

## Kuş Yemlerinde Total Aflatoksin, Nitrat ve Nitrit

H. Hüseyin ORUÇ\* Songül SONAL\*\* Selahattin CEYLAN\*\*\*

Geliş Tarihi: 26.09.2001

**Özet:** Bursa'daki pet ve kuş dükkanları, süpermarketler ve Bursa Hayvanat Bahçesi'nden, 2000 yılı aralık ayında toplanan 22 kuş yeminde total aflatoksin, nitrat ve nitrit düzeyleri belirlendi. Aflatoksin ELISA, nitrat ve nitrit spektrofotometrik bir metodla ölçüldü. Aflatoksin 0.0-9.2 µg/kg, nitrat 0.0-3.1 mg/kg ve nitrit miktarları 0.0-1.3 mg/kg arasında bulundu. Aflatoksin ve nitratın bulunma oranı %72.72, nitrit %9 olarak hesaplandı. Sonuç olarak yem numunelerindeki total aflatoksin, nitrat ve nitrit düzeylerinin kuşların sağlığı açısından bir risk oluşturamayacağı kanısına varıldı.

**Anahtar Sözcükler:** Total aflatoksin, Nitrat ve Nitrit, Kuş yemi

### Total Aflatoxin, Nitrate and Nitrite in Bird Foods

**Summary:** Total aflatoxin, nitrate and nitrite levels were determined in 22 bird foods that collected from pet and bird shops, supermarkets and Bursa Zoo during December 2000 in Bursa province, Turkey. Aflatoxin were determined by ELISA, nitrate and nitrite were determined by a spectrophotometric method. The aflatoxin total concentrations were between 0.0-9.2 µg/kg; the nitrate and nitrite concentrations were between 0.0-3.1 and 0.0-1.3 mg/kg respectively. The incidence of total aflatoxin and nitrate in the bird foods were 72.72%; nitrite was 9%. As a conclusion, the levels of total aflatoxin, nitrate and nitrite found in the samples can not have any risk for birds health.

**Key Words:** Total Aflatoxin, Nitrate and Nitrite, Bird food

### Giriş

Aflatoksinler ile nitrat ve nitritin insan, hayvan ve çevre üzerinde doğrudan veya dolaylı toksik etkileri vardır. Aflatoksinler, hayvanlarda yemden yararlanma ve vücut ağırlığında azalma, immun sistem işlevlerinin baskılanması, karaciğer hasarı, kanda koagülasyon bozuklukları ve ölüme neden olabilmektedir<sup>6</sup>. Aflatoksinler, kanatlı hayvanlar üzerinde de benzer toksik etkilere sahiptir. Kuş yemlerinde bulunan aflatoksin miktarlarıyla ilgili olarak Türkiye'de ve yurt dışında yapılmış yeterince çalışmaya rastlanamamıştır. Ancak diğer kanatlı yemlerindeki aflatoksinlerle ilgili çalışmalar daha çok bulunmaktadır. Örneğin, Amerika Birleşik

Devletleri'nde (ABD) yapılan bir çalışmada<sup>6</sup>, hindilerin yemlerinde 100µg / kg'dan fazla aflatoksin bulunmaması gerektiği, aksi taktirde yemden yararlanma ve vücut ağırlığında azalma olduğu, karaciğerin vücut ağırlığına oranının azaldığı, karaciğer enzim düzeylerinin değiştiği, koagülasyon bozuklukları görüldüğü ve lenfoblast transformasyonunun azaldığı bildirilmektedir. Çin'de, 1995 yılı başlarında, iki ayrı komşu çiftlikte ördeklerin yumurta üretiminde azalma ve erkek yavrualarda ölüm oranının arttığı görülmüştür. Yapılan incelemede çiftliklerden birinin yeminde 44 ppb aflatoksin B<sub>1</sub> ve diğerinde ise 100-200 ppb arasında aflatoksin B<sub>1</sub> saptanmış ve yemler değiştirildikten sonra bu problemin ortadan kalktığı belirtilmiştir<sup>4</sup>.

\* Arş. Gör. Dr. U.Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji ABD. Bursa-TÜRKİYE

\*\* Doç. Dr. U.Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji ABD. Bursa-TÜRKİYE

\*\*\* Prof. Dr. U.Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji ABD. Bursa-TÜRKİYE

İngiltere’de pet ve kuş yemlerinin %84’ünde ölçülebilir düzeylerde mikotoksin ve yarfıstığı içeren bir kuş yeminde 370µg/kg aflatoksin B<sub>1</sub> tespit edilmiştir<sup>9</sup>. Sülünlere 2.50 ve 5.00 ppm aflatoksin içeren yemler verildiğinde, sülünlerde üçüncü haftanın sonunda sırasıyla %92.5 ve %97.5 oranlarında ölüm görülmüştür<sup>2</sup>. Aflatoksin verilen genç yeşilbaş ördeklerin timuslarında yenilenen toplam hücre sayısında belirgin bir azalma olduğu belirlenmiştir<sup>3</sup>. Yemle birlikte 1.25, 2.50 ve 5 ppm aflatoksin verilen bildirgin gruplarında, ikinci ve üçüncü haftalarda sırasıyla %10, %30 ve %40 mortalite görülmüştür<sup>8</sup>. Genç Pekin ördekleri üzerinde yapılan bir çalışmada da<sup>10</sup> bu ördeklerin aflatoksinin düşük düzeylerine karşı duyarlı olduğu ve hepatokarsinogeneze yol açabilecek erken lezyonların geliştiği bildirilmiştir.

Kuş ve diğer kanatlı yemlerinde bulunan nitrat ve nitrit miktarları ve bunların etkisi konusunda yapılmış çalışmalar sınırlı sayıdadır. Mısır’da, 1991 yılında, iki aylık yavru horozlardan bir gruba yemle birlikte 4.2 g/kg sodyum nitrat, diğer gruba ise 1.7 g/kg sodyum nitrit verildiğinde, her iki grupta büyümede yavaşlama olduğu, methemoglobinemi şekillendiği; eritrosit miktarı, glutamik pirüvik transaminaz, kreatinin ve üre miktarlarında değişimler olduğu; sonuç olarak nitrat ve nitritlerin kümes hayvanlarının karaciğer, böbrek ve immün sistemle ilgili hastalıkların etiolojisinde rol oynayabileceği belirtilmiştir<sup>1</sup>. Rist ve arkadaşları<sup>14</sup>, Hollanda’da, zayıf havalandırma nedeniyle bir kümeste biriken amonyakın, yoğunlaşmış nemli ortamda nitrite ve nitrate dönüşerek suluklara karıştığını; kümeste bulunan 2093 tavuğun ve 208 horozun yem tüketiminde, tavukların yumurta veriminde azalma görüldüğünü; 14 tavuk ve 12 horozun öldüğünü ve ölen hayvanların ibiklerinin mavimsi soluk bir renk aldığını bildirmişlerdir.

Kuş yemleri için bildirilmiş bir yem standardı bulunmamaktadır. Ticari olarak üretilen kuş yemlerinin çeşitli kirleticiler yönünden denetimi yapılamamaktadır. Türkiye’de kuş yemlerindeki total aflatoksin, nitrat ve nitrit düzeyleriyle ilgili yapılmış bir çalışmaya rastlanamamıştır. Bu araştırma ile Bursa’da tüketilen kuş yemlerindeki total aflatoksin, nitrat ve nitrit düzeylerinin belirlenmesi ve bulguların kuşların sağlığı yönünden irdelenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metod

Araştırma materyali olarak 12 muhabbet kuşu yemi (11 adet ticari ambalajlı, 1 adet açık), 5 kanarya yemi (ticari ambalajlı) ve 5 adet hayvanat bahçesi (açık) kuş yemleri olmak üzere toplam 22 adet kuş yemi kullanıldı. Numuneler, 2000 yılı aralık ayında, Bursa’da bulunan belirli kuş ve kuş malzemeleri satış yerleri, küçük hayvan klinikleri, süpermarketlerin pet reyonları ve Bursa Hayvanat Bahçesi’nden sağlandı. Her yemden ortalama 500 g alındı ve analizi yapılmaya kadar +4 °C’de saklandı.

Aflatoksin analizi, R-Biopharm firmasına ait, duyarlılık limitleri 0-45 ppb olan Ridascreen® Fast Aflatoxin kitleri (Art.No: R5202) kullanılarak ELISA tekniği ile 450 nm dalga boyunda yapıldı<sup>7</sup>. Nitrat ve nitrit tayini için, temel olarak Sen ve Donaldson<sup>11</sup> tarafından bildirilen yöntem kullanıldı. Nitrit, sülfanilik asit ve N-(1-naftil)-etilendiaminle bağlanarak kolorimetrik olarak tayin edildi. Nitrat, kadmiyum kolonundan geçirilerek nitrite indirgendikten sonra aynı şekilde ölçüldü. Nitrat içeriği, nitrat azotu olarak, nitrit ise nitrit azotu olarak hesaplandı. Araştırma sonucunda elde edilen verilerin istatistik değerlendirmesi Graphpad Instat programı ile yapıldı.

## Bulgular

Bu çalışmada, kuş yemlerinde total aflatoksinin rastlantı oranı %72.72 ve aflatoksin düzeyleri 0.0-9.2 ppb arasında bulundu. Kuş yemlerinin 6 tanesinde (2 muhabbet kuşu, 4 kanarya yemi) aflatoksin tespit edilemedi. Yöntemde 0.0, 1.7, 5.0, 15.0 ve 45.0 ppb olmak üzere altı tane standart kullanılmaktadır. Yönteme göre, 0.0-1.7 ppb arasındaki aflatoksin miktarları <standart 2 olarak belirtilmekte ve 1.7’den küçük olarak ölçülebilmektedir. Yem örneklerinden 6 muhabbet kuşu yemi, 1 kanarya yemi ve hayvanat bahçesi kuş yemlerinden 3 tanesinde aflatoksin miktarı 1.7’den küçük bulunmuştur. Bu nedenle ortalama değerler ve standart hatalar hesaplanamamıştır. Sonuçlar Tablo I.’de kuş yemi çeşitlerine göre minimum ve maksimum olarak verilmiştir.

**Tablo I. Kuş yemlerinde tespit edilen total aflatoksin düzeyleri (µg/kg).**

Yem çeşitleri	n	Aflatoksin düzeyleri
Muhabbet kuşu yemi	12	0.0-9.20
Kanarya yemi	5	0.0- <1.70
Hayvanat bahçesi kuş yemleri	5	0.0-2.60
Toplam	22	0.0-9.20

Yem örneklerinde nitratin rastlantı oranı %72.72, nitritin %9 olduğu görüldü ve nitrat miktarları, 0.0-3.1 mg/kg arasında tespit edildi. Nitrat ve nitrit analizlerinde altı numunede yöntemin duyarlılık limitleri içinde nitrat tespit edilemedi. Nitrit ise sadece iki numunede, 1.20 ve 1.30 ppm nitrit azotu olarak saptandı. Bulunan nitrat miktarları Tablo II.'de belirtilmiştir.

**Tablo II. Kuş yemlerinde tespit edilen nitrat düzeyleri (mg/kg, NO<sub>3</sub>-N olarak)**

Yem çeşitleri	n	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	Minimum	Maksimum
Muhabbet kuşu yemi	12	0.90±0.20	0.00	1.80
Kanarya yemi	5	1.22±0.54	0.00	2.60
Hayvanat bahçesi kuş yemleri	5	1.48±0.40	1.00	3.10
Toplam	22	1.10±0.18	0.00	3.10

## Tartışma ve Sonuç

Türkiye'de, son yıllarda, veteriner hekimliğinin sorumluluk alanına kuşların bakım, besleme ve tedavisi ağırlıklı olarak girmiştir. Ekonomik değeri nedeniyle tavuk, hindi ve ördek gibi kanatlı yemlerindeki toksik maddelerle ilgili bir çok araştırmaya rastlanırken, evcil ve yabani kuşların yemlerindeki olumsuzluk faktörleri ile ilgili çalışmalar pek bulunmamaktadır. Bu nedenle, koruyucu hekimlik ve bazen de tanı açısından kuş yemlerinin çeşitli rezidü ve kirleticiler yönünden toksikolojik analizlerinin yapılması gerekmektedir.

Evcil ve yabani kuşların yemlerinde, aflatoksin tolerans düzeyiyle ilgili bir veri bulunmamakla birlikte, bu düzeyler, Türk Gıda Kodeksi'nin<sup>13</sup> tüm besin maddeleri için kabul ettiği 10 ppb'nin altında kalmaktadır. Kuş yemlerindeki aflatoksin miktarları, İngiltere'de pet ve kuş yemlerindeki rastlantı oranıyla (yerfıstığı içeren bir kuş yemi dışında, 370 ppb B<sub>1</sub>) benzerlik göstermektedir<sup>9</sup>. Hindi<sup>6</sup>, sülün<sup>2</sup>, bıldırcınlar<sup>8</sup> ve broilerler<sup>12</sup> üzerinde yapılan çalışmalarda, 100 ppb ve üzerindeki total aflatoksinin, öncelikle büyüme ve yemden yararlanmayı olumsuz yönde etkilediği ve ölümlerle sonuçlanabilen toksik etkilere neden olduğu

görülmüştür. Bursa'da satılan kuş yemlerindeki aflatoksinin, yukarıda belirtilen miktarların oldukça altında kaldığı ve kuşlarda toksik bir etkiye yol açamayacak düzeylerde olduğu söylenebilir.

Muhabbet kuşu, kanarya ve hayvanat bahçesi kuş yemlerinde bulunan nitrat ve nitrit düzeyleri (Bulgular ve Tablo II'de belirtildiği gibi, sodyum nitrat ve sodyum nitrit olarak), Atef ve arkadaşlarının<sup>1</sup>, yavru horozlara yemle birlikte verdikleri ve toksik etkilerini bildirdikleri (4200 mg/kg sodyum nitrat ve 1700 mg/kg sodyum nitrit) nitrat ve nitrit miktarlarıyla kıyaslanamayacak oranlarda düşük kalmaktadır. Ayrıca, kuş yemlerinde, nitrat ve nitritin tolerans düzeyleriyle ilgili bir veriye rastlanamamıştır.

Kuş yemlerinde total aflatoksin, nitrat ve nitrit düzeylerinin düşük olmasının nedenleri arasında, kanımızca yemlerin yerli ve yabancı firmalar tarafından, sağlıklı şartlar altında üretilerek ambalajlanması ve hayvanat bahçesindeki yemlerin taze olarak hazırlanması sayılabilir. Ayrıca, diğer kanatlı yemlerinden farklı olarak, kuş yemlerinin genellikle kabuklu olarak tüketilmesi de aflatoksin oluşumunu azaltan bir faktördür. Çoğunlukla kuş yemleri darı, kabuksuz yulaf, keten ve kenevir tohumu gibi tane yemlerden oluşmaktadır. Nitrat ve nitrit miktarlarının kuş yemlerinde düşük olmasının önemli bir nedeni, bitkilerin tane (tohum) kısımlarında nitrat ve nitrit birikiminin az olmasıdır<sup>5</sup>.

Sonuç olarak, kuş yemlerinde, total aflatoksin ve nitratin rastlantı oranları yüksek (%72.72) olmakla birlikte, tespit edilen total aflatoksin, nitrat ve nitrit düzeylerinin evde beslenen ve hayvanat bahçesindeki kuşların sağlığı açısından bir risk oluşturması mümkün görünmemektedir. Ancak, özellikle kuş yemlerindeki aflatoksin, nitrat ve nitrit miktarları ve bunun hayvanlar üzerindeki etkileri konusunda yapılmış yeterince deneysel çalışma bulunmaması; konunun bu yönüyle ve daha sağlıklı irdelenebilmesi için yeni çalışmalar yapılmasını gerekli kılmaktadır. Yine, bazı araştırmalarda kuş yemlerinde tespit edilen bireysel aflatoksin düzeylerinin yüksekliği<sup>9</sup> ve görülen zehirlenme olguları<sup>4,14</sup>, belirli aralıklarla kuş yemlerinin aflatoksin, nitrat ve nitrit açısından taranmasının yararlı olacağını göstermektedir.

## Kaynaklar

1. ATEF, M., ABO NORAGE M.A.M., HANAFY M.S.M., AGAG A.E.: Pharmacotoxicological aspects of nitrate and nitrite in domestic fowls. *Br. Poult. Sci.*, 32(2): 399-404, 1991.
2. HUFF, W.E., RUFF, M.D., CHUTE, M.B.: Characterization of the toxicity of the mycotoxin, ochratoxin, and T-2 toxin in game birds. II. Ringneck pheasant. *Avian Dis.*, 36(1): 30-33, 1992.
3. HURLEY, D.J., NEIGER, R.D., HIGGINS, K.F., ROTTINGHAUS, G.E., STAHR, H.: Short-term exposure to subacute doses of aflatoxin-induced depressed mitogen responses in young mallard ducks. *Avian Dis.*, 43(4):649-655, 1999.
4. LIU, C., XU, R.L., WANG, Z.J., ZHOU, Z.Q., YAN, Z.G., RAO, Y.L., LUO, F.: Investigation and diagnosis of aflatoxicosis on a duck farm in Shanghai. *Chin. J. Vet. Med.*, 22(2):18,1996.
5. Mc NAMARA, A.S., KLEPPER, L.A., HAGEMAN, R.H.: Nitrate content of seeds of certain crop plants, vegetables, and weeds. *J. Agr. Food Chem.*, 19(3): 540-542, 1971.
6. QUIST, C.F., BOUNOUS, D.I., KILBURN, J.V., NETTLES, V.F., WYATT, R.D.: The effect of dietary aflatoxin on wild turkey poults. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(3):436-444, 2000.
7. R-BIOPHARM: Ridascreen® Fast Aflatoxin. R-Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany.
8. RUFF, M.D., HUFF, W.E., WILKINS, G.C.: Characterization of the toxicity of the mycotoxin, ochratoxin, and T-2 toxin in game birds. III. Bobwhite and Japanese quail. *Avian Dis.*, 36(1):34-39, 1992.
9. SCUDAMORE, K.A., HETMANSKI, M.T., NAWAZ, S., NAYLOR, J., RAINBIRD, S.: Determination of mycotoxins in pet foods sold for domestic pets and wild birds using linked-column immunoassay clean-up and HPLC. *Food Add. Contam.*, 14(2): 175-186, 1997.
10. SELLS, S., XU, K.L., HUFF, W.E., KABENA, L.F., HARVERY, R.B., DUNSFORD, H.A.: Aflatoxin exposure produces serum albumin protein elevations and marked oval cell proliferation in young male Pekin ducklings. *Pathology*, 30(1):34-39, 1998.
11. SEN, N.P., DONALDSON, B.: Improved colorimetric method for determining nitrate and nitrite in foods. *J.A.O.A.C.*, 61(6): 1389-1394, 1978.
12. SHANE, S.M.: Mycotoxins are roadblocks. *Feeding Times*, 4(3):6-8, 1999.
13. ANONYMOUS: Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Mikrobiyal Toksinler. T.C. Resmi Gazete, sayfa 124,16 Kasım 1997.
14. VAN DER RIJT, T.J.J.: Nitrite poisoning incident among laying hens. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 114(8):437-442, 1989.