



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ ANABİLİM DALI
VHB – YL – 2011 - 0004**

**DENİZLİ VE AYDIN İLLERİNDEN ELDE EDİLEN
ÇİĞ SÜTLERDE AFLATOKSİN M₁
PREVALANSI VE MİKTARININ ARANMASI**

Ayşe HAZER

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ergun Ö. GÖKSOY

AYDIN - 2011

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESİN HİJYENİ ANABİLİM DALI
VHB – YL – 2011 - 0004**

**DENİZLİ VE AYDIN İLLERİNDEN ELDE EDİLEN
ÇİĞ SÜTLERDE AFLATOKSİN M₁
PREVALANSI VE MİKTARININ ARANMASI**

Ayşe HAZER

DANIŞMAN

Doç. Dr. Ergun Ö. GÖKSOY

AYDIN - 2011

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğrencisi Ayşe HAZER tarafından hazırlanan “ Denizli ve Aydın illerinden elde edilen çiğ sütlerde aflatoksin M1 prevalansı ve miktarlarının aranması“ başlıklı tez, 26/07/2011 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

Üniversitesi :

İmzası:

1- Doç.Dr. Ergun Ömer GÖKSOY

ADÜ Veteriner Fak.

2- Doç.Dr. Filiz KÖK

ADÜ Veteriner Fak.

3- Yrd.Doç.Dr. Serap SAVAŞAN

ADÜ Veteriner Fak.

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

Doç. Dr. Muharrem BALKAYA
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Süt, halk sağlığı ve beslenmesi açısından stratejik bir önemem sahiptir. İnsanın doğumundan ölümüne kadar her yaş grubunda ve her dönemde tüketilmektedir. Sahip olduğu yüksek besin değeri vazgeçilmezliğini arttırmaktadır.

Gıda sektöründe başlı başına bir ürün gibi değerlendirilmesinin yanı sıra peynir, yoğurt, bebek mamaları, dondurma, bisküvi, çorba, tarhana, tatlı gibi benzer gıdaların üretiminde yararlanılmaktadır.

Halk tarafından bu kadar çok tüketilen bir besinin olması, sütün daha fazla kontrol edilmesini gerektirmektedir. Çiftlikten fabrikaya ulaşana kadar pek çok kontaminasyon riskiyle karşı karşıya kalınmaktadır. Mikrobiyolojik kirlenmenin yanı sıra aflatoksinler gibi toksik maddelerle kirlenme söz konusu olabilmektedir.

Önemli bir kansorejen ve teratojen olan aflatoksinlerle kirlenme ise büyük oranda, henüz süt ineğin memesinden çıkmadan gerçekleşmektedir. Bebek mamasından, yoğurt, peynir gibi ülkemizde çokça tüketilen gıdaların hammaddesi olan süt, yaralarının yanında bu tür bir kirlenme için büyük riskte oluşturmaktadır.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL VE ONAY.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
GİRİŞ.....	1
1.GENEL BİLGİLER	2
1.1 Sütün Tanımı ve Özellikleri.....	2
1.2 Sütün Mikroflorası ve Sütün Kontaminasyon Nedenleri.....	5
2. MİKOTOKSİNLER VE MİKOTOKSİKOZİS.....	6
2.1 Mikotoksinlerin Oluşumu	13
2.3 Mikotoksin oluşumuna etki eden faktörler	14
2.4 Başlıca Mikotoksinler.....	16
2.4.1 Okratoksinler	16
2.4.2 Trikotesenler.....	18
2.4.3 Ergot Alkaloidleri.....	18
2.4.4 Patulin.....	19
2.4.5 Zearalenon.....	19
3. AFLATOKSİNLER VE ÖZELLİKLERİ.....	20

3.1 Aflatoksinlerin toksititesi ve halk sağlığına etkiler.....	23
3.2 Aflatoksinlerin biotransformasyonu.....	25
3.3 Süt ve süt ürünlerinde Aflatoksinler	26
3.4 Yasal düzenlemeler	29
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	33
4.1 Süt Örneklerinin Hazırlanması	33
4.1.1 Numunenin Toplanması.....	33
4.1.2 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Prensibi.....	34
4.1.3 Süt örneklerinin ELISA İçin Hazırlanması.....	34
4.1.4 ELISA	34
4.1.5 Mikrobiyolojik Analizler	35
5. BULGULAR.....	36
5.1 Aflatoksin Değerleri	36
5.2 Mikrobiyolojik Analizler.....	38
TARTIŞMA	39
SONUÇ.....	42
ÖZET.....	43
SUMMARY.....	44
KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ.....	56

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AF	Aflatoksin
AFB ₂	Aflatoksin B ₂
AFB ₁	Aflatoksin B ₁
AFG ₂	Aflatoksin G ₂
AFG ₁	Aflatoksin G ₁
AFM ₁	Aflatoksin M ₁
AFM ₂	Aflatoksin M ₂
ELİSA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
IARC	Uluslar arası Kanser Araştırma Örgütü
ng	Nano Gram
nm	nano metre
ppb	Parts per billion
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
TS	Türk Standartı
UV	Ultra Viole

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1. Çeşitli Tür Sütlerin Ana Besin Öğeleri Ortalama miktarı.....	3
Çizelge 2. Sütte Bulunan Besin Öğeleri ve Bunların İnsan İçin Günlük İhtiyaç Miktarları..	4
Çizelge 3. Mikotoksin çeşitleri, bunların kaynakları, hedef hayvan, doku veya organlar ve etkileri.....	11
Çizelge 4. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	21
Çizelge 5. Türkiye’de Gıdalarda Bulunmasına İzin Verilen Aflatoksin Düzeyleri.....	30
Çizelge 6. Avrupa Birliği’nde Gıdalarda Bulunmasına İzin Verilen Aflatoksin Düzeyleri.....	31
Çizelge 7. İncelenen sütlerdeki AFM ₁ değerleri.....	37
Çizelge 8. İncelenen sütlerde mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1 <i>Aspergillus parasiticus</i> 'un elektron mikroskobundaki görüntüsü.....	20
Şekil 2 Bazı Aflatoksinlerin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 3 Reaktif metabolitlerin ve biyogöstergelerin oluşumuna aracılık eden AFB1 metabolizması.....	26

GİRİŞ

Süt toplum beslenmesinde ve sağlığının korunmasında çok önemli yeri olan hayvansal bir besindir. Önem arz etmesinin ilk nedeni, onun her yeni doğan yavrunun ilk ve temel besini olmasından kaynaklanır. İnsanın doğumundan ölümüne kadar geçen yaşam sürecinin her devresinde, başlangıçta anne sütü ve daha sonra diğer tür sütleri, en önemli gıdadır. İkinci neden, birçok ürünün ana maddesini oluşturmasıdır; içme sütü, yoğurt, peynir, tereyağı, kaymak, süt tozu, kazein vb. gibi ürünler. Üçüncü neden ise birçok gıdanın hazırlanmasında zenginleştirici, besin değerini ve kalitesini arttırıcı olarak kullanılmasıdır. Bu amaçla süt, doğal şekliyle kullanıldığı gibi bileşimine giren maddelerin biri veya birkaçı birlikte kullanılabilir; süt tozu, kazein, serum proteinleri, süt yağı gibi besin maddeleri bebek mamaları, dondurma, bisküvi, çorba, tarhana, tatlı gibi benzer gıdaların üretiminde yararlanılmaktadır (Kılıç 2010).

Aflatoksinler, bazı Aspergillus türleri tarafından üretilen, çeşitli tarım ürünlerinde bulunabilen, potansiyel olarak karsinojenik ve teratojenik etkiye sahip bir mikotoksin grubudur. Aflatoksin M₁ (AFM₁), Aflatoksin B₁ (AFB₁) ile kontamine yemleri tüketen laktasyondaki hayvanların sütlerinde bulunur, AFB₁'in karaciğerde biyotransformasyonu sonucu oluşan, temel metabolitidir ve meme bezlerinden süte geçmektedir. Süt ve süt ürünlerinde AFM₁ bulunması; bu ürünleri daha çok tüketen bebek ve çocuklar açısından oldukça önem arz etmektedir. Çünkü bebek ve çocuklar mikotoksinlerin olumsuz etkilerine karşı oldukça hassastır. Bu nedenle, birçok ülke, AFM₁'e maruz kalma riskini azaltmak amacıyla çeşitli araştırma ve kontrol programları uygulamaktadır. Her ülke kendi şartlarını göz önünde tutarak, yemlerdeki AFB₁ düzeyine sınırlama getirmiş, süt ve süt ürünlerinde, maksimum bulunabilecek AFM₁ düzeylerini belirlemiş veya önermiştir. Türkiye'de de, süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM₁ ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış ve süt ve peynirlerde, insan sağlığı için risk oluşturabilecek düzeylerde AFM₁ bulunabileceği rapor edilmiştir (Oruç 2003).

Bu çalışmanın amacı Aydın ve Denizli İllerinde lokalize olan çiftliklerden elde edilen inek sütlerinde AFM₁ varlığı ve düzeyleri ile Toplam Mezofilik Canlı Mikroorganizma miktarları ile maya ve küf sayılarını araştırmaktır. Bu çalışma ile çiftlikten sofraya gıda güvenliği konsepti içerisinde çiğ sütlerin AFM₁ varlığı ve düzeyleri

ile hijyenik kaliteleri değerlendirerek halk sağlığı üzerine olabilecek potansiyel etkileri değerlendirilecektir.

1.GENEL BİLGİLER

1.1. Sütün Tanımı ve Özellikleri

Türkiye'de gıda standartları açısından yetkili kurumlar olan Türk Standartları Enstitüsü (TSE) ile T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı (yeni adıyla T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı) Türk Gıda Kodeksi ile sütü tanımlamıştır. Türk Standartları (TS) 1018 çiğ inek sütü tarifine göre: İnekten sağılarak elde edilen, 40°C'nin üstünde ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi bir işlem görmemiş ve ön ısıtma işlemine tabi tutulmamış ve ağız sütü (kolostrum) dışındaki meme bezi salgısı. Türk Gıda Kodeksine göre ise çiğ süt; bir veya daha fazla inek, keçi, koyun veya mandanın sağılmasıyla elde edilen, 40°C' in üzerine ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısıdır. Pratik anlamdaysa süt, dişi memeli hayvanların yeni doğurdukları yavrularını besleyebilmek üzere, süt bezlerinde hayvan türlerine göre, farklı sürelerde salgılanan, içinde yavrunun kendi kendisini besleyecek bir duruma gelinceye kadar almak zorunda olduğu tüm besin maddelerini gerekli oranlarda bulunduran, porselen beyazı (beyaz-krem) renginde, kendine has tat ve kokusu olan bir sıvıdır. Sütün esas fonksiyonu, yeni doğan memeli yavrunun gelişmesini, yaşayabilmesini ve dış etkilere karşı kendini koruyabilmesini garanti altına almaktır. Bu nedenle memeli hayvanların yaşadığı çevre koşullarına göre sütlerin bileşiminde az çok farklılıklar vardır (Metin 2008). Çeşitli türlere ait sütlerin ana besin öğeleri ortalama miktarlar Çizelge 1'de verilmiştir.

Süt, organizmanın gelişmesi ve yaşamını devam ettirebilmesi için gerekli olan besin unsurlarının hemen hepsini içerir. Bu nedenle süt, eski devirlerden beri en çok tüketilen besin maddelerinden biri olmuştur. Süt, yapısındaki besin unsurları açısından ideal bir gıda maddesi olarak kabul edilmektedir. Süt proteinleri, yaşam için büyük önem taşıyan eksojen aminoasitlerin tümünü içerdiğinden yüksek biyolojik değere sahiptir. Bu özelliğinden dolayı biyolojik değeri düşük bitkisel proteinlerin yanında tamamlayıcı unsur olarak çok önemli bir yer almaktadır (Turan 1990). Sütte bulunan besin öğeleri ve bunların insan için günlük ihtiyaç miktarları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 1. Çeşitli tür sütlerin ana besin öğeleri ortalama miktarı

Süt Türü	Kuru Madde(%)	Süt Yağı(%)	Protein (%)	Laktoz (%)	Kül (%)
İnsan	12,4	3,8	1,0	7,0	0,2
İnek	12,6	3,7	3,4	4,7	0,7
Manda	17,2	7,4	3,5	5,4	0,8
Koyun	19,3	7,4	5,5	4,8	1,0
Keçi	13,2	4,5	3,2	4,1	0,8
Kısrak	11,2	1,9	2,5	6,2	0,5
Fil	23,4	14,3	4,9	3,4	0,8
Eşek	12,0	1,8	2,5	6,1	0,5
Köpek	24,9	10,5	12,2	1,3	0,9
Deve	13,6	4,5	3,6	5,0	0,7
Ada Tavşanı	30,6	10,5	15,5	2,0	2,6
Kedi	17,9	3,3	9,1	4,9	0,6
Fare	30,9	14,8	11,8	2,8	1,5
Domuz	20,5	8,8	7,3	3,3	1,1
Ren Geyiği	33,3	16,9	11,5	2,8	1,4
Balina	37,5	22,0	12,0	1,8	1,7

(Metin 2008)

Çizelge 2- Sütte bulunan besin öğeleri ve bunların insan için günlük ihtiyaç miktarları

Besin Öğesi	Günlük İhtiyaç	Bir Litre Sütteki Miktarı
Protein	68-80 g	36 g
Yağ	70 g	35 g
Karbonhidrat	500 g	47 g (laktöz)
Vitamin A	5000 IU	1500 IU
Vitamin D	400 IU	30 IU
Vitamin B1	1,0-1,4 mg	0,45 mg
Vitamin B2	1,8 mg	1,5 mg
Vitamin B6	2 mg	0,4 mg
Vitamin B12	2 µg	3 µg
Vitamin C	75 mg	2 mg
Niasin	13-18 mg	0,7 mg
Kalsiyum	0,8-2,0 g	1,2 g
Fosfatlar	Ca/P oranına göre	2,1 g
Demir	10-15 mg	0,5 mg
Sodyum	2 g	0,5 g
Potasyum	3 g	1,5 g
Magnezyum	0,1 g	0,12 g
İyot	50-150 µg	43µg
Kalori	2.000-3.200 kal.	650 kal

(Patır 2001)

1.2. Sütün Mikroflorası ve Sütün Kontaminasyon Nedenleri

Sütte bakteriyel bulaşma genel anlamda 3 şekilde olmaktadır. Bunlardan birincisi meme başının dış kısmından, ikincisi meme lobunun içinden (meme lobu enfeksiyonu), üçüncüsü ise sağım donanımlarından olan bulaşmalardır. Bunlara ilave olarak düşünülen dördüncü bir faktörde soğutmadır. Soğutma işlemi doğrudan sütteki mikroorganizma sayısını etkilemekle beraber, işlemler sırasında süte giren bakterilerin çoğalma hızını yavaşlatarak total bakteri sayısını değiştirmektedir (Baştan 2002).

Çiğ sütteki toplam canlı organizma sayıları çeşitli faktörlerin etkisiyle önemli ölçüde değişebilmektedir. İlk olarak, memenin iç yüzeyinde ve/veya süt kanallarının da şekillenen mikroorganizma varlığı sütün toplam canlı mikroorganizma sayısını etkilemektedir. Kontaminasyon düzeyi sağlıklı hayvanlarda dahi 10^2 - 10^3 kob/ml arasında değişebilmektedir (IDF 1997). Ancak bu gibi düşük değerlere rutinde ulaşmak mastitis de hesaba katıldığında pek mümkün görülmemektedir. İkinci olarak, çiğ süt meme başı ve/veya sağım sistemi kaynaklı kontaminasyona uğrayabilmekte, sağım koşullarına ve hijyene dikkat edilmesi halinde bile mililitresinde 10^4 mikroorganizma içermesi beklenen sütün mikrobiyel yükü bu aşamada ciddi oranda artabilmektedir. Üçüncü olarak soğutma sütün mikrobiyel yükünü önemli bir şekilde etkileyebilmektedir. Genel olarak $+4^{\circ}\text{C}$ civarında soğutma koşullarında depolanan çiğ sütte mikroorganizma sayısı ml'de 10^4 - 10^5 organizma civarında tutulabilmektedir. Sütte şekillenen duyuşal olarak hissedilebilir ölçütlerde ki değişiklikler sütün mikrobiyel yükünün ml'de 10^6 - 10^7 mikroorganizma bulunduğu durumlarda ortaya çıkmaktadır. Bu değişikliklerin düzeyi ortamdaki mikroorganizmaların türleri ile aktivitelerine bağılı olarak değişmektedir (Kınık ve ark. 2000).

Sağıımı takiben sütün kontamine eden mikroorganizma florası bulaşma odaklarına göre değişiklik gösterebilmektedir. Süt; dışkı ve hayvan derisi ile koliformlar, Bacillus, Clostridium ve Salmonella ile; topraktan Streptomyces, sporlu bakteriler, küf saporları ile; yataklık ve yemlerden banal flora, Lactobacillus türleri, *Clostridium butyricum* ve *Clostridium tyrobutyricum* (slaj kökenli) ile; sağım ekipmanları ve sütün depolandığı kaplardan laktik flora, micrococcus türleri, lactobacillus türleri, Chromobacterium, Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium türleri, Acinetobacter ve maya türleri ile; personel kaynaklı olarak Staphylococcus türleri, solunum jermleri, fekal kontaminantlar

yoluyla; kontamine olabilmektedir. Kontaminasyon kaynakları arasında ayrıca hava, su ve çeşitli vektörler örn. böcekler de yer almaktadır (Kılıç 2010).

Maya ve küfler doğada çok yaygın olarak bulunmaktadırlar. Süte bu etkenler kontamine olabilmekte ve gerek sütün mikrobiyolojik kalitesine ve gerekse de süt ve ürünlerinin kalitelerine olumsuz etki etmektedirler. Maya ve küfler ayrıca teknolojik olarak bazı fermente süt ürünlerinin hazırlanmasında, bazı fermentasyonların geliştirilmesinde ve yine bazı peynirlerin olgunlaştırılmasında rol oynamaktadırlar. (Kılıç 2010).

2. MİKOTOKSİNLER VE MİKOTOKSİKOZİS

Mikotoksinler, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* başta olmak üzere bazı mantarların belirli nem ve ısı koşullarında oluşturdukları fungal metabolitlerdir (Tanker ve ark. 1995, Soyöz ve Özçelik 2002). En sık karşılaşılan mikotoksinler aflatoksinler, okratoksin, trikotesen, zearalenon, patulin ve fumonisin olarak sıralanabilir (Huwing ve ark.2001). Mikotoksin adı verilen bu eksojen metabolitler, mantar anlamına gelen *myco* ve zehir terimini karşılayan *toxin* kelimelerinin birleştirilmesiyle türetilmiştir (Şanlı 1995). Mikotoksin alımına bağlı olarak şekillenen klinik tabloya “mikotoksikoz” denir. Ancak bu klinik tablonun tanımlanması oldukça güçtür. Bir veya çoğunlukla birden fazla semptomla karakterize bir durumdur. Mikotoksikozda görülen belirtilerin şiddeti, etkilerin, görülen hastalıkların tipi, genel olarak maruz kalınan mikotoksin türü, miktarı, birden fazla mikotoksin varlığının yanı sıra vücut ağırlığı, fiziksel ve beslenme durumu gibi kişisel özelliklere bağlı olarak farklılıklar gösterebilir (Steyn ve Stander 1999).

Mikotoksinli yemlerin tüketimi sonucu hayvanlarda akut ve kronik zehirlenme, verim kaybı, ağırlık artışında azalma ve immunosupresyona neden olur. Ayrıca mikotoksinler genotoksik etkilerinin yanı sıra, aflatoksin, okratoksin ve fumonisin gibi mikotoksinlerin çeşitli kanser tiplerinin oluşumunda rol oynaması ve bu hayvanlardan elde edilen besinler aracılığı ile insanlarda meydana getirecekleri sorunların boyutu nedeniyle halk sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir (Sonal ve Oruç 2000, Kaya 2001, Yiannikouris ve Jouany 2002).

Bu toksinler, bakteriyel toksik maddelerin aksine daha düşük moleküler yapıya sahip olup, ısıya ve asitlere dayanıklı, hayvan vücudunda antijenik etki göstermemektedirler. Çok yönlü kimyasal yapılarına göre, hepato-nefro-kardiodermo ve

nörotoksik, immün suppürasif, östrojen, karsinojen ve teratojen etki göstermektedirler (İmren ve Şahal 1997).

Mikotoksinleri üreten mantarlar rüzgâr ve hava akımlarıyla taşınarak her yerde (atmosferin çeşitli katmanları da dahil) bulunabilirler (Concon 1988, Steyn ve Stander 1999). Bu da; küf sporlarının bitki, gıda ve yemlerin yanı sıra hava, su, toprak gibi yollarla da bulaşabileceğini göstermektedir. Bu sporlar üreyip gelişebilmekte ve gelişme fazının sonunda miselleri içinde mikotoksin sentezlenmektedirler. Mikotoksinli yemleri yiyen hayvanların et, süt, yumurta gibi ürünlerinin veya doğrudan mikotoksinli bitkinin insanlar tarafından tüketilmesi sonucunda da insanlara mikotoksin bulaşması şekillenmektedir (Tunail 2000, Whitlow ve Hagler 2001, Mavuş 2003). Mikotoksin kontaminasyon düzeyi iklim koşullarına, ürünün cinsine ve coğrafi konuma bağlı olarak mevsimden mevsime, yıldan yıla farklılık gösterebilir. Steyn ve Stander (1999), Dünyadaki mahsullerin dörtte birinin mikotoksin ile kontaminasyon riskinin olduğu bildirilmiştir.

Bu gün 110.000'i aşkın mantar türü izole ve identifiye edilmesine ve gıda ve yemler çok çeşitli küflerin saldırısına hedef olmasına rağmen, incelenen bu binlerce küf türünden büyük çoğunluğu mikotoksin oluşturmamaktadır. Mikotoksin üreten küf sayısının bugün yaklaşık olarak 350 civarında olduğu ve bunların 300 çeşitten fazla mikotoksin sentezleyebildikleri belirlenmiştir. Bunlardan da sayılarının 20-25 civarında olan bir kısmının doğada yaygın olarak bulunduğu bildirilmektedir. Mikotoksin üreticisi olarak en çok bilinen küfler *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* türleridir (Şanlı 1995, Gilbert ve Anklam 2002, Whitlow ve Hagler 2002, Yiannikouris ve Jouany 2002).

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

Küflerin insan ve hayvanlarda hastalık etkeni olduklarına, hatta sporadik veya toplu bir şekilde ölümlere neden olabildiğine ilişkin ilk bilgiler M.Ö. dönemlere kadar uzanmaktadır. Bilinen ilk mikotoksikozis, çavdar ve diğer tahıl tanelerinde üreyen *Claviceps purpurea*'nın salgıladığı, hallusinogenik etkiye sahip ergot alkaloidinden kaynaklanan ve "Ergotizm" olarak adlandırılan mikotoksikozistir. M.Ö. 600 yılında

çavdarmahmuzu adı ile anılan *Claviceps purpurea* sklerotialarıyla kontamine tahılların zararlı etkilerinden Asur tabletlerinde yer almıştır. M.Ö. 400 yılında Sparta'da ilk toplu zehirlenmeye ilişkin kayıtlar bulunmuştur (Uylaşer ve Başoğlu 1992, Bakırcı 1995, Yiannikouris ve Jouany 2002, Kuhn ve Ghannoum 2003). Orta çağ Avrupası'nın da Kutsal Ateş veya St. Anthony's Fire, Aziz Antonius Humması olarak da bilinen Ergotizm, uzun yıllar boyunca görülmüştür. Binlerce insanın ölümüne neden olan bu hastalıkta, *Claviceps purpurea*'nın ürettiği çavdarların unundan yapılan ekmeği yiyen insanlar hastalığa yakalanmıştır. Hastalıkta yüksek ateş, el, kol, ayak, bacaklar ile el ve ayak parmaklarında nekroz ve gangrenler belirti olarak görülmekte fakat hastalığın nedeni bilinmemektedir. Şifa bulmak için manastır ve kiliselere koşan hastalar, buralarda kontaminasyonun gerçekleşmediği tahıllardan tüketerek hastalıktan kurtulmuş, bu olayı ise kilisenin mucizesi olarak kabullenmişlerdir. Hastalığa ergot alkaloidinin neden olduğu ise ancak 19. yüzyılda ortaya konulmuştur. Ergotizm 9. ile 18. yüzyıllar arasında sık görülmekle birlikte, 1925 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde, 1926–1927 yıllarında İngiltere'de, 1928 yılında Rusya'da ve en son olarak da 1978 yılında Etiyopya'da görülmüştür (Van Egmond 1989, Uylaşer ve Başoğlu 1992, Bakırcı 1995, Hopmans 1997, Tunail 2000, Ender 2001, Gürses 2002, Özmenteşe 2002, Kuhn ve Ghannoum 2003). Diğer bir mikotoksikozis olayı, Rusya'nın Orenburg bölgesinde ikinci dünya savaşı yıllarında (1942–1944) görülmüştür. *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* türleri ve özellikle de *Fusarium graminearum*'la bulaşık tahıllardan (bugday, darı, çavdar) yapılan ekmeklerin yenmesi sonucu meydana gelen hastalık “Alimenter Toxic Aleucia (ATA)” olarak adlandırılmıştır. Savaş nedeniyle hasat yapılamadığı için kışı kar altında geçiren tahılları yiyen evcil hayvanlar ve insanlarda hastalık meydana gelmiştir. Bu olayda hastalığın çıktığı bölgelerde halkın ortalama %10'u hatta bazı bölgelerde ise %60'a yakın bir kısmı hastalıktan etkilenmiş ve binlerce insan ölmüştür. Hastalanan kişilerde deride nekroz, hemoraji, kemik iliği harabiyeti ve lökopeni görülmüştür. Günümüzde ise bu hastalıkta *Fusarium graminearum*'un T-2 toksininin yanında trikotesenlerin de ölüme rol oynadığı bilinmektedir (Tunail 2000, Ender 2001, Özmenteşe 2002, Mavuş 2003).

Japonya'da sarı pirinç tüketimi ile ortaya çıkan bir hastalık, 1890 yılından beri Japon patoloji uzmanları tarafından bilinmesine rağmen, bu olayın aydınlanması 1960'lı yılları bulmuştur. İkinci dünya savaşı yıllarında da Japonya'da ortaya çıkan evcil hayvanların pirinç yemeleri sonucu hastalanmaları ve karaciğer tahribatı ile sonuçlanan hastalık “Sarı Pirinç Hastalığı” olarak adlandırılmıştır. Günümüzde ise artık, sarı

pirinçlerde *Penicillium citreoviridae*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium islandicum* ve *Penicillium rugulosum* türleri ile bunların oluşturdukları luteosikrin, sitrinin ve sitreoviridin gibi mikotoksinlerin hastalığa neden oldukları bilinmektedir (Tunail 2000, Ender 2001, Özmenteşe 2002).

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

1960 yılında İngiltere'de 100.000'den fazla hindi palazının ölümüne, Amerika Birleşik Devletleri'nde de 1.000.000 genç alabalığın (Forelle) ölümüne neden olan bir hastalık olayının araştırma sonuçları, olayın bir mikotoksikozis olduğunu göstermiş ve hastalığa "Turkey X Disease" ya da "Hindi X Hastalığı" adı verilmiştir. Yapılan araştırmada, İngiltere'ye Brezilya'dan getirilen, küflenmiş yer fıstığı küspelerinin katıldığı yemlerin hindiler tarafından yenmesi ile meydana gelen hastalığa; *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* tarafından salgılanan toksinlerin neden olduğu ortaya çıkmıştır. Bu olaya kadar meydana gelen mikotoksikozis vakaları çok önemsenmemiş ve sıradan hastalıklar olarak görülmüştür. Fakat çok sayıda ölüme neden olan Hindi X Hastalığı ile mikotoksinlere ve özellikle de aflatoksinlere karşı büyük bir ilgi ve merak oluşmuş, araştırmalar bu yönde yoğunlaşmıştır. 1960 yılında meydana gelen bu vaka mikotoksikozis olayları için tam bir dönüm noktası olmuştur. Aslında 1910 yılında bir araştırmacının küflenmiş Brezilya cevizinden *Aspergillus flavus*'u izole ettiğini ve bunun toksisiteye neden olduğunu bildirdiği halde bunun üzerinde çok fazla durulmadığı, 1980 yılında yapılan bir çalışma ile bu konunun doğrulandığı bildirilmektedir (Bakırcı 1995, Hopmans 1997, Kardeş 2000, Seyrek 2001, Akdemir 2001, Ender 2001, Whitlow ve Hagler 2001, Gürses 2002, Özmenteşe 2002; Mavuş 2003, Agag 2004).

Mikotoksinler farklı küf türleri tarafından sentezlenebildiği gibi bir küf türü de aynı anda farklı mikotoksinler sentezleyebilmektedir. Bu sebeple mikotoksinleri sentezlendikleri küf cins veya türlerine göre sınıflandırmak mümkün değildir. Mikotoksinler, daha çok mikotoksin çeşitlerinin ilgi gösterdikleri organlara ve böylece oluşturdukları patolojik bozukluklar ile başlıca klinik belirtilere göre veya karmaşık

belirtilerden oluşan klinik sendromlara göre gruplandırılarak incelenir. Mikotoksinler hepatotoksik, nefrotoksik, hematopoetik, östrojenik, dermatokik, neuotoksik, immunsupresif etkili mikotoksinler olarak gruplandırılabilir (Şanlı 1995).

Besin ve yemlerde bulunarak insan ve hayvan sağlığı açısından risk taşıyan mikotoksinler ve bunların kaynakları ile beraber, hedef organ ve dokuları Çizelge 3’de özetlenmiştir (Kaya 2001).

Çizelge 3. Mikotoksin çeşitleri, bunların kaynakları, hedef hayvan, doku veya organlar ve etkileri (Kaya, 2001).

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

Çizelge 3'devamı. Mikotoksin çeşitleri, bunların kaynakları, hedef hayvan, doku veya organlar ve etkileri (Kaya, 2001).

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

2.1. Mikotoksinlerin Oluşumu

Genellikle tahıl çeşitlerinde tek hücreli mantarların aşırı ölçüde çoğalmasıyla ilgili olarak kullanılan “küf” sözcüğü bir sınıflandırma terimi değildir. Çoğunlukla bu saprofit nitelikli mantarların invazyonuna bağlı olarak tarımsal ürünlerin ve hazır yiyeceklerin bozularak tozlu ve lifli bir görünüm alması “küflenme” olarak nitelenir (Şanlı 1995). Yem veya besin maddesindeki mantar sayısına göre, o maddenin kalitesi hakkında az çok fikir sahibi olunabilir. Buna göre, 1 g’daki toplam mantar sayısı 5.000’e kadar olan yem ve yem hammaddeleri son derece iyi, 5.000–50.000 arasında olanlar iyi, 50.000–500.000 arasında olanlar orta, 500.000’in üzerinde olanlar ise zayıf kaliteli ve son derece tehlikeli olarak kabul edilir. 1 g yemdeki mantar sayısı 1.000.000’nu aştığında küflenme gözle görülür hale gelir (Kaya 2001). Küflenmenin gerçekleşebilmesi için öncelikli şart küf sporunun ortamda bulunmasıdır. Küf sporlar doğada hava ve su ile kolay bir şekilde yayılarak bulaşmaya neden olurlar. Gelişmelerine uygun şartları bulduklarında çoğalarak yem ve besinleri küflendirirler. Gelişmelerine uygun şartlar yok ise yıllarca spor formunda kalabilirler. Yani küfler tarafından her zaman ve her ortamda mikotoksin sentezi yapılamaz. Mikotoksin sentezi için o küfe ait şartların oluşması gerekir (Tunail 2000, Kaya 2001, Whitlow ve Hagler 2005). Ancak mikotoksinler, mantarlar öldükten sonra da yem ve besinlerde uzun süre kalırlar. Gıda ve yem maddelerinde, görülebilir bir küflenme olmadığında bile mikotoksinler tehlikeli düzeylerde bulunabilir. Normal pişirme ve işleme uygulamaları sırasında, özellikle aflatoksinler olmak üzere, mikotoksinlerin önemli bir kısmının parçalanmadan kalması, insan ve hayvan sağlığı açısından konunun önemini daha da artırmaktadır (Kaya 2001).

Tarımsal ürünler, karma yemler ve hazır besinlerin küflenmesine yol açan mantarları kaynaklarına göre başlıca üç grupta toplamak mümkündür. Bunlardan en önemlisi büyüme aşamasında fitoparazit olarak bitkilere yerleşen ve hasattan önce yaygınlaşan, ekim alanlarına bağlı mantar florasıdır. Hasat sonucunda kirletici olarak tarımsal ürünlere yansıyan alan veya tarla alan florası nispeten düşük rutubet (%62) ve 20°C’ dolaylarında ambar koşullarında gelişerek, bileşimi değişmek suretiyle, depolama veya ambar florasına dönüşür. Bu şekilde gelişen flora genellikle *Aspergillus*, *Fusarium* ve *Penicillium* türlerinden oluşur. Üçüncü olarak ise depolama koşullarının mantar çoğalması bakımından daha uygun hale gelerek süreklilik kazanmasıyla var olan veya dış ortamdan yansıyan mantar florası ilerleyen bir bozulma ve yayılma florası niteliğine dönüşür. Bu tip

florada başlıca *Aspergillus*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Papuluspora* ve *Sordia* türleri hakim florayı oluşturur (Şanlı 1995).

Türkiye gibi subtropik iklim kuşağındaki ülkelerde, hasat mevsimi ve hava sıcaklığına bağlı olarak, soğuk ve nemli ülkelere nazaran daha az küflenme meydana gelir. Avrupa ülkeleri ve Kanada gibi daha kuzeyde bulunan, nemli ve soğuk ülkelerde besin ve yem maddelerinin, özellikle tahıl ve daneli yemlerin, özellikle kurutma tesislerinde belli bir rutubet oranına kadar kurutulmuş olarak depolanmaları, küf olgusunun şekillenmesi önlemesi bakımından oldukça önemlidir (Tunail 2000).

2.3. Mikotoksin Oluşumuna Etki Eden Faktörler

Mantar çeşitlerinin gelişmesi, çoğalması, küflenme olgusunun şekillenmesi ve mikotoksin çeşitlerinin sentezlenebilmesi; toksijenik mantar çeşitlerinin fiziksel varlığına ve bileşimine, gelişip çoğalma yönünden uygun besinsel ortamın varlığına ve uygun çevresel koşulların bulunmasına bağlıdır. Ancak bu üç temel etmenin gelişmesine olanak sağlayan başlıca hazırlayıcı ve yapıcı koşulları aşağıdaki gibi özetlenebilir (Şanlı 1995).

Rutubetin Etkisi: Fungal etkinin ve çoğalmanın başlayabilmesi için gerekli olan çevresel koşulların başında rutubet gelir. Genellikle kserofil nitelikli mantar sporlarının gelişebilmesi için ortam havasındaki oransal rutubetin %50 veya daha yüksek ve çoğalma ortamındaki rutubet içeriğinin de %10'nun üstünde olması gerekir (Şanlı 1995). Küflerin üremesi ve toksin sentezleyebilmesi için gereken rutubet oranları birbirinden farklıdır. Küflerin üreyebilmesi için gereken rutubet oranı toksin salgılayabilmeleri için gereken rutubet oranından daha düşüktür. Ortamın rutubeti arttıkça gıdanın da içerdiği rutubet ve su aktivitesi (a_w) değeri artar. Küflerin kullanımına uygun, gıda içinde bağlı olmayan suyu ifade eden su aktivitesi (a_w) değeri, besinin rutubeti konusunda yüzde (%) su içeriğine göre daha geniş bilgi sunar. A_w 0.90-0.80 küf gelişimi için, a_w 0.90-0.85 toksin oluşumu için optimum değerlerdir. A_w 0.80'in altında *Aspergillus*'lar gibi kserofilik küfler gelişir. A_w 0.75'in altında çoğalan küfler depo küfleri olarak tanımlanır. Küf gelişimi a_w 0.65'den aşağıda çok yavaşlar. Su aktivitesi a_w 0.90'ın üzerinde olan ortamlarda ise bakteri ve mayalar daha etkili olur ve ortamdaki besin maddelerini kendileri için kullanırlar. Ancak su aktivitesinin a_w 0.90'ın altına düşmesiyle küfler ortama hakim hale gelir. (Şanlı 1995, Tunail 2000, Uğur ve ark. 2001, Metin ve Öztürk 2006).

Sıcaklığın etkisi: Sıcaklığın mikotoksin oluşumuna çok önemli etkileri vardır. Ortam ısı özellikle mantar florasının büyüme hızı ve metabolik etkinlikleri üzerine etkili olur. Her toksin için farklı sıcaklık dereceleri geçerlidir. Küflerin optimum gelişme sıcaklıkları 20–40°C’dir. Büyük çoğunluğu en iyi 25–26°C arasında ürer. Bazı küfler ise -15°C’ye kadar olan düşük ısılarda da çoğalma kabiliyetine sahiptir. Örneğin aflatoksinlerin oluşum sıcaklığı 25–30°C arasında iken 5 ila 40°C arasında etkinliğini gösterebilmektedir. *Penicillium expansum* tarafından oluşturulan patulin için 20–25°C, *P. rubrum* tarafından oluşturulan rubratoksin için 25–30°C, *Aspergillus ochraceus*’un oluşturduğu okratoksin için 20–25°C en uygun toksin oluşum sıcaklıklarıdır. Buna karşılık, *Penicillium* cinsinin psikrofilik türlerinin 5–10°C gibi düşük sıcaklıklarda okratoksin sentezlediği saptanmıştır. *P. cambeti* tarafından siklopiazonik asit üretimi 20–25°C’de maksimum seviyede iken 4°C’de 100 defa daha az üretilir. Ancak küf üremesinin görüldüğü her sıcaklık derecesinde mikotoksin üretiminin olmayabileceği unutulmamalıdır (Jarvis 1971, Uğur ve ark. 2001, Kılıç 2010).

Oksijen ve karbondioksitin etkisi: Mantar türleri sıkı bir şekilde aerob yaşam biçimine bağımlıdır. Ortamdaki oksijenin %1’in altına düşürülmesiyle küf gelişimine paralel olarak toksin üretimi de azalır. Ancak üremeleri ve mikotoksin sentezlemeleri için oksijene olan ihtiyaçları bakımından mantar türleri arasında önemli farklar bulunabilmektedir. Şöyle ki ortamın oksijen yoğunluğunun %45’den %1’e düşürülmesi veya karbondioksit yoğunluğunun %10’dan daha yukarı çıkartılması *Aspergillus flavus*’un üremesini ve aflatoksin sentezini önemli seviyede azaltır. Ortamdaki karbondioksit yoğunluğu % 20’nin üzerine çıkarıldığında ise küflerin üremesi ve toksin sentezleri önemli ölçüde etkilenir (Şanlı 1995, Kaya 2001, Kılıç 2010).

Besin çeşidinin ve yapısının etkisi: Besin maddesinin çeşidi ve fiziksel durumu fungal gelişme, çoğalma ve mikotoksin çeşitlerinin sentezi üzerinde etkili olur. Küfler, üremeleri için organik karbonlara ve diğer enerji kaynaklarına ihtiyaç duyarlar. Glikoz ve diğer düşük molekül yapısına sahip monosakkaridler ile suda çözünebilen organik maddeleri besin kaynağı olarak kullanabilirler. Ayrıca, küflerin üreyip toksin sentezleyebilmeleri için pepton, polipeptid ve aminoasitler gibi organik maddeleri azot kaynağı olarak kullanmaya ve kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), potasyum (K), demir (Fe), çinko (Zn), fosfor (P) gibi elementlere ihtiyaçları vardır. Karbonhidrat ve yağ bakımından zengin gıda ve yem maddeleri küflerin üreyip toksin sentezleyebilmeleri için

uygun ortamlardır. Özellikle mısır, buğday, arpa, yulaf, pirinç gibi ürünler ile yer fıstığı, fındık, ayçiçeği, soya fasulyesi, pamuk tohumu gibi yağlı ürünlerde küfler sıklıkla üremekte ve mikotoksin sentezlemektedirler. Bunun yanı sıra özellikle yem maddelerinde bulaşmanın tarlada başladığı göz önüne alınırsa gerek hasat ve gerekse işleme aşamasında fazlaca mekanik hasar görmüş veya çeşitli parazitlerin hücumuna uğramış ve fizik bütünlüğünü yitiriş tarımsal ürünlerin mantar invazyonlarına karşı direnci bütünüyle kaybolur (Şanlı 1995, Kaya 2001, Yaroğlu 2002, Kuhn ve Ghannoum 2003, Agag 2004).

pH'nın etkisi: Küfler pH 2,1-11,2 gibi geniş bir aralıkta üreyebilmelerine karşın, pH 3,0-8,0 arasında optimum üremeleri gerçekleşmektedir. Ancak genel bir kural olarak bazik ortamlara göre hafif asit pH'lı gıdalar fungal etkinlikler için daha uygun ortam oluşturur. Optimum seviyede aflatoksin pH6,0'da üretilir (Şanlı 1995, Kılıç 2010).

Diğer etkiler: Depolama süresinin uzunluğu üreme ve mikotoksin sentezinin artmasına neden olmaktadır. Şartlar uygun olduğu takdirde 2-4 gün içerisinde küflenmeyle beraber mikotoksin ile kirlenme oluşabilmektedir. Bunun yanı sıra 16-24 günlük bir süreçte aflatoksin miktarı dört katına çıkabilmektedir (Kaya 2001).

Tarlada yetişen ürünlerin zamanında hasat edilmemesi, yağışlı ve rutubetli iklim koşullarının oluşması, depoların yeteri kadar ışık almaması, havalandırmanın yeterli olmaması, ortamda birden fazla parazit veya mantar türünün mevcut olması gibi etkenler küflerin üremesini ve mikotoksin sentezleme oranlarını etkilemektedir (Kaya 2001, Yaroğlu 2002, Yiannikouris ve Jouany 2002).

2.4. Başlıca Mikotoksinler

Burada halk sağlığını tehdit eden önemli mikotoksinlerden bahsedilmiştir. Halk sağlığını en ciddi şekilde tehdit eden aflatoksinler ayrıca bir konu başlığı altında inceleneceği için buraya alınmamıştır.

2.4.1. Okratoksinler

Okratoksinler doğada oldukça sık rastlanan *Aspergillus* ve *Penicillium* grubu küflerin değişik tür ve suşları tarafından üretilen mikotoksinlerdir. Okratoksini sentezleyen küfler, *A. ochraceus*, *A. melleus*, *A. sulphureus*, *P. verrucosum* ve *P. palitans* olarak bilinmektedir (Baudrimont ve ark. 2001, Arbillaga ve ark 2007). Okratoksin A (OTA) neden olduğu patolojik durumlar itibariyle oldukça önemli bir okratoksidir. OTA'nın

Danimarka'da domuzlarda görülen bir tür nefropatiden ve kümes hayvanlarındaki mikotoksikozdan sorumlu olduğu, Balkan endemik nefropatisinde (BEN) ve Kuzey Afrika'da yaygın görülen üriner sistem tümörlerinde rol oynadığı düşünülmektedir (Ruprich ve Ostry 1993, Steyn ve Stander 1999, Lau ve ark 2000).

OTA'nın insan sütünde de gözlenmiş olması emziren annelerin toksini kontamine yiyeceklerden alabileceğini göstermektedir (Steyn ve Stander 1999). Pek çok çalışmada insan kanı, sütü ve böbreğinde OTA bulunmuştur (Petzinger ve Ziegler 2000). İnsanlarda sadece postnatal değil, aynı zamanda prenatal olarak maternal OTA'ya maruz kalma söz konusudur. Ancak fetal dönemde meydana gelen kontaminasyonun sonuçları tam olarak bilinmemektedir (Bruinink ve Sidler 1997).

İnsanların OTA'ya maruziyeti ya doğrudan mantar türünün geliştiği gıdaların veya bunları tüketen hayvan ürünlerinin tüketilmesiyle olmaktadır (Soyöz ve ark. 2004). Okratoksinlerin oluşturdukları klinik tabloya *okratoksikoz* denir. OTA'nın yaptığı renal lezyonlar; proksimal tübülün dejenerasyonu, renal kortekste interstisyel fibrozis, glomerülün hiyalinizasyonu ve tübüler epitelin atrofisi şeklinde görülmektedir. OTA, böbrek hücrelerinde belli bölgeleri inhibe eder ve bu hücrelerdeki apoptotik tipte lezyonun nedenidir (Steyn ve Stander 1999). Sporların solunması da bir diğer kontaminasyon yoludur. OTA'nın immünoşüpresif, hepatonefrotoksik, teratojenik, apoptoz indükleyici, genotoksik ve lipid peroksidasyonu (LPO) artırıcı etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Atroshi ve ark 2000, Soyöz ve ark. 2004). OTA, oluşturduğu DNA kırılmaları, ATP azalmasına bağlı tRNA sentezinin inhibisyonu, protein sentezi inhibisyonu ve glikoneogenez, mitokondride oksidatif fosforilasyonun bozulması (mitokondriyel solunumun inhibisyonu) ve kanın pıhtılaşmasının engellenmesi gibi etkileriyle insan sağlığı için büyük risk oluşturmaktadır. Fatal doza maruz kalma sonucunda renal tübül nekrozu ve periportal karaciğer hücrelerinde pek çok patolojik değişiklik gözlenmiştir (Pitt 2000, Soyöz ve Özcelik 2002, Soyöz ve ark. 2004).

OTA, IARC tarafından "**Grup IIB**" muhtemel karsinojen olarak sınıflandırılmıştır. OTA dolaylı karsinojen mekanizması aracılığıyla epigenetik karsinojen olarak da adlandırılmaktadır. Ancak aynı zamanda DNA'ya doğrudan bağlanabilmesi nedeniyle doğrudan karsinojen olarak kabul edilmektedir (Romani ve ark. 2003, Faucet-Marquis ve ark. 2006).

2.4.2. Trikotesenler

Trikoteseenler, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Myrothecium*, *Verticimonisporium*, *Stachybotris*' in çeşitli türleri tarafından oluşturulurlar ve seskiterpenoit yapısındadırlar (Josephs ve ark. 1998, Steyn ve Stander 1999). Günümüze kültür ortamında 150'ye yakın türevi elde edilmiş bir mikotoksin grubudur. Bunlardan T-2 toksin (T2), HT-2 toksin (HT-2), nivalenol (NIV), deoksinivalonol (DON, vomitoksin, Rd toksin) ve diasetoksiskirpenoldiye bilinen türevleri genellikle doğal kirletici halinde yem ve besinlerde bulunurlar (Kaya 2001).

Fusarium mikotoksinlerinin bazı türleri hayvanlarda nefrotoksik, immünosüpresif, teratojenik ve karsinojenik etki gösterir. Genel olarak mikotoksinlerin immünosüpresif etkisinin temelindeki özellikler tam olarak bilinmiyor olsa da, bazı mikotoksinlerin DNA, RNA ve protein sentez inhibisyonu gibi pek çok farklı mekanizma ile immünosüpresyondan sorumlu olduğu görülmüştür. Trikoteseenler, potansiyel protein sentezi inhibitörüdürler (Berek ve ark. 2001).

Trikoteseenlerin en bilinen toksikozları lökositlerdeki belirgin azalış ile karakterize olan "*Alimentary Toxic Aleukia*" (ATA), skibotrikoz ve akakabi byo hastalığıdır. Trikoteseen kontaminasyonu sebebiyle, 1942-1947 arasında enfeksiyon ve hemoraji dolayı pek çok hastanın öldüğü bildirilmiştir. Semptomlar hematolojik düzensizlikler, trombositopeni, lökopeni ve agranülositoz olarak bildirilmektedir (Froquet ve ark. 2001).

DON, epoksi-seskiterpenoid yapısında, tip-B trikoteseen olan mikotoksindir. Akut maruziyeti anoreksi ve emezise neden olur. IARC, "**Grup III**" karsinojen olarak sınıflamıştır. Trikoteseenlerin sorumlu olduğu ATA, cilt toksisitesi, kemik iliği hasarı, hemoraji ve diğer bazı sendromlar ile karakterizedir (Steyn ve Stander 1999).

2.4.3. Ergot Alkaloidleri

Ergot alkaloidleri (ergotamin, ergokornin, ergokristin ve ergokriptin gibi) *Claviceps purpurea*'nın ana alkaloidleridir ve farmakolojik aktivitesi en yüksek peptidler arasındadır (Steyn ve Stander 1999). Bilinen en eski insan mikotoksikozu olan Ergotizme sebep olur. Orta Çağ'da Avrupa'da *C.purpurea* ile kontamine olmuş çavdar ununun alımı sonucu "St. Anthony ateşi" veya "kutsal ateş" olarak adlandırılan mikotoksikoz oluşmuştur (Steyn ve Stander 1999, Demain 1999). Ergotizm gangren, kramp, konvülsiyon ve halusinasyonlarla

karakterizedir. Günümüzde ergotizme, insanlarda hemen hemen hiç karşılaşılmamasına rağmen hayvan hastalığı olarak *C. paspali* ile kontaminasyon sonucu görülebilmektedir. *C. purpurea* alkaloidleri bitki türleriyle ilişkilidir çünkü neden olan mantar, çavdar bitkisinin spesifik bir patojenidir (Steyn ve Stander 1999).

Bu toksinler günümüzde anjina pektoris tedavisi, hipertoni, migren ağrısı, serebral dolaşım bozuklukları, uterus kontraksiyonu, hipertansiyon, seratonin düzeylerindeki değişikliğe bağlı rahatsızlıklar, prolaktin salımının inhibisyonu, süt salgılanmasının durması doğum sonrası kanamanın azaltılması ve gebeliğin erken döneminde implantasyonun engellenmesi gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Bütün bu fizyolojik etkilerinin yanında bazı ergot alkaloidleri adrenalin, noradrenalin ve seratoninin inhibisyonu ve uterus düz kasların kasılması gibi etkiler gösterirken bazı ergot alkaloidleri de antibiyotik aktivitesi göstermektedir (Demain 1999).

2.4.4. Patulin

Patulin, *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Byssochlamys* mantarlarının çeşitli türleri tarafından üretilen bir mikotoksindir. Çoğunlukla elma, elma suyu veya konsantresinde bulunur. Çürümüş elmalarda bulunan patulin kolayca elma suyuna geçer ve çözünür. Patulin alkali şartlarda kolayca parçalanırken elma vb. meyve özü ve özularındaki asidik ortamlarda oldukça dayanıklıdır (Gökmen ve Acar 2000, Yurdun ve ark. 2001, Kaya 2001).

Patulin, pek çok canlı için toksik bir maddedir. Sülfhidril gruplarına olan afinitesi nedeniyle bazı enzimleri inhibe etmektedir (Gökmen ve Acar 2000, Fliege ve Metzler 2000). Kromozom kırıklıkları ile karakterize çekirdek gelişim bozukluklarından sorumlu tutulmuş ve dolayısıyla karsinojen bir madde olduğu bildirilmiştir (Gökmen ve Acar 2000, Yurdun ve ark. 2001).

2.4.5. Zearalenon

Zearalenon (Zen) *Fusarium* türü mantarlarca üzüm, mısır ve yüksek nem içeriği olan saman yığınlarında sıklıkla üreyen östrojenik yapıli mikotoksindir. Çeşitli çalışmalarda, hem insan diyetinde ve hem de hayvan yemlerinde Zen oluşma insidansı yüksek bulunmuştur. Zen güçlü östrojenik etkisinin yanında karaciğer lezyonlarına neden olmakta, daha ileride hepatokarsinomayı tetikleyebilmektedir (Abbes ve ark. 2006). Mısır, öğütülmüş arpa ve buğday gibi tahılların, *F. gramineorum* ile kontamine edilen zen içerikli

yemin tüketilmesiyle, özellikle domuzda genital problemlere neden olduğu tespit edilmiştir. Semptomlar, prepubertal dönemdeki dişi domuzda vulvada yumru şeklinde ödem veya vajina ve rektumda sarkma şeklindedir. Üreme ile ilgili düzensizlikler, infertilite veya kuru gangren diye ifade edilen doku ölümü, düşük, gelişim bozukluğu gibi durumlar ile karakterizedir (Pitt 2000).

3. AFLATOKSİNLER VE ÖZELLİKLERİ

Aflatoksinler özellikle *Aspergillus flavus* ve *A.parasiticus* (Şekil 1) olmak üzere diğer bazı *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Phizopus* türleri meydana getirilen hepatokarsinojenik, mutajenik, teratojenik metabolitlerdir (Şanlı 1995, Günşen ve Büyükyörük 2001). Bu terim aflatoksin B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ ve M₂ olmak üzere altı çeşit ana bileşiğinin ortak adı niteliğindedir. Aflatoksin M₁ ve M₂ türevleri Aflatoksin B₁ ve B₂'nin sağmal hayvanlarda metabolik değişikliğe uğratılarak sütle atılan şekilleri olarak kabul edilir (Şanlı 1995).



Şekil 1. *Aspergillus parasiticus*'un elektron mikroskobundaki görüntüsü (Kılıç 2010).

Aflatoksinler hakkında ilk bilginin elde edilmesi 1960'lara kadar dayanmaktadır. İngiltere'de, Güney Amerika ve Afrika'dan ithal edilen yerfıstığı küspesi ile beslenen 100.000 hindi palazının ölmesi üzerine yapılan çalışmalarda yemlerden *Aspergillus flavus*

izole edilmiş ve bu organizma tarafından oluşturulan toksin ise aflatoksin (*Aspergillus flavus* Toxin – A-fla-toxin) olarak adlandırılmıştır. Oluşan toksik bileşiklerin yapısı üzerine yapılan çalışmalar sonunda 4 bileşik (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂) ortaya konmuştur (Detroy ve ark 1971, Jay 1992, Karadeniz ve Ekşi 2002).

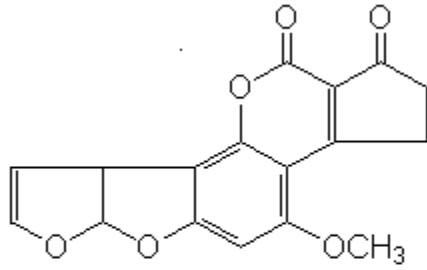
Aflatoksinlerin aldıkları bu harfler ultraviyole ışığı altında verdikleri renklere göre yapılmıştır. İlk olarak, Ultraviyole ışığı (UV) altında mavi renkli floresan veren iki bileşen, aflatoksin B₁(AFB₁) ve aflatoksin B₂ (AFB₂) olarak adlandırılmıştır. Sarı yeşil renkte floresan veren diğer iki bileşen ise G₁ ve G₂ olarak adlandırılmıştır. Daha sonraki dönemlerde aflatoksinli yemleri yiyen laktasyon dönemindeki çiftlik hayvanlarının sütlerinde bu toksinin bir türevinin olduğu ortaya çıkmıştır. Sütte bulunmasından dolayı bu toksine “süt toksini” (milk toxin) anlamında aflatoksin M adı verilmiştir. Aflatoksin M’nin saptanmasının ardından yapılan çalışmalar bu metabolitin B₁ ve B₂’nin hidroksi türevleri olduğu ortaya konmuş ve böylece aflatoksin M₁ (AFM₁) ve M₂ diye iki ayrı bileşik olarak izole edilmiştir. Toksinlere verilen rakamlar ise toksitite derecesini göstermektedir. “1” ile simgelenenler yüksek, “2” ile simgelenenler daha düşük toksititeyi göstermektedir (Sert 1983, Wood 1991, Van Egmond 1994).

Aflatoksin B₂, B₁’in, aflatoksin G₂ de G₁’in dihidro türevleridir ve “in vivo” koşullarda metabolik olarak B₁ ve G₁’e okside olmadıkları sürece biyolojik olarak inaktiftirler. Aflatoksin M₁ ve M₂, aflatoksin B₁ ve B₂’nin hidroksi türevleridir. Aflatoksin M₂ aynı zamanda, dihidro-aflatoksin M₁’dir (Şekil 2) (Özkaya ve Temiz, 2003).

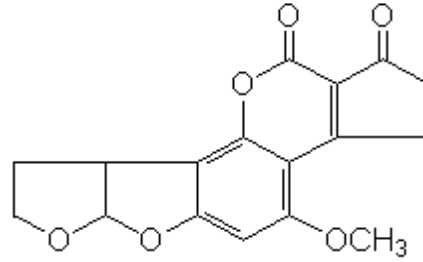
Çizelge 4. Aflatoksinlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri.

Aflatoksin	Molekül formülü	Molekül ağırlığı	Kaynama noktası	Ultraviyole absorpsiyonu	Floresans emisyonu
B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	268-269	21,800	425
B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289	23,400	425
G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	244-246	16,100	450
G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240	21,000	450
M ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299	19,000	425
M ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293	-----	-----

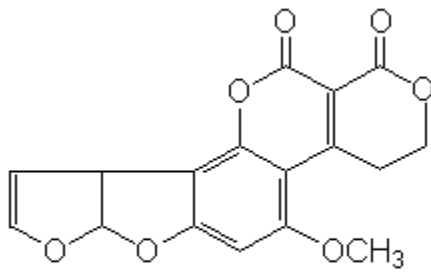
Şekil 2 Bazı aflatoksinlerin kimyasal yapıları (Özkaya ve Temiz 2003)



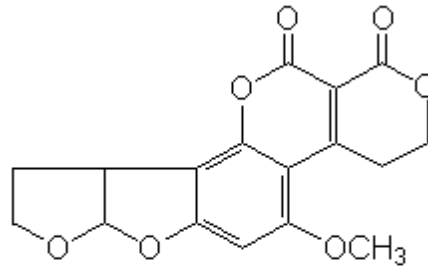
Aflatoksin B₁



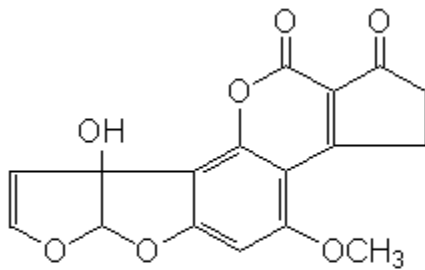
Aflatoksin B₂



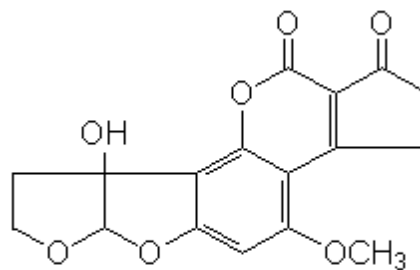
Aflatoksin G₁



Aflatoksin G₂



Aflatoksin M₁



Aflatoksin M₂

Normal çevresel koşullarda oldukça dayanıklı olan aflatoksinler ancak 300°C derecenin üzerinde 25 dakika süreyle pişirilen ekmek veya benzeri koşullar uygulanan karma yemlerin aflatoksin içeriği ancak %60 dolayında azalabilmektedirler (Şanlı, 1995).

Toksinle kontamine olmuş sütlerin işlemleri esnasında ısıtma işlemi, fermantasyon ve kurutma gibi sütün mamul maddeye çevrilmesinde kullanılan yöntemlerin toksini stabilize etmediğinin anlaşılması, AFM₁'in süt ve süt ürünlerinden uzaklaştırılmasında özel yöntemlerin kullanılması gerekliliğini ortaya çıkartmıştır (Yousef ve Marth 1989).

3.1. Aflatoksinlerin Toksikitesi Ve Halk Sağlığına Etkiler

Aflatoksinler, besinlerle birlikte alınan mikotoksin kirliliklerinin insanlara yönelik akut ve kronik toksisite riski yaratma olasılıkları yönünden en fazla incelenen çeşitleridir. İnsan ve bütün hayvan türlerinde çok yaygın ve toplu zehirlenmeler neden olan aflatoksinlerin bilinen en güçlü doğal karsinojen olduğu anlaşılmıştır (Şanlı 1995).

Aflatoksinler, alınma miktarına ve süresine bağlı olarak insanlarda ve hayvanlarda akut, subakut ve kronik tip zehirlenmelere neden olabilmektedirler. Vücuda alınan aflatoksinin neden olduğu mikotoksikozise *aflatoksikozis* adı verilmektedir. Aflatoksikozis, bireysel olmaktan ziyade toplumu ve sürüyü ilgilendiren bir problemdir (Tuınail 2000, Çelik 2001, Creppy 2002).

Bir salgında neden tanımlanamaması, durumun gözden kaçırılmayacak kadar belirgin ve sendromların belirli tipte yiyeceklerle ilişkili olması, antibiyotik veya diğer ilaçlarla tedaviye cevabın düşüklüğü ve salgının mevsimsel olması durumunda aflatoksikozdan şüphelenilmelidir (Busby ve ark. 1984).

Aflatoksinlerle akut zehirlenmelerde hayvanlarda ani ölüm veya iştahsızlık, solunum güçlüğü, burun akıntısı, durgunluk anemi, aksürük, kanlı ishal, çırpınmalar, bitkinlik, akut karaciğer hasarı, kapillar damar dayanıklılığında azalma, organlarda kanama ve hızlı ölümler görülmektedir (Çelik 2001).

Subakut olgularda karaciğer hasarı iştahsızlık, daire, immun sistemde baskılanma, sarılık, hematom, kanamalı bağırsak yangısı ve trombosit sayısında azalma dikkat çekmektedir. Kanın pıhtılaşma yeteneğinin bozulması ve kapillar damarların kolayca

çatlayabilmeleri sonucu vücudun mukoz zarları ve boşluklarında yaygın kanamalar dikkati ekmektedir (Cardwell 1999, Kaya 2001).

Kronik aflatoksikozis de ise besini reddetme, büyüme oranında azalma, yemin değerlendirilmesinde azalma bunlara ilaveten halsizlik, ağırlık kaybı ve hafif daire görülebilmektedir (Cassel ve ark. 1989). Ayrıca burun derisinde kuruma ve soyulma, rektum prolapsı, karaciğer hasarıs serum indikatör enzimler ile bilirubin, kolesterol gibi kan bileşenlerinin seviyesinde yükselme ve abdominal boşlukta ödem ile karakterizedir. Aflatoksinle kontamine yemleri yiyen süt sığırlarında, süt üretiminde azalma olabilmektedir (Harris ve Staples 1992).

Aflatoksinlerin akut ve kronik toksisitelerinde türler arası, bireyler arası ve cinsiyete göre önemli farklılıklar şekillenmektedir. Şimdiye kadar toksisitelerine tamamen dirençli bir hayvan türü bulunmamıştır (Steyn ve ark. 1999). Aflatoksinlere olan duyarlılığın cinsiyete bağlı olup olmadığını araştırmak üzere yapılan deneylerde dişi farelerin erkek farelere göre daha az duyarlı olduğu; bu durumun da östrojenik hormonların koruyucu etkisinden kaynaklandığı saptanmıştır. Toksikite; çevresel faktörler, maruziyet doz ve süresi, yaş, sağlık ve beslenme alışkanlığına göre farklılık gösterebilir (Busby ve ark. 1984).

İnsanlarda kayıtlı akut aflatoksikozis olgularından belki de en önemlisi, 1967'de Tayland'da iki çiftlik kuruluşunda çalışan 26 kişinin açık yiyecek zehirlenmesine maruz kalması ve bunlardan 3'ünün ölmesi şeklinde rapor edilmiştir. Konu ile ilgili çalışmalar ve otopsi sonuçları zehirlenmeye işçilerin tükettikleri aflatoksinle kontamine (200µg/kg) pirincin neden olduğunu göstermiştir. Diğer bir aflatoksikozis olgusu da 1974 yılında Hindistanda şekillenen ve 400 kişiyi etkileyen, etkilenenlerden 100 tanesinin öldüğü aflatoksin ilişkili hepatitis olgusudur (Krishnamachari ve ark. 1975).

Aflatoksinletin halk sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin ortaya çıkmasıyla, 19 Haziran 1993 tarihinde Dünya Sağlık Teşkilatına (WHO) bağlı, Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu (IARC) harekete geçmiş ve AFB₁ birinci dereceden, AFM₂ (insanlar için muhtemel karsinojen madde) ikinci dereceden karsinojen madde grubuna alınmıştır.

Karaciğer kanseri gelişmekte olan ülkelerde çok yaygın olarak görülmekte ve diyetle alınan aflatoksin ile karaciğer kanseri arasında doğrusal bir ilişkinin mevcut olduğu bildirilmektedir (Van Genderen 1997, Omaye 2004). Küflü tahılların tüketilmesi sonucu

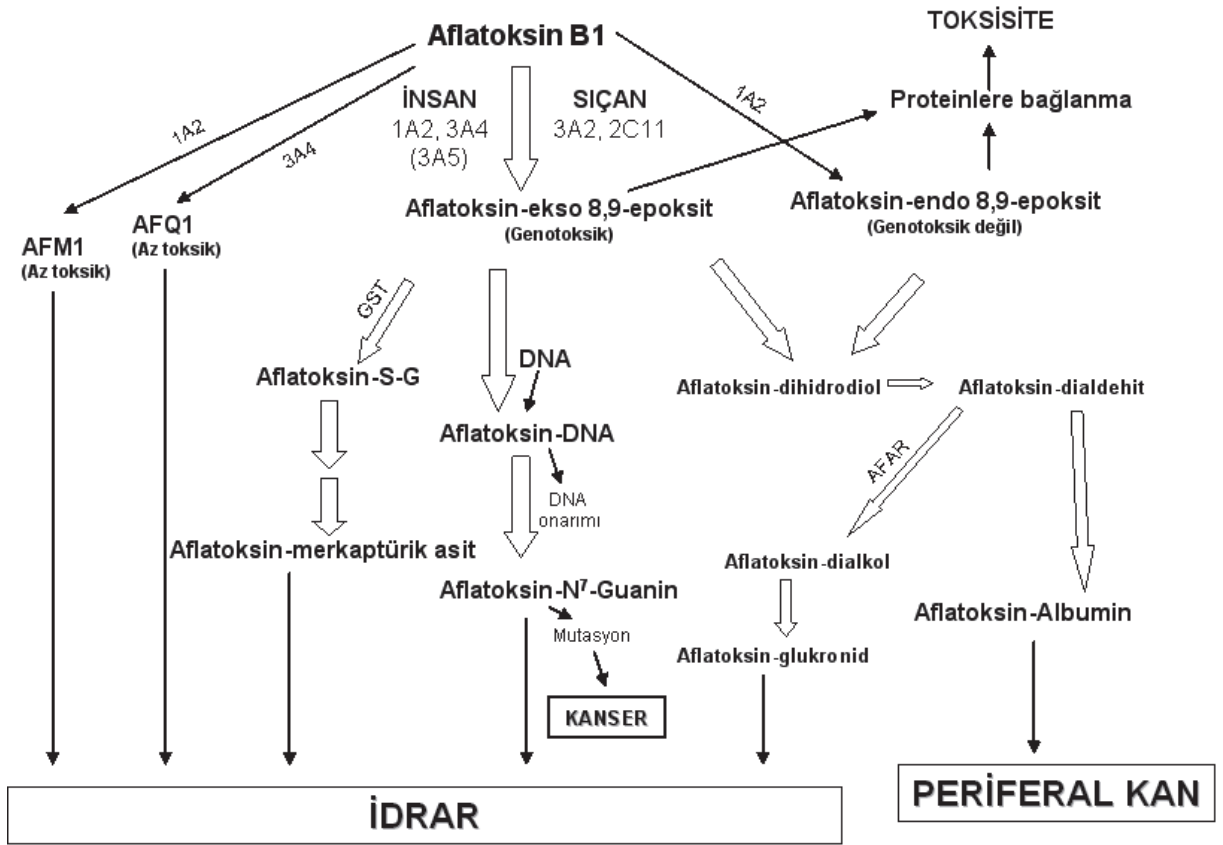
Hindistan'da ve Afrika'da karaciğer kanseri görülme oranının yüksek olduğu bildirilmiştir (Omaye 2004).

3.2. Aflatoksinlerin Biotransformasyonu

Yem ve besinlerle alınan aflatoksinler sindirim kanalında sınırlı ölçüde emilirler. Dolaşıma geçen toksinler plazmadan çabuk ayrılırlar, başlıca karaciğer ve kaslara dağılım gösterirler. Vücuda giren AFB₁'in %85-90'nı ilk 24 saat içinde dışkı (%75), idrar (%15-20) ve sütle değişmemiş metabolitleri halinde atılır. Dışkıyla bu ölçüde atılması ağızdan alınan toksinin sindirim kanalında sınırlı ölçüde emildiğini göstermektedir. AFB₁ vücutta çeşitli metabolik değişikliklere maruz kalmasıyla AFM₁ şekillenir (Kaya 2001).

Aflatoksinler, akut toksik ve karsinojenik etki gösterebilmeleri için oksidatif metabolizmaya uğramalıdır (Stark 2001). Aflatoksin metabolizması, esas olarak karaciğer hücrelerinin endoplazmik retikulumunda bulunan sitokroma bağlı enzimler ile O₂ ve NADPH'a bağımlı enzimlerin karmaşık bir organizasyonu sonucu oluşmaktadır (Groopman ve ark., 1988). Aktivasyon düzeyi, DNA'ya bağlanma, mutasyona uğrama sıklığı ve belirli hücre tiplerinde akut toksik etkilere karşı hassasiyet, sitokrom P-450'nin tipine ve bunların bu hücrelerdeki düzeyine bağlı olarak değişmektedir (Mace 1997, Stark 2001).

Deneysel olarak aflatoksin biyosentezinin toksijenik mantarlarca asetattan başlayarak polihidroksi antrakınon üzerinden dekaketidler, norsolorinik asit, averantin, averufin versikonal asetat, versikolorin A, sterigmatosistin ve aflatoksin B₁ verecek şekilde gerçekleştiği anlaşılmıştır (Şanlı 1995).



Şekil 3 Reaktif metabolitlerin ve biyogöstergelerin oluşumuna aracılık eden AFB1 metabolizması (Sabuncuoğlu ve ark 2008).

Aflatoxin B₁'in süte biyotransformasyonla geçiş yaptığı gibi sütte kısmen oluşabilmektedir. AFM₁, AFB₁'in, AFM₂ de AFB₂'nin.hepatik biyotransformasyonun bir sonucudur. AFB₁'in yemle alınması durumunda sütteki AFM₁ kontaminasyonu hesaplanabilmektedir.

3.3. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoxinler

Bitkisel ürünlere göre bulunma sıklığı ve miktarı az olmakla birlikte hayvansal ürünler içinde aflatoxine en fazla süt ve süt ürünlerinde rastlanmaktadır. Süt ve süt ürünlerinde aflatoxin kontaminasyonu iki kaynaktan köken alır. Bunlardan birincisi laktasyon dönemindeki hayvanların yedikleri yemler ile aldıkları aflatoxin B₁ ve B₂'in süte aflatoxin M₁ ve M₂ şeklinde geçmesidir. İkinci kaynak ise sağımdan sonraki taşıma, işleme ve depolama işlemleri sırasında süt ve süt ürünlerine aflatoxin sentezleyen küflerin bulaşması ve aflatoxin üretmeleriyle olmaktadır (Van Egmond 1983, Blanco ve ark.1993, Barrios ve ark. 1997, Nilüfer ve Boyacıoğlu 2003, Sarımehmetoğlu ve ark. 2004).

Süt veren hayvanların yemlerle beraber aldıkları AFB₁'in hangi oranlarda AFM₁'e dönüştüğünü saptamak amacıyla yapılmış çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar farklı sonuçları işaret etmekle birlikte genel bir yargı olarak, tüketilen yemdeki AFB₁'in %1-3 arasında değişen oranlarda süte geçtiğini bildirilmektedirler (Veldman 1992; Creppy 2002). Pittet (1998) ise bu oranın %6'ya kadar çıkabileceğini rapor etmiştir. AFB₁'in AFM₁'e dönüşüm oranının; hayvandan hayvana, günden güne, bir süt verme döneminden diğerine, sağım zamanına hatta sağım aralığına ve hayvanın süt verim düzeyine bağlı olarak değişebileceği belirtilmektedir (Van Egmond 1989; Veldman 1992).

Sassahara ve ark.(2005), hayvan tüketiminde kullanılan gıda maddelerinde ve de çiğ sütte yaptıkları çalışmada 98 adet hayvan yemi örneğinde (slaj, konsantre yem) AFB ve AFG ve 42 tane çiğ süt örneğinde AFM₁ yönünden analiz etmişlerdir. 27 ticari yem örneğinin 7 (%26) tanesinde, 15 tane hazırlanan yem örneğinin 8'inde (%53), 2 tane mısır kepeği örneğinin ikisinde (%100) aflatoksin kontaminasyonu tespit etmişlerdir. İncelenen 42 çiğ süt örneğinin 10 (%24) tanesinin AFM₁ ile kontamine olduğu bulunmuş ve bunların örneğin 3 tanesinin (%7) ANVISA (The National Health Surveillance Agency Brazil) tarafından belirlenen 0,5 nanogram/litre değerinin üzerinde olduğunu rapor etmişlerdir.

Karakaya (2006), mısır slajında AFB₁ miktarı ve bunun süte aflatoksin M₁ olarak geçme durumunu araştırdığı çalışmasında, incelenen yem örneklerinde aflatoksin B₁ miktarının ortalama 361,12±94,76 ppt ve süt örneklerindeki aflatoksin M₁ miktarının da ortalama 3,85±3,71 ppt olduğu rapor etmiştir. Tüketilen yemdeki aflatoksin B₁'in %1,07'sinin süte aflatoksin M₁ olarak geçtiği saptanılmıştır.

Galvano ve ark. (2001), İtalya'nın dört büyük şehrinden elde ettikleri 161 adet süt örneğinin %78,0'inde ortalama 6,28 ng/L düzeyinde AFM₁ saptamışlar ve süt örneklerinde belirledikleri AFM₁ düzeyinin Avrupa Birliği'nin 1999'da bildirdiği yasal sınırların üzerinde olmadığını ve dolayısıyla halk sağlığı açısından bir problem teşkil etmediğini belirtmişlerdir.

Kamkar (2004), İran'da 111 adet çiğ süt numunesini AFM₁ yönünden analiz etmiş ve numunelerden 85 (%76,6) adedinde 0,015–0,28 ng/L arasında AFM₁ kontaminasyonu bulunmuş ve kontaminasyon düzeylerinin aylara göre farklılık gösterdiği tespit etmiştir. Çalışmada en yüksek kontaminasyonun Aralık ayı ve en düşük kontaminasyonun ise Ağustos ayı sütlerinde olduğu gösterilmiştir. Numunelerin % 40,0'ının ise Avrupa Birliği

tarafından bildirilen maksimum tolerans limiti olan 0,05 ng/L'den daha fazla olduğu rapor edilmiştir.

Süt ürünleri ise AFM₁ ile kontamine süttten yapılmaları ve süt ürünlerinde aflatoksin üreten küflerin üremesine bağlı olarak birkaç aflatoksin çeşidi ile kontamine olabilmektedirler (Van Egmond 1989). Özellikle peynirler, toksijenik *Aspergillus*'un gelişimi için uygun şartların sağlanıldığı durumlarda AFB₁ ve aflatoksinin diğer formlarını da içerebilmektedirler. Süt ve ürünlerindeki aflatoksinin miktarları coğrafi bölgelere, ülkelere ve mevsimlere göre farklılıklar gösterdiği, bahar ve yaz mevsiminde kış mevsimine oranla sütlerde daha az miktarlarda AFM₁ bulunduğu, dolayısıyla bu mevsimlerde yapılan süt ürünlerinde de AFM₁ miktarının önemsenmeyecek düzeylerde görülebileceği bildirilmiştir (Panariti 2001; Kamkar 2004; Birdane ve ark. 2006). Hindistan'da yapılan bir çalışmada köylerde ve şehirlerde beslenen hayvanların sütlerindeki AFM₁ miktarı analiz edilmiş ve AFM₁ konsantrasyonunun en fazla şehirlerde beslenen hayvanlarda ortaya çıktığı bildirilmiştir (Thirumala ve ark. 2002).

Erkan ve ark. (2009), Diyarbakır ilinde üretilen örgü peynirlerinde aflatoksin M₁ varlığını araştırdıkları çalışmalarında, AFM₁ varlığını %46,67 olarak bulmuşlardır. Örgü peynirlerinin %1,44'nün ise Türk Gıda Kodeksinin izin verdiği limitlerin üstünde olduğunu tespit etmişlerdir.

Tajkarimi ve arkadaşları (2008) 2004 yılının yaz ve kış mevsimlerinin Şubat ve Ağustos aylarında süt çiftliklerinden ve süt toplama merkezlerinden 319 çiğ süt örneği toplayarak endüstriyel ve geleneksel çiftliklerin Aflatoksin M₁ düzeylerini kıyaslamışlardır. Her iki tip çiftlikte de kışın tespit edilen kontaminasyon derecesi yazın tespit edilenden yüksek çıkmıştır. Kontaminasyon miktarı kışın alınan örneklerin %30'unda 0,005 µg/kg'dan fazla olmasına rağmen yazın alınan örneklerin %16'sında 0,05 µg/kg'dan fazla çıkmıştır.

Tekinşen ve Uçarın (2008) Türkiye'nin 5 şehrindeki (İstanbul, İzmir, Kayseri, Konya, Tekirdağ) marketlerden elde ettikleri 92 adet yağ ve 100 adet krem peynirde 2005 yıl Mart ve Haziran ayları boyunca AFM₁ prevalansını incelemişlerdir. Tüm yağ (92/92) örneklerinde ve krem peynir örneklerinde %99 (99/100) AFM₁'i saptanabilir düzeyde bulunmuşlardır. Araştırmacılar inceledikleri yağ örneklerinin 26'sında (%28) ve krem peynir

örneklerinin 18'inde (%18) AFM₁ değerlerini TGK'nın kabul edilebilir limitlerinin üzerinde bulmuşlardır.

3.4. Yasal Düzenlemeler

IARC'ın AFB₁ ve AFM₂ için yaptığı 1. ve 2. dereceden kansorejendir açıklaması ülkeleri halk sağlığını korumak amacıyla önlem almaya zorlamıştır. Bugün dünyada hemen hemen bütün ülkeler, bu tehlikelerden korunmak ve ihraç ettikleri ürünlerin geri dönüşüyle meydana gelen ekonomik kayıpları azaltmak amacı ile yasal bazı sınırlamalar getirmektedirler. Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi'nde (TGK, 2009) gıdalar, için aflatoksin limitleri belirlenmiştir. Çizelge 5'de Türkiye'de gıdalarda bulunmasına izin verilen aflatoksin düzeyleri ve Çizelge 6'da ise Avrupa Birliği'nde gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen en yüksek aflatoksin düzeyleri (EC, 2008) verilmiştir.

Çizelge 5. Türkiye’de Gıdalarda Bulunmasına İzin Verilen Aflatoksin Düzeyleri ($\mu\text{g kg}^{-1}$) (TGK, 2009)

No	Gıda Maddeleri	B ₁	Toplam (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂)	M ₁
1	Yerfıstığı (Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8	15	-
2	Fındık, antep fıstığı gibi sert kabuklu meyveler, yerfıstığı, yağlı tohumlar, kuru meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar	-	10	-
3	Tahıllar (Karabuğday (<i>Fagopyrum sp.</i>) dahil ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar (Doğrudan tüketilen veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	2	4	-
4	Mısır (Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5	10	-
5	Çiğ süt, ısıtılmış süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	-	-	0,050
6	Baharatların aşağıdaki türleri için ; - Kırmızıbiber (<i>Capsicum spp.</i>) (Bunların kurutulmuş meyveleri, kırmızıbiberin bütün ve toz hali dahil) - Karabiber (<i>Piper spp.</i>) (Bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) - Hindistan cevizi / Muskat (<i>Myristica fragrans</i>) - Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) - Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>)	5	10	-
7	Tahıl bazlı işlenmiş gıdalar, bebek ve küçük çocuk gıdaları	0,1	-	-
8	Bebekler formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	-	-	0,025
9	Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,1	-	0,025
10	Diğer gıda maddeleri (bulunması muhtemel riskli gıdalar)	5	10	0,5

Çizelge 6. Avrupa Birliği'nde Gıdalarda Bulunmasına İzin Verilen Aflatoksin Düzeyleri ($\mu\text{g kg}^{-1}$) (EC, 2008).

No	Gıda Maddeleri	B ₁	Toplam (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂)	M ₁
1	Yerfıstığı (Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8	15	-
2	Fındık, antep fıstığı gibi sert kabuklu meyveler, yerfıstığı (Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5	10	-
3	Fındık, antep fıstığı gibi sert kabuklu meyveler (Doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan ve bunların işlenmiş ürünleri)	2	4	-
4	Kuru meyveler (Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5	10	-
5	Kuru meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (Doğrudan insan tüketimine veya gıda bileşeni olarak kullanılması düşünülen ve bunların işlenmiş ürünleri)	2	4	-
6	Tüm tahıllar ve bunlardan üretilen ürünler (7,10, 12'de listelenen gıdalar hariç)	2	4	-
7	Mısır (Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5	10	-
8	Çiğ süt, ısıtılmış süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	-	-	0,050
9	Baharatların aşağıdaki türleri için ; - Kırmızıbiber (<i>Capsicum</i> spp.) (Bunların kurutulmuş meyveleri, kırmızıbiberin bütün ve toz hali dahil) - Karabiber (<i>Piper</i> spp.) (Bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) - Hindistan cevizi (<i>Myristica fragrans</i>) - Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) - Zerdeçal (<i>Curcuma longa</i>)	5	10	-
10	Tahıl bazlı işlenmiş gıdalar, bebek ve küçük çocuk gıdaları	0,1	-	-
11	Bebekler formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	-	-	0,025
12	Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,1	-	0,025

Bu çalışmanın amacı Aydın ve Denizli illerinde bulunan 2 kooperatife süt veren 3 çiftlikten elde edilen süt örneklerinde toplam mezofilik aerob mikroorganizma ve maya/küf sayılarının tespiti ile bu örneklerde AFM₁ varlığı ve miktarının belirlenmesidir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada Aydın ve Denizli illerinde bulunan 2 kooperatife süt veren 3 çiftlikten toplam 81 süt örneği incelenmiştir. Numune alımında özellikle kooperatiflerin ve de çiftliklerin seçilmesinin sebebi, bu tarz yerlerin süt soğutma tanklarında depolanan sütün tamamının ulusal düzeydeki pek çok firma tarafından alınması ve hammadde olarak kullanılmasıdır.

Daha önce yapılan deneysel çalışmalarla belirlenen odak noktalarından, 2010 ve 2011 yılının yaz ve sonbahar dönemleri boyunca numuneler toplanmıştır. Numunelerin tümü soğuk zincirde ADÜ Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD laboratuvarlarına getirilmiş ve burada ELISA yöntemi ile AFM₁ varlığı ve miktarları açısından değerlendirilmiştir. Bu amaçla MycomonitorTM Aflatoksin M₁ ticari kitleri kullanılmış ve testler Mindray ELISA sisteminde (MW 12A microplate washer ve MW96Amicroplate reader) ticari kitin kullanım esasları doğrultusunda tamamlanarak sonuçlar ng/L olarak verilmiştir. Ayrıca numunelerde toplam mezofilik aerob mikroorganizma ve maya/küf sayılarında bakılmıştır.

4.1. Süt Örneklerinin Hazırlanması

4.1.1. Numunenin Toplanması

Numunenin toplanmasında IDF (Uluslar Arası Sütçülük Federasyonu)'in uygun gördüğü üzere her biri laklı steril cam kavanozlar kullanılmıştır. Cam kavanozlar 121°C'de 20 dakika otoklava konulmuştur. Vakit kaybetmeden numune alma işlemine başlanmıştır. Numune alma işlemi aseptik şartlar ile ateş altında yapılmış olup bu esnasında her bir numuneye bir kod numarası verilmiş ve kod numarasının karşılık geldiği üretici kooperatif ya da çiftlik ayrıca not edilmiştir.

Alınan tüm numuneler zaman kaybetmeden, soğuk zincir altında (4°C'de) akülü izolasyon kutuları içerisinde ADÜ Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD laboratuvarlarına ulaştırılmış ve ELISA'nın çiğ süt protokolleri uygulanmıştır.

4.1.2. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Prensibi

Mikotoksin analizlerinde en sık kullanılan ELİSA tekniğinde genellikle 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 (Bozoğlu 2005, Bonwick ve Smith 2004). Mikotoksinler antijenik özellik göstermezler. Mikotoksinlerin antijenik özellik göstermeleri için bir protein veya polipeptid zincirine bağlanmaları gerekir. Mikotoksinlerin antijenik özellik göstermeleri için protein olarak genellikle serum albumini, gamma globulin ve polylisine kullanılmaktadır. Okratoksin, patulin ve penisillik asit gibi reaktif gruplara sahip mikotoksinler direk bağlanma reaksiyonları gösterirler. Buna karşın aflatoksin ve trikotesenleri kapsayan birçok toksin ise reaktif gruplara sahip değildirler ve bu nedenle reaktif karboksil veya başka bir grubun öncelikle toksin molekülüne bağlanması gerekmektedir (Chu 1984)

4.1.3. Süt Örneklerinin ELISA İçin Hazırlanması

Numune örnekleri 2000 g'de 5 dk santrifüj edilerek yağın ayrılması sağlandı. Üstteki yağ tabakası aspirasyonla atıldı ve altaki plazma kısmı Elisa için kullanıldı.

4.1.4. ELISA

Kit içerisindeki bütün reaktifler bir süre oda sıcaklığında tutularak sıcaklıkları oda sıcaklığına getirildi. Mikroplatten çalışılacak numune sayısı ve standart kadar kuyucuk çıkartıldı. Standartlar ve numunelere ait kod numaraları ayrıca bir yere kaydedildi. Standartlar kuyucuklara yerleştirildikten sonra 200 mikrolitre olmak üzere her bir numune de kuyucuklara yerleştirildi. Mikroplate kapatılarak, ışık görmeyecek bir yerde, oda ısısında (19–25°C) 2 saat inkübasyona bırakıldı. Mikroplatler boşaltılarak yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Yıkama tamamlandıktan sonra bütün kuyucuklara HRP konjugat'tan 100 mikrolitre eklenerek 15 dk oda ısısında (19–25°C) ışık görmeyen bir yerde inkübasyona bırakıldı. Mikroplatler boşaltılarak yıkama solüsyonu ile 3 kez daha yıkandı. 2. Yıkama işleminden sonra kuyucuklara TBM Substanttan 100 mikrolitre eklenerek 20 dk oda ısısında (19–25°C) ışık görmeyen bir yerde inkübasyona bırakıldı.

Son olarak tüm kuyucuklar Stop solüsyonu ile yıkandı ve mikroplate ELISA okuyucusunda 450 nm'de okutuldu ve sonuçlar excel programına yerleştirildi.

4.1.5. Mikrobiyolojik Analizler

Anabilim Dalına getirilen örneklerden 30 adeti toplam mezofilik aerob mikroorganizma ve maya/küf sayılarına bakılmak için seçilmiştir. Örnekleri için yeterli sayıda Place Count Agar (PCA; Oxoid, CM325) ve Potato Dextroz Agar (PDA; Oxoid CM 139) besi yeri hazırlanmıştır. PDA besi yeri, petri kutularına dökülmeden önce, içersine %10'luk Tartarik Asitten %1 oranında eklenerek maya ve küf oluşumu için uygun ortam sağlanmıştır. Her bir numuneden 10'ar ml alınarak içerisinde 90 ml peptonlu su bulunan stomacher torbasına konulmuş, 2 dakika boyunca stomacherde (Interscience) homojenize edildikten sonra ondalık dilüsyonları yapılarak toplam mezofilik mikroorganizma ve maya/küf sayılarının tespiti amacıyla Plate Count Agar (PCA) ve Potato Dextroz Agar (PDA) besi yerlerine inokule edilmiştir. Sırasıyla 37°C'de 24–48 saat ve 22°C'de 3–5 gün boyunca inkübe edilerek, koloniler sayılmış ve sonuçlar koloni oluşturan birim (kob/ml) olarak bulunmuştur.

5. BULGULAR

5.1. Aflatoksin Değerleri

Yapılan bu çalışmada incelen 81 numunenin hepsinin AFM₁ açısından pozitif olduğu, numunelerin değişik düzeylerde AFM₁ ile kontamine oldukları ortaya çıkmıştır. İncelenen örneklerden 20 adedinde (%24,7) tespit edilen AFM₁ düzeylerinin Türkiye için yasal sınır olan 50 ng/l'nin üstünde saptanmıştır. Geri kalan 61 rneğin (%75,3) AFM₁ düzeylerinin bu sınırın altında olduğu tespit edilmiştir (izelge 7). İncelenen örneklerden elde edilen en yüksek AFM₁ düzeyi 105,45 ng/l olarak bulunurken en düşük değer 5,76 ng/l olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 7. İncelenen sütlerdeki AFM₁ değerleri (ng/l)

ng/ml	0	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70	70-80	80-90	90-100	100-110	Σ
Örnek Sayısı	0	13	23	11	5	9	7	1	4	3	2	3	81
Min		5,76	10,45	20,09	31,32	40,52	50,24	63,25	70,97	80,95	94,76	100,10	
Max		9,65	18,28	29,28	38,99	48,82	56,84	63,25	76,63	87,28	95,81	105,45	
Ortalama		7,8	14,18	24,21	34,9	43,84	53,44	63,25	74,54	83,13	95,29	101,93	33,88
Standart Sapma		1,16	2,43	3,2	2,87	3,21	2,8	0	2,49	3,6	0,74	3,05	27,16

5.2. Mikrobiyolojik Analizler

İncelenen sütlerde yapılan mikrobiyolojik analizler sonucu elde edilen sonuçlar izelge 8 da verilmiştir.

Çizelge 8 İncelenen sütlerde mikrobiyolojik analiz sonuçları

Toplam Mezofilik Aerobik Mikroorganizma log kob/ml ($X\pm Sx$)	Maya/küf log kob/ml ($X\pm Sx$)
6,65±6,40	5,55 ±5,38

TARTIŞMA

Burada rapor edilen çalışmada incelenen süt örneklerinin hepsinin AFM₁ açısından pozitif olması ve örneklerin 20 adedinin (%24,7) tespit edilen AFM₁ düzeylerinin Türkiye için yasal sınır olan 50 ng/l'nin üstünde saptanmış olması dikkat çekicidir. Literatürde tespit edilen çalışmalarda Türkiye ve diğer ülkelerde çiğ sütlerde bulunan AFM₁ düzeylerinin kimi durumlarda ülkelerin yasal sınırlarını aştıkları (Panariti 2001; Kamkar, 2004; Birdane ve ark., 2006; Galvano ve ark. 2001; Roussi ve ark. 2002; Bostan ve ark. 2005; Mavuş 2003; Atasever ve ark. 2006; Özkaya ve ark. 2002) bildirilmiştir. Yine özellikle süttten yapılan süt ürünlerinde de AFM₁ düzeylerinin yükseklikleri çeşitli araştırmacılar (Sarımehmetoğlu ve ark, 2003; 2004) tarafından rapor edilmiştir.

Topcu (2006) Ankara ve çevre ilçeleri kapsayan çalışmasında 86 sokak sütü örneği toplamış ve bunları AFM₁ düzeyleri açısından incelemiştir. 86 süt örneğinin 12 tanesi 40-49 ppt arasında, 50 tanesi 50 ppt üzerinde çıkmıştır. Geri kalan 24 adedi ise 40 ppt'nin altında bulunmuştur. Elde ettikleri %58'lik oranla burada rapor edilen çalışmada %24'lük değer in çok üstünde bir sonuca ulaşılmıştır. Buradaki fark coğrafi farklılıktan kaynaklanabileceği gibi, burada rapor edilen çalışmada toplanan sütlerin bireysel üreticiden çok kooperatiflerin süt soğutma tanklarından alınması ve tanka aktarılan süttün oransal olarak AFM₁ düzeyinin düşmesi sonucu şekillenmiş olabilir. Ayrıca örnek toplamada 50 baş üstü daha profesyonel işleyen çiftliklerden numune alınmış olması da buna sebep olabilir.

Özbek (2006) çalışmasında incelediği 50 süt örneğinin 35'inde (%70) aflatoksin M₁ tespit etmiştir. Aflatoksin M₁ düzeyi 31 (%62) süt örneğinde 5ppt ile 50 ppt arasında belirlenmiş; 4 süt örneğinde(%8) ise yasal sınırın (50 ppt) üzerinde bulunmuştur. Analizi yapılan süt örnekleri Marmara ve Ege Bölgesi ile Samsun'dan temin edilmiş ve genelde toplama tanklarında depolanan sütler tercih edilmiş. Bu haliyle burada rapor edilen çalışmaya oldukça yakın bir yol izlenmiş olmasına rağmen bulunan %24'lük oran, araştırmacılar tarafından rapor edilen %8'lik oranın çok üstünde kalmıştır.

Bursa'da toplanan 115 çiğ süt örneklerinde aflatoksin M₁ seviyeleri Mart ve Nisan aylarında tespit edilmiş ve örneklerin toplamına bakıldığında %99.13'ünde aflatoksin M₁ varlığı tespit edilerek bunların yaklaşık %60'ının aflatoksin M₁ düzeylerinin Türkiye ve Avrupa Birliği tolerans limiti olan 50 ng/kg'i aştığı belirlenmiştir. Ova köylerindeki toplam

örneklerin %61.82'sinin, dağ köylerinden toplanılanların ise %56.67'sinin da belirtilen tolerans limitini aştığı rapor edilmiştir (Oruç ve ark. 2006). Özkaya ve ark. (2003) 2002 yılı süresince Tarım İl Müdürlüğü Kontrol Şubesi tarafından 30 ilden toplanan, 543 adet çiğ süt örneğinin %62,2'si aflatoksin M₁ içermediği, %22,8'inin 0,01-0,05 mg/l arasında ve % 15,1'inin de limitlerin üzerinde aflatoksin M₁ içerdiğini belirlemişlerdir.

Özdemir (2007) aflatoksin M₁ varlığını Kilis yöresinde üretilen keçi sütlerinde araştırmıştır. 110 adet keçi sütü örneği Kilis yöresindeki bireysel çiftliklerden Mart ve Nisan aylarında toplanmış ve ELISA yöntemine göre analiz edilmiştir. Sonuçlara göre 17 örnekte aflatoksin M₁ tespiti negatif olmakla beraber 93 örnekte farklı seviyelerde aflatoksin M₁ bulunmuştur. İncelenen 110 örnekten 70'inde aflatoksin M₁ konsantrasyonu 5,16-116,78 ng/kg düzeylerin arasında belirlenmiştir. Örneklerin 7'sinde belirlenen aflatoksin M₁ düzeyleri Türk Gıda Kodeksi'nde belirtilen maksimum kabul edilebilir limitten (50 ng/kg) daha yüksek düzeyde ölçülmüştür. Sonuç olarak Kilis yöresindeki keçi sütü örneklerinin %6,36'sinin insan sağlığı açısından risk oluşturacak düzeyde aflatoksin M₁ içerdiği tespit edilmiştir.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği kapsamında 2000/6 tebliğ numarasıyla yayımlanan "**ÇİĞ VE ISIL İŞLEM GÖRMÜŞ İÇME SÜTLERİ TEBLİĞİ'nde**" Toplam canlı bakteri sayısının ml'de $\leq 100\ 000$ (5 log) adetten az olması gerektiği belirtilmektedir. Burada rapor edilen çalışmada bu değer $6,65 \pm 6,40$ log kob/ml olarak bulunmuştur. Elde edilen bu değer tebliğde belirtilen değer üzerinde görülse de standart sapmanın yüksek bulunması minimum ve maksimum değerler arasında çok ciddi bir farklılığın olduğunu göstermektedir. Tebliğde maya ve küf sayısı için herhangi bir değer belirtilmezken burada rapor edilen çalışmada bu değer $5,55 \pm 5,38$ log kob/ml olarak bulunmuştur.

Bengaldeş'te yapılan bir çalışmada (Khan ve ark., 2008) ülkenin 5 farklı bölgesinden elde edilen sütlerde ortalama canlı mikroorganizma sayısını 5,92 log kob/ml ile 6.17 log kob/ml arasında bulunmuştur. Güney Kore'de yapılan benzer bir çalışmada Lee ve ark. (1983) çiğ sütteki mikroorganizma sayısını 6,60 -7,43 log kob/ml olarak rapor etmiştir. Güney Afrika'da Lues ve ark (2010) tarafından yapılan bir çalışmada araştırmacılar çiğ süttten elde ettikleri mikroorganizma sayısını >4 log kob/ml ve 7,78 log kob/ml arasında bulmuşlardır. İknomov ve ark (1956) çiğ sütteki mikrobiyel yükün 2,23 log kob/ml ile 6,95 log kob/ml arasında sağım tarzı ve temizlik ile ilişkili olarak değişebileceğini belirtmişlerdir.

Markete verilecek olan sütlerde Őekillene bu yüksek mikrobiyel değerlerin her Őeyden önce meme yangıları ve ayrıca kötü hijyenik uygulamalar sonucunda Őekillenebileceęini unutmamak gerekmektedir (Lues ve ark., 2010). ŐeŐitli araŐtırcılar (Jansen 2003, Frazier ve Westhof 1998), yapmıŐ oldukları ŐalıŐmalarda personel hijyeninin yanısıra sağımda kullanılacak olan alet ekipmanın hijyenik durumlarının da sütün hijyenik kalitesi üzerine etkili olduklarını vurgulamıŐlardır. AraŐtırcılar temiz sağım giysileri ile kapaklı sağım kovalarının kullanılmasının sütün kontaminasyonunun azaltılması aĥısından önemli olduğunu belirtmişlerdir. Meme ve kuyruk temizliğinin sağım baŐlamadan önce düzenli bir Şekilde yapılması, elle yapılan sağımlarda kuru ellerin kullanılması, sağım makinelerinin temizliğinin düzenli yapılıp sütün sağımı takiben 3 saat iĥerisinde soğutulması veya soğutununun yapılacağı üniteye ulaŐtırılması gerekmektedir (Lues ve ark., 2010).

SONUÇ

Bu çalışmada Aydın ve Denizli illerinde bulunan 2 kooperatife süt veren 3 çiftlikten yaz ve sonbahar dönemleri boyunca alınan toplam 81 süt örneği, Tarımsal Kalkınma kooperatiflerinin süt soğutma tanklarından alınmıştır. Günümüzde Kooperatifler ve de büyük işletmeler sütün kuru madde, yağ oranları ya da antibiyotik durumu günlük olarak alınan numunelerle taranmaktadır. Ancak aflatoksin gibi daha ayrıntılı deney prosedürleri gerektiren taramalar yapılamamaktadır.

Yem maddelerinin gereken koşullarda depolanmaması kontaminasyona sebep olmaktadır. Küçük aile işletmelerinde, daha büyük çaplı işletmelerde yem depolama işlemi iptidai biçimde yapılmaktadır. Bu da maya/küf üremesi özellikle aflatoksin B₁ oluşumu ve takibinde de aflatoksin M₁ sekresyonunu etkileyebilmekte ve sütlerde AFM₁ miktarı artabilmektedir.

Burada rapor edilen çalışmanın örneklerinin hepsinin AFM₁ içermesi ve bunlardan 20 tanesinin yasal sınırları aşması, bu şekilde kontamine sütlerin halk sağlığı problemleri şekillenebileceği kuşkusunu arttırmaktadır.

Süt numunelerinden elde edilen ortalama total mezofilik mikroorganizma sayısının ve standart sapmasının yüksek olması incelenen çiftliklerde mikrobiyel yükün yüksek varyasyonda olduğunu göstermesi ve bu anlamda hijyenik kalitenin de değişken olduğunun belirlenmesi açısından önemlidir.

ÖZET

Hazer A. Denizli ve Aydın İllerinden Elde Edilen Çiğ Sütlerde Aflatoksin M₁ Prevalansı ve Miktarlarının Aranması

Bu Çalışma Aydın ve Denizli illerinden elde edilmiş olan sütlerde Aflatoksin M₁ (AFM₁) prevalansı ve miktarlarının araştırılmıştır. Aydın ve Denizli illerinde bulunan 2 kooperatife süt veren 3 çiftlikden yaz ve sonbahar dönemleiri boyunca 81 süt örneği alınmıştır. Alınan bu numuneler soğuk zincirde ADÜ Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi ABD laboratuvarlarına getirilerek burada ELISA yöntemi ile AFM₁ varlığı ve miktarları açısından değerlendirilmiş; sonuçlar ng/L olarak verilmiştir. Önemli bir kansorejen ve teratojen olan AFM₁'in numune çiğ sütteki varlığı ve miktarı her iki ilden de alınan örneklerle halk açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca elde edilen numunelerde mikrobiyolojik analizlerde yapılmış bu sayede her iki ilde üretilen çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesi hakkında genel bir fikir edinilmiştir. İncelenen örneklerinin hepsinin AFM₁ içermesi ve bunlardan 20 tanesinin yasal sınırları aşması, bu şekilde kontamine sütlerin halk sağlığı problemleri şekillenebileceği kuşkusunu arttırmaktadır. Örneklerin mikrobiyel yüklerinin de yüksek olması hijyen yetersizliği ve mastitis ile ilişkilendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: Çiğ süt, Aflatoksin M₁, kalite

SUMMARY

Hazer A. Determination of the level and prevalence of Aflatoxin M₁ in raw milk samples obtained from Aydın and Denizli Region of Turkey

This study was conducted to determine the levels and prevalence of AFM₁, which is an important carcinogenic and teratogenic metabolite, in raw milk samples obtained from 3 farms supplying milk to 2 milk cooperatives in the regions of Aydın and Denizli. Milk samples (a total of 81) were collected from these farms during the summer and autumn seasons, then brought to the ADU Veterinary Faculty Department of Food Hygiene and Technology Department Laboratory in cold boxes. The level of AFM₁ was determined by using ELISA method and the results were given as ng/L level. In addition, TVC (Total Viable Count) and, the yeast and Mould levels of milk samples were determined. The results showed that all samples investigated were found to be contaminated by AFM₁ and 20 of which had higher AFM₁ levels than those stated at regulations. This situation was highlighted as a possible health hazard. The microbiological load of milk samples were also found insufficient which may be caused by the poor hygienic conditions in the farm and milking premises, and mastitis.

Key Words: Raw milk, aflatoxin M₁, quality

KAYNAKLAR

Anonim IDF(International Dairy Federation). The significance of pathogenic microorganism in raw milk. IDF special issue 9701. 1997

Anonim TSE (Türk Standartları Enstitüsü). İnek Sütü-Çiğ. TS 1018 Nisan 2002

Anonim Türk Gıda Kodeksi. Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği (Tebliğ no 2006/38). 2006. Ankara.

Anonim Codex Alimentarius Commissions (2001): Comments submitted on the draft maximum level for Aflatoxin M1 in milk. Codex Committee on Food Additives and Cotaminants 33rd Sessions, Hauge, The Netherlands.

Abbes S, Ouanes Z, Ben Salah-Abbes J, Houas Z, Oueslati R, Bacha H, Othman O. The protective effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate against haematological, biochemical and pathological changes induced by zearalenone in mice. *Toxicol* 2006; 47(5):567.

Agag BI. Mycotoxins in foods and feeds. *Ass. Univ. Bull. Environ. Res.*, 2004 7(1), 173-205.

Akdemir Ç. Ankara'da işlenen sütlerde Aflatoksin M1 varlığının ve düzeylerinin HPLC ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye. 2001.

Arbillaga L, Azqueta A, Ezpeleta O, Lopez De Cerain A. Oxidative DNA Damage Induced by Ochratoxin A in the HK-2 Human Kidney Cell Line: Evidence of the Relationship With Cytotoxicity, *Mutagenesis*, 22(1), 35, 2007.

Atasever M, Nizamlıoğlu M, Özturhan K, Karakaya Y ve Ünsal C. Erzurum bölgesinde tüketime sunulan süt ve ürünlerinin aflatoksin M1 yönünden incelenmesi. 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 18-20 Eylül 2006, İstanbul; s:231-240.

Atroshi F, Biese I, Saloniemi H, Ali-Vehmas T, Saari S, Rizzo A, Veijalainen P. Significance of Apoptosis and its Relationship to Antioxidants After Ochratoxin A Administration in Mice, *J. Pharm. Sci.*, 2000; 3(3), 281.

Bakırcı İ. Sütlerde Aflatoksin M₁ Oluşumu ve Ürünlere Geçişi Üzerinde Bir Araştırma. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye. 1995.

Baştan A. İneklerde Memem Hastalıkları, Ankara: Hatipoğlu Yayınevi; 2002.

BarriosM J, Medina LM, Cordoba MG, Jordano R. Aflatoxin producing strains of *Aspergillus flavus* isolated cheese. *J. Food Prot.* 1997; 60 (2), 192-194.

Baudrimont I, Sostaric B, Colette Y, Betbeder AM, Dano S, Sanni A, Steyn PS, Creppy EE. Aspartam Prevents The Karyomegaly Induced By Ochratoxin A İn Rat Kidney, *Arch. Toxicol.*, 75, 176, 2001.

Berek L, Petri IB, Mesterhazy A, Teren J, Molnar J. Effect of Mycotoxins on Human Immune Functions in vitro, *Toxicol. in vitro*, 2001; 15, 25.

Birdane Y, Akaya L, Baskaya R, Cemek M, Bulut S. Afyonkarahisar'da tüketime sunulan UHT sütler ile çiğ sütlerdeki AFM1 miktarının belirlenmesi. 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 18-20 Eylül 2006, s:373-374, İstanbul.

Blanco JL, Carrion BA, Liria N, Diaz S, Garcia ME, Dominguez L, Suarez G. Behavior of aflatoxins during manufacture and storage of Yoghurt. *Milchwiss* 1993; 48 (7), 385–387.

Bonwick GA. Smith CJ. Immunoassays: their history, development and current place in food science and technology. *Int. J. Food Sci. Tech.* 2004; 39:817-827.

Bostan K, Çetin Ö, Büyüknal SK, Ergün Ö. İstanbul'da satışa sunulan içme sütü örneklerinde aflatoksin M1 düzeyleri üzerine bir araştırma. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi* 2005, 4(7), 15-20.

Bozoğlu F. Mikotoksin analiz yöntemlerindeki gelişmeler, floresans polarizasyon immunoassay (FPIA). II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu Mayıs 2005; İstanbul, sayfa 26-33, 23-24.

Bruinink A, Sidler C. The neurotoxic effects of ochratoxin A are reduced by protein binding but are not affected by l-phenylalanine. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1997; 146:173-9.

Busby WF Jr, Wogan GN. Aflatoxins. In: Edwards F, ed. Chemical Carcinogens. York: Maple Press Co, 1984; 945-1136.

Çelik S. Karaciğer karsinojeni olan aflatoksinlerin biyokimyasal histolojik etkileri ve sağaltım seçenekleri. J. Fac.Vet.Med., 2001; 20: 131.

Chu FS. Immunoassays for analysis of Mycotoxins. Journal of food protection 1984; 47 (7):562-569.

Concon JM. Mold and Mycotoxin Contamination of Food Products. In: Food Toxicology Part B: Contaminants and Additives. New York: Marcel Dekker Inc, 1988: 677-770.

Creppy EE. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. Toxicol. Lett., 2002; 127, 19-28.

Demain AL. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. Appl Microbiol Biotechnol 1999; 52: 455-63.118.

Detroy RW, Lillehoj EB, Ciegler A. Aflatoxin and Related Compounds. In: Ciegler A, Kadis S, Ajl SJ, eds. Microbial Toxins 8, 4 178, Academic Press, New York; 1971.

Ender G. Kaşar Peynirinin Olgunlaştırılması Aşamasında Aflatoksin M1 Düzeyinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye. 2001.

Erkan ME, Vural A, Güran HŞ. Diyarbakır örgü peynirinde Aflatoksin M₁ ve Verotoksin 1 ve 2 varlığının araştırılması. Pamukkale Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu 21-23 Mayıs 2009; Denizli; s:103.

Faucet-Marquis V, Pont F, Stormer FC, Rizk T, Castegnaro M, Pfohl-Leszkowicz A. Evidence of A New Dechlorinated Ochratoxin A Derivative Formed in Opossum Kidney Cell Cultures After Pretreatment by Modulators of Glutathione Pathways: Correlation with DNA-Adduct Formation, Mol. Nutr. Food Res., 2006; 50(6): 530.

Fliege R, Metzler M. Electrophilic Properties of Patulin N-Acetylcysteine And Glutathione Adducts. Chem. Res. Toxicol 2000; 13(5): 373.

Frazier WC, Westhoff DC. Food microbiology. McGraw-Hill Book Company, Singapore. 1988. pp. 287-299.

Froquet R, Sibiril Y, Parent-Massin D. Trichotecene Toxicity on Human Megakaryocyte Progenitors (CFU-MK), Hum. Exp. Toxicol., 2001; 20, 84.

Galvano F, Galofaro V, Ritieniş A, Bognanno M, De Angelis A, Galvano G. Survey of the occurrence of aflatoxin M₁ in dairy products marketed in Italy: second year of observation. Food Add Cont. 2001; 18(7), 644-646.

Gilbert J, Anklam E. Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs. Trends Anal. Chem.,2002; 21, 468-486.

Gökmen V, Acar J. Long-Term Survey of Patulin in Apple Juice Concentrates Produced in Turkey, Food Add. Contam., 2000; 17(11), 933.

Günşen U, Büyükyörük İ. Piyasadan temin edilen taze kaşar peynirlerinin bakteriyolojik kaliteleri ile aflatoksin M₁ düzeylerinin belirlenmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 2001; 27:821-825.

Gürses M. Tulum peynirinde farklı depolama şartlarında Aflatoksin oluşum potansiyelinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye. 2002.

Groopman JD, Cain LG, Kensler TW. Aflatoxin Exposure in Human Populations: Measurements and Relationship to Cancer. Crit. Rev. Toxicol 1988; 19:113-146.

Hopmans EC. Patulin: a mycotoxin in apples. Perishables Handling Quarterly, Issue, 1997; No:91, 5-6.

Huwig A, Freimund S, Kappeli O, Dutler H. Mycotoxin Detoxification of Animal Feed by Different Adsorbants, Toxicol. Lett., 2001; 122, 179.

İmren HY, Şahal M. Zehirlenmeler, Alaçam E, Şahal M, Sığır Hastalıklar 1997, Medisan, s:301-310, Ankara.

IARC (International Agency for Research on Cancer) (1993): Aflatoxins. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic aromatic amines and Mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans, vol. 56, pp. 245-395.

Ikonomov L, Lotov I, Todorov D, Tankov G, Dzhurov TS. Bacteriological studies of Hygiene of milk production of Bulgarian cattle Breeding Farms. Dairy Science Abstract, 1956; 19: 936.

Jansen KE. The microbiological composition of milk and associated milking practices amongst small scale farmers in the informal settlement of Monyakeng. Thesis (M. Tech: Environmental Health). Technikon Free State. Bloemfontein. 2003.

Jarvis B. Factors aflatoxin affecting the production of mycotoxins. J. Appl. Bact.; 1971, 34, 199-213.

Jay JM, Modern Food Microbiology. Chapman and Hall. London, 1992; p:675.

Josephs RD, Krska R, Grasserbauer M, Broekaert JAC. Determination of trichothecene mycotoxins in wheat by use of supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography with diode array detection or gas chromatography with electron capture detection. J Chromatogr A 1998; 795: 297-304.

Kamkar A. (2004). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. Food Cont. (Baskıda) A. Kamkar, J.Vet. Res., 2008; 63, 2, 7-12.

Karadeniz F, Ekşi A. Gıdalarda Mikotoksin oluşumu ve azaltılması. Dünya Gıda, 2002; 7-8: 104-110.

Karakaya Y. Mısır slajında aflatoksin B₁ varlığının ve süte geçme durumunun araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 2006.

Kardeş E. Türk Silahlı Kuvvetleri'ne bağlı birliklere alınan peynirlerde aflatoksin B1 ve aflatoksin M1 varlığının ve seviyelerinin saptanması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye. 2000.

Kaya S. Mikotoksinler. In:Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. İkinci Baskı. Ankara: Medisan Yayınevi, 2001. 537-571.

Kılıç S. Süt Mikrobiyolojisi. İzmir: Sidas Medya; 2010.

Kınık Ö, Kavas G, Kesenkaş H, Uysal H. Süt hijyeni ve güvenliği açısından çiğ süt kalitesinin önemi. Süt mikrobiyoloji ve katkı maddeleri S.19, Tekirdağ 2000.

Khan MTG, Zinnah MA, Siddique MP, Rashid MHA, Islam MA, Choudhury KA. Physical and microbial qualities of raw milk collected from Bangladesh agricultural university dairy farm and the surrounding villages. *Bangl. J. Vet. Med.* (2008). 6 (2): 217–221.

Krishnamachari KAV, Bhat RV, Nagarajon V, Tilak TBG. Investigations into an outbreak of hepatitis in parts Western India. *Indian J. Med, Res.* 1975; 63 (1): 36-104.

Kuhn DM, Ghannoum MA. Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: infectious disease perspective. *Clin. Microbiol. Rev.* 2003; 16, 144–172.

Lau BP-Y, Scott PM, Lewis DA, Kanhere SR. Quantitative determination of ochratoxin A by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 2000; 25: 23-32.

Lee JT, Park SY, Korea IK and Kin HU. Quality of raw milk in Korea. *Korean Journal of Dairy Science.* 1983; 5 (1): 22-28.

Lues JF, De Beer RH, Jacoby A, Jansen KE, Shale K. Microbial quality of milk, produced by small scale farmers in a peri-urban area in South Africa. *African Journal of Microbiology Research* 2010; Vol. 4(17), pp. 1823-1830.

Mace K. Aflatoxin B1-induced DNA Adduct Formation and p53 Mutations in CYP-450-expressing Human Liver Cell Lines. *Carcinogenesis* 1997; 18:1291–1297.

Mavuş H. Kayseri yöresinde satışı sunulan sütlerden aflatoksin tayini. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye. 2003

Metin M. Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. İzmir: Ege Üniversitesi Basım Evi; 2008.

Metin M, Öztürk GF. Süt işletmelerinde sanitasyon. 4. Baskı. İzmir: Ege Üniversitesi Basım Evi; 2006.

Nilüfer D, Boyacıoğlu D. Süt ve süt ürünlerinde mikotoksin riski ve analizi. SEYES 2003, Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu 22–23 Mayıs 2003, İzmir.

Omaye ST. *Food and Nutritional Toxicology.* CRC Press, 2004; ISBN 1-58716-071-4, 308p.

Oruç HH. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M₁ (AFM₁) ve Türkiye de ki Durumu. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2003. 22(1-2-3):121-125.

Oruç HH, Çıbık R, Yılmaz E, Kalkanlı O. Distribution and stability of aflatoxin M₁ during processing and ripening of traditional white pickled cheese. Food Additives and Contaminants, 2006. 23: 190-195.

Özbek E. Marmara Bölgesi askeri birliklerinde tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M₁ düzeylerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Türkiye. 2006.

Özdemir, M. (2007): Determination of aflatoxin M₁ levels in in goat milk consumed in Kilis province. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 54: 99-103.

Özkaya Ş, Temiz A. Aflatoksinler: kimyasal yapıları, toksiteleri ve detoksifikasyonları Mikrobiyoloji Dergisi 2003, cilt: 01, sayı 01, s:1-21, erişim [www.mikrobiyoloji.org/pdf/702030101.pdf]

Özkaya S, Başaran A, Topuz F, Akdemir C. Türkiyede üretilen sütlerde aflatoksin M₁ aranması. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, 2003. pp: 93-98, 18-19 Eylül 2003, İstanbul.

Özkaya Ş, Başaran A, Kaymak T, Dikmen O, Kocabey M, Demirkazık G, Altındiş N, Ramis R. Türkiye’de üretilmekte olan süt ve peynirlerde aflatoksin M₁ aranması. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü, Gıdalarda Katkı-Kalıntı ve Bulaşanlarının izlenmesi II, 2002, Bursa; 80–92.

Özmenteşe N. İstanbul piyasasından sağlanan süt ve süt ürünlerinin aflatoksin B₁ ve M₁ içerikleri yönünden yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile araştırılması. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye. 2002.

Özsunar A. Trakya bölgesinde üretilen sütlerde aflatoksin M₁ varlığı. Yüksek lisans tezi, Tarakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 2005.

Panariti E. Seasonal variations of aflatoxins M₁ in the farm milk in Albania, Arh. Hig. Rada Toksikol. 2001; 52:37-41

Patır B. Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi. Elazığ: Fırat Üniversitesi; 2001.

Petzinger E, Ziegler K. Ochratoxin A from a toxicological perspective. J Vet Pharmacol Therap 2000; 23: 91-8.

Pitt JI. Toxigenic Fungi: Which Are Important, Med. Myology., Supp I,17, 2000.

Pittet A. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update review. Rev Med Vet 1998; 149(6): 479-492.

Romani S, Pinnavaia GG, Dalla Rosa M. Influence of Roasting Levels on Ochratoxin A Content in Coffee, J. Agric. Food Chem., 2003; 51(17), 5168.

Roussi V, Govaris A, Varagouli A, Botsoglou NA. Occurrence of aflatoxin M₁ in raw and market milk commercialized in Greece. Food Additives and Contaminants, 2002; 19 (9): 863-868

Ruprich J, Ostry V. Study of human exposure to ochratoxin A and assessment of possible sources. Cent Eur JPublic Health 1, 1993; 46-8.

Sabuncuoğlu SA, Baydar T, Giray B, şahin G. Mikotoksinler: toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 2008; 28: 63-92.

Sarımehmetoğlu B, Kuplulu Ö, Çelik T.H. Detection of aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA. Food Cont, 2004; 15, 45-49.

Sarımehmetoğlu B, Kuplulu Ö, Ayçiçek H. Detection of the aflatoxin M₁ in yogurt by ELISA. Milchwissenschaft, 2003; 58 (11/12), 643-645.

Sert S. Gıda ve yem maddelerinde aflatoksinler. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 1983; 14:181-187.

Sert S. Bazı peynir çeşitlerinde küf florası ve aflatoksin içerikleri ile aflatoksin potansiyellerinin araştırılması:1. Küf florası (1). Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 1992; 23 (2), 89-100.

Seyrek K. Türk Silahlı Kuvvetleri'ne bağlı birliklerde tüketilen beyaz peynirlerdeki aflatoksin M₁ seviyesinin ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) metodu ile saptanması. Vet. Hek. Der. Derg., 2001; 55-58.

Sassahara MA, Pontes Netto DB, Yanaka YE. Aflatoxin occurrence in foodstuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M₁ in raw milk in the North of Parana' state. Food and Chemical Toxicology 43, 2005. 981–984.

Sonal S, Oruç HH. (2000). Bursa bölgesindeki tavuk çiftliklerinden sağlanan yemlerde mikotoksin düzeyleri. Y.Y.Ü. Vet.Fak.Derg., 2000; 11(2), 1-6.

Soyöz M, Özcelik N. Okratoksin A'nın Toksik Etkileri ve Eliminasyonu, T. Klin. J.Med. Sci., 2002; 22, 421.

Soyöz M, Özçelik N, Kılınç I, Altuntaş I. The Effects of Ochratoxin A on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes: A Protective Role of Melatonin, Cell Biol. Toxicol., 2004; 20(4), 213.

Stark AA. Mechanisms of Action of Aflatoxin B₁ at the Biochemical and Molecular Levels. (Edited by Charles L. Wilson and Samir Droby.), Microbial Food Contamination. CRC Press 2001; ISBN 0-8493-2229-4, p:81-94.

Steyn PS, Stander MA. Mycotoxins with Special Reference to the Carcinogenic Mycotoxins: Aflatoxins, Ochratoxins and Fumonisin. In: Ballantyne B, Marrs TC, Syversen TLM, eds. General and Applied Toxicology. 2nd Edition. United Kingdom: Macmillan Reference Ltd, 1999: 2145-76.

Şanlı Y. Mikotoksinler, Kaya S, Veteriner Klinik Toksikoloji, Ankara: Medisan 1995 "s:283-328".

Tajkarimi M, Aliabadi-sh F, Nejad AS, Poursoltani H, Motallebi AA, Mahdavi H. Aflatoxin M₁ contamination in winter and summer milk in 14 states in Iran, Food Control, 2008; 19:1033-1036

Tanker M, Soner O, Sahin AA, Kaya S, Dulger G, Ersoy O, Omurtag G, Yurdun T. Aflatoxinler ve Besinlerle Sağlığımız Üzerinde Oluşturabileceği Tehlikeler, Eczacı Dergisi, Nisan, 16, (1995).

Tekinşen KK, Uçar G. Aflatoxin M₁ levels in butter and cream cheese consumed in Turkey. Food Control, 2008; 19:27-30.

Thirumala-Devi K, Mayo MA, Hall AJ, Craufurd PQ, Wheeler TR, Waliyar F, Subrahmanyam A, Reddy DV. Development and application of an indirect competitive enzyme-linked immunoassay for aflatoxin M1 in milk and milk-based confectionery. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50(4), 933-937.

Topcu SÖ. Ankara Sokak sütü ve peynir örneklerinde maya izolasyonu, sütlerden aflatoksin M₁ tayini. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye. 2005.

Tunail N. Funguslar ve Mikotoksinler, ikinci Baskı. Editör, Tunail, N. Medisan Yayınevi, 2000; 4-34.

Turan İ. Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi. İstanbul: Final Ofset; 1990.

Uğur M, Nazlı B, Bosta K. Gıda hijyeni. İstanbul: Teknik Yayın Evi; 2001.

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

Van Egmond HP. Aflatoxin in milk, *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health*. *Vet. Agric. Sig. Acad. Pres. Inc.* 1994; 365-381

Van Egmond HP. Aflatoxin M1: occurrence, toxicity, regulation. *Mycotoxins in Dairy Products*. In H.P. Van Egmond (Ed.), New York: Elsevier Applied Science 1989; 11-55.

Van Egmond HP. Mycotoxin in dairy products. *Food Chem.*, 1983; 11(4), 289-307.(Abstract),

Veldman A. Effect of sorbentia on carry-over of aflatoxin from cow feed to milk. *Milchwissenschaft* 1992, 47(2): 777-780.

Whitlow LW, Hagler WM. Mycotoxin contamination of feedstuffs – an additional stress factor for dairy cattle. 25. symposium sur les bovins laitiers held on October 17, 2001 in St-Hyacinthe, Quebec.

Whitlow LW, Hagler WM. Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs*, 2002; 74(28).

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

Wood GE. Aflatoxin M₁ in Mycotoxins and phytoalexins. Sharma RP, Salunkhe DK. (Edit). Florida: CRC Pres. Inc. 1991; p:145-164

Yaroğlu T. Türk Silahlı Kuvvetlerine Bağlı Birliklerde Tüketime Sunulan Peynirlerde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa, Türkiye. 2002.

Yiannikouris A, Jouany JP. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. Anim. Res., 2002; 51, 81-99.

Yousef AE, Marth EH. Stability and degradation of aflatoxin M1. In Van Egmond HP (Edit.), Mycotoxins in Dairy Products. London: Elsevier, 1989; 127-161.

Yurdun T, Omurtag G, Ersoy Ö. Incidence of Patulin in Apple Juice Marketed in Turkey. J. Food Protec., 2001; 64(11), 1851.

ÖZGEÇMİŞ

17 Temmuz 1980 yılında Denizli’de doğdum. Denizli Türk Eğitim Vakfı Anadolu Lisesi’nden mezun olduktan sonra, Akdeniz Üniversitesi Burdur Veteriner Fakültesinde lisans eğitimime başladım. Okul hayatım boyunca çeşitli kurumlarda staj yapma şansı buldum. Bunlar tarih sırasıyla; 2001 yılında Ege Üniversitesi Bornova Veteriner Araştırma Enstitüsü, 2002 yılında Padova Üniversitesi Veteriner Fakültesi (Università` delgi Studi di Padova, Facolta di Medicina Veterinaria) klinikleri, 2003 yılında AY-TAR (Abalıoğlu Holding kuruluşu) Yumurtacı Tavuk Çiftliği şeklindedir. 2006 yılında Veteriner Fakültesindeki eğitimimi tamamladıktan sonra aynı yıl içinde kırmızı et sektöründe faaliyet gösteren özel bir şirkette sorumlu yönetici olarak çalışmaya başladım. 2007 yılında S.S.Denizli Bölgesi Hayvancılık Kooperatifleri Bölge Birliği’nde teknik danışman olarak çalışmaya başladım. Görevimin sorumluluklarının gerektirdiği, T.C.Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı ve özel sertifikasyon şirketleri tarafından düzenlenen, pek çok eğitim ve sertifika programına katıldım. Bu eğitimler sırasıyla; 2010 yılı, Hibe Kaynakları İçin Proje Yazma Teknikleri Eğitimi; 2009 yılı Ekim ayı, Tarım Danışmanı Sertifikası; 2009 yılı Mayıs ayı, Pamukkale Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu; 2008 yılı Temmuz ayı, Kapasite Geliştirme ve Profesyonellerin Eğitimi; 2008 yılı Ocak ayı, TS EN ISO 19011:2004 Kalite ve Çevre Yönetim Sistemleri Tetkik Kılavuzu (İç Denetçi); 2007 yılı Mart ayında, Proje Planlama ve Proje Hazırlama Eğitimi ve gene Mart ayı içersinde Eğiticilerin Eğitimi Programı; 2007 yılı Ocak, ayı ISO/22000/HACCP ve Agredite Veteriner Hekimlik Sertifikası şeklindedir. Teknik Danışmanlık görevime ise halen devam etmekteyim.

Bu alışma Bilimsel Araştırma Projeler Daire Başkanlığı (BAP) tarafından desteklenmiştir. Proje kodu VTF-10031'dir.