

Kış ve ilbaharda marketlerden toplanan tereyağı örneklerinde Aflatoxin M1 düzeyinin araştırılması

Damla DÖNMEZ, Meltem UZUN

Cite this article as:

Dönem, D., Uzun, M. (2024). Kış ve ilbaharda marketlerden toplanan tereyağı örneklerinde Aflatoxin M1 düzeyinin araştırılması. *Food and Health*, 10(3), 235-243. <https://doi.org/10.3153/FH24022>

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID IDs of the authors:

D.D. 0009-0004-2463-7644
M.U. 0000-0001-6740-5262

Submitted: 05.02.2024

Revision requested: 06.05.2024

Last revision received: 20.05.2024

Accepted: 01.06.2024

Published online: 14.07.2024

Correspondence:

Meltem UZUN

E-mail: uzun.meltem@yahoo.com



© 2024 The Author(s)

Available online at
<http://jfh.scientificwebjournals.com>

ÖZ

Hayvan yemlerinde bulunan Aflatoxin B1 (AFB1), hayvanlarda M1'e (AFM1) dönüşerek bu hayvanların sütünden elde edilen tüm süt ürünlerini kontamine eder. Bu çalışmada Türkiye'deki yasal toksin sınırı olan 0.05 µg/kg (50 ng/L) temel alınarak çeşitli marketlerden 42'si Ocak-Şubat ve 42'si Mayıs aylarında toplanan 84 tereyağı örneğinde AFM1 düzeyleri duyarlılığı yüksek olan kompetitif ELISA yöntemiyle araştırılmıştır. İncelenen 84 tereyağı örneğinin 79' unda (%94) farklı düzeylerde AFM1 varlığı saptanırken, bu örneklerinin 67'sinde (%79.7) yasal sınırı aşıldığı belirlenmiştir. Sonuçlar mevsimsel açıdan değerlendirildiğinde, Ocak-Şubat aylarına (kış) ait 42 tereyağı örneğinin 37'sinin (%88.1), Mayıs ayında (ilkbahar) toplanan 42 tereyağı örneğinin tümünün (%100) çeşitli düzeylerde AFM1 ile kontamine olduğu saptanmıştır. Çalışma sonucunda, tereyağlarında belirlenen AFM1 düzeylerinin ciddi halk sağlığı sorunu oluşturabileceği, bu duruma sebep olabilecek hayvan yemlerinin AFB1 düzeylerinin ve bu yemlerin saklandığı depo koşullarının düzenli kontrolünün sağlanması gerektiği düşünülmüştür. İlkbaharda toksin düzeylerinin kış mevsimine göre daha yüksek olması, hava koşulları nedeniyle hayvanların meraya çıkmadığı ve depo yemleri ile beslenmeye devam ettikleri şeklinde yorumlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aflatoxin, *Aspergillus*, Mikotoksin, AFM1, Tereyağı

ABSTRACT

Investigating the aflatoxin M1 level in butter samples collected from markets in winter and spring

Aflatoxin B1 (AFB1) found in animal feeds is converted to M1 (AFM1) in animals. It contaminates all dairy products made from the milk of these animals. In this study, AFM1 levels were investigated by competitive ELISA, which is a highly sensitive method in 84 butter samples collected from various markets based on the legal toxin limit of 0.05 µg/kg (50 ng/L) in Turkey. While the presence of AFM1 at different levels was detected in 79 (94%) of the 84 butter samples examined, it was determined that the legal limit was exceeded in 67 (79.7%) of these samples. When the results are evaluated from a seasonal perspective, 37 (88.1%) of 42 butter samples collected in January-February and all (100%) in May were contaminated with AFM1 at various levels. As a result of the study, it was thought that the AFM1 levels determined in butter samples may be a severe public health problem and that the AFB1 levels of animal feeds and store conditions should be controlled regularly. The fact that toxin levels were higher in the spring than in the winter was interpreted as the animals being unable to go to the pasture due to weather conditions and continuing to feed on store feed.

Keywords: Aflatoxin, *Aspergillus*, Mycotoxin, AFM1, Butter

Giriş

Mikotoksinler, özellikle tahıllarda filamenöz mantar türleri tarafından oluşturulan düşük molekül ağırlığına sahip ikincil metabolitlerdir. Bu bileşiklerle kontamine olmuş gıdalar ve yemler, insan ve hayvan sağlığına zararlıdır (Cimbalo et al., 2020). Yirminci yüzyılın ortalarına kadar, hayvan ve insanların tükettiği gıdalarda mantarların zararlı rolü üzerine çok fazla çalışma yapılmamıştır. *Aspergillus flavus* tarafından oluşturulan toksinin keşfedilmesine ve aflatoksin olarak isimlendirilmesine yol açan turkey X hastalığı sebebiyle, İngiltere'de binlerce hindinin ölümü sonucunda 1960'lı yıllarda mikotoksin çalışmaları artmıştır. Aflatoksinler (AF), okratoksinler (OTA) ve fumonisinler halk sağlığını tehdit eden başlıca mikotoksinlerdir. En sık karşılaşılan mikotoksinler *Aspergillus* spp. tarafından oluşturulan aflatoksin, okratoksin A ve patulin, *Penicillium* spp. tarafından oluşturulan fumonisin, zearalenon (ZEN), T-2 ve HT-2 toksinleri gibi trikotesenler ve deoksinivalenol (DON) ile *Claviceps purpurea* tarafından oluşturulan ergot alkaloidleri (EA) dir. Mikotoksinler, maruz kalma derecesine ve klinik belirtilere bağlı olarak akut, subakut veya kronik olabilen mikotoksikoz oluştururlar. Aflatoksinlerin vücutta mutajenik, karsinojen, teratojenik ve immüno-supresif etkileri vardır. AFB1, aflatoksinler içinde en toksik olandır ve Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı tarafından yapılan sınıflandırmada Grup 1, AFM1 ise Grup 2 karsinojen olarak bildirilmiştir. Özellikle *A. flavus* ve *A. parasiticus* ve de nadiren *A. nomius*'un oluşturduğu aflatoksinler AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFM1 ve AFM2 olarak sınıflandırılmıştır (Yang et al., 2020; Waithaka et al., 2022; Monter Arciniega et al., 2022; Ekici et al., 2016; Becker-Algeri et al., 2016; Aranega & Oliveira, 2022).

Aflatoksin M1 (AFM1); aflatoksin B1 (AFB1) ile kontamine olan yemleri tüketmiş olan hayvanların sütlerinde görülen, hepatokarsinojenik etkisi bulunan bir metabolittir. AFM1, AFB1' in hidrosillenmiş ara ürünüdür. AFB1 ile kontamine olan yemlerle beslenen hayvanlarda AFB1 metabolize olarak, AFM1'e dönüşür. Besinle alınan AFB1 yaklaşık % 0.3-6.2 olarak sütlerde AFM1 olarak bulunur. AFM1, sterilizasyona ve pastörizasyona dirençlidir, bundan dolayı AFM1 içeren sütlerden oluşan tüm ürünler bu toksini bulundurur. Bu nedenle özellikle süt ve süttten elde edilen ürünlerin AFM1 analizi ve incelenmesi günümüzde önem kazanmıştır (Monter Arciniega et al., 2022; Ekici et al., 2016; Becker-Algeri et al., 2016).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), dünyadaki mahsullerin takriben %25'inde mikotoksin bulaşının

olduğunu belirtmiştir. Bu sebeple, Amerika Birleşik Devletleri (ABD)' nde bulunan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Avrupa Birliği (AB) ve dünyadaki ülkelerin birçoğu, kontaminasyonu azaltmak ve önüne geçebilmek için gıdalardaki ve yemlerdeki mikotoksinler için bazı limitler belirlemiştir (Monter Arciniega et al., 2022). Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği'nde yayımlanan süt ürünlerinde AFM1 limit değeri; çiğ süt, ısıl işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan sütte 0,05 µg/kg, bebek formülü ve devam formülünde 0,025 µg/kg ve bebek ve küçük çocuk ek gıdalarında 0 (sıfır) µg/kg' dır (Türk Gıda Kodeksi, 2023). Günümüzde yapılan çalışmalar incelendiğinde, küresel ısınma, daha yüksek sıcaklıklar, daha düşük yağış oranı, su kıtlığı, kuraklık, sel ve atmosferdeki daha yüksek karbondioksit miktarı sonucunda verimin düştüğü, mikotoksin kontaminasyon oranlarının arttığı ve oluşan hastalık sıklığında artış olduğu görülmektedir (Monter Arciniega et al., 2022; Sujayasree et al., 2022) Mevsimsel ve iklimsel değişiklikler, birincil üretimden tüketime kadar gıda zincirinin belirli aşamalarında gıda güvenliğinde tehlike oluşturabilmektedir. Birçok bilim insanı, havanın ve mevsimlerin aflatoksin oluşumu üzerindeki etkisini kabul etmektedir (Ekici et al., 2016; Sujayasree et al., 2022; Ansari et al., 2019). Gıda güvenliğinin sağlanması ve gıda kökenli zehirlenmelerin kontrol altına alınması için mikotoksin teşhisi büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle değişik analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Mikotoksin düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerden bazıları; Enzim Bağlanmış İmmunoabsorbant yöntemi (ELISA–Enzyme Linked Immunosorbent Assay), İnce Tabaka Kromatografisi (İTK), Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC), Kolon Kromatografisi, Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS), Enzim Aktivitesine Bağlı İmmunoteknik (Enzyme Multiplied Immuno-technique/EMIT) dir. Süt ve süt ürünlerinde aflatoksin M1 miktarının belirlenmesi için en fazla tercih edilen yöntem kolay uygulanabilir ve duyarlılığı yüksek olan ELISA'dır. Antikora bağlanmış enzim aktivitesinin araştırılması temeline dayanan kantitatif bir ölçümdür. Kompetitif ELISA yönteminde ise, yüzey yapısı araştırılan toksine özel antikorlarla kaplanmış özel plaklar kullanılır ve yöntemin çalışma metodu serbest antijenlerin ve işaretlenen antijenlerin antikorlara karşı yarışmasına dayanır. Sonuçlar standart gruplar ile karşılaştırılarak değerlendirilir (Aranega & Oliveira, 2022; Açu & Özdekan Ocak, 2019).

Çalışmamızda 42'si ocak-şubat (kış mevsiminde) ve 42'si mayıs (ilkbaharda) aylarında olmak üzere marketlerden farklı lot numaralarına sahip (aynı ürünle tekrar çalışmamak için) 84 tereyağı örneği toplanmış ve örneklerdeki AFM1

düzeylerinin mevsimsel değişiklik gösterip göstermediği kompetitif ELISA yöntemiyle araştırılmıştır. Mevcut yasal toksin düzeyleri göz önünde bulundurularak, beslenmemizde büyük öneme sahip tereyağlarında potansiyel bir risk olup olmadığı ve toksin miktarlarının mevsimlere göre değişkenliği araştırılmış ve epidemiyolojik verilere katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Tereyağı Örneklerinin Toplanması

Yapılan bu çalışmada 42'si ocak-şubat (kış) ve 42'si Mayıs aylarında (ilkbahar) olmak üzere marketlerden farklı lot numaralarına sahip 84 tereyağı örneği toplanmış ve örneklerdeki AFM1 düzeylerinin mevsimsel değişiklik gösterip göstermediği kompetitif ELISA (Biopharm Ridascreen Aflatoxin M1, Darmstadt/Germany) (Art No: R1121) yöntemi ile araştırılmıştır. Örnekler soğuk zincir altında laboratuvara getirilerek analizleri gerçekleştirilmiştir.

Kit İçeriği

Analiz amacıyla Biopharm Ridascreen Aflatoxin M1, Darmstadt/Germany test kiti (Art No: R1121) kullanılmış ve ölçümler yapılmıştır (Şekil 1). Kullanılan ELISA kitinin içeriğinde standart solüsyonlar, substrat kromojen, yıkama solüsyonu, konjugat, buffer 1, buffer 2, stop solüsyonu hazır olarak yer almıştır. Bir tane Ridascreen kitiyle standartlar dahil olmak üzere, toplamda 48 tereyağı örneğinde AFM1 düzeyi belirlenmiştir. Sonuçlar değerlendirilirken 0.05 µg/kg (50 ng/L) yasal sınır değer olarak kullanılmıştır.



Şekil 1. Analiz için kullanılan Biopharm Ridascreen Aflatoxin M1 (Darmstadt/Germany) test kiti

Figure 1. Biopharm Ridascreen Aflatoxin M1 (Darmstadt/Germany) test kit used for analysis

Tereyağlarının Analize Hazırlanması

Tereyağı örnekleri hassas terazide 3 gr olacak şekilde tartılmış ve 50 mL'lik falkon tüplere alınarak, 40°C'lik su banyosunda eritilmiştir. Üzerine 3 mL n-hekzan ve 3 mL distile su ile sulandırılmış %70'lik metanol eklenmiştir. Kimyasallar eklendikten sonra örnekler vortekslenmiştir. Karıştırma işlemine tüp tersyüz edilerek 15 dakika daha devamedilmiştir. Yağ tabakalarından ayrılması için örnekler 10°C'de, 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında üstte ayrılan süpernatant (krema tabakası) Pastör pipetiyle tereyağı örneğinden ayrılmıştır. Örnekleri seyreltmek için kit içerisinde bulunan buffer solüsyonundan 1.5 mL'lik eppendorf tüplerine 800 µL ve yağı alınan tereyağı örneklerinden 50 µL aktarılmış ve tüp vortekslenmiş, buffer 1 çözeltisi ile 1/17 oranında dilüe edilmiştir. Sonrasında hazırlanan tereyağı örnekleri için dilüsyon faktörü 20 olarak belirlenmiştir. Hazırlanan bu tereyağı örneklerinden mikrolaktaki her kuyucuğa 100 µL ilave edilmiştir.

Yıkama Solüsyonunun Hazırlanması

Kit içerisinden hazır halde bulunan yıkama tozunun üzerine kullanım talimatı doğrultusunda 1 L distile su eklenerek homojen bir karışım elde edilmiştir. Bu karışım mikrolakların yıkanması sırasında kullanılmıştır.

Testin Uygulanması

Çalışılırken kit içerisinde bulunan tüm reaktifler ELISA aşamasından önce oda sıcaklığına getirilmiştir. Test uygulanırken mikro kuyucukların tamamen kurumamasına dikkat edilmiştir. Testin doğru uygulandığı büyük oranda mikro kuyucukların yıkanma aşamasındaki dikkate bağlı olduğu için yıkama işlemlerinde prosedürde belirtilen yıkama aşamalarına dikkat edilmiştir ve plaklara reaktifleri ilave ettikten sonra inkübasyonları esnasında direkt güneş ışığına temasından kaçınılmıştır. Üretici firma yöntemin tespit limitini 5 ng/L, sütte geri kazanım oranını %100 olarak bildirmiştir.

- Her kit için standartlar ve tereyağı örnekleri iki kez çalışılmıştır. Mikrolakların ilk 12 kuyusu altı standart için kullanılıp, diğer kuyular örnekler için kullanılmıştır.
- Her kuyuya 100 µL antikor solüsyonu eklenip sonrasında plaklar yavaşça çalkalanmış ve 15 dakika boyunca oda sıcaklığında (25°C) ışık görmeyecek şekilde inkübe edilmiştir.
- Her bir kuyucuk 250 µL yıkama solüsyonu ile yıkanmış ve bu işlem üç kez tekrar edilmiştir.

- Her standarttan iki kez olacak şekilde, ilk 12 kuyucuğa 100 µL standart solüsyonlarından eklenmiştir.
- Diğer kuyucuklara tereyağı örneklerinden iki defa 100 µL eklenmiştir.
- Plaklar hafif bir şekilde çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında (25°C), karanlık ortamda, 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir.
- Her kuyucuk 250 µL yıkama solüsyonu ile yıkanmış ve bu işlem üç kez tekrar edilmiştir.
- Her bir kuyucuğa 100 µL konjugat solüsyonu eklenmiş, plaklar yavaşça çalkalanmış ve oda sıcaklığında (25°C), karanlık ortamda, 15 dakika inkübe edilmiştir.
- Her bir kuyucuk 250 µL yıkama solüsyonu ile yıkanmış ve bu işlem üç kez tekrarlanmıştır.
- Her bir kuyucuğa 100 µL kromojen solüsyonu eklenmiş, plaklar yavaşça çalkalanıp oda sıcaklığında (25°C), karanlıkta 15 dakika inkübe edilmiştir.
- Her bir kuyucuğa 100 µL stop solüsyonu eklenmiştir ve plaklar yavaşça çalkalanmış ve örnekler 450 nm dalga boyunda spektrofotometrede (ELx800 BioTek Instruments Inc, USA) analiz edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Çeşitli marketlerden kış ve ilkbahar mevsimlerinde toplanan

farklı lot numaralarına ait 84 tereyağı örneğinin; kış mevsiminde toplanan 42 örneğe ait AFM1 düzeyleri 0.05µg/kg (50 ng/L) yasal sınır değeri temel alınarak Tablo 1’de, ilkbahar mevsiminde toplanan 42 örneğe ait AFM1 düzeyleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Kış mevsiminde (ocak-şubat) toplanan tereyağı örnekleri AFM1 açısından değerlendirildiğinde, 42 tereyağı örneğinin 37’sinin (%88.1) saptanabilir düzeylerde AFM1 ile kontamine olduğu belirlenmiş ve bu örneklerin 32’sinde (%76) sınır değerini aştığı belirlenmiştir. Beş örnekte ise sınır değerinin altında AFM1 saptanırken (%12), beş örnekte (%12) toksine rastlanmamıştır (Tablo 1).

İlkbaharda (mayıs) toplanan tereyağı örnekleri AFM1 açısından değerlendirildiğinde, 42 tereyağı örneğinin tümünün (%100) çeşitli düzeylerde AFM1 içerdiği belirlenmiştir. Otuz beş örnekte sınır değerini aştığı (%83.3) saptanırken, bu örneklerin 10’unda (%23,8) çok yüksek düzeyde (>100) toksin belirlenmiştir. Yedi örnekte sınır değerinin altında AFM1 (%16.6) saptanmıştır (Tablo 2).

Sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde, 84 tereyağı örneğinin 79’unda (%94) farklı düzeylerde AFM1 miktarı saptanırken, bu tereyağı örneklerinin 67’sinde (%79,7) yasal sınırın aştığı belirlenmiş ve beş (%5,9) örnekte toksine rastlanmamıştır.

Kış mevsiminde toplanan tereyağı örneklerinin AFM1 konsantrasyonlarının hesaplanması için kullanılan kalibrasyon grafiği Şekil 2’de, ilkbahar mevsiminde toplanan tereyağı örneklerinin AFM1 konsantrasyonlarının hesaplanmasında kullanılan kalibrasyon grafiği Şekil 3’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Ocak-Şubat aylarında toplanan tereyağlarında belirlenen AFM1 düzeylerinin standart aralıklarına göre dağılımı

Table 1. Distribution of AFM1 levels determined in butter samples collected in January-February according to their standard ranges

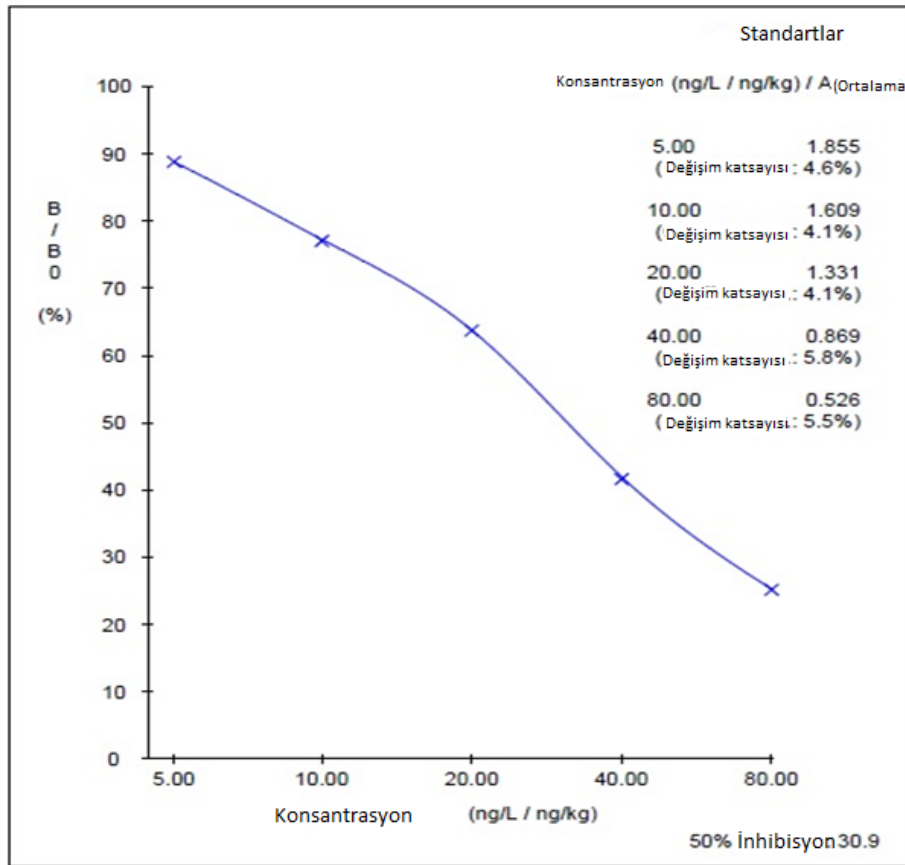
Standartlara göre AFM1 düzeyi (ng/L)	Saptanan AFM1 düzeyi (ng/L)									Toplam örnek sayısı	
	0	0	0	0	0						
0											5
40-80	43.78*	47.34*	47.95*	48.15*	48.97*	50.83	51.67	52.30	52.51	35	
	53.37	53.79	55.09	55.31	55.31	57.07	57.07	57.29	58.41		
	58.86	59.76	61.59	63.22	64.40	64.63	65.58	66.06	70.45		
	70.95	72.45	74.48	74.74	76.29	76.81	79.70	61.59			
80-100	80.23	95.39								2	

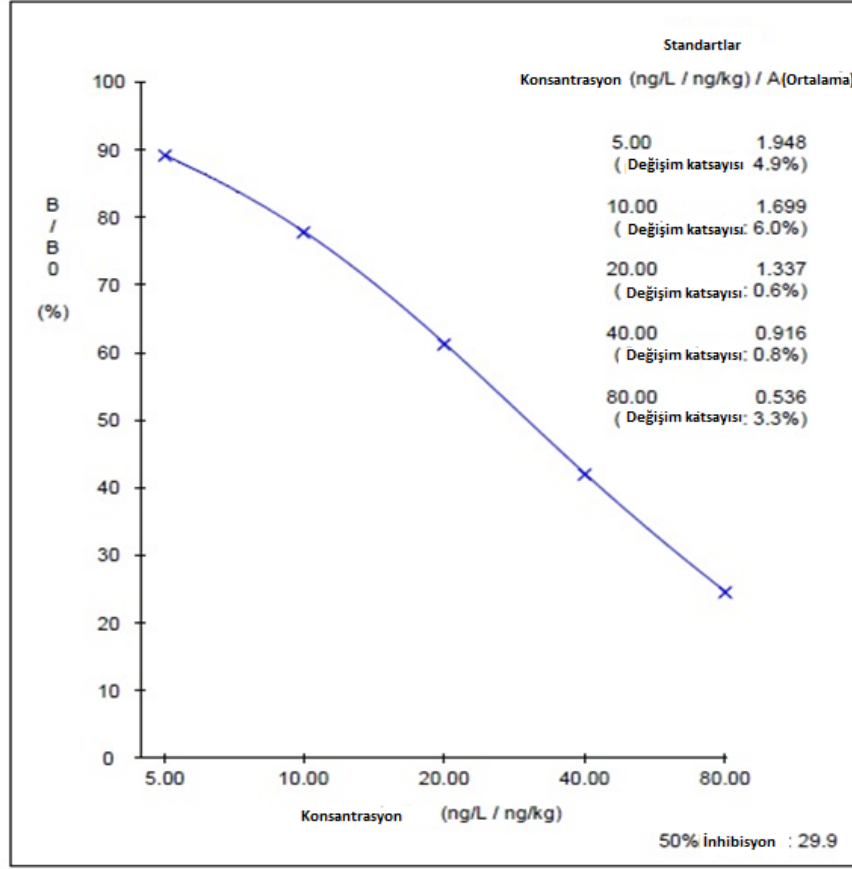
*Sınır değerinin altındaki AFM1 düzeyleri (beş örnek)

Tablo 2. Mayıs ayında toplanan tereyağlarında belirlenen AFM1 düzeylerinin standart aralıklarına göre dağılımı.**Table 2.** Distribution of AFM1 levels determined in butter collected in May according to their standard ranges.

*Sınır değer altındaki AFM1 düzeyleri (yedi örnek)

Standartlara göre AFM1 düzeyi (ng/L)	Saptanan AFM1 düzeyi (ng/L)									Toplam örnek sayısı
40-80	42.38*	43.22*	45.35*	45.57*	48.65*	49.55*	49.77*	50.68	51.14	26
	52.53	55.83	55.83	57.77	60.25	61.50	62.52	63.55	64.58	
	68.01	69.35	70.98	72.08	72.36	72.36	76.29	78.88		
80-100	82.71	84.51	90.05	91.95	91.95	95.14				6
>100	108.99	111.10	114.67	116.12	117.94	121.99	123.48	123.85	134.54	10
	152.53									

**Şekil 2.** Ocak-Şubat aylarına ait standart eğri**Figure 2.** Standard curve of January-February



Şekil 3. Mayıs ayına ait standart eğri

Figure 3. Standard curve of May

Süt ve süt ürünleri beslenmemizde büyük öneme sahip temel besin kaynaklarıdır. Pastörizasyon ve sterilizasyon gibi yüksek ısı işlemlere dayanıklı olan AFM1, sütleri ve bu sütlerden üretilen tüm gıdaları kontamine etmektedir. AFM1 insanlarda hepatotoksik, kanserojen, genotoksikdir ve immün sistemi baskılama yeteneğindedir, bu nedenle ülkelerde 0,03 ila 0,250 µg/kg arasında değişen yasal sınırlar içeren uluslararası düzenlemeler yapılmıştır (Monter Arciniega et al., 2022; Aranega & Oliveira, 2022). Türk Gıda Kodeksi'nin Bulaşanlar Tebliği'ne göre süt temelli ürünlerde belirlenen aflatoxin sınırı 0,05 µg/kg (50 ng/L)'dir (Türk Gıda Kodeksi, 2023).

Dünya çapında, her yaşta tüketilen ve beslenmemizde önemli bir yeri olan süt ve bunun ürünü olan tereyağı gibi süt ürünlerinde AFM1 varlığıyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

Pakistan Lahor'da yapılan bir çalışmada (Gill et al., 2022) süt ve süt ürünlerindeki AFM1 varlığı araştırılmıştır. Toplam 60 süt örneği ve 30 tereyağı, 30 peynir, 30 krema ve 30 yoğurt

dahil olmak üzere 120 süt ürünü örneğinin incelendiği çalışmada, tereyağı örneklerinin %16,7'sinde AFM1 düzeyi sınırın üzerinde saptanmıştır.

Hindistan Ludhiana'da yapılan bir çalışmada (Kaur et al., 2021) yedi tesisten 109 süt, 97 tereyağı, 99 peynir ve 103 lor olmak üzere toplam 408 örnek toplanmıştır. Örnekler ELISA yöntemiyle test edilmiştir. Süt ve süt ürünlerinin tümünde (%100) AFM1 saptanmıştır. Çalışmada tüketim miktarları sağlık riski değerlendirmesi yapılmıştır, çalışma alanındaki tüketicilerin, özellikle çocukların, düşük vücut ağırlıkları ve daha yüksek süt alımları nedeniyle AFM1 açısından daha yüksek sağlık riski altında olduğu gösterilmiştir.

Ülkemizde beş şehri içine alarak yapılan bir (İstanbul, Tekirdağ, İzmir, Konya ve Kayseri) çalışmada (Tekinşen & Uçar, 2008), 100 krem peynir ve 92 tereyağı örneğindeki AFM1 miktarları ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. Tereyağı örneklerinin %100'ünde 10 ila 7000 ng/kg ve krem peynir örneklerinin %99'unda 0 ila 4100 ng/kg aralığında AFM1 tespit edilmişlerdir.

Kayseri'deki bir diğer çalışmada (Özkan & Onmaz, 2019) kaymak ve tereyağı örneklerinde AFM1 varlığı araştırılmıştır. Çalışmada rastgele toplanmış olan 100 örnekte (50 tereyağı ve 50 kaymak) ELISA tekniği kullanılmış, örneklerin tamamında AFM1 saptanmıştır. AFM1 kontaminasyon seviyeleri tereyağı örneklerinde 6.58-128.69 ng/kg arasında tespit edilmiştir. Yalnızca bir (%2) tereyağı örneğinde AFM1 konsantrasyonu Türk Gıda Kodeksi'nin belirlediği yasal sınırın üzerinde çıkmıştır.

Adana'da yapılan bir çalışmada (Var & Kabak, 2009) 20 kaşar peyniri, 20 süt, 10 tereyağı ve 20 beyaz peynir örneğinden oluşan toplam 70 süt ürününde ELISA ile AFM1 analizi yapılmıştır. Yasal limit sütte 50 ng/L olarak ve tereyağı, beyaz peynir ve kaşar peynirinde ise 25 ng/kg olarak kabul edilmiştir. Analiz edilen 70 süt ürününün 49'unda (%70) AFM1 düzeyinin 10-388 ng/kg arasında olduğu bulunmuştur. On tereyağı örneğinin üçünde AFM1 kontaminasyon düzeyi 40-70 ng/kg arasında bulunmuş; üç süt, iki tereyağı (% 2.85), bir beyaz peynir ve bir kaşar peyniri örneğinde AFM1 seviyeleri Türk Gıda Kodeksi limitlerinin üzerinde saptanmıştır.

Bu çalışmada İstanbul ilindeki marketlerden kış mevsiminde (ocak ve şubat aylarında) farklı lot numaralarına sahip 42 ve ilkbahar mevsiminde (mayıs ayında) 42 adet tereyağı olmak üzere 84 örnek toplanmış ve ELISA yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. seksendört tereyağı örneğinin 79'unda (%94) farklı düzeylerde AFM1 varlığı saptanırken, bu tereyağı örneklerinin 67'sinde (%79.7) yasal sınırın aşıldığı belirlenmiş ve beş (%5.9) örnekte toksine rastlanmamıştır. Çalışmamızın sonuçları tereyağı örneklerinin %94'ünün kontamine olduğunu ve %79'unda yasal sınırın aşıldığını göstermektedir. Bu durumda, süt ve süt ürünlerindeki aflatoksin miktarlarının ve en başta yem depolama koşullarının iyileştirilmesi ve daha sıkı kontrol yöntemlerinin uygulanmasının uygun olacağı düşünülmüştür.

Süt ve süt ürünlerindeki AFM1 miktarlarının mevsimsel değişkenlik de gösterdiği birçok çalışmada gösterilmiştir.

Hırvatistan'daki bir çalışmada çiftliklerden ve pazarlardan Şubat-Temmuz 2013 tarihleri arasında toplanan çiğ süt (3716) ve UHT süt (706) örneklerinde AFM1 kontaminasyonu araştırılmıştır. Çiğ sütlerin toplam %27.8'inde ve UHT sütlerin %9.64'ünde yasal sınırı aşan AFM1 seviyeleri belirlenmiştir. Şubat, mart, mayıs ve haziran aylarında toplanan örneklerde, çiğ ve UHT süt örnekleri arasında ortalama AFM1 konsantrasyonlarında istatistiksel farklılıklar gözlenmiştir. Hem çiğ hem de UHT süt örneklerinde AFM1 konsantrasyonları mayıs ayından temmuz ayına kadar olan dönemde kademeli olarak azalmış, yaz döneminde daha düşük AFM1 konsantrasyonları saptanmıştır (Bilandžić et.al.,

2022).

Çin'de çiğ sütün AFM1 ile kontamine olma sıklığını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada (Li et.al., 2018) toplam 5650 çiğ süt örneğinden 267'sinde (%4.7) AFM1 kontaminasyonu tespit edilmiştir. Çiğ süt örneklerinin yalnızca %1.1'i Avrupa Birliği yasal sınırını (50 ng/L) aşmış ve örneklerin hiçbiri Çin ve Amerika Birleşik Devletleri yasal sınırını (500 ng/L) aşmamıştır. Çin'de çiğ süt numunelerinde AFM1 kontaminasyonu kış aylarında %10.2, ilkbahar, yaz ve sonbaharda sırasıyla %3.0, %2.1 ve %4.4 olarak çok daha düşük bulunmuştur.

İran'da yapılan bir çalışmada (Ansari et.al., 2019) ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış aylarında geleneksel olarak toplanan 100 pastörize süt örneğinde AFM1 kontaminasyonu değerlendirilmiştir. Örnekler, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ve florimetrik tespit ile değerlendirilmiştir. Sonuçta, kışın toplanan örneklerin yaklaşık %44'ünün, ilkbaharda toplanan örneklerin %32'sinin, yazın toplanan örneklerin %24'ünün ve sonbaharda toplanan örneklerin yaklaşık %20'sinin İran standartları tarafından belirlenen 50 µg/L olan sınır değeri aştığı gösterilmiştir. İstatistiksel analize göre, farklı mevsimlerde AFM1 düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır.

Pakistan'da yapılan bir çalışmada (Iqbal et.al., 2013) Kasım 2011- Şubat 2012 (kış) toplam 221 ve Mayıs-Ağustos 2012'de (yaz) 212 süt ve süttten elde edilen ürünler toplanmıştır. Örnekler HPLC yöntemiyle analiz edilmiştir. Sonuçlarda kış mevsiminde süt ve süt ürünleri örneklerinin yaklaşık %45'inin AFM1 ile kontamine olduğu ortaya çıkmış; çiğ sütün %40'ının, UHT sütün %51'inin, yoğurdun %37'sinin, tereyağının %60'ının yasal sınırın üzerinde AFM1 içerdiği belirlenmiştir. Ancak yaz sezonundan itibaren süt ve süt ürünleri örneklerinin %32'sinin kontamine olduğu bulunmuş; yani çiğ sütün %36'sı, UHT sütün %31'i, yoğurdun %29'u, tereyağının %40'ında yasal sınırın üzerinde AFM1 bulunmuştur. Süt ve süt ürünlerindeki kontaminasyon seviyeleri kış mevsiminde yaz mevsimine göre daha yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonuçları mevsimsel açıdan değerlendirildiğinde, kış aylarında toplanan 42 tereyağı örneğinin 37'sinin (%88.1) saptanabilir düzeylerde AFM1 ile kontamine olduğu belirlenmiş ve bu örneklerin 32'sinde (%76) sınır değerin (0,05µg/kg) aşıldığı görülmüştür. Beş örnekte ise sınır değerinin altında AFM1 saptanırken (%12), beş örnekte (%12) toksine rastlanmamıştır. İlkbaharda mayıs ayında toplanan tereyağı örnekleri AFM1 açısından değerlendirildiğinde, 42 tereyağı örneğinin tümünün (%100) çeşitli düzeylerde AFM1 içerdiği belirlenmiştir. Otuz beş örnekte 0,05 µg/kg olan sınır değerin aşıldığı (%83.3) saptanırken, bu örneklerin 10'unda

(%23.8) çok yüksek düzeyde (>100.00) toksin belirlenmiştir. Yedi örnekte sınır değerinin altında AFM1 (%16.6) saptanmıştır.

Sonuç

Çalışmamızdaki sonuçlara göre ilkbahar mevsimindeki tereyağı örneklerinde saptanan AFM1 düzeyleri, kış aylarında toplanan örneklerdekinden daha yüksek bulunmuştur. İlkbaharda toksin düzeylerinin kış mevsimine göre daha düşük olması beklenirken yüksek bulunması, hava koşulları nedeniyle hayvanların meraya çıkamadığı ve hala depo yemlerle beslenmiş olabilecekleri şeklinde yorumlanmıştır. Sonuç olarak, tereyağlarında belirlenen AFM1 düzeylerinin ciddi halk sağlığı sorunu oluşturabileceği, bu duruma sebep olabilecek hayvan yemlerinde bulunan AFB1 miktarlarının düzeylerinin ve özellikle bu yemlerin depo koşullarının düzenli olarak kontrol edilmesi/denetlenmesi gerektiği düşünülmüştür.

Etik Standartlar ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar, bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Etik izin: Araştırma niteliği bakımından etik izne tabii değildir.

Veri erişilebilirliği: Veriler talep üzerine sağlanacaktır.

Finansal destek: İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP, Proje numarası:38296) tarafından desteklenmiştir.

Teşekkür: -

Açıklama: -

Kaynaklar

Açu, M., & Özdeştan Ocak, Ö. (2019). Gıdalarda aflatoxin düzeylerinin belirlenmesinde kullanılan analiz yöntemleri. *Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 4(2), 168-181. <https://doi.org/10.33484/sinopfbd.537820>.

Ansari, F., Pourjafar, H., & Christensen, L. (2019). A study on the aflatoxin M1 rate and seasonal variation in pasteurized cow milk from northwestern Iran. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(6), 1-6. <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7141-1>

Aranega, J.P., & Oliveira, C.A. (2022). Occurrence of mycotoxins in pastures: A systematic review. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 14(3), 135-144. <https://doi.org/10.15586/qas.v14i3.1079>

Becker-Algeri, T.A., Castagnaro, D., de Bortoli, K., de Souza, C., Drunkler, D.A., Badiale-Furlong, E. (2016). Mycotoxins in bovine milk and dairy products: A review. *Journal of Food Science*, 81(3), 544-552. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13204>

Bilandžić, N., Varga, I., Varenina, I., Solomun Kolanović, B., Božić Luburić, D., Đokić, M., Sedak, M., Cvetnić, L., Cvetnić, Z. (2022). Seasonal occurrence of aflatoxin M1 in raw milk during a five-year period in Croatia: Dietary exposure and risk assessment. *Foods*, 11(13), 1959. <https://doi.org/10.3390/foods11131959>

Cimbalo, A., Alonso-Garrido, M., Font, G., & Manyes, L. (2020). Toxicity of mycotoxins in vivo on vertebrate organisms: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 137, 111161. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111161>

Ekici, H., Yildirim, E., & Yarsan, E. (2016). The effect of seasonal variations on the occurrence of certain mycotoxins in concentrate feeds for cattle collected from some provinces in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 40(3), 298-303. <https://doi.org/10.3906/vet-1501-71>

Gill, U.A., Durrani, A. Z., & Usman, M. (2022). An assessment and control of AFM 1 in milk and main dairy products in Lahore, Pakistan. In *Bovine Science-Challenges and Advances-* [Internet]; Abubakar, M., Ed.; IntechOpen. <http://doi.org/10.5772/intechopen.99184>

Iqbal, S. Z., Asi, M.R., & Jinap, S. (2013). Variation of aflatoxin M1 contamination in milk and milk products collected during winter and summer seasons. *Food Control*, 34(2), 714-718. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.009>

Kaur, S., Bedi, J.S., Dhaka, P., Vijay, D., & Aulakh, R.S. (2021). Exposure assessment and risk characterization of aflatoxin M1 through consumption of market milk and milk products in Ludhiana, Punjab. *Food Control*, 126(9), 107991. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107991>

Li, S., Min, L., Wang, G., Li, D., Zheng, N., & Wang, J. (2018). Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk from manufacturers of infant milk powder in China. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(5), 879.

<https://doi.org/10.3390/ijerph15050879>

Monter Arciniega, A., Cruz-Cansino, N., del, S., Ramírez-Moreno, E., Zafra-Rojas, Q., Cervantes-Elizarrarás, A., & Ariza-Ortega, J.A. (2022). Pathologies associated to the consumption of aflatoxin M1 in dairy products. *Mexican Journal of Medical Research ICSa*, 10(20), 7-15.

<https://doi.org/10.29057/mjmr.v10i20.8510>

Özkan, N.A., & Onmaz, N.E. (2019). Perakende olarak satışa sunulan kaymak ve tereyağlarda aflatoksin M1 varlığı. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(3), 213-217.

<https://doi.org/10.32707/ercivet.648571>

Sujayasree, O.J., Chaitanya, A.K., Bhoite, R., Pandiselvam, R., Kothakota, A., Gavahian, M., Mousavi, K., Khaneghah, A.M. (2022). Ozone: An advanced oxidation technology to enhance sustainable food consumption through mycotoxin degradation. *Ozone: Science & Engineering*, 44(46), 17-37.

<https://doi.org/10.1080/01919512.2021.1948388>

Tekinşen K.K., & Uçar G. (2008). Aflatoxin M1 levels in butter and cream cheese consumed in Turkey. *Food Control* 19, 27-30.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.01.003>

Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği (2023). Madde 5: Maksimum limitlerin uygulanması ve piyasaya arzı /Ek 1: Gıdalardaki belirli bulaşanlar için maksimum limitler. <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2023/11/20231105-1.htm> (erişim tarihi: 15.03.2024).

Var, I., & Kabak, B. (2009). Detection of aflatoxin M1 in milk and dairy products consumed in Adana, Turkey. *International Journal of Dairy Technology*, 62(1), 15-18.

<https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2008.00440.x>

Waithaka, Ng'ang'a, Z., & Niyonshuti, E. (2022). Animal feeds mycotoxins and risk management. In *Mycotoxins and Food Safety-Recent Advances* [Internet]; Alina Mark R., Ed.; IntechOpen.

<https://doi.org/10.5772/intechopen.102010>

Yang, C., Song G., & Lim W. (2020). Effects of mycotoxin-contaminated feed on farm animals. *Journal of Hazardous Material*, 389(2020), 122087.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122087>