


Isparta İlinden Toplanan Çiğ, Pastörize ve UHT Sütlerde Okratoksin A Miktarının Tespiti

Ayşegül YAVAŞ¹, Erdoğan KÜÇÜKÖNER¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 32100, Isparta, Türkiye

(Alınış / Received: 13.03.2022, Kabul / Accepted: 05.10.2022, Online Yayınlanma / Published Online: 25.04.2023)

Anahtar Kelimeler

Isparta,
Süt,
Çiğ süt,
Pastörize süt,
UHT süt,
Okratoksin A

Öz: Süt bileşiminde bulunan proteinler, yağlar, laktoz, vitaminler ve mineral maddeler ile en temel besin kaynaklarından biridir. Özellikle çocukların beslenmesinde, içeriğinde bulunan ve fizyolojik olarak önemli olan enzimler, büyüme hormonları, enzim inhibitörleri ve anti bakteriyel ajanlardan dolayı elzemdir. Fakat süt yararlı ve elzem bileşenleri içerirken aynı zamanda sağlığımızı tehdit edici Okratoksin A (OTA) gibi toksin maddelerini taşıyabilmektedir. Bu çalışmada Isparta ilinden iki farklı mevsimde toplanan çiğ, pastörize ve UHT sütlerde okratoksin A miktarı belirlenmiştir. Bulunan değerlere mevsim etkisi araştırılmıştır. Ağustos 2020 ve Mart 2021 aylarında iki farklı dönemde Isparta pazarlarında satılan 18 çiğ süt, marketlerden toplanan 18 pastörize süt ve 28 UHT süt örneği olmak üzere toplam 64 adet süt örneği incelenmiştir. OTA miktarlarının süt cinsine ve mevsime göre bulunan değerleri; çiğ süt yaz ortalaması $0,06 \pm 0,004$ ppb ve kış ortalaması $0,14 \pm 0,005$ ppb; pastörize süt OTA yaz ortalaması $0,07 \pm 0,002$ ppb, kış ortalaması $0,21 \pm 0,011$ ppb; UHT süt yaz ve kış ortalamaları sırası ile $0,06 \pm 0,003$ ppb ve $0,18 \pm 0,06$ ppb bulunmuştur. Tüm süt örneklerinde OTA tespit edilmiştir. Süt türlerine ait OTA miktarlarının kış ortalamaları, yaz ortalamalarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).

Detemination of Ochratoxin A Amounts of Raw, Pasteurized and UHT Milk Samples Collected in Isparta

Keywords

Isparta,
Milk,
Raw milk,
Pasteurized milk,
UHT milk,
Ochratoxin A

Abstract: Milk is one of the most basic nutritional source with the proteins, fats, lactose, vitamins and mineral substances in its composition. Especially in the nutrition of children, it is essential because of containing the physiologically important enzymes, growth hormones, enzyme inhibitors and antibacterial agents. However, while milk contains beneficial and essential components, it can also carry toxic substances such as Ochratoxin A (OTA), which threatens our health. In this study, the amount of ochratoxin A was determined in raw, pasteurized and UHT milk collected in two different seasons from Isparta province. The seasonal effect on the values found was investigated. A total of 64 milk samples, 18 raw milk samples sold in Isparta markets, 18 pasteurized milk samples collected from markets, and 28 UHT milk samples, were examined in two different months between August 2020 and March 2021. The values of OTA amounts according to milk type and season; raw milk summer average was 0.06 ± 0.004 ppb and winter average was 0.14 ± 0.005 ppb; pasteurized milk OTA summer average was 0.07 ± 0.002 ppb, winter average was 0.21 ± 0.011 ; UHT milk summer and winter averages were found to be 0.06 ± 0.003 ppb and 0.18 ± 0.06 ppb, respectively. OTA was detected in all milk samples. Winter averages of OTA amounts of milk species were found to be significantly higher than summer averages ($p < 0.05$).

1. Giriş

Mikotoksinler; ipliksi yapıda farklı mantar türlerinin ikincil metabolitleri olup, insan ve hayvanlarda; akut, subakut veya kronik zehirlenmelere sebep olabilen

düşük molekül ağırlıklı toksik maddelerdir [1]. Çoğunlukla *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Alternaria* ve *Claviseps* mantar türleri tarafından üretilirler [2]. En yaygın görülen toksinler; Aflatoksin (AF), Okratoksin, Patulin, Fumonisin,

*İlgili yazar: aysegul_yildiz1@hotmail.com

Zearalenon ve Triketesenlerdir [3]. Mikotoksinlerin oluşumunu etkileyen çok sayıda faktör bulunmakla birlikte en önemlisi çevresel faktörlerdir [4]. Çeşitli üretim aşamalarında (harmanlanma, depolanma, taşınma ve yem hazırlanma aşamaları) mikotoksinlerin oluşumunu etkileyen faktörler temel olarak; nem, sıcaklık, oksijen ve depolama süresidir [2]. Mikotoksin oluşumu için ideal çevre koşulları genel olarak; ortamın nem içeriğinin %70'den fazla ve sıcaklığın 12-47°C değerleri arasında olduğu durumlarıdır [5]. Bu temel faktörlerin yanında mevsim değişiklikleri de mikotoksin kontaminasyonunu etkileyen diğer bir faktördür. Mikotoksinlerin insanlara ulaşmasında temel yol; mikotoksinle bulaşık yemi tüketen hayvanlardan elde edilen gıdaların tüketilmesidir. Özellikle süt temin edilen hayvanların bu yemlerle beslenmesi ve bu toksinlerin metabolitlerini içeren süt ve süt ürünlerinin insanlar tarafından tüketilmesi sağlık açısından tehlike oluşturmaktadır [6].

Okratoksinler, *Aspergillus* ve *Penicillium* cinsi mantarlar tarafından oluşturulan ve A, B, C ve D olarak dört ayrı grubu bulunan önemli bir mikotoksin grubudur [7]. Okratoksin A; tahıl, fındık, kakao, kahve çekirdeği, bakliyat, bira, şarap, baharat ve kuru üzümde bulunabilen bir mikotoksindir [8]. Bu toksin *Aspergillus ochraceus*'dan izole edilebildiği için "Okratoksin" olarak adlandırılmıştır [3]. Okratoksinleri sentezleyen mantarlar çok düşük sıcaklıklarda bile toksin üretebilme özelliğine sahip olduklarından özellikle soğuk iklime sahip kuzey ülkelerinde üretilen tarım ürünleri ve yemlerde okratoksin kontaminasyonu sık görülen bir problemdir [9]. Okratoksinler içinde en yaygın bulunan ve en toksik olan Okratoksin A'nın üremesi için ideal koşullar 30°C'nin altı ve %80 nemdir [10, 11]. Okratoksin A'nın hayvanlarda nefrotoksik, hepatotoksik ve teratojenik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir [12]. IARC tarafından Okratoksin A, 2B karsinojen olarak gruplandırılmıştır [13]. OTA pastörizasyon gibi gıdalara uygulanan işlemlerle kolaylıkla yok edilemeyen sağlam bir moleküldür [14]. Fakat gerek Avrupa Komisyonu gerekse diğer uluslararası sağlık kuruluşları tarafından et ve diğer hayvansal kökenli gıdalar için herhangi bir OTA maksimum limiti belirlenmemiştir. Yalnızca Slovakya et ve süt için 5 µg/kg şeklinde belirlemiştir.

OTA'nın kontaminasyonu, insan ve hayvan sağlığı üzerindeki olası zararlı etkileri nedeniyle dünya çapında artan bir ilgi görmektedir. OTA varlığının daha yoğun olarak incelenmesi ve maksimum limit değerlerinin belirlenmesi için gerekli çalışmaların yapılması önemlidir. Bu nedenle OTA kontaminasyonunu tespit etmek için et ve süt gibi hayvansal kaynaklı gıda ürünlerini analiz edilmelidir. Bu çalışmanın amacı, toplanan çiğ, pastörize ve UHT sütlerinde OTA'nın potansiyel varlığını tespit ederek, yaşadığımız çevredeki az sayıdaki çalışmaya katkıda bulunmaktır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Bu çalışmada, Isparta pazarlarında satılan 9 adet çiğ süt örneği, marketlerden toplanan 9 adet pastörize süt ve 14 adet UHT süt örneği 2020 yılı ağustos ayında toplandı, aynı şekilde 2021 yılı mart ayında da 9 adet çiğ süt örneği, 9 adet pastörize süt ve 14 adet UHT süt örneği toplandı ve toplamda 64 süt örneği materyal olarak kullanıldı.

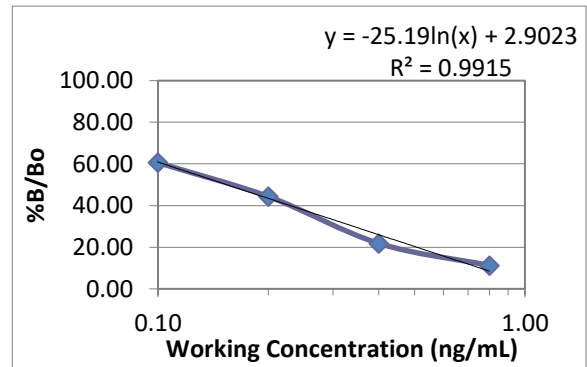
2.2. Metot

Sütlerin OTA miktarı ELISA yöntemi ile tespit edilmiştir [15, 16]. Öncelikle süt örneklerinden 250 µl eppendorf tüpüne alınarak üzerine 750 µl metanol eklenmiştir. 5 dakika oda ısısında inkübasyondan sonra mikro santrifüj (Onilab/D1008/Çin) ile santrifüj edilmiştir ve sıvı kısımdan 100 µl analiz amacıyla kullanılmıştır. Okratoksin A analizinde Ochratoxin A Serum/Milk ELISA (Helica, 9610CH01LM-96) test kiti kullanılmıştır ve analiz üretici direktiflerine göre yapılmıştır.

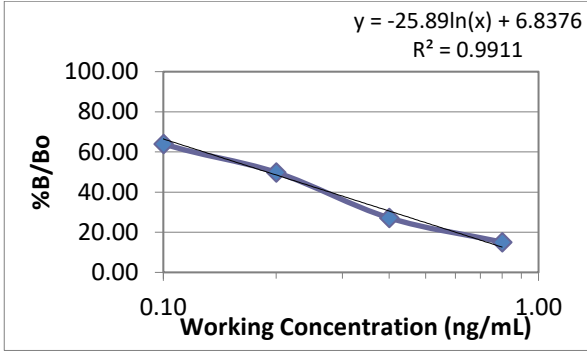
Analiz sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 26.0 (IBM SPSS Statics Version 26.0, Chicago, 2019) paket programı kullanılarak varyans analizleri yapılmıştır. Sütün türüne göre her bir kalite parametresi üzerine mevsimin etkisini incelemek için SPSS iki örneklem T-testi uygulanmıştır [17, 18].

3. Bulgular

Yaz ve kış mevsiminde toplanan çiğ süt örneklerinin standart eğrilerinin determinasyon katsayıları (R^2) eşit ve 0,991 hesaplanmıştır. Çiğ süt yaz ortalaması $0,06 \pm 0,004$ ppb, kış ortalaması $0,14 \pm 0,005$ ppb ve genel ortalama $0,10 \pm 0,010$ ppb olarak bulunmuştur. Çiğ süt kış ortalaması, yaz ortalamasından anlamlı olarak daha yüksektir ($p < 0,05$). Şekil 1 ve Şekil 2' de standart eğrileri ve denklemleri gösterilmektedir.

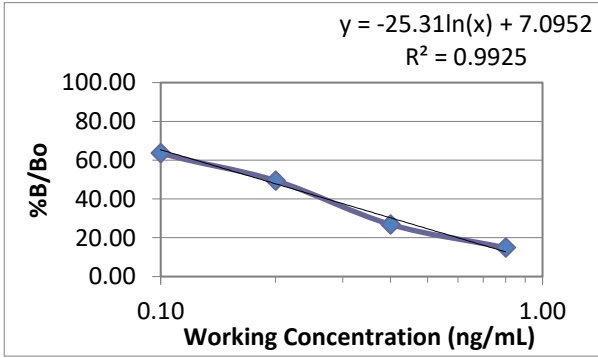


Şekil 1. Çiğ süt yaz mevsimi standart eğrisi ve denklemi

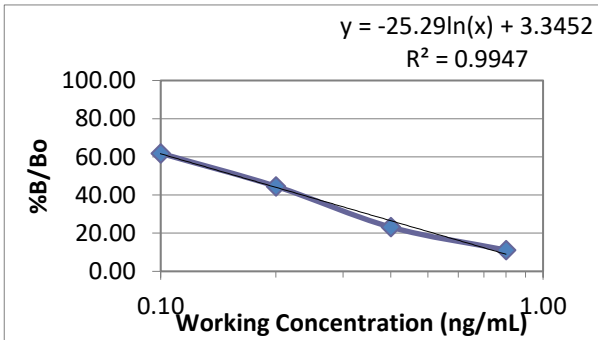


Şekil 2. Çiğ süt kış mevsimi standart eğrisi ve denklemi

Pastörize süt örneklerinin standart eğrilerinin determinasyon katsayıları yaz mevsimindeki örneklerin değerleri için 0,992, kış mevsimindeki örneklerinki 0,994' dür. Yaz mevsimi pastörize süt örneklerinin ortalaması $0,07\pm 0,002$ ppb, kış mevsimi ortalaması $0,21\pm 0,011$ ppb bulunmuştur. Pastörize süt genel ortalaması ise $0,14\pm 0,018$ ppb hesaplanmıştır. Mevsim ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$). Şekil 3 ve şekil 4' de pastörize süt örneklerine ait standart eğrileri gösterilmektedir.

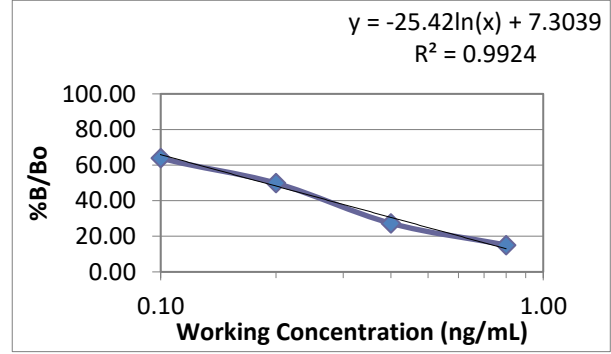


Şekil 3. Pastörize süt yaz mevsimi standart eğrisi ve denklemi

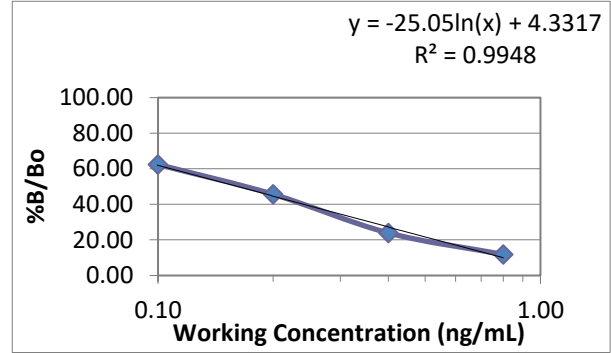


Şekil 4. Pastörize süt kış mevsimi standart eğrisi ve denklemi

UHT süt yaz mevsimi örneklerinin determinasyon katsayısı 0,992 ve kış mevsimin örneklerinin katsayısı ise 0,994 bulunmuştur. UHT süt örneklerinin genel ortalaması $0,12\pm 0,012$ ppb, yaz mevsimi ortalaması $0,06\pm 0,003$ ppb ve kış mevsimi ortalaması $0,18\pm 0,06$ ppb olarak hesaplanmıştır. Diğer süt türlerinde olduğu gibi mevsim ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$). Şekil 5 ve şekil 6'da UHT süt örneklerinin standart eğrileri ve Tablo 1'de ise tüm süt örneklerinden elde edilen sonuçlar gösterilmektedir.



Şekil 5. UHT süt yaz mevsimi standart eğrisi ve denklemi



Şekil 6. UHT süt kış mevsimi standart eğrisi ve denklemi

Tablo 1. Türler göre OTA miktarları ortalama değerleri (ppb)

		Numune Sayısı	Minimum Değer	Maximum Değer	Genel Ortalama
Çiğ Süt	YazMevsimi	9	0,04	0,08	$0,06\pm 0,004^*$
	Kış Mevsimi	9	0,11	0,16	$0,14\pm 0,005$
Pastörize Süt	YazMevsimi	9	0,06	0,08	$0,07\pm 0,002^*$
	Kış Mevsimi	9	0,16	0,27	$0,21\pm 0,011$
UHT Süt	YazMevsimi	14	0,05	0,08	$0,06\pm 0,003^*$
	Kış Mevsimi	14	0,15	0,23	$0,18\pm 0,006$

*Ortalamalar arası fark önemlidir ($p<0,05$).

4. Tartışma ve Sonuç

Yaptığımız bu çalışma sonucunda tüm örneklerde OTA tespit edilmiştir. Daha önceki çalışmaları incelediğimizde, İsvaç' de yapılan bir çalışmada 36 inek sütü ve 40 anne sütü örneğinde OTA miktarı sıvı kromatografisi ile tespit edilmiştir. 5 (%14) inek sütü örneğinde OTA miktarı 10-40 ng/L değerleri arasında bulunmuştur. İnsan sütünde de 23 (%58) örnekte aynı değer aralarında Okratoksin A tespit edilmiştir [19]. Valenta ve Goll tarafından yapılan çalışmada ise Almanya'nın kuzey bölgelerinden toplanan 121 inek sütü örneğinde OTA miktarı hem HPLC hem de ELISA yöntemi ile tespit edilmeye çalışılmıştır. Fakat iki yöntem sonucunda da örneklerde OTA varlığına rastlanmamıştır[20]. Fransa' da yapılan diğer bir çalışmada ise 264 çiğ inek sütü örneği incelenmiştir. 3 örnekte, 5 ile 8 ng/L arasında değişen değerlerde OTA tespit edilmiştir [21].Bu çalışmaya benzer şekilde Burdur'daki süt işletmelerinden toplanan 35 çiğ süt, marketlerden tedarik edilen 35 pastörize süt ve 35 UHT süt örneğinin OTA miktarı Elisa yöntemi ile Türkoğlu [15] tarafından tespit edilmiştir. Çalışmada çiğ süt örneklerinin ortalaması 137±57 ng/L; pastörize süt örneklerinin ortalaması 135±8 ng/L ve UHT süt örneklerinin ortalaması 85±4 ng/L bulunmuştur [15]. Diğer bir çalışmada ise süt toplama tanklarından toplanan 40 süt örneğinde OTA varlığı ELISA yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu tanklardan alınan süt örneklerinde 2-270 ng/L aralığında OTA bulunmuştur [16].

Süt ve süt ürünlerinde bulunan OTA miktarları için Slovakya dışında herhangi bir yasal limit değeri belirlenmemiştir. Bu yüzden herhangi bir kıyaslama yapılamamıştır. Ama diğer çalışmalarda olduğu gibi bu çalışmada da tüm örneklerde OTA tespit edilmiştir. Bu nedenle daha fazla araştırma yapılarak sütte okratoksin A miktarı için yasal bir limitin belirlenmesi önemli olarak değerlendirilmektedir

Belirttiğimiz çalışmaların hiçbirinde mevsimin etkisi araştırılmamıştır. Mevsim ortalamaları incelendiğinde; tüm süt türlerinin kış ortalamalarının yaz ortalamalarından yaklaşık iki kat daha fazla olduğu görülmektedir. Kış mevsiminde değerlerdeki bu yükselmelerin mikotoksinlerle kontamine olmuş yemlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Önemli temel besin maddelerinden biri olan sütte bulunan OTA gıda güvenliği ve süt tüketim miktarı en fazla olan çocuklar için risk teşkil etmektedir. Süt elde edilen hayvanlara verilen yemlerin OTA ile kontaminasyonunu engellemek için uygun koşullarda saklanması ve hijyenik şartlara dikkat edilmesi son derece önemlidir. Bu çalışmada bulunan sonuçlardan yola çıkarak, süt ve süt ürünlerinde hayvan beslenmesine bağlı kalite parametrelerinin istenilen seviyede olması için, hayvanların yem ve benzeri tüm ihtiyaçlarının bilimsel olarak kanıtlanmış yöntemler ile karşılanması gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, FYL- 2020-8026 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Etik Beyanı

Bu çalışmada, "Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi" kapsamında uyulması gerekli tüm kurallara uyulduğunu, bahsi geçen yönergenin "Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiğine Aykırı Eylemler" başlığı altında belirtilen eylemlerden hiçbirinin gerçekleştirilmediğini taahhüt ederiz.

Kaynakça

- [1] Kayaalp O., 2013. Kayseri ilinde tüketime sunulan manda yoğurtlarında Aflatoksin M1 düzeyinin belirlenmesi.Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 42s, Kayseri.
- [2] Kabak B, Dobson ADW, Var I., 2006. Strategies to Prevent Mycotoxin Contamination of Food and Animal Feed: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46(8),593-619.
- [3] Şen L, Nas S. ,2010. Kuru Incir, Üzüm ve Kırmızıbiberlerde Mikotoksin Varlığı. Akademik Gıda, 2010, 8(3), 4-32.
- [4] Algül I., 2012. Mısır Ununda Aflatoksin, Okratoksin A ve Ağır Metal İçeriklerinin Belirlenmesi ve Kemometrik Olarak Degerlendirilmesi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi,102s, Balıkesir.
- [5] Günaydın Ş, Karaca H., 2015. Küf Gelişimi ve Mikotoksin Oluşumunun Kontrolünde Doğal Bitki Ekstraktlarının Kullanımı. Akademik Gıda, 13(2),173-182.
- [6] Fink-Gremmels J., 2008. Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: a review. Food Additives Contaminant Part A., 25(2), 172-180.
- [7] Öksüztepe G, Erkan S., 2016. Mikotoksinler ve Halk Sağlığı Açısından Önemi. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 5(2),190-195.
- [8] Varga, J., Kozakiewicz, Z., 2006. Ochratoxin A in grapes and grape derived products. Trends Food Science Technology, 17, 72-81.
- [9] Kaya S., 2002. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Mikotoksinler. 2. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, 537-637.
- [10] Oruç, H.H., 2005. Mikotoksinler ve Tanı Yöntemleri. Uludağ Üniversitesi. J. Fac. Vet. Med, 24,105-110.

- [11] İpçak, H.H., Alçıçek A., 2013. Yeni Yem Kanunu ve Yem Hijyen Yönetmeliği Çerçevesinde Yemlerde Mikotoksin Problemi ve Çözüm Önerileri. VII. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi (Uluslararası Katılımlı). Ankara, Türkiye, 26-27 Eylül 2013, 343-348.
- [12] Pattono D, Grosso A, Stocco PP, Pazzi M, Zeppa G., 2013. Survey of the Presence of Patulin and Ochratoxin a in Traditional Semi-Hard Cheeses. *Food Control*, 33(1),54-57.
- [13] Ostry V, Malir F, Toman J, Grosse Y., 2017. Mycotoxins as Human Carcinogens the IARC Monographs Classification. *Mycotoxin Research*, 33,65-73.
- [14] Schiavone A, Cavallero C, Giroto L., 2008. A survey on the occurrence of ochratoxin A in feeds and sera collected in conventional and organic poultry farms in Northern Italy. *Ital J Anim Sci.*, 7, 495-503.
- [15] Türkoğlu, Ç., 2018, Çiğ, pastörize ve UHT sütlerde Aflatoksin M1 ve Okratoksin A varlığının araştırılması, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvansal Ürünler Hijyen ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Burdur.
- [16] Keyvan E., Yurdakul Ö., Kocasarı F., Tutun H., Demirtaş A., Kahraman H. A., Şen E., 2018. Detection of Ochratoxin A In Bulk Tank Milk. *Kocatepe Veterinary Journal*,11(3), 55-259.
- [17] Önal, A.R. 2005. Trakya'da Özel Bir Süt İşleme Tesisi Tarafından Değerlendirilen Çiğ Sütlerin Somatik Hücre Sayısı ve Bazı Bileşenlerinin Tespiti, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 110s, Tekirdağ.
- [18] Gayretli, D., 2013. Diyarbakır İlinde Elde Edilen Sütlerde Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Mevsimsel ve Aylık Değişimlerinin Belirlenmesi, Tunceli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 75s, Tunceli.
- [19] Breitholtz-Emanuelsson A, Olsen M, Oskarsson A, Palminger I, Hult K., 1993. Ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples. *J AOAC Int.*, 76, 842-6.
- [20] Valenta H., Goll M., 1996. Determination of ochratoxin A in regional samples of cow's milk from Germany. *Food Addit Contam.*, 13, 669-676.
- [21] Boudra H, Le Bars P, Le Bars J. 1995. Thermostability of ochratoxin A in wheat under two moisture conditions. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(3), 1156-1158.