



KUZEY KIBRIS TÜRK CUMHURİYETİ

YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**KUZEY KIBRIS'TA BULUNAN ÇEŞİTLİ ÇİĞ SÜT
ÖRNEKLERİNDE AFLATOKSİN M1 VARLIĞININ
DEĞERLENDİRİLMESİ VE DÜZEYLERİNİN
BELİRLENMESİ**

CANGÜL TUNCAY

DOKTORA TEZİ

BESLENME VE DİYETETİK DOKTORA PROGRAMI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. ADİLE ÖNİZ ÖZGÖREN

2021 – LEFKOŞA

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Cangül Tuncay

Doç. Dr Serdar Susever'in anısına ithafen...

TEŞEKKÜR

Tez çalışma konumun planlanmasında, geliştirilmesinde ve yürütülmesinde, çalışma süreci boyunca yardımlarını, önerilerini, bilgisini ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, çalışma konumun belirlenmesinden tamamlanmasına kadar olan her aşamada beni destekleyen ve yüreklendiren sevgili tez danışmanım Prof. Dr. Adile Öniz Özgören'e,

Tez çalışmasının değerlendirilmesinde ve geliştirilmesinde değerli katkılarda bulunan değerli jüri üyeleri sayın Doç. Dr. Beyza Ulusoy, Yrd. Doç. Dr. Müjgan Öztürk, Yrd. Doç. Dr. Şevket Direktör ve Yrd. Doç. Dr. Sabiha Gökçen Zeybek'e,

Çalışmanın tüm labaratuvar ve analiz aşamalarının yürütülmesinde destek veren Süt Endüstri Kurumuna, yardımlarını esirgemeyen tüm gıda mühendisleri ve kurum personeline,

Bugüne gelmemde emeği olan, maddi ve manevi her koşulda yanımda olup sevgilerini, desteklerini esirgemeyen canım ailem babam Ahmet Tuncay, annem Gülcan Tuncay ve ablam Aycan Tuncay'a,

Tez döneminin her türlü zorluğunu birlikte yaşayıp atlattığım yardım ve desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan eşim Ahmet Arnavut ve ailesine,

Bu süreçte bana anlayışla yaklaşan ve bu yola devam etmemi sağlayan tüm arkadaşlarım ve sevgili aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım,

Cangül Tuncay

İÇİNDEKİLER

BEYAN	ii
TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR ve SİMGELER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
ÖZET	1
ABSTRACT	3
1.GİRİŞ	5
1.1. Kurumsal Yaklaşımlar ve Kapsam	5
1.2. Amaç	6
1.3. Hipotez	6
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Sütün Beslenmedeki Rolü	7
2.2. Sütün Besin Ögesi Kompozisyonu.....	8
2.3. Sütün Sağlık Üzerine Etkileri	12
2.4. Süt Üretimi ve Tüketimi	15
2.5. Sütte Oluşabilecek Riskler	20
2.6. Aflatoksin Tanımı.....	25
2.7. Aflatoksinlerin Kimyasal Yapısı	26
2.8. Gıdaların Aflatoksinlerle Kontaminasyonu.....	28
2.9. Sütlerde AFM1 Gelişimi	29
2.10. Sütlerde AFM1 Analizi İçin Kullanılan Yöntemler	31
2.11. Aflatoksinler İçin Yasal Düzenlemeler	35
2.12. Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri	37
2.13. Aflatoksinler ve Toksikite	40

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	44
3.1. Çalışma Yeri ve Seçimi	44
3.2. Çalışma için Alınan Gerekli İzinler.....	44
3.3. Örneklem	44
3.4. HPLC Yöntemi.....	45
3.4.1. Kullanılan Materyaller	46
3.4.2. Kullanılan Çözücü Kimyasallar ve Standart Maddeler	46
3.4.3. HPLC Yöntemi Aşamalarında Kullanılan Cihazlar	47
3.4.4. HPLC Uygulama Şartları	47
3.4.5. Aflatoksin M1 Standartlarının Hazırlanması	47
3.4.6. Süt Numunesi Ekstraksiyonu	47
3.4.7. İmmunoaffinite Kolon Kromatografisi	48
3.4.8. HPLC Cihazının Standart İle Kalibrasyonu	48
3.4.9. Süt Numunesinin HPLC Cihazına Enjeksiyonu.....	48
3.4.10. HPLC’de Aflatoksin M1 Hesaplanması ve Sonuç	49
3.5. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi	49
4. BULGULAR.....	50
4.1. 2020 Yılında Analiz Edilen Çiğ Süt Örneklerinin Genel Dağılımı.....	50
4.2. 2020 yılında Analiz Edilen Çiğ Süt Örneklerinin AFM1 Düzeylerine Göre Dağılımı.....	52
4.3. 2020 Yılında Analiz Edilen Süt Örneklerinin Aylara ve Bölgelere Göre Dağılımı.....	56
4.4. 3 Yıl Boyunca Analiz Edilen Süt Örneklerinin Yıllara ve Mevsimlere Göre Dağılımı.....	64
5. TARTIŞMA	68
5.1.Kıbrıs, Türkiye ve Dünyada Çiğ Sütlerde AFM1 Durumu	68
5.2. Yıllar ve Mevsimlerin AFM1 Düzeyleri Üzerindeki Etkisi	71

6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	74
7. KAYNAKLAR	76
8. EKLER.....	92
9.ÖZGEÇMİŞ.....	116

KISALTMALAR ve SİMGELER

µg	Mikrogram
µl	mikrolitre
AB	Avrupa Birliği
AF	Aflatoksin
AFAR	aflatoksin aldehit redüktaz
AFB1	Aflatoksin B1
AFB2	Aflatoksin B2
AFG1	Aflatoksin G1
AFG2	Aflatoksin G2
AFM1	Aflatoksin M1
AFM2	Aflatoksin M2
AFQ1	Aflatoksin Q1
CLA	Konjüge linoleik asit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ELİSA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FAO	Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
G	Gram
GST	Gulutasyon-S-Transferaz
HCC	Hepatoselüller karsinom
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IAC	İmmunoaffinite Kolon Kromatografisi

IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
IU	Internasyonel Ünite
Kg	kilogram
Kkal	Kilokalori
KKTC	Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti
KZYA	Kısa zincirli yağ
L	Litre
Mg	Miligram
ml	Mililitre
Ng	nanogram
ng/L	Nanogram / Litre
OIE	Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü
RE	Retinol Eşdeğeri
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
CYP1A2	Sitokrom P450 1A2
SÜTEK	Süt Endüstri Kurumu
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TLC	İnce tabaka kromatografisi
UHT	Ultra Yüksek Sıcaklık – Uzun Ömürlü Sterilizasyon
WHO	Dünya Sağlık Örgütü – World Health Organization
α -te	Alfa tokoferol

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Süt tüketimi ile sağlık arasındaki ilişki	12
Şekil 2. Süt tüketiminin, insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri	14
Şekil 3. Aflatoksinlerin kimyasal yapıları.....	27
Şekil 4. Karaciğerde aflatoksin B1 metabolizması	30
Şekil 5. AFM1 kontamine sütün tüketimini takiben insanlar için karaciğer kanseri riskinin değerlendirilmesi	39
Şekil 6. AFB1 ve AFM1 toksisitesi sonucunda oluşan mekanizma	42
Şekil 7. HPLC cihazı.....	46
Şekil 8. 2020 yılında AFM1 analizi yapılan çiğ süt türlerinin dağılımı.....	50
Şekil 9. 2020 yılında AFM1 analizi yapılan çiğ süt örneklerinin bölgelere göre dağılımı	51
Şekil 10. Aylara göre çiğ sütlerde AFM1 düzeyleri	57
Şekil 11. 2018 ve 2020 yılları arasında çiğ sütte AFM1 seviyelerinin üç yıldaki aylık ortalama sıklığı.....	65
Şekil 12. İlçelere göre örneklem haritası ve Avrupa Birliği yasal sınırını (>50 ng/L) aşma oranları	66

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1.1. Yaş gruplarına göre süt ve ürünleri için günlük önerilen porsiyon miktarları.....	8
Tablo 2.2.1. Çeşitli süt türlerine göre 100 gram sütün besin ögesi içeriği.....	9
Tablo 2.2.2. 100 gram sütte bulunan bazı vitaminlerin miktarları.....	9
Tablo 2.2.3. 100 gram sütte bulunan bazı minerallerin miktarları.....	9
Tablo 2.4.1. Süt ısıt işlemlerinin mikrobiyolojik ve beslenme kalitesine etkileri	17
Tablo 2.5.1. Süt ve süt ürünleri ile ilişkili gıda güvenliği riskleri.....	21
Tablo 2.5.2. Süt üretim kaynağında gıda kaynaklı patojenler ve gıda zehirlenmesi...	24
Tablo 2.10.1. Aflatoksin analizi için kullanılan yöntemlerin karşılaştırması.....	34
Tablo 2.11.1. Belirli gıda ürünleri için izin verilen maksimum aflatoksin değerleri...	35
Tablo 4.1.1. 2020 yılında AFM1 analizi yapılan çiğ süt türlerinin dağılımı.....	50
Tablo 4.1.2. 2020 yılında AFM1 analizi yapılan çiğ süt örneklerinin bölgelere göre dağılımı.....	51
Tablo 4.2.1. 2020 yılında analiz edilen çiğ süt örneklerinde AFM1 düzeylerinin ortalama, standart sapma, minimum, maksimum değerlerinin dağılımı.....	52
Tablo 4.2.2. Sütlerdeki AFM1 değerlerinin limit düzeye göre dağılımı.....	52
Tablo 4.2.3. AFM1 düzeylerinin değer aralıklarına göre dağılımı.....	53
Tablo 4.2.4. Sütlerdeki AFM1 değerlerinin limit düzeye göre ortalamalarının dağılımı.....	54
Tablo 4.2.5. AFM1 değer aralıklarının ortalamalarına göre dağılımı.....	54
Tablo 4.2.6. Süt türlerine göre AFM1 değerlerinin dağılımı.....	55
Tablo 4.3.1. Aylara göre AFM1 değerlerinin dağılımı.....	57
Tablo 4.3.2. 2020 yılında analiz edilen çiğ süt örneklerinin bölgelere göre AFM1 değerlerinin dağılımı.....	58

Tablo 4.3.3. Tüm aylarda analiz edilen AFM1 değerlerinin bölgelere göre dağılımı...	61
Tablo 4.3.4. Aylara göre AFM1 limit düzeylerinin dağılımı.....	63
Tablo 4.4.1. 2018 – 2020 yılları arasında mevsimlere göre çiğ sütlerde AFM1 düzeyi.....	65
Tablo 4.4.2. Yıllara göre ortalama aflatoksin M1 düzeyleri.....	67

Kuzey Kıbrıs'ta bulunan çeşitli çiğ süt örneklerinde aflatoksin M1 varlığının değerlendirilmesi ve düzeylerinin belirlenmesi

Öğrencinin Adı: Cangül Tuncay

Danışman: Prof. Dr. Adile Öniz

Anabilim Dalı: Beslenme ve Diyetetik

ÖZET

Amaç: Bu araştırma, Kuzey Kıbrıs genelinde üretilen çiğ sütlerin, süt türlerine, aylara ve üretim bölgelerine göre aflatoksin M1 ile kontamine olma sıklığının belirlenmesi ve 2018-2020 yılları arasında ülke genelinde toplanan çiğ sütlerde aflatoksin M1 düzeylerinin yıllar ve mevsimler arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi amacı ile yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu araştırma, Eylül 2018-Ağustos 2020 yılları arasında KKTC'de 7 farklı ilçenin üretim bölgelerinden toplamda 1026 çiğ süt örneği toplanarak yapılmıştır. Aflatoksin M1 analizleri Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

Bulgular: Yalnızca 2020 yılında toplanan 318 çiğ süt örneklerinin AFM1 düzeyi ortalama $14,4 \pm 16,99$ ng/L olarak tespit edilmiştir. Keçi sütünün ($23,9 \pm 17,77$ ng/L) ortalama AFM1 düzeyi, inek ($13,7 \pm 16,75$ ng/L) ve koyun ($14,0 \pm 17,33$ ng/L) sütüne göre daha yüksektir. Farklı hayvan türlerinin sütlerindeki AFM1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir ($p < 0,05$). AFM1 düzeyleri aylara göre incelendiğinde ise, en yüksek değerler Ocak ve Nisan aylarında saptanmıştır ($p < 0,05$). 2018-2020 yılları arasında mevsimsel ve yıllar arasındaki farklılıkları incelemek için analiz edilen toplam 1026 çiğ süt örneğinin AFM1 kontaminasyonu ise ortalama $26,4 \pm 17,96$ ng/L olarak tespit edilmiştir. Çiğ süt örneklerinin yalnızca %11,4'ünün Avrupa Birliği yasal sınırını (50 ng/L) aştığı saptanmıştır. Çiğ süt örneklerinde AFM1 kontaminasyonu insidansı sonbahar ve kış aylarında (sırasıyla ortalama $31,77 \pm 19,21$ ng/L ve $26,96 \pm 20,77$ ng/L) ilkbahar, yaz aylarından (sırasıyla ortalama $19,00 \pm 18,53$ ng/L ve $7,51 \pm 11,31$ ng/L) çok daha

yüksektir. Bu nedenle sonbahar ve kış mevsimlerinde çiğ sütte AFM1 kontaminasyonunun izlenmesi önemlidir.

Sonuç: Çalışma sonucunda, çiğ süt örneklerindeki AFM1 konsantrasyonlarının Avrupa Komisyonu ve Türk Gıda Kodeksi limitlerine (<50ng/L) uygun olduğu ve halk sağlığı açısından risk oluşturmadığı tespit edilmiştir. Kuzey Kıbrıs'ta ilk kez yapılan bu kapsamlı çalışma, ülke genelinde çiğ sütte AFM1 kontaminasyonunun yönetimini ve gelecekteki risk analizini kolaylaştıracaktır.

Anahtar Kelimeler: Çiğ süt, aflatoksin M1, HPLC, Gıda güvenliği

Evaluation of the presence of aflatoxin M1 in various raw milk samples and determination of its levels in North Cyprus

Name of Student: Cangül Tuncay

Advisor: Prof. Dr. Adile Öñiz

Department: Nutrition and Dietetics

ABSTRACT

Objective: This research was carried out to determine the frequency of contamination of raw milk produced in North Cyprus with aflatoxin M1 according to milk types, months and production regions, and to evaluate the differences in aflatoxin M1 levels between years and seasons in raw milk collected across the country between 2018-2020.

Materials and Methods: This research was carried out by collecting a total of 1026 raw milk samples from the production regions of 7 different provinces in North Cyprus between September 2018 and August 2020. Aflatoxin M1 analyzes were performed by using the HPLC method.

Results: The mean AFM1 level of 318 raw milk samples collected in 2020 alone was determined as 14.4 ± 16.99 ng/L. AFM1 level of goat milk (23.9 ± 17.77 ng/L) is higher than that of cow (13.7 ± 16.75 ng/L) and sheep (14.0 ± 17.33 ng/L) milk. Statistically significant differences were observed between the AFM1 levels in the milk of different animal species ($p < 0.05$). When AFM1 levels were analyzed by months, the highest was found in January and April ($p < 0.05$). AFM1 contamination of a total of 1026 raw milk samples analyzed to examine seasonal and inter-year differences between 2018 and 2020 was found to be 26.4 ± 17.96 ng/L on average. It was determined that only 11.4% of the raw milk samples exceeded the European Union legal limit (50 ng/L). The incidence of AFM1 contamination in raw milk samples is higher in autumn and winter (mean 31.77 ± 19.21 ng/L and 26.96 ± 20.77 ng/L, respectively), than spring and summer (mean 19.00 ± 18.53 ng/L and 7.51 ± 11.31 ng/L). Therefore, it is important to monitor AFM1 contamination in raw milk in autumn and winter.

Conclusion: As a result of the study, AFM1 concentrations in raw milk samples were found to be in compliance with the European Commission and Turkish Food Codex limits (<50ng/L) and it has been determined that it does not pose a risk to the public. This is the first comprehensive study made in North Cyprus which will facilitate the management and future risk analysis of AFM1 contamination in raw milk across the country.

Keywords: raw milk, aflatoxin M1, HPLC, food safety

1.GİRİŞ

1.1. Kurumsal Yaklaşımlar ve Kapsam

Süt, insan yaşamının her evresinde gerekli olan besin değeri yüksek bir besindir. Büyüme, gelişme, insan sağlığının korunması ve sürdürülebilmesi için gerekli makro ve mikro besin öğeleri için iyi bir kaynaktır. Sütün besleyici özellikleri yanında ayrıca kemik sağlığı, obezite, kanser, hipertansiyon gibi birçok kronik hastalıklarla ilişkisini gösteren araştırmalar bulunmaktadır. Ayrıca probiyotik mikroorganizmalar aracılığı ile fermente edilmiş sütlerden elde edilen probiyotik sütün, bağışıklık sistemini güçlendirici, antimikrobiyal, antimutajenik, antikarsinojenik ve antihipertansif özellikleri bulunmaktadır (Demirgöl ve Sağdıç, 2018; Ünal ve Besler, 2008; Duarte ve ark., 2013).

Süt tüketiminin besleyici ve sağlığa olumlu etkilerine karşın, çiğ süt halk sağlığı üzerinde ciddi riskler oluşturabilecek çok sayıda ve farklı kaynaktan mikrobiyal kontaminasyona uğramaktadır. Çiğ sütteki en önemli kontaminasyon kaynağı ise aflatoksinlerdir. Süt ve süt ürünlerindeki aflatoksin varlığının gelişmekte olan ülkeler başta olmak üzere dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır (Kupiec, 2004; de Rocha ve ark. 2014). Aflatoksinler besinlerde ve yemlerde bulunan toksik fungal metabolitlerdir. Ruminantlar laktasyon döneminde Aflatoksin B1 (AFB1) ile kontamine yemlerle beslendiklerinde, toksin sindirim sisteminde metabolize olarak sütte Aflatoksin M1 (AFM1) oluşumuna neden olmaktadır. Aflatoksinler, bağışıklık sisteminin baskılanması, tümör oluşumu, ciddi karaciğer hasarı, karsinojenik ve teratojenik etkilere yol açması nedeni ile insan ve hayvan sağlığı üzerinde önemli derecede olumsuz etkilere sahip olabilen bileşiklerdir (Ketney ve ark. 2017; Kos ve ark. 2016).

Çiğ sütte yüksek oranlarda bulunabilen AFM1, insan sağlığı için önemli risk oluşturmaktadır. Özellikle daha önce ülkemizde bu konuda yapılmış bir çalışmaya literatürde rastlanmaması sebebiyle, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde (KKTC) üretilen çiğ inek, koyun ve keçi sütlerinde AFM1 varlığının belirlenmesi ile saptanan miktarların yasal düzenlemeler dikkate alınarak halk sağlığı yönünden tehlike oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi ülke genelinde bir yol gösterici olacaktır. Beslenme ve diyetetik, insan ve hayvan sağlığı ve gıda mühendisliği vb bilim

alanlarının merkezinde yer alan bu çalışmada; süt ve süt ürünlerini ifade etmek için, uluslararası güncel literatür ile uyumlu olarak sıklıkla “gıda/food” terimleri kullanılacaktır.

1.2. Amaç

Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti’nde üretilen çiğ inek, koyun ve keçi sütlerinin içeriğindeki AFM1 varlığının ve miktarının araştırılması, yasal düzenlemeler dikkate alınarak halk sağlığı yönünden tehlike oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi ve sağlık açısından oluşacak risk faktörlerinin ortadan kaldırılması amaçlanmaktadır.

Bu alışma ile;

1. Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti genelinde üretilen çiğ inek, koyun ve keçi sütlerindeki AFM1 varlığını belirlemek,
2. Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti genelinde üretilen çiğ inek, koyun ve keçi sütlerindeki AFM1 düzeylerini belirlemek,
3. lke genelinde bölgelere göre AFM1 düzeylerini saptamak,
4. Mevsimlere göre AFM1 düzeylerini belirlemek,
5. Yıllara göre AFM1 düzeylerinin değerlendirilmesi,
5. Aflatoksinin gelişmini önlemek için alınması gereken önlemlerin belirlenmesi hedeflenmiştir.

1.3. Hipotez

1. KKTC’de üretilen çiğ inek, koyun ve keçi sütlerinin üretiminin daha çok kırsal kesimlerde olmasından dolayı sütlerdeki AFM1 oranının yüksek olduğu öngörülmektedir.
2. Aylara bağlı olarak AFM1 oranı değişiklik gösterebileceği düşünülmektedir.
3. Kış aylarında sütteki AFM1 miktarı diğer aylara göre daha yüksek olduğu öngörülmektedir.
4. Yıllara göre AFM1 miktarlarında azalma görülmesi beklenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sütün Beslenmedeki Rolü

Süt, binlerce yıldır doğanın en eksiksiz besini olarak bilinmekte ve şu anda dünyada 6 milyardan fazla insanın beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Küresel süt üretiminde büyükbaş hayvan sütü hakim olup, süt üretimindeki artış son 30 yılda %60 oranında artmıştır (Górska-Warsewicz ve ark., 2019; FAO, 2018).

Süt, insan yaşamının her evresinde gerekli olan besleyici bir besindir. Özellikle çocuk beslenmesinde anahtar rol oynamaktadır. Büyüme, gelişme, insan sağlığının korunması ve sürdürülebilmesi için gerekli makro ve mikro besin öğeleri için iyi bir kaynaktır. Özellikle protein, kalsiyum, fosfor ve riboflavin başta olmak üzere birçok besin öğesinin önemli kaynağıdır (Ünal ve Besler, 2008; Karadal ve ark., 2018). Süt içerdiği makro ve mikro besin öğeleri sebebiyle, özellikle gelişme çağındaki çocukların yeterli ve dengeli beslenmesinde büyük önem taşımaktadır. Sütün besleyici özellikleri yanında ayrıca obezite, kemik sağlığı, hipertansiyon, kanser gibi birçok farklı kronik hastalıklarla ilişkisini gösteren araştırmalar bulunmaktadır. Özellikle çocukluk çağı, gebe ve emzicilik ve yaşlılık dönemlerinde kemik sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Ünal ve Besler, 20

08, Duarte ve ark., 2013).

Süt grubunda yer alan besinlerin içerdiği protein kaliteli protein olup, özellikle çocukluk çağı dönemde büyüme ve gelişme için, yetişkinlerde ise doku onarımı ve vücudun çalışması için gereklidir (Baysal ve ark., 2013; TÜBER, 2015).

Özellikle süt proteinleri, vücutta büyüme ve gelişmeye katkısı, doku farklılaşmasındaki etkinliğinin yanı sıra; kalsiyum emilimi ve bağışıklık fonksiyonlar üzerinde, kan basıncını ve kanser riskini azaltıcı, vücut ağırlığının kontrolü ve dış çürüklerine karşı koruyucu potansiyel olumlu etkileri bulunmaktadır (Ünal ve Besler, 2008).

Süt ve süt ürünlerinde yüksek miktarlarda bulunan kalsiyum ise diğer besin kaynaklarına kıyasla vücut tarafından daha iyi kullanılmaktadır. Ayrıca kemik ve dişlerin gelişimi ve hücre çalışması için önemli bir role sahiptir. Süt grubunda yer alan

besinleri tüm yaş gruplarının önerilen miktarlarda tüketmesi gerekmektedir (Tablo 2.1.1.). Bununla birlikte, ileri yaşlarda süt tüketiminin devam edebilmesi açısından, çocukluk çağı dönemde süt içme alışkanlığının kazanılması önemlidir (Bozhüyük ve ark., 2012).

Tablo 2.1.1. Yaş gruplarına göre süt ve ürünleri için günlük önerilen porsiyon miktarları (TÜBER, 2015).

Yaş	Porsiyon	
	Erkek	Kız
1 - 3 yaş	4	4
4 – 6 yaş	3 - 4	3 - 4
7 – 9 yaş	3	3
10 – 18 yaş	4	4
19 -65 yaş	3	3-4
65 yaş ve üzeri	4	4

2.2. Sütün Besin Ögesi Kompozisyonu

Pek çok faktör sütün bileşiminde bulunan besin ögesi kompozisyonunu etkilemektedir. Süt kompozisyonunu etkileyen etmenler, mevsim, hayvanın yaşı, genetik yapı, çevresel faktörler, laktasyon safhası, üretim seviyesi gibi etmenler olup, beslenme dışındaki faktörlerden de etkilenebilmektedir. Ayrıca sütün besin ögesi içeriği hayvanın türüne göre de farklılık göstermektedir (Kalač ve Samková, 2010).

Sütün ana bileşenleri karbonhidrat, protein, yağ, su, vitamin ve mineraller olup, yaklaşık olarak %4-5 karbonhidrat, %3 protein, %3.25 yağ, %87 su, %0.7 kül, 0.8 mineral ve %0.1 vitamin içermektedir (Pereira, 2014; Haug ve ark., 2007). Ulusal gıda kompozisyon veri tabanına göre süt türlerinin besin ögesi içerikleri Tablo 2.2.1, 2.2.2. ve 2.2.3.'te verilmiştir (TURKOMP, 2021).

Tablo 2.2.1. Çeşitli süt türlerine göre 100 gram sütün besin ögesi içeriği (TURKOMP, 2021)

Süt Türü	Enerji (kkal)	Karbonhidrat (g)	Laktoz (g)	Protein (g)	Yağ (g)	Su (g)
İnek	64	4.78	3.38	3.17	3.57	87.83
Keçi	71	4.40	4.43	3.55	4.32	86.9
Koyun	89	4.51	4.70	5.49	5.40	83.76
Manda	119	5.00	4.64	4.05	9.25	81.03

Tablo 2.2.2. 100 gram sütte bulunan bazı vitaminlerin miktarları (TURKOMP, 2021)

Süt Türü	A Vit. (RE)	D Vit. (IU)	E Vit. (α-te)	B₁ Vit. (mg)	B₂ Vit. (mg)	B₁₂ Vit. (μg)	Folat (μg)
İnek	35	6	0.12	0.04	0.16	0.44	7
Keçi	34	0	0.14	0.02	0.24	0.62	7
Koyun	46	35	0.20	0.01	0.48	0.69	7
Manda	64	25	0.18	0.09	0.02	0.41	9

Tablo 2.2.3. 100 gram sütte bulunan bazı minerallerin miktarları (TURKOMP, 2021)

Süt Türü	Sodyum (mg)	Potasyum (mg)	Kalsiyum (mg)	Magnezyum (mg)	Fosfor (mg)	Demir (g)	Çinko (mg)
İnek	37	151	98	9	78	0.02	0.33
Keçi	34	175	126	11	97	0.04	0.42
Koyun	49	112	173	13	131	0.10	0.49

Manda	53	127	162	16	9	0.09	0.54
--------------	----	-----	-----	----	---	------	------

İnek, keçi, koyun, manda gibi birçok hayvanın sütü insan beslenmesinde kullanılmaktadır. Ortalama olarak %87'si su olan süt, 100'den fazla farklı bileşen içermektedir. Süt protein, kalsiyum, fosfor, ve bazı B vitaminleri açısından iyi bir kaynaktır (Kalač ve Samková, 2010; Pfeuffer ve Watzl, 2018). Mevsimsel değişim, fizyolojik etkenler, hastalık durumu gibi birçok etken besin ögesi içeriğini etkilemektedir (Pereira, 2014). Yapılan araştırmalar doğrultusunda, ilkbahar ve sonbahar mevsimleri arasındaki değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bildirilmiştir. Sonbahar döneminde, protein, yağsız kuru madde ve kül içerikleri yüksek iken, ilkbahar döneminde yağ miktarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Ünal ve Besler, 2008).

Genel olarak sütün besin ögesi kompozisyonu içerisinde karbonhidrat, protein, yağ gibi makro besin öğeleri büyük oranda yer almaktadır. Ancak az miktarlarda bulunan mikro besin öğeleride büyük önem taşımaktadır. Örneğin sütte bulunan vitaminler besin değeri açısından önem taşımakta, enzimler çeşitli reaksiyonları katalize etmekte, bazı bileşenler ise sütün duyuşsal niteliklerini etkilemektedir (Franzoi ve ark., 2018; Pfeuffer ve Watzl, 2018).

Süt genellikle insan beslenmesinde önemli bir protein kaynağı olarak kabul edilmekte ve yaklaşık 32 g/L protein sağlamaktadır. Yüksek kaliteli protein içeren inek sütünün ortalama %3'ü proteinlerden oluşmaktadır (Pereira, 2014). Protein fraksiyonu, whey ve kazein proteinleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Whey proteinleri, süt proteini fraksiyonunun % 20'sini, kazeinler ise %80'ini oluşturmaktadır. Her ikisi de insanların amino asit gereksinimleri, sindirilebilirlik ve biyoyararlanım göz önünde bulundurularak yüksek kaliteli proteinler olarak sınıflandırılmaktadır (Franzoi ve ark., 2019). Amino asit profili, iki fraksiyon arasında oldukça farklıdır. Whey proteini, özellikle dallı zincirli amino asitler, yani lösin, izolösin ve valinin yanı sıra lizin açısından zengindir, kazein ise daha yüksek histidin, metiyonin ve fenilalanin oranına sahiptir (Visentin ve ark., 2017).

Süt yağının büyük bir kısmı kompleks yapıda olan trigliseridlerden oluşmaktadır. Diğer lipid bileşenleri ise fosfolipid, kolesterol, serbest yağ asitleri, mono ve digliseridlerdir. Trigliseritler, süt yağı fraksiyonunun %98'ini oluşturken,

diasilgliserol %2, kolesterol <%0,5, fosfolipidler %1 ve serbest yağ asitleri %0,1 oranında bulunmaktadır. Süt yağı, doymuş yağ içermesine rağmen kronik hastalıklar için olumlu etkinlikleri olan konjuge linoleik asit, sifingomiyelin, bütirik asit, miristik asit gibi yağ asitlerini içermesinden dolayı sağlık açısından önemli bir yere sahiptir (Muehlhoff ve ark., 2013; Górska-Warsewicz ve ark., 2019).

Süt, temel kalsiyum kaynağı olması ile birlikte, mineral fraksiyonunda fosfor, magnezyum, çinko ve selenyum gibi diğer mineralleride içermektedir. Kalsiyum sütte en fazla bulunan mikro elementtir. Yetişkin bir bireyin günlük kalsiyum gereksinimi ortalama 1200 mg'dır (Pietrzak-Fiećko ve Kamelska-Sadowska, 2020).

Sütte bulunan vitaminler ise, A, D ve E vitaminlerinden ve ayrıca tiamin ve riboflavin gibi suda çözünür B kompleks vitaminlerinden oluşmaktadır. Sütte yağda çözünen vitaminlerin konsantrasyonları süt yağı içeriğine bağlıdır, bu nedenle az yağlı ve yağsız süt türleri daha düşük miktarlarda A, D ve E vitaminlerine sahiptir. Bazı ülkelerde, yağsız süt, besinsel zenginliğini artırmak için A ve D vitaminleri ile takviye edilmektedir (Górska-Warsewicz ve ark., 2019). A vitamini özellikle büyüme, gelişme, bağışıklık ve göz sağlığı açısından önemlidir. Sütteki içeriği esas olarak yağ miktarına bağlı olmakla birlikte hayvan yemi ve mevsim gibi faktörlere de bağlıdır. Tam yağlı süt genellikle iyi bir A vitamini kaynağı olarak kabul edilir ve yaklaşık 172 mg/100g A vitamini içermektedir, bununla birlikte az yağlı veya yağsız sütteki A vitamini içeriği sırasıyla 102 mg/100 g ve 5 mg/100 g kadar düşük olabilmektedir. Bu nedenle, birçok ülke, özellikle çocuklarda beslenme durumunu iyileştirmek ve A vitamini eksikliğini azaltmak için yağı azaltılmış süt ürünlerini takviye etmeyi tercih etmektedir (Parnell ve ark., 2011). Ayrıca D vitamini açısından iyi bir kaynak olarak kabul edilmesine rağmen, sütün kendisi takviye edilmediği sürece önemli miktarda D vitamini içermemektedir (Rizzoli, 2014).

2.3. Sütün Sağlık Üzerine Etkileri

Süt ve süt ürünleri insan beslenmesinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Süt ve süt ürünlerinin insan sağlığını iyileştirilmesi ve geliştirilmesi için yüksek potansiyel bir etkiye sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Özellikle son yıllarda, sağlık açısından öneminin anlaşılması ile süt ve sağlık ilişkisi üzerindeki ilgi daha da artmıştır (Demirgöl ve Sağdıç, 2018).

Yapılan çalışmalar doğrultusunda, çeşitli süt ve süt ürünlerinin antimikrobiyal, antimutajenik, antikarsinojenik, antihipertansif ve antidiyabetik özelliklerinin olduğu bildirilmiştir. Sütün probiyotik mikroorganizmalarla fermente edilmesi sonucunda elde edilen probiyotik süt ürünlerinin, tüketicilerin immün fonksiyonlarını arttırarak, potansiyel olarak hastalık riskini azalttığı saptanmıştır. Ayrıca süt tüketimi ile birlikte, vücut ağırlığının korunması, obezite, diş çürüğü, kemik erimesi, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, zayıf gastrointestinal sağlık ve kolorektal kanser gibi birçok çeşitli hastalığı önlenmesinde de potansiyel etkiye sahiptir (Şekil 1) (Thorning ve ark., 2016).



Şekil 1. Süt tüketimi ile sağlık arasındaki ilişki (Olumlu etki ↓, etki yok →) (Thorning ve ark., 2016'dan uyarlanmıştır)

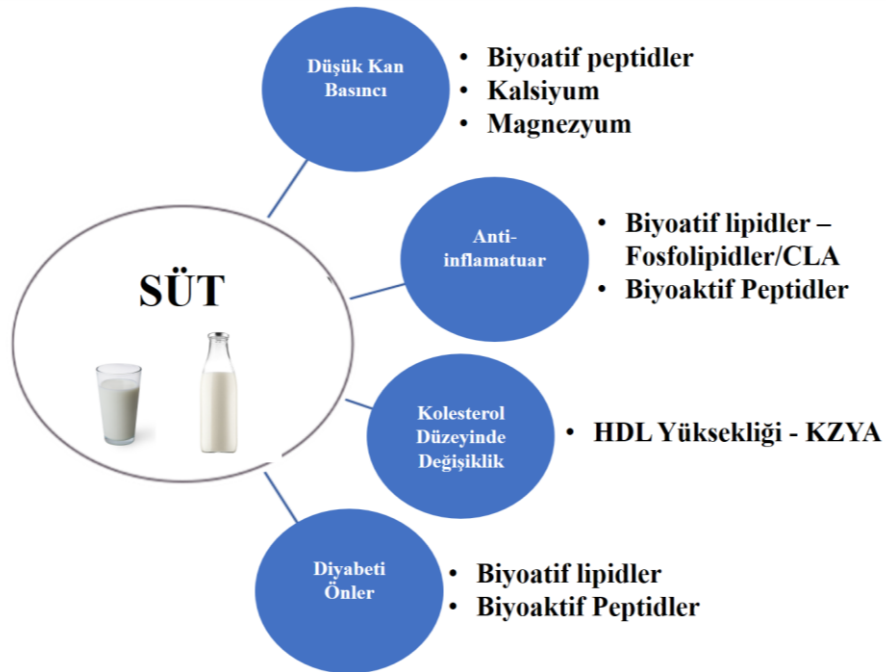
Tip 2 diyabet prevalansındaki artışın büyük bir kısmı obeziteye bağlı gelişmektedir. Bu nedenle vücut ağırlığı kontrolü için süt ve süt ürünlerinin rolünü değerlendirmek önemlidir. Dünya genelinde çocukluk çağı obezitesi, yetişkin döneme kadar devam edebilmektedir (Dietz ve Gortmaker, 2001). Bu nedenle çocukluk çağı obezitesinin erken önlenmesi önemlidir. Yapılan bir meta-analiz çalışmasında, okul öncesi ve okul çağındaki çocuklar arasında süt alımı ile şişmanlık arasında bir ilişki olmadığını gösterilmiştir (Dror, 2014). Bununla birlikte, ergenlik döneminde koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır. Lu ve diğerleri tarafından yapılan bir meta-analiz çalışmasında, süt tüketimi yüksek olan çocukların aşırı kilolu veya obez olma olasılığının, süt tüketimi düşük olan çocuklara kıyasla %38 daha az olduğu saptanmıştır. Günde bir porsiyon süt alımındaki artış, %0,65 daha düşük vücut yağı ve %13 daha düşük aşırı kilo veya obezite riski ile ilişkilendirilmiştir (Lu ve ark., 2016).

Süt ve süt ürünleri, yüksek kaliteli protein kaynaklarıdır. Protein, aşırı enerji tüketimini önlemeye yardımcı olan ve böylelikle vücut yağ depolarını azaltan yüksek doyurucu etkisi nedeniyle ağırlık kaybı ve sonraki ağırlık koruma aşamasında önemlidir (Bendtsen ve ark., 2013). Yapılan çalışmalar, yetişkinlerde süt ürünlerinin tüketimi ile ağırlık kaybını kolaylaştırdığını ve vücut kompozisyonunu iyileştirdiğini, yani vücut yağ kütlelerini azalttığını ve enerji kısıtlaması sırasında ve kısa süreli çalışmalarda yağsız vücut kütlelerini koruduğu bildirilmiştir (Abargouei ve ark., 2012; Booth ve ark., 2015). Sonuç olarak, süt ve süt ürünleri açısından zengin bir diyetin, çocukluk çağı obezitesi riskini azaltıcı ve yetişkinlerde vücut kompozisyonunu iyileştirici potansiyel etkileri bulunmaktadır. Böylece obeziteye bağlı gelişen tip 2 diyabet riskini azaltmaya da katkıda bulunmaktadır (Thorning ve ark., 2016).

Yapılan çalışmalar doğrultusunda, süt ve süt ürünlerinin genellikle kan basıncını düşürdüğü kabul edilmektedir. Günde 200 ml süt tüketimi ile inme riskini %7 azalttığı bildirilmiştir (Thorning ve ark., 2015). Bununla birlikte yapılan başka bir çalışmada, süt, peynir ve yoğurt tüketiminin kardiyovasküler hastalık riski ile ters ilişkili olduğu bulunmuştur (Raziani ve ark., 2016). Qin ve diğerleri tarafından yapılan bir meta-analiz çalışmasında, düzenli süt ürünleri tüketen bireylerin, hiç süt ürünleri tüketmeyen veya az tüketen bireylere kıyasla %12 daha düşük kardiyovasküler hastalık riski ve %13 daha düşük inme riski ile ilişkili olduğunu bulunmuştur (Qin ve ark., 2015). Başka bir çalışmada ise, yüksek süt tüketimi ile %9 daha düşük inme riski

ile ilişkili olduğunu, ancak kardiyovasküler hastalık veya koroner kalp hastalığı ile hiçbir ilişki bulunamadığı saptanmıştır. Ek olarak, süttten kaynaklanan, doymuş yağ asidi C17:0'ın yüksek plazma seviyelerinin, koroner kalp hastalığı riskinin azalmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (Hu ve ark., 2014; Chowdhury ve ark., 2014). Genel olarak yapılan çalışmalar doğrultusunda, yüksek miktarda süt ve süt ürünleri alımının, (200-300 ml/gün), kardiyovasküler hastalık riskini artırmadığını ancak hipertansiyon ve inme riskini azalttığı bildirilmiştir (Thorning ve ark., 2015).

Süt ürünleri tüketimi ile kanser arasındaki ilişki, Dünya Kanser Araştırma Fonu ve Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü tarafından ayrıntılı olarak incelenmektedir (Givens ve Hobbs, 2014). Raporlar sonucunda, süt tüketiminin özellikle kolorektal ve mesane kanserine karşı koruduğunu, ancak prostat kanserinde olası bir artışla ilişkili olduğunu belirtmiştir. Kanserle olan bu ilişkiler şu anda tam olarak anlaşılmamış olsa da, özellikle kalsiyum takviyeleri ile kolon kanseri riski üzerinde faydalı bir etki de bildirilmiştir. Ancak bu konuda çok daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Givens ve Hobbs, 2014; Aune ve diğerleri, 2012).



Şekil 2. Süt tüketiminin, insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri; (CLA: Konjüge linoleik asit, HDL: Yüksek yoğunluklu lipoprotein KZYA: Kısa zincirli yağ) (Lordan ve ark., 2018'den uyarlanmıştır)

2.4. Süt Üretimi ve Tüketimi

Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (World Food and Agricultural Organization-FAO) son yıllarda dünyadaki süt üretiminin yılda yaklaşık %3 oranında artmakta olduğunu bildirmiştir (FAO, 2015). Bununla birlikte süt ve süt ürünlerine olan talep ise yılda ortalama %4 oranında artmaktadır (FAO, 2015). FAO verilerine göre, süt üretiminin %83'ü inek, %14'ü manda, %2'si keçi, %1'i koyun ve %0.3'ü deve sütünden üretilmektedir (FAO, 2018). Nüfus ve kişi başına tüketimdeki artışın bir sonucu olarak, dünya çapında süt ve süt ürünleri talebinin artmaya devam etmesi beklenmektedir (Coetzee, 2014).

İçme sütleri üretim aşamasında, çiğ sütlerin mikrobiyolojik açıdan güvenilir hale getirilmesi amacı ile ısıtma işlem uygulamalarına tabi tutulmaktadır. Türk Gıda Kodeksi, Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği'ne göre içme sütü, "Çiğ sütün; pastörizasyon, yüksek sıcaklıkta pastörizasyon, UHT (Uzun ömürlü sterilizasyon) veya sterilizasyon işlemlerinden biri uygulanarak elde edilen ve başka bir işleme gerek kalmadan tüketime sunulan süt" olarak tanımlanmaktadır (Urgu ve ark., 2017; Anonim, 2019).

Patörizasyon işlemi; Düşük Sıcaklık Uzun Süre Patörizasyon, Yüksek Sıcaklık Kısa Süreli Pastörizasyon ve Çok Yüksek Sıcaklık Pastörizasyon olarak üçe ayrılmaktadır (Anonim, 2019).

Düşük Sıcaklık Uzun Süre Pastörizasyon işlemi; çiğ süte en az 63°C'de, 30 dakika da uygulanan bir işlemdir. Uzun süreli düşük sıcaklık yada eşdeğer etkiyi sağlayan diğer sıcaklık-zaman koşullarının kombinasyonunu içeren ve bu uygulamalardan sonra alkali fosfataz testi yapıldığında, ürünlerin negatif reaksiyon gösterdiği bir uygulamasıdır (Melini ve ark., 2017; Popović-Vranješ ve ark., 2015; Anonim, 2019).

Yüksek Sıcaklık Kısa Süreli Patörizasyon işlemi; çiğ süte en az 72°C'de 15-20 saniye uygulanan kısa süreli yüksek sıcaklık uygulamasıdır.

Çok Yüksek Sıcaklık Pastörizasyon işlemi; 85°C ve üzerinde kısa süreli (15 saniye) uygulanan bir işlemdir. Bu uygulama sonrasında alkali fosfataz ve peroksidaz testi yapıldığı zaman, ürünlerin negatif reaksiyon gösterdiği uygulamasıdır.

Pastörize işlemi uygulanarak üretilen sütler, üretimden hemen sonra 6°C'yi geçmeyecek sıcaklıkta soğutulmalıdır (Melini ve ark., 2017; Popović-Vranješ ve ark., 2015; Anonim, 2019).

UHT işlemi; 135°C'den az olmayan kısa süreli (2-5 saniye) yüksek sıcaklıkta sütün sürekli akışını içeren, aseptik koşullarda kapatılmış ambalajların oda sıcaklığında muhafaza edilmesi halinde, üründe canlı mikroorganizma veya gelişim kabiliyetine sahip sporların olmamasını sağlayan ısı işlem uygulamasıdır (Melini ve ark., 2017; Popović-Vranješ ve ark., 2015; Anonim, 2019).

Sterilizasyon işlemi ise; Oda sıcaklığında saklanabilen ticari olarak steril bir ürün üretmek amacı ile normal depolama şartlarında bozulmaya neden olacak tüm patojen mikroorganizmaları ve sporları yok eden hermetik ambalajlı ürüne, en az 115°C'de 13 dakika veya 121°C'de 3 dakika gibi uygun zaman sıcaklık kombinasyonunda, yüksek sıcaklıkta uzun süreli uygulanan ısı işlem uygulamasıdır (Melini ve ark., 2017; Popović-Vranješ ve ark., 2015; Anonim, 2019).

İçme sütlerine uygulanan ısı işlem uygulamaları dışında, halk arasında geleneksel yöntem olarak uygulanan kaynatma işlemide bulunmaktadır. Kaynatma işlemi, süte 90-95°C'de 10-15 dakika süre uygulanan bir işlem olup, sütte bulunan patojen mikroorganizmaların tamamını öldürmeyebilmektedir. Ayrıca kaynatma işlemi ile sütün içindeki besin öğelerinde, özellikle vitaminlerde (Tiamin, Riboflavin, Niasin, B₁₂ ve Folat) %60-100'e kadar kayıplar meydana gelebilmektedir. Bu nedenle tüketicilerin sokakta satılan işlem görmemiş çiğ sütleri satın almaları önerilmemektedir (Yıbar ve Küçük, 2019; Popović-Vranješ ve ark., 2015).

Tablo 2.4.1. Süt ısıt işlemlerinin mikrobiyolojik ve beslenme kalitesine etkileri (Melini ve ark., 2017)

Isıl İşlem	Isıtma Koşulları	Raf Ömrü ve Saklama Koşulları	Mikrobiyolojik Etki	Beslenme Etkisi
Pastörize	15 saniye için 72°C (20 saniye için 75°C)	Soğutulmuş koşullar (çiğ süt kalitesine göre 3–21 gün < 7°C)	Patojenlerin (<i>M. tuberculosis</i> dahil), küflerin, mayaların ve çoğu bakterinin inaktivasyonu	Kazein yapısı üzerinde çok az etki - Whey protein yapısında küçük değişiklikler - Lizin kaybı - Yağ asidi profili üzerinde etkisi yoktur - Çoğu vitamin içeriğinin azalması, ancak toplam diyet alımlarında çok az etkisi olması - Süt mineral içeriği ve biyoyararlanımı üzerinde etkisi yoktur.
Yüksek Sıcaklık Pastörize	20 saniye için $\geq 85^\circ\text{C}$ (2–5 saniye için 115–120°C)	Soğutulmuş koşullar (çiğ sütün kalitesine göre 45-60 gün için < 7°C)	-Patojenlerin ve tüm bitkisel mikroorganizmaların inaktivasyonu - Bakteriyel sporlar öldürülmez - Süt enzimleri tam olarak inaktive edilmemiştir.	Kazein yapısı üzerinde çok az etki - Whey protein yapısının denatürasyonu - Lizin kaybı - Yağ asidi profili üzerinde etkisi yoktur - Çoğu vitamin içeriğinin azalması - Süt mineral içeriği ve biyoyararlanımı üzerinde etkisi yoktur.

Tablo 2.4.1.'in devamı

Isıl İşlem	Isıtma Koşulları	Raf Ömrü ve Saklama Koşulları	Mikrobiyolojik Etki	Beslenme Etkisi
UHT	1-4 saniye için 135-150°C (5 saniye için > 140°C)	3-12 ay boyunca soğutulmayan koşullar (<32°C)	Tüm patojen ve patojen olmayan mikroorganizmalar ve sporlar yok edilir - Süt enzimleri inaktive edilir - Bazı bakteriyel proteinazlar ve lipazlar inaktive edilir	Whey protein yapısının denatürasyonu - lizin kaybı - Yağ asidi profili üzerinde etkisi yoktur - Çoğu vitamin içeriğinin azalması, ancak toplam diyet alımlarında çok az etkisi olması - Süt mineral içeriği ve biyoyararlanımı üzerinde etkisi yoktur
Sterilizasyon	20–40 dk için 105–120°C (30 dk için 110°C)	8–12 ay boyunca soğutulmayan koşullar (<32°C)	Tüm patojen ve patojen olmayan mikroorganizmalar ve sporlar yok edilir - Süt enzimleri inaktive edilir - Bazı bakteriyel proteinazlar ve lipazlar inaktive edilir	Whey protein yapısının denatürasyonu -Lizin kaybı, - yağ asidi profili üzerinde etkisi yoktur, - Çoğu vitamin içeriğinin azalması - Süt mineral içeriği ve biyoyararlanımı üzerinde etkisi yoktur.

Süt ısıt işlemleri ile çiğ sütte bulunabilecek olan tüm patojen ve patojen olmayan mikroorganizmalar ve sporlar yok edilebilmektedir (Melini ve ark., 2017). Ancak normal sıcaklıklarda dayanıklı olan aflatoksinlerin tümüyle parçalanabilmeleri için 300°C'nin üzerindeki sıcaklıklara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle "Düşük Sıcaklık Uzun Süre" pastörizasyon (63-65°C'de 30 dakika), "Yüksek Sıcaklık Kısa Süre" pastörizasyon (72-75°C'de 15-20 saniye), "Çok Yüksek Sıcaklık" pastörizasyon (85°C ve 90°C'de 15 saniye) ve UHT (135°C-150°C'de 2-5 saniye), işlemleri ile sütlerdeki aflatoksin miktarında azalma olmamaktadır (IARC, 2017; Anonim, 2019).

Kişilerin sosyo-ekonomik ve demografik özellikleri, süt ve süt ürünleri tüketim tercihlerini önemli düzeyde etkileyebilmektedir. Özellikle yaş, cinsiyet, eğitim, ekonomik düzey ve ailedeki birey sayısı süt tüketimini etkileyebilmektedir (Yıbar ve Küçük, 2019). Ekonomik zorlukların, süt üretimi ve tüketimi üzerindeki etkileri gelişmekte olan ülkelerde daha belirgin olarak görülmektedir. Örneğin Zimbabve'de toplam süt üretimi 1980 ile 2012 arasında yılda 260'tan 50 milyon litreye düştüğü bildirilmiştir (Paraffin ve ark., 2018).

2017 yılında yapılan bir çalışmanın sonucunda, kentsel yerleşim yerlerinde hanelerin taze süt tüketme olasılıkları, şehir dışındaki yerleşim yerlerine göre 2,8 kat daha fazla olduğu ve 30 yaşın üzerinde olanların taze süt tüketme olasılığı 30 yaşın altındaki katılımcılara göre üç kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Kentsel olmayan alanlardaki hanelerin satıcılardan taze süt satın alma olasılığı beş kat daha yüksektir. Genç katılımcıların süpermarketlerden taze süt satın alma olasılıkları üç kat daha fazla ve kadınların ise süpermarketlerden taze süt satın alma olasılıklarının iki kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Süt ürünü seçimi sırasında hanehalkları için görünüm, tazelik, kalite, tat, beslenme ve bulunabilirliğin önemli olma olasılığı kentsel bölgelerde daha yüksek saptanmıştır. Kentsel bölgelerde yaşayan bireylerin, süpermarketlerden taze süt satın alma oranları yaklaşık %34 olup, bireylerin satın alma nedenlerinin tüketim için güvenli olduğunu düşündükleri için aldıkları bildirilmiştir. Kent dışı alanlardaki satıcılardan taze süt satın alan hanelerin çoğunluğu (>%50) ucuz olduğu için satın aldığını belirtmiştir (Paraffin ve ark., 2018).

Türkiye'nin Tokat şehrinde ailelerin süt tüketim tercihlerini etkileyen demografik ve ekonomik faktörleri inceleyen bir çalışmada, ailelerin %84.8'inin açık süt tüketmeyi tercih ettikleri saptanmıştır. Ailelerin açık süt tüketmeyi tercih etmelerinin sebebi ise, açık sütün daha sağlıklı olması, yoğurt yapımına daha uygun olması ve güvenilir bulunması olarak saptanmıştır (Gözener ve Sayili, 2013). İstanbul'da yapılan başka bir çalışmada ise ailelerin %26.5'i açık süt tüketmeyi tercih ederken, %26.2'si pastörize süt tüketmeyi tercih ettiği saptanmıştır (Karakaya ve Akbay, 2014). Yapılan çalışmalar doğrultusunda tüketiciler çiğ sütün daha sağlıklı ve sindirimini daha kolay olduğunu düşündükleri için tükettikleri bildirilmiştir. Ayrıca ailelerin gelir düzeyi arttıkça ambalajlı süt tüketiminin de arttığı saptanmıştır (Yıbar ve Küçük, 2019; Mullin ve ark., 2014). Yapılan başka bir çalışmada ise, tüketicilerin %69.9'u çiğ sütü sokak satıcılarından almayı tercih ederken %3.1'i ise pastörize veya UHT süt olarak almayı tercih ettikleri saptanmıştır (Kadir ve ark., 2018). 2017 yılında Kuzey Kıbrıs'ta 157 yetişkin bireyin katıldığı bir çalışmada, bireylerin % 43.9'unun hergün süt tükettiği ve bireylerin %74.8'inin inek sütü tüketmeyi tercih ettikleri bildirilmiştir (Şanlı, 2017). Kuzey Kıbrıs'ta 2016 yılında 8-10 yaş çocuklarla yapılan başka bir çalışmada ise, çocukların %43.9'unun hergün süt tükettiği saptanmıştır. Çocukların %18.3'ü ise haftada 5-6 kez süt tüketirken %20.2'si haftada 3-4 kez süt tükettiği bildirilmiştir (Tuncay, 2016).

2.5. Sütte Oluşabilecek Riskler

Gıda güvenliği riski, genellikle gıdalardaki herhangi bir biyolojik, kimyasal veya fiziksel maddeyi veya tüketiciler için olumsuz sağlık sonuçlarına neden olma potansiyeli olan gıdanın durumunu ifade etmektedir. Bu tür riskler, birincil üretim, sağım, formülasyon ve işleme, paketleme ve etiketleme, nakliye, depolama, hazırlık ve servis sırasındaki herhangi bir zamanda süt zincirine girebilmektedir (Luber, 2011; FAO ve WHO, 2003). Çiğ süt üretimi ve süt ürünleri ile ilişkili başlıca gıda güvenliği tehlikeleri üç kategoriye ayrılabilir; Tablo 2.5.1'de gösterildiği gibi biyolojik, kimyasal ve fiziksel riskler çiğ sütte bulunabilecek başlıca risklerdir (WHO, 2016). Çiğ süt üretiminden işlemeye ve tüketiciye kadar süt, nihai ürünün güvenliğini ve kalitesini etkileyen çeşitli tehlikelere maruz kalmaktadır. Bu tehlikelerden bazıları,

beslenmeleri, sağılması ve işlenmesi yoluyla hayvancılık uygulamalarından kaynaklanabilmektedir (Owusu-Kwarteng ve ark., 2020).

Tablo 2.5.1. Süt ve süt ürünleri ile ilişkili gıda güvenliği riskleri (WHO, 2016'den uyarlanmıştır)

Biyolojik Riskler	Kimyasal Riskler	Fiziksel Riskler
i. Patojen bakteriler (bakteriler tarafından üretilen toksinler dahil)	i. Doğal olarak oluşan toksinler	i. Metal parçalar
ii. Toksikjenik küfler / mantarlar	ii. Doğrudan ve dolaylı gıda katkı maddeleri	ii. Kemik parçaları
iii. Parazitler	iii. Böcek ilacı artıkları	iii. Cam parçaları
iv. Virüsler	iv. Veteriner ilaç kalıntıları	iv. Böcekler veya parçaları
v. Viral ajanlar	v. Ağır metaller	v. Taşlar / toprak / toz
vi. Diğer biyolojik riskler	vi. Çevresel kirleticiler	vi. Saç / kürk
	vii. Kalıntılar	vii. Kirlilik
	viii. Endüstriyel kimyasallar	viii. Boya Kabukları
	ix. Radyoaktif İ	

Süt tüketiminin besleyici ve sağlığa faydalı etkilerine rağmen, çiğ süt halk sağlığı üzerinde ciddi riskler oluşturabilecek çok sayıda ve farklı kaynaktan mikrobiyal kontaminasyona uğramaktadır. Çiğ sütler, *Salmonella spp.*, *E. coli*, *Campylobacter spp.*, *Enterocolitica*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *Listeria* gibi tehlikeli mikroorganizmaları barındırabilmektedir. Çeşitli mikroorganizmalardan kaynaklı hastalık ve toksikasyonlar, çiğ süt veya çiğ süttten üretilmiş ürünler tüketildiğinde insanlarda yol açtığı salgınların nedeni olarak çok sık rastlanılmaktadır (Owusu-Kwarteng ve ark., 2020; Yerlikaya ve Kinik, 2019). Çiğ sütte bulunabilecek olası patojen mikroorganizmaları yok edebilmek ve süütün besin değerini koruyabilmek için uluslararası normlarda kabul gören ısı işlemler uygulanmaktadır. Ancak çiğ süt kaynaklı riskler ile pastörizasyon prosesindeki eksikliklerden kaynaklanan risklerin yanı sıra uygun olmayan ekipman, kötü hijyen ya da insan kaynaklı hatalar nedeniyle oluşan pastörizasyon sonrası kontaminasyonlar da meydana gelebilmektedir (Claeys ve ark., 2013).

Halk sağlığı açısından çiğ süt tkretiminden sonra oluşan hastalık durumu, tüketicinin genel sağlık durumu, mikroorganizmanın patojenitesi, insan için enfekte doz oranı, bulaşan ve gelişen mikroorganizmanın cinsi ile yakından ilişkilidir. Süt kaynaklı enfeksiyonların sonucunda ateř, terleme, diyare, ağrı ve mide krampları gibi belirtiler görülebilmektedir. Ancak kişilerin önemli bir kısmında ise Gullian-Barre sendromu, hemolitik üremik sendrom, bazı durumlarda ise reaktif artrit ve ölüm gibi son derece ciddi klinik semptomlarla da karşılaşılabilmektedir (Sarkar, 2016). Mikrobiyolojik bir çalışma ile hijyen uygulamalarını değiştirmek için olası bakteriyel kontaminasyon kaynağını bilmek önemlidir. Ayrıca tüketicinin süt tkretim durumunu etkileyen, süt kalitesinin bozulmasını önleyebilmek için süt izlenebilirliğindeki kritik bakteriyel kontaminasyonu hatırlamakla mümkündür. Tablo 2.5.2. Süt retim kaynağında gıda kaynaklı patojenler gösterilmiştir. Çiğ süt kaynaklı hastalık salgınları pastörizasyon sonrası enfekte besinler ve kontamine süt ürünlerinden kaynaklanan hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Velázquez-Ordoñez ve ark., 2019; Straley ve ark., 2006).

Süt pazarı, gıda kaynaklı patojenlerin ve kimyasal süt kalıntılarının olası maruziyetini azaltmak için iyi hijyen uygulamalarıyla bir kontaminasyon kaynağını önleyen güvenli ve yüksek kaliteli ürünler gerektirmektedir. Süt kontaminantları ve patojen konsantrasyonlarının varlığı, süt kalitesinin nasıl olduğunun bir göstergesidir. Süt iftliklerinde, hayvanın meme sağlığı durumu, çevresel patojenler, süt kimyasal kalıntıları ve antibiyotikler hakkında bilgi alınmalıdır. Ayrıca evre kirleticileri ve tarımdan gelen kimyasallar, pestisit kalıntıları, veteriner ilaç kalıntıları, süt ürünleri üretiminde yönetim ve denetim ile süt kontaminantlarını önlemek için düzenlenmelidir (Sweesi ve ark., 2020; Velázquez-Ordoñez ve ark., 2019).

Çiğ sütteki en önemli kontaminasyon kaynağı ise aflatoksinlerdir. Sütteki AFM1 kontaminasyon seviyeleri, süt gıda güvenliği üzerinde yüksek risk grubunda yer almakta ve AFM1 hepatotoksik ve kanserojen etkilerinden kaynaklanan ciddi bir sağlık riski olarak görülmektedir. Sütte aflatoksin kontaminasyonu, yemler, mısır ve konsantre yemler aracılığı ile gelişmektedir (Tajik ve ark., 2007). Çiğ süt üretiminde düzenleyici sınırlar koyarak süt ürünlerindeki aflatoksinlere maruz kalma limitini izlemek önemlidir. Süt rnleri üretiminde önemli bir uygulama, aflatoksin kontaminasyonunu azaltmaya ve hayvan yemi için silaj, yem ve tahılları uygun şekilde

muhafaza etme yöntemlerine bağlıdır. Silaj, çimen ve mısır silajına kıyasla çiğ sütün önemli bir kontaminasyon kaynağıdır (Agabriel ve ark., 2007; Velázquez-Ordoñez ve ark., 2019; Sugiyama ve ark., 2008).

Tablo 2.5.2. Süt üretim kaynağında gıda kaynaklı patojenler ve gıda zehirlenmesi (Velázquez-Ordoñez ve ark., 2019)

Meme bezi sağlık durumu	Süt veren hayvanların sağlık durumu	Üretim ortamı	Üretim kara ve su kaynağı
- <i>S. aureus</i>	- <i>Mycobacterium bovis</i>	- <i>Listeria monocytogenes</i>	- <i>Hepatitis A virüsü*</i>
- <i>Streptococcus agalactiae</i>	- <i>Mycobacterium avium subsp. paratuberküloz</i>	- <i>Salmonella türleri</i>	- <i>Leptospira türleri*</i>
- <i>Streptococcus türleri</i>	- <i>Brucella türleri</i>	- <i>E. coli</i> O 157:H7	+ <i>Bacillus licheniformis</i>
- <i>Streptococcus pyogenes</i>	- <i>S. aureus</i> MRSA-LA	- <i>E. coli</i> (STEC)	+ <i>Bacillus subtilis</i>
- <i>Streptococcus zooepidemicus</i> (B-hemolytic <i>Streptococcus</i> Lancefield C grubu)	- <i>Salmonella typhimurium</i> faji tip 561 (STM DT7)	- <i>E. coli</i> (EHEC)	+ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
- <i>Corynebacterium ulcerans</i>		- <i>Yersinia enterocolitica</i>	+ <i>Clostridium disporicum</i>
		- <i>Enterobacter sakazakii</i>	- <i>Aspergillus türleri</i>
		- <i>Campylobacter jejuni</i>	-Aflatoksin M1
		- <i>Enterococcus faecalis</i>	-Mikotoksin B1
		- <i>Citrobacter freundii</i>	
		- <i>Bacillus cereus</i>	
		+ <i>Cryptosporidium parvum</i>	
		- <i>Coxiella burnetii*</i>	
		- <i>Toxoplasma gondii*</i>	

*Bazen

+ Enterik hastalıklarda yer alır

2.6. Aflatoksin Tanımı

Aflatoksin kelimesi üretildiği mantarın adından ve zehir anlamına gelen toksin kelimesinin bileşiminden türetilmiştir. Hayvansal gıdalar, tahıllar, yemler ve kurutulmuş besinlerde nem derecesi ve sıcaklığa bağlı olarak çeşitli mantar türleri hızla üreyerek, mikotoksin adı verilen toksin üretmektedirler. Bu toksinler arasında en önemlisi aflatoksinlerdir (Rushing ve Selim, 2019).

Aflatoksinler, farklı besin ve yem ürünlerinde bulunan toksik fungal metabolitlerdir. Genellikle *Aspergillus* türleri olan *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* tarafından üretilen önemli bir mikotoksin sınıfıdır. Aflatoksin B1 (AFB1), aflatoksin B2 (AFB2), aflatoksin G1 (AFG1), aflatoksin G2 (AFG2), Aflatoksin M1 (AFM1) ve Aflatoksin M2 (AFM2) başlıca aflatoksin sınıflarıdır (Rushing ve Selim, 2019).

Uzun süreli kuraklık, sıcaklık, substrat bileşimi, saklama süresi ve saklama koşulları gibi faktörler, mantar gelişiminde ve aflatoksinlerin sentezinde önemli bir rol oynamaktadır (Iqbal ve ark., 2015).

AFB1, DNA hasarı, gen mutasyonu, kromozom anomalileri ve hücre transformasyonuna neden olan, aflatoksin türleri arasında en toksik, kanserojen, teratojenik ve mutajenik bileşik olup, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı tarafından I. sınıf kanserojen olarak listelenmiştir (Iqbal ve ark., 2015).

Yapılan araştırmalar sonucunda, aflatoksin kalıntılarının, kontamine yemlerle beslenen hayvanlardan elde edilen süt ve diğer hayvansal ürünlerde de bulunabileceği saptanmıştır (Iqbal ve ark., 2015).

Aspergillus flavus, toprakta ve yerde üreyen bir mantar türü olup, pirinç, mısır, yer fıstığı ve benzer birçok besinle kontamine olabilmektedir. Bu besin kaynaklarında bir konakçı olarak üreyen mantar, daha sonra AFB1 başta olmak üzere aflatoksin üretilmektedir. Hasat öncesi veya sonrasındaki aşamanın herhangi bir noktasında gıdalar üzerinde mantar oluşabilmekte ve bu da kontaminasyonun kontrol edilmesini zorlaştırabilmektedir (Iqbal ve ark., 2015).

Ayrıca, yüksek sıcaklıklar ve nem, mantarın büyümesini kolaylaştırmakta, bu nedenle bu çevresel koşullara sahip olan ülkeler, genellikle daha fazla gıdalarda aflatoksin kontaminasyonuna maruz kalmaktadır (Karadal ve ark., 2018).

2.7. Aflatoksinlerin Kimyasal Yapısı

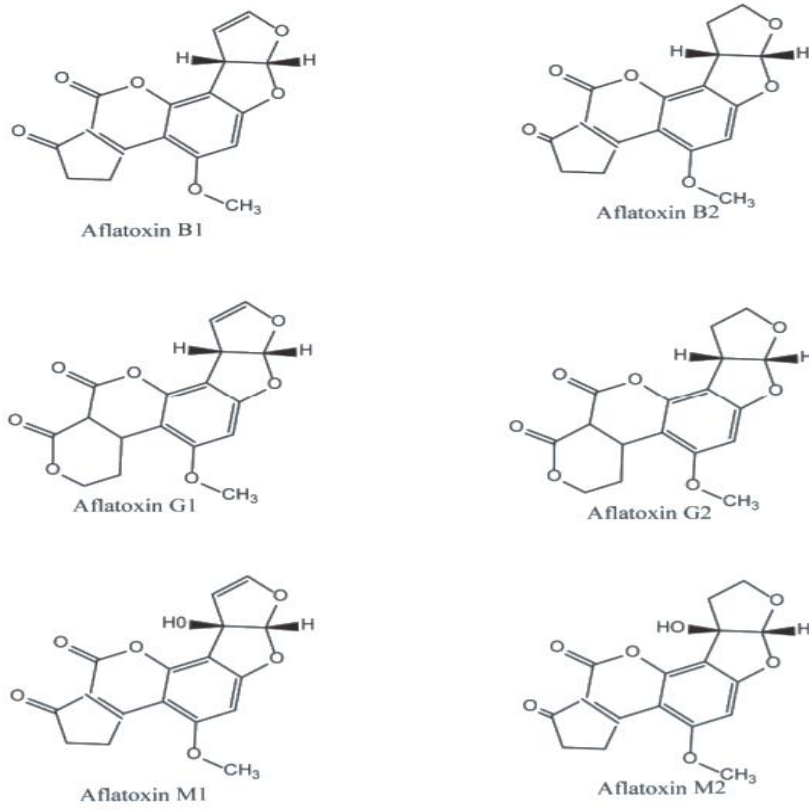
Aflatoksinler genel olarak, “difuranokumarinler” olarak sınıflandırılan bileşikler olup, yüksek oranda dihidrofurofuran içeren kumarin türevleridir. Difurokumarolakton ve difurokumarosiklopentenon olmak üzere iki farklı kimyasal yapıya sahiptirler (Madalı ve Ayaz, 2017; Marchese ve ark., 2018).

Şimdiye kadar 20'den fazla aflatoksin türü tespit edilmiş olup, bunlardan AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2, AFB1 ve AFB2'nin güçlü bir mavi floresan sergilediği UV radyasyonu altında karakterize edilirken, AFG1 ve AFG2 yeşilimsi sarı floresan göstermektedir. Çalışmalara göre, yalnızca AFB1 ve AFB2, *A. flavus* tarafından üretilmektedir. AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2, aflatoksinlerin kökeninde bir fark olduğunu gösteren *A. parasiticus* tarafından üretilmektedirler (Nazhand ve ark., 2020).

AFB1, kumarin yapıdaki lakton halkasına bir keton olan siklopentenon halkasına eklenmesi ile oluşmaktadır. Morötesi ışığa maruz kaldığında mavi bölgede güçlü floresan emisyonu ile karakterizedir (Marchese ve ark., 2018). AFG türevleri ise kumarin yapıdaki lakton halkasına ek bir lakton halkası eklenmesiyle oluşmaktadır. AFB1 ve AFG1'in kimyasal tepkime sonucu su ile birleşmesi durumunda AFB2 ve AFG2 oluşmaktadır. Sonuç olarak, AFB2 ve AFG2, aflatoksin AFB1 ve AFG1'in dihidro türevleridir. Organizmada metabolik olarak AFB1 ve AFG1'e okside olmadıkları sürece biyolojik olarak inaktiftirler (Madalı ve Ayaz, 2017).

AFM1 ve AFM2 gibi türevleri ise AFB1 ve AFB2'nin hidroksilasyonu sonucu oluşmakta olup, AFM2, dihidro-aflatoksin M1'dir. AFM1, AFB1'in başlıca hidroksile metaboliti olup ve sitokrom P450 1A2'nin (CYP1A2) etkisiyle üretilmektedir (Madalı ve Ayaz, 2017; Marchese ve ark., 2018). AFM1 ve AFM2 normalde gıdalarda bulunmaz, ancak bu bileşiklerin metabolitleri, AFB1 ve AFB2 ile kontamine yem tüketilmesi nedeniyle et ve süt ürünlerinde bulunabilir (Şekil 3) (Nazhand ve ark., 2020; da Rocha ve ark. 2014).

AFB1 ve AFM1 benzer kimyasal özelliklere sahip olup, suda hafifçe çözünürler, polar olmayan çözücüler içinde çözünmezler ve polar organik çözücüler içinde serbestçe çözünürler. Gıda üretimi sırasında termal olarak bozulmalarını önleyen yüksek sıcaklıkta (>100C°) bile güçlü termal stabiliteye sahiptirler. Bu etki, özellikle süt ve süt ürünlerinde, pastörizasyon ve diğer ısı işlemlerin tek başına düşük bir etki göstermesinden dolayı, aflatoksinin besinlerle kontaminasyonunun azaltılmasında büyük bir engel teşkil etmektedir (Marchese ve ark., 2018; de Oliveira ve Corassin, 2014).



Şekil 3. Aflatoksinlerin kimyasal yapıları (Nazhand ve ark., 2020)

2.8. Gıdaların Aflatoksinlerle Kontaminasyonu

Çiftlik hayvanlarının beslenmesinde kullanılan yemlerin ve insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan besin maddelerinin aflatoksin ile kontaminasyonu dünyanın çeşitli bölgelerinde sık karşılaşılan bir durum haline gelmiştir. Bu nedenle, toksinlerin kontaminasyonu sonucunda hem gıda güvenliği, hem de halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmakta olup, tarım endüstrisinde de önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (O’Riordan ve Wilkinson, 2008).

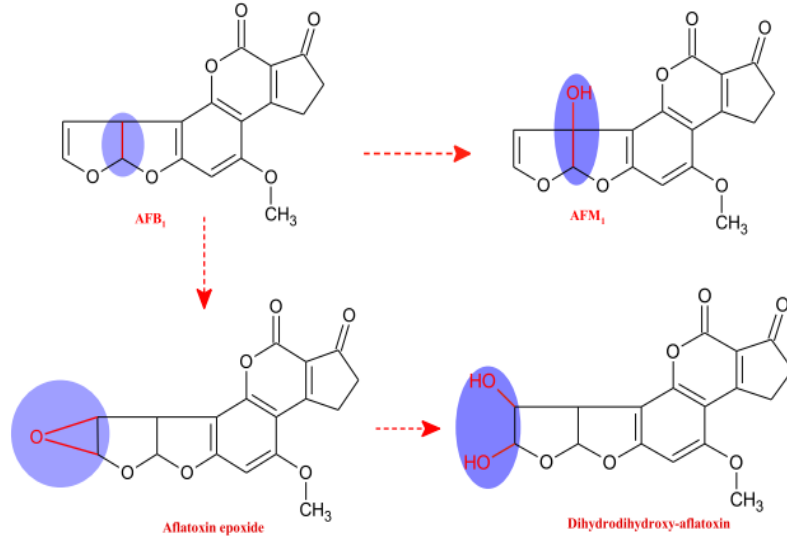
Aflatoksinler hasat, kurutma, depolama, yem ve gıda halinde ürünü işleme aşamasında oluşabilmektedir. Ayrıca ürün tarlada gelişirken de meydana gelebilmektedir. Aflatoksinler nem, sıcaklık, kurutma hızı, ortamda bulunan fungus veya sporlarının yoğunluğu, mikroorganizmalar arası rekabet, ürünün direnci, böcek veya diğer zararlıların faaliyeti, bitki stresi, atmosferik gazların bileşimi gibi ortam değişikliklerinden etkilenmektedirler. Özellikle aflatoksinlerin gelişmesinde nem ve sıcaklık en önemli etkenlerdir (Çoksöyler, 1999; Whitlow ve ark., 2010).

Aflatoksinler sadece 12-42°C sıcaklıkları arasında üretilmekte olup, üremeleri için optimal sıcaklık 25-35°C olarak kabul edilmektedir (Whitlow ve ark., 2010). Farklı koşullara bağlı olarak, aflatoksin üretim süresi 24 saat ile 4-10 gün arasında değişiklik göstermektedir. Yapılan çalışmalar doğrultusunda, aflatoksin üretimi için minimum su aktivitesinin 0,85 aw olduğu bildirilmiştir. Normal sıcaklıklarda son derece dayanıklı olan aflatoksinlerin tamamen parçalanabilmeleri için 300°C’nin üzerindeki sıcaklıklara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle kısa sürede yüksek ısıda pastörizasyon işlemi ile bile sütlerdeki aflatoksin miktarında azalma olmamaktadır (Ostry ve ark., 2017; Hassan ve ark. 2018). Aflatoksinler % 15 ve üzeri nem içeren mısır, yer fıstığı, ve pamuk tohumu başta olmak üzere, çeşitli tahıllar, yem ve yem hammaddeleri ile gıdalarda kolayca ürerler ve ortam müsait olunca mikotoksin sentezleyebilmektedirler (Hassan ve Kassaify, 2014). O₂ ve CO₂ varlığı küfün oluşması ve aflatoksin üremesi açısından etkilidir. Havadaki CO₂ konsantrasyonunun %20 artması ve O₂ konsantrasyonunun %10 azalması aflatoksin üretimini ve küfün gelişimini belirgin biçimde baskılamaktadır (Özkaya ve Temiz, 2003). Küfler pH 2.1-11.2 gibi geniş bir aralıkta üreyebilmekte, optimum seviyede aflatoksin pH 6.0’da ortaya çıkmaktadır (Ostry ve ark., 2017; Hassan ve ark. 2018).

Ayrıca gıdalarda aflatoksin üretimi, sıcaklık ve su aktivitesi ile kontrol edilebilmektedir. Diğer faktörler ise sıcaklık uygulaması, modifiye atmosfer paketlenme ve koruyucu madde kullanımınıdır (Molina ve Giannuzzi, 2002). Bu nedenle hava veya güneşte kuruyan tahıl, pamuk, yerfıstığı ve fındık gibi tohumlar yaygın bir kontaminanttır (Bonjar, 2004). Özellikle mısır yetiştirme, hasat, depolama, taşıma işlemlerinde en çok mikotoksine maruz kalan gıda ürünüdür. Hasat öncesi ve sonrasında *A. flavus* ile enfekte olan mısırlarda kurutma ve depolama koşullarının iyi olmaması durumunda aflatoksin kontaminasyonunda artış görülebilmektedir (Giorni ve ark., 2008).

2.9. Sütlerde AFM1 Gelişimi

Hayvanlar, AFB1 ve AFB2 ile kontamine yemlerle beslendiklerinde, toksin sindirim sisteminde metabolize olarak, sütte hayvanların karaciğerinde monohidroksi edilmiş türevi olan AFM1 ve AFM2 oluşumuna neden olmaktadır (Frazzoli ve ark. 2017). AFM1 hem insanların hem de süt veren hayvanların süt bezlerinde süte salgılanmaktadır (Şekil 4). Hayvanların genetik yapısı, sağım işlemi, çevresel koşullar ve mevsimsel değişimler gibi faktörlere bağlı olarak AFB1'in yaklaşık %0.3-6.2'si metabolize edilmiş AFM1'e dönüşmekte ve süte salgılanmaktadır (Fallah ve ark. 2009). AFM1 ve AFM2 hayvanın vücudundan süt, idrar ve dışkı ile atılmaktadır. Sütteki AFM1 düzeyi, süt veren hayvanların yemlerle aldığı AFB1 oranına bağlı olarak değişmektedir. AFM1, AFB1 yemle alındıktan sonra, 6-24 saat içerisinde çiğ sütte tespit edilebilmekte, 12-48 saat içerisinde en yüksek düzeyine ulaşmakta, AFB1 alımı kesildikten 72-96 saat sonra sütteki miktarı azalmaktadır (İşleyici ve ark. 2015; Frazzoli ve ark. 2017). Ancak bu miktar hayvanın cinsine, laktasyon periyoduna ve süt miktarlarına bağlı olarak değişebilmektedir. Ayrıca, AFM1 ile kontamine çiğ sütlerin çok düşük miktarlarda bile eklendikleri proses tanklarındaki sütlerin tamamını kontamine edebilmeleri nedeni ile ısıtılmış sütlerde AFM1'in bulunma sıklığı çiğ süttekine oranla daha fazla olabilmektedir (Çankırı ve Uyarlar, 2013).



Şekil 4. Karaciğerde aflatoksin B1 metabolizması (Fallah ve ark. 2009)

Süt ürünlerinde aflatoksin varlığı; indirekt kontaminasyon ve direkt kontaminasyon olmak üzere 2 farklı kontaminasyona bağlı gelişmektedir.

İndirekt kontaminasyon; süt veren hayvanların beslenmesinde aflatoksinle kontamine yemlerin kullanılması ile, yem tüketiminden sonra 2-3 gün boyunca sütte AFM1 bulunmaktadır. Aflatoksinle kontamine olmayan yemlerin kullanılması ile birlikte sütteki AFM1 düzeyi 2-3 gün içerisinde yok olmaktadır (Prandini ve ark. 2009). Yapılan başka bir araştırmada ise AFB1'in tüketiminden 12-24 saat sonra sütte AFM1 gözlemlendiği bildirilmiştir. Ayrıca soğuk mevsimlerde sıcak mevsimlere kıyasla AFM1 kontaminasyonunun daha yüksek düzeylerde bulunmaktadır. Bunun nedeninin ise sıcak mevsimlerde çiftlik hayvanları yeşil yemle beslenirken, soğuk mevsimlerde hazır hayvan yemleri ile beslenmelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Hassan ve Kassafy, 2014; Mehenktaş, 2019).

Direkt kontaminasyon; süt ve ürünlerinin aflatoksinlerle direkt kontaminasyonu, istenmeyen küf gelişimi veya fermentasyon için kullanılan küflerin gelişimi sonucunda olabilmektedir (Mehenktaş, 2019). Peynir yapımında isteyerek geliştirilen küfler, örneğin Camembert ve Fransız Roquefort peynirlerindeki *Penicillium* türleri gibi peynir starter kültürleridir. Belirli koşullar altında starter kültürlerin toksin üreten suşlarla kontaminasyonu veya çevresel kontaminasyon

durumunda ürünlere bulaşan küfler aflatoksin üretebilmektedir (Prandini ve ark. 2009).

Süt ve ürünlerinin diğer bir olası kontaminasyonu ise, iyi üretim uygulamalarıdır. İyi üretim uygulamaları genellikle süt ve ürünlerinin küflenmesini önlenmesi rağmen ürünlere kazara küf bulaşabilmektedir. AFM1 ile kontamine olmuş süttten peynir yapıldığında, toksin pıhtıya geçebilmektedir. Süt ürünlerinin üretimi sırasında AFM1'in yağda çözünmemesi ve pıhtıda tutulması nedeniyle, AFM1 düzeyi süt ürünü bileşenlerinin özelliklerine, işleme yöntemine, ekstraksiyon tekniğine, süt kontaminasyonunun türüne ve derecesine ve süt kalitesindeki farklılıklara göre değişiklikler gösterebilmektedir (Hassan ve Kassaify, 2014; Manetta ve ark. 2009).

2.10. Sütlerde AFM1 Analizi İçin Kullanılan Yöntemler

AFM1 düzeylerini saptamak amacı ile; çoğunlukla immünokimyasal yöntemler kullanılmakta olup, bunlar arasında Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC - high performance liquid chromatography), ELISA (enzyme immunoassay), TLC – (ince tabaka kromatografisi-thin-layer chromatography), Kapiler Elektroferez ve Kromatografik Metotların Kütle Spektroskopisi ile Birlikte Kullanımı (LC-MS/MS, GC-MS/MS) yöntemleri yer almaktadır (Merve ve Ocak, 2019; Mwanza, ve ark. 2015).

HPLC yöntemi; yüksek hassasiyeti ve düşük maliyetleri nedeniyle en yaygın kullanılan ve en çok tercih edilen yöntemdir. Yaygın kullanılma sebepleri duyarlılığı, kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen bileşiklerin ayrılmasına uygunluğudur. En önemlisi ise sanayinin birçok bilim dalının ve toplumun birinci derecede ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uygulanabilirliğidir (Wen ve ark. 2013; Martínez-Miranda ve ark. 2015; Choochuay ve ark. 2018).

HPLC yöntemi, bir sıvıda çözülmüş bileşenlerin, bir kolon içerisinde bulunan genellikle katı bir destek üzerindeki sabit faz ile farklı etkileşimlere girmesi, kolon içinde farklı hızlarla hareket etmeleri sonucunda farklı zamanlarda bileşenlerin kolonu terk ederek birbirlerinden ayrılması temeline dayanmaktadır (Kupiec, 2004; Zhu ve

ark. 2015). Genellikle, iki aşamayı içerektedir. Birinci aşama ayırma aşamasına dayanan ekstraksiyon aşamasıdır ve ikinci aşama ise farklı sorbentlerle magnezyum sülfat kombinasyonu kullanılarak, dağıtıcı-katı faz ekstraksiyon aşamasıdır (Zhu ve ark. 2015; Zhao ve ark. 2015; Nielsen ve ark. 2015). Doğal floresan olan aflatoksinler floresans, MS dedektörü ve UV absorpsiyon ile HPLC’de analiz edilebilmektedir. HPLC ile yapılan mikotoksin çalışmalarında genellikle floresans dedektör kullanılmaktadır (Turner ve ark., 2009). Sistem ekstraksiyon, IAC (İmmunoaffinite Kolon Kromatografisi), cihaza enjeksiyon prensibine dayanmaktadır. Ekstraksiyon aşamasında su, aseton, metanol ve asetonitril gibi solventler kullanılmaktadır. Uygun solventlerle numunedeki aflatoksinler solvent kısmına geçirilerek süzülüp, daha sonra elde edilen süzüntü IAC’ye getirilmektedir. IAC’de hazırlanan örnek geçirilir ve aflatoksinler bu aşamada yakalanmaktadır. IAC saf su ile yıkanıp, IAC’den metanol ile aflatoksinler ayrılmaktadır. Daha sonra HPLC cihazına konularak aflatoksinlerin düzeyi saptanmaktadır (Turner ve ark., 2009; Singh 2013).

ELİSA yöntemi; Antijen-antikor reaksiyonlarının direk olarak saptandığı bir enzim immunoassay yöntemidir. ELISA yönteminde uygulanan ilk aşama numuneye uygulanacak olan ekstraksiyon işlemidir. Bu yöntemle yapılan mikotoksin analizlerinde son yıllarda sep-pak kartuşlar kullanılmaktadır. İşlem 3 farklı aşamada gerçekleşmektedir. Birinci aşamada, numune kartuşa ilave edilmektedir. Daha sonraki aşamada ise uygun bir solvent kullanılarak numunede bulunabilecek kirletici maddeleri ortamdan uzaklaştırılır ve son olarak ise uygun bir çözücü kullanılarak toksin kartuştan alınmaktadır. ELISA yönteminin farklı mikotoksin analizlerinde kullanılması, farklı mikotoksinlere karşı spesifik antikor üretimine bağlıdır. Bu sebeble antikor üretimi için daha etkili yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Kırdar, 2006; Kos ve ark. 2016).

TLC yöntemi; tabaka üzerinde hareketli fazın ilerlemesi kapilarite sayesinde gerçekleşmektedir. Ayırım mekanizması ise partisyon, adsorpsiyon, iyon değişimi etkilerinin iki yada daha fazlasına dayanmaktadır. 1980’li yıllarda TLC yöntemi geliştirilerek Yüksek Performanslı TLC (HPTLC) plakları geliştirilmiştir. Son yıllarda ise OPTLC (Over Pressure TLC) tekniği geliştirilmiştir. OPTLC, sabit faz üzerinden basınçla ve santrifüj ile hızlandırılarak geçirildiği dairesel preparatif tekniğidir. TLC yöntemi ile yapılan aflatoksin analizlerinde yapılan işlemler sırasıyla; örnekleme,

ekstraksiyon ve ekstrakt temizleme, yoğunlaştırma, kromatografik ayırım, kalitatif ve kantitatif tayin ve doğrulama testleri şeklindedir. Şimdilerde ise TLC yerini HPLC yöntemlerinin alması ile artık çok fazla kullanılmamaktadır (Campbell ve ark. 2017; Sherma ve Fried, 2011).

TLC yöntemi, çok fazla solvent kullanımı ve yoğun prosedürleri gerektirmektedir. Bununla birlikte farklı örnekleri hızla taramak için kullanılabilir. Ekstraksiyon ve yoğunlaştırma aşamalarından sonra kromatografi işlemi uygulanmaktadır (Wall, 2007). TLC ile aflatoxin analizlerinde toksinlerin ekstraksiyonunda başlıca, kloroform:su, metanol:su ve asetonitril:su kullanılmaktadır. Yoğunlaştırma işlemi rotary evaporator ile yapılmaktadır. Kloroformla yıkanan aflatoxinlerin alınması için azot gazı altında buharlaştırma uygulanmaktadır (Sherma ve Fried, 2011).

Kapiler Elektroforez yöntemi; bu yöntem ile hassas floresanslı saptama yöntemleriyle kombinasyonu aflatoxinler için kullanılabilir. Numuneler ince ve dayanıklı kapilerlerden elektrik akımı ile geçirilmektedir. Bu işlem bileşiklerin elektrik yüklerine göre ayrılmasını sağlamak ve geleneksel yöntemlerde olduğu gibi herhangi bir çözücü kullanılmamaktadır (Turner ve ark., 2009; Pena ve ark., 2002).

Mikotoksin Analizlerinde Kromatografik Metotların Kütle Spektroskopisi ile Birlikte Kullanım; Mikotoksinlerin analizi için LC-MS/MS yöntemi sık kullanılmaktadır. LC-MS/MS yönteminde UPLC cihazı sayesinde, fizikokimyasal özelliklerine göre ayrılan örnek molekülleri kütle dedektörü ile analiz edilmektedir. LC-MS/MS ve HPLC-MS/MS yöntemleri ile, aflatoxin metabolitlerinin belirlenmesinde çok sık kullanılmaktadır. LC-MS yöntemi ile, çoklu mikotoksin metotları temizleme ve ekstraksiyon basamaklarının optimum şartlarda olmaları açısından avantajlı görülmektedir. Böyle yöntemler geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında, analitik işgücünde azalışa, analitik verimde ise büyük bir artış sağlamaktadır (Merve ve Ocak, 2019).

Tablo 2.10.1. Aflatoksin analizi için kullanılan yöntemlerin karşılaştırması (Merve ve Ocak, 2019)

Yöntemler ve Özellikler	TLC	Kapiler Elektforez	ELİSA	HPLC	(LC-MS/MS, GC-MS/MS, HPLC-MS/MS vb
Kimyasal Sarfiyat	-	Bileşiklerin elektrik yüklerine göre ayrımı yapılır	Diğer yöntemlere göre az solvent kullanımı	-	Diğer yöntemlere göre çok daha az
Çoklu Mikotoksin Analizleri	-	-	-	Birden çok örneğin aynı anda analizi yapılabilmektedir	Tek enjeksiyonda yapılabilmektedir
Metod Sağlamlığı	Eski ve artık kullanılmamaktadır	Eski ve etkin olarak kullanılmamaktadır	Eski	Eski ve uluslararası	Daha yeni oluşturulan (İşletme içi metotlar)
Cihaz Maliyeti ve Arızaları	-	-	-	Düşük ve az	Daha yüksek ve daha fazla

2.11. Aflatoksinler İçin Yasal Düzenlemeler

Dünya genelinde insanlar tarafından tüketilen besinler belirli zamanlarda toplu zehirlenmelere veya ölümlere yol açabilmektedir. Aflatoksinler, üretim proseslerinde veya ısıtma işlemlerinde yok olmadığından, bu metabolitlerin Avrupa Birliği (AB) tarafından belirlenen maksimum kalıntı seviyelerine göre, gıdalarda en etkin kontrolü sağlamak büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle dünya genelinde sağlık kuruluşları, gıdalardaki aflatoksin kontaminasyonlarını önlemek için maksimum değerler belirleyerek, belirli zamanlarda üreticileri veya işletmeleri yasal olarak denetlemektedir. KKTC’de, diğer birçok ülkede olduğu gibi gıdalarda aflatoksin kontaminasyonu ile ilgili yasal kısıtlamalar bulunmaktadır. Tablo 2.11.1.’de gıdalarda izin verilen maksimum aflatoksin değerleri verilmiştir. Ülkemizde aflatoksinler için, Codex Alimentarius standartlarında, AB ve Türk Gıda Kodeksi’nin (TGK) belirlemiş olduğu yasal düzenlemeler uygulanmaktadır (TGK, 2011; IARC, 2017; Codex Alimentarius, 2015).

Tablo 2.11.1. Belirli gıda ürünleri için izin verilen maksimum aflatoksin değerleri (TGK,2011)

Gıda	Maksimum Limit (µg/kg)		
	B1	B1+B2+G1+G2	M1
-Yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) -Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan yerfıstığı ve diğer yağlı tohumlar hariç	8	15	-
-Badem, antep fıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	12	15	-

Tablo 2.11.1.'in devamı

-Fındık ve Brezilya fıncığı (doğrudan insan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan) -Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	8	15	-
Sert kabuklu meyveler (doğrudan insan tüketime sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	8	15	-
-Yer fıstığı, diğer yağlı tohumlar ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketime sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) -Rafine edilecek bitkisel ham yağ ve rafine bitkisel yağ hariç	5	10	-
-Badem, antepfıstığı ve kayısı çekirdeği (doğrudan insan tüketime sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8	10	-
-Fındık ve Brezilya fıncığı (doğrudan insan tüketime sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan) -Rafine bitkisel yağ üretiminde kullanılan fındık hariç	5	10	-
-Sert kabuklu meyveler ve bunların işlenmiş ürünleri (doğrudan insan tüketime sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	5	10	-
-Kurutulmuş meyveler (doğrudan insan tüketime sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan)	8	10	-
Tahıllar bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri	2	4	-

Tablo 2.11.1.'in devamı

Mısır ve pirinç (doğrudan insan tüketimine sunulmadan eya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan)	5	10	-
Çiğ süt, ısıtılmış süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	-	-	0.050
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0.10	-	-
Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	-	-	0.025
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0.10	-	0.025

Özellikle süt ve süt ürünlerinde AFM1'in varlığının bu ürünleri en çok tüketen grup olan yetişkinler ve özellikle çocuklar için önemlidir. Bebek ve çocuklar yetişkinlere göre mikotoksinlerin olumsuz etkilerine daha duyarlıdır (Iqbal ve ark., 2015). Bu nedenle yasal düzenlemelere göre belirlenen, sütlerde maksimum AFM1 miktarı, 50 ng/L (ng/kg) (0.050 µg/kg) olmalıdır (TGK, 2011; IARC, 2017; Codex Alimentarius, 2015).

Yüksek miktarlarda aflatoksin içeren besinlerin uzun süre tüketimi halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği gibi aynı zamanda ihracatı da olumsuz yönde etkileyebilmekte ve ülkede ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Bu nedenle aflatoksinlerin gelişiminin üretim aşamasından tüketimine kadar izlenebilirliği büyük önem taşımaktadır (Martínez-Miranda ve ark., 2015; Ismaiel ve ark., 2020).

2.12. Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Aflatoksinlerle kontamine olmuş besin ve yemler, insan ve hayvan sağlığı açısından ciddi sonuçlara neden olabilmektedir. *Aspergillus* türleri tarafından üretilen aflatoksinler, akut ve kronik hastalıklara özellikle kansere neden olabilmektedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), doğal olarak oluşan aflatoksinleri, DNA hasarına, gen mutasyonuna, kromozom anomalilerine ve hücre

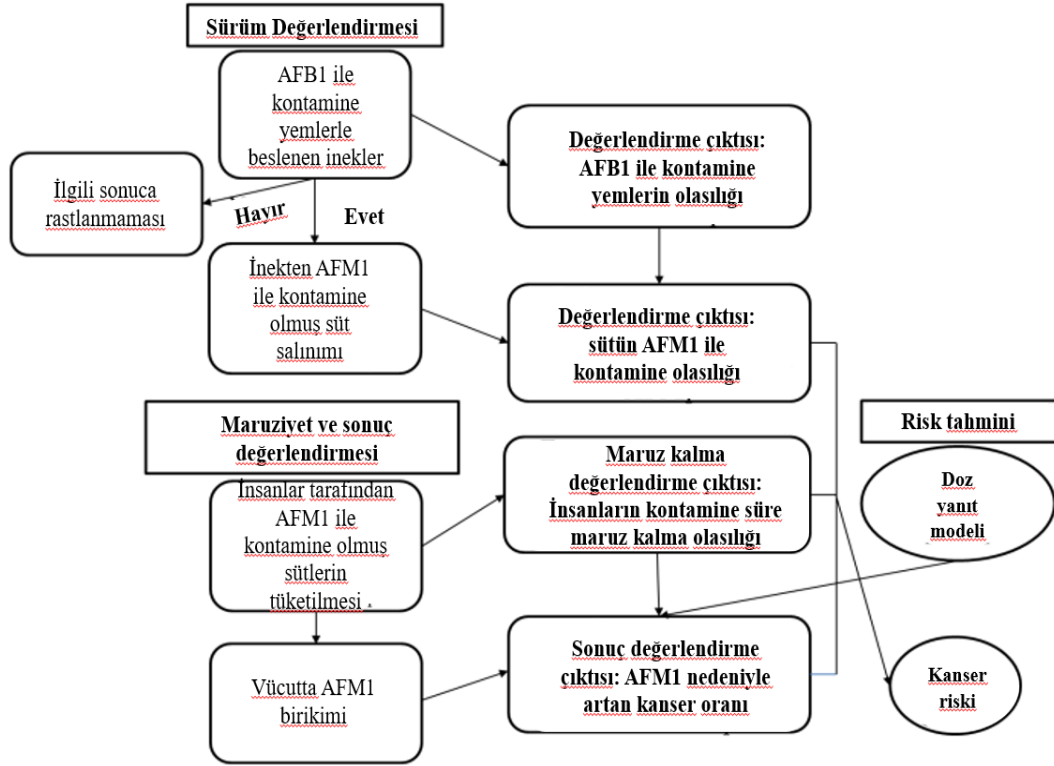
transformasyonuna neden olan, I. sınıf insan kanserojeni “sınıf 1 karsinojenler” olarak sınıflandırmaktadır. İncelenen hayvan türlerinin çoğunda ve insanlarda karaciğer kanserine neden oldukları doğrulanmıştır (IARC, 2012; Wild ve ark. 2012). Karaciğer kanseri, dünya çapında kansere bağlı ölümlerde dördüncü sırada yer almaktadır ve erkeklerde kadınlara göre çok daha yaygın görülmektedir. Standart insidans oranı incelendiğinde, erkeklerde 100.000'de 15.3, kadınlarda ise 100.000'de 5.4 olarak bildirilmiştir (Amuzie ve ark. 2016).

Gelişmekte olan ülkelerde, besinlerin aflatoksinle kontamine olma riskinin daha fazla olması ve kontamine olmuş besinlerin tüketilmesine bağlı olarak, dünya genelinde aflatoksinden etkilenen insan sayısının 5 milyardan fazla olduğu ve 4 milyardan fazla insanın ise aflatoksine bağlı hepatoselüller karsinom gelişimine neden olduğu düşünülmektedir (Bbosa ve ark. 2013). Hepatoselüller karsinom (HCC), dünya çapında en yaygın birincil karaciğer kanseridir. HCC için risk faktörleri arasında hepatit B virüsü (HBV) enfeksiyonu, hepatit C virüsü (HCV) enfeksiyonu, aflatoksikoz, alkolizm, sigara ve kalıtsal durumlar yer almaktadır (Mutuma ve ark. 2011). Hepatit virüsü ve aflatoksine maruz kalma ile eşzamanlı enfeksiyonların hastalığa yakalanma riskini artırdığı Doğu ve Güneydoğu Asya ve Afrika'da HCC oranları özellikle yüksek görülmektedir. Her yıl, dünya çapında yeni HCC vakalarının % 14 ve % 19'unun aflatoksin maruziyetine bağlı geliştiği tahmin edilmektedir (Liu ve ark. 2012).

1974 yılında Batı Hindistan'da aflatoksine maruz kalmış 397 kişiden 108'inin aflatoksin zehirlenmesi sonucunda hayatını kaybettiği bildirilmiştir (Yu, 2012). 2004 yılında ise Kenya'da günlük beslenmesinde aflatoksinle kontamine olmuş mısır tüketen 317 kişinin 125'inin buna bağlı olarak hayatını kaybettiği bildirilmiştir (Lewis ve ark. 2005). Bireylerin düşük veya orta düzeyde afkatoksine uzun süre maruz kalması sonucunda, kişide kronik aflatoksikozis görülebilmektedir. Aflatoksin zehirlenmesine bağlı görülen ilk sepmtom kilo kaybı ve anoreksiyadır. Bu nedenle aflatoksin, özellikle gelişmemiş veya fakir ülkelerde yaşayan çocukların birçoğunda kwashiorkor ve marasmusla ilişkilendirilmiştir (Mandalı ve Ayaz 2017). Yapılan çalışmalar sonucunda aflatoksinin, fetüsün gelişimini olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca anne sütü aracılığı ile anneden bebeğe de aflatoksin geçişi olabilmektedir. Yapılan bir çalışmada, maternal ve kordon kan örnekleri incelenmiş

ve aflatoksinin insanlarda transplesantal geçişinin olduğu tespit edilmiştir (Bbosa ve ark. 2013; Mandalı ve Ayaz 2017; Consolandi ve ark. 2012).

Aflatoksinlere maruz kalan çocuklarda ve yetişkinlerde HCC riskini ölçmek için bir risk değerlendirmesi yapılması gerekmektedir. Risk değerlendirmesi, bir tehlikenin olasılığının ve etkisinin nitel veya nicel olarak değerlendirilmesidir (Vose, 2008). Risk değerlendirmesi genellikle Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü'ne (OIE) veya Codex Alimentarius Komisyonu çerçevesine dayanmaktadır. Risk değerlendirmesi, besin kaynaklarındaki mikotoksinler için yasal seviyelerin belirlenmesi veya kılavuz maksimum seviyelerin belirlenmesi gibi risk yönetimi süreçlerini üstlenmede besin düzenleyicilerine ve bilim insanlarına rehberlik etmelidir (Şekil 5) (Sirma ve ark. 2019; Codex Alimentarius Comission, 199; Knight-Jones ve ark. 2010).



Şekil 5. AFM1 kontamine sütün tüketimini takiben insanlar için karaciğer kanseri riskinin değerlendirilmesi (Sirma ve ark. 2019)

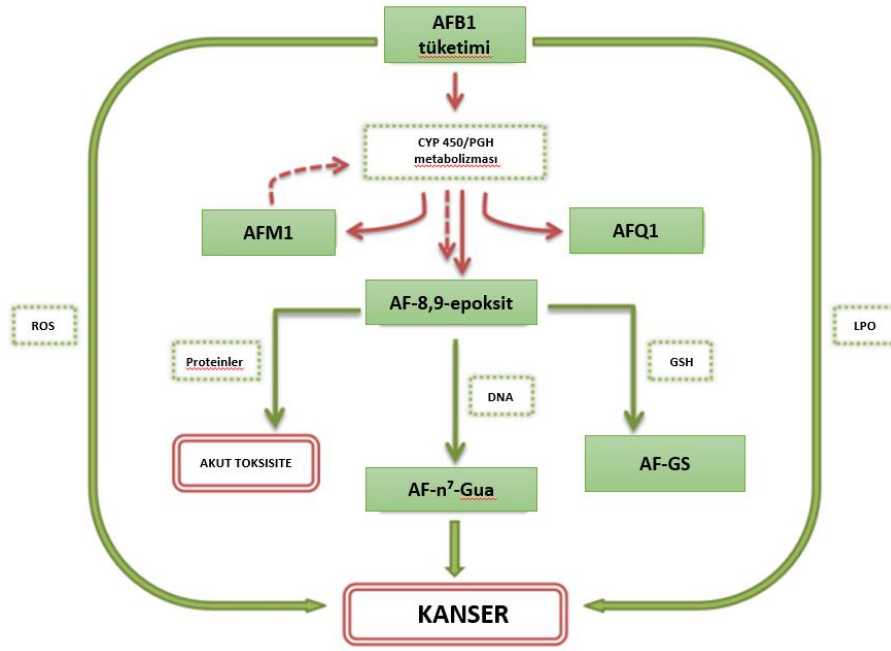
2.13. Aflatoksinler ve Toksikite

Aflatoksinler hem akut hem de kronik olarak toksik olup, yüksek dozlarda akut, sub-letal dozlarda ise kronik toksisite göstermektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda, aflatoksinlerin düşük dozlarda sürekli alımları, hayvan deneylerinde karsinogenik etki ile sonuçlanmıştır. AFB1 toksisite ve bulunma açısından değerlendirildiğinde mikotoksinlerin en toksik alt türüdür. Bu nedenle AFB1'in metaboliti olan AFM1'e ilgili daha da artmaktadır (Scaglioni ve ark. 2014). Bununla birlikte, AFM1, AFB1'den daha az genotoksik ve mutajeniktir. Aflatoksinlerin toksisitesi ile ilgili bilimsel veriler AFB1 ve AFM1 insan sağlığı için potansiyel risk olarak kabul edilmiş olup, IARC - Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı tarafından AFB1 "Grup 1 - insanlarda kanser yapıcı", AFM1 ise "Grup 2 - insanlarda olası kanser yapıcı" olarak sınıflandırılmaktadır (IARC, 2002; Scaglioni ve ark. 2014). Ancak daha sonra yapılan yeni bir sınıflandırma ile AFM1 en güçlü karsinogenleri içeren Grup 1 içerisinde yeniden değerlendirilmiştir (IARC, 2002). AFB1 en güçlü olarak bilenen karaciğer karsinogenlerinden biridir. İn vitro koşullarda AFM1, insan karaciğer hücrelerinde sitotoksik olduğu saptanmış ve farklı canlılardaki akut toksisitesi AFB1'e benzer olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte gen mutasyonuna, kromozom anomalilerine, hücre dönüşümüne ve DNA hasarına yol açabilmektedir (Prandini ve ark. 2009). Ayrıca AFB1 gibi AFM1'de kalıtsal p53 geni üzerinde mutajenik etki gösterebilmektedir. AFM1, AFB1'in yaklaşık %10'u kadar karsinogenik ve mutajenik etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. AFM1'in DNA-reaktif epoksite metabolize olma yeteneğinin sınırlı olmasından dolayı AFB1'e göre daha az DNA hasarı oluşturduğu düşünülmektedir (Iqbal ve ark., 2015; Prandini ve ark. 2009).

Aflatoksinlerin toksik etkilerini ortaya koyduğu mekanizmayı anlamak için, nasıl metabolize edildiklerini anlamak önemlidir. Aflatoksinler 1994 yılında Eaton ve Gallagher tarafından araştırılmıştır (Eaton ve Gallagher, 1994). Şekil 6'da, AFB1 ve AFM1 toksisitesi sonucunda oluşan mekanizma gösterilmektedir (Marchese ve ark. 2018).

AFB1, CYP450 süper ailesine ait mikrozomal karışık fonksiyonlu oksidaz (MFO) enzimlerinin etkisiyle karaciğerde metabolize edilmektedir. Bu oksidazların

etkisiyle, AFB1, iki stereoizomer, ekzo ve endo olarak var olan reaktif 8,9-epokside dönüştürülürler. Bunlardan ilki, AFB1 genotoksik özelliklerinden sorumlu toksik türler olarak bilinmektedir. Ekzo-8,9-epoksit, DNA'ya karşı yüksek bir bağlanma afinitesine sahiptir, 8,9-dihidro-8 (N7-guanil) -9-hidroksi-AFB1 (AFB1-N7-Gua) eklentisini oluşturur ve böylece DNA mutasyonuna yol açmaktadır (Verma, 2004). Bu epoksit formu diğer yollarda da rol oynamaktadır: (i) Glutasyon-S-Transferaz (GST) ile katalize edilen glutasyon (GSH) ile konjugasyon ve AFB marcapurat olarak sonradan boşaltım; GHS'nin tükenmesi oksidatif hasara neden olan yüksek seviyelerde reaktif oksijen türlerine (ROS) yol açması, bu yol AFB1'in kanserojen olarak detoksifikasyonu için hayati önem taşımaktadır (Wild veTurner, 2002). (ii) AFB1-8,9-dihidroksidiolde, dialdehit formuna da dönüştürülebilen enzimatik ve enzimatik olmayan dönüşüm; aflatoksin dialdehit, aflatoksin aldehit redüktazın (AFAR) etkisiyle idrar yoluyla dialkol olarak atılabilir veya albümin gibi proteinleri bağlayabilir (Bbosa ve ark. 2013). (iii) proteinler veya RNA gibi diğer makromoleküllere bağlanarak normal hücrel fonksiyonların düzensizliğine ve proteinlerin, DNA ve RNA sentezinin inhibisyonuna neden olmaktadır. AFB1'in mikrozomal biyotransformasyonu, toksinin hidroksilasyonunu da içermektedir (Verma, 2004). Böylece polar ve daha az toksik metabolitlerin, özellikle AFM1 ve Aflatoksin Q1'in (AFQ1) oluşumuna yol açmaktadır. Farklı çalışmalar, kanserojen veya detoksifiye edici metabolitlerin oluşumundan sorumlu CYP450 enzimlerinin rolünü değerlendirmeye çalışmıştır. CYP1A2 ve CYP3A4, bu ailenin en aktif izoenzimleri olarak gösterilmiştir ve AFB1'i aktive etme yeteneğine sahiptirler. Ayrıca, CYP3A4, AFB1-ekso-8,9-epoksit ve az miktarda AFQ1 oluşumundan sorumluyken, CYP1A2 hem ekso- hem de endo-8,9-epoksite ve hidroksile AFM1'e yol açmaktadır. Alt tabaka olarak AFB1'e sahip olmakla sonuçlanan diğer iki izoenzim, küçük ölçüde de olsa, insan fetal karaciğeri ve CYP3A5'te eksprese edilen CYP3A7'dir (Wild veTurner, 2002; Marchese ve ark. 2018).



Şekil 6. AFB1 ve AFM1 toksisitesi sonucunda oluşan mekanizma (Marchese ve ark. 2018'den uyarlanmıştır)

Hayvanların, aflatoksinlerle kontamine olmuş yemleri tüketmesi sonucunda, teratojenik, fetusta sakatlıklar ve embriyonun vücut tarafından emilmesi gibi durumlar görülebilmektedir (Scaglioni ve ark. 2014). Yapılan bir araştırmada, bir çiftlikte bulunan emziren süt sığırlarına 120mg/kg aflatoksin içeren bir diyetle beslendiklerinde üreme etkinliklerinin azaldığını ve bu sığırların aflatoksin içermeyen kontamine yemle beslendiğinde süt üretimlerinin %25 oranında arttığı bildirilmiştir (Guthrie ve Bedell, 1979). Memelilerde normal olarak görülen akut aflatoksikoz semptomları arasında uyuşukluk, iştahsızlık, pürüzlü ve/veya soluk tüy, ataksi ve genişlemiş yağlı karaciğer yer almaktadır. Bununla birlikte, kronik aflatoksin maruziyetinin semptomları tipik olarak sarılık, azalan beslenme verimliliği, azalan süt üretimi ve iştahsızlık olarak saptanmıştır (Iqbal ve ark., 2015).

Araştırmalar, süt ve süt ürünlerinde AFM1 varlığının bir sağlık sorunu olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni birçok ülkede her yaş grubunun bu ürünleri günlük diyetlerinde düzenli olarak tüketmesinden kaynaklanmaktadır (Fallah ve ark. 2009). DSÖ potansiyel riski azaltmak için süt ve süt ürünlerindeki AFM1 düzeylerinin minimuma indirilmesini önermektedir. Genç hayvanların AFB1 ve AFM1'e

yetişkinlerden daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Bu nedenle insan beslenmesinde de süt ve süt ürünlerinin yüksek miktarlarda tüketilmesi, düşük vücut ağırlıkları ve aflatoksinlere yüksek hassasiyetleri göz önünde bulundurulduğunda, çocuk sağlığı açısından büyük bir endişe söz konusu olmaktadır. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda, AFM1 varlığı bir risk olarak değerlendirilmeli, zayıf ekonomik koşullar veya bilgi eksikliği gibi tarımsal sistemlerin yetersizliği, çevresel ve iklimsel koşulların öngörülememesi gibi nedenlerin kesinlikle ihmal edilmemesi gerekmektedir (Scaglioni ve ark. 2014; Prandini ve ark. 2009).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Çalışma Yeri ve Seçimi

Bu çalışmaya Kuzey Kıbrıs'ta bulunan tüm süt üretim yerleri ve çiftlikler dahil edilmiştir. Süt örnekleri, Eylül 2018 – Ağustos 2020 tarihleri arasında Lefkoşa, Girne, Gazimağusa, İskele, Güzelyurt ve Lefke olmak üzere tüm ilçelerde bulunan süt çiftliklerinden dört mevsim boyunca toplanmıştır. 2020 yılında toplanan tüm örnekler tez sahibi "Cangül Tuncay" tarafından ölçülmüştür (EK-4). Analiz başlangıcında bu konuda uzman gıda mühendisleri eşlik etmiştir. Retrospektif tarama olarak 2018-2019 yılı sonuçları ise, aynı koşullarda gıda mühendisi tarafından ölçülmüş olup, tez sahibi tarafından verilerin analizi yapılmıştır.

Örnekler, ülkenin başkenti olan Lefkoşa'da bulunan Süt Endüstrisi Kurumu'nun (SÜTEK) laboratuvarında analiz edilmiştir. Bu çalışma SÜTEK işletmesinden toplanan çiğ süt numuneleri ile yürütülen bir çalışmadır. Çalışmaya evrenin tamamı dahil edilmiştir. SÜTEK tarafından toplanan tüm çiğ süt numuneleri araştırmanın evreni olarak kabul edilmiştir. SÜTEK, ülkemizde üretilen sütlerin tek bir çatı altında toplandığı tek kurumdur. Ülke genelinde üretilen tüm sütler SÜTEK denetiminden geçip, satışa sunulabilmektedir. Tüm numune örnekleri için süt üreticilerine ait bilgileri içeren listeler SÜTEK ve Tarım Dairesi'nden alınmıştır.

3.2. Çalışma için Alınan Gerekli İzinler

Bu çalışmada, çiğ sütlerdeki aflatoksin analizlerinin uygulanabilmesi Süt Endüstri Kurumu'ndan gerekli izinler alınmıştır (EK-2). Yakın Doğu Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından çalışma etik açıdan uygun bulunmuştur (EK-3).

3.3. Örneklem

Çalışmaya 2018-2020 yılları arasında dahil edilen toplam 1026 çiğ süt numunesinden; 477 numune Lefkoşa, 83 numune Girne, 357 numune Gazimağusa, 63 numune Güzelyurt, 38 numune İskele, 8 numune ise Lefke bölgesinden toplanmıştır. Güzelyurt, İskele ve Lefke bölgelerinde az numune toplanmasının sebebi bu bölgelerdeki süt üretiminin az olmasından kaynaklanmaktadır. Tüm örnekler doğrudan

bu ilçelere gidilerek toplanmıştır. Süt numuneleri (1L) her üreticiden ayrı ayrı steril numune kaplarına alınarak soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek analiz edilmiştir.

Çalışmada; çiğ sütlerde AFM1 varlığının tespiti için HPLC yöntemi kullanılmıştır.

3.4. HPLC Yöntemi

Besinlerdeki aflatoksin varlığının belirlenmesi için kullanılan yöntemlerden biri olan HPLC, yüksek hassasiyeti ve düşük maliyetleri nedeniyle en yaygın kullanılan ve en çok tercih edilen yöntemdir (Wen ve ark., 2013; Martínez-Miranda ve ark.,2015). Yaygın kullanılma sebepleri duyarlılığı, kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen bileşiklerin ayrılmasına uygunluğudur. En önemlisi ise sanayinin birçok bilim dalının ve toplumun birinci derecede ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uygulanabilirliğidir (Kupiec, 2004).

HPLC bir sıvıda çözülmüş bileşenlerin, bir kolon içerisinde bulunan genellikle katı bir destek üzerindeki sabit faz ile değişik etkileşimlere girmesi, kolon içinde değişik hızlarla hareket etmeleri sonucu, farklı zamanlarda bileşenlerin kolonu terk ederek birbirlerinden ayrılması temeline dayanır (Choocghuay ve ark., 2018).

Genellikle, iki aşamayı içerektedir; birinci aşama, ayırma aşamasına dayanan ekstraksiyon aşaması ve ikinci aşama ise, farklı sorbentlerle magnezyum sülfat kombinasyonu kullanılarak, dağıtıcı-katı faz ekstraksiyon aşamasıdır (Choocghuay ve ark., 2018; Arroyo-Manzanares ve ark., 2014).



Şekil 7. HPLC cihazı

3.4.1. Kullanılan Materyaller

HPLC analizi için laboratuvarında; 250 ml beher, mezür (50ml, 100 ml, 1L), ağız genişliği 100mm olan huni, 0.45 um porlu naylon şiringa ucu filtre, immunoaffinite kolon, 24 cm çapında Whatmann No:4 filtre kağıdı, 2ml'lik Amber Vial kullanılan materyeller arasındadır.

3.4.2. Kullanılan Çözücü Kimyasallar ve Standart Maddeler

Aflatoksin tayini için, aflatoksin M1 standart solusyonu, ultra saf su (HPLC grade water), metanol, asetonitril, %5 sodyumhipoklorid ve %5 aseton maddeleri kullanılmıştır.

3.4.3. HPLC Yöntemi Aşamalarında Kullanılan Cihazlar

Aflatoksin analizi aşamasında, HPLC Agilent Technologies 1200 Series, FL dedektor, Reversed-phase LC column-4.6mmx25cm, Isıtıcı-karıştırıcı, Come Parmer, Otomatik pipet (10-100µl), 100-100µl, 1-5ml), Ultrasonik banyo cihazları kullanılmıştır.

3.4.4. HPLC Uygulama Şartları

Aflatoksin tayini için, HPLC yönteminde kolon tipi C18, Snytical 4.6x250mm-5Mieron'dur. Dedektor; FLdedektör Ex:360nm, Em:430nm'dir. Uygulanan mobil faz ise 100:60:40 oranlarında sırası ile su, asetonitril, metanol içermelidir. Mobil faz hazırlandıktan sonra 15 dakika ultrasonik bonyoda degaz edilir. Mobil faz akış hızı 1ml/dk olmalıdır.

Kullanılacak kolon oda sıcaklığında olmalıdır. Tray sıcaklığı 25⁰C olmalıdır. Enjeksiyon hacmi 100µl, enjeksiyon süresi ise 10dk'dır.

3.4.5. Aflatoksin M1 Standartlarının Hazırlanması

AFM1 standart solusyonundan gerekli seyreltmelerle kalibrasyon standartları hazırlanır ve enjeksiyonları yapılarak kalibrasyon eğrisi çizilir. Temin edilen AFM1 standardının ana stok konsantrasyonlarına göre gerekli hesaplamalar yapılarak seyrelmeler düzenlenir (Biopharm Rhone Ltd. Aflatoksin M1 Standartdı kullanılır). Kullanılan malzemeler 30 dk %5 sodyumhipoklorit ve 30dk %5 asetonida bekletildikten sonra iyice yıkanıp durulanmalıdır.

3.4.6. Süt Numunesi Ekstraksiyonu

100-150ml kadar süt örneği 250ml'lik behere aktarılarak ısıtıcı üzerinde 35-37C⁰'a kadar ısıtılır. Daha sonra Whatman No:4 filtre kağıdından süzülür. Eğer süt çok yağlı ise 4000rpm 10 dakika santrifüjlenerek üstte toplanan ince yağ tabakası

ayrıldıktan sonra Whatman No:4 filtre kağıdından süzülür. Filtrattan 50 ml süt alınarak IAC'dan (İmmunoaffinite Kolon Kromatografisi) geçirilmeye hazır hale getirilir.

3.4.7. İmmunoaffinite Kolon Kromatografisi

Kullanılmadan önce, IAC oda sıcaklığında getirilmelidir. 50ml'lik filtratın hepsi, oda sıcaklığındaki IAC'dan kolandan geçirilir. Filtratın IAC'dan geçiş hızı yaşlaşık olarak 3ml/dk olmalıdır. Filtratın bitmesine yakın IAC'dan 20ml su geçirilerek kolon su ile yıkanır. Yıkama sonunda şiringa yardımı ile IAC'dan hava geçirilerek kolon kurutulur.

Daha sonra 12.5 ml Metanol:Asetonitril (20:30) karışımı IAC'dan geçirilerek toksinler temiz bir tüpe elue edilir. Ardından 1.25ml su IAC'dan geçirilerek tüpe ilave edilir ve toplam hacim 2.5ml yapılır. Toksinlerin bulunduğu karışımı 2ml'lik amber renkli vialerle aktararak HPLC'ye 100µl enjeksiyon yapılır. Kullanılan cam malzemeler 30dk %5 sodyumhipoklorit ve 30dk %5 asetonda bekletildikten sonra iyice yıkayıp durulanmalıdır.

3.4.8. HPLC Cihazının Standart İle Kalibrasyonu

Kalibrasyon eğrisi için hazırlanan AFM1 standartları kullanılmaktadır. Hazırlanan standartlardan HPLC'ye 100µl enjekte edilir ve alınan pik alanlarına karşılık gelen AFM1 konsantrasyonlarına göre bir kalibrasyon eğrisi çizilir. Kalibrasyon eğrisinin korelasyon katsayısı en az 0.999 olmalıdır. Her analiz öncesinde kalibrasyon eğrisi 0.1ng/100µl AFM1 standart enjeksiyonu ile kontrol edilir. Bu kontroller sırasında kabul edilemez sonuçlar elde edilirse yeni bir kalibrasyon eğrisi çizilmelidir.

3.4.9. Süt Numunesinin HPLC Cihazına Enjeksiyonu

İmmunoaffinite kolon kromatografisi hazırlanan örnekten 100µl enjeksiyon yapılır.

3.4.10. HPLC’de Aflatoksin M1 Hesaplanması ve Sonuç

Kalibrasyon eğrisi kullanılarak analiz edilen örnekteki Aflatoksin M1 değeri bulunur. Bu sonuçlar seyreltme faktörü olan 2’ye bölünerek örnekteki AFM1 miktarı ‘‘ppb’’ cinsinden hesaplanır.

3.5. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Araştırma sonucunda toplanan AFM1 konsantrasyonları, SPSS istatistik programı (IBM® SPSS © Statistics Version 26.0) kullanılarak analiz edilmiştir. Elde edilen nicel ve nitel veriler sayı ve yüzde olarak belirtilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum AFM1 konsantrasyonu olarak ifade edilmiştir. Çiğ sütlerde bulunan aflatoksin miktarının normal dağılım gösterip göstermediği ilgili değişkenler Kolmogorov-Smirnov testi uygulanmıştır. Bağımsız değişkenlere göre aflatoksin miktarlarının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ve Mann-Whitney U testleri ve farkın hangi gruplar arasında olduğuna bakmak içinse Post-Hoc testlerinden Tukey testi kullanılmıştır. Tüm tanımlayıcı istatistikler çalışma içerisinde tablo ve metinlerle gösterilmiştir. Çalışma için önemlilik düzeyi 0,05 olarak kabul edilmiştir.

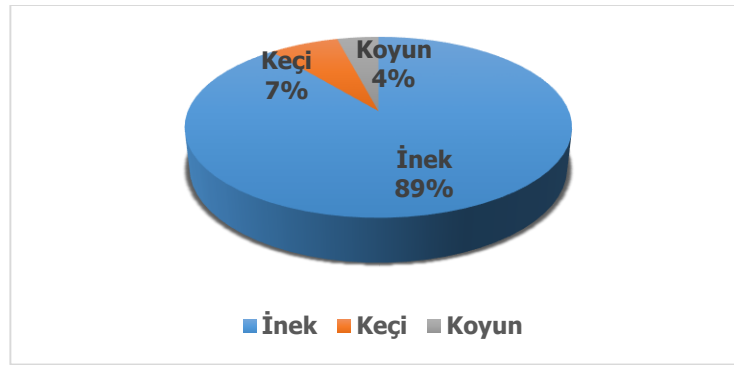
4. BULGULAR

4.1. 2020 Yılında Analiz Edilen Çiğ Süt Örneklerinin Genel Dağılımı

2020 yılında 8 ay boyunca (Ocak-Ağustos) toplam 318 çiğ süt örneği toplanmıştır. AFM1 düzeyleri çiğ inek, keçi ve koyun sütü örneklerinde ölçülmüştür. Araştırma kapsamına alınan 318 süt örneğinin süt türlerine göre dağılımı Tablo 4.1.1.'de gösterilmektedir. Analiz edilen sütlerin 283'ünü (% 89) inek, 22'sini (% 6,9) keçi ve 13'ünü (% 4,1) ise koyun sütü oluşturmaktadır. Süt örneklerinin çoğunluğunu inek sütü olduğu görülmektedir (Şekil 8).

Tablo 4.1.1. 2020 yılında AFM1 analizi yapılan çiğ süt türlerinin dağılımı

Süt Türü	Sayı (n)	%
İnek	283	89
Keçi	22	6,9
Koyun	13	4,1
Toplam	318	100

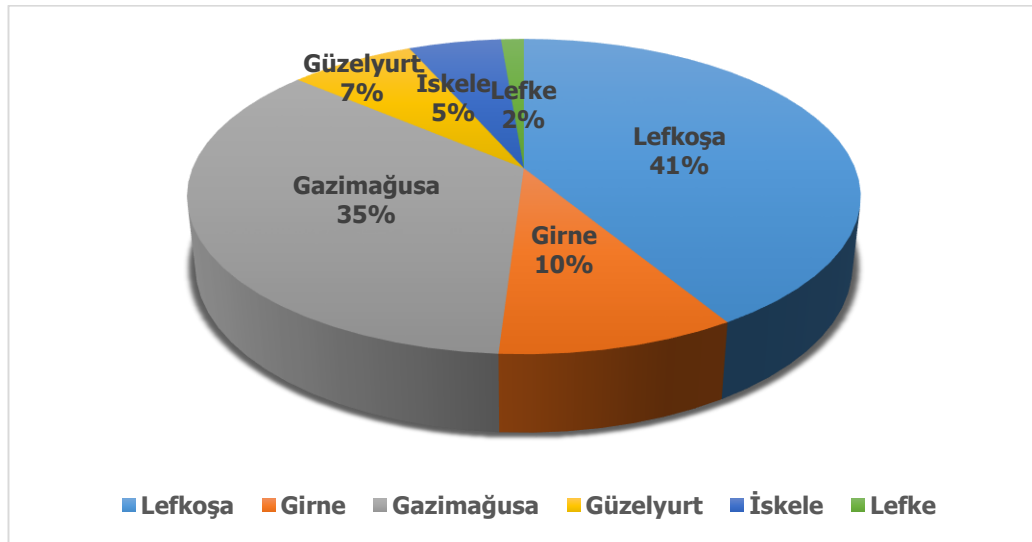


Şekil 8. 2020 yılında AFM1 analizi yapılan çiğ süt türlerinin dağılımı

Kuzey Kıbrıs genelinde toplanan çiğ süt örneklerinin bölgelere göre dağılımı Tablo 4.1.2.'de gösterilmektedir. Alınan süt örneklerinin %41,3'si Lefkoşa, %9,7'si Girne, %35,2'si Gazimağusa, %7,2'si Güzelyurt, %5,3'ü İskele ve %1,3'ü ise Lefke bölgesinden toplanmıştır. En fazla süt örneği toplanan bölgeler Lefkoşa ve Gazimağusa bölgesidir (Şekil 9).

Tablo 4.1.2. 2020 yılında AFM1 analizi yapılan çiğ süt örneklerinin bölgelere göre dağılımı

Bölge	Sayı (N)	%
Lefkoşa	131	41,3
Girne	31	9,7
Gazimağusa	112	35,2
Güzelyurt	23	7,2
İskele	17	5,3
Lefke	4	1,3
Toplam	318	100



Şekil 9. 2020 yılında AFM1 analizi yapılan çiğ süt örneklerinin bölgelere göre dağılımı

4.2. 2020 yılında Analiz Edilen Çiğ Süt Örneklerinin AFM1 Düzeylerine Göre Dağılımı

Araştırmada analiz edilen 318 çiğ süt örneklerine ait ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum AFM1 düzeyleri Tablo 4.2.1’de gösterilmektedir. 2020 yılında araştırmaya dahil edilen sütlerin AFM1 oranı ortalama $14,4 \pm 16,99$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek ise 96 ng/L olduğu görülmektedir.

Tablo 4.2.1. 2020 yılında analiz edilen çiğ süt örneklerinde AFM1 düzeylerinin ortalama, standart sapma, minimum, maksimum değerlerinin dağılımı

	N	$\bar{x} \pm S$ (ng/L)	Min-Max (ng/L)
Süt örnekleri			
AFM1 düzeyi (ng/L)	318	$14,4 \pm 16,99$	0-96

Tablo 4.2.2.’de Çiğ sütlerdeki AFM1 değerlerinin AB ve Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen limit düzeye göre dağılımı gösterilmektedir. Analiz edilen süt örneklerinin 13’ü (% 4,1) AB ve Türk Gıda Kodeksinin, süt ürünleri için belirlemiş olduğu maksimum limit olan >50 ng/L’in üzerinde AFM1 tespit edilirken, 305’inin (%95,9) AFM1 seviyesi yasal limitlerin altında saptanmıştır. Genel olarak, analiz edilen çiğ süt örneklerinde AFM1 düzeyi yasal sınırın altında olduğu görülmektedir.

Tablo 4.2.2. Sütlerdeki AFM1 değerlerinin limit düzeye göre dağılımı

Limit düzey (ng/l)	Sayı (N)	%
<50	305	95,9
>50	13	4,1
Toplam	318	100

Tablo 4.2.3.'te AFM1 düzeylerinin değer aralıkları gösterilmektedir. Süt rnekerinden yalnızca 13'ünün (%4,1) AFM1 düzeyi limit düzeyin (>50ng/L) zerinde saptanmıştır. 13'nde (%4,1) 40-50 ng/L AFM1 düzeyi sınırda olarak saptanmıştır. 32'sinde (%10,1) 30-40 ng/L arasında, 41'inde (%12,9) 20-30 ng/L arasında, 65'inde (20,4) 10-20 ng/L arasında ve 154' (48,4) <10 AFM1 düzeyi olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.2.3. AFM1 düzeylerinin değer aralıklarına göre dağılımı

AFM1 sınıflandırma (ng/L)	Sayı (N)	%
<10	154	48,4
10-20	65	20,4
20-30	41	12,9
30-40	32	10,1
40-50	13	4,1
>50	13	4,1
Toplam	318	100

Tablo 4.2.4.'de gösterildiği gibi, süt rnekerinin limit düzeyin üstünde (>50 ng/L) olan AFM1 düzeyi ortalama $59,9\pm 12,15$ ng/L, iken limit düzeyin altında (<50ng/l) olan AFM1 düzeyi ise ortalama $12,40\pm 14,10$ ng/L olarak kaydedilmiştir. Limit düzeyin üzerinde olan AFM1 düzeyi en düşük 50 ng/L iken, en yüksek AFM1 düzeyi ise 96 ng/L olarak saptanmıştır. Limit düzeyinde altında saptanan AFM1 düzeyleri incelendiğinde ise, en düşük AFM1 düzeyi 0ng/L, en yüksek ise 46 ng/L olarak saptanmıştır.

Tablo 4.2.4. Sütlerdeki AFM1 değerlerinin limit düzeye göre ortalamalarının dağılımı

AFM1 Sınıflandırma (ng/L)	N	$\bar{x} \pm S$ (ng/L)	Min-Max (ng/L)
>50	14	59,21±12,15	50-96
<50	304	12,40±14,10	0-46
Toplam	318	14,46±16,99	0-96

Tablo 4.2.5.'te gösterildiği gibi, süt örneklerinin limit düzeyin üstünde (>50 ng/L) olan AFM1 düzeyi ortalama 59,9±12,34 ng/L, en düşük AFM1 düzeyi 51 ng/L ve en yüksek 96 ng/L'dir. Limit düzeye yakın olan (40-50 ng/L) AFM1 düzeyi ortalama 35,0±2,70 ng/L, en düşük AFM1 düzeyi 41 ng/L ve en yüksek 50 ng/L'dir. 30-40 ng/L aralığında olan AFM1 düzeyi ortalama 35,0±2,70 ng/L, en düşük AFM1 düzeyi 31 ng/L ve en yüksek 40 ng/L'dir. 20-30 ng/L aralığında olan AFM1 düzeyi ortalama 25,1±3,09 ng/L, en düşük AFM1 düzeyi 21 ng/L ve en yüksek 30 ng/L'dir. 10-20 ng/L arasında olan AFM1 düzeyi ortalama 16,5±3,00 ng/L, en düşük AFM1 düzeyi 10 ng/L ve en yüksek 20 ng /L ve <10 olan AFM1 düzeyi ise ortalama 0,11±0,99 ng /L, en düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek ise 9 ng/L olarak saptanmıştır. Analiz edilen süt örneklerinde <5 ng/L'nin altında saptanan değerler 0 olarak kabul edilmektedir.

Tablo 4.2.5. AFM1 değer aralıklarının ortalamalarına göre dağılımı

AFM1 Sınıflandırma (ng/L)	N	$\bar{x} \pm S$ (ng/L)	Min-Max (ng/L)
<10	154	0,11±0,99	0-9
10-20	65	16,5±2,00	10-20
20-30	41	25,1±3,09	21-30
30-40	32	35,0±2,70	31-40
40-50	13	44,2±2,91	41-50
>50	13	59,9±12,34	51-96
Toplam	318	14,4±16,99	0-96

AFM1 düzeyleri, çiğ inek, keçi ve koyun sütü örneklerinde ölçülmüştür. Farklı süt türlerine göre AFM1 düzeylerinin dağılımı Tablo 4.2.6.'da gösterilmiştir. Analiz edilen çiğ süt örneklerinin AFM1 düzeyleri ortalama $14,4 \pm 16,99$ ng/L olarak saptanmıştır. Süt türlerine göre AFM1 düzeyleri ise sırasıyla; inek sütü ortalama $13,7 \pm 16,75$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek ise 96 ng/L olarak saptanmıştır. Çiğ keçi sütü ortalama $23,9 \pm 17,77$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek ise 57 ng/L olarak saptanmıştır. Çiğ koyun sütlerinin ise AFM1 düzeyi ortalama $14,0 \pm 17,33$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek ise 55 ng/L'dir. Keçi sütünün AFM1 oranının inek ve koyun sütüne göre daha fazla olduğu görülmektedir.

Çalışma süresince analiz edilen süt örneklerinin %6,9'u, izin verilen AB limit sınırının (>50 ng/L) üzerinde olduğu saptanmıştır. Süt türlerine göre limit sınırı aşma oranları ise inek sütü %3,9, keçi sütü %9,1 ve koyun sütü ise %7,7 olarak kaydedilmiştir. Keçi sütü örneklerinin AFM1 düzeyi, diğer süt türlerine göre yasal sınırı aşma oranının daha yüksek olduğu görülmektedir. Genel olarak incelendiğinde tüm süt türlerinin büyük bir oranının limit sınırın altında (<50 ng/L) olduğu görülmektedir. Süt türleri arasında AFM1 görülme sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmaktadır ($P < 0,05$).

Tablo 4.2.6. Süt türlerine göre AFM1 değerlerinin dağılımı

Süt Türü	N	$\bar{x} \pm S$ (ng/L)	Min-Max (ng/L)	AB limit üstü %
İnek	283	$13,7 \pm 16,75^*$	0-96	3,9 (n:11)
Keçi	22	$23,9 \pm 17,77^*$	0-57	9,1 (n:2)
Koyun	13	$14,0 \pm 17,33^*$	0-55	7,7 (n:1)
Toplam	318	$14,4 \pm 16,99$	0-96	6,9 (14)

*Farklı çiğ süt türlerinin AFM1 seviyeleri arasında anlamlı farklılık vardır ($p=0,483$).

4.3. 2020 Yılında Analiz Edilen Süt Örneklerinin Aylara ve Bölgelere Göre

Dağılımı

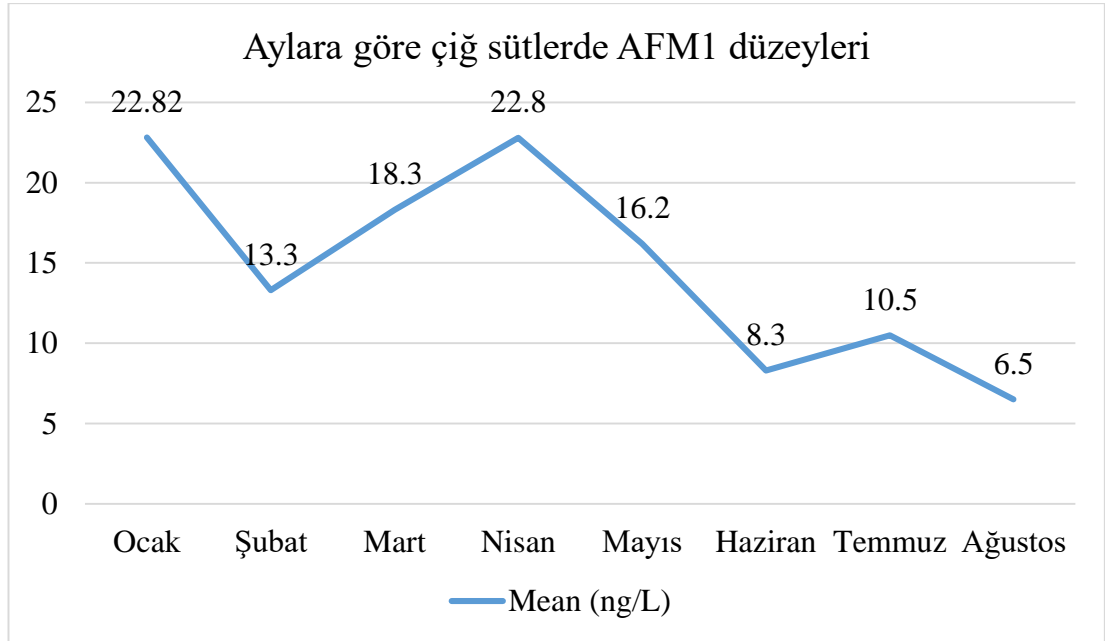
2020 yılında, çalışma kapsamında analiz edilen çiğ süt örneklerinin aylara göre AFM1 seviyeleri sırasıyla (Tablo 4.3.1.); Ocak ayında ortalama $22,82 \pm 3,63$ ng/L, Şubat ayında ortalama $13,3 \pm 17,60$ ng/L, Mart ayında ortalama $18,3 \pm 19,85$ ng/L, Nisan ayında ortalama $22,8 \pm 11,39$ ng/L, Mayıs ayında ortalama $16,2 \pm 10,65$ ng/L, Haziran ayında ortalama $8,3 \pm 8,92$ ng/L, Temmuz ayında ortalama $10,5 \pm 7,78$ ng/L ve Ağustos ayında ortalama $6,5 \pm 9,19$ ng/L olarak saptanmıştır. 8 ay boyunca analiz edilen çiğ süt örneklerinde en düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek ise 98 ng/L olarak saptanmıştır. AFM1 düzeylerinin Ocak ($22,82 \pm 3,63$ ng/L) ve Nisan ($22,8 \pm 11,39$ ng/L) aylarında en yüksek seviyeye ulaştığı görülmektedir. Yağışların azalması ve sıcak havanın etkisi ile birlikte yaz aylarında sütlerdeki AFM1 seviyelerinin azaldığı, özellikle kış mevsimlerinde ve mevsim geçişlerine bağlı olarak ise AFM1 seviyelerinin arttığı görülmektedir (Şekil 10).

Çalışma süresince analiz edilen süt örneklerinin AFM1 düzeyleri, Ocak ayında %10,5'i, Şubat ayında %4,7'si ve Mart ayında ise %6,8'inin yasal sınırın (>50 ng/L) üzerinde olduğu saptanmıştır. Nisan, Mayıs, Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında ise yasal sınırın üzerinde olan AFM1 düzeyi tespit edilmemiştir. Ocak ve Nisan ayları ile Haziran, Temmuz ve Ağustos ayları arasında AFM1 görülme sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmaktadır ($P < 0,05$). Bir üreticiden farklı aylarda da süt örneği toplanmasından dolayı aylara göre olan toplam süt örnekleme sayısı ile genel toplamdaki (Tablo 4.1.1. ve Tablo 4.2.6.) süt örneklemleri sayısı farklılık göstermektedir. Genel toplamdaki örnekleme bir üreticiden 8 ay boyunca toplanan sütlerin ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.3.1. Aylara göre AFM1 değerlerinin dağılımı

Ay	N	$\bar{x} \pm S$ (ng/L)	Min-Max (ng/L)	AB limit üstü %
Ocak	19	22,82±3,63*	0-83	10,5 (n:2)
Şubat	168	13,3±17,60	0-80	4,7 (n:7)
Mart	87	18,3±19,85	0-96	6,8 (n:5)
Nisan	11	22,8±11,39*	0-38	0
Mayıs	18	16,2±10,65	0-38	0
Haziran	10	8,3±8,92*	0-21	0
Temmuz	12	10,5±7,78*	0-17	0
Ağustos	16	6,5±9,19*	0-27	0

*Aylar arasında AFM1 görülme sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmaktadır (p=0.016).



Şekil 10. Aylara göre çiğ sütlerde AFM1 düzeyleri

Tablo 4.3.2.'de bölgelere göre AFM1 değerlerinin dağılımı gösterilmektedir. Bölgelere göre AFM1 düzeyleri ise sırasıyla; Lefke ortalama $38,7\pm 4,64$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi 33 ng/L, en yüksek 43 ng/L olarak saptanmıştır. İskele ortalama $16,1\pm 16,34$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek 51 ng/L olarak saptanmıştır. Gazimağusa ortalama $16,1\pm 16,31$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek 61 ng/L olarak saptanmıştır. Lefkoşa ortalama $13,4\pm 18,06$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi ortalama 0ng/L ve en yüksek 96ng/L olarak saptanmıştır. Girne ortalama $13,0\pm 15,86$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek 57 ng/L olarak saptanmıştır. Güzelyurt ise ortalama $9,0\pm 13,59$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek ise 51 ng/L olarak saptanmıştır. En yüksek AFM1 düzeyleri Lefke bölgesinde iken, Güzelyurt en düşük AFM1 düzeyine sahip olan bölge olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.3.2. 2020 yılında analiz edilen çiğ süt örneklerinin bölgelere göre AFM1 değerlerinin dağılımı

Bölge	N	$\bar{x} \pm S$ (ng/L)	Min-Max (ng/L)
Lefkoşa	131	$13,4\pm 18,06$	0-96
Girne	31	$13,0\pm 15,86$	0-57
Gazimağusa	112	$16,1\pm 16,31$	0-61
Güzelyurt	23	$9,0\pm 13,59$	0-51
İskele	17	$16,1\pm 16,34$	0-51
Lefke	4	$38,7\pm 4,64$	33-43
Toplam	318	$14,4\pm 16,99$	0-96

Tablo 4.3.3.'de tüm aylarda analiz edilen AFM1 değerlerinin bölgelere göre dağılımı gösterilmektedir. Lefkoşa bölgesinde aylara göre AFM1 düzeyi dağılımı sırasıyla; Ocak ayında ortalama $33,6\pm 13,01$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 21ng/L, en yüksek 47ng/L'dir. Şubat ayında ortalama $12,6\pm 18,15$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 80ng/L'dir. Mart ayında ortalama $15,8\pm 21,59$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 96 ng/L'dir. Nisan ayında ortalama $11\pm 15,55$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 22 ng/L'dir. Mayıs ayında ortalama $21,2\pm 16,35$

ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 38 ng/L'dir. Haziran ayında Lefkoşa bölgesinde tek bir süt örneği analiz edilmesinden dolayı AFM1 düzeyi olarak 17 ng/L olarak saptanmıştır. Temmuz ayında ortalama $11,1 \pm 7,64$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 17 ng/L'dir. Ağustos ayında ise ortalama 0 ± 0 ng/L olarak saptanmıştır. Lefkoşa bölgesinde en yüksek AFM1 düzeyi Ocak ayında, en düşük ise Ağustos ayında saptanmıştır. Şubat (80 ng/L) ve Mart (96 ng/L) aylarında AFM1 düzeyleri maksimum seviyeleri görmesine rağmen ortalama düşük ($12,6 \pm 18,15$ ng/L ve $15,8 \pm 21,59$ ng/L) olarak kaydedilmiştir.

Girne bölgesinde aylara göre AFM1 düzeyi dağılımı sırasıyla; Ocak ayında ortalama $7,7 \pm 12,73$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 35ng/L'dir. Şubat ayında ortalama $13,3 \pm 18,78$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 57 ng/L'dir. Mart ayında ortalama $20 \pm 17,46$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 41 ng/L'dir. Girne bölgesinde Nisan ve Temmuz ayında herhangi bir süt analizi yapılmamıştır. Mayıs ayında ortalama $17,0 \pm 14,79$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 27 ng/L'dir. Haziran ayında ortalama $7,5 \pm 10,60$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 15 ng/L'dir. Ağustos ayında ise Girne bölgesinde tek bir süt örneği analiz edilmesinden dolayı AFM1 düzeyi olarak 0 ng/L olarak saptanmıştır. Girne bölgesinde en yüksek AFM1 düzeyi Mart ayında, en düşük ise Haziran ayında saptanmıştır.

Gazimağusa bölgesinde aylara göre AFM1 düzeyi dağılımı sırasıyla; Ocak ayında ortalama $34,6 \pm 32,91$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 83ng/L'dir. Şubat ayında ortalama $15,2 \pm 18,04$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 61 ng/L'dir. Mart ayında ortalama $20,9 \pm 18,04$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 57 ng/L'dir. Girne bölgesinde Nisan ayında ortalama $27,1 \pm 8,54$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 17ng/L, en yüksek 38ng/L'dir. Mayıs ayında ortalama $14,8 \pm 6,40$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0ng/L, en yüksek 21 ng/L'dir. Haziran ayında ortalama $7,2 \pm 9,30$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 21 ng/L'dir. Temmuz ayında ortalama $9,6 \pm 9,79$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 17 ng/L'dir. Ağustos ayında ise AFM1 düzeyi

ortalama $8,8\pm 9,96$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek ise 27 ng/L'dir. Gazimağusa bölgesinde en yüksek AFM1 düzeyi Ocak ayında, en düşük ise Haziran ayında saptanmıştır. Ocak (83 ng/L) ayında AFM1 düzeyleri maksimum seviyeleri gördüğü tespit edilmiştir.

Güzelyurt bölgesinde sadece Şubat, Mart ve Nisan aylarında süt örnekleri analiz edilmiştir. Şubat ayında AFM1 düzeyi ortalama $9,5\pm 14,21$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek 51 ng/L'dir. Mart ayında yalnızca tek bir süt örneği analiz edilmiştir ve ortalama AFM1 düzeyi 0 ng/L olarak saptanmıştır. Mayıs ayında ise ortalama $8,5\pm 12,02$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L ve en yüksek ise 17 ng/L'dir.

İskele bölgesinde aylara göre AFM1 düzeyi dağılımı sırasıyla; Ocak ayında ortalama $45,0\pm 4,24$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 42 ng/L, en yüksek 48 ng/L'dir. Şubat ayında ortalama $6,7\pm 10,48$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 26 ng/L'dir. Mart ayında ise ortalama $25,1\pm 18,13$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek 51 ng/L'dir. Nisan, Mayıs ve Ağustos aylarında İskele bölgesinde tek bir süt örneği analiz edilmesinden dolayı sırasıyla AFM1 düzeyleri ortalama 12 ng/L, 21 ng/L ve 17 ng/L olarak saptanmıştır. Haziran ve Temmuz aylarında ise herhangi bir süt örneği analizi yapılmamıştır. İskele bölgesinde en yüksek AFM1 düzeyi Ocak ayında, en düşük ise Nisan ayında saptanmıştır.

Lefke bölgesinde ise sadece Şubat ayında süt örnekleri analiz edilmiş olup, AFM1 düzeyi ortalama $38,7\pm 4,64$ ng/L olarak saptanmıştır. En düşük AFM1 düzeyi 33 ng/L ve en yüksek ise 43 ng/L'dir.

Tablo 4.3.3. Tüm aylarda analiz edilen AFM1 değerlerinin bölgelere göre dağılımı

Bölge / Ay		Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos
Lefkoşa	N	3	75	45	2	4	1	7	4
	$\bar{x}\pm S$	33,6±13,01	12,6±18,15	15,8±21,59	11,0±15,55	21,2±16,35	17,0	11,1±7,64	0±0
	Min-Max	21-47	0-80	0-96	0-22	0-38	17-17	0-17	0-0
Girne	N	9	11	6	-	3	2	-	1
	$\bar{x}\pm S$	7,7±12,73	13,3±18,78	20,0±17,46	-	17,0±14,79	7,5±10,60	-	0
	Min-Max	0-35	0-57	0-41	-	0-27	0-15	-	0-0
Gazi magusa	N	5	49	29	8	8	7	5	10
	$\bar{x}\pm S$	34,6±32,91	15,2±18,04	20,9±18,04	27,1±8,54	14,8±6,40	7,2±9,30	9,6±9,79	8,8±9,96
	Min-Max	0-83	0-61	0-57	17-38	0-21	0-21	0-17	0-27
Güzel yurt	N	-	20	1	-	2	-	-	-
	$\bar{x}\pm S$	-	9,5±14,21	0	-	8,5±12,02	-	-	-
	Min-Max	-	0-51	0	-	0-17	-	-	-
İskele	N	2	9	6	1	1	-	-	1
	$\bar{x}\pm S$	45,0±4,24	6,7±10,48	25,1±18,13	12,0	21	-	-	17
	Min-Max	42-48	0-26	0-51	12	21	-	-	17
Lefke	N	-	4	-	-	-	-	-	-
	$\bar{x}\pm S$	-	38,7±4,64	-	-	-	-	-	-
	Min-Max	-	33-43	-	-	-	-	-	-
Toplam	N	19	168	87	11	18	10	12	16
	$\bar{x}\pm S$	22,8±23,63	13,3±17,60	18,3±19,8	22,8±11,39	16,2±10,65	8,3±8,92	10,5±7,78	6,5±9,19
	Min-Max	0-83	0-80	0-96	0-38	0-38	0-21	0-17	0-27

AB ve Türk Gıda Kodeksi kapsamında belirlenen AFM1 limit düzeyin (>50ng/L) üstünde olan çiğ süt örneği sayısı Tablo 4.3.4.'de gösterildiği gibi toplamda 17 olup, limit düzeyin üzerinde tespit edilen aylar Ocak, Şubat, Mart ayları olarak saptanmıştır. Ocak ayında AFM1 düzeyi ortalama 83 ng/L, Şubat ayında ortalama 56,44±11,65 ng/L olup, en düşük AFM1 düzeyi 36 ng/L ve en yüksek 80 ng/L'dir. Mart ayında ise ortalama 60,28±16,90 ng/L olup, en düşük AFM1 düzeyi 47 ng/L ve en yüksek 96 ng/L olarak saptanmıştır.

Aylara göre limit düzeyin (<50ng/L) altında olan AFM1 düzeyleri sırasıyla; Ocak ayında ortalama 19,5±19,15 ng/L, Şubat ayında 10,9±14,46 ng/L, Mart ayında 14,6±15,41 ng/L, Nisan ayında 22,8±11,39 ng/L, Mayıs ayında 16,2±10,65 ng/L, Haziran ayında 8,3±8,92 ng/L, Temmuz ayında 10,5±7,78 ng/L ve Ağustos ayında ise 6,5±9,19 ng/L olarak tespit edilmiştir.

Tablo 4.3.4. Aylara göre AFM1 limit düzeylerinin dağılımı

AFM1 (ng/L) \ AY		Ocak	Şubat	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos
>50ng/l	N	1	9	7	-	-	-	-	-
	$\bar{x}\pm S$	83,0	56,4±11,65	60,2±16,90	-	-	-	-	-
	Min- Max	83	36-80	47-96	-	-	-	-	-
<50ng/l	N	18	159	80	11	18	10	12	16
	$\bar{x}\pm S$	19,5±19,15	10,9±14,46	14,6±15,41	22,8±11,39	16,2±10,65	8,3±8,92	10,5±7,78	6,5±9,19
	Min-Max	0-52	0-49	0-47	0-38	0-38	0-21	0-17	0-27

4.4. 3 Yıl Boyunca Analiz Edilen Süt Örneklerinin Yıllara ve Mevsimlere Göre Dağılımı

Eylül 2018- Ağustos 2020 yılları arasında Kuzey Kıbrıs'ta toplam 1026 çiğ süt örneği toplanmıştır. AFM1 düzeyleri, sonbahar, kış, ilkbahar ve yaz (2018-2020) dahil olmak üzere yılın tüm mevsimlerinde çiğ süt örneklerinde ölçülmüştür. Farklı mevsimlerde sütteki AFM1 seviyeleri Tablo 4.4.1'de gösterilmiştir.

Ortalama AFM1 düzeyi sonbahar mevsiminde en yüksek $31,77 \pm 19,21$ ng/L, yaz mevsiminde ise en düşük $7,51 \pm 11,31$ ng/L olarak kaydedilmiştir. Yılın dört farklı mevsiminde AFM1 seviyeleri ortalamalarına göre yüksekten düşüğe sırasıyla sonbahar $31,77 \pm 19,21$ ng/L, kış $26,96 \pm 20,77$ ng/L, ilkbahar $19,00 \pm 18,53$ ng/L, yaz $7,51 \pm 11,31$ ng/L olarak saptanmıştır. Mevsimsel olarak, sonbahar, kış, ilkbahar ve yaz mevsimlerinde izin verilen AB limit sınırının üzerindeki süt örneklerinin yüzdesi sırası ile %16, %16,2, %4,5 ve %1,6 olarak bulunmuştur.

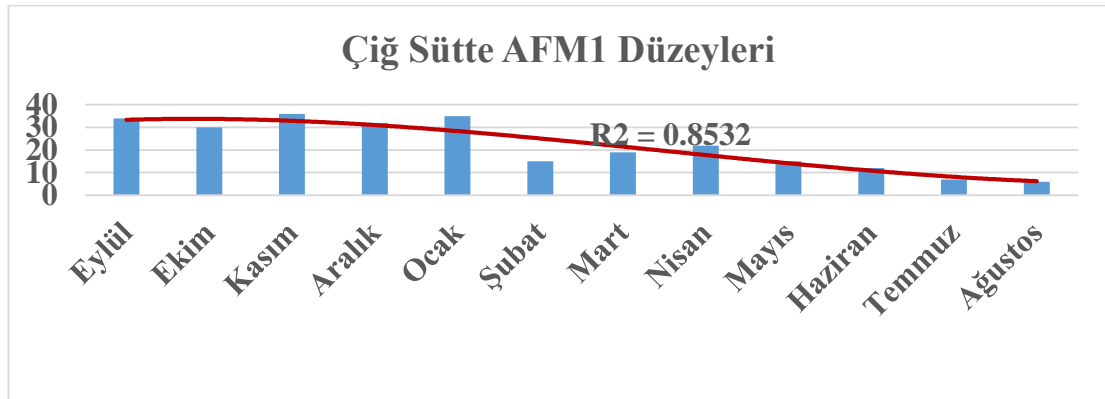
AFM1 seviyelerinin sonbahar mevsimi ile birlikte Eylül ayından itibaren arttığı ve en yoğun Kasım ayında maksimum seviyeye ($35,88 \pm 18,22$ ng/L) kadar yükseldiği, Ağustos ayında ise minimum seviyeye ($5,84 \pm 8,45$ ng/L) ulaştığı görülmektedir. AFM1 seviyelerinin kış aylarına kadar belirli aralıklarla arttığı, havaların ısınmaya başlaması ile birlikte azalmaya başladığı gözlemlenmiştir. Sonbahar ve kış aylarında sütlerdeki AFM1 miktarları ilkbahar ve yaz aylarına göre anlamlı derecede farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). AFM1 düzeyleri sonbahar mevsiminde maksimum, yaz mevsiminde minimum bulunmuştur. Sonbahar ve kış aylarında AFM1 düzeylerinin limit düzeyin üstünde görülme oranı (> 50 ng/L) ilkbahar ve yaz aylarına göre daha fazladır. AFM1 düzeyleri Eylül-Ocak ayları boyunca yüksek seyretmekte, Ocak ayından Ağustos ayına kadar ise AFM1 düzeyleri düşüş göstermektedir (Şekil 11).

Analiz edilen süt örnekleri, sonbahar mevsiminde %16'sının, kış mevsiminde %16,2'sinin, ilkbahar mevsiminde %4,5'inin ve yaz mevsiminde ise %1,6'sının AB yasal sınırın (50 ng/L) üzerinde olduğu saptanmıştır. Farklı mevsimlerde alınan süt örneklerinde AFM1 miktarları önemli ölçüde farklıdır (Tablo 4.4.1).

Tablo 4.4.1. 2018 – 2020 yılları arasında mevsimlere göre çiğ sütlerde AFM1 düzeyi

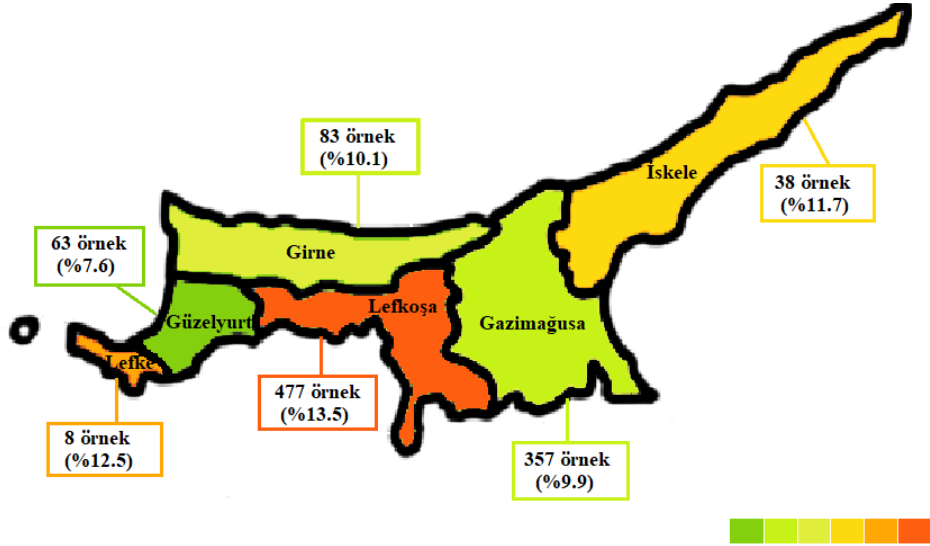
Aylar	N	x±S (ng/L)	Min – Max (ng/L)	AB limit üstü (%)
Sonbahar				
Eylül	38	33,68±43,56	0-271	13,2 (n:5)
Ekim	114	29,49±23,24	0-91	13,8 (n:16)
Kasım	167	35,88±18,22	0-107	21,2 (n:35)
Toplam	319	31,77±19,21	0-104	16,0 (n:56)
Kış				
Aralık	338	32,29±22,99	0-157	22,5 (n:76)
Ocak	166	34,95±19,02	0-83	19,9 (n:33)
Şubat	175	14,77±18,73	0-80	6,3 (n:11)
Toplam	492	26,96±20,77	0-112	16,2 (n:120)
İlkbahar				
Mart	97	19,49±20,52	0-96	8,2 (n:8)
Nisan	19	21,78±15,32	0-58	5,3 (n:1)
Mayıs	25	14,52±10,55	0-38	0
Toplam	138	19,00±18,53	0-96	4,5 (n:9)
Yaz				
Haziran	21	11,61±16,87	0-75	4,8 (n:1)
Temmuz	27	7,00±8,00	0-18	0
Ağustos	32	5,84±8,45	0-27	0
Toplam	77	7,51±11,31	0-75	1,6 (n:1)

Mevsimler arasında AFM1 görülme sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmaktadır (p=0.026).



Şekil 11. 2018 ve 2020 yılları arasında çiğ sütte AFM1 seviyelerinin üç yıldaki aylık ortalama sıklığı. Yatay eksen ayları göstermektedir. Dikey eksen AFM1 seviyelerini (ng/L) göstermektedir. Sütunlar, belirtilen aydaki ilgili ortalama sıklığı temsil eder. Eğri, aylar boyunca eğilim çizgisini gösterir ($R^2 = 0,8532$).

Bölgelere göre AB yasal sınırları aşma oranları ise sırası ile; Lefkoşa (%13,5), Lefke (%12,5), İskele (%11,7), Girne (%10,1), Gazimağusa (%9,9) ve Güzelyurt (%7,9) olarak saptanmıştır (Şekil 11).



Şekil 12. İlçelere göre örneklem haritası ve Avrupa Birliği yasal sınırını (>50 ng/L) aşma oranları; Kırmızı: en sık, yeşil: en seyrek görülme sıklığını işaret etmektedir.

Çalışma kapsamında, 2 yıl boyunca analiz edilen toplam 1026 çiğ süt örneğinde ortalama $26,4 \pm 17,96$ ng/L AFM1 tespit edilmiştir. Analiz edilen süt örneklerinde AFM1 düzeylerinin belirlenmesi amacı ile yıllara göre saptanan AFM1 düzeyleri Tablo 4.4.2.'de gösterilmiştir. Yıllara göre incelenen çiğ sütlerdeki AFM1 düzeyleri 2018, 2019 ve 2020 yıllarında sırası ile $30,91 \pm 19,04$ ng/L, $28,41 \pm 18,61$ ng/L ve $19,95 \pm 16,23$ ng/L AFM1 içerdiği saptanmıştır (Tablo 4.4.2).

2018 yılında AFM1 düzeyleri ortalama $30,91 \pm 19,04$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek ise 85 ng/L olarak saptanmıştır. 2019 yılında AFM1 miktarları ortalama $28,41 \pm 18,61$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi 0 ng/L, en yüksek ise 82 ng/L olarak saptanmıştır. 2020 yılında ise AFM1 düzeyleri ortalama $13,95 \pm 16,23$ ng/L'dir. En düşük AFM1 düzeyi ise 0 ng/L ve en yüksek 96 ng/L olarak saptanmıştır.

Çalışma süresince analiz edilen süt örneklerinde, 2018 yılında %17,6'sı, 2019 yılında %12,2'si ve 2020 yılında ise %4,4'ünün yasal sınırın (>50ng/L) üzerinde olduğu saptanmıştır. Yıllar arasında AFM1 görülme sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmaktadır (P<0,05).

Genel olarak incelendiğinde sütlerin büyük bir oranının yasal sınırın altında (<50 ng/L) olduğu görülmektedir. Farklı yıllarda alınan süt örneklerinde AFM1 oranları önemli ölçüde farklıdır (p<0,05). Yıllara göre karşılaştırdığımız zaman, yasal sınırın üstünde olan AFM1 seviyelerinin yıllar içerisinde azaldığı görülmektedir (p<0,05).

Tablo 4.4.2. Yıllara göre ortalama aflatoksin M1 düzeyleri

Yıl	N	x±S (ng/L)	Min-Max (ng/L)	AB limit üstü (%)	p
2018	311	30,91±19,04	0-85	17,6 (n:54)	0,39
2019	397	28,41±18,61	0-82	12,2 (n:48)	0,00
2020	318	19,95±16,23	0-96	4,4 (n:14)	0,00
Toplam	1026	26,4±17,96	0-96	11,4 (n:116)	

5. TARTIŞMA

5.1.Kıbrıs, Türkiye ve Dünyada Çiğ Sütlerde AFM1 Durumu

İnsanlar için temel besin kaynaklarından biri olan süt ve süt ürünlerinde bulunabilecek AFM1, insan sağlığı için potansiyel bir risk oluşturmakta olup, ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Bu nedenle süt ve süt ürünlerinde AFM1 varlığının ve düzeyinin saptanması büyük önem taşımaktadır. Gelişmekte olan ülkeler, teknoloji, üretici bilgisi ve donanımlı tesislerin yokluğu veya eksikliği nedeniyle yüksek AFM1 seviyelerine sahip olabilmektedir. Bu nedenle birçok ülke çiğ sütte AFM1 düzeyleri için maksimum limitler belirlemiştir (<50 ng/L). Ülkemizde bu konuda yapılmış bir çalışmaya literatürlerde rastlanmamasından dolayı, bu araştırma KKTC genelinde üretilen çiğ sütlerin AFM1 düzeylerinin belirlemesi açısından önem taşımaktadır.

Ocak-Ağustos 2020 aylarında süt toplama merkezlerinden temin edilen 318 çiğ süt örneğinin analizi sonucunda; AFM1 konsantrasyonu ortalama $14,4 \pm 16,99$ ng/L olarak saptanmıştır. Analiz edilen çiğ süt örneklerinin %6,9'unun Avrupa Birliği yasal sınırlarını aştığı tespit edilmiştir. Süt türlerine göre AFM1 konsantrasyonlarına bakıldığında ise sırasıyla; inek sütü $13,7 \pm 16,75$ ng/L, keçi sütü $23,9 \pm 17,77$ ng/L, koyun sütü $14,0 \pm 17,33$ ng/L olarak saptanmıştır. Yasal sınırı aşma oranları ise en fazla %9,1 oranında keçi sütünde tespit edilmiştir. Çalışmamız kapsamında 2018-2020 yılları arasında, 1026 çiğ süt örneğinin analizi sonucunda ise; ortalama AFM1 seviyesi $26,4 \pm 17,96$ ng/L olup, %11,4'ünün yasal sınırları aştığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızla benzerlik taşıyan 2014 yılında Temmuz–Eylül ayları arasında Hırvatistan'da yapılan bir çalışmada, inek sütü (n:143) $12,1 \pm 9,49$ ng/L, keçi sütü (n:32) $7,61 \pm 8,94$ ng/L ve koyun sütü (n:19) $3,69 \pm 0,91$ ng/L olarak tespit edilmiştir (Bilandžić ve ark. 2014). 2016 yılında Hırvatistan'da yapılan başka bir çalışmada ise AFM1 konsantrasyonları, inek sütü $0,93–85,4$ ng/L; keçi sütü $2,0–18,6$ ng/L; koyun sütü $2,27–11,2$ ng/L olarak belirtilmiştir. İtalya'da 2016 yılında yapılan bir çalışmada ise, 416 çiğ süt numunesinin %12,3'ünün, $0,05$ µg/L üzerinde AFM1 içerdiği tespit edilmiştir (Roma ve ark. 2017). 2018 yılında Türkiye'nin Niğde ilinde, 90 çiğ süt örneği toplanarak yapılan çalışma sonucuna göre, incelenen tüm süt örneklerinin AFM1 ile kontamine olduğu koyun ve keçi sütlerindeki AFM1 düzeyinin yasal limitlerin altında, çiğ inek sütü örneklerinin 3'ünde (%10) ise bu limitlerin üzerinde

(>50 ng/L) olduğu bildirilmiştir. AFM1 konsantrasyonları ise sırasıyla, inek sütü 15,88±4,4 ng/L, koyun sütü 3.91±0.25 ng/L, keçi sütü ise 3,07±0,42 ng/L olarak saptanmıştır (Karadal ve ark. 2018). Elazığ'da 2018 yılında yapılan bir çalışmada 60 adet çiğ süt numunesinin %60'ının yasal sınırlar içinde AFM1 içerdiği ve %13'ünün ise yasal sınırların üstünde AFM1 içerdiği saptanmıştır (Baygeldi ve Tanyıldızı, 2018). 2019'da Kars ilinde yapılan bir çalışmada, 50 çiğ süt örneğinin %44'ünde AFM1 limit düzeyin altında iken, %56'sında farklı düzeylerde AFM1 tespit edilmiştir (Aksoy ve Sezer, 2019). 2018 yılında Türkiye'de yapılan bir çalışmada, 135 süt örneğinde saptanan AFM1 düzeyinin ortalama 8,6±4,57 ng/L olduğu bildirilmiştir ve örneklerin hiçbirinin belirlenen maksimum AFM1 yasal sınırını aşmadığı saptanmıştır (Madali ve ark. 2018). 2016 yılında Tehran'da yapılan bir çalışmada, incelenen 221 süt numunesinin AFM1 düzeyleri ortamala 21,4±4,7 ng/L olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, incelenen örneklerin %26,7'sinin AFM1 ile kontamine olduğunu bildirmiştir (Bolourchian ve ark. 2016). 2016 yılında Malezya'da yapılan bir çalışmada, 53 adet süt ve süt ürünlerinden oluşan numunelerden %35,8'inin AFM1 içerdiği, %7,5'inin ise yasal sınırların üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Nadira ve ark. 2017). Nile ve arkadaşlarının 600 çiğ süt örneği ile yaptığı çalışmada, AFM1 düzeyleri inek sütünün 30.2 ± 1.8 ng/L, keçi sütünün 38,6 ± 2,1 ng/L, koyun sütünün 25,7 ± 1,6 ng/L olarak tespit edilmiştir. % 44 inek, % 10 keçi ve % 12 koyun sütü örneklerinde AFM1 miktarı Avrupa Birliği tarafından kabul edilen maksimum tolerans sınırının üzerinde olduğu belirtilmiştir (Nile ve ark. 2016).

2020 yılında Kuzey Kıbrıs'ta 2 süt markasından toplam 20 adet UHT inek sütü ve farklı mandıralardan toplanmış 22 adet çiğ inek sütü örneği ile yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre, süt örneklerinin hiçbirinde AFM1 tespit edilebilecek düzeyde bulunmadığı belirtilmiştir (Bereket, 2021).

Çalışmamız kapsamında 2020 yılında analiz edilen çiğ süt örneklerinin AFM1 düzeyleri aylara göre incelendiğinde, Ocak ve Nisan aylarında en yüksek seviyeye ulaştığı görülmektedir. Analiz edilen çiğ süt örneklerinin, Ocak ayında %10,5'i, Şubat ayında %4,7'si ve Mart ayında ise %6,8'inin yasal sınırın (50 ng/L) üzerinde olduğu saptanmıştır. Nisan, Mayıs, Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında ise yasal sınırın üzerinde olan AFM1 düzeyi tespit edilmemiştir. Aylara göre incelendiğinde aylar arasında incelenen süt örneklerinin sayısı farklılık göstermektedir. Bunun nedeni

özellikle yaz aylarında süt veriminin azalmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca bazı dönemlerde üreticilerin süt üretmemesinden, satışa sunmamasından veya hayvanları satmasından dolayı da kaynaklanabilmektedir. Bu nedenle çalışmamız kapsamında, her ay her bölgedeki üreticiden farklı miktarlarda süt örneği analiz edilmiştir.

2020 yılında Ekvator'da yapılan bir çalışmada, farklı aylarda analiz edilen çiğ süt örneklerinin AFM1 düzeyleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda, en düşük AFM1 konsantrasyonu Kasım ayında ve en yüksek ise Ağustos ve Haziran aylarında saptanmıştır. Çalışma dönemleri arasında, özellikle Nisan – Haziran ve Haziran - Kasım ayları arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Özellikle Haziran gibi kurak mevsimlerde yüksek değerlerin olduğu kaydedilmiştir. Çalışma sonucunda yaz aylarında AFM1 konsantrasyonlarının yüksek seyretmesinin nedeni, bu dönemde yağışların az olması ile birlikte hayvan yemlerinden kıtlığa neden olması ve dolayısıyla çiftçilerin hayvanlarını yem ürünü olarak çoğunlukla mısır, saman ve kosantre yem gibi *Aspergillus* kontaminasyonuna yatkın olan yiyeceklerle beslemelerinin sınırlandırılmasının bir sonucu olduğu düşünülmektedir (Puga-Torres ve ark. 2020). 2016 yılında Pakistan'da farklı mevsim ve aylarda yapılan bir çalışmada, AFM1 seviyesinin Eylül ayından itibaren arttığını ve Pakistan'ın en yoğun kış ayı olan Aralık ayında maksimum seviyeye ($0,17 \pm 0,073$ mg/L) kadar yükseldiğini ve daha sonra artışa bağlı olarak azalmaya başladığını göstermektedir. Temmuz ayında ise minimum seviyeye ($0,03 \pm 0,012$ mg/L) ulaştığı bildirilmiştir. AFM1 seviyesinin tespit limitinin altında sadece yazın (Haziran-Ağustos) üç ayı boyunca bulunduğunu belirtilmiştir (Ismail ve ark. 2016). İtalya'da yapılan başka bir çalışmada, süt örneklerinin %2,2'sinin AFM1'e maruz kaldığının ancak %1'den daha azının yasal düzeylerinin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. AFM1 bulunan örneklerin çoğunun ise Kasım-Mayıs aylarında toplandığı bildirilmiştir (Bellio ve ark. 2016). 2018 yılında Kenya'da 291 süt ürünü örneği ile yapılan çalışmada, numunelerin %50'sinden fazlası yasal sınırları aştığı tespit edilmiştir. Aylara göre incelendiğinde ise; Eylül ve Kasım aylarında AFM1 seviyelerinin zirveye ulaştığı, en yüksek seviyelerin ise Ekim (kısa yağmurların başlangıcı) ayından görüldüğü ve Mart (uzun yağmur mevsimlerinin başlangıcı) ayında da küçük bir zirve gözlemlendiği belirtilmiştir (Lindahl ve ark. 2018). Akbar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, çiğ sütlerdeki AFM1 konsantrasyonunun kış aylarında daha yüksek seyrettiğini ve maksimum yasal limiti

aştığı saptanmıştır. Ayrıca AFM1 konsantrasyonunu en yüksek seviyelere çıktığı dönem Aralık–Mart ayları arasında olduğu belirtilmiştir (Akbar ve ark. 2020).

Çalışmamızın sonuçlarından farklı olarak, bazı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda saptanan AFM1 konsantrasyonları yüksek, bazıları tarafından düşük ve bazı araştırmacılar tarafından ise bu çalışma ile benzer oranlarda bulunmuştur. Sonuçlar arasındaki farklılıklar özellikle örneklerin alındığı mevsim ve coğrafik koşullardaki farklılıkla ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Bilindiği gibi uygun olmayan koşullarda muhafaza edilen yemlerden oluşan AFB1'in, sütteki AFM1'in kaynağıdır. Buna bağlı olarak AFM1'in sütteki seviyesinin yaz aylarında daha düşük olduğu, bunun sebebinin de yaz aylarında hayvanların kontamine konsantre yemler yerine daha çok taze otlarla beslenmesi olduğu belirtilmektedir (Asi ve ark. 2012; Malissiova ve ark. 2013; Bilandžić ve ark. 2014; Bahrami ve ark. 2016; Bilandžić ve ark. 2017). Bizim çalışmamız kapsamında SÜTEK'e kayıtlı olan işletmeler, genellikle hayvanların besin ihtiyacını hazır yemler yerine serbest otlatma şeklinde karşılamaktadır. Bu nedenle yaz aylarındaki AFM1 konsantrasyonları daha düşük seviyelerde saptanmaktadır. Ancak hayvanların kış mevsiminde daha çok depo edilmiş hazır yemlerle beslenmesinden dolayı kış mevsiminde elde edilen sütlerin yaz mevsiminde elde edilen sütlere göre AFM1 kontaminasyonunun daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle farklı coğrafik koşullara ve şartlara sahip ülkelerde yapılan çalışmalarda saptanan AFM1 seviyeleri ile bizim ülkemizde saptanan değerler farklılık göstermektedir.

5.2. Yıllar ve Mevsimlerin AFM1 Düzeyleri Üzerindeki Etkisi

AFM1 düzeyleri ülkeler arası ve coğrafi konum farklılıklarına göre büyük değişiklik göstermektedir. Yapılan çalışmalar doğrultusunda, AFM1 varlığında mevsimlere bağlı bir çeşitlilik olduğunu bildirmektedir. Yaz aylarına kıyasla, kış aylarında yağışların fazla olması ile birlikte yemlerdeki nem oranının artması ve hayvanların genellikle karışık yemlerden beslenmesi ve kış aylarında özellikle yemlerin kötü depolama şartlarında muhafaza edilip hayvanlara yedirilmesinden kaynaklı, soğuk mevsimlerde, sıcak mevsimlere göre daha yüksek miktarlarda

AFM1'e rastlandığı ifade edilmektedir (Lindahll ve ark., 2018; Mézes ve ark. 2010; Ashiq, 2015).

Bu çalışmada da, 2018-2020 yılları arasında, mevsimlere göre AFM1 düzeylerinin farklılık gösterdiği bulunmuştur. Ortalama AFM1 düzeyi sonbahar mevsiminde en yüksek, yaz mevsiminde ise en düşük olarak kaydedilmiştir. Yılın dört farklı mevsiminde AFM1 seviyesi yüksekten düşüğe sırasıyla sonbahar, kış, ilkbahar, yaz olarak saptanmıştır. Yaz mevsimine kıyasla sonbahar ve kış aylarında AFM1'in daha yüksek olmasının nedeni, sonbahar ve kış mevsimlerinde toksin üretimi için yağışların artması ile birlikte uygun sıcaklık ve nem oranının daha fazla olması ve hayvanların genellikle karma beslenmesinden kaynaklanmaktadır (Xiong ve ark. 2013).

KKTC genelinde ortalama AFM1 düzeyleri yılın dört mevsim boyunca yasal sınırın altında (<50 ng/L) olduğu saptanmıştır. Bunun sebebi, özellikle kış ayları ile birlikte AFM1 seviyelerinde görülen artışlar sonucunda denetimlerin artırılmasına bağlı olarak AFM1 artışının önlendiğini, yasal uygulamaların yeterli ve kontrollü olduğunu göstermektedir.

2016 yılında Çin'de 5650 çiğ süt örneği ile yapılan bir çalışmada, AFM1 kontaminasyonu insidansı kış aylarında (%10,2) ilkbahar, yaz veya sonbahardan (sırasıyla %3,0, %2,1 ve %4,4) çok daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 2017).

2013-2014 yılları arasında Pakistan'da 520 çiğ süt örneği ile yapılan çalışmada, AFM1'in mevsimsel yaygınlık düzeyi sırası ile yüksekten düşüğe kış, ilkbahar, sonbahar, yaz olarak saptanmıştır. Süt örneklerinin %53'ünün yasal limitleri aştığını ve ülke halkının AFM1 ile ilgili sağlık sorunları açısından yüksek risk altında olduğunu belirtilmiştir (Ismail ve ark. 2016).

Bilandžić ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, ilkbaharda iki inek sütü örneğinde ve sonbaharda 10 inek sütü örneğinde Avrupa Birliği maksimum yasal düzeyini aştığı bulunmuştur (Bilandžić ve ark. 2017).

2020 yılında Ekvator'da yapılan başka bir çalışmada ise, hem kuru (Haziran ve Ağustos) hem de yağışlı mevsimlerde (Nisan ve Kasım) 209 çiğ süt örneği toplanmıştır. Çalışma sonucunda, süt örneklerindeki saptanan AFM1 seviyelerinin %59,3'ünün AB yasal sınırını aşarken yalnızca %1,9'u Ekvator'un yasal sınırını aştığı

saptanmıştır. Çalışma sonucunda, çalışma ayları iklim mevsimi ve iklim açısından iller arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir (Puga-Torres ve ark., 2020).

2017 yılında AFM1 düzeylerinde mevsimsel farklılığı araştıran başka bir çalışmada, Polog ve Pelagonia bölgesinde toplanan 360 çiğ süt örneklerinde, maksimum kalıntı sınırı (MRL) aşan en yüksek numune insidansı her iki bölgede de kış aylarında gözlemlendiği belirtilmiştir (sırasıyla $0.35\mu\text{g.kg}^{-1}$; $1.003\mu\text{g.kg}^{-1}$). Mevsimsel değişkenlik göz önüne alındığında, kış aylarında elde edilen çiğ süt örneklerinde AFM1 insidans ve düzeylerinin yazın elde edilenlere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu ayrıca ilkbaharda elde edilen örnekler arasında yazın elde edilenlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bildirilmiştir (Trajkovska ve ark. 2017).

İtalya'daki altı süt işletme tesisinde Nisan 2013'ten Aralık 2018 tarihleri arasında toplamda 31.702 süt örneğinde AFM1 varlığı araştırılan bir çalışmada, 2017 ve 2018'de, saptanan AFM1 seviyeleri, Aralık 2014'ten Ağustos 2015'e kadar gözlemlenen AFM1 seviyeleri ile yaklaşık olarak aynı olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, Eylül 2015 ve Aralık 2016 arasında, AFM1 kontaminasyonu, neredeyse 2013'teki kadar yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu kapsamlı araştırmada da, yıllar boyunca yemdeki AFB1 kontaminasyonu ve dolayısıyla AFM1 sütün kontaminasyonunu etkileyen iklim koşullarının değişkenliği, risk değerlendirmesinin sürekli izlenmesini ve güncellenmesini haklı çıkardığı bildirilmiştir (Serraino ve ark. 2019).

Mısır'da 2016 ve 2017 yıllarında farklı mevsimlerde 120 çiğ süt örneğinde AFM1 düzeylerine bakılmıştır. İki yılda yasal sınırları aşan numune oranı sırası ile %21,6 ve %18.3 olarak saptanmıştır. AFM1 oluşumunu etkileyen mevsimsel değişikliklere rağmen, kışın toplanan örneklerdeki AFM1 seviyeleri yazın toplananlardan önemli ölçüde ($P \leq 0,001$) daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Ismail ve ark., 2020).

Bu çalışmada AFM1 düzeylerini yıllara göre karşılaştırıldığında, 2018 yılında AFM1 düzeyleri daha fazla iken 2020 yılında denetimler ve eğitimlerden dolayı AFM1 düzeylerinde düşüş gözlemlenmiştir. Yıllar arasında anlamlı bir fark bulunduğu saptanmıştır. 2018 yılında AFM1 düzeyleri daha fazla iken 2020 yılında düşmesini yapılan devlet denetimleri ve üreticiye verilen eğitimlerden dolayı olduğunu söylemek mümkündür (SUTEK, 2020).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma, Kıbrıs'ın Kuzeyinde bulunan tüm ilçelerden elde edilen ve toplam çiğ süt üretiminin tamamını temsil eden önemli sonuçlara katkıda bulunmaktadır. Özellikle çalışmada, HPLC yönteminin kullanılması yüksek hassasiyetle hızlı sonuçlar vermiştir. Çalışma sonucunda, 2 yıl boyunca analiz edilen çiğ süt örneklerinde ortalama AFM1 düzeyleri $26,4 \pm 17,96$ ng/L olarak saptanmış olup, AFM1 seviyesinin Avrupa Birliği Komisyonu ve Türk Gıda Kodeksi limitlerine (<50 ng/L) uygun olduğu ve halk sağlığı için risk oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Literatürde sunulan diğer sonuçlara göre ülkemizde saptanan AFM1 düzeyleri, gelişmekte olan ülkelere kıyasla daha iyi sonuçlara sahip olup, SÜTEK tarafından üreticilere verilen eğitimlerin de etkisi ile yıllar içinde AFM1 düzeylerinin anlamlı derecede düştüğü görülmektedir. Ancak incelenen örneklerde farklı konsantrasyonlarda AFM1 düzeyleri tespit edilmiştir.

Bilindiği gibi AFM1 oluşumunun temel kaynağı yemlerin uygun koşullarda depolanmaması sonucu oluşan AFB1'dir. Bu nedenle, halk sağlığı açısından alınması gereken en önemli tedbir yemlerde AFB1 oluşumunu önlemektir. Çalışma kapsamında SÜTEK'e kayıtlı olan işletmeler, genellikle hayvanların besin ihtiyacını hazır yemler yerine serbest otlatma şeklinde karşılamaktadır. Ancak hayvanların kış mevsiminde daha çok depo edilmiş hazır yemlerle beslenmesinden dolayı kış mevsiminde elde edilen sütlerin yaz mevsiminde elde edilen sütlere göre AFM1 kontaminasyonunun daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Özellikle AFM1 kontaminasyonu insidansı sonbahar ve kış mevsimlerinde, yemlerin kötü koşullarda depolanması, yağışlar ve neme bağlı olarak çok daha yüksek seviyelerde tespit edilmiştir. Bu nedenle, süt üretimi özellikle bu dönemlerde sıkı bir şekilde izlenmeli ve denetlenmelidir. Bununla birlikte AFM1 maruziyetini önleyebilmek için kayıt dışı sokak sütü üretip, satışa sunanların tespit edilip denetlenmesi de bu noktada büyük önem taşımaktadır.

Süt ve süt ürünlerinde AFM1 kontaminasyonunu minimize etmek için hayvan yemlerinin belirli periyotlarla AFB1 açısından kalite kontrolünün yapılması, hayvanlarının beslenmesinde kullanılan yemlerin depolanma koşullarının

denetlenmesi, sıcaklık ve nem koşullarının izlenmesi ve iyileştirilmesi gerekmektedir. AFM1 kontaminasyonunu önlemek için özellikle çiftlikten sofraya kadar her aşamada gerekli önleyici ve koruyucu önlemlerin alınması gerekmektedir.

Özellikle süt üreticileri, süt üretim tesislerinde çalışanların ve hayvan üreticilerinin, aflatoksinlerin neden olduğu halk sağlığı sorunları ve riskleri konusunda bilgilendirilmelerine yönelik düzenli olarak eğitim ve seminer programları verilmelidir.

Kuzey Kıbrıs'ta ilk kez yapılan bu kapsamlı çalışma, ülke genelinde çiğ sütte AFM1 kontaminasyonunun yönetimini ve gelecekteki risk analizini kolaylaştıracaktır. Bu nedenle AFM1 düzeylerinin belirli sıklıklarla düzenli olarak takip edilmesi ülke için büyük önem taşımakta olup daha büyük evrenlerde bu çalışmayı farklı yönlerde tamamlayacak ve destekleyecek daha fazla yeni çalışma yapılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

Abargouei, A. S., Janghorbani, M., Salehi-Marzijarani, M., & Esmailzadeh, A. (2012). Effect of dairy consumption on weight and body composition in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *International journal of obesity*, 36(12), 1485-1493.

Agabriel, C., Cornu, A., Journal, C., Sibra, C., Grolier, P., & Martin, B. (2007). Tanker milk variability according to farm feeding practices: Vitamins A and E, carotenoids, color, and terpenoids. *Journal of dairy science*, 90(10), 4884-4896.

Agency for Research on Cancer (IARC) (2017). List of classifications. Erişim tarihi: 15.03. 2021.

Akbar, N., Nasir, M., Naeem, N., Ahmad, M. U. D., Saeed, F., Anjum, F. M., ... & Atif, M. (2020). Assessment of aflatoxin in milk and feed samples and impact of seasonal variations in the Punjab, Pakistan. *Food science & nutrition*, 8(6), 2699-2709.

Aksoy, A., & Sezer, Ç. (2019). Evaluation of Aflatoxin M1 Presence in Raw Milk and Some Cheese Types Consumed in Kars. *Kocatepe Veterinary Journal*, 12(1), 39-44.

Amuzie, C., Bandyopadhyay, R., Bhat, R. V., Black, R., Burger, H., Cardwell, K. F., ... & Wu, F. (2016). Mycotoxin control in low-and middle-income countries.

Anonim (2019). Türk Gıda Kodeksi-Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2019/02/20190227-5.htm>

Arroyo-Manzanares, N., Huertas-Pérez, J. F., García-Campaña, A. M., & Gámiz-Gracia, L. (2014). Simple methodology for the determination of mycotoxins in pseudocereals, spelt and rice. *Food Control*, 36(1), 94-101.

Ashiq, S. (2015). Natural occurrence of mycotoxins in food and feed: Pakistan perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(2), 159-175.

- Asi, M. R., Iqbal, S. Z., Ariño, A., & Hussain, A. (2012). Effect of seasonal variations and lactation times on aflatoxin M1 contamination in milk of different species from Punjab, Pakistan. *Food Control*, 25(1), 34-38.
- Aune, D., Lau, R., Chan, D. S. M., Vieira, R., Greenwood, D. C., Kampman, E., & Norat, T. (2012). Dairy products and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Annals of oncology*, 23(1), 37-45.
- Bahrami, R., Shahbazi, Y., & Nikousefat, Z. (2016). 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*, 62, 250-256.
- Baygeldi, Y., & Tanyıldız, S. (2018). Elazığ'da Üretilen İnek Sütlerinde Aflatoksin M1 Düzeylerinin HPLC ile Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 32(3), 191-195.
- Baysal A., Pekcan G., Aksoy M., ve diğerleri. (2013). Diyet planlama ilkeleri. *Diyet El Kitabı*. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, (7. bs.). 7-32.
- Bbosa, G. S., Kitya, D., Lubega, A., Ogwal-Okeng, J., Anokbonggo, W. W., & Kyegombe, D. B. (2013). Review of the biological and health effects of aflatoxins on body organs and body systems. *Aflatoxins-recent advances and future prospects*, 12, 239-265.
- Bbosa, G. S., Kitya, D., Lubega, A., Ogwal-Okeng, J., Anokbonggo, W. W., & Kyegombe, D. B. (2013). Review of the biological and health effects of aflatoxins on body organs and body systems. *Aflatoxins-recent advances and future prospects*, 12, 239-265.
- Bellio, A., Bianchi, D. M., Gramaglia, M., Loria, A., Nucera, D., Gallina, S., ... & Decastelli, L. (2016). Aflatoxin M1 in cow's milk: Method validation for milk sampled in northern Italy. *Toxins*, 8(3), 57.
- Bendtsen, L. Q., Lorenzen, J. K., Bendtsen, N. T., Rasmussen, C., & Astrup, A. (2013). Effect of dairy proteins on appetite, energy expenditure, body weight, and composition: a review of the evidence from controlled clinical trials. *Advances in nutrition*, 4(4), 418-438.

Bereket, C. (2021). Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde Tüketilen Süt Örneklerinde Aflatoxin M1 Düzeylerinin Araştırılması.

Bilandžić, N., Božić, Đ., Đokić, M., Sedak, M., Kolanović, B. S., Varenina, I., & Cvetnić, Ž. (2014). Assessment of aflatoxin M1 contamination in the milk of four dairy species in Croatia. *Food control*, 43, 18-21.

Bilandžić, N., Varenina, I., Solomun Kolanović, B., Božić Luburić, Đ., Varga, I., Želježić, B., ... & Cvetnić, Ž. (2017). Occurrence of aflatoxin M1 in raw cow, goat and sheep milk during spring and autumn in Croatia during 2016. *Toxin Reviews*, 36(4), 290-296.

Bolourchian, M., Safi, S., & Beheshtiha, S. H. S. (2016). On the occurrence of Aflatoxin M-1 in dairy cattle milk in Varamin Region, Tehran. *Int. J. Med. Res. Health Sci*, 5(7), 68-72.

Bonjar, G. S. (2004). Incidence of aflatoxin producing fungi in early split pistachio nuts of Kerman, Iran. *Journal of Biological Sciences*, 4(2), 199-202.

Booth, A. O., Huggins, C. E., Wattanapenpaiboon, N., & Nowson, C. A. (2015). Effect of increasing dietary calcium through supplements and dairy food on body weight and body composition: a meta-analysis of randomised controlled trials. *British Journal of Nutrition*, 114(7), 1013-1025.

Bozhüyük, A., Özcan, S., Kurdak, H., Akpınar, E., Saatçi, E., & Bozdemir, N. (2012). Sağlıklı yaşam biçimi ve aile hekimliği. *Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care*, 6(1).

Campbell, K., Cavalcante, A. L. F., Galvin-King, P., Oplatowska-Stachowiak, M., Brabet, C., Metayer, I., ... & Elliott, C. T. (2017). Evaluation of an alternative spectroscopic approach for aflatoxin analysis: Comparative analysis of food and feed samples with UPLC–MS/MS. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 239, 1087-1097.

Çankırı, B., & Uyarlar, C. (2013). Mikotoksinlerin süt sığırlarının beslenmesindeki yeri ve önemi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 6(2), 57-69.

Choochuay, S., Phakam, J., Jala, P., Maneeboon, T., & Tansakul, N. (2018). Determination of Aflatoxin B1 in Feedstuffs without Clean-Up Step by High-

Performance Liquid Chromatography. International journal of analytical chemistry, 2018.

Chowdhury, R., Warnakula, S., Kunutsor, S., Crowe, F., Ward, H. A., Johnson, L., ... & Di Angelantonio, E. (2014). Association of dietary, circulating, and supplement fatty acids with coronary risk: a systematic review and meta-analysis. *Annals of internal medicine*, 160(6), 398-406.

Claeys, W. L., Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., ... & Herman, L. (2013). Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits. *Food control*, 31(1), 251-262.

Codex Alimentarius Commission. (1999). Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. *CAC/GL-30*.

Codex Alimentarius. International Food Standards. General Standard for contaminants and toxins in food and feed. Codex Stan 193-1995. Amended in 2015.

Coetzee, K. (2014). Lactodata Statistics-Vol 17 No 1: supplement. *The Dairy Mail*, 21(5), 1-31.

Çoksöyler, N. (1999). Farklı Yöntemlerle Kurutulan Kırmızıbiberlerde *Aspergillus flavus* Gelişimi ve Aflatoksin Oluşumunun İncelenmesi. *Gıda*, 24(5).

Consolandi, C., Cremonesi, P., Severgnini, M., Bordoni, R., Peano, C., Bellis, G. D., & Castiglioni, B. (2012). Array Platform for Food Safety and Quality. *OMICS Technologies: Tools for Food Science*, 13-57.

da Rocha, M. E. B., Freire, F. D. C. O., Maia, F. E. F., Guedes, M. I. F., & Rondina, D. (2014). Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*, 36(1), 159-165.

de Oliveira, C. A., & Corassin, C. H. (2014). Aflatoxins. Future Science Ltd.

De Roma, A., Rossini, C., Ritieni, A., Gallo, P., & Esposito, M. (2017). A survey on the Aflatoxin M1 occurrence and seasonal variation in buffalo and cow milk from Southern Italy. *Food Control*, 81, 30-33.

Demirgöl, F., & Sağdıç, O. (2018). Fermente süt ürünlerinin insan sağlığına etkisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (13), 45-53.

Dietz, W. H., & Gortmaker, S. L. (2001). Preventing obesity in children and adolescents. *Annual review of public health*, 22(1), 337-353.

Dror, D. K. (2014). Dairy consumption and pre-school, school-age and adolescent obesity in developed countries: a systematic review and meta-analysis. *Obesity reviews*, 15(6), 516-527.

Duarte, S. C., Almeida, A. M., Teixeira, A. S., Pereira, A. L., Falcão, A. C., Pena, A., & Lino, C. M. (2013). Aflatoxin M1 in marketed milk in Portugal: Assessment of human and animal exposure. *Food Control*, 30(2), 411-417.

Eaton, D. L., & Gallagher, E. P. (1994). Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 34, 135-172.

Fallah, A. A., Jafari, T., Fallah, A., & Rahnama, M. (2009). Determination of aflatoxin M1 levels in Iranian white and cream cheese. *Food and chemical toxicology*, 47(8), 1872-1875.

FAO Gateway to Dairy Production and Products FAO 2018 Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available online: <http://www.fao.org/dairy-production-products/production/en/> (Erişim Tarihi: 14 Nisan, 2021).

Franzoi, M., Niero, G., Penasa, M., Cassandro, M., & De Marchi, M. (2018). Development and validation of a new method for the quantification of soluble and micellar calcium, magnesium, and potassium in milk. *Journal of dairy science*, 101(3), 1883-1888.

Franzoi, M., Niero, G., Visentin, G., Penasa, M., Cassandro, M., & De Marchi, M. (2019). Variation of detailed protein composition of cow milk predicted from a large database of mid-infrared spectra. *Animals*, 9(4), 176.

Frazzoli, C., Gherardi, P., Saxena, N., Belluzzi, G., & Mantovani, A. (2017). The hotspot for (global) one health in primary food production: aflatoxin M1 in dairy products. *Frontiers in public health*, 4, 294.

- Giorni, P., Battilani, P., Pietri, A., & Magan, N. (2008). Effect of aw and CO₂ level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post-harvest. *International Journal of Food Microbiology*, *122*(1-2), 109-113.
- Givens, D. I., & Hobbs, D. A. (2014). Milk and dairy products: dietary partners for life? *Primary Health Care: Open Access*, *4*(3).
- Górska-Warsewicz, H., Rejman, K., Laskowski, W., & Czeczotko, M. (2019). Milk and dairy products and their nutritional contribution to the average polish diet. *Nutrients*, *11*(8), 1771.
- Gözener, B., & Sayili, M. (2013). Tüketicilerin Açık Süt Ve Süt Ürünleri Tüketim Tercihlerinin İncelenmesi: Tokat-Turhal İlçesi Örneği. *Sosyal Bilimler Araştırmaları Dergisi*, *8*(1), 160-175.
- Guthrie, L. D., & Bedell, D. M. (1979, January). Effects of aflatoxin in corn on production and reproduction in dairy cattle. In *Proceedings, annual meeting of the United States Animal Health Association* (No. 83, pp. 202-204).
- Hassan, H. F., & Kassaify, Z. (2014). The risks associated with aflatoxins M1 occurrence in Lebanese dairy products. *Food Control*, *37*, 68-72.
- Hassan, M. Z., Rahman, M. M., Ali, M. Z., Yousuf, M. A., Akther, S., Rahman, M. H., ... & Hossen, A. (2018). An overview of Mycotoxin contamination of animal feeds. *Bangladesh Journal of Livestock Research*, 1-9.
- Haug, A., Høstmark, A. T., & Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition—a review. *Lipids in health and disease*, *6*(1), 1-16.
- Hu, D., Huang, J., Wang, Y., Zhang, D., & Qu, Y. (2014). Dairy foods and risk of stroke: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *24*(5), 460-469.
- IARC Chemical agents and related occupations. 100F. (2012). In *A Review of Human Carcinogens*; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France; ISBN 9789283213239.

International Agency for Research on Cancer (2002). International Agency for Research on Cancer Iarc Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Iarc Monogr Eval Carcinog Risks to Humansarc Monogr Eval Carcinog Risks to Human, 82:1–556.

Iqbal, S. Z., Jinap, S., Pirouz, A. A., ve Faizal, A. A. (2015). Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 46(1), 110-119.

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

Ismail, A. A., Tharwat, N. A., Sayed, M. A., & Gameh, S. A. (2020). Two-year survey on the seasonal incidence of aflatoxin M1 in traditional dairy products in Egypt. *Journal of Food Science and Technology*, 1-8.

Ismail, A., Riaz, M., Levin, R. E., Akhtar, S., Gong, Y. Y., & Hameed, A. (2016). Seasonal prevalence level of aflatoxin M1 and its estimated daily intake in Pakistan. *Food Control*, 60, 461-465.

Joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, & World Health Organization. (2003). *Codex Alimentarius: Food hygiene, basic texts*. Food & Agriculture Org.

Joint, F. A. O., World Health Organization, & WHO Expert Committee on Food Additives. (2016). *Evaluation of certain food additives and contaminants: eightieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. World Health Organization.

Kadir, Ç. E. B. İ., Özyürek, S., & Türkyilmaz, D. (2018). Süt Ve Süt Ürünleri Tüketiminde Tüketici Tercihlerini Etkileyen Faktörler: Erzincan İli Örneği. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(1), 70-77.

Kalač, P., & Samková, E. (2010). The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: A review. *Czech Journal of Animal Science*, 55(12), 521-537.

- Karadal, F., Onmaz, N. E., Hizlisoy, H., Yildirim, Y., Serhat, A. L., ve Gönülalan, Z. (2018). Niğde ilindeki çığ koyun, keçi ve inek sütlerinde aflatoxin M1 düzeyleri. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 11(2), 119-125.
- Karakaya, E., & Akbay, C. (2014). İstanbul İli Kentsel Alanda Tüketicilerin Açık Ve Paket Süt Tüketim Alışkanlıkları. *Turkish Journal of Agricultural Economics*, 20(1).
- Ketney, O., Santini, A., & Oancea, S. (2017). Recent aflatoxin survey data in milk and milk products: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 70(3), 320-331.
- Kırdar, S. S. (2006). Süt ve ürünlerinde mikotoksinler. *Türkiye*, 9, 24-26.
- Knight-Jones, T. J. D., Mylrea, G. E., & Kahn, S. (2010). Animal production food safety: priority pathogens for standard setting by the World Organisation for Animal Health. *Revue scientifique et technique*, 29(3), 523.
- Kos, J. J., Hajnal, E. J., Jajić, I., Krstović, S., Mastilović, J., Šarić, B., & Jovanov, P. (2016). Comparison of ELISA, HPLC-FLD and HPLC-MS/MS methods for determination of aflatoxin M1 in natural contaminated milk samples. *Acta Chimica Slovenica*, 63(4), 747-756
- Kupiec, T. (2004). Quality-control analytical methods: High-performance liquid chromatography. *International journal of pharmaceutical compounding*, 8, 223-227.
- Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti Süt Endüstri Kurumu <http://www.ktsutek.com/haberler/itemlist/date/2020/2/12.html?catid=4> Erişim Tarihi: 30.12.20
- Lewis, L., Onsongo, M., Njapau, H., Schurz-Rogers, H., Lubber, G., Kieszak, S., ... & Kenya Aflatoxicosis Investigation Group. (2005). Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in eastern and central Kenya. *Environmental health perspectives*, 113(12), 1763-1767.
- Li, S., Min, L., Wang, P., Zhang, Y., Zheng, N., & Wang, J. (2017). Aflatoxin M1 contamination in raw milk from major milk-producing areas of China during four seasons of 2016. *Food Control*, 82, 121-125.

- Lindahl, J. F., Kagera, I. N., & Grace, D. (2018). Aflatoxin M 1 levels in different marketed milk products in Nairobi, Kenya. *Mycotoxin research*, 34(4), 289-295.
- Liu, Y., Chang, C. C. H., Marsh, G. M., & Wu, F. (2012). Population attributable risk of aflatoxin-related liver cancer: systematic review and meta-analysis. *European journal of cancer*, 48(14), 2125-2136.
- Lordan, R., Tsoupras, A., Mitra, B., & Zabetakis, I. (2018). Dairy fats and cardiovascular disease: do we really need to be concerned? *Foods*, 7(3), 29.
- Lu, L., Xun, P., Wan, Y., He, K., & Cai, W. (2016). Long-term association between dairy consumption and risk of childhood obesity: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *European journal of clinical nutrition*, 70(4), 414-423.
- Luber, P. (2011). The Codex Alimentarius guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. *Food Control*, 22(9), 1482-1483.
- Madalı, B., & Ayaz, A. (2017). Aflatoxin M1 in Dairy Products: Exposure and Health Risks. *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 4(1), 1-14.
- Madalı, B., Gulec, A., & Ayaz, A. (2018). A survey of Aflatoxin M1 in different milk types in Turkey: risk assessment of children's exposure. *Prog. Nutr*, 20, 659-664.
- Malissiova, E., Tsakalof, A., Arvanitoyannis, I. S., Katsafliaka, A., Katsioulis, A., Tserkezou, P., ... & Hadjichristodoulou, C. (2013). Monitoring Aflatoxin M1 levels in ewe's and goat's milk in Thessaly, Greece; potential risk factors under organic and conventional production schemes. *Food Control*, 34(1), 241-248.
- Manetta, A. C., Giammarco, M., Di Giuseppe, L., Fusaro, I., Gramenzi, A., Formigoni, A., ... & Lambertini, L. (2009). Distribution of aflatoxin M1 during Grana Padano cheese production from naturally contaminated milk. *Food Chemistry*, 113(2), 595-599.
- Marchese, S., Polo, A., Ariano, A., Velotto, S., Costantini, S., & Severino, L. (2018). Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development. *Toxins*, 10(6), 214.

- Martínez-Miranda, M., Taborda-Ocampo, G., & Rosero-Moreano, M. (2015). Validation of a High Performance Liquid Chromatography Method for Aflatoxins Determination in Corn Arepas. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26(4), 797-803.
- Mehenktaş, C. (2019). Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1. *Akademik Gıda*, 17(3), 439-443.
- Melini, F., Melini, V., Luziatelli, F., & Ruzzi, M. (2017). Raw and heat-treated milk: From public health risks to nutritional quality. *Beverages*, 3(4), 54.
- Merve, A. Ç. U., & OCAK, Ö. Ö. (2019). Gıdalarda Aflatoksin Düzeylerinin Belirlenmesinde Kullanılan Analiz Yöntemleri. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4(2), 168-181.
- Mézes, M., Balogh, K., & Tóth, K. (2010). Preventive and therapeutic methods against the toxic effects of mycotoxins—A review. *Acta Veterinaria Hungarica*, 58(1), 1-17.
- Molina, M., & Giannuzzi, L. (2002). Modelling of aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* in a solid medium at different temperatures, pH and propionic acid concentrations. *Food Research International*, 35(6), 585-594.
- Muehlhoff, E., Bennett, A., & McMahon, D. (2013). *Milk and dairy products in human nutrition*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Mullin, G. E., Belkoff, S. M., & Box, R. (2014). Survey to determine why people drink raw milk. *Global advances in health and medicine*, 3(6), 19-24.
- Mutuma, G. Z., Mbuchi, M. W., Zeyhle, E., Fasana, R., Okoth, F. A., Kabanga, J. M., ... & Kaiguri, P. (2011). Prevalence of Hepatitis B Virus (HBV) surface antigen and HBV-associated hepatocellular carcinoma in Kenyans of various ages.
- Mwanza, M., Abdel-Hadi, A., Ali, A. M., & Egbuta, M. (2015). Evaluation of analytical assays efficiency to detect aflatoxin M1 in milk from selected areas in Egypt and South Africa. *Journal of Dairy science*, 98(10), 6660-6667.

- Nadira, A. F., Rosita, J., Norhaizan, M. E., & Redzwan, S. M. (2017). Screening of aflatoxin M1 occurrence in selected milk and dairy products in Terengganu, Malaysia. *Food Control*, 73, 209-214.
- Nazhand, A., Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., & Santini, A. (2020). Characteristics, occurrence, detection and detoxification of aflatoxins in foods and feeds. *Foods*, 9(5), 644.
- Nielsen, K. F., Ngemela, A. F., Jensen, L. B., De Medeiros, L. S., & Rasmussen, P. H. (2015). UHPLC-MS/MS determination of ochratoxin A and fumonisins in coffee using QuEChERS extraction combined with mixed-mode SPE purification. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(3), 1029-1034.
- Nile, S. H., Park, S. W., & Khobragade, C. N. (2016). Occurrence and analysis of aflatoxin M1 in milk produced by Indian dairy species. *Food and Agricultural Immunology*, 27(3), 358-366.
- O'Riordan, M. J., & Wilkinson, M. G. (2008). A survey of the incidence and level of aflatoxin contamination in a range of imported spice preparations on the Irish retail market. *Food Chemistry*, 107(4), 1429-1435.
- Ostry, V., Malir, F., Toman, J., & Grosse, Y. (2017). Mycotoxins as human carcinogens—the IARC Monographs classification. *Mycotoxin research*, 33(1), 65-73.
- Owusu-Kwarteng, J., Akabanda, F., Agyei, D., & Jespersen, L. (2020). Microbial safety of milk production and fermented dairy products in Africa. *Microorganisms*, 8(5), 752.
- Özkaya, Ş., & Temiz, A. (2003). Aflatoksinler: Kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(01), 1-2.
- Paraffin, A. S., Zindove, T. J., & Chimonyo, M. (2018). Household consumption preferences of dairy products and their perceptions of milk safety. *Journal of Food Safety*, 38(2), e12428.

- Paraffin, A. S., Zindove, T. J., & Chimonyo, M. (2018). Perceptions of factors affecting milk quality and safety among large-and small-scale dairy farmers in Zimbabwe. *Journal of Food Quality*, 2018.
- Parnell, W., Wilson, N., Thomson, C., Mackay, S., & Stefanogiannis, N. (2011). A focus on nutrition: key findings of the 2008/09 New Zealand Adult Nutrition Survey. *Ministry of Health: Wellington, New Zealand*.
- Peña, R., Alcaraz, M. C., Arce, L., Ríos, A., & Valcárcel, M. (2002). Screening of aflatoxins in feed samples using a flow system coupled to capillary electrophoresis. *Journal of chromatography A*, 967(2), 303-314.
- Pereira, P. C. (2014). Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30(6), 619-627.
- Pfeuffer, M., & Watzl, B. (2018). Nutrition and health aspects of milk and dairy products and their ingredients. *Ernahrungs Umschau*, 65(2), 22-33.
- Pietrzak-Fiećko, R., & Kamelska-Sadowska, A. M. (2020). The Comparison of Nutritional Value of Human Milk with Other Mammals' Milk. *Nutrients*, 12(5), 1404.
- Pocketbook, F. S. (2015). World food and agriculture. *FAO Rome Italy*.
- Popović-Vranješ, A., Popović, M., & Jevtić, M. (2015). Raw milk consumption and health. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo*, 143(1-2), 87-92.
- Prandini, A., Tansini, G. I. N. O., Sigolo, S., Filippi, L. A. U. R. A., Laporta, M., & Piva, G. (2009). On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and chemical toxicology*, 47(5), 984-991.
- Puga-Torres, B., Salazar, D., Cachiguango, M., Cisneros, G., & Gómez-Bravo, C. (2020). Determination of Aflatoxin M1 in Raw Milk from Different Provinces of Ecuador. *Toxins*, 12(8), 498.
- Qin, L. Q., Xu, J. Y., Han, S. F., Zhang, Z. L., Zhao, Y. Y., & Szeto, I. M. (2015). Dairy consumption and risk of cardiovascular disease: an updated meta-analysis of prospective cohort studies. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 24(1), 90-100.

- Raziani, F., Tholstrup, T., Kristensen, M. D., Svanegaard, M. L., Ritz, C., Astrup, A., & Raben, A. (2016). High intake of regular-fat cheese compared with reduced-fat cheese does not affect LDL cholesterol or risk markers of the metabolic syndrome: a randomized controlled trial. *The American journal of clinical nutrition*, *104*(4), 973-981.
- Rizzoli, R. (2014). Dairy products, yogurts, and bone health. *The American journal of clinical nutrition*, *99*(5), 1256S-1262S.
- Rushing, B. R., ve Selim, M. I. (2019). Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. *Food and Chemical Toxicology*, *124*, 81-100.
- Şanlı, E. (2017). *Yetişkin Bireylerde Süt ve Süt Ürünleri Tüketim Alışkanlığı ve Süte Karşı Hassasiyet Belirtileri Üzerine Bir Araştırma* (Master's thesis, Eastern Mediterranean University (EMU)-Doğu Akdeniz Üniversitesi (DAÜ)).
- Sarkar, S. (2016). Microbiological safety concerns of raw milk. *Safety*, *24*, 1-7.
- Scaglioni, P. T., Becker-Algeri, T., Drunkler, D., & Badiale-Furlong, E. (2014). Aflatoxin B1 and M1 in milk. *Analytica chimica acta*, *829*, 68-74.
- Serraino, A., Bonilauri, P., Kerekes, K., Farkas, Z., Giacometti, F., Canever, A., ... & Ambrus, Á. (2019). Occurrence of Aflatoxin M1 in raw milk marketed in Italy: Exposure assessment and risk characterization. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 2516.
- Sherma, J., & Fried, B. (2011). Thin-Layer and High Performance Thin Layer Chromatographic Analysis of Biological Samples. *Advances in chromatography*, *49*, 401-421.
- Singh, R. (2013). HPLC method development and validation-an overview. *Journal of Pharmaceutical Education & Research*, *4*(1).
- Sirma, A. J., Makita, K., Grace Randolph, D., Senerwa, D., & Lindahl, J. F. (2019). Aflatoxin exposure from milk in rural Kenya and the contribution to the risk of liver cancer. *Toxins*, *11*(8), 469.

Straley, B. A., Donaldson, S. C., Hedge, N. V., Sawant, A. A., Srinivasan, V., Oliver, S. P., & Jayarao, B. M. (2006). Public health significance of antimicrobial-resistant gram-negative bacteria in raw bulk tank milk. *Foodborne Pathogens & Disease*, 3(3), 222-233.

Sugiyama K, Hiraoka HV, SugitaKonishi Y. (2008). Aflatoxin M1 contamination in raw bulk tank milk and the presence of aflatoxin B1 in corn supplied to dairy cattle in Japan. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. 49(5):352-355

Sweesi, M., Ahmed, M. O., Benothman, M., & Ashraf, W. M. (2020). Determination of the Effect of Three Libyan Herbal Plants on the Quality and Taste of Milk in Aljfarah District, Libya. *Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology*, 49-54.

T. C. Sağlık Bakanlığı. Türkiye Beslenme Rehberi (TÜBER). (2015). Sağlık Bakanlığı Yayınları, Ankara.

Tajik, H., Rohani, S. M. R., & Moradi, M. (2007). Milk in Urmia, Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(22), 4103-4107.

TGK, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, 2011 (13.11.2019Tarih ve 28157 (3. Mükerrer) Sayılı RG).

Thorning, T. K., Raben, A., Tholstrup, T., Soedamah-Muthu, S. S., Givens, I., & Astrup, A. (2016). Milk and dairy products: good or bad for human health? An assessment of the totality of scientific evidence. *Food & nutrition research*, 60(1), 32527.

Thorning, T. K., Raziani, F., Bendtsen, N. T., Astrup, A., Tholstrup, T., & Raben, A. (2015). Diets with high-fat cheese, high-fat meat, or carbohydrate on cardiovascular risk markers in overweight postmenopausal women: a randomized crossover trial. *The American journal of clinical nutrition*, 102(3), 573-581.

Trajkovska, B., Kuzmanovska, L., Kochoski, L., Elmazi, K., Makarijoski, B., & Karapetkovska-Hristova, V. (2017). A survey of seasonal variations of aflatoxin M1 in raw milk in Polog and Pelagonia region. *Scientific Works of University Of Food Technologies*, 64(1), 139-143.

Tuncay, C. (2016). K.K.T.C. Lefkoşa Bölgesinde Yaşayan 8-10 Yaş Grubu İlkokul Öğrencilerinin Beslenme İle Yaşam Tarzi Örüntüsünün Belirlenmesi. (Master's thesis, Near East University (NEU)-Yakın Doğu Üniversitesi (YDÜ)).

Turner, N. W., Subrahmanyam, S., & Piletsky, S. A. (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. *Analytica chimica acta*, 632(2), 168-180.

Ünal, R. N., & Besler, H. T. (2008). Beslenmede sütün önemi. *Sağlık Bakanlığı Yayın*, 727.

Urgu, M., Saatli, T. E., Türk, A., & Koca, N. (2017). Isıl işlem görmüş içme sütlerinde (Pastörize, UHT ve Laktozsuz UHT Süt) hidroksimetilfurfural içeriğinin belirlenmesi. *Akademik Gıda*, 15(3), 249-255.

Velázquez-Ordoñez, V., Valladares-Carranza, B., Tenorio-Borroto, E., Talavera-Rojas, M., Varela-Guerrero, J. A., Acosta-Dibarrat, J., ... & Pareja, L. (2019). Microbial contamination in milk quality and health risk of the consumers of raw milk and dairy products. *Nutrition in Health and disease-our challenges Now and Forthcoming time*.

Verma, R. J. (2004). Aflatoxin cause DNA damage. *International Journal of Human Genetics*, 4(4), 231-236.

Visentin, G., McParland, S., De Marchi, M., McDermott, A., Fenelon, M. A., Penasa, M., & Berry, D. P. (2017). Processing characteristics of dairy cow milk are moderately heritable. *Journal of dairy science*, 100(8), 6343-6355.

Vose, D. (2008). *Risk analysis: a quantitative guide*. John Wiley & Sons.

Wall, P. E. (2007). *Thin-layer chromatography: a modern practical approach*. Royal Society of Chemistry.

Wen, J., Kong, W., Wang, J., & Yang, M. (2013). Simultaneous determination of four aflatoxins and ochratoxin A in ginger and related products by HPLC with fluorescence detection after immunoaffinity column clean-up and postcolumn photochemical derivatization. *Journal of separation science*, 36(23), 3709-3716.

- Whitlow, L. W., Hagler, W. M., & Diaz, D. E. (2002). Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs*, 74(28), 1-10.
- Wild, C. P., & Turner, P. C. (2002). The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis*, 17(6), 471-481.
- Wild, C. P., Baan, R. A., Gelderblom, W. C., Miller, J. D., Riley, R. T., & Wu, F. (2012). *Improving public health through mycotoxin control*. J. I. Pitt (Ed.). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- Xiong, J. L., Wang, Y. M., Ma, M. R., & Liu, J. X. (2013). Seasonal variation of aflatoxin M1 in raw milk from the Yangtze River Delta region of China. *Food control*, 34(2), 703-706.
- Yerlikaya, O. K. T. A. Y., & Kinik, Ö. (2019). Gıda Güvenliği Ve İnsan Sağlığı Açısından Çiğ Ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütü Tüketimi. *Gıda Ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (22), 1-11.
- Yıbar, A., & Küçük, S. C. (2019). Çiğ Süt Ve Pastörize Süt Tüketiminin Halk Sağlığı Üzerine Etkileri. *Food and Health*, 5(3), 197-204.
- Yu, J. (2012). Current understanding on aflatoxin biosynthesis and future perspective in reducing aflatoxin contamination. *Toxins*, 4(11), 1024-1057.
- Zhao, Z., Liu, N., Yang, L., Deng, Y., Wang, J., Song, S., ... & Hou, J. (2015). Multi-mycotoxin analysis of animal feed and animal-derived food using LC-MS/MS system with timed and highly selective reaction monitoring. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 407(24), 7359-7368.
- Zhu, R., Zhao, Z., Wang, J., Bai, B., Wu, A., Yan, L., & Song, S. (2015). A simple sample pretreatment method for multi-mycotoxin determination in eggs by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1417, 1-7.

8. EKLER

EK-1 TEZDEN YAPILAN YAYINLAR, POSTERLER VE SÖZEL SUNUMLAR

Determination of Aflatoxin M1 in Raw Milk:

A Review of an Island Sample with the HPLC Method

Cangül Tuncay^{1,2}, Adile Öñiz¹

¹Near East University, Faculty of Health Sciences, Cyprus

²Kyrenia University, Faculty of Health Sciences, Cyprus

Corresponding Author: Cangül Tuncay^{1,2}

cangul.tuncay@kyrenia.edu.tr

**Determination of Aflatoxin M1 in Raw Milk:
A Review of an Island Sample with the HPLC Method**

Abstract

This study has been conducted to determine the frequency of aflatoxin M1 (AFM1) contamination in raw milk produced across six zones of Cyprus between 2018-2020 in accordance with seasonality and production regions. A total of 1,026 samples of raw milk were collected from the different production regions of the 6 provinces between September 2018 and August 2020. AFM1 analyses were conducted using the HPLC method. On average, AFM1 contamination of the total of 1,026 raw milk samples was determined to be 26.4 ± 17.96 ng/L. It was found that only 11.4% of the raw milk samples exceeded the legal limit of the European Union (50 ng/L). AFM1 contamination incidence in raw milk samples is much higher in autumn and winter (average 31.77 ± 19.21 ng/L and 26.96 ± 20.77 ng/L, respectively) compared to spring and summer (average 19.00 ± 18.53 ng/L and 7.51 ± 11.31 ng/L, respectively). For this reason, it is important to monitor AFM1 contamination in raw milk in autumn and winter. This comprehensive study, which is known as the first of its kind in Cyprus, will promote the management and future risk analysis of AFM1 contamination in raw milk across the region.

Keywords: Raw milk, aflatoxin M1, HPLC, food safety

1. Introduction

Aflatoxin M1, which can be found in milk and dairy products, can have adverse effects on the health of individuals who consume dairy products in large amounts (1, 2). These are compounds that have adverse effects on human and animal health, mainly due to their tumorigenesis, liver damage, immune system suppression, mutagenic, teratogenic and carcinogenic effects (3).

Aflatoxins, which are produced by the mycotoxigenic moulds of the *Aspergillus* genus, are the most studied mycotoxins group in different foods and feed products. Aflatoxins are toxic fungal metabolites may be found in foods (4). They are mainly produced by *A. flavus*, *A. parasiticus* and *A. nominus* and they cause contamination of plants, plant products and other foods (5, 6). Among aflatoxins, Aflatoxin B1 (AFB1) is a particularly toxic, mutagenic and teratogenic compound that causes DNA damage, gene mutation, chromosomal abnormalities and cell transformation and it is defined as a class 1 human carcinogen (4, 7).

Mycotoxins, which are produced by certain mould species and have toxic, carcinogenic, mutagenic, teratogenic and oestrogenic effects on humans and animals, can be present in dairy products due to two reasons (8, 9). The first one is the contamination of the feed consumed by dairy animals followed by the metabolization of the toxins in the feeds and the transfer of the metabolites to the milk which resultantly causes contamination, while the second is the formation of mycotoxins as a result of the direct exposure of the dairy product to mould contamination (8, 10).

When the animals are fed with feeds contaminated with AFB1 and AFB2, the toxin is metabolised in the digestive tract causing the formation of AFM1 and AFM2 in the milk, which becomes the monohydroxy derivative in the liver of the animal. AFM1 and AFM2 are excreted from the body of the animal via milk, urine and faeces. The level of AFM1 in the milk varies depending on the level of AFB1 the dairy animal has ingested through the feeds. AFM1 can be detected in raw milk from 6 to 24 hours after the ingestion of AFB1 by feeds, where it reaches its highest level within 12-48 hours and decreases 72-96 hours after the AFB1 intake is ceased (11, 12). However, this amount may change depending on the animal's breed,

lactation period and milk levels. In addition, since the AFM1 contaminated raw milk can contaminate all of the milk in the process tanks, even when it is added in very small amounts, the incidence of AFM1 in heat treated milk is higher compared to raw milk (13).

Aflatoxin production of moulds is affected by environmental changes such as temperature, pH, water capacity, moisture and oxygen. Aflatoxins are only synthesized between 12-42 °C and the optimal temperature for synthesis is 25-35 °C (14). Depending on different conditions, the aflatoxin production duration may vary between 24 hours and 4-10 days. According to previous studies, it has been reported that the minimum water activity in foods should be 0.85 for aflatoxin production. Aflatoxins, which are extremely durable in normal temperatures, require temperatures above 300°C for complete decomposition. Therefore, “Low-temperature long-time” pasteurisation (30 minutes at 63-65 °C), “High-temperature short-time” pasteurisation (15-20 seconds at 72-75 °C), “Very-high temperature” pasteurisation (15 seconds at 85°C and 90°C) and ultra high temperature (UHT) sterilisation (2-5 seconds at 135°C-150°C) methods do not decrease the aflatoxin amounts in milk (15).

Aflatoxins are easily synthesised in various grains, feed and feed raw materials and foods including peanuts, corn and cotton seeds that contain 15% or higher moisture (16). The presence of CO₂ and O₂ affect the reproduction of aflatoxins and formation of mould. The 20% CO₂ level in the air significantly suppresses the production of aflatoxin and mould growth. A 10% decrease in the oxygen concentration in the air suppresses the production of aflatoxin (17). Although moulds can grow within a wide range of pH (2.1-11.2), the optimum level of aflatoxin occurs at pH 6.0 (15, 18).

In order to determine AFM1 levels, immunochemical methods are used in general, including HPLC, ELISA (enzyme immunoassay), RIA (radioimmunoassay) and TLC (thin-layer chromatography) (19). The HPLC method is the most widely used and preferred due to its high precision and cost effectiveness (20, 21). The reasons for its wide use include its precision, ease of adaptability to quantitative determination, and suitability for the separation of non-

volatile compounds or compounds that are easily degradable in heat. Most importantly, it is adaptable to many materials which are of primary concern for many fields of industry and the community (22, 23).

AFM1 levels in milk and dairy products are not affected by processes such as UHT, pasteurisation, fermentation, cold storage, freezing, concentration or dehydration (24). Due to the fact that aflatoxins are not inactivated by processes such as UHT and pasteurisation, AFM1 can not only be found in milk, but also in dairy products such as yoghurt, cheese, butter, cream, ice-cream, and dairy-based desserts (16). As AFM1 does not disappear during production processes or heat treatments, it is very important to provide the utmost effective control of these metabolites in raw milk and dairy products according to the maximum residue levels determined by the European Union. According to the Codex Alimentarius standards, EU (European Union) regulations and the Turkish Food Codex, the maximum level of AFM1 in milk should be 50 ng/L (15, 18, 25, 26). The presence of AFM1 in milk and dairy products is very important for adults and especially children, who constitute the group that consumes these products the most. Compared to adults, babies and children are more susceptible to the negative effects of mycotoxins (8).

AFM1 levels in raw milk and dairy products vary depending on the country and geographical location (27). AFM1, which can be found in raw milk in high levels, poses a great threat for the public health. Our study aims to determine the AFM1 levels in samples of raw milk collected from dairy farms in Northern Cyprus and to evaluate the results with regard to public health, mainly due to the fact that no previous studies have been conducted on the aflatoxin levels in raw milk in our country.

2. Materials and Methods

2.1. Study Area and Choice

All milk production facilities and farms under the umbrella of the Dairy Industry Foundation (SUTEK) in Cyprus were included in the study. The milk samples were collected from dairy farms in all provinces – Nicosia (Zone 1), Kyrenia (Zone 2), Famagusta (Zone 3), Trikomo (Zone 4), Morphou (Zone 5) and Lefka (Zone 6) - in all four seasons between September 2018 and August 2020. The samples were analysed at the laboratories of the Dairy Industry Foundation (SUTEK) located in Nicosia.

2.2. Sampling

Of the total of 1,026 raw milk samples used in the study, 477 samples were collected from Zone 1, 83 samples from Zone 2, 357 samples from Zone 3, 63 samples from Zone 4, 38 samples from Zone 5 and 8 samples from Zone 6. The reason that the number of samples collected from Zone 4, Zone 5 and Zone 6 provinces were so low is because of minimal milk production in these regions. All samples were collected on site. Milk samples (1 L) were collected from each producer in separate sterile sample containers and transported under cold chain to the laboratory for analysis.

2.3. Measuring Methods

In the study, the HPLC (high performance liquid chromatography) method was used to detect the presence of AFM1 in raw milk samples.

2.3.1. AFM1 analysis by HPLC

Preparation of the AFM1 Standards

Calibration standards were prepared with the necessary dilutions from AFM1 standard solution and the calibration curve was drawn by making the injections. The dilutions were arranged by making the necessary calculations according to the main stock concentrations of the obtained AFM1 standard (Biopharm Rhone Ltd. Aflatoxin M1 Standard is used).

2.3.2. Sample Preparation,

Calculation of Aflatoxin M1 in HPLC

Approximately 100-150ml of each of the milk samples obtained from each producer were transferred to a 250ml beaker and heated on a heater up to 35-37°C. Afterwards, they were filtered through Whatman No: 4 filter paper. If the milk contained too much fat, it was centrifuged at 4000 rpm for 10 minutes and the thin fat layer collected at the top was removed and then it was filtered through Whatman No: 4 filter paper. 50ml of milk was taken from the filtrate and prepared to be suitable to flow through IAC immuno-affinity column chromatography. The IAC was brought to room temperature before use. All of the 50ml filtrate flowed through the IAC column at room temperature. The speed that the filtrate flowed through the IAC was approximately 3ml/min. The column was washed by passing 20ml of water through the IAC as the filtrate was about to finish. At the end of the wash, the column was dried by passing air through the IAC using a syringe.

Later, the toxins were obtained in a clean tube after a 12.5ml Methanol-Acetonitrile (20:30) mixture was passed through the IAC. Then, 1.25ml water was passed through the IAC and added to the tube so the total volume increased to 2.5ml. The mixture containing the toxins was transferred to a 2ml amber coloured vial and 100ul was injected into the HPLC. The sample was analysed using the calibration curve and the AFM1 value was determined. These results were divided by 2, representing the dilution factor, and the AFM1 level in the sample was then calculated.

2.4. Statistical Analysis

The results were analysed with SPSS statistics programme (IBM® SPSS © Statistics Version 18.0). The results are expressed as average, standard deviation, minimum and maximum AFM1 concentration. The Mann-Whitney U test was used in order to determine whether there were any differences between the examined milk samples according to years.

3. *Results*

A total of 1,026 raw milk samples were collected between September 2018-August 2020. AFM1 levels in the raw milk samples were measured in all seasons (autumn, winter, spring and summer) during the years. The AFM1 levels in milk in the different seasons are presented in Table 1.

The recorded average AFM1 level was highest in autumn (31.77 ± 19.21 ng/L), and lowest in summer (7.51 ± 11.31 ng/L). The recorded average AFM1 levels in four different seasons in descending order were as follows: autumn (31.77 ± 19.21 ng/L), winter (26.96 ± 20.77 ng/L), spring (19.00 ± 18.53 ng/L), and summer (7.51 ± 11.31 ng/L). Seasonally, the percentage of milk samples above the legal limit allowed by the EU in autumn, winter, spring and summer were recorded as 16%, 16.2%, 4.5% and 1.6%, respectively (Table 1).

It was observed that the AFM1 levels increased in September, at the beginning of autumn, and reached the maximum level in November (35.88 ± 18.22 ng/L) as the weather started to cool in Cyprus, which has a Mediterranean climate, and it reached the lowest level in August (5.84 ± 8.45 ng/L). It was also identified that the AFM1 levels periodically increased towards the winter months and started to decrease as the weather began to get warmer. It was detected that there was a significant difference between the AFM1 levels in raw milk in the autumn and winter months compared to the levels in the spring and summer months ($p < 0.05$) (Table 1).

Table 1. Average AFM1 levels in raw milk between 2018 – 2020 according to seasons

Months	N	Mean (ng/L)	Min – Max (ng/L)	Above EU limit (%)
Autumn				
September	38	33.68±43.56	0-271	13.2
October	114	29.49±23.24	0-91	13.8
November	167	35.88±18.22	0-107	21.2
Total	319	31.77±19.21	0-104	16.0
Winter				
December	338	32.29±22.99	0-157	22.5
January	166	34.95±19.02	0-83	19.9
February	175	14.77±18.73	0-80	6.3
Total	492	26.96±20.77	0-112	16.2
Spring				
March	97	19.49±20.52	0-96	8.2
April	19	21.78±15.32	0-58	5.3
May	25	14.52±10.55	0-38	0.0
Total	138	19.00±18.53	0-96	4.5
Summer				
June	21	11.61±16.87	0-75	4.8
July	27	7.00±8.00	0-18	0.0
August	32	5.84±8.45	0-27	0.0
Total	77	7.51±11.31	0-75	1.6

There was a significant difference between the AFM1 levels in raw milk in the autumn and winter months compared to the levels in the spring and summer months (respectively p values; autumn-spring p= 0.01, autumn-summer p= 0.00, winter-autumn p= 0.00, winter-summer p= 0.00).

Figure 1 shows the seasonality of the AFM1 levels and monthly shifts. AFM1 levels were found to be highest in autumn and lowest in summer. Compared to the spring and summer months, the incidence of AFM1 levels being above the limits (>50 ng/L) was higher in the autumn and winter months, as the weather cools and rainfall increases. Of the analysed milk samples, it was detected that 16.0% in autumn, 16.2% in winter, 4.5% in spring and 1.6% in summer were above the EU legal limit (50 ng/L). The AFM1 levels of milk samples taken in different seasons were significantly different (Table 1).

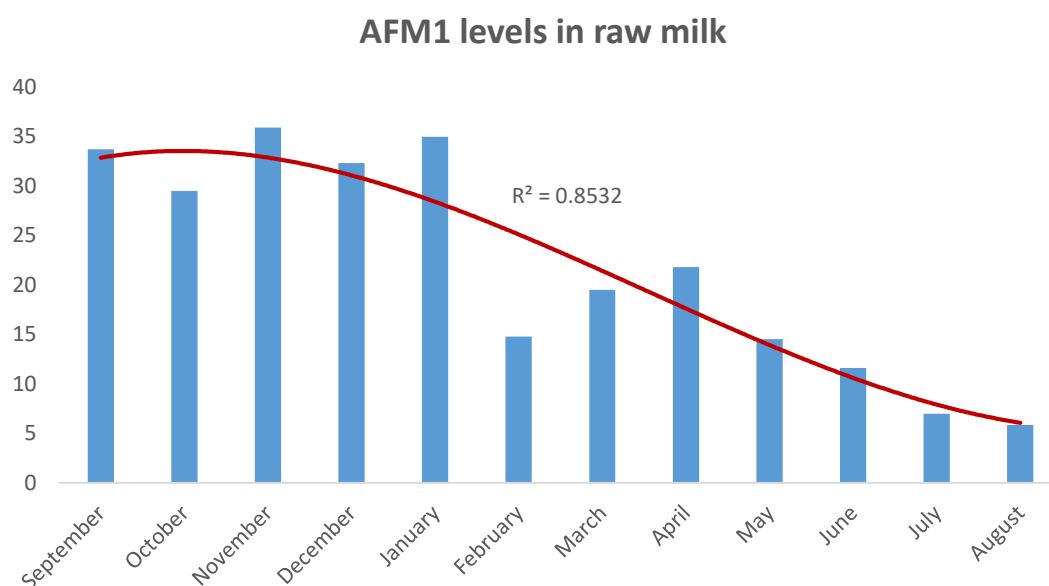


Figure 1. The three-year monthly average frequency of aflatoxin M1 (AFM1) levels in raw milk between 2018 and 2020. The horizontal axis depicts the months. The vertical axis depicts the AFM1 levels (ng/L). The columns represent the relevant average frequency in the specified month. The curve depicts the trendline across the months ($R^2 = 0.8532$).

The farmers' association was contacted with regard to dairy corporation (i.e., SUTEK). The association acts as a regulatory body to enable clean and accessible milk throughout the population. All of the areas that supplied milk – comprising six zones - were studied. The distribution of all Zone 1 (13.5%), Zone 6 (12.5%), Zone 5 (11.7%), Zone 2 (10.1%), Zone 3 (9.9%) and Zone 4 (7.9%) is as follows (Table 2).

Table 2. Stated according to distribution of AFM1 rates based on provinces that exceeds the EU legal limit

Zone	N	Above EU limit (%)
Zone 1	477	13.5
Zone 6	8	12.5
Zone 5	38	11.7
Zone 2	83	10.1
Zone 3	357	9.9
Zone 4	63	7.9

An average of 26.4±17.96 ng/L AFM1 was detected for the total of 1,026 raw milk samples analysed over 2 years within the scope of this study. Detected AFM1 levels of the analysed milk samples according to years are displayed in Table 3. Of the raw milk samples examined by years, it was detected that they contained 30.91±19.04 ng/L, 28.41±18.61 ng/L and 19.95±16.23 ng/L AFM1 for 2018, 2019, and 2020, respectively.

Table 3. Average Aflatoxin M1 levels according to years

Year	N	Mean (ng/L)	Min-Max (ng/L)	Above EU limit (%)
2018	311	30.91±19.04	0-85	17.6
2019	397	28.41±18.61	0-82	12.2
2020	318	19.95±16.23	0-96	4.4
Total	1026	26.4±17.96	0-96	11.4

4. Discussion

AFM1 toxins, which can be found in milk and dairy products that are among the essential food sources for humans, pose a potential risk for human health. For this reason, it is of utmost importance that the presence and level of AFM1 in milk and dairy products are identified.

In this study, we analysed 1,026 raw milk samples taken over a period of two years using the HPLC method and detected an average of 26.4±17.96 ng/L AFM1 level where 11.4% of the samples exceeded the legal limits. In a similar study carried out in Malaysia in 2016, it was detected that 35.8% of the 53 milk and dairy product samples contained AFM1 and 7.5% exceeded the legal limits (28). In another study conducted in Italy in 2016, it was detected that 12.3% of 416 raw milk samples contained AFM1 levels above 0.05 µg/L (29). In a field work carried out in Elazig in 2018, it was detected that 27% of 60 raw milk samples did not contain AFM1, 60% contained AFM1 within the legal limits and 13% contained AFM1 above the legal limits (30). In a research conducted in Kars in 2019, the AFM1 levels of 50 raw milk samples were found to be below the limits in 44% of the samples and 56% of the samples contained different levels of AFM1 (31). In Kenya in a project conducted in 2018, a total

of 291 milk samples were collected (raw, pasteurised, UHT milk and yoghurt) and AFM1 levels were analysed using ELISA kits. As a result of the study, it was found that 50% of the samples exceeded 50 ng/kg (32). According to the results of a study that included 221 raw milk samples collected from four different dairy farms during autumn 2011 in Varamin, a region in Tehran province of Iran, it was detected that 26.7% of the analysed samples were contaminated with AFM1, which confirmed that preventive measures are necessary to reduce contamination (33). In an investigation conducted in Turkey in 2018, it was reported that the AFM1 concentration detected in 135 milk samples was 8.6 ± 4.57 ng/L and none of the samples exceeded the AFM1 limits set out by the Turkish Food Codex Regulation (34). AFM1 levels vary between countries and according to the geographical location. According to these studies, it is evident that there is a seasonal variation in the presence of AFM1. It is stated that, compared to the summer months, the moisture levels in feeds increase in winter months due to the increased rainfall, the animals are generally given mixed feeds and the feeds given to animals are subject to poor storage conditions in winter, which means that the incidence of AFM1 is higher compared to the warmer seasons (32, 35, 36).

This study also found that AFM1 levels vary according to the seasons. The average recorded AFM1 level was the highest in autumn and lowest in summer. In order from high to low, the AFM1 levels detected in the four different seasons of the year were autumn, winter, spring, and summer, respectively. The reason why the AFM1 levels are higher in the autumn and winter months compared to summer is due to the increased rainfall, suitable heat and higher moisture levels in autumn and winter, which are conducive to toxin production in addition to the fact that the animals are generally given mixed feeds (37). In a research conducted in China in 2016 with 5,650 raw milk samples, it was reported that the incidence of AFM1 contamination was much higher in winter months (10.2%) compared to spring, summer and autumn months (3.0%, 2.1%, 4.4%, respectively) (38). In a study conducted in Pakistan between 2013-2014 with 520 raw milk samples, the detected seasonal prevalence of AFM1 from high to low was identified to be winter, spring, autumn and summer,

respectively. They stated that 53% of the milk samples exceeded the legal limits and that the community was at high risk of being exposed to health problems related to AFM1 (27). In another study carried out in 2019 in Ecuador, 209 raw milk samples were collected in both the dry (June and August) and rainy (April and November) seasons. The study findings indicated that the AFM1 levels in 59.3% of the milk samples exceeded the EU legal limits, whereas only 1.9% exceeded the legal limit in Ecuador. As a result of the study, significant differences were found between provinces with respect to months, season, and climate (39). In another report in 2017, which researched the seasonal differences between AFM1 levels, it was reported that among the 360 raw milk samples collected from the Polog and Pelagonia regions, the highest sample incidence that exceeded the maximum residual level (MRL) was observed in the winter months in both regions ($0.135 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; $1.003 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ respectively). Considering the seasonal variation, it was reported that AFM1 incidence and levels in raw milk samples obtained in the winter months were significantly higher than the samples obtained in summer and there was a statistically significant difference between the samples obtained in spring and summer (40).

In this study, when we compared the AFM1 levels by years, while the AFM1 levels were higher in 2018, a decrease was observed in 2020 due to inspections and trainings. The reason for this is that the dairy institution conducts regional public trainings every year and inspects the milk and dairy product producers. A significant difference was detected between years. It can be stated that the reason that the AFM1 levels were higher in 2018 and then decreased in 2020 is due to the state inspections and trainings given to producers. In an analysis in Italy, which researched the presence of AFM1 in a total of 31,702 milk samples from six dairy processing facilities between April 2013 and December 2018, it was reported that the AFM1 levels detected in 2017 and 2018 were approximately the same as the AFM1 levels detected between December 2014 and December 2015. In addition, the results indicated that AFM1 contamination between September 2015 and December 2016 was almost as high as in 2013. In this comprehensive study, it was also reported that the

variability of climate conditions which affect the AFB1 contamination in feed and thus AFM1 contamination in milk for years, justified the continuous surveillance and updating of risk assessment (41). In Egypt, 120 raw milk samples were examined to determine the AFM1 levels in different seasons in 2016 and 2017. For the two years, the proportions of samples that exceeded the legal limits were reported as 21.6% and 18.3%, respectively. Despite the seasonal changes that affect the production of AFM1, it has been reported that AFM1 levels were significantly higher ($P \leq 0.001$) in the samples collected in winter compared to those collected in summer (42).

5. Conclusion

In this study, the use of the HPLC method provided fast results with high precision. As a result of the study, we detected that the AFM1 levels in raw milk samples were in accordance with the European Commission and Turkish Food Codex limits (<50 ng/L) and pose no risk for public health. According to previous results presented in the literature, in Cyprus, the detected AFM1 levels are lower than other countries, and it can be observed that the AFM1 levels have significantly decreased over the years as a result of the milk and dairy product producers training provided. However, we detected different concentrations of AFM1 in the samples we examined. The incidence of AFM1 contamination was particularly high in autumn and winter due to the rainfall and moisture. Therefore, dairy production must be closely monitored and inspected, particularly during these seasons.

The limitations of the study may be that the milk and dairy product producers producing unregistered milk could not be identified.

Regular trainings and seminar programs should be provided for milk and dairy product producers, animal breeders, dairy processing facility owners and employees to raise awareness of the potential health problems caused by aflatoxins and their consequences. Public health will be protected by implementing Good Agricultural Practice, (GAP) and increasing awareness of the producers and consumers.

In addition, forming databases and detecting any possible changes in AFM1 levels in foods may be a useful step towards managing any potential emergencies.

Acknowledgment

This study was supported by the Dairy Industry Foundation (SUTEK). The authors do not declare any potential conflict of interest.

References

1. Duarte, S. C., Almeida, A. M., Teixeira, A. S., Pereira, A. L., Falcão, A. C., Pena, A., & Lino, C. M. (2013). Aflatoxin M1 in marketed milk in Portugal: Assessment of human and animal exposure. *Food Control*, 30(2), 411-417. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.08.002>
2. Ergün, S. G., Özkan, S., & Abbasoğlu, U. (2016). Investigation of aflatoxin B1 levels in red-scaled pepper by ELISA. *Gazi Medical Journal*, 27(4). <http://dx.doi.org/10.12996/gmj.2016.61>
3. Campagnollo, F. B., Ganey, K. C., Khaneghah, A. M., Portela, J. B., Cruz, A. G., Granato, D., ... & Sant'Ana, A. S. (2016). The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of aflatoxin M1: A review. *Food control*, 68, 310-329. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.007>
4. Türel, G. Y., & Calapoğlu, N. Ş. (2017). Mikotoksinler ve moleküler düzeydeki etkileri. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 24(1), 13-28.
5. Delialioğlu, N., Otağ, F., Ocal, N. D., Aslan, G., & Emekda, G. (2010). Investigation of aflatoxin M1 levels in raw and market milks in Mersin Province, Turkey. *Mikrobiyoloji bulteni*, 44(1), 87-91.
6. Fallah, A. A., Fazlollahi, R., & Emami, A. (2016). Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk of four dairy species in Yazd, Iran. *Food Control*, 68, 77-82. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.03.018>

7. Deligöz, E., & Bilge, N. (2017). Threat Coming with Milk: Aflatoxin. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 5(8), 846-857. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i8.846-857.1111>
8. Iqbal, S. Z., Jinap, S., Pirouz, A. A., & Faizal, A. A. (2015). Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 46(1), 110-119. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.08.005>
9. Ketney, O., Santini, A., & Oancea, S. (2017). Recent aflatoxin survey data in milk and milk products: A review. *International journal of dairy technology*, 70(3), 320-331. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12382>
10. Kos, J. J., Hajnal, E. J., Jajić, I., Krstović, S., Mastilović, J., Šarić, B., & Jovanov, P. (2016). Comparison of ELISA, HPLC-FLD and HPLC-MS/MS methods for determination of aflatoxin M1 in natural contaminated milk samples. *Acta Chimica Slovenica*, 63(4), 747-756. <http://dx.doi.org/10.17344/acsi.2016.2451>
11. İşleyici, Ö., Sancak, Y. C., Sancak, H., & Yücel, U. M. (2015). Determination of Aflatoxin M1 Levels in Unpackaged Sold Raw Cow's Milk. *Van Veterinary Journal*, 26(3), 151-155.
12. Frazzoli, C., Gherardi, P., Saxena, N., Belluzzi, G., & Mantovani, A. (2017). The hotspot for (global) one health in primary food production: Aflatoxin M1 in dairy products. *Frontiers in public health*, 4, 294. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00294>
13. Çankırı, B., & Uyarlar, C. (2013). Mikotoksinlerin süt sığırlarının beslenmesindeki yeri ve önemi. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 6(2), 57-69. doi:[10.5578/kvj.6339](https://doi.org/10.5578/kvj.6339)
14. Whitlow, L. W., & Hagler, W. M. (2010). Mold and mycotoxin issues in dairy cattle: effects, prevention and treatment. *Adv Dairy Technol*, 20, 195-209.
15. TGK, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği, Last Modified December 29, 2011. Accessed September 8, 2020. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8.htm>

16. Hassan, H. F., & Kassaify, Z. (2014). The risks associated with aflatoxins M1 occurrence in Lebanese dairy products. *Food Control*, 37, 68-72. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.022>
17. Özkaya, Ş., & Temiz, A. (2003). Aflatoksinler: Kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(01), 1-2.
18. Monograph, I.A.R.C. (2012). Chemical Agents and Related Occupations volume 100F, A Review of Human Carcinogens. *Lyon, France: International Agency for Research on Cancer*.
19. Rocha, M. E. B., Freire, F. D. C. O., Maia, F. E. F., Guedes, M. I. F., & Rondina, D. (2014). Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*, 36(1), 159-165. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.08.021>
20. Wen, J., Kong, W., Wang, J., & Yang, M. (2013). Simultaneous determination of four aflatoxins and ochratoxin A in ginger and related products by HPLC with fluorescence detection after immunoaffinity column clean-up and postcolumn photochemical derivatization. *Journal of separation science*, 36(23), 3709-3716. <https://doi.org/10.1002/jssc.201300885>
21. Martínez-Miranda, M., Taborda-Ocampo, G., & Rosero-Moreano, M. (2015). Validation of a high performance liquid chromatography method for Aflatoxins determination in corn arepas. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26(4), 797-803. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150042>.
22. Choochuay, S., Phakam, J., Jala, P., Maneeboon, T., & Tansakul, N. (2018). Determination of aflatoxin B1 in feedstuffs without clean-up step by high-performance liquid chromatography. *International journal of analytical chemistry*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4650764>
23. Kupiec, T. (2004). Quality-control analytical methods: High-performance liquid chromatography. *International journal of pharmaceutical compounding*, 8, 223-227.
24. Matabaro, E., Ishimwe, N., Uwimbabazi, E., & Lee, B. H. (2017). Current immunoassay methods for the rapid detection of aflatoxin in milk and dairy products. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 16(5), 808-820. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12287>

25. Codex Alimentarius. International Food Standards. General Standard for contaminants and toxins in food and feed. Codex Stan 193-1995. Amended in 2015.
26. Lerda, D. (2011). Mycotoxins factsheet. JRC Technical Notes, 4th ed., JRC, 66956, 2011.
27. Ismail, A., Riaz, M., Levin, R. E., Akhtar, S., Gong, Y. Y., & Hameed, A. (2016). Seasonal prevalence level of aflatoxin M1 and its estimated daily intake in Pakistan. *Food Control*, 60, 461-465. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.025>
28. Nadira, A. F., Rosita, J., Norhaizan, M. E., & Redzwan, S. M. (2017). Screening of aflatoxin M1 occurrence in selected milk and dairy products in Terengganu, Malaysia. *Food Control*, 73, 209-214. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.004>
29. De Roma, A., Rossini, C., Ritieni, A., Gallo, P., & Esposito, M. (2017). A survey on the Aflatoxin M1 occurrence and seasonal variation in buffalo and cow milk from Southern Italy. *Food Control*, 81, 30-33. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.034>
30. Baygeldi, Y., & Tanyıldız, S. (2018). Elazığ'da Üretilen İnek Sütlerinde Aflatoxin M1 Düzeylerinin HPLC ile Araştırılması. *Firat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 32(3), 191-195.
31. Aksoy A., Sezer Ç. (2019). Evaluation of Aflatoxin M1 Presence in Raw Milk and Some Cheese Types Consumed in Kars. *Kocatepe Veterinary Journal*. 12(1),39-44 doi: [10.30607/kvj.47915](https://doi.org/10.30607/kvj.47915)
32. Lindahl, J. F., Kagera, I. N., & Grace, D. (2018). Aflatoxin M 1 levels in different marketed milk products in Nairobi, Kenya. *Mycotoxin research*, 34(4), 289-295. <https://doi.org/10.18697/ajfand.75.ILRI01>
33. Bolourchian, M., Safi, S., & Beheshtiha, S. H. S. (2016). On the occurrence of aflatoxin M-1 in dairy cattle milk in Varamin region, Tehran. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*, 5(7), 68-72.
34. Madali, B., Gulec, A., & Ayaz, A. (2018). A survey of Aflatoxin M1 in different milk types in Turkey: risk assessment of children's exposure. *Prog. Nutr*, 20, 659-664. Doi: [10.23751/pn.v20i4.6889](https://doi.org/10.23751/pn.v20i4.6889)

35. Mézes, M., Balogh, K., & Tóth, K. (2010). Preventive and therapeutic methods against the toxic effects of mycotoxins—A review. *Acta Veterinaria Hungarica*, 58(1), 1-17. <https://doi.org/10.1556/avet.58.2010.1.1>
36. Ashiq, S. (2015). Natural occurrence of mycotoxins in food and feed: Pakistan perspective. *Comprehensive Reviews in food science and food safety*, 14(2), 159-175. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12122>
37. Xiong, J. L., Wang, Y. M., Ma, M. R., & Liu, J. X. (2013). Seasonal variation of aflatoxin M1 in raw milk from the Yangtze River Delta region of China. *Food Control*, 34(2), 703-706. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.024>
38. Li, S., Min, L., Wang, P., Zhang, Y., Zheng, N., & Wang, J. (2017). Aflatoxin M1 contamination in raw milk from major milk-producing areas of China during four seasons of 2016. *Food Control*, 82, 121-125. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.06.036>
39. Puga-Torres, B., Salazar, D., Cachiguango, M., Cisneros, G., & Gómez-Bravo, C. (2020). Determination of aflatoxin M1 in raw milk from different provinces of Ecuador. *Toxins*, 12(8), 498. <https://doi.org/10.3390/toxins12080498>
40. Trajkovska, B., Kuzmanovska, L., Kochoski, L., Elmazi, K., Makarijoski, B., & Karapetkovska-Hristova, V. (2017). A survey of seasonal variations of aflatoxin M1 in raw milk in Polog and Pelagonia region. *Scientific Works Of University Of Food Technologies*, 64(1), 139-143. <http://www.ktsutek.com/haberler/itemlist/date/2020/2/12.html?catid=4>
41. Serraino, A., Bonilauri, P., Kerekes, K., Farkas, Z., Giacometti, F., Canever, A., ... & Ambrus, Á. (2019). Occurrence of Aflatoxin M1 in raw milk marketed in Italy: Exposure assessment and risk characterization. *Frontiers in microbiology*, 10, 2516. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02516>
42. Ismaiel, A. A., Tharwat, N. A., Sayed, M. A., & Gameh, S. A. (2020). Two-year survey on the seasonal incidence of aflatoxin M1 in traditional dairy products in Egypt. *Journal of food science and technology*, 1-8. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04254-3>

[PN] Editor Decision: Accept Submission

23-04-2021 04:59

Dear Adile Oniz, Cangul Tuncay:

I am pleased to inform you that we have reached a decision regarding your submission to Progress in Nutrition, "Determination of Aflatoxin M1 in Raw Milk: A Review of an Island Sample with the HPLC Method".

Our decision is to: Accept Submission

We remember to Authors that the Journal has changed its policy and all the accepted articles have to pay the APC and paying the APC allows the publication in the next available issue. We have a lot of accepted articles and now the next available issue is the 4/2021 (December 2021 issue).

Please pay attention to these instructions:

The APC can be paid by **paypal/credit card** at [Publication APC form-Progress in Nutrition](#)

For articles submitted **before** 1st January 2019 the fee can be paid by **paypal/credit card** at [Publication APC form-Progress in Nutrition \(for 2017-2018\)](#)

For **Fast review + fast publication** you can pay at [Fast review + APC-Progress in Nutrition](#)

Paying the Fast publication your article will be published in the next publishing available issue (vol. 3/2021 - September issue).

(For other payment method please see [here](#))

As soon as we receive the payment we will send you the number of the issue in which your article will be published and the DOI number of the article. We will also activate the plugin "Online first" and so you will be able to see your articles already online before the publication at the end of the website homepage in the "Online first" section.

With many thanks for your cooperation and kind regards,

[THIS IS AN AUTOMATED MESSAGE - PLEASE DO NOT REPLY DIRECTLY TO THIS EMAIL]

Editorial Office E-mail: lucycentrone@mattiolihealth.com

Progress in Nutrition - Editorial Office Mattioli 1885

Dr. Valeria Ceci
valeriaceci@mattiolihealth.com

Dr. Lucy Centrone
lucycentrone@mattiolihealth.com

web: www.mattiolihealth.com

web: www.progressinnutrition.it

EK - 2 ETİK KURUL ONAYI



YAKIN DOĞU ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 23.04.2020
Toplantı No : 2020/78
Proje No :1051

Yakin Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakóltesi öğretim üyelerinden Uzm. Dyt. Cangül Tuncay'ın sorumlu araştırmacısı olduğu, YDU/2020/78-1051 proje numaralı ve "Kuzey Kıbrıs'ta Bulunan Çeşitli Çiğ Süt Örneklerinde Aflatoksin M1 Varlığının Değerlendirilmesi ve Düzeylerinin Belirlenmesi" başlıklı proje önerisi kurulumuzca online toplantıda değerlendirilmiş olup, etik olarak uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Rüştü Onur

Yakin Doğu Üniversitesi

Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

EK-3 SÜT KURUMU İZİN BELGESİ

Tarih:08/04/2020

İlgili Makama,

Yakın Doğu Üniversitesi, Beslenme ve Diyetetik Doktora öğrencisi Uzm.Dyt.Cangül Tuncay, 2020 Şubat ayında Doktora tezi kapsamında sütlerde aflatoksin çalışması yapmak için kurumumuzda tez çalışmasını yapmaya başlamıştır.

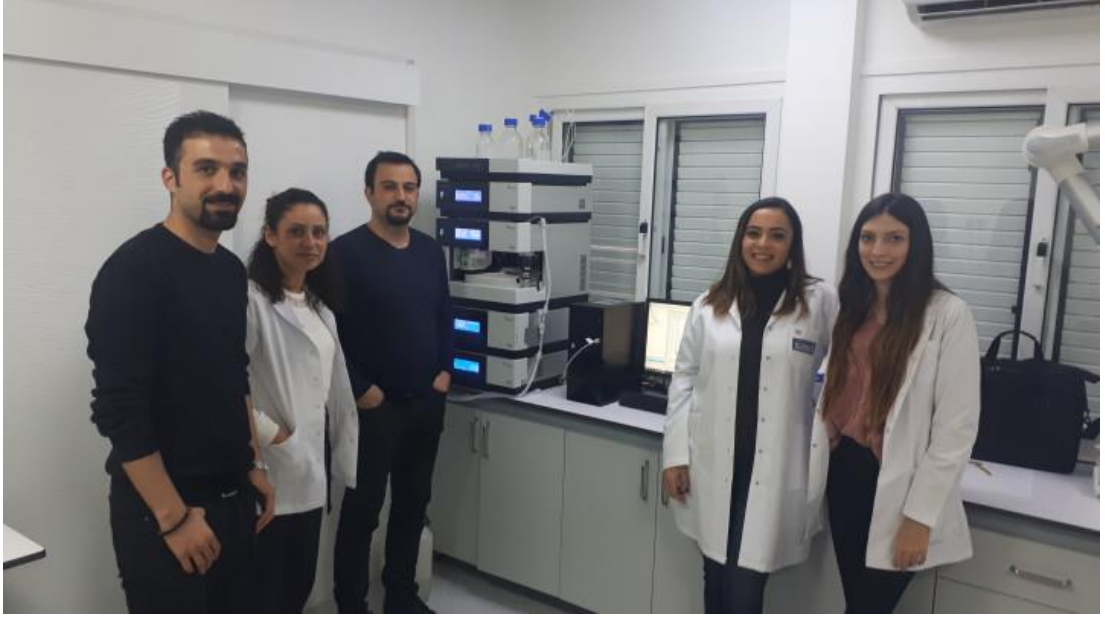
Konu durum bilgilerinize arz olunur.


Saygılarımla
Mehmet B. Karadayı
Genel Müdür (V)

ADDRESS:PK 535 GELİBOLU 6. SOKAK LEFKOŞA K.K.T.C / P.B 535 GELİBOLU 6. STREET NICOSIA T.R.N.C.
T: 0392 227 46 85 / 0392 227 91 28 F: 0392 228 84 20
E: infosutkurumu@gmail.com W: www.ktsutek.com F: www.facebook.com/ktsutek



EK-4 HPLC YÖNTEMİ EĞİTİM



EK-5 İNTİHAL RAPORU

KUZEY KIBRIS'TA BULUNAN ÇEŞİTLİ ÇIĞ SÜT ÖRNEKLERİNDE AFLATOKSİN M1 VARLIĞININ DEĞERLENDİRİLMESİ VE DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

% 13	% 13	% 3	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	% 3
2	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	% 1
3	acikerisim.aku.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
4	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
5	www.gidaturk.com.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	bioeasy.com.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	merkezlab.nku.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	dergipark.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1

dergipark.ulakbim.gov.tr

9.ÖZGEÇMİŞ

Adı	Cangül	Soyadı	Tuncay
Doğum Yeri	Lefkoşa	Doğum Tarihi	11.05.1993
Uyruğu	KKTC	Tel	053384491402
E-mail	dytcangultuncay@gmail.com		

Eğitim Düzeyi	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora	Yakın Doğu Üniversitesi	2021
Yüksek Lisans	Yakın Doğu Üniversitesi	2018
Lisans	Yakın Doğu Üniversitesi	2016
Lise	Levent Kolej	2011

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Öğretim Görevlisi	Girne Üniversitesi	2019-2021
Araştırma Görevlisi	Yakın Doğu Üniversitesi	2016-2018

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	İyi	İyi	İyi
Fransızca	Orta	Zayıf	Zayıf

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi
Microsoft Office (Word, Excel, Powerpoint)	Çok iyi
SPSS istatistik paket programı	İyi
BEBIS Beslenme Bilgi Sistemi	Çok iyi

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

1. Tuncay C, Oniz A. (accepted in May 2021). Determination of Aflatoxin M1 in Raw Milk: A Review of an Island Sample with the HPLC Method. Progr Nutr [Internet]. (SCI-E, Web of Science, Scopus)
2. Tuncay, C., & Ergoren, M. C. (2020). A systematic review of precision nutrition and Mediterranean Diet: A personalized nutrition approaches for prevention and management of obesity related disorders. *Clinical Nutrition ESPEN*, 38, 61-64. (ESCI, Web of Science, Scopus)

Uluslararası Konferanslarda Yayınlanan Tam Metin Bildirileri

1. Tuncay C, Oniz A. (2021, June) Determination of Aflatoxin M1 Levels in Various Raw Milk Samples in Northern Cyprus. *International Eurasia Health Science Congress*.

2. Tuncay C., & Yektaoglu T. (2020, September). Nutrition In Children With Mental Disorders And Anticipated Nutritional Problems. In *Conference Proceeding Book* (P. 101). Near East University.
3. Tuncay C., Pekcan G. (2018). 8-10 Yaş İlkokul Öğrencilerinin Beslenme Alışkanlıklarının ve Akdeniz Diyetine Uyumlarının Değerlendirilmesi. *Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi*
4. Tuncay C., Pekcan G. (2018). Kuzey Kıbrıs'ta Yaşayan 8-10 Yaş İlkokul Öğrencilerinin Antropometrik Ölçümleri İle Beslenme Alışkanlıklarının Değerlendirilmesi. *Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi*
5. Tuncay C. (2017). Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümü Öğrencilerinin Tip 2 Diyabet Risklerinin Taranması ve Beslenme Alışkanlıklarının Belirlenmesi. *Uluslararası Sağlıklı Beslenme Kongresi*

Sözel Bildiriler

1. Determination of Aflatoxin M1 Levels in Various Raw Milk Samples in Northern Cyprus. International Eurasia Health Science Congress. – 2021
2. 8-10 Yaş İlkokul Öğrencilerinin Beslenme Alışkanlıklarının ve Akdeniz Diyetine Uyumlarının Değerlendirilmesi. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi - 2018
3. Kuzey Kıbrıs'ta Yaşayan 8-10 Yaş İlkokul Öğrencilerinin Antropometrik Ölçümleri İle Beslenme Alışkanlıklarının Değerlendirilmesi. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi – 2018

Poster Bildirileri

1. Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümü Öğrencilerinin Tip 2 Diyabet Risklerinin Taranması ve Beslenme Alışkanlıklarının Belirlenmesi. Uluslararası Sağlıklı Beslenme Kongresi - 2017