Sinan ÇİLENTİ VE TOKSİKOLOJİ YÜKSEK LİSANS ŞANLIURFA - 2022

VETERİNER FARMAKOLOJİ

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ
ANABİLİM DALI

ADIYAMAN İLİNDE SATIŞA SUNULAN ÇİĞ SÜTLERDE AFLATOKSİN M1 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Sinan ÇİLENTİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Füsun TEMAMOĞULLARI

ŞANLIURFA

2022

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ
ANABİLİM DALI

ADIYAMAN İLİNDE SATIŞA SUNULAN ÇİĞ SÜTLERDE AFLATOKSİN M1 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Sinan ÇİLENTİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Füsun TEMAMOĞULLARI

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 21119 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2022

ÖNSÖZ-TEŞEKKÜR

Bu çalışmada Adıyaman ilinde satışa sunulan çiğ inek sütlerinde Aflatoksin M_1 varlığının araştırılması ile halk sağlığı açısından risklerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada Adıyaman il ve ilçe merkezlerinden farklı mevsimlerde toplanan çiğ inek sütleri Aflatoksin M_1 varlığı açısından araştırılmıştır.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca deneyimlerini ve bilgilerini esirgemeyen danışman hocam sayın Prof. Dr. Füsun TEMAMOĞULLARI'na teşekkürü borç bilirim. Analizlerin yapılmasında ve bilimsel bilgi ve birikimleri ile yönlendirmede yardımcı olan Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde değerli çalışma arkadaşlarım Doç. Dr. Duygu Neval SAYIN İPEK ve Dr. Araştırma Görevlisi Özlem DEMİRCİ TURGUNBAYER'e teşekkür ederim. Örneklerin toplanmasında yardımcı olan Adıyaman Damızlık Sığır Birliği Yetiştiricileri Birliği'ne teşekkür ederim. Araştırmamı destekleyen Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje (HÜBAK) birimine, hayatımın her alanında yanımda olan değerli eşim ve aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER **Sayfa No**

ÖNSÖZ-TEŞEKKÜR……...III

ŞEKİLLER DİZİNİ…..……VI

TABLOLAR DİZİNİ……..…VII

GRAFİK DİZİNİ…….....VIII

KISALTMALAR…….……IX

ÖZET…….……...…XI

ABSTRACT…….…..…..…….....XII

1. GİRİŞ…….……...……..1

2. GENEL BİLGİLER…….…….....…2

2.1. Süt…….……...….2

2.2. Sütün Önemi……...…….....….2

2.3. Sütteki Tehlikeler……...……..3

2.4. Mikotoksinler……..……4

2.4.1. Mikotoksinlerin Tarihçesi…….....…4

2.5. Aflatoksinler…….……5

2.5.1. Dayanıklılık …….……..…5

2.5.2. Duyarlılık ……...……..…7

2.5.3. Aflatoksin Kaynakları …….……8

2.5.4. Aflatoksin Zararları.…….……9

2.5.5. Maruziyet……..……...…..…10

2.5.6. Aflatoksin Limitleri……..…….…….....13

2.5.7. Aflatoksin Kinetiği……14

2.5.8. Klinik Bulgular……15

2.5.9. Korunma……16

2.5.10. Tedavi……19

2.5.11. Analiz Yöntemleri……20

3. GEREÇ VE YÖNTEM……21

3.1. Kullanılan Malzemeler……21

3.2. Numunelerin Toplanması……22

3.3. Numunelerin Analize Hazırlanması……23

3.4. Numunelerin Analizi……23

4. BULGULAR……24

5. TARTIŞMA……29

6. SONUÇ VE ÖNERİLER……34

7. KAYNAKLAR……35

8**. EKLER**……40

- Etik Kurul……

- Orjinallik Beyanı……

- Turnitin Verisi……

- Tez Veri Giriş Formu……

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. İnsanlara mikotoksin bulaşma yolları…….....…...12

Şekil 3.1. Süt örneklerinin toplandığı bölgeler……...…….……22

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. İnek sütünün besinsel değeri (100 gram süt için)..……..……2

Tablo 2.2. Ülkelere göre AFM_1 limitleri…….……..…….13

Tablo 3.1. Neogen Veratox Aflatoksin M_1 Kiti (8109) İçeriği…...……...……21

Tablo 4.1. Çiğ süt örneklerinin ELISA'da verdikleri absorbans değerleri ve AFM_1 Konsantrasyonları (µg/kg)…….……..…..…25

Tablo 4.2. Örneklerin içerdiği AFM_1 düzeylerinin oransal dağılımı……..…..…..27

Tablo 4.3. Bölgelere ve Mevsimlere göre toplanılan örnekler……..…..…27

Tablo 5.1. Ülkemizde ve farklı ülkelerde AFM_1 ile ilgili yapılan bazı çalışmalar..32

GRAFİK DİZİNİ

Sayfa No

Grafik 4.1. Kalibrasyon ($R^{2)}$ Eğrisi.…….24

Grafik 4.2. Bölgelere Göre Pozitif Örneklerin Dağılımı..…….……..28

Grafik 4.3. Mevsimlere Göre Pozitif Örneklerin Dağılımı…….……28

KISALTMALAR

°C: Santigrat derece

AFB_1: Aflatoksin B_1

AFB_2: Aflatoksin B_2

AFG_1: Aflatoksin G_1

AFG_2: Aflatoksin G_2

AFM_1: Aflatoksin M_1

AFM_2: Aflatoksin M_2

aw: Su Aktivitesi

DDT: Dikloro Difenil Trikoloroetan

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

ELISA: Enzime Bağlı İmmunosorbent Test

HPLC: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

IARC: International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı)

kg: Kilogram

max: Maksimum

min: Minumum

ml: Mililitre

nm: Nanometre

$ÖD_{50}$: Öldürücü Doz 50

PCB: Poliklorlu Bifenil

ppb: Milyarda bir (Ölçü Birimi)

RNA: Ribonükleik Asit

TGK: Türk Gıda Kodeksi

TLC: İnce Tabaka Kromatografisi

TUİK: Türkiye İstatistik Kurumu

UHT: Ultra Yüksek Isı

UV: Ultraviyole

µg: Mikrogram

µl: Mikrolitre

ÖZET

ADIYAMAN İLİNDE SATIŞA SUNULAN ÇİĞ SÜTLERDE AFLATOKSİN M_1 VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Sinan ÇİLENTİ

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışmanın amacı, Adıyaman ili merkezi ve ilçelerinde Eylül 2021-Nisan 2022 tarihlerinde satışa sunulan 96 adet çiğ inek süt örneğinde ELISA yöntemiyle Aflatoksin M_1 varlığı ve miktarlarını araştırmaktı. Çalışma sonucunda 96 adet çiğ inek sütünde 43 (%44,79) pozitif 53 (%55,21) negatif örnek, en fazla 0,054 µg/kg ve ortalama 0,028±0,026 µg/kg Aflatoksin M_1 bulundu. En çok sonbahar aylarında (n=24) toksin varlığı tespit edildi. Sokak satıcılarından alınan örneklerin tamamı pozitif sonuç verdi. Türk Gıda Kodeksinin maksimum yasal sınırlarını aşan 4 örneğin ikisinin sokak sütü olduğu ve diğer ikisinin ise Adıyaman Besni ilçesinde entansif beslenmenin yapıldığı bir çiftliğe ait olduğu belirlendi. Araştırmamız sonucunda Adıyaman ili merkez ve ilçelerinde yaşayan halkın çiğ inek sütü ile Aflatoksin M_1'e maruz kaldığı belirlenmiştir. Bu nedenle toplum sağlığının korunması için yetiştiricilerin aflatoksin konusunda bilinçlendirilmesi ve denetimlerin artırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Adıyaman, Çiğ süt, Aflatoksin M_1, ELISA

ABSTRACT

INVESTIGATION FOR THE PRESENCE OF AFLATOXIN M_1 IN RAW MILK SOLD IN ADIYAMAN PROVINCE

Sinan ÇİLENTİ

Department of Pharmacology and Toxicology, Master Thesis

The aim of this study is to investigate the presence and amounts of Aflatoxin M_1 by ELISA method in 96 raw cow milk samples sold in Adıyaman city center and its districts between September 2021 and April 2022. As a result of the study, 43 (44.79%) positive and 53 (55.21%) negative samples were found to be maximum 0.054 µg/kg and mean 0.028±0.026 µg/kg in 96 raw cow milk. Presence of toxin was detected mostly in autumn months (and=24). All of the samples taken from street vendors gave positive results. It was determined that two of the 4 samples exceeding the legal upper limit in the Turkish Food Codex were street milk, and the other two belonged to a farm in Besni district of Adıyaman, where intensive feeding was made. As a result of our research, it has been determined that people living in the center and districts of Adıyaman province are exposed to Aflatoxin M_1 through raw cow's milk. Therefore, in order to protect public health, it is necessary to raise awareness of breeders about aflatoxin and to increase inspections.

Key words: Adıyaman, Raw milk, Aflatoksin M_1, ELISA

1. GİRİŞ

İnsan yaşamının çeşitli dönemlerinde süt ve süt ürünlerinin önemi yadsınamaz bir gerçektir. Süt ve süt ürünleri demir ve vitamin C dışında birçok makro ve mikro element içerir. Özellikle kalsiyum ve fosfor gibi bazı önemli mineraller ile riboflavin gibi bazı B grubu vitaminleri ve proteinleri içermesi nedeniyle halk sağlığı açısından tüketilmesi önemli bir besindir (1,2). Sütteki proteinler canlılarda büyüme ve gelişmeye, doku farklılaşmalarındaki etkinliğin artmasına önemli katkı sağlar. Büyüme ve gelişmenin yanında sütün içinde bulunan immünoglobulinler, enzim inhibitörleri, enzimler, büyüme hormonları, büyüme faktörleri, diğer hormonlar, antibakteriyel ajanlar gibi önemli protein ve peptid yapılı ögeler ile vitamin, mineraller ve yağ asitleri gibi yaşam döngüsü için birçok önemli öğelere sahiptir. Ayrıca, kan basıncını düşürdüğü ve kanser riskini azalttığı, immün fonksiyonlar ve kalsiyum emilimi üzerine olumlu etkilerinin olduğu, vücut ağırlığının kontrolünde etkin olduğu, diş çürüklerine karşı koruyucu görev yaptığı bilinmektedir (2). Süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi, dengeli besin öğesi ve enerji alınımının sağlanması açısından sağlık uzmanları tarafından önerilmektedir. Ancak süt ve süt ürünlerinin üretimi sırasında çeşitli kontaminasyonlar meydana gelebilmektedir. İnsan sağlığı açısından bu kirleticilerin en önemlilerinden bir tanesi de Aflatoksin M_1'dir. (3).

Süt ve süt ürünlerinde ülkemizde halk sağlığı açısından tehlikeli olarak bilinen Aflatoksin M_1'in incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak, Adıyaman ili ve ilçelerinden toplanan inek sütlerinde Aflatoksin M_1'in incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tezde, Adıyaman ili ve ilçelerinden toplanan inek sütü örneklerinde Aflatoksin M_1 belirlenerek halk sağlığının risk altında olup olmadığı belirlenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Süt

Süt bütün memelilerin meme bezlerinde salgıladıkları biyolojik salgı olarak tanımlanabilir. Çiğ süt manda, inek, koyun ve keçilerden elde edilen 40°C'den fazla ısıtılmamış veya eş değer etkide işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısıdır (4).

SÜT ÇEŞİDİ	Su (g)	Enerji (kkal)	Karbonhidrat(g)	Yağ(g)	Protein(g)	Laktoz(g)
Tam yağlı	87.6	65	4.7	3.8	3.3	4.7
UHT	87.6	65	4.7	3.8	3.3	4.7
Yağsız	90.9	33	5.0	0.1	3.4	5.0

Tablo 2.1.: İnek sütünün besinsel değeri (100 gram süt için) (2)

''Türkiye için gıda standartları açısından yetkin olan Türk Standartları Enstitüsü (TSE) ve Türk Gıda Kodeksi sütü tanımlamıştır. Türk Standartları (TS) 1018 çiğ süt standardına göre: Süt; inek, koyun, keçi ve mandaların meme bezlerinden salgılanan, kendine özgü tat ve kıvamda olan, içine başka maddeler karıştırılmamış, içinden herhangi bir maddesi alınmamış, beyaz veya krem renkli sıvıdır'' (2).

2.2. Sütün Önemi

Süt ve süt ürünleri tüketiminin her yaş grubunun beslenmesindeki öneminin büyük olduğu iyi bilinmektedir. İnek sütü, insanlar, özellikle çocuklar için birçok önemli ve gerekli besin maddesini sağlar. (5). Süt ve süt ürünleri insan yaşamının her aşamasında gereklidir. Bunun temel nedeni, süt ve süt ürünlerinin çeşitli besinler açısından iyi kaynaklara sahip olmasıdır (4). Özellikle çocuklar için vitamin, protein ve mineral gibi gerekli olan besin maddelerini diğer gıdalara göre daha fazla bulundurmaktadır (6). Ülkemizde süt ve süt

ürünlerinin tüketimi tahmini olarak hesaplanmaktadır. Ülkemizde 2019 yılına ait verilere göre kişi başı süt tüketimi yılda 276 kg/kişi olarak hesaplanmıştır (7).

2.3. Sütteki Tehlikeler

Süt tüketiminin düşük olduğu Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde süt genellikle küçük işletmeler veya bazı aracılar tarafından üretilerek tüketiciye çiğ olarak satılmakta ve tüketici tarafından alınan bu sütler ev şartlarında hiçbir standart yaklaşım olmadan, mikrobiyolojik olarak güvenli hale getirmek amacıyla kaynatılmaktadır. Ancak, çiğ sütte olası patojenik mikroorganizmaları yok edebilmek ve besin değerini koruyabilmek için uluslararası koşullarda kabul gören işlemler (pastörizasyon ve UHT gibi teknikler) uygulanmaktadır (2).

Halk sağlığı açısından süt ve süt ürünlerinde bulunan zararlı maddeler arasında pestisitler, ağır metaller, ilaç kalıntıları, çevre kirleticiler ve aflatoksinler gibi kanserojen metabolitler bulunabilir. Modern işletmelerde işlenen süt ve süt ürünlerinde işlenme sırasında çoğu ortadan kaldırılır, ancak küçük işletmeler ve evlerde hazırlanan ürünlerde bu konu önem arz etmektedir. İlaçların bazıları (makrolidler, linkozamidler gibi) organik klorlu insektisitler, bakır, cıva ve tuzları, kurşun, selenyum ve kadminyum, DDT ve türevleri, dioksinler, hekzaklorofen, manganez ve PCB'ler vb. çevre kirleticiler süte geçer ve sütle önemli ölçüde atılır ve insan sağlığı açısından oldukça önemlidir (8).

Süt ve süt ürünleri canlıların büyümesi ve gelişmesi için önemli bir besin kaynağı olmasının yanı sıra maya ve küf kontaminasyonuna açık olmasından dolayı riskli gıdalar arasında değerlendirebilir. Küfler uygun ortamlarda mikotoksin üreterek süt ve süt ürünlerinin kalitesini ve kantitesini bozmaktadır (9). Süt tüketilebilir hayvansal ürünler arasında aflatoksin kalıntıları bakımından insan diyetine geçen en riskli üründür. Mikotoksinler arasında süte geçen en önemli grup aflatoksinlerdir. Aflatoksin B_1 ve Aflatoksin B_2 süte Aflatoksin M_1 ve Aflatoksin M_2 olarak geçer (3,8). Süt ve süt ürünleri aynı zamanda çevre ve gıda kontaminantlarını tüketen bireylere taşıyabilmekte ve fizyolojik değişikliklere neden olabilmektedir. Sütte bulunan zararlı mikroorganizmalar ve bunların metabolitleri memelilerin sütlerine geçebilmekte ve bunları tüketen bireylerin sağlıklarına zarar verebilmektedir. Süt ve süt ürünleri insan diyetine Aflatoksin M_1 taşıma potansiyeli

oldukça yüksektir. Özellikle inek sütünde Aflatoksin M_1 başta çocuklar olmak üzere insan sağlığı için önemli bir risk teşkil etmektedir. Aflatoksin M_1 varlığı süt ve süt ürünlerinde bulunması gelişmekte olan ülkeler için ciddi bir sorundur (10).

2.4. Mikotoksinler

Bazı mantarlar, hayvanlarda ve insanlarda belirli bozukluklarla ilişkili olan mikotoksinler olarak adlandırılan ikincil metabolitleri sentezler. Mikotoksinler toksiktir, hayvanlar ve insanlar tarafından onları içeren yemler veya yiyecekler yenildiğinde ölüme ve diğer toksisite semptomlarına neden olurlar (11). Mikotoksinler, ağırlıklı olarak *Aspergillus, Penicillium* ve *Fusarium* ailelerine ait belirli küf mantarları tarafından üretilen ve hem insanlar hem de hayvanlar üzerinde alerjik tepkilerden ölüme kadar çeşitli olumsuz etkilere neden olabilen toksik sekonder metabolitlerdir (12).

Mikotoksinler küflerin üremesinde veya büyümesinde belirgin bir role sahip değildir, ancak logaritmik büyümenin son evresinde sekonder toksik metabolitler olarak ortaya çıkmaktadır (13). Mikotoksinler akut toksik olmalarına ek olarak, bazı mikotoksinler belirli kanser türlerinin görülme sıklığı ile bağlantılıdır ve özellikle süt ve süt ürünleri için yem ve gıda güvenliği konusunda küresel endişe uyandıran bir husustur. Birçok küf türünün mikotoksin ürettiği ve bu küfler içerisinde mikotoksin türlerinin gıdalara doğal kirleticiler olarak bulaşması hem insanlarda hem de hayvanlarda akut ve kronik zehirlenmelere neden olduğu belirlenmiştir (3).

2.4.1. Mikotoksinlerin Tarihçesi

Tarihte mikotoksinlerin bilinmesi çok eski zamanlara dayanmaktadır. Bilinen ilk mikotoksin zehirlenmesi ergot alkaloidlerinden ileri gelmektedir. Ortaçağda *Claviceps purpurea* olarak bilinen çavdar mahmuzu ile kontamine olmuş unlardan yapılmış ekmekleri yiyen kişilerde bazı sinirsel belirtiler ve karıncalanma görülmüştür. Bu hastalık St. Anthony Ateşi olarak adlandırılmıştır (14). Yunanca küf anlamına gelen ‘’mykes’’ ve Latince zehir anlamına gelen ‘’toxicum’’ kelimeleri yan yana gelerek mikotoksin adını meydana getirirler (15). Eğer "mikotoksin" kelimesinin etimolojisini incelersek, muhtemelen kelimenin diğer köklerinin etimolojisine geri dönmemiz gerekecektir, ancak basitlik için bu kelime "bir

mantar tarafından üretilen bir toksin" anlamına gelir. Muhtemelen ilk kez Forgacs ve Carll tarafından kullanılan "mikotoksikoz" kelimesinden gelmektedir. Daha önce, Ölü Deniz Parşömenleri'nin insanlarda hastalığa neden olan "küf depolarından" bahseden yazıları bilinmektedir ve eski tarihi zamanlarda mikotoksinler muhtemelen hastalıkta rol oynamıştır. Mısır'ın onuncu Vebası'nın bu depoların açılmasıyla ve çiftçi bir ailenin en büyük oğlu ve çiftlik hayvanları tarafından küflü tahılların tüketilmesi sırasında insanlarda ve hayvanlarda ölüm ve hastalığa neden olan maddelerin mikotoksinlerden kaynaklandığı düşünülüyordu (16).

2.5. Aflatoksinler

Aflatoksinlerin keşfi, 1960 yılında İngiltere'de etiyolojisi bilinmeyen bir hindi hastalığının patlak vermesinin hemen ardından başladı. Hastalık Turkey "X" hastalığı olarak adlandırıldı ve sonunda Brezilya'dan ithal edilen zehirli bir yerfıstığı küspesine atfedildi. Haziran 1960'a kadar bilinmeyen bu hastalıktan ölen çok sayıda hindi vardı, bu nedenle bulaşıcı olmayan hastalığın etkenini bulma çabaları başladı. Hastalık "X" hastalığı, daha sonra Turkey "X" hastalığı olarak adlandırıldı (16).

Bir mikotoksin sınıfı olan aflatoksinler genellikle *Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* küflerinin bazı suşları tarafından üretilen oldukça toksik, mutajenik, kanserojen ve teratojenik bileşiklerdir. Tarımsal ürünlerde ve gıdalarda yaygın olarak bulunan dört aflatoksin bileşiği aflatoksin B_1, B_2, G_1 ve G_2'dir (17). Aflatoksinlerin isimlendirilmesi ultraviyole ışık altında verdikleri renkler baz alınarak yapılmaktadır. Ultraviyole ışık altında aflatoksinler mavi (Blue) ve yeşil (Green) renklerini vermektedir ve isimlendirme buradaki İngilizce renklerin baş harflerinden alınmaktadır (9).

Aflatoksin B_1, gıda ve yemlerdeki aflatoksinlerin en baskın olanıdır; memelilerde en güçlü doğal kanserojen olduğu bildirilmiştir. Aflatoksinler çocuk gelişimini zayıflatan, immun sistemi baskılayan, kansere sebep olan ve yoğun maruz kalmada ölüme yol açan küf metabolitleridir (18). Aflatoksin B_1, hem *Aspergillus flavus* hem de *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilir. Aflatoksin M_1, Aflatoksin B_1 ile kontamine olmuş hayvan yemi ile beslenen hayvanların sütünde bulunabilecek hem insan hem de hayvanlarda Aflatoksin B_1'in ana metabolitidir (17).

2.5.1. Dayanıklılık

Süt işleme alınmadığında homojenitesini çabuk kaybeden ve erken bozulan hayvansal bir üründür. Süt birçok şekilde işlenebildiği için aflatoksin dağılımı işleme ve depolama şartlarına göre değişiklik gösterebilir. Süt satışa sunulana kadar bazı ısıl işlemlere maruz bırakılmaktadır. Sütte bulunan aflatoksin süte ısıl işlem uygulanması ile tam olarak uzaklaştırılamaz (3). Aflatoksinler, pastörizasyon ve sterilizasyon prosedürleri de dahi olmak üzere gıda endüstrisinde uygulanan geleneksel ısıl işlemlere karşı oldukça dirençlidir (19).

Süt ürünlerinin ısıl işlemine ilişkin AFM_1 miktarı ile ilgili çalışmaların sonuçları belirsizdir; ancak çalışmaların çoğu pastörizasyon ve sterilizasyon gibi işlemlerin bu ürünlerdeki AFM_1 miktarında kayda değer bir değişiklik olmadığını göstermektedir (11). Aflatoksinler 25 dakika süre ile 300°C derecenin üstündeki ısılarda ancak %60 civarında azalabilmektedir. Kontamine olmuş sütler fermantasyon ve ısıl işlemler esnasında sütün mamul maddeye dönüştürülmesinde kullanılan yöntemlerin toksinleri destabilize etmediği anlaşılmaktadır. Süt ve süt ürünlerinde AFM_1'in uzaklaştırılması için özel yöntemler gerekmektedir (20). Aflatoksinler oldukça kararlı bileşiklerdir ve nispeten yüksek sıcaklıklarda çok az bozulmaya uğrarlar. Nem seviyesi ve pH gibi diğer faktörler onların ısı stabilitesini etkiler, ancak aflatoksinleri yok etmek için ısıtma veya pişirme işlemleri yeterli olmamaktadır (21).

Pastörizasyon işlemlerinin ısı kararlılığı (UHT ısısında bile) dikkate alındığında AFM_1 konsantrasyonu etkilenmez ve yenilebilir gıdalar için bilinen mikotoksin detoksifikasyon süreçleri gıda maddelerini yenmez hale getirdiği dikkate alınmalıdır (22). Yüksek ısıl işlem uygulanan kontaminant gıdalarda bir miktar aflatoksin kaybı nem, pH ve çevrenin kompleks yapısını kaybetmesiyle açıklanabilir. Bu yöntem pratikte kullanılmayan bir detokfikasyon yöntemdir; bunun sebebi aflatoksinler yüksek ısılara maruz bırakıldıklarında dahi dayanıklı olmaları ve bu yöntemin uygulanmasında gıdaya besin değeri açısından zarar verecek olmasıdır. Örneğin sütte bulunan AFM_1 depolama, pastörizasyon ve ısıl işlemlere maruz bırakılması süresi boyunca değişken sıcaklık değerlerine dayanıksız olduğunu gösteren raporlar da bulunmaktadır. Ama sütteki besleyici değerlere zarar vermeden AFM_1 uzaklaştırılmasına veya etkisiz hale getirilmesine dair bir yöntem bilinmemektedir (23). AFM_1'in soğuk ve donmuş depolama sırasında sütteki

stabilitesi üzerine yapılan çalışmalar değişken sonuçlar vermiştir. Ancak donmuş kontamine sütün ve diğer süt ürünlerinin birkaç ay süreyle saklanması, AFM_1 içeriğini etkilemiyor olduğu düşünülmektedir (11). Su içermeyen aflatoksinler, patulin, zearaleon, penisilik asit ve kloratoksin gibi mikotoksinler ısıya oldukça dirençli mikotoksinlerdir. Aflatoksinler 300°C'ye kadar ısıya dayanabilirler. Pirinç ve buğday gibi tahıllarda ergot alkoloidleri ile sitrinin ısıyla etkisiz hale getirilebilmektedir. Yüksek sıcaklıklar mikotoksinleri etkisiz hale getirirken yemlerde fiziksel bozulmaya, besin değeri kaybına sebep olacağından bu yöntem her zaman uygulanamaz (24).

Aflatoksin M_1 sütten peynir yapımı sırasındaki işlemlerden etkilenmez. Bu nedenle, çiğ süt AFM_1 içeriyorsa, bu tür sütlerden yapılan peynirler de AFM_1 içerecektir. İnsanların Aflatoksin M_1'e maruz kalma tehlikesi süt ürünlerindeki Aflatoksin M_1 varlığına dair birçok çalışmada mevcuttur. AFM_1'in tereyağında çözünmemesi ve tereyağı, peynir ve peynir altı suyu gibi süt ürünlerinin üretiminde absorbe edilmesi nedeniyle AFM_1'in seviyesi, süt ürünü bileşenlerinin özelliklerine göre farklılıklar göstermektedir (25).

2.5.2. Duyarlılık

Aflatoksinler tüm hayvanları eşit şekilde etkilemez. Koyun ve sığır gibi hayvanlar, domuz, tavuk, hindi ve ördek yavrusu ile karşılaştırıldığında daha dayanıklıdır. Evcil hayvan türleri, diğer hayvan türlerine benzer şekilde etkilenir ve evcil hayvan türleri, çoğu çiftlik hayvanından daha uzun süre beslenildiği için kanserojenik etkiler endişe vericidir. Bu nedenle, evcil hayvan mama endüstrisi, evcil hayvan maması bileşenlerinde meydana gelen ve evcil hayvan türlerinin tükettiği ürünlerde bulunan aflatoksinler endişe vericidir. Bu endişe, aynı zamanda, 1998'de Amerika Birleşik Devletleri'nde evcil hayvanlar için üretilen gıda ürünlerinden kaynaklanan bir salgında çok sayıda köpeğin ölümüne neden olan birkaç aflatoksin salgınına dayanmaktadır (16). Evcil hayvanlar içerisinde erkekler dişilerden daha duyarlıdır. Kanatlılar içerisinde de aflatoksine en duyarlı olanları ördek ve hindi palazlarıdır. Ördek, alabalık, kedi, köpek, hindi gibi hayvanlar en duyarlı; at, sığır, koyun, keçi, rat, kobay, bıldırcın gibi hayvanlar orta derecede duyarlı; fare ve maymun ise en az derecede duyarlı hayvanlar olarak bilinir (26). Geviş getiren hayvanlar, rumen mikroorganizmalarının detoksifiye edici yeteneklerinden dolayı, genellikle geviş getirmeyen türlere göre daha

toleranslıdır (27). Çoğu hayvanın duyarlı olduğu gösterilmiş olmasına rağmen, genç hayvanlar muhtemelen toksinleri parçalamak için gerekli olan iyi gelişmiş hepatik enzimatik sistemlerin eksikliğinden dolayı yaşlı hayvanlardan daha duyarlıdır. Ayrıca, yakın akraba türler arasında bile duyarlılık derecesinde ciddi bir değişkenlik vardır (28).

2.5.3. Aflatoksin Kaynakları

Dağıtılmadan önce uzun süre saklanan gıda maddeleri, aflatoksin ile kontamine olmaya eğilimlidir. Öte yandan, toksinler çiğ gıdalardan gıda ürünlerine de aktarılabilir. (29). Birçok tarımsal ürün, aflatoksijenik küflere maruz kalır ve dolasıyla aflatoksinler ile kontamine olur. Aflatoksinlerin gıda ve yemlerdeki prevalansı, sıcak ve nemli havanın küflerin büyümesi için en uygun koşulları sağladığı tropik ve subtropikal bölgelerde nispeten daha yüksektir (30).

Birçok küf mantarı, yem maddelerinde mikotoksinler üretir. Küfler hasat öncesi, depolama, nakliye, işleme veya besleme sırasında büyüyebilir ve mikotoksin üretilebilir. Küf oluşumu ve mikotoksin üretimi, zorlu hava koşullarının neden olduğu bitki stresi, böcek hasarı, yetersiz depolama uygulamaları ve hatalı besleme koşulları ile ilgilidir. Genel olarak çevre koşulları (ısı, su ve böcek zararı) bitki stresine neden olur ve bitki stresi tarladaki bitkileri mikotoksin kontaminasyonuna yatkın hale getirir (31).

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus* ve *A. parasiticus* mantarlarının belirli suşları tarafından üretilen, yapısal olarak bir toksik bileşikler grubudur Aflatoksijenik küf mantarları, uygun sıcaklık, nem ve hava seviyesi göz önüne alındığında hemen hemen her tarımsal üründe büyüyebilir ve aflatoksin oluşturabilir (3, 32).

Doğada çeşitli aflatoksin türleri (14 veya daha fazla) bulunur, ancak dört aflatoksin B_1, B_2, G_1 ve G_2, tüm ana gıda ürünlerinde bulundukları için insanlar ve hayvanlar için özellikle tehlikelidir; ancak insan maruziyetinin çoğu, kontamine fındık, tahıllar ve bunların türetilmiş ürünlerinden gelir. Ayrıca Aflatoksin B_1 metabolizmasının bir ürünü olan AFM_1, aflatoksin maruziyetinin yüksek olduğu bölgelerde sütte bulunabilir (33).

Gıda ve Tarım Örgütü, dünya çapında mahsullerin yaklaşık %25'inin değişen derecelerde kontamine olduğunu belirtmiştir. Araştırmalara göre 300.000'den fazla küf türü olduğu ama bunlardan sadece 250 kadarının mikotoksin sentezleyebildiği bildirilmiştir.

Fakat bu türler arasında da 20 türün sentezlediği toksinlerin hayvan ve insanlarda hastalık yapabileceği bildirilmiştir (34).

Aflatoksijenik küfler çok yaygındır ve birçok koşulda çok sayıda substrat üzerinde büyüyebilir, ancak sıcak, nemli, subtropikal ve tropikal iklimlerde gelişir. *A. flavus* ve *A. parasiticus*'un tanımlanmış besiyerlerinde üremesi için uygun koşullar 35 °C ve 0.95 aw iken, aflatoksin üretimi için uygun koşullar 33 °C ve 0.99 aw'dir. (32). Toksin üretimi için ideal aw (su aktivitesi) değeri 0,99 iken üreme için gerekli aw değeri 0,95'tir. Tarım ürünlerini kurutmak suretiyle su aktivitesini 0,65'in altına indirerek ve bu seviyeyi koruyarak küf oluşumu engellenebilir (35). Yem maddeleri hasat öncesi kontamine olabildiğinden, küf gelişiminin ve mikotoksin oluşumunun kontrolü depolama yönetimine bağlıdır. Hasattan sonra, sıcaklık, su aktivitesi ve böcek aktivitesi, yem maddelerinin mikotoksin kontaminasyonunu etkileyen başlıca faktörlerdir. Küfler, 0-40 °C sıcaklık aralığında, 4-8 pH aralığında ve 0,7 aw'nin (su aktivitesi) üzerinde ürerler. Küfler, %12-15'ten fazla nem içeren yemlerde büyüyebilir. Silaj gibi nemli yemlerde, oksijen varsa daha yüksek nem seviyeleri küf oluşumuna izin verir. Çoğu küf aerobik koşullarda üreyebildiğinden, yüksek nem konsantrasyonları havayı dışarıda tutabilir ve küf oluşumunu önlemeye yardımcı olabilir (31). Uygun sıcaklık ve nem koşulları altında, bu mantarlar belirli gıdalar ve yemler üzerinde ürer ve aflatoksin üretimi ile sonuçlanır (3). ‘’Mikroorganizma yükü (küf suşunun toksijenik olup olmadığı, toksijenik ise toksin üretme kabiliyeti) ve mikrobiyal flora, bitki çeşidi, böcek hasarı, ayrıca birden fazla parazit veya kültür türünün mevcut olması da küflerin üremesini ve mikotoksin oluşturmasını etkilemektedir’’ (35).

2.5.4. Aflatoksinlerin Zararları

Gıda güvenliği ve gıda hijyeni önemsendikçe dünya genelinde aflatoksinler daha önemli hale gelmiştir (12). Aflatoksin toksisitesinin tarım, hayvancılık ve insan sağlığı üzerinde önemli etkileri vardır (36). Aflatoksinler, tahıl ve kaba yemlerin besin değerini etkilemesi bakımından önemli ekonomik etkilere sahiptir (27). Aflatoksinler tarımsal ürünleri kontamine eden insan ve hayvanlarda hastalık ve ölüme sebep olabilen sekonder metabolitlerdir (37).

Aflatoksinlerin tüm canlılar üzerinde olumsuz etkileri vardır. Bu etkiler mutajenite, teratojenite ve karsinojeniteye sebep olmaktadır. Protein sentezi, RNA ve DNA sentezi inhibasyonuna neden olurlar. Bazı enzimlerin aktivitesinde azalma, pıhtılaşma faktörü ve lipid sentezi inhibisyonu gibi metabolik etkileri vardır. Bazı hayvanlarda siroz, akut nekroz ve karaciğer kanserine sebep olurlar. Toksik etkilerin görülebilmesi için biyotrasformasyon gereklidir, etkilerini dolaylı olarak gösterirler (23).

2.5.5. Maruziyet

Mikotoksinler, özellikle aflatoksinler tarafından kontamine gıda ürünlerinin tüketimi insan ve hayvan sağlığı için ciddi tehditler oluşturmaktadır. Bu tehditler bağışıklık sisteminin baskılanması, hepatoselüler karsinom, zihinsel bozukluk ve karaciğer nekrozunu kapsar (19). Aflatoksinlerin mutajenik, kanserojen ve teratojenik etkileri olduğu ve özellikle böbrek ve karaciğerde akut ve kronik toksisiteye neden olduğu bilinmektedir. Aflatoksinler toksik etkilerinin şiddetine göre Aflatoksin B_1 > Aflatoksin G_1> Aflatoksin B_2> Aflatoksin G_2 olarak sıralanır (38). AFB_1, bilinen en güçlü hepato-karsinojenlerden biridir ve bu nedenle diyette aşırı düşük seviyelerde aflatoksinlere uzun süreli kronik maruziyet insan sağlığı için ciddi risk teşkil etmektedir. AFM_1, insan hepatositlerinde in vitro olarak bilindiği gibi sitotoksiktir ve çeşitli türlerde akut toksisitesi AFB_1'inkine benzerdir (11).

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC,1993), AFB_1'i Grup 1A insan kanserojeni olarak sınıflandırmıştır. Aflatoksinler arasında sıklıkla karşılaşılan ve toksisitesi yüksek kabul gören Aflatoksin B_1'dir (13, 29). Benzer şekilde, aynı kurum Aflatoksin M_1'i Grup 2B'de olası insan kanserojeni olarak sınıflandırmıştır (16). Mikotoksinler arasında canlılara karşı karsinojenik etki gösterdiği bilinen ve üzerinde en fazla çalışmaların yapıldığı mikotoksin grubu aflatoksinlerdir (39). Aflatoksin B_1'den daha az derecede olmasına rağmen, AFM_1'in de kanserojen olduğu bulunmuştur (16). AFM_1 ayrıca memeli hücrelerinde in vitro, böceklerde, basit ökaryotlarda ve bakterilerde DNA hasarına, gen mutasyonuna, kromozomal anomalilere ve hücre transformasyonuna neden olabilir. Ancak AFM_1, AFB_1'den daha az mutajenik ve genotoksiktir (11).

Çocukların AFM_1'e maruz kalması endişelenecek bir şeydir çünkü süt çocuklar için ana besin maddesidir. Bebekler de dahi olmak üzere çocukların AFM_1'e maruz kalması

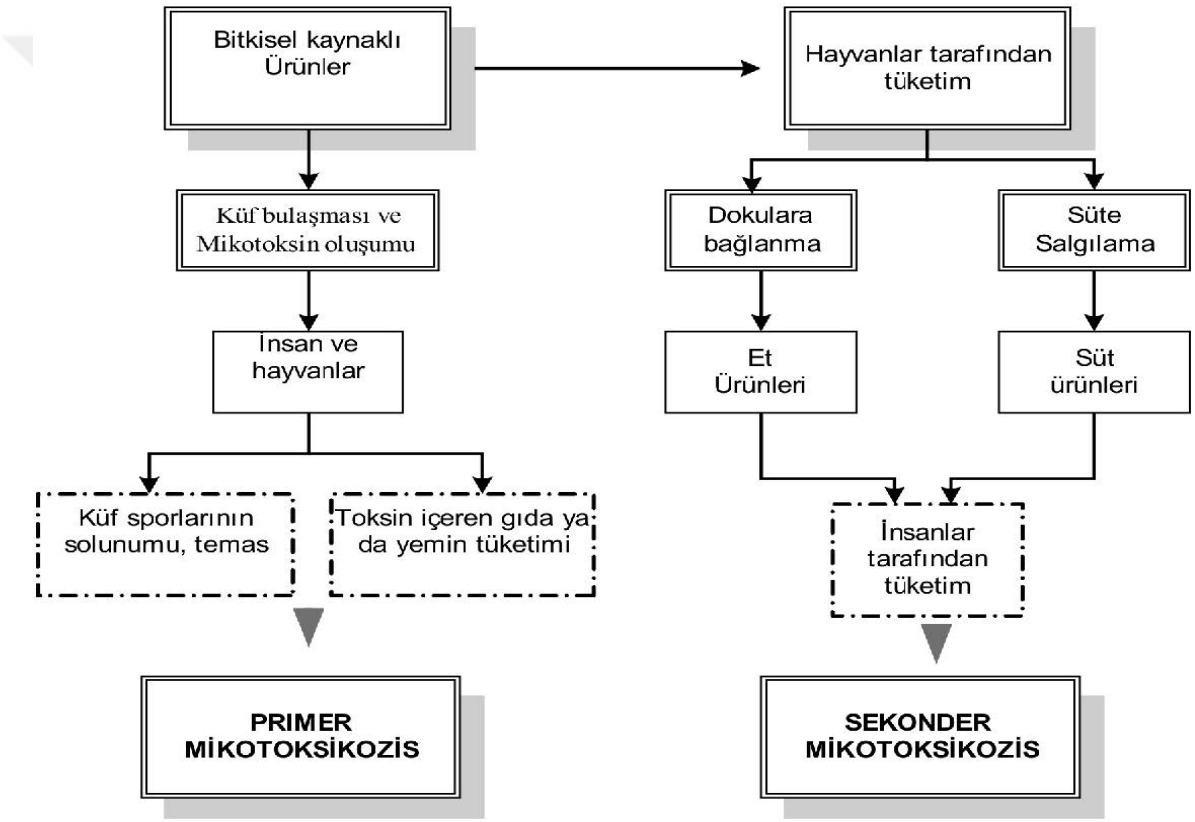
endişe vericidir çünkü çocukların aflatoksinlerin olumsuz etkilerine karşı daha duyarlı oldukları düşünülür ve bağışıklık sistemleri genellikle yetişkinlerden daha duyarlıdır (22). Süt veren süt ineklerinde aflatoksin kontaminasyonunun varlığı, insanlara AFM_1'in bulaşmasında büyük potansiyel risk olarak aracı olabilir (5). Süt ve süt ürünlerine mikotoksin geçişi iki farklı yolla olmaktadır. Birincisinde küf bulaşmış üründe toksin üretimi ile sonuçlanır. Diğer yolla bulaşmada küflü yemi yiyen hayvanlardan süte geçiş dolaylı olarak olur (6). Peynirlerdeki AFM_1, özellikle çocuklar olmak üzere insanlar için tehlikeli olabilir. Bu nedenle süt ürünlerinde AFM_1 varlığı ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (40).

Aflatoksin M_1, Aflatoksin B_1 ile kontamine olmuş yemlerle beslenen laktasyon dönemindeki hayvanların sütünde bulunan bir karaciğer kanserojendir. AFB_1, yem katkı maddeleri olarak kullanılan çeşitli tarım ürünlerinde oluşabilir (22). İnsanların Aflatoksin M_1'e maruz kalması, esas olarak, Aflatoksin B_1 ile kontamine yem tüketen süt ineklerinden gelen kontamine sütün tüketilmesi yoluyla olmaktadır. AFM_1, ısı stabilitesi ve yüksek oranda süt ürünleri tüketmeleri nedeniyle özellikle bebekler ve küçük çocuklar için dünya çapında insan sağlığı açısından potansiyel bir risk olarak kabul edilmektedir (41). Süt ineklerinde, bu kirleticiler ticari sütte oluşabilir ve peynire işlenebilir, oysa birçok gelişmekte olan ülkede insan sütünde AFM_1'in varlığı bebeklik döneminden itibaren aflatoksinlere maruz kalmaya yol açabilir (42).

Hayvanlarda aflatoksin bulaşma kaynakları yem maddeleri coğrafi olarak farklılık gösterebilir. Pek çok yem aflatoksin içerebilir ve yerfıstığı, pamuk tohumu ve mısır en önemlileridir. Tarımsal ürünlerin aflatoksinlerle kontaminasyonu, hem iklimsel hem de teknolojik koşulların aflatoksin oluşumunu teşvik ettiği gelişmekte olan ülkelerle sınırlı olmayan dünya çapında bir sorundur (11).

Süt ve süt ürünlerinin AFM_1 ile kontaminasyonunun coğrafyaya, ülkeye ve mevsime göre değişiklik gösterdiği ifade edilmiştir. AFM_1'in kirlilik seviyesi, mera, yabani ot ve kaba yemlerin kışa göre ilkbahar ve yaz aylarında daha sık bulunması nedeniyle, sıcak ve soğuk mevsimlere göre daha da farklılaşmıştır. AFM_1'in gıda için kullanılan süt ve süt ürünlerinde bazı hijyen sorunlarına neden olduğu bildirilmiştir. (3). AFB_1'e benzer şekilde, AFM_1 de kanserojenik, mutajenik, teratojenik, genotoksik ve bağışıklık sistemini baskılayıcı etkileri vardır (5). İnsan için olası kanserojen grubunda kategorize edilen Aflatoksin M_1, karaciğer,

böbrek ve sindirim sorunlarına neden olur (1). Aflatoksinler insanlara en çok gıdalarla bulaşmaktadır. 3 farklı yolla insanlara aflatoksin bulaşabilmektedir. Doğrudan kontaminasyon; gıda maddesinde küf gelişimi ve buna bağlı toksin varlığı, dolaylı kontaminasyon; gıda üretiminde kullanılan hammaddelere veya yardımcı maddelere toksin bulaşması ve taşınma kontaminasyonu; Aflatoksin B_1 bulaşmış yemlerin süt ineklerinde aflatoksin M_1 dönüşmesiyle insanlara bulaşmaktadır (9). Aflatoksinin insan vücuduna en yaygın giriş yolu ağız yoluyla alımdır (36).



Şekil 2.1.: İnsanlara mikotoksin bulaşma yolları (69).

Aflatoksine maruz kalmanın ana sebebi, kontamine gıdaların doğrudan tüketilmesidir. Aflatoksin maruziyeti, plasental maruziyet yoluyla anne rahminde başlayarak yaşam boyu ortaya çıkabilir. 1960'larda ilk kez tanımlandığından beri, aflatoksin karakterizasyonu, metabolizması, insan ve hayvanlarda toksisitesi ve önlenmesi ile ilgili büyük ilerlemeler kaydedilmiştir (43). İnsanlarda aflatoksinlere maruz kalma genellikle bitki

kaynaklı kontamine gıdaların (mısır ve yerfıstığı gibi) doğrudan yutulması veya süt ve süt ürünlerinin alınması yoluyla olur (21).

Aflatoksinler, maruz kalma süresine ve düzeyine bağlı olarak hem kanserojen hem de hepatotoksik etkilere sahiptir (44). Yüksek dozda aflatoksinlere maruziyet insanlarda akut toksisiteye ve potansiyel olarak ölüme neden olabilir. Etkilenen başlıca organ karaciğerdir, ancak akut aflatoksikozdan ölen bireylerin akciğerlerinde, böbreklerinde, beyinlerinde ve kalplerinde de yüksek düzeyde aflatoksin bulunmuştur. Akut nekroz ve karaciğer sirozu, kanama ve ödem ile birlikte tipiktir (21).

Aflatoksin toksisitesinin prognozu, maruziyetin dozuna ve süresine, beslenme durumuna, bağışıklığa ve sağlığa bağlıdır. Akut maruziyet, yalnızca semptomatik tedaviyi gerektirebilecek bulantı, kusma ve karın ağrısına neden olabilir. Yüksek dozda maruziyet sonucu akut zehirlenme çocuklarda ölümcül olabilir. Düşük doz aflatoksine kronik maruziyet, yüksek morbidite ve mortalite ile geri dönüşü olmayan hastalık durumları olan siroz ve hepatosellüler karsinoma yol açabilir (36).

2.5.6. Aflatoksin Limitleri

Tablo 2.2.: Ülkelere göre AFM_1 limitleri (33, 69).

Gıda Maddesi	**Maksimum limit (µg/kg)**	**Ülke/Bölge**
Süt	0,050	TÜRKİYE
Süt Süt (Çoçuklar için) Peynir	0,050 0,01 0,25	AVUSTURYA
Süt	0,5	ABD
Süt	0,050	ALMANYA
Süt (Yetişkinler için) Süt (Çocuklar için)	0,050 0,030	FRANSA
Süt ve Süt Tozu Peynir Tereyağı	0,050 0,20 0,020	HOLLANDA

Birçok ülkede yemlerdeki Aflatoksin B_1 seviyelerini kontrol etmek ve bu riski azaltmak için sütte izin verilen maksimum AFM_1 seviyelerini önermek için düzenlemeler bulunmaktadır (25). Aflatoksinler halk sağlığı için ciddi riskler oluşturduğundan gıdalarda bulunan aflatoksinlerin limitleri belirlenmiştir (3). Dünya'da ve ülkemizde süt ve süt ürünlerinde AFM_1 değerleri ile ilgili yasal limitler Tablo 2.2.'de belirlenmiştir.

2.5.7. Aflatoksin Kinetiği

Yem ve gıdalarla alınan aflatoksinler gastrointestinal kanaldan sınırlı oranda emilir. Dolaşımdaki aflatoksinler esas olarak karaciğer ve kaslarda dağılır. Vücuda giren toksinlerin %75'i ilk 24 saatte dışkıyla, %15-20'si idrarla ve geri kalanı sütte değişmemiş veya metabolitleri halinde atılır (26). Süt toksini olarak bilinen AFM_1, AFB_1 ile kontamine yemleri tüketen sağmal ineklerin karaciğerinde AFB_1'in sitokrom P450 enzimleri tarafından metabolize edilmesiyle meydana gelir. AFM_1, AFB_1'in hidroksil türevidir. Aflatoksin M_1 dışkı, idrar ve süte geçer (45). Sütteki AFM_1'in, kontamine yem kesildiğinde 3-4 gün sonra sütte hiçbir aflatoksin izi tespit edilmediği görülmüştür (46). Aflatoksin B_1 toksini hayvan vücudunda sitokrom P450 enzim aracılığıyla aflatoksin M_1 adlı hidroksillenmiş bir metabolite dönüşür ve bu metabolit hayvan vücudundan idrar ve süt yoluyla atılır ve dolayısıyla sütü kontamine eder (1). Anne sütü beslenme ve immünolojik bileşenlerle dolu olmasına rağmen, bebekler için potansiyel aflatoksine maruz kalma kaynağıdır. AFB_1'in hidroksillenmiş metaboliti olan AFM_1, tipik olarak anne sütünde AFB_1 ile kontamine gıdaların alınmasından 12 ila 24 saat sonra tespit edilir (43).

Aflatoksin M_1, sığırlar tarafından Aflatoksin B_1 ile kontamine olmuş gıdaların yenmesinin doğrudan bir sonucu olarak süt veya süt ürünlerinde ortaya çıkar (22). Aflatoksin B_1'in alınmasından 12 saat sonra sütte Aflatoksin M_1 görülebilir. Kontamine yemlerin kesilmesiyle beraber 72 saat içinde AFM_1 görülmeyebilir. Sütte Aflatoksin M_1 bulunması Aflatoksin B_1 ile kontamine gıdaların alınmasıyla doğrusal ilişki içindedir (13). Hayvan yemindeki AFB_1'in yaklaşık %1-2'si sütte AFM_1'e dönüştürülür, hayvandan hayvana, günden güne ve bir sağımdan diğerine farklılıklar gösterir ve AFB_1 alımı durdurulduğunda, 72 saat sonra sütteki AFM_1 konsantrasyonu saptanamaz bir düzeye düşer. (40). Aflatoksin B_1 süte %0,8-2,2 oranında Aflatoksin M_1 olarak geçer (9).

Yapılan bir çalışmada, doğal olarak kontamine olmuş yemlerle yapılan 60 günlük bir denemede, yumurtalara aflatoksin taşındığı tespit edilmiştir. Aflatoksinlerin karaciğer ve çok işlevli oksidaz sistemleri içeren hücreler üzerindeki geniş etkisi, hayvanlar üzerindeki etkilerinin derin ve geniş kapsamlı olmasına yol açar (28). Laktasyondaki süt ineklerine 5 mg AFB_1 verildiğinde, plazmada AFB_1 ve AFM_1 konsantrasyonları alımdan 15 dakika sonra tespit edilebilir. Bu, AFB_1'in AFM_1'e hızlı dönüşümünü ve biyotransformasyonunu gösterir (5). Aflatoksin B_1 ile kontamine yemlerle beslenen hayvanların karaciğerinde 12-24 saat içinde AFM_1'e dönüşür ve 3-4 günde en yüksek değerine ulaşır. Aflatoksin M_1 miktarı tüketilen Aflatoksin B_1 ile doğrudan ilişkili olup, beslenme şekli, açlık süresi ve özellikle sıcaklık ve nem ile anlamlı bir şekilde değişmektedir (1). Benzer şekilde, yeterli miktarda Aflatoksin B_1 tüketen kişilerin idrarında da Aflatoksin M_1 tespit edilebilmektedir (16).

Aflatoksinler içerisinde zehirliliği en güçlü olanı AFB_1'dir. Bunu azalan sırayla AFG_1, AFB_2 ve AFG_2 izler. Hayvanların çoğunda AFB_1'in $ÖD_{50}$ değeri 0.5-10 mg/kg arasında değişir (26). Maymunlar da dahi olmak üzere birçok hayvan türünde aflatoksinlerin oldukça toksik ve kanserojen olduğunun bulunmasından sonra, dikkatler insanlarda karaciğer hastalığında, özellikle hepatoselüler karsinomda aflatoksinlerin rolüne çevrilmiştir (16).

2.5.8. Klinik Bulgular

Aflatoksinler hem akut hem de kronik olarak toksiktir (11). Aflatoksinler kronik, subakut ve akut zehirlenmelere sebep olurlar. İnsanlarda ve hayvanlarda aflatoksinlerin neden olduğu akut veya kronik zehirlenmeye aflatoksikozis denir. Zehirlenme canlının duyarlılığı ve alınan miktara göre değişiklik gösterebilir (26). Aflatoksinlerin toksik etkilerinden en çok etkilenen organ karaciğerdir (36). Aflatoksinler esas olarak hepatotoksik etki göstermesine rağmen, endokrin sistem, sindirim sistemi, hematopoetik sistem ve bağışıklık sistemi olmak üzere birden fazla sistemi etkilerler (16). Aflatoksin maruziyeti bulantı, kusma, karın ağrısı ve istemsiz kasılmalara neden olabilir. Çocuklarda aflatoksin maruziyeti büyümede gerileme ve gelişmede bozulmalara yol açabilir (36).

Kısa bir süre içinde meydana gelen yüksek düzeyde aflatoksin maruziyeti akut aflatoksikoz olarak bilinir (43). Yüksek düzeyde maruziyet, akut karaciğer yetmezliği, siroz ve hepatoselüler karsinoma neden olur. Akut karaciğer yetmezliği kendini ateş, mide

bulantısı, kusma, karın ağrısı, kanama, ödem, emilimde bozulmalar ve koma şeklinde gösterir (36). Aflatoksinlerle akut zehirlenmede, hayvanlarda, kusma, solunum güçlüğü, burundan akıntı gelmesi, kansızlık, öksürük, ishal, kasılmalar, kapillar damarlarda dayanıklılığın azalması sonucu kanamalar, koma ve ani ölüm gözlemlenebilir (36, 26).

Subakut olgularda kanamalı bağırsak yangısı, kanın pıhtılaşmasında rol oynayan hücrelerde azalma, sarılık ve hematom ön plana çıkar. Serum proteinlerinde azalma ile beraber kan pıhtılaşma mekanizmasında aksaklıklar ve karaciğerde nekroz görülür. Mukozada ve vücut boşluklarında kanamalar görülür (26).

Kronik maruziyetin hepatotoksisite, immünotoksisite ve teratojenite gibi çeşitli komplikasyonları vardır (36). Kronik zehirlenmede bağışıklık sisteminin zayıflaması sonucunda hayvanlarda bazı belirtiler ön plana çıkar (26). Bu belirtiler arasında hayvanlarda yemden yararlanmada ve kilo alımında azalma, karaciğer fonksiyon bozukluğu, pıhtılaşmada anormallikler ve ölüm görülebilir. İneklerde süt veriminde azalma, tavuklarda yumurta veriminin, yumurta ağırlığının ve karkas kalitesinin düşmesi, protein sentezinin bozulması kronik toksisitenin neden olduğu etkilerdir. Bağışıklık sisteminde zayıflama sonucu hayvanlar hastalıklara karşı daha duyarlıdır. Daha az tehlikeli olmakla birlikte, bu tür toksikasyonlar hayvanlarda, özellikle kümes hayvanlarında ekonomik açıdan son derece önemlidir (26, 28). Aflatoksine kronik maruz kalma karaciğer sirozuna neden olabilir. Ayrıca safra kesesi karsinomu kronik toksisite ile ilişkilidir. Kronik maruziyet karaciğer ve safra kesesi kanserine yakalanma riskini artırır (47, 48).

2.5.9. Korunma

Mikotoksinler ve özellikle gıdalardaki aflatoksinler için çeşitli kontrol önlemleri benimsemiştir (16). Mikotoksin kontaminasyonunun önlenmesi için çok sayıda fiziksel ve kimyasal detoksifikasyon yöntemi bulunmaktadır. Yüksek maliyetleri, biyogüvenlik riski ve besinsel değerlerdeki kayıplar nedeniyle birçok yöntem standartları karşılamamaktadır. (49). Pahalı olmayan, kültürel olarak kabul edilebilir ve genel düzeyde uygulanması kolay aflatoksin azaltma müdahaleleri uygulanmalıdır (43). Hayvan yemi olarak kullanılması amaçlanan tarımsal ürünlerde küf gelişimini ve Aflatoksin B_1 oluşumunu azaltmak için önleyici tedbirler uygulanmalıdır (11). Küf oluşumunu ve mikotoksin üretimini kontrol

etmek, yem üreticisi ve hayvancılık için çok önemlidir. Yemlerde küf oluşumunu önlemek için, nem oranının düşürülmesi, yemin taze ve yem üretiminde ve dağıtımında kullanılan ekipmanın temiz tutulması ile yapılabilir (27).

Süt ürünlerinde bu toksini azaltmak için hayvanlara verilen yem maddelerini AFB_1 kontaminasyonundan uzak tutmak önemlidir (50). Laktasyondaki süt ineklerinin rasyonlarında AFB_1 kontaminasyonunu önlemek için fiziko-kimyasal ve biyolojik yöntemler önerilmiş ve test edilmiştir. Bu uygulamalardan biri de kontamine tahılların fiziksel olarak ayrıştırılması iken, kimyasal detoksifikasyon yöntemleri de uygulanabilir. Aflatoksinlerin detokfikasyonu için ozonlama gibi kimyasal yöntemlerin kullanılması denenmiştir ve amonyaklaştırmanın en uygun yöntem olduğu düşünülmektedir (16, 5).

Tarımsal ürünler hasattan önce, hasat sırasında veya hasattan sonra kontamine olabilir. Aflatoksin kontrolü hasat öncesi, hasat sonrası, ürün işleme ve depolama esnasında gereklidir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, hasat öncesi aflatoksin kontaminasyonunu kontrol etmenin en ideal çözümü, gıda mahsulünün küf mantarlarından korumak veya küf mantarları tarafından aflatoksin üretimini önleme çalışmalarını arttırmaktır. (48). *A. flavus* kaynaklı kontaminasyon esas olarak tarlada gerçekleştiğinden, hasat öncesi küf kontaminasyonunun önlenmesi ve aflatoksin kontaminasyonu risklerini azaltmak, güvenli bir gıda maddesi sağlamanın en ideal yöntemidir (11). Hasattan önce aflatoksinlerin azaltılması için dikkat çeken stratejilerden biri, toksik olmayan *Aspergillus flavus* izolatları kullanılmasıyla biyolojik kontroldür. Bu toksik olmayan suşlar, doğal olarak oluşan toksijenik suşlarla aynı koşullarda yaşar. *A.flavus*'un belirli aflatoksijenik olmayan suşları, mahsul gelişimi sırasında aflatoksin üreten suşları rekabetçi bir şekilde baskılama kabiliyetine sahip olduğu bildirilmiştir. Strateji, ABD'de incir, Antep fıstığı, yer fıstığı, mısır ve pamuk, Avustralya, Çin ve Arjantin'de yer fıstığı ve Afrika'da mısır vb. gıda ürünlerine uygulanmaktadır (16, 38).

Hasat zamanı oldukça önemlidir ve yüksek sıcaklıkta hasat yapılması önerilmez. Böceklere karşı pestisitler kullanılmalıdır. Yüksek oranda azot kullanımı ve dengesiz gübreleme hızlı gelişmeye neden olur ve bitkilerin yumuşamasına yol açar. Bu durumda ekinler, böcek ve küf maruziyetine karşı daha duyarlı olur (11). Hasat sonrası müdahaleler, küf tarafından toksinlerin kontaminasyonunu ve üretimini etkileyen uygun depolama

koşullarına (sıcaklık, mekanik veya böcek hasarı, havalandırma ve yağ) yönelik önleyici tedbirleri içerir (48).

Küf oluşumunu önlemek için tahıllar ve diğer kuru yemler %14'ün altındaki nem seviyesinde saklanmalıdır (27). Küflerin aflatoksin sentezleyebilmesi için ideal sıcaklık aralığı 12-42°C, uygun sıcaklık ise 25-35°C olarak belirlenmiştir. Küfler aerobik canlılardır. Bu nedenle ortamdaki CO_2 konsantrasyonu %10'un üzerine çıkarılarak küflerin üremesi baskılanabilir. Genel bir kural olarak, hafif asidik ortamlar bazik ortamlara göre daha elverişli üreme şartlarını sağlar (35). Küf ve mikotoksin oluşumunu azaltmada etkili oldukları bilinen organik asitlerin (propiyonik veya propiyonat, formik vb.) kullanılması tavsiye edilir (11).

Aflatoksin ile kontamine olmuş gıdalardan aflatoksin uzaklaştırılması için enterosorbentlerin kullanımı veya kimyasal dekontaminasyon önlemleri de uygulanabilir. (48). Kimyasal küf önleyicilerin kullanımı yaygın uygulanan bir yöntemdir. Yemlere hidratlı sodyum kalsiyum alüminosilikat (HSCAS), tavuklarda, domuzlarda ve ineklerde aflatoksinin olumsuz etkilerini önemli ölçüde azaltabilir (27). Yeme alüminosilikat sorbentleri gibi kimyasalların eklenmesi karaciğer, böbrek ve kas dokusunda saptanabilen Aflatoksin M_1 miktarını azaltabilirken, Aflatoksin B_1 miktarının sadece kas dokusunda azaldığı ve karaciğer veya böbreklerde azalma saptanmadığı açıklanmıştır (51).

Mikroorganizmalar veya enzimler kullanılarak aflatoksinlerin biyolojik olarak parçalanması, gıda ve yemlerdeki aflatoksinlerin azaltılması için tercih edilebilecek yöntemlerden biridir. Rumen bakterilerinin aflatoksinlerin yapılarını bozduğu bildirilmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* AFB_1'i bağlama kabiliyetine sahip olduğu düşünülmektedir (52). Laktik asit bakterilerinin aflatoksin miktarını belirli oranlarda azalttığı gözlemlenmiştir. Aflatoksin M_1 konsantrasyonu laktik asit bakterilerinin kullanılmasıyla %80-%90 azaltılabilmektedir. Ayrıca *Saccharomyces cerevisiae* kullanılması da benzer etki yapmaktadır, ancak *Saccharomyces cerevisiae*'nin laktik asit bakterilerine göre Aflatoksin M_1 bağlama kabiliyeti daha yüksektir (53).

Sağlık çalışanları toksin kaynağını izlemek için aflatoksine maruz kalmış hastanın yanı sıra ailesini ve çevresini de kontrol etmelidir. Bu süreç, maruz kalma kaynağının izlenmesine yardımcı olur ve aflatoksin maruziyetinin etkisini sınırlar. Aflatoksin maruziyetinin azaltılması veteriner hekimler, çiftçiler, ziraat mühendisleri ve gıda

mühendislerinden oluşan meslek gruplarının beraber çalışmasıyla mümkündür. Gıdaları aflatoksinden korumak, aflatoksinin sağlık üzerindeki etkilerini sınırlamada en önemli adımdır (36). Çiftçilere, tahıl üreticilerine ve pazarlamacılara, güvenliği sağlamak ve kayıpları en aza indirmek için eğitim verilmelidir. Sonuç olarak, yaygın olarak kullanılan gıda ve yemlerin kontaminasyonu, halk sağlığı için önemli bir risktir ve uzun vadeli olumsuz etkileri olabilir (29). Aflatoksin toksisitesi hakkında halkın bilgilendirilmesi ve gıda güvenliğinin sağlanması aflatoksine bağlı sağlık sorunlarının görülme sıklığının azaltılmasına yardımcı olacaktır. Çiftçiler özellikle mahsullerin büyümesi, hasadı, depolanması ve nakliyesi sırasında olası aflatoksin kontaminasyonuna dikkat etmelidir. Halk, aflatoksin toksisitesinin erken belirtileri hakkında bilgilendirilmeli ve tıbbi yardım almaya teşvik edilmelidir (36).

2.5.10. Tedavi

Aflatoksinlerden meydana gelen zehirlenmelerin etkili bir sağaltımı yoktur (36). Alatoksinlere karşı henüz kullanılabilen bir antidot yoktur (54). Zehirlenmeye sebep olan yemler kesilir ve hayvana yağ oranı düşük, yüksek protein içeren, kolay sindirilebilir yemler verilmelidir. Aflatoksinler protein sentezini azalttığı için hayvanlara protein yönünden zengin yemler verilmelidir. A ve D vitaminleri ile bazı minerallerin zehirlenmeye karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir. Kas içi yolla 4-5 gün arayla 2 mg/kg dozunda stanozolol verilmesi faydalı bulunmuştur. Ayrıca ağızdan etkin kömür verilmesi bu etkiyi arttırır. Zehirlenmeye sebep olan maddelerin alınmasının kesilmesi ve emilimini azaltmak için etkin kömür ve sürgüt ilaçların kullanımı genellikle faydalı olmaktadır (8, 55).

Tedavi esası olarak semptomatik tedavi ve destekleyici bakım ön plana çıkmaktadır. Tedavi için uygun intravenöz sıvılar, B ve K vitamini uygulaması olumlu etki etmektedir. Yeterli karbonhidrat içeren yüksek kaliteli ve protein oranı düşük bir diyet önerilir. Ayrıca ateş, bulantı, kusma ve diğer bulgular da dikkatle ele alınmalıdır. Belirtiler akut karaciğer yetmezliğini düşündürüyorsa, erken teşhis edilmeli ve yoğun bakım ortamında takip edilmelidir (36). Yumrulu sebzeler aflatoksinlerin toksik etkisini azaltabilir (48). Bazı araştırmalar, kereviz, havuç, maydanoz ve yaban havucu gibi sebzelerden oluşan düzenli bir diyetin aflatoksinin kanserojen etkilerini azaltmaya yardımcı olabileceğini göstermiştir (36).

Hayvan diyetlerine antioksidanların eklenmesi, mikotoksinlerin etkileriyle baş etmede yardımcı olabilir (27). Aflatoksin toksisitesinin mevcut vakalarının çoğu, kronik maruziyetlerden sonra geç başvurulardır. Aflatoksin toksisitesi, gelişmekte olan ülkelerde karaciğer sirozu ve hepatosellüler karsinomun başlıca nedenlerinden biridir. Akut yüksek doz maruziyetler nadirdir ve en şiddetli vakalar çocuklarda görülür. Hayatı tehdit eden akut hepatit yoğun bakım desteğine ihtiyaç duyacağından, yüksek doz akut intoksikasyon hastaneye yatış ve yakın takip gerektirebilir (36).

2.5.11. Analiz Yöntemleri

Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin analizi için doğru sonuç veren, güvenilir ve kolay uygulanabilen metotlar vardır. Aflatoksinler UV absorpsiyon ve floresan özelliklere sahip düşük moleküler kütleli polar bileşiklerdir; bu yüzden analizlerinde, İnce Tabaka Kromatografisi (TLC), Yüksek Performans Likit Kromatografisi (HPLC) ve Enzime bağlı immünosorbent analiz (ELISA) yöntemleri kullanılmaktadır (42). TLC, AFM_1'i tespit etmek için kullanılan ilk yöntemdi (56).

HPLC yöntemi özel kolonlar, ön hazırlık, birçok kimyasal kullanımı ve zaman açısından önemli kayıplara yol açtığından pratikte tercih edilen bir yöntem değildir. Bu nedenle çalışmalarda kromatografi yöntemlerinden daha çok immünolojik yöntemler tercih edilmektedir (56). TLC tekniğinde yoğun prosedürler ve çok fazla solvent kullanıldığı için çok tercih edilmez (42).

‘’ELISA yöntemi, antijen-antikor reaksiyonlarının doğrudan tespit edildiği bir enzim immunoassay yöntemidir. İmmünolojik yöntemler arasında en bilineni ELISA yöntemidir. ELISA yöntemi, çeşitli gıda maddelerinde mikotoksin türlerinin tespitinde, özellikle süt ve süt ürünlerinde AFM_1 tespitinde yaygın olarak kullanılmaktadır‘’ (39). ELISA hızlı, güvenilir ve ekonomik olması nedeniyle tercih edilmektedir. Uygulanabilirlik, analitik aralık ve doğrulama kriterleri açısından iyi tanımlanmış ve üretici tarafından belirtilen matris ve analitik aralıklar içinde gerçekleştirme kabiliyetini sağlamasını gerektiren bu yöntem aflatoksin analizi için uygun bir teknik haline gelmiştir (42). ELISA, büyük ölçekli tekrarlama yetenekleri ile spesifik ve hızlı yanıtlar verdiği için tercih edilen bir yöntemdir.

HPLC gibi diğer yöntemlere göre düşük maliyetli, hızlı, küçük numune hacimleri ve daha az hazırlama prosedürü gerektirdiği için analizlerde özellikle tercih edilir (56).

ELISA, testin gerçekleştirilmesinde çok yaygın olan çapraz kontaminasyon nedeniyle yanlış negatif veya pozitif sonuçlar verebilir ve bu nedenle numunelerdeki Aflatoksin yoğunluğunun fazla veya eksik hesaplanmasına sebep olabilir. Günümüzde tarama amaçlı AFM_1'in belirlenmesi için yaygın kullanılan yöntem ELISA yöntemidir. ELISA tekrarlanabilirlik açısından en uygun yöntemdir (56).

3.GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Malzemeler

ELISA analizinde kullanılan kitin marka ve özellikleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

-ELISA okuyucu (Thermo Scientific Multiskan Go 1510)

-Mikropleyt yıkayıcısı (Thermo Scientific wellwash 888)

-Santrifüj cihazı (Thermo Scientific SL16R)

-Çok kanallı pipet -Otomatik pipet havuzu -Otomatik pipet ve pipet uçları

-Otomatik çalkalayıcı -Falkon tüpü ve standı

Tablo 3.1.: Neogen Veratox Aflatoksin M_1 Kiti (8109) İçeriği

İÇİNDEKİLER	ADET	RENK	AÇIKLAMA
MİKRO KUYUCUK	96	-	Antikor kaplı mikro çukur
AFM_1 STANDART	6	Kahverengi	0,5,15,30,60,100 ppt konsantrasyonunda standartlar
HRP	2	Mavi	Kojugat çözeltisi
K-BLUE	1	Yeşil	Substrat çözeltisi
RED STOP	1	Kırmızı	İşlemi sonlandırma çözeltisi
WASH BUFFER	1	-	Araişlemlerde kuyucukları yıkama solüsyonu
DILUENT	1	Beyaz	Seyreltme çözeltisi

3.2. Numunelerin Toplanması

Çalışmada AFM_1 analizi için Adıyaman il ve ilçe merkezlerinde satışa sunulan çiğ süt örneklerinden 96 adet inek sütü toplanmıştır. Süt numuneleri en az 30 ml en fazla 50 ml olacak şekilde toplanmıştır. Numuneler 50 ml ve 15 ml'lik steril plastik tüplere alınmıştır. Numuneler toplamda 9 bölgede çiğ süt satışı yapan işletmeler ve seyyar satıcılardan toplanılmıştır. Örnekler Eylül 2021-Nisan 2022 tarihleri arasında her ay 12 örnek olacak şekilde toplanılmıştır. Süt örnekleri -20 °C'de dondurulmuş ve daha sonra analiz yapılacak laboratuvara soğuk zincirle taşınmıştır. Dondurulmuş örnekler analiz süresine kadar -20 °C'de Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde saklanmıştır. Örneklerin toplandığı bölgeler şekil 3.1.'de verilmiştir.



Şekil 3.1.: Süt örneklerinin toplandığı bölgeler

3.3. Numunelerin Analize Hazırlanması

Süt örnekleri erimesi için beklendikten sonra yağları ayırmak için 10 °C'de 10 dakika 3500 rpm hızda santrifüj işlemi yapılmıştır. Üst yağ tabakasının alınmamasına dikkat edilerek, seyreltme yapılmadan ve numuneler doğrudan analize alınmıştır.

3.4. Numunelerin Analizi

Analize başlamadan önce tüm reaktifler ve kit içeriği oda sıcaklığına getirilmiştir.

Her bir örnek için 1 adet karıştırma kuyucuğu ve standartlar için 6 adet karıştırma kuyucuğu mikro plate tutucuya konuldu. Kullanılacak her karıştırma kuyucuğu için bir adet antikor kaplı kuyucuk çıkarıldı. Kullanılmayan antikor kaplı kuyucuklar hemen kit paketine folyo kaplı bir şekilde konuldu.

Kullanımdan önce reaktif şişesi vortekslendi. Her bir örnek için yeni pipet ucu kullanılacak şekilde 250 µl alındı ve karıştırma kuyucuklarına eklendi. 12 kanallı bir pipet kullanılarak karıştırma kuyucuklarından 100 µl antikor kaplı kuyucuklara aktarıldı.

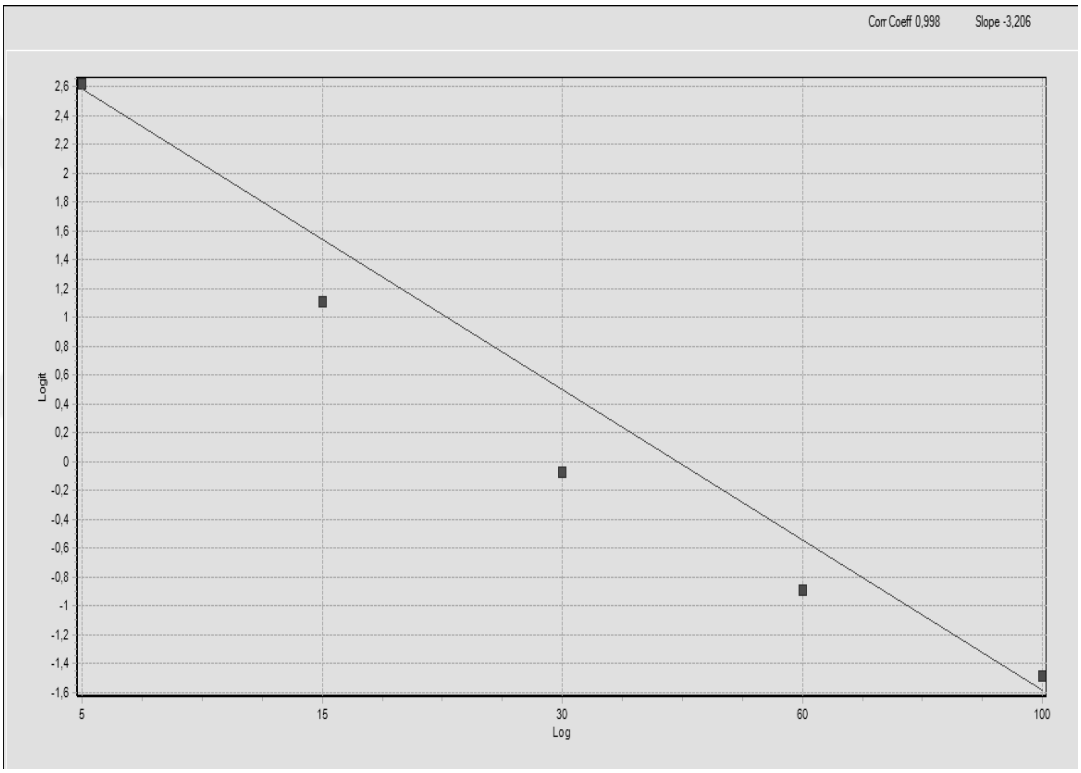
Mikroplate 20 dakika oda sıcaklığında otomatik çalkalayıcıda (600 d/d) bekletildi. İçindeki sıvılar döküldü ve 5 defa yıkama solüsyonu ile yıkandı. Yeni pipet uçları ile her örnek için kuyucuklara 100 µl konjugat eklendi. 10 dakika oda sıcaklığında otomatik çalkalayıcıda (600 d/d) bekletildi. İçindeki sıvılar döküldü ve 5 defa yıkama solüsyonu ile yıkandı.

Yeni pipet uçları ile her örnek için 100 µl kuyucuklara substrat eklendi. 15 dakika oda sıcaklığında otomatik çalkalayıcıda (600 d/d) bekletildi. Her örnek için kuyucuklara 100 µl stop solüsyonu eklendi, iyice pipet ile karıştırıldı ve spektrofotometrik cihazda 650 nm dalga boyunda okutuldu.

Analizde kullanılan standartlar aynı seriye ait 2. kit paketinden kullanılmış ve 0, 5, 15, 30, 60, 100 ppt olmak üzere 6 standart kullanılmıştır. Sırasıyla standartların absorbans değerleri; 2,906, 2,842, 2,167, 1,596, 0,868, 0,570 şeklinde bulundu.

4. BULGULAR

Adıyaman ilinde satışa sunulan çiğ sütlerde Aflatoksin M_1 miktarları ölçülmüş ve Tablo 4.2'de verilmiştir. Çalışmada Aflatoksin M_1 tespit limiti (LOD) 4.3 ppt olarak üretici firma tarafından belirtilmiştir. Miktar analizlerinde kullanılan kalibrasyon eğrisi Grafik 1'de sunulmuştur.



Grafik 4.1.: Kalibrasyon ($R^{2)}$ Eğrisi

Mevcut çalışmada ELISA yöntemiyle analizi yapılan çiğ süt örneklerine ait ELISA absorbans değeleri ve test sonuçları Tablo 4.1'de sunulmuştur.

Tablo 4.1.:Çiğ süt örneklerinin ELISA'da verdikleri absorbans değerleri ve AFM_1 Konsantrasyonları (µg/kg)

Örnek No	Absorbans Değeri	Sonuç (µg/kg)	Örnek No	Absorbans Değeri	Sonuç(µg/kg)
1	1,0711	0,009	**49**	2,1564	0,0
2	2,3668	0,012	**50**	2,3766	0,0
3	2,2168	0,015	**51**	1,3991	0,01
4	2,2822	0,013	**52**	2,1122	0,0
5	2,4306	0,008	**53**	2,1213	0,0
6	2,4131	0,003	**54**	2,182	0,0
7	0,6906	0,039	**55**	2,3429	0,0
8	0,7002	0,038	**56**	2,2823	0,0
9	2,3161	0,0	**57**	2,3013	0,0
10	1,0185	0,021	**58**	2,1461	0,0
11	2,0976	0,0	**59**	2,1067	0,0
12	2,4804	0,0	**60**	1,9971	0,0
13	2,7619	0,0	**61**	2,0507	0,0
14	2,4303	0,0	**62**	1,9648	0,0
15	1,9602	0,0	**63**	2,0316	0,0
16	2,5341	0,0	**64**	1,5521	0,020
17	2,7561	0,0	**65**	1,2103	0,014
18	1,9463	0,0	**66**	0,5758	0,048
19	2,0527	0,0	**67**	0,865	0,028
20	2,4643	0,0	**68**	0,5587	0,051
21	2,1369	0,0	**69**	1,688	0,0
22	2,5664	0,0	**70**	0,804	0,032
23	2,1535	0,0	**71**	1,0388	0,021
24	2,5655	0,0	**72**	0,6008	0,046
25	2,2574	0,0	**73**	1,5741	0,002
26	0,926	0,025	**74**	0,5754	0,048
27	2,1014	0,0	**75**	0,5543	0,051
28	2,3783	0,0	**76**	0,552	0,052
29	1,6742	0,0	**77**	1,4445	0,006

Tablo 4.1. devamı.:Çiğ süt örneklerinin ELISA'da verdikleri absorbans değerleri ve AFM_1 Konsantrasyonları (µg/kg)

30	2,3499	0,0	**78**	0,6624	0,041
31	2,559	0,0	**79**	1,0907	0,018
32	2,4357	0,0	**80**	1,0485	0,020
33	2,4953	0,0	**81**	0,5808	0,048
34	1,7733	0,0	**82**	1,2109	0,014
35	1,7414	0,0	**83**	0,5733	0,049
36	2,32	0,0	**84**	0,6068	0,046
37	1,9885	0,0	**85**	1,5638	0,002
38	2,3896	0,0	**86**	1,5347	0,004
39	1,6416	0,0	**87**	0,8794	0,027
40	2,176	0,0	**88**	0,9038	0,026
41	2,1854	0,0	**89**	1,5522	0,002
42	2,1547	0,0	**90**	0,6208	0,047
43	1,7951	0,0	**91**	0,6318	0,044
44	2,4085	0,0	**92**	0,622	0,045
45	2,2068	0,0	**93**	0,6288	0,044
46	2,1247	0,0	**94**	0,5869	0,048
47	2,2119	0,0	**95**	0,8575	0,029
48	2,0845	0,0	**96**	0,5178	0,054

Tablo 4.1'deki veriler genel olarak değerlendirildiğinde 96 örnekten 43'ünün (%44,79) değişen miktarlarda AFM_1 içerdiği görülmüştür. Analizi yapılan süt örnekleri içerdiği toksin yönünden dağılımı ise Tablo 4.3'te detayları ile birlikte verilmiştir. Türk Gıda Kodeksi (TGK)'nin belirlediği yasal limitin 0,05 µg/kg olduğu göz önünde bulundurulduğunda, Adıyaman ilinde 9 farklı bölgeden toplanıp AFM_1 yönünden analizi yapılan çiğ süt örneklerinden 4'ünün (%4,16) yasal limiti geçtiği tespit edilmiştir. Bu 4 örneğin 2'si Kahta bölgesinden alınan sokak sütlerini temsil etmektedir. Diğer yasal limiti geçen 2 örnek ise Besni bölgesindeki işletmelerden alınan süt örnekleridir. Yasal limiti geçmemesine rağmen 7 pozitif örnek ile Gölbaşı bölgesi en çok toksin varlığının olduğu bölge olarak görülmektedir. Tablo 4.1'de numaraları ile birlikte verilen süt örnekleri Tablo 4.3'te bölgelere ve mevsimlere göre sınıflandırılmıştır. En çok pozitif örnek sonbahar 24 (%56) ve en az ilkbahar mevsiminde 4 (%9) kışın ise 15 (%35) pozitif örnek bulunmuştur.

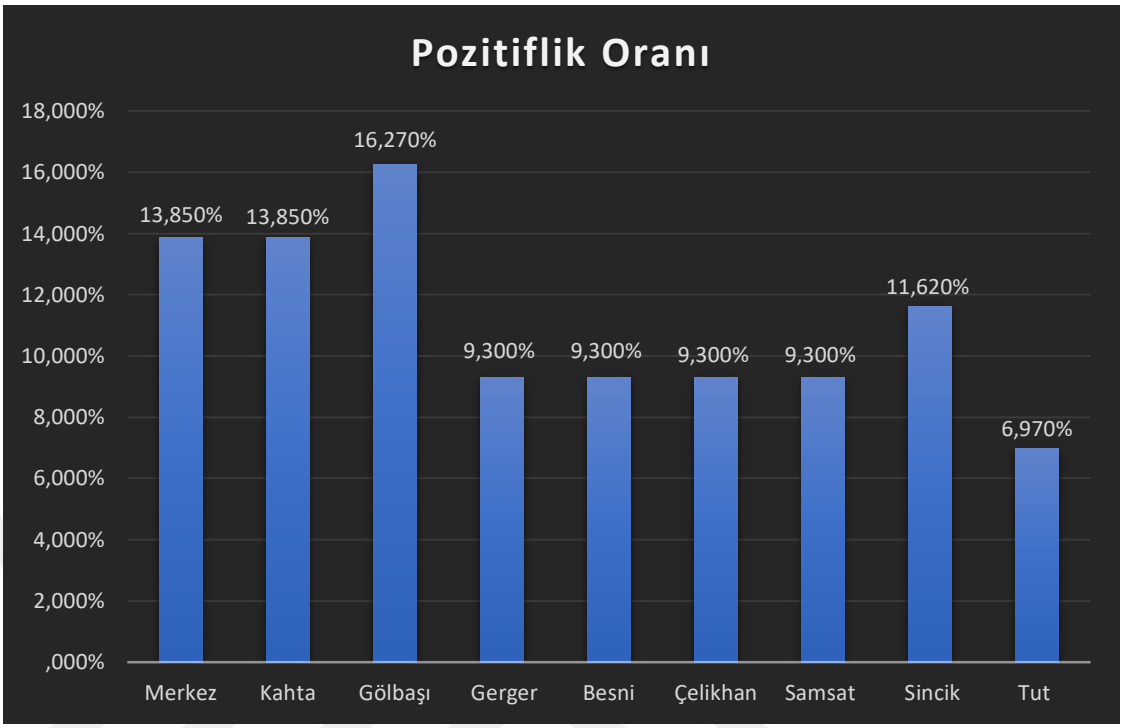
Tablo 4.2: Örneklerin içerdiği AFM_1 düzeylerinin oransal dağılım

Örneklerdeki AFM_1'in Miktar ve Yüzde Olarak Dağılımı (µg/kg)							
Toplam Örnek Sayısı	**Negatif Örnek Sayısı**	**0,001-0,020**	**0,021-0,040**	**0,041-0,050**	**>0,050**	**Max. Miktar**	**AFM_1 Pozitiflik (%)**
96	53	15	12	12	4	0,0546	%44,79

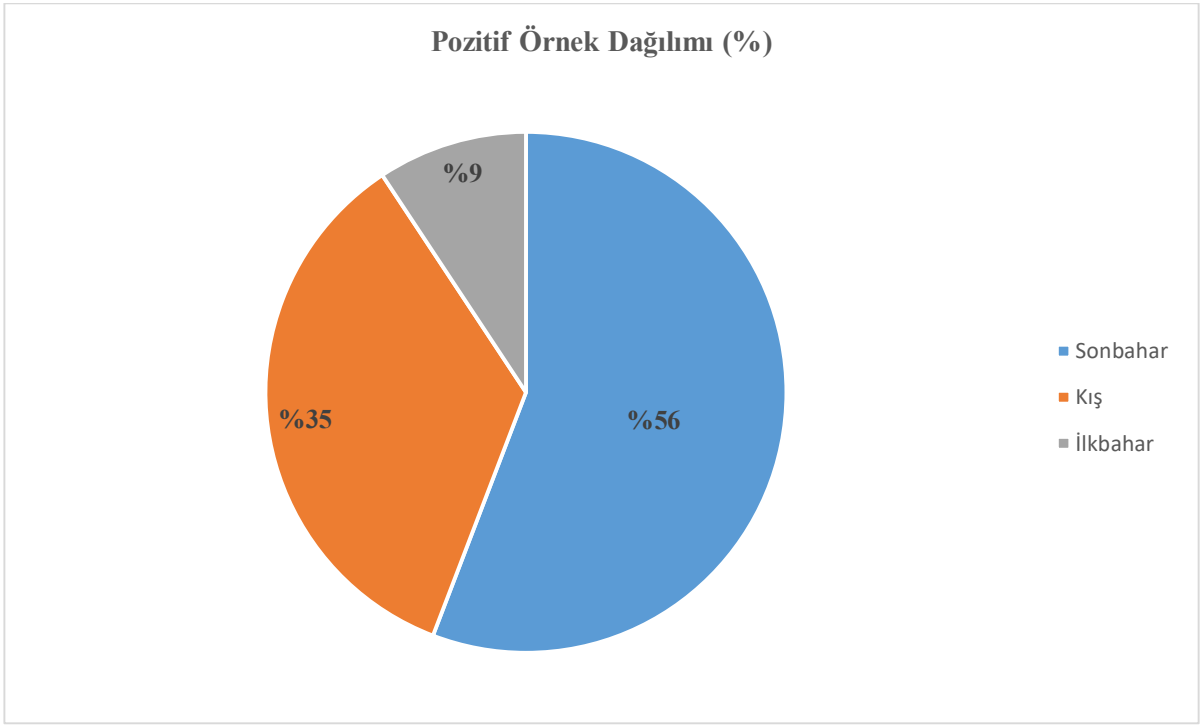
Tablo 4.3: Bölgelere ve Mevsimlere göre toplanılan örnekler

BÖLGE / AYLAR	EYLÜL	EKİM	KASIM	ARALIK	OCAK	ŞUBAT	MART	NİSAN
KAHTA	52-75*	93*-7	65-66*	13-14	16-18	24-96*	27-31	35-39
MERKEZ	1-2	9-10	47-58	55-71*	15-88*	23-25	32-34	37-87*
GÖLBAŞI	3-4	48-85	77*-86	11-12	82*-83*	19-20	28-29	36-40
GERGER	73	57	78*	45	80	67	42	62
BESNİ	41	68	74	53	95	56	76	49
SİNCİK	81	8	89*	59	84*	22	33	90*
TUT	5	61	72	79*	17	21	30	38
ÇELİKHAN	54	92	44	70*	91*	26	50	46
SAMSAT	45	6	60	94*	69	64	51	43

*Sokak satıcısından toplanılan süt örneği.



Grafik 4.2: Bölgelere Göre Pozitif Örneklerin Dağılımı



Grafik 4.3: Mevsimlere Göre Pozitif Örneklerin Dağılımı

5. TARTIŞMA

Aflatoksinler güçlü kanserojenler olarak bilinir. Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu (IARC) Aflatoksin B_1'i Grup I Aflatoksin M_1'i ise Grup II kanserojen olarak sınıflandırmıştır. Süt ve süt ürünleri aflatoksin kalıntıları bakımından riskli gıda grubundadır. Aflatoksin M_1 süt ve süt ürünlerde en fazla rastlanan toksindir ve kontamine gıdaları tüketen canlılarda sağlık sorunlarına neden olmaktadır (6). Canlıların aflatoksin maruziyetine ilişkin verilerini takip etmek ve uzun vadeli süt yoluyla Aflatoksin M_1 alınmasıyla ilgili insan sağlığı risklerini kontrol etmek için çiğ sütte Aflatoksin M_1 insidansını araştırmak gereklidir (5).

Adıyaman ilinde 2019 verilerine göre 11.093 kg keçi sütü, 7.362 kg koyun sütü ve 185.918 kg inek sütü üretilmiştir (57). İnek sütü üretimi diğer hayvan sütü üretimine göre daha fazla olduğu için mevcut çalışmada inek sütü tercih edilmiştir. ''Ülkemizde süt ve süt ürünlerinde AFM_1 varlığı üzerine gerçekleştirilen çalışmalara dair yapılan taramalarda, AFM_1 düzeylerinin bölge farkına bağlı olmaksızın çeşitlilik gösterdiği ve aynı ilde yapılan farklı çalışmalarda bile AFM_1 düzeyinin değişiklik gösterdiği görülmüştür. Bunun da örneklerin alındığı noktaların hijyen ve sanitasyon kurallarına önem verme düzeyine, mevsime bağlı olarak yemlerdeki küf kontaminasyonuna ve süt ürünlerinin çeşidine göre değiştiği düşünülmektedir'' (9). Mevcut çalışmada örnekler farklı mevsimlerde ve farklı bölgelerden toplanılmıştır. Yapılan literatür taramalarında Adıyaman ilinde çiğ inek sütlerinde Aflatoksin M_1 analizinin yapıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Mevcut çalışmada 96 adet çiğ inek sütünde 43 (%44,79) pozitif ve 53 (%55,21) negatif örnek tespit edildi. 4 örneğin TGK yasal sınırının (0,05 µg/kg) üstünde olduğu bulundu. En fazla Aflatoksin M_1 içeren süt örneği 0,0546 µg/kg şeklinde tespit edildi. Yapılan benzer çalışmalarda, İşleyici ve ark., (6) yılında Van'da yaptıkları araştırmada 100 çiğ inek sütünde 85 (%85) pozitif örnek bulurken 12 (%12) örneğin ise yasal limitin üstünde olduğunu bildirmişlerdir. Iğdır'da Yurt ve Uluçay (58) yaptıkları çalışmada 25 çiğ inek sütü örneğinde 0,46-0,018 µg/kg aralığında pozitif örnekler bulmuşlardır. Hazer (20) yaptığı çalışmada Ege bölgesinde 81 adet çiğ süt örneğinde 20 örneğin TGK yasal sınırının (0,005 µg/kg) üstünde olduğunu diğer 61 örneğin ise değişen miktarlarda aflatoksin M_1 içerdiğini bildirmiştir. Özsunar ve ark., (59) 135 çiğ süt örneğinde yaptıkları çalışmada 76 pozitif örnek

bulmuşlardır. Bir örneğin ise TGK yasal sınırını (0,005 µg/kg) geçtiğini raporlamıştır. Ertaş ve ark. (60) Kayseri'de yaptıkları çalışmalarda ELISA yöntemiyle analiz edilen 50 çiğ süt örneğin 43'ünde (%86) Aflatoksin M_1 bulmuşlardır. Çiğ süt numunelerinin hiçbiri Türkiye'deki yasal sınırın üzerinde olmadığını tespit etmişlerdir. Süt ürünlerinde aflatoksin M_1 varlığının insan sağlığı için potansiyel bir tehlike olarak görülebileceği vurgulanmıştır. Karadal ve ark., (61) yılında Niğde'de yaptıkları çalışmada 30 çiğ inek sütünde 3 (%10) örneğin yasal limitler üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Dünyada yapılan çalışmalarda Sudan'da Elzupir ve Elhussein (62) 2010 yılında yaptığı bir çalışmada 44 inek sütünün 42'sinde (%95,45) aflatoksin M_1 bulmuşlardır. El Marnissi ve ark., (63) 2012 yılında yaptıkları çalışmada Fas'ta 48 süt örneğinde 13 numunede aflatoksin M_1 tespit ederken 4 örneğin yasal sınırın üzerinde olduğunu tespit etmişlerdir. Lübnan'da El Khoury ve ark., (64) 64 süt örneğinin %40,62'sinde aflatoksin M_1 tespit etmişlerdir. Sırbistan'da Tomasevic ve ark., (65) yaptıkları çalışmada 628 çiğ süt örneğinin %56,3'ünde yasal sınırın üzerinde aflatoksin M_1 tespit etmişlerdir. Picinin ve ark., (66) farklı iklim koşullarının aflatoksin üzerine etkisini araştırmış ve 129 çiğ süt örneğinde tamamının toksin içerdiğini ve yaz döneminde yağışlı bölgelerde aflatoksin varlığının daha fazla olduğunu açıklamışlardır.

Mevcut çalışmada çiğ sütlerde yapılan aflatoksin M_1 analizi sonucunda 0,028±0,026 µg/kg bulunmuştur. Sokak satıcılarından alınan sütlerin tamamında (n=18) aflatoksin tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Toplam pozitif örnekler (n=43) arasında 18 pozitif örnek ile %41,86'yı temsil etmektedir. TGK yasal limitini aşan 4 örnekten 2'si (%50) sokak satıcılarından alınan süt örneğidir. Bu durum sokak satıcılarının topladığı sütlerin üretimi ve depolanması esnasında hijyen ve mikrobiyolojik yaklaşımların uygun bir şekilde yapılmamasıyla açıklanabilir. Sokak sütündeki bir diğer husus sütlerin rastgele hanelerden toplanılması nedeniyle aflatoksin içeren ve içermeyen sütlerin birbirleriyle karışması sonucu örneğin pozitif sonuç vermesine sebep olabilir. Sokak sütü olarak bilinen sütler genelde kırsal kesimlerden toplanılan süt örnekleridir. Kırsal alanlarda hayvanlar otların bittiği ilkbahar ve yaz mevsimi dışında entansif olarak beslenmesi tercih edilir (14).

Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin varlığı rasyona, yem muhafaza koşullarına, mevsime, beslenme şekline ve hayvanların sağlık durumlarına göre değişir. (9) TGK yasal

sınırını aşan diğer 2 örneğin hayvanların yem rasyonlarının yoğun küf içermesi sebebiyle olabileceği düşünülmektedir. Adıyaman ili ve ilçeleri sırasıyla Çelikhan 105.014, il merkezi 84.438, Sincik 67.738, Gerger 58.658, Besni 38.326, Kahta 34.942, Samsat 21.450, Tut 12.757, Gölbaşı 1.332 hektar mera alanına sahiptir (67). Besni mera bakımından son sıralarda yer almaktadır, entasif beslenme uygun olmayan yem muhafaza koşullarından dolayı kontaminasyon riskini artırabilir. 7 pozitif örnek ile Gölbaşı ilçesinin en çok toksin içeren örneklere sahip olmasının sebeplerinden biri de mera alanlarının çok kısıtlı olması olabilir. Entasif olarak yapılan beslemede yem rasyonları iyi muhafaza edilmezse küf dolasıyla aflatoksin kontaminasyonuna neden olabilir. Bölgeler arasındaki mera alanları dışında mevsimsel farklar da küf üremesini etkileyebilir. Küflerin üreme koşullarının sıcaklık ve nem ile doğru orantılı olduğu bilinmektedir.

Mevsimsel olarak en çok pozitif örnek (n=24) sonbahar (Eylül-Ekim-Kasım) aylarında bulunmuştur (Grafik 4.3). Bu aylarda meradan ahırda beslemeye geçiş daha yoğun olur ve dolayısıyla taze otların bittiği mevsim koşullarının entasif beslemeye daha uygun olduğu bu dönemlerde yem depolarında küflenme riski de bulunmaktadır. Bu durumun küflerin üreme koşullarına bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir. Aflatoksijenik küfler min.6-8 °C' lerde max. 50-60 °C' lerde üreyebilmelerine rağmen toksin oluşumu için en az 10-13 °C ve en fazla 42 °C sıcaklık uygundur. Bunların uygun gelişme sıcaklıkları 35-38 °C olmasına rağmen maksimum toksin konsantrasyonuna 25-30°C' lerde ulaşılır (68). Yaz mevsimine oranla kış mevsimlerinde daha yoğun aflatoksin görülebilir (45). Nem oranları kış aylarında daha yüksek ancak sıcaklık olarak küflerin üremesi için yeterli değildir. Eylül-Ekim-Kasım ayları hem sıcaklık hem de nem açısından aflatoksin üreten küfler için daha uygun ortam olduğu düşünülmekte ve sonuçların bu bağlamda açıklanması mümkündür. Sütteki AFM_1 düzeyi coğrafi koşullara ve mevsime göre değişiklik gösterebilir. Ayrıca Mart-Nisan aylarında mevsime bağlı otların gelişmesiyle hayvanların depolanmış yemler yerine mera-çayır gibi yerlerde otlatıldığı göz önünde bulundurarak durum açıklanabilir. En fazla aflatoksin içeren örneğin (96. Örnek) kış ayında olması kış aylarında süt üretiminin az olması sonucu aflatoksin konstrasyonunun yüksek olması ve depolanmış yemlerin küflerle kontamine olmasıyla açıklanabilir. Birçok çalışmada kış mevsiminde yaz mevsimine göre daha fazla aflatoksin içerdiği açıklanmıştır. Yaz mevsiminde üretilen sütün kış mevsiminde

üretilen sütten daha az aflatoksin içerdiği açıklanmıştır (40). Hindistan'da 2011 yılında 76 adet inek sütü örneklerinde aflatoksin M_1 varlığı üzerine yapılan bir çalışmada kış mevsiminde alınan örneklerin yaz mevsiminden alınan örneklere göre daha fazla aflatoksin içerdiğini araştırmacılar bildirmişlerdir (9).

Dünyada aflatoksin varlığı ile gelişmişlik arasında negatif korelasyon olduğu düşünülmektedir. Dünyada yapılan çalışmalarda Aflaktoksin M_1 varlığı Avrupa ülkelerinde üretici ve tüketicilerin bilinçli ve dikkatli olması, hammadde ve tüketime kadar ürünün üretiminde hijyen kurallarına uyulması ve gıda kurallarına göre üretim yapmayan işletmelerin cezalandırılması sebepleriyle daha az olduğu söylenebilir (9). Sosyoekonomik durum toplumun her alanını etkilediği anlaşılmaktadır. Bu durum daha çok insanların davranışları ve maddi durumları ile açıklanabilir. Tablo 5.1.'de görüldüğü gibi dünyanın farklı ülkelerinde ve ülkemizde Aflatoksin M_1 varlığı hem insanlarda hem de hayvanlarda bulunmaktadır. Bu veriler göz önünde bulundurularak toplumun aflatoksin M_1 yönünden risk altında olduğu söylenebilir. Mevcut çalışmada 96 örneğin 43'ü (%44,79) pozitif bulunmuştur ve bu oranın Türkiye'deki çalışmalar incelendiğinde ortalama bir oran olduğu anlaşılmaktadır. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada toksin varlığı görülmektedir. Çalışmamızda bulunan verilerin ülkemizde yapılmış çalışmalarla benzer toksin varlığı içerdiği; fakat TGK yasal limiti açısından bakıldığında sınırı geçen örnek sayısının diğer çalışmalara göre daha az olduğu söylenebilir. TGK yasal limiti aşmayan örneklerin insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olmayacaktır anlamı çıkarılamaz. Aflatoksinlerin etkilerinin daha çok uzun vadede olumsuz olabileceği bilinmektedir.

Tablo 5.1.: Ülkemizde ve farklı ülkelerde AFM_1 ile ilgili yapılan bazı çalışmalar

Örnek	Örnek Sayısı	Pozitif Örnek Sayısı	Tespit Aralığı(µg/kg)	Ülke	Kaynak
Süt	60	0	0	Türkiye	14
Çiğ Süt	20	20	0,005- 0,250	Türkiye	34
Süt	135	99	0,008 - 0,045	Türkiye	15
Süt	77	18	0,010- 0,030	Arjantin	22
Pastörize Süt	91	66	0,013- 0,250	İran	45
Peynir	50	14	0,002 -0,020	Türkiye	40
Bebek Maması	62	5	0,005- 0,018	Türkiye	12

Tablo 5.1. devamı.: Ülkemizde ve farklı ülkelerde AFM_1 ile ilgili yapılan bazı çalışmalar

Süt	38	26	0,021- 0,418	Yemen	50
Beyaz Peynir	116	68	0,052 - 0,785	İran	13
Süt	613	496	0,002-0,020	Kenya	46
Peynir	400	327	0,05-0,25	Türkiye	25
Pastörize Süt	85	75	0,001- 0,090	Türkiye	3

Ülkemizde yapılan çalışmalarda süt ve süt ürünlerinde değişen miktarlarda aflatoksin M_1 bulunmakta ve bazı süt ve süt ürünlerinin TGK yasal limitini aştığı görülmektedir. Süte toksin bulaşmasıyla o sütten elde edilen süt ürünlerine de toksin geçmektedir (69). Tablo 5.1. incelendiğinde ülkemizde de aflatoksin varlığının yoğun olduğu söylenebilir. Mevcut çalışmada yer alan bulgulara göre aflatoksinler sonbahar ve kış mevsiminde daha yoğun görülmektedir. Özellikle mera alanlarının azaldığı sonbahar ve kış mevsimlerinde entasif beslemeye geçen işletmeler ve kırsal kesimdeki hayvan sahipleri uygun olmayan yem saklama koşulları sebebiyle aflatoksin maruziyetini artırabilmektedir. Sokak satıcılarından alınan örneklerin işletmelere göre daha fazla aflatoksin içerdiği söylenebilir. Özellikle kırsal kesimlerden toplanılan süt sokak satıcıları tarafından sokaklarda hane halkına satılmaktadır ve aflatoksin varlığı yoğun olan bu sütler başta çocuklar olmak üzere insan sağlığı açısından uzun vadeli ciddi etkilere sebep olabilir. Mevcut çalışma sonucunda bölge halkının Aflatoksin M_1 maruz kaldığı söylenebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Aflatoksin M_1 ısıl işlemlerle yok olmadığı için çiğ süt ve süt ürünlerinde kontrolünün sağlanması büyük öneme sahiptir. Çalışmamızda 96 adet çiğ inek sütü analiz edilmiş ve 43 pozitif örnek bulunmuştur. Örneklerden 4 tanesi TGK yasal limitinin üzerinde belirlenmiştir. Ülkemizde yapılan çalışmalar incelendiğinde aflatoksin M_1 varlığının yaygın bir şekilde görüldüğü anlaşılmaktadır. Aflatoksinler canlılar için sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Aflatoksin M_1 IARC tarafından Grup II kanserojen madde olarak bildirilmiştir. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Gıda Tarım Örgütü (FAO) ve Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) gibi birçok ulusal ve uluslararası halk sağlığı ve devlet kurumu, gıda ve yemlerdeki mikotoksin kontaminasyonunu azaltmak ve gıda ve yemlerdeki tehlikeli mikotoksin sınıfları için katı düzenleyici yönergeleri benimseyerek bu küresel sorunu çözmeyi amaçlamaktadırlar. Ülkemizde de TGK sütlerde aflatoksin M_1 için yasal sınırlar belirlemiştir. Her ne kadar yasal limitler belirlenmiş olsa da sokakta veya açıkta satılan sütler herhangi bir analize tabi tutulmamaktadır. Bu sebeple halk sağlığı ciddi tehdit altındadır. Çalışmamızda bulunan veriler örneklerin neredeyse yarısının toksinle kontamine olduğu gösterdi. Standart ısıl işlemlerin bu toksini yok edemediği bilinmektedir. Özellikle bağışıklık sistemi zayıf kişilerin ve çocukların aflatoksin M_1 maruziyeti söz konusudur. Aflatoksinlerin önlenmesi için yemlerin kontaminasyonu engellenmelidir. Halk ve üreticiler aflatoksinlerin zararları hakkında bilgilendirilmelidir. Ayrıca tüketimden önce süt örnekleri belirli periyodlarda analize tabi tutulmalıdır. Kontamine olmuş sütler tüketime sunulmamalıdır. Adıyaman ilinde daha önce aflatoksin M_1 açısından herhangi bir çalışmanın bulunmaması sebebiyle çalışmamız halk sağlığı açısından büyük önem arz etmektedir.

7.KAYNAKLAR

1. Pardakhti, A., Maleki, S. Risk Assessment of Aflatoxin M1 Contamination of Milk in Iran. International Journal of Environmental Research, Food Control 2019; 13, 265–271.

2. Besler, T., Ünal, N. Beslenmede Sütün Önemi. 2. Baskı Ankara: T.C Sağlık Bakanlığı; 2012. s. 7-8

3. Çelik, T. H., Sarımehmetoğlu, B., Küplülü, Ö. Aflatoxin M1 Contamination in Pasteurised Milk. Veterinarski arhiv 2007; 75 (1): 57-65.

4. Çakır, E. O., Yarsan, E. Türkiye'nin Farklı Bölgelerinden Toplanan Süt Örneklerinde Bazı Metal Düzeyleri. Etlik Vet Mikrobiyoloji Dergisi 2021; 32(1): 50-62.

5. Min, L., Dagang , L., Xiong, T., Hao, S., Weidong, C., Gang, W., et al. The challenges of global occurrence of aflatoxin M1 Contamination and The Reduction of Aflatoxin M1 in Milk Over The Past Decade. Food Control 2020 ;117.

6. İşleyici Ö. , Sancak Y. C. , Sancak H. , Mercan Yücel U. Determination of Aflatoxin M1 Levels in Unpackaged Sold Raw Cow's Milk. Van Veterinary Journal 2015; 26(3): 151-155.

7. Tüik.Türkiye İstatistik Kurumu. 2019; URL: https://data.tuik.gov.tr (Erişim Tarihi: 18.01.2022)

8. Kaya S., Pirinçci İ., ve Bilgili A. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji 2. Baskı Ankara: Medisan Yayınevleri; 2002. s. 545-550

9. Karaoğlan H., Yanık E D., Tunç N. Ülkemizde ve Dünyada Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 Varlığı. Atatürk University Journal of Agricultural Faculty 2022; 53(1): 81-87.

10. Mehenktaş, C. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1. Akademik Gıda 2019; 17 (3): 439-443.

11. Prandini A., Tansini G., Sigol S., Filippi L., Laporta M., Piva G. On the Occurrence of Aflatoxin M1 in Milk and Dairy Products. Food and Chemical Toxicology 2009; 47: 984–991.

12. Kabak, B. Aflatoxin M1 and ochratoxin A in Baby Formulae in Turkey: Occurrence and Safety Evaluation. Food Control 2012; 26 (1): 182-187

13. Fallah AA., Jafari T., Fallah A., and Rahnama M. Determination of Aflatoxin M1 Levels in Iranian White and Cream Cheese. Food Chem Toxicol. 2009; 47(8):1872-1875.

14. Doğan, E. (2012). Ardahan Yöresinden Toplanan Süt ve Kaşar Peynirlerinde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Mevsimlere Göre Araştırılması. Kafkas Üniversitesi/ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Kars.

15. Madalı, B. (2016). Farklı Süt Türlerinin Aflatoksin M1 Düzeyi Açısından Değerlendirilmesi. Hacettepe Üniversitesi/ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

16. Richard, J. L. Discovery of Aflatoxins and Significant Historical Features. Toxin Reviews 2008;(27): 171-201.

17. Nnamani, G. C., Gana, A. S., Shaahu, A., Msaakpa, T. S., Lemibe, P. C., Nnamani, M. A., et al. Effects of Aflatoxin on Soybean. Journal of Plant Development 2021;28: 161-168.

18. Cotty, P. J., and Jaime-Garcia, R. Influences of Climate on Aflatoxin Producing Fungi and Aflatoxin Contamination. International Journal of Food Microbiology 2007;(119): 109–115.

19. Khaneghah, A. M., Moosavi, M., Omar, S. S., Oliveira, C. A., Karimi-Dehkordi, M., Fakhri, Y., Huseyn, E., et al. The Prevalence and Concentration of Aflatoxin M1 Among Different Types of Cheeses: A Global Systematic Review, Meta-analysis, and Meta-regression. Food Control 2021; 26: 125.

20. Hazer, A. (2011). Denizli ve Aydın İllerinde Elde Edilen Çiğ Sütlerde Aflatoksin M1 Prevalansı ve Miktarının Aranması. Adnan Menderes Üniversitesi/ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Aydın.

21. Alamu, EO., Gondwe, T., Akello, J., Sakala, N., Munthali, G., Mukanga, M., et al. Nutrient and Aflatoxin Contents of Traditional Complementary Foods Consumed by Children of 6-24 Months. Food Science & Nutrition 2018 14; 6(4): 834-842.

22. Lopez, C., Ramos, L., Ramadan, S., and Bulacio, C. Presence of aflatoxin M1 in Milk for Human Consumption in Argentina . Food Control 2003; 14 (1): 31-34.

23. Girgin, G., Başaran, N., Şahin, G. Dünyada ve Türkiye'de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 2011; 58(3): 97-118.

24. Basmacıoğlu, H., Ergül, M. Yemlerde Bulunan Toksinler ve Kontrol Yolları. Dergi Park 2003; 44 (1): 9-17.

25. Sarımehmetoglu, B., Kuplulu, O., ve Celik, T. Detection of Aflatoxin M1 in Cheese Samples by ELISA. Food Control 2004; 15 (1): 45–49.

26. Çelik, S., Karaciğer Karsinojeni Olan Aflatoksinlerin Biyokimyasal, Histolojik Etkileri ve Sağaltım Seçenekleri. Journal of Research in Veterinary Medicine 2001; 20: 131-136.

27. Akande, K., Abubakar, M., Adegbola, T., and Bogoro, S. Nutritional and Health Implications of Mycotoxins in Animal Feeds: A Review. Pakistan Journal of Nutrition 2006; 5(5): 398-403.

28. Quist, CF., Bounous, DI., Kilburn, JV., Nettles, VF., Wyatt, RD. The Effect of Dietary Aflatoxin on Wild Turkey Poults. Journal of Wildlife Diseases 2000; 36(3): 436-444.

29. Koirala, P., Kumar, S., Yadav, BK., Premarajan, KC. Occurrence of Aflatoxin in Some of The Food and Feed in Nepal. Indian Journal of Medical Sciences 2005; 59(8): 331-336.

30. Abrar, M., Anjum, F. M., Butt, M., Pasha, I., Randhawa, M., Saeed, F., et al. Aflatoxins: Biosynthesis Occurrence Toxicity and Remedies. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2013; 53(8): 862-874.

31. Whitlow, L., Hagler, W. Mold and Mycotoxin Issues in Dairy Cattle: Effects, Prevention and Treatment. OABP/OABA Meeting, Kanada; 2007. s. 19-41

32. Jackson, L. S., Al-Taher, F. Factors Affecting Mycotoxin Production in Fruits. Academic Press 2008; 75-104.

33. World Health Organization. 2018. Department of Food Safety and Zoonoses. URL: https://www.who.int (Erişim Tarihi: 02.02.2022).

34. Kireçci, E., SavaşçI, M., ve Ayyıldız, A. Sarıkamış'ta Tüketilen Süt ve Peynir Ürünlerinde Aflatoksin M1. Turkish Journal of Infection 2007; 21 (2): 93-96.

35. Saraç, E. (2012). Türkiye'de Üretilen İşlenmiş Süt ve Bazı Süt Ürünleri ile Giresun Yöresinde Üretilen Çiğ Sütlerin Aflatoksin M1 Düzeylerinin Araştırılması Afyon Kocatepe Üniversitesi/ Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Afyon.

36. Dhakal, A., Sbar, E. Aflatoxin Toxicity. 2021; URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557781

37. Hell, K., Mutegi, C. Aflatoxin Control and Prevention Strategies in Key Crops of Sub-Saharan Africa. African Journal of Microbiology Research 2011; 5 (5): 459-466.

38. Gündüz, A., Yalçın, E., Çavuşoğlu, K. Combined Toxic Effects of Aflatoxin B2 and The Protective Role of Resveratrol in Swiss Albino Mice. Scientific Reports 2021; 11 (1): 1-14

39. Kabak, B. (2018). Aflatoksinler, Okratoksin A, Deoksinivalenol ve Funmonisin B1'in Tespitine Yönelik Yeni Immunoassay Test Metotlarının Geliştirilmesi. Çorum.

40. Filazi, A., İnce, S., Temamoğulları, F. Survey of The Occurrence of Aflatoxin M1 in Cheeses Produced by Dairy Ewe's Milk in Urfa City, Turkey. Ankara Üniv. Vet. Fak. Dergisi 2010; 57 (3): 197-199.

41. Gao, Y.N., Li, S.L., Yang, X., Wang, J.Q., Zheng, N. The Protective Effects of Lactoferrin on Aflatoxin M1-Induced Compromised Intestinal Integrity. International Journal of Molecular Sciences 2022; 23(1): 289.

42. Shephard, G. S. Aflatoxin Analysis at The Beginning of The Twenty-first Century. Analytical and Bioanalytical Chemistry 2009; 395: 215–1224.

43. Gong, Y.Y., Watson, S., Routledge, M. N. Aflatoxin Exposure and Associated Human Health Effects, A Review of Epidemiological Studies. Food Safety 2016; 4(1): 14-27.

44. Lewis, L., Onsongo, M., Njapau, H., Schurz-Rogers, H., Luber, G., Kieszak, S., et al. Kenya Aflatoxicosis Investigation Group. Aflatoxin Contamination of Commercial Maize Products During an Outbreak of Acute Aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. Environmental Health Perspectives 2005; 113 (12): 1763-1767.

45. Fallah, A. A. Aflatoxin M1 Contamination in Dairy Products Marketed in Iran During Winter and Summer. Food Control 2010; 21 (11):1478–1481.

46. Kang'ethe, E. K., Lang'a, K. Aflatoxin B1 and M1 Contamination of Animal Feeds and Milk from Urban Centers in Kenya. African Health Sciences 2009; 9(4): 218-226.

47. McMillan, A., Renaud, J. B., Burgess, K. M., Orimadegun, A. E., Akinyinka, O. O., Allen, S. J., et al. Aflatoxin Exposure in Nigerian Children With Severe Acute Malnutrition. Food and Chemical Toxicology 2018;111: 356-362.

48. Awuchi, C., Priya, P., Ikechukwu, A., Yezdani, U. Aflatoxins In Foods And Feeds: A Review On Health Implications, Detection And Control. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences 2020; 9(9): 149-155.

49. Haque, M., Wang, Y., Shen, Z., Li, X., Saleemi, M. K., Hea, C. Mycotoxin Contamination and Control Strategy in Human, Domestic Animal and Poultry. Microbial Pathogenesis 2020; 22: 142.

50. Murshed, S. Evaluation and Assessment of Aflatoxin M1 in Milk and Milk Products in Yemen Using High-performance Liquid Chromatography. Journal of Food Quality 2020; (7): 1-8

51. Völkel, I., Schröer-Merker, E., Czerny, C.P. The Carry-Over of Mycotoxins in Products of Animal Origin with Special Regard to Its Implications for the European Food Safety Legislation. Food and Nutrition Sciences 2011; 2: 852-867.

52. Wu, Q., Jezkova, A., Yuan, Z., Pavlikova, L., Dohnal, V., Kuca, K. Biological Degradation of Aflatoxins. Drug Metabolism Reviews 2009; 41(1): 1-7.

53. Gonçalves, B. L., Muaz, K., Coppa, C. S., Rosim, R. E., Kamimura, E. S., Oliveira, C. A., et al. Aflatoxin M1 Absorption by Non-viable Cells of Lactic Acid Bacteria and Saccharomyces cerevisiae Strains in Frescal Cheese. Food Research International 2020; 136: 109604

54. Li , C.H., Li, W.Y., Hsu , I.N., Liao , Y.Y., Yang , C.Y., M.C. Taylor., et al. Recombinant Aflatoxin-Degrading F420H2-Dependent Reductase from Mycobacterium smegmatis Protects Mammalian Cells from Aflatoxin Toxicity. Toxins 2019; 11(5): 259.

55. Batmaz, H., TopaL, O. Ruminantlarda Zehirlenme OlgularınaYaklaşım. Turkiye Klinikleri J. Vet. Sci. Pharmacol Toxicol-Special Topics 2015; 1(3): 19-26.

56. Maggira, M., Ioannidou, M., Sakaridis, I., Samouris, G. Determination of Aflatoxin M1 in Raw Milk Using an HPLC-FL Method in Comparison with Commercial ELISA Kits—Application in Raw Milk Samples from Various Regions of Greece. Veterinary Sciences 2021; 8(3): 46.

57. Ulusal Süt Konseyi. Dünya ve Türkiye'de Süt Sektör İstatistikleri 2018; URL: https://ulusalsutkonseyi.org.tr (Erişim Tarihi: 12.02.2022)

58. Yurt, B., Uluçay, B. Iğdır'da Üretilen Sütlerin Bazı Kimyasal Özellikleri ve Aflatoksin M1 Miktarının Belirlenmesi. Turkish Journal of Nature and Science 2017; 6(2): 32-39.

59. Özsunar, A., Arıcı, M., Gümüş, T., Demirci , M. Trakya Bölgesinde Üretilen İnek Sütlerinde Aflatoksin M1 Varlığı. Türkiye 9. Gıda Kongresi BOLU 2007; s.837-840.

60. Ertas, N., Gönülalan, Z., Yıldırım, Y., ve Karadal, F. A Survey of Concentration of Aflatoxin M1 in Dairy Products Marketed in Turkey. Food Control 2011; 22(12): 1956-1959.

61. KaradaL, F., Ertas Onmaz, N., Hızlısoy, H., Yıldırım, Y., Al, S., Gönülalan, Z. Niğde İlindeki Çiğ Koyun, Keçi ve İnek Sütlerinde Aflatoksin M1 Düzeyleri. Kocatepe Veterinary Journal 2018; 11(2): 119-125.

62. Elzupir, A., Elhussein, A. M. Determination of Aflatoxin M1 in Dairy Cattle Milk in Khartoum State, Sudan. Food Control 2010; 21(6): 945-946.

63. Marnissi, B., Belkhou, R., Morgavi, D., Bennani, L., Boudra, H. Occurrence of Aflatoxin M1 in Raw Milk Collected from Traditional Dairies in Morocco. Food and Chemical Toxicology 2012; 50(8): 2819-2821.

64. Khoury, A., Atoui, A., Yaghi, J. Analysis of aflatoxin M1 in Milk and Yogurt and AFM1 Reduction by Lactic Acid Bacteria Used in Lebanese İndustry. Food Control 2011; 22(10): 1695-1699.

65. Tomašević, I., Petrović, J., Jovetić, M., Raičević, S., Milojević, M., Miočinović, J. Two Year Survey on The Occurrence and Seasonal Variation of Aflatoxin M1 in Milk and Milk Products in Serbia. Food Control 2015; 56: 64-70.

66. Picinin, L., Pinho , M., Vargas, E., Lana, Â., Toaldo, I., Bordignon, L.M. Influence of Climate Conditions on Aflatoxin M1 Contamination in Raw Milk from Minas Gerais State, Brazil. Food Control 2013; 31(2): 419-424.

67. T.C. Adıyaman Gıda, Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğü. 2017 Yılı Brifingi. Adıyaman 2018; URL: https://adiyaman.tarimorman.gov.tr (Erişim Tarihi 02.03.2022)

68. Halkman, A. Ankara Üniversitesi Açık Ders Malzemeleri. 2022; URL: https://acikders.ankara.edu.tr/course/view.php?id=121 (Erişim Tarihi: 10.01.2022)

69. Deveci, O., Sezgin, E. Süt Ve Ürünlerinde Aflatoksin M1 Ve Ülkemizdeki Durum. Akademik Gıda, 2006; 4 (4): 11-16.