



## Determination of Aflatoxin M<sub>1</sub> Levels in Unpackaged Sold Raw Cow's Milk

Özgür İŞLEYİCİ<sup>1</sup> Yakup Can SANCAK<sup>1</sup> Hakan SANCAK<sup>2</sup> Ufuk MERCAN YÜCEL<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Van, Turkey

<sup>2</sup> Bitlis Eren University, Tatvan Vocational School, Department of Food Technology, Bitlis, Turkey

<sup>3</sup> Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pharmacology and Toxicology, Van, Turkey

Received: 23.11.2015

Accepted: 04.12.2015

### SUMMARY

The purpose of this study was to determine the levels of aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) in unpackaged sold raw cow's milk in center of the Van province, Turkey. For this purpose, 100 unpackaged raw cow's milk samples were collected from retail stores in center of the Van province during summer (June, July and August) and analyzed for presence and levels of AFM<sub>1</sub>. The levels of AFM<sub>1</sub> in the milk samples were determined using the enzyme linked immunoassay (ELISA). In 100 raw cow's milk samples analyzed, where AFM<sub>1</sub> is not found in 15 samples (15%), it is found; below detection limit (5 ppt) in 53 samples (53%), between 6.61 and 76.96 ng/l, average 24.60±17.89 ng/l in 21 samples (21%) and above 80 ng/l in 11 samples (11%). It is found out that, 12 (12%) of raw cow's milk samples aren't compatible with the limits (50 ng/l) for milk in Turkish Food Codex in terms of aflatoxine M<sub>1</sub> levels. Detecting aflatoxine M<sub>1</sub> levels above legal limits in raw cow's milk samples put up for sale indicate that consumption of these milks pose important risk in terms of public health. Therefore, should be established a good monitoring and control system in raw milk production and shall prevent the sale and consumption of milk containing high AFM<sub>1</sub>.

**Key Words:** Raw Milk, AFM<sub>1</sub>, ELISA

### ÖZET

## Ambalajsız Olarak Satışa Sunulan Çiğ İnek Sütlerinde Aflatoksin M<sub>1</sub> Düzeyinin Belirlenmesi

Bu araştırma Van il merkezinde ambalajsız olarak satışa sunulan çiğ inek sütlerinde aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) düzeyini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla yaz mevsiminde (haziran, temmuz ve ağustos aylarında) Van il merkezinde bulunan marketlerde ambalajsız olarak satışa sunulan 100 adet çiğ süt örneği aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı ve seviyesi yönünden analize alınmıştır. Süt örneklerinde AFM<sub>1</sub> varlığı ve düzeyi kompetitif ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile tespit edilmiştir. Analize alınan 100 çiğ inek sütü örneğinin 15 tanesinde (%15) AFM<sub>1</sub> belirlenmemiş, 53 tanesinde (%53) tespit limitinin (5 ppt) altında bulunmuş, 21 tanesinde (%21) 6.61 ile 76.96 ng/l arasında ortalama 24.60±17.89 ng/l olarak bulunurken 11 (%11) örnekte ise 80 ng/l'den yüksek seviyede AFM<sub>1</sub> tespit edilmiştir. Analize alınan çiğ inek sütü örneklerinin 12 tanesinin (%12) AFM<sub>1</sub> seviyesi yönünden Türk Gıda Kodeksi'nde süt için verilen limitlere (50 ng/l) uygun olmadığı ortaya konmuştur. Tüketime sunulan çiğ inek sütü örneklerinde yasal limitlerden yüksek seviyede AFM<sub>1</sub> tespit edilmesi, bu ürünlerin tüketilmesinin halk sağlığı yönünden ciddi bir risk oluşturabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, çiğ süt üretiminde iyi bir izleme ve kontrol sistemi kurulmalı ve yüksek AFM<sub>1</sub> içeren sütlerin satışının ve tüketiminin önüne geçilmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** Çiğ inek sütü, AFM<sub>1</sub>, ELISA

### GİRİŞ

Süt içerdiği çok çeşitli besin maddeleri ile tüm memeli canlılarda organizmanın ihtiyaçlarını karşılayabilen önemli bir gıda maddesidir. Özellikle gelişme çağındaki olanlarda gerekli olan protein, mineral maddeler ve vitaminleri diğer gıdalara göre daha yeterli düzeylerde bulundurmaktadır (Yetişemiyen 2007). Ancak süt aynı zamanda patojen ve bozulma yapan organizmaların üremesi ve çoğalması için de ideal bileşimde ve yüksek

besleyici özelliği olan bir gıdadır. Uygun olmayan hijyenik şartlarda üretildiğinde ve satışa sunulduğunda, içerebilecekleri patojen mikroorganizmalar, toksinler, ilaç kalıntıları ve diğer tehlikeli maddeler ile halk sağlığı için potansiyel tehlikeler taşıyabilmektedir (Ryser 2001).

Sütte bulunabilen zararlı toksinlerden birisi de *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* gibi mantarların sekonder metabolitleri olan mikotoksinlerdir. Mikotoksinler akut zehirlenmelerden kanserojenik etkilere kadar çeşitli toksik

etkiler gösterebilmektedirler. Mikotoksinler süt ve süt ürünlerine doğrudan ya da dolaylı olarak bulaşır. İlkinde bulaşma gıdadaki mantarlar tarafından üretilen mikotoksinlerle meydana gelirken, ikincisinde mikotoksinli yemlerle beslenen hayvanlarda toksinin süte ve süt ürünlerine geçmesi ile meydana gelmektedir (Weimar 2001; Zinedine ve ark. 2006).

Gıdalarda ve yemlerde mikotoksin oluşumu, rutubet, sıcaklık, atmosferik oksijen ve diğer gazların varlığı, ışık, süre ve pH gibi faktörlere bağlıdır. Mikotoksinlerle kirlenmiş besinleri ve yemleri tüketen insan ve bazı hayvan türlerinde mikotoksikozis adı verilen zehirlenme meydana gelmektedir. Mikotoksinler insanlarda toksik, kanserojenik, mutajenik ve teratojenik etkiler başta olmak üzere birçok sağlık problemlerine neden olmaktadır (Jay 2000; Weimar 2001).

Mikotoksinlerin günümüzde en bilinen grubu aflatoksinlerdir. Aflatoksinler, bazı küf türleri tarafından, özellikle ve yaygın olarak da *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, ve *A. nomius* türleri tarafından üretilirler. *A. flavus* sadece aflatoksin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) ve aflatoksin B<sub>2</sub> (AFB<sub>2</sub>) üretirken, *A. parasiticus* bunların yanı sıra aflatoksin G<sub>1</sub> ve aflatoksin G<sub>2</sub>'yi de sentezleyebilmektedir. Aflatoksinlerin 425-450 nm UV ışık altında mavi floresans veren bileşenlerine AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>, koyu yeşil floresans veren bileşenlerine ise aflatoksin G<sub>1</sub> ve aflatoksin G<sub>2</sub> ismi verilmiştir. Aflatoksinli yemleri tüketen hayvanlarda AFB<sub>1</sub> ve AFB<sub>2</sub>, hidrokstile olarak Aflatoksin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) ve Aflatoksin M<sub>2</sub> (AFM<sub>2</sub>) şeklinde süt ile atılırlar. AFM<sub>2</sub>'den daha toksik olan AFM<sub>1</sub> süt endüstrisinde temel sorunlardan birisini oluşturur (Ryser 2001; Shephard 2009).

Aflatoksinler çok güçlü karaciğer kanserojenidirler. Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu (IARC) tarafından 1993 yılında yapılan sınıflandırmada, AFB<sub>1</sub> yeterli kanıt elde edilmiş insan karsinojenleri (Sınıf 1), AFM<sub>1</sub>'de muhtemel insan karsinojenleri (2B sınıfı) içerisinde sınıflandırılmıştır. Daha sonra 2002 yılında AFM<sub>1</sub> Sınıf 1 karsinojen olarak (İnsanlara karsinojenik) yeniden sınıflandırılmıştır. Özellikle AFB<sub>1</sub> karaciğer kanserojeni olarak tanımlanmış ve hepatit B virüsü ile birlikte hepatosellüler karsinomaların en önemli sebebi olabileceği bildirilmiştir. AFM<sub>1</sub>'in mutajenik ve karsinojenik etkisi AFB<sub>1</sub>'den daha düşük olmasına rağmen genotoksik etkisi daha yüksektir (IARC 2002; Wang ve Tang 2004; Aljicevic ve Hamzic 2010; Liu ve Felicia 2010; Sarıca ve ark. 2015).

Süt ve süt ürünleri aflatoksin kalıntısı yönünden riskli ürünlerdendir. AFB<sub>1</sub>'in metaboliti olan AFM<sub>1</sub>, süt ve süt ürünlerinde en fazla rastlanan toksindir ve bunları tüketen insanlarda sağlık problemlerine yol açabilmektedir (Kırdar 2006). Süt ve süt ürünlerindeki AFM<sub>1</sub> seviyesi pastörizasyon, sterilizasyon, fermentasyon, soğukta depolama, dondurma, konsantre etme ve kurutma gibi işlemlerden çok az etkilenmektedir. Aflatoksin düzeyini düşürmek için sütün hidrojen peroksit, benzoil peroksit, sülfidler, bisülfidler, riboflavin, laktoperoksidad ve ultraviyole radyasyonla muamelesi veya bentonit benzeri bazı partiküllerle fiziksel olarak absorbe edilmesi gibi metotlar denenmektedir (Ryser 2001).

Aflatoksinlerin süte geçme oranı, hayvanın türü, laktasyon periyodu, sağım zamanı, sağım şekli, süt miktarı, mevsim ve zaman gibi faktörlere göre değişmektedir. Aflatoksinli yemin yenmesinden 12-24 saat sonra süte metabolitlere rastlanır ve yemle alınan AFB<sub>1</sub> miktarının yaklaşık %1-3 kadarı AFM<sub>1</sub> olarak süte geçmektedir. Süt sığırlarında bu oran genellikle %0.4-2.2 civarındadır (van Egmond 1989; Veldman 1992; Henry ve ark. 2001; Ryser 2001).

Süt ve süt ürünleri bebekler, çocuklar, iyileşme dönemindeki hastalar, yaşlılar, emziren anneler için temel besin kaynağı olduğundan, bu ürünlerdeki AFM<sub>1</sub> miktarı önemlidir (Oruç 2003). Aflatoksinlerin sağlık üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle gıdalarda belirlenmiş tolerans limitleri bulunmaktadır. Bu tolerans limitleri AFM<sub>1</sub> için Codex Alimentarius, A.B.D., Çin ve İran'da 500 ng/kg, Avrupa Birliği ve Türkiye'de ise 50 ng/kg'dır (Anonymous 1997; Anonymous 2001; Anonim 2008; Anonymous 2010; Rahimi ve ark. 2010).

Bu çalışma ile Van ilinde satışa sunulan çiğ inek sütlerinde AFM<sub>1</sub> düzeyinin ortaya konulması ve böylece çiğ inek sütlerinin halk sağlığı açısından bir tehlike oluşturup oluşturmadığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada incelenen 100 adet çiğ inek sütü örneği, 2014 yılı yaz aylarında (Haziran, Temmuz ve Ağustos), Van'da bulunan ve çiğ inek sütü satan marketlerden en az 300 g olacak şekilde steril ağzı kapaklı cam kavanozlara aseptik şartlarda alınarak +4 °C'lik soğuk zincirde ultraviyole filtreli özel kaplarda laboratuvara getirilmiş +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilerek en kısa sürede analize alınmıştır.

Örneklerdeki AFM<sub>1</sub> varlığı ve düzeyi kompetitif ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile R-Biopharm GmbH tarafından verilen prosedüre göre Ridascreen® Aflatoksin M<sub>1</sub>, R-Biopharm, R 1101 Test Kiti kullanılarak tespit edilmiştir. Kullanılan test kitinin ölçme limiti 5 ppt ve geri alma oranı süt için ortalama %95'tir. Sonuçların değerlendirilmesi R-Biopharm GmbH tarafından hazırlanan RIDAWIN isimli bilgisayar paket programı kullanılarak yapılmıştır (Anonymous 2006a).

### Örneklerin hazırlanması

Örnekler homojen olarak karıştırılmış ve her bir süt örneğinden 5 ml alınarak 10 °C'de, 3500 devirde 10 dakika süreyle santrifüje edilmiş, daha sonra tüpün üstündeki yağ tabakası pastör pipeti ile çekilerek alınmıştır. Yağı alınmış bu süt teste direkt olarak kullanılmıştır (Anonymous 2002; Anonymous 2006).

### Örneklerin analiz edilmesi ve sonuçların değerlendirilmesi

Analizde kullanılacak standart solüsyonlar (0, 5, 10, 20, 40 ve 80 ppt konsantrasyonda AFM<sub>1</sub> içeren) ve hazırlanan süt örnekleri için yeterli sayıda kuyucuk, kuyucuk çerçevesine yerleştirilmiştir. Standart solüsyonların ve hazırlanan örneklerin her birinden otomatik pipet ile 100 µl alınarak kuyucuklara aktarılmış ve oda ısısında (20-25 °C) ve karanlık ortamda 60 dakika bekletilmiştir. Daha sonra kuyucuklardaki sıvı boşaltılıp, kuyucuklar 250 µl PBS (%0.05 Tween 20) ile otomatik yıkayıcıda (Bio-Tek Instruments®, Inc., EL X 50) iki defa yıkatılmıştır. Yıkanan her bir kuyucuğa 100 µl 1:11 oranında dilüe edilmiş enzim konjugat ilave edilmiş ve tekrar oda ısısında (20-25 °C) ve karanlıkta 60 dakika bekletildikten sonra kuyucuk çerçevesindeki kuyucuklar otomatik yıkayıcıda yıkama çözeltisi ile üç defa yıkatılmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa sırayla 50 µl substrat ve 50 µl kromojen enjekte edildikten sonra iyice karıştırılmış ve 30 dakika oda ısısında ve karanlıkta bekletilmiştir. Son olarak her bir kuyucuğa 100 µl stop solüsyonu ilave edilerek iyice karıştırılmış ve ELISA okuyucuda (Bio-Tek Instruments, Inc., EL X 800) 450 nm'de 60 dakika içinde okutulmuş sonuçlar RIDEWIN ile değerlendirilmiştir (Anonymous 2002; Anonymous 2006a).

**BULGULAR**

Yapılan bu çalışma ile Van İl merkezinde bulunan marketlerde satışa sunulan çiğ inek sütlerinde AFM<sub>1</sub> düzeyleri belirlenmiştir. Analize alınan 100 çiğ inek sütü örneğinin 15 tanesinde (%15) AFM<sub>1</sub> tespit edilememiş, 53 tanesinde (%53) tespit limitinin (5 ppt) altında bulunmuş, 21 tanesinde (%21) 6.61 ile 76.96 ng/l arasında ortalama

24.60±17.89 ng/l olarak bulunurken 11(%11) tanesinde ise 80 ng/l'den yüksek düzeyde AFM<sub>1</sub> belirlenmiştir.

Çiğ inek sütü örneklerinin 12 tanesinin (%12) aflatoksin M<sub>1</sub> seviyesi yönünden Türk Gıda Kodeksi'nde (Anonim 2002) çiğ süt için verilen limitlere (50 ng/l) uygun olmadığı ortaya konmuştur (Tablo 1).

**Tablo 1.** Çiğ inek sütü örneklerinde aflatoksin M<sub>1</sub> varlığı ve dağılımı

**Table 1.** The Presence and distribution of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw cow milks

AFM <sub>1</sub> miktarına (ng/l) göre örnek sayısının dağılımı (%)				Konsantrasyon (ng/l)			
0	<5	5-80	>80	Pozitif	Limiti (50 ng/l) aşan	Min.	Maks.
15 (15)	53 (53)	21 (21)	11 (11)	85 (85)	12 (12)	<5	>80

**TARTIŞMA ve SONUÇ**

Sütte atılan AFM<sub>1</sub> ve AFM<sub>2</sub> hem süte hem de peynir, yoğurt, süt tozu, tereyağı gibi süt ürünlerine geçerek insan sağlığı için önemli riskler oluşturmaktadır. Ancak AFM<sub>1</sub> sütte en fazla bulunan ve daha toksik olan aflatoksindir. AFM<sub>1</sub> için yasal tolerans limitleri Codex Alimentarius'ta 500 ng/kg, Avrupa Birliği ve Türkiye'de ise 50 ng/kg'dır (Anonymous 2001; Decastelli ve ark. 2007; Anonim 2008; Anonymous 2010).

Sütteki AFM<sub>1</sub> kalıntı düzeyi; sütün elde edildiği hayvanın türü, sağım şekli ve zamanı, laktasyon periyodu ve elde edilen süt miktarı, coğrafya, ülke ve mevsim gibi faktörlere göre farklılıklar gösterebilmektedir. Çiğ sütlerde AFM<sub>1</sub> bulunma düzeyi; çimen, ot ve kaba yemin daha bol olduğu ve mera beslenmesinin fazla olduğu bahar ve yaz aylarında, hayvanların konsantre yemlerle beslendiği kış aylarından daha düşük olmaktadır. Yaz sonuna kadar hayvanların yeşil ve taze otlarla beslenmesi, yemlerde AFB<sub>1</sub> miktarının az olmasına dolayısıyla çiğ sütlerde AFM<sub>1</sub> düzeyinde bir azalmaya neden olmaktadır (Barbieri ve ark. 1994; Galvano ve ark. 1996; Pittet 1998; Creppy 2002).

Değişik ülkelerde ve Türkiye'de yapılan araştırmalarda çiğ inek sütü örneklerinde farklı oranlarda ve miktarlarda AFM<sub>1</sub> varlığına rastlanmıştır. Bu çalışmalarda AFM<sub>1</sub> yönünden pozitif bulunan örnek sayıları ile Türk Gıda Kodeksi ve European Commission tarafından verilen limit değeri (50 ng/l) aşan örnek sayıları Tablo 2 ve Tablo 3'de verilmiştir.

Bu çalışmada analize alınan çiğ süt örneklerinin %85'i AFM<sub>1</sub> yönünde pozitif bulunmuştur. Bu oran Martins ve Martins (2000), Roussi ve ark. (2002), Rodriguez ve ark. (2003), Akdemir ve Altıntaş (2004), Atasever ve ark. (2006), Özsunar ve ark. (2006), Shundo ve Sabino (2006), Boudra ve ark. (2007) Nuryono ve ark. (2009), Buldu ve ark. (2011), Rokhi (2013) ve Dimitrieska-Stojković ve ark. (2016) tarafından bulunan değerlerden yüksek, Bakırcı (2001) tarafından bulunan değere yakın, Oruç ve ark. (2006), Topcu (2006), Kök (2006), Kireççi ve ark. (2007), Sefidgar ve ark. (2008), Ghanem ve Orfi (2009) ve Kamkar ve ark. (2011) tarafından bulunan değerlerden düşüktür.

İncelenen çiğ süt örneklerinin %12'sinde AFM<sub>1</sub> miktarı Türkiye ve AB tarafından verilen limitin (50 ng/l) üzerinde bulunmuştur. Bu oran; Bakırcı (2001), Akdemir ve Altıntaş (2004), Oruç ve ark. (2005), Topcu (2006), Kök (2006), Kireççi ve ark. (2007), Sefidgar ve ark. (2008), Ghanem ve Orfi (2009) ve Buldu ve ark. (2011) tarafından bulunan değerlerden düşük, Atasever ve ark. (2006) ile Kamkar ve ark. (2011) tarafından belirlenen değerlere yakın, Martins ve Martins (2000), Roussi ve ark. (2002), Rodriguez ve ark. (2003), Özsunar ve ark. (2006), Çoksöyler ve ark. (2006), Kök (2006), Shundo ve Sabino (2006), Boudra ve ark. (2007), Nuryono ve ark. (2009) ve Dimitrieska-Stojković ve ark. (2016) tarafından bulunan değerlerden ise yüksektir.

**Tablo 2.** Türkiye'de çiğ inek sütlerinde AFM<sub>1</sub> düzeyleri üzerine yapılan bazı çalışmaların sonuçları

**Table 2.** The results of some studies on the levels of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw cow's milk in Turkey

Örnek	n	Pozitif (%)	>50 ng/l (%)	Ülke	Literatür
Çiğ süt	90	79 (87.8)	35 (38.9)	Türkiye	Bakırcı (2001)
Çiğ süt	48	34 (70.83)	16(33.3)	Türkiye	Akdemir ve Altıntaş 2004
Çiğ süt	127	73 (57.49)	14 (11.02)	Türkiye	Atasever ve ark. (2006)
Çiğ süt	135	76 (56.3)	1 (0.74)	Türkiye	Özsunar ve ark. (2006)
Çiğ süt	115	114 (99.13)	69 (60)	Türkiye	Oruç ve ark. (2005)
Çiğ süt	86	86(100)	50(58.4)	Türkiye	Topcu 2006
Çiğ süt	203	8 (2.94)	0(0)	Türkiye	Çoksöyler ve ark. (2006)
Çiğ süt	13	100 (100)	8 (61.5)	Türkiye	Kök (2006)
Çiğ süt	20	20 (100)	18 (90)	Türkiye	Kireççi ve ark. (2007)
Çiğ süt	90	80 (72.0)	63(56.7)	Türkiye	Buldu ve ark. (2011)

**Tablo 3.** Bazı ülkelerde çiğ inek sütlerinde AFM<sub>1</sub> düzeyleri üzerine yapılan çalışmaların sonuçları**Table 3.** The results of studies on the levels of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw cow's milk in some country

Örnek	n	Pozitif (%)	>50 ng/l (%)	Ülke	Literatür
Çiğ süt	22	13 (59.1)	2 (9.0)	Brezilya	Shundo ve Sabino (2006),
Çiğ süt	113	65 (57.5)	0 (0.0)	Endonezya	Nuryono ve ark. (2009)
Çiğ süt	120	118 (98.3)	68 (56.7)	İran	Sefidgar ve ark. (2008)
Çiğ süt	74	70 (95)	41(59)	Suriye	Ghanem ve Orfi (2009)
Çiğ süt	122	122 (100)	18 (14.75)	İran	Kamkar ve ark. (2011)
Çiğ süt	90	56 (65.55)	28 (31.11)	İran	Rokhi (2013)
Çiğ süt	31	25 (80.6)	0 (0.0)	Portekiz	Martins ve Martins (2000)
Çiğ süt	92	5 (5.44)	0 (0.0)	İspanya	Rodriguez ve ark. (2003)
Çiğ süt	30	22 (73.3)	1 (3.3)	Yunanistan	Roussi ve ark. (2002)
Çiğ süt	264	9 (3.41)	0 (0.0)	Fransa	Boudra ve ark. (2007)
Çiğ süt	3635	1538 (42.4)	105 (2.9)	Makedonya	Dimitrieska-Stojković ve ark. (2016)

Çoksoyler ve ark. (2006) Van yöresinden topladıkları 203 adet çiğ süt örneğinde HPLC ile yaptıkları AFM<sub>1</sub> analizlerinde sadece 8 örnekte AFM<sub>1</sub>'e rastlamışlar, bunların miktarının da yasal limitleri geçmediğini tespit etmişlerdir. Bu durumun en önemli nedeninin ise Türkiye'nin diğer bölgelerinde süt sığırlarının beslenmesinde yağlı tohum küspeleri kullanılmasına karşılık bu bölgede hayvanların bahar ve yaz aylarında taze otlarla, kış mevsiminde ise kuru otlarla beslenmesi olduğunu bildirmişlerdir. Nitekim Demirel ve Yıldırım (2000)'da Van İlinde hayvanlar tarafından tüketilen kaba yemlerde haziran, ekim ve şubat aylarında yaptıkları analizlerde, 30 örneğin sadece 1 tanesinde 7 ppb AFB<sub>1</sub> ve 6 ppb AFG<sub>1</sub>'e rastlamışlar ve bu yemlerin aflatoksin içerikleri yönünden tehlikeli olmadığı sonucuna varmışlardır. Bu çalışmada örneklerin %12'sinde limitlerin üzerinde AFM<sub>1</sub> bulunması, son yıllarda Van ili'nde sığır yetiştiriciliğinde entansif yetiştirmenin tercih edilmesine ve sığır beslenmesinde konsantre yem kullanımının artmasına bağlanabilir (Budağ ve Keçeci 2013).

AFM<sub>1</sub> yönünden pozitif örnek oranı genellikle ticari olarak satılan pastörize yada sterilize sütlerde, çiftliklerden elde edilen işlenmemiş çiğ süt örneklerine göre fazladır. Bunun sebebi, kontamine sütlerde bulunan AFM<sub>1</sub>'in ticari süt tanklarında dilüe olarak bütün sütü kontamine etmesidir (Piva ve ark. 1987). AFM<sub>1</sub>'in sütteki seviyesinin yaz aylarında daha düşük olduğu, bunun sebebinin de yaz aylarında süt ineklerinin konsantre yemlerden çok taze otlarla beslenmesi olduğu bildirilmiştir (Galvano ve ark. 1996; Tajkarimi ve ark. 2008).

Çiğ sütlerde AFM<sub>1</sub> varlığı ile ilgili yapılan çalışmalara (Tablo 2 ve Tablo) bakıldığında pozitif örnek oranı ve yasal limitlerden (50 ng/L) yüksek örnek sayısının AB ülkelerinde oldukça düşük iken ülkemizde ve diğer ülkelerde oldukça yüksek oranlarda olduğu görülmektedir. Bu durum AB ülkelerinde aflatoksin izleme ve kontrol programlarının daha titizlikle uygulandığını göstermektedir. Avrupa Birliği üyeliği yolunda ilerleyen ülkemizde de aflatoksinle ilgili izleme, tarama ve kontrol faaliyetlerinin titizlikle uygulanması gerekmektedir.

Sonuç olarak, Van İl merkezinde satışa sunulan çiğ sütlerde limitlerin üstünde AFM<sub>1</sub> içeren örnek oranının (%12) yüksek olması halk sağlığı açısından önemli bir risk oluşturmaktadır. Son yıllarda hayvan sayısı yüksek çiftliklerin kurulması ve bu çiftliklerde konsantre yemle

beslemenin artması, çiğ sütlerde AFM<sub>1</sub> miktarını arttırabilecek önemli bir faktör olabilir. Bu nedenle üretim öncesi süt hayvanlarının beslenmesinden üretim sonuna ve tüketime kadar olan aşamalarda aflatoksin üreten küllerle kontaminasyondan kaçınmak gerekmektedir. Koruyucu önlemler alındıktan sonra da hayvan yemlerinin ve sütlerin aflatoksin düzeylerinin rutin kontrollerle sürekli izlenmesinin şarttır. Böylece AFM<sub>1</sub> düzeyi yönünden uygun gıdaların tüketilmesi sağlanarak tüketici sağlığı da güvenceye alınmış olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Akdemir Ç, Altıntaş A (2004).** Ankara'da işlenen sütlerde aflatoksin M<sub>1</sub> varlığının ve düzeylerinin HPLC ile araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak*, 51, 175-179.
- Aljicevic M, Hamzic S (2010).** Aflatoxin in the urine of patients suffering from HCC and HBV. *J of Society for Development in New Net Environment in B&H*, 4(4), 852-856.
- Anonim (2008).** Gıda Maddelerinde Belirli Bulaşanların Maksimum Seviyelerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ. Resmi Gazete, 17 Mayıs 2008, sayı: 26879, Başbakanlık Basımevi, Ankara.
- Anonymous (1997).** Worldwide regulations for mycotoxins 1995. A compendium FAO, Food and Nutrition Paper, 64, Rome.
- Anonymous (2001).** Report of the 33<sup>rd</sup> Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants. Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission. Twenty-Fourth Session, Geneva, Switzerland. Organisation of The United Nations.
- Anonymous (2002).** Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products. Immunolab GmbH, Darmstadt, 1-6, Germany.
- Anonymous (2006).** Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M<sub>1</sub>. Art. No: R1111, Lot: 13400, R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany.
- Anonymous (2006a).** Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin M<sub>1</sub>. Art. No: R1101, R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany.
- Anonymous (2010).** Regulations. Commission Regulation (EU) No: 165/2010. Amending Regulation (EC) No 1881/2006, setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. Official Journal of the European Union, L, 50, 8-12.
- Atasever M, Nizamloğlu M, Özturhan K, Karakaya Y, Ünsal C (2006).** Erzurum bölgesinde tüketime sunulan süt ve süt ürünlerinin aflatoksin M<sub>1</sub> yönünden incelenmesi. 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi (Uluslar arası katılımlı) Bildiri Kitabı, sh:231-240, 18-20 Eylül 2006, İstanbul.
- Bakirci I (2001).** A study on the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control*, 12, 47-51.
- Barbieri G, Bergamini C, Ori E, Resca P (1994).** Aflatoxin M<sub>1</sub> in parmesan cheese: HPLC determination. *J Food Sci*, 59, 1313-1331.

- Boudra H, Barnoin J, Dragacci S, Morgavi DP (2007).** Aflatoxin M<sub>1</sub> and ochratoxin A in raw bulk milk from French dairy herds. *J Dairy Sci*, 90(7), 3197-3201.
- Budağ C, Keçeci Ş (2013).** Van'da büyükbaş hayvan besilerinde kullanılan yemler ve besi şekillerine ilişkin bir anket çalışması. *YYÜ Fen Bil Enst Derg*, 18(1-2), 48-61.
- Buldu HM, Koç AN, Uraz G (2011).** Aflatoxin M<sub>1</sub> kontaminasyonunda inek sütü in Türkiye (merkezi). *Türk J Vet Anim Sci*, 35(2), 87-91.
- Creppy EE (2002).** Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Letters*, 127, 19-28.
- Çoksoyler N, Gültaktı Y, Demir C, Aşkın O, Andiç S, Karadaş F (2006).** Van yöresinde üretilen sütlerde aflatoxin M<sub>1</sub> düzeyleri. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu, 99-104 s, 18-19 Eylül 2003, İstanbul.
- Decastelli L, Lai J, Gramaglia M, Monaco A, Nachtmann C, Oldano F, Ruffier M, Sezian A, Bandirola C (2007).** Aflatoxins occurrence in milk and feed in Northern Italy during 2004-2005. *Food Control*, 18, 1263-1266.
- Demirel M, Yıldırım A (2000).** Van yöresinde yetiştirici şartlarında depolanan kaba yemlerde aflatoxin oluşumunun saptanması. *Tarım Bil Derg (J Agric Sci)*, 10(1), 77-83.
- Dimitrieska-Stojkovi E, Stojanovska-Dimzoska B, Ilievska G, Uzunov R, Stojkovi G, Hajrulai-Musliu Z, Jankuloski D (2016).** Assessment of aflatoxin contamination in raw milk and feed in Macedonia during 2013. *Food Control*, 59, 201-206.
- Galvano F, Galofaro V, Galvano G (1996).** Occurrence and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products: A worldwide review. *J Food Prot*, 59(10), 1079-1090.
- Ghanem I, Orfi M (2009).** Aflatoxin M<sub>1</sub> in raw, pasteurized and powdered milk available in the Syrian market. *Food Control*, 20 (6), 603-605.
- Henry SH, Whitaker T, Rabbani I, Bowers J, Park D, Price W, Bosch FX, Pennington J, Verger P, Yoshizawa T, van Egmond H, Jonker MA, Coker R (2001).** Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food; WHO Food Additives Series 47; FAO Food and Nutrition Paper 74; WHO: Geneva, 2001; p.1-102.
- IARC (2002).** Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans. World Health Organization. Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. Summary of Data Reported and Evaluation, Vol. 82. Lyon, pp. 171-175.
- Jay JM (2000).** Modern Food Microbiology. Sixth Edition, An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Kamkar A, Jahed Khaniki GhR, Alavi SA (2011).** Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk produced in Ardebil of Iran. *Iran. J Environ Health Sci Eng*, 8(2), 123-128.
- Kırdar SS (2006).** Süt ve süt ürünlerinde mikotoksinler. Türkiye 9. Gıda Kongresi, Bildiriler Kitabı, sh: 307-310, 24-26 Mayıs 2006, BOLU.
- Kireççi E., Savaşçı M., Ayyıldız A (2007).** Sarıkamış'ta tüketilen süt ve peynir ürünlerinde aflatoxin M<sub>1</sub> varlığının belirlenmesi. *Tr J Infect*, 21 (2), 93-96.
- Kök Z (2006).** Aydın ili ve çevresinde üretilen süt ve süt ürünlerinde aflatoxin varlığının araştırılması. Y Lisans Tezi, 72 s, AMÜ Sağlık Bil Enst, Aydın.
- Liu Y, Felicia W (2010).** Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: A risk assessment. *Environ Health Persp*, 118(6), 818-825.
- Martins ML, Martins HM (2000).** Aflatoxin M<sub>1</sub> in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal. *Food Addit Contam*, 17(10), 871-874.
- Nuryono N, Agus A, Wedhastri S, Maryudani YB, Sigit Setyabudi FMC, Böhm J, Razzazi-Fazeli E (2009).** A Limited survey of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk from Indonesia by ELISA. *Food Control*, 20 (8), 721-724.
- Oruç HH (2003).** Süt ve süt ürünlerinde aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) ve Türkiye'deki durumu *Uludağ Univ J Fac Vet Med*, 22 (1-2-3), 121-125.
- Oruç HH, Kalkanlı Ö, Cengiz M, Sonal S (2005).** Bursa'nın ova ve dağ köylerinden toplanan çiğ sütlerde aflatoxin M<sub>1</sub> düzeyleri. II. Ulusal Mikotoksin Sempozyumu 23-24 Mayıs 2005, 124-127s, İstanbul.
- Özsunar A, Arıcı M, Gümüş T, Demirci M (2006).** Trakya bölgesinde üretilen inek sütlerinde aflatoxin M<sub>1</sub> varlığı. Y Lisans Tezi, TÜ Fen Bil Enst, Tekirdağ.
- Pittet A (1998).** Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds - an updated review. *Rev Med Vet*, 149, 479-492.
- Piva G, Pietri A, Galazzi L, Curto O (1987).** Aflatoxin M<sub>1</sub> occurrence in dairy products marketed in Italy. *Food Addit Contam*, 5, 133-139.
- Rahimi E, Bonyadian M, Rafei M, Kazemeini HR (2010).** Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. *Food Chem Toxicol*, 48(1), 129-131.
- Rodríguez Velasco ML, Calonge Delso MM, Ordóñez Escudero D (2003).** ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw cow's milk. *Food Addit Contam*, 20 (3), 276-280.
- Rokhi ML (2013).** Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> levels in raw milk samples in Gilan, Iran. *Adv Stud Biol*, 5(4), 151-156.
- Roussi V, Govaris A, Varagouli A, Botsoglou NA (2002).** Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw and market milk commercialized in Greece. *Food Addit Contam*, 19(9), 863-868.
- Ryser ET (2001).** Public health concerns. In: Applied Dairy Microbiology, Second Edition, (Revised and Expanded), Editors: Marth EH, Steele JL, pp: 397-546, Marcel Dekker Inc, NY, USA.
- Sarica DY, Has O, Taşdelen S, Ezer Ü (2015).** Occurrence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Milk, White Cheese and Yoghurt From Ankara, Turkey Markets. *Biol and Chem Res*, Vol: 2015, 36-49.
- Sefidgar SAA, Gholampour A, Khosravi AR, Roudbar-Mohammadi S (2008).** Presence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in Raw Milk at Cattle Farms in Babol, Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11, 484-486.
- Shephard GS (2009).** Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century. *Anal Bioanal Chem*, 395,1215-1224.
- Shundo L, Sabino M (2006).** Aflatoxin M<sub>1</sub> in milk by immunoaffinity column cleanup with TLC/HPLC determination. *Braz J Microbiol*, 37, 164-167.
- Tajkarimi M, Aliabadi-Sh F, Salah Nejad A, Poursoltani H, Motallebi AA, Mahdavi H (2008).** Aflatoxin M<sub>1</sub> contamination in winter and summer milk in 14 states in Iran. *Food Control*, 19, 1033-1036.
- Topcu SÖ (2006).** Ankara sokak sütü ve peynir örneklerinden maya izolasyonu, sütlerden aflatoxin M<sub>1</sub> tayini. Y Lisans Tezi, 97 s., GÜ Fen Bil Enst, Ankara.
- Van Egmond HP (1989).** Mycotoxins in dairy products. Elsevier Applied Science, London.
- Veldman A (1992).** Effect of Sorbentia on carry-over of aflatoxin from cow feed to milk. *Milchwissenschaft*, 47, 777-780.
- Wang JS, Tang L (2004).** Epidemiology of aflatoxin exposure and human liver cancer. *J Toxicol*, 23(2,3), 249-271.
- Weimer PJ (2001).** Microbiology of the Dairy Animal. in: Applied Dairy Microbiology, Second Edition, (Revised and Expanded), Editors: Marth EH, Steele JL, pp:1-58, Marcel Dekker Inc, NY, USA.
- Yetişemiyen A (2007).** Süt Üretimi, Süt hayvancılığı, sütün oluşumu ve sağımı. Süt Teknolojisi (Editör: Prof. Dr. Atilla Yetişemiyen), Ankara Üniversitesi Basımevi, ISBN: 978-975-482-750-7, Sh: 1-26, Ankara.
- Zinedine A, Brera C, Elakhdari S, Catano C, Debegnach F, Angelini S, Faid M, Benlemlih M, Riardi V, Miraglia M (2006).** Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food Control*, 17, 868-874.