

## SARIKAMIŞ'TA TÜKETİLEN SÜT VE PEYNİR ÜRÜNLERİNDE AFLATOKSİN M<sub>1</sub> VARLIĞININ BELİRLENMESİ

### DETECTION OF AFLATOXIN M<sub>1</sub> IN MILK AND CHEESE PRODUCTS CONSUMED IN SARIKAMIŞ, TÜRKİYE

Ekrem KİREÇÇİ<sup>1</sup> Mustafa SAVAŞÇI<sup>2</sup> Ahmet AYYILDIZ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum

<sup>2</sup>Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığı, Sarıkamış, Kars

<sup>3</sup>Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum

**Anahtar Sözcükler:** Süt, peynir, aflatoksin M<sub>1</sub>, ELISA

**Keywords:** Milk, cheese, aflatoxin M<sub>1</sub>, ELISA

Geliş: 02 Nisan 2007

Kabul: 17 Mayıs 2007

## ÖZET

Tüketilen gıda maddelerindeki aflatoksin miktarı yüksek olduğunda, insan ve hayvanlarda akut ya da kronik hastalıklara neden olabilir. Özellikle kontamine yemlerle alınan ve kanserojen etkisi yüksek olan aflatoksin B<sub>1</sub>, sindirim sisteminde metabolize olarak hayvanların sütlerine aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) olarak geçer. Böyle süt ve süt ürünlerini tüketen insanların, özellikle bebek ve çocukların sütte bulunan AFM<sub>1</sub> toksinine maruz kalma riski yüksektir. Bu çalışma, Sarıkamış bölgesindeki dükkanlarda satışa sunulan süt ve peynir ürünlerinde, AFM<sub>1</sub> varlığını ve düzeyini belirlemek amacıyla planlanmıştır. Aflatoksin M<sub>1</sub> konsantrasyonları, R-Biopharm GmbH AFM<sub>1</sub> kitleri ile test prosedürüne uygun olarak ELISA ile belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, incelenen toplam 80 süt ve peynir örneğinin 68 (%85)'inde AFM<sub>1</sub> saptanmış ve örneklerin 30 (%37.5)'unda ise AFM<sub>1</sub> miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu belirlenmiştir.

## SUMMARY

Aflatoxins may cause acute or chronic disease both in humans and animals when present in high amounts in consumed food. Feed contaminated with aflatoxin B<sub>1</sub> which has a high carcinogenic effect, is metabolized in the digestive tract and passes into the milk of animals as aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>). Humans, especially infants and young children who consume contaminated milk and milk products are at high risk for AFM<sub>1</sub> toxin. This study was planned in order to determine the presence and level of AFM<sub>1</sub> in market milk and cheese commercialized in the Sarıkamış Region of Turkey. Using ELISA AFM<sub>1</sub> was detected in 68 (85 %) of the 80 milk and cheese samples tested, and in 30 of the samples (37.5 %) the amount of AFM<sub>1</sub> was found over the levels permitted by the Turkish Food Codex.

## GİRİŞ

Aflatoxinler; özellikle *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve diğer bazı *Aspergillus* türleri, *Penicillium* ve *Rhizopus* türleri gibi küf mantarları tarafından uygun koşullarda (nem, sıcaklık) sentezlenen mikotoksinlerdir (1, 2). Araştırmalarda, 300.000'den fazla küf türünün olduğu, bunlardan 250 kadarının mikotoksin sentezleye-

bildiği ve ancak 20 türün oluşturduğu toksinlerin ise insan ve hayvanlarda hastalık yapabildiği saptanmıştır (3, 4). Aflatoksinler teratojenik, mutajenik ve kanserojenik etkileri yanında ısıya dirençli olmaları nedeniyle sağlık açısından önem taşımaktadırlar (5). Ayrıca aflatoksinlerin siroz, kronik gastrit, Reye sendromu ve bazı solunum sistemi hastalıklarına neden olabildiği belirtilmektedir (1,

5). Aflatoksinler; aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub> ve M<sub>2</sub> olmak üzere altı ana bileşikten oluşmaktadır (1). Özellikle aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) süt ve süt ürünlerinde gıda hijyeni açısından ciddi sorunlar oluşturmaktadır (5, 6). Aflatoksin M<sub>1</sub>'in sütteki dağılımı homojen olmayıp kremanın ayrılma işlemi sırasında dağılmaktadır. Sütten kaymağın ayrılması sırasında AFM<sub>1</sub> miktarının %80'i kaymağa geçmekte, geri kalan kısmı ise kazeine bağlı olarak sütte kalmaktadır (3).

Bu çalışmada, Sarıkamış'ta tüketilen süt ve peynir ürünlerinde AFM<sub>1</sub> varlığının araştırılması ve yasal düzenlemeler dikkate alınarak halk sağlığı yönünden tehlike oluşturup oluşturmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

**Örneklerin toplanması:** Aralık 2005-Şubat 2006 tarihleri arasında, Kars İli'nin Sarıkamış İlçesi'nde muhtelif satış yerlerinde halka sunulan toplam 80 süt ve peynir örneği (20 çiğ süt, 20 beyaz peynir, 20 kaşar peyniri ve 20 eritme peyniri) incelendi. Örnekler, Sarıkamış Gıda Kontrol Müfrezesi Komutanlığı Mikrobiyoloji Laboratuvarı'na getirilerek çalışıldı. Örneklerden yaklaşık 200'er gram alınarak numaralandırıldı ve çalışılmadan önce steril cam kavanozlarda, 4° C'lik ısıda tutuldu (7).

**Yöntem:** Aflatoksin M<sub>1</sub> analizi için ELISA kullanılmıştır (R-Biofarm RIDASCREEN test kitleri ile çalışılmıştır) (8).

### Örneklerin hazırlanması:

**Süt:** Süt örneklerine santrifüj (3500 rpm/10dk) uygulanarak sütün kreması alındı ve ayrılmış süt testte kullanıldı (8).

**Peynir:** Peynirlerden, 2 g ezilmiş ve parçalanmış örnek alınarak cam kavanozlara konuldu ve üzerine 40 ml diklorometan ilave edildi. Bu örnekler cam bir kaptaki 15-20 dk çalkalanarak karıştırıldı. Oluşan süspansiyon filtre

edilerek 60° C'de 10 ml kalıncaya kadar buharlaştırıldı. Süspansiyonlarda ortaya çıkan yağlı kalıntılar, 0.5 ml metanol, 0.5 ml PBS (pH 7.2: 0.55 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O+2.85 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 2H<sub>2</sub>O + 9 g NaCl, 1000 ml distile suya tamamlanarak hazırlandı) ve 1ml heptane ilavesi ile çözüldü. Bu çözüntüler, 2700 rpm'de 15 dk santrifüj edildi ve metanol-sulufaz kısmı Pastör pipeti ile alındı. Bu faz 100 µl oranında çekilerek üzerine 400 µl tampon ilave edildi. Sonuç olarak, her peynir örneğinden hazırlanan bu sıvıdan ELISA testinde 100 µl kullanıldı (8).

### Test işlemi:

Standart solüsyonları ve örneklerden otomatik pipet yardımı ile 100 µl alınıp mikrotiter kuyucuklara aktarıldı. Kuyucuklar, oda ısısında ve karanlık ortamda 60 dk. inkübe edildi. Kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp, kuyucuklar 250 µl PBS (%0.05 Tween 20) ile iki kez yıkandı. Kuyucuklar, 100 µl dilüye edilmiş enzim konjugat ilavesi ile yine oda ısısında 60 dk inkübe edildi. İnkübasyonu takiben iki kez (PBS ile) yıkama işlemi tekrarlandı. Daha sonra her kuyucuğa, 50 µl substrat ve 50 µl kromojen ilave edilerek son kez oda ısısında 30 dk inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, kuyucuklara 100 µl stop solüsyonu koyularak karıştırıldı ve ELISA (450 nm'de) okuyucu ile okundu (8).

## BULGULAR

Çalışma sonucunda, incelenen toplam 80 süt ve peynir örneğinin 68 (%85)'inde AFM<sub>1</sub> saptanmış, 12 örnekte ise ölçülebilir sınırlar içerisinde AFM<sub>1</sub> bulunmamıştır (Tablo1). Süt ve süt ürünlerinde sağlık açısından risk oluşturacak aflatoksin düzeyleri Türk Gıda Kodeksi'ne göre değerlendirilmiştir; söz konusu değer süt için >50 ng/kg (ppt), peynir ürünleri için ise >250 ng/kg (ppt)'dir (9). Çalışmada, örneklerin 30 (%37.5)'unda AFM<sub>1</sub> miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

**Tablo 1.** Süt ve peynir örneklerindeki AFM<sub>1</sub> miktarları (ng/kg)

	<5-50	51-150	151-250	251-450	451-650	>650	Toplam
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Süt	2 (%10)	15 (%75)	3 (%15)	-	-	-	20 (%100)
Beyaz peynir	1 (%5)	11 (%55)	4 (%20)	2 (%10)	2 (%10)	-	20 (%100)
Kaşar peyniri	4 (%20)	8 (%40)	2 (%10)	5 (%25)	-	1 (%5)	20 (%100)
Eritme peynir	5 (%25)	6 (%30)	7 (%35)	2 (%10)	-	-	20 (%100)

**Tablo 2.** AFM<sub>1</sub> saptanan süt ve peynir örneklerinin Türk Gıda Kodeksi kriterlerine göre dağılımı

Örnek (n)	AFM <sub>1</sub> miktarı Yasal limitler altında kalan örnek sayısı ve yüzdesi	AFM <sub>1</sub> miktarı Yasal limitleri aşan* örnek sayısı ve yüzdesi
Süt (20)	2 (%10)	18 (%90)
Beyaz peynir (20)	16 (%80)	4 (%20)
Kaşar peyniri (20)	14 (%70)	6 (%30)
Eritme peynir (20)	18 (%90)	2 (%10)
Toplam (80)	50 (%62,5)	30 (%37,5)

\* Süt için: > 50 ng/kg; peynir ürünleri için: >250 ng/kg

## TARTIŞMA

Hayvanların (inek, manda, koyun ve keçi) yemlerle aldığı ve kanserojen etkisi yüksek olan aflatoksin B<sub>1</sub> sindirim sistemlerinde metabolize olarak sütlerine aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) olarak geçmektedir (3, 10, 11). Böyle süt ve süt ürünlerini tüketen insanların, özellikle bebek ve çocukların sütte bulunan AFM<sub>1</sub> toksinine maruz kalma riskinin yüksek olduğu bildirilmektedir (3, 10, 11).

Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin saptaması için ince tabaka kromatografi (thin layer chromatography=TLC), ELISA ve yüksek performans sıvı kromatografi (high performance liquid chromatography) kullanılmaktadır. Ancak ELISA'nın, gerek duyarlılığının yüksek oluşu ve gerekse de kullanımının kolay oluşu yönüyle süt ürünlerinde AFM<sub>1</sub> analizinde en sık kullanılan yöntem olduğu bildirilmektedir (12-14). Bu çalışmada, ELISA yöntemi kullanılmıştır.

Türkiye'de ve dünyanın çeşitli ülkelerinde yapılan bir çok araştırmada süt ve süt ürünlerinde AFM<sub>1</sub> analizi yapılmış ve bu çalışmada olduğu gibi AFM<sub>1</sub> yönünden benzer sonuçlar alınmıştır (5, 14-19). Çalışma ile ilgili yurt dışı araştırmalar incelendiğinde; Polzhfer (15) piyasadan topladığı süt ve süt ürünlerinde aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> ve M<sub>1</sub> araştırdığı çalışmasında sadece aflatoksin M<sub>1</sub> bulunduğunu bildirmiştir. Japonya'da yapılan benzer bir çalışmada (16) ise 126 peynir örneğinin 56'sında 110-300 ppt oranında AFM<sub>1</sub> bulunmuştur. Raza (17), Pakistan'da

UHT ve çiğ sütlerde AFM<sub>1</sub> düzeyini araştırmış; UHT sütlerde %11.25 (29.3-102.8 ng/L), çiğ sütlerde ise % 33 (39.2-342.6 ng/L) miktarında AFM<sub>1</sub> belirlemiştir.

Türkiye'de yapılan çalışmalarda; Erzurum yöresinde, 500 süt ve süt örneğinde ELISA tekniği ile yapılan çalışmada 388 (%77.6) örnekte yüksek oranda AFM<sub>1</sub> belirlenmiştir (5). Bursa yöresinde 600 peynir örneğinde competitive ELISA tekniği ile çeşitli peynir ürünlerinde AFM<sub>1</sub> düzeyi araştırılmış, özellikle kaşar peynirinde yüksek miktarda (800 ng/kg) AFM<sub>1</sub> belirlenmiştir (18). Van'da üretilen çiğ süt örneklerinde AFM<sub>1</sub> varlığı yine ELISA yöntemi ile araştırılmış ve 90 örneğin %87.7'de yüksek oranda AFM<sub>1</sub> saptanmıştır (19). Ankara İli'nde yapılan kapsamlı bir çalışmada (14), 400 peynir örneği ELISA ile AFM<sub>1</sub> yönünden incelenmiş, toplam 327 örnekte (%81.75) AFM<sub>1</sub> belirlenmiştir. Bu sonuç peynir çeşitlerine göre sırasıyla; %85 kaşar, %82 beyaz peynir, %81 tulum peyniri ve %79 işlenmiş peynir şeklinde bulunmuştur. Ancak bu sonuçlardan Türk Gıda Kodeksi'nde belirlenen güvenlik sınırlarını geçen oran ise; %34 kaşar, %27 beyaz peynir, %24 tulum peyniri ve %25 işlenmiş peynir şeklinde ortaya konulmuştur (14).

Bu çalışmada süt ve peynir ürünlerinde bulunan toplam AFM<sub>1</sub> düzeyi, Türkiye'de yapılan araştırma sonuçlarında olduğu gibi, yüksek oranlarda bulunmuştur. Çalışmada, incelenen toplam 80 süt ve peynir örneğinin 68 (%85)'inde AFM<sub>1</sub> saptanmış, 30 (%37.5) örnekte ise AFM<sub>1</sub> miktarının Türk Gıda Kodeksi'ne göre kabul edilebilir sınırların üzerinde olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar gerek yurt içi (5, 14, 18, 19) gerekse de yurt dışı (16, 17) çalışmalarda bulunan yüksek düzeylerdeki AFM<sub>1</sub> oranlarına benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak; süt ve süt ürünlerinde AFM<sub>1</sub> varlığı halk sağlığı açısından büyük bir risktir. Bu nedenle hayvan yemlerinde *Aspergillus* türleri gibi küf mantarlarının üremesinin ve aflatoksin oluşumunun önlenmesi çok önemlidir. Ayrıca, süt ve süt ürünlerindeki AFM<sub>1</sub> miktarının minimum düzeylerde tutulabilmesi için, modern üretim teknikleri uygulanmalı, süt hayvanlarına verilen yemlerin depolanma koşulları uygun hale getirilerek gerekli kontroller yapılmalı ve süt üreticileri bu konuda bilinçlendirilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. **Kaya S.** *Veteriner Klinik Toksikoloji Kitabı*. Ankara: Medisan Yayınevi, **1995**: 283-328.
2. **Tekinşen OC, Atasever M, Keleş A.** *Süt Ürünleri: Üretim ve Kontrol*. Konya: Selçuk Üniversitesi Basımevi; Mimoza Basım Yayım ve Dağıtım AŞ, **1997**: 50-1.
3. **Başkaya R.** Civil peynirinde ELISA yöntemiyle aflatoxin M<sub>1</sub> seviyesinin saptanması [Yüksek Lisans Tezi]. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, **2004**.

4. Barrios MJ, Medina LM, Cordoba MG, Jordona R. Aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* isolated from cheese. *J Food Protect* **1997**; 60: 192-4.
5. Atasever M, Nizamlioğlu M, Özturan K, Karakaya Y, Ünsal C. Erzurum bölgesinde tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinin aflatoksin M<sub>1</sub> yönünden incelenmesi. *II. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi (18-20 Eylül 2006, İstanbul) Bildiri Kitabı'nda*. **2006**: 231-40.
6. Galvano F, Galofaro F, Galvano G. Occurrence and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products. *J Food Protect* **1996**; 59: 1079-90.
7. Anonim. *Türk Standartları Enstitüsü (TSE), TS 591 Beyaz Peynir*. Ankara: TSE, **1995**.
8. Anonymous. Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products. Darmstadt, Germany: Immunolab GmbH, **2002**.
9. Sağlam ÖF. *Türk Gıda Kodeksi*. Ankara: Semih Ofset, **2000**.
10. Creppy EE. Update survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters* **2002**; 127: 19-28.
11. Grigoriadou IK, Eleftheriadou, Mouratidaou T, Katikou P. Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in ewe's milk samples and the produced curd and feta cheese. *Food Control* **2005**; 16: 257-61.
12. Amra HA. Survey of aflatoxin M<sub>1</sub> in Egyptian raw milk by ELISA. *Revue de Medicina Veterinaria* **1998**; 149: 695.
13. Oliveria CA, Germano PM, Bird C, Pinto CA. Immunochemical assessment of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk powder consumed by infant in Sao Paulo. *Food Additive and Concomitant* **1997**; 14: 7-10.
14. Sarımehtemetoğlu B, Küplülü Ö, Çelik TH. Detection of aflatoxin M<sub>1</sub> in cheese samples by ELISA. *Food Control* **2004**; 15: 45-9.
15. Polzhofer K. Aflatoxinbestimmung in Milch und Milchprodukten. *Z. Lebensm Unter Forsch* **1977**; 163: 175-7.
16. Hisada K, Yamamoto K, Tsubbauchi H, Sakabe Y. Natural occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in important and domestic cheese. *J Food Hyg Soc Jpn* **1984**; 25: 543-8.
17. Raza R. Occurrence of aflatoxin M-1 in the milk marketed in the city of Karachi, Pakistan. *Journal of the Chemical Society of Pakistan* **2006**; 28: 155-7.
18. Yaroğlu T, Oruç HH, Tayar M. Aflatoxin M<sub>1</sub> levels in cheese samples in some provinces of Turkey. *Food Control* **2005**; 16: 883-5.
19. Bakırcı I. A study on the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control* **2001**; 12: 47-51.

#### İLETİŞİM

Yrd. Doç. Dr. Ekrem KİREÇÇİ  
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
25700 Ilıca, ERZURUM  
e-posta: ekirecci@atauni.edu.tr,  
ekremkirecci@gmail.com