

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI MEVSİMLERDE ÜRETİLMİŞ DONDURMALARIN VE
SÜTLÜ BUZ ÜRÜNLERİNİN AFLATOKSİN M1
İÇERİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dyt. Mete Han KAYA

**Beslenme Bilimleri Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

ANKARA

2022

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI MEVSİMLERDE ÜRETİLMİŞ DONDURMALARIN VE
SÜTLÜ BUZ ÜRÜNLERİNİN AFLATOKSİN M1
İÇERİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dyt. Mete Han KAYA

**Beslenme Bilimleri Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mevlüde KIZIL**

ANKARA

2022

ONAY SAYFASI**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ****FARKLI MEVSİMLERDE ÜRETİLMİŞ DONDURMALARIN VE SÜTLÜ
BUZ ÜRÜNLERİNİN AFLATOKSİN Mİ İÇERİKLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI****Öğrenci: Mete Han KAYA****Danışman: Doç. Dr. Mevlüde KIZIL**

Bu tez çalışması 25.11.2022 tarihinde jürimiz tarafından “Beslenme Bilimleri Programı”nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: *Prof. Dr. Alev Keser*
(Ankara Üniversitesi)

Tez Danışmanı: *Doç. Dr. Mevlüde Kızıl*
(Hacettepe Üniversitesi)

Üye: *Dr. Öğretim Üyesi Mehmet Fisunoğlu*
(Hacettepe Üniversitesi)

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

30 Kasım 2022

Prof. Dr. Müge YEMİŞCI OZKAN
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. ⁽¹⁾
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. ⁽²⁾
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. ⁽³⁾

25 /11/2022

Dyt. Mete Han KAYA

“**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu** iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulunun** gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarılan veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, **tezin yapıldığı kurum** tarafından verilir *. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, **ilgili kurum ve kuruluşun önerisi** ile **enstitü** veya **fakültenin** uygun görüşü üzerine **üniversite yönetim kurulu** tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir.
- Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

* Tez **danışmanının** önerisi ve **enstitü anabilim dalının** uygun görüşü üzerine **enstitü** veya **fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.**

ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Doç. Dr. Mevlüde KIZIL danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Mete Han KAYA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve çalışmam süresince her aşamada verdiği emekle ve desteğiyle değerli Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü Öğretim Üyelerinden Sayın Doç. Dr. Mevlüde KIZIL'a,

Çalışmanın laboratuvar aşamasında büyük katkıları ve desteği için Araş. Gör. Sümeyra SEVİM ve Araş. Gör. Gülsüm Gizem TOPAL'a

Yüksek lisansın her sürecinde desteklerini her zaman hissettiren arkadaşlarıma,

Her zaman yanımda olan, beni her konuda destekleyen ve yalnız bırakmayan sevgili aileme,

Teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Kaya M. Farklı Mevsimlerde Üretilmiş Dondurmaların ve Sıtlü Buz Ürünlerinin Aflatoksin M1 İçeriklerinin Karşılaştırılması. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme Bilimleri Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2022. Hayvan yemlerinde genellikle *Aspergillus* türü mantarların ürettiği, Aflatoksin B1 mikotoksini varlığı mevsimlere göre farklılık gösterir. Emziren hayvanların buna maruz kalması, sütte Aflatoksin B1'in hidroksil metaboliti olan aflatoksin M1 ile kontaminasyonuna yol açmaktadır. Yapılan çalışmalarda kış mevsiminde üretilen süt, yoğurt ve peynirin diğer mevsimlere göre daha yüksek aflatoksin M1 içerdiği belirtilmiştir. Literatürde dondurmaların AFM1 içeriğine ilişkin çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada farklı mevsimlerde üretilen dondurma ve sıtlü buz ürünü örneklerinin aflatoksin M1 düzeyini ELISA kiti kullanılarak karşılaştırılmıştır. Türkiye'de Ankara ilinde 8 hipermarkette satışı sunulan, 10 farklı marka dondurmanın ve 3 farklı marka sıtlü buz ürününün farklı mevsimlerdeki örnekleri analiz edilmiştir. 29 dondurma örneğinden 12'sinin (%41,4), 9 sıtlü buz örneğinden 4'ünün (%44,4) Aflatoksin M1 içerdiği bulunmuştur. Farklı mevsimlerde üretilen inek sütünün dondurmaların ($p=0,721$), keçi sütünün dondurmaların ($p=0,182$) veya inek sıtlü buz ürünlerinin ($p=0,123$) mevsimlere göre Aflatoksin M1 pozitif örnek sayısı istatistiksel açıdan anlamlı farklı bulunmamıştır. Ortalama Aflatoksin M1 düzeyi inek sütünün dondurmalarında $3,8\pm 4,69$ ng/L ($p=0,832$), keçi sütünün dondurmalarında $40,7\pm 40,69$ ng/L ($p=0,463$) ve inek sıtlü buzlarda $6,9\pm 5,64$ ng/L ($p=0,726$) bulunurken, mevsimler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Mevsimler arasında diğer süt ve süt ürünlerinde görülen fark bu çalışmada tespit edilmemiştir. İnek sütünün üretilmiş dondurma örneklerinde, kış mevsiminde üretilen örneklerde AFM1 düzeyi $6,03\pm 7,31$ ng/L bulunurken, sonbahar mevsiminde $3,2\pm 2,25$ ng/L, ilkbahar mevsiminde $2,87\pm 3,68$ ng/L, yaz mevsiminde $2,62\pm 2,39$ ng/L olarak bulunmuştur. Türk Gıda Kodeksinin kabul edilebilir Aflatoksin M1 düzeyi (50 ng/L) üzerinde inek sütünün üretilen dondurma veya sıtlü buz ürünlerinde örnek tespit edilmezken, 6 keçi sütünün elde edilen dondurma örneklerinden 2'sinin (%33,3) limiti aştığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Dondurma, sıtlü buz, mevsim, Aflatoksin M1, ELISA

ABSTRACT

Kaya M. Comparison of Aflatoxin M1 Contents of Ice Creams and Milk Ice Products Produced in Different Seasons. Hacettepe University, Graduate School of Health Sciences, Nutrition Sciences Program Master Thesis, Ankara, 2022. The presence of Aflatoxin B1 mycotoxin, which is generally produced by *Aspergillus* species in animal feeds, varies according to the seasons. Exposure of lactating animals to this Aflatoxin B1 results in contamination of milk with aflatoxin M1, the hydroxyl metabolite of Aflatoxin B1. Studies have shown that milk, yoghurt and cheese produced in winter contain higher aflatoxin M1 than other seasons. Studies on the AFM1 content of ice creams are very limited in the literature. In this study, aflatoxin M1 levels of ice cream and milk ice product samples produced in different seasons were compared using ELISA kit. Samples of 10 different brands of ice cream and 3 different brands of milk ice products in different seasons, which are offered for sale in 8 hypermarkets in the province of Ankara in Turkey, were analyzed. It was found that 12 (41.4%) of 29 ice cream samples and 4 (44.4%) of 9 milk ice samples contained Aflatoxin M1. The number of Aflatoxin M1 positive samples was not found to be statistically different according to the seasons of cow's milk ice cream ($p=0.721$), goat's milk ice cream ($p=0.182$) or cow's milk ice product samples ($p=0.123$) produced in different seasons. The mean Aflatoxin M1 level was 3.8 ± 4.69 ng/L ($p=0.832$) in cow's milk ice cream, 40.7 ± 40.69 ng/L ($p=0.463$) in goat's milk ice cream and 6.9 ± 5.64 ng/L in cow's milk ice product samples ($p=0.726$), there was no statistically significant difference between seasons. The difference between seasons in other milk and dairy products was not detected in this study. In ice cream samples produced from cow's milk, AFM1 level was found to be 6.03 ± 7.31 ng/L in the samples produced in winter, 3.2 ± 2.25 ng/L in autumn, 2.87 ± 3.68 ng/L in spring and 2.62 ± 2.39 ng/L in summer. While no samples were detected in ice cream or milk ice products produced from cow's milk above the acceptable Aflatoxin M1 level (50 ng/L) of the Turkish Food Codex, 2 (33.3%) of 6 goat milk ice cream samples were found to exceed the limit.

Keywords: Ice cream, milk ice, season, Aflatoxin M1, ELISA

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam	1
1.2. Amaç ve Varsayımlar	2
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mikotoksinler	3
2.2. Aflatoksinler	3
2.2.1. Aflatoksinlerin Tanımı	3
2.2.2. Aflatoksinlerin Özellikleri ve Sınıflandırılması	4
2.2.3. Aflatoksinlerin Oluşumu	5
2.2.4. Aflatoksin Biyosentezini Etkileyen Faktörler	7
2.2.5. Aflatoksin Miktarının Saptanması	11
2.2.6. Aflatoksin Maruziyeti	11
2.2.7. Aflatoksin Toksisitesi	12
2.2.8. Aflatoksinlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri	14

2.2.9. Aflatoksinlerin Oluşumunu Azaltmaya Yönelik Stratejiler	18
2.2.10. Aflatoksin M1	21
2.2.11. Dondurma ve Sütü Buz Ürünlerine Aflatoksin M1	24
2.3. Farklı Mevsimlerde Üretilen Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 İçeriği	25
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	31
3.1. Gereç	31
3.2. Örneklemin Aflatoksin M1 Analizi	31
3.3. Verilerin Değerlendirilmesi	33
4. BULGULAR	34
4.1. Toplanan Örneklerin Mevsimlere Göre Dağılımı	34
4.2. Toplanan Dondurma Örneklerinin AFM1 Düzeyleri	35
4.3. Toplanan Sütü Buz Örneklerinin AFM1 Düzeyleri	38
5. TARTIŞMA	42
5.1. Farklı Mevsimlerde Üretilen Dondurma ve Sütü Buz Ürünlerinin AFM1 Düzeylerinin Değerlendirilmesi	42
5.2. Farklı Mevsimlerde Üretilen Dondurma ve Sütü Buz Ürünlerinin Türk Gıda Kodeksi'ne Göre Değerlendirilmesi	47
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	49
6.1. Sonuçlar	49
6.2. Öneriler	50
7. KAYNAKLAR	52
8. EKLER	
EK-1: ELISA Analizinin Standart Eğri Grafiği	
EK-2: Tez Çalışması Orjinallik Raporu	
9. ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

AF	Aflatoksin
AFAIb	Albumin Bağlı Aflatoksin
AFB1	Aflatoksin B1
AFB2	Aflatoksin B2
AFBO	Aflatoksin B1-8,9-epokside
AFG1	Aflatoksin G1
AFG2	Aflatoksin G2
AFM1	Aflatoksin M1
AFM2	Aflatoksin M2
AVF	Averifin
AVN	Averantin
AVNN	Averifanin
DON	Deoksinivalenol
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi - European Food Safety Authority
ELISA	Enzime Bağlı İmmüno-sorbent Analizi - Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü – Food and Agriculture Organization
HBV	Hepatit B virüsü
HCC	Hepatosellüler karsinom
HCV	Hepatit C virüsü
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi – High performance liquid chromatography
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı – The International Agency for Research on Cancer
LC-MS	Sıvı kromatografi kütle spektroskopisi
NA	Norsolorinik asit
ST	Sterigmatosistinin
TLC	İnce Tabakalı Kromatografi – Thin layer chromatography
UHT	Ultra-High Temperature
WHO	Dünya Sağlık Örgütü – World Health Organization

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Aflatoksin gruplarının kimyasal yapıları	5
2.2. Aflatoksin gruplarının biyosentez yolları	6
Grafik	Sayfa
4.1. Farklı mevsimlerde üretilen inek sütü dondurmalarının AFM1 konsantrasyonları kutu grafiği	38
4.2. Farklı mevsimlerde üretilen sütlü buz ürünlerinin AFM1 konsantrasyonları kutu grafiği	40

TABLolar

Tablo	Sayfa
2.1. Ülkelere göre süt ve süt ürünlerinde Aflatoksin M1 limitleri.	23
3.1. ELISA kiti geri kazanım tablosu.	33
4.1. Dondurma örneklerinin mevsimlere göre dağılımı.	34
4.2. Sütlü buz ürünü örneklerinin mevsimlere göre dağılımı.	34
4.3. Farklı mevsimlerde inek sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin AFM1 içeriğine göre dağılımı.	35
4.4. Farklı mevsimlerde keçi sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin AFM1 içeriğine göre dağılımı.	36
4.5. Dondurma örneklerinin ortalama AFM1 konsantrasyonları.	37
4.6. Farklı mevsimlerde inek sütünden üretilmiş sütlü buz ürünü örneklerinin AFM1 içeriğine göre dağılımı.	39
4.7. Sütlü buz ürünü örneklerinin ortalama AFM1 konsantrasyonları.	40
4.8. Farklı mevsimlerde üretilmiş dondurma ve sütlü buz ürünlerinin AFM1 varlığı ve düzeyleri.	41

1. GİRİŞ

1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam

Aflatoksinler (AF), başlıca *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* mantarları tarafından üretilen ve en yaygın olarak incelenen mikotoksin grubudur (1). Mikotoksinler, belirli mantar türleri tarafından tarlada ve tarımsal ürünlerin depolanması sırasında ikincil metabolitler olarak üretilen kimyasal maddelerdir (2).

Tahıllar, sert kabuklu yemişler ve çok sayıda gıda ve tarım ürününü aflatoksinler ile kontamine eder. Tanımlanmış birçok aflatoksin analogları ve türevleri arasında B serisi (aflatoksin B1 ve B2), G serisi (aflatoksin G1 ve G2) ve M serisi (aflatoksin M1) gıda güvenliği açısından en çok incelenen gruplardır (2).

Hayvan yemlerinin aflatoksin B1 kontamine olması ve daha sonra emziren hayvanların buna maruz kalması, sütün Aflatoksin B1'in hidroksil metaboliti olan aflatoksin M1 ile kontaminasyonuna yol açmaktadır (1).

Yemlerin aflatoksin B1 (AFB1) içeriği ile bu yemi tüketen hayvanların sütlerindeki aflatoksin M1 (AFM1) içeriği arasında doğrusal bir ilişki bulunmuştur. Aflatoksin B1'in aflatoksin M1'e dönüşüm oranının %0,5 ila %6 arasında olduğu tahmin edilmektedir (3).

Süt ve süt ürünlerinde yüksek seviyelerde aflatoksin M1 varlığı, toksisite nedeniyle istenmemektedir. Aflatoksin M1'in yüksek genotoksik aktivitesi ve sonucunda ortaya çıkan kromozomal anomaliler, gen mutasyonu ve hücre transformasyonu DNA hasarına yol açabilir (4). Çalışmalar aflatoksin maruziyetinin hepatosellüler karsinom (5), daha düşük doğum ağırlığı ve bodurluk (6-9), immünsüpresif etkileri (10) olduğunu göstermektedir. Bu doğrultuda, Aflatoksin M1 Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı AFM1'i Grup 1 insan kanserojeni olarak sınıflandırmıştır (4).

Aflatoksin B1'in Aflatoksin M1'e dönüşümü yılın mevsimi, hayvanın cinsi, sağım sıklığı, enfeksiyon ve beslenme öyküsü gibi bir dizi faktöre bağlıdır (11). Sırbistan(1), İran (3), İtalya (4) ve Pakistan'da (11) yapılan çalışmaların sonuçlarına

göre, süt ve süt ürünlerinin aflatoksin M1 miktarı mevsimlere göre değişmektedir. Bu durum hayvan yemlerinin çeşitlerinin ve bu çeşitlerin aflatoksin B1 miktarının mevsimsel değişimi ile ilişkilendirilmiştir.

1.2. Amaç ve Varsayımlar

Literatürde çalışmalar daha çok süt, yoğurt ve peynirin AFM1 içeriklerinin değerlendirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Sütlü buz ürünleri ve dondurmanın AFM1 içeriğine ilişkin çalışmalar daha sınırlıdır. Bu bağlamda, bu çalışmada, ülkemizde sıklıkla tüketilen süt ve süt ürünlerinden biri olan piyasada satışa sunulmuş ve farklı mevsimlerde üretilmiş dondurmaların ve sütlü buz ürünlerinin aflatoksin M1 düzeylerinin belirlenmesi ve mevsimsel farklılığın karşılaştırılması hedeflenmiştir.

Varsayımlar:

1. Farklı mevsimlerde üretilen dondurmaların aflatoksin M1 içeriği farklıdır.
2. Farklı mevsimlerde üretilen sütlü buz ürünlerinin aflatoksin M1 içeriği farklıdır.
3. Kış mevsiminde üretilen dondurmaların aflatoksin M1 içeriği yaz, bahar mevsimlerinde üretilen dondurmalarından yüksektir.
4. Kış mevsiminde üretilen sütlü buz ürünlerinin aflatoksin M1 içeriği yaz, bahar mevsimlerinde üretilen sütlü buz ürünlerinden yüksektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikotoksinler

Mikotoksinler, gıda ürünlerini kolonize eden mantarlar tarafından biyosentezlenen metabolitlerdir. Mantarların mikotoksin üretimi, gıda üretim sürecinin herhangi bir aşamasında (hasat öncesi, hasat, kurutma ve depolama) gerçekleşebilir (12).

Mikotoksinler, yüksek biyobirikim kabiliyetine sahip, toksik bileşiklerdir. Mikotoksinler, düşük moleküler ağırlıklı (0,3-0,7 kDa) bileşiklerdir. Literatüre göre, tanımlanmış 300'den fazla mikotoksin bileşik arasında, deoksinivalenol (DON), okratoksin A, zearalenon ve aflatoksinler en çok çalışılan mikotoksinlerdir(13).

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2016 yılındaki basın açıklamasında, gelişmekte olan ülkelerde mikotoksin kontaminasyonu konusunda harekete geçme çağrılarını yapmıştır, çünkü rapora göre, gelişmekte olan ülkelerde günlük olarak 500 milyon insan mikotoksinlere maruz kalmaktadır (14). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), dünyadaki tarım ürünlerinin her yıl %25'inin mikotoksinlerle kontamine ve bu mikotoksinlerin %90'ının aflatoksin olduğunu tahmin ettiğini bildirmiştir (15).

2.2. Aflatoksinler

2.2.1. Aflatoksinlerin Tanımı

Aflatoksinler, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* dahil olmak üzere *Aspergillus* türü mantarlar tarafından üretilen önemli bir mikotoksin sınıfıdır (16). 20'den fazla aflatoksin molekülü türü vardır, ancak gıda güvenliği açısından en çok incelenen aflatoksinler, aflatoksin B1 (AFB1), aflatoksin B2 (AFB2), aflatoksin G1 (AFG1), aflatoksin G2 (AFG2), aflatoksin M1 (AFM1) ve aflatoksin M2 (AFM2)'dir (17).

Aflatoksin mikotoksinleri ilk olarak 1960'ların başında birçok farklı gıda ve hayvan yemlerini kontamine eden önemli mantar toksinleri olarak tanımlanmıştır. İngiltere'de hindiler arasında Turkey X hastalığı olarak adlandırılan hastalığın patlak

vermesi, gıda ve yem maddelerini kontamine eden mantar toksinleri araştırmalarının çoğalmasına ve aflatoksinlerin keşfedilmesine öncü olmuştur (18).

Türkiye’de aflatoksin kaynaklı ilk sorunlar, 1967 Kanada’ya gönderilen fındıkların, 1972 ve 1974 yıllarında Amerika Birleşik Devletleri’ne ve Danimarka’ya gönderilen antep fıstıklarının aflatoksin miktarı nedeniyle uygunsuz bulunup, satış yapılamadan ülkeye geri dönmesi ile başlamıştır (19).

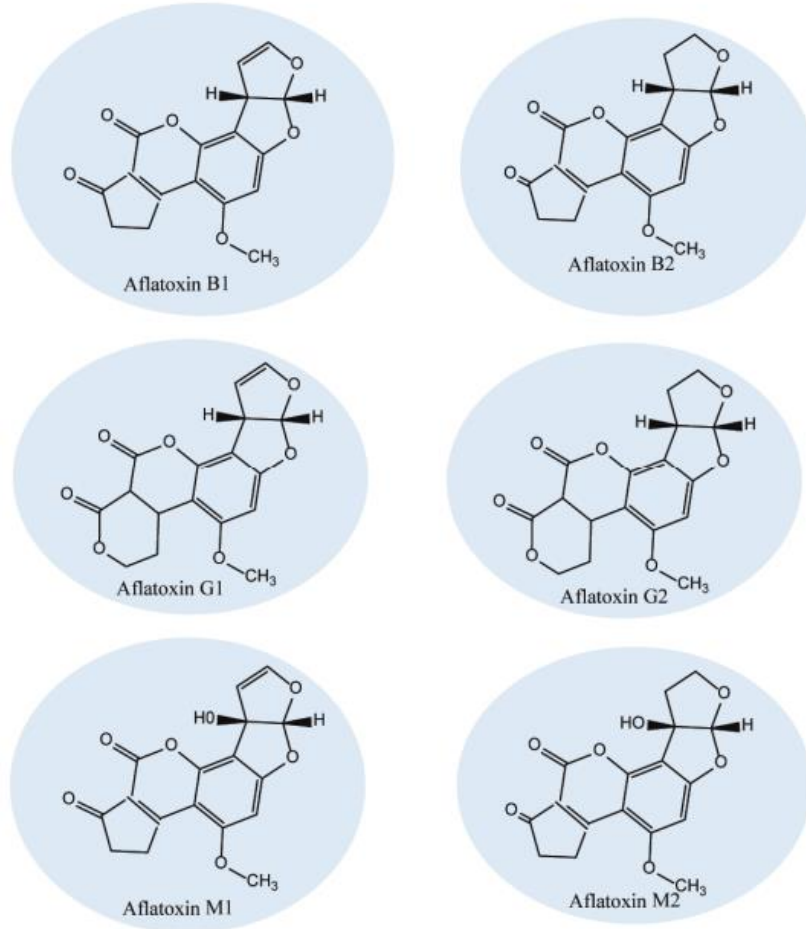
2.2.2. Aflatoksinlerin Özellikleri ve Sınıflandırılması

Aflatoksinlerin, kumarin çekirdeğine bağlı bifuran grubu ve bir lakton halkası (AFG türü) veya bir pentanon halkası (AFB ve AFM türü) olarak kimyasal farklı çeşitleri bulunmaktadır(20)

Ultraviyole (UV) ışınları altında AFB1 ve AFB2 güçlü bir mavi floresan sergilediği için B(*blue*) harfiyle sınıflandırılırken, AFG1 ve AFB2 AFG2 yeşilimsi sarı floresan ışık sergilediği için G(*green*) harfiyle sınıflandırılmıştır. AFB türleri ile kontamine olan süt üreten canlılarda görülen aflatoksin türü M (*milk*) harfiyle sınıflandırılmıştır. Toksin derecelerini sınıflandırmak için rakamlar kullanılmıştır (20).

Aflatoksinler organik çözücülerde (örneğin kloroform ve metanol) çözünürken, suda az çözünür; polar olmayan çözeltilerde (örneğin fenil, sikloheksil, etil, oktil ve oktadesil) çözünmez. Ayrıca, ısıya dayanıklı bir bileşik olarak AF'nin asit pKa'sı 17.787'dir ve moleküler ağırlık aralığı 312-346 Dalton'dur (21).

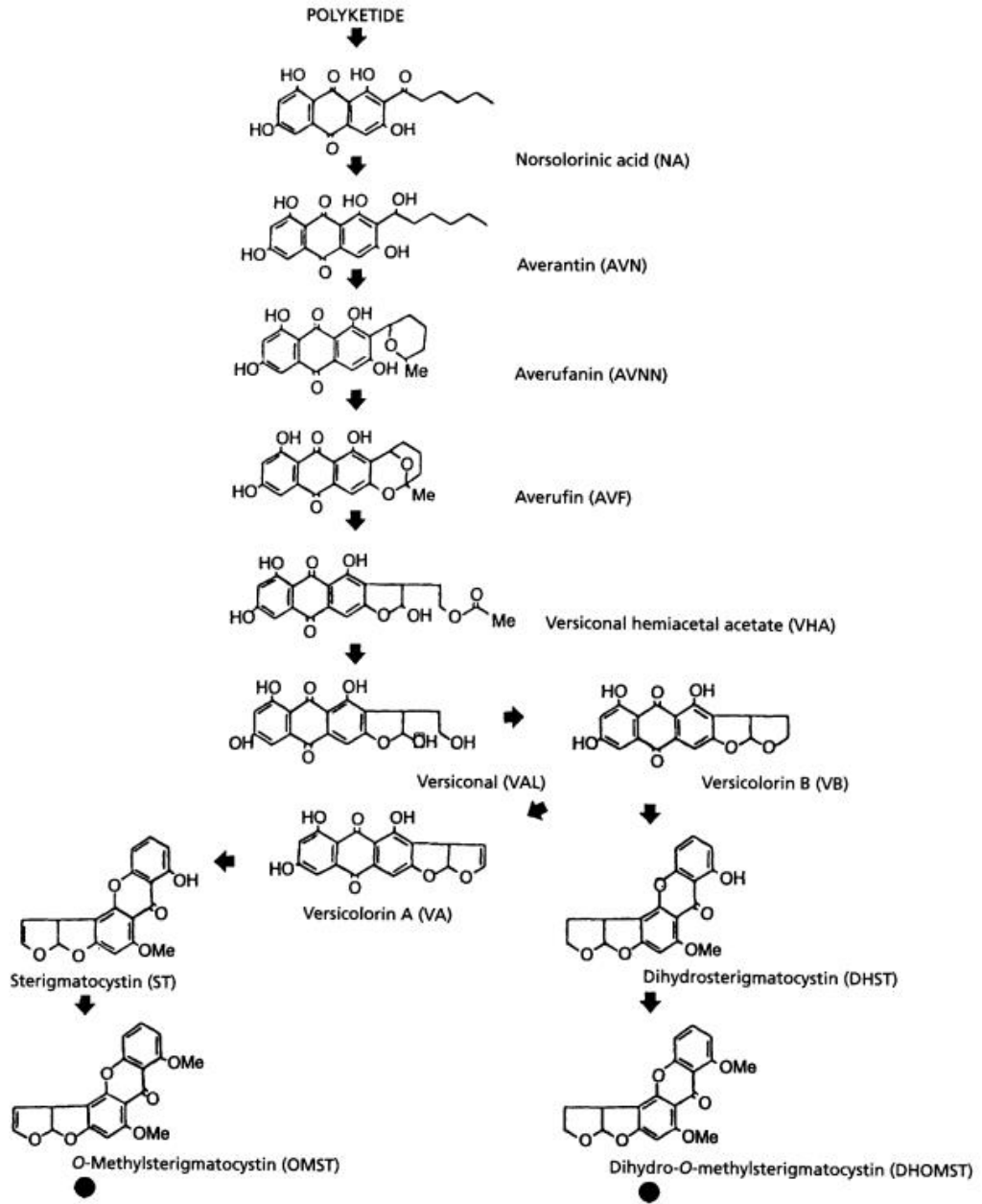
Aflatoksinler, pastörizasyon ve sterilizasyon prosedürleri de dahil olmak üzere gıda endüstrisinde uygulanan geleneksel ısı işlemlere karşı oldukça dirençlidir (22).



Şekil 2.1. Aflatoksin gruplarının kimyasal yapıları (20).

2.2.3. Aflatoksinlerin Oluşumu

Aflatoksinin biyosentezi, yaklaşık 13 enzimatik reaksiyon dizisinin bir yağ asidi sentaz-heksanoat ile başlamasıyla oluşur. Mantarların aflatoksin üretiminde yaklaşık 30 gen yer almaktadır (2).



Şekil 2.2. Aflatoksin gruplarının biyosentez yolları (23).

A. flavus ve *A. parasiticus* tarafından ekinlerde AF biyosentezi işlemi sırasında, heksanoilin poliketid sentaz ve iki yağ asidi sentaz kullanılarak poliketide dönüştürülür. Poliketid sentaz kullanılarak poliketidden norsolorinik asit antronu ve ardından norsolorinik asit (NA) antronunun norsolorinik aside dönüştürülmesi gerçekleşir. NA, redüktaz enzimi yoluyla averantine dönüşür ve ardından monooksijenaz enzimi ile averantinden üretilen 50-hidroksiaverantin (HAVN), dehidrojenaz kullanarak 50-oksoaverantin (AVNN) oluşturur. AVNN, siklaz

kullanılarak averufine (AVF) dönüştürülür, ardından *Baeyer-Villiger* reaksiyonu yoluyla AVF'nin hidroksiversikolorona (HVN) dönüştürülmesi sağlanır. HVN'nin oksidasyonu yoluyla versikonal hemiasetal asetat (VHA) oluşur. VHA versikonol asetata (VOAc) ve ardından versikonole (VOH) dönüştürülür. VOH versikonal üretmek için esteraz kullanır, daha sonra siklaz yoluyla versikolorin B'ye dönüştürülür, ardından versikolorin B'nin versikolorin A'ya ve dimetil-dihidro-sterigmatosistin (DMDHST) dönüşümü takip eder. Versikolorin A ve DMDHST'nin sırasıyla dimetil-sterigmatosistin (DMST) ve dihidro-sterigmatositine (DHST) dönüştürülmesi gerçekleşir. O-metiltransferazlar, DMST ve DHST'nin ara ürünlerini sırasıyla sterigmatosistin (ST) ve dihidro-O-metilsterigmatosistin'e (DHOMST) dönüştürmek için AF'lerin biyosentezinde merkezi bir rol oynar. Daha sonra ST'den O metilsterigmatosistin (OMST) üretilir; son olarak, OMST ve DHOMST, AF'lerin üretilmesindeki son basamak olur (20).

2.2.4. Aflatoksin Biyosentezini Etkileyen Faktörler

Aflatoksin biyosentezi, çeşitli biyotik ve abiyotik faktörlerden etkilenir. Bu faktörler biyolojik, fizyolojik, besinsel ve çevresel faktörler olarak kategorize edilir (24).

I. Biyolojik faktörler

Çeşitler

Mısır ve yer fıstığının tipik çeşitleri aflatoksin kontaminasyonuna nispeten daha duyarlıdır. Tipik yer fıstığının aksine, Bt (*Bacillus thuringiensis*) genini sergileyen transgenik çeşitler ise önemli ölçüde daha düşük AF seviyeleri sergilediği bildirilmiştir (24).

Toprak tipi

Aflatoksinlerin kontaminasyonu, toprak türünden büyük ölçüde etkilenir. Kum ve kil içeren topraklarda, hızlı ayrışabilen topraklarda, aflatoksinlerin daha kısa sürede kontamine olabileceği; yüksek su tutma potansiyeline sahip daha ağır topraklarda ise aflatoksin kontaminasyon seviyesini daha düşük olduğu bildirilmiştir (24). Hafif ve kumlu topraklar, *Aspergillus flavus*'un üremesine daha elverişli olduğu için Aflatoksin kontaminasyonu olasılığının daha yüksek bulunduğu çalışmalar bulunmaktadır (25).

Toprakta yaşıyan canlı mantar türleri

Mantarların aflatoksin üretiminde yaklaşık 30 gen yer alır. Mahsullerde mantar istilasası, büyümesi ve aflatoksin üretimi esas olarak çevresel faktörler, mahsullerin türü ve bir çevrenin diğer ekolojik yapısı tarafından belirlenir. Tüm *Aspergillus* türleri aflatoksin üretmez ve tüm türler tüm ekin türlerini istila etmez. Bu nedenle, tarımsal ürünlerin aflatoksin kontaminasyonunun seviyeleri ve şiddeti, bir dereceye kadar üretim alanının mantar ekolojisi tarafından belirlenir (2).

Mikotoksin üretmeyen birkaç *Aspergillus flavus* suşu, toksin üreten suşları agroekosistemden özellikle tohumlardan, tahıllardan ve diğer pazarlanabilir ürünlerden, rekabetçi bir şekilde dışlamak için kullanılmıştır. Sonuçlar bu suşların aflatoksin kontaminasyonu olmadan sürdürebilir bir tarım imkanı sağlayabileceğini göstermiştir (26).

Bitki metabolitleri

Bitkiler, aflatoksin sentezi sürecini etkileyen fitoaleksinler olarak bilinen antimikrobiyal maddeleri sentezler. *Aspergillus flavus* dahil olmak üzere bazı mantar türleriyle tehdit altında olan olgunlaşmamış yer fıstığının, kabuklarındaki mantar enfeksiyonuna karşı direnç, fitoaleksinin içeriği ile ilişkilendirilmiştir (24).

II. Fizyolojik faktörler

Bitkinin gelişim aşaması

Fitoaleksinleri eksik olan daha küçük ve olgunlaşmamış taneler, *A. flavus* kaynaklı istilaya ve aflatoksin oluşumuna daha duyarlıdır (24).

Kültür pH

Aflatoksin üretimi, kültür ortamının asit-baz denge oranındaki değişiklik ile farklılık gösterir. Mantarların aflatoksin üretiminin 4 veya 5 pH seviyelerinde pH 8'e göre neredeyse 5-10 kat daha yüksek olduğu yapılan çalışmalarda bulunmuştur. Düşük pH, aflatoksin üreten genlerin aktivasyonuna yol açar, bu nedenle asidik ortam, *A. flavus* tarafından aflatoksin biyosentezini artırmaktadır (24, 27).

Oksidatif stres

A. parasiticus ve *A. flavus*'un aflatoksin biyosentezinin oksidatif strese karşı hücrel tepkinin bir parçası olduğu öne sürülmüştür. Aflatoksin biyosentezinin, katalazlar, süperoksit dismutazlar, peroksidazlar ve tioredoksin sistemini içeren birincil antioksidan mekanizmaya ek olarak ikincil bir savunma sistemi olarak işlev gördüğü öne sürülmüştür (28).

Hidrolize edilebilir tanenler, aflatoksin biyosentezini önemli ölçüde inhibe eder, bu tanenlerdeki ana anti-aflatoksijenik bileşenler gallik asittir. Gallik asit, aflatoksin biyosentetik kümesi içindeki yapısal genlerin ekspresyonunu azaltarak ve aflatoksigenез için sinyal iletim yollarını bozarak aflatoksin üretimini inhibe edebilir (23).

Aflatoksin biyosentezini askorbik asit, kafeik asit ve hidrolize olabilen tanenler gibi antioksidanların etkili bir şekilde inhibe ettiği düşünülmektedir (24).

Su Aktivitesi

Aflatoksin biyosentezini gerçekleştiren mantar türleri için optimum su aktivitesinin 0,82-0,99 a_w aralığında olduğu bildirilmiştir (20).

III. Besinsel faktörleri

Amino asit (alanin, aspartat, asparajin, prolin), karbonhidrat (glukoz, sukroz, maltoz), nitrojen, lipid ve eser element içeriğinin AF biyosentezini etkilediği araştırılmıştır (24). Lipitlerin substratlardan uzaklaştırılmasının, substratın *Aspergillus flavus* tarafından AFB1 kontaminasyon potansiyelini önemli ölçüde azalttığını bulunmuştur. Maltoz, glikoz, sukroz, arginin, glutamik asit, aspartik asit ve çinko konsantrasyonunun AFB1 üretimini istatistiksel açıdan anlamlı olarak artırabileceği bulunmuştur (29).

IV. Çevresel faktörler

Topografya

Aspergillus flavus, tüm iklim bölgelerine ait topraklarda gözlemlenmiştir, ancak sıcak bölgelerde (26-35° enlemler) daha yaygındır ve 45°nin üzerinde enlemlere sahip bölgelerde nispeten daha nadirdir. Aflatoksin B ve G türlerinin

biyosentezinden sorumlu *Aspergillus nomius* ve *A. parasiticus*, *Aspergillus flavus*'a göre daha nadir yaygınlık göstermektedir. Genel olarak, 35°nin altındaki enlemlere sahip alanların aflatoksin kontaminasyonu ile karşılaşma olasılığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (24).

İklim

Aflatoksin üreten mantarlar genellikle tropikal, ılık kurak, yarı kurak bölgelerde ve karakteristik değişiklikler içeren sulanan sıcak çöllerde yaşar. Sıcak ve kuru iklim, *Aspergillus flavus*'un gelişmesini, kondisyonunu ve dağılımını kolaylaştırır, aflatoksin kontaminasyonu bu koşullarda daha yüksektir (24).

Nisan 2005 ve Aralık 2018 tarihleri arasında İran'da yapılan 60 çalışmanın sistematik analizinde, Dağlık bölgeler, Kuzey kıyı bölgeleri ve Kurak bölgeler olarak 3 iklim bölgesinden süt örnekleri üzerine yapılan çalışmalar değerlendirilmiştir. Analize göre, en yüksek aflatoksin kontaminasyonu kuzey kıyı bölgelerinin süt örneklerinde bulunurken, en düşük kontaminasyon dağlık bölgelerde bulunmuştur. Bu sonuçlara göre İran'ın Hazar Denizi bölgeleri gibi kıyı bölgelerindeki sıcaklık ve nem, dağlık bölgelerine göre aflatoksinin kontaminasyonu için daha uygun koşullar sağladığı düşünülmüştür (30).

Sıcaklık, yağış düzeni ve bağıl nemdeki kısa vadeli değişiklikler yani genel hava koşullarının mantar AF üretimini etkilediği kabul edilmektedir. Daha az veya daha çok yağış miktarına göre yeterli yağış miktarında yer fıstığının aflatoksin kontaminasyonunun daha düşük olduğu kanıtlanmıştır (24).

Sıcaklık, mantar büyümesini ve mikotoksin üretimini değiştiren temel bir belirleyicidir. Hem düşük hem de yüksek sıcaklıklar mantar canlılığını ve aflatoksin üretimini azaltır. Genel olarak, aflatoksin sentezi için optimum sıcaklık 24 °C ile 30 °C arasında değişmektedir (31).

2010 ve 2014 yılları arasında Alabama'da mısır üretimi yapılan yerlerde toplanan verilerin değerlendirildiği, bir analiz rapor edilmiştir. Rapora göre çoklu doğrusal regresyon analizi sonucunda, minimum hava sıcaklığı ve yağış modellerinin gözlemlenen aflatoksin değişkenliğinin %50 ila %76'sını açıklayabildiği

hesaplanmıştır. Bu iki değişkenin de aflatoksin kontaminasyon seviyeleri üzerindeki etkisi, mısırın farklı fizyolojik olgunluk durumunda farklı olduğu bulunmuştur. Minimum sıcaklık, mısırın ipek açma dönemi ortasından sonraki 2 hafta boyunca aflatoksin üzerinde en güçlü pozitif etkiye sahip olduğu bulunmuştur. İpek açma döneminden 2 hafta önce ve ipek açma döneminden sonraki 43. günden olgunlaşma zamanına kadar yağışta bir azalma, yüksek aflatoksin kontaminasyon seviyeleri ile sonuçlandığı bildirilmiştir (32).

Kserofit mantarları, *A. flavus* ve *A. parasiticus* kuraklık koşullarında büyüyebilir ve çoğalabilir. Kuraklık stresi, fitoaleksinin sentezini azaltarak mahsullerin mantarlara karşı doğal bağışıklığını bozar ve maruz kalan mahsullerin prolin içeriğini yükselterek aflatoksin üretimini kolaylaştırır (24).

2.2.5. Aflatoksin Miktarının Saptanması

Gıda ve yemdeki aflatoksinin tespiti ve miktarının belirlenmesi, güvenlik endişeleri açısından çok önemli bir husustur. Aflatoksinler genellikle absorpsiyon ve emisyon spektrumlarına göre tespit edilir ve tanımlanır. Pik absorbans 360 nm'de gerçekleşir. B toksinleri 425 nm'de mavi floresan gösterirken, G toksinleri UV ışınması altında 540 nm'de yeşil floresan gösterir. İnce tabaka kromatografisi (TLC), aflatoksin tespiti için kullanılan en eski tekniklerden biridir; yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), sıvı kromatografi kütle spektroskopisi (LCMS) ve enzime bağlı immün-sorbent testi (ELISA) aflatoksinin tespiti için en sık kullanılan yöntemlerdir (33).

2.2.6. Aflatoksin Maruziyeti

Aflatoksinlere maruz kalma, tipik olarak kontamine gıda maddelerinin yenmesidir. Deri maruziyetini takiben emilim yavaştır ancak önemli olabilir. Emilimden sonra, 90 dakika içinde AFB1'in %65'i kandan temizlenir ve plazma yarı ömrü kısadır. İnsan karaciğer homojenatları ile yapılan çalışmalar yarılanma ömrünün yaklaşık 13 dakika olduğunu bulmuştur (34).

İnsanlar, aflatoksin kontamine mahsullerin tüketilmesi, aflatoksine maruz kalan hayvanlardan elde edilen ürünlerin tüketilmesi veya anne sütünde bulunması yoluyla aflatoksinlere maruz kalmaktadır (35).

İnsanlar tarafından aflatoksin kontamine gıdalar diyet yoluyla alındığında, maruziyetin biyolojik belirteçleri olarak kullanılacak çeşitli metabolitlere metabolize edilir. Bu metabolitler arasında kanda albümin bağlı aflatoksin (AFalb), idrarda aflatoksin N7-guanin ve idrar ve anne sütünde aflatoksin M1 bulunur. İdrarda AFM1, aflatoksinguanin kompleksinden daha yaygın olarak saptanır. Aflatoksin kontaminasyonu yüksek riskli bölgelerde, aflatoksinin biyolojik takibi için son 48 saatlik idrar, veri sağlamadaki kullanışlılığı nedeniyle kana göre daha çok tercih edilir (36).

2.2.7. Aflatoksin Toksisitesi

Aspergillus flavus ve *Aspergillus parasiticus* mantarlarının metabolizması tarafından üretilen bir tür olan Aflatoksin B1, başlıca tüm aflatoksinlerin en sık görülen ve en toksik olanıdır. AFB1'in doğada, özellikle yerfıstığı, mısır, pirinç, sorgum ve sıvı yağlar dahil olmak üzere çeşitli tarım ürünlerinde yaygın olarak bulunmaktadır (37).

Bu insan sağlığını tehdit eden toksin (38), 2002 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından Grup 1 insan kanserojeni olarak sınıflandırılmıştır (39).

Aflatoksinlerin kanserojen, teratojenik, hepatotoksik, mutajenik ve immüno-supresif etkileri vardır ve en çok karaciğeri etkilemektedir. Aflatoksinler, insan ve hayvan popülasyonlarında hem akut toksisite hem de kronik kanserojenlik ile ilişkilidir (40).

Hayvanlarda aflatoksin alımına bağlı toksisitenin şiddeti türe, yaşa, cinsiyete ve beslenme durumuna göre değişkenlik gösterir. Karaciğerde büyük toksisite etkisi gözlemlenebilir ve bu durum kalıcı karaciğer hasarı ile sonuçlanabilir. Hayvanlarda aflatoksikoz, gastrointestinal disfonksiyon semptomları, üremede azalma, yemden yararlanmanın ve verimin azalması, anemi ve sarılık ile sonuçlanabilir (41).

Çiftlik hayvanlarında, AFB1, yaygın olarak aflatoksikoz olarak adlandırılan hayvan büyümesi ve üretkenliğinin azalmasına yol açan çok sayıda istenmeyen etkiye neden olabilir. Sonuç olarak, hayvanların AFB1 ile kontamine yemlere maruz kalması önemli ekonomik kayıplara neden olabilir. Bu nedenle, AFB1'in tüm hayvan türlerinde ve farklı hayvansal üretim sistemlerinde (örneğin, çeşitli üretim sektörleri, yani süt veya besi sığırları, piliçler veya yumurta tavukları) üzerindeki etkilerinin araştırılması büyük önem arz etmektedir. Ayrıca sığır ve süt sığırlarının koyun veya atlara göre aflatoksikoza daha duyarlı oldukları da bilinmektedir (42).

İnsanlarda akut aflatoksikoz, kusma, karın ağrısı, pulmoner ve serebral ödem, koma, konvülsiyonlar ve hatta ölüm ile karakterizedir. AFB1'in toksik etkileri, temel olarak AFB1-8,9-epoksidin hücresel makromoleküllere, özellikle mitokondriyal ve nükleer nükleik asitlere ve nükleoproteinlere bağlanmasına bağlıdır ve bu bağlanma sitotoksik etkilere neden olur. Gıda ve yemlerde aflatoksin kontaminasyonu ile ilgili aşırı endişeler, olumsuz halk sağlığı ve ekonomik etkileri nedeniyle, aflatoksinler 1969'dan beri FDA tarafından yakından kontrol edilmektedir (40).

Oral maruziyetin ardından, AFB1, bağırsak dokusunda ve karaciğerde mikrozomal sitokrom P450 (esas olarak CYP450 3A4 ve 1A2) tarafından metabolize edilir ve DNA'ya bağlanan ve AFB1-guanin eklentilerini oluşturan AFB1-8,9-epoksit oluşur (34).

AFB1 karaciğerde P450 enzim sistemi tarafından iki izomeri olan nihai kanserojen aflatoksin B1-8,9-epoksit (AFBO) (endo-8,9-epoksit ve ekzo-8,9-epoksit) metabolize edilir. Bu metabolik dönüşüm, öncelikle insan karaciğerinde CYP3A4 ve CYP1A2 tarafından gerçekleştirilir. Yüksek AFB1 konsantrasyonlarında, CYP3A4, sadece AFBO'nun ekso izomerini üreterek AFBO oluşumunun başlıca üreticisidir, ancak CYP1A2 daha düşük AFB1 konsantrasyonlarında birincil AFBO üreticisi olur. Düşük AFB1 konsantrasyonlarında CYP1A2'nin CYP3A4'ten daha fazla ekso izomeri ürettiği bulunmuştur. Bu ara ürünün oldukça elektrofilik yapısı, proteinlerle ve nükleik asitlerle kendiliğinden reaksiyona girmesine izin verir. DNA ile reaksiyona girerken, AFBO, AFB1-N7-guanini oluşturan guanin üzerindeki N7 pozisyonuna kovalent olarak bağlanır. Ekso izomerin guanin kalıntıları için endo

izomerden çok daha yüksek bir afiniteye sahip olduğu gösterilmiştir, bu nedenle AFB1-ekso-8,9-epoksit, ana kanserojen metabolit olarak kabul edilir (43).

AFB1 toksisite metabolizmasına duyarlılık, yaşa göre ve bireylere göre farklılık gösterir. İn vitro metabolizma çalışmaları AFB1 için aşağıdaki metabolik reaksiyonları göstermiştir (34):

- İndirgenerek aflatoksikol üretir;
- hidroksilasyon AFM1'i üretir;
- hidrasyon AFB2a üretir;
- epoksidasyon AFB1-2,3-epoksit üretir.

Epoksit en reaktif metabolittir ve AFB1 ile AFP1'in hem akut hem de kronik toksisitesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. AFQ1 veya AFB2a nispeten daha az toksiktir (34).

Yüksek düzeyde aflatoksine maruz kalan HCC hastaları üzerinde yapılan çok sayıda epidemiyolojik çalışma, bazı genlerin (örneğin, P53 tümör baskılayıcı gen, c-KRAS onkogen ve HRAS proto-onkogen) özellikle mutasyonlara maruz kaldığını kanıtlamıştır. Bu çalışmalar HCC ve aflatoksin maruziyeti arasındaki ilişkiyi güçlendirmektedir. AFB1 karsinogenez etkisi maruziyeti ile artan oksidatif stres ve bunun sonucunda reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve lipid peroksidasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Lipid peroksidasyonu, DNA onarımını inhibe eder ve metil-hidroksi-1,N2-propanodG (meth-OH-PdG) üretimini tetikler (42).

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar AFB1 ve AFM1, böbreklerde PRODH ve L-prolin seviyelerinin ekspresyonunu değiştirerek, oksidatif strese ve sonucunda apoptozise neden olduğu bulunmuştur (44).

2.2.8. Aflatoksinlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri

Aflatoksinler insan sağlığı üzerine teratojenite, hepatotoksisite, sitotoksisite ve genotoksisite etkileri ile ilişkilendirilmiştir (17).

Kısa bir süre içinde ortaya çıkan yüksek düzeyde aflatoksin maruziyetinin akut aflatoksikoza neden olduğu kabul edilmektedir (40).

Akut aflatoksikoz vaka bazında aralıklı olarak ortaya çıksa da, Afrika'da büyük salgınlar bildirilmiştir. 2004 Ocak ve Haziran dönemi salgın raporuna göre, Kenya'nın doğusunda bir aflatoksikoz salgını 317 vaka ve 125 ölümlle sonuçlanmıştır. Karaciğer yetmezliği nedeniyle hayatını kaybeden bireylerin AF-albumin bağının kanda, sağlıklı kişilere göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bildirilmiştir (5).

Hepatoselüler karsinom (HCC), karaciğerin dünya çapında erkeklerde en sık görülen beşinci, kadınlarda ise yedinci en yaygın kanserdir(45). Aflatoksin, mutajenik ve kanserojen özellikleri nedeniyle, hepatit B virüsü (HBV) ve hepatit C virüsü (HCV) ile birlikte HCC'nin önemli bir risk faktörü olarak sınıflandırılmıştır. Afrika ve Güney Asya'da da oldukça yaygın olan aflatoksin ve hepatit B'nin sinerjik olarak etkileşime girerek HCC riskinin yükseldiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (46, 47).

Karaciğer karsinogenezi, duyarlı hücrelerde genetik veya epigenetik hasar tarafından yönlendirilen çok aşamalı ve çok faktörlü bir süreçtir. TP53 (p53) tümör baskılayıcı gen, insan kanserlerinde en sık mutasyona uğrayan genlerden biridir. AFB1'e maruz kalan hastalardan alınan HCC örneklerinin TP53'ün 7. eksonunda kodon 249'da (R249S) bir mutasyon taşır (47).

AFB1 ile indüklenen R249S mutant proteininin, HBX proteininin transaktivasyon alanına bağlandığı hepatokarsinogenezi hızlandırdığı düşünülmektedir. AFB1'in neden olduğu DNA hasarı HBV'nin varlığından etkilenmemesine rağmen, AFB1'in HBV DNA replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (47).

Çok sayıda epidemiyolojik ve analitik çalışma, aflatoksin maruziyetinin kronik hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu ile sinerji oluşturduğunu ve her iki risk faktörüne sahip popülasyonlarda karaciğer kanseri (hepatoselüler karsinom, HCC) riskini artırdığını göstermektedir (48, 49).

Hepatit virüsü ile aflatoksin maruziyetinin oluşturduğu sinerjinin benzerinin düzenli alkol kullanımı olan bireylerde de görüldüğünü gösteren bir kohort çalışma

bulunmaktadır. Düzenli alkol tüketen bireylerin kandaki AF-albumin değerlerinin HBV enfekte bireylere benzer şekilde HCC ile ilişkili olduğu bulunmuştur (49).

Hamilelik sırasında ve sonrasında diyet (yaşamın ilk 1000 günü), çocuğun gelecekteki sağlık durumunda temel bir rol oynar (8). Diyet ile aflatoksin alımının büyüme üzerine etkileri ile ilgili yapılmış araştırmalar bulunmaktadır. Araştırmalar aflatoksine uteroda plasenta yoluyla maruziyet olabileceği ve uteroda daha yüksek maruziyet seviyelerinin daha düşük doğum ağırlıkları ve çocuklarda bodurluk ile ilişkili olduğunu göstermiştir (6-9).

Gana Kumashi'de kesitsel bir çalışmada doğum için başvuran 785 kadından alınan kan örneklerindeki Aflatoksin B1 (AFB1)-lizin değerleri HPLC ile incelenmiştir. Sosyo-demografik değişkenler ve olası karıştırıcı faktörler için düzeltme yapıldıktan sonra, AFB1-lizin değerlerine göre çeyrekliklere ayrılmıştır. En yüksek AFB1-lizin çeyreğine katılanların düşük doğum ağırlıklı bebeklere sahip olma olasılığı istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulunmuştur (6).

Uganda, Mukono bölgesinde kohort bir çalışmada, 220 anne-bebekten oluşan bir örnekleme, hamilelik sırasında maternal aflatoksin maruziyeti ile düşük doğum ağırlığı olmak üzere olumsuz doğum sonuçları arasındaki ilişkinin araştırılması hedeflenmiştir. Gebeliğin birinci trimester maternal AFB-lizin seviyeleri, doğumda bebeklerde daha düşük doğum ağırlığı, yaşa göre daha düşük ağırlık Z-skoru, daha düşük baş çevresi ve daha düşük baş çevresi-yaşa göre Z-skoru ile istatistiksel açıdan anlamlı ilişkili bulunmuştur (9).

Gambiya'nın Batı Kiang bölgesinde hamile kadınlar ve daha sonra doğan bebeklerin takip edildiği bir kohort çalışma yapılmıştır. 18-45 yaş arası hamile kadınlardan, biyokimyasal analizler için hamileliğin 1-16. haftasında kan örneği alınmıştır. Doğumdan sonra 2-8 ay arasında toplam 115 bebekten DNA ekstraksiyonu için kan alınmıştır. Daha sonra anneden alınan kan AF-albumin değerleri ile bebek DNA'sının 71 CpG immün ve inflamatuvar yanıtta ve büyüme faktörlerinde rol alan bölgesindeki metilasyon arasında bir ilişki bulunmuştur. Spesifik genlerde hipermetilasyon karsinogenez için önemli bir mekanizmadır (7).

Hayvan çalışmaları, AFB1'in eritrositlerin parçalanmasına ve hemoglobinde azalmaya neden olduğunu ortaya koymuştur. Hamilelik boyunca hamile kadınlarda AFB1 maruziyeti ile anemi arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için Çin'in Guangxi kentinde prospektif bir kohort çalışması yapılmıştır. Ocak 2016'dan Aralık 2017'ye kadar 994 hamile kadın verileri toplanmıştır. 3 ayrı trimesterde incelenen kadınların sadece birinci trimesterde serum AFB1-albumin değerleri karşılaştırıldığında, Hb, MCH ve MCHC'de azalma istatistiksel olarak anlamlı ilişkili olduğunu bulunmuştur. Bu sonuçlara göre hamileliğin erken dönemlerinde aflatoksin maruziyeti mikrositik hipokromik anemi ile ilişkilendirilmiştir (50).

İnsan ömründe aflatoksin maruziyeti doğumdan sonra anne sütü ile devam eder. Anne sütü birçok besin maddesi içermesine rağmen, annenin gıda ve çevreden gelen toksik bileşiklere maruz kalmasıyla ortaya çıkan çevresel kirleticileri ve toksik maddeleri de içerebilir. Bir sistematik ve meta analizde 1 Ocak 1983 ve 25 Aralık 2017 tarihleri arasında 196 çalışma derlenmiştir. Anne sütü açısından dünyada en düşük aflatoksin prevalansı Brezilya'da bulunurken; en yüksek Gambiya, Tanzanya ve Ürdün'de bulunmuştur. Yıllık ortalama daha çok yağış miktarı olan ve yoksulluk daha çok olan bölgelerde, anne sütünde AFM1 prevalansı önemli ölçüde arttığı bulunmuştur (51).

Gelişmekte olan ülkelerde, özellikle Sahra altı Afrika'da süttten kesme çağındaki çocuklar, aflatoksin maruziyeti için yüksek riskli bir nüfus grubu olarak kabul edilir. Süttten kesme gıdalarının tipik bileşenleri olan mısır ve yerfıstığı, aflatoksin kontaminasyonuna karşı oldukça hassastır. Ayrıca, çocuklar için vücut ağırlığına göre maruziyet seviyeleri yetişkinlere göre daha yüksektir ve meydana gelen hızlı büyüme ve bu süre zarfında gerekli olan ek besinler, aflatoksinin maruziyeti açısından kritik bir zaman olduğu anlamına gelir (52).

Bir kesitsel çalışmada, Kenya, Nairobi'nin iki düşük gelirli bölgesinde rastgele 204 düşük gelirli hane seçilmiştir. 1-3 yaş arası çocukların bulunduğu hane halkı demografisi ve 24 saatlik geriye dönük besin tüketim kaydı ile ilgili sorular gerçekleştirilmiştir ve çocuk antropometrik ölçümleri de yapılmıştır. Aynı bölgelerde süt, mısır ve sorgum örnekleri aflatoksin açısından analiz edilmiştir. Yiyeceklerin %98'i aflatoksin pozitif bulunurken, çocukların %41'inin antropometrik sonuçları

bodur olduğunu göstermiştir. Tüketim kayıtlarına göre çocukların vücut ağırlığı başına 21,3 ng/L aflatoksin maruziyeti söz konusu olduğu bulunmuştur. Tüketim kayıtları ile maruziyeti göz önüne bulundurulan çocukların bodurluğu ile aflatoksin arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur (53).

Hücre bazında yapılan çalışmalar, AFB1'in hematopoietik progenitörlerin canlılığını ve IL-8 ile indüklenen nötrofil kemotaksisini inhibe ettiğini göstermektedir. Bu etkiler, in vitro olarak tanımlanmasına incelenmesine rağmen hayvan modellerinde veya insanlarda yapılan çalışmalar sınırlıdır (10).

Uluslararası Kanseri Araştırmaları Ajansı çalışma grubunun 9 no'lu raporunda aflatoksin maruziyetinin sağlık üzerine etkileri, hepatosellüler karsinom(54), natal, prenatal (55) ve çocukluk (56) döneminde büyümeye etkisi ve immünsüpresif etkileri (10) inceleyen çalışmalar derlenmiştir.

2.2.9. Aflatoksinlerin Oluşumunu Azaltmaya Yönelik Stratejiler

Hasat öncesi çözümler

Hasat öncesi çözümlerin çoğu, tipik olarak böceklere dayanıklı ekinlerin kullanımını, iyi toprak işleme ve yabancı ot ayıklama uygulamalarını, uygun gübre kullanımını, sulama ve ürün rotasyonunu içeren uygulamalara dayanmaktadır. Ek olarak, toprağın kireç ve çiftlik gübresi ile işlenmesi gibi uygulamaların aflatoksin kontaminasyon seviyelerini azaltmada başarılı olduğu kanıtlanmıştır (57).

Mısır bitkilerinde aflatoksin ve fumonisin kontaminasyonuna karşı genetik direnç mevcuttur, ancak bu karmaşıktır ve birden fazla gen içerir ve genotiplerin taşınmasını gerektirir. Yeni genetik teknolojiler, gelişmiş üreme ve fenotipleme stratejileri ile birlikte, aflatoksinlere ve fumonisinlere dirençle ilişkili genetik belirteçlerin sayısı ve direnç genlerini ve proteinlerini önemli biçimde artırılabilir (58).

Hasat öncesi aflatoksin kontaminasyonunu azaltmak için dünya çapında çeşitli stratejiler uygulanmaktadır, hasat öncesi aflatoksin kontaminasyonunu azaltmak için tarlada dağıtılan *A. flavus*'un atoksijenik suşları ile biyolojik kontrol hem oldukça etkilidir hem de endüstri tarafından kolayca uyarlanmıştır. Atoksijenik suşlar, mahsul

gelişimi sırasında aflatoksin üretici mantarları yerinden ederek hasat edilen tahılda aflatoksin kontaminasyonunda önemli azalmalara neden olur. Biyokontrol ajanları olarak atoksijenik *A. flavus*'un etkinliği dünya çapında çeşitli mahsullerde iyi belgelenmiştir (59).

Hasat sonrası çözümler

Aflatoksin kontaminasyonu meydana geldiğinde, genellikle yerfıstığı içinde düzensiz olarak dağılmış sadece birkaç yüksek düzeyde kontamine tohum bulunur. Hasat edilen tohumların çoğunda kontaminasyon yoktur. Yüksek riskli tohumların, örneğin hasar görmüş, olgunlaşmamış veya rengi bozulmuş tohumların erken çıkarılması, daha fazla kontaminasyonu önlemenin ve yerfıstığının değerini artırmanın etkili bir yoludur. Pratik yöntemler arasında manuel sıralama, tohum boyutu ve yoğunluk ayrımı veya elektronik renk sıralama bulunur. Elektronik renk ayırma, işleme aşamasında mevcut olan en etkili aflatoksin yönetim stratejisi olduğunu kanıtlamıştır (57).

Hasat sonrası aşamada, tam kurutma, hızlı depolama ve temiz, kuru kaplar kullanılarak nakliye, aflatoksin önleme ve kontrolünün temel unsurlarıdır. Aflatoksinin önlenmesi için zamanında hasat da çok önemlidir. Bir çalışmada, olgunluktan sonra hasatta 3-4 haftalık bir gecikmede mısırdaki aflatoksinlerin 4-7 kat arttığı bulunmuştur (60).

Depolama

Temiz, kuru, böcek ve kemirgen içermeyen saklama koşulları, aflatoksin büyümesini önlemek için kritik öneme sahiptir. Depolama seçeneklerinin ucuz ve erişilebilir hale getirilmesi, tutarlı ve uzun vadeli kullanım için büyük önem taşımaktadır (57).

İşleme Aşaması

En umut verici işlemler arasında tahılın/yerfıstığının ayıklanarak temizlenmesi, işlenmeden önce gıdanın yıkanması ve tahılın mekanik olarak kabuklarının ayıklanması yer almaktadır. Bu yöntemlerin insan sağlığına zararlı olabilecek başka

toksinlerin de üretme olasılığı düşüreceğinden, temizleme ve kabuk çıkarmanın da güvenli olduğu belirtilmiştir. Kavurma ayrıca, AFB1'de azalma sağlayabilir. Pişirme aflatoksinleri azaltırken, aflatoksin düzeylerini yeterince etkilemek için genellikle evde pişirme sırasında elde edilemeyen sıcaklıklara ihtiyaç duyulmaktadır (57).

Endüstriyel detoksifikasyon süreçleri, inorganik tuzlar ve organik asitler ile amonyak buharı ve doğal asitler, tuzlar ve bitki özleri ile aflatoksin üreten mantarı ortadan kaldıracak amonyaklamayı içerir (57).

Sindirim Sisteminde

Adsorpsiyon ajanları olarak MOS ve β -glukanlar, mikotoksinlere bağlanarak gastrointestinal sistemde absorpsiyonlarını önler ve adsorban-toksin kompleksinin fekal atılımına izin verir. Bu faydalı etkiler, insanların diyet mikotoksinlerine maruziyetini azaltmayı amaçlayan gıda maddelerinde maya bazlı ürünlerin kullanılması için ilginç bakış açıları açar (61).

Probiyotik mikroorganizmaların, başta aflatoksinler olmak üzere mikotoksinlerin ve okratoksinlerin giderilmesinde etkili olduğu ortaya konmuştur. Probiyotikler, genellikle güvenli olarak kabul edilen çeşitli sağlık yararları olan canlı mikroorganizmalardır. Probiyotik mikroorganizmalar, hücre duvarı yapısının çok önemli bir rol oynadığı fiziksel bir yapışma yoluyla aflatoksin moleküllerine bağlanabilir. Hücre duvarlarının yapısı genetik olarak bağlantılı suşlarda bile oldukça değişkendir. Ayrıca, her suş için glikoproteinler gibi hücre duvarlarının belirli bileşenlerinin doğası, aflatoksin bağlama kapasitelerini etkileyebilir. İn vitro çalışmalar aflatoksinlerin dekontaminasyon etkinliğinin farklı suşlara göre önemli ölçüde değiştiği bildirilmiştir. 1998'den 2020'ye kadar yapılan in vitro çalışmaları derleyen bir sistematik ve meta analiz, probiyotik bakterilerin aflatoksin B1'i azaltma kapasitesini araştırmayı amaçlamıştır. 31 çalışmanın meta analiz sonuçları, probiyotik bakterilerin aflatoksin B1'i %45,99 oranında, önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Sırasıyla Lactobacillus %47,96, Bifidobacterium %43,95, Pediococcus %41,61 Lactococcus %33,56 Enterokok %27,14 azaltma kapasitesi bildirilmiştir. Probiyotik bakteri suplementasyonu, aflatoksin B1'i azaltmak için biyolojik bir araç olarak önerilmiştir (62).

2.2.10. Aflatoksin M1

Aflatoksin M1, aflatoksin B1'in mikrozomal sitokrom P450 ile hepatik düzeyde biyotransforme edilmiş monohidroksillenmiş türevidir ve AFB1 kontamine yemleri yiyen emziren hayvanların sütünde bulunur (3).

Aflatoksin B1, karaciğerde sitokrom P450 ile ilişkili enzimler tarafından metabolize edilir ve AFB1 kontamine gıda tüketimini takiben emziren hayvanların sütünde, dışkıında ve idrarında Aflatoksin M1 görülür (63). Araştırmalar, süt sığırları tarafından tüketilen yemdeki AFB1 ile sütteki AFM1 miktarı arasında doğrusal bir ilişki olduğunu bulunmuştur (63, 64). AFB1'in ilk alımından 12 saat sonra sütte Aflatoksin M1 tespit edilebilir; kontamine kaynağın çekilmesinin ardından süt içeriğindeki AFM1 konsantrasyonunun 72 saat içinde saptanamayan bir düzeye düştüğü bildirilmiştir (63).

AFM1 ayrıca, AFB1 maruziyetini takiben idrarda yüksek seviyelerde atılır ve bu nedenle idrar ile atım AFB1 maruziyetinin ek bir biyobelirtecidir (43). AFM1 metaboliti, aflatoksin alımından 24-48 saat sonra idrarla atılır (65).

Aflatoksin M1 1993 yılında Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından Grup 2B olarak sınıflandırılırken, 2002 yılında Grup 1 insan kanserojeni olarak sınıflandırılmıştır (39, 66).

AFB1 ayrıca P450 sistemi aracılığıyla bir dizi hidroksilasyon ürününe metabolize edilir. AFM1, CYP1A2 tarafından üretilen temel bir metabolittir ve genellikle AFB1'e maruz kalan insanlarda ve hayvanlarda saptanır. AFM1, gökkuşağı alabalığı ve sıçanlarda tümörleri indüklediği gösterilen, hidroksile metabolitler arasında en kanserojen olanıdır. AFB1'e benzer şekilde bir N7 guanin ürünü oluşturabildiği için DNA toksisitesine neden olabileceği düşünülmüştür (43).

AFM1, süt sığırlarının ve insanların sütlerinde yaygın olarak bulunur ve bu durum süt ve süt ürünleri tüketimiyle diyet maruziyetine yoluna yol açar (43).

Süt, yüksek besin değeri nedeniyle her yaş grubundaki insanlar için temel bir gıda olarak kabul edilir. İnsan beslenmesinde merkezi bir rol oynar ve bu nedenle küresel beslenme düzeyinde büyük bir öneme sahiptir (67).

Süt, peynir ve yoğurt gibi süt ürünleri, protein, vitaminler ve mineraller de dahil olmak üzere bol miktarda besin kaynağı sağlar. Hipertansiyon, metabolik sendrom, tip 2 diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli kronik hastalıklarla olumlu ilişkisi ve ayrıca kemik sağlığını korumada yararları incelenmiştir (68).

Süt ve süt ürünleri, başta çocuklar olmak üzere tüm yaş grubu insanlar tarafından yaygın olarak tüketilmektedir. Süt, temel besin kaynaklarından biridir. Süt, biyokimyasal içeriği ve esansiyel amino asitleri sağlaması nedeniyle insan beslenmesinde çok önemlidir. Süt ürünleri tüketimi, dünya genelinde çocukların alışkanlıklarının, diyetle alımlarının %80'inden fazlasında bulunmaktadır (69).

Süt hayvanlarında yem ile alınan AFB1'in yaklaşık %0,5-5'inin AFM1 olarak süte aktarıldığı hesaplanmıştır. AFB1 ile kontamine yemler süt hayvanları tarafından tüketildiğinde, AFM1 3 gün içinde sütte tespit edilebilir ve kontamine yem tüketimi sonlandırıldıktan sonra 4 gün içinde AFM1 sütte tespit edilemez hale geldiği görülmüştür (67).

Son yıllarda insan sağlığındaki yüksek besleyici rolü nedeniyle tüm dünyada süt tüketiminde artış gözlemlenmektedir. Pastörize ve sterilize edilmiş süt, yoğurt, peynir ve diğer süt ürünlerinde pastörizasyon ve ultra yüksek sıcaklık (UHT) işlemi gibi çeşitli termal işlemlerde yüksek stabilitesi nedeniyle AFM1 en önemli ksenobiyotik bileşiklerden biri olarak kabul edilmiştir. Altmıştan fazla ülke, süt ve süt bazlı ürünlerde AFM1 için izin verilen maksimum seviye belirlemiştir. Avrupa Birliği, AFM1'in maksimum kalıntı seviyesini 50 ng/L olarak belirlemiştir (70).

Sütte izin verilen AFM1 düzeyi ABD (71), AB (72) ve Türkiye'de (73) sırasıyla 500 ng/L, 50 ng/L ve 50 ng/L'dir. Türk Gıda Kodeksi'ne göre çiğ süt, ısı işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan sütün aflatoksin M1 içeriği 0,05 µg/kg'den az olmalıdır. Bebek formülleri ve devam formülleri ayrıca bebekler için

özel tıbbi amaçlı diyet gıdaların aflatoksin M1 içeriği 0,025 µg/kg'den az olmalıdır (73).

Tablo 2.1. Ülkelere göre süt ve süt ürünlerinde AFM1 limitleri (74).

Ülke	Süt (µg/L)	Süt Ürünleri (µg/kg)
Arjantin	0,05	0,5 (süt ürünleri); 0,25 (peynir)
Brezilya	0,5	5 (süt tozu); 2,5 (peynir)
Çin	0,5	0,5 (süt ürünleri)
Nijerya	1	-
İsviçre	0,05	0,25 (peynir)
Türkiye	0,05	0,25 (peynir)
ABD	0,5	-
İran	0,05	0,5 (süt tozu), 0,02 (tereyağı), 0,250 (peynir)
Honduras	0,05	0,25 (peynir)
Avrupa Birliği	0,05	<u>İtalya</u> 0,25 (yumuşak peynirler); 0,45 (sert peynirler)
	0,025 (infant ve okul öncesi çocuklar için üretilen yiyeceklerde)	<u>Avusturya</u> 0,02 (tereyağı); 0,25 (peynir); 0,4 (süt tozu)
	0,01 (pastörize infant sütü)	<u>Hollanda</u> 0,02 (tereyağı); 0,02 (peynir)
	<u>Fransa</u> 0,03 (3 yaş altı çocuklar)	

Bir sistematik ve meta analizde, 1988'den 2020'e kadar yapılan sütte Aflatoksin M1 içeriğini analiz eden çalışmalar incelenmiştir. Seçilen 122 makale analiz edildiğinde, dünya çapında sütlerin aflatoksin M1 pozitif oranı %79,1 olarak bulunmuştur. Aflatoksin M1 miktarının yıllar geçtikçe Amerika, Avrupa ve Afrika'da yükseldiği Asya'da azaldığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Aynı çalışmada küresel çapta Aflatoksin M1 miktarının yüksek kabul edilen limitlere yakın olduğu bulunmuştur (75).

Sahra-altı Afrika Ülkelerinde anne sütünde aflatoksin M1 varlığını inceleyen ve bu aflatoksinin infantlarda kanser potansiyelini değerlendiren 9 çalışmayı derleyen bir sistematik ve meta analiz yapılmıştır. Bu analizde anne sütlerinin %56,18'sinin aflatoksin M1 içerdiğini ve ortalama 31,12 ng/L düzeyinde olduğunu bulmuştur.

Diyetle ortalama maruziyet hesaplandığında bu aflatoksin değerinin 1 aydan küçük bebeklerde kanser potansiyel değerlendirmesinin riskli bulunurken ($>100\text{ng/L/gün}$), daha büyük çocuklar için riskli bulunmamıştır (76).

2.2.11. Dondurma ve Sütli Buz Ürünlerinde AFM1

Türk Gıda Kodeksine göre; dondurma, karışımının pastörizasyon sonrası, tekniğine uygun olarak işlenmesi ve dondurulması ile elde edilen, yumuşak halde ya da sertleştirildikten sonra tüketime sunulan bir üründür. Sütli buz ürünleri ise süt ve/veya süt ürünleri, içme suyu, şeker, süt proteinleri, süt yağı ve/veya bitkisel yağ ve/veya yumurta yağı ile gerektiğinde izin verilen katkı maddeleri, aroma ve çeşni maddeleri gibi bileşenleri içeren bir üründür (73).

Dondurulmuş bir ürün olan dondurma, süt kreması ve şekerin yanı sıra çeşitli katkı maddeleri içerebilen ve tüketim için iyi bir enerji kaynağı ve yağ, protein, vitamin ve mineral tuzları gibi birçok besin maddesi olan, kalsiyum ve fosfor gibi birçok besin maddesi içeren dondurulmuş bir üründür. Ancak dondurma, aflatoksin gibi toksik maddelerin kaynağı da olabilir. AFM1 ısıya dayanıklı olduğundan, kazeine iyi bağlandığından ve peynir yapım sürecinden etkilenmediğinden, çiğ süttten daha yüksek konsantrasyona sahip peynir gibi bazı süt ürünlerinde de tespit edilebilmiştir (40).

Süt ürünlerinde AFM1'in saptanması için birkaç yöntem vardır. Analitik prosedürler genellikle şu aşamalardan geçer: Örnek alma, Ekstraksiyon, Temizleme, Belirleme ve Miktar Ölçme. Ekstraksiyon aşaması için, organik çözücülerin (asetonitril ve metanol olarak) kullanımı hala en yaygın olanıdır, ayrıca proteolitik enzimlerin kullanımı bulunmaktadır. Temizleme aşaması için, immünoafinite sütunlarının yüksek seçiciliği iyi bir seçenektir, ancak alternatif ve daha ucuz teknikler bulunmaktadır. Miktar ölçümü enzime bağlı immünosorbent tahlil (ELISA) ile yapılabilir. Ayrıca floresans tespiti veya kütle spektroskopisi ile yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi yöntemler kullanılmaktadır (74). Aflatoksinler, metanol-su veya asetonitril-su ile RP-HPLC kolonları tarafından çözülebilir, ancak bu sulu çözücülerde AFB1 ve AFG'nin floresansı oldukça zayıftır (77).

2.3. Farklı Mevsimlerde Üretilen Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1 İçeriği

Yapılan çalışmalar süt üreten hayvanların beslendikleri besinlerin çeşidinin ve bu çeşitlerin aflatoksin B1 miktarının mevsimlere göre değiştiğini göstermektedir. Pakistan'da yapılan bir çalışmada Ekim 2014 ve Eylül 2015 tarihleri arasında ticari olarak temin edilebilen hayvan yemi, taze yem ve süt hayvanlarının tükettikleri artık ekmekler gibi besin çeşitlerinin aflatoksin B1 içeriği analiz edilmiştir. Kış mevsiminde toplanan tüm örneklerde en yüksek ortalama AFB1 seviyeleri görülürken, yaz aylarında en düşük olarak görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları, yem olarak kullanılan ekmek örneklerinin ve ticari yemin AFB1 içerdiğini ve bu nedenle, süt hayvanı yemini ve aynı zamanda hayvan sütünün aflatoksin kontaminasyonunu önlemek için önlemler alınması gerektiğini göstermektedir (78).

Çalışmalar, sütteki AFM1 kontaminasyonunun mevsimsel değişikliklerle ilişkili olduğunu ve çiğ sütteki AFM1 içeriğinin soğuk mevsimlerde en yüksek olduğunu göstermiştir (79-81).

2013 yılında Şubat ve Temmuz ayları arasında doğu Hırvatistan'ın çiftliklerinden ve orta Hırvatistan pazarlarından toplanan (3716) çiğ süt ve (706) UHT süt örneklerinde aflatoksin M1 kontaminasyonu ELISA kiti analiz edilmiştir. Çiğ süt örneklerinde AFM1 düzeyi ortalama $46,6 \pm 75,9$ ng/L, UHT süt örneklerinde $25,7 \pm 18,5$ ng/L olarak bulunmuştur. Örneklerin toplandığı Şubat, Mart ve Nisan aylarındaki ortalama AFM1 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı Mayıs, Haziran, Temmuz aylarından daha yüksek tespit edilmiştir. Yaz döneminde daha düşük AFM1 konsantrasyonlarının insidansı, konsantre yem yerine mera ve çimen gibi taze çiğ yem kullanımının etkisi olduğu düşünülmüştür (82).

2016 yılının Şubat ve Ağustos (kış ve yaz sezonu), Kosova'nın beş farklı bölgesindeki küçük mandıralardan 192 adet çiğ süt örneği toplanmıştır. HPLC analizi ile aflatoksin M1 içeriği incelenen süt örneklerinin %38 AFM1 ile kontamine olduğu ve 11 örneğin (% 5,7) Avrupa Birliği maksimum seviyesini aştığı görülmüştür. AFM1 sıklığı ve seviyeleri açısından yaz ve kış arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Fakat kış ayında alınan örneklerin ortalama 37 ng/L aflatoksin M1 içerdiği bulunurken; yaz

ayında 21 ng/L aflatoksin M1 içerdiği tespit edilmiştir. Ayrıca kış ayında alınan örneklerin 8'inde (%8) Avrupa Birliğinin maksimum seviyesinin üstünde aflatoksin M1 içerdiğine rastlanırken, yaz ayında 3 örnek (%3) limit üstünde tespit edilmiştir (83).

Farklı mevsimlerde sütün AFM1 içeriğinin değiştiği gibi süt ürünlerinin de AFM1 içeriğinin değiştiği düşünülmektedir. İran'da farklı mevsimlerde üretilmiş peynirler üzerinde yapılan bir çalışmada da 6 farklı türde toplam 360 peynirde ELISA kiti ve HPLC yöntemiyle iki defa aflatoksin M1 içeriği analiz edilmiştir. Bütün peynir çeşitlerinin kış ve yaz mevsimindeki aflatoksin M1 miktarı istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmuştur. Genel AFM1 düzeyi ortalaması $139,4 \pm 2,4$ ng/L olarak tespit edilmiştir (84).

İran'da 2010 yılında yapılan bir çalışmada, geleneksel dükkanlarda ambalajsız satılan (16 kış mevsimi, 20 yaz mevsimi) 36 dondurma örneğinin İnce Tabaka Kromatografisi ile analizi sonucunda, kış mevsiminde üretilen dondurmaların ortalama AFM1 içeriği ($0,062 \pm 0,011$ ng/L), yaz mevsiminde üretilen dondurmalarından ($0,020 \pm 0,005$ ng/L) istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (85).

2016 ve 2017 yıllarında Mısır'da farklı mevsimlere ait çiğ süt (120 örnek), beyaz Kariş peyniri (118 örnek) ve Zabady (64 örnek) olmak üzere 302 geleneksel süt ürünü numunesi aflatoksin M1 içeriği TLC ile analiz edilmiştir. Üç süt ürününde AFM1 oluşumunu etkileyen mevsimsel değişiklikler sonucu, hem 2016 hem de 2017 yılı verilerinde kış mevsiminde toplanan numunelerdeki AFM1 seviyeleri yaz mevsiminde toplananlardan istatistiksel olarak anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (86).

2016 yılında Çin'in 11 farklı şehrinden bebek formülaları üreticilerinin kullandığı süt tozu kaynağı olan dört farklı bölgede (Kuzeydoğu Çin, Kuzeybatı Çin, Kuzey Çin ve Orta Çin) dört mevsimde (ilkbaharda 480, yazda 229, sonbaharda 128 ve kış mevsiminde 370) toplam 1207 çiğ süt örneği toplanmıştır. Örneklerin aflatoksin M1 içeriği uygun ELISA kiti ile analiz edilmiştir. Örneklerin aflatoksin M1 pozitif örnek miktarı (%82,14) en çok kış ayında bulunmuştur. Örneklerin %1,08'i Avrupa

Birliği limitlerinin üstünde olduğu tespit edilmiştir. Ortalama AFM1 düzeyi $14,8 \pm 15,9$ ng/L olarak bildirilmiştir (87).

2014-2015 yılları arasında Pakistan'ın, Punjab şehrinden toplam 372 (169 yaz mevsimde ve 203 kış mevsiminde) süt ve süt ürünü örneği toplanmıştır. Aflatoksin M1 içeriği, floresans detektörü ile donatılmış HPLC kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar, yaz mevsiminde üretilen çiğ sütün %37,5'inin, UHT sütün %32'sinin, süt tozunun %12,5'inin, aromalı sütlerin %20'sinin, yoğurtların %20'sinin ve aromalı yoğurt örneklerinin %16'sının Avrupa Birliği izin verilen sınır olan 50 ng/L AFM1 düzeylerini aştığını göstermiştir. Kış mevsiminde üretilen çiğ sütün %38,1'inin, UHT sütün %37,1'inin, süt tozunun %15,6'sının, aromalı sütlerin %21,4'ünün, yoğurtların %27,7'sinin ve aromalı yoğurt örneklerinin %40'ının Avrupa Birliği izin verilen sınır olan 50 ng/L AFM1 düzeylerini aştığı bulunmuştur. Çiğ süt, UHT süt ve süt tozu kış mevsimi örneklerinin yaz mevsimi örneklerinden daha yüksek aflatoksin M1 içerdiği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Pakistan ayçiçek çekirdeği, küspe, mısır ve mısır ürünleri, pamuk çekirdeği ve küspe gibi farklı yem malzemeleri kullanılmaktadır. Bu yem, aflatoksin B1 (AFB1) ile kontamine olması ve kötü depolama ve iklim koşulları nedeniyle farklı AFB1 seviyelerine sahip olabileceği düşünölmektedir. Kentsel alanlarda kurutulmuş buğday ekmeği, süt hayvanlarının beslenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kış mevsimi örneklerinden elde edilen sütte AFM1'in yüksek oranda görölmesi, kış aylarında çiftçilerin yaz mevsiminde bol miktarda bulunan yeşil yemden daha çok bu yiyecekleri yem olarak kullanmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünölmüştür (88).

Farklı hayvanların, farklı mevsimlerdeki sütlerinin aflatoksin M1 miktarını inceleyen, İran'da yapılan başka bir çalışmada ise, mevsimsel inek, koyun ve keçi sütünde AFM1 miktarının istatistiksel olarak farklılık gösterdiğini, ancak deve sütü için istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığını bulmuştur. Bu çalışmada 78 inek sütü, 52 koyun sütü, 41 keçi sütü ve 31 deve sütü örneği ELISA kiti analiz edilmiştir. Deve sütündeki sonuçların mevsimsel fark göstermemesinin sebebi, iklim koşullarının küf oluşumu ve aflatoksin üretimi için uygun olmadığı çöl bölgelerinde deve sürülerinin sıklıkla otlaması ve develeri beslemek için depolanmış tahıllar ve konsantre yemler

nadiren kullanılmasının dolayısıyla aflatoksin B1 maruziyetinde fark oluşturmaması olarak düşünülmüştür (3).

Bir çalışmada dört büyük İran kentindeki popüler pazarlardan ve mandıralardan toplanan çiğ inek, keçi ve koyun sütünden oluşan 682 süt ve süt ürünü numunesi aflatoksin M1 içeriği açısından İnce tabaka kromatografisi (TLC) ile incelenmiştir. İnek, keçi ve koyun çiğ süt örnekleri 4 mevsim açısından incelendiğinde, farklı mevsimlerde istatistiksel olarak anlamlı farklı aflatoksin M1 içerdiği bulunmuştur. Genel olarak istatistiksel karşılaştırmalarda bu çalışmadaki tüm süt hayvanlarının ürünlerinin kış ayı numuneleri yaz ve bahar numunelerine göre daha yüksek M1 içerdiği bulunmuştur (89).

Aflatoksin M1 miktarının süt ürünlerinde mevsimlere göre değiştiğini gösteren bir çalışmada 2013'ten 2015'e kadar üç yıl dört mevsim boyunca Çin'in Güney, Kuzey, Kuzeydoğu ve Batı bölgelerinden 1550 çiğ inek sütü örneği toplanmıştır. Örneklerin aflatoksin M1 içeriği HPLC ile analiz edilmiştir. Örneklerin %11,7'sinin Avrupa Birliği'nin 0,05 mg/L limitinden yüksek aflatoksin M1 içeriği bulunmuştur. AFM1 seviyeleri, tüm çalışmada diğer mevsimlere göre sonbaharda daha yüksek olarak görülmüştür. Verilere göre üç yılda da Güney Çin'den ve sonbaharda toplanan çiğ inek sütünün AFM1 kontaminasyonu istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuçların mevsimlere göre sıcaklık, nem ve besin çeşitlerinin değişmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür (90).

Mevsimlerin iklimsel özelliklerinin değişmesi de aflatoksin M1 içeriğini etkilemektedir. 2016-2017 yılları arasında yapılan bir çalışmada, Pakistan, Karaçi'nin yerel pazarlarından 156 süt örneği toplanmıştır ve ELISA tekniği kullanılarak aflatoksin M1 kontaminasyonu açısından analiz edilmiştir. Yaz mevsiminde alınan süt örneklerinin AFM1 düzeyinin ($375,4 \pm 15,3$ ng/L), kış mevsiminde alınan süt örneklerinden ($253,1 \pm 10,3$ ng/L) istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu durumun diğer çalışmalardan farklı şekilde yazın daha yüksek aflatoksin M1 içeriği bulunmasının nedeni, Pakistan'da yazın sıcaklığın 42°C 'elere kadar yükselmesi ve ayrıca yüksek nemin *Aspergillus*'ların üreme kapasitesini yükseltmesi olarak düşünülmüştür (91).

İran’da yapılan başka bir çalışmada ise, farklı mevsimlerde üretilen, 4 mevsime ait 25 toplam 100 UHT süt örneği aflatoksin M1 içeriği HPLC ile analize edildiğinde, mevsimler arasında ortalama ve standart sapma açısından bir fark görülmemiştir. Bu sonuç yılın her mevsiminde yüksek düzeyde aflatoksin M1 kontaminasyonuna bağlanmıştır. Çünkü İran’da, mevsimler arasında sıcaklık değişiminin azalması ve yıllık yağış miktarının azalması gibi iklim değişiklikleri görülmüştür. Sonuç olarak *Aspergillus*’ların aktiviteleri mevsimler arasında az fark göstermiş olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, son on yıldan beri İran para biriminin değişim değerini önemli bir seviyeye düşüren ciddi ekonomik yaptırımlar altındadır. Yemlerin çoğu diğer ülkelerden ithal edilmektedir; bu nedenle çiftçiler evcil hayvanlarına kaliteli yem sağlayamamakta, kalitesiz hububat ve silaj ve hatta ekmek atıkları (çoğunlukla küflü) hayvanlara yedirilmektedir (92).

Diğer ülkelere benzer şekilde farklı mevsimlerde üretilen süt ürünlerinin farklı AFM1 içerdiğini ve Türkiye’de süt örneklerinin AFM1 içeriğinin literatür ile karşılaştırılmasını hedefleyen bir çalışma Türkiye’de yapılmıştır. 2012 yılında Adana’da Ocak ve Aralık ayı arasında üretilen 176 çiğ süt örneği floresan saptamalı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-FD) ile aflatoksin M1 açısından analiz edilmiştir. İncelenen 176 örneğin 53’ünde (%30,1) aflatoksin M1 tespit edilmiştir. Kış mevsiminde üretilen sütlerin (27,5 ng/L) yaz mevsiminde üretilen sütlere göre (5,5 ng/L) daha yüksek oranlarda AFM1 içerdiği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. 30 çiğ süt örneğinin (%17) Türkiye ve AB düzenlemelerinin limitlerin üzerinde olduğu bulunmuştur (93).

Türkiye’de süt ve süt ürünlerinin AFM1 içeriğini ve bu değerlerin mevsimlere göre farkını incelemek için yapılan bir çalışmada 2014 ve 2015 yılları arasında Çanakkale’de üretilen, farklı mevsimlere ait toplam 120 çiğ süt, 120 peynir helvası ve 120 Ezine peyniri örneğinin Aflatoksin M1 içeriği ELISA kiti ile analiz edilmiştir. Her mevsime ait 30 örnek olacak şekilde örnekler toplanmıştır. Tüm örneklerden sadece 4 çiğ süt örneği yasal limitleri aştığı bulunmuştur. En yüksek aflatoksin M1 değerleri kış aylarında ($31 \pm 15,6$ ng/L), ardından ilkbahar ($13 \pm 3,8$ ng/L), sonbahar ($11,97 \pm 6,35$ ng/L) ve yaz ($8,37 \pm 2,25$ ng/L) aylarında tespit edilmiştir. Bu durumun nedeninin kışın, soğuk hava koşulları nedeniyle, hayvanlar genellikle silajla beslenmesi ve bu silajların,

AFM1'in öncüsü olan AFB1'in yüksek seviyeleriyle kontamine olabileceği düşünülmüştür. İlbahar ve yaz mevsimlerinde doğal koşullarda (yani tarlada otlatma) beslenen süt sığırları, sütlerinde ve sonraki yan ürünlerinde daha düşük aflatoksin oranlarına sahiptir, çünkü tarladaki hava sıcaklığı ve nem, *Aspergillus*'ların büyümesi için elverişsizdir (94).

Bu sonuçlardan yola çıkarak, Dünya ülkelerine benzer şekilde Türkiye'de de süt ve süt ürünlerinin aflatoksin M1 içeriği mevsimlere göre değişmektedir. Bu çalışmada Türkiye'de farklı mevsimlerde üretilen dondurmaların ve sütlü buz ürünlerinin, AFM1 içeriğinin incelenmesi hedeflenmektedir. Elde edilen sonuçlar hangi mevsimde üretilen dondurma ve sütlü buz ürününün daha az AFM1 kontamine olduğunu gösterecektir. Böylece daha az kontamine olacak dondurma ve sütlü buz ürünlerinin üretimi sağlanırsa toplum sağlığına karşı, olağan bir tehdit azaltılabilecektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Gereç

Ankara ilinde 8 farklı hipermarkette satışa sunulmuş, sıklıkla tüketilen, Ocak 2020 ve Nisan 2021 tarihleri arasında üretilen 10 farklı marka dondurmanın ve 3 farklı marka sütlü buz ürününün kış, sonbahar, yaz ve ilkbahar mevsimlerinde üretilen örnekleri toplanmıştır. 29 dondurma (23 inek sütü, 6 keçi sütü) ve 9 inek sütlü buz ürünü, toplam 38 örnek araştırma kapsamında analiz edilmiştir. Son kullanma tarihine en az üç ay süre kalmış olan örnekler satın alınmıştır. Sadece uygun ambalajlanmış ve UHT ürünler dahil edilmiştir. Yağlı tohum veya meyve tanecikleri aromaları, çikolata parçacıkları içeren dondurma ve sütlü buz ürünleri dahil edilmemiştir. Analiz yapılana kadar örnekler -20°C’de saklanmıştır.

3.2. Örneklemin Aflatoksin M1 Analizi

ELISA kiti kullanılarak AFM1 analizi yapılan bir çalışmanın analiz yöntemi incelenmiştir (1), dondurma için uygun prosedür takip edilmiştir. Saklanan örnekler 4°C’de buzdolabında çözdürülmüştür. Örneklerden 10 ml alınarak homojen görüntü oluşana kadar 2 dakika vortekslenmiştir. 1:1 oranında dilue edilmiştir. Daha sonra örnekler 3500 rpm’de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Örnek tipine bağlı olarak üstte yağ tabakası gözlenmesi durumunda bu yağ tabakası uzaklaştırılmıştır. Analiz için süpernatant kullanılmıştır.

Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü araştırma laboratuvarında, antijenantikor reaksiyonlarının direkt olarak saptandığı bir enzim immunoassay yöntemi olan ELISA ile Helica® Aflatoksin M1 test kiti kullanılarak analiz yapılmıştır. Kit protokolü (Helica, USA) aşağıdaki şekilde takip edilmiştir (95).

1. Kit içerisindeki bütün reaktifler ve örnekler oda sıcaklığına getirilmiştir.
2. Çalışılacak örnek sayısı ve standart sayısı hesaplanarak yeterli sayıda mikropate çıkarılmıştır.
3. Mikropate üzerindeki kuyucuklara kit içerisindeki standartlar ve örnekler sırası dikkat edilerek 200 µl aktarılmıştır.

4. Mikroplate üzeri ışık görmeyecek şekilde kapatılarak oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakılmıştır.
5. Kit içerisindeki Yıkama Tozu 1 Litrelik bir şişeye aktarılmıştır ve üzerine 1 Litre distile su eklenerek Yıkama Solüsyonu hazırlanmıştır.
6. Mikroplateler boşaltılarak Yıkama Solüsyonu ile 3 kez ağzına kadar doldurularak yıkanmıştır.
7. Yıkama tamamlandıktan sonra bütün kuyucuklara Aflatoksin HRP Konjugat'tan 100 µl eklenerek 15 dakika oda ısısında ışık görmeyen bir yerde inkübasyona bırakılmıştır.
8. Mikroplateler boşaltılarak Yıkama Solüsyonu ile 3 kez kuyucukların ağzına kadar doldurularak yıkanmıştır.
9. Yıkama tamamlandıktan sonra bütün kuyucuklara TBM Substrat'tan 100 µl eklenerek 20 dakika oda ısısında ışık görmeyen bir yerde inkübasyona bırakılmıştır.
10. Son olarak bütün kuyucuklara Stop Solüsyon'dan 100 µl eklenmiş ve mavi rengin sarı renge dönüştüğü gözlenmiştir.
11. Mikroplateler ELISA okuyucusunda 450 nm'de okutulmuştur.

Örnekler kit protokolü çerçevesinde dublike olarak çalışılmıştır ve Çok amaçlı spektrofotometre (Bio-Tek Synergy HTX-S1LFTA) kullanılarak 450 nm'de okutulmuştur. Örneklerin AFM1 seviyeleri 0, 5, 10, 25, 50 ve 100 ng/L'lık konsantrasyonlarda (duplike) 6 standart kullanılarak elde edilen kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak hesaplanmıştır (EK-1). Bilgisayardan elde edilen standart eğriye göre kantitatif değerlendirme yapılmıştır.

Geri kazanımının belirlenmesi için, AFM1 içermeyen örneklere 1 µg/L asetonitril içerisinde çözülmüş AFM1 stok solüsyonu (Sigma Aldrich, Germany) eklenmiştir ve belirli oranlarda seyreltilerek 10 ng/L ve 25 ng/L AFM1 içeren standart solüsyonlar hazırlanmıştır. AFM1 ile kontamine edilmiş süt örnekleri 3 tekrarlı olarak, kit protokolüne uygun şekilde ELISA ile analiz edilmiştir (Helica, USA). Analizin deteksiyon limiti (LOD) 2 ng/L olarak belirtilmiştir. Çalışmanın validasyon tablosu Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. ELISA Kiti geri kazanım tablosu.

AFM1 (ng/L) (n=3) ^a	CV (%)	Ortalama ± Standart Sapma (ng/L)
10	2,07	84,98 ± 1,13
25	3,11	81,30 ± 4,08

CV: Varyans katsayısı.

a: Tekrar sayısı.

Kit protokolünde, analiz deteksiyon limiti (LOD) 2 ng/L olarak belirtilmiştir. Bu konsantrasyon altında kalan örneklerin AFM1 değerleri kalibrasyon eğrisinden faydalanarak, ortalama AFM1 değerini belirleyebilmek için, istatistiksel olarak tahmin edilmiştir.

3.3. Verilerin Değerlendirilmesi

Elde edilen analiz sonuçları SPSS 26,0 (SPSS Inc., Chicago, USA) istatistik paket programı ile analiz edilmiştir. Nicel olan veriler ortalama, standart sapma, gerekli olduğunda medyan, minimum ve maksimum şeklinde değerlendirilmiştir. AFM1 ortalama düzeylerini normal dağılım göstermesi durumunda Tek yönlü varyans analizi ile, normal dağılım göstermemesi durumunda *Kruskal-Wallis* varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Farklı mevsimlere göre AFM1 kontamine örneklerin sayısı karşılaştırılırken ki-kare bağımsızlık testi kullanılmıştır. Bu çalışmada yapılan tüm analizlerde sonuçlar istatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ değeri ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Toplanan Örneklerin Mevsimlere Göre Dağılımı

Araştırmaya dahil edilen toplam 38 örneğin 29'unu dondurmalar oluşturmaktadır (%76,3). 23'ü inek sütü, 6'sı keçi sütü ile üretilmiş dondurmalarıdır.

Çalışmaya dahil edilen dondurma örneklerinin mevsimlere göre dağılımı Tablo 4.1.'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Dondurma örneklerinin mevsimlere göre dağılımı.

		Sayı	Yüzde (%)
İnek sütü (n=23)	Kış	7	30,4
	İlkbahar	6	26,1
	Yaz	7	30,4
	Sonbahar	3	13,1
	Toplam	23	100
Keçi sütü (n=6)	Kış	2	33,3
	İlkbahar	1	16,7
	Yaz	1	16,7
	Sonbahar	2	33,3
	Toplam	6	100

Araştırmaya dahil edilen diğer 9 örnek ise sütlü buz ürünü örnekleridir (%23,7). Çalışmaya dahil edilen sütlü buz ürünü örneklerinin mevsimlere göre dağılımı Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Sütlü buz ürünü örneklerinin mevsimlere göre dağılımı.

	Sayı	Yüzde (%)
Kış	2	22,2
İlkbahar	2	22,2
Yaz	3	33,4
Sonbahar	2	22,2
Toplam	9	100

4.2. Toplanan Dondurma Örneklerinin AFM1 Düzeyleri

Bu çalışmada incelenen inek sütü dondurma örneklerinde en düşük AFM1 düzeyi 4,56 ng/L olarak saptanırken; en yüksek AFM1 düzeyi ise 20,48 ng/L olarak saptanmıştır.

Tablo 4.3.'de inek sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin AFM1 konsantrasyon aralıkları, en küçük ve en büyük değerleri verilmiştir. Test kitinin deteksiyon limitinin altında kalan ve kalibrasyon eğrisi formülü yardımı ile bulunan değerler alt konsantrasyon aralığı olarak belirlenirken; Türk Gıda Kodeksinde belirlenen 50 ng/L üst konsantrasyon aralığı olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.3. Farklı mevsimlerde inek sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin AFM1 içeriğine göre dağılımı.

Grup	Sayı	Konsantrasyon Aralığı (ng/L)					ER	En küçük – En büyük (ng/L)
		nd < 4	4-10,9	11-17,9	18-24,9	>50		
Kış	7	4 (57,1)	1 (14,3)	1 (14,3)	1 (14,3)	0	nd-20,48	
İlkbahar	6	5 (83,3)	0	1 (16,7)	0	0	nd-10,15	
Yaz	7	4 (57,1)	3 (42,9)	0	0	0	nd-6,35	
Sonbahar	3	2 (66,7)	1 (33,3)	0	0	0	nd-5,22	
Toplam	23	15 (65,2)	5 (21,8)	2 (8,7)	1 (4,3)	0	nd-20,48	

nd: Deteksiyon limiti altında AFM1 içerdiği için saptanamamıştır.

ER: Türk Gıda Kodeksi AFM1 için 50 ng/L limiti

Keçi sütü dondurma örneklerinde en düşük AFM1 düzeyi 28,13 ng/L olarak saptanırken; en yüksek AFM1 düzeyi ise 99,65 ng/L olarak saptanmıştır. Tablo 4.4.'de keçi sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin AFM1 konsantrasyon aralıkları, en küçük ve en büyük değerleri verilmiştir.

Tablo 4.4. Farklı mevsimlerde keçi sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin AFM1 içeriğine göre dağılımı.

Grup	Sayı	Konsantrasyon Aralığı (ng/L)			En küçüğü – En büyüğü (ng/L)
		nd < 4	4-50	ER >50	
Kış	2	0	2(100)	0	28,13-30,6
İlkbahar	1	0	0	1 (100)	80,91
Yaz	1	1 (100)	0	0	nd
Sonbahar	2	1 (50)	0	1 (50)	99,65
Toplam	6	2 (33,3)	2(33,3)	2(33,3)	nd-99,65

nd: Deteksiyon limiti altında AFM1 içerdiği için saptanamamıştır.

ER: Türk Gıda Kodeksi AFM1 için 50 ng/L limiti

Dondurma örneklerinin LOD üzerinde AFM1 içeriği olanlar AFM1 pozitif örnekler olarak değerlendirilmiştir. Mevsimlere göre pozitif dondurma örneklerinin sayısı, ortalama \pm standart sapma değerleri ve Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği 50 ng/L limiti aşan örnek sayıları Tablo 4.7'te gösterilmiştir. Farklı mevsimlerde üretilmiş inek sütü veya keçi sütü dondurma örneklerinin farklı mevsimlere göre AFM1 pozitif oranı istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır (inek sütü $p=0,712$, keçi sütü $p=0,182$).

LOD altında kalan değerler kalibrasyon eğrisinin oluşturduğu denklem ile tahmin edildiğinde, çalışma için toplanan tüm dondurma örneklerinin ortalama AFM1 düzeyi $11,4\pm 23,33$ ng/L olarak bulunmuştur. İnek sütü dondurma örneklerinin AFM1 düzeyi ortalama $3,8\pm 4,69$ ng/L bulunurken; keçi sütü dondurma örneklerinin $40,7\pm 40,69$ ng/L olarak bulunmuştur. Farklı mevsimlere göre ortalama AFM1 düzeylerin Tablo 4.5.'te verilmiştir.

İnek sütü dondurma örneklerinde, mevsimler arasında kış mevsiminde en yüksek ortalama AFM1 düzeyi $6,03\pm 7,31$ ng/L bulunurken, sonbahar mevsiminde $3,2\pm 2,25$ ng/L, ilkbahar mevsiminde $2,87\pm 3,68$ ng/L, en düşük yaz mevsiminde $2,62\pm 2,39$ ng/L AFM1 düzeyi bulunmuştur. Mevsimler arasında ortalama AFM1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır ($p=0,832$).

Keçi sütü dondurma örneklerinde, mevsimler arasında ilkbahar mevsiminde en yüksek AFM1 düzeyi $80,91$ ng/L bulunurken, sonbahar mevsiminde ortalama

51,46±68,16 ng/L, kış mevsiminde 29,37±1,75 ng/L, en düşük yaz mevsiminde 1,61 ng/L AFM1 düzeyi bulunmuştur. Mevsimler arasında ortalama AFM1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır (p=0,463).

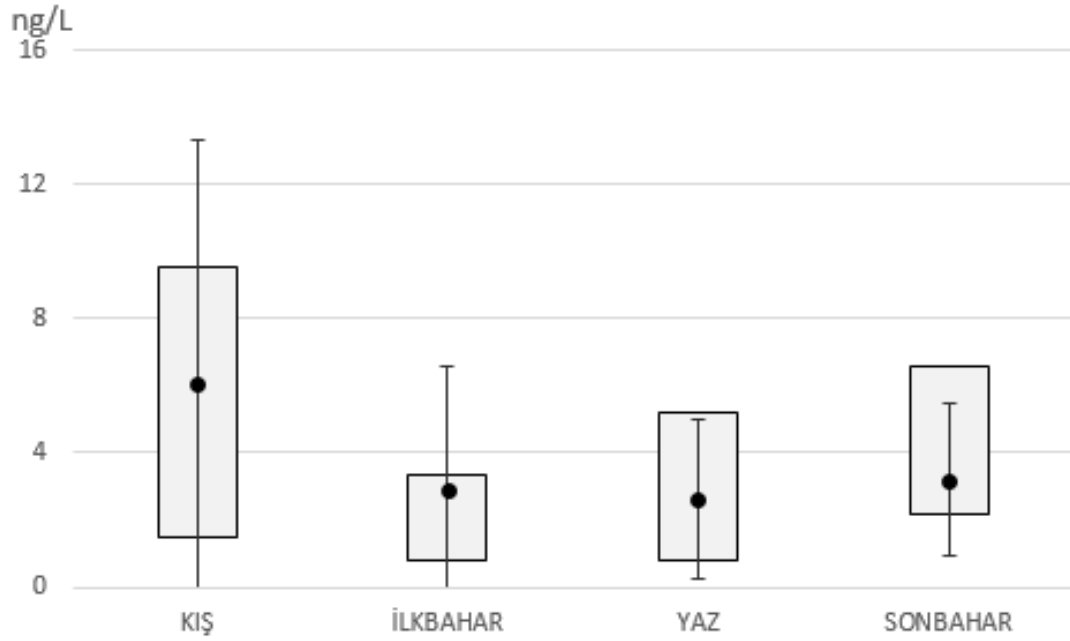
Analiz edilen (keçi sütünden üretilmiş dondurmalarından alınan) örneklerden 2'si AFM1 için yasal limit olan 50 ng/L'den yüksek bulunmuştur.

Tablo 4.5. Dondurma örneklerinin ortalama AFM1 konsantrasyonları.

		Sayı	$\bar{x} \pm SS$ (ng/L)	p
İnek sütü (n=23)	Kış	7	6,03 ± 7,31	0,832
	İlkbahar	6	2,87 ± 3,68	
	Yaz	7	2,62 ± 2,39	
	Sonbahar	3	3,2 ± 2,25	
	Toplam	23	3,8 ± 4,69	
Keçi sütü (n=6)	Kış	2	29,37 ± 1,75	0,463
	İlkbahar	1	80,91	
	Yaz	1	1,61	
	Sonbahar	2	51,46 ± 68,16	
	Toplam	6	40,7 ± 40,69	

p değeri Non-parametrik, Kruskal – Wallis Testi ile hesaplanmıştır.

İnek sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin farklı mevsimlere göre AFM1 düzeylerinin ortalama, standart sapma ve persentil aralıkları kutu grafiği olarak inek sütü için Grafik 4.1.'de gösterilmiştir.



Grafik 4.1. Farklı mevsimlerde üretilen inek sütü dondurmalarının AFM1 konsantrasyonları kutu grafiği (ng/L).

4.3. Toplanan Sütlü Buz Örneklerinin AFM1 Düzeyleri

Bu çalışmada incelenen sütlü buz örneklerinde en düşük AFM1 düzeyi 6,29 ng/L olarak saptanırken; en yüksek AFM1 düzeyi ise 18,41 ng/L olarak saptanmıştır.

Tablo 4.5.'de sütlü buz örneklerinin AFM1 konsantrasyon aralıkları, en küçük ve en büyük değerleri verilmiştir. Test kitinin deteksiyon limitinin altında kalan ve kalibrasyon eğrisi formülü yardımı ile bulunan değerler alt konsantrasyon aralığı olarak belirlenirken; Türk Gıda Kodeksinde belirlenen 50 ng/L üst konsantrasyon aralığı olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.6. Farklı mevsimlerde üretilmiş sütlü buz örneklerinin AFM1 içeriğine göre dağılımı.

Grup	Sayı	Konsantrasyon Aralığı (ng/L)					En küçüğü – En büyüğü (ng/L)
		nd < 4	4-9,9	10-15,9	16-21,9	ER >50	
Kış	2	0	1 (50)	1 (50)	0	0	6,29-9,54
İlkbahar	2	2 (100)	0	0	0	0	nd
Yaz	3	2 (66,7)	0	1 (33,3)	0	0	nd-12,95
Sonbahar	2	1 (50)	0	0	1 (50)	0	nd-18,41
Toplam	9	5 (55,6)	1 (11,1)	2 (22,2)	1 (11,1)	0	nd-18,41

nd: Deteksiyon limiti altında AFM1 içerdiği için saptanamamıştır.

ER: Türk Gıda Kodeksi AFM1 için 50 ng/L limiti

Sütlü buz ürünü örneklerinin AFM1 pozitif örnek sayısı, ortalama \pm standart sapma değerleri ve Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği 50 ng/L limiti aşan örnek sayıları Tablo 4.7'te gösterilmiştir. Farklı mevsimlerde üretilmiş sütlü buz ürünü örneklerinin farklı mevsimlere göre AFM1 pozitif oranı istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır ($p=0,123$).

LOD altında kalan değerler kalibrasyon eğrisi ile tahmin edildiğinde, çalışma için toplanan sütlü buz örneklerinin ortalama AFM1 düzeyi $6,9\pm 5,64$ ng/L olarak bulunmuştur. Farklı mevsimlere göre ortalama AFM1 düzeylerin Tablo 4.6.'te verilmiştir.

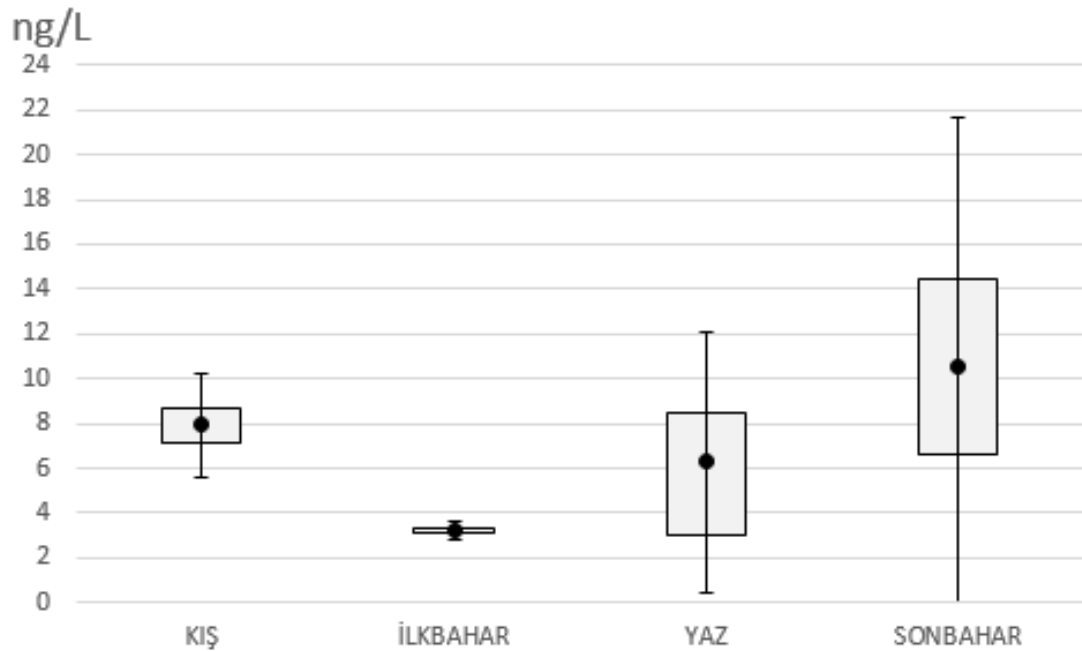
Mevsimler arasında sonbahar mevsiminde en yüksek ortalama AFM1 düzeyi $10,5\pm 11,15$ ng/L bulunurken, kış mevsiminde $7,9\pm 2,29$ ng/L, yaz mevsiminde $6,3\pm 5,83$ ng/L, en düşük ilkbahar mevsiminde $3,2\pm 0,39$ ng/L AFM1 düzeyi bulunmuştur. Mevsimler arasında ortalama AFM1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır ($p=0,726$). Analiz edilen sütlü buz örneklerinden AFM1 için yasal limit olan 50 ng/L'den yüksek düzeyde bir örnek bulunmamıştır.

Tablo 4.7. Sütü buz ürünü örneklerinin ortalama AFM1 konsantrasyonları.

	Sayı	$\bar{x} \pm SS$ (ng/L)	p
Kış	2	7,9 \pm 2,29	0,726
İlkbahar	2	3,2 \pm 0,39	
Yaz	3	6,3 \pm 5,83	
Sonbahar	2	10,5 \pm 11,15	
Toplam	9	6,9 \pm 5,64	

p değeri Non-parametrik, Kruskal – Wallis Testi ile hesaplanmıştır.

Sütü buz örneklerinin farklı mevsimlere göre AFM1 düzeylerinin ortalama, standart sapma ve persentil aralıkları kutu grafiği olarak Grafik 4.2.'de gösterilmiştir.

**Grafik 4.2.** Farklı mevsimlerde üretilen sütü buz ürünlerinin AFM1 konsantrasyonları kutu grafiği (ng/L).

Tablo 4.8. Farklı mevsimlerde üretilmiş dondurma ve sütlü buz ürünlerinin AFM1 varlığı ve düzeyleri.

	İnek Sütü Dondurma	Keçi Sütü Dondurma	Sütlü Buz Ürünü
Kış			
Pozitif Örnekler n(%)	3(42,9)	2(100)	2(100)
Ortalama ± Standart Sapma (ng/L)	12,2 ± 7,72	7,9 ± 2,29	29,4 ± 1,74
Limiti Aşan n(%)	-	-	-
İlkbahar			
Pozitif Örnekler n(%)	1(16,7)	1(100)	-
Ortalama ± Standart Sapma (ng/L)	10,15	80,91	-
Limiti Aşan n(%)	-	1(100)	-
Yaz			
Pozitif Örnekler n(%)	3(42,9)	-	1(33,3)
Ortalama ± Standart Sapma (ng/L)	5,1 ± 1,13	-	12,94
Limiti Aşan n(%)	-	-	-
Sonbahar			
Pozitif Örnekler n(%)	1(33,3)	1(50)	1(50)
Ortalama ± Standart Sapma (ng/L)	5,22	99,65	18,41
Limiti Aşan n(%)	-	1(50)	-
Toplam Örnek Sayısı (n)	23	6	9
Toplam Pozitif Örnek sayısı	8(34,8)	4(66,7)	4(44,4)
	p=0,712	p=0,182	p=0,123

p değeri Ki kare Testi ile hesaplanmıştır.

5. TARTIŞMA

Farklı aylarda, mevsimlerde üretilen süt ve süt ürünlerinin AFM1 içeriği birçok ülkede ve Türkiye’de incelenmiştir (3, 79-84, 86-94, 96-100). Daha çok gelişmekte olan ülkelerde yapılan bu çalışmalarda, süt ve süt ürünlerinin tüketimi ile AFM1 maruziyeti araştırma konusu olmuştur. AFM1 maruziyetinin özellikle daha riskli grup olan bebekler ve çocuklarda göz önünde bulundurulması önemli bir halk sağlığı politikasıdır.

AFM1’in süt ve süt ürünlerindeki konsantrasyonlarının saptanmasında, miktar ölçümü enzime bağlı immünosorbent tahlil (ELISA), ince tabakalı kromatografi (thin layer chromatography–TLC) veya yüksek performanslı sıvı kromatografisi (highperformance liquid chromatography–HPLC) yöntemleri kullanılmaktadır (73). Bu çalışmada ise maliyet ve zaman açısından daha avantajlı olduğu için ELISA yöntemi kullanılmıştır.

Dondurma, donmamış bir serum fazı, buz kristalleri, yağ kürecikleri ve hava kabarcıklarından oluşan karmaşık bir gıda kolloididir. Serum fazı, konsantre edilmiş bir solüsyonda sakaroz, laktoz, glukoz, yüksek moleküler ağırlıklı polisakkaritler ve probiyotik hücrelerden oluşur (101).

Dondurma ve sütlü buz ürünleri sütün kimyasal yapısının değişmesi ile oluşur. Yapılan çalışmalar dondurma üretiminde kullanılan süt veya süt ürünlerindeki AFM1’in dondurmaya geçişi olduğunu göstermektedir (102). Sütten yoğurt, peynir gibi süt ürünleri üretimi ve depolama sırasında AFM1 içeriğinin stabil kalmadığını gösteren çalışmalar (103) bulunsa da dondurma için yapılmış bir çalışma bilginiz dahilinde yoktur. Bu çalışmada Ankara ilindeki hipermarketlerde satışa sunulan, dondurma ve sütlü buz ürünlerinin AFM1 içeriği ve farklı mevsimlerde üretilen örneklerin AFM1 içerikleri değerlendirilmiştir.

5.1. Farklı Mevsimlerde Üretilen Dondurma ve Sütlü Buz Ürünlerinin AFM1 Düzeylerinin Değerlendirilmesi

Araştırmada analiz edilen, inek sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin %34,8’i ve inek sütünden üretilmiş sütlü buz örneklerinin %44,4’ü aflatoxin M1

pozitif olarak saptanmıştır. 2012 yılında Türkiye'nin Burdur şehrinde yapılan bir çalışmada (104) inek sütünden üretilmiş dondurmaların ELISA ile analizi sonucunda örneklerin %75,6'sı AFM1 pozitif olarak bulunmuştur. 2012 yılında İran'da yapılan bir ELISA analizi çalışmasında inek sütünden üretilmiş dondurmaların AFM1 pozitif oranı %29 olarak bildirilmiştir (105). 2015 yılında Sırbistan'da yapılan çalışmada(1) inek sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin ELISA analizi sonucunda, örneklerin %66,7 AFM1 pozitif olarak saptanmıştır. 2010 yılında İran'da yapılan çalışmada(85) inek sütünden üretilmiş dondurmaların TLC analizi sonucunda AFM1 pozitif örnekler %69,4 olarak tespit edilmiştir. 2013 yılında Pakistan'da yapılan çalışmada(106) inek sütünden üretilmiş dondurmaların HPLC analizi sonucunda AFM1 pozitif örnekler %34,1 oranında saptanmıştır. Türkiye ve diğer gelişmekte olan ülkelerde aflatoxin M1 kontaminasyonu varlığı yapılan çalışmalar neticesinde güncel olarak söz konusudur.

Keçi sütünden üretilmiş dondurmaların aflatoxin içeriğini analiz eden bir çalışma bilginiz dahilinde yoktur. Bu çalışmada analiz edilen keçi sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin %66,7'si aflatoxin M1 pozitif olarak bulunurken, keçi sütü dondurma örneklerinin ortalama AFM1 değeri $40,7 \pm 40,69$ ng/L olarak saptanmıştır. Keçi sütünde AFM1 varlığı Türkiye'de (107) ve diğer ülkelerde (108, 109) incelenmiştir. Hırvatistan'da 32 keçi sütünün ELISA ile incelendiği bir çalışmada, tüm örnekler AFM1 pozitif bulunurken, AFM1 ortalama $7,61 \pm 8,94$ ng/L olarak tespit edilmiştir (109). İnek sütüne benzer şekilde keçi sütünde de güncel olarak AFM1 kontaminasyonu varlığı söz konusudur.

Bu çalışmada analiz edilen inek sütünden üretilmiş dondurma ve sütlü buz ürünlerinin ortalama AFM1 değerleri sırasıyla $3,8 \pm 4,69$ ng/L ve $6,9 \pm 5,64$ ng/L olarak saptanmıştır. İnek sütünden üretilmiş dondurma örneklerini inceleyen çalışmalarda; Türkiye'de (104) ortalama AFM1 $32,6 \pm 4,1$ ng/L, İran'da yapılan çalışmada (85) ortalama AFM1 41 ± 6 ng/L, Pakistan'da yapılan çalışmada (106) ortalama AFM1 17 ± 5 ng/L, Sırbistan'da yapılan çalışmada (1) ortalama AFM1 71 ± 61 ng/L olarak bulunmuştur. Araştırmada analiz edilen inek sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin aflatoxin M1 ortalama değerlerinin daha önceki çalışmalara göre daha düşük olduğu görülmektedir.

1988 ile 2020 yılları arasında yapılan çalışmaları derleyen bir sistematik ve meta analizde (75) sütte tespit edilen AFM1 kontaminasyonunun meta regresyon analizi sonucunda yıllar geçtikçe Amerika, Avrupa ve Afrika'da yükseldiği; Asya'da azaldığı bulunmuştur. Dondurma örneklerinin analiz edildiği bu çalışmada ise daha önceki inek sütünden üretilmiş dondurma araştırmalara göre daha düşük AFM1 pozitif örnek yüzdesi ve ortalama AFM1 değerleri saptanmıştır.

Farklı türde hayvanların sütlerinin AFM1 içeriğini karşılaştıran bir çalışmada (107), Türkiye'de 117 inek sütü ve 18 keçi sütü örneği ELISA ile analiz edilmiştir. 2015 yılında toplanıp, analiz edilen örneklerin AFM1 içeriği açısından farklı hayvan sütlerinin istatistiksel olarak anlamlı farklı olduğu bildirilmiştir. Bu duruma benzer şekilde, çalışmamızda keçi sütünden üretilmiş dondurmaların analizi sonucunda, inek sütünden üretilmiş dondurma ve sütlü buz ürünlerinin keçi sütünden üretilmiş dondurma örneklerine göre çok daha düşük ortalama AFM1 içerdiği görülmektedir.

İran'da UHT, pastörize ve çiğ sütlerin AFM1 miktarlarını analiz eden çalışmaları derleyen bir sistematik ve meta analizde (110) kış mevsiminde toplanan örneklerin diğer mevsimlere göre daha yüksek ortalama AFM1 olduğu bildirilmiştir. Çeşitli araştırmalar (85, 106), farklı mevsimlerde üretilen dondurmalar arasında da süt gibi AFM1 açısından önemli bir değişiklik olduğunu göstermektedir ve bu değişiklik muhtemelen farklı besleme, besin tedarik stratejileri ile açıklanmaya çalışılmıştır. İlkbahar ve yaz aylarında taze yemler ile beslenme yapılırken; sonbahar ve kış aylarında, besleme esas olarak siloda depolanan işlenmiş konsantre hazır yemlere bağlıdır. Bu yem malzemeleri tüketimden önce bir süre saklandığı için, küflerin mikotoksin üretme fırsatına sahip olabileceği zaman sağlamaktadır. AFB1 üreten mantarlar içeren konsantre yemlerin kontaminasyon riski nemli, sıcak ve toz dolu hava uygun olmayan koşullarda depolanmasıyla artar (111). Bu nedenle farklı mevsimlerde aflatoksin kontaminasyonu çeşitlilik gösteren yemlerin süt hayvanları tarafından tüketilmesi farklı miktarda AFM1 kontaminasyonuna neden olacağı düşünülmektedir.

2014 – 2018 yılları arasında Sırbistan'da yapılan bir çalışmada 4 mevsime ait fermente süt ürünleri, süt tozu, krema ve dondurma olmak üzere toplam 556 örnek incelenmiştir. Sonuçlar mevsimler ve süt ürünleri AFM1 içeriği arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir. Yaz ve ilkbahar mevsimlerinde,

sonbahar ve kış mevsimine kıyasla daha düşük miktarda aflatoksin kontamine ürün tespit edilmiştir (112). Süt çeşitlerine benzer şekilde inek sütünden üretilmiş süt ürünlerinin de kış ve sonbahar mevsimlerinde AFM1 kontaminasyon düzeyi daha yüksektir.

Bu çalışmada inek sütünden üretilmiş dondurma örnekleri, inek sütü ürünlerine benzer şekilde kış ve sonbahar mevsimlerinde daha yüksek olduğu görülmektedir. Kış ve sonbahar mevsimleri ortalama AFM1 değerleri (kış $6,03 \pm 7,31$ ng/L, sonbahar $3,2 \pm 2,25$ ng/L) yaz ve ilkbahar ortalamasına göre daha yüksek (ilkbahar $2,87 \pm 3,68$ ng/L, yaz $2,62 \pm 2,39$ ng/L) olduğu saptanmıştır. Bu fark istatikselsel olarak anlamlı bulunmamıştır. Analiz sonuçları değerlendirildiğinde inek sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin kış mevsiminde en yüksek AFM1 değeri $20,48$ ng/L tespit edilirken; yaz mevsiminde en yüksek AFM1 değeri $6,35$ ng/L olarak tespit edilmiştir. Grafik 4.1'deki kutu grafiğinde inek sütünden üretilmiş dondurmaların mevsimlere göre AFM1 miktarı dağılımı gösterilmiştir. Her ne kadar istatikselsel olarak fark olduğu kanıtlanmasa da grafikte dondurma tüketicilerinin kış ve sonbahar mevsimlerinde daha yüksek aflatoksin M1 kontaminasyonu karşılaşılabileceği görülmektedir. Literatürde diğer inek sütünden üretilmiş dondurma üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, İran'da 36 inek sütünden üretilmiş dondurma örneğinin TLC yöntemiyle analiz edildiği bir çalışma yapılmıştır (85). Kış mevsiminde inek sütünden üretilen 16 dondurmanın ortalama AFM1 değeri (62 ± 11 ng/L) yaz mevsiminde inek sütünden üretilen dondurmaların ortalama AFM1 değerinden (20 ± 5 ng/L) istatikselsel olarak anlamlı daha yüksek bulunmuştur. Pakistan'da yapılan çalışmada (106) ise HPLC analizi sonucunda kış mevsiminde üretilen 42 inek sütünden üretilmiş dondurmanın ortalama AFM1 değeri (21 ± 4 ng/L) yaz mevsiminde üretilen 37 inek sütünden dondurmanın ortalama AFM1 değerinden (12 ± 6 ng/L) istatikselsel olarak anlamlı daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamıza benzer çalışmalarda da kış mevsiminde inek sütünden üretilmiş dondurmalarda daha yüksek AFM1 kontaminasyonu bildirilmiştir ve bu mevsim maruziyet açısından daha riskli görülmektedir.

Türk Gıda Kodeksine göre (73) süt yağı yanında bitkisel yağ ile hazırlanan karışımlarla farklı tekniklerde oluşturulan ürünler yerine sütlü buz olarak sınıflandırılmaktadır. Diğer süt ürünlerine benzer şekilde inek sütünden üretilmiş sütlü

buz ürünleri AFM1 içermektedir. İnek sütünden üretilen sütlü buz ürünlerinin kış ve sonbahar mevsimleri ortalama AFM1 değerleri (sonbahar $10,5 \pm 11,15$ ng/L, kış $7,9 \pm 2,29$ ng/L) ilkbahar ve yaz ortalamasına göre daha yüksek (yaz $6,3 \pm 5,83$ ng/L, ilkbahar $3,2 \pm 0,39$ ng/L) bulunmuştur. Fakat inek sütünden üretilmiş dondurmalara benzer şekilde bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. İnek sütünden üretilmiş sütlü buz örneklerinde en yüksek AFM1 değeri sonbahar mevsiminde $18,41$ ng/L bulurken; ilkbahar mevsimindeki tüm örnekler LOD altında bulunmuştur. Grafik 4.2'deki kutu grafiği incelendiğinde inek sütünden üretilmiş dondurmalara benzer şekilde inek sütünden üretilmiş sütlü buz ürünlerinde sonbahar mevsiminde daha yüksek oranda AFM1 kontaminasyonu riski söz konusu olduğu saptanmıştır.

İnek sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin kış mevsiminde %42,9'u, sonbahar mevsiminde %33,3'ü, yaz mevsiminde %42,9'u ve ilkbahar mevsiminde %16,7'si AFM1 pozitif olarak tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında analiz edilen tüm örneklerin AFM1 pozitif olma durumunun mevsimlere göre farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durumda herhangi bir mevsimde AFM1 pozitif örnek ile karşılaşılabılır. Benzer şekilde Cezayir'de 2016 yılında yapılan bir çalışmada(67), 84 çiğ süt örneğinin ELISA analizi sonucunda, kış mevsiminde %44,44, sonbahar mevsiminde %50, yaz mevsiminde %43,59 ve ilkbahar mevsiminde %57,4 AFM1 pozitif örnek görülmüştür ve mevsimler arasındaki oranın farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Örnek alınan dondurma ve sütlü buz ürünleri farklı mevsimlere ait olduğu için farklı hayvanları kapsamaktadır, bu nedenle hayvanların bulunduğu bölge, yaş, sağlık ve metabolizma durumu gibi faktörlerin de sütün aflatoksin içeriğine etkisi bulunmaktadır. Bu çalışmada analiz edilen örneklerin mevsimler arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmaması, dondurmaların veya sütlü buz ürünlerinin içeriğindeki süt veya süt ürününün UHT edilmiş ve farklı mevsime ait bir süt kaynağı olması olabilir. Farklı mevsimde üretilen süt veya süt ürünü, farklı mevsimde dondurma veya sütlü buz ürünü üretmek için kullanılmış olabilir. Bazı üreticilerin her mevsim üretimi olmadığı için örnek alınan dondurma ve sütlü buz ürünlerinin bazı çeşitleri dört mevsimin verilerine de katkı sağlayamamıştır. Bu durum istatistiksel olarak mevsimler arasında farkın hesaplanmasında etkili olmuş olabilir.

Bu çalışmada ayrıca inek sütünden üretilmiş dondurma örneklerinin inek sütünden üretilmiş sütlü buz ürünlerinden daha düşük ortalama AFM1 içerdiği tespit edilmiştir. Bu durum bu ürünlerin içeriğindeki süt miktarının ve süt ürünü çeşidinin farklı olmasıyla açıklanabilir. Diğer çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada hesaplanan ortalama ve pozitif AFM1 miktarı daha düşük olduğu için mevsimler arasında veriler daha homojen dağılım göstermiş ve istatistiksel fark bulunamamış olabilir.

5.2. Farklı Mevsimlerde Üretilen Dondurma ve Sütlü Buz Ürünlerinin Türk Gıda Kodeksi'ne Göre Değerlendirilmesi

Bu çalışma kapsamında farklı mevsimlerde üretilen dondurma ve sütlü buz ürünü örneklerindeki Aflatoksin M1 düzeyleri ELISA yöntemiyle analiz edilmiştir. Analiz edilen örneklerden, inek sütünden üretilmiş dondurma ve sütlü buz ürünlerinde tespit edilen AFM1 düzeyi Türk Gıda Kodeksi yönetmeliğinin kabul edilebilir sınırını aşmadığı bulunmuştur. Türkiye'de yapılan önceki çalışmalar incelendiğinde inek sütünden üretilmiş dondurma açısından Burdur'da yapılan (104) çalışmada da benzer şekilde AFM1 açısından Türk Gıda Kodeksi limitlerini aşan bir örnek tespit edilmemiştir. Türkiye'de yapılan bir başka çalışmada, küçük işletmelerden toplanan ambalajsız satışı yapılan 50 farklı inek sütünden üretilmiş dondurmanın 27'sinin (%54) Türk Gıda Kodeksi limitini aştığı bildirilmiştir (113). Bu çalışmadaki örnekler, analizi yapılan örneklerden farklı şekilde ambalajsız satışa sunulmuş örneklerdir. Küçük işletmelerde satılan ambalajsız ürünlerin AFM1 kontaminasyonu gibi sağlık açısından kritik riskler taşıdığı düşünülebilir. Sırbistan'da inek sütünden üretilmiş dondurmalarda yapılan çalışmada örneklerin %52'sinin (1), İran'da inek sütünden üretilmiş dondurmalarda yapılan çalışmada örneklerin %28'nin yasal limitleri aştığı bildirilmiştir (85). Dondurmaların AFM1 miktarının analiz edildiği çalışma sayısının kısıtlı olması nedeniyle kıyaslanacak bilgi sayısı diğer süt ürünlerine göre daha azdır. Bu kısıtlı bilgilere göre güncel olarak varlığı söz konusunu olan AFM1'in dondurma dahil tüm süt ve süt ürünlerinde takip edilmesi ve gerekli önleme stratejileri geliştirilmesi gereklidir.

Analize dahil edilen 6 keçi sütünden üretilmiş dondurmada 2'sinin (%33,3) yasal sınırı aştığı bulunmuştur. Hem inek sütünden üretilmiş dondurmalara göre daha

yüksek ortalama AFM1 içermesi hem de yılın farklı dönemlerinde daha heterojen AFM1 dağılımı göstermesi piyasaya sunulan keçi sütü dondurmalarının takip edilmesinin önemini göstermektedir. Bu çalışmada piyasa sunulan keçi sütünden üretilmiş dondurmaların yasal limiti aşabildiği tespit edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Ankara ilinde süpermarketlerde ve hipermarketlerde satışa sunulan, farklı mevsimlerde üretilmiş, sütlü buz ve dondurma örneklerinin AFM1 düzeyleri ELISA yöntemiyle analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar:

1. Analiz edilen 29 dondurma örneğinden 12'si (%41,4), 9 sütlü buz örneğinden 4'ü (%44,4) kullanılan ELISA kitinin deteksiyon limitinin (LOD) üzerinde AFM1 içerdiği bulunmuştur.
2. Örneklerden LOD üzerinde AFM1 içeren örnekler AFM1 pozitif olarak değerlendirilmiştir. Farklı mevsimlerde üretilen inek sütü, keçi sütü dondurmaların veya sütlü buz ürünlerinin mevsimlere göre AFM1 pozitif olma durumu istatistiksel açıdan anlamlı farklı bulunmamıştır (Bkz. Tablo 4.8, $p=0,721$, $p=0,182$, $p=0,123$).
3. Analiz edilen 6 keçi sütü dondurma örneğinden 2'sinin (%33,3) Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen sınır olan 50 ng/L'den daha yüksek AFM1 içerdiği tespit edilmiştir.
4. İnek sütü dondurma örneklerinde ortalama $3,8\pm 4,69$ ng/L, keçi sütü dondurma örneklerinde ortalama $40,7\pm 40,69$ ng/L, sütlü buz örneklerinde ortalama $6,9\pm 5,64$ AFM1 düzeyi tespit edilmiştir.
5. İnek sütü dondurma örneklerinde, mevsimler arasında kış mevsiminde en yüksek ortalama AFM1 düzeyi $6,03\pm 7,31$ ng/L bulunurken, sonbahar mevsiminde $3,2\pm 2,25$ ng/L, ilkbahar mevsiminde $2,87\pm 3,68$ ng/L, en düşük yaz mevsiminde $2,62\pm 2,39$ ng/L AFM1 düzeyi bulunmuştur. Mevsimler arasında ortalama AFM1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Bkz. Tablo 4.5, $p=0,832$).
6. Keçi sütü dondurma örneklerinde, mevsimler arasında ilkbahar mevsiminde en yüksek AFM1 düzeyi 80,91 ng/L bulunurken, sonbahar mevsiminde ortalama $51,46\pm 8,16$ ng/L, kış mevsiminde $29,37\pm 1,75$ ng/L, en düşük yaz mevsiminde 1,61 ng/L AFM1 düzeyi bulunmuştur. Mevsimler arasında ortalama AFM1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Bkz. Tablo 4.5, $p=0,463$).

7. Sütli buz örnekleri sırasına göre, en yüksek sonbahar $10,5 \pm 11,15$ ng/L, kış mevsiminde $7,9 \pm 2,29$ ng/L, yaz mevsiminde $6,3 \pm 5,83$ ng/L, en düşük ilkbahar mevsiminde $3,2 \pm 0,39$ ng/L AFM1 düzeyi bulunmuştur. Mevsimler arasında ortalama AFM1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Bkz. Tablo 4.7, $p=0,726$).

6.2. Öneriler

Tarımsal kaynaklı beslenmenin öneminin daha da arttığı günümüzde ve gelecekte aflatoksin gibi mikotoksinlerin olumsuz etkileri göz önünde bulundurulmalıdır. Aflatoksinlere hem tarımsal kaynaklardan maruz kalmak hem de süt ve süt ürünlerinden maruz kalmak sağlık üzerine olası bir tehdide neden olmaktadır.

Ülkemizde diğer gelişmekte olan ülkelere benzer şekilde aflatoksin üzerine yapılan çalışmalar mevcuttur fakat bu çalışmalar genel olarak inek sütü ve ürünlerine odaklanmıştır. Keçi sütü gibi diğer cins hayvanların aflatoksin içerikleri de çalışılmalıdır. Özellikle popüler kültür tarafından bu farklı cins hayvanların süt ürünlerine yönlendirme söz konusuysen, otoritelerin belirlediği kabul edilebilir limitlerin üzerinde ürünlerin piyasalarda bulunmaması, yapılan denetimlerin sıklığı ve genişliği artırılarak piyasaya bu ürünlerin sunulmadan önlem alınması gerekmektedir.

Süt ve süt ürünlerinin farklı mevsimlerde farklı aflatoksin içerdiğini gösteren çalışmalara göre ve bu çalışmanın sonuçlarına göre, kış ve sonbahar mevsimlerinde üretilen süt ve süt ürünleri daha yüksek aflatoksin içeriğine sahip olabilmektedir. Bu nedenle tüketici olarak seçim yaparken yazın üretilmiş süt ve süt ürünlerini tercih etmek olağan bir riski azaltabilir. Üreticiler de bu durumu göz önünde bulundurarak daha az potansiyel kontaminasyon olan mevsimlerde üretime yönlenebilirler. Bu araştırmada olduğu gibi mitoksinlere ve benzer sağlık tehditlerine karşı araştırma yapmak teşvik edilmelidir.

Dondurma ve sütli buz ürünlerinin tüketimi diğer süt ve süt ürünleri gibi sağlık beslenme rehberlerinde özendirilmemektedir. Diyetisyen olarak ikisi arasında daha sağlıklı bir seçim yapmak gerekirse, kalori, protein ve şeker içeriği yanı sıra aflatoksin

içeriği göz önüne alındığında, bu çalışmaya göre inek sütünden üretilmiş dondurmaların aflatoksin içeriği daha düşük olduğu için inek sütünden üretilmiş sütlü buz ürünlerine göre tercih edilmesi önerilebilir. Bu iki süt ürününün besin içeriği arasındaki fark birbirinin muadili ürünler olduğu için incelenebilir.

Keçi sütü gibi farklı hayvanların süt ürünlerinin AFM1 türü mikotoksinler gibi birçok açıdan piyasaya sürülmeden önce takip edilmesi önerilmelidir. İnek sütü ürünleri gibi üzerinde kapsamlı denetimlere ve bilimsel araştırmalara tabi tutulması ve inek sütüne alternatif gösterilmesinde dikkat edilmesi gerekmektedir. Gelecekte yapılacak çalışmalar piyasadaki ürünlerin AFM1 içeriği daha düşük şekilde üretim yapılmasına yönelik yol gösterici olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Tomašević I, Petrović J, Jovetić M, Raičević S, Milojević M, Miočinović J. Two year survey on the occurrence and seasonal variation of aflatoxin M1 in milk and milk products in Serbia. *Food control*. 2015;56:64-70.
2. Jallow A, Xie H, Tang X, Qi Z, Li P. Worldwide aflatoxin contamination of agricultural products and foods: From occurrence to control. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2021;20(3):2332-81.
3. Fallah AA, Fazlollahi R, Emami A. Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk of four dairy species in Yazd, Iran. *Food Control*. 2016;68:77-82.
4. De Roma A, Rossini C, Ritieni A, Gallo P, Esposito M. A survey on the Aflatoxin M1 occurrence and seasonal variation in buffalo and cow milk from Southern Italy. *Food Control*. 2017;81:30-3.
5. Azziz-Baumgartner E, Lindblade K, Giesecker K, Rogers HS, Kieszak S, Njapau H, et al. Case-control study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya, 2004. *Environmental health perspectives*. 2005;113(12):1779-83.
6. Shuaib FM, Jolly PE, Ehiri JE, Yatich N, Jiang Y, Funkhouser E, et al. Association between birth outcomes and aflatoxin B1 biomarker blood levels in pregnant women in Kumasi, Ghana. *Tropical Medicine & International Health*. 2010;15(2):160-7.
7. Hernandez-Vargas H, Castelino J, Silver MJ, Dominguez-Salas P, Cros M-P, Durand G, et al. Exposure to aflatoxin B1 in utero is associated with DNA methylation in white blood cells of infants in The Gambia. *International journal of epidemiology*. 2015;44(4):1238-48.
8. Groopman JD, Egner PA, Schulze KJ, Wu LS-F, Merrill R, Mehra S, et al. Aflatoxin exposure during the first 1000 days of life in rural South Asia assessed by aflatoxin B1-lysine albumin biomarkers. *Food and Chemical Toxicology*. 2014;74:184-9.
9. Lauer JM, Duggan CP, Ausman LM, Griffiths JK, Webb P, Wang JS, et al. Maternal aflatoxin exposure during pregnancy and adverse birth outcomes in Uganda. *Maternal & child nutrition*. 2019;15(2):e12701.
10. Wild CP, Miller JD, Groopman JD, editors. *Effects of aflatoxins and fumonisins on the immune system and gut function. Mycotoxin control in low- and middle-income countries* International Agency for Research on Cancer © International Agency for Research on Cancer, 2015.
11. Ismail A, Riaz M, Levin RE, Akhtar S, Gong YY, Hameed A. Seasonal prevalence level of aflatoxin M1 and its estimated daily intake in Pakistan. *Food Control*. 2016;60:461-5.
12. Shavakhi F, Rahmani A, Piravi-Vanak Z. A global systematic review and meta-analysis on prevalence of the aflatoxin B1 contamination in olive oil. *Journal of Food Science and Technology*. 2022:1-10.

13. Khaneghah AM, Fakhri Y, Gahruie HH, Niakousari M, Sant'Ana AS. Mycotoxins in cereal-based products during 24 years (1983–2017): A global systematic review. *Trends in food science & technology*. 2019;91:95-105.
14. WHO. New IARC report urges action against widespread mycotoxin contamination in developing countries. IARC WHO Press Release. 2016;9:2015-6.
15. Eskola M, Kos G, Elliott CT, Hajšlová J, Mayar S, Krska R. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25%. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2020;60(16):2773-89.
16. Iqbal SZ, Jinap S, Pirouz AA, Ahmad Faizal AR. Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2015;46(1):110-9.
17. Ismail A, Gonçalves BL, de Neeff DV, Ponzilacqua B, Coppa CF, Hintzsche H, et al. Aflatoxin in foodstuffs: Occurrence and recent advances in decontamination. *Food Research International*. 2018;113:74-85.
18. Shephard GS. Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century. *Analytical and bioanalytical Chemistry*. 2009;395(5):1215-24.
19. Nizamlioglu F. Mikotoksin şüphesiyle laboratuara getirilen yem ve yem hammaddelerinde aflatoksin B1, B2, G1 ve G2 araştırılması, *Veterinarium*. 1996;7:42-5.
20. Nazhand A, Durazzo A, Lucarini M, Souto EB, Santini A. Characteristics, occurrence, detection and detoxification of aflatoxins in foods and feeds. *Foods*. 2020;9(5):644.
21. Keller NP, Turner G, Bennett JW. Fungal secondary metabolism—from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*. 2005;3(12):937-47.
22. Khaneghah AM, Moosavi M, Omar SS, Oliveira CA, Karimi-Dehkordi M, Fakhri Y, et al. The prevalence and concentration of aflatoxin M1 among different types of cheeses: a global systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Food Control*. 2021;125:107960.
23. Yu J. Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. *Toxins*. 2012;4(11):1024-57.
24. Iqbal M, Abbas M, Adil M, Nazir A, Ahmad I. Aflatoxins biosynthesis, toxicity and intervention strategies: A review. *Chemistry International*. 2019;5(3):168-91.
25. Torres AM, Barros GG, Palacios SA, Chulze SN, Battilani P. Review on pre-and post-harvest management of peanuts to minimize aflatoxin contamination. *Food Research International*. 2014;62:11-9.
26. Abbas HK, Weaver MA, Horn BW, Carbone I, Monacell JT, Shier WT. Selection of *Aspergillus flavus* isolates for biological control of aflatoxins in corn. *Toxin Reviews*. 2011;30(2-3):59-70.
27. Marroquín-Cardona A, Johnson N, Phillips T, Hayes A. Mycotoxins in a changing global environment—a review. *Food and Chemical Toxicology*. 2014;69:220-30.
28. Roze LV, Hong S-Y, Linz JE. Aflatoxin biosynthesis: current frontiers. *Annual review of food science and technology*. 2013;4:293-311.

- 29.Liu J, Sun L, Zhang N, Zhang J, Guo J, Li C, et al. Effects of nutrients in substrates of different grains on aflatoxin B1 production by *Aspergillus flavus*. *BioMed Research International*. 2016;2016.
- 30.Ghaffarian Bahraman A, Mohammadi S, Jafari A, Ghani-Dehkordid J, Arabnezhad M-R, Rahmdel S, et al. Occurrence of aflatoxin M1 in milks of five animal species in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Food Reviews International*. 2020;36(7):692-712.
- 31.Iqbal Q, Amjad M, Asi MR, Arino A. Assessment of hot peppers for aflatoxin and mold proliferation during storage. *Journal of Food Protection*. 2011;74(5):830-5.
- 32.Damianidis D, Ortiz BV, Bowen KL, Windham GL, Hoogenboom G, Hagan A, et al. Minimum temperature, rainfall, and agronomic management impacts on corn grain aflatoxin contamination. *Agronomy Journal*. 2018;110(5):1697-708.
- 33.Kumar P, Mahato DK, Kamle M, Mohanta TK, Kang SG. Aflatoxins: a global concern for food safety, human health and their management. *Frontiers in Microbiology*. 2017;7(2170).
- 34.Gupta RC, Lasher MA, Mukherjee IRM, Srivastava A, Lall R. Chapter 48 - Aflatoxins, Ochratoxins, and Citrinin. In: Gupta RC, editor. *Reproductive and Developmental Toxicology (Second Edition)*: Academic Press; 2017. p. 945-62.
- 35.Passarelli S, Bromage S, Darling AM, Wang JS, Aboud S, Mugusi F, et al. Aflatoxin exposure in utero and birth and growth outcomes in Tanzania. *Maternal & child nutrition*. 2020;16(2):e12917.
- 36.Ezekiel CN, Oyeyemi OT, Oyedele OA, Ayeni KI, Oyeyemi IT, Nabofa W, et al. Urinary aflatoxin exposure monitoring in rural and semi-urban populations in Ogun state, Nigeria. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2018;35(8):1565-72.
- 37.Dai Y, Huang K, Zhang B, Zhu L, Xu W. Aflatoxin B1-induced epigenetic alterations: An overview. *Food and Chemical Toxicology*. 2017;109:683-9.
- 38.Anfossi L, Baggiani C, Giovannoli C, Giraudi G. Occurrence of aflatoxin M1 in dairy products. *Aflatoxins detection, measurement and control*. 2011.
- 39.Group IW. Aflatoxins. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2002;82:171-300.
- 40.Alshannaq A, Yu J-H. Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International journal of environmental research and public health*. 2017;14(6):632.
- 41.Kumar P, Mahato DK, Kamle M, Mohanta TK, Kang SG. Aflatoxins: a global concern for food safety, human health and their management. *Frontiers in microbiology*. 2017;7:2170.
- 42.Pauletto M, Tolosi R, Giantin M, Guerra G, Barbarossa A, Zaghini A, et al. Insights into Aflatoxin B1 Toxicity in Cattle: An in vitro whole-transcriptomic approach. *Toxins*. 2020;12(7):429.
- 43.Rushing BR, Selim MI. Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. *Food and Chemical Toxicology*. 2019;124:81-100.

- 44.Li H, Xing L, Zhang M, Wang J, Zheng N. The toxic effects of aflatoxin B1 and aflatoxin M1 on kidney through regulating L-proline and downstream apoptosis. *BioMed research international*. 2018;2018.
- 45.Mittal S, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma: consider the population. *J Clin Gastroenterol*. 2013;47 Suppl(0):S2-S6.
- 46.Wu H-C, Wang Q, Yang H-I, Ahsan H, Tsai W-Y, Wang L-Y, et al. Aflatoxin B1 exposure, hepatitis B virus infection, and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2009;18(3):846-53.
- 47.Qi LN, Bai T, Chen ZS, Wu FX, Chen YY, De Xiang B, et al. The p53 mutation spectrum in hepatocellular carcinoma from Guangxi, China: role of chronic hepatitis B virus infection and aflatoxin B1 exposure. *Liver international*. 2015;35(3):999-1009.
- 48.Liu Y, Chang C-CH, Marsh GM, Wu F. Population attributable risk of aflatoxin-related liver cancer: systematic review and meta-analysis. *European journal of cancer*. 2012;48(14):2125-36.
- 49.Chu Y-J, Yang H-I, Wu H-C, Lee M-H, Liu J, Wang L-Y, et al. Aflatoxin B1 exposure increases the risk of hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus infection or alcohol consumption. *European Journal of Cancer*. 2018;94:37-46.
- 50.Lei L, Liu S, Ye Y, Qiu X, Huang D, Pan D, et al. Associations between Serum Aflatoxin-B1 and Anemia in Pregnant Women: Evidence from Guangxi Zhuang Birth Cohort in China. *Toxins*. 2021;13(11):806.
- 51.Fakhri Y, Rahmani J, Oliveira CAF, Franco LT, Corassin CH, Saba S, et al. Aflatoxin M1 in human breast milk: a global systematic review, meta-analysis, and risk assessment study (Monte Carlo simulation). *Trends in food science & technology*. 2019;88:333-42.
- 52.Gong Y, Hounsa A, Egal S, Turner PC, Sutcliffe AE, Hall AJ, et al. Postweaning exposure to aflatoxin results in impaired child growth: a longitudinal study in Benin, West Africa. *Environmental health perspectives*. 2004;112(13):1334-8.
- 53.Kiarie G, Dominguez-Salas P, Kang'ethe S, Grace D, Lindahl J. Aflatoxin exposure among young children in urban low-income areas of Nairobi and association with child growth. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*. 2016;16(3):10967-90.
- 54.Wild C, Miller J, Groopman J. Effects of aflatoxins on aflatoxicosis and liver cancer. *Mycotoxin Control in Low-and Middle-Income Countries International Agency for Research on Cancer*. 2015.
55. Abdulrazzaq YM, Osman N, Ibrahim A . Fetal exposure to aflatoxins in the United Arab Emirates. *Ann Trop Paediatr*. 2002;22(1):3-9.
56. Torres O, Matute J, Gelineau-van Waes J, Maddox JR, Gregory SG, Ashley-Koch AE, et al. Human health implications from coexposure to aflatoxins and fumonisins in maizebased foods in Latin America: Guatemala as a case study. *World Mycotoxin J*. 2015;8(2):143-59
- 57.Negash D. A review of aflatoxin: occurrence, prevention, and gaps in both food and feed safety. *Journal of Applied Microbiological Research*. 2018;1(1):35-43.

58. Shirima CP, Kimanya ME, Routledge MN, Srey C, Kinabo JL, Humpf HU, et al. A prospective study of growth and biomarkers of exposure to aflatoxin and fumonisin during early childhood in Tanzania. *Environ Health Perspect*. 2015;123(2):173–8
59. Mauro A, Garcia-Cela E, Pietri A, Cotty PJ, Battilani P. Biological control products for aflatoxin prevention in Italy: Commercial field evaluation of atoxigenic *Aspergillus flavus* active ingredients. *Toxins*. 2018;10(1):30.
60. Hell K, Fandohan P, Bandyopadhyay R, Kiewnick S, Sikora R, Cotty PJ. Pre-and postharvest management of aflatoxin in maize: an African perspective. *Mycotoxins: Detection methods, management, public health and agricultural trade*. 2008:219-29.
61. Campagnollo FB, Khaneghah AM, Borges LL, Bonato MA, Fakhri Y, Barbalho CB, et al. In vitro and in vivo capacity of yeast-based products to bind to aflatoxins B1 and M1 in media and foodstuffs: a systematic review and meta-analysis. *Food Research International*. 2020;137:109505.
62. Emadi A, Eslami M, Yousefi B, Abdolshahi A. In vitro strain specific reducing of aflatoxin B1 by probiotic bacteria: a systematic review and meta-analysis. *Toxin Reviews*. 2021:1-12.
63. Mahmoudi R, Norian R. Aflatoxin B1 and M1 contamination in cow feeds and milk from Iran. *Food and Agricultural Immunology*. 2015;26(1):131-7.
64. Xiong JL, Wang YM, Nennich TD, Li Y, Liu JX. Transfer of dietary aflatoxin B1 to milk aflatoxin M1 and effect of inclusion of adsorbent in the diet of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2015;98(4):2545-54.
65. Afum C, Cudjoe L, Hills J, Hunt R, Padilla LA, Elmore S, et al. Association between aflatoxin M1 and liver disease in HBV/HCV infected persons in Ghana. *International journal of environmental research and public health*. 2016;13(4):377.
66. LYON, France. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some industrial chemicals, 1994, 60: 389-433.
67. Mohammedi-Ameur S, Dahmane M, Brera C, Kardjadj M, Ben-Mahdi MH. Occurrence and seasonal variation of aflatoxin M1 in raw cow milk collected from different regions of Algeria. *Veterinary World*. 2020;13(3):433.
68. Saito A, Okada E, Tarui I, Matsumoto M, Takimoto H. The Association between Milk and Dairy Products Consumption and Nutrient Intake Adequacy among Japanese Adults: Analysis of the 2016 National Health and Nutrition Survey. *Nutrients*. 2019;11(10):2361.
69. Campagnollo FB, Ganey KC, Khaneghah AM, Portela JB, Cruz AG, Granato D, et al. The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M1: A review. *Food Control*. 2016;68:310-29.
70. Bahrami R, Shahbazi Y, Nikousefat Z. Aflatoxin M1 in milk and traditional dairy products from west part of Iran: Occurrence and seasonal variation with an emphasis on risk assessment of human exposure. *Food Control*. 2016;62:250-6.
71. US Food and Drug Administration, 1996. 400 Whole Milk, Low Fat Milk, Skim Milk Aflatoxin M1 (cpg 7106.210), FDA Compliance Policy Guides, Washington, DC, FDA, p. 219.

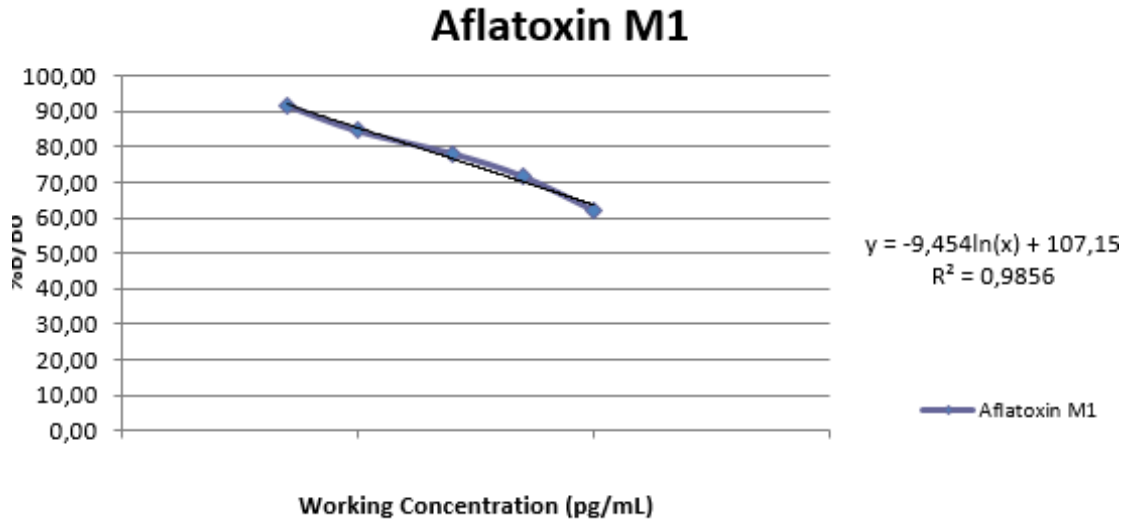
72. Codex Alimentarius Commission, (2001). Comments submitted on the draft maximum level for Aflatoxin M1 in milk. In Codex committee on food additives and contaminants 33 rd session. Hauge, The Netherlands
73. T.C. Gıda TvHB, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. 2011. Erişim: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8.html> Erişim tarihi: 01 Temmuz 2022.
74. Vaz A, Cabral Silva AC, Rodrigues P, Venâncio A. Detection methods for aflatoxin M1 in dairy products. *Microorganisms*. 2020;8(2):246.
75. Salari N, Kazeminia M, Vaisi-Raygani A, Jalali R, Mohammadi M. Aflatoxin M1 in milk worldwide from 1988 to 2020: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Food Quality*. 2020;2020:8862738.
76. Hussen Kabthymmer R, Gebremeskel Kanno G, Aregu MB, Paixão S, Belachew T. Prevalence and concentration of Aflatoxin M1 in human breast milk in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis, and cancer risk assessment. *International Journal of Environmental Health Research*. 2022:1-17.
77. Jaimez J, Fente C, Vazquez B, Franco C, Cepeda A, Mahuzier G, et al. Application of the assay of aflatoxins by liquid chromatography with fluorescence detection in food analysis. *Journal of Chromatography A*. 2000;882(1-2):1-10.
78. Ismail A, Riaz M, Akhtar S, Yoo S, Park S, Abid M, et al. Seasonal variation of aflatoxin B1 content in dairy feed. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 2017;26(1):33-7.
79. Guo L, Zheng N, Zhang Y, Du R, Zheng B, Wang J. A survey of seasonal variations of aflatoxin M1 in raw milk in Tangshan region of China during 2012–2014. *Food Control*. 2016;69:30-5.
80. Bilandžić N, Varenina I, Kolanović BS, Božić Đ, Đokić M, Sedak M, et al. Monitoring of aflatoxin M1 in raw milk during four seasons in Croatia. *Food Control*. 2015;54:331-7.
81. Škrbić B, Živančev J, Antić I, Godula M. Levels of aflatoxin M1 in different types of milk collected in Serbia: Assessment of human and animal exposure. *Food Control*. 2014;40:113-9.
82. Bilandžić N, Božić Đ, Đokić M, Sedak M, Kolanović BS, Varenina I, et al. Seasonal effect on aflatoxin M1 contamination in raw and UHT milk from Croatia. *Food control*. 2014;40:260-4.
83. Camaj A, Meyer K, Berisha B, Arbnesi T, Haziri A. Aflatoxin M 1 contamination of raw cow's milk in five regions of Kosovo during 2016. *Mycotoxin research*. 2018;34(3):205-9.
84. Shahbazi Y, Nikousefat Z, Karami N. Occurrence, seasonal variation and risk assessment of exposure to aflatoxin M1 in Iranian traditional cheeses. *Food Control*. 2017;79:356-62.
85. Fallah AA. Aflatoxin M1 contamination in dairy products marketed in Iran during winter and summer. *Food control*. 2010;21(11):1478-81.

86. Ismaiel AA, Tharwat NA, Sayed MA, Gameh SA. Two-year survey on the seasonal incidence of aflatoxin M1 in traditional dairy products in Egypt. *Journal of Food Science and Technology*. 2020;1-8.
87. Li S, Min L, Wang G, Li D, Zheng N, Wang J. Occurrence of Aflatoxin M1 in raw milk from manufacturers of infant milk powder in China. *International journal of environmental research and public health*. 2018;15(5):879.
88. Iqbal SZ, Asi MR, Malik N. The seasonal variation of aflatoxin M1 in milk and dairy products and assessment of dietary intake in Punjab, Pakistan. *Food Control*. 2017;79:292-6.
89. Fallah AA, Rahnama M, Jafari T, Saei-Dehkordi SS. Seasonal variation of aflatoxin M1 contamination in industrial and traditional Iranian dairy products. *Food Control*. 2011;22(10):1653-6.
90. Zheng N, Li S, Zhang H, Min L, Gao Y, Wang J. A survey of aflatoxin M1 of raw cow milk in China during the four seasons from 2013 to 2015. *Food Control*. 2017;78:176-82.
91. Asghar MA, Ahmed A, Asghar MA. Aflatoxin M1 in fresh milk collected from local markets of Karachi, Pakistan. *Food Additives & Contaminants: Part B*. 2018;11(3):167-74.
92. Ansari F, Pourjafar H, Christensen L. A study on the aflatoxin M1 rate and seasonal variation in pasteurized cow milk from northwestern Iran. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2019;191(1).
93. Golge O. A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Adana province of Turkey. *Food Control*. 2014;45:150-5.
94. Eker FY, Muratoglu K, Eser AG. Detection of aflatoxin M 1 in milk and milk products in Turkey. *Environmental monitoring and assessment*. 2019;191(8):523.
95. Helica. Competitive ELISA Immunoassay for the quantitative detection of Aflatoxin M1 in milk, milk powder and cheese. 2007.
96. Bilandžić N, Varenina I, Solomun Kolanović B, Božić Luburić Đ, Varga I, Želježić B, et al. Occurrence of aflatoxin M1 in raw cow, goat and sheep milk during spring and autumn in Croatia during 2016. *Toxin Reviews*. 2017;36(4):290-6.
97. Çetin B, Özcan Y, Aloğlu H, Becker A, Abdulmawjood A. Determination of Seasonal Distribution of Aflatoxin M1 Level in Cheese Production. *Archiv für lebensmittelhygiene*. 2019;70:17-22.
98. Ghajarbeygi P, Palizban M, Mahmoudi R, Khaniki GJ, Pakbin B. Aflatoxin M1 contamination of cow's raw milk in different seasons from Qazvin province, Iran. *Journal of Biology and today's world*. 2016;5:173-6.
99. Li S, Min L, Wang P, Zhang Y, Zheng N, Wang J. Aflatoxin M1 contamination in raw milk from major milk-producing areas of China during four seasons of 2016. *Food Control*. 2017;82:121-5.
100. Tahira I, Sultana N, Munir A, Hasan SM, Hanif NQ. Occurrence of Aflatoxin M1 in raw and processed milk consumed in Pakistan. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 2019;32(3).

101. Homayouni A, Javadi M, Ansari F, Pourjafar H, Jafarzadeh M, Barzegar A. Advanced methods in ice cream analysis: a review. *Food Analytical Methods*. 2018;11(11):3224-34.
102. Motawee M. Stability of aflatoxins M1 and M2 during manufacture and storage of ice cream. Department of Nutritional Evaluation and Food Science, National Organization for Drug Control and Research, P.O. 29 Egypt
103. Iha MH, Barbosa CB, Okada IA, Trucksess MW. Aflatoxin M1 in milk and distribution and stability of aflatoxin M1 during production and storage of yoghurt and cheese. *Food control*. 2013;29(1):1-6.
104. Kocasari FS, Tasci F, Mor F. Survey of aflatoxin M1 in milk and dairy products consumed in Burdur, Turkey. *International journal of dairy technology*. 2012;65(3):365-71.
105. Nilchian Z, Rahimi E. Aflatoxin M1 in yoghurts, cheese and ice-cream in Shahrekord-Iran. *World Appl Sci J*. 2012;19(5):621-4.
106. Iqbal SZ, Asi MR, Jinap S. Variation of aflatoxin M1 contamination in milk and milk products collected during winter and summer seasons. *Food control*. 2013;34(2):714-8.
107. Madali B, Gulec A, Ayaz A. A survey of aflatoxin M1 in different milk types in Turkey: risk assessment of children's exposure. *Prog Nutr*. 2018;20:659-64.
108. de Matos CJ, Schabo DC, do Nascimento YM, Tavares JF, Lima EdO, da Cruz PO, et al. Aflatoxin M1 in Brazilian goat milk and health risk assessment. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 2021;56(4):415-22.
109. Bilandžić N, Božić Đ, Đokić M, Sedak M, Kolanović BS, Varenina I, et al. Assessment of aflatoxin M1 contamination in the milk of four dairy species in Croatia. *Food control*. 2014;43:18-21.
110. Pour SH, Mahmoudi S, Masoumi S, Rezaie S, Barac A, Ranjbaran M, et al. Aflatoxin M1 contamination level in Iranian milk and dairy products: A systematic review and meta-analysis. *World mycotoxin journal*. 2020;13(1):67-82.
111. Abyaneh HK, Bahonar A, Noori N, Yazdanpanah H, AliAbadi MHS. The overall and variations of Aflatoxin M1 contamination of milk in Iran: A systematic review and meta-analysis study. *Food chemistry*. 2020;310:125848.
112. Djekic I, Petrovic J, Jovetic M, Redzepovic-Djordjevic A, Stulic M, Lorenzo JM, et al. Aflatoxins in milk and dairy products: Occurrence and exposure assessment for the Serbian population. *Applied Sciences*. 2020;10(21):7420.
113. Sezer, Çiğdem, et al. Kars ilinde satışa sunulan dondurmalarda aflatoksin M1 varlığının belirlenmesi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2014, 40.1: 90-94.

8. EKLER

EK-1: ELISA Analizinin Standart Eğri Grafiği



EK-2: Tez Çalışması Orjinallik Raporu



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Mete Han Kaya
Ödev başlığı: Farklı Mevsimlerde Üretilmiş Dondurmaların ve Sütü Buz Ür..
Gönderi Başlığı: Farklı Mevsimlerde Üretilmiş Dondurmaların ve Sütü Buz Ür..
Dosya adı: Mete_Han_tez_29112022.docx
Dosya boyutu: 390.85K
Sayfa sayısı: 76
Kelime sayısı: 15,853
Karakter sayısı: 104,962
Gönderim Tarihi: 29-Kas-2022 01:58ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1966148543

T.C.
BACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI MEVSİMLERDE ÜRETİLMİŞ DONDURMALARIN VE
SÜTLÜ BUZ ÜRÜNLERİNİN AFLATOKSİN Mİ
İÇERİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Doç. Mete Han KAYA

Beslenme Bilimleri Programı
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA
2022

EK-2 (Devam): Tez Çalışması Orjinallik Raporu

Farklı Mevsimlerde Üretilmiş Dondurmaların ve Sütlü Buz Ürünlerinin Aflatoksin M1 İçeriklerinin Karşılaştırılması

ORJİNALLİK RAPORU

% **10**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **10**
İNTERNET KAYNAKLARI

% **2**
YAYINLAR

%
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 6
2	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
3	openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
4	dspace.gazi.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
5	KESENKAŞ, Harun, AKBULUT, Necati, YERLİKAYA, Oktay, AKPINAR, Aslı and AÇU, Merve. "Kefir dondurması üretiminde soya sütünün kullanım olanakları üzerine bir araştırma", Ege Üniversitesi, 2013. Yayın	<% 1
6	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<% 1
7	ihslc.mehmetakif.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

9. ÖZGEÇMİŞ