

Bazı Gıdalarda ve Sağlıklı Kişilerin İdrar Örneklerinde ELISA Yöntemi ile Aflatoxin B1 ve Fumonisin B1 Araştırılması

Investigation of Aflatoxin B1 and Fumonisin B1 in Some Foods and Urine Samples of healthy People by ELISA Method*

Ülker ÇUHACI¹, Ali ÖZTÜRK², Bora DOĞAN^{3,4}, Ayşe KALKANCI⁵, Uğur TAMER⁶

¹Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

²Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Niğde, Türkiye

³Alaaddin Keykubat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Alanya, Antalya, Türkiye

⁴Urla Devlet Hastanesi, İzmir, Türkiye

⁵Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

⁶Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Temel Eczacılık Bilimleri, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

ÖZ

Giriş: Mikotoksinler, üretim ve saklama sırasında gıdaları kontamine eden küf mantarlarının sekonder metabolizma ürünleridir. Yüzden fazla farklı mikotoksin bilinmektedir. En sık görülenleri arasında aflatoxin ve fumonisin bulunmaktadır. Bu toksinler halk sağlığını tehdit etmenin yanı sıra, ekonomik kayıplara da neden olmaktadır. Sağlıklı kişilerin düşük dozda mikotoksin maruziyetinin klinik sonuçları tam olarak bilinmemektedir.

Metod: Bu çalışmada, bazı gıdaların ve 43 sağlıklı gönüllünün idrar örneğinde mikotoksinlerden aflatoxin B1 ve fumonisin B1 ELISA yöntemi ile araştırılmıştır. Gıda olarak en çok kontamine olduğu bilinen mısır ve mısır bazlı gıdalar, kuru yemişler, bitki çayları, süt ve süt ürünleri çalışma kapsamına alınmıştır.

Bulgular: Mısır ve mısır bazlı örneklerin 14'ünde (%100) ve bitki çaylarının 26'sında (%100) farklı düzeylerde fumonisin B1 saptanmıştır. İdrar örneklerinin 22'sinde (%52,3) fumonisin B1 saptanmıştır. Çeşitli pastörize sütlerin 9'unda (%100), bitki çaylarının 26'sında (%100), kuru yemişlerinin (badem ve fıstık) ve çeşitli kırmızı biber markalarının 6'sında (%100) ve idrar örneklerinin tamamında farklı düzeylerde aflatoxin B1 varlığı tespit edilmiştir.

Sonuç: Gıda ürünlerinin çoğunda ve bazı idrar örneklerinde mikotoksin varlığı gösterilmiştir. Mikotoksin maruziyetinin klinik etkileri çok sayıda gönüllüyü kapsayan prospektif çalışmalar ile incelenmelidir.

Anahtar Sözcükler: Mikotoksin, gıda, sağlıklı idrar

ABSTRACT

Introduction: Mycotoxins are secondary metabolites has been produced by moulds which are contaminating foods in production or storage processes. There are more than 100 mycotoxins known. Aflatoxins and fumonisins are mostly common. These toxins threaten public health and causes economic loss also. Clinical outcomes of exposing to these toxins in low doses are unknown.

Methods: In this study, some kind of foods and urine samples of healthy volunteers have been investigated for aflatoxin B1 and fumonisin B1 by ELISA method. Corn and corn based foods, dried-fruits, herbal teas, milk and dairy products have been included in the study.

Results: Fumonisin have been determined in 14 of corn and corn based foods and 26 of herbal teas at different levels. A total of 22 urine samples were containing fumonisin B1. Aflatoxin B1 have been detected at various levels in 9 (100%) of different pasteurized milk samples, 26 (100%) of herbal teas samples, 6 of dried-fruits (almonds and peanuts) and red peppers samples and all of the urine samples tested.

Discussion: Majority of food products and some of the urine samples were found to be contaminated with mycotoxins. The clinical effects of being exposed to mycotoxins on health should be evaluated in a prospective manner with wide numbers of volunteers.

Key words: Mycotoxins, food, healthy urine

Cite this article as: Çuhacı Ü, Öztürk A, Doğan B, Kalcanci A, Tamer U. Bazı gıdalarda ve sağlıklı kişilerin idrar örneklerinde ELISA yöntemi ile Aflatoxin B1 ve Fumonisin B1 araştırılması. YIU Sağlık Bil Derg 2022;3:1-5.

*Bu çalışmanın bir kısmı bütçesi "Mikotoksikoz Tanısında Kullanılabilecek Lateral Akım Testi Geliştirilmesi" başlıklı ve "1165713" kodlu TÜBİTAK projesinden karşılanmıştır.

Correspondence Address/Yazışma Adresi: Ülker ÇUHACI, Yüksek İhtisas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye
E-mail: ulkerchuhaci@yiu.edu.tr, **Ü.Ç.:** <https://orcid.org/0000-0002-6420-6185>, **A.Ö.:** <https://orcid.org/0000-0003-2428-1831>, **B.D.:** <https://orcid.org/0000-0002-5615-0512>,
A.K.: <https://orcid.org/0000-0003-0961-7325>, **U.T.:** <https://orcid.org/0000-0001-9989-6123>

Received/Geliş Tarihi: 02.12.2021, **Accepted/Kabul Tarihi:** 18.03.2022, **Available Online Date/Çevrimiçi Yayın Tarihi:** 29.04.2022

©Copyright 2022 by Journal of Health Science Yüksek İhtisas University
©Telif Hakkı 2022 Yüksek İhtisas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi

Giriş

Mikotoksinler; *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* gibi küf mantarlarının sekonder metabolitleri olan düşük molekül ağırlıklı, doğal toksinlerdir. İnsan-hayvan sağlığı üzerinde güçlü ve çeşitli toksik etkileri bulunmaktadır(1). Mikotoksinler, insanlarda direkt olarak kontamine gıdalar ile temas ederek primer mikotoksikoza veya mikotoksikozlu gıda tüketen hayvanların süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi sekonder mikotoksikoza neden olurlar. Mikotoksikozlar, gıda zehirlenmesi, allerjik reaksiyonlar, tümör oluşumu veya ani ölüme kadar değişebilen klinik tablolar şeklinde ortaya çıkabilirler (2).

Tarım ürünleri bakımından zengin, aynı zamanda bu ürünlerle işlenmiş gıdaların üretiminin, ihracatının ve ithalatının yoğun ve önemli olduğu ülkemizde, bu ürünlerin yetiştirilmesi, işlenmesi, depolanması ve taşınması aşamalarında çeşitli kimyasal ve biyolojik maddeler ile kontaminasyon olabilmektedir. Küfler bu biyolojik kontaminasyonda ilk sırayı almaktadırlar. Küfler sıklıkla yağlı tohumlar, baklagiller, hububat gibi çeşitli tarımsal ürünlerin mikroflorasında yer almakta veya hasat, işleme ve depolama aşamalarında bu tür ürünlere bulaşabilmektedirler (3). Bu mikotoksinlerden olan fumonisinler ve aflatoksinler canlılar için yüksek derecede toksik etkili mikotoksinlerdir (4).

Sağlıklı insanlarda yapılan kesitsel çalışmalarda, kişilerden alınan serum ve idrar örneklerinde farklı mikotoksinlerin varlığı gösterilmiştir (5). Ancak, mikotoksin bulunmasının hangi klinik tablolara neden olduğu tam olarak bilinmemektedir.

Bu çalışmanın amacı: marketlerde satışa sunulan çeşitli sütlerde, bitki çaylarında, çeşitli hububatlarda, mısır bazlı gıdalarda ve bir grup sağlıklı gönüllünün idrar örneğinde fumonisin B1 ve aflatoksin B1 varlığını araştırmaktır. Çalışmanın hipotezleri 1; bazı gıdalar mikotoksinler ile kontamine, 2; sağlıklı insan örneklerinde mikotoksin gösterilebilir.

Materyal ve Metod

Gıda Örnekleri

Fumonisin B1 analizi için üç adet mısır patlağı, dört adet konserve mısır, bir adet mısır unu, iki adet mısır gevreği, bir adet taze mısır, bir adet mısır nişastası, iki adet kuru mısır, yirmi altı adet çeşitli markalarda bitki çayı örneklem olarak seçilmiştir.

Aflatoksin B1 analizi için, dokuz adet çeşitli markalarda ambalajlanmış pastörize süt, altı adet toz kırmızı biber, iki adet badem, dört adet fıstık, on dokuz adet farklı markalarda bitki çayı örneklem olarak seçilmiştir.

İdrar Örnekleri

Sağlıklı gönüllülerden idrar örneği toplanabilmesi için Gazi Üniversitesi Etik Komisyondan 17.05.2021 tarih ve 462 no. karar ile onay alınmıştır. Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında

çalışan sağlık personeli 43 adet gönüllüden 5 gün süre ile aflatoksin için süt, kırmızı biber, fıstık ve bitki çayı, fumonisin için mısır konservesi, mısır gevreği, mısır unu, bitki çayı tüketmesi istenmiştir. Bu gönüllülerden 6 günde idrar örneği toplanmıştır.

Fumonisin B1 ELISA Analizi

Fumonisin B1 analizi için toplam 40 adet çeşitli gıda ürünleri ve 42 adet bu yiyecekleri tüketen sağlıklı kişilerin idrarları kullanılmıştır. Örneklerdeki fumonisin B1 miktarları ticari test kiti (CUSABIO Fumonisin B1 B1, China) kullanılarak ELISA ile saptanmıştır. Üretici firmanın önerdiği yöntem takip edilmiştir. Sıvı örnekler ve idrar örnekleri direkt olarak çalışılmış, hububat ve mısır bazlı gıdalar öğütüldükten sonra 5g miktarda analiz için kullanılmıştır. Örneklerin üzerine 25 ml %40'lık metanol eklenip 4000 rpm'da 5 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra örneklerin üst kısmından 25 µl alıp başka bir santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 975 µl "sample diluent" eklenerek karıştırılmıştır. ELISA çalışması için bu karışımdan 50 µl kullanılmıştır. ELISA plağının kuyucuklarına 50 µl örnekler ve standartlar eklenmiştir. Daha sonra kuyucuk başına 50 µL HRP konjugat ve 50 µL antikor dağıtımı yapılmıştır. Plaklar oda ısısında 25°C'de 30 dakika bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası plak yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkanmış ve ters çevrilerek kuyucuk içeriği boşaltılmış, ters pozisyonda kurutma kağıdına birkaç kez hafifçe vurarak içeriğin tamamen boşalması sağlanmıştır. Daha sonra enzim substrat TMB'den kuyucuk başına 100 µL dağıtılmış ve oda ısısında, karanlık bir ortamda 15 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda kuyucuk başına 50 µL durdurma solüsyonu eklenmiş ve 450-630 nm'de ELISA okuyucusunda optik dansite (OD) değerleri belirlenmiştir.

Aflatoksin B1 ELISA Analizi

Aflatoksin B1 analizi için toplam 40 adet çeşitli gıda ürünü ve 43 adet bu yiyecekleri tüketen sağlıklı kişilerin idrarları kullanılmıştır. Örneklerdeki aflatoksin B1 miktarları ticari test kiti (CUSABIO Aflatoxin B1, China) kullanılarak ELISA ile saptanmıştır. Üretici firmanın önerdiği yöntem takip edilmiştir. Süt ve bitki çayı gibi sıvı örnekler ile idrar örnekleri direkt olarak çalışılmış, kuru yemişler ve toz kırmızı biberler öğütüldükten sonra 5 g analiz için kullanılmıştır. Örneklerin üzerine 25 ml %40'lık metanol eklenip, 4000 rpm'da 5 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra örneklerin üst kısmından 200 µl alıp başka bir santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 600 µl "sample diluent" eklenmiştir. Elde edilen karışımdan 50 µl alınarak ELISA çalışmasında kullanılmıştır. ELISA plağının kuyucuklarına 50 µl örnek ve standartlar eklenmiştir. Kuyucuk başına 50 µL konjugat ve 50 µL antikor dağıtımı yapıldıktan sonra plaklar oda ısısında 25°C'de 15 dakika bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası plak yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkanmış ters çevrilerek kuyucuk içeriği boşaltılmış ve kurutma kağıdına birkaç kez hafifçe vurularak içeriğin tamamen boşalması sağlanmıştır. Daha sonra enzim substrat TMB'den kuyucuk

Tablo 1. Çeşitli gıda (n=40) ve idrar örneklerinin (n=42) fumonisin B1 miktarları

Fumonisin B1 (µg/kg)	Mısır patlağı (n:3)	Konserve mısır (n:4)	Mısır unu (n:1)	Mısır gevreği (n:2)	Taze mısır (n:1)	Mısır nişastası (n:1)	Kuru mısır (n:2)	Bitki çayları (n:26)	İdrar (n:42)
< 0.154	2	3	1	1	1	1	2	11	12
0.154-0.290	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.290-0.611	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.611-1.148	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.148-1.579	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1.579-1.926	0	0	0	0	0	0	0	0	0
≥ 1.926	1	1	0	1	0	0	0	15	10
Toplam	3	4	1	2	1	1	2	26	22

Tablo 2. Çeşitli gıda (n=40) ve idrar örneklerinin (n=43) aflatoksin B1 miktarları

Aflatoksin B1 (µg/kg)	Süt (n:9)	Kırmızı biber (n:6)	Badem (n:2)	Fıstık (n:4)	Bitki çayları (n:19)	İdrar (n:43)
< 0.259	9	6	1	3	7	5
0.259-0.711	0	0	1	1	8	36
0.711-1.248	0	0	0	0	1	2
1.248-1.679	0	0	0	0	3	0
1.679-1.926	0	0	0	0	0	0
≥ 1.926	0	0	0	0	0	0
Toplam	9	6	2	4	19	43

başına 100 µL eklenmiş ve oda ısısında, karanlık bir ortamda 5 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda kuyucuk başına 50 µL durdurma solüsyonu eklenmiş ELISA okuyucusunda 450-630 nm dalga boyunda okunarak OD değerleri belirlenmiştir.

Bulgular

Marketlerde satışa sunulan çeşitli sütlerde, bitki çaylarında, çeşitli hububatlarda ve bazı mısır bazlı gıdalarda, ve bu gıdaları tüketen sağlıklı gönüllülerin idrarlarında fumonisin B1 ve aflatoksin B1 varlığı ELISA yöntemi ile araştırılmıştır. Toplam 14 adet mısır ve mısır bazlı ürünün 14'ünde (%100) ve 26 adet bitki çayından 26'sında (%100) tabloda gösterildiği gibi, farklı düzeylerde fumonisin B1 saptanmıştır (Tablo 1). Test edilen toplam 42 idrar örneğinin 22'sinde (%52,3) ölçülebilir düzeyde fumonisin B1 saptanmıştır. Aflatoksin B1 ise, test edilen 9 adet ambalajlı pastörize süten 9'unda (%100), 19 adet bitki çayının 19'unda (%100), 6 kuru yemiş örneğinden (badem ve fıstık) ve çeşitli toz kırmızı biber örneklerinin 6'sında (%100) gösterilmiştir. Test edilen 43 idrar örneğinin tamamında farklı düzeylerde aflatoksin B1 tespit edilmiştir (Tablo 2). Gıda ve idrar örneklerindeki aflatoksin B1 ve fumonisin B1 düzeyleri, ELISA kiti içinde bulunan standartların OD değerleri ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

Tartışma

Marketlerde satışa sunulan çeşitli gıdalarda ve bu gıdaları tüketen sağlıklı gönüllülerin idrarlarında fumonisin B1 ve aflatoksin B1 varlığı gösterilmiştir. Mısır ve mısır bazlı örneklerin %100'ünde, bitki çaylarının %100'ünde, sağlıklı gönüllülerin idrar örneklerinin %52,3'ünde, fumonisin B1 saptanmıştır (0.154 µg/kg- 1.926 µg/

kg). Bu örneklerde bir adet mısır patlağında, bir adet konserve mısırdaki bir adet mısır gevreğinde, 15 adet bitki çaylarında ve on adet idrar örneklerinde yüksek düzeyde fumonisin B1 saptanmıştır (≥ 1.926 µg/kg). Bu durum muhtemelen mısır ve çay üretiminde kullanılan hammaddelerin gerekli kalite kontrolünden geçirilmediğini göstermektedir. Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda mısır ürünlerinde yüksek sayılabilecek oranlarda fumonisin B1 saptanmıştır. Brezilya'da yapılan bir çalışmada, çalışmaya alınan toplam 9 mısır ununun tamamında 0,56–4,93 mg/kg düzeyinde fumonisin B1 bulunmuştur (6). Bir başka çalışmada ELISA ile incelenen toplam 14 mısır unu örneğinin 9'unda fumonisin B1 saptanmış (7). Castells ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada çeşitli mısır ürünlerinde fumonisin B1 ve aflatoksin ELISA yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan 90 mısır unu örneğinin tamamında 0,892–6,307 mg/kg düzeylerinde fumonisin B1 ve 47 mısır gevreğinde 400 µg/kg düzeyinde fumonisin B1 gösterilmiştir. Bu değerlerin Avrupa Birliği tarafından belirlenmiş yasal limit 800 µg/kg sınırları içinde olduğu bildirilmiştir (8). High Performance Liquid Chromatography (HPLC) yöntemi ile toplam 18 mısır gevreği örneğinde fumonisin B1 analiz edilmiş, örneklerin sadece birinde sırasıyla 1,092 µg/kg ve 0,235 µg/kg düzeyinde FB1 ve FB2 tespit edilmiştir (9). Mısır gevrekleri ile yapılan çalışmalarda genel olarak örneklerde fumonisin B1 oranının düşük olduğu tespit edilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada toplam 2 adet mısır gevreğinde sırasıyla < 0.154 µg/kg ve ≥ 1.926 µg/kg oranında fumonisin B1 saptanmış, ve hiç biri yasal limitin (800 µg/kg) üzerinde bulunmamıştır.

Ülkemizden yapılmış çalışmalarda mısır ürünlerinde fumonisin varlığı gösterilmiştir. Ocak ve Bostan mısır unu örneklerinde fumonisin miktarının Türk Gıda Kodeksi tarafından belirlenen

limit olan 2 mg/kg'ın üzerinde olduğunu göstermişlerdir (10). Bizim çalışmamızda toplam 4 adet mısır konservesi kullanılmış, örneklerin 3'ünde < 0.154 µg/kg 1'inde $\geq$ 1.926 µg/kg oranında fumonisin B1 saptanmıştır.

Türkiye'de birçok insan tarafından kullanılan doğal infüzyonlardan olan 61 tıbbi bitki örneğinde ve 54 bitki çayında HPLC ile fumonisin B1 ve fumonisin B2 varlığı araştırılmıştır. Bu çalışmada örneklerde 160 µg/kg ve 1487 µg/kg düzeyinde fumonisin B1 tespit edilmiştir (11). Suudi Arabistan'da kullanılan bitkisel çaylarda fumonisin B1 varlığı yine HPLC ile analiz edilmiş, çalışmada 15 türe ait toplam 47 örnek kullanılmıştır. Örneklerde fumonisin B1 düzeyi ortalama 39.14 µg/kg bulunmuş, ada çayında ise 266 µg/kg' kadar fumonisin B1 saptanmıştır (12). Martins ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada Lizbon'daki farklı marketlerden temin edilen 18 portakal ağacı yaprağı, 18 ıhlamur, 18 siyah çay, 15 mısır püskülü ve 18 papatya olmak üzere 69 tıbbi bitki örneği içeren, toplam 87 örnekte fumonisin B1 ve fumonisin B2 düzeyi HPLC yöntemi ile analiz edilmiştir. Bunlardan 57'sinde (%65,5) fumonisin B1 içeriğinin 20-700 µg/kg düzeyinde olduğu, ancak hiç bir örnekte fumonisin B2 tespit edilmediği görülmüştür. Portakal ağacı yapraklarının %66,6'sında 350-700 µg/kg, ıhlamurda ise 20-200 µg/kg fumonisin B1 saptanmıştır (13). Bizim yaptığımız çalışmada, 26 değişik bitki çayı kullanılmış, bunların 11'inde (%42,3) fumonisin B1 < 0.154 µg/kg miktarında bulunurken, 15'inde (%57,69) fumonisin B1 miktarı $\geq$ 1.926 µg/kg olarak saptanmıştır. Bitki çaylarını, mısır ve mısır ürünlerini tüketen insanların idrarları incelendiğinde toplam 42 örneğin 12'sinde < 0.154 µg/kg ve 10'unda $\geq$ 1.926 µg/kg miktarında fumonisin B1 saptanmıştır.

Aflatoksin B1 (AFB1) bilinen bir kanserojendir. Düşük miktarda uzun süreli maruziyetin klinik etkileri bilinmemektedir. Yapılan bir çalışmada toplam 120 değişik bitki çayı; papatya, adaçayı, rezene ve nane örneklerinde HPLC ile AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2 incelenmiştir. Test edilen 120 örnek arasından 37'si (%30,8) aflatoksin ile 0,2-57,5 µg/kg düzeyinde kontamine bulunmuştur. Bu çalışmada AFB1 ve toplam aflatoksin seviyesinin, sırasıyla örneklerin %13,3 ve %10'unda Avrupa Birliği tarafından belirlenen limitleri aştığı tespit edilmiştir (14). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; çay olarak tüketilebilen toplam 14 tıbbi bitki örneğini HPLC ile AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 varlığını incelemiş ve küf kontaminasyonu olan bir örnekte 6,75 µg/kg düzeyinde AFB1 ile limitin (1 µg/kg) altında AFB2 saptanmıştır (15). Liu ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada analiz edilen 174 örnekten 27'sinin aflatoksin ile kontamine olduğu, örneklerde AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 görülme sıklığı ve maksimum düzeylerinin sırasıyla 239, 62, 13, 50, 34, 21 ve 3,5 mg/kg olduğu saptanmıştır (16). Kış kirazı, eğir otu gibi çayı yapılarak tüketilebilen bitkilerden oluşan 6 türe ait 62 örneğin (Thin-layer Chromatographic) TLC ile AFB1 içeriği yönünden incelendiği bir çalışmada, örneklerin ortalama 41-95,4 µg/kg AFB1 içerdiği saptanmıştır (17). Bizim çalışmamızda aflatoksin B1 oranına

baktığımızda, Yaptığımız çalışmada ,19 bitki çayının 7'sinde (%36,84) < 0.259 µg/kg, 8'inde (%42,1) 0.259-0.711 µg/kg, birinde (%5,26) 0.711-1.248 µg/kg, 3'ünde (%15,78) 1.248-1.679 µg/kg miktarında AFB1 saptanmıştır. Tüm örneklerdeki aflatoksin miktarı Türk Gıda Kodeksi'nin (TGK) sunduğu yasal limitin üzerinde bulunmuştur.

Başaran ve Özcan yaptıkları çalışmada 217 kuru yemiş örneğinde AFB1, AFB2, AFG1 ve AFG2 miktarlarını araştırmışlardır. Örneklerin %14,28'inde düşük miktarlarda ve %1,84'ünde de sınır değerlerinin üstünde aflatoksin tespit etmişlerdir (18). Bircan ve ark. yaptıkları çalışmada, 2.643 kuru yemiş örneğinin 313 tanesinde, 80 adet fındığın ikisinde, 28 fıstığın 16'sında, 10 yer fıstığının 5'inde ve 23 biberin 19'unda sırasıyla 0,2-162,76; 5,46-6,55; 2,31-63,11; 0,75-26,36 ve 1,79-6,55 µg/kg oranlarında aflatoksin tespit etmişlerdir (19). Bizim çalışmamızda; toplam 6 adet kuru yemiş (badem ve fıstık) kullanılmış, badem örneklerinde < 0.259 µg/kg ve 0.259-0.711 µg/kg miktarında AFB1, 3 adet fıstıkta (%50) < 0.259 µg/kg ve 1 adet fıstıkta da (%16,66) 0.259-0.711 µg/kg mktarında AFB1 saptanmıştır. Gerek bizim çalışmamızda, gerek yapılan diğer çalışmalarda elde edilen AFB1 miktarının, TGK'nin belirlediği oranı (8-15 µg/kg) aşmadığı görülmüştür.

Virdis ve ark. İtalya'da keçi sütü ve keçi sütünden yapılan peynirlerde AFM1 kontaminasyonunu araştırmışlardır. Test edilen 41 peynir örneğinin 4'ünde (%9,8) AFM1 79,5-389 ng/kg seviyesinde bulunmuştur (20). Torkar ve Vengust Slovenya'da yaptıkları çalışmada, çiğ süt ve peynir örneklerinde maya, küf ve AFM1 varlığını araştırmışlardır. Peynir örneklerinin 4'ünde (%10) AFM1 seviyesinin 51-223 ng/kg arasında olduğu gösterilmiştir (21). Bizim çalışmamızda toplam 9 adet süt örneği çalışılmıştır. Örneklerin tümünde < 0.259 µg/kg miktarında AFB1 saptanmıştır. Ülkemizde üretilen ve tüketilen pastörize sütlerde aflatoksin varlığı daha önce bir çok kez gösterilmiştir (22-26). Yaptığımız çalışmada ve yapılan diğer çalışmalarda da sütlerde maksimum AFM1 miktarından (0,05 ng/kg) olduğu belirlenmiştir.

Sağlıklı gönüllülerin idrar ve serum örneklerinde aflatoksin B1 ve fumonisin B1 varlığı daha önce gösterilmiştir. Bu çalışmalar mikotoksin maruziyetinin tüm dünyada var olduğunu kanıtlamaktadır (27-31). Bazı hastalıkların patogenezini incelemek üzere yine, insanlarda aflatoksin B1 ve fumonisin B1 varlığı araştırılmıştır (32-35). Ancak aflatoksin B1'in uzun süreli yüksek doz maruziyeti ile karaciğer kanseri arasındaki ilişki dışında, kesin bir ilişki tarif edilmemiştir (35).

Sonuç olarak bu çalışmada, marketlerde satışa sunulan çeşitli gıda örneklerinde ve bu örnekleri tüketen kişilerin idrarlarında fumonisin B1 ve aflatoksin B1 varlığı kantitatif olarak gösterilmiştir. Analiz sonuçlarına göre mikotoksin içerdiği bulunan gıdaların tüketiminin uzun süreli etkileri bilinmemektedir. Çok sayıda gönüllüyü içeren prospektif çalışmalar mikotoksin maruziyetinin insan sağlığına etkilerini daha detaylı olarak ortaya çıkaracaktır.

Etik Komite Onayı: Gazi Üniversitesi Etik Komisyonundan 17.05.2021 tarih ve 462 nolu karar ile onay alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağlımsız.

Yazar Katkıları: Fikir - UÇ, AK; Tasarım - UÇ, AK; Denetleme - UÇ, AÖ; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi - UÇ; Analiz ve/veya Yorum - UÇ, AK, AÖ; Literatür Taraması - UÇ, AK; Yazıyı Yazan - UÇ, AK; Eleştirel İnceleme - UÇ, AK.

Çıkar Çatışması: Yazarların herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Finansal Destek: Yazarlar bu çalışma için finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

Ethics Committee Approval: Approval was obtained from Gazi University Ethics Committee with the decision dated 17.05.2021 and numbered 462.

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Concept - UÇ, AK; Design - UÇ, AK; Supervision - UÇ, AÖ; Data Collection and/ or Processing - UÇ; Analysis and/or Interpretation - UÇ, AK, AÖ; Literature Search - UÇ, AK; Writing - UÇ, AK; Critical Reviews - UÇ, AK.

Conflict of Interest: The authors do not have any conflicts of interest.

Financial Disclosure: The authors declared that this study has received no financial support.

Kaynaklar

- Bakırcı GT. Tahıl ve Tahıl Ürünlerinin Aflatoxin, Ochratoxin A, Zearalenon, Fumonisin B1 ve Deoksinivalenol Mikotoksinleri Yönünden İncelenmesi. *Academic Food Journal* 2014; ISSN Print: 1304-7582
- Murrey PR. *Medical Microbiology*, Previous editions Philadelphia: Elsevier; 2016.p. 785-789
- Girgin G, Başaran N, Şahin G. Dünyada ve Türkiye’de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2001; 58:97-118.
- Daradimos E, Panayota M, Koupparis M. Evaluation and Validation of Two Fluorometric HPLC Methods for the Determination of Aflatoxin B1 in Olive Oil. *Food Additives and Contaminants* 2000;17:65-73. doi: 10.1080/026520300283603.
- Schwartzbord J, Severe L, Brown D. Detection of trace aflatoxin M1 in human urine using a commercial ELISA followed by HPLC. *Biomarkers* 2017; 22:1-4. doi: 10.1080/1354750X.2016.1203998.
- Machinski M, Valente LM. Fumonisin B1s B1 and B2 in Brazilian corn-based food products. *Food Additives and Contaminants* 2000; 17: 875– 879.
- Pestka, JJ, Azcona-Olivera JJ, Plattner RD, Minervini F, Doko MB, Visconti A. Comparative assessment of Fumonisin B1 in grainbased foods by ELISA, GC-MS, and HPLC. *J Food Prot* 1994; 57: 169–172. doi: 10.4315/0362-028X-57.2.169
- Castells M, Marin S, Sanchis V, Ramos AJ. Distribution of Fumonisin B1s and aflatoxins in corn fractions during industrial cornflake processing. *Int J Food Microbiol* 2008;123: 81–87. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.001
- Solfrizzo M, De Girolamo A, Visconti A. Determination of Fumonisin B1s B1 and B2 in cornflakes by high performance liquid chromatography and immunoaffinity clean-up. *Food Additives Contam* 2001; 18:227235.
- Ocak AO, Bostan K. İstanbul’da satışı sunulan mısır bazlı gıdalarda Fumonisin B1 varlığı. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg* 2010; 36:47-52, 2010.
- Omurtag GZ, Yazıcıoğlu D. Determination of Fumonisin B1s B1 and B2 in herbal tea and medicinal plants in Turkey by high-performance liquid chromatography. *J Food Prot* 2004;67: 1782-1786.
- Bokhari FM, Aly MM. Unexpected hazard due to Fumonisin B1s contaminating herbal teas used traditionally by Saudi people. *African Journal of Microbiology Research* 2013; 7:35-40.
- Martins ML, Martins HM, Bernardo F. Fumonisin B1s B1 and B2 in black tea and medicinal plants. *J Food Prot* 2001; 64:1268-1270. doi: 10.4315/0362-028X-64.8.1268.
- Khazaeli, P, Mehrabani M, Heidari MR, Asadikaram, G, Lari Najafi M. Prevalence of aflatoxin contamination in herbs and spices in different regions of Iran. *Iranian J Public Health* 2017; 46: 1540-1545.
- Zhang L, Dou X, Kong W, Liu C, Han X, Yang M. Assessment of critical points and development of a practical strategy to extend the applicable scope of immunoaffinity column cleanup for aflatoxin detection in medicinal herbs. *J Chromatography A* 2017;1483:6-63. doi.org/10.1016/j.chroma.2016.12.079
- Liu L, Jin H, Sun L, Ma S, Lin R. Determination of aflatoxins in medicinal herbs by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Phytochemical Anal* 2012; 23: 469-476. doi: 10.1002/pca.2343
- Kumar A, Shukla R, Singh P, Dubey NK. Biodeterioration of some herbal raw materials by storage fungi and aflatoxin and assessment of cymbopogon flexuosus essential oil and its components as antifungal. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2009; 63: 712-716. doi: doi.org/10.1016/j.ibiod.2009.03.011
- Basaran P, Ozcan M. Occurrence of aflatoxins in various nuts commercialized in Turkey. *J Food Safety* 2009; 29: 95–105.
- Bircan C, Barringer SA, Ulken Ü, Pehlivan R. Aflatoxin levels in dried figs, nuts and paprika for export from Turkey. *Int J Food Sci Tech* 2008; 43: 1492–8.
- Virdis S, Corgiolur G, Scarano C, Pilo AL, De Santis EPL. Occurrence of aflatoxin M1 in tank bulk goat milk and ripened goat cheese. *Food Control* 2008; 19: 44–9. doi: 10.1016/j.foodcont.2007.02.001
- Torkar KG, Vengušt A. The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M1 in raw milk and cheese in Slovenia. *Food Control* 2008; 19: 570–7
- Diñçel A, Demli F, Durlu-Özkaya F, Alatan F, Uzun R, Subaşı SA. Çeşitli peynir örneklerinde aflatoxin M1 varlığının HPLC ile analizi. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2012; 69: 89-96.
- Albay Z, Simsek B. Süt ve Ürünlerinde Mikotoksinler ve Özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR* 2011; 09: 50-60. www.mikrobiyoloji.org/pdf/702110205.pdf
- Karakaya Y, Ataserver M. Mısır Silajında Aflatoxin B1 Varlığının ve Süte Geçme Durumunun Araştırılması. *Kafkas Uni Vet Fak Derg* 2010; 16 (Suppl-A): 123-127. doi:10.9775/kvfd.2010.2398
- Oruç H. Süt ve süt ürünlerinde aflatoxin M 1 (AFM 1) ve Türkiye’deki durumu. *Uludağ Üni Vet Fak Derg* 2003; 22: 121-125.
- İşleyici O, Sancak YC, Sancak H, Yücel UM. Ambalajsız Olarak Satışa Sunulan Çiğ İnek Sütlerinde Aflatoxin M1 Düzeyinin Belirlenmesi *Van Vet J* 2015; 26:151-155.
- Solfrizzo M, Gambacorta L, Lattanzio VM, Powers S, Visconti A. Simultaneous LC-MS/MS determination of aflatoxin M1, ochratoxin A, deoxynivalenol, de-epoxydeoxynivalenol, α and β -zearalenols and fumonisins B1 in urine as a multi-biomarker method to assess exposure to mycotoxins. *Anal Bioanal Chem* 2011; 401: 2831-41. doi:10.1007/s00216-011-5354-z
- Fan K, Xu J, Jiang K, et al. Determination of multiple mycotoxins in paired plasma and urine samples to assess human exposure in Nanjing, China. *Environ Pollut* 2019; 248: 865-873. doi:10.1016/j.envpol.2019.02.091
- Ali N, Blaszkewicz M, Hossain K, Degen GH. Determination of aflatoxin M1 in urine samples indicates frequent dietary exposure to aflatoxin B1 in the Bangladeshi population. *Int J Hyg Environ Health* 2017; 220: 271-281. doi: 10.1016/j.ijheh.2016.11.002
- Aydin S, Sabuncuoğlu S, Erkekoglu P, Şahin G, Giray BK. Serum aflatoxin levels of the healthy adult population living in the north and south regions of Turkey. *Public Health Nutr* 2014; 17: 2496-504. doi: 10.1017/S1368980013002802
- Sabuncuoğlu S, Erkekoglu P, Aydın S, Şahin G, Kocer-Gumusel B. The effects of season and gender on the serum aflatoxins and ochratoxin A levels of healthy adult subjects from the Central Anatolia Region, Turkey. *Eur J Nutr* 2015; 54: 629-38. doi: 10.1007/s00394-014-0744-6
- Shouman BO, El Morsi D, Shabaan S, Abdel-Hamid AH, Mehriam A. Aflatoxin B1 level in relation to child’s feeding and growth. *Indian J Pediatr* 2012; 79: 56-61. doi: 10.1007/s12098-011-0493-y
- Komsky-Elbaz A, Saksier M, Roth Z. Aflatoxin B1 impairs sperm quality and fertilization competence. *Toxicology* 2018; 393: 42-50. doi:10.1016/j.tox.2017.11.007
- De Santis B, Brera C, Mezzelani A. Role of mycotoxins in the pathobiology of autism: A first evidence. *Nutr Neurosci* 2019; 22:132-144. doi: 10.1080/1028415X.2017.1357793
- Cirlini M, Mazzeo T, Roncoroni L. Are Treated Celiac Patients at Risk for Mycotoxins? An Italian Case-Study. *Toxins (Basel)* 2016; 9:11. doi: 10.3390/toxins9010011
- Marchese S, Polo A, Ariano A, Velotto S, Costantini S, Severino L. Aflatoxin B1 and M1: Biological Properties and Their Involvement in Cancer Development. *Toxins (Basel)* 2018; 10: 214. doi: 10.3390/toxins10060214.