

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**MASTİTİSLİ SÜTLERDE GÖRÜLEN *ASPERGILLUS FLAVUS*
VARLIĞININ PCR İLE ARAŞTIRILMASI**

**UĞUR AYCEN
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Şükrü KIRKAN**

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-17011 nolu proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde UĞUR AYCEN tarafından hazırlanan "MASTITİSLİ SÜTLERDE GÖRÜLEN *ASPERGILLUS FLAVUS* VARLIĞININ PCR İLE ARAŞTIRILMASI" başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 25/01/2018

Üye(Tez Danışmanı): Prof.Dr. Şükrü KIRKAN

ADÜ

Üye : Prof.Dr. K. Serdar DİKER

AÜ

Üye : Doç.Dr. Serap SAVAŞAN

ADÜ

ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CUYLAN
Enstitü Müdürü

Scanned by CamScanner

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimine başladığım günden bu yana desteğini esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Şükrü KIRKAN'a, bu tezin oluşum sürecinde gerek laboratuvar çalışmaları gerek yazım aşamasında bilgi ve destekleriyle yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Uğur PARIN ve Arş. Gör. H. Tuğba YÜKSEL'e, yüksek lisans eğitimi boyunca samimi ve içten yaklaşımlarını her an hissettiğim tüm Mikrobiyoloji ABD öğretim üyelerine ve yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Bugünlere gelinceye kadar üzerimdeki emeğini, sevgi ve saygısını bir an esirgemeyen fedakâr, canım annem Cevahire AYCEN ve babam Macit AYCEN'e, en zor ve sıkıntılı zamanlarda dahi bana tebessüm ettiren kardeşim Onur AYCEN'e ve tüm ailem ve de dostlarıma samimi ve içten teşekkürlerimi borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Süt ve Sütün Bileşimi	4
2.2. Mastitis-Mastitisli Süt ve Bileşimi	7
2.3. Mikotoksinler	10
2.3.1. Tarihçe	10
2.3.2. Genel Özellikleri	12
2.3.3. Sentezini Etkileyen Etmenler	13
2.3.3.1. Su Aktivitesi veya Bağlı Nem Etkisi	14
2.3.3.2. Sıcaklık Etkisi	14
2.3.3.3. Diğer Durumların Etkisi	14
2.4. Mikotoksinlerin Sınıflandırılması	15
2.4.1. Mantar Çeşidine Göre	15
2.4.2. Ana Etkilerine Göre	16
2.4.3. Yapılarına Göre	17
2.5. Sütteki Mikotoksinler	17
2.5.1. Fusarium Toksinleri	18
2.5.1.1. Deoksinivalenol	18
2.5.1.2. T-2 Toksin	19
2.5.1.3. Zearalenon	19
2.5.1.4. Fumonisinler	20

2.5.2. Penicillium Toksinleri	20
2.5.2.1. Okratosinler	20
2.5.3. Aspergillus Toksinleri	21
2.5.3.1. Aflatoksinler	21
2.5.3.1.1. Aflatoksinlerin Özellikleri	22
2.5.3.1.2. Aflatoksinlerin Toksisitesi ve Etkileri	23
2.5.3.1.3. Aflatoksin Zehirlenmelerinde Tanı	25
2.5.3.1.4. Aflatoksinlerin Oluşumunun ve Kontaminasyonlarının Önlenmesi	27
2.5.3.1.4.1. Fiziksel Uygulamalar	28
2.5.3.1.4.2. Kimyasal Uygulamalar	28
2.5.3.1.4.3. Biyolojik Uygulamalar	29
2.5.3.1.5. Aflatoksinlerin İnsan Sağlığına Etkileri ve Yasal Düzenlemeler	29
2.6. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin ve İlgili Çalışmalar	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Gereç	39
3.1.1. Araştırma Materyali	39
3.1.2. ELISA Test Kiti	39
3.1.2.1. Veratox® for Aflatoxin M1 Prosedürü	39
3.1.2.2. Pozitif kontrol	39
3.1.3. PCR	40
3.1.3.1. Kullanılan Cihazlar	40
3.1.3.2. Solüsyonlar	40
3.1.3.2.1. TBE (Tris, Borik Asit, EDTA, pH: 8.0) Buffer	40
3.1.3.2.2. Jel Loading Buffer (6X)	40
3.1.3.2.3. Tris (1M)	40
3.1.3.2.4. TE Buffer (10 mM tris, 1mM EDTA)	41
3.1.3.3. MgCl ₂ , Taq DNA Polimeraz, 10X Taq Buffer, dNTP Set	41
3.1.3.4. 2X Taq Master Mix	41
3.1.3.5. Primerler	41
3.1.4. Elektroforez	41
3.1.4.1. Agarose Jel Hazırlanışı	41
3.1.4.2. Marker	42
3.1.4.3. Ethidium Bromid	42

3.2.Yöntem	42
3.2.1. ELISA.....	42
3.2.2. DNA Ekstraksiyonu.....	44
3.2.3. PCR.....	44
3.2.3.1. <i>Aspergillus flavus</i> Tür Spesifik PCR.....	44
4. BULGULAR	46
4.1. ELISA Bulguları.....	46
4.2. PCR Bulguları	46
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	68

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AB	: Avrupa Birliği
AFB_{1,2}	: Aflatoksin Blue
AFG_{1,2}	: Aflatoksin Green
AFM_{1,2}	: Aflatoksin Milk
ALP	: Alkalın Fosfataz
AS	: Su Aktivite Değeri
Asp	: Aspergillus
ATA	: Alimenter Toxic Aleucia
CMT	: California Mastitis Testi
CO₂	: Karbondioksit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DOM-1	: Deepoksi Deoksinivalenol
DON	: Deoksinivalenol
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Method
EUR-LEX	: European Legislation (Avrupa Birliği Hukuk Portalı)
FB₁	: Fuminosin Blue
FES	: Fermentasyon Östrojenik Madde
FLA	: Aspergillus flavus PCR spesifik gen primerleri.
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
IARC	: International Agency for Research on Cancer (Uluslararası Kansere Araştırma Merkezi)
IDF	: International Dairy Federation
ITS	: İnternal Transcribed Spacer
LD	: Letal Doz
LDH	: Laktat Dehidrojenaz
mRNA	: Mesajcı Ribo Nükleik Asit
NH₃	: Amonyak
O₂	: Oksijen
OTA	: Ochratoxin A
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincirleme Reaksiyonu)

pH	: Hidrojen İyonları Konsantrasyonu
rDNA	: Ribozomal DNA
RNA	: Ribo Nükleik Asit
SHS	: Somatik Hücre Sayısını
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
TLC	: Thin Layer Chromatography (İnce Tabaka Kromatografisi)
UHT	: Ultra High Temperature (Ultra Yüksek Isı)
UV	: Ultra Viyole
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Aflatoksinlerin kimyasal yapıları.....	23
---	----



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Mastitisli meme dokusu	9
Resim 2. Mastitisli süt rnekleri	10
Resim 3. ELISA kiti	43
Resim 4. Otomatik Mikropleyt Yıkayıcı.....	43
Resim 5. Mikropleyt	43
Resim 6. ELISA Okuyucu cihaz	43
Resim 7. <i>Aspergillus flavus</i> PCR bant görüntüsü	47



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: 1000 gr sütün enerji ve besin değerleri (%)	6
Tablo 2: Bazı sütlerin bileşimi (%)	6
Tablo 3: Gıda, yem ve çeşitli ürünlerde görülen başlıca mikotoksin üreten küfler ve mikotoksinleri	13
Tablo 4: Mikotoksin oluşumunu etkileyen faktörler	15
Tablo 5: Bazı hayvanlarda ağızdan alınan AFB ₁ ’in LD ₅₀ değerleri	25
Tablo 6: Karadeniz ve Akdeniz bölgelerinde yaşayan kişilerde serum aflatoksin miktarlarının mevsimsel değişimi	30
Tablo 7: Çalışma grubunda bulunan kadın ve erkeklerde serum aflatoksin miktarlarının mevsimsel değişimi	31
Tablo 8: Türkiye’de aflatoksin limitleri (µg/kg)	31
Tablo 9: AB’de kabul edilen maksimum aflatoksin limitleri (µg/kg)	32
Tablo 10: Bazı kuruluş ve ülkelerin süt ve süt ürünlerindeki AFM ₁ yasal limitleri(µg/kg)....	38
Tablo 11: <i>Aspergillus flavus</i> için mastermiks hazırlanma oranları	45
Tablo 12: <i>Aspergillus flavus</i> tür spesifik PCR işlemlerine ait ısı döngü ve süre diyagramı ..	45
Tablo 13: ELISA bulguları	46

ÖZET

MASTITİSLİ SÜTLERDE GÖRÜLEN *ASPERGILLUS FLAVUS* VARLIĞININ PCR İLE ARAŞTIRILMASI

Aycen U. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2018.

Bu çalışmada, Mayıs-Eylül 2017 tarihleri arasında Aydın ili ve çevresinde bulunan çeşitli işletmelerdeki klinik mastitisli 90 adet inekten aseptik ve tekniğine uygun olarak 20'şer ml olmak üzere steril kaplara süt numunesi alınmıştır. Alınan numuneler soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına *Aspergillus flavus* M₁ toksininin varlığı yönünden incelenmek üzere getirilmiştir. İki örnek yapısal deformasyonlardan dolayı araştırma dışında bırakılmıştır. Süt örneklerindeki *Aspergillus flavus* M₁ toksininin varlığının araştırılması ELISA tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Aflatoxin M₁ ELISA sonuçları 0 ppt, 5 ppt, 15 ppt, 30 ppt, 60 ppt ve 100 ppt içerikli pozitif kontroller ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. İncelenen 88 örnek için; 7 (% 8,0)'sinde 5 ppt, 12 (% 13,6)'sinde 15 ppt, 32 (% 36,4)'sinde 100 ppt, 37 (% 42,0)'sinde ise 0 ppt düzeylerinde Aflatoxin M₁ tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre 32 (% 36,4)'sinde Avrupa Birliği ülkelerinde çiğ sütler için kabul edilen sınırın (50 ppt) üzerinde AFM₁ pozitifliği saptanmıştır. Araştırmamızda Aflatoxin M₁ ELISA kiti ile incelenen 88 adet mastitisli süt örneğinden elde edilen DNA'lar *Aspergillus flavus* tür spesifik PCR işlemine tabi tutulmuştur. PCR sonucunda; 7 (% 36,8)'sinde 0 ppt, 1 (% 5,2)'inde 5 ppt, 2 (% 10,5)'sinde 15 ppt ve 9 (% 47,5)'unda 100 ppt düzeyinde Aflatoxin M₁ ELISA kiti toksin varlığı belirlenmiştir. Sonuç olarak araştırmamızda ELISA ile 32 örnekte 100 ppt düzeyinde AFM₁ pozitifliği saptanırken, PCR ile 9 örnekte 100 ppt düzeyinde pozitiflik saptanmıştır. ELISA testi sonucunda daha fazla çıkan pozitif sonucun, çapraz reaksiyonlara bağlı olarak şekillendiği, teşhis ve identifikasyonda ise FLA gen primerleri ile yapılan PCR yönteminin daha güvenilir olduğu ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Aspergillus flavus* M₁, ELISA, FLA gen primerleri, mastitisli süt, PCR

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF *ASPERGILLUS FLAVUS* IN MASTITIS MILK WITH PCR

Aycen U. Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Microbiology Programme, MSc Thesis, Aydın, 2018.

In this study, milk samples were taken in sterile containers, 20 ml, in accordance with aseptic and technique of 90 cows with clinical mastitis in various enterprises around Aydın province between May-September 2017. The samples were brought to the Microbiology Laboratory of Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine under the cold chain for examination in terms of the presence of *Aspergillus flavus* M₁ toxin. Two examples are excluded from the research due to structural deformations. The presence of *Aspergillus flavus* M₁ toxin in milk samples was investigated by ELISA technique. Aflatoxin M₁ ELISA results were compared with positive controls with 0 ppt, 5 ppt, 15 ppt, 30 ppt, 60 ppt and 100 ppt. For the 88 samples examined; 5 ppt in 7 (8,0 %), 15 ppt in 12 (13,6 %), 100 ppt in 32 (36,4 %) and 0 ppt in 37 (42,0 %) aflatoxin M₁ was detected. According to these results, 32 (36,4 %) AFM₁ positivity was detected in the European Union countries over the limit (50 ppt) accepted for raw milk. In our study, DNA obtained from 88 mastitis milk samples examined with Aflatoxin M₁ ELISA kit was subjected to *Aspergillus flavus* species specific PCR process. As a result of PCR; Aflatoxin M₁ at a level of 0 ppt in 7 (36,8 %), 5 ppt in 1 (% 5,2), 15 ppt in 2 (10,5 %) and 100 ppt in 9 (47,5 %) ELISA kit toxin presence was determined. As a result, 32 samples of 100 ppt AFM₁ positivity were detected by ELISA and 9 samples 100 ppt positivity was detected by PCR in our study. The results of the ELISA test revealed that more positive results were formed due to cross-reactions, and the PCR method with FLA gene primers was more reliable in diagnosis and identification.

Keywords: *Aspergillus flavus* M₁, ELISA, FLA gene primers, mastitis milk, PCR

1. GİRİŞ

İnsanlar, hayvanlar, gıdalar ve yemler bakımından mikotoksinlerin kontaminasyonu oldukça önemli bir problemdir. *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ve *Claviceps* cinsi küflerin ikincil metabolitleri olan bu toksinlerin çeşitli kimyasal yapıları olmakla beraber düşük molekül ağırlıklı yapılardır (Girgin ve ark, 2001; Hussein ve Brasel, 2001).

Özellikle *Aspergillus* türleri başta olmak üzere mikotoksinlerin oluşumunu sağlayan küflerin sporları, rüzgâr ve çeşitli yollarla oldukça uzak alanlara ulaşarak birçok farklı gıda ve yem hammaddesine bulaşabilir. Ayrıca bulundukları ortamın sıcaklık, nem, besin ögeleri, başka küf türleri, coğrafi bölge, genetik faktörler ve oksijen ya da karbondioksit miktarları küf gelişimi ve mikotoksin sentezi açısından önemlidir (Girgin ve ark, 2001).

Mikotoksinlerin mantarlarca sentezlendiği veya çeşitli yollarla kontamine olduğu gıda ve yemlerin insanlar ve hayvanlar tarafından tüketilmesi ile meydana gelen zehirlenme durumuna “mikotoksikozis” ismi verilir. Bunun sonucunda karsinogenik, teratojenik, tremorgenik, hemorajik, dermal, hepatotoksik, nefrotoksik, nörotoksik etkiler oluşmakta ve en önemlisi ölüme neden olan akut vakalar görülmektedir (Bakırcı, 2014). Bu toksik etkili metabolitlerin en önemlileri; aflatoksin, okratoksin, patulin, zeralenon, trikotesen ve fumonosinlerdir (Tunail, 2000).

Süt; hayvansal protein ihtiyacının karşılanması, beslenme ve sağlıklı yaşam bakımından mükemmel bir kaynaktır. Özellikle yeni doğan yavru için temel gıda maddesi olmak üzere, insan için yaşamın her evresinde vazgeçilmez bir besindir. Ayrıca süt, yaşamımızda önemli yeri olan; yoğurt, kaymak, peynir, tereyağı gibi ürünlerinde ana maddesi olup içermiş olduğu süt yağı, süt proteinleri, kazein vb. bileşenleri nedeniyle farklı gıda maddelerinin formülasyonlarında yer almaktadır (Radostitis ve ark, 1995; Kılıç 2010).

Mikotoksinlerin içerisinde en etkili olanı bazı *Aspergillus* türlerinin sentezlediği aflatoksinlerdir. Potansiyel karsinogenik etkiye sahip olan aflatoksinler; direkt süt ve ürünlerinde gelişen küflerce sentezlenebildiği gibi, indirekt olarak küf içeren yemlerin hayvanlar tarafından tüketilmesi ile süte geçer ve bu sütlerinde işlendiği süt ürünlerinde görülür (Van Egmond ve Paulsch, 1986; Oruç, 2003).

Sütte görülen en etkili aflatoksin türü, AFB₁'in hidroksi metaboliti olan AFM₁'dir (Applebaum ve ark, 1982; Van Egmond ve ark, 1997). Kontamine yemlerle vücutlarına AFB₁ toksinini alan hayvanlar karaciğerde biyotransformasyon ile bunu AFM₁'e dönüştürerek

meme bezleriyle süte iletirler. AFM₁'in süte ve ürünlerinde bulunması insan sağlığı açısından problem teşkil etmesinin yanında özellikle bebek ve çocuklar açısından son derece risklidir. (Oruç, 2003).

Sağlık riskinin yanında süte ve ürünlerinde ciddi ekonomik kayıplar görülmesi de söz konusudur. Tüm bu şartlar göz önüne alındığında uluslararası kuruluşlar ve birçok ülke bu yönde çeşitli araştırma ve programlar uygulayarak aflatoksinlerin maksimum limitlerini yasal olarak belirlemişler ve bu limitleri dikkate alarak risk faktörünü düşürmeyi hedeflemişlerdir (Ünlütürk ve Turantaş, 1999; Oruç, 2003).

Mastitis süte sığırları açısından önemli kayıplara sebebiyet veren bir meme hastalığı olup süte ineklerde yaygın görülen bir vakadır (Radostitis ve ark, 1995). Mastitis etkeni olarak *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis*, *E. coli* ve *Streptococcus* türleri oldukça etkindir (Hale ve ark, 2003).

Mastitis subklinik ve klinik olmak üzere 2 şekilde görülür. Subklinik mastitisler klinik mastitislere göre daha yaygın olmakla birlikte süte işletmelerinde süte verimi ve ekonomik açıdan daha olumsuz bir tablo meydana getirmektedir. Bu durum subklinik mastitisin teşhisinde daha erken davranılması gerektiğini göstermektedir (Alaçam, 1988; Alaçam ve ark, 1989; Deveci ve ark, 1994).

Subklinik mastitis teşhisi birçok kimyasal, mikrobiyolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak konulabilmektedir. Son yıllarda ise 1 ml süteki somatik hücre sayısını (SHS) belirlemeye yönelik testler önem kazanmıştır. Süte verimi fazla olan sürülerde tedavi oldukça pahalıya gelmekte, ayrıca süte verimindeki düşüş ve hayvan ayıklama durumu ekonomik kaybı artırmaktadır. Yapılan çalışmalara göre sürü dışında bırakılan ineklerde ayıklanma nedeninin % 15'ini mastitis oluşturmaktadır (Bayer, 1986; Alpan, 1992).

Ülkemizde ve dünyada yapılan aflatoksin ile ilgili çalışmalarda; gıda çeşidi, iklimsel ve bölgesel faktörlerden dolayı aflatoksin miktarları değişiklik gösterebilmektedir. Süte aflatoksin varlığı ile ilgili ülkemizde ve dünyada yapılan çalışmalarda aflatoksinin süteki formu olan AFM₁ düzeyi, yasal üst limitlerin üzerinde tespit edilmektedir. Bu çalışmalara paralel olarak süte aflatoksin varlığına neden olan kontaminasyon kaynakları, bulaşma yolu, bulaşmanın anormal durumları vb. çalışmalarda incelenerek aflatoksine neden olan mantarlar ve ortam koşulları ile ilgili önlemler daha önceden alınmalıdır.

Mastitis etkenlerinin varlığı ve ekonomik etkilerinin yanında çok fazla önemsenmeyen aflatoksinler günümüzde insan sağlığı ve ülkelerin ekonomileri bakımından önemli bir risk faktörü olarak ortaya çıkmaktadır. Özellikle süte *A. flavus* tarafından üretilen AFM₁

varlığı ile ilgili çalışmalara devam edilmeli, bu çalışma sonuçları değerlendirilerek ulaşılan tespit ve öneriler ilgili kişi ve kurumlarla paylaşılmalıdır.

Bu çalışmamızda mastitisli süt örneklerine ELISA yöntemi uygulanarak AFM₁ varlığı açısından pozitif örnekler belirlenmeye çalışılmıştır. Daha sonra mastitisli süt örnekleri *Aspergillus flavus* tür spesifik PCR işlemine tabi tutularak pozitif örneklerin tespit edilmesi ile her iki yöntem bulgularının karşılaştırılması sağlanmıştır. Sonuç olarak mastitisli süt örneklerindeki AFM₁ varlığı ve uygulanan yöntem güvenilirliğinin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Süt ve Sütün Bileşimi

Süt; deride bulunan ter bezlerinin biçiminin değişmesi sonucunda oluşan meme salgısıdır (Demirci, 2001). Sütün oluşumu için memedeki kan damarları oldukça önemli olup bu bölgedeki hücrelere ve dokulara gerekli olan kan iletimini sağlamalıdır. Bu ihtiyaç 1 litre süt için 350-500 litre arasında değişmektedir. Alveol hücrelerinde üretilen süt; bazı bileşenlerini doğrudan kandan alırken, önemli bölümünü de kanda bulunan temel yapı maddelerini kullanarak oluşturmaktadır (Metin, 2005).

Türkiye’de gıda standartlarının belirlenmesinde yetkili kurumlar olan Türk Standartları Enstitüsü ve T.C Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı sütün tanımını da yapmışlardır. TS 1018’e göre çiğ inek sütü; inekten sağılarak elde edilen, 40°C’nin üzerinde ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi bir işlem görmemiş ve ön ısıtma işlemine tabi tutulmamış ve ağız sütü (kolostrum) dışındaki meme bezi salgısı olarak tanımlanmıştır. Türk Gıda Kodeksi ise çiğ sütü; bir veya daha fazla inek, keçi, koyun veya mandanın sağılmasıyla elde edilen, 40°C’in üzerine ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısı şeklinde tanımlamıştır (Metin, 2008).

Sütün asıl kullanım amacına bakıldığında, yeni doğan memeli yavrunun yaşaması, gelişimi ve dış faktörlerden korunması ön plana çıkmaktadır (Metin, 2008). Yaşamın her döneminde gerekli görülen süt, demir ve C vitamini hariç makro ve mikro düzeyde gıda yapı taşları bakımından önemli bir kaynak durumundadır. Başta çocukluk olmak üzere gebelik-emziklilik ve yaşlılık döneminde özellikle kemik sağlığı açısından faydası bilinmekte olup ve daha birçok kronik hastalıklar üzerindeki etkisini araştırmak adına çalışmalar yapılmaktadır (Black ve ark, 2002).

Çiğ sütlerde tür özelliklerini belirleyen faktörler ele alındığında; yoğunluk, asitlik, yağsız kuru madde, yağ miktarı vb. değişkenler öne çıkmaktadır. Sütlerin sınıf özellikleri belirlenirken ise yağ, kir, yağsız kuru madde, duysal özellikler vb. faktörler ele alınmaktadır. Ayrıca sütün organoleptik özellikleri denilen tat, koku gibi duysal özelliklerde süt ve ürünlerinin kalitesi bakımından önem arz etmektedir (Kırdar, 2001).

Normal koşullarda kıvamı hafif ve homojen akış gösteren süt; içerdiği yağ, laktoz ve minerallere bağlı olarak tatlımsı hoş bir lezzete sahiptir (Metin, 2001). Yine normal şartlar altında beyaz veya kremsi renge sahip olan sütün, hayvan türüne ve beslenme durumuna göre

renginde farklılık görülmektedir (Kırdar, 2001). Ayrıca sütün salgılandığı hayvana göre farklılık gösteren özel bir kokusu bulunmaktadır (Saldamlı, 2005). Süt suya göre biraz daha yüksek olan özgül ağırlığı $1,028-1,037 \text{ g/cm}^3$ 'tür (Kırdar, 2001). Süt ihtiva ettiği laktoz ve minerallerin çözelti halinde olmasından dolayı suya göre daha düşük olarak $-0,55^{\circ}\text{C}$ 'de donmaktadır (Oysun, 1991). Taze ve normal sütün ilk veya doğal asitlik deneni % 0,135-0,2 arasında değişen bir asidik yapısı mevcuttur (Saldamlı, 2005). Ancak sağımlı sırasında meydana gelen mikroorganizma kontaminasyonu sonucunda bu ilk asitlik fazla korunamamaktadır. Özellikle laktik asit bakterileri bulaşımıyla parçalanarak laktoz nedeniyle sütün asitliği artmakta ve böylece gelişen asitlik adı verilen durum ortaya çıkmaktadır (Metin, 2001). Sütün kaynama noktası $100,16^{\circ}\text{C}$ olup yine içerdiği çözelti halindeki laktoz ve mineral maddeler önemli etkidir (Besler ve Ünal, 2006).

Sütün bileşimi hayvan türlerine göre farklılık gösterirken; örneğin inek sütü % 88 sudan oluşurken 100'ün üzerinde farklı madde ihtiva etmektedir. Özellikle kalsiyum, fosfor, protein ve B vitaminleri açısından oldukça zengindir (Miller ve ark, 2000). Sütteki ana karbonhidrat laktozdur. İnek sütünde % 4,7 oranında bulunmaktadır (Gehardt ve Thomas, 2006). Sütte önem arz eden tat, koku, dayanıklılık ve görünüme etki eden diğer bir bileşende süt yağıdır (Miller ve ark, 2000). Ayrıca protein kaynağı olan sütte, kazein protein olarak önem arz etmektedir. Bunun yanı sıra whey proteinleri, enzimler ve eser miktarda nitrojen bulunan protein olmayan maddelerden oluşan bir heterojen çözelti halinde olup oranı % 3-3,5 'tir (Fox ve McWeeney, 2003). Süt doğadaki birçok aminoasiti bünyesinde barındırması açısından da önemlidir (Frau ve ark, 1997). Süt bu temel öğeler dışında yağda eriyen A, D, E, K vitaminleri ve kalsiyum, fosfor, magnezyum vb. mineralleri ihtiva ederek insan yaşamında çok önemli bir yer edinmektedir (Miller ve ark, 2000; Baysal, 2004). 1000 gr sütün enerji ve besin değerleri yüzde (%) olarak Tablo 1'de verilmiş olup, yine bazı türlerin süt bileşimleri yüzde şeklinde (%) Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. 1000 gr sütün enerji ve besin değerleri (%)

1000 gram sütün enerji ve besin değerleri			
	Yağlı	Yarım Yağlı	Yağsız
Su(g)	87.9	89.2	90.8
Enerji (kcal)	61	50	35
Protein (g)	3.3	3.3	3.4
Yağ (g)	3.3	1.9	0.2
Karbonhidrat (g)	4.7	4.8	4.9
Kül (g)	0.7	0.7	0.8
Kalsiyum (mg)	119	122	123
Demir (mg)	0.1	0.1	0.0
Fosfor (mg)	93	95	101
Potasyum (mg)	152	154	166
Sodyum (mg)	49	50	52
Vit. A ve Karoten(IU)	126	205	204
Tiamin (mg)	0.04	0.04	0.04
Riboflavin (mg)	0.16	0.17	0.14
Niasin (mg)	0.1	0.1	0.1
Vit C. (mg)	1	1	1

*Et ve Süt Kurumu (2017) internet sayfası verilerinden alınmıştır.

Tablo 2. Bazı sütlerin bileşimi (%)

Bazı Sütlerin Bileşimi					
SÜTLER	SU (%)	PROTEİN (%)	YAĞ (%)	LAKTOZ (%)	MİNERAL MADDE (%)
İnek Sütü	87,3	3,4	3,5	4,8	0,75
Keçi Sütü	87,14	3,71	4,09	4,20	0,78
Koyun Sütü	82,90	5,44	6,24	4,29	0,85
Manda Sütü	82,09	4,16	7,96	4,86	0,78

* Et ve Süt Kurumu (2017) internet sayfası verilerinden alınmıştır.

2.2. Mastitis-Mastitisli Süt ve Bileşimi

Mastitis, süt veren hayvanların meme bezlerinde mikroorganizmalar tarafından oluşturulan süt verimini düşüren, iltihaplı bir meme hastalığıdır (Sabuncuoğlu ve ark, 2003) (Resim 1). Özellikle; *Staphylococcus aureus*, *S.epidermis*, *Streptococcus* türleri ve *E.coli* mastitise sebebiyet vermektedir (Hale ve ark, 2003). Bunların dışında; *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Corynebacterium pyogenes*, *Mycoplasma* türleri ile farklı mayalar ve mantar türleri de mastitis etkeni olabilmektedir (Kapur ve Singb, 1977; İzgür ve Kılıçoğlu, 1984; Hueston ve ark, 1987).

Kronik, akut, subklinik ve gangrenöz şekillerde karşımıza çıkan mastitiste özellikle subklinik mastitis önem arz etmektedir (Alaçam, 1988; Deveci ve ark, 1994; Contreras ve ark, 2003; Santos Neto ve ark, 2009). Subklinik mastitiste etkenin kesin olarak teşhis edilmesi güvenilir izolasyon ve identifikasyon ile sağlanır (Watts, 1988; Alaçam ve ark, 1989). Hasta olan memenin zamanında teşhis ve tedavi edilmediği durumlarda atrofi oluşumu söz konusudur. Ayrıca olgular arasında sütte farklı derecelerde görülen yangısal durumlar, kimyasal olarak teşhiste kullanılmaktadır. Bu amaçla; Somatik hücre sayımı (SHS), California mastitis testi (CMT), Wisconsin mastitis testi, Whiteside testi en çok fayda sağlanan testlerdir (Shalm ve ark, 1971; Kapur ve Singb, 1977; Deveci ve ark, 1994). Bunlarla birlikte; laktat dehidrojenaz (LDH), aspartat transferaz, alkalın fosfataz (ALP) etkinliğine bakılarak yapılan testlerde son dönemlerde subklinik mastitis teşhisinde kullanılmaktadır (Kapur ve ark, 1977; Radostitis ve ark, 1995).

Mastitis oluşumuna neden olan mikrobiyolojik etkenlerden başka buna ortam hazırlayan faktörlerde oldukça elzemdir. Bunlar; hayvanın ırkı, yaşı, anatomik nedenler, süt verimi, laktasyon dönemi, mevsim şartları, sağım şekli, hayvanın beslenmesi, metabolizması, hormonal durumu, yaşadığı ahır ve barınağın şartları olarak belirtilebilir (Deveci ve ark, 1994).

Mastitisin süt bileşimindeki protein ve yağların miktarlarında yapmış olduğu değişiklikten dolayı sütün renk, lezzeti ve aroması olumsuz yönde etkilenmektedir (Baştan, 2017) (Resim 2). Ayrıca hayvanda meme hastalığı ile klor iyonlarında artış görülürken laktoz miktarı düşer bunun sonucunda süt tadı hafif tuzlumsu bir hal alır (Kırdar, 2001; Metin, 2001). Mastitisli sütlerdeki bu iyon değişimi farklılığı sütün elektrik iletkenliğinin de artmasına neden olmaktadır. Gerek sütteki laktoz ve potasyum iyonu azalması, gerek sodyum ve klor iyonları miktarı artışı meme dokusunun aldığı hasara göre değişmektedir (Nielen ve ark, 1992).

Sütün en önemli proteini olan kazeinin sentezlenmesi mastitis etkisi ile bozulma gösterir bunun yanında sütteki kalsiyum miktarında da azalma görülür. Sütteki iyon miktarlarının değişimi elektrik iletkenliğinin yanında pH'ta da değişikliğe neden olmaktadır. Normal pH'sı 6.6 olan sütün mastitis esnasında pH'sı 6.9 veya daha fazla olmaktadır. Mastitisli sütte önemli görülen diğer yapısal değişiklikleri ele aldığımızda, somatik hücre sayısındaki artış, kan kaynaklı enzimlerin miktar artışları ve yıkıma uğramış meme dokusudur. Bu enzim farklılaşmaları süt kalitesine zarar vermektedir. Özellikle asit fosfataz, α 1-antitripsin (antitripsin veya α 1-proetaz inhibitör), alkalın fosfataz, arilsülfataz, β -glukoronidaz, katalaz, glutamik-oksaloasetik transaminaz, laktat dehidrojenaz, lipaz, lizozim, NAGase, plazmin, ksantin oksidaz ve çeşitli esterazların düzeyi mastitisle birlikte artmaktadır. Sütteki serbest yağ asitleri, somatik hücre sayısındaki artışla paralellik göstermektedir. Mastitis sırasında sütteki lipaz seviyesi artar, buna bağlı serbest yağ asitlerinde de artış görülür ve sütte kötü bir tat oluşur. Ayrıca, mastitisli süt kullanılarak yapılan peynirlerde peynir miktarı azalırken, yapılan süt ürünlerinde de tat, koku ve aroma bozulmaları gözlenir (Baştan, 2017).

Mastitise dişi ve erkek çeşitli memeli türlerinde rastlansa da süt verimi yüksek olan başta inek olmak üzere koyun ve keçilerde önemli ekonomik kayıplara sebebiyet verir (Deveci ve ark, 1994). Subklinik mastitisin sebep olduğu kayıplar tüm bu kayıpların % 70-80'ini oluşturmaktadır (Kleinschroth ve ark, 1986; Rice, 1996). Mastitisin süt verimini azaltma etkisi toplam ekonomik zararın % 70'ini oluşturur. Ayrıca hayvanın tedavi masrafları, sütünün bir süre satılamaması, sağım sırasında işgücü artışı ve sürelerin uzaması, süt kalitesinde görülen düşüşe bağlı olarak satış fiyatında azalma ve sürü yenileme durumları da ekonomik zarara uğramada önem arz eden diğer hususlardır (Janzen, 1970; Schmidt ve ark, 1988; Eker, 1992; Miles ve ark, 1992).

Mastitis yaygınlığı ile ilgili yapılan bazı çalışmalara incelendiğinde; Hollanda'da 38 çiftlikte süt ineklerinin % 32'sinde, Fransa'da bir süt sığırları işletmesinde ineklerin % 29'unda, ABD'de 2911 adet keçiden alınan örneklerin % 36,4'ünde mastitis tespit edilmiştir (Rougoor ve ark, 1999; White ve Hinckley, 1999; Longo ve ark, 2001). Ülkemizde yapılan araştırmalara bakıldığında ise; 1981 yılında sekiz ilde 16 232 baş; 1982 yılında ise çeşitli illerde 193 145 baş ineğin CMT muayenesi yapılmıştır. 1982 yılında Ankara'da % 35,7; Adana'da % 53,1; Kayseri'de % 24,3; Eskişehir'de % 15 ve Konya'da ise % 5 oranında mastitisli inek belirlenmiştir (Öncel, 1984). Türkiye'de 11 milyon ton süt üretimi yapılırken bunun % 30'u mastitisli olduğu başka bir çalışmada belirtilmiştir (Mutluer, 2001). Yine Sabuncuoğlu ve

ark (2003), Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Sığırcılık bölümünde yaptıkları çalışmada mastitis seviyesini % 40 olarak gözlemlemişlerdir.

Subklinik mastitis tedavisi sırasında farklı antibiyotikler kullanılmakta ve korunmak için değişik aşılama yöntemleri uygulanmaktadır. Ancak çevresel ıslah çalışmaları, antibiyotik kullanımları ve sağım tekniklerinin geliştirilmesi gayretleri mastitisi yok etmek için yeterli olmamıştır (Natzke, 1981).

Mastitisten korunmak için; sağım ekipmanlarının günlük temizlik ve dezenfeksiyonu yapılmalı, meme temizliği ve dezenfeksiyonu yapılmalı, sağım hijyenine önem verilerek sağım sonrasında meme kanalları açık olması nedeniyle bir süre daha yemleme sürmeli, hayvan doğuma 6-8 hafta kala kuruya çıkartılıp veteriner hekimin önerdiği antibiyotikler memelere uygulanmalı, sağımdan önce meme başları sabunlu ılık su ile tek kullanımlık bez ile silinmeli ve kurulanmalı ayrıca düzenli aralıklar ile sütler kontrol edilmelidir. Bu özel önlemler dışında da ahır veya barınakların temizliği, hijyeni, havalandırılması, zemin yapısı, atıkların kolay uzaklaştırılması gibi genel önlemlere de dikkat edilmelidir (Gülgen, 2005).



Resim 1. Mastitisli meme dokusu

*Çukurova Üniversitesi (2005) internet adresinden alınmıştır.



Resim 2. Mastitisli süt rnekleri

*Egevet' in internet sitesinden alınmıştır.

2.3. Mikotoksinler

2.3.1. Tarihçe

Mikotoksin szcg; Yunanca mantar olarak kullanılan “ Mykes” ile Latince zehir anlamında olan “ toksikon” sözcüklerinin ortak olarak kullanımıyla oluşmuştur (Charles ve Hurburg, 1995). Gıda ve yemlere mikotoksinlerin bulaşması ve bunların insan ve hayvanlar tarafından tüketilmesi sonucunda “mikotoksikozis” hastalığı görülür (Davis ve Diener, 1978). Mikotoksinlerin tarihine bakıldığında; kayıtlarda şapkalı kf mantarı zehirlenmesinden sonra *Claviceps purpurea* kontaminasyonu ile ilgili kayıtlar öne çıkmaktadır. M.600’de avdar mahmuzunu olarak *Claviceps purpurea* toksinleriyle bulaşmış hububatın zararları Asur tabletlerine konu olmuştur. İlk toplu zehirlenmeye ise M.400 yılında Sparta’da rastlanmıştır (Tunail, 2000). Yine Mikotoksikozisin rastlandığı “ergotizm” denilen organlarda nekrozlara ve gangrene neden olan *Claviceps purpurea* tarafından tahıllara bulaştırılan bu hastalık, bunların insanlarca tüketilmesi sonucu Orta ağ’da Avrupa’da görülmüş ve “Kutsal Ateş” adını almıştır (Duru ve zgneş, 1984). Ergotizm’e etken olarak görülen hallusinogenil özellikte olan ergot alkaloidleridir. Ortaçağ’da insanlar hastalıktan kurtulmak adına manastırlara ve kiliselere akın etmişler, buralardaki bulaşık olmayan hububat tetimi sonucunda hastalıktan kurtulmuş ve bu durumu kilisenin kutsallığına atfetmişleridir (Uylaşer

ve Başoğlu, 1992). Bazı *Penicillium* türlerinin neden olduğu özellikle sarı pirinçlerde görülen toksisiteyi, 1890 yılları itibariyle Japon bilim adamları öngörmüşlerdi fakat *Penicillium islandicum* ve *Penicillium citreoviride* türlerinin pirinçlerde; luteosikrin, sitrinin, sitreoviridin gibi toksinlere neden olduğu 1960 ve sonrası günümüze kadar olan süreçte netleşmiştir. Almanya ve bazı İskandinav ülkelerinde 1928 tarihinde domuzlarda görülen nefropatinin nedeninin, *Aspergillus ochraceus*'un ürettiği OTA olduğu daha sonraları ortaya çıkmış, ayrıca Yugoslavya, Bulgaristan, Romanya gibi ülkelerde görülen Balkan nefropatisine de aynı etkenin sebep olduğu çok daha yakın bir zamanda ortaya koyulmuştur. Halk arasında saman hastalığı denen atların küflü yemleri tüketmesi sonucu Doğu Avrupa'da görülmüş olan hastalık *Stachybotrys atra* 'nın etken olduğu stachybotryotoksi-kosistir. *Penicillium rubrum*'un sebep olduğu kontamine mısır ve yemleri tüketerek ölen at ve sığırlarla ilgili kayıtlar 1927 yıllarına kadar gitmektedir (Tunail, 2000).

İkinci dünya savaşı sırasında (1942–1944) Rusya'da Orenburg bölgesinde; *Cladosporium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* türleri ve özellikle *Fusarium graminearum* tarafından kontaminasyona uğramış hububatlarla yapılan ekmeklerin tüketilmesiyle “Alimenter Toxic Aleucia” (ATA) adı verilen bir mikotoksikozis olayı görülmüştür. Sebep olarak savaş döneminde hasadı olmayan ve kışın karın altında kalan hububatın tüketilmesi sonucunda, bu hayvan ve insanlarda hastalık ortaya çıkmış halkın % 10'u bazı yerleşimlerde ise % 60 civarında hastalık görülmüştür hatta binlerce insanda yaşamını yitirmiştir. Hastalarda, deride nekroz, hemoraji, kemik iliğinde zarar görme ve lökopeni görülmüştür. (Tunail, 2000; Ender, 2001; Özmenteşe, 2002; Mavuş, 2003).

Amerika Birleşik Devletleri'nde 1950'li yıllarda küf ile kontamine mısırı tüketen domuzlarda ve köpeklerde akut ve öldürücü hepatite rastlanmış ve bu yemlerde, *Aspergillus flavus* ve *Penicillium rubrum* 'a rastlanmıştır (Sert, 1985).

1960 yılında "Turkey X hastalığı" adı verilen olayda; İngiltere'de 100 000 hindi, ABD'de 1 000 000 Alabalık ani bir şekilde ölmüş ve ardındaki sebep araştırıldığında hindilerin yemlendiği, Brezilya'dan gelen küflü yer fıstığı küspesinde *Aspergillus flavus* görülmüş ve metaboliti olan difurankumarinin ölümlere neden olduğu tespit edilmiştir. Bu metabolit köken almak adına “aflatoksin” adını almıştır (Tunail, 2000).

Hindistan'da 1984 yılında 400 kişinin zehirlendiği ve 106 kişinin öldüğü bir olayla ilgili yapılan araştırmalar sonucunda tüketilen mısırdaki; 0,25-15,6 ppm aflatoksin bulgusuna rastlanmıştır (Kaya ve ark, 2002).

Ülkemizde ise ilk aflatoksin ile tanışma; 1967’de Kanada’ya ihraç edilen 10 ton iç findakta ve 1971’de ABD’ye gönderilen antepfıstığının 45 partisinden 31’inde görülerek iade edilmesine rastlamaktadır (Akpınar, 2005).

2.3.2. Genel Özellikleri

Doğada önemli bir mikroorganizma grubu olan küflerin; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Alternaria* cinsleri başta olmak üzere, uygun sıcaklık ve neme sahip ortam koşullarında; gıdalarda, yemlerde, hububatlarda ve çeşitli ürünlerde gelişerek toksik metabolitler meydana getirmektedirler (Yaygın ve Demiryol, 1980; Van Egmond, 1989). Bu eksojen durumdaki metabolik ürünlere “mikotoksin” denmektedir (Şanlı, 1995). Doğadaki küfler incelendiğinde 350 civarında mikotoksin sentezleme özelliğinde olan küf görülmüş olup bu tüm küf grupları içerisinde çok az bir sayı olarak göze çarpmaktadır (Tunail, 2000). Tablo 3’te gıda, yem ve çeşitli ürünlerde görülen başlıca mikotoksin üreten küfler ve mikotoksinleri verilmiştir.

Mikotoksinlerin metabolizmaya alımından sonra neden olduğu zehirlenmeye ”mikotoksikozis” denir (Steyn ve Stander, 1999). Mikotoksinler vücutta; etki mekanizması, organ ve dokulara göre farklı etkiler gösterir. Toksik etkisi; deri üzerinde olanlara “dermatoksik”, karaciğerde olanlara “hepatoksik”, böbreklerde olanlara “nefrotoksik”, sinir sistemi üzerinde olanlara “immunotoksik” ya da “immunosupresif” denmektedir. Ayrıca toksik etkilerin yanında; mutajenik, teratojenik, halusinojenik, östrojenik, kanserojenik ve tremorjen etkilerde ortaya çıkmaktadır (Creppy, 2002).

Mikotoksinler bulaşıcı olmamakla birlikte mevsimlere göre farklılık göstermektedir. Mikotoksin zehirlenmesinde ilaç ve antibiyotik etkili değildir. Toksik etki ve şiddet konakçının yaşı, cinsi ve beslenme şekline göre farklılık göstermektedir (Tayfur, 2002). Ayrıca mikotoksinlerin göz ile görülmeleri söz konusu değildir, ilgili küflerin ise bazıları göz ile görülebilirken, bazıları görülmemektedir (Hawkins, 2000).

Mikotoksinlerin etki şekilleri; DNA kalıbı ile etkileşimde kalıbın çıkışı, yazımı ve çevirisinin engellenmesi, hücre zarının geçirgenliğinin değiştirilmesi, hücre solunumunu etkileme ve hormonal etki mekanizmalarını kapsamaktadır (Kaya ve ark, 2002).

Tablo 3. Gıda, yem ve çeşitli ürünlerde görülen başlıca mikotoksin üreten küfler ve mikotoksinleri

Aspergillus toksinleri	Penicillium toksinleri	Fusarium toksinleri	Alternaria toksinleri
Aflatoksinler	Sitrinin	Zearalenon (F-2 toksin)	Alternariol
AFB ₁	Okratoksin A	Trikotesenler	Alternariolmono metil-eter
AFB ₂	Sitreoviridin	Deoksinivaleno	Altartoksin
AFG ₁	Rubratoksin A	Nivalenol	Tenuazonikasit
AFG ₂	Rubratoksin B	Diasetoksisirpenol	
AFM ₁	Patulin	T-2 toksin	
AFM ₂	Penisilikasit	HT-2 toksin	
AFB _{2a}	P-R (Pen.requeforti)-toksin	Tremortin	
AFG _{2a}	Luteosikrin	Fusarin-C	
AFB ₃	İzlanditoksin	Fumonisin B ₁	
Aspertoksin	Ksantosilin-X	Moniliformin	
Sitrinin	Siklopiazonikasit		
Sterigmatosistin	Sitromisetin		
Okratoksin A	Rugulosin		
Patulin	Ksantomegnin		
Penisilikasit	Rugulovasin A		
	Rugulovasin B		
	Verrukulotoksin		
	Emodin		

*Tunail (2010)'dan modifiye edilmiştir.

2.3.3. Sentezini Etkileyen Etmenler

Gıda, tahıl ve yemlerde mikotoksin oluşumu uygun ortam koşullarının gelişmesine bağlı olarak, üretim veya hasattan tüketime kadar olan her kademedede gerçekleşebilir. Büyüme ve gelişme evrelerini tamamlamış olan küflerde; hücrede biriken aşırı karbohidratın bir kısmı metabolizma yoluyla mikotoksinlere dönüştürülür (Oruç, 2005). Mikotoksin oluşumunun ana kaynağı küfler olmasına rağmen çevresel koşullarda bu metabolitin üretiminde oldukça etkilidir(Seçer, 2000). Mikotoksinlerin gelişimini etkileyen faktörler Tablo 4'te gösterilmiştir.

2.3.3.1. Su Aktivitesi veya Bağıl Nem Etkisi

Küflerin gelişmesi ve toksin oluşturmaları bağıl nemin artışına paralel olarak artış gösterir. Bir başka deyişle; su aktivitesinin düşmesine bağlı küf gelişimi ve toksin oluşumu kısıtlanır ya da engellenebilir (Tunail, 2000).

Küfler iyi bir gelişme ortamı için; maksimum A_s :0.97–0.99 değerlerini isteseler dahi, minimum A_s :0.80–0.85 değerlerinde de gelişebilirler. *Penicillium* ve *Fusarium* cinsleri *Aspergillus*'a göre daha yüksek minimum su aktivitesine ihtiyaç duydukları görülmüş olup hatta bazı *Aspergillus* türleri A_s :0.80'nin altında dahi gelişebilmektedir. Mikotoksin üretimi bakımından minimum su aktivitesi isteği ise gelişimdekine göre daha yüksektir. Örneğin; AFB₁ ve okratoksin genellikle minimum A_s :0.83-0.90 değerlerinde oluşturulur (Tunail, 2000; Uğur ve ark, 2001).

Havadaki bağıl nemin % 80'den yukarıya çıkmasıyla birlikte küf gelişimi ve mikotoksin oluşumu artar, hububatlar % 13,2-14 nem içeriğinde depolanırken bu nemin deponun bağıl nemine bağlı olarak artması ile % 17-19'a çıkması sonucu *Asp. flavus* ve *Asp. parasiticus* gelişimi görülür (Şanlı, 1995; Tunail, 2000).

2.3.3.2. Sıcaklık Etkisi

Küflerin üremeleri için 20-30°C sıcaklıklar oldukça iyidir (Kaya ve ark, 2002). Bu sıcaklıklarda veya biraz daha düşük sıcaklıklarda ise mikotoksin üretimi oldukça yüksektir. Aflatoksin sentezleyen küfler; minimum 6-8°C, maksimum 50-60°C gelişme gösterirken, toksin üretimi için min. 10-13°C ve mak. 42°C gereklidir. Bu küfler en iyi gelişimi 35-38°C'de gösterirken, optimum toksin üretimini ise 25-30°C civarlarında gerçekleştirmektedirler (Tunail, 2000; Kılıç, 2010).

2.3.3.3. Diğer Durumların Etkisi

Mikotoksin üretimini etkileyen diğer faktörler için yapılan çalışmalarda pH, oksijen, ışık ve CO₂ üzerinde yoğunlaşmıştır. Küfler daha çok asidik ortamlarda gelişebilirken pH:1.5-8.5 aralığı optimumdur. Aflatoksin üreten küfler pH:2.5- 6.0 civarında toksin üretirler. Bazı küfler ortamdaki oksijen azalması durumunda gelişimleri kısıtlanır ancak tamamen durma söz konusu değildir. Bu küfler enerji teminini oksidatif fosforilasyon ile

gerçekleştirirken, oksijen olmadığı veya azaldığı durumlarda alkol fermentasyonunu kullanırlar (Tunail, 2000; Kaya, 2001).

Laboratuvar ortamında *Asp. flavus* üzerine yapılan ışık etkisi çalışmasında karanlık ortamlarda sentezin arttığı gözlenmiştir. CO₂ içeren modifiye atmosfer ortamında aflatoksin ve patulin sentezi engellenmektedir. Bir araştırmada, *Asp. flavus* % 99 bağıl nem, 30°C sıcaklık ve % 20 CO₂ olan ortam şartlarında misel gelişimi iyi olmasına rağmen toksin üretimi oldukça azalmıştır. CO₂ miktarı % 80 civarına getirildiğinde misel oluşumu durmamış fakat aflatoksin oluşumu yok olma durumuna gelmiştir (Tunail, 2000; Kaya, 2001).

Tablo 4. Mikotoksin oluşumunu etkileyen faktörler

Fiziksel faktörler	Kimyasal faktörler	Biyolojik faktörler
Nemlilik	CO ₂	Fungal enfeksiyon, inokulum miktarı
Substrat nemliliği	O ₂	Bitki çeşidi, bitki dayanıklılığı
Kuruma hızı	Substratın yapısı	Bitki stresi, bitkinin hastalıkları
Yeniden nemlenme	Substrata yapılan kimyasal uygulamalar	Fungusların genetik farklılığı
Nispi hava nemi	Kimyasal işlemler (gübreleme, ilaçlama)	Mikroorganizmalar arasındaki ilişki
Sıcaklık		Zararlıların faaliyeti
Mekanik zararlanma		Fungal izolat farklılıkları
Zaman		Hububatın karıştırılması

*Kielstein (1993)'ten alınarak modifiye edilmiştir.

2.4. Mikotoksinlerin Sınıflandırılması

2.4.1. Mantar Çeşidine Göre

Aspergillus toksinleri: Aflatoksinler, aspergillik asit, gliotoksin, viomellein, aspertoksin, terreik asit, territrem, emodin, fumagillin, kojik asit, okzalik asit, okratoksinler, streoviridin, siklopiazonik asit, fumitremorjinler, patulin, sterigmatosistin, aflatrem, helvolik asit, malforminler, asteltoksin, eritroglausin, austosistinler, aspokalasinler, versikolorinler.

Penisilium toksinleri: Rugulosin, rugulin, pakisillin, luteoskirin, emodin, streoviridin, sitrinin, griseofulvin, okratoksinler, patulin, penisillik asit, penitremler, PR toksin,

rubratoksinler, sikloklorotin, siklopiazonik asit, islanditoksin, islandisin, mikofenolik asit, verrukulogen, verrukulotoksin, aflatoksinler ve sekalonik asit D.

Fusarium toksinleri: Diasetoksiskirpenol, DON, nivalenol, T-2 toksin, trikodermin, trikotesin, satratoksinler, mirotoksinler, moniliformin, zearalenon, butenolid, fusarin C, krotosin vb.

Diğer toksinler: Alternariol, sitokalanlar, sporidesminler, tenuazonik asit, paspalin vb (Kaya ve ark, 2002).

2.4.2. Ana Etkilerine Göre

Karaciğere etkiyenler: Aflatoksinler, okratoksinler, rubratoksinler, sikloklorotin, luteoskirin, viomellein vb.

Böbreğe etkiyenler: Okratoksinler, sitrinin, aflatoksinler, sterigmatosistin, viomellein vb.

Kalbe etkiyenler: Penisillik asit, streoviridin gibi.

Tremor yapıcılar: Penitremler “penitrem A-F”; janthitremler “janthitrem A-C”; lolitremler “lolitrem B-C”; aflatrem; pakisillin; paspalin, paspalisin, paspalinin; PR toksin; teritremler “teritrem A-C”; verrukosidin; verrukulotoksin; verrukulojenler; fumitremorjinler “fumitremorjin A-C”.

Kemik iliğini etkileyenler: Trikotesenler, satratoksinler vb.

Deri ve mukozaları irkiltenler: Trikotesenler, satratoksinler vb.

Sitotoksik olanlar: Trikotesenler.

Sinir sistemine etkiyenler: Penitrem, streoviridin vb.

Kan şekerini artıranlar: Terreik asit vb.

Bağışıklık sistemini baskılayanlar: Aflatoksinler, fumonisinler, gliotoksinler, mikofenolik asit, okratoksinler, patulin, trikotesenler vb.

Teratojenik etkili olanlar: Aflatoksinler, fumonisinler, okratoksinler, rubratoksinler, sekalonik asit D, trikotesenler (T-2 toksin, DAS, DON), zearalenon vb.

Mutajenik etkili olanlar: Aflatoksinler, fusarin C, sterigmatosistin, rugulosin, PR toksin, sekalonik asit, versikolorin A vb.

Karsinojenik olanlar: Aflatoksinler, luteoskirin, sterigmatosistinler, okratoksinler, rugulosin, patulin, PR toksin, versikolorin A, penisillik asit, sikloklorotin, siklopiazonik asit, fumonisinler vb.

Tümör oluşumunu engelleyenler: Verrukarin A ve B, roridin A, penisillik asit, mikofenolik asit vb.

İnsektisid etkili olanlar: AFB₁, fusarik asit, kojik asit, subratoksin B₁, patulin, diasetoksiskirpenol vb.

Antibakteriyel etkili olanlar: Penisillik asit, sitrinin, patulin, mikofenolik asit, sitokalsin A.

Antifungal etkili olanlar: Aflatoksinler, trikotesin, gliotoksin vb.

Bitki zehiri olarak etkiyenler: Alternariol, tenuazonik asit, aflatoksinler, patulin, sitrinin, T-2 toksin (Kaya ve ark, 2002).

2.4.3. Yapılarına Göre

Makrosiklik laktonlar: Zearalenon, sitokalsanlar vb.

Kuinon ve benzerleri: Rugulosin vb.

Amino asit-peptid bileşikler: Gliotoksin vb.

Oksijen taşıyan heterosiklik bileşikler: Aflatoksinler, streoviridin, patulin, okratoksinler.

Alisiklik bileşikler: Triodermin vb.

Aromatik bileşikler: Griseofulvin vb (Kaya ve ark, 2002).

2.5. Sütteki Mikotoksinler

Yeni sağım yapılan taze sütte mikroorganizma sayısı oldukça düşük olmakla birlikte sağımın hemen sonrasında uygun olmayan ortam koşulları veya kirli ekipman ve aletlerin kullanımı ile mikrobiyal olarak yüklenme söz konusudur. Bu sebepler sonrasında süte bulaşan mikroorganizmalar sütün değerli ve besleyici besin içeriğiyle birlikte çok hızlı bir gelişim süreci gösterirler (Erkmen, 2010).

Sütün mikrobiyal yükü öncelikli olarak meme iç yüzeyi ve süt kanallarındaki mikroorganizma varlığıyla ilişkilidir. Sağlıklı bir hayvanda kontaminasyon düzeyi ml'de 10^2 - 10^3 kob/ml olarak ölçülmektedir (IDF, 1997). Fakat mastitis hastalığı vb. durumlar dikkate alındığında bu değerler oldukça yüzeysel kalmaktadır. Sağım esnasında meme başından veya sağım ekipmanlarından olası mikroorganizma bulaşması durumunda, normal olarak ml'de 10^4 olması beklenen sütteki mikroorganizma düzeyi çok fazla artabilmektedir. Soğutma sırasında +4°C'de depolanma durumunda sütte mikroorganizma düzeyi ml'de 10^4 - 10^5 civarlarında olmaktadır. Sütte duyuşal olarak hissedilebilir bir değişme meydana gelme durumunda ise ml'de 10^6 - 10^7 mikrobiyal yük söz konusudur (Kınık ve ark, 2000). Sağımı takiben sütü kontamine eden mikroorganizma florası bulaşma odaklarına göre değişiklik gösterebilmektedir. Süt; dışkı ve hayvan derisi ile koliformlar, *Bacillus*, *Clostridium* ve

Salmonella ile; topraktan *Streptomyces*, sporlu bakteriler, küf sporları ile; yataklık ve yemlerden banal flora, *Lactobacillus* türleri, *Clostridium butyricum* ve *Clostridium tyrobutyricum* (slaj kökenli) ile; sağım ekipmanları ve sütün depolandığı kaplardan laktik flora, micrococcus türleri, *Lactobacillus* türleri, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* türleri, *Acinetobacter* ve maya türleri ile; personel kaynaklı olarak *Staphylococcus* türleri, solunum jermeleri, fekal kontaminantlar yoluyla; kontamine olabilmektedir (Kılıç, 2010).

Süt ve süt ürünlerine mikotoksinlerin bulaşımına bakıldığında ise iki ana neden göze çarpmaktadır. İlki kontamine yemleri tüketen hayvanların metabolik olarak sütünde mikotoksinlerin görülmesi, ikincisi ise süt ve ürünlerinin doğrudan küf kontaminasyonuna maruz kalmaları şeklindedir (Van Egmond, 1983; Kırdar, 2006; Kök, 2006). Yemlerden süte geçen mikotoksinlerin bu geçiş değerleri üzerine yapılan çalışmalarda farklı miktarlar tespit edilmesine karşın; aflatoksinler özelinde ise yemde 20 g/kg aflatoksin B₁ bulunması halinde süte 0,06 g/kg aflatoksin M₁ geçişi gözlenmiştir (Hui, 1992; Gremmels, 2008).

2.5.1. Fusarium Toksinleri

2.5.1.1. Deoksinivalenol

Fusarium graminearum, *F. culmorum* ve *F. Sporotrichioides* küfleri tarafından üretilen ve önemli düzeylerde tespit edilen mikotoksinler içerisinde olan deoksinivalenol vomitoksin olarakta bilinmektedir (D'Mello ve Macdonald, 1997). Mısır ve buğday dışında arpa, pirinç, sorgum, yulaf ve de çavdarda görülür. Sentezlenmesi için ılık ve yağışlı hava şartları önemlidir (Anonim 1, 2001; Eriksen ve Pettersson, 2004; Sherif ve ark, 2009).

Deoksinivalenol geniş getiren hayvanların rumeninde zehir etkisi düşük düzeyde olan deepoksi deoksinivalenole (DOM-1) dönüşür (Fink ve Gremmels, 2008; Yiannikouris ve Jouany, 2002). Süt sığırlarının duyarlılığının daha fazla olduğu deoksinivalenol; laktasyon dönemi dışında yem tüketimini, laktasyon döneminde süt verimini azaltmaktadır (Trenholm ve ark, 1985; Whitlow ve ark, 2000).

Deoksinivalenol, metaboliti DOM-1 şeklinde süte geçmektedir. Yapılan araştırmalarda süte geçişi çok kolay olmadığı da görülürken süte geçişi için yemlerde 6 mg/kg DON bulunması yeterli olmamaktadır (Van Egmond, 1983). Bir çalışmada ise iki süt sığına 920 mg/kg ağızdan tek doz olarak verilen DON'un süte 4 µg/kg'ın altında bir geçişi gözlenmiştir (Prelusky ve ark, 1984).

2.5.1.2. T-2 Toksin

Hububat ve çeşitli tarım ürünlerinde küflü çürüme etkeni olan *F. sporotrichioides* ve *F. poae* tarafından üretilen T-2 toksin; mısır, mısır silajı, buğday, arpa, darı ve karma yemlerde görülür (D'Mello ve Macdonald, 1997; Eriksen ve Pettersson, 2004; Sherif ve ark, 2009; Zinedine ve Manes, 2009).

Gevişenlerin rumenlerinde, HT-2 toksin ve neosolaniol dönüşen T-2 toksinin zehirlilik düzeyinin 1/10'u bu bileşiklerde görülmektedir (Yiannikouris ve Jouany, 2002). Bu toksinin laboratuvar hayvanlarında yapılan araştırmaları incelendiğinde, en çok etkilenen organ bağırsak olmakla birlikte karaciğer, dalak, böbrek ve kemik iliği de zarar görmektedir. Ayrıca T-2 toksinin süt sığırlarında sindirim sisteminde kanamalara ve yanmalara, üreme problemlerine, yem tüketimi ve süt veriminde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Anonim 1, 2001; Conkova ve ark, 2003; Whitlow ve Hagler, 2005). Yapılan çalışmalarda T-2 toksinin süte geçişi % 0,05-2 miktarında olmaktadır (Yiannikouris ve Jouany, 2002).

2.5.1.3. Zearalenon

Östrojenik etkiye sahip olan zearalenon; *F. graminearum*, *F. culmorum* ve *F. sporotrichioides* mantarlarının sentezlediği bir mikotoksindir (D'Mello ve Macdonald, 1997). Serin ve yağışlı havalarda sentezi artan bu mikotoksin tüm hububatlarda, kuru ot, susam tohumu, sorgum ve silajlarda görülür (Whitlow ve ark, 2000; Seglar, 2001; Zinedine ve Manes, 2009).

FES (Fermentasyon Östrojenik Madde) veya F-2 toksini olarak bilinen bu mikotoksin doğrudan bir toksinden ziyade hormon benzeri bir yapı göstermesi açısından önem arz eder. Funguslar sentezlediği bilinen tek bitkisel östrojendir (Saldamlı, 1998; Ayaz ve Yurttagül, 2008). Geviş getiren hayvanların rumeninde tam manasıyla parçalanamazlar fakat gevişenler tek mideli hayvanlara göre bu toksine daha dayanım gösterirler. Parçalanma durumunda ise, α - ve β -zearalenol oluşumu görülür. Alfa-zearalenol zearalenondan 4 kat östrojenik iken, β -zearalenol zearalenole eşdeğerdir (Yiannikouris ve Jouany, 2002; Fink ve Gremmels, 2008).

Yüksek oranlarda alındığı takdirde; yavru atma, kısırlık, vajinal akıntı, vajinit, düvelerde meme bezinde büyüme, ishal ve süt veriminde düşüş gözlenmiştir (D'Mello ve Macdonald, 1997; Anonim 1, 2001; Fink ve Gremmels, 2008). Zearalenon, 1,3 mg/kg düzeyinde yemlerle alındığında süte geçme durumu görülmekte ve bu geçiş α - ve β -

zearalenol yapısında olmaktadır (Yiannikouris ve Jouany, 2002; Yıldız, 2009). Bu mikotoksin yüksek oranlarda hayvan tarafından alınıp çiğ süte geçmesinin yanında, pastörize, kondanse süt, süt tozu, yumuşak veya sert peynirlerde de ortaya çıkabilmektedir. Ancak pastörizasyon, kaynatma, dondurma, soğutma ve pişirme prosesleri ile önlenebilmektedir (Van Egmond, 1983).

2.5.1.4. Fumonisinler

Fusarium verticillioides ve *F. proliferatum* tarafından üretilen fumonisinler 10'a yakın tipi bulunmuştur. Bunların başlıcaları; fumonisin B₁, B₂, B₃ ve B₄ olmak üzere en zehirli ve kanserojenik olanı FB₁'dir. Ayrıca fumonisin kontaminasyonun da %70 B₁, daha sonra B₂, B₃ düzeyleri görülmektedir (Scott, 1993; Pitt, 2000; Doğan ve Tuzcu, 2001; Ayaz ve Yurttagül, 2008; Sabuncuoğlu ve ark, 2008). Mısırdaki bulunma ihtimalleri yüksektir (Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Gevişen rumeninde parçalanmayan Fumonisin B₁'in bağırsakta çok az düzeyde bir emilimi söz konusudur (Fink ve Gremmels, 2008). Süt sığırlarının duyarlılığı diğer hayvanlara göre daha fazladır (Diaz ve ark, 2000). Yapılan çalışmalarda süte geçmediği görülmüş ve insanların fumonisinle karşılaşmalarında sütün önemli olmadığı sonucuna varılmıştır (Van Egmond, 1983; Scott ve ark, 1994; Richard ve ark, 1996).

2.5.2. Penicillium Toksinleri

2.5.2.1. Okratosinler

Aspergillus ve *Penicillium* mantarlarının farklı türlerinin sentezlediği bu mikotoksin; okratoksin A ve B olarak 1965'te *Aspergillus ochraceus*'un K-804 suşu kullanılarak Güney Afrikalı kimyacılar tarafından elde edilmiştir (Fukal, 1990; Karagözlü ve Karapınar, 2000; Sabuncuoğlu ve ark, 2008). Okratoksin üreten küfler oldukça düşük sıcaklıklarda ve soğuk iklim koşullarında iyi aktivite gösterirler (Kaya, 1989). Okratoksin; A, B, C ve D olarak 4 çeşit olarak tespit edilmiştir (Betina, 1989).

Okratoksin çeşitlerinin içerisinde en zehirli olanı okratoksin A olup; mısır, yulaf, çavdar, arpa, buğday, yağlı tohum ve yemlerde yaygın olarak bulunur ve daha az oranlarda da okratoksin B'ye rastlanır (Anonim 1, 2001; Hussein ve Brasel, 2001).

Okratoksin A; geviş getiren hayvanların rumenlerinde önemli oranda okratoksin-α'ya indirgenir. Bu bileşik okratoksin A'dan daha az zehirlidir (Yiannikouris ve Jouany, 2002).

Büyük oranda parçalanmasına rağmen okratoksin A fazla miktarlarda alınması ile sığırlarda zehirlenmelere neden olmakta ve bunun etkileri olarak hayvanda; ishal, sıvı kaybı, su tüketiminde artma, böbrek hasarı ve süt üretiminde azalma görülmektedir. Genç gevişen hayvanlar bu durum karşısında daha hassastırlar (Anonim 1, 2001; Whitlow ve Hagler, 2005).

Okratoksin ile ilgili çalışmalarda; süte okratoksinlerin ve metabolit olan okratoksin- α 'nın geçtiği görülmüştür (Yiannikouris ve Jouany, 2002). İnek sütünde ve özellikle insan sütünde de bulunabilme ihtimali bu mikotoksinin bebekler açısından önemli bir sağlık risk faktörü olduğunu göstermektedir (Van Egmond, 1983; Girgin ve ark, 2001).

2.5.3. Aspergillus Toksinleri

2.5.3.1. Aflatoksinler

Mikotoksin grupları içerisinde en fazla üzerine çalışmalar yapılan aflatoksinlerin keşfi 1960'lara dayanırken, 1962 yılında ise "hepatotoksik" ve "hepatokarsinojen" etkileri tanımlanmıştır (Pohland, 1993).

Filamentli mantarlardan olan *Aspergillus* cinsi üç tür ve iki alt türün oluşturduğu bir mikotoksindir. Bu funguslar; *Asp. flavus*, *Asp. parasiticus*, *Asp. nomius* türleri ve *Asp. flavus* var. *columnaris*, *Asp. parasiticus* var. *globosus* alt türleridir. Her ne kadar; *Penicillium*, *Rhizopus* ve *Streptomyces* küflerinin aflatoksin sentezinden bahsedilse de yapılan çok sayıdaki çalışmalar ele alındığında, sadece iki *Aspergillus* türü ve son dönemlerde de *Asp. nomius*' un bu toksini sentezlediği saptanmıştır. Bu mantarlar içerisinde aflatoksin ürettiği ilk tespit edilen "*Aspergillus flavus*" olmakla birlikte sentezleme üç türün tüm suşlarınca yapılmamaktadır (Tunail, 2000). Dünyanın birçok yerinde, hemen her mevsim koşulunda aflatoksin üreten *Aspergillus* türleri kolayca gelişebilirler. Özellikle; 24-45°C sıcaklık ortamında ve % 9-14 civarı ve üzerinde neme sahip gıdalarda 3-4 gün gibi bir sürede oldukça önemli düzeyde küflenmeye sebep olurlar (Karakaya ve Atasever, 2010). Bu küfler; yem ve yem hammaddelerinde, mısır, pamuk tohumu, yer fıstığı ve hemen hemen tüm tahıllarda bulunabilmekte ve mikotoksin sentezlemektedirler (Anonim 1, 2001; Hussein ve Brasel, 2001; Fink ve Gremmels, 2008). Aflatoksinin yemlerde tespit edilmesinin ardından bunları tüketen hayvanların süt ve ürünlerinde de bu toksinin bulunabileceğinin üzerinde önemle durulmuştur (Allcroft ve Carnaghan, 1963).

Aflatoksinler, vücuda alınmaları durumunda toksik etkileri nedeniyle "aflatoksikozis" adı verilen mikotoksin zehirlenmesine neden olmakta ve bu durum akut veya kronik olarak

görülmektedir (Gürses ve ark, 2002). Toksik etkileri bakımından oldukça zararlı olan aflatoksinlerin, karaciğer kanserinin de nedenlerinden olduğu tespit edilmiştir. Uluslararası boyutta yapılan çalışmalarda, gelişmekte olan ülkelerdeki 4,5 milyona yakın kişinin aflatoksinden kronik olarak etkilendiği ve bu durumun her geçen gün daha da arttığı gözlemlenmiştir (Williams ve ark, 2004).

2.5.3.1.1. Aflatoksinlerin Özellikleri

Aflatoksinler “difurokumarosiklopentenon” ile “difurokumarolakton” gruplarına dahil olmakla birlikte en önemlileri; B₁, B₂, G₁, G₂ ile M₁, M₂’ dir (Steyn, 1995; Sibanda ve ark, 1999; Özkaya ve Temiz, 2003). Bu aflatoksin çeşitlerinin kimyasal yapıları incelendiğinde; AFB₂ toksini AFB₁’ in, AFG₂ toksini AFG₁’ in dihidro formları, AFM₁ ve AFM₂’nin ise AFB₁ ve AFB₂’nin OH bulunduran formları olduğu görülmektedir (Tunail, 2000). Şekil 1’de bu aflatoksinlerin kimyasal yapıları gösterilmiştir. Bu aflatoksin çeşitleri isimlendirilirken Ultraviole ışıktaki (UV) aldıkları renkler belirleyici olmuştur. UV altında mavi renk verenler; AFB₁ ve AFB₂, sarı-yeşil renk ışık verenler; AFG₂ ve AFG₁ olarak adlandırılmıştır. İleri dönemlerde aflatoksin içeren yemleri tüketen hayvanların sütlerinde bu toksinin türevlerinin görülmesi ile süt toksini (milk toxin) olarak aflatoksin M şeklinde isimlendirilmiştir. Çalışmaların devam etmesiyle birlikte AFB₂ ve AFB₁ hidroksi türevleri ortaya çıkmış buna bağlı olarak da AFM₁ ve AFM₂ şeklinde iki ayrı yapı oluşmuştur. Bu toksinlerin sahip oldukları rakamlar ise onların toksik düzeyleri hakkında bilgi vermekte olup; yanında “1” rakamı olanlar yüksek, “2” rakamı olanlar daha düşük toksisiteyi ifade etmektedir (Sert, 1983; Wood 1991; Van Egmond 1994). “2” numaraya sahip aflatoksinlerin bazı hayvanlara karşı toksik etkide olmadığı görülmüştür. Örneğin; AFB_{2a} ve AFB_{2b} toksinleri, aflatoksine en duyarlı olan ördek yavrularında dahi toksisite göstermemiştir (Tunail, 2000).

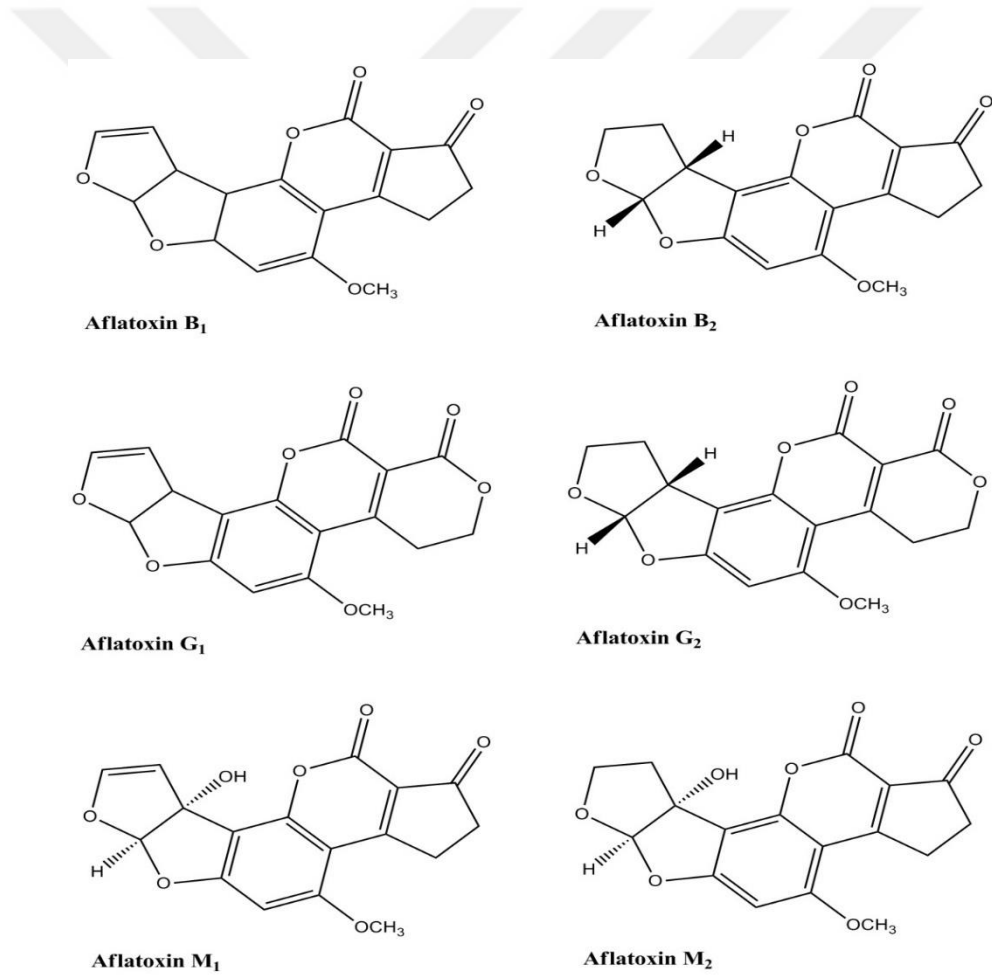
Aflatoksinler; su ve polar özellikteki çözücülerde çözülürken, polar olmayan çözücülerde ise çözünmeleri söz konusu değildir. Ayrıca alkaloidler ve okside edici maddeler aflatoksinleri parçalayabilir, normal işleme sıcaklıklarında ise parçalanamazlar (Erol, 1999). Aflatoksinler hekzan, petrol eteri, izooktan gibi yağ çözücülerinden başka organik çözücülerde (aseton, kloroform, benzol, asetonitril vb.) de çözünürler. Sudaki çözünürlükleri 10-20 mg/l civarındadır (Kaya ve ark, 2002).

Optimal çevre şartlarında aflatoksinler sağlam bir yapıya sahiptirler. Buna göre; 300°C üzerinde 25 dakika pişirmeye tabi tutulan ekmek ve benzer şartlardaki yemlerde bulunan aflatoksin düzeyi ancak % 60 civarında yok olmaktadır (Şanlı, 1995). Aflatoksin içeren

sütlere uygulanan ısıt işlemleri, fermentasyon, kurutma vb. işlemlerde süt ve süt ürünlerindeki AFM₁ varlığını yok edememekte ve bu yüzden özel yöntemler uygulanması ile toksinin uzaklaştırılması düşüncesi önem kazanmıştır (Yousef ve Marth, 1989).

2.5.3.1.2. Aflatoksinlerin Toksisitesi ve Etkileri

Aflatoksinlerin toksisitesi üzerine yapılan çalışmalar; besinlerle alınan bu toksinlerin insanlarda akut ve kronik zehirlenmelere neden olması bakımından üzerinde durulması gereken, yine insan ve hayvanlarda sık görülen toplu zehirlenmelerin sebebi olan, ayrıca kanserojen etkisi de oldukça güçlü bir toksin olduğunu göstermiştir (Şanlı, 1995).



Şekil 1. Aflatoksinlerin kimyasal yapıları

*Santini ve Ritieni (2013) çalışmalarından alınmıştır.

Aflatoksinler metabolizma üzerinde doğrudan etkili olmamakla birlikte, sitozolik ve stokrom P450 sistemleri ile karaciğerde metabolik aktiviteler gerçekleşmesi sonucu epoksit-türevleri (AFB₁-2,3- epoksit) oluşturularak etkili hale gelmektedir. Metabolizma üzerindeki tüm toksik ve karsinogenik etkiler bu yolla gerçekleşmektedir (Kaya ve ark, 2002).

Aflatoksinler; gıda ile alınmasının ardından hücreye oradan da çekirdeğe geçerler ve DNA'ya bağlanırlar, burada çift sarmallı yapıyı kullanarak mRNA sentezleyen RNA polimerazın tutunmasını engelleyerek toksik etkilerini gösterirler (Seyrek, 2001).

Aflatoksin duyarlılığı; at, sığır, domuz, koyun, keçi, köpek, maymun, fare, hindi, tavuk, ördek, Gökkuşluğu alabalığı gibi hayvanlarda oldukça fazladır. Tablo 5 bazı hayvanlarda ağızdan alınan AFB₁'in LD₅₀ değerlerini göstermiştir. Hayvanlar içerisinde, ördek yavruları duyarlılıklarının en fazla olması nedeniyle toksisite araştırmalarında oldukça yaygın kullanılır. Yine ördek yavruları üzerinde yapılan çalışmalarda; toksisitesi en fazla olanlar AFB₁ ve AFB₃ (parasitikol), toksisitesi en az olanlar ise AFG₂ ve AFM₂ olduğu tespit edilmiştir (Tunail, 2000).

Genellikle kümes hayvanlarında günlük beslenmede 20 ppb üzerinde aflatoksin alınmamalıdır, altında olan değerler içine dirençlerinde düşme görülür. Tavuklar genç kuşlara oranla daha yüksek miktarlara direnç gösterebilmelerine rağmen bu düzey 50 ppb' nin üzerine çıkmamalıdır (Ferrer, 2005).

Geviş getirenlerin rumeninde, aflatoksin çok az parçalanır, toksisitesi daha düşük olan aflatoksikole dönüştür ve bu dönüşümün oranı % 10'dur (Yiannikouris ve Jouany, 2002; Fink ve Gremmels, 2008). Yine gevişenlerde bulunan aflatoksin; selülozun sindirimi, uçucu yağ asitleri sentezi ve hareketliliğin azalması gibi rumenlerde fonksiyonel aksamalara neden olurlar (Whitlow ve Hagler, 2004; 2005).

Aflatoksinlerin gıda ve yemlerdeki toksisiteleri üzerine yapılan tüm çalışmalar incelendiğinde; AFB₁ > AFM₁ = AFG₁ > AFB₂ > AFG₂ > AFM₂ şeklinde bir zehirlilik sıralaması ortaya çıkmaktadır. Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda da bu sıranın genel anlamda değişmediği ancak bazı hayvan türlerinde AFM₁'in AFG₁'in, AFM₂'nin de AFG₂'nin önünde veya eşit olduğu görülmektedir (Tunail, 2000).

Aflatoksinlere yüksek miktarda maruz kalındığında akut, sub-letal miktarlarda kronik, düşük ve sürekli miktarlarda ise karsinogen etki görülmektedir. Toksik etki hayvan türüne göre farklılık gösterdiği gibi aynı tür hayvanların gençleri daha duyarlı olmaktadır. Bu etki; alınan miktar ve sıklığın yanında, hayvan cinsi, yaşı, cinsiyeti, beslenme şekli ve sağlıklı olup olmaması ile de yakından ilgilidir (Bullerman, 1986). Diğer yandan riboflavin, ışığa

maruziyet, B12 vitamini, karoten ve protein eksiklikleri toksik etkileri artırmaktadır (Beltz ve Spain, 1998; Kaya ve ark, 2002).

Akut olarak görülen aflatoksikozis için doğrudan hedef organ karaciğerdir. Buradaki hücreler zarar görürken, karaciğer ve safra kanallarında hücre bölünmesi hızlanır, kanama ve sinir sisteminde bozulmalar görülür. Genç hayvanlar başta olmak üzere, yem tüketimi azalır, gelişim durur, hızla zayıflama ve sonuç olarak ölüm görülür (Tunail, 2000).

Kronik etkide; toksisiteye maruz kalma süresi daha uzun ve daha düşük miktarlarda AFB₁ içeren yemleri tüketen hayvanlarda karaciğer kanseri ve deformasyon görülür. Örnek olarak; Gökkuşluğu alabalığında, 0,5-2,0 µg.kg⁻¹ günlük miktarı karaciğer kanseri yapabilirken, ratlarda bu miktar günlük 10-15 µg.kg⁻¹ olarak görülmüştür (Tunail, 2000).

Tablo 5. Bazı hayvanlarda ağızdan alınan AFB₁’in LD₅₀ değerleri

Hayvan türleri	LD ₅₀ mg/kg
Günlük ördek	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
Maymun	2.2-8.0
Kobay	1.0-2.0
At ve tay	2.0
Erkek sıçan: günlük 3 haftalık Ergin	1.0 5.5 7.2
Dişi sıçan: 3 haftalık Ergin	7.4 20.0
Fare	>60.0
Koyun ve keçi	2.0

*Kaya ve ark, 2002’den modifiye edilmiştir.

2.5.3.1.3. Aflatoksin Zehirlenmelerinde Tanı

Metabolizmaya çeşitli yollarla alınan aflatoksinler “aflatoksikozis” adı verilen mikotoksin zehirlenmesine neden olurlar. Özellikle AFB₁’in neden olduğu bu zehirlenme sadece bireysel olarak kişi ya da hayvanı değil toplum ve sürüyü de etkilemektedir (Tunail, 2000; Çelik, 2001; Creppy, 2002). Bu zehirlenmelerde karakteristik olarak ortaya çıkan klinik belirtiler yoktur, fakat gerek klinik gerek patolojik bulgular ve immun sistemin baskılanması

sonucunda oluşan enfeksiyon hastalıkları bir arada değerlendirilerek ilgili tanı konulur (Cassel ve ark, 2001; Blaney, 2002).

Aflatoksinlerin metabolizmaya alınmasının ardından toksik etki derecesi, alınan toksin miktarı, maruz kalınan süre ve hayvanın duyarlılığı; akut, kronik, sub-akut ve karsinojen etkilerin ortaya çıkmasında etkilidir. Hiçbir hayvan türü, akut zehirlenme durumuna karşı direnç geliştirememiştir (Bommakanti ve Waliyar, 1999; Çelik, 2001). İnsanlar, çiftlik hayvanları ve kümes hayvanları aflatoksinlerin toksisitesine karşı oldukça hassastırlar. Düşük miktarlarda kontamine olmuş yemleri tüketen duyarlı hayvanların 72 saatte öldüğü görülmüştür (Cassel ve ark, 2001). Ördek yavruları, civciv, piliç, hindi yavrusu, sülün palazı, tavuklar ve bıldırcınlar aflatoksinlere oldukça duyarlı hayvanlardır. Memelilere bakıldığında sırasıyla; 3 -12 haftalık domuzlar, gebe domuzlar, yetişkin domuz, sığır ve koyunlar gibi bir duyarlılık diziliş görülmektedir. Alabalıklar ve köpekler de aflatoksine karşı oldukça duyarlı olmakla birlikte; alabalıklarda, ppb düzeyindeki miktarlarda dahi karaciğer kanseri görülebilmektedir (Smith, 1997).

Akut toksik etkinin görüldüğü hayvanlarda; ani ölüm veya iştahsızlık, depresif hal, solunum problemleri, burun akıntısı ve kanaması, durgunluk, kanlı ishal, anemi, çırpınmalar, bitkinlik, akut karaciğer hasarı, kapillar damar dayanıklılığında azalma, organlarda kanama ve hızlı ölümler görülmektedir (Kaya, 1989; Çelik, 2001).

Sub-akut bulgulara; karaciğer bozuklukları, sarılık, iştahsızlık, diare, immun sistem baskılanması, hematoma, hipoprotrombinemi, kanamalı barsak yangısı, trombosit miktarında düşüş, kanda pıhtılaşma problemi, kapillar damarlarda çatlak oluşumu, mukoz zar ve boşluklardaki kanamalar tanıyı kolaylaştırır (Kaya, 1989; Cardwell, 1999).

Kronik zehirlenme belirtileri ise; beslenmeme ve buna bağlı gelişme hızında düşüş, vücut kıl örtüsünde bozulma, anemi, sarılık, immun sistemde zayıflama, stresli hal, hafif diare, hayvanlarda yavru atma, süt veriminde düşüş veya kesilme, serum ve karaciğerde A vitamini azalması, protein sentezinde azalma, kanatlılarda yumurtlama ve yavru lamada azalma ve yumurtaların küçülmesi gibi bulgular görülür (Kaya, 1989; Harris ve Staples, 1992).

En kuvvetli toksik ve karsinojenik etkiye sahip aflatoksin olan AFB₁ ilk önce hepatosellüler karsinoma neden olur, bunun yanında mide karsinomu ile kolon adenokarsinomuna da neden olabilmektedir. Diğer aflatoksinlerin etkisi daha az olmakla birlikte; AFG₁ böbrekte, AFB₂ karaciğerde tümörlere neden olmaktadır (Erol, 1999).

Aflatoksikoziste kandaki pıhtılaşma bozukluğu, karaciğeri etkileyerek kanın pıhtılaşmasında bozukluğa neden olan varfarin, dikumarol gibi maddelerin etken olduğu

karbon tetraklorür, pirazolidin alkaloidleri ve kömür katranı zehirlenmeleriyle karıştırılabilmektedir (Çelik, 2001). Aflatoksinlerin tespit edilmesi amacıyla günümüzde HPLC, TLC ve ELISA metodları oldukça yaygındır (Stroka ve Anklam, 2002).

2.5.3.1.4. Aflatoksinlerin Oluşumunun ve Kontaminasyonlarının Önlenmesi

Karsinojenik etkiye sahip olan maddelerin oluşumunun ve bulaşmasının önlenmesi adına farklı yöntem ve teknikler geliştirilse de bu durumun tamamen önüne geçilmesi ne genel olarak ne de aflatoksinler özelinde mümkün görülmemektedir (Tunail, 2000; Abdel-Wahhab ve ark, 2006).

Geçmişten gelen ve günümüzde de devam eden küflenmiş, bozulmuş veya bozulmak üzere olan besin maddeleri ekonomik olarak kayba uğramamak için çeşitli şekillerde değerlendirilmekte ve insan tüketiminde kullanılamayacağına kanaat getirildiği takdirde ise hayvanlara verilerek kullanımlarına yanlış bir şekilde devam edilmektedir. Ayrıca bu durum ekonomik zarara uğramak istemeyen çeşitli üretim yapan yerlerde de tüketime sunulmak maharetiyle ortaya çıkmaktadır. Bu ve benzeri durumlar karşısında insan sağlığını riske atan çeşitli hastalıklar, zehirlenmeler ve mikotoksikozis olaylarının görülmesi kaçınılmaz olmaktadır. Böyle risk teşkil eden durumları ortadan kaldırmak için, özellikle mikotoksikozis özelinde üretim, depolama ve tüketim aşamalarında karşılaşılabilecek durumlara karşı tüketiciler bilinçlendirilmeli, kontrol mekanizmaları etkin bir şekilde işletilmeli, bunların önlenmesinde etkili olan ancak zararlı olmayan doğal veya doğal olmayan katkı maddeleri oluşturulmalıdır (Ezz El-Arab ve ark, 2006).

Aflatoksinler gıdalarda oldukça stabil durumdadır ayrıca termoresistanz özellikle olması nedeniyle pastörizasyon, buharda pişirme, fırında pişirme ve hatta sterilizasyon yöntemlerini kullanarak parçalanmaları söz konusu değildir (Tunail, 2000).

Gıda ve yemlerde aflatoksin oluşumunu önlemek için hammaddenin gelişiminde tarlada, hasat sırasında, depolama, taşıma, işleme, ürün elde edilmesi ve ürün depolama işlemlerinde küflerin kontaminasyon ve gelişiminin önlenmesi için tedbirlerin alınması oldukça önemlidir. Tarlada mikrobiyal açıdan önlem almak zor olmakla birlikte hasattan itibaren sonraki basamaklarda uygulanan hijyen ve sanitasyon önlemleri toksik etkiyi önemli ölçüde engelleyebilmektedir (Özkaya ve Temiz, 2003).

Mikotoksinlerin etkilerini yok etmek ya da bulaşmanın önlenmesi için alınan önlemler fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygulanmaktadır (Miazzo ve ark, 2000).

2.5.3.1.4.1.Fiziksel Uygulamalar

Genel olarak sıcaklık uygulamaları, pH, rutubet durumu, hava, ortam gazları, mekanik işlemler, yıkama, UV, mikrodalga gibi işlemler fiziki olarak önlem alma durumlarıdır (Cassel ve ark, 2001; Herrman, 2002; Schatzmayr ve ark, 2006).

Aflatoksinler mevcut stabil yapısı gereği normal sıcaklık uygulamalarında tartışmaya açık sonuçlar vermektedir. Ancak 200°C'nin üzerine çıkıldığında parçalanma görülmektedir (Whyllie ve Morehouse, 1977; Applebaum ve ark, 1982).

Havadaki oksijen oranında % 10 azalma olması, CO₂ miktarının % 20 civarına gelmesi ve pH 3'ün altında ve 10'un üzerinde olan değerlerde küf gelişimi ve aflatoksin sentezi açısından engelleyici durumlardır (Özkaya ve Temiz, 2003; Ruiqian ve ark, 2004).

Aflatoksin oluşumunun önlenmesi için küflerin gelişebileceği, aflatoksin üretebileceği nem değerlerinin altına inilmesi gerekmektedir. Bu değer % 12-13'ün altındadır (Cassel ve ark, 2001).

Işınlama ile ilgili yapılan ilk çalışma 1971 yılında yapılmış olup *A.flavus*, 1.6-2.4 kGray gama ışınına tabi tutulmuş yaşam şansı % 30 oranında azalmıştır (D'Ovidio ve ark, 2007). Genel olarak ışınlama uygulamaları aflatoksin üzerinde yüzde yüz bir etkiye sahip değildir (Şener ve Yıldırım, 2000). UV ışınların etki güçleri düşük olması nedeniyle gıdalara iyi nüfuz edememekte ve bu yüzden aflatoksinden arınma işlemi olarak istenilen sonuç alınamamaktadır. Ancak UV ışınlarının süt gibi ince tabakaya sahip ürünlerde etkisi daha anlamlı hale gelirken, hidrojen peroksit ile birlikte uygulandığında AFM₁ üzerindeki inaktif edici etkisi artmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

2.5.3.1.4.2. Kimyasal Uygulamalar

Aflatoksinlerin kimyasal yapılarında lakton bağı bulunması nedeniyle özellikle alkali maddelere karşı hassastırlar. NH₃ gazı, amonyak uygulaması vb. alkali uygulamalar küf ve mikotoksin oluşumunu baskılamaktadır (Tunail, 2000). Yemlere % 5 amonyak uygulanıp akabinde 40°C'de bir saat tutulduğunda aflatoksin muhtevası zarar görmektedir ancak bu uygulama ürünlerin duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Kaya ve ark, 2002). Bunun yanında, klor gazı, hidrojen peroksit, sodyum hipoklorit, laktik asit, sorbik asit, asetik asit, benzoik asit, propiyonik asit ve ozon da aflatoksinleri inaktif hale getirir (Tunail, 2000; Cassel ve ark, 2001).

Aflatoksinlere karşı inorganik tuzlarda etkilidir. Örnek olarak; çinko, manganezyum, demir - kadminyum karşımı vb. etki bakımından önemlidir. Ancak kimyasal uygulamalar gıda ve yemlere zarar verebilme potansiyeli nedeniyle daha az tercih edilmektedir (Tunail, 2000).

2.5.3.1.4.3. Biyolojik Uygulamalar

Bu uygulamalar incelendiğinde; mikroorganizmanın yükü, mikrop florası, bitki çeşidi, böcek etkisi, farklı parazit ve mantar türleri ihtivası, çeşitli enzim aktiviteleri ön plana çıkmaktadır (Kaya ve ark, 2002; Akpınar, 2005; Schatzmayr ve ark, 2006).

Mikroorganizma etkisi bakımından *Flavobacterium aurantiacum* üzerinde yapılan çalışmalar ışığında bu mikroorganizmanın aflatoksinleri inaktif etme bakımından oldukça önemli olduğu, sentezlediği asitin; AFB₁'i, 1000 kat daha az mutajen özellikteki AFB_{2a} formuna dönüştürdüğü görülmüştür (Rustom, 1997). Ayrıca *Aspergillus niger* grubuna dahil bir takım mantarlar daha toksik olan AFB₁ ve AFG₁' i, daha az toksik durumdaki AFB_{2a} ve AFG_{2a} formlarına dönüştürürler (Tunail, 2000).

2.5.3.1.5. Aflatoksinlerin İnsan Sağlığına Etkileri ve Yasal Düzenlemeler

Aflatoksinler insan sağlığı üzerinde; akut bozukluklar (öncelikle karaciğerde), sirotik değişiklikler (karaciğer sirozu), karsinomatöz oluşumlar (karaciğer karsinomu), teratojen ve genetik bozukluklar olmak üzere 4 ana etkisi vardır (Erol, 1999).

Aflatoksin B₁ en güçlü karaciğer karsinojenlerinden olması nedeniyle Uluslararası Kanseri Araştırma Merkezi (IARC) aflatoksinleri Grup 1'e yani birinci derece kanserojen maddeler arasına almıştır. Ayrıca AFM₂'i ise insanlar için muhtemel karsinojen madde olarak Grup 2'ye dahil etmiştir (IARC, 1993).

Tayland'da 1967 yılında iki çiftlikte, yediklerinden zehirlenen 26 kişiden 3'ü ölmüş yapılan otopsi ve çalışmalar sonucunda işçilerin yedikleri pirinçteki aflatoksinin (200 µg/kg) buna neden olduğu ortaya çıkmıştır. Bu durum insanlardaki akut aflatoksikozisin en kayda değeri olarak rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada ise 1974'te Hindistan'da görülen 400 kişiye zarar veren ve bunlardan 100 kişinin ölümü ile sonuçlanan aflatoksine bağlı hepatitis vakası görülmüştür. Ayrıca aflatoksinlerin vücuda alımları ile hepatit B ve hepatit C riskleri artar (Krishnamachari ve ark, 1975).

Çocukluk döneminde maruz kalınan aflatoksinler ise miktar ve süreye bağlı olarak o dönemde veya sonraki dönemlerde enfeksiyon bağışıklıklarında azalmaya, kilo kayıplarına

veya gelişme geriliğine neden olmaktadır (Bhat ve Vasanthi, 2003). Çocuklarda kusma, çirpınma, hipoglisemi, böbrek, karaciğer ve kalpte yağ birikimine, beyinde ödem ve koma ile karakterize hatta ölümlü sonuçlanan Reye's sendromunda aflatoksin bulgusu birçok çalışmada öne sürülmüştür (Şener ve Yıldırım, 2000; Özkaya ve Temiz, 2003). Kwashiorkor hastalığı ile ilgili tropik ülkelerde yapılan araştırmalarda çocukların karaciğerlerinde önemli miktarlarda aflatoksine rastlanmıştır (Şanlı ve Kaya, 1992).

Ülkemizde geriatric popülasyon (Ortalama yaş: 72±1.0 yıl, n=37) üzerinde farklı bölgelerde, farklı mevsim ve cinsiyetlere göre serum aflatoksin miktarlarının belirlenmesi için yapılan çalışmada bireylerin tümünde tayin edilebilir düzeyde aflatoksin varlığı tespit edilmiştir. İlgili çalışma hakkında kapsamlı bilgiler Tablo 6'da ve Tablo 7'de verilmiştir (Giray ve ark, 2011).

Yapılan çalışmalar ışığında gelişmekte olan ülkelerde karaciğer kanserinin daha yaygın görüldüğü bunun da aflatoksinler ile paralel ilişki de olduğu tespit edilmiştir (Omaye, 2004).

Aflatoksinler ile ilgili yapılan çalışmalar bu metabolitlerin zararlarını açık bir şekilde ortaya koymaktadır. Bu yüzden ülkemizde "TGK" ile çeşitli gıdalardaki aflatoksin limitleri belirlenmiştir. Tablo 8'de gösterilmiştir. Ayrıca AB'de farklı gıdalarda aflatoksin limitlerini "Kodex Alimentarius" çalışmaları ile tespit edilmiş olup bu limitler Tablo 9'da gösterilmiştir (Kayabaşı, 2015).

Tablo 6. Karadeniz ve Akdeniz bölgelerinde yaşayan kişilerde serum aflatoksin miktarlarının mevsimsel değişimi

	Mevsim	AFB1 (pg/ml)	AFB2 (pg/ml)	AFG1 (pg/ml)	AFG2 (pg/ml)	AF Total (pg/ml)
Karadeniz	Kış (n=21)	234±40	131±19	932±139	241±37	1539±170
	Yaz (n=10)	163±27	46±17	506±51	302±29	1017±82
Akdeniz	Kış (n=16)	123±24	124±11	209±16	136±11	539±55
	Yaz (n=10)	41±4	28±3	262±56	189±20	521±64

*Giray ve ark, 2011 'den alınmıştır.

Tablo 7. Çalışma grubunda bulunan kadın ve erkeklerde serum aflatoksin miktarlarının mevsimsel değişimi

	Mevsim	AFB1 (pg/ml)	AFB2 (pg/ml)	AFG1 (pg/ml)	AFG2 (pg/ml)	AFTotal (pg/ml)
Kadın	Yaz (n=17)	162±30	132±19	504±77	211±33	924±156
	Kış (n=10)	64±12	25±2	319±68	206±25	634±95
Erkek	Yaz (n=20)	194±38	126±15	762±162	159±28	1181±184
	Kış (n=10)	137±28	47±14	426±74	285±26	889±133

*Giray ve ark, 2011 ‘den alınmıştır.

Tablo 8. Türkiye’de aflatoksin limitleri (µg/kg)

NO	ÜRÜNLER	AFB ₁ (µg/kg)	Toplam Aflatoksin (µg/kg)	AFM ₁ (µg/kg)
1	Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) — Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar hariç	8,0	15,0	—
2	Badem, Antep fıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12,0	15,0	—
3	Fındık ve Brezilya fındığı (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) — Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	8,0	15,0	—
4	Sert kabuklu meyveler (Bölüm 2 ve 3’de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8,0	15,0	—
5	Yerfıstığı, diğer yağlı tohumlar ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) --Rafine edilecek bitkisel ham yağ ve rafine bitkisel yağ hariç	5,0	10,0	—
6	Badem, Antep fıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0	10,0	—

7	Fındık ve Brezilya fındığı (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) --Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	5,0	10,0	—
8	Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 6 ve 7’de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	5,0	10,0	—
9	Kurutulmuş meyveler (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0	10,0	—
10	Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 11,14 ve 16’da belirtilenler hariç)	2,0	4,0	—
11	Mısır ve pirinç (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,0	10,0	—
12	Çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	—	—	0,050
13	Baharatın aşağıdaki türleri için; — Kırmızıbiber (<i>Capsicum</i> spp.) (bunların kurutulmuş meyveleri, tüm ve öğütülmüş halleri dâhil) — Karabiber (<i>Piper</i> spp.) (bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dâhil) — Hintceviz/Muskat (<i>Myristica</i> fragrans) — Zencefil (<i>Zingiber</i> officinale) — Zerdeçal (<i>Curcuma</i> longa) Bunların bir veya birkaçını içeren karışım baharat	5,0	10,0	—
14	Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0,10	—	—
15	Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dâhil)	—	—	0,025
16	Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,10	—	0,025

*TGK-Bulaşanlar Yönetmeliğin (2011)’den alınmıştır.

Tablo 9. AB’de kabul edilen maksimum aflatoksin limitleri (µg/kg)

No	Gıda Maddeleri	AFB1 (µg/kg)	ToplamAflatoksin (µg/kg)	AFM ₁ (µg/kg)
1	Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) — Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar hariç	8,0	15,0	—
2	Badem, Antep fıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12,0	15,0	—

3	Fındık ve Brezilya fındığı (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8,0	15,0	—
4	Sert kabuklu meyveler (Bölüm 2 ve 3’de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,0	10,0	—
5	Yerfıstığı, diğer yağlı tohumlar ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) --Rafine edilecek bitkisel ham yağ ve rafine bitkisel yağ hariç	2,0	4,0	—
6	Badem, Antep fıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8,0	10,0	—
7	Fındık ve Brezilya fındığı (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	5,0	10,0	—
8	Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (Bölüm 6 ve 7’de belirtilenler hariç) (doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	2,0	4,0	—
9	Kuru meyveler (Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,0	10,0	—
10	Kuru meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (Doğrudan insan tüketimine veya gıda bileşeni olarak kullanılması düşünülen ve bunların işlenmiş ürünleri)	2,0	4,0	—
11	Tüm tahıllar ve bunlardan üretilen ürünler (12, 15, 17’de listelenen gıdalar hariç)	2,0	4,0	—
12	Mısır ve pirinç (Doğrudan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce sınıflandırma, ayıklama gibi fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5,0	10,0	—
13	Çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	—	—	0,050
14	Baharatların aşağıdaki türleri için ; - Kırmızıbiber (Capsicum spp.) (Bunların kurutulmuş meyveleri, kırmızıbiberin bütün ve toz hali dahil) - Karabiber (Piper spp.) (Bunların meyveleri, akbiber ve karabiber dahil) - Hindistan cevizi (Myristica fragrans) - Zencefil (Zingiber officinale) - Zerdeçal (Curcuma longa)	5,0	10,0	—
15	Tahıl bazlı işlenmiş gıdalar, bebek ve küçük çocuk gıdaları	0,10	—	—
16	Bebek sütleri ve takip sütü de dahil olmak üzere bebek formülleri ve takip eden formülasyonlar	—	—	0,025
17	Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,10	—	0,025

*EUR-LEX 2010’dan modifiye edilmiştir.

2.6. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin ve İlgili Çalışmalar

Aflatoksinlerin asıl bulunma ortamları bitkisel ürünler olmasına rağmen et, süt, yumurta gibi hayvansal ürünlerde de bulunabilmektedirler (Çoksöyler, 1987; Bullerman, 1979; Tunail, 2000). Bunlardan özellikle süt ve süt ürünlerinde görülen AFM₁'in insan sağlığına etkisi bulunma durumuna ve miktarına göre risk teşkil etmektedir (Bennett ve Klich, 2003).

Süt ve ürünlerinde aflatoksin bulunma durumu iki farklı yolla gerçekleşmektedir. İlki aflatoksin B₁ ve B₂ içeren yemler ile beslenen hayvanların metabolik reaksiyonları sonucunda bu toksinlerin aflatoksin M₁ ve M₂'ye dönüşmesi; diğer durum ise süt ve süt ürünlerinin küflerle çeşitli proses aşamalarında kontaminasyonu sonucunda bu toksinleri üretmesi şeklinde gerçekleşmektedir (Bakırcı, 2001 ve Çetin, 2004).

Süt ve süt ürünlerinde aflatoksinler hakkında özellikle de AFB₁ dönüşümü üzerine yapılan çalışmalarda, yemde bulunan AFB₁'in hayvan yemi tükettikten 6-24 saat gibi bir sürede AFM₁ olarak sütte görüldüğü, 12-48 saatte en üst seviyeye ulaştığı görülmektedir. Yem alımının kesilmesinin ardından 72-96 saat sonrasında sütte AFM₁ düzeyinde azalma görülmektedir (Van Egmond, 1989). AFB₁'in genelde sütte AFM₁ olarak görülme aralığı % 0,8-2,2 olup bazı çalışmalarda ise süte geçiş oranının % 6 civarlarında olabileceği belirlenmiştir. Bir başka çalışmada yemde 20 g/kg AFB₁ bulunması durumunda sütte 0,06 g/kg AFM₁ tespit edilmiştir. Yine Stubblefield ve ark, (1983); süt sığırlarına 3 gün süresince 0,35 mg/kg AFB₁'i vererek sütte 0,1 µg/kg AFM₁ rapor etmişlerdir. Bu aflatoksin geçiş düzeylerine hayvan cinsi, laktasyon dönemi ve süt miktarı etki edebilmektedir (Van Egmond, 1989; Hui, 1992; Pittet, 1998; Oruç ve Sonal, 2001).

Aflatoksinlerin süt ve ürünlerinde görülme düzeyleri ülkelere, bölgelere, mevsimlere ve iklim değişikliklerine göre farklılık göstermektedir. ABD'nde 1979 ve 1988 yılları arasında yapılan araştırmalarda peynir, yoğurt, dondurma ve yağsız kuru krema numunelerinden sadece peynir % 0,4 AFM₁ bulundururken, yine bu dönemde Hollanda'da yapılan çalışmalarda sütlerde % 80, peynir örneklerinde % 85,5 AFM₁ tespit edilmiştir (Oruç ve Sonal, 2001). Kışın süt ve ürünlerinde görülen aflatoksinlerin miktarı, yaz ve bahara göre daha fazla olmakta ve yapılan çalışmalarda bu durum bir faktör olarak göz önüne alınmaktadır (Kamkar, 2004; Birdane ve ark, 2006). Çin'in Tangshan bölgesinde 2012-2014 yılları arasında yapılan her dört mevsim için analiz edilen 530 süt örneğinden 280 örnekte (% 52,8) ortalama 73 ng/l AFM₁ tespit edilmiş olup bu yıllar boyunca mevsimlere dağılımı; ilkbahar için % 27,5, yaz döneminde % 39, sonbaharda % 71,7 ve kışın bu oran % 78,9 düzeyine

çıkmiştir. Bu çalışmada sütlerde AFM₁ miktarının mevsimlere göre değiştiğini özellikle kış aylarında artış içerisinde olduğunu göstermiştir (Guo ve ark, 2016).

Sütlerde görülen aflatoksinler bu sütlerin çeşitli ürünlere işlenmesi sonucunda belli düzeylerde bu süt ürünlerine de geçerler. Ayrıca ürüne işleme sırasında uygulanan; soğukta muhafaza, dondurma, ısı ile muamele, kurutma, fermentasyon, pastörizasyon gibi işlemlerinde AFM₁ düzeyine etki ettiğine dair kesin bir bulguya ulaşılmamıştır (Van Egmond, 1989; Oruç ve Sonal, 2001). Bir çalışmada AFM₁ içerdiği tespit edilen sütlerle pastörizasyon, sterilizasyon, evaporasyon işlemleri uygulanmış sütlerde görülen AFM₁ düzeyleri % 32-86 oranında azalmış, daha yukarı derecelerdeki ısı işlemlerde incelendiğinde ise AFM₁ üzerinde herhangi etki göstermediği görülmüştür (Purchase ve ark, 1972). 1999'da Portekiz'de yapılan bir çalışmada; 31 çiğ sütün % 80,6 civarında AFM₁ içerdiği, 70 UHT sütünde % 84,2'sinde AFM₁ bulunduğu rapor edilmiştir (Martins ve Martins, 2000). Rama ve ark, (2015); Kosova Piriştina'da 178 süt örneğini bunlardan 84 pastörize ve 94 UHT olmak üzere çalışmış; pastörize sütlerin % 83,3'ünde, UHT sütlerinde % 78,7'sinde AFM₁ varlığı izlenmiştir.

Sütün işlendiği ürünlerden en fazla risk altında olanlar peynir ve süt tozudur. Peynirler özellikle risk altında olup birden fazla küf ile kontamine olabilmekte ve olgunlaşma dönemlerine bağlı olarak kabuk bölgesinde görülen küf gelişimi türüne göre 6-8 cm derinlikte mikotoksin oluşturabilmektedir. Peynirlerin +4⁰C'de muhafazası ile bu durum önlenabilir ya da ilerleme durdurulabilir. Sütlerde AFM₁ bulunması durumunda bu sütler peynire işlendiğinde AFM₁ telemeye ve peynir altı suyuna geçmekte olup bu düzey süte göre % 3,2-3,7 miktarında artış gösterebilmektedir. Ayrıca bazı araştırmalar aflatoksinlerin süttten peynir suyuna geçiş düzeylerinin % 50-74 arasında olduğunu göstermiştir. İspanya'da 35 peynir örneğinden 16 tanesinde (% 44,7) AFM₁ bulunmuş, düzeyleri 20-200 ng/g aralığında rapor edilmiştir (Dağoğlu ve ark, 1995; Barrios ve ark, 1996; Tunail, 2000). AFM₁ oranlarının peynir ve peynir altı suyunda farklılık arz etmesi, peynir tipi ve proses şeması, peynirin yumuşak veya sert olma durumu, bulaşma miktarı, kazein miktarı, lipolitik etki, kullanılan ısı işlemler, proteolizis, ışık maruziyeti vb etkenlerden kaynaklanmaktadır (Dosako, 1980; Yousef ve Marth, 1989).

Ülkemizde de gerek yöresel gerek endüstriyel peynirlerde AFM₁ mevcudiyeti ve miktarı ile ilgili çalışmalar yaygındır. Hataş'da 1980 tarihinde 13 küflü çökelek peynirinde aflatoksine rastlanmamış olup, Konya ve çevresinde doğal olarak üretilen küflü peynirlerden 140 örnek alınmış ve bunların izolatlarında % 8,45 *Aspergillus flavus* tespit edilmesine rağmen hiçbir numunede aflatoksinler ve penisilik asit görülmemiştir (Tunail, 2000). Diyarbakır örgü peynirinde yapılan bir çalışmada örneklerin % 46,67'sinde AFM₁ görülmüş

ancak bunların sadece % 1,44'inin yasal limitlerin üzerinde olduğu belirlenmiştir (Erkan ve ark, 2009).

Süt tozunda yapılan araştırmalara bakıldığında AFM₁ düzeyi 8 katına çıkabilmektedir. İlgili bir çalışmada 166 numunede kontamine olan % 4,8 iken aflatoxin miktarı 0,67-2,0 µg.kg⁻¹olarak tespit edilmiştir (Tunail, 2000). Süt tozunda AFM₁ varlığı ile ilgili Arjantin ve Brezilya'da yapılan araştırmalarda 0,1-0,92 µg/kg dolaylarında AFM₁ kaydedilmiştir (Londoño ve ark, 2013).

Yayık ayranı ve tereyağlarında bazı araştırmalarda 25 ng/kg'ın altında aflatoxinlere rastlanmasına rağmen bunlar herhangi bir probleme yol açabilecek miktarlar değildir (Tunail, 2000). AFM₁ içeren kremadan elde edilen tereyağında yapılan bir çalışmaya göre; % 60 yayık altında, % 30 yıkama suyunda ve % 10'dan az olarak da süt yağında AFM₁ gözlenmiştir (Applebaum ve ark, 1982). Bir görüşe göre tereyağı üretimi esnasında yağ parçacıklarının etrafında bulunan protein yapıdaki membran parçalanmakta serum faz oluşmaktadır. Böylece Aflatoxin M₁; kimyasal özelliği ve oluşan kazeine duyarlılığa göre protein yapıya bağlanmakta bu nedenle krema tereyağından daha fazla oranda AFM₁ içermektedir (Bakırcı, 2001).

Yoğurtta aflatoxinlerin varlığı ve miktarı üzerine yapılan çalışmalarda ise ya sabit kaldığı ya da elde edilen süte göre artma durumunda olduğu belirtilmiştir. Aflatoxin ihtiva eden süttten yapılan yoğurtun kullanıldığı bir çalışmada, yoğurt elde edildikten sonra AFM₁ oranında % 20 artış olmuş, 3-7. günlerde başlangıç AFM₁ miktarına eşit ve 12-21.günlerde ise başlangıçtaki miktara bakarak % 9 düşüş görüldüğü tespit edilmiştir. Bu depolama esnasındaki miktarın değişmemesi veya düşmesi kazeinin AFM₁ ile ilişkisine bağlanmıştır (Blanco ve ark, 1993). Ayrıca yoğurttaki aflatoxin değişimlerine üretimde kullanılan starter kültürler, imal edilen sütün bileşimi ve uygulanan ekstraksiyon yöntemi de etki etmektedir (Wiseman ve Marth, 1983).

Sütün ihtiva ettiği AFM₁'in süt ürünlerine geçiş düzeylerinin ve bunun hangi üründe daha fazla olabileceğinin araştırıldığı başka bir çalışmada Kore'de yapılmıştır. Kontamine süttten elde edilen aromalı süt, içilebilir haldeki yoğurt, süt tozu, dondurma ve süt şerbeti numuneleri incelenmiş, en fazla AFM₁ barındıran ürün % 74 ile süt tozu olduğu, daha sonra % 36 dondurma, % 14 yoğurt, % 6 aromalı süt ve % 6 ile şerbet sıralanmıştır. Ayrıca çok az miktarlarda da AFM₂ tüm örneklerde rapor edilmiştir (Donghun ve Kwang-Geun, 2015).

Lübnan'da emziren annelerin sütünde AFM₁ varlığı ile ilgili yapılan bir çalışmada; Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından ilgili annelere yarı kantitatif bir diyet programı uygulanarak bu emziren annelerden 111 örnek toplanmıştır. Aralık 2015 ile Kasım 2016

zaman aralığında örnekler analize tabi tutulmuştur. Buna göre; örneklerin % 93,8'inde 0,2-7,9 ng/l AFM₁ tespit edilmiştir. Emziren annelerin sütündeki AFM₁ miktarının et ve tahıl ile değil günlük tüketilen beyaz peynirden kaynaklandığı belirlenmiş ve günlük doz kişi başına 0,69 ng olarak rapor edilmiştir (Elaridi ve ark, 2017).

Yapılan tüm bu çalışmalar göstermiştir ki, yemlerden canlıya ve süte, kontamine süttten elde edilen süt ürünlerine AFM₁ varlığı ve geçişi söz konusu olabilmektedir. Süt ve ürünlerindeki AFM₁ özellikle bebekler, çocuklar, yaşlılar, hastalar başta olmak üzere tüm insanlar için uzun ve kısa dönemde tehlike arz etmektedir. Buna bağlı olarak önlem ve kontrol etme amaçlı farklı ülkeler ve ilgili kuruluşlar AFM₁'in süt ve süt ürünlerinde bulunabileceği maksimum limitleri belirlemişlerdir (Tunail, 2000; Oruç, 2003). Tablo 10'da bazı kuruluş ve ülkelerin süt ve süt ürünlerindeki AFM₁ yasal limitleri verilmiştir.

Tablo 10. Bazı kuruluş ve ülkelerin süt ve süt ürünlerindeki AFM₁ yasal limitleri (µg/kg)

Kuruluş ve Ülkeler	Ürün	AFM ₁ limitleri (µg/kg)
WHO	Süt	0.05
AB	Süt	0.05
	Süt tozu	0.5
Türkiye	Süt ve ürünleri	0,05
ABD	Süt ve ürünleri	0,5
Brezilya	Süt ve ürünleri	0,5
Rusya	Süt ve süt ürünleri	0,05
	Çocuk ürünleri	0
İsveç	Sıvı süt ürünleri	0,05
Almanya	Süt	0,05
	Süt bazlı bebek ve çocuk ürünleri	0,01
Hollanda	Süt ve diğer sıvı süt ürünleri	0,05
	Peynir	0,2
	Tereyağı	0,02
İsviçre	Süt, Süt tozu, Kondanse süt	0,05
	Bebek sütü	0,01
Avusturya	Çocuk ve bebek pastörize sütleri	0,01
	Diğer sütler ve süt ürünleri	0,05
	Tereyağı	0,02
	Peynir	0,25
Polonya	Süt ve ürünleri	0
Belçika	Süt, süt tozu, kondanse süt	0,1
Romanya	Süt ve süt ürünleri	0
Arjantin	Süt ve süt tozu	0,05
	Süt ürünleri	0,5
Fransa	Süt	0,05
	3 yaş altı çocuklar için sütler	0,03
Mısır	Süt ve ürünleri	0
Nijerya	Süt	1
İran	Süt	0,50
Avustralya	Çocuk sütlerinde	0,02

*EUR-LEX, 2010; TGK, 2011; Domagalaj ve ark, 1997; Oliveria ve ark, 2013; Mohammadi, 2011; Govaris ve ark, 2001; Oruç ve Sonal, 2001 yararlanarak oluşturulmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırma Materyali

Bu çalışmada, Mayıs-Eylül 2017 tarihleri arasında Aydın ili ve çevresinde bulunan çeşitli işletmelerdeki klinik mastitisli 90 adet inekten aseptik ve tekniğine uygun olarak 20'şer ml olmak üzere steril kaplara süt numunesi alındı. Alınan numuneler soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirilerek *Aspergillus flavus* M₁ toksininin varlığı yönünden incelendi.

3.1.2. ELISA Test Kiti

3.1.2.1. Veratox® for Aflatoxin M₁ (Neogen®, Scotland, Lot: 247807)

Alt Algılama Limiti:	4,3 ppt
Ölçüm Aralığı:	5–100 ppt
Kullanılan kontrollere:	0, 5, 15, 30, 60 ve 100 ppt
Test süresi:	45 dakika
Antikor kros reaksiyon:	Aflatoxin M ₁ % 100; Aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , M ₂ < % 1
Kit başına test sayısı:	88

Süt örneklerindeki *Aspergillus flavus* M₁ toksininin varlığının araştırılması ELISA tekniği ile Veratox for Aflatoxin M₁ test kiti (Neogen®, Scotland) kullanılarak gerçekleştirildi. Analiz prosedürü üretici firmanın talimatları doğrultusunda uygulandı.

3.1.2.2. Pozitif Kontrol

Araştırmamızda pozitif kontrol olarak Anabilim Dalı stoklarında bulunan *Aspergillus flavus* ATCC® (16883) kullanıldı.

3.1.3. PCR

3.1.3.1. Kullanılan Cihazlar

PCR işlemi 96 örnek kapasiteli ABI GeneAmp PCR System 9700 termal döngüleme cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.1.3.2. Solüsyonlar

3.1.3.2.1. TBE (Tris, Borik Asit, EDTA, pH: 8.0) Buffer

10X TBE Stok Solusyonu

Tris Base.....	121,1 g
Borik Asit	61,83 g
EDTA	5,84 g

Distile su ile hacim 1000 ml'ye tamamlanarak 121 °C'de 15 dk otoklav edilip, pH: 8.0 ayarlanarak buzdolabında saklandı.

0,5X TBE Kullanma Solusyonu

10X TBE.....	50 ml
Distile su.....	950 ml

Karıştırılarak solusyon hazırlandı.

3.1.3.2.2. Jel Loading Buffer (6X)

Bromfenol Mavisi.....	25 mg
Sükroz	4 g
H ₂ O	10 ml

Karıştırılarak solusyon hazırlandı.

3.1.3.2.3. Tris (1M)

Tris Base	121 g
-----------------	-------

Tris Base 800 ml distile suda eritilip, yaklaşık olarak 60 ml HCl asit ilave edilerek pH: 7.6'ya ayarlanarak karışım 1000 ml'ye tamamlandı. 121 °C'de 15 dk otoklav edildi.

3.1.3.2.4. TE Buffer (10 mM tris, 1mM EDTA)

Tris (1M)..... 10 ml

EDTA(0,5 M)..... 2 ml

Karıştırıldıktan sonra karışım 1000 ml distile su ile tamamlandı.

3.1.3.3. MgCl₂, Taq DNA Polimeraz, 10X Taq Buffer, dNTP Set

25 mM MgCl₂, Taq DNA polimeraz (5U), 10X Taq buffer (100 mM, Tris-HCl, pH: 8.3, 500 mM KCl), 100 mM deoksinükleotidtrifosfat (dNTP) set (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (Fermentas®) kullanılmıştır.

3.1.3.4. 2X Taq Master Mix (Vivantis®)

2X konsantrasyonda Taq DNA polymerase (0,05 u/μl), 2X Vi buffer A (100 mM KCl, 20 mM Tris-HCl, pH: 9.1, 20°C’de) ve (0.02% Triton™ X-100), 0,4 mM dNTPs ile 3,0 mM MgCl₂ içermektedir.

3.1.3.5. Primerler

PCR işleminde *Aspergillus flavus*’a spesifik FLA1 (5’ GTAGGGTTCCTAGCGAGCC 3’) ve FLA2 (5’ GGAAAAAGATTGATTGCGTTC 3’) primerleri kullanılmıştır.

3.1.4. Elektroforez

Elektroforez işlemi Thermo marka, elektroforez tankında, görüntüleme işlemi Vilber Lourmat marka görüntüleme cihazında gerçekleştirildi.

3.1.4.1. Agarose Jel Hazırlanışı

Agarose (Sigma®)..... 1,5 veya 2 g

TBE (0,5X)100 ml

Buffer, şişe içerisindeki agarozun üzerine ilave edilip, karıştırıldı ve mikrodalga fırında yaklaşık 3-5 dk kaynatılan karışım, 40-50°C’ye kadar soğutuldu. Halen sıvı halde olan

karişım, jel kalıbının içerisine yavaşça, kabarcık bırakmayacak şekilde dokld ve içerisine yükleme kuyucuklarını oluşturacak olan taraklar yerleştirilerek, 15-20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Soğutulan jel, kalıptan çıkarılarak, elektroforez tankına dikkatlice yerleştirildi.

3.1.4.2. Marker

Marker olarak 100 bp'lik DNA ladder (Fermentas®) kullanıldı.

3.1.4.3. Ethidium Bromid

Elektroforez işleminden sonra görüntüleme için jelin boyanmasında Sigma marka % 1'lik Ethidium bromid 500 ml 0,5X TBE ile hazırlanan % 1,5'lik agaroz jelin içerisine 5µl miktarında eklenerek kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Veratox® for Aflatoxin M₁ (Neogen®) ELISA Prosedürü

Aseptik şartlarda alınan ve soğuk zincirde laboratuvara getirilen klinik mastitisli süt numuneleri ticari kitin prosedüründe (Veratox® for Aflatoxin M₁; Neogen®, Scotland, Lot: 247807) belirtilen şekilde hazırlanarak süt örneklerinden yağın ayrılması için 10°C'de 3500 rpm (2740×g)'de 10 dakika sanrifj edildi. Santrifüj işleminden sonra yağdan arındırılmış süpernatant toplandı. Elde edilen süpernatant ELISA testinde kullanıldı. Kırmızı işaretli kariştırma kuyucuklarına kontrollerden ve örneklerden sırasıyla 250 µl eklendi. Kariştırma kuyucuklarından antikor kaplı kuyulara 100 µL aktarıldı. Mikropleyt otomatik pleyt çalkalayıcıya yerleştirildi ve oda sıcaklığında 20 dakika sürekli çalkalama yapıldı. Antikor kuyucuklarındaki karişım boşaltıldı. Kuyucuklar seyreltilmiş yıkama tamponu ile iyice yıkandı ve 5 defa yıkama tekrarlandı. Emici kağıt üzerine nazikçe vurularak kuyucukların tamamen boşaldığına emin olundu. Reaktif karişım kabından 100 µL konjugat kuyucuklara aktarıldı. Mikropleyt otomatik pleyt çalkalayıcıya koyuldu ve oda sıcaklığında 10 dakika sürekli çalkalama yapıldı. Antikor kuyucuklarındaki karişım boşaltıldı. Kuyucuklar seyreltilmiş yıkama tamponu ile iyice yıkandı ve 5 defa yıkama tekrarlandı. Emici kağıt üzerine nazikçe vurularak kuyucukların tamamen boşaldığına emin olundu. Reaktif karişım kabından 100 µL substrat kuyucuklara aktarıldı. Mikropleyt otomatik pleyt çalkalayıcıya

koyuldu ve oda sıcaklığında 15 dakika sürekli çalkalama yapıldı. Reaktif karışım kabından 100 µL kırmızı stop solüsyonu kuyulara aktarıldı. Mikropleyt düz bir zeminde öne ve arkaya doğru kaydırarak karıştırıldı. Sonuçlar ELISA cihazı okuyucusunda (Thermo® MultiSkan) 650 nm filtre kullanılarak okundu ve sonuçlar kontrol standartlarına göre değerlendirildi. Pozitif numuneler için Avrupa Birliği ülkelerinde çiğ sütler için kabul edilen sınır 50 ppt AFM₁'dir.

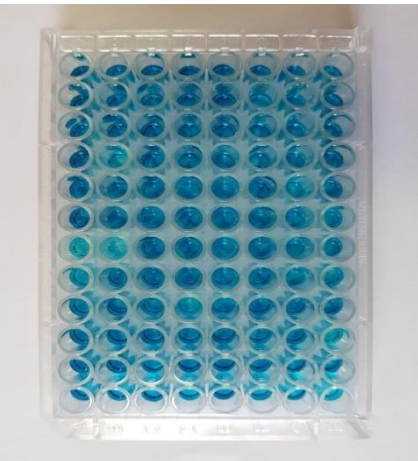
ELISA testi aşamasında kullanılan kit, yıkama ve okuyucu cihazı, mikropleyt görüntüleri Resim 3, Resim 4, Resim 5 ve Resim 6'da gösterilmiştir.



Resim 3. ELISA kiti



Resim 4. Otomatik Mikropleyt Yıkayıcı



Resim 5. Mikropleyt



Resim 6. ELISA Okuyucu cihaz

3.2.2. DNA Ekstraksiyonu

Araştırmamızda klinik mastitisli sütlerin santrifüj edilmesi ile elde edilen peletlerin PCR’da kullanılmak üzere DNA ekstraksiyonu Fermentas® DNA ekstraksiyon kiti ile gerçekleştirildi.

Fermentas® DNA Isolation Kit Prosedürü:

*Santrifüj yapılarak elde edilen pelet 400 µl lizis solusyonu ile süspanse edildi. 65°C’de 5 dakika inkübe edildi.

*600 µl kloroform ilave edildikten sonra 10 000 rpm’de 2 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant atıldı.

*800 µl presipitasyon solusyonu pelet üzerine ilave edildikten sonra oda sıcaklığında 1-2 dakika karıştırıldı.

*10 000 rpm’de 2 dakika santrifüj edildikten sonra DNA içeren pelet 1,2 M NaCl solusyonunda çözündürüldü.

*300 µl etanol eklendikten sonra 10 dakika -20°C’de bekletildi. 10 000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildikten sonra % 70’lik etanol ile yıkandı. Daha sonra 100 µl steril distile suda çözüldü. Her bir PCR reaksiyonu için 5 µl template DNA kullanıldı.

3.2.3. PCR

3.2.3.1. *Aspergillus flavus* Tür Spesifik PCR

Araştırmamızda klinik mastitisli sütlerden elde edilen DNA örnekleri ile *Aspergillus flavus* tür spesifik PCR işlemleri, Salgado ve ark (2008) tarafından bildirilen protokole göre yapıldı.

Master mikslerin hazırlanışı:

Aspergillus flavus varlığının aranması için yapılan PCR reaksiyonlarında bir örnek için PCR amplifikasyonu 25 µl toplam hacimde, son konsantrasyon 2,5 µl 10X PCR buffer, 1 µl 50 mM magnezyum klorür (MgCl₂), 0,25 µl 100 mM dNTP, 1,25 µl primer (her biri için 20 µM), 1U Taq DNA polimerase ve 3 µl (10 pg-10 ng) template DNA olacak şekilde gerçekleştirildi. Kullanılan malzemeler ve hacimleri Tablo 11’de belirtilmiştir.

Tablo 11. *Aspergillus flavus* için mastermiks hazırlanma miktarları

Malzeme (Ticari)	Kullanılan Hacim
Tag Buffer (100 mM KCl)	2,5 µl
MgCl ₂ (50 mM)	1 µl
dNTP (100 mM)	0,25 µl
<i>A. flavus</i> Primer F (20 µM)	1,25 µl
<i>A. flavus</i> Primer R (20 µM)	1,25 µl
Taq Polimeraz (5U)	0.2 µl
ddH ₂ O	Son Volüme Tamamlanır
Template DNA (100 ng)	3 µl
TOPLAM	25 µl

* Salgado ve ark, 2008'den modifiye edilmiştir.

Mastermiksler hazırlandıktan sonra 0,2 ml'lik tüpler, örnek adedi kadar numaralandırılıp, içlerine 22'şer µl hazırlanılan mastermiks ilave edildi. Daha sonra, ekstraksiyonu yapılan DNA'lardan 3'er µl alınıp, ilgili tüplerin içine eklendi ve ağızları sıkıca kapatıldı. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenip, programlandı. 16S rRNA analizlerinde kullanılan PCR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı Tablo 12'de gösterilmiştir.

Tablo 12. *Aspergillus flavus* tür spesifik PCR işlemlerine ait ısı döngü ve süre diyagramı

Basamak	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süresi
Başlangıç Denatürasyon	1	95°C	5 dk
Denatürasyon	26	95°C	30 sn
Bağlanma		58°C	30 sn
Uzama		72°C	45 sn
Son Uzama	1	72°C	5 dk
Bekletme	1	4°C	∞ dk

* Salgado ve ark, 2008'den modifiye edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. ELISA Bulguları

Araştırmamızda, Mayıs-Eylül 2017 tarihleri arasında Aydın ili ve çevresinde bulunan çeşitli işletmelerdeki klinik mastitisli 90 adet inekten aseptik ve tekniğine uygun olarak 20'şer ml olarak süt örnekleri laboratuvar analizleri yapılmak üzere soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi. Laboratuvara getirilen süt örnekleri Aflatoxin M₁ ELISA test kitinde kullanılmak üzere hazırlandı. Aflatoxin M₁ ELISA sonuçları 0 ppt, 5 ppt, 15 ppt, 30 ppt, 60 ppt ve 100 ppt içerikli pozitif kontroller ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

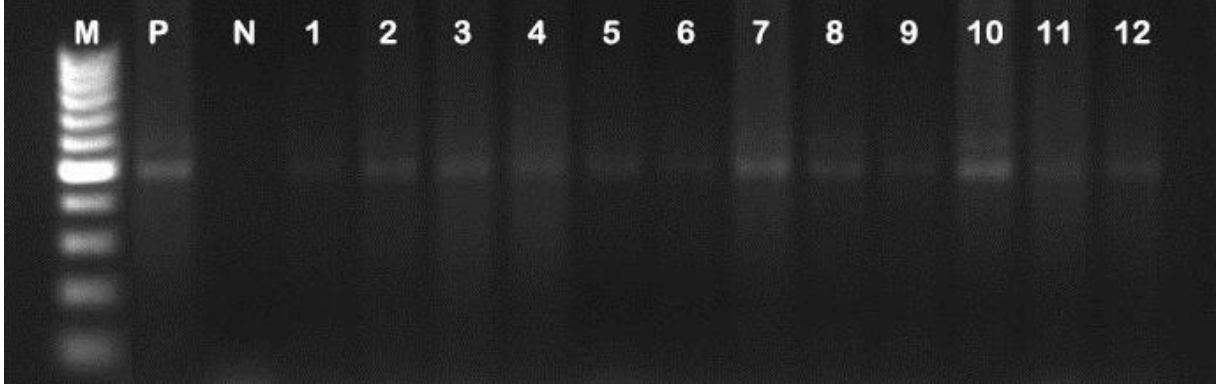
Araştırmamızda 88 örnek Aflatoxin M₁ ELISA kiti ile incelendi. İki örnek yapısal deformasyonlardan dolayı araştırma dışında bırakıldı. Yapılan Aflatoxin M₁ ELISA sonucunda incelenen örneklerin 7 (% 8,0)'sinde 5 ppt, 12 (% 13,6)'sinde 15 ppt, 32 (% 36,4)'sinde 100 ppt, 37 (% 42,0)'sinde ise 0 ppt düzeylerinde Aflatoksin M₁ tespit edilmiştir (Tablo 13). Örneklerimizin 32 (% 36,4)'sinde Avrupa Birliği ülkelerinde çiğ sütler için kabul edilen sınırın (50 ppt) üzerinde AFM1 pozitifliği saptanmıştır.

Tablo 13. Aflatoksin M₁ ELISA bulguları

İncelenen Mastitisli Süt Örneği Sayısı	Aflatoksin Düzeyleri					
	0 ppt	5 ppt	15 ppt	30 ppt	60 ppt	100 ppt
88	37	7	12	-	-	32

4.2. PCR Bulguları

Araştırmamızda Aflatoxin M₁ ELISA kiti ile incelenen 88 adet mastitisli süt örneğinden elde edilen DNA'lar *Aspergillus flavus* tür spesifik PCR işlemine tabi tutuldu. Yapılan PCR sonucunda 88 örneğin 19 (% 21,6)'unda *Aspergillus flavus*'a spesifik 500 bp bant aralığında pozitiflik saptanmıştır (Resim 7).



Resim 7. *Aspergillus flavus* PCR bant görüntüsü M: Marker, P: *Aspergillus flavus* ATCC® (16883) Pozitif Kontrol, N: Negatif Kontrol, 1-12: *Aspergillus flavus* Pozitif Örnekler

Araştırmamız bulguları incelendiğinde, ELISA ile 32 örnekte 100 ppt düzeyinde AFM₁ pozitifliği saptanırken, PCR ile 19 örnekte pozitiflik saptanmıştır. PCR pozitif örneklerimizin ELISA sonuçlarına göre değerlendirmesi yapıldığında 7 (% 36,8)'sinde 0 ppt, 1 (% 5,2)'inde 5 ppt, 2 (% 10,5)'sinde 15 ppt ve 9 (% 47,5)'unda 100 ppt düzeyinde Aflatoxin M₁ toksin varlığı belirlenmiştir. PCR pozitif örneklerimizin sadece 9 (% 47,5)'u ELISA ile de AFM₁ pozitifdir.

5. TARTIŞMA

Süt özellikle bebekler ve çocuklar olmak üzere tüm insanların beslenmesinde ana besin kaynağıdır. Bu önemli husus dikkate alındığında süt ve ürünlerinde AFM₁ varlığı global bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Sütteki AFM₁ düzeyi coğrafi bölgeye, gelişmişlik derecesine, iklimatik koşullara göre değişebilmektedir. Süte uygulanan sıcaklık, konsantre etme, kurutma veya ürüne işleme gibi uygulamalar üründeki AFM₁ konsantrasyonunda belirgin bir değişikliğe neden olmamaktadır. Bu durum birey ve halk sağlığı açısından aflatoksinlerin bulunma ihtimali olan tüm gıdalarda ve bu çalışmada belirtildiği üzere bulunması muhtemel olan süt ve ürünlerindeki AFM₁ seviyesini belirlemeyi, ilgili yasal limitler ile karşılaştırmayı gerekli kılmaktadır (Prandini ve ark, 2009; Picinin ve ark, 2013; Majid, 2016).

Dünyada ve ülkemizde farklı tekniklerin kullanılması ile süt ve ürünlerinde AFM₁ tespiti ve seviyesini belirlemeye yönelik çalışmalar yapılmıştır. Ancak süt gibi ürünlerde sağlamış olduğu kullanım kolaylığı, ön işlemlerin çok fazla azalması, işlem kısıtlılığı, yüksek hassasiyet ve basit uygulanabilmesi gibi nedenlerden dolayı ELISA yöntemi sütte AFM₁ konsantrasyonunu belirlemede yaygın olarak kullanılmaktadır (Tunail, 2000; Majid, 2016).

ELISA yöntemi ile süt ve ürünlerinde AFM₁ varlığı ve düzeyinin belirlenmesi ile yapılan çalışmalar incelendiğinde oldukça değişken bulgular göze çarpmaktadır. İspanya’da 92 çiğ süt örneğinde AFM₁ tespit etmek amacıyla uygulanan bir çalışmada bu örneklerden 5 tanesi (% 5,4) pozitif görülmüş, fakat miktar bulunamamıştır (Velasco ve ark, 2003). Endonezya’da 113 çiğ süt örneği üzerinde çalışılmış, bunlardan 65 (% 57,5) örnekte AFM₁ varlığı görülmüş ortalama değer 0,009 µg/kg olarak tespit edilmiştir (Nuryono ve ark, 2009).

Suriye’de yapılan bir çalışmada 74 çiğ süt örneğinde ELISA yöntemi ile AFM₁ araştırılmış, 70 (% 95) örnek pozitif görülmüş, ortalama olarak 0,14 µg/kg değer tespit edilmiş ve örneklerin % 58,3’ünün AB limitlerini aştığı belirlenmiştir (Ghanem ve Orfi, 2009).

İran’da 240 süt örneğinde yapılan bir çalışmada ELISA yöntemi kullanılarak 226 (% 94,2) örnekte AFM₁ tespit edilmiştir, bunlar ortalama 0,013 µg/kg olup tüm örneklerin % 4,2’sinin AB yasal limitinin üzerinde olduğu görülmüştür (Mohammadian ve ark, 2010)

Kosova’nın 6 farklı bölgesinden alınan 2009’da 656 çiğ süt ve 39 UHT süt ile 2010’da 170 çiğ süt ile 30 UHT süt olmak üzere toplamda 895 süt örneği AFM₁ bakımından ELISA yöntemi ile analiz edilmiştir. 895 süt örneğinden 25 (% 2,8) örnekte AFM₁ varlığı belirlenmiştir. Hiçbir kontamine örnek 50 ng/l olan AB limitlerini aşmamıştır. 2009 yılındaki

685 sütün 20 adet (% 2,9), 2010'daki 200 örnekten 5 adet (% 2,5) örnek pozitif görülmüştür. UHT sütlerin 2 tanesi (% 2,6) pozitifdir. AFM₁ içeren sütler 2009'da 5,2-26,6 ng/l iken 2010'da 6,3-9,81 ng/l hesaplanmıştır. UHT sütlerde ise 7,2-9,9 ng/l AFM₁ tespit edilmiştir. Ayrıca örnek toplanan bölgeler içerisinde Peja bölgesi her iki yılda da en fazla toksin içeren numunelere sahip bölge olmuştur. Bu durumda AFM₁ üzerindeki çevresel faktörleri açıkça ortaya koymuştur (Rama ve ark, 2016).

Erzurum'da yapılan bir çalışmada 72 adet farklı mısır silajı ve bu yemle beslenen hayvanlardan elde edilen 72 adet süt örneği üzerinde; yemdeki AFB₁'in süte AFM₁ olarak geçiş düzeylerine ilişkin ELISA ile bir çalışma yapılmıştır. Yem örneklerinde ortalama 361,12±94,76 ppt civarında AFB₁; süt örneklerinde ortalama 3,85±3,71 ppt civarında AFM₁ tespit edilmiştir. Aflatoksinin yemden süte geçişi % 1,07 olarak saptanmıştır. Sütlerin 66 adedi (% 91,67) AFM₁ içermekte fakat TGK' ya göre kabul edilebilir limitlerin altındadır. Yemlerin ise 69 adedinde AFB₁ kaydedilmiştir. Bu sonuçlarla yemden süte aflatoksin geçişi üzerine pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür (Karakaya ve Atasever, 2010).

Marmara Bölgesinde 30 askeri kışladan sağlanan için 110 beyaz peynir numunesinde ELISA uygulanarak 101 adet peynirde 0,1-2 ppb (10-2000 ng/kg) değerlerinde AFM₁'e rastlanmıştır (Seyrek, 2001).

Bursa civarındaki TSK'ya bağlı birliklerden kaşar, beyaz ve eritme peynirlerden edinilen 300 numuneye ELISA yapılmış. Bu örneklerin % 7,66'sı AFM₁ içermekte, bunlarında % 1,66'sı TGK'da belirtilen yasal limitlerin üzerinde olduğu kaydedilmiştir (Yaroğlu, 2002).

Van'daki bir çalışmada ise 50 otlı peynir numunesi ve 25 İstanbul'dan sağlanan beyaz peynir numunesi ELISA yöntemi ile araştırılmış ve numunelerin % 45,2'sinde AFM₁ bulunduğu bunlardan 0,510 ppb olarak en yüksek miktarın beyaz peynirlerde ölçülürken 0,060 ppb ile en düşük miktarda otlı peynir numunelerinde tespit edilmiştir (Dağoğlu ve ark, 1995).

Dondurmada AFM₁ tespiti ile ilgili Kars'ta yapılan bir araştırmada; ambalajsız satışa sunulan dondurmalarından alınan 50 tane numune ELISA ile analize tabi tutulmuş. 27 numunede (% 54) AFM₁ miktarı 0,005 µg/kg'ın altında, 6 örnekte (% 12) 0,005-0,05 µg/kg civarlarında ve 17 tanesinde (% 34) 0,05 µg/kg'dan fazla olduğu görülmüş ve bu 17 örneğin AB ve TGK limitlerinin üzerinde olduğu rapor edilmiştir (Sezer ve ark, 2013).

Aflatoksin ile kontamine olan ürünler insan ve hayvanlarda aflatoksikozise neden olabilmektedir. Bu ciddi problem karşısında aflatoksinlerin köken aldığı başta *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus paraciticus* türleri olmak üzere ilgili tüm *Aspergillus* türlerinin tespit

edilmesi önem kazanmaktadır. Rutin teşhis analizlerinde sıklıkla ELISA ve kromatografi yöntemlerinin kullanılmasına rağmen, biyosentez ve aflatoksin yapısının bozunma dezavantajından dolayı moleküler teşhis ağırlık kazanmaktadır. Bu amaçla yapılan farklı çalışmalarda farklı yöntemler kullanılmasına rağmen, DNA'yı hedef alan PCR-bazlı yöntemler *A. flavus* ve *A. paraciticus*'un aflatoksijenik suşlarının keşfinde yüksek hassasiyet ve özgüllüğü ile hızlı tanı koyması bakımından tercih edilmektedir (Salgado ve ark, 2008).

Aspergillus türlerinin tespitinde çok sayıda moleküler yöntem yaygın olarak uygulanmıştır. DNA amplifikasyonu ve ardından DNA dizi analizi, taksonomi çalışmalarında güçlü bir araçtır. Ayrıca *Aspergillus* türleri, genetik olarak en iyi incelenen mantarlar arasındadır. *Aspergillus* türlerini ayırt etmek için en yaygın olarak kullanılan DNA hedef bölgeleri, rDNA kompleksindeki internal kodlanan aralıklı bölgeler 1 ve 2 (ITS1 ve ITS2) ve 28S rRNA geninin 5' ucundaki değişken bölgeler ve FLA1 FLA2'dir (Kumeda ve Asao, 1996; Ferrer ve ark, 2001, Hinrikson ve ark, 2005). Tek kopya korunan genler ayrıca, *A. flavus* grubundaki taksonomik çalışmaların hedefi olarak da kullanılabilir, çünkü rDNA kompleksinden çoklu kopya segmentleri değişkenlik göstermemektedir. Evrensel β -tubulin, calmodulin ve topoizomera II genleri mantar türlerinin tanımlanmasında yalnızca uzaktan ilişkili türlerde kullanılmıştır, çünkü değişkenlik genel olarak düşük bulunmuştur (Kanbe ve ark, 2002). İkincil metabolizmaya katılan genler yakından ilişkili türler içinde daha değişken olarak kabul edilir (Geiser ve ark, 2000). Aflatoksin biyosentezinde rol alan birkaç gen tanımlanmış, klonlanmış ve incelenmiştir. Bunlara, *A. flavus*'dan aflR düzenleyici bir gen lokusu ve pksA, nor-1, ver-1, uvm8 ve omtA gibi birkaç yapısal gen dahil olarak saptanmıştır (Bhatnagar ve ark, 2006). *A. flavus* için spesifik PCR testinin spesifitesi, saf kültürlerden ya da kontamine numuneden gelen DNA'yı kullanarak çok çeşitli şablon konsantrasyonuyla (10 pg-10 ng) elde edilen pozitif PCR amplifikasyonuna göre yüksek olarak saptanmıştır. Çoklu-kopya dizileri için 5,5 pg'ın üstünde ve tek kopya dizileri için 87,5 pg'nin üstünde agaroz jelinde bir duyarlılık olduğu bildirilmiştir (Jurado ve ark, 2006). Benzer bir yaklaşımı, Sugita ve ark (2004), *A. flavus* ve *Aspergillus* cinsinin diğer patojenik türleri için uygulamıştır. Ribozomal DNA ve onun çevreleyen bölgeleri (ITS1 bölgesi dahil) çalışmada kullanılmış, ancak *A. flavus* amplifikasyon duyarlılığı düşük olarak belirlenmiştir. FLA1 / FLA2 primerleri, *A. flavus* hedef sekansını spesifik olarak çoğaltmak için daha verimli olarak saptanmıştır, ayrıca bu primerler ITS gen bölgesinin daha değişken ve özgül bir kısmında bulunmaktadır (Somashekar ve ark, 2011).

Araştırmamızda ELISA ile 32 örnekte 100 ppt düzeyinde AFM₁ pozitifliği saptanırken, PCR ile 19 örnekte pozitiflik saptanmıştır. FLA1 ve FLA2 primerleri kullanılarak

yapılan PCR sonucunda pozitif örneklerin ELISA sonuçlarına göre değerlendirilmesi yapıldığında 7 (% 36,8)'sinde 0 ppt, 1 (% 5,2)'inde 5 ppt, 2 (% 10,5)'sinde 15 ppt ve 9 (% 47,5)'unda 100 ppt düzeyinde Aflatoxin M₁ toksin varlığı belirlenmiştir. *A. flavus* identifikasyonunda kullanılan FLA1 / FLA2 primerlerinin hedef sekansını spesifik olarak çoğaltmakta daha spesifik olduğu ve kros reaksiyonlar vermediği Salgado ve ark (2008) tarafından bildirilmektedir. Ayrıca belirlenen standartların altında ELISA değerlerine sahip olan örneklerde de *A. flavus* varlığı FLA1 / FLA2 primerleri kullanılarak ortaya çıkarılmaktadır. ELISA testi ile daha fazla pozitif sonucun çıkması, bu sonuçların çapraz reaksiyonlardan kaynaklanabileceğini göstermektedir. Bu sebeple hem ELISA testinde 100 ppt düzeyinde olan hem de PCR pozitif 9 (% 10,2) örnekte AFM₁ varlığı doğrulanmıştır. PCR pozitif 10 (% 11,3) örneğin ise *A. flavus* yönünden pozitif olduğu ve bu ineklere ait sütlerin AFM₁ yönünden kontrol edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Küflerin ürettiği mikotoksinler, tarladan sofraya kadar her aşamada besini kontamine ederek insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olan önemli bir doğal kirleticidir. Besinlerin yeterli kurutma işlemi yapılmadan, uygun olmayan koşullarda depolanması veya taşınması, nem oranının yüksek olduğu yerlerde bekletilmesi mikotoksin kontaminasyonunun başlıca nedenleridir.

Sütlerde bulunan AFM₁, AFB₁ ile kontamine olmuş yemlerle beslenen laktasyon dönemindeki hayvanların metabolizmaları sonucu ya da taşıma, işleme ve depolama sırasında, aflatoksin sentezleyen küflerin süte bulaşması ve aflatoksin üretmeleri sonucunda oluşmaktadır. Süt ve süt ürünleri, AFM₁ kalıntısı açısından riskli bir besin grubudur. Toplumdaki duyarlı gruplardan biri olan küçük çocukların besin örüntüsünde süt ve süt ürünleri fazla miktarlarda tüketildiğinden, aflatoksinler halk sağlığını tehdit eden önemli sorunlardan biridir. Bu nedenle AFM₁ maruziyetinin doğru bir şekilde değerlendirilmesi ve gerekli önlemlerin alınması gerekmektedir. Aflatoksin M₁ maruziyetinin değerlendirilmesi; besin tüketim sıklığının ve besin tüketim kaydının doğru bir şekilde alınamaması ve aflatoksinlerin sütlerde homojen olarak bulunamamasından dolayı oldukça zordur.

Besinlerde bulunan AFM₁, tamamen yok edilemeyeceği için konuyla ilgili uzmanlar tarafından AFM₁'in alınabilecek en düşük düzeylere indirilerek alınması tavsiye edilmektedir. Aynı zamanda sağlıklı beslenme önerilerinden biri olan, besinlerde çeşitliliğin sağlanması da AFM₁'in besinlerle alımını sınırlandırabilir. Ayrıca AFM₁ kontaminasyonunun azaltılması için; süt üretiminden tüketimine kadar geçen her aşamada iyi tarım uygulamalarının benimsenmesi ve bunun için resmi kontrol ve yaptırım mekanizmalarının sağlıklı ve etkin bir şekilde sürdürülmesi gereklidir. Aflatoksin ve *A. flavus* identifikasyonunda ELISA testinde çapraz reaksiyona bağlı yanlış pozitif sonuçlar alınabileceğinden dolayı PCR tabanlı teşhis yöntemlerinin kullanılması ve AFM₁ seviyelerinin tekrarlanan ELISA çalışmaları ile belirli periyotlarda ölçülmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Wahhab MA, Ahmed HH, Hagazi MM.** Prevention of aflatoxin B1-Initiated hepatotoxicity in rat by marine algae extracts. *Journal Applied Toxicology* 2006, 229- 238.
- Akpınar A.** Gıdalar, yemler ve mikotoksinler. <http://www.ordutarim.gov.tr/subeleler/kontrol/aflatoksin/toksinler>. Erişim tarihi:24.12.2017.
- Alaçam E.** Meme Hastalıkları: Sığır Hastalıkları. Medisan Yayınları, Ankara, 1988, 389-425.
- Alaçam E, Tekeli T, Erganiş O, İzgi AN.** İnek ve mandalarda subklinik mastitislerin tanısı, etkenlerin izolasyonu ve bunlara karşı etkili antibiyotiklerin belirlenmesi. *S.Ü Veteriner Fakültesi Dergisi* 1989, 5(1), 77-90.
- Allcroft R, Carnaghan RBA.** Groundnut toxicity: an examination for toxin in human food products from animals feed toxic groundnut meal. *Veterinary Research* 1963, 75, 259-263.
- Alpan O.** Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği. Şahin Matbaası, Ankara, 1992, 175-262.
- Anonim 1.** Effects of mycotoxins on micronutrients, proper handling recommendations outlined. Erişim: <http://www.zinpro.com/research/pdf/ps/PS-G-1002.pdf>. Erişim Tarihi: 27.11.2017.
- Antonello S, Alberto R.** Aflatoxins: Risk, Exposure and Remediation, Aflatoxins-Recent Advances and Future Prospects. InTech Publications, U.S.A, 2013, DOI: 10.5772/52866.
- Applebaum RS, Bracket RE, Wiseman DV, Marth EH.** “Aflatoksin: Toxicity to dairy cattle and occurrence in milk and milk product-a review” *Journal of Food Protection* 1982, 45, 752-777.
- Ayaz A, Yurttagül M.** Besinlerdeki Toksik Öğeler-I. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü. Klasmat Matbaacılık, Yayın No: 727, Ankara, 2008.
- Bakırcı I.** A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control* 2001, 12, 47-51.
- Bakırcı TG.** Tahıl ve tahıl ürünlerinin aflatoksin, okratoksin a, zearalenon, fumonisin ve deoksinivalenol mikotoksinleri yönünden incelenmesi. *Akademik Gıda*, 2014, 12(2): 46-56.
- Barrious MJ, Gualda MJ, Cabanas JM, Medina LM, Jordano R.** Occurrence of aflatoxin M1 in cheeses from the South of Spain. *Journal of Food Protection* 1996, 59, 898-900.
- Baştan A.** <http://hayvancilikakademisi.com/yazar/profdr-ayhan-bastan/mastitisin-sut-verimi-yapisi-ve-kalitesi-uzerine-etkisi/> Erişim Tarihi: 25.10.2017

- Bhatnagar D, Cary JW, Erlich K, Yu J, Cleveland TE.** Aflatoxins. *Mycopathologia* 2006, 162, 155.
- Bayer AG.** Mastitis in Rind. Geschäftsbereich Veterinär, Leverkusen, 1986.
- Baysal A.** Beslenme: Besinler, Süt. Hatiboğlu Yayınları, Ankara, 2004, 268-275.
- Beltz RM, Spain JN.** Effects and Control of Aflatoxicosis in Dairy Cattle. *Journal of Animal Science*, 1998, 76(1), 380.
- Bennett JW, Klich M.** Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 2003, 16(3), 497-516.
- Besler H, Ünal S.** Ankara’da satılan sokak sütlerinin bazı vitaminler açısından değerlendirilmesi ve ev koşullarında uygulanan kaynatmanın süreye bağlı olarak vitaminlere olan etkisi. IV Uluslararası Beslenme ve Diyetetik Kongresi Bildiri Kitabı, 2006.
- Betina V.** Mycotoxins, Chemical, Biological and Environmental Aspects. Slovak Polytechnical University Press, Czechlovakia, 1989, 114-145.
- Bhat RV, Vasanthi S.** Food Safety in Food Security and Food Trade. *International Food Policy Research Institute* 2003, 10-17.
- Birdane Y, Akaya L, Başkaya R, Cemek M, Bulut S.** Afyonkarahisar’da tüketime sunulan UHT sütler ile çiğ sütlerdeki AFM1 miktarının belirlenmesi. 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 18-20 Eylül 2006, 373-374, İstanbul.
- Black RE, Williams SM, Jones IE, Goulding A.** Children who avoid drinking cow milk have low dietary calcium intakes and poor bone health. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2002, 76(3), 675- 80.
- Blanco JL, Carrion BA, Liria N, Diaz S, Garcia ME, Domingues L, Suarez G.** Behavior of aflatoxins during manufacture and storage of yoghurt. *Milchwissenschaft* 1993, 48(7), 385-387.
- Blaney B.** Mycotoxin Poisoning of Pigs. *Animal and Plant Health Service* 2002, 1-4.
- Bommokanthi AS, Waliyar F.** Importance of Aflatoxins in Human and Livestock Health. Aflatoxin: A One Health Issue. *International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics*, 1999, 48591.
- Bullerman LB.** Significance of mycotoxins to food safety human health. *Journal of Food Protection* 1979, 42, 65-86.
- Bullerman LB.** Mycotoxins and food safety: Food Techonology. A Scientific Status Summary by The Institute of Food Technologists’ Expert Panel on Food Safety & Nutrition 1986, 59-66.

- Cardwell KF.** Mycotoxin Contamination in Foods-Anti-Nutritional Factors. Improving Human Nutrition Through Agriculture: The Role of International Agricultural Research 1999, 1-7.
- Cassel EK, Campbell B, Draper M, Epperson B.** Aflatoxins, Hazards in Grain. *Aflatoxicosis and Livestock* 2001, 907.
- Charles R, Hurburg JR.** "Mycotoxins in the Grain Market" *World Grain*, October, 1995, 23-26.
- Conkova E, Laciakova A, Kovac G, Seidel H.** Fusarium toxins and their role in animal diseases. *Veterinary Journal* 2003, 165, 214-220.
- Contreras A, Luengo C, Sanchez A, Correles JC.** The role of intramammary pathogens in dairy goats. *Livestock Production Science* 2003, 79, 273- 283.
- Creppy EE.** Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters* 2002, 127, 19-28.
- Çelik S.** Karaciğer karsinojeni olan aflatoksinlerin biyokimyasal histolojik etkileri ve sağaltım seçenekleri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2001, 20, 131.
- Çetin T.** Ankara piyasasında satışa sunulan kaşar peynirlerinde olası Aflatoksin M1 varlığının HPLC metodu ile belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2004.
- Çoksöyler N.** İçel Yöresinde Yetiştirilmekte Olan Yerfıstıklarında Aflatoksin Oluşumu Üzerine Araştırmalar. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ankara İl Kontrol Laboratuvarları Müdürlüğü Yayın No: 6, Ankara, 1987, 28.
- Dağoğlu G, Keleş O, Yıldırım M.** Peynirlerde Aflatoksin Düzeylerinin Elisa Testi ile Araştırılması. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.* 1995, 21(2): 313-317.
- Davis ND, Diener VL.** "Mycotoxins food and beverage mycology" L.R. Beuchat (ed) AVI Publishing Company Inc, Connecticut, 1978, 397-435.
- Demirci M.** Süt Teknolojisine Giriş. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayın No: 105, Tekirdağ, 2001.
- Deveci H, Apaydın AM, Kalkan C, Öcal H.** Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. Birinci Baskı. Fırat Üniversitesi Basımevi, Elazığ, 1994.
- Diaz DE, Hopkins BA, Leonard LM, Hagler WM, Whitlow LW.** Effect of fumonisin on lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2000, 83, 1171.
- D'Mello JPF, Macdonald AMC.** Mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology* 1997, 69, 155-166.

- Doğan A, Tuzcu M.** Fumonizinler. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2001, 7(2), 237- 244.
- Domagala J, Kiswa J, Blütghen A, Heeschen W.** Contamination of milk with aflatoxin M1 in Poland. *Milchwissenschaft* 1997, 52(11), 631-633.
- Donghun L, Kwang-Geun L.** Analysis of aflatoksin M1 and M2 in commercial dairy products using highperformance liquid chromatography with a fluorescence detector. *Food Control* 2015, 50, 467- 471.
- Dosako S, Kaminogawa S, Taneya S, Yamauchi K.** Hydrophobic surface areas and net changes of α s1-k- casein and α s1-casein:k-casein complex. *Journal of Dairy Research* 1980, 47, 123-129.
- D'Ovidio KL, Trucksess MW, Devries JW, Bean G.** Effects of irradiation on fungi and fumonisins B1 in corn, and of microwave-popping on fumonisins in popcorn. *Food Additives and Contaminants* 2007, 24(7), 735-743.
- Duru S, Özgüneş H.** Mikotoksinlerin insan sağlığı açısından önemi. *Gıda* 1984, 9(6), 341-349.
- Egevet.** http://www.egevet.com.tr/mastitis_kontrolunde_kritik_noktalar.htm. Erişim Tarihi: 25.10.2017
- Elaridi J, Bassil M, Kharma JA, Daou F, Hassan HF.** Analysis of Aflatoxin M1 in Breast Milk and Its Association with Nutritional and Socioeconomic Status of Lactating Mothers in Lebanon Department of Natural Sciences, School of Arts and Sciences, Lebanese American University, Beirut, Lebanon; and 2Faculty of Health Sciences, American University of Science and Technology, Beirut, Lebanon, 2017, MS 17-083.
- Eker MM.** Use of information in the economic control of bovine mastitis. MSc Thesis. University of Aberdeen, Aberdeen, 1992.
- Ender G.** Kaşar Peynirinin Olgunlaştırılması Aşamasında Aflatoksin M1 Düzeyinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye, 2001.
- Eriksen, GS, Pettersson H.** Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 2004, 114, 205-239.
- Erkan ME, Vural A, Güran HŞ.** Diyarbakır örgü peynirinde Aflatoksin M1 ve Verotoksin 1 ve 2 varlığının araştırılması. Pamukkale Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu 21-23 Mayıs 2009, Denizli, 103.
- Erkmen, O.** Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2010, 53, 220- 235.

Erol İ. Besin Hijyeni. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara, 1999, 106 - 107.

Et ve Süt Kurumu. <https://www.esk.gov.tr/tr/10905/Sutun-besin-degeri-nedir> Erişim Tarihi: 20.11.2017

EUR-LEX. <http://eur-lex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/?qid=1513347632659&uri=CELEX:32010R0165>, 2010, Erişim Tarihi:15.12.2017

Ezz El-Arab AM, Girgis SM, Hegazy EM, Abd El-Khalek AB. Effect of dietary honey on intestinal microflora and toxicity of mycotoxins in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2006, 14(6), 6.

Ferrer EJ. Effects of Mycotoxins (Aflatoxin B1, deoxynivalenol, zearalenone, vomitoxin T-2) on the Health and Productivity of Specific Production Animals (Agranco Corp.). http://www.engormix.com/effects_of_mycotoxins_aflatoxin_e_articles_59_POR.htm, 2005, Erişim tarihi: 08.12.2017

Ferrer C, Colom F, Frasés S, Mulet E, Abad JL, Alió JL. Detection and identification of fungal pathogens by PCR and by ITS2 and 5.8S ribosomal DNA typing in ocular infections. *Journal of Clinical Microbiology* 2001, 39, 2873.

Fink-Gremmels J. The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. *Veterinary Journal* 2008, 176, 84-92.

Fox PF, McWeeney PLH. Advanced Dairy Chemistry. Volume 1. In Chapter 1: Milk Proteins: General and Historical Aspects. Springer Verlag Publish, New York, 2003.

Frau M, Massanet J, Rosello C, Simal S, Canellas J. Evaluation of free amino acid content during ripening of Mahon cheese. *Food Chemistry* 1997, 60(4), 651-657 .

Fukal L. A survey of cereals, cereal products, feedstuffs and porcine kidneys for ochratoxin A by RIA. *Food Additives and Contaminants* 1990, 7 (2), 253-258.

Geiser DM, Harbinski FM, Taylor JW. Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification. Hardwood Academic Publishers, U.K, 2000, 381.

Ghanem I, Orfi M. Aflatoxin M1 in raw, pasteurized and powdered milk available in the Syrian market. *Food Control* 2009, 20, 603-605.

Girgin G, Başaran N, Şahin G. Dünyada ve Türkiye’de İnsan Sağlığını Tehdit Eden Mikotoksinler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 2001, 58(3), 97-118.

Gremmels JF. Mycotoxins in Cattle Feeds and Carry-over to Dairy Milk: A Review. *Food Additives and Contaminants* 2008, 25 (2), 172-180.

Gehardt SE, Thomas RG. Nutritive Value of Foods. United States Department of Agriculture (USDA). Agricultural Research Service. Home and Garden Bulletin. Number 72, 2006.

Giray B, Aydın S, Sabuncuoğlu S, Erkekoğlu P, Şahin G. Karadeniz ve Akdeniz Bölgelerinde Yaşayan Yaşlı Gruplarda Serum Aflatoksin Düzeylerinin Değerlendirilmesi, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, 2011.

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

Guo LY, Zheng AN, Zhang YD, Due RH, Zheng BQ, Wang JQ. A survey of seasonal variations of aflatoxin M1 in raw milk in Tangshan region of China during 2012-2014. *Food Control* 2016, 69, 30-35.

Gülgen Y. Mastitis, Çiftçi Broşürü. <http://tyhm.cu.edu.tr/Tr/detay.aspx?pageId=1517>. Erişim Tarihi: 25.10.2017

Gürses, M, Erdoğan A, Sert S. Farklı Depolama Şartlarının Aspergillus Parasiticus NRRL 2999 Küf Suyu ile Aşılanan Tulum Peynirinde Aflatoksin Oluşumu Üzerine Etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science* 2002, 28, 233-238.

Hale SA, Capuco AV, Erdman RA. Milk Yield and Mammary Growth Effects Due to Increased Milking Frequency During Early Lactation. *Journal of Dairy Science* 2003, 86, 2061–2071.

Harris B, Staples CR. The Problems of Mycotoxins in Dairy Cattle Rations. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 1992.

Hawkins L. Mycotoxins. Agri Nutrition Consulting, INC <http://www.oldstuffmall.com/art00015.shtml>, 2000, Erişim tarihi: 22.12.2018

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

Hinrikson HP, Hurst SF, Lott TJ, Warnock DW, Morrison CJ. Assessment of ribosomal large-subunit D1-D2, internal transcribed spacer 1, and internal transcribed spacer 2 regions as targets for molecular identification of medically important Aspergillus species. *Journal of Medical Microbiology* 2005, 43, 2092.

Hueston WD, Beider LE, Harvey WR, Smith KL. The use of high somatic cell count prevalence in epidemiologic investigations of Mastitis control practices. *Preventive Veterinary Medicine* 1987, 4, 447-461.

Hui YH. Dairy Science and Technology Handbook. Wiley-Blackwell, U.S.A, 1992, 1352.

Hussein HS, Brasel JM. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxin on humans and animals. *Toxicology* 2001, 167, 101-134.

IARC (International Agency of Research on Cancer). Some naturally occurring substances: food items and constituents heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. In: IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol. 56. IARC, World Health Organization, Lyon, France, 1993, 245-395.

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

İzgür H, Kılıçoğlu Ç. İneklerde subklinik mastitislerin sağaltımları üzerinde çalışmalar. *Doğa Bilimleri Dergisi* 1984, 8, 252-257.

Janzen JJ. Economic losses resulting from mastitis. A review. *Journal of Dairy Science* 1970, 53, 1151-1161.

Jurado M, Vázquez C, Marín S, Sanchis V, González-Jaén MT. PCR-based strategy to detect contamination with mycotoxigenic *Fusarium* species in maize. *Systematic and Applied Microbiology* 2006, 29, 681-689.

Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. Food Cont. A. Kamkar. *Journal of Veterinary Research* 2008, 63, 2, 7-12.

Kanbe T, Yamaki K, Kikuchi A. Identification of the pathogenic *Aspergillus* species by nested PCR using a mixture of specific primers to DNA topoisomerase II. *Microbiology and Immunology* 2002, 46, 841-848.

Kapur MP, Singb RP. Diagnosis of mastitis: A comparative study of four indirect tests. *Haryana Veterinarian* 1977, 16, 69-73.

Karagözlü N, Karapınar M. Bazı Tahıl ve Ürünlerinde Ochratoxin-A ve Fungal Kontaminasyon. *Turkish Journal of Biology* 2000, 24, 561-572.

Karakaya Y, Atasever M. Mısır Silajında Aflatoxin B1 Varlığının ve Süte Geçme Durumunun Araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2010, 16, 123-127.

Kaya S. Yem ve Besinlerdeki Mikotoksinler: İnsan ve hayvan sağlığı için önemleri. *AÜ Veteriner Fakültesi Dergisi* 1989, 36, 226-253.

Kaya S. Mikotoksinler. Medisan Yayınevi, Ankara, 2001, 537-571.

Kaya S, Pirinçi İ, Bilgili A. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji, Mikotoksinler. Medisan Yayınevi, Ankara, 2002, 537-574.

- Kayabaşı İ.** Kuru Meyve İhracatında Aflatoksin Sorunu ve Avrupa Birliği Uygulamaları. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Avrupa Birliği ve Dış İlişkiler Genel Müdürlüğü- Ankara, 2015.
- Kılıç S.** Süt Mikrobiyolojisi, İzmir, Sidas Medya, 2010, 634.
- Kınık Ö, Kavas G, Kesenkaş H, Uysal H.** Süt hijyeni ve güvenliği açısından çiğ süt kalitesinin önemi. Süt mikrobiyoloji ve katkı maddeleri, Tekirdağ, 2000, 19.
- Kırdar S.** Süt ve ürünleri analiz metodları - Uygulama Kılavuzu, Süleyman Demirel Üniversitesi, Süt Yayınları, Ankara, 2001, 5-7.
- Kırdar SS.** Süt ve Ürünlerinde Mikotoksinler. Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs, 2006, Bolu.
- Kielstein P.** Pilze als Krankheitserreger bei Mensch und 20: 2649-2659. Tier. In: Allgemeine Mikologie. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, 1993, 467-505.
- Kleinschroth E, Rabold K, Deneke J.** Mastitis- Euterkrankheiten erkennen, vorbeugen und behandeln. Top Agrar Extra, 2, Auflage. Landwirtschaftsverlag GmbH Münster, Hiltrup, 1986, 11.
- Kök Z.** Aydın İli ve Çevresinde Üretilen Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin Varlığının Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2006.
- Krishnamachari KAV, Bhat RV, Nagarajon V, Tilak TBG.** Investigations into an outbreak of hepatitis in parts Western India. *Indian Journal of Medical Research* 1975, 63(1), 36-104.
- Kumeda Y, Asao T.** Single-strand conformation polymorphism analysis of PCR-amplified ribosomal DNA internal transcribed spacers to differentiate species of *Aspergillus* section Flavi. *Applied and Environmental Microbiology* 1996, 62, 2947.
- Londoño VAG, Boasso A, Paula MCZ, Garcia LP, Scussel VM, Resnik S, Pacín A.** Aflatoxin M1 survey on randomly collected milk powder commercialized in Argentina and Brazil. *Food Control* 2013, 34, 752 – 755.
- Longo F, Salat O, Van Gool F.** Incidence of clinical mastitis in French dairy herds, epidemiological data and economic costs. *Folia Veterinaria* 2001, 45, 1.
- Majid H.** A survey of aflatoxin M1 in cow milk in Southern Iran. Razi Vaccine and Serum Research Institute, Shiraz Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shiraz, Iran, 2016.
- Martins ML, Martins HM.** Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal, 2000. *Food Additives and Contaminants* 17(10), 871-874.

- Miazzo R, Rosa CA, De Queiroz Carvalho EC, Magnoli C, Chiacchiera SM, Palacio G, Saenz M, Kikot A, Basaldella E, Dalcero A.** Efficacy of synthetic zeolite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Poultry Science* 2000, 79(1), 1-6.
- Mavuş H.** Kayseri yöresinde satışa sunulan sütlerden aflatoksin tayini. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 2003.
- Metin M.** Süt Teknolojisi: Sütün bileşimi ve işlenmesi. 4.Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 2001, 1-21.
- Metin M.** Süt Teknolojisi, 6.Baskı, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları No: 33, İzmir, 2005.
- Metin M.** Süt Teknolojisi: Sütün bileşimi ve işlenmesi. İzmir, Ege Üniversitesi Basım Evi, 2008.
- Miles H, Lesser W, Sears P.** The economic implications of bioengineered mastitis control. *Journal of Dairy Science* 1992, 75, 596-605.
- Miller GD, Jarvis KJ, McBean LD.** Handbook of Dairy Foods and Nutrition. The Importance of Milk and Milk Products in the Diet. CRC Press, New York, 2000.
- Mohammadi H.** A Review of Aflatoxin M1, Milk, and Milk Products, Aflatoxins-Biochemistry and Molecular Biology, Dr.Ramon G, Guevara-Gonzales (Eds), ISBN: 978-953-307-395-8. <http://www.intechopen.com/books/aflatoxinsbiochemistry-and-molecular-biology/a-review-of-aflatoxinm1-milk-and-milk-products>. 2011, Erişim tarihi: 25.12.2017
- Mohammadian B, Khezri M, Ghasemipour N, Mafakheri S, Langroudi P.** Aflatoxin M1 contamination of raw and pasteurized milk produced in Sanandaj, Iran. *Archives of Razi Institute*, 2010, 65, 99-104.
- Mutluer B.** Süt İnekçiliğinde Mastitis Sempozyumu, 04-05 Mayıs, Burdur, Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, 2001, 1.
- Natzke RP.** Elements of mastitis control. *Journal of Dairy Science* 1981, 48, 1295.
- Nielen M, Deluyker H, Schukken YH, Brand A.** Electrical conductivity of milk: Measurement, modifiers, and meta analysis of mastitis detection performance. *Journal of Dairy Science* 1992, 75, 606-614.
- Nuryono N, Agus A, Wedhastri S, Maryudani YB, Sigit Setyabudi FMC, Böhm J ve ark.** A limited survey of aflatoxin M1 in milk from Indonesia by ELISA. *Food Control* 2009, 20, 721-724.
- Oliveria CP, Soares NFF, Oliveria TV, Júnior JCB, Silva WA.** Aflatoxin M1 occurrence in ultra high temperature (UHT) treated fruit milk from Minas Gerais / Brazil. *Food Control* 2013, 30, 90-92.

- Omaye ST.** Food and Nutritional Toxicology. CRC Press, 2004, ISBN 1-58716-071-4, 308p.
- Oruç HH.** Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 (AFM1) ve Türkiye’deki Durumu. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2003, 22, 121-125.
- Oruç HH.** Mikotoksinler ve Tanı Yöntemleri. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2005, 24, 105-110.
- Oruç HH, Sonal S.** Determination of Aflatoxin M1 Levels in Cheese and Milk Consumed in Bursa, Turkey. *Veterinary and Human Toxicology* 2001, 43(5), 292-293.
- Oysun, G.** Süt Ürünlerinde Analiz Yöntemleri. Ege Üniversitesi Yayınları, İzmir, 1991.
- Öncel G.** Mastitis mücadelesinin yasal durumu ve bu konuda uygulanan projeler. I. Mastitis semineri, 15-16 Kasım Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara, 1984.
- Özkaya Ş, Temiz A.** Aflatoksinler: Kimyasal Yapıları, Toksisiteleri ve Detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 2003, 1(1), 1-21.
- Özmenteşe N.** İstanbul piyasasından sağlanan süt ve süt ürünlerinin aflatoksin B1 ve M1 içerikleri yönünden yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi ile araştırılması. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye, 2002.
- Picinin LCA, Cerqueira MMOP, Vargas EA, Lana AMQ, Toaldo IM, Bordignon-Luiz MT.** Influence of climate conditions on aflatoxin M1 contamination in raw milk from Minas Gerais State, Brazil. *Food Control* 2013, 31, 419-424.
- Pitt JJ.** Toxigenic Fungi: Which Are Important, Med. Myology, 2000, Supp I, 17.
- Pittet A.** Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update review. *Rev Med Vet* 1998, 149(6): 479-492.
- Pohland AE.** Mycotoxins in Review. *Food Additives and Contaminants* 1993, 10(1), 17-28.
- Prandini A, Tansini G, Sigolo S, Filippi L, Laporta M, Piva G.** On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food Chemical Toxicology* 2009, 47, 984-991.
- Prelusky DB, Trenholm HL, Lawrence GA, Scott PM.** Nontransmission of deoxynivalenol (vomitoxin) to milk following oral administration to dairy cows. *Journal of Environmental Science and Health B* 1984, 19 (7), 593-609.
- Purchase IFH, Steyn M, Rinsma R, Tustin RC.** Reduction of aflatoxin M1 content of milk by processing. *Food and Cosmetics Toxicology* 1972, 10, 383- 387.
- Radostitis OM, Blood DC, Gay CC.** Veterinary Medicine. Balckwell, London, 1995, 563-627.
- Rama A, Latifi F, Bajraktari D, Ramadani N.** Assessment of aflatoxin M1 levels in pasteurized and UHT milk consumed in Prishtina, Kosova. *Food Control* 2015, 57, 351- 354.

- Ramaa A, Montesissa C, Lucatello L, Galina G, Benetti C, Bajraktari D.** A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk consumed in Kosovo during 2009–2010. *Food Control* 2016, 52–55.
- Rice DN.** Mastitis control. <http://www.ianr.unl.edu/pubs/dairy/g506.htm>. 1996, Erişim Tarihi: 27.12.2018
- Richard JL, Meerdink G, Maragos CM, Tumbleson M, Bordson G, Rice LG, Ross PF.** Absence of detectable fumonisins in the milk cows feed *Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg culture material. *Mycopathologia* 1996, 133, 123-126.
- Rougoor CW, Hanekamp WJA, Dijkhuizen AA, Nielen M, Wilmink JBM.** Relationships between dairy cow mastitis and fertility management and farm performance. *Preventive Veterinary Medicine* 1999, 39, 247- 264.
- Ruiqian L, Qian Y, Thanaboripat D, Thansukon P.** Biocontrol of *Aspergillus flavus* and Aflatoxin Production. *KMITL Science Journal* 2004, 4, 1.
- Rustom IYS.** Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry* 1997, 59(1), 57-67.
- Sabuncuoğlu N, Çolak A, Akbulut Ö, Tüzemen N, Bayram B.** Siyah Alaca ve Esmer ineklerde CMT skoru ile bazı süt verim özellikleri arasındaki ilişkiler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 2003, 34(2), 139–143.
- Sabuncuoğlu SA, Baydar T, Giray B, Şahin G.** Mikotoksinler: Toksik Etkileri, Degredasyonları, Oluşumlarının Önlenmesi ve Zararlı Etkilerinin Azaltılması. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 2008, 28(1), 63-92.
- Saldamlı, İ.** Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 1998, 527.
- Saldamlı İ.** Gıda Kimyası. Aminoasitler, Peptidler ve Proteinler. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 2005, 234.
- Salgado AG, Jaen TG, Vazquez C, Patino B.** Highly sensitive PCR-based detection method specific to *Aspergillus flavus* in wheat flour. *Food Additives and Contaminants* 2008, 25(6), 758-764.
- Santos Neto TM, Mota RA, Silva LBG, Viana DA, Lima-Filho JL, Sarubbo LA, Converti A, Portp ALF.** Susceptibility of *Staphylococcus* spp. isolated from goats with mastitis to antibiotics and green propolis extracts. *Letters in Drug Design and Discovery* 2009, 6, 63-68.
- Schalm OW, Carrol EJ, Jain NC.** Bovine Mastitis. LCA Febiger, Philadelphia, 1971, 302-348.

Schatzmayr G, Zehner F, Taubel M, Schatzmayr D, Klimitsch A, Loibner AP, Binder EM. Microbiologicals for Deactivating Mycotoxins. *Molecular Nutrition and Food Research* 2006, 50(6), 543-551.

Schmidt GH, Van Vleck LD, Hutjens MF. Principles of Dairy Science. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1988.

Scott PM. Fumonisin. *International Journal of Food Microbiology* 1993, 18, 257-270.

Scott PM, Delgado T, Prelusky DB, Trenholm HL, Miller JD. Determination of fumonisin in milk. *Journal of Environmental Science and Health B* 1994, 29, 989-998.

Seçer E. Açık Alanlarda Depolanan Buğdaylarda Gelişen Funguslar ve Bunların Oluşturduğu Toksinler Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, 2000, 122.

Seglar B. Mycotoxin effects on dairy cattle. (<http://www.uwex.edu/ces/forage/wfe/proceeding2001/dairy-mycotoxin.htm>. 2001, Erişim tarihi:17.05.2005

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

Sert S. Mikotoksinlerin Üretimine Etki Eden Faktörler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 1985, 4(16), 147-149.

Seyrek K. Türk Silahlı Kuvvetleri'ne Balı Birliklerde Tüketilen Beyaz Peynirlerdeki Aflatoksin M1 Seviyesinin ELZA (Enzyme-Linked immunosorbent Assay) Metodu ile Saptanması. *Veteriner Hekimleri Derneği Dergisi* 2001, 55-57.

Sezer Ç, Aksoy A, Vatansever L, Bilge N. Kars İlinde Satışa Sunulan Dondurmalarda Aflatoksin M1 Varlığının Belirlenmesi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kars Meslek Yüksekokulu, Gıda Teknolojisi Programı, 36100 Paşaçayır, Kars, Türkiye, 2014.

Schalm OW, Carrol EJ, Jain NC. Bovine Mastitis. LCA Febiger, Philadelphia, 1971, 302-348.

Schmidt GH, Van Vleck LD, Hutjens MF. Udder Diseases, Principles of Dairy Science. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1988, 115-132.

Sherif SO, Salama EE, Abdel-Wahhab MA. Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2009, 21 (4), 347-368.

- Sibanda L, De Saeger S, Van Peteghem C.** Development of portable field immunoassay for the detection of aflatoxin M1 in milk. *International Journal of Food Microbiology* 1999, 48, 203-209.
- Smith JE.** Aflatoxins: Handbook of plant and fungal toxicant. J.P. Felix D'mello (Ed.). CRC Press, 1997, 269-285.
- Somashekar D, Rati ER, Chandrashekar A.** PCR-restriction fragment length analysis of aflR gene for differentiation and detection of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in maize. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 93, 101- 107.
- Steyn PS.** Mycotoxins, general view, chemistry and structure. *Toxicology Letters* 1995, 82-83, 843-851.
- Steyn PS, Stander MA.** Mycotoxins with Special Reference to the Carcinogenic Mycotoxins: Aflatoxins, Ochratoxins and Fumonisin. General and Applied Toxicology. Macmillan Reference Ltd, United Kingdom, 1999, 2145-2176.
- Stroka J, Anklam E.** New Strategies for The Screening and Determination of Aflatoxins and The Detection of Aflatoxin-Producing Moulds in Food and Feed. *Trends in Analytical Chemistry* 2002, 21(2), 90-94.
- Stubblefield RD, Pier AC, Richard JL, Shotwell OL.** Fate of aflatoxins in tissues, fluids, and excrements from cows dosed orally with Aflatoxin B1. *American Journal of Veterinary Research* 1983, 44 (9), 1750-1752.
- Sugita C, Makimura K, Uchida K, Yamaguchi H, Nagai A.** PCR identification system for the genus *Aspergillus* and three major pathogenic species: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*. *Medical Mycology* 2004, 42, 433-437.
- Şanlı Y.** Mikotoksinler, Veteriner Klinik Toksikoloji. Medisan Yayınevi, Ankara 1995, 283-328.
- Şanlı Y, Kaya S.** Veteriner Klinik Toksikoloji. Medisan Yayınevi, Ankara, 1992, 308-321.
- Şener S, Yıldırım M.** Veteriner Toksikoloji. Teknik Yayıncılık, İstanbul, 2000, 240-252.
- Tayfur M.** Mikotoksinler ve Karsinojenik Etkileri, <http://www.un.org.tr/who/nutrition/mikotoksinler.htm>. 2002, Erişim Tarihi:15.11.2017
- Trenholm HL, Thompson BK, Hartin KE, Greenhalgh R, Mcallister AJ.** Ingestion of vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat by nonlactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 1985, 68, 1000-1005.
- Tunail N.** Funguslar ve Mikotoksinler, Editör: Tunail N. ikinci Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, 2000, 4-34.

- TGK-Bulaşanlar Yönetmeliği.** [http:// www.resmigazete.gov.tr/ eskiler/ 2011/ 12/ 20111229M3-8-1.pdf](http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8-1.pdf) 2011, Erişim tarihi: 15.12.2017
- Uğur M, Nazlı B, Bosta K.** Gıda hijyeni. Teknik Yayın Evi, İstanbul, 2001.
- Uylaşer V, Başoğlu F.** Gıda zehirlenmelerinde etkin olan mikroorganizmalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 1992, 9, 261-273.
- Ünlütürk A, Turantaş F.** Gıda Mikrobiyolojisi. Mengi Tan Basımevi, İzmir, 1999, 155-156.
- Velasco MLR, Delso MMC, Escudero DO.** ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M1 in raw cow's milk. *Food Additives and Contaminants* 2003, 20, 276-280.
- Van Egmond HP.** Mycotoxins in dairy products. *Food Chemistry* 1983, 11, 289-307.
- Van Egmond HP.** Aflatoxin M1: occurrence, toxicity, regulation. *Mycotoxins in Dairy Products*, Elsevier, London and New York, 1989, 11-54.
- Van Egmond HP.** Aflatoxin in milk, *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health. Veterinary and Agriculture Academic Press Inc*, 1994, 365-381.
- Van Egmond HP, Paulsch WE.** Mycotoxins in milk and milk products. *Netherlands Milk Dairy Journal* 1986, 40, 175-188.
- Van Egmond HP, Svensson UK, Fremy JM.** Residues and contaminants in milk and milk products.-Mycotoxins. *International Dairy Federation Special Issue 9701*, Germany, 1997, 112.
- Watts JL.** Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology* 1988, 16, 41-46.
- White EC, Hinckley LS.** Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. *Small Ruminant Research* 1999, 33, 117-121.
- Whitlow LW, Nebel RL, Hagler WM.** The association of deoxynivalenol in grain with milk production loss in dairy cows. *Biodeterioration Research. Plenum press*, New York, 1994, 131-139.
- Whitlow LW, Hagler WM, Hopkins BA, Diaz DE.** Mycotoxins in feeds and their effects on dairy cattle. *Moormoon's Feed Facts* 2000, 11(3), 1-7.
- Whitlow LW, Hagler WM.** Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs* 2004, 76 (38), 66-76.
- Whitlow LW, Hagler WM.** Mycotoxins in dairy cattle: Occurrence, toxicity, prevention and treatment. *Southwest Nutrition Conference* 2005, 124-138.
- Whyllie TD, Morehouse LG.** Mycotoxic fungi ve chemistry of mycotoxins, *Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicoses. Marcel Dekker Inc, New York-Basel*, 1977, 131-135.

- Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D.** Human Aflatoxicosis in Developing Countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences and interventions. *American Journal of Clinical Nutrition* 2004, 80(5), 1106-1122.
- Wiseman DW, Marth EH.** Stability of aflatoxin M1 during manufacture and storage of a butter-like spread, non-fat dried milk and dried buttermilk. *Journal of Food Protection* 1983, 46 (7), 633-636.
- Wood GE.** Aflatoxin M1 in Mycotoxins and phytoalexins. CRC Press Inc, Florida, 1991, 145-164.
- Yaroğlu T.** Türk Silahlı Kuvvetleri'ne Bağlı Birliklerde Tüketime Sunulan Peynirlerde Aflatoksin M1 Düzeylerinin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 2002.
- Yaygın H, Demiryol E.** Süt ve mamüllerinde aflatoxin. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 1980, 17 (3), 99-11.
- Yiannikouris A, Jouany JP.** Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Animal Research* 2002, 51, 81-99.
- Yıldız, G.** Türkiye'de 2001-2004 Yıllarında Hayvancılık İşletmelerinde Kullanılan Kaba Yemlerde Aflatoksin, Zearalenon ve Okratoksin A Kirliliği. *Lalahan Hayvansal Araştırma Enstitüsü Dergisi* 2009, 49 (2) 113-124.
- Yousef AE, Marth EH.** Stability and degradation of aflatoxin M1, Mycotoxins in Dairy Products. Elsevier, London, 1989, 127-161.
- Zinedine A, Manes J.** Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed Morocco. *Food Control* 2009, 20, 334-344.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : AYCEN, Uğur
Uyruk : TC
Doğum yer ve tarihi : Germencik, Aydın, 24.10.1986
Telefon : 05058672988
E-mail : ugur_aycen@hotmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Lisans	YYÜ Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü	23/06/2011

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2013-2015	İncirciler LTD.ŞTİ	Kalite Kontrol Müdürü

BİLDİRİLER

Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler

7. GIDA KONGRESİ 24-26 KASIM 2011

Kekik, Kekikyağı ve Tarçının, Tulum ve Kaşar Peynirinde Antimikrobiyel Ambalajın Bir Parçası Olarak Kullanımı Üzerine Bir Çalışma