

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
VFT-YL-2006-001**

**AYDIN İLİ VE ÇEVRESİNDE ÜRETİLEN SÜT VE SÜT
ÜRÜNLERİNDE AFLATOKSİN VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

HAZIRLAYAN: Veteriner Hekim Zehra KÖK

DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Selim SEKKİN

AYDIN - 2006

ÖZ

Bu çalışmada Aydın ili ve ilçelerindeki mandıralardan, piyasada satılmak üzere üretilen süt ve süt ürünleri, HPLC (Yüksek Performanslı Likit Kromatografi) yöntemiyle aflatoxin M₁ (AFM₁) düzeyleri incelendi. Bu amaçla 26 mandıraya ait, süt (13), beyaz peynir (7), kaşar peyniri (6), tulum peyniri(6), lor peyniri (6) ve yoğurt (9) olmak üzere toplam 47 adet numune AFM₁ yönünden incelendi. Sonuçta, incelenen örneklerde ortalama 0,105 düzeyinde AFM₁ belirlendi. AFM₁ insidansı % 100 ve aralığı 0,027- 0,250 ppb arasında saptandı. İncelenen süt örneklerinin % 61,5'i, yoğurt örneklerinin % 77,7'si ve peynirlerin % 4'ünün yasal olarak belirlenen sınırları aştığı saptandı. Aydın ili ve çevresinde üretilen süt ve süt ürünlerinin sağlık sorunlarına neden olabileceği bu araştırma ile saptandı.

Anahtar kelimeler: Aflatoxin, süt, aflatoxin M₁, aflatoxin B₁, süt ürünleri, peynir

ABSTRACT

In this study, aflatoxin M₁ (AFM₁) levels were determined by HPLC (High performance liquid chromatography) in milk and milk products in dairy farms from Aydın and district. For this purpose, 47 samples consisted of milk (13), white cheese (7), kashar cheese(6), tulum cheese (6), curd cheese (6) and yoghurt (9) samples which were collected from 26 dairy farms were examined. The determined mean result of aflatoxin M₁ analysis was 0,105 ppb of analysed samples and the incidence of AFM₁ was 100 % and the range was 0,027- 0,250 ppb. The analysed 61,5 % of milk samples, 77,7 % of yoghurt samples and 4 % of cheese samples were exceeded the maximum legal limits. These results of the study confirm that milk and milk products produced in Aydın and district may cause health problems.

Key words: Aflatoxin, milk, aflatoxin M₁, dairy products, cheese

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZ. ABSTRACT	1
ÇİZELGELER LİSTESİ	11
ŞEKİLLER LİSTESİ	111
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. Tarihçe	4
2.2. Mikotoksinlerin Önemi	5
2.3. Sınıflandırma	11
2.4. Aflatoksinler	15
2.4.1. Özellikleri	16
2.4.2. Aflatoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler	18
2.4.3. Etki Şekilleri	19
2.4.4. Aflatoksin'lerin Biotransformasyonu	20
2.4.5. Zehirlilikleri	23
2.4.6. Etkileri	25
2.4.7. Türlerle Göre Aflatoksinlerin Etkileri.....	26
2.4.8. Tanı	28
2.4.9. Aflatoksin Oluşumunun Önlenmesi.....	28
2.4.10. Sütte Aflatoksin	30
2.4.11. İnsanlarda aflatoksinlerin etkileri	33
3. MATERYAL VE METOT	36
3.1. Materyal	36
3.1.1. Süt ve süt ürünleri	36
3.1.2. Aflatoksin standardı	36
3.1.3. Kimyasal maddeler	36
3.1.4. Aletler	38
3.1.5. Malzemeler	38
3.2. Metot	39

3.2.1. Metot	39
3.2.2. Ekstraksiyon	39
3.2.3. Standartların hazırlanması	39
3.2.4. Ekstraktların örnek yoğunlaştırıcı'ya uygulanması	40
3.2.5. HPLC' de aflatoksin M ₁ düzeylerinin saptanması	40
3.2.6. İstatistik	40
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	41
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
ÖZET	54
SUMMARY	56
TEŞEKKÜR	58
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ	66

ÇİZELGELER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1: Mikotoksin oluşumunu etkileyen başlıca faktörler.....	7
Çizelge 2: Süt ve Et Sığırları İçin Maksimum Mikotoksin Düzeyleri	10
Çizelge 3: Mikotoksin Çeşitleri, Kaynakları, Hedef Hayvan, Doku veya Organlar	14
Çizelge 4: Bazı Hayvanlarda AFB ₁ 'in Ağızdan ÖD ₅₀ Değerleri	24
Çizelge 5: FDA'ya Göre Besin ve Yem Katkı Maddelerinde, Aflatoksinlerin Etkin Seviyesi	24
Çizelge 6: Sütteki Aflatoksin İle İlgili Yasal Düzenlemeler	32
Çizelge 7: Bazı AB Ülkelerinde Aflatoksinlere Dair Yürürlükteki Limitler ...	34
Çizelge 8: Aydın ili ve ilçelerindeki mandıralar ve yıllık kapasiteleri	37
Çizelge 9 Doğal yoğurt örneğine (0,025 ppb aflatoksin içeren) ilave edilen 0,01 ppb Aflatoksin M ₁ geri kazanım oranları	44
Çizelge 10: Örneklerde saptanan aflatokin M ₁ düzeyleri	47
Çizelge 11: Analiz edilen süt veya süt ürünlerindeki AFM ₁ miktarına göre Kruskal Wallis testi sonucu	48
Çizelge 12: İçerdikleri AFM ₁ miktarına göre süt, yoğurt ve peynir numunelerinin minimum - maksimum ve ortanca değerleri	49

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: <i>Aspergillus flavus</i> ve <i>A. parasiticus</i> Türleri Tarafından Üretilen Aflatoksin B ₁ ve M ₁ 'in Yapısal Şekli	17
Şekil 2: <i>Aspergillus flavus</i> ve <i>A. parasiticus</i> Türleri Tarafından Üretilen Aflatoksin G ₁ 'in Yapısal Şekli	17
Şekil 3: Aflatoxin B ₁ -DNA Bağlanması ve Aflatoxin B ₁ 'in Metabolik Aktivasyonu	21
Şekil 4: Analiz edilen süt kromatogram örneği	41
Şekil 5: Aflatoksin M ₁ ilave edilmiş (10ppb) süt kromatogram örneği	41
Şekil 6: Analiz edilen yoğurt kromatogram örneği	42
Şekil 7: Aflatoksin M ₁ ilave edilen (10 ppb) yoğurt kromatogram örneği ...	42
Şekil 8: Analiz edilen kaşar peyniri kromatogram örneği	42
Şekil 9: Aflatoksin M ₁ ilave edilmiş (10ppb) kaşar peyniri kromatogram örneği	43
Şekil 10: Aflatoksin M ₁ standardı kalibrasyon eğrisi	44
Şekil 11: Aydın ilinde üretim yapan mandıralardan alınan 47 numunenin dağılımı	45
Şekil 12: Aydın ilinde üretim yapan mandıralardan alınan 47 numunenin % dağılımı	46
Şekil 13: Süt, yoğurt ve peynir numunelerinin ortanca AFM ₁ miktarları	50

1. GİRİŞ

Gıdaların ve yemlerin mikotoksinlerle kontaminasyonu tüm dünyada önemli bir sorundur. Mikotoksinler; ürünleri, hayvanları ve insanları olumsuz şekilde etkileyerek hastalıklara ve ekonomik kayıplara yol açan küflerin ikincil metabolitleridir (Hussein ve Brasel, 2001). Mikotoksinlerle insan ve hayvanlarda oluşan zehirlenmelere ‘mikotoksikozis’ denir (Vural, 1992). Mikotoksikozlar, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkeler için küflerin gelişiminde uygun zemin hazırlayan çevresel, sosyal ve ekonomik şartların meteorolojik koşullarla (nem, sıcaklık) birleşmesiyle önemli sorunlara yol açmaktadır (Ayçiçek ve ark., 2004). Küflerin hemen her yerde bulunabilmeleri ve birçok gıda ve yem maddesinde gelişerek toksinlerini oluşturabilmeleri nedeniyle, mikotoksinler çok önemli doğal toksinler olarak kabul edilmektedir. Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO), 1985 yılında, dünya gıda üretiminin %25’inin mikotoksinlerle kontamine olduğunu hesaplamıştır. Bu ekonomik kayıplar üreticinin ürün kaybı, hayvan ve süt kayıpları; işletmecinin ve dağıtımının yüksek maliyetler ve son olarak tüketicinin yüksek fiyatlar ve sağlık giderlerinin artması nedeniyle olumsuz etkilenmesine yol açmaktadır (Özkaya ve Temiz, 2003).

Mikotoksinlerin, uzun dönemde insan sağlığı üzerine sahip oldukları kronik etkiler düşündürücüdür ve dolayısıyla gıdalarda düşük seviyelerde bulunan mikotoksinleri daha da önemli hale getirmektedir. Uluslararası ve yerel organizasyonlar, mikotoksinlerin insan sağlığı üzerindeki zararlarını sürekli olarak araştırmaktadırlar. Bu çalışmalar dünyanın bazı bölgelerinde mikotoksinler için izin verilen maksimum seviyelerin belirlenmesi ile sonuçlanmıştır. Bugün birçok ülkede, gıda ürünlerindeki mikotoksin ve yemdeki aflatoksin seviyeleri için yasal düzenlemeler yapmıştır fakat belirlenen limitler, uluslararası düzeyde standart değildir (Scudamore, 2005).

Belirli küf türleri tarafından üretilen, insanlarda ve hayvanlarda toksik, karsinogenik, mutajenik, teratojenik ve östrojenik etkileri olan mikotoksinlerin, süt

ürünlerinde bulunması iki nedenle olmaktadır. Birincisi; süt veren hayvanlar tarafından tüketilen yemlerin kontamine olması ve yemlerdeki toksinlerin metabolize edilmesi ile metabolitlerin süte transferi sonucu sütün kontaminasyonu (örneğin aflatoksin B₁, aflatoksin M₁ ile), diğeri ise; süt ürününün direkt olarak küf kontaminasyonuna maruz kalması sonucu mikotoksin oluşturmastır (Nilüfer ve Boyacıoğlu, 2003).

Küfler, tahıllar ile hayvan beslemede kullanılan diğeri hammaddeler ve karma yemlerde kolayca çoğalıp gelişebildiklerinden, bunları tüketen hayvanların sağlığını da tehdit edebilmektedirler (Parlat ve ark., 2005). Süt ve süt ürünlerinde gelişen küfler diğeri mikotoksinler üretmektedir. Bu toksinlerin insan sağlığı üzerinde önemli derecede olumsuz etkileri bulunmaktadır (Ayar ve Sert, 2005).

Mikotoksinler içerisinde aflatoksinler en kuvvetli biyolojik karsinogen madde olarak bilinmektedir (Günşen ve Büyükyörük, 2001). Aflatoksijenik küfler, bulaştıkları ürünlerde daha ziyade uygun nem ve sıcaklık bulunduğunda gelişmekte ve aflatoksin oluşturmaktadır. Üründe toksik küf bulunmasına rağmen her zaman aflatoksine rastlanmazken, sağlıklı görünen ürünlerde de rastlanabilmektedir. Aflatoksinlerin esas olarak küflü gıdalarda görülmesine karşın doğrudan insan tüketimine sunulan gıdalarda da aflatoksin oluşabileceği, çeşitli işleme yöntemlerinin bunu tamamen ortadan kaldıramadığı ve hayvan yeminde bulunabilecek aflatoksinlerin çok az bir oranda da olsa et, süt ve yumurta gibi gıdalara geçerek insan sağlığı açısından risk oluşturabileceği ifade edilmektedir (Gürses ve ark., 2004). Dört temel aflatoksin vardır, bunlar B₁, B₂, G₁, G₂ 'dir ve sadece aflatoksin B₁ ve G₁ karsinogenik etki göstermektedir (Klaassen ve ark., 1996). Aflatoksinler içerisinde toksik etkisi en yüksek olarak bilinen aflatoksin B₁ (AFB₁)'dir (İnal, 1990). AFB₁ tarımsal ürünlerde ki belirli *Aspergillus spp.* tarafından üretilen son derece toksik ve karsinogenik metabolitlerdir (Leontopoulos ve ark., 2003). AFB₁ ve AFB₂ içeren yemleri tüketen süt veren hayvanlar, bu toksinleri hidrosillenmiş metabolitler olan aflatoksin M₁ (AFM₁) ve aflatoksin M₂ (AFM₂)' ye dönüştürmektedir (Beltz ve Spain, 1998). Süt hayvanlarının yemlerinde yüksek

düzeyde AFB₁ bulunması yavrularını zehirleyebilecek miktarlarda AFM₁'in sütle çıkarılmasına yol açabilmektedir (Nilüfer ve Boyacıoğlu, 2003).

Aflatoksinlerin dünya çapında oldukça ciddi boyutlarda sağlık ve ekonomik problemlere neden olması bu konunun önemini artırmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

Süt ve süt ürünlerinde AFM₁ bulunması; bu ürünleri daha çok tüketen bebek ve çocuklar açısından oldukça önemlidir. Çünkü bebek ve çocuklar mikotoksinlerin olumsuz etkilerine karşı oldukça hassastır. Bu nedenle, birçok ülke AFM₁'e maruz kalma riskini azaltmak için çeşitli araştırma ve kontrol programları uygulamıştır (Oruç, 2003).

Ülkemizin farklı yörelerinde süt ve süt ürünlerinde aflatoksin düzeyleri ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte yapılan taramalarda, Aydın iline ait herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır, bu proje kapsamında Aydın yöresindeki süt ve süt ürünlerindeki aflatoksinlerin varlığı saptanarak, alınması gereken önlemler ve bu konudaki bilgi eksikliğinin giderilmesine katkıda bulunacaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2. 1. Tarihçe

Küflerin neden olduğu bilinen en önemli ve en eski mikotoksikozis olayı uzun zamandan beri Avrupa’da Orta çağ’ da ‘kutsal ateş’ olarak bilinen *Claviceps purpurea* toksinleri ile enfekte olan çavdarın yenmesi sonucu görülen ‘ergotizm’dir (Vural, 1992). Ergotizm hastalığını tarif eden ilk kayıtlar ortaçağa aittir. Hastalığa neden olan bileşik ise hallusinogenil etkiye sahip olan ergot alkaloidleridir. Bu hastalığın yaygın olduğu ortaçağlarda şifa bulmak için manastır ve kiliselere koşan hastalar, buralarda kontamine olmamış hububatların tüketilmesiyle hastalıktan kurtulmuş ve bunu kilisenin mucizesi olarak kabullenmişlerdir (Uylaşer ve Başoğlu, 1992). Tarihte diğer önemli mikotoksikozis olayı ikinci dünya savaşı sırasında Rusya’da görülmüştür. Ambarda depo edilen bozuk tanelerden elde edilen besinleri tüketen insanlarda ölümler gözlenmiştir (Papp ve ark., 2002).

Mikotoksikozlar çok eskiden beri bilindiği halde, deneysel mikotoksin araştırmalarına 1945 yılından sonra başlanmıştır. Japonya’da ‘sarı pirinç’den izole edilen *Penicillium spp.* suşlarının, Rusya’da *Fusarium spp.* suşlarının, deney hayvanlarına verilmesiyle yapılan gözlemler ilk araştırmaları oluşturmuştur (İnal, 1992). *Fusarium spp.* türlerinin neden olduğu ergotizm, *Penicillium spp.* türlerinin neden olduğu sarı pirinç zehirlenmesi gibi mikotoksikozisler geçmişte özellikle Rusya, Japonya ve Avrupa’da salgınlar halinde hastalıklara neden olmuşlardır (Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

Amerika Birleşik Devletleri’ nde (A.B.D.) 1952 ve 1957 yıllarında küflü mısır yiyen domuzlarda, 1958’de küflü mısır karıştırılmış yemle beslenen ev köpeklerinde akut, öldürücü hepatit görülmüştür. Küflü yemlerden yapılan analizlerde *Aspergillus flavus* ve *Penicillium rubrum* izole edilmiştir (Sert, 1985).

İngiltere’de, 1960 yılında, 100 000’nin üzerinde hindinin ölümüne neden olan karaciğer nekrozu (Turkey-X Disease) üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda ilk

kez aflatoksikozis belirlenmiştir (Dwayne ve Thrasher, 2005). Yapılan çalışmalarda ölümlerin Brezilya'dan getirilen fıstık küspelerinden ileri geldiği anlaşılmıştır (Arda, 1975). Turkey- X hastalığının ortaya çıkmasından kısa bir süre sonra hindiler de olduğu kadar tavuk ve ördek yavrularında da zehirlenmelere neden olmuştur ve bu hastalık; akut hepatit nekroz, belirgin safra kanalı hiperplazisi, akut iştahsızlık kaybı , kanatlarda zayıflık ve uyuşukluk gibi belirtilerle karakterize edilmiştir (Eaton ve Groopman, 1994). 1984 yılında ise, Hindistan'da 106'sında ölüm gözlemlenen 400 kişinin zehirlendiği bir olay kaydedilmiştir. Bu olaya sebep olan mısırlarda yapılan analizlerde 0.25-15.6 ppm arasında aflatoksin kalıntısı bulunduğu ortaya konulmuştur (Kaya ve ark., 2002).

Ülkemiz açısından aflatoksin sorunu 1960'lı yıllarda gündeme gelmiştir. Aflatoksin sorunu 1967 yılında Kanada'ya gönderilen 10 ton iç fındığın, 1971 yılında da ABD'ye ihraç edilen 45 parti antepfıstığının 31 partisinin aflatoksin içerdiği gerekçesiyle geri çevrilmesi sonucu ortaya çıkmıştır (Akpınar, 2005).

2. 2. Mikotoksinlerin Önemi

Mikotoksinler, çeşitli mantar türleri tarafından üretilen ve büyük oranda bunlar ile kontamine hayvansal yem ve gıdaları tüketen insan ve hayvanlarda karsinogenik ya da toksik etkilere yol açan kimyasal maddelerdir (Hussein, 2001, Gilbert, 2002). Mikotoksin terimi Yunanca mantar anlamına gelen 'mukes' ve latince zehir anlamına gelen 'toxicum' yani toksin kelimelerinin birleştirilmesinden türetilmiştir (DeVries ve ark., 2002).

Mikotoksinlerin toksikolojik yönden önemi, kontamine yemlerle beslenen hayvanlarda, akut ve kronik zehirlenmelere (mikotoksikozis) neden olmaları yanında, mikotoksin içeren yemlerle beslenen hayvanlardan elde edilen hayvansal kökenli besinler aracılığıyla da insana yansarak toplum sağlığı açısından da sorun yaratabilmelerinden kaynaklanmaktadır (Şener ve Yıldırım, 2000, Herrman, 2002). Güçlü doğal toksik etkileri, oldukça yaygın olması ve doğal şartlar altında

oluşabilmesinden dolayı, son yıllarda mikotoksinlerin önemi giderek artmıştır (Goyal, 2005).

Mikotoksin problemi ve besinlerdeki küflerin derecesi ve insidansındaki artış farkedilir derecededir, özellikle tarım ürünlerinin hava şartlarının etkisi altında, hasat mevsimi ve büyüme devresinde daha belirgindir. Küflü besinler yada yemler her zaman mikotoksin yada küf zehiri (zehirlenme) tehlikesi içermez fakat önemli ölçüde küflerin varlığı, sağlığı ve ürünleri olumsuz yönde etkilemektedir (Adams ve ark.,2003). Bir arada bulunan farklı mantarları ihtiva edebilen yemlerin çoğu gerek üretim, işlenme aşamasında gerekse taşıma ve depolanma aşaması süresince mantarların istilasına duyarlı olduğu uzun zamandır bilinmektedir (Speijers ve Speijers, 2004). Tarımda yeterince gelişmiş tekniklerin kullanılmaması sonucu, hasada takiben tarım ürünlerinin tarlada uzun bir süreyle kalmaları, gerek bu esnada ve gerekse harmanlama ve taşıma sırasında bir çok kez yağmura maruz kalmaları da bunların küflenmelerine ve böylece mikotoksinlerle kirlenme tehlikesine yol açmaktadır (Kaya ve ark., 2002). Soğuk ve yağışlı mevsimlerde hububatın olgunlaşması gecikebilir bu durum özellikle mısırdaki daha çok görülür ve üründe küf ve mikotoksin oluşumu gerçekleşmektedir (Vincelli, 2003).

Mikotoksinlere, mantar türüne bağlı olarak hem tropikal iklimlerde, hem de ılıman iklimlerde rastlanmaktadır. Etkilenen önemli hammaddeler arasında tüm tahıllar, fındık, kurutulmuş meyvalar (özellikle elma), kahve, kakao, baharatlar, yağlı tohumlar, kurutulmuş fasulye ve bezelyenin yanısıra silaj ve kaba yem sayılabilmektedir. Mikotoksinler, kontamine arpa veya diğer tahılların kullanımına bağlı olarak birada ve üzümde bulunan birtakım enfeksiyon ve mikotoksinlere bağlı olarak şarapta da bulunmaktadır (Scudamore, 2005).

Çizelge 1: Mikotoksin oluşumunu etkileyen başlıca faktörler (Akpınar, 2005)

Fiziksel Faktörler	Kimyasal Faktörler	Biyolojik Faktörler
Kurutma hızı	CO ₂ ,	Mikroorganizma yükü
Bağıl nem	O ₂	Mikrobiyal flora
Sıcaklık	Mineral içeriği	Böcek zararı
Mekanik zarar	Kimyasal işlemler	Hastalık zararı
Paçal yapılması	Substratın özelliği	Bitki çeşidi
Kızıışma		Bitki stresi

Mikotoksinlerin genel özellikleri:

- Mikotoksinler bulaşıcı değildir.
- Mikotoksikozis üzerine ilaç ve antibiyotik tedavisinin çok az etkisi vardır.
- Mikotoksikozislerin görülmeleri mevsimlere göre değişkendir.
- Salgın şeklinde görülmeleri kontamine olmuş bir besin veya yemle ilişkilidir.
- Toksisitenin derece ve şiddetini sık olarak konakçının yaş, cins ve beslenme durumu etkilemektedir.
- Duyarlı besin veya yemin incelenmesi ile küflerin bulunma durumu ve etkinlikleri açığa çıkarılabilir (Tayfur, 2002).

Mikotoksinler, gözle seçilemezler, bu yüzden teşhisi görmekle yapılamamaktadır. Bununla beraber, mikotoksinleri üreten küfler gözle görülebilir ya da görülmeyebilmektedir (Hawkins, 2000). Yem veya besin maddesindeki mantar sayısına göre de, o maddenin kalitesi hakkında az çok fikir yürütülmüştür. Buna göre, 1 gr'ındaki 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 edilmiştir. Bunlardan iyi kalitede olanlar depolanmakla kolayca ileri derecede küflenme ve mikotoksinle kirlenme tehlikesi taşırken, 1 g yemdeki mantar sayısı 1.000.000'u aştığında küflenme gözle görülebilir hale gelmektedir (Kaya ve ark., 2002).

Mikotoksinlerle kontamine gıdalar, hayvanların sağlığı için önemli bir risk teşkil eder ve çiftlik hayvanlarının verimlerinin düşmesinden dolayı büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Bata ve Lasztity, 1999). Mikotoksikozisde akut toksisite yanında uzun zaman periyodunda düşük miktarlardaki toksinlerin alınımına bağlı olarak sıklıkla kronik toksisite olaylarına rastlanmıştır (Erol, 1999). Mikotoksikoz sonucu başlangıçta hayvanlar da sık olarak ölüm ya da akut semptomlar görülmez, kronik etkiler akut etkiler den çok daha sık görülmektedir (Adams ve ark., 2003). Kronik olarak, uzun süre maruz kalınması sonucu kansere neden olabilir ve böbrekde, karaciğerde ayrıca immun sistemde bozukluklara yol açmaktadır (Bhat ve Vasnithi, 2003). Mikotoksinlerin vücuda alınması sonucu sinir sistemi, vasküler, ürogenital ve gastrointestinal sistem ile karaciğer, böbrek gibi vücudun çeşitli organlarına yan etkileri vardır ve kansere neden olabileceği gibi, mutajenik etkilere ve immun sistemin baskılanmasına yol açan toksik etkileri vardır (Adler, 2002).

Özetle, çeşitli mikotoksinlerin tek tek ya da birlikte oldukları zamandaki önemli zararları etkileri, aşağıdakilerin biri ya da daha fazlasını içermektedir.

- Azalan yem tüketimi, verim
- Bağışıklığın baskılanması (Azalan antikor titreleri)
- Hastalıklara karşı artan hassasiyet
- Organ hasarları (Karaciğer, böbrek, üreme organları v.b.)
- Kötü üreme performansı (Azalan fertilitite, vulvovaginitis, döl tutmama, düşük, meme büyümesi v.b.)

- Hayvansal ürünlerdeki mikotoksin kalıntılarına bağlı olarak insan sağlığına zarar verme (Devegowda ve ark. 2005).

Mikotoksinlerin toksik etkileri ile ilgili araştırmalar sonucu deney hayvanlarındaki etkileri; karaciğer, böbrek ve hematopoetik toksisitesi, immun toksisitesi, üreme toksisitesi, fetal toksisite ve teratojenik ile karsinojenik etkilerdir (Creppy, 2002).

Mikotoksinler, doğrudan veya metabolik değişiklikler sonucu oluşan metabolitleri sonucu oluşan metabolitleri aracılığında aşağıda belirtilen etki şekillerinden birisi veya birkaçıyla etkilerini oluşturmaktadır. Bunlar:

- DNA kalıbı ile etkileşme
- Kalıp çıkması, yazımı ve çevirisinin engellenmesi
- Hücre zarı geçirgenliğinin değiştirilmesi
- Hücre solunumunun etkilenmesi
- Hormonal etki (Kaya ve ark., 2002).

Bazı küfler 6 tür kadar çok mikotoksin üretebilirken bazı küfler ise mikotoksinlerin bir iki spesifik tipini üretmektedir. 350'nin üzerinde benzer kimyasal yapıya sahip mikotoksin çeşidi vardır (Hawkins, 2000). Doğal kirletici olarak besin ve yemlerde bulunabilen, insan ve hayvanların sağlığı yönünden önem taşıyan mikotoksinlerden bazıları şunlardır: aflatoksinler, okratoksinler, zearalenon, sitrinin, patulin, kojik asit, sterigmatosistin, trikotesenler, PR toksin, slaframin, penisillik asit, sporidesmin, ergot alkaloidleri, streoviridin, alternariol, tenuazonik asit, rubratoksinler, sikloklorotin, luteoskirin, rugulosin, tremorin A, okzalik asit gibi (Gilbert, 2002, Kaya ve ark., 2002). Mikotoksinlerin insanlarda ve hayvanlarda sağlık problemlerine yol açan en yaygın tiplerinin bazıları ise şunlardır; aflatoksinler, fumonisinler, trikotesenler, okratoksinler ve zearalenon' dur (Muro ve ark., 2003, FAO, 2003).

Sıralanan bu mikotoksinler arasında hemen hemen tüm hayvan türleri ve insanlarda zehirlenme yapabilmeleri, ayırım göstermeksizin hemen her çeşit besin ve yemde kirlenmeye yol açmaları, maymunlar da dahil pek çok hayvan türünde karsinogenik olmaları ve küflü yemleri yiyen hayvanların et, süt, yumurta gibi ürünlerinde kalıntılarına rastlanması sebepleriyle, aflatoksinler halen insanlarda epidemiyolojik olarak karsinogen olabilmeleri başta olmak üzere, yoğun biçimde araştırılan en önemli mikotoksin grubunu teşkil etmektedir (Kaya ve ark., 2002). Kümes hayvanlarında mikotoksinlerin etkisi, hayvanların yaşına, fiziksel durumuna ve beslenme şekline bağlıdır. Aflatoksinler ve diğer mikotoksinler, etçil sığırlar da domuz ve kümes hayvanlarına göre daha az risk oluşturmalarına karşın oldukça önemli etkilere sahiptir (Ferrer, 2005).

Çizelge 2: Süt ve et sığırları için maksimum mikotoksin düzeyleri (Devegowda ve ark., 2005)

Mikotoksin	Süt	Et
Vomitoksin (ppb)	300	500
Zearalenon (ppb)	250	250
Aflatoksin (ppb)	20	20-50
T-2 toksin (ppb)	100	100
Fumonisin (ppm)	2	5

2. 3. Sınıflandırma

Mikotoksinler genellikle üretici mantar çeşidine, kimyasal yapılarına ve öncelikle etkiledikleri organ, doku veya sisteme göre sınıflandırılırlar.

Mantar çeşidine göre

Aspergillus toksinleri: Aflatoksinler, aspergillik asit, okzalik asit vs.

Penisilyum toksinleri: Rugulosin, okratoksinler, patulin vs.

Fusarium toksinleri: Zearalenon, trikotesin, fusarin C gibi.

Ana etkilerine göre mikotoksinler

Karaciğere etkiyenler: Aflatoksinler, okratoksinler vb.

Böbreğe etkiyenler: Okratoksinler, sitrinin vb.

Kalbe etkiyenler: Penisillik asit, streoviridin gibi.

Tremor yapıcılar: Penitremler ‘penitrem A-F ‘ gibi.

Kemik iliğini etkileyenler. Trikotesenler, satratoksinler gibi.

Deri ve mukozaları irkiltelenler: Trikotesenler, satratoksinler gibi.

Sitotoksik etkili olanlar: Trikotesenler.

Sinir sistemini etkileyenler: Penitrem, streoviridin gibi.

Kan şekerini artıranlar: Terreik asit gibi.

Teratojenik etkili olanlar: Okratoksinler, sekalonik asit gibi.

Mutajenik etkili olanlar. Aflatoksinler, fusarin C gibi.

Karsinojenik olanlar: Aflatoksinler, luteoskirin gibi.

Tümör oluşumunu engelleyenler: Penisillik asit, verrukarin A ve B gibi.

Bağıışıklık sistemini baskılayanlar. Aflatoksinler, okratoksinler gibi.

İnsektisid etkili olanlar. Fusarik asit, kojik asit gibi.

Antibakteriyel etkili olanlar: Penisillik asit, sitrinin gibi.

Antifungal etkili olanlar. Aflatoksinler, trikotesin gibi.

Bitki zehiri olarak etkiyenler: Patulin, sitrinin gibi.

Yapılarına göre

Makrosiklik laktonlar: Zearalenon, sitokalsanlar gibi.

Kuinon ve benzerleri: Rugulosin gibi.

Amino asit-peptid bileşikleri: Gliotoksin gibi.

Oksijen taşıyan heterosiklik bileşikler. Aflatoksinler, streoviridin, patulin gibi.

Alisiklik bileşikler. Trikodeksin gibi.

Aromatik bileşikler: Griseofulvin gibi.

Mikotoksin çeşitlerini, kaynaklarını, hedef hayvan, doku veya organlarını gösteren çizelge 3' de gösterilmiştir.

Mikotoksin zehirlenmelerinde sağaltım genellikle etkisizdir. Bu nedenle, mikotoksikozise karşı profilaktik önlemler önem taşır; yem ham maddeleri ve karma yemlerin uygun koşullarda üretilip saklanması ve olası kontaminasyon durumlarında da mikotoksinlerin fiziksel ya da kimyasal yöntemlerle inaktivasyonu ve yine kontamine yemlerin mikotoksine dirençli olan hayvan türleri aracılığıyla (dilüe

edilerek) değerdendirilmesi veya tükettimden kaldırılması mikotoksikozise karşı alınabilecek başlıca proflaktik önlemlerdir (Şener ve Yıldırım, 2000).

Bazı bitki ve bitki özlerinin küf üremesi ve toksin üretimine karşı inhibitör etkilerinin olduğu bulunmuştur. Sarımsak, soğan, zerdeçal, neem ağacı v.b.'nin sıvı özlerinin antifungal aktivite gösterdiği ve/veya aflatoksin üretimini inhibe ettiği görölmüştür. Mikotoksinleri etkisiz hale getirme yeteneği test edilmiş kimyasallar arasında amonyak, sodyum bisülfıt, peroksit asitler, baz maddeler ve gazlar etkilidir. Mikotoksinlere karşı çalışan pek çok kimyasal madde test edilmiştir ve bu ürünler arasında, birkaç tanesi ticari olarak kullanılmaktadır. Bunlar bentonit, zeolit ve alüminosilikatları içermektedir. Bu maddeler arasında alüminosilikatlar daha etkili bulunmaktadır. Sulu sodyum kalsiyum alüminosilikat yemin %1'ine katıldığında (tona 10 kg) tavuk ve ineklerde aflatoksinin zararlı etkilerini önemli ölçüde azaltmaktadır (Bata ve Lasztity, 1999, Cassel ve ark., 2001, Devegowda ve ark., 2005). Ayrıca organik asitlerin kombinasyonları (propionik, sorbik, benzoik ve asetik asit) ve organik asitlerin tuzları (kalsiyum propionat ve potasyum sorbat vb.) küf inhibitörleri olarak kullanılmaktadır (Ferrer, 2005).

Mikotoksinlerin keşfinden beri, mikotoksinlerin belirlenmesi için birkaç yöntem geliştirilmiştir. Bugün rutin olarak kullanılan bu yöntemler şunlardır; Yüksek performanslı likit kromatografi (HPLC), ince tabaka kromatografisi (TLC), gaz kromatografisi (GC), enzim-bağlı-immün assay (ELISA) (Gilbert, 2002).

Çizelge 3: Mikotoksin çeşitleri, kaynakları, hedef hayvan, doku veya organlar (Kaya ve ark., 2002)

Mikotoksinler	Mantar çeşidi	Hedef organ, doku ve oluşan etki	Besin veya ürün çeşidi	Öncelikle etkilenen hayvan
Aflatoksinler	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i> <i>P. puberulum</i>	Karaciğer; gelişme hızı ve veriminde azalma; sarılık, kanama, sürgün, karaciğer kanseri, bağışıklık sisteminin baskılanması	Tahıllar, yemler, yağlı tohum küspeleri, süt	Tüm hayvan türleri, insanlar
Sitrinin	<i>Penicillium citrinum</i> <i>Aspergillus terreum</i>	Sinirsel belirtiler sürgün gelişme geriliği, karaciğer ve böbrek nekrozu, kalp ve iskelet kasında rniyopati, karaciğer kanseri	Tahıllar	Kanatlılar, dornuzlar
Okratoksin	<i>A. ochraceus</i> <i>P. viridicatum</i>	Karaciğer ve böbrek hasarı, iştah kaybı, sürgün, bağışıklık sisteminin baskılanması	Tahıllar, otlar	Kanatlılar, insanlar
Patulin	<i>A. clavatus</i> <i>P. patulum</i>	Sinirsel belirtiler, beyin kanaması, deri kanseri	Silaj, elma, yemler	Sığırlar
Sterigmatosistin	<i>A. versicolor</i>	Karaciğer kanseri	Tahıllar, pirinç, Yemler	Tüm hayvan türleri
Aspertoksin	<i>A. nidulans</i>	Deri kanseri, kanamalar	Tahıllar, mısır	Tüm hayvan türleri
Penisillik asit	<i>P. puberulum</i> <i>A. ochraceus</i>			
Rubratoksin	<i>P. rubrum</i>	Aflatoksinlere benzer	Tahıllar, baklagiller, yağlı tohumlar	Tüm hayvan türleri
Luteoskirin	<i>P. islandicum</i>	Karaciğer hasarı ve kanseri	Pirinç	Kanatlılar
Sikloklorotin	<i>P. rugulosum</i>			
Rugulosin				
Zearalenon (F-2 toksin)	<i>F. roseum</i> ve diğer <i>Fusarium</i> türleri	Ostrojenik etki	Tahıllar	Gevişenler, domuzlar
Sporidesmin	<i>S. bakeri</i>	Karaciğer hasarı, safra kanalı tıkanması, ışığa aşırı duyarlılık	Tahıllar, otlar	Gevişenler
Trikotesenler	<i>Fusarium</i> <i>Trikoderma</i> , <i>Sefalosporium</i> , vb	Dermatit, deride nekroz, kanamalar, anemi, granülositopeni vb.	Tahıllar, yemler	Tüm hayvan türleri
Streoviridin	<i>P.citreoviridae</i>	MSS, kalp ve solunum felci, çarpınmalar	pirinç, tahıllar	Tüm hayvan türleri
Butenolid	<i>F. tricinctum</i>	Bacaklarda gangren, kuyrukda nekroz	Tahıllar, mısır, ot	Sığırlar
Penitremler	<i>Penisilium</i> türleri	Kas titremeleri, felç, çarpınmalar	Tahıllar	Tüm hayvan türleri
Lolitremler	<i>Acremonium loliae</i>	Tremorlar, hareket düzensizlikleri, çarpınmalar, şok, spazm gibi	Çavdar vb.	Gevişenler, at
Fumonisinler	<i>Fusarium</i> türleri	Beyin ve akciğer yangısı	Mısır	At, domuz, kanatlılar
4-ipomeanol	<i>Fusarium solanii</i>	Akciğer ödemi, pnömoni, amfizem	Küflü tatlı patates	Sığır
Kojik asit	<i>A. flavus</i> <i>A. oryzae</i>	Çarpınmalar, ödem	Mısır	Tüm hayvan türleri
Okzalik asit	<i>A. niger</i> <i>A. oxalicum</i>	Mide irkiltisi, MSS ve böbrek hasarı, kanama, kan kalsiyumunda azalma	Bitkiler	Tüm hayvan türleri
Ergot alkaloidleri	<i>C. purpurea</i> <i>C. paspali</i>	Kuru gangren, aşırı uyarı, kanın pıhtılaşması	Tahıllar	Tüm hayvan türleri
Satratoksinler	<i>Stachybotrys atra</i>	Kemik iliği, deri, mukozalar	Tahıllar, otlar	Tüm hayvan türleri
Sitakalasanlar	<i>Aspergillus</i> , <i>Zygosporium</i> , <i>Nigrosabulum</i> vb.	Hücre zarları, pıhtılaşma, fagasitöz vb.		Tüm hayvan türleri
Territremler	<i>A. terreus</i>	MSS. tremorlar, nöro-musküler kavşaklar	Tahıllar, otlar	Tüm hayvan türleri
Psoralenler	<i>S. sclerotiorum</i>	Deri yangısı	Kereviz vb.	Tüm hayvan türleri

2. 4. Aflatoksinler

Aflatoksinler, özellikle *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* olmak üzere, diğ er bazı *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Rhizopus* türleri tarafından meydana getirilen hepatokarsinogenik, mutajenik, teratojenik ve toksijenik metabolitlerdir (G n  en ve Büyükyörük, 2001, Shukla ve ark., 2002, Gürses ve ark., 2004). Aflatoksinler *Aspergillus*'un üç türü tarafından üretiler, bunlar; *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve nadiren *Aspergillus nomius*  retirler. A. flavus sadece aflatoksin B üretirken diğ er iki tür hem aflatoksin B hem de aflatoksin G  retir (Henry ve ark. 2001, Abdulrazzaq ve ark., 2002).

Aflatoksinler yüksek toksisiteye sahip olmaları nedeniyle vücuda alındıklarında akut veya kronik olarak seyreden aflatoksikozis denilen mikotoksikozis vakalarına yol a maktadı r (Gürses ve ark., 2002). Aflatoksikozis, bireysel olmaktan ziyade sürüyü ilgilendiren bir hayvansal problemdir (Porter, 1995). Aflatoksinler ile kontamine olan ürünler; tahıllar (mısır, pirinç, buğday), yağılı tohumlar (yer fıstığı, soya fasülyesi, ayçiçeği, pamuk), baharatlar (karabiber, ki ni , acı    ni), yemi ler (badem, antepfıstığı, ceviz, hindistancevizi) ve sütü içermektedir (Reddy ve Waliyar, 2005).

Aflatoksinler, karaciğer kanserinin sebeplerinden biri olarak tanımlanmıştır fakat buna ilaveten oldukça önemli toksik etkilere de sahiptir. Dünya çapında aflatoksine maruz kalan insanlardaki aflatoksin seviyesi ve yaygınlığı incelenmiş ve gelişen ülkelerde yaşayan 4.5 milyona yakın insanın, büyük  l de kontrolsüz bir şekilde artan toksine kronik olarak maruz kaldığı g r lm  t r (Williams ve ark., 2004).

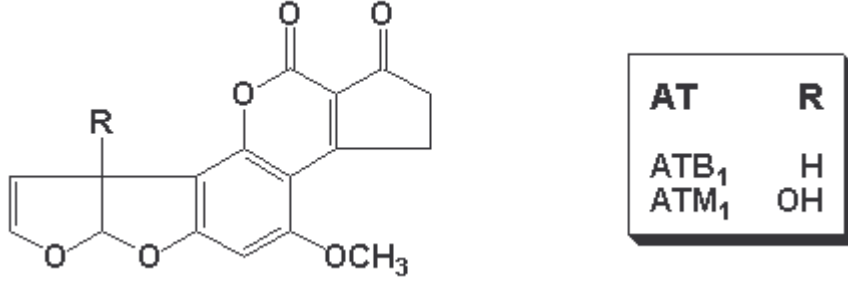
AFB₁, çok güçlü bir karaciğer karsinogeni ve toksindir; dietteki 1 ppb seviyesi karaciğer tümörünün oluşması için yeterli bir sebep olabilmektedir. Aflatoksinin dietteki seviyesi Afrika'da dünyanın diğ er kısımlarından daha yüksektir ve Afrika'nın belirli kısımlarında karaciğer kanserinin daha yüksek olduğu g r lm  t r (Timbrell, 1989).

2. 4. 1. Özellikleri

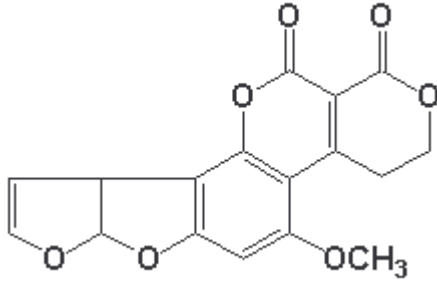
Aflatoksinler, dihidrofuran ya da tetrahidrofuran yapısı ile kumarin parçasının kaynaşmasından oluşan yapının bir grubudur (D'Mello, 2003). Kimyasal yapılarına göre farklılık gösteren aflatoksin türevinin en önemlileri, genel olarak dört grupta tanımlanabilir, bunlar; B₁, B₂, G₁, G₂' dir (Dwayne ve Thrasher, 2005, Abdulrazzaq ve ark., 2002, Dağoğlu ve ark., 1995). Bunlara ilaveten, ayrıca gerek küflü kültür ortamlarında ve gerekse de vücutta şekillenenlerle beraber (aflatoksikol 'AFP₁, AFB_{2a}, AFG_{2a} gibi) aflatoksinlerin sayısı 20'yi geçmiştir (Kaya ve ark., 2002).

Bunlar farklı gıda ve yemlerde farklı oran ve gruplarda bulunabilmektedir. Aflatoksin M₁ ve M₂, aflatoksin B₁ ve B₂'nin oksidatif metabolik ürünleri olup, aflatoksin ile bulaşmış olan gıda ve yemleri tüketen inek, koyun gibi süt veren hayvanların süt, idrar ve dışkıları ile atılmaktadır (Dağoğlu ve ark., 1995, Bakirci, 2001, Ayçiçek ve ark., 2004, FAO\WHO, 2004). Yem ve besinlerle alınan aflatoksinler sindirim kanalından sınırlı ölçüde emilmektedir. Dolaşıma geçen aflatoksinler başlıca karaciğer ve kaslarda dağılım göstermektedir. Vücuda giren aflatoksinin %75'lik kısmı ilk 24 saat içinde dışkı, %15-20'lik kısmı idrarla ve geri kalanı da değişmemiş ya da metabolitleri halinde sütle atılırken, %5-6'lık kısmı karaciğerde tutulmaktadır (Çelik, 2001).

Aflatoksin'in bütün sınıfları arasında AFB₁ insan ve hayvan sağlığı için risk teşkil eden en önemli sınıftır (Murjani, 2003). AFB₁ içeren yemleri tüketen memeli hayvanların sütünde ortaya çıkan AFM₁, AFB₁'in 4-hidroksi türevidir. AFM₁' in moleküler formülü C₁₇H₁₂O₇'dir (Bakirci, 2001, Henry ve ark., 2001). Aflatoksinler ruminantlar da karaciğer de metabolize edilerek safra da ekstrakte edilmektedir (Cassel ve ark., 1989).



Şekil 1. *Aspergillus flavus* ve *A. Parasiticus* türleri tarafından üretilen aflatoksin B₁ ve M₁'in yapısal şekli. AT: Aflatoksin (FDA, 2005)



Şekil 2. *Aspergillus flavus* ve *A. Parasiticus* türleri tarafından üretilen aflatoksin G₁'in yapısal şekli. AT: Aflatoksin (FDA, 2005)

Aflatoxinler, su ve polar organik çözücülerde çözülebilir, polar olmayan çözücülerde ise çözünmeyen yapıya sahiptirler. Aflatoxinler, alkaloidlerle (amonyak vb.) ve oksidasyon maddeleriyle (hipoklorit vb.) kolayca parçalanabilir fakat normal gıda işleme sıcaklıklarında parçalanmaz (Erol, 1999). Aflatoxinler hekzan, petrol eteri, izooktan gibi yağ çözücülerindeki organik çözücülerde (aseton, kloroform, benzol, asetonitril vb.) iyi çözünürler. Sudaki çözünürlükleri 10-20 mg/l arasındadır (Kaya ve ark., 2002).

Aflatoxinler, diğer heterosiklik bileşiklerin çoğu gibi floresans özellikleri tarafından ayırt edilir (Hussein ve Brasel, 2001). Bunların isimlendirilmesinde ultraviyole ışık altında yaydıkları floresans ve sütle çıkarılma durumu esas alınmıştır;

buna göre; B serisindekiler UV ışık altında mavi (İngilizce blue-mavi kelimesinin ilk harfi olan B), G serisindekiler yine UV ışık altında ama bu sefer yeşil (İngilizce green-yeşil kelimesinin ilk harfi olan G) floresans yayarlar ve M serisindekiler de sütle (milk toksin teriminin ilk harfi olan M) atılırlar ve bu ismi alırlar (FAO\WHO, 2004, Verma, 2004).

2. 4. 2. Aflatoksin oluşumunu etkileyen faktörler

Aflatoksin oluşumunu etkileyen faktörleri başlıca üç kategoride sınıflandırılabilir; bunlar fiziksel, besinsel ve biyolojik faktörlerdir.

Fiziksel faktörler; sıcaklık, pH, nem, hava ve atmosferdeki gazların seviyesini içermektedir. Aflatoksinler sadece 12-42 °C sıcaklıkları arasında ürerler ve optimal sıcaklık 25-35 °C'dir (Cassel ve ark., 2001, Herrman, 2002). Ancak diğer faktörlere de bağlı olmak üzere 7.5-40 °C arasında aflatoksin üretilebildiğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Yine koşullara bağlı olmak üzere aflatoksin üretim süresi 24 saat ile 4-10 gün arasında değişebilmektedir. Aflatoksin üretimi için minimum su aktivitesinin ise 0.85 olduğu bildirilmiştir (Ünlütürk ve Turantaş, 1999). Normal ısılarda son derece dayanıklı olan aflatoksinlerin tümüyle parçalanmaları için 300°C'nin üzerindeki sıcaklıklara gerek vardır ayrıca kısa zamanda yüksek ısıda pastörizasyon ile sütlerdeki aflatoksin miktarında azalma olmamaktadır (Harris ve ark., 1992, Kaya ve ark., 2002).

Aflatoksinler gıda ve yem maddelerinde çok stabildir, ancak çok düşük veya yüksek pH'larda (3'ten az ve 10'dan büyük), okside edici ajanlarla ve oksijen olan ortamda UV ışığına maruz kaldıklarında hızla aktivasyonlarını yitirmektedirler (Özkaya ve Temiz, 2003).

Aflatoksinler $\geq$ % 15 rutubet içeren, başta mısır, pamuk tohumu ve yer fıstığı olmak üzere, hemen her çeşit tahıllar, yem ve yem hamamaddeleri ile besinlerde kolayca ürerler ve mikotoksin sentezleyebilmektedir. Mantarlar % 12-13'den daha düşük nem seviyesinde yok olmaz, küfün oluşumu engellenerek belirgin derecede azalır ancak toksisitesinde herhangi bir değişiklik olmamaktadır (Cassel ve ark.,

2001, Kaya ve ark., 2002, Shanahan ve ark., 2003). CO₂ ve O₂ varlığı aflatoksin üremesi ve küfün oluşumunda etkilidir. Havadaki %20 CO₂ seviyesi aflatoksin üretimini ve küfün gelişimini belirgin biçimde baskılamaktadır. Havadaki oksijen konsantrasyonunun %10 azalması aflatoksin üretimini baskılar (Ruiqian ve ark., 2004). Mantarlar, hasar görmüş dokular üzerinde (tane ve tohumlarda oluşan ezilme, zedelenme, kırılma ve çatlama gibi) daha kolay geliştiğinden bitkiyi buralardan kolayca etkilemektedir. Mantarlar bu şekilde bitki dokularını fiziksel olarak yaralamak suretiyle yemlere zarar verdikleri gibi, salgıladıkları mikotoksinlerle de yemleri yiyen hayvanlara zarar verebilmektedir (Akpınar, 2005).

Kimyasal faktör olarak ise, aflatoksin üretimi için ya doğal yada laboratuvar şartları altında besi yerlerine karbon kaynakları ilave edilmektedir. Genellikle karbon kaynağı olarak glukoz, fruktoz yada sükroz kullanılır. Aflatoksin sentezinde inorganik tuzların etkisi de vardır. Başlıca çinko, manganeze duyarlıdır fakat hem kadmiyum hemde demir karışımı, küf gelişmesini ve aflatoksin üretimini baskılamaktadır (Ruiqian ve ark., 2004).

Aflatoksin oluşumunu etkileyen biyolojik faktörler ise, mikroorganizma yükü (küf suşunun toksijenik olup olmadığı, toksijenik ise toksin üretme kabiliyeti) ve mikrobiyal flora, bitki çeşidi, böcek hasarı, ayrıca birden fazla parazit veya mantar türünün mevcut olması da mantarların üremesini ve mikotoksin oluşturmalarını etkilemektedir (Akpınar, 2005, Kaya ve ark., 2002).

2. 4. 3. Etki Şekilleri

Aflatoksinler doğrudan etkili değildirler; sitozolik ve stokrom P450 sistemiyle bir çok metabolite çevrilirler. Karaciğerde stokrom P450 vasıtasıyla uğradıkları metabolik değişiklikler sonucu oluşan epoksit-türevleri (AFB₁-2,3-epoksit gibi) etkili olmaktadır. Klinik olarak zehirli ve karsinojenik etkileri hemen tümüyle bu etkin metabolitiyle ilgilidir (Kaya ve ark., 20002). Gıdalardaki en tehlikeli kanserojenlerden olan aflatoksinler, hücre içerisine, oradan da çekirdeğe geçerek DNA'ya bağlanmaktadır. Toksik etkilerini DNA çift sarmalını şablon olarak

kullanıp, mRNA sentezini gerçekleştiren RNA polimerazın DNA'ya bağlanmasını engelleyerek göstermektedirler (Seyrek, 2001).

Aflatoksin B₁ biyolojik reaktif bir bileşiktir ve bir çok biyokimyasal sistemi değiştirir. Aflatoksin B₁'in hepatokarsinojinetesi biyotransformasyon ile ilgilidir ve DNA, RNA ve proteine kovalent bağlanan formda yüksek bir reaktif elektrofilik epoksittir (Klaassen ve ark., 1996).

2. 4. 4. Aflatoksin'lerin Biotransformasyonu

Aflatoksinler I ve II faz tepkimelerle metabolize edilen lipofil moleküllerdir. I faz biyotransformasyonlar, AFB₁'in AFB₁-8,9-epoksida biyoaktivasyonuna ve diğer az reaktif metabolitlerin şekillenmesine olanak sağlamaktadır. II faz tepkimeler, epoksidin başlıca detoksikasyon yolu olan glutasyonla birleşme yanında glukurono ve sulfo-konjuge metabolitlerin şekillenmesiyle sonuçlanmaktadır (Şener ve Yıldırım, 2000).

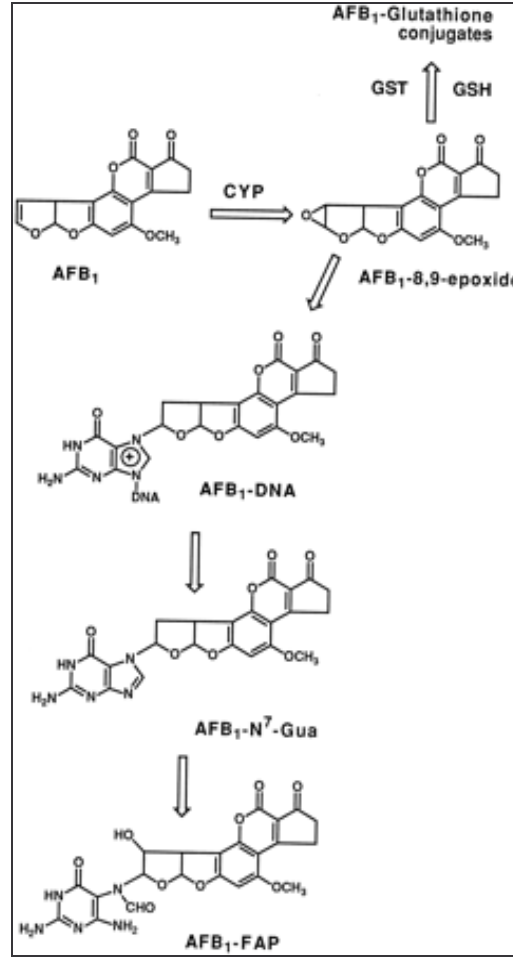
I Faz Metabolitler:

I faz tepkimeler, substratların oksidasyonu ve kısmen de redüksiyonu şeklinde gerçekleşmektedir (Şener ve Yıldırım, 2000). Oksidasyonda sitokrom P450 önemli bir rol oynamaktadır (Eaton ve Groopman, 1994).

AFQ₁, P₁ ve M₁:

Üç insanın karaciğer örneği alınarak inkübasyona tutulmuş ve AFB₁'in oksidasyona uğraması sonucu aflatoksin Q₁, P₁ ve M₁ ortaya çıkmıştır, ratlarda da buna benzerdir (Henry ve ark. 2001).

AFB₁'in 3 ve 9 pozisyonlar da hidroksilasyonu ile Q₁ ve M₁ oluşur. Aflatoksin Q₁ çok daha düşük akut toksisite, mutajenite ve karsinojeniteye sahiptir. AFB₁'in O-demetilasyonu ile aflatoksin P₁ şekillenir ve AFB₁'den çok daha az toksik ve daha zayıf mutajendir (Eaton ve Groopman, 1994).



Şekil 3: Aflatoxin B₁-DNA bağlanması ve aflatoxin B₁'in metabolik aktivasyonu

Aflatoxin G_{2α}

AFB₁ ve aflatoxin G₁'e (AFG₁) 8-9 ve 9-10 pozisyonunda bir mol su ilavesiyle AFB_{2α} ya da AFG_{2α} oluşmaktadır. Bu tepkime sitokrom P450 ya da midede asit pH etkisiyle gerçekleşmektedir (Şener ve Yıldırım, 2000).

AFB₁-8-9-epoksit:

Aflatoxinlerin dihidrofuranın 8,9 pozisyonunda oksidasyonuyla şekillenen metabolitidir, sitokrom P450 süper-familiyasına ait enzimler tarafından ve hepatik parankimatöz hücreler yanında sinüzoid hücreler ve kupffer hücrelerinde bu metabolik yol gerçekleşmektedir (Şener ve Yıldırım, 2000).

Aflatoksikol:

Teorik olarak tüm doğal aflatoksinler bu metabolite dönüştürülebilmektedir. Aflatoksinlerden vücutta oluşan epoksi-türevleri normal olarak *glutasyon transferazın* aracılığıyla indirgenmiş glutasyonla (GSH) birleştirilerek veya *epoksi hidrataz* ile aflatoksikola çevrilerek etkisiz kılınmaktadır. AFB₁ molekülündeki siklopentano halkasının hidroksillenmesiyle aflatoksikol oluşmaktadır (Kaya ve ark., 2002).

II Faz Metabolitleri:

Glutasyonla birleşme:

Glutasyonla birleşme AFB₁'in toksik etkilerine duyarlı farklı türlerde belirlenen önemli bir reaksiyondur (Eaton ve Groopman, 1994). Aflatoksin metabolitleri içinde sadece epoksitler glutasyonla birleşme için yeterince elektrofildirler ve bu işlem karaciğerde gerçekleşmektedir. Çoğu hayvan türünde, glutasyonla birleşme aflatoksinlerin başlıca atılım şeklidir (Şener ve Yıldırım, 2000).

AFB₁-8,9 dihidro-diol:

Mikrozomların varlığında AFB₁'in inkübasyonu sonucu şekillenir ve AFB₁-8,9 epoksidin hızlı bir şekilde hidrolizi sonucu oluşmaktadır (Eaton ve Groopman, 1994).

Glukurono ve Sulfokonjugasyon:

Hepatositler de, in vivo ve in vitro koşullar da, aflatoksinlerin safra ve idrarla atılan glukurono ve sulfokonjuge metabolitleri halinde şekillenmektedir (Şener ve Yıldırım, 2000). Aflatoksin ve AFM₁'in glukuronidasyonu AFB₁'in safrada ki metabolitidir (Eaton ve Groopman, 1994).

2. 4. 5. Zehirlilikleri

Aflatoksinlerin meydana getirdiği hasarın genişliği yada toksisitesi, evcil ve deney hayvanlarında çevresel faktörler, maruz kalma süresi, doz yani tüketilen gıdalarla alınan toksinin miktarına ve çeşidine, hayvanın duyarlılığına, türe, cinsiyet, ırk, yaş, sağlık, ve beslenme durumuna göre değişmektedir. Zehirlilikleri ayrıca, riboflavin ve ışığa maruz kalmakla, vitamin B₁₂, karoten ve protein noksanlıklarında artmaktadır (Beltz ve Spain, 1998, Kaya ve ark., 2002).

Bütün türlerde genç hayvanlar, aflatoksinlerin etkileri bakımından ergin hayvanlardan daha duyarlıdır. Gebe ve gelişmekte olan hayvanlar, genç hayvanlardan daha az duyarlı fakat ergin hayvanlardan daha çok duyarlıdır Evcil hayvanlar içinde erkekler dişilerden daha duyarlıdır; bu durum aflatoksinlerin metabolizmasına cinsiyet hormonlarının karıştığı fikrini vermektedir (Cassel ve ark., 1989, Kaya ve ark., 2002).

Aflatoksinler içerisinde zehirliliği en güçlü olanı AFB₁' dir, bunu azalan sırayla AFG₁, AFB₂ ve AFG₂ izlemektedir (Çelik, 2001).

Genel bir kural olarak, büyümekte olan kümes hayvanlarında, günlük besindeki aflatoksin 20 ppb' den fazla alınmaması gerekmektedir. Bununla beraber 20 ppb'den daha düşük seviyelerde besinlerde alınımı hastalığa karşı dirençlerini azaltabilir. Tavuklar genellikle genç kuşlardan daha yüksek seviyeleri tolere edebilir, fakat seviyesi 50 ppb'den daha az olması gerekir (Ferrer, 2005).

Aflatoksinlerin öldürücü miktarlarına karşı hayvanlar arasında önemli bir ayrım vardır. Buna göre; ördek, alabalık, kedi, köpek, hindi gibi hayvanlar **en duyarlı**; at, sığır, koyun, keçi, sıçan, kobay, bildircin gibileri **orta derecede duyarlı**; fare ve maymun ise **en az duyarlı** hayvan türleri olarak kabul edilmektedir (Kaya ve ark., 2002).

Aflatoksin bütün kümes hayvanlarını etkiler ve genellikle yüksek seviyelerde ölümlere sebep olmaktadır, uzun süre düşük seviyelerde gıdalarla alınması zararlı

etkilere neden olmaktadır. Kümes hayvanlarının genç olanları, özellikle ördek ve hindiler aflatoksinlere karşı oldukça duyarlıdır (Ferrer, 2005). Bunları azalan sırayla kaz, sülün, tavuk ve be tavuğu izlemektedir.  rdek ve hindilerin ileri derecede duyarlılık göstermeleri stokrom P450 sistemleriyle son derece etkin metabolitlere evrilmeleriyle ilgilidir (Kaya ve ark., 2002).

Çizelge 4: Bazı hayvanlarda AFB₁ 'in ağızdan  D₅₀ değerleri (Kaya ve ark., 2002)

Hayvan türleri	�D ₅₀ mg/kg
Günlük �rdek	0,3-0,6
Süt emen tavşan	0,3-0,5
Alabalık (100g)	0.5-1.0
Ergin ve genç köpek	0.5-1.0
Ergin kedi	0.3-0.6
Sığır, buzağı	0.5-2.0
Koyun ve keçi	2.0
At ve tay	2.0
Maymun	2.2-8.0
Kobay	1.0-2.0
Erkek sıçan: günlük	1.0
3 haftalık	5.5
ergin	7.2
Dişi sıçan: 3 haftalık	7.4
Ergin	20.0
Fare	>60.0
Legorn, 4 aylık	6.5-16.5
Ergin New hampshire	2.0

Çizelge 5: FDA'ya göre besin ve yem katkı maddelerinde, aflatoksinlerin etkin seviyesi (Harper, 2003)

�r�nler:	Konsantrasyon Ppb
İnsanlar için belirtilen süt hariç bütün ürünlerde	20
Süt	0.5 (M ₁)
Sütçü sığırlar ile henüz gelişmemiş hayvanlar için mısırd�	20
Etil sığırlar, domuz ve gelişmiş kümes hayvanları için mısır ve yer fıstığında	100
Domuz için mısır ve yer fıstığı �r�nlerinde	200
Etil sığırlar için mısır ve yer fıstığı �r�nlerinde	300

2. 4. 6. Etkileri:

Aflatoksin zehirlenmelerinin klinik belirtileri karakteristik değildir (Blaney, 2002). Hayvanların duyarlılığı ve alınan toksinin miktarına bağlı olarak aflatoksinler akut, subakut ve kronik nitelikte zehirlenmelere yol açmaktadır (Çelik, 2001).

Hayvan türleri, aflatoksinlerin akut ve kronik toksisitesine ve duyarlılıklarına göre farklı cevap vermektedir. Hayvan türlerinin hiçbiri, aflatoksinlerin akut toksik etkilerine dirençli değildir (Bommakanti ve Waliyar, 1999). Aflatoksinler, çiftlik hayvanlarında, kümes hayvanlarında ve insanlarda son derece toksiktir. Düşük konsantrasyonlarda bile kontamine yemlerin tüketimi, aflatoksinlere duyarlı hayvanlarda 72 saat içinde ölüme yol açmaktadır (Cassel ve ark., 2005). Aflatoksinler, yüksek toksisiteye sahip olmaları nedeniyle vücuda alındıklarında akut veya kronik olarak seyreden aflatoksikozis denilen mikotoksikozis vakalarına yol açmaktadır (Gürses ve ark., 2002).

AFB₁ öncelikle hepatosellüler karsinom oluşturur, ancak mide karsinomu ile kolon adenokarsinomuna da yol açabilmektedir. AFB₁ en kuvvetli karaciğer karsinojenidir, diğer aflatoksinler daha zayıf etkilidir. AFG₁ böbrek tümörleri, AFB₂ karaciğer tümörü oluşturmaktadır (Erol, 1999). Aflatoksinler, hayvanların bir çeşit immun sistem baskılayıcılarıdır ve canlıyı çeşitli mikroorganizmaların enfeksiyonuna duyarlı hale getirmektedir (Dwayne ve Thrasher, 2005).

Akut aflatoksikozis:

Aflatoksinlerle akut zehirlenmede hayvanlarda ani ölüm veya iştahsızlık, solunum güçlüğü, burun akıntısı, durgunluk, anemi, öksürük, kanlı ishal, çarpınmalar, bitkinlik, akut karaciğer hasarı, kapillar damar dayanıklılığında azalma, organlarda kanama ve hızlı ölümler görülmektedir (Çelik, 2001). Yüksek dozda aflatoksin alınımı sonucu oluşan akut aflatoksikozisin hedef organı karaciğerdir. Aflatoksinlerin karaciğere maruziyetinden sonra lipid infiltrasyonu, hepatositlerde nekroza ya da ölüme yol açmaktadır (Bommakanti ve Waliyar, 1999).

Subakut aflatoksikozis:

Subakut olgular da karaciğer hasarı, iştahsızlık, diare, immun sistemde baskılanma, sarılık, hematom, kanamalı bağırsak yangısı ve trombosit sayısında azalma dikkati çekmektedir. Kanın pıhtılaşma yeteneğinin bozulması ve kapillar damarların kolayca çatlayabilmeleri sonucu vücudun mukoz zarları ve boşluklarında yaygın kanamalar dikkati çekmektedir (Cardwell, 1999, Kaya ve ark., 2002).

Kronik aflatoksikozis:

Kronik aflatoksikozisin en belirgin belirtisi, besini reddetme, büyüme oranında azalma, yemin değerlendirilmesinde azalma bunlara ilaveten halsizlik, ağırlık kaybı ve hafif diare görülebilmektedir. Anemi, subkutaneoz hemoraji aflatoksikozisin semptomlarından (Cassel ve ark., 1989). Ayrıca burun derisinde kuruma ve soyulma, rektum prolapsı, karaciğer hasarı, serum indikatör enzimler ile bilirubin, kolesterol gibi kan bileşenlerinin seviyesinde yükselme ve abdominal boşlukta ödem ile karakterizedir. Aflatoksinle kontamine gıdaları yiyen süt sığırlarında, süt üretiminde azalma olabilmektedir (Harris ve Staples, 1992).

2. 4. 7. Türlerle Göre Aflatoksinlerin Etkileri:

Sığır

Gıda alımı ile besinden yararlanma oranında azalma, süt üretiminde düşme, üreme performansında azalma, karaciğer hasarı ve immun sistemin baskılanması başlıca görülen etkilerdir (Vincelli ve ark., 2003). Kilo kaybı, anoreksi ve depresyonla seyreden doğal aflatoksikozise danalar çok duyarlıdır (Ferrer, 2005).

At

Aflatoksikozisin deneysel vakalarında, anoreksi, depresyon, titreme, kırmızı kahverengi idrar yada kanlı feçes gözlemlenmektedir (Eaton ve Groopman, 1994).

Kanatlı

Aşırı miktarda ve uzun süreli aflatoksin tüketiminde akut aflatoksikozis meydana gelmekte ve bu durumda asıl hedef organ karaciğer olup, kanatlılar da depresyon, iştahsızlık, kansızlık, burun akıntısı, kanama, halsizlik, solunum güçlüğü, tüylenme bozukluğu, kanlı ishal ve yüksek ölüm oranı gibi etkileri bulunmaktadır (Parlat ve ark., 2005). Aflatoksiner, karaciğer dejenerasyonu ve tümörü, büyümede gerileme, yumurta üretiminde azalma ve immun sistem fonksiyonlarında yetersizlikler meydana getirmektedir (Sonal ve Oruç, 2000).

Domuz

Gıda alımında azalma, büyüme oranında azalma ve immun sistem baskılanması görülmektedir (Frank ve Floyd, 2000). Ayrıca ikterus, hemoraji, ağırlık kaybı ve akut ölüm görülebilmektedir (Eaton ve Groopman, 1994).

Köpek ve Kedi

Aflatoksikozis sonucu köpek ve kedide anoreksi, kusma, depresyon, ikterus, poliüri, polidipsi, hemoraji ve pulmoner ödem, immun sistem baskılanması ve paraziter, viral, bakteriyel enfeksiyonlara duyarlılıkta artış gözlenebilmektedir (Agag, 2004).

Tavşan

Aflatoksinlere aşırı duyarlılığı nedeniyle deneysel çalışmalarda en çok kullanılan memelidir. Yem ve su tüketiminde azalma, kilo kaybı, dehidratasyon ve uyuşuklukla karakterizedir (Şener ve Yıldırım, 2000).

Diğer Türlerde

Aflatoksinlere balıklar da duyarlıdır. Balıklarda, yem ve su tüketiminde azalma, kilo kaybı, dehidratasyon, anemi, immun sistem baskılanması, paraziter,

viral ve bakteriyel hastalıklara duyarlılıkta artış gözlenebilmektedir (Royes ve Yanong, 2002).

2. 4. 8. Tanı

Aflatoksin zehirlenmelerinin teşhisi genelde zordur ancak klinik bulgular, patolojik bulgular ve immun sistemin baskılanmasından dolayı ortaya çıkan infeksiyöz hastalıklar ile tanı yapılabilmektedir (Cassel ve ark., 2005).

Aflatoksin zehirlenmeleri, kanın pıhtılaşmasındaki bozukluktan dolayı pıhtılaşmayı engelleyen maddeler (varfarin, dikumarol), karaciğere olan etkilerinden dolayı karbon tetraklorür, pirazolidin alkaloidleri ve kömür katranı zehirlenmeleriyle karışabilmektedir (Çelik, 2001).

Aflatoksinlerin belirlenmesi için birkaç metod geliştirilmiştir, başlıca rutin olarak kullanılan bu metodlar; HPLC, TLC ve ELISA'dır (Stroka ve Anklam, 2002).

2. 4. 9. Aflatoksin Oluşumunun Önlenmesi

Gıda ve yemlerde aflatoksin oluşumunun önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Aflatoksin oluşumunun önlenmesinde öncelikle hammaddenin tarlada gelişimi, hasatı, depolanması, nakliyesi, ürüne işlenmesi ve ürün elde edilmesi aşamalarındaki küf kontaminasyonunun engellenmesi veya en aza indirilmesi önem taşımaktadır. Mikrobiyal kontaminasyonu tarlada kontrol altında tutmak çok güçtür. Ancak mikrobiyal kontaminasyon ürünün hasatı ve onu izleyen aşamalarda alınacak hijyen ve sanitasyon önlemleri ve bilinçli uygulamalarla büyük ölçüde engellenebilmektedir (Özkaya ve Temiz, 2003).

Uygun, güvenilir ve diğer maddelerle etkileşmeyen maddelerle tahıllar, yem ve yem hammaddelerinde küflenmeye karşı koruyucu uygulamalar yapılmalıdır. Bu amaçla en çok kullanılan maddeler laktik asit, sorbik asit, asetik asit, benzoik asit, propiyonik asit ve tuzlarıdır. Zeolite, bentonite gibi mineral killer sodyum kalsiyum

aliminyumsilikat kadar iyi aflatoksini bağlıyabilme yeteneğindedir (Cassel ve ark., 2001).

A, C, E vitaminleri ve selenyum karaciğerin mikrozomal enzimlerini aktive ederek aflatoksikozise bağlı olarak şekillenen karaciğerde kanser oluşumunu engellemektedirler. Vitamin E'nin antikanserojenik etkisi vitamin C'ye oranla daha yüksektir. Vitamin A'nın öncül maddeleri olan karotenoitler de karaciğeri aflatoksinlerin kanser yapıcı etkilerine karşı koruma özelliğine sahiptirler. Bu tür vitamin ve mineral noksanlıkları bir bakıma aflatoksinlerin aktivasyonunu teşvik etmekte, zararlı etkilerinin daha şiddetli düzeylerde sonuçlanmasına olanak sağlamaktadır (elik, 2001).

Yemlerin aflatoksinlerden dekontaminasyonu için farklı fiziksel, kimyasal ya da biyolojik teknikler denenmektedir (Parlat ve ark., 2005). Bu tekniklerde řu kriterler önemlidir: Aflatoksinlerin ekstraksiyonu, yıkımlanması ya da inaktivasyonu sırasında;

- Toksik rezidü oluşturulmamalı
- Yemin besin değeri değişmemeli
- Yemin organoleptik ve teknolojik karakterleri değişmemeli
- Fungusit ve mümkünse sporosit olmalı (şener ve Yıldırım, 2000).

Fiziksel ayırma yöntemleri arasında, elle veya elektronik yollarla ayıklamadan aflatoksin düzeylerini azaltmak için yaygın olarak yararlanılmaktadır. Rengi değişmiş, bozulmuş, şekli bozuk taneleri ayıklayarak aflatoksini azaltma yönünde en iyi sonuçlar yer fıstığı sektöründe alınmıştır. Fiziksel dekontaminasyon yöntemleri arasında, iyonize ve iyonize olmayan ışınların, solvent ekstraksiyonlarının, adsorbsiyon ve mikrodalga ile ısııl işlemin aflatoksin üzerine etkileride incelenmektedir (zkaya ve Temiz, 2003).

Aflatoksinin detoksifikasyonu için birçok çalışma yapılmış olmasına karşın bunlardan pratikte kullanılabilenlerin sayısı azdır. Aflatoksin detoksifikasyonunda, kimyasal olarak etkili olabilen maddelerden amonyak, metilamin, sodyum hidroksit ve ozon en çok üzerinde çalışılanlardır (Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

Alkali maddelerden en fazla ve yaygın olarak kullanılanlardan biri amonyaktır. %5 amonyakla muamele edilmelerini takiben 1 saat süreyle 40 °C'de tutulmaları yem veya yem hammaddesindeki aflatoksin içeriğini önemli ölçüde azaltır ancak ürüne keskin bir koku vermek, rutubet çekmesine sebep olmak ve mısırdaki renk değişikliğine yol açmak gibi bazı olumsuz yönleri vardır (Kaya ve ark., 2002).

Radyasyon, UV ve gamma ışınlarıyla kısmen degradasyon sağlanır. Ancak bu uygulama da tam arınma için yetersiz kalmaktadır (Şener ve Yıldırım, 2000). Ultraviyole ışınları uygulaması, bu ışınların nüfuz gücünün az olması nedeniyle birçok gıda da aflatoksin inaktivasyonunda başarısızlıkla sonuçlanmıştır, ancak özellikle ince bir tabaka halindeki süte ultraviyole ışın uygulanması inaktivasyonda olumlu sonuç vermektedir. Bu ışığın hidrojen peroksit ile birlikte uygulanmasının da M₁ toksininin inaktivasyonunda daha etkili olduğu bildirilmiştir. Aflatoksinlerin sıcaklık ile inaktive edilmesi için ise yüksek dereceler gerekir ve pratikte sıcaklık ile aflatoksin inaktivasyonu mümkün olmamaktadır (Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

2. 4. 10. Sütte Aflatoksin:

Besinleri kontamine eden aflatoksinlerin keşfinden kısa bir süre sonra, aflatoksin içeren yem maddelerinin hayvanlar tarafından yenilmesiyle süt ve diğer hayvansal ürünlerde de aflatoksinin oluşabileceğini işaret edilmiştir (Eaton ve Groopman, 1994). Süt ve süt ürünleri, insanlar özellikle çocuklar için büyük bir besleyici niteliğe sahiptir, bu nedenle, çoğu ülke sütlerdeki AFM₁ düzeylerini izin verilen sınırların altında tutabilmek amacıyla hayvan yemlerindeki AFB₁ düzeylerini kontrol etmek için yasal düzenlemeleri uygulamaya koymaktadır (Sarımehmetoğlu ve ark., 2003).

AFM₁ laktasyondaki hayvanların AFB₁ içeren yemlerle beslenmesinden sonra sütle atıldığı için süt ve peynir, yoğurt, süt tozu, tereyağı gibi süt ürünlerinde bulunabilmektedir (Oruç, 2003). AFB₁ ile kontamine yem katkı maddelerinin hayvanlar tarafından tüketilmesiyle AFB₁'in %1-3 sütte AFM₁ olarak ortaya çıkmaktadır (Sarımehmetoğlu ve Küplülü, 2004). Sütteki aflatoksinin peynirlere geçme oranının incelenmesi ile AFM₁'in %50'sinin pıhtıda kaldığı, %40'ının peynir suyuna geçtiği ve kalan %10'luk kısmının ise yıkama suyuna geçtiği saptanmıştır. Bununla birlikte bazı araştırma sonuçları sütteki aflatoksinin %50-74 arasında değişen oranlarda peynir suyuna geçtiği bildirmektedir (Dağoğlu ve ark., 1995).

Süt ve süt ürünleri aflatoksinle kontamine yemler nedeni ile, AFM₁ içerebilmektedir (Vural, 1992). Özellikle *aspergillus spp.* küfler süt ve süt ürünlerinde yaygın bir gelişme gösterdiğinden süt ürünlerinin üretim, depolama ve tüketim aşamalarında mümkün olduğunca küf kontaminasyonunun önüne geçilmeli ve bu ürünlerin üretiminde kullanılacak starter küflerin toksin üretmeyen karakterde olması gerekmektedir (Ayar ve Sert, 2005). Çeşitli süt ürünlerinin elverişsiz depolama şartlarına bağlı olarak küflenmesi, mikotoksin oluşturan nevilerin mevcudiyeti halinde sağlık açısından sakıncalar yaratır. Son araştırmalar, mikotoksinlerin süt ürünlerinin derin kısımlarına infiltre olabildiklerini, küf tabakasının uzaklaştırılmış olmasına rağmen ürünü insan sağlığı açısından tehlikeli hale getirebildiklerini ortaya koymuştur (İnal, 1990).

Aflatoksin M₁, AFB₁ tüketen laktasyondaki hayvanların sütünde hepatik karsinojenik bir metaboliti olarak bulunmaktadır. Bunlar hem hasat öncesi hem de hasat sonrası mevsimler de özellikle tahıllarda ve yağlı tohumlarda olmak üzere yemlere bulaşmaktadır (Klaassen, 1996). Sütte oluşan AFM₁'in mevsimsel bir değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Bunun sebebi, süt veren hayvanların rasyonlarında kesif yemlerin yaz aylarında daha düşük düzeylerde olması veya hiç bulunmamasıdır (Akdemir ve Altıntaş, 2004). Sütün aflatoksinle kontaminasyonu mevsimsel bir eğilim olduğu için yaz aylarında hayvanlar konsantre yemlerden çok otları tükettiğinden oluşan AFM₁'in seviyesinin azaldığı bilinmektedir (Sarımehmetoğlu ve ark., 2003). Süt işlenmesine rağmen sütte bulunan AFM₁'in

seviyesinde azalma olmaz, ayrıca çeşitli süt ürünlerinde de AFM₁ oluşmaktadır (Egmond, 2003). Soğukta saklama, dondurma, ısıya tabi tutma, fermentasyon, konsantre etme veya kurutma ve pastörizasyon işlemleri AFM₁'in miktarında genellikle değişiklik yapmamakta ve bu konuda kesin bir kanıt bulunmamaktadır (Oruç, 2003).

Sütte ve dolayısıyla tüm süt ürünlerinde bulunabilen AFM₁ önemli bir sağlık problemidir, süt ve süt ürünleri bebekler, çocuklar, iyileşme dönemindeki hastalar, yaşlı insanlar, emzirme döneminde süt ve ürünleri ile beslenen yavru hayvanlar için temel besin kaynağı olduğundan, bu ürünlerdeki AFM₁ miktarları önemlidir (Oruç, 2003). Süt ve süt ürünlerinin özellikle gelişme çağındakiler tarafından fazla miktarlarda tüketilmesi bu problemin ciddiyetini daha da artırmaktadır. Bu ürünlerdeki AFM₁ oluşumu çevresel koşullara bağlı olduğundan bu koşulların iyileştirilmesi sorunun daha pratik ve daha ekonomik yollardan çözümünü sağlamaktadır (Akdemir ve Altıntaş, 2004).

Aflatoksinlerin halk sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinin ortaya çıkması sonucunda, bu konuyla ilgili çeşitli kuruluşlar harekete geçmiş ve 19 Haziran 1993 tarihinde Dünya Sağlık Teşkilatına (WHO) bağlı Uluslararası Kanseri Araştırma Kuruluşu (IARC) tarafından AFB₁ birinci dereceden, AFM₁ ise ikinci dereceden kanserojen maddeler grubuna alınmıştır (Akdemir ve Altıntaş, 2004).

Çizelge 6: Sütteki aflatoksin ile ilgili yasal düzenlemeler (Devegoda ve ark., 2005)

	Sınırlama
FDA	0.5 ppb
Avrupa Kriterleri	0.05 ppb
Brezilya	0.1 ppb

Dünya Sağlık Organizasyonu (WHO) ile Gıda ve Tarım Organizasyonu'nun (FAO) düzenlediği yönetmeliğe göre aflatoksin B₁'in sütteki düzeyi **0.5 ppb**' den daha az olması gerekir. Amerikan Gıda ve Farmakoloji Yönetimi hayvansal besinlerde 30 ppm ve yenilebilir yiyeceklerde 20 ppm'i aşmaması gerektiği konusunda şart koştur (Ruiqian ve ark., 2004).

2. 4. 11. İnsanlarda aflatoksinlerin etkileri:

Mikotoksinlerin insan sağlığı üzerine etkileri bireyin beslenme durumu ve diyet, bireyin dayanıklılığı, mikotoksinlerle karşı karşıya gelmesi ile açıklanabilir. İnsan mikotoksikozisleri için en büyük tehlike düşük kaliteli besinler ve depolama koşullarının ilkel olmasıdır (Tayfur, 2002).

Aflatoksinlerin insanlar üzerine etkileri aşığıdaki şekilde gruplandırılmıştır:

1. Akut bozukluklar (öncelikle karaciğerde),
2. Sirotik değişikliler (karaciğer sirozu),
3. Karsinomatöz oluşumlar (karaciğer karsinomu),
4. Teratojen ve genetik bozukluklar (Erol, 1999).

İnsanda belirtilen ilk akut aflatoksikoziste farklı hayvan türlerinde deneysel olarak oluşturulan zehirlenmelerde belirlenen bulguların benzerleri gözlemlendi. Bulgular hepatositlerde nekrotik lezyon ve safra kanallarında proliferasyonla karakterizedir (Şener ve Yıldırım, 2000).

İnsanlarda aflatoksik hepatitisin ortaya çıkması Malezya, Kenya ve Hindistan'da rapor edilmiştir. Aflatoksinlere maruziyeti sonucu oluşan riskler hepatit B, belki de hepatit C virusları ile aynı zamanda maruziyeti sonucu artabilir. İnsanlar da aflatoksikozis vakası Afrika ve Güneydoğu Asya gibi çoğu ülkede rapor edilmiştir. Çocukların aflatoksinlere maruziyeti sonucu, çocukluk devresi ile sonraki yaşamlarında infeksiyöz hastalıklara çok duyarlı ve normal kilosunun altında bir ağırlığa sahip olabildikleri gibi, çocukların gelişmesi de gerileyebilmektedir (Bhat ve Vasanthi, 2003).

Çizelge 7: AB ülkelerinde aflatoksinlere dair yürürlükteki limitler (Taydaş, 2006)

Aflatoksin	Gıda Maddesi	Kabul Edilebilir En Yüksek Değer (ppb= $\mu\text{g/kg}$)
B ₁	Baharat	5
B ₁	Tahıl ve tahıl ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya bir gıda maddesinin üretiminde bileşen olarak kullanılan)	2
B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	Tahıl ve tahıl ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya bir gıda maddesinin üretiminde bileşen olarak kullanılan)	4
B ₁	Tüm gıda maddeleri (diğer)*	5
B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	Tüm gıda maddeleri (diğer)*	10
B ₁	Bebek mamaları ve bebek gıdaları	1
B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	Bebek mamaları ve bebek gıdaları	2
B ₁	Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya benzeri fiziksel işlemler görecektir olan yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar ve kurutulmuş meyveler	5
B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya benzeri fiziksel işlemler görecektir olan yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar ve kurutulmuş meyveler	10
B ₁	Doğrudan tüketime sunulacak veya bir gıda maddesinin üretiminde bileşen olarak kullanılacak yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar	2
B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	Doğrudan tüketime sunulacak veya bir gıda maddesinin üretiminde bileşen olarak kullanılacak yağlı kuru meyveler, yağlı tohumlar, kurutulmuş meyveler ve bunlardan üretilen işlenmiş gıdalar	4
M ₁	Peynir	0.25
M ₁	Süt, Bebek mamaları ve devam formülleri	0.05
M ₁	Süt tozu	0.5

* : Bulunması muhtemel gıdalar

Aflatoksinler'in hepatosellüler karsinom, akut hepatitis, Reye's sendromu, malnourished, çocuklarda siroz ve kwashiorkor hastalıkları ile ilişkisi vardır (Shukla ve ark., 2002, Ruiqian ve ark. 2004). Bir çok araştırmada, çocuklarda görülen ve kusma, hipoglisemi, konvülsiyon (çarpınma), karaciğer, böbrek ve kalpte yağ infiltrasyonu ile beyin ödemi ve koma ile karakterize olan, çoğu kez de ölümle sonuçlanan Reye's sendromu ile aflatoksin alımının ilişkisi olabileceği bir çok araştırmada da ileri sürülmektedir (Şener ve Yıldırım, 2000, Özkaya ve Temiz 2003).

Tropik ülkelerin bazılarında, kwashiorkor hastalığı bulunan çocuklarda yapılan kontrollerde, özellikle karaci erlerinde yüksek konsantrasyonda aflatoksin bulunmuştur (Şanlı ve Kaya, 1992).

A vitamini eksik olan dietle, AFB₁'e maruz kalan ratlarda karaciğer kanseri riskini artırdığı ve kolon kanserinin insidensinde %29'luk bir artışa sebep olduğu g r lm şt r.  nceki  alışmalar göstermiştir ki vitamin A eksikliği olan ratlarda kolon epitelyumu vitamin A yeterli hayvanlarda normal kolon epitelyumundan daha çok AFB₁ ba lamaktadır (Suphakarn ve ark., 1983).

Sonuç olarak mikotoksinler insanlarda; karaciğer kanserine ve gen yapısında değişikliklere yol açar, vücudun hormonal dengesini bozar, vücudun koruyucu (bağışıklık) sistemini zayıflatır, kısırlığa ve sakat do umlara neden olur, gıda emilimini azaltır, kemikleri zayıflatır ve vücut direncini düşürerek vücudu hastalıklara açık hale getirmektedir. AB Gıda Bilimsel Komitesi, AFB₁'in düşük seviyelerde bile karaciğer kanserine ve mutasyona yol a tıldığını bildirmiştir (Akpınar, 2005).

3. MATERİYAL VE METOT

3. 1. Materyal

3. 1. 1. Süt ve süt ürünleri

Bu çalışmada, Aydın ili ve ilçelerinde bulunan mandıralardan toplanan süt (13), beyaz peynir (7), kaşar peyniri (6), tulum peyniri(6), lor peyniri(6) ile yoğurt (9) olmak üzere toplam 47 örnek bu araştırmanın biyolojik materyalini oluşturmuştur. Çalışmada analiz edilen süt ve süt ürünleri Mayıs - Haziran arasında toplandı. Aydın ili ve ilçelerinde bulunan mandıralardan toplanan süt, peynir (beyaz, kaşar, tulum, lor peyniri), yoğurt numunelerinin elde edildiği mandıralar ve yıllık kapasiteleri Çizelge 8’de verilmiştir.

3. 1. 2. Aflatoksin standardı:

- Aflatoksin M₁ (Alexis, CAS 6795-23-9, Batch No: L08647/c)

3. 1. 3. Kimyasal maddeler:

- Metanol (Merck, 106008)
- Asetonitril (Riedel, HPLC saflığında, 34967)
- Kloroform (Merck, 102431)
- n-Hekzan (Merck, 104368)
- Toluol (Riedel, 24529)
- Etilasetat (Merck, 100864)
- Sodyum klorür (Merck, 106400)
- Sodyum sülfat (Riedel, 13462)
- Formik asit (Merck, %90’lık, 110854)

Çizelge 8: Aydın ili ve ilçelerindeki mandıralar ve yıllık kapasiteleri

Firma Adı	Üretilen Ürünler	İşlenilen Yıllık Süt Miktarı (ton)
Acar Mandıra	Beyaz peynir	850
Algür Mandıra	Beyaz peynir, kaşar peyniri, tulum peyniri, yoğurt, tereyağı, ayran	2193
Akasya Mandıra	Kaşar peyniri	631
Aydın Süt ve Süt Ür.	Tulum peyniri, beyaz ve köy peyniri, yoğurt, süzme yoğurt	125
Bekirağa Mandıra	Tulum peyniri, beyaz peynir	112
Çankayalar Süt ve Mamülleri İm. Paz. Tic.	Yoğurt, ayran	997
Elazığ Süt Ürün.	Beyaz peynir, tulum peyniri, kaşar peyniri, süzme yoğurt, tereyağı, lor peyniri	965
Gökay Süt	Beyaz peynir ve tulum peyniri, lor peyniri, süzme yoğurt	1057
Gönülaçar Süt Ürünleri San. Tic.	Kaşar peyniri, salamura ve teneke tulumu, beyaz peynir, süzme yoğurt, ayran, kesik, tereyağı, lor peyniri	1063
Hassüt mandıra	Süzme yoğurt	1255
Kadrikuloğlu süt mam.	Kaşar, beyaz, tulum, lor, teneke peyniri, tereyağı	1917
Kar Peynircilik Süt Ürün.	Beyaz, kaşar, tulum, lor, örgü, dil peyniri, tereyağı, süzme yoğurt	2768
Kral Süt Ürünleri	Beyaz peynir, tulum peyniri, süzme yoğurt, lor peyniri	256
Mega Süt ve Tarım Ürünleri	Beyaz peynir, yoğurt, teneke peynir, teneke tulum,	4849
Ömür Süt Mam. Gıda	Yoğurt, ayran, beyaz peynir, tulum peyniri, lor peyniri	2323
Önal Mandıra	Tulum ve beyaz peynir	3339
Ör-koop	Yoğurt	3147
Özlem Mandıra	Yoğurt	1816
Rodos Süt	Kaşar, beyaz peynir	2498
Söke Süt Ürün.	Tulum peyniri, yoğurt, süzme yoğurt, krema, tereyağı, lor peyniri	633
Sütman Süt Ürünleri	Yoğurt	7779
Uysal Gıda San Tic. Şti.	Süzme yoğurt, kaşar peyniri	2063
Yağdöken Gıda San	Beyaz peynir, teneke tulum, kaşar peyniri, süzme yoğurt, yoğurt	1832
Yeşilvadi Yoğurtları	Yoğurt	180
Yıldız Mandıra	Yoğurt	195
Yörük Mandıra	Yoğurt, beyaz peynir	234

3. 1. 4. Aletler:

- Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC, Agilent 1100 serisi)
- Örnek yoğunlaştırıcı (Heto Maxı Dry Plus, 230 V, Danimarka)
- Etüve (Nüve, FN 500, Türkiye)
- Hassas terazi (Shimadzu, A 120, Japonya)
- Santrifüj cihazı (Nüve, NF 800R, Türkiye)
- Mixer (Arçelik, K 1631-D, Türkiye)

3. 1. 5. Malzemeler:

- Cam mezürler (50, 100 ml)
- Beherglass (50, 100 ml)
- Ayırma hunileri
- Huniler
- Santrifüj tüpleri (10 ml)
- Pipetler (10ml)
- Mikropipetler(5-10-100 µl)
- Sep-Pak C₁₈ silica kartuş (Waters Associates, Milford, **A.B.D.**)
- Süzgeç kağıdı (Whatman No: 42)
- Cam tüpler (10ml)
- Pipet uçları

3. 2. Metot:

3. 2. 1. Metot:

Aflatoksin M₁ miktar tayininde kullanılan metotlar, genel olarak mikotoksin analiz aşamalarına (ekstraksiyon, temizleme, yoğunlaştırma, ayrıştırma, saptama ve miktar tayininin yapılması) göre yapıldığı ifade edilmektedir (JECFA, 2001). Aflatoksin M₁ analizinde, metanol ve suyun ekstraksiyon solventi olarak kullanılması sütteki AFM₁ tayininde etkili bir metot olarak bildirilmektedir (Jacobson, 1971). Bu metotun modifiye edilmesiyle süt ve süt ürünlerinde ekstraksiyon işlemi aşağıdaki şekilde yapılmıştır. Ekstrakte edilen numuneler örnek yoğunlaştırıcıda 45°C’de uçurulduktan sonra yüksek basınçlı sıvı kromatografide (HPLC) analiz edilerek örnekteki aflatoksin düzeyi saptanmıştır.

3. 2. 2. Ekstraksiyon:

25 gr numune (süt, iyice öğütölmüş peynir, yoğurt) tartılıp 500 ml’lik mikserle konuldu. Üzerine 125 ml metanol+su (68.5+56.5 ml) karışımı konularak, bunun üzerine 1 gr sodyum klorür konuldu. Üzerine 50 ml n-hekzan ilave edildikten sonra, bir dakika yüksek devirde homojenize edildi. Bu işlemde sonra içerik 10 ml’lik santrifüj tüpüne konularak 2000 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Bu işlemde sonra karışım ayırma hunisine alınarak fazların ayrılması beklendi. Fazlar ayrıldıktan sonra (ayırma hunisinde) altta kalan metanol fazından 25 ml alınarak ayrı bir ayırma hunisine aktarıldı. Çeker ocağın altında ayırma hunisine 25 ml kloroform konularak ayırma hunisinin kapağı kapatıldı ve bir dakika boyunca çalkalandı ve ayrılmaya bırakıldı. Huni içine konulan çift katlı süzgeç kağıdının üzerine 5 gr sodyum sülfat konularak, ayırma hunisinde bulunan altta kalan kloroform fazı sodyum sülfattan süzölerek, Sep-Pak C₁₈ kartuşundan geçirilerek temizleme işlemi gerçekleştirildi.

3. 2. 3. Standartların hazırlanması:

Stok AFM₁ standardı (10 µg/ml) HPLC mobil fazı (su-asetonitril 65:35 v/v) ile sulandırıldı.

3. 2. 4. Ekstraktların örnek yoğunlaştırıcı'ya uygulanması:

Ekstrakte edilen numuneler örnek yoğunlaştırıcıda kuru hava altında 45°C'de uçuruldu.

3. 2. 5. HPLC' de aflatoksin M₁ düzeylerinin saptanması

Yüksek basınçlı sıvı kromatografi analizleri, Agilent (1100 serisi) cihazında gerçekleştirildi. Ekstraktlar için hareketli faz olarak su: asetonitril (67:38) karışımı sabit oranda, pompa (Quat Pump G1311A) aracılığı ile akış hızı dakikada 1ml olmak üzere sisteme pompalandı, enjeksiyon miktarı ise 50µl olarak ayarlandı. Pikin çıkış süresine göre her bir analiz 12 dakikada tamamlandı. Analiz için kolon olarak C₁₈ kolon (4µm, 250mm x 4.6mm, Macherey-Nagel) ve kolon koruyucu olarak nükleosil C₁₈ (Phenomenex, Cheshire, İngiltere) kartuş kullanıldı. Kolon sıcaklığı 40°C derecede Hp kolon fırını aracılığıyla tutuldu. Degazer olarak (Agilent 1100 Series-G1379A) kullanıldı. Analizler eksitasyon ve emülsiyon dalga boyları sırasıyla 365 ve 450 nm'lere ayarlanan florösan dedektörde (FLD-G1321A) yapıldı.

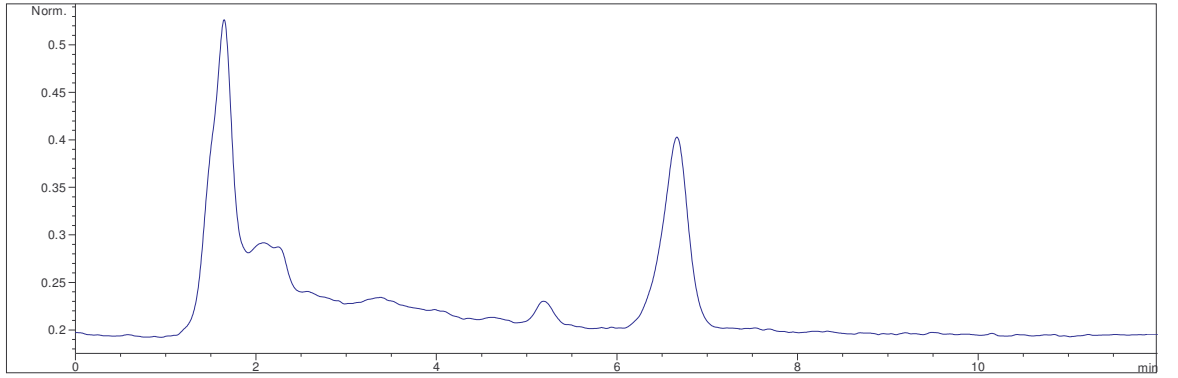
Aflatoksin standardından (10 µg/ml) stok solüsyonu HPLC' de kullandığımız mobil faz ile farklı yoğunluklarda sulandırıldı ve elde edilen (0.005 ile 100 ng/ml arasında) AFM₁ standardının HPLC'de ölçümü yapıldı. AFM₁ saptama ve miktar tayini sınırları belirlendi. Geri alım oranının belirlenmesi amacıyla yoğurt içine 10 ppb AFM₁ standardı katılarak analizi yapıldı. Ardından örnekler uygulanarak standartların oluşturduğu pikle karşılaştırıldı.

3. 2. 6. İstatistik

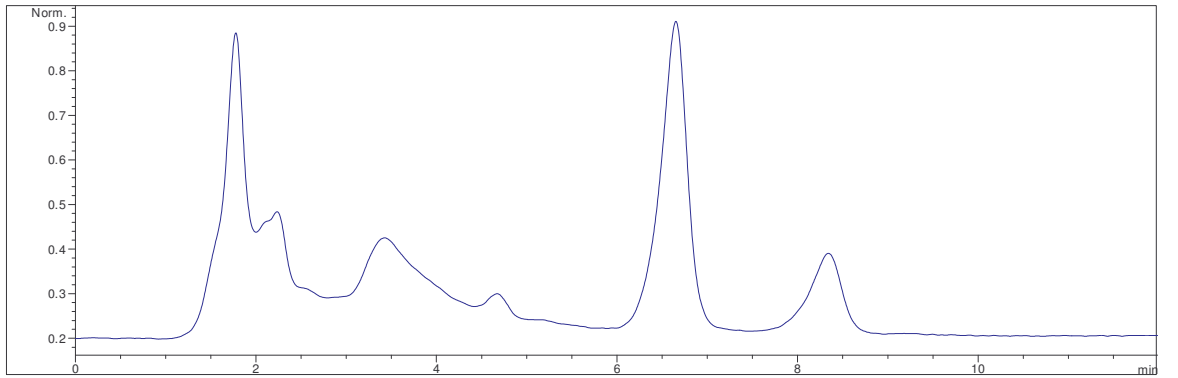
Frekans dağılımı, tanımlayıcı istatistik, bağımsız gruplarda t-testi ve şekiller için SPSS paket yazılımı (Versiyon 7,5) kullanıldı.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

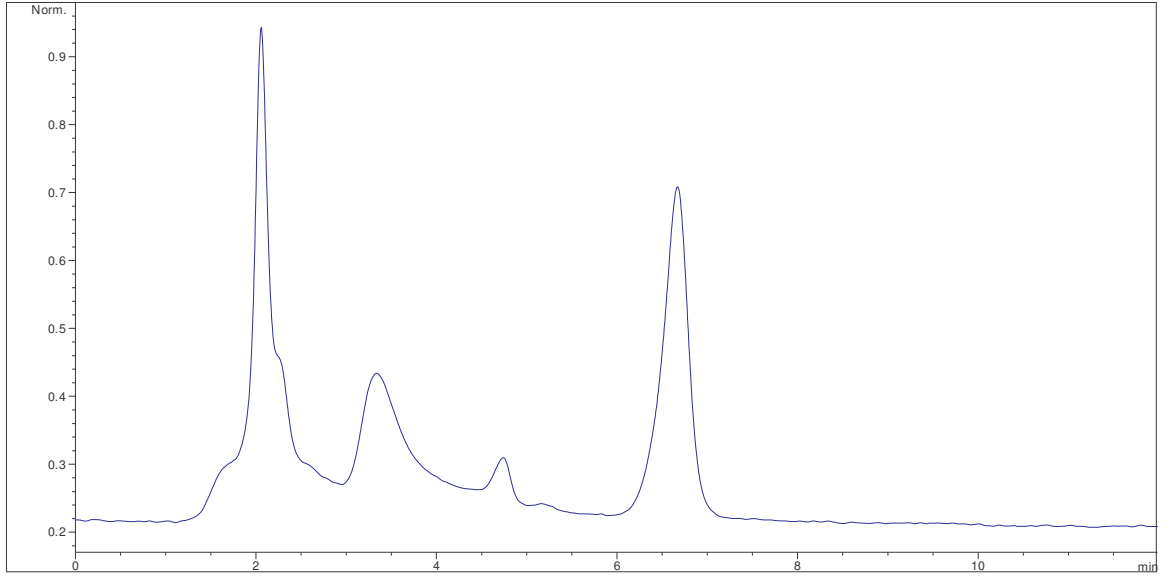
Aşağıda farklı yoğunluklardaki AFM₁ standartlarının süt, yoğurt ve kaşar örneklerine ilave edilmesiyle elde edilen HPLC kromatogramları gösterilmiştir (Şekil 4-9).



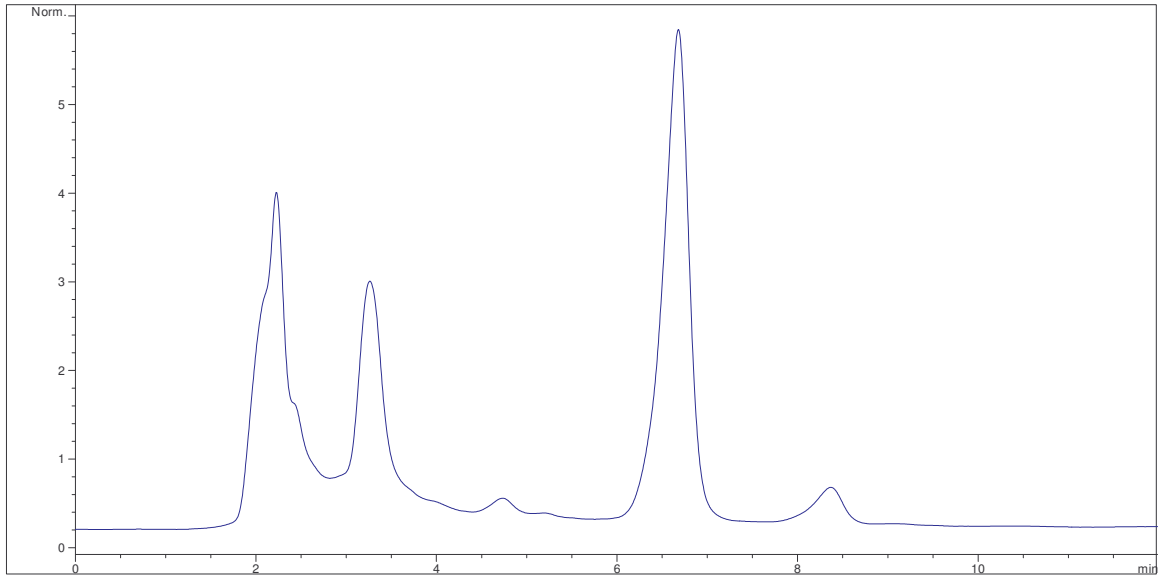
Şekil 4: Analiz edilen süt kromatogramı örneği.



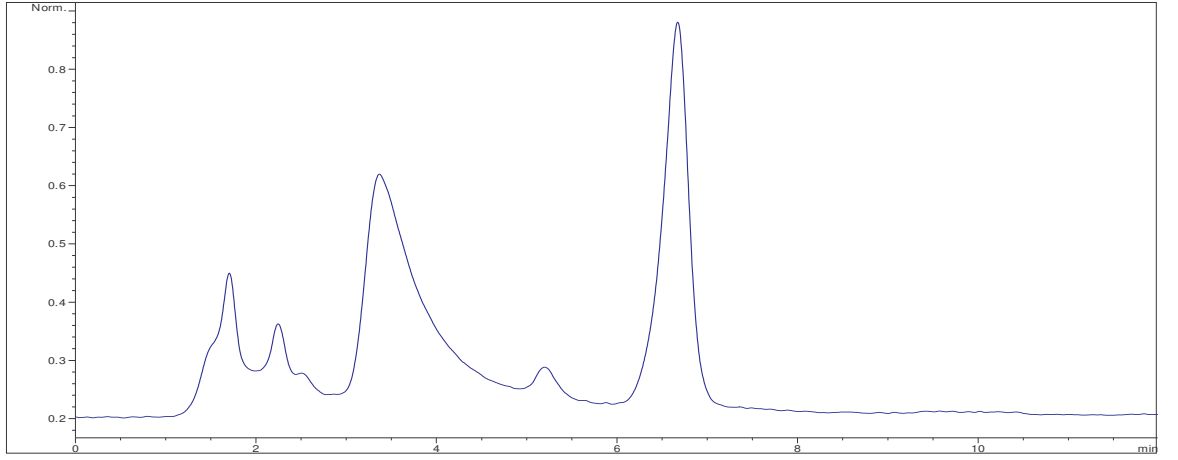
Şekil 5: Aflatoxin M₁ ilave edilmiş (10ppb) süt kromatogramı örneği.



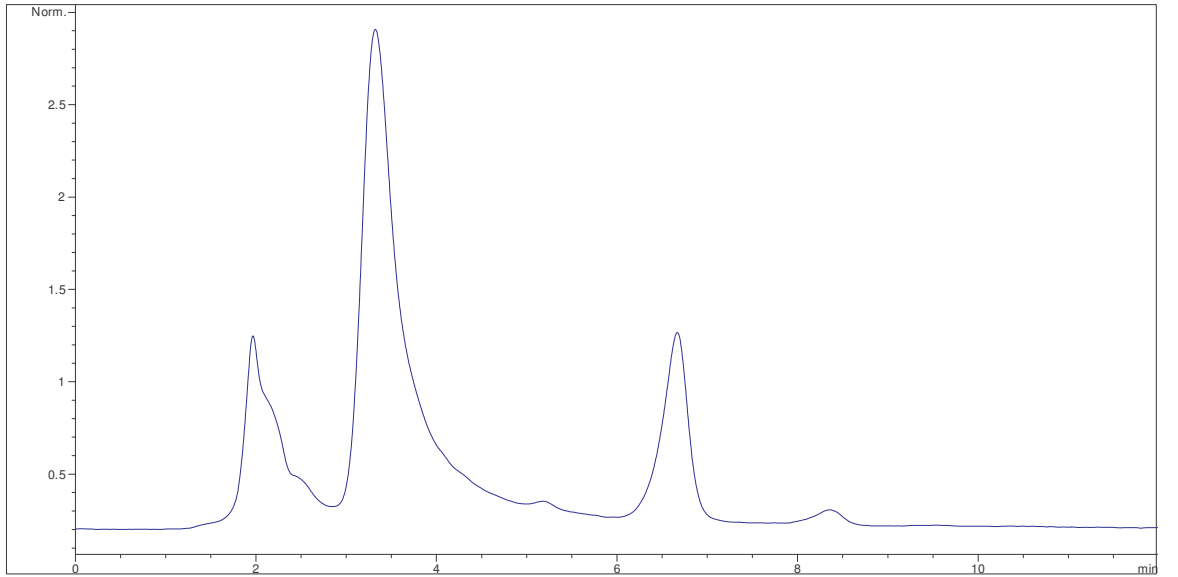
Şekil 6: Analiz edilen yoğurt kromatogramı örneği.



Şekil 7: Aflatoksin M₁ ilave edilen (10 ppb) yoğurt kromatogramı örneği.

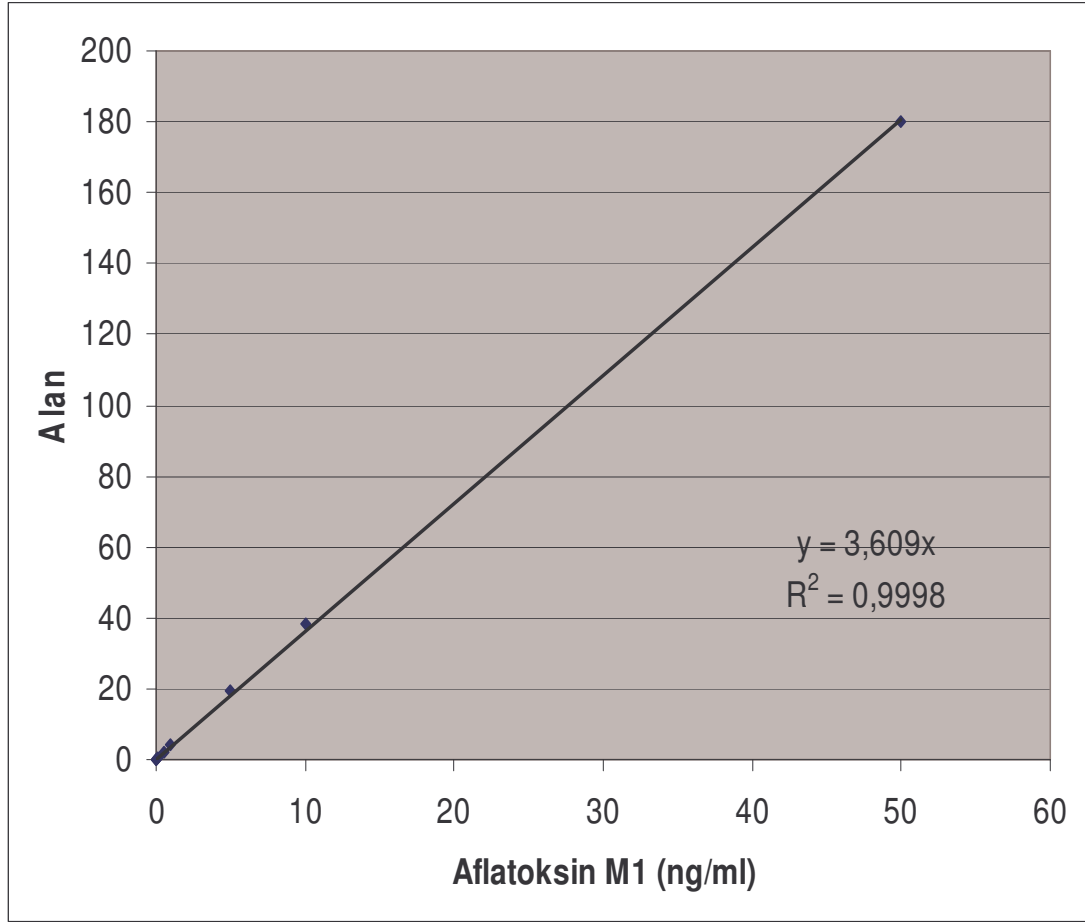


Şekil 8: Analiz edilen kaşar peyniri kromatogramı örneği.



Şekil 9: Aflatoksin M₁ ilave edilmiş (10ppb) kaşar peyniri kromatogram örneği.

0,01 ile 50 ng/ml arasında 9 farklı yoğunluğun uygulanmasıyla elde edilen standart kalibrasyon eğrisi Şekil 10'da verilmiştir. Araştırmada saptama sınırı 0,01 ng/ml ve ölçüm sınırı 0,02 ng/ml olarak saptanmıştır.



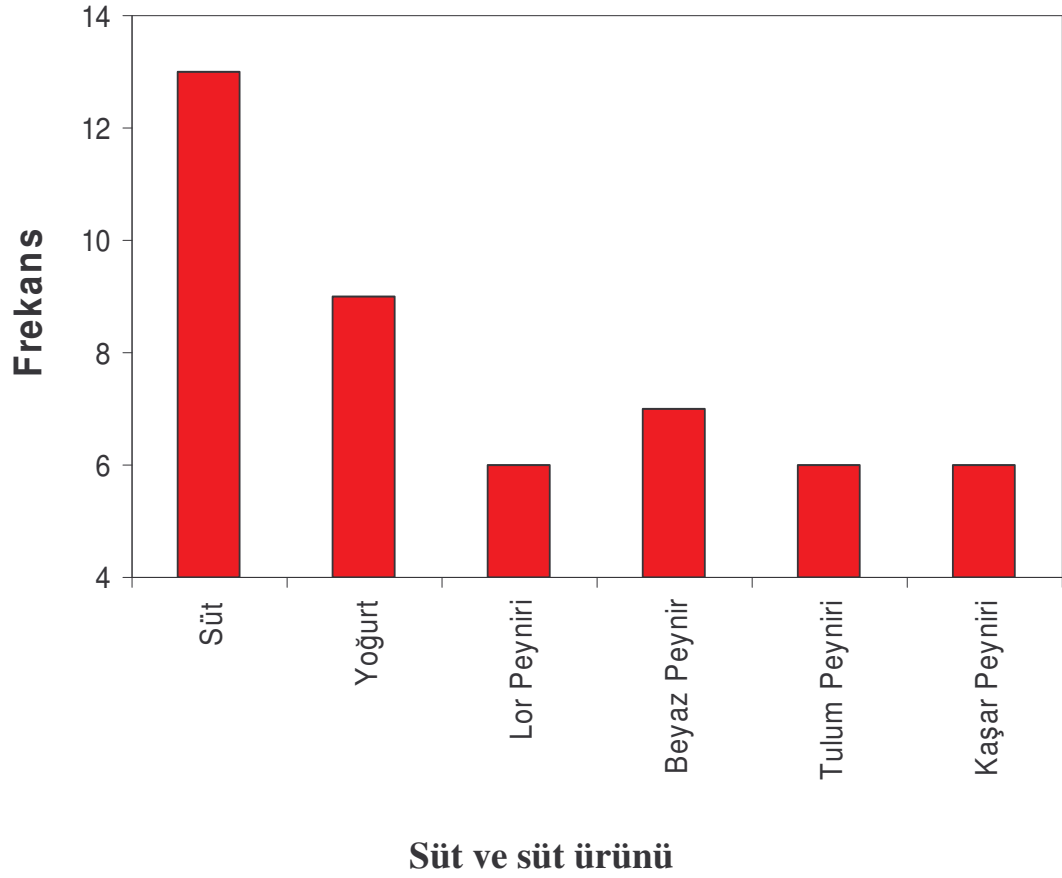
Şekil 10. Aflatoksin M₁ standardı kalibrasyon eğrisi.

Analizler sonucunda aflatoksin içeren ekstraktların ortalama geri alım oranları aşağıdaki Çizelge 9’da belirtilmiştir.

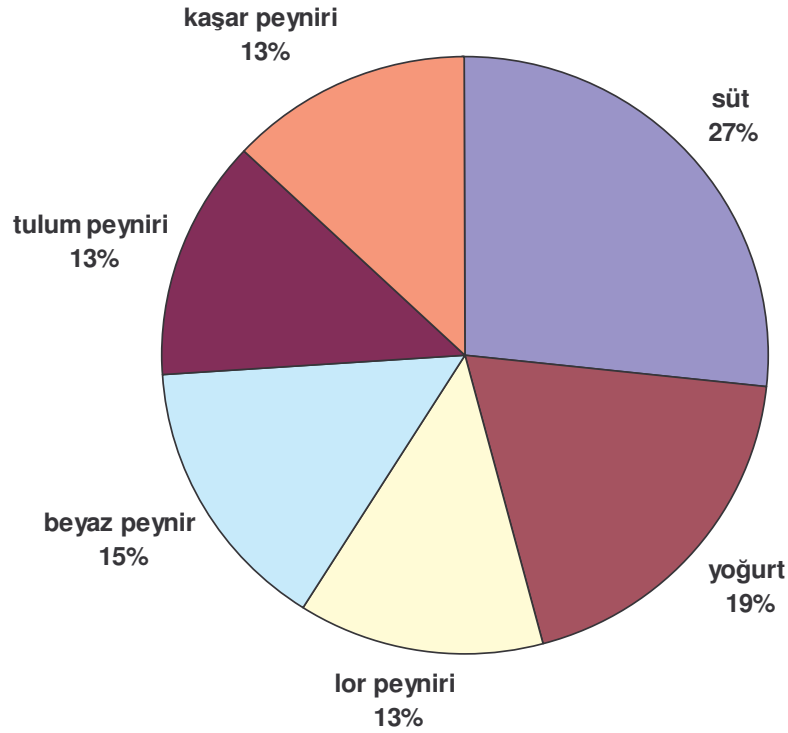
Çizelge 9: Doğal yoğurt örneğine (0,025 ppb aflatoksin içeren) ilave edilen 0,01 ppb Aflatoksin M₁ geri kazanım oranları.

Yoğurt örneğine ilave edilen Aflatoksin M ₁ (ppb)	Beklenen Aflatoksin M ₁ (ppb)	Analiz sonucu elde edilen Aflatoksin M ₁ (ppb)	Geri kazanım oranı (%)
0,010	0,035	0,0257	73,4
0,010	0,035	0,0280	80,0
0,010	0,035	0,0248	70,9
		Ortalama:	74,8±2,7

Bu çalışma sonucunda mandıralardan toplanan toplam 47 süt, peynir ve yoğurt numunesinin HPLC’de analizleri sonucunda örneklerin tamamında aflatoksin M₁’in varlığına rastlanmıştır. Aydın ilinde üretim yapan mandıralardan alınan 47 numunenin ürünlere göre dağılımı ve oranları (şekil 11) ve (şekil 12)’ de verilmiştir.



şekil 11: Aydın ilinde üretim yapan mandıralardan alınan 47 numunenin dağılımı.



Şekil 12: Aydın ilinde üretim yapan mandıralardan alınan 47 numunenin % dağılımı.

Analiz edilen tüm ürünlere ait AFM₁ miktarları Çizelge 10'da verilmiştir. Numunelerdeki AFM₁ ortalamasının 0.105 ppb (n=47) olduğu belirlenmiştir. Numuneler içerisinde bir süt numunesinin en düşük (0.027 ppb) ve bir kaşar peyniri numunesinin de en yüksek (0,250 ppb) AFM₁ içerdiği saptanmıştır. Süt, yoğurt ve peynir numunelerinin en düşük ve en yüksek AFM₁ miktarları ile ortanca düzeyleri Çizelge 12'de ve Şekil 13'de gösterilmiştir. Toplam 47 numuneden 3 numunenin 0.105 ppb, 2'şer numunenin 0.041, 0.177 ve 0.235 ppb, geriye kalan 38 numunenin 0.027 - 0,250 ppb arasında AFM₁ içerdiği saptanmıştır (Çizelge 10).

Çizelge 10: Örneklerde saptanan aflatoksin M₁ düzeyleri

Analiz edilen süt veya süt ürünü	Örnek numarası	Saptanan Aflatoksin M₁ düzeyi (ppb)
Süt	1	0,029
	2	0,062
	3	0,043
	4	0,132
	5	0,077
	6	0,105
	7	0,191
	8	0,041
	9	0,056
	10	0,210
	11	0,105
	12	0,033
	13	0,027
Yogurt	1	0,059
	2	0,041
	3	0,090
	4	0,180
	5	0,177
	6	0,126
	7	0,092
	8	0,129
	9	0,044
Lor peyniri	1	0,083
	2	0,068
	3	0,057
	4	0,094
	5	0,113
	6	0,170
Beyaz peynir	1	0,076
	2	0,204
	3	0,105
	4	0,058
	5	0,095
	6	0,202
	7	0,177
Tulum peyniri	1	0,040
	2	0,163
	3	0,200
	4	0,241
	5	0,226

	6	0,235
Kaşar peyniri	1	0,054
	2	0,141
	3	0,250
	4	0,235
	5	0,178
	6	0,131

Süt ve süt ürünlerinin içerdikleri AFM₁ ortalamaları dikkate alındığında, tulum peynirlerinin bulunduğu grupta AFM₁ miktarının en yüksek (0,213 ppb), süt numunelerinin bulunduğu grupta ise AFM₁ miktarının en düşük (0,062 ppb) olduğu saptanmıştır. (Çizelge11 ve Şekil 13).

Grupların bağımsız olması, incelenen değişkenin sürekli yapı göstermesi, grupların homojen olmaması (non-parametrik test olması) ve gruplardaki örnek sayısının 20’den az olması nedeniyle, istatistiksel analiz amacıyla sürekli yapı gösteren değişkenler için, ikiden fazla bağımsız grup ortalamaları arasında fark olup olmadığını test etmek amacıyla Kruskal Wallis testi uygulanmıştır. Analizi gerçekleştirilen örneklerden yoğurt (0.024 ppm), beyaz peynir (0.288 ppm) ve tulum peyniri (0.796 ppm) örnekleri, normal dağılıma uygunluk göstermemeleri nedeniyle, tüm örneklerdeki AFM₁ değerlerine göre uç değerler olarak bulunduğundan istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır. Buna göre analiz edilen süt, yoğurt ve peynir örneklerinin AFM₁ miktarına göre Kruskal Wallis testi sonuçları Çizelge 11.’de verilmiştir.

Çizelge 11: Analiz edilen süt veya süt ürünlerindeki AFM₁ miktarına göre Kruskal Wallis testi sonucu.

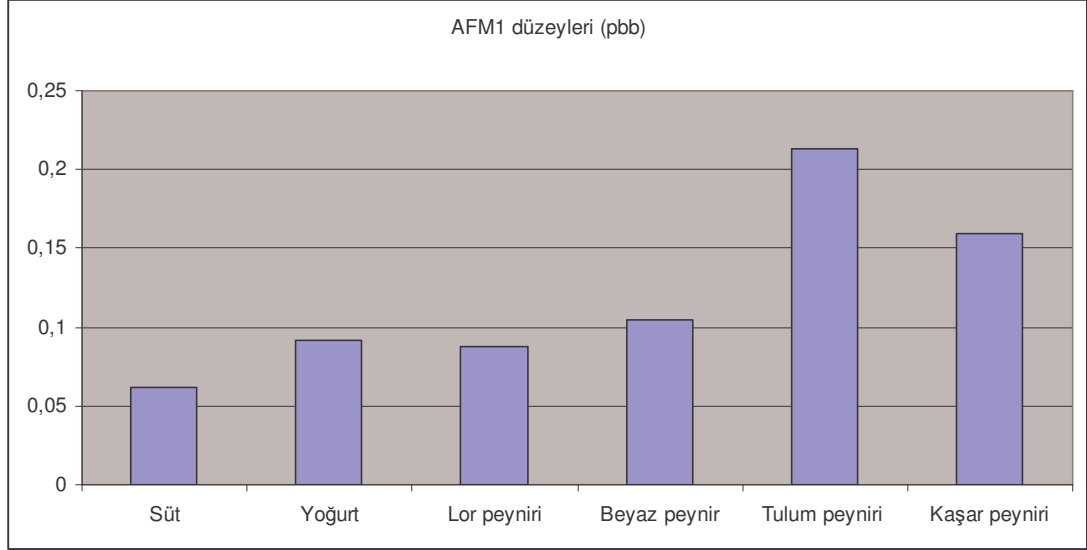
Analiz edilen süt veya süt ürünleri (n)	Örnek sayısı	Sıra ortalaması	Serbestlik derecesi	p	Anlamlı fark
Süt	13	16,73	5	0.05	süt - tulum peyniri süt - kaşar peyniri
Yoğurt	9	21,33			
Lor peyniri	6	20,67			
Beyaz peynir	7	27,07			
Tulum peyniri	6	34,75			
Kaşar peyniri	6	32,75			
Toplam	47				

Analiz sonucunda süt, yoğurt ve peynir örneklerinde saptanan AFM₁ miktarına göre anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir (p>0.05). Grupların sıra ortalamaları dikkate alındığında, tulum peyniri örneklerinin en yüksek ve süt örneklerinin en düşük AFM₁ içeren örnekler olduğu görülmektedir. Grupların ikili kombinasyonları üzerinden Mann Whitney U-testi uygulandığında ise, süt ve tulum peyniri ile süt ve kaşar peyniri örnekleri arasında anlamlı fark bulunmuştur.

Süt örneklerinin %61,5'i (8/13) ile peynir örneklerinin %4'ü (1/25) yasal olarak izin verilen en yüksek AFM₁ düzeylerini (süt için 0,05 ppb peynir için 0,250 ppb) geçmiş olduğu görülmüştür. Yoğurt için belirlenen bir sınır olmamasına karşın, süt için geçerli olan değer (0,05 pbb) kabul edildiğinde, örneklerin % 77,7'sinde (7/9) AFM₁düzeyi yüksek bulunmuştur.

Çizelge 12: İçerdikleri AFM₁ miktarına göre süt, yoğurt ve peynir numunelerinin minimum - maksimum ve ortanca değerleri.

Ürün	Örnek sayısı (n)	Minimum – Maksimum AFM ₁ (ppb)	AFM ₁ (ppb) Ortanca düzeyi
Süt	13	0,027- 0,210	0.062
Yoğurt	9	0,041- 0,180	0.092
Lor peyniri	6	0,057- 0,170	0.088
Beyaz peynir	7	0,058- 0,204	0.105
Tulum peyniri	6	0,040- 0,241	0.213
Kaşar peyniri	6	0,054- 0,250	0.159
	47	0,027- 0,250	0.105



Şekil 13. Süt, yoğurt ve peynir numunelerinin ortalama AFM₁ miktarları (pbb).

Yapılan araştırmalarda AFM₁'in süt ve süt ürünlerindeki varlığı ülkelere ve coğrafi konuma göre büyük farklılıklar görülebilmektedir (Galvano ve ark., 1998; Oruç, 2003; Tekinşen ve Tekinşen, 2005; Kamkar, 2006). Farklı analiz yöntemlerinin kullanıldığı bu araştırmalarda AFM₁ insidansı % 0 – 100 arasında değişmekte ve 0,005 – 6,92 pbb aralığında değişkenlik göstermektedir. Peynir örneklerinin, bazı ülkelerdeki AFM₁ aralığı incelendiğinde, Mısır'da 3-6 pbb, Brezilya'da 0,02 – 6,92 pbb, Çekoslovakya' da 0,005 – 0,066 pbb, Fransa' da 5,2 pbb' ye kadar, Almanya' da 0,2 – 1,2 pbb, Yunanistan' da 0,1 – 1,0 pbb, İtalya' da 0,005 – 1,3 pbb, Japonya' da 0,01 – 4,0 pbb ve Amerika Birleşik Devletleri'nde 0,1 – 1,0 pbb olduğu bildirilmektedir (Kamkar, 2006). Bu çalışmada ise 0,027 – 0,250 pbb arasında AFM₁ varlığına rastlanmıştır.

İnce Tabaka Kromatografisi (İTK) ile yapılan çalışmalarda, Bakırcı (2001), Van'da 90 çiğ süt numunesinden 79'unda (%87.77) AFM₁ tespit etmiş, pozitif numunelerden 35'indeki (%44.30) AFM₁ miktarlarının 0.05 pbb 'nin üzerinde olduğunu belirtmiştir. Saptama sınırı 0,1 – 0,5 ppb olarak bildirilen İTK ile yapılan bir çalışmada ise (Demirer (1973), süt ve süt ürünlerinden oluşan 334 numunede AFM₁ varlığına rastlamadığını bildirmiştir. Bu çalışmada AFM₁ ortalaması 0,105

ppb'dir, Demirer'in araştırmasındaki saptama sınırı (0,1-0,5 ppb) bu çalışmaya uyarlandığında çok az örnekte AFM₁ varlığı saptanabilecektir.

Kaya (1982), İTK yöntemi ile Ankara' daki çiğ süt örnekleri üzerine yaptığı araştırmada örneklerin % 5,7' sinde 0,4 pbb düzeyinde AFM₁ saptamıştır. Yüksek basınçlı likid kromatografi (HPLC) ile yapılan çalışma sayısı az olmakla birlikte Grbay ve arkadaşları (2006), Ankara'da yaygın olarak tüketilen, 24' UHT (Ultra High Temperature) 3' ise gnllk pastörize süt olmak üzere toplam 27 süt ürünün %59.3'nde AFM₁ tespit etmişlerdir. Akdemir ve Altıntaş (2004) Ankara'da üretim yapmakta olan iki ayrı süt fabrikasından alınan 48 adet çiğ süt örneğinde %70.83'nde AFM₁ tespit etmiştir, %33'nde ise düzeylerin 0.05 ppb'nin üzerinde olduğu saptanmıştır. Buna karşın, Ayek ve arkadaşları (2004), Ankara'daki marketlerde satışa sunulan 223 süt örneğinin %8,52' nin AFM₁ içeriği yönünden Türk Gıda Kodeksinde müsade edilen sınırdan daha yüksek olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmada 13 adet süt rneğinde AFM₁, 0,027- 0,210 aralığında, ortalama 0,062 pbb düzeyinde AFM₁ saptanmış ve bu oran yasal olarak belirlenen st sınır 0,05 ppb'nin üzerindedir. elik ve arkadaşları tarafından pastörize 85 süt örneğinde yapılan çalışmada (2005), sütlerin % 64'ünün yasal olarak belirlenen st sınırı geçtiği bildirilmiştir, benzer şekilde bu çalışmada da sütlerin % 61.5' i Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen 0,05 pbb sınırını geçmiştir.

Oruç ve Sonal (2001), Bursa'da 57 peynir numunesinde AFM₁ 'in bulunma oranının yüksek (%89.47), 10 süt numunesinde ise düşük olduğunu (%10); peynirlerin %12.28'inde AFM₁ miktarının Türk Gıda Kodeksi limiti olan 250 ng/kg'ın üzerinde olduğunu saptamışlardır. Diğer bir araştırmada, Günşen ve Büyükyörük (2001), Bursa'da, 125 adet peynir numunesinde AFM₁ belirlenen 86 numuneden 26'sının (%32.55)'inin AFM₁ yönünden Türk Gıda Kodeksi'ne uygun olmadıklarını belirtmişlerdir. Seyrek (2001), Marmara bölgesinde, 30 askeri kışla için alınan 110 beyaz peynirden 101'nde 0.01 ile 2 ppb arasında AFM₁ tespit etmiştir. Yaroğlu ve arkadaşları (2004) ise, Türkiye'nin bazı bölgelerinden toplanan 600 peynir numunesinden 30'unda (%5) AFM₁ tespit etmiştir. Gürses ve arkadaşları (2002), Erzurum ilinde satılan bazı peynir çeşitlerinden toplanan 63 peynir

numunesinden sadece 28'inde AFM₁ tespit etmiştir. Bu çalışmada peynirlerin % 100'ünde AFM₁ saptanırken ancak % 4'ü yasalarca belirlenen 0,25 ppb üst sınırı geçmiştir. Bu yönüyle çalışmada kullanılan tüm peynir örneklerinde AFM₁ varlığına rastlanması yapılan diğer benzer çalışmalara göre dikkat çekicidir.

Dağoğlu ve arkadaşları (1995), 50 adedi Van bölgesinden (otlu peynir), 25 adedi de İstanbul marketlerinden olmak üzere toplam 75 adet peynir örneğinden % 45,2'sinde AFM₁ tespit etmişlerdir. Tekinşen ve Tekinşen (2005) otlu peynir ve beyaz peynir üzerinde yaptıkları bir çalışmada, otlu peynirlerin %86,7 ve beyaz peynirlerin %62'sinde AFM₁ varlığına rastlamışlar ve sırasıyla örneklerin %80 ve % 40'nın 0,25 ppb seviyesini geçtiğini belirtmişlerdir. Sarımehmetoğlu ve arkadaşları (2003), Ankara'da tüketilen peynirlerden topladıkları 400 peynir numunesinden 110'nunda (%27,5) AFM₁ tespit etmiştir. Bu çalışmada peynirlerin % 100'ünde AFM₁ saptanırken, 1 adet beyaz peynir örneğinde 0,204 ppb, 1 adet kaşar peyniri örneğinde 0,250 ppb ve 1 adet tulum peyniri örneğinde 0,241 ppb olmak üzere peynirlerdeki en yüksek AFM₁ düzeyleri saptanmıştır. Bu çalışmada 25 adet peynir örneğinden 1'nde (% 4) Türk Gıda Kodeksinin en yüksek oranda bulunmasına izin verdiği 0,25 ppb AFM₁ oranı aşılmıştır, bu yönüyle analiz edilen peynir örneklerindeki AFM₁ oranının göreceli olarak daha düşük olduğu ifade edilebilir. Burada elde edilen peynir örneklerinin üretim yapan mandıralardan doğrudan alınmış olması saklama - depolama, taşıma gibi ürünün pazarlanmasındaki aşamaların olmaması kontaminasyon riskinin azalmasına bağlı olarak daha düşük AFM₁ oranlarının elde edilmesine neden olmuş olabilir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Birçok ülkede süt ve süt ürünlerinde AFM₁'in düzeyi üzerine çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Türkiye'de de süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM₁ ile ilgili benzer çalışmalar yayınlanmıştır. Yöresel olarak incelendiğinde süt ve süt ürünlerinde insan sağlığı için tehdit oluşturabilecek düzeylerin çok üzerinde AFM₁ varlığı birçok yayında belirtilmiştir. Aydın ili ve çevresine ilişkin AFM₁ ile ilgili verilerdeki eksikliği gidermek amacıyla yapılan bu araştırmadaki analiz sonuçları değerlendirildiğinde, Türkiye' deki diğer yörelere benzer şekilde, Aydın' da üretilen süt ve süt ürünlerinin de Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen müsaade edilebilir üst sınırları geçtiği saptanmıştır.

Süt ve süt ürünleri, AFM₁ varlığı yönünden bir program kapsamında kontrol edilmelidir. Hayvanlara verilen yemlerde AFB₁ oluşumunu sağlayan şartlar ve AFB₁ varlığı sürekli kontrol edilmelidir. AFM₁' in yol açabileceği sağlık sorunları hakkında çiftçiler, yem üreten kişi ve kuruluşlar, hayvan yetiştiricileri, süt ve süt ürünü üreten kişiler-işletmeler ve tüketiciler bilgilendirilmeli ve Türk Gıda Kodeksi düzenlemeleri uygulanmalıdır.

ÖZET

Aydın ili ve çevresinde üretilen süt ve süt ürünlerinde aflatoksin varlığının araştırılması

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus*, *A. Parasiticus* ve *A. Nomius* gibi mantarların gıda ve yemlerdeki toksik metabolitleri olup, karsinojenik ve teratojenik etkiye sahip olmaları bakımından oldukça önemlidirler. B₁, B₂, G₁, G₂ ile M₁, M₂ bu grubun en önemli toksinleridir. Aflatoksin M₁ (AFM₁) toksisitesi en fazla olan aflatoksin B₁ (AFB₁)'in sütle atılan temel metabolik ürünüdür. AFB₁ çok güçlü bir karaciğer karsinojenidir. AFM₁, laktasyondaki hayvanların AFB₁ içeren yemlerle beslenmesinden sonra sütle atıldığı için süt, peynir, yoğurt, süt tozu ve tereyağı gibi süt ürünlerinde bulunabilmektedir. Süt ve ürünleri; özellikle bebekler, çocuklar, emziren anneler, yaşlılar vb. bu ürünleri çokça tüketen kişilerin besin kaynağı olduğundan bu ürünlerdeki AFM₁ miktarları önemlidir bu yüzden bir çok ülkede ve Türkiye'de süt ve süt ürünlerinde bulunan AFM₁'in düzeylerini saptamak ve riski en aza indirmek amacıyla çeşitli araştırmalar yapılmıştır.

Avrupa ve diğer gelişmekte olan ülkelerde aflatoksinlerin süt ve süt ürünleri ile yemlerdeki varlığı sistemik olarak kontrol edilirken, Türkiye' de süt ve süt ürünleri ile yemlerin AFB₁ ve AFM₁ ile kontaminasyonu önlemek için kontrol sistemleri yeterli değildir. Dünya Sağlık Organizasyonu (WHO) ile Gıda ve Tarım Organizasyonu'nun (FAO) düzenlediği yönetmeliğe göre AFB₁'in sütteki düzeyi 0.05 µg/kg' dan daha azdır.

Bu çalışmada Aydın ili ve ilçelerindeki mandıralarda, piyasada satılmak üzere üretilen süt ve süt ürünlerinden elde edilen örnekler HPLC (Yüksek Performanslı Likit Kromatografi) yöntemiyle incelenerek AFM₁ düzeyleri incelenip, halk sağlığı açısından risk oluşturup oluşturmadığı araştırıldı.

Bu amaçla 26 mandıraya ait, süt (13), beyaz peynir (7), kaşar peyniri (6), tulum peyniri (6), lor peyniri (6) ve yoğurt (9) olmak üzere toplam 47 adet numune AFM₁ yönünden incelendi. Sonuçta, incelenen örneklerde ortalama düzeyi % 0,105

düzeyinde AFM₁ belirlendi. AFM₁ insidansı % 100 ve aralığı 0,027 – 0,250 pbb arasında saptandı. İncelenen süt örneklerinin % 61,5'i, yoğurt örneklerinin % 77,7' si ve peynirlerin % 4' ünün yasal olarak belirlenen sınırları aştığı saptandı.

Aydın ili ve çevresinde üretilen süt ve süt ürünlerinin sağlık sorunlara neden olabileceği bu araştırma ile doğrulanmaktadır. Süt ve süt ürünleri, AFM₁ varlığı yönünden bir program kapsamında kontrol edilmelidir. Hayvanlara verilen yemlerde AFB₁ oluşumunu sağlayan şartlar ve AFB₁ varlığı sürekli kontrol edilmelidir.

SUMMARY

Determination of Aflatoxin M₁ in milk and milk products produced in Aydın and district.

Aflatoxins have been important relatively carcinogenic and teratogenic effect and toxic metabolite in food and feedstuff of fungus as *Aspergillus flavus*, *A. Parasiticus* and *A. Nomius*. However, the toxins most important are B₁, B₂, G₁, G₂ and M₁, M₂. Aflatoxin M₁ (AFM₁) is produced a metabolite excreted milk of most toxic aflatoxin B₁ (AFB₁). Aflatoxin M₁ is a very potent liver carcinogen. Aflatoxin M₁ is appear milk products as milk, cheese, yoghurt, milk powder and butter for excreted milk after aflatoxin B₁ contaminates feedstuff are feed by lactating animals. Milk and milk product is important relatively amounts AFM₁ this crops since these products are consumed largely by persons as especially infants, children, suckle of mothers, olds. Therefore, many countries and Turkey have been discharged various researched determine and reduce the least risk concentrations in presence of AFM₁ in milk and milk products.

Aflatoxin presence in feed, milk and dairy products can be systemically controlled in Europe and other developed countries. In contrast, there is practically not enough control system on the contamination of milk, dairy products and feed with AFM₁ and AFB₁ in Turkey. According to WHO and FAO regulation the content of AFB₁ should be less than 0.05 µg/kg in milk.

In this study, AFM₁ levels were determined by HPLC (High performance liquid chromatography) in milk and milk products samples collected in dairy farms from Aydın and district.

For this purpose, 47 samples consisted of milk (13), white cheese (7), kashar cheese (6), tulum cheese (6), curd cheese (6) and yoghurt (9) which were collected from 26 dairy farms were examined. The determined mean result of aflatoxin M₁ analysis was 0,105 pbb of analysed samples and the incidence of AFM₁ was 100 % and the range was 0,027 – 0,250 pbb. The analysed 61,5 % of milk samples, 77,7 %

of yoghurt samples and 4 % of cheese samples were exceeded the maximum legal limits.

These results of the study confirm that milk and milk products produced in Aydın and district may cause health problems. Milk and milk products have to be monitored continuously for the presence of AFB₁ contamination. AFB₁ occurring conditions in the feeds of dairy animals and AFB₁ existence must be controlled strictly.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda yardım ve hoşgörüsünü eksik etmeyen danışmanım Yrd. Doç. Dr. Selim SEKKİN'e, çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Cengiz GÖKBULUT'a, ADÜ Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ferda AKAR'a ve öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Cavit KUM'a, çalışmamdaki yardım ve katkılarından dolayı Konya Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Toksikoloji Bölümünden Dr. Ferhan Nizamlıoğlu ve Eğirdir Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürü Dr. Ramazan Küçükkara'ya, çalışmamın deneysel aşamasında yardımcı olan Araş. Gör. Ümit KARADEMİR, Araş. Gör. Murat BOYACIOĞLU ve Araş. Gör. Dilek AKŞİT'e destek ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren aileme ve her zaman yanımda olan ve sonsuz desteği ile yardımlarını esirgemeyen ablam Yrd. Doç. Dr. Filiz KÖK'e özverisinden dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Bu proje (VTF 05004) Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

ABDULRAZZAQ, Y.M., O. NAWAL, I. AHMED, 2002. Fetal Exposure to Aflatoxins in The United Arab Emirates. *Annals of Tropical Paediatrics*. 22: 3-9

ADAMS, S.R., B.K. KEPHART, A.V. ISHLER, J.L. HUTCHINSON, W.G. ROTH, 2003. Society for Risk Analysis Annual Meeting 2003. Mold and Mycotoxin Problems in Livestock Feeding. College of Agricultural Sciences, Penn State University

ADLER, C.M., 2002-2003. Mycotoxins; Characteristics, Sampling, Methods, and Limitations. Envirocheck, INC. .
Erişim tarihi: 23-12-2005

AGAG, B.I., 2004. Mycotoxins in Food and Feeds. *Ass. Univ. Bull. Environ. Res.* 7 (1)

AKDEMİR, Ç., A. ALTINTAŞ, 2004. Ankara’da İşlenen Sütlerde Aflatoksin M₁ Varlığının Ve Düzeylerinin HPLC İle Araştırılması. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 51, 175-179

AKPINAR, Ş., 2005. Gıdalar, yemler ve mikotoksinler.
<http://www.ordutarim.gov.tr/subeleler/kontrol/aflatoksin/toksinler.htm> Erişim tarihi: 24-12-2005

ARDA, M. 1975. Mikotoksinler ve Mikotoksikozis, *Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi*, 45 (3) : 5-17

AYAR, A., D. SERT, 2005. Süt ve Süt Ürünlerine Aflatoksin Bulaşma Kaynakları ve Alınması Gereken Önlemler. <http://www.akademikgida.com/m2.htm>. Erişim tarihi: 15-12-2005

AYÇİÇEK, H., A. AKSOY, Ş. SAYGI, 2004. Ankara’ da Tüketilmekte Olan Bazı Süt Ürünleri ve Gıda Ürünlerindeki Aflatoksin Düzeylerinin Belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi / Bildiri Kitabı*. 345-347

BATA, A., R. LASZTITY, 1999. Detoxification of Mycotoxin-Contaminated Food and Feed by Microorganisms, *Trend in Food Science & Technology*, 10: 223-228

BAKIRCI, I., 2001. A Study on The Occurrence of Aflatoxin M₁ in Milk and Milk Products Produced in Van Province of Turkey. *Food Control* 12: 47-51

BELTZ, R.M., J.N. SPAIN, 1998. Effects and Control of Aflatoxicosis in Dairy Cattle. *Journal Animal Science* 76(1): 380

BHAT, R.V., S. VASANTHI, 2003. Food Safety in Food Security and Food Trade, 10-17

BLANEY, B., 2002. Mycotoxin Poisoning of Pigs. Animal and Plant Health Service. 1-4

BOMMAKANTI, A.S., F. WALIYAR, 1999. Importance of Aflatoxins in Human and Livestock Health

CARDWELL, K.F., 1999. Mycotoxin Contamination in Foods-Anti –Nutritional Factors. Improving Human Nutrition Through Agriculture: The Role of International Agricultural Research. 1-7

CASSEL, E.K., S.M. BARAO, D.K. CARMEL, 1989. Aflatoxicosis and Ruminants. Fact Sheet 507

CASSEL, E.K., B. CAMPBELL, M. DRAPER, B. EPPERSON, 2001. Aflatoxins, Hazards in Grain / Aflatoxicosis and Livestock. FS 907

CHOU, M.W., W. CHEN, 1997. Food Restriction Reduces Aflatoxin B₁ (AFB₁)-DNA Adduct Formation, AFB₁-Glutathione Conjugation, and DNA Damage in AFB₁-Treated Male F344 Rats and B6C3F₁ Mice. 127 (2): 210-217

CREPPY, E.E., 2002. Update of Survey, Regulation and Toxic Effects of Mycotoxins in Europe. Toxicology Letters. 127: 19-28

ÇELİK, S., 2001. Karaciğer Karsinojeni Olan Aflatoksinlerin Biyokimyasal, Histolojik Etkileri ve Sağaltım Seçenekleri. J. Fac. Vet. Med. 20: 131-136

ÇELİK, T.H., B. SARİMEHMETOĞLU, Ö. KÜPLÜLÜ, 2005. Aflatoxin M₁ Contamination in Pasteurised Milk. Veterinarski Arhiv 75(1): 57-65

DAĞOĞLU, G., O. KELEŞ, M. YILDIRIM, 1995. Peynirlerde Aflatoksin Düzeylerinin Elisa Testi İle Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 21(2): 313-317

DEMİRER, M.A., 1973. Süt ve süt mamüllerinde aflatoksin M₁ ve B₁ aranması üzerinde araştırmalar. A.Ü. Vet: Fak. Derg., 20: 421-443.

DEVEGOWDA, G., T.K. MURTHY, V. KUMAR, 2005. Mikotoksinlerin Hayvan Endüstrisine Etkisi: Doğal Çözümler. European Mycotoxin Seminar Series. 41-47

DEVRIES, J.W., M.W. TRUCKSESS, L.S. JACKSON, 2002. Mycotoxins and Food Safety. <http://www.cplbookshop.com/contents/C869.htm>. Erişim tarihi: 25-11-2004

D'MELLO, J.P.F., 2003. Food Safety Contaminants and Toxins, 66-88

DWAYNE, J., Ph.D. THRASHER, 2005. Poison of The Month. Aflatoxins and Aflatoxicosis, http://www.drthrasher.org/Aflatoxins_and_Aflatoxicosis. Erişim tarihi: 12-07-2005

EATON, D.L., J.D. GROOPMAN, 1994. The Toxicology of Aflatoxins; Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance. Academic Press (INC), 3-62

EGMOND, H.P.V., 2003. Mycotoxins in Dairy Products, 11-4: 289-307

EROL, İ., 1999. Besin Hijyeni. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi, 1999 ANKARA. 106-107

FAO (2004). Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed in 2003. Food and Agriculture Organization of The United Nations Rome 2004. FAO Food and Nutrition Paper 81

FAO\WHO (2004). Aflatoxin Contamination in Foods and Feeds in The Philippines. FAO\WHO Regional Conference on Food Safety for Asia and Pasific.

FDA. Aflatoxins. U.S. Food & Drug Administration. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook
<http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap41.html>. Erişim tarihi:7-07-2005

FERRER, E.J. 2005. Effects of Mycotoxins (Aflatoxin B₁, deoxynivalenol, zearalenone, vomitoxin T-2) on the Health and Productivity of Spesific Production Animals (Agranco Corp.).
http://www.engormix.com/effects_of_mycotoxins_aflatoxin_e_articles_59_POR.htm
Erişim tarihi: 12- 06-2005.

FRANK, W.F., J.G. FLOYD, 2000. Aflatoxicosis in Swine. Animal and Dairy Sciences Auburn University. 01-02

GILBERT, J., 2002. Validation of Analytical Methods for Determining Mycotoxins in Foodstuffs. Trends in Analytical Chemistry. 21: 468-470

GALVANO, F., V. GALOFARO, A. DE ANGELIS, M. GALVANO, M. BOGNANNO, G. GALVANO, 1998. Survey of The Occurence of Aflatoxin M₁ in Dairy Products Marketed in İtaly. J Food Prot. 61(6): 738-41

GÜNŞEN, U., İ. BÜYÜKYÖRÜK, 2001. Piyasadan Temin Edilen Taze Kaşar Peynirlerinin Bakteriyolojik Kaliteleri İle Aflatoksin M₁ Düzeylerinin Belirlenmesi . Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 27: 821-825

GÜRBAY, A., S. AYDIN, G. GİRGİN, A.B. ENGİN, G. ŞAHİN, 2004. Assessment of Aflatoxin M₁ Levels in Milk in Ankara, Turkey. Food Control. 17(1): 1-4

GÜRSES, M., A. ERDOĞAN, S. SERT, 2002. Farklı Depolama Şartlarının *Aspergillus Parasiticus* NRRL 2999 Küf Suşu İle Aşıl原因an Tulum Peynirinde Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi. Turk J. Vet. Anim. Science. 28: 233-238. Tubitak

GÜRSES, M., A. ERDOĞAN, B. ÇETİN, 2004. Occurrence of Aflatoxin M₁ in Some Cheese Types Sold in Erzurum, Turkey. Turk J. Vet. Anim. Science. 28: 527-530

GOYAL, R. K., 2005. Mycotoxin Prevention and Control in Foodgrains. Prevention and Control of Mycotoxins in Foodgrains in India. Erişim tarihi: 21-07-2005

HARRIS, B., C.R. STAPLES, 1992. The Problems of Mycotoxins in Dairy Cattle Rations. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida

HAWKINS, L., 2000. Mycotoxins. Agri Nutrition Consulting, INC. <http://www.oldstuffmall.com/art00015.shtml>. Erişim tarihi: 22-12-2004

HENRY, S.H., T. WHITAKER, I. RABBANI, J. BOWERS, D. PARK, W. PRICE, F.X. BOSCH, J. PENNINGTON, P. VERGER, T. YOSHIZAWA, H. VAN EGMOND, M.A. JONKER, R. COKER, 2001. Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food; Who Food Additives Series. 47: 3-9

HERRMAN, T., 2002. Mycotoxins in Feed Grains and Ingredients. Kansas State University. MF-2061. Feed Manufacturing. 1-3

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

İNAL, T., 1990. Süt Ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi. Final Ofset-İSTANBUL, 1044-1045.

İNAL, T., 1992. Besin Hijyeni Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. Final Ofset-İSTANBUL, 251-252

KAMKAR, A., 2006. A Study on The Occurrence of Aflatoxin M₁ in Iranian Feta Cheese. Food Control, 17, 768-775

KAYA, S., 1982. Süt yemi ve çiğ sütte aflatoksin kalıntılarının kromatografik yöntem ile araştırılması. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 29, 443-457

KAYA, S., İ. PİRİNÇCİ, A. BİLGİLİ, 2002. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Mikotoksinler. Ed.: KAYA, S., İ. PİRİNÇCİ, A. BİLGİLİ, 537-574

KLAASSEN, D.C., O.M. AMDUR, J. DOULL, 1996. Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, 435-938

LEONTOPOULOS, D., A. SIAFAKA., P. MARKAKI, 2003. Black Olives as Substrate for *Aspergillus Parasiticus* Growth and Aflatoxin B₁ Production. Food Microbiology. 20: 119-126

MURO-CACHO, C.A., T. STEDEFORD, M. BANASIK, T.T. SUCHECKI, A.S. PERSAD, 2003. Mycotoxins: Mechanisms of Toxicity and Methods of Detection for Identifying Exposed Individuals. 19(2): 537-541

MURJANI, G., 2003. Chronic Aflatoxicosis in Fish and Its Relevance to Human Health

NİLÜFER, D., D. BOYACIOĞLU, 2003. Süt ve Süt Ürünlerinde Mikotoksin Riski ve Analizi. 2003 Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu

ORUÇ, H.H., S. SONAL, 2001. Determination of Aflatoxin M₁ Levels in Cheese and Milk Consumed in Bursa, Turkey. Vet. Hum. Toxicol., 43 (5), 292-293

ORUÇ, H.H., 2003. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M₁ (AFM₁) ve Türkiye'deki Durumu. Uludağ Üniv. J. Fac. Vet. Med. 22: 121-125

ÖZKAYA, Ş., A. TEMİZ., 2003. Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri ve Detoksifikasyonları. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi. 1(1): 1-21

PAPP, E., H.K. OTTA, G. ZARAY, E. MINCSOVICS, 2002. Liquid Chromatographic Determination of Aflatoxins. Microchemical Journal, 73: 39-46

PARLAT, S.S., A.Ö. YILDIZ, Y. CUFADAR, O. OLGUN, 2005. Japon Bildircinlarında Deneysel Aflatoksin Zehirlenmesine Karşı Kekik Uçucu Yağı Kullanımı. S. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 19 (36): 1-6

PORTER, M.M., 1995. Dairy Farmers Warned to Check Feeds for Aflatoxin

REDDY, S.V., F. WALIYAR, 2005. Properties of Aflatoxin and It Producing Fungi, <http://www.aflatoxin.info/aflatoxin.asp>. Erişim tarihi: 7-07-2005

ROYES, J.B., R.P.E. YANONG, 2002. Molds in Fish Feeds and Aflatoxicosis. Institute of Food and Agricultural Sciences. Fact Sheet FA-95

RUIQIAN, L., Y. QIAN, D. THANABORIPAT, P. THANSUKON, 2004. Biocontrol of *Aspergillus Flavus* and Aflatoxin Production. KMITL Science Journal, 4-1

SARIMEHMETOĞLU, B., O. KÜPLÜLÜ & T.H. ÇELİK, 2003. Detection of Aflatoxin M₁ in Cheese Samples by ELISA. Food Control, (Article in press)

SARIMEHMETOĞLU, B., Ö. KÜPLÜLÜ, 2004. Binding Ability of Aflatoxin M₁ to Yoghurt Bacteria. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 51: 195-198

SERT, S., 1985. Mikotoksinlerin Üretimine Etki Eden Faktörler. Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg., 1-4 (16), 147-149

SEYREK, K., 2001. Türk Silahlı Kuvvetleri'ne Bağlı Birliklerde Tüketilen Beyaz Peynirlerdeki Aflatoksin M₁ Seviyesinin ELİZA (Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay) Metodu İle Saptanması. Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi. 55-57

SCUDAMORE, K.A., 2005. Mikotoksinler ve Gıda Zincirinde Kontrolleri. European Mycotoxin Seminar Series. 19- 37

SHANAHAN, J.F., W.M. BROWN, Jr. BLUNT, T.D. BLUNT, 2003. Aflatoxins. Crop Series Production. <http://www.ext.colostate.edu/pubs/crops/00306.pdf>. Erişim tarihi: 6-07-2005

SHUKLA, R.S., R.J. VERMA, D.N. MEHTA, 2002. Kinetic and Mechanistic Investigations on Reductions of Aflatoxins by Lactic Acid. Bioorganic-Medicinal Chemistry Letters. 12: 2737-2741

SONAL, S., H.H. ORUÇ, 2000. Bursa Bölgesindeki Tavuk Çiftliklerinden Sağlanan Yemlerde Mikotoksin Düzeyleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 2000, 11 (2): 1-6

STROKA, J., E. ANKLAM, 2002. New Strategies for The Screening and Determination of Aflatoxins and The Detection of Aflatoxin-Producing Moulds in Food and Feed. Trends in Analytical Chemistry. 21(2), 90-94

SUPHAKARN, V., P. NEWBERNE, M. GOLDMAN, 1983. Vitamin A and aflatoxin: effect on liver and colon cancer. Nutr Cancer. 1983;5(1):41-50

SPEIJERS, G.J.A., M.H.M. SPEIJERS, 2004. Combined Toxic Effects of Mycotoxins. Toxicology Letters 153 (2004), 91-98

ŞANLI, Y., S. KAYA, 1992. Veteriner Klinik Toksikoloji. Ed. ŞANLI, Y., S. KAYA. Medisan Yayınevi, Dışkapı-Ankara, 308-321

ŞENER, S., M. YILDIRIM, 2000. Veteriner Toksikoloji. Teknik Yayıncılık-İSTANBUL, 240-252

ÇELİK, T.H., B. SARİMEHMETOĞLU, Ö. KÜPLÜLÜ, 2005. Aflatoxin M₁contamination in pasteurised milk. Vet. Arhiv 75, 57-65

TAYDAŞ, E., 2006. Aflatoksinlerin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri. <http://www.ordutarim.gov.tr/subeleler/kontrol/aflatoksin/insan%20sag%20etkisi.htm>. Erişim tarihi: 12-4-2006

TAYFUR, M., 2002. Mikotoksinler ve Karsinogenik Etkileri.

<http://www.un.org.tr/who/nutrition/mikotoksinler.htm>. Erişim tarihi: 05-01-2006

TEKİNŞEN, K.A, TEKİNŞEN, O.C, 2005. Aflatoxin M₁ in white pickle and Van otlu (herb) cheeses consumed in southeastern Turkey. Food Control, 16, 565-568

TIMBRELL, J.A., 1989. Introduction to Toxicology. 78-79

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

ÜNLÜTÜRK, A., F. TURANTAŞ, 1999. Gıda Mikrobiyolojisi. Mengi Tan Basımevi Çınarlı-İZMİR. 155-156

VAN EGMOND, H.P., 2003. Mycotoxins in Dairy Products. Food Chemistry. 11(4): 289-307

VERMA, R.J., 2004. Aflatoxin Cause DNA Damage. Int. J. Hum. Genet., 4 (4): 231-236

VINCELLI, P., 2003. Cool, Wet Weather Reduces Mycotoxin Risks. Corn & Soybean Science Group Newsletter. 3(3): 1-3

VINCELLI, P., G. PARKER, S. MCNAILL, 2006. Aflatoxins in Corn <http://www.ca.uky.edu/agc/pubs/id/id59/id59.pdf>. Erişim tarihi: 24-02-2006

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

YAROĞLU, T., H.H. ORUÇ, M. TAYAR, 2004. Aflatoxin M₁ Levels in Cheese from Some Provinces of Turkey. Food Control, 16: 883-885

WILLIAMS, J.H., T.D. PHILLIPS, P.E. JOLLY, J.K. STILES, C.M. JOLLY, D. AGGARWAL, 2004. Human Aflatoxicosis in Developing Countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences and interventions. American Journal of Clinical Nutrition. 80 (5): 1106-1122

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İzmir’de doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimini Elazığ’da tamamladı. 1996 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ni kazandı. 2003 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Programına başladı. 2006 yılında Eğirdir Su Ürünleri Araştırma Enstitü Müdürlüğü’ne atandı. Halen aynı görevi sürdürmektedir.