaokk@yandex.com
Yabancı Dil	: İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Kastamonu Üniversitesi-B Sınıfı İş Sağlığı ve Güvenliği	2018-Halen
Lisans	Anadolu Üniversitesi-İktisat Fakültesi-Kamu Yönetimi	2016-Halen
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi	20.06.2016

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
01.05.2018-Halen	MEGALAB Mühendislik LTD. ŞTİ.	Ege Bölge Koordinatörü
29.03.2016-02.05.2017	MEGALAB Mühendislik LTD. ŞTİ.	Gıda Kontrol Bölüm Mühendisi
29.03.2016-25.09.2016	GÜRİŞ HOLDİNG-GÜRMAT-İDRİS YAMANTÜRK Elektrik Üretim A.Ş.	HPLC Tracer Test Manager
01.06.2013-01.09.2013	Sakarya-Opet Akarhan Akaryakıt A.Ş.	Gece Vardiya Müdürü

2012-2016 Eğitim Dönemlerinde	Adnan Menderes Üniversitesi-Ziraat Fakültesi	Kısmi Zamanlı Asistanlık
01.06.2012-01.09.2012	Sakarya-Opet Akarhan Akaryakıt A.Ş.	Gece Vardiya Müdürü

AKADEMİK YAYINLAR

1.MAKALELER

2. PROJELER

TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Yurt İçi Araştırma Projeleri Destek Programı 2014-1.Dönem, Proje No: 1919B011401204, Proje Adı: Keçi Sütünden Yoğurt Üretiminde Süt Esaslı Protein Konsantratlarının Kullanım Olanaklarının Araştırılması, (Proje Yürütücüsü). Bkz. <https://yadi.sk/i/6PwS1VvB3WidfJ>

TÜBİTAK 2209-A Üniversite Öğrencileri Yurt İçi Araştırma Projeleri Destek Programı 2014-1.Dönem, Proje No: 1919B011401204, Proje Adı: Keçi Sütünden Yoğurt Üretiminde Süt Esaslı Protein Konsantratlarının Kullanım Olanaklarının Araştırılması, TARGİD 2015 - 2. İç Anadolu Bölgesi Tarım ve Gıda Kongresinde Poster sunumuna hak kazanmıştır.

Bkz. <http://www.targid2015.org/poster5.pdf> 43. Sunum.

1.Ulusal Sütçülük Kongresi Poster Sunumu, Bildiri No: Poster-84, S: 102, Ankara 25-26 Mayıs 2017.

Bkz. <https://yadi.sk/i/FqOfUIHH3Jf7vp>

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

Clostridium perfringens ve Gıda Güvenliği, Mustafa Talha OK, Ayşe Demet KARAMAN.
1.Ulusal Sütçülük Kongresi Poster Sunumu, Bildiri No: Poster-84, S: 102, Ankara 25-26 Mayıs 2017.

Bkz. <https://yadi.sk/i/FqOfUIHH3Jf7vp>