

Kübra ŞANALDI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2021-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

**PROBİYOTİK BAKTERİLERİN FARKLI SÜT
TÜRLERİNDE AFLATOKSİN M1 DETOKSİFİKASYON
KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Kübra ŞANALDI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

2021-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

PROBİYOTİK BAKTERİLERİN FARKLI SÜT
TÜRLERİNDE AFLATOKSİN M1 DETOKSİFİKASYON
KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Kübra ŞANALDI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2020-5406 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2021-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı Beslenme ve Diyetetik Programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir. 21/06/2021

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN
Akdeniz Üniversitesi
Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı

İmza



Üye : Doç. Dr. Ece ŞİMŞEK
Akdeniz Üniversitesi
Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Bora EKİNCİ
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi
Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı



Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Erol GÜRPINAR

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

Kübra ŞANALDI

İmza

Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşan, hoşgörüsünü ve desteğini her zaman hissettiğim değerli danışman hocam Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN'a,

Tez çalışmamın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. Kübra YILDIRIM ve Doç. Dr. Ece ŞİMŞEK'e,

Laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan ve her zaman fikirlerini içtenlikle paylaşan Serhat BOZKURT ve Orhan KOÇAK'a,

Bu süreçte bilgi ve deneyimleri ile eğitimime katkıda bulunan tüm Akdeniz Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik bölüm üyelerine,

Ve eğitim hayatım boyunca yanımda olup beni destekleyen değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kübra ŞANALDI

ÖZET

Amaç: Sütün besleyici değeri ve sağlığa faydalarının yanı sıra sütte bulunan aflatoksin M1 (AFM1) insan sağlığını tehdit etmektedir. AFM1'in toksik etkisini azaltmada *L. acidophilus* DSM 20079, *L. rhamnosus* GG ve *B. bifidum* DSM 20456 probiyotik bakterilerinin potansiyel kullanımını ve bu bakterilerin inek sütü, keçi sütü, koyun sütü ve PBS ortamında AFM1 bağlama yeteneğini incelemek amacıyla çalışmamız gerçekleştirilmiştir.

Yöntem: İnek sütü, keçi sütü, koyun sütü ve PBS ortamı 100 ng/l konsantrasyonda AFM1 ile kontamine edilmiştir. Farklı süt türleri ve PBS ortamına 10^8 kob/ml yoğunluğunda *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. Bifidum* probiyotik bakterileri ilave edilerek çeşitli çalışma grupları oluşturulmuştur. Çalışma gruplarının yarısına %2 inülin ilave edilip 37°C'de 4 saat inkübe edilmiştir. Ardından +4°C'de 1 gün depolanıp AFM1 düzeyleri ELISA kiti ile analiz edilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda *L. acidophilus* %5,11-39,81 arasında, *L. rhamnosus* %2,56-39,71 arasında, *B. bifidum* %9,64-40,14 arasında, *L. acidophilus*+*B. bifidum* %12,52-38,55 arasında, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* %7,65-42,90 arasında AFM1 bağlama yeteneği göstermiştir. AFM1 bağlama yeteneği en yüksek probiyotik bakteri suşu PBS'de *L. acidophilus*+*B. bifidum*, inek sütünde *B. bifidum*, keçi sütünde *L. acidophilus*, koyun sütünde ise *L. rhamnosus*+*B. bifidum* olarak tespit edilmiştir. Çalışma gruplarının AFM1'i bağlama düzeyi PBS'de %2,32-12,52 arasında, inek sütünde %9,08-40,14 arasında, keçi sütünde %15,01-38,01 arasında, koyun sütünde %32,49-42,90 arasında değişmektedir. AFM1'in bağlanma düzeyi en yüksek koyun sütünde, en düşük PBS'de tespit edilmiştir. İnülin ilavesi AFM1 bağlama yeteneğini genel olarak olumsuz etkilemiştir.

Sonuç: Probiyotik bakterilerin farklı süt türlerinde AFM1 bağlama düzeyi farklılık göstermektedir. Farklı süt türleri arasında AFM1'in bağlanma yeteneği en yüksekten en düşüğe sırasıyla koyun sütü, inek sütü ve keçi sütünde tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, Süt, Aflatoksin M1

ABSTRACT

Objective: In addition to the nutritional value and health benefits of milk, aflatoxin M1 (AFM1) in milk threatens human health. Our study was conducted to examine the potential use of *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079, *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456 probiotic bacteria in reducing the toxic effect of AFM1 and the ability of these bacteria to bind AFM1 in cow's milk, goat's milk, sheep's milk and PBS media.

Method: Cow's milk, goat's milk, sheep's milk, and PBS media were contaminated with AFM1 at a concentration of 100 ng/l. Various working groups were formed by adding 10^8 cfu/ml density *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium bifidum* probiotic bacteria to different milk types and PBS media. 2% inulin was added to half of the study groups and incubated for 4 hours at 37°C. Then it was stored at +4°C for 1 day and AFM1 levels were analyzed by ELISA kit.

Results: In our study, *L. acidophilus* between 5,11-39,81%, *L. rhamnosus* between 2,56-39,71%, *B. bifidum* between 9,64-40,14%, *L. acidophilus*+*B. bifidum* between 12,52-38,55%, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* showed the ability to bind AFM1 between 7,65-42,90%. The probiotic bacteria strain with the highest AFM1 binding ability was determined as *L. acidophilus*+*B. bifidum* in PBS, *B. bifidum* in cow milk, *L. acidophilus* in goat milk, and *L. rhamnosus*+*B. bifidum* in sheep milk. The level of AFM1 binding by working groups was between AFM1 2,32-12,52% in PBS, 9,08-40,14% in cow's milk, 15,01-38,01% in goat's milk, 32,49-42,90% in sheep's milk. Binding level of AFM1 was highest in sheep milk and the lowest in PBS. Addition of inulin generally negatively affected the ability to bind AFM1.

Conclusion: The level of AFM1 binding varies in milk species of probiotic bacteria. Binding ability of AFM1 among different milk types was determined from highest to lowest in sheep's milk, cow's milk and goat's milk, respectively

Key words: Probiotic, Milk, Aflatoxin M1

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Aflatoksinlerin Tanımı, Özellikleri ve Sınıflandırılması	3
2.2. Aflatoksin M1	7
2.3. Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri	9
2.4. İnek Sütü, Keçi Sütü ve Koyun Sütünün Özellikleri	13
2.5. Probiyotikler	17
2.6. Prebiyotikler	22
2.7. AFM1 Detoksifikasyonunda Probiyotik Bakterilerin Kullanımı	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	
3.1. Gereç	29
3.1.1. Test Bakterileri	29
3.1.2. AFM1 Standardı	29
3.1.3. Süt Numuneleri	29
3.1.4. Besiyeri ve Kimyasal Maddeler	29
3.2. Yöntem	29
3.2.1. Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması	29
3.2.2. Süt Örneklerinin Hazırlanması	30
3.2.3. Aflatoksin M1 Çözeltilisinin Hazırlanması ve Kontaminasyonun Sağlanması	30
3.2.4. Bakterilerin AFM1 Bağlama Yeteneklerinin Belirlenmesi	31
3.2.5. İstatistiksel Değerlendirme	31

4. BULGULAR

4.1. Çalışmada Kullanılan Farklı Süt Türlerinin Bileşimi	32
4.2. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde İncelenmesi	32
4.2.1. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin PBS’de incelenmesi	32
4.2.2. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin İnek Sütünde İncelenmesi	34
4.2.3. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin Keçi Sütünde İncelenmesi	36
4.2.4. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin Koyun Sütünde İncelenmesi	38
4.3. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	40
4.3.1. <i>L. acidophilus</i> ’un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	40
4.3.2. <i>L. rhamnosus</i> ’un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	41
4.3.3. <i>B. bifidum</i> ’un AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	42
4.3.4. <i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> ’un AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	43
4.3.5. <i>L. rhamnosus</i> + <i>B. bifidum</i> ’un AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	45
4.3.6. <i>L. acidophilus</i> +inülinin AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	46
4.3.7. <i>L. rhamnosus</i> +inülinin AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	47
4.3.8. <i>B. bifidum</i> +inülinin AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	49

4.3.9. <i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> +inülinin AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	50
4.3.10. <i>L. rhamnosus</i> + <i>B. bifidum</i> +inülinin AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması	51
4.4. Probiyotik Bakterilerin PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Düzeyine İnülinin Etkisi	53
4.4.1. <i>L. acidophilus</i> 'un PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Bağlama Yeteneğine İnülinin Etkisi	53
4.4.2. <i>L. rhamnosus</i> 'un PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Bağlama Yeteneğine İnülinin Etkisi	54
4.4.3. <i>B. bifidum</i> 'un PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Bağlama Yeteneğine İnülinin Etkisi	55
4.4.4. <i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'un PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Bağlama Yeteneğine İnülinin Etkisi	56
4.4.5. <i>L. rhamnosus</i> + <i>B. bifidum</i> 'un PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Bağlama Yeteneğine İnülinin Etkisi	58
5. TARTIŞMA	60
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	67
KAYNAKLAR	68
EKLER	78
Ek 1. Probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin PBS ve farklı süt türlerinde İncelenmesi-özet	79
ÖZGEÇMİŞ	80

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Mikotoksinleri gıdalardan uzaklaştırmak için uygulanan çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlemler	5
Tablo 2.2.	Türk Gıda Kodeksi süt ve süt ürünleri yasal düzenlemesine göre sütte bulunabilecek en yüksek AFM1 miktarları	7
Tablo 2.3.	Keçi, koyun, inek, insan sütü ortalama bileşimleri	15
Tablo 2.4.	Yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalar	18
Tablo 2.5.	Bazı besinlerin içerdiği ortalama FOS miktarları	24
Tablo 3.1.	Probiyotik bakterilerin çalışma grupları	30
Tablo 4.1.	Çalışmada kullanılan inek sütü, keçi sütü ve koyun sütünün bileşimi	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Aflatoksinlere kısa süreli ve uzun süreli maruziyet durumunda karşılaşılan sorunlar	10
Şekil 2.2.	Bazı hastalıkları ve biyolojik hedefleri etkileyen süt ve süt ürünü bileşenleri	14
Şekil 2.3.	Prebiyotiklerin sınıflandırması ve diyet liflerinden farkı	23
Şekil 4.1.	Probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin PBS’de incelenmesi	33
Şekil 4.2.	Probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin inek sütünde incelenmesi	35
Şekil 4.3.	Probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin keçi sütünde incelenmesi	37
Şekil 4.4.	Probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin koyun sütünde incelenmesi	39
Şekil 4.5.	<i>L. acidophilus</i> ’un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması	40
Şekil 4.6	<i>L. rhamnosus</i> ’un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması	42
Şekil 4.7.	<i>B. bifidum</i> ’un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması	43
Şekil 4.8.	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> ’un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması	44
Şekil 4.9.	<i>L. rhamnosus</i> + <i>B. bifidum</i> ’un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması	45

Şekil 4.10.	<i>L. acidophilus</i> +inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması	47
Şekil 4.11.	<i>L. rhamnosus</i> +inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması	48
Şekil 4.12.	<i>B. bifidum</i> +inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması	49
Şekil 4.13.	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> +inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması	50
Şekil 4.14.	<i>L. rhamnosus</i> + <i>B. bifidum</i> +inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması	52
Şekil 4.15.	<i>L. acidophilus</i> 'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi	53
Şekil 4.16.	<i>L. rhamnosus</i> 'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi	55
Şekil 4.17.	<i>B. bifidum</i> 'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi	56
Şekil 4.18.	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> 'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi	57
Şekil 4.19.	<i>L. rhamnosus</i> + <i>B. bifidum</i> 'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi	59

SİMGELER ve KISALTMALAR

AFB1	: Aflatoksin B1
AFB2	: Aflatoksin B2
AFG1	: Aflatoksin G1
AFG2	: Aflatoksin G2
AFM1	: Aflatoksin M1
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
FOS	: Fruktooligosakkarit
GOS	: Galaktooligosakkarit
HCC	: Hepatoselüler Karsinom
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (International Agency for Research on Cancer)
KLA	: Konjuge Linoleik Asit
Kob	: Koloni Oluşturan Birim
LAB	: Laktik Asit Bakterisi
MRS	: De Man, Rogosa and Sharpe
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuzlu Su
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asidi
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
µg	: Mikrogram
ng	: Nanogram

1. GİRİŞ

Gıdalara çeşitli yollarla bulaşan mikotoksinler son zamanlarda insan sağlığını tehdit eden etmenlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüze kadar çeşitli mantar türleri tarafından üretilen 400'den fazla farklı mikotoksin türü tanımlanmış olup bunlardan aflatoksinler en bilinenleridir. Beslenmemizde önemli bir yeri bulunan sütte ise mikotoksinlerin bir türü olan Aflatoksin M1 (AFM1)'e rastlanmaktadır (Palumbo ve ark., 2020).

Kontamine besinlerle beslenen insan ve memeli hayvanların sütüne salgılanan AFM1, yüksek sitotoksik ve kanserojen etki göstermektedir. Bu nedenle Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı AFM1'i insanlar için kanserojen olan grup 1'e ait olarak sınıflandırmıştır (IARC, 2002).

Süt ve süt ürünlerinde AFM1 için belirlenen üst sınır uluslararası düzenlemelerde 0 ile 1 µg/kg arasında değişmektedir (Iqbal ve ark., 2015). Türkiye'de Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde süt ve süt ürünleri için yasal düzenlemeye göre “çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt ve süt bazlı ürünlerin” üretiminde kullanılan sütte bulunabilecek en yüksek AFM1 miktarı 0,05 µg/kg olarak belirlenmiştir (Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ. 17 Mayıs 2008. Sayı: 26879).

Türkiye'deki süt ve süt ürünlerinde rastlanan AFM1 düzeylerinin sistematik incelendiği bir çalışmada 2006-2016 yılları arasında süt ve süt ürünlerinin %49'unda AFM1'in tespit edildiği, %21'inin ise yasal sınırların üzerinde AFM1 içerdiği tespit edilmiştir. Bu durum süt ve süt ürünleri yoluyla aflatoksinlere maruziyetin günümüzde devam ettiğini göstermiş olup gerekli kontrollerin bir an önce uygulanması gerektiğini göstermektedir (Ünüşan, 2019).

Süt ve süt ürünleri toplumumuzda önemli bir yere sahiptir ve özellikle büyüme çağındaki çocuklar tarafından sık tüketilmektedir. Her gün çocukların ve adolesan dönemi gençlerin 2-4 porsiyon, yetişkin bireylerin 3 porsiyon süt ve süt ürünleri tüketim önerisi göz önünde bulundurulduğunda AFM1'e maruziyetin azaltılmasına yönelik stratejilere gereksinim duyulmaktadır (Türkiye'ye Özgü Beslenme Rehberi, 2015).

Kontamine olmuş gıdalardan mikotoksinleri uzaklaştırmak için uygulanan çeşitli fiziksel ve kimyasal işlemler yüksek maliyet, düşük verimlilik, besin değerinde kayıplar vb nedenlerle yetersiz kalmaktadır. Son yıllarda ise aflatoksinlerin biyolojik detoksifikasyonu ile ilgili araştırmalar hız kazanmıştır. Özellikle probiyotik bakterilerin aflatoksin detoksifiye etme yetenekleri araştırılmaktadır. En çok üzerinde çalışılan bakteri grubu ise gıdaların fermentasyonunda rol oynayan laktik asit bakterileridir (Assaf ve ark., 2019).

Mikotoksinlerin detoksifikasyonunda probiyotik bakterilerin mekanizması tam olarak netlik kazanmamıştır. Bu konuda iki türlü varsayım söz konusudur. Bunlardan ilki, probiyotik bakteriler ve mikotoksinler arasında hücre duvarına bağlanma yoluyla intestinal emilimin azaltılmasıdır. İkincisi ise spesifik metabolik ürünler yoluyla kanserojen içeren bileşiklerin parçalanmasıdır. Peptidoglikan gibi bakterilerin hücre duvarı bileşenleri mikotoksinlerin bağlanmasından sorumlu bölgelerdir. Peptidoglikanın yanı sıra polisakkaritler ve teikoik asit gibi diğer bileşenler de bağlanma sürecinde rol oynamaktadır. Probiyotik bakterilerin aflatoksin bağlama kapasitesi suşun türü, mutajen konsantrasyonu, ortam pH'ı ve inkübasyon süresine bağlı olarak değişebilmektedir (Mahmood ve ark., 2018).

Laktik asit bakterileri (LAB) tarafından salınan fenolik bileşikler, hidrojen peroksit, hidroksi yağ asitleri ve protein kompleksi gibi antifungal metabolitler toksinleri azaltmakta veya etkisiz hale getirmektedir. Ayrıca laktozun fermentasyonu sonucu üretilen laktik asit pH'da hızlı bir düşüşe neden olmakta ve böylece patojen kontaminasyonunun kontrolünde önem kazanmaktadır. Fermente süt ürünlerinde patojen kontaminasyonunun kontrolü büyük ölçüde bu fermentasyon prosedürüne bağlıdır (Assaf ve ark., 2019).

Yapılan literatür taramasında probiyotik bakterilerin aflatoksin konsantrasyonunu azaltmada etkili olabileceği inek sütü ve PBS ortamlarında göstermiştir. Ancak farklı hayvan sütleri tarafından AFM1 detoksifikasyonu hakkında çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmanın amacı, probiyotik bakterilerin farklı hayvan sütlerinde AFM1 düzeyine etkisini araştırmaktır. Ayrıca prebiyotik özellikte olan inülinin probiyotiklerin gelişimini desteklemesi beklenmiş olup probiyotiklerin AFM1'i azaltmasında inülinin dolaylı etkisi de araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Aflatoksinlerin Tanımı, Özellikleri ve Sınıflandırılması

Günümüze kadar çeşitli mantar türleri tarafından üretilen, farklı kimyasal yapı ve özelliklere sahip 400'den fazla farklı mikotoksin türü tanımlanmıştır. Bunlardan aflatoksinler, fumonisinler, trikotekenler, zearalenon, okratoksin A, patulin, ergot alkaloidleri başlıca bilinen mikotoksinler arasında yer almaktadır. Çeşitli mikotoksinler ile kontaminasyona maruz kalan besin türü çoğunlukla tahıl ürünleridir. Dünyadaki tahıl ürünlerinin yaklaşık %25'inin mikotoksinlerle kontamine olduğu tahmin edilmektedir. Buğday ve mısır yüksek aflatoksin, fumonisin, zearalenon konsantrasyonlarına sahip tahıllar arasında yer almaktadır. Bu nedenle buğday ve mısırın diğer mahsullere kıyasla insan ve hayvan türlerinde mikotoksin maruziyetine önemli ölçüde katkıda bulunabileceği öngörülmektedir (Palumbo ve ark., 2020).

Akut maruziyet ile ilişkili bilinen ilk mikotoksikoz salgını İngiltere'de 1960 yılında 100.000'den fazla hindinin ölümüyle meydana gelmiştir. Hindi ölümlerinin ardından ördek ve sülünleri de etkisi altına alan hastalığa "Turkey X disease" adı verilmiştir. Yapılan araştırmalarda diyet değişikliğine gidilmesi bu hastalığın besinsel kaynaklı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Hayvanların *Aspergillus flavus* ile kontamine olduğu ve aflatoksin adlı toksik maddeyi içeren yer fıstığı tükettiği saptanmıştır. O zamandan günümüze mikotoksin sınıfından aflatoksinlere ilgi artmış ve bu bileşiklerin, hayvanlarda ve insanlarda bazı toksik, karsinojenik, mutajenik, teratojenik ve immünosupresif etkilerine odaklanılmıştır (Girgin ve ark., 2001). Aflatoksinlerle kontamine olan çeşitli gıda ürünleri arasında mısır, sorgum, darı, pirinç ve buğday gibi tahıllar; yerfıstığı, soya fasulyesi, ayçiçeği gibi yağlı tohumlar; biber, karabiber, kişniş, zerdeçal ve zencefil gibi baharatlar; badem, fındık, fıstık, ceviz ve hindistancevizi gibi kuruyemişler ile süt ve süt ürünleri sayılabilmektedir (Kabak ve Dobson, 2017).

Aflatoksinler nemli ve sıcak ortamlarda gelişme gösterebilen *A. flavus* ve *A. parasiticus* başta olmak üzere yaklaşık 20 çeşit *Aspergillus* türü tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir. *A. flavus* gelişimi için optimum sıcaklık 29°C ile 35°C arasında olmakta, 13°C'nin altındaki veya 42°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda üreme gerçekleşmemektedir. Aflatoksinler, geniş bir toksisite spektrumu göstermektedirler.

Metanol, kloroform ve benzen gibi çözücüler içinde çözünmekte ve düşük bir moleküler ağırlığa sahiptirler (Campagnollo ve ark., 2016).

Aflatoksinlerin bilinen en önemli metabolitleri B1, B2, G1 ve G2 olarak sıralanmaktadır. “B” ve “G”, ince tabaka kromatografi plakalarında UV ışığı altında üretilen mavi ve yeşil floresan renkleri ifade ederken alt simge sayıları 1 ve 2 ise sırasıyla büyük ve küçük bileşikler göstermektedir. Aflatoksin B2 ve G2, sırasıyla B1 ve G1’in dihidroksi türevleri olarak belirlenirken aflatoksin M1 ve M2 sırasıyla B1 ve B2’nin 4-dihidroksi türevidir. Dört ana aflatoksin (B1, B2, G1 ve G2), G2 daha az toksik olmakla birlikte B1 tüm aflatoksinler arasında en toksik olanıdır (Nazhand ve ark., 2020).

Aflatoksinler yüksek oranda yağda çözünür bileşiklerdir ve genellikle gastrointestinal sistem yolu aracılığıyla dolaşıma kolayca geçerler. Kandan farklı dokulara ve ksenobiyotiklerin metabolizmasının ana organı olan karaciğere taşınırlar. Aflatoksinler esas olarak karaciğer tarafından reaktif bir epoksit ara ürününe metabolize edilir veya daha az zararlı AFM1 olmak üzere hidroksillenir (Özkaya ve Temiz, 2003).

Karaciğerde çeşitli CYP450 enzim izoformları meydana gelmekte ve aflatoksini reaktif oksijen türlerine (aflatoksin-8,9-epoksit) metabolize etmektedir. Aflatoksin-8,9-epoksit proteinlere bağlanabilir ve akut toksisiteye (aflatoksikoz), DNA hasarına, karaciğer kanserine neden olabilmektedir. AFB1’in ekso-8, 9-epoksite epoksidasyonu, genotoksisite yolunda kritik bir adım kabul edilmektedir. Çünkü epoksit oldukça kararsızdır ve DNA’daki bazlara yüksek afinite ile bağlanmaktadır. Gen mutasyonlarına yol açan yapısal DNA değişikliklerine, ayrıca telomerlerin uzunluğunda ve hücre döngüsündeki kontrol noktalarında değişikliklere neden olmaktadır. Hücre döngüsünün gelişimini ve çoğalmasını düzenleyen çeşitli kontrol noktalarını bozarak hücre deregülasyonuna ve dolayısıyla kanser gelişimine yol açmaktadır (Abrar ve ark. 2013). Kanserojenite ve immünsüpresyon kapasitesi farklı tür, cinsiyet ve yaşa sahip hayvanlarda yaygın olarak bildirilmiştir. İnsanlardaki toksisite özellikle gelişmekte olan ülkelerde, farklı akut zehirlenme salgınları ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir (Santini ve Ritieni, 2013).

Mitoksinlerin bir kısmı endotoksin olarak misel içinde birikme özelliğine sahipken, çoğu mikotoksin miselden substrata doğru salgılanmaktadır. Bundan dolayı küf içeren besinlerden miseller uzaklaştırıldığında besinde mikotoksin tehlikesi ortadan kalkmamaktadır. Aflatoksinler gibi mikotoksinleri gıdalardan uzaklaştırmak için Tablo 2.1’de gösterilen çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlemler uygulanmaktadır. Ancak pahalı, düşük verimli olmaları ve toksik ikincil metabolit oluşturmaları gibi bazı olumsuz yönleri fiziksel ve kimyasal uygulamaları sınırlandırmıştır. Gıda ürünlerinden mikotoksinlerin uzaklaştırılması için etkili teknikler çevreye ve insan sağlığına zarar vermemeli, gıdalarda besin değerini korumalıdır (Liu ve ark., 2020).

Tablo 2.1. Mikotoksinleri gıdalardan uzaklaştırmak için uygulanan çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlemler (Liu ve ark., 2020)

Metot	Metot içeriği	Avantajları	Dezavantajları
Biyolojik	LAB, diğer bakteriler (<i>Bacillus pumilus</i> , <i>Myroides odoratimimus</i>), mayalar	Güçlü spesifik etki, sağlığı teşvik, çevre dostu	Etkileşim mekanizması net değil
	Enzimler	Etkili, spesifik etki	Pahalı, yüksek ekipman
Fiziksel	Ayıklama	Maliyetsiz	Etkili değil
	UV, γ ışını	Etkili	Pahalı, besin değer kaybı
	Isıl işlem	Maliyetsiz	Etkili değil, besin değer kaybı
	Suda yıkama	Maliyetsiz	Etkili değil

Tablo 2.1. devam Mikotoksinleri gıdalardan uzaklaştırmak için uygulanan çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlemler

	Mineral soğurma (hidratlı sodyum klorosilikat, aktif karbon perlit)	Verimli, toksik alt ürün oluşturmaz	Mekanizması net değil
Kimyasal	Alkali çözelti, radyasyon	Etkili	Besin değer kaybı
	Çözücü ekstraksiyonu (metanol, asetonitril)	Etkili, toksik alt ürün oluşturmaz	Besin değer kaybı, kalıntı
	Amonizasyon	Etkili	Besin değer kaybı, toksik alt ürün
	Aldehit (malonaldehit, OPA, formaldehit)	Etkili	Besin değer kaybı, kalıntı
	Ozon	İnaktif mikroorganizma	Besin değer kaybı, maliyetli
	Hidrojen peroksit	Güvenilir	Besin değer kaybı, kalıntı
Fitokimyasal	Vasaka yaprak özütü, klorofil	Çevre dost, besin değerini korur	Sınırlı veri

Yapılan bir çalışmada keçi ve koyun sütünden peynir üretimi sırasında AFM1'in süt proteinleriyle etkileşimi incelenmiştir. Ultrafiltrasyon, asit veya enzimatik işlem uygulamaları toksinin kazein veya peynir altı suyu proteinleri ile etkileşimini değiştirmemiştir. Yalnızca ısıyla birlikte düşük pH durumunda peynir altı suyu proteinlerinin az da olsa denatüre olarak AFM1 bağlama kapasitelerini kaybettiği

tespit edilmiştir. Bu durum koyun ve keçi sütünden AFM1'in ayrılmasının basit bir fiziksel yöntem olmadığını göstermiştir (Barbiroli ve ark., 2007)

2.2. Aflatoksin M1

AFM1, sütte rastlanan tek mikotoksin türüdür. Kontamine besinlerle beslenen insan ve memeli hayvanların sütüne salgılanan AFM1, aflatoksin B1'in hepatokarsinojen türevidir. AFM1, AFB1'den yaklaşık on kat daha az toksik olmasına rağmen sitotoksik ve kanserojen etkileri benzer düzeydedir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı AFM1'i insanlar için kanserojen olan grup 1'e ait olarak sınıflandırmıştır (IARC, 2002).

Süt ve süt ürünlerinde AFM1 için belirlenen üst sınır uluslararası düzenlemelerde 0 ile 1 µg/kg arasında değişmektedir. Dünyada, süt ve süt ürünlerinde Güney Asya ve Afrika ülkelerinde yüksek AFM1 düzeylerine rastlanırken Avrupa'da sıkı düzenlemeler nedeniyle oldukça düşük düzeylerde görülmektedir (Iqbal ve ark., 2015). Türk Gıda Kodeksi süt ve süt ürünleri yasal düzenlemesine göre “çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt ve süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan sütte” bulunabilecek en yüksek AFM1 miktarı 0,05 µ/kg olarak belirlenmiştir (Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ. 17 Mayıs 2008. Sayı: 26879) (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Türk Gıda Kodeksi süt ve süt ürünleri yasal düzenlemesine göre sütte bulunabilecek en yüksek AFM1 miktarları (Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ. 17 Mayıs 2008. Sayı: 26879)

Gıda	AFM1 Maksimum Limit (µg/kg)
Çiğ süt, ısıtılmış işlem görmüş süt, süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan süt	0,05
Bebek formülleri ve devam formülleri (bebek sütleri ve devam sütleri dahil)	0,025
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,025
Diğer gıda maddeleri	0,5

Hayvanların kontamine yemleri tüketmesinden 12-24 saat sonra sütlerine AFM1 salınımı görülmekte ve birkaç gün içerisinde yüksek seviyelere ulaşmaktadır. Kontamine yemlerin diyetten çıkarıldıktan yaklaşık 24 saat sonrasında ise sütte AFM1'e rastlanılmamaktadır. AFM1 kontaminasyonu sadece üretilen sütlerde değil aynı zamanda peynir, yoğurt, krema ve süt tozu dahil olmak üzere tüm süt ürünlerinde ciddi bir problem olmaya devam etmektedir. Peynir diğer süt ürünlerine kıyasla potansiyel bir AFM1 kaynağıdır. Peynirde AFM1 konsantrasyonları sütten 3 ile 16 kat daha yüksek görülmektedir. Bu durum AFM1'in peynirde yoğunlaşmış olan kazeine afinitesi ile açıklanabilmektedir. Yoğurtta ise gerçekleşen fermentasyon sonucu pH düşmekte, süt yapısında ayrışmalarla AFM1 azalması gerçekleşebilmektedir (Campagnollo ve ark., 2016).

Kış mevsiminde toplanan süt örneklerinde yaz mevsiminde toplanan süt örneklerine kıyasla daha yüksek AFM1 konsantrasyonlarına rastlanmaktadır. Bu durumun kış mevsiminde hayvan çiftliklerindeki aflatoksin ile kontamine mısır silağı, pamuk tohumu, soya fasulyesi, kuru ot ve buğdaya dayanan yüksek miktarda konsantre yem kullanılmasıyla kaynaklandığı bildirilmiştir.  iftliklerdeki bu  r nler AFB1 üretilmesinden sorumlu *Aspergillus* cinsinin gelişimini destekleyici yüksek sıcaklık ve nem gibi uygun olmayan koşullarda depolanabilmektedir (Shahbazi, 2017).

Ocak ve şubat 2005 tarihleri arasında İç Anadolu Bölgesi'ndeki (Konya, Ankara, Sivas, Kayseri, Niğde) marketlerden toplam 129 adet ticari süt ürününün incelendiği çalışmada ortalama AFM1 değeri 108,17 ng/l tespit edilmiş olup %47,1'inin yasal sınırların üzerinde olduğu belirtilmiştir. Bunun sebebi olarak hayvan yemlerinin AFB1 içeriğinin yasal sınırların üzerinde olduğu ve süte geçtiği bildirilmiştir ( n san, 2006). 2011 yılında ise Kayseri'de markette satılan süt ve süt ürünlerinin %64' nde AFM1'e rastlanmış ve %7'sinin yasal sınırların üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Ertaş ve ark., 2011).

Hayvanlar tarafından kontamine yemlerle alınan toplam AFB1'in yaklaşık %0,3 ile %6,2'si sütte AFM1'e dönüşmektedir. Hayvan türlerine bağlı olarak sütteki AFM1 düzeyleri farklılık gösterebilmektedir. İneklerde bu oran %0,35-3 arasında, keçilerde %0,18-3 arasında, koyunlarda %0,08-0,33 arasında değişmektedir (Campagnollo ve ark., 2016). 2017 yılında Niğde'de yapılan bir çalışmada 30 koyun, 30 keçi ve 30 inek sütü AFM1 bakımından analiz edilmiştir. İnek sütü örneklerinin %10'unda yasal

limitlerin çok üzerinde AFM1 tespit edilirken keçi ve koyun sütlerinde yasal limitlerin üzerinde AFM1'e rastlanmamıştır. İnek sütü ile keçi ve koyun sütü arasında istatistiksel anlamda fark gözlenirken keçi ve koyun sütü arasında istatistiksel anlamda fark bulunamamıştır. Sonuç olarak, keçi ve koyun sütü tüketimiyle karşılaşılan AFM1 maruziyetinin inek sütüne kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir (Karadal ve ark., 2018).

AFM1'in ölçümünde uygun tespit yönteminin seçilmesi önemlidir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemi, tespit için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bu yöntem yüksek hassasiyet ile ölçüm yapmaktadır fakat maliyetlidir ve nitelikli personel gerektirmektedir. Yaygın olarak bilinen diğer bir yöntem maliyeti uygun ve kullanımı kolay, antikor-antijen reaksiyonuna dayanan enzime bağlı immünosorbent analizi (ELISA)'dır (Vaz ve ark., 2020). ELİSA metodu AFM1 tespitinde güvenilir olarak uygulanmaktadır. Aflatoksin bağlama kapasitesine yönelik yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar göstermiştir (Sarımehmetoğlu ve Küplülü, 2004; El Khoury ve ark., 2011).

2.3. Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Aflatoksinlerle kontamine gıdalara uzun süre maruziyet durumu, dünya çapında özellikle gıda ve gıda ürünlerinin hasat, işleme ve depolanma kontrolünün düşük olduğu Güney Doğu Asya ve Afrika'nın gelişmekte olan ülkelerinde yaygın bir sorundur. Aflatoksinler; metabolitleri ve üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) nedeniyle kanserlerin gelişimi de dahil olmak üzere vücutta çok çeşitli sistemler üzerinde zararlı etkilere neden olmaktadır. Karaciğer, böbrek, akciğer, beyin, testisler ve birçok endokrin-ekzokrin organlar, kalp-iskelet kasları ve farklı vücut sistemleri etkilenmektedir. Yüksek miktarda aflatoksinlere kısa süreli maruziyet durumu karaciğer hasarı, sarılık, kanama, ödem ve ölümle sonuçlanırken uzun sürede maruziyet ise bağışıklığın baskılanması, beslenme bozuklukları ve kanserle sonuçlanmaktadır (Şekil 2.1) (Wild ve Gong, 2010).



Şekil 2.1. Aflatoksinlere kısa süreli ve uzun süreli maruziyet durumunda karşılaşılan sorunlar (Wild ve Gong, 2010)

Aflatoksinler, çoğu henüz tam olarak aydınlatılmamış olan farklı mekanizmalarla çeşitli toksik etkiler sergilemektedir. Toksisite derecesi, etkilenen organa bağlıdır ki üzerinde en çok durulan organ ise karaciğerdir. AFB1 duodenumda emilir ve karaciğere ulaşır ve burada çeşitli mikrozomal sitokrom enzimlerinin (CYP450) etkisiyle aktive edilir. CYP450 tarafından AFB1 metabolizmasının ilk adımı olarak oluşturulan AFB1-ekzo 8,9-epoksit, genotoksisitenin nihai sorumlusu olarak kabul edilmiştir. Günümüzde AFB1'in neden olduğu oksidatif stresin de genotoksisitede rol oynadığı düşünülmektedir. ROS, hücresel antioksidan savunma mekanizmaları ile dengelenemeyecek kadar yüksek olduğunda DNA hasarları zamanında onarılamaz ve hatalı gen ekspresyonu, çoklu mutasyonlar ve sonuçta tümör oluşumu gibi çeşitli genetik anormallikler izlenir (Murphy ve ark., 2006).

Aflatoksine maruziyet ile en sık ilişkilendirilen hastalık hepatoselüler karsinom (HCC)'dur. HCC son derece kötü prognozlu, dünya çapında en yaygın kanserlerden biridir. İnsanlarda, hepatoselüler karsinom insidansının yüksek olduğu ülkelerde epidemiyolojik çalışmalar, kanser insidansı ile diyetin aflatoksin içeriği arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Marchese ve ark., 2018).

Aflatoksinler bağışıklığın baskılanmasından ve böylece bireyleri bulaşıcı hastalıklara karşı duyarlı hale getirmekten sorumlu tutulmaktadır. Hepatit B virüsü ile kronik

olarak enfekte olmuş kişilerde karaciğer kanser riskinin artmasına önemli ölçüde katkıda bulunmakta, Afrika ile Asya'da HCC gelişimi için bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Rocha ve ark., 2014). Çin'de yapılan bir çalışmada piyasada satılan süt ürünleri AFM1 bakımından incelenmiş ve Çin popülasyonunda karaciğer kanser riski değerlendirilmiştir. Kontamine süt ve süt ürünlerinin tüketilmesi ile primer karaciğer kanser riski arasında doğrusal bir ilişki bulunmuştur (Guo ve ark., 2013).

Aflatoksinlere bağlı toksik ensefalopati; denge kaybı, yakın zamanda hafıza kaybı, baş ağrısı, baş dönmesi, uykusuzluk, koordinasyon kaybı gibi birden fazla semptom içermektedir. Aflatoksinlerin solunum sistemleri üzerinde ciddi akut etkileri bulunmaktadır. Ayrıca dolaşımdaki olgun eritrositleri azaltarak hemolitik anemiye neden olabilmektedir (Bbosa ve ark., 2013).

Aflatoksinlere kronik maruziyetin nörodejeneratif bozukluklardan da sorumlu olabileceğine dair artan kanıtlar vardır. Aflatoksinlerin, oksidatif fosforilasyonu engelleyen ve beyin hücrelerinin apoptozlarına yol açan mitokondrilerin yapısını ve işlevini bozduğu bildirilmiştir. Kwashiorkordan ölen çocukların beyin dokularında aflatoksinlerin tespiti ve Rey hastalığı (serebral ödem ve nöronal dejenerasyonla ilişkili hastalık) ile ilişkisi, aflatoksinlerin beyin kan bariyerini geçebildikleri ve dejenere ettikleri sinir sistemine sızabildiklerinin güçlü bir göstergesidir (Benkerroum, 2020).

Aflatoksinlere maruz kalan çocukların yetişkinlikte fiziksel ve zihinsel bozukluklarla karşılaşma riskleri artmaktadır. Afrika ülkelerinde 5 yaşın altındaki çocuklar arasında büyümenin yavaşlaması yetersiz beslenmenin yanı sıra temel besin maddesi olarak tüketilen mısır, yer fıstığı ve türevleri gibi gıdaların yüksek aflatoksin içeriğiyle ilişkilendirilmiştir. Aflatoksinler protein sentezini inhibe edebilmektedir. Protein sentezinin inhibisyonu bağırsak disbiyozuna yol açmakta olup bu durum besinlerin malabsorpsiyonu ve bağırsak bariyer fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanmaktadır (Tsfamariam ve ark., 2019).

Aflatoksinlerin bebeklerde ve çocuklarda çeşitli besin öğelerinin emilimini olumsuz etkileyerek kwashiorkor ve marasmus gibi beslenme yetersizliklerine yol açtığı bildirilmiştir. Aflatoksinlerin çocuklarda kusma, hepatit, karaciğer kanseri ile ilişkili sağlık etkileri de bulunmaktadır. Bu nedenle başta yenidoğan dönemi olmak üzere

bebeklik ve çocukluk döneminde toksinlere maruziyetin en az düzeye indirilmesi gerekmektedir. (Sherif ve ark., 2009).

Yeni doğanların ve bebeklerin toksik maddeleri metabolize etme yetenekleri henüz tam olarak gelişmemiştir. Doğumdan sonra anne sütü veya bebek mamaları, yaşamlarının ilk aylarında bebekler için önemlidir ve genellikle tek besin kaynağını oluşturmaktadır. Bazı Avrupa ülkelerinde toplanan örneklerde anne sütünün ve bebek mamasının yeni doğanlar ve bebekler için bir mikotoksin kaynağı olduğu belirtilmektedir. Gelişmekte olan ülkelere, özellikle tropikal iklime sahip ülkelere besinler mikotoksinlerle yüksek oranda kontamine olmuştur. Bu nedenle anne sütündeki ve bebek mamalarındaki mikotoksin seviyeleri genel olarak daha yüksektir ve bu nedenle yeni doğanlar ve bebekler için bir sağlık riski olduğu kanıtlanmıştır (Hof, 2016).

Erken bebeklik döneminde AFM1 ile ilk maruziyet anne sütü aracılığıyla olmaktadır. Bu nedenle anne sütündeki AFM1 düzeyleri ile bebeğin AFM1'e maruz kalması arasındaki ilişki araştırılmaktadır. Türkiye'de 7-90 günlük bebekleri olan 90 annenin dahil edildiği bir çalışmada, anne sütünün AFM1 düzeyleri 2,76-5,99 ng/l arasında ve ortalama 3,59 ng/l olarak saptanmıştır. Yenidoğan döneminde tek başına anne sütü alan bebeklerin günlük AFM1 alım düzeylerinin 0,41-0,90 ng/kg/gün ve ortalama 0,54 ng/kg olduğu saptanmıştır. Bu düzeylerin ise besinler için belirlenen günlük AFM1 alım düzeylerine kıyasla çok alta kaldığı, anne sütünün AFM1 açısından güvenilir olduğu belirtilmiştir (Dinleyici ve ark., 2018).

Anne sütünde AFM1 düzeylerinin dünya çapında sistematik incelendiği ve risk değerlendirme çalışmasının yapıldığı bir çalışmada en düşük AFM1 düzeyi 0,80 ng/l iken en yüksek AFM1 düzeyi ise 465,76 ng/l olarak bildirilmiştir. Bebeklerde anne sütü tüketiminden kaynaklı kanser riski hesaplanmış ve sonuçta Tayland ve Birleşik Arap Emirlikleri'ndeki bir aylık bebek dışında dünyadaki anne sütü alan tüm bebeklerin AFM1 bakımından güvenli aralıkta olduğu tespit edilmiştir (Fakhri ve ark., 2019).

Brezilya'da anne sütü alan bebekler ile ticari bebek sütü alan bebeklerin AFM1'e maruziyet risk değerlendirilmesinin yapıldığı çalışmada anne sütündeki ve ticari sütteki AFM1 değerleri karşılaştırılmıştır. Ticari olarak satılan 16 süt ürününün

%43,8'i, anne sütünün ise %5,3'ünün AFM1 içerdiği tespit edilmiştir. Ticari sütte oluşturulan tehlike indeks değerinin anne sütünden daha yüksek düzeyde olduğu belirtilmiş, fakat toksik etki yapmayacak dozda olduğu ifade edilmiştir (Ishikawa ve ark., 2016).

Türkiye'de 2014-2015 yılları arasında piyasada yaygın olarak satılan devam sütlerindeki AFM1 miktarını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada incelenen 60 devam sütü örneğinin tamamında AFM1 saptanmış olup 23 örnekte Türk Gıda Kodeksi yasal limitlerinin çok üzerinde AFM1 tespit edilmiştir (Tuz ve ark., 2017).

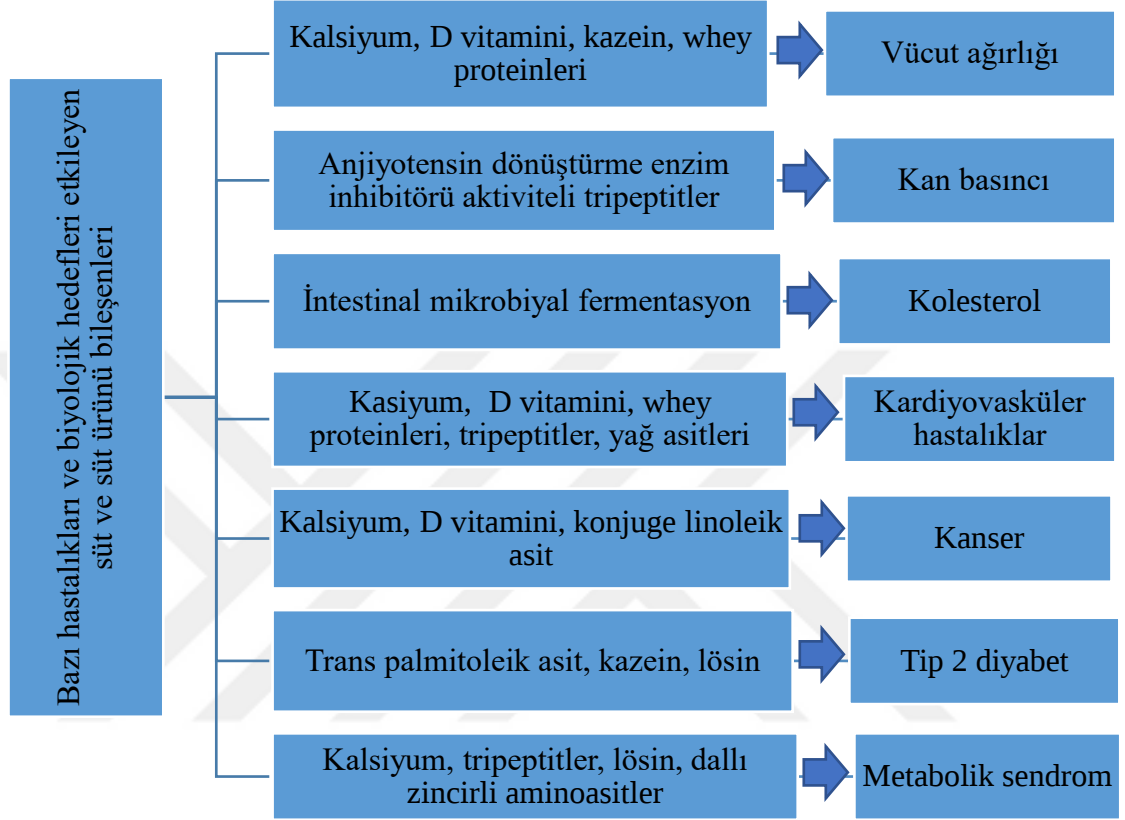
2015 yılında Türkiye'de yapılan bir çalışmada farklı süt türlerinin AFM1 içeriği tespit edilerek çocukların AFM1 maruziyet risk değerlendirilmesi yapılmıştır. İncelenen 135 süt örneğinin 117'si inek sütü olup ortalama AFM1 miktarı $9 \pm 4,68$ ng/l iken 18 keçi sütünün ortalama AFM1 miktarı $6,4 \pm 2,98$ ng/l olarak saptanmıştır. Sütlerde ortalama AFM1 miktarı $8,6 \pm 4,57$ ng/l olarak bulunmuş ve yasal limitin üzerinde süt örneğine rastlanmamıştır. Yaş gruplarına göre yapılan tehlike indeks değerlendirmesinde, 1-9 yaş arası çocuklar yüksek risk altında olup artan yaşla beraber riskin azaldığı saptanmıştır. Özellikle 1-3 yaş arası çocuklar için süt tüketiminden kaynaklı AFM1 riskinin 3 kat ve üzeri olduğu bildirilmiştir (Madalı ve ark., 2018).

Aflatoksinlere maruziyet durumunu klinik belirtilerle tespit etmek zordur. Ancak daha sonraki dönemlerde ciddi sağlık problemlerine yol açabilmektedir. Bu nedenle gıdalarda, özellikle bebek süt ürünlerinde aflatoksin oluşumunun sürekli izlenmesi gerekmektedir. AFM1'in insanlarda sağlık üzerine etkilerine dair yeteri kadar kanıt bulunmamakta olup daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Fung ve ark., 2004).

2.4. İnek Sütü, Keçi Sütü ve Koyun Sütünün Özellikleri

Sağlıklı ve dengeli bir beslenme için süt ve süt ürünlerine diyetle günlük yer verilmesi gerekmektedir. Süt ve süt ürünü bileşenlerinin kardiyovasküler hastalıklar, bazı kanser türleri, obezite ve diyabet gibi pek çok hastalığa karşı koruyucu etkisi bulunmaktadır (Şekil 2.2.). Süt, beslenmede önemli bir protein kaynağı olarak kabul edilmektedir. Süt proteinleri ve enzimatik hidrolizinden kaynaklanan çeşitli biyoaktif peptitler insan sağlığını koruyucu etkiler göstermektedir. Bu etkiler, besinlerin emilimini

kolaylaştırmanın yanı sıra antibakteriyel, antiviral, antifungal, antioksidan, antihipertansif, antitrombotik ve immünomodülatör olarak sıralanabilmektedir. Bazı peptitler müsin üretimi aracılığıyla patojenlerin bağırsak yüzeyine yapışmasını önleyerek bağırsak disbiyozunu önlemektedir (Galli ve Risé, 2017).



Şekil 2.2. Bazı hastalıkları ve biyolojik hedefleri etkileyen süt ve süt ürünü bileşenleri (Galli ve Risé, 2017)

Sütün kimyasal bileşimi; hayvan türleri, çevresel koşullar, laktasyon aşaması veya hayvanın beslenme durumu gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. İnek sütü (%83) en sık tüketilen süt türü olmakla beraber keçi (%2,3) ve koyun (%1,4) gibi diğer süt türleri de tercih edilmektedir (Verduci ve ark., 2019). Süt türleri arasında koyun sütü daha yüksek miktarda protein ve yağ içeriğiyle diğer süt türlerinden ayırt edebilirken keçi sütü daha yüksek miktarda A ve D vitamini ile öne çıkmaktadır. Keçi ve koyun sütü iyi A vitamini kaynaklarıdır (Tablo 2.3) (Pereira, 2014).

Tablo 2.3. Keçi, koyun, inek, insan sütü ortalama bileşimleri (Pereira, 2014)

	Keçi	Koyun	İnek	İnsan
Laktoz (%)	4.1	4.9	4.7	6.9
Yağ (%)	3.8	7.9	3.6	4.0
Protein (%)	3.4	6.2	3.2	1.2
Enerji (kcal/100ml)	70	105	69	68
Kalsiyum (mg/100 g)	134	193	122	33
Fosfor (mg/100 g)	121	158	119	43
Vitamin A (IU)	185	146	126	190
Vitamin D (IU)	2.3	0.18(µg)	2.0	1.4

Süt proteinleri kazein ve peynir altı suyu proteinleri olmak üzere temelde ikiye ayrılmaktadır. Keçi, koyun ve inek sütünde kazein yüzdeleri sırasıyla %2,4, %4,2 ve %2,6 olarak sıralanmaktadır (Park ve ark., 2007). Peynir altı suyu proteinlerinden laktoferrin, laktoperoksidaz ve lizozim önemli antimikrobiyal ajanlardır. Laktoferrin demir emilimi açısından β -laktoglobülin ise retinol taşıyıcılığı açısından önem kazanmaktadır. Laktoferrin β -laktoglobulin ve α -laktoalbumin ile tümör gelişiminde baskılayıcı etki göstermektedir. Süt kazeini ise mineral taşıyıcılığı bakımından öne çıkmaktadır. Özellikle kalsiyum ve fosfor taşınımında görev almakta, midede sindirimi kolaylaştırmaktadır (Mills ve ark., 2011).

Keçi sütünde inek sütüne kıyasla kısa zincirli ve orta zincirli yağ asitleri daha yüksek miktarda bulunmaktadır. Orta zincirli yağ asitlerinin ilk üçü sırasıyla kaproik, kaprilik ve kaprik asit olarak bilinmektedir. Keçi sütündeki orta zincirli yağ asitleri yeni doğan

malabsorbsiyonu, anemi, kemik minerilizasyonu ve bazı metabolik hastalıkların tedavisinde sağlığa faydaları kanıtlanmış en önemli bileşenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Haenlein, 2004). Keçi sütünün sindirimi inek sütüne kıyasla daha kolaydır. Ayrıca keçi sütü inek sütüne kıyasla daha yüksek düzeylerde oligosakarit içermektedir. Süt oligosakkaritleri yeni doğanlarda bağırsak florasının gelişimini teşvik etmektedir (Verduci ve ark., 2019).

İnek sütü proteinlerine alerjisi olan hastaların %40-100'ü keçi sütünü tolere edebilmektedir. Keçi sütü; gastrointestinal rahatsızlıklar, kusma, kolik, ishal, kabızlık ve solunum problemleri gibi farklı sorunların tedavisinde kullanılmaktadır. Keçi sütünün yüksek tamponlama kapasitesi mide ülserlerinin tedavisinde yararlı etki göstermektedir. Keçi sütü, normal kan basıncını ve kalp fonksiyonunu korumak için gerekli bir mineral olan potasyumun da iyi bir kaynağıdır. Bir fincan keçi sütü 498,7 mg potasyum ve 121,5 mg sodyum içermekte olup yüksek tansiyonu önlemeye ve ateroskleroza karşı korumaya yardımcı olmaktadır (Getaneh ve ark., 2016).

Koyun sütünün kazein ve yağ oranının daha yüksek olması nedeniyle süt olarak tüketimden ziyade yoğurt, peynir veya tereyağı olarak tüketimi tercih edilmektedir. Koyun sütünün yağ asit profili keçi sütüne benzemektedir. Koyun sütünde orta zincirli yağ asitleri, tekli ve esansiyel çoklu doymamış yağ asitleri inek sütünden daha yüksektir. Koyun sütü temel amino asitlerin tamamını bulundurmakta olup inek ve keçi sütüne kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda bütirik asit ve konjuge linoleik asit (KLA) içermektedir. KLA'nın kolon ve mide kanser türlerinin gelişimini engellediği düşünülmektedir. Koyun sütü, inek sütünden daha düşük seviyelerde sodyum ve potasyum içerirken diğer minerallerin çoğu genellikle daha yüksek miktarlarda mevcuttur (Pamuk, 2019).

Emzirmenin mümkün olmadığı veya yetersiz olduğu durumlarda, bebek beslenmesinde tercih edilen ilk besin inek sütü olmaktadır. Ayrıca yaşamın ilerleyen yıllarında da beslenmenin önemli bir parçası olmaya devam etmektedir. Son zamanlarda, inek sütü protein alerjisi ve intolerans konusunda artan farkındalık ebeveynleri çocukları için diğer memeli sütü alternatiflerini seçmeye yöneltmiştir. Fakat bu süt alternatiflerinin çoğu bebeklerin ve çocukların beslenme gereksinimlerini tam olarak karşılayamamaktadır. Örneğin; keçi sütü inek sütüne benzer miktarlarda yağ ve protein içerirken B12 vitamini ve folat eksikliğine sahiptir. Koyun sütü ise

yüksek miktarda yağ, protein ve laktoz içermekle renal yük oluşturmaktadır (Verduci ve ark., 2019). Bebek beslenmesinde ilk 6 ay sadece anne sütü tercih edilmelidir. Anne sütünün verilemediği veya yetersiz olduğu durumlarda farklı süt türleri tercih edilecekse demir, folat, B12, C ve D vitaminleri bakımından zenginleştirilmeli, elektrolit içeriği de dengelenerek verilmelidir (Altun ve Sarıcı, 2017).

Keçi ve koyu sütü probiyotiklerin gastrointestinal sistemde sağkalım, intestinal epitelyuma yapışma, immünomodülasyon ve antitumör özellikler gibi fonksiyonel özelliklerini de etkilemektedir. Sığır dışı süt ürünleri arasında keçi sütü en önemli probiyotik taşıyıcısı olarak kabul edilmektedir. Keçi sütü gibi koyun sütü de depolama süresince probiyotiklerin canlılığının korunmasına yardımcı olabilmektedir (Ranadheera ve ark., 2018).

2.5. Probiyotikler

Probiyotikler, “yeterli miktarda uygulandığında sağlık yararı sağlayan canlı mikro organizmalar” olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde kullanılan probiyotiklerin kaynağını fermente gıdalar veya sağlıklı bir insanı kolonize eden mikroorganizmalar oluşturmaktadır. Probiyotik olarak *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri yaygın olarak bilinmekle beraber mayalardan *S. boulardii*, bazı *E. coli* ve *Bacillus* türleri de bulunmaktadır. Pek çok probiyotik aynı zamanda laktik asit bakterileri olarak sınıflandırılmaktadır (World Gastroenterology Organisation Global Guidelines, 2017).

Probiyotikler, insan ve hayvan sağlığı için güvenli olmaları gereken düzenlemelere tabi tutulmaktadır. ABD’de tüketim amacıyla kullanılan mikroorganizmalar, Gıda ve İlaç Dairesi tarafından düzenlenen “genel olarak güvenli olarak kabul edilir” statüsüne sahip olmalıdır. Avrupa’da da QPS (Nitelikli Güvenlik Varsayımı) terimi getirilmiştir. QPS kavramı, güvenli kullanım öyküsü ve antibiyotiklere karşı kazanılmış direnç riskinin olmaması dahil olmak üzere, probiyotik takviyelerinin güvenlik değerlendirmesinin bazı ek kriterlerini içerir. Tablo 2.4’de farmasötik ürünlerde veya besinlere eklenerek kullanılan probiyotik mikroorganizmalar gösterilmektedir (Markowiak ve Śliżewska, 2017).

Tablo 2.4. Yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalar. ^(a) Çoğunlukla farmasötik ürünler olarak; ^(b) çoğunlukla besinlere eklenerek; * QPS (Nitelikli Güvenlik Varsayımı) mikroorganizmaları gösterir (Markowiak ve Śliżewska, 2017)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Diğer Laktik Asit Bakterileri	Diğer Mikroorganizmalar
<i>L. acidophilus</i> (a) *	<i>B. adolescentis</i> (a)	<i>Enterococcus faecium</i> (a)	<i>Bacillus clausii</i> (a) *
<i>L. amylovorus</i> (b) *	<i>B. animalis</i> (a) *	<i>Lactococcus lactis</i> (b) *	<i>Escherichia coli</i> Nissle 1917(a)
<i>L. casei</i> (a) (b) *	<i>B. bifidum</i> (a)	<i>Streptococcus thermophilus</i> (a) *	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (boulardi) (a) *
<i>L. gasseri</i> (a) *	<i>B. breve</i> (b)		
<i>L. helveticus</i> (a) *	<i>B. infantis</i> (a)		
<i>L. johnsonii</i> (b) *	<i>B. longum</i> (a) *		
<i>L. pentosus</i> (b) *			
<i>L. plantarum</i> (b) *			
<i>L. reuteri</i> (a) *			
<i>L. rhamnosus</i> (a) (b) *			

Fonksiyonel gastrointestinal bozuklukların patogeneğinde bağırsak mikrobiyotası ve disbiyozunun rol oynadığı düşünülmektedir. Bağırsak mikrobiyotası; probiyotikler, prebiyotikler, simbiyotikler, diyet değişiklikleri, antibiyotikler ve fekal transplantasyon dahil olmak üzere çeşitli müdahaleler ile geçici olarak değişebilmektedir. Probiyotikler, prebiyotikler, hem probiyotik hem de prebiyotik içeren diyet takviyeleri gastrointestinal sistem semptomlarını ve sağlığını iyileştirmek için önerilmektedir (Jana ve ark., 2020).

Son yıllarda, probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki faydalarını ve etkilerini göstermeleri için bakteriyel canlılığın gerekli olmadığı kavramına dayanarak paraprobiyotik ve postbiyotik gibi yeni terimler ortaya çıkmıştır. İnaktive probiyotikler olarak da bilinen paraprobiyotikler, yeterli miktarlarda uygulandığında tüketicilere fayda sağlayan cansız mikrobiyal hücreleri ifade etmektedir. Basitçe metabolitler olarak da bilinen postbiyotikler ise canlı bakteriler tarafından salgılanan veya bakteriyel lizisten sonra salınan çözünür faktörleri ifade etmektedir. Bu biyolojik ürünler arasında kısa zincirli yağ asitleri, enzimler, antimikrobiyal peptitler, teikoik asitler, peptidoglikan türevi muropeptitler, endo ve ekzopolisakkaritler, hücre yüzey proteinleri, vitaminler ve organik asitler bulunmaktadır. Postbiyotikler; güvenli doz parametreleri, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, immünomodülatör, antiobezojenik, antihipertansif, hipokolesterolemik, antiproliferatif ve antioksidan aktiviteleri olan çeşitli moleküllerin varlığı nedeniyle dikkat çekmektedir. Bu özellikler, postbiyotiklerin belirli fizyolojik fonksiyonları iyileştirerek konakçı sağlığının iyileştirilmesine katkıda bulunabileceğini göstermektedir, ancak kesin mekanizmalar tamamen açıklığa kavuşturulmamıştır (Rossoni ve ark., 2020).

Bir probiyotik suşun sağlığa yararlı etkilerini gösterebilmesinin ilk adımı, konak dokularda yapışma ve kolonizasyon kapasitesine sahip olmasıdır. Bu etki mekanizması, bağlanma alanlarını bloke ederek patojenlerin dışlanmasıyla sonuçlanan etkileşimleri içermektedir. Probiyotikler için diğer bir mekanizma; mantarlar, bakteriler ve virüslere karşı geniş bir antimikrobiyal aktiviteye sahip metabolitlerin (laktik asit, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler vb.) üretimidir. Probiyotikler patojenleri engelleyebilen bakteriosinleri salgılayabilir. Bakteriyosinler, *Lactobacillus* suşları dahil birçok bakteri türü tarafından üretilen güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip heterojen bir küçük peptit ailesidir (Oelschlaeger, 2010).

Fermantasyon sırasında laktik asit bakterileri tarafından süt proteinleri proteolize uğramaktadır. Proteolizinin bir sonucu olarak biyoaktif peptidler veya bunların spesifik parçaları oluşmaktadır. Biyoaktif peptitler belirli biyolojik fonksiyonları uyarma yeteneğine sahiptir ve sindirim sistemi, kardiyovasküler sistem, bağışıklık sistemi, sinir sistemi gibi sistemler üzerinde olumlu bir etki göstermektedir. Genel olarak, vücudun hastalıklara karşı savunmasını sağlarlar ve organizmada mikrobiyal enfeksiyon insidansını azaltmaktadırlar (Park ve Nam, 2015).

Laktik asit üretimi, probiyotik suşların antimikrobiyal özellikleri için önemli bir faktör olarak kabul edilmiştir. Laktik asit, birçok bakteri cinsi tarafından birincil veya ikincil fermentasyon ürünü olarak üretilir. Laktik asit bakterileri (LAB) genellikle güvenilir mikroorganizmalardır ve probiyotikler başlığı altında yer almaktadır. Laktik asit bakterileri gram pozitif bakterilerdir. Optimum gelişme koşullarına göre mezofilik (20-30°C) ve termofilik (37-45°C) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bu bakteriler esas olarak *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* olarak sınıflandırılmaktadır (Mahmood Fashandi ve ark., 2018).

Laktobasiller LAB'lerin önemli bir grubunu oluşturmaktadır. Laktobasil türlerine genellikle süt ürünlerinde ve bağırsak florasında rastlanmaktadır. Et, süt ve sebzelerin fermentasyonunda rol oynamaktadır. Laktobasiller gram pozitif, spor oluşturmayan, katalaz negatif bakterilerdir. Optimum 30-40°C'de gelişmekte olup %1-3 oranında laktik asit oluşturmaktadır. 1990 yılında dışkıdan izole edilerek *L. acidophilus* adı verilen bakteri, günümüzde probiyotik bakterilerin temsilcisi olarak bilinmektedir (Yörük ve Güner, 2011). *L. acidophilus* için optimum sıcaklık 35-38°C ve pH 5.5-6 olmasına rağmen 45°C yüksek sıcaklık 3.72-7.74 pH aralığında da aktivite gösterebilmektedir. Optimum özellikleri elde etmek için *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium spp.* genel olarak *S. thermophilus* ile bir arada kullanılmaktadır (Mahmood Fashandi ve ark., 2018).

İlk olarak 1899 yılında Tissier tarafından izole edilip tanımlanan Bifidobakteriler, anaerobik özellik gösteren gram pozitif bakterilerdir. Optimum 37-43°C ve 6.5-7 pH'de gelişme göstermektedir. Bifidobakterilerin temel karbon kaynağı karbonat veya bikarbonat iken zorunlu azot kaynağı sadece sistein ve sistindir. Ayrıca bifidojenik faktörler olarak bilinen büyüme faktörlerine de ihtiyaç duymaktadırlar. Genellikle N-asetilglukozamine gibi aminoşekerler ya da fruktooligosakkaritler gibi karbonhidratlar bifidojenik faktörler arasında yer almaktadır (Kaptan, 2000). Bifidobakteriler uzun zaman süresince laktobasil cinsinin üyeleri arasında sınıflandırılırken günümüzde spesifik şeker fermentasyonuna sahip olmaları nedeniyle laktobasillerden ayrılmıştır. Bu durum glikozun fermentasyonunda laktobasillerin glukoz-6-fosfataz dehidrojenaz enzimini kullanırken bifidobakterilerin fruktoz-6-fosfat fosfoketolaz enzimini kullanmasından kaynaklanmıştır (Elal Muş ve Çetinkaya, 2018).

Günümüzde fonksiyonel besinler kapsamında *Bifidobacterium spp.* ve *L. acidophilus* gibi probiyotik suşlarla desteklenen probiyotik yoğurtlar üretilmektedir. Yoğurt üretiminde başlangıç kültürü olan *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* kullanılmaktadır. Yoğurt başlangıç kültürleri yüksek proteolitik aktiviteye sahip olup esansiyel amino asitleri üretebilmektedir. Fermentasyon sürecinde bu bakteriler sütte hızlı gelişme göstermektedir. Fakat *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium*'un, düşük proteolitik aktivite göstermesi sütteki gelişimlerini yavaşlatmaktadır. Bundan dolayı probiyotik ürünlere fermentasyon sürecinin kısaltılması için yoğurt başlangıç kültürlerinin eklenmesi önerilmektedir (Fazilah ve ark., 2018).

Birçok ülkede probiyotik olarak tanımlanan besinlerin canlı mikroorganizma içeriğinin en az 10^9 kob/g olması istenmektedir (Ekici, 2021). CODEX standartlarına göre yoğurtta starter kültür bakteri sayısı en az 10^7 kob/g olmalıdır. Etiketle başka mikroorganizmalar belirtilmişse bunların yoğunluğunun ise 10^6 kob/g olması beklenmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde yoğurt üretimi sırasında gram başına en az 100 milyon canlı mikroorganizma bulunmalıdır. Avrupa'da ise yoğurtta en az 10^8 kob/g canlı mikroorganizma bulunması gerekmektedir. Avustralya ve Yeni Zelanda'da düzenlemelere göre yoğurtta en az 10^6 kob/g canlı mikroorganizma bulunmalıdır (Rezac ve ark., 2018).

Ticari probiyotik ürünlerinin çoğu pazarda toz veya kapsül formunda mevcuttur. Ticari probiyotik ürünler *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* ve *Lactococcus* türlerini içermektedir. Ticari probiyotik ürünlere ilişkin önemli kriterlerden birisi söz konusu ürünün etiket içeriğinin mikrobiyal bileşim açısından tutarlılığıdır. Bu durumla ilgili Çin'de yapılan bir çalışmada probiyotik ürünlerin belirtilen mikroorganizma miktarı ve türleriyle ilişkili etiketlerinde önemli hatalar olduğu gösterilmiştir (Ullah ve ark., 2019). ABD'de probiyotik ürün içeriğinin mikrobiyolojik incelemesi sonucunda, etiket iddialarına göre 13 üründen sadece 4'ünün tutarlı olduğu gösterilmiş ve mikrobiyal bileşim hakkında ciddi bir endişe yaratmıştır (Drago ve ark., 2010). Benzer şekilde, başka bir çalışmada da Avrupa pazarında satılan toplam 24 üründen 10'unda etiketteki mikroorganizmaların miktarındaki hatalara dikkat çekilmiştir (Toscano ve ark., 2013).

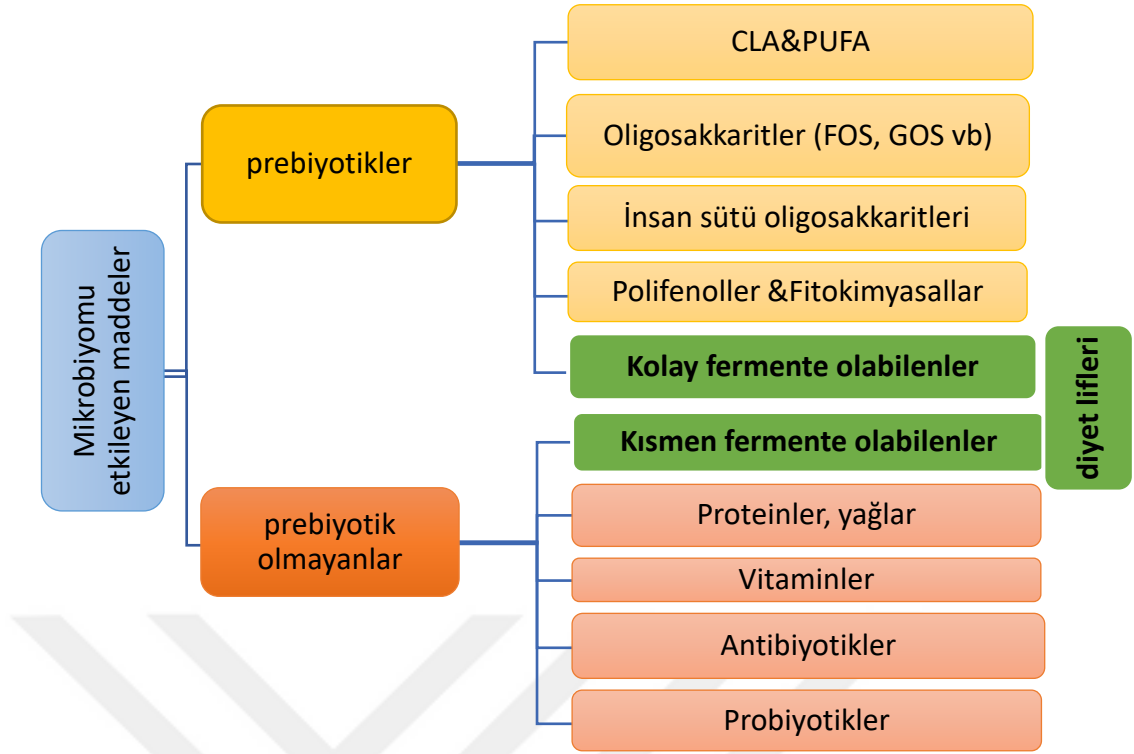
Türkiye'de ticari olarak satılan probiyotiklerin 'Türkiye Probiyotik Rehberi' adı altında toplanmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir. Bu amaçla şu ana kadar

Türkiye’de kayıtlı 138 probiyotik üründen 72 tanesine ait bilgiler değerlendirilmiştir. Ticari marka ve ticari form, içerdiği probiyotik mikroorganizmanın suşu ve miktarı, yaş gruplarında günlük önerilen kullanım miktarı, kanıtlanmış semptomlarda destek olarak kullanımı belirtilmiştir (<http://www.probiyotikrehberi.com/>) (erişim tarihi 18.05.2021).

2.6. Prebiyotikler

Prebiyotikler, “konak mikroorganizmaları tarafından seçici olarak kullanılan sağlığa faydalı substratlar” olarak tanımlanmaktadır (Gibson ve ark., 2017). Bu tanıma göre kısa ve uzun zincirli β -fruktanlar (fruktooligosakkarit, inülin), laktuloz ve galaktooligosakkaritler (GOS) gibi karbonhidrat grubunun bazı bileşenleri prebiyotik olarak sınıflandırılmaktadır. Bu karbonhidratların gastrointestinal kanalda sindirim enzimlerine dirençli olması daha düşük kalori değeri ve diyet lif etkisi oluşturmaktadır (Davani ve ark., 2019).

Diyet lifi gibi karbonhidratlar potansiyel prebiyotiklerdir. Prebiyotik ve diyet lifi, gastrointestinal sistemde sindirilemeyen gıda bileşenleri için alternatif olarak kullanılan terimlerdir. Bu iki terim arasındaki önemli bir fark, prebiyotiklerin tanımlanmış mikroorganizma grupları tarafından kolayca fermente edilmesi iken diyet lifinin kolonik mikroorganizmaların çoğunluğu tarafından kısmen fermente edilmesidir. Prebiyotikler bir diyet lifi olabilir, ancak diyet lifleri her zaman bir prebiyotik değildir. Oligosakkaritlerden fruktooligosakkarit (FOS) ve GOS en çok araştırılan prebiyotiklerdir. İnsan sütü oligosakkaritleri, KLA ve çoklu doymamış yağ asidi (PUFA), polifenoller ve fitokimyasallar, kolay fermente olabilen diyet lifleri prebiyotikler olarak sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.3) (Gibson ve ark., 2017).



Şekil 2.3. Prebiyotiklerin sınıflandırması ve diyet liflerinden farkı (Gibson ve ark., 2017)

En yaygın olarak kullanılan prebiyotikler; FOS, GOS ve laktulozdur. FOS'ler fruktoz ve glikoz moleküllerinin doğrusal veya dallı zincirleridir. Bileşiminde bulunan fruktoz birimlerinin sayısı FOS'un adını belirlemektedir. Örneğin oligofruktoz genellikle ≤ 10 birimden oluşurken, inülin 60'a kadar olan birimden oluşmaktadır. FOS, fruktoz birimleri arasındaki bağların konfigürasyonu nedeniyle üst gastrointestinal sistemde sindirim enzimlerine dirençlidir. Bu nedenle FOS, sindirilemeyen oligosakkaritler olarak sınıflandırılmaktadır (Niness, 1999).

FOS'lar birçok besinde yaygın bulunan bileşenleridir. Besinlerde değişen yüzdelerde bulunur ve 36.000'den fazla bitki türünde keşfedilmiştir. FOS; kuşkonmaz, soğan, pırasa, sarımsak, enginar ve hindiba kökü dahil olmak üzere birçok sebze bulunmaktadır. Bazı besinlerin içerdiği FOS miktarı Tablo 2.5'de özetlenmiştir (Hawrelak, 2020).

Tablo 2.5. Bazı besinlerin içerdiği ortalama FOS miktarları (Hawrelak, 2020)

Besinler	Biçimi	Ortalama FOS Yüzdesi (%)	Porsiyon Boyutu	Porsiyon Başına Yaklaşık FOS Miktarı
Kuşkonmaz	Çiğ	2,5	½ demet (~250 g)	6,3 g
Muz	Çiğ	0,5	1 orta boy	0,6 g
Yer Elması	Çiğ	18,0	1 orta boy	9,0 g
Hindiba	Toz	41,7	1 çay kaşığı	1,3 g
Soğan	Çiğ	4,3	½ fincan	3,5 g
Sarımsak	Çiğ	12,9	1 orta boy diş	0,4 g
Enginar	Haşlanmış	4,4	1 orta boy	3,0 g
Pırasa	Çiğ	3,0	1 kase	2,7 g
Arpa	Pişmiş	0,15	1 fincan	0,2 g
Çavdar	Un	0,7	1 fincan	0,9 g
Buğday	Un	2,4	1 fincan	2,9 g

Ticari olarak üretilen inülin ve oligofruktozun çoğu hindiba kökünden (*Cichorium intybus*) elde edilmektedir. Oligofruktoz gibi kısa zincirli fruktanlar, kısmi enzimatik hidroliz işlemi yoluyla inülininden üretilir. FOS'u saflaştırmak ve konsantre etmek için en yaygın olarak kullanılan yöntem, taze hindiba köklerinin sıcak su ile ekstraksiyonudur. Bu süreç, son ürün olarak büyük zincirli bir FOS olan inülin ile sonuçlanmaktadır. Bazı üreticiler inülininden oligofruktoz (orta zincirli bir FOS) üretmek için enzimatik hidroliz kullanmakta olup bazıları da fungal enzim fruktosiltransferaz kullanarak sakkarozdan FOS sentezlemektedir (Roberfroid ve Delzenne, 1998).

FOS'un tüketimi ile ilişkili genotoksik, kanserojen, mutajenik, teratojenik veya toksikolojik etkiye rastlanmamıştır. Oligofruktoz ve inülin, çoğu Avrupa ülkesinde resmi olarak doğal gıda bileşenleri olarak kabul edilmektedir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde "Genel Olarak Güvenli Olarak Kabul Edilir " statüde yer almaktadır. FOS'un 4-40 g/gün dozajlarında bifidojenik etkisi görülmektedir. Yetişkinlerde yan etki profili ve bifidobakterilerdeki artışlar açısından optimum dozaj 10 g/gün olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, daha düşük bir dozla (örneğin 3 g/gün) başlamak gastrointestinal sistem semptomlarını azaltmak için tavsiye edilebilir. Bebeklerde ve çocuklarda ise genellikle 1-3 g/gün FOS önerilmektedir (Hawrelak, 2020).

İnülin ve oligofruktozun dondurma, süt ürünleri, şekerlemeler, unlu mamuller gibi yiyeceklerde yağ ve şeker ikamesi olarak kullanımı bulunmaktadır. Ayrıca besinlerin kalori değerlerini azaltmak amacıyla da tercih edilmektedir. İnülin ve oligofruktoz, fruktoz moleküllerini birbirine bağlayan β bağları nedeniyle tipik karbonhidratlardan daha düşük (1,5 kcal/g) kalori değerlerine sahiptir (Niness, 1999). Birçok ülkede yağı azaltılmış veya yağsız süt ürünleri kullanılmakta ve bu durum ürünün dokusunda bozulmaya neden olmaktadır. İnülin ilavesi ise süt ürünlerinde doku özelliklerinin iyileştirilmesinde önem kazanmaktadır (Kip ve ark., 2006).

2.7. AFM1 Detoksifikasyonunda Probiyotik Bakterilerin Kullanımı

İlaç, mutajen veya kanserojen gibi zararlı bileşenlerin insan vücudundan ve gıdalardan uzaklaştırılması veya etkisiz hale getirilmesi işlemi detoksifikasyon olarak tanımlanmaktadır. Gıdalarda kullanılan fiziksel ve kimyasal detoksifikasyon yöntemleri yüksek maliyetin yanı sıra gıdaların duyu özellikleri ve besin değerlerinde kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle gıdalarda bulunan mikotoksinlerin detoksifikasyonunda biyolojik yöntemler ön plana çıkmaktadır. Son yıllarda ise probiyotik bakterilerin detoksifikasyon etkisi araştırılmaktadır (Omak ve ark., 2016).

Mikotoksinlerin detoksifikasyonunda probiyotiklerin mekanizması tam olarak netlik kazanmamakla birlikte iki türlü varsayım ön plana çıkmaktadır. Bu iki varsayım, bakteri-mikotoksin arası hücre duvarı bağlanma yoluyla intestinal emilimde azalma ve spesifik metabolik ürünler yoluyla kanserojen içeren bileşiklerin parçalanmasıdır. Peptidoglikan gibi bakterilerin hücre duvarı bileşenleri mikotoksinlerin

bağlanmasından sorumlu bölgelerdir. Peptidoglikanın yanı sıra polisakkaritler ve teikoik asit gibi diğer bileşenler de bağlanma sürecinde rol oynamaktadır. Probiyotiklerin aflatoksin bağlama kapasitesi suşun türü, mutajen konsantrasyonu, ortam pH'ı veya inkübasyon süresine bağlı olarak değişebilmektedir (Mahmood ve ark., 2018).

LAB'ın aflatoksin bağlama kapasitesi toksinin polaritesi ile ilişkilendirilmiş olup sırasıyla AFB1>AFB2>AFG1>AFG2 olarak sıralanmaktadır. Antimutajenik etkinin hücre duvarındaki protein yapısından daha ziyade karbonhidrat-karbonhidrat kompleksinden ya da yağ-karbonhidrat kompleksinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Haskard ve ark., 2000). Yapılan bir çalışmada gram (+) suşların gram (-) suşlardan daha yüksek AFB1 bağlama kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (El-Nezami ve ark., 1998).

Fermentasyonun olası etkilerinden kaçınmak ve daha yüksek bağlanma oranlarına ulaşmak için ısıyla öldürülmüş hücreler tercih edilebilmektedir. Çalışmada kullanılacak bakterilerin ısıl işlem ile öldürülmesi, hücre duvarı bileşenleri arasında bazı reaksiyon ürünlerinin oluşması yoluyla bağlanmayı etkilemektedir. Isıl işlem süresine, tipine ve sıcaklığına bağlı olarak denatürasyon meydana gelmektedir (Assaf ve ark., 2019).

Farklı mikrobiyal yoğunlukların (10^7 , 10^8 , 10^9 ve 10^{10} kob/ml) AFM1 bağlanması üzerinde etkisini inceleyen bir çalışmada ısı ile öldürülmüş *S. cerevisiae* ve 3 LAB suşu tekli ve kombine olarak 1 saatlik sürenin sonunda değerlendirilmiştir. Mikroorganizmaların AFM1'e bağlanma yeteneğinin mikroorganizmaların yoğunluğu ile doğru orantılı olduğu yani en yüksek AFM1 bağlanmasının 10^{10} kob/ml, en düşük ise 10^7 kob/ml yoğunluğunda olduğu tespit edilmiştir (Ismail ve ark., 2017).

AFM1 bağlanması hızlı bir süreç olup mikroorganizmalar ile temasın ilk birkaç dakikasında gerçekleştiğinden çalışmalar genellikle ilk 1 saatlik dilime odaklanmıştır. 10^9 kob/ml yoğunluğunda *L. plantarum*'un süt ortamında AFM1 bağlama yeteneği farklı toksin konsantrasyonları (500, 1000, 2000, 5000 ve 10.000 ng/l) ve farklı inkübasyon sürelerinde (30 dk, 1 saat, 6saat, 24saat, 48 saat) araştırılmıştır. En yüksek bağlanma yeteneği %61,33 olarak 5000 ng/l AFM1 konsantrasyonunda tespit edilmiştir. AFM1 konsantrasyonunun 5000 ng/l'den 10.000 ng/l'ye çıkartılması

bağlanma yüzdesinde azalmayla sonuçlanmıştır. Bu durum, mikroorganizmanın bağlanma bölgesinin sınırlı olması ve yüksek toksin konsantrasyonlarında bu bağlanma bölgesinin doygunluğa ulaşması ile açıklanmıştır. Bağlanma fiziksel adsorbsiyon ile ilişkilendirilmiştir. İnkübasyon sürecinde bağlanma büyük oranda ilk 30 dakika içerisinde tamamlanmış, sonraki süreçlerde önemli bir farka rastlanmamıştır (Yüksel ve Albayrak Bulut, 2020).

LAB'nin gıda matrisi üzerine müdahale etmeden bağlanma kabiliyetini değerlendirmek için AFM1 bağlanma deneyleri PBS gibi tampon çözeltilerinde gerçekleştirilmektedir. Yapılan bir çalışmada, yoğurt üretiminde kullanılan *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* ve kombine kültürlerin AFM1 bağlama yetenekleri süt ve PBS'de karşılaştırılmıştır. Süt ve PBS karşılaştırıldığında bağlanma sütte çok daha fazla olmuştur. Bu durum AFM1'in süt kazeinine bağlanma özelliği gösterdiğini düşündürmüştür (El Khoury ve ark., 2011). AFM1'in kazeine bağlanıp bağlanmadığını belirlemek için kontamine edilmiş süt, proteolitik bir enzimle işleminden geçirilmiştir. İşlem görmüş sütte proteinlerin ortalama %30,7 daha fazla AFM1'e bağlandığı ve kazeinin gram başına 17.9-55.3 µg aralığında AFM1 bağladığı tespit edilmiştir (Brackett ve Marth, 1982).

Yapılan bir çalışmada *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *B. bifidum* bakterileri ve *Kluyveromyces lactis*, *S. cerevisiae* mayalarının AFM1 bağlama etkisi PBS ve sütte, tekli ve kombine kültürlerde, 0-12-24-48-72 saat inkübasyon ve 1×10^9 kob/ml, 3×10^9 kob/ml, 5×10^9 kob/ml konsantrasyonlarında değerlendirilmiştir. Sonuç olarak depolama süresi ve konsantrasyon arttıkça hem bakteri hem mayalarda daha çok bağlanma gerçekleşmiştir. Mayalar bakterilere kıyasla daha yüksek AFM1 bağlanma kapasitesi göstermiştir. Bakteri kombinasyonları ve maya kombinasyonları tekli suşlara kıyasla daha yüksek bağlanma göstermiştir. Ayrıca bakteri ve mayaların birlikte kombinasyonu PBS de %87,9, sütte ise %90,8 ile en yüksek oranda bağlanma göstermiştir. Bu çalışmada bakterilerin, mayaların ve ikisinin kombinasyonunun başlangıçta ve müdahale sonrasında hücre duvarları elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Probiyotik bakteri ve mayaların AFM1'i bağladığının kanıtı olarak müdahaleden sonra hücre duvarlarında lekeler görülmüştür (Abdelmotilib ve ark., 2018).

Yapılan bir çalışmada ısı ile öldürülmüş *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus* ve *B. lactis* bakterilerinin ve *S. cerevisiae* mayasının tekli ve kombinasyon halde sütte AFM bağlama yüzdeleri araştırılmıştır. Sütteki AFM1'e bağlanma oranları 30-60 dakika sonra laktik asit bakterileri için %11,5-11,7 iken *S. cerevisiae* için %90,3-92,7 olarak tespit edilmiştir. *S. cerevisiae* ve laktik bakterilerinin kombinasyonunda ise 60 dakika sonra %100 bağlanma gözlemlenmiştir (Corassin ve ark., 2013).

Probiyotikler, AFM1'e maruziyet durumunda bağırsaklardan serbest AFM1 emiliminde azalma meydana getirerek biyoyararlanımı azaltabilmektedirler. Yapılan bir çalışmada in vitro sindirim modeli kullanarak kontamine sütte *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. johnsonii* ve *B. bifidum*'un AFM1'i azaltma yeteneği araştırılmıştır. Probiyotik bakteri türlerine bağlı olarak AFM1 düzeyinde %23-45 oranında düşüş gözlenmiştir. Bakteri türleri arasında en yüksek düşüşü *B. bifidum* sağlamıştır (Serrano ve ark., 2013). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışma, *L. plantarum*'un AFM1 ile indüklenmiş immünotoksisite ve genotoksisiteye karşı potansiyelini değerlendirmiş, sonuç olarak *L. plantarum*'un AFM1'in olumsuz etkilerini güçlü bir şekilde azalttığını ortaya koymuştur (Ben Salah ve ark. 2015).

Kenya'da temel besin maddesi olarak tüketilen mısır yüksek AFB1 konsantrasyonu ile sağlığı tehdit etmektedir. Kenya'da randomize çapraz kontrollü bir çalışmada diyetlerinin düzenli parçası mısır olan 40 ilkokul çocuğundan 7 gün boyunca günlük 200 ml süt veya probiyotik yoğurt tüketmeleri istenmiştir. Çalışmanın sonucunda katılımcıların idrar örneklerinde tespit edilen aflatoksin metabolit konsantrasyonu, probiyotik grupta süt grubuna kıyasla başlangıç değerlerinden anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Probiyotiklerin bağırsakta AFB1'i bağlayarak AFB1 emilimini azaltabileceği, böylelikle AFB1'in AFM1'e metabolizmasının sınırlanacağı ve idrarda tespit edilen AFM1'in azaltılacağı öngörülmüştür (Nduti ve ark., 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Test Bakterileri

Çalışmada *L. acidophilus* DSM 20079, *L. rhamnosus* GG, *B. bifidum* DSM 20456 suşları kullanılmıştır.

3.1.2. AFM1 Standardı

A. flavus'dan elde, en az %98 saflıkta ve 50 µg olarak toz formda (Sigma-Aldrich; A6428-50UG) AFM1 standardı kullanılmıştır.

3.1.3. AFM1 Test Kiti

96 kuyucuklu, 100 ng/l okuma sınırına sahip AgraQuant® Aflatoxin M1 High Sensitivity (5/100) test kiti (Romer Labs; ROMCOKAQ7300) kullanılmıştır.

3.1.4. Süt numuneleri

İnek sütü, keçi sütü ve koyun sütü çiğ olarak yerel bir satıcıdan temin edilmiştir. Protein, yağ ve kuru madde analizi için Antalya Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğünden hizmet alımı yapılmıştır.

3.1.5. Besiyeri ve Kimyasal Maddeler

Test bakterilerinin gelişimi için MRS Broth (Merck; 69966-500G) kullanılmıştır. Hindibadan elde edilen inülin (Sigma-Aldrich; I2255-25G) kullanılmıştır. %99,9 sıvı kromatografisine uygun olacak şekilde asetonitril (Isolab; 901.037.2506) kullanılmıştır. Tablet şeklinde PBS (Sigma-Aldrich; P4417-100TAB) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bakteri Kültürlerinin Hazırlanması

-80°C de muhafaza edilen stok suşların oda sıcaklığında çözünmesi beklenmiştir. Ardından %0,05 L-sistein HCl içeren 10 ml MRS sıvı besiyerine aktarılmıştır. Anaerobik koşullarda 3 gün inkübe edilmiştir. Böylelikle bakteriler aktifleştirilmiştir.

Çalışma gruplarına eklenecek bakteri miktarını ayarlamak amacıyla bakteri kültürleri 3000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiş olup üzerinde kalan sıvı besiyeri uzaklaştırılmıştır. Ardından saf su ile yıkama yapıp tekrar 3000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Saf su uzaklaştırılıp çalışma gruplarına eklenecek her bir bakteri için 10^8 kob/ml yoğunluk olacak şekilde ön denemelerle Mc Farland ayarlanmıştır.

3.2.2. Süt Örneklerinin Hazırlanması

Çiğ olarak temin edilen inek sütü, keçi sütü ve koyun sütü yağsız forma (<0,01) dönüştürülmüş olup 90°C'de 5 dakika ısıl işleminden geçirilmiştir. pH değeri dijital pH metre (Mettler; S210U) kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.3. Aflatoksin M1 çözeltisinin hazırlanması ve kontaminasyonun sağlanması

AFM1'in kullanıldığı işlemler çeker ocak altında, çift katlı nitril eldiven ve kimyasal maske (ISOLAB; 080.44.001) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 50 µg olarak toz halde temin edilen AFM1 standardı asetonitril ile çözündürülüp seyreltme işlemi yapılmıştır. Ardından nitrojen evaporatör yardımıyla N₂ gazı altında asetonitril uzaklaştırılmıştır. Oluşturulan 10 ml'lik çalışma gruplarında son AFM1 konsantrasyonu 100 ng/l olacak şekilde süt ve PBS kontamine edilmiştir (Sevim ve ark., 2019). AFM1 ilavesinden sonra, toksin dağılımını sağlamak için 1 dakika vortekslenmiştir. AFM1 içeren inek sütü, keçi sütü, koyun sütü ve PBS ortamına bakteriler ve %2 inülin ilavesi aşağıdaki tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Probiyotik bakterilerin inek sütü, keçi sütü, koyun sütü ve PBS'deki çalışma grupları

Çalışma grubu	Kullanılan bakteriler ve inülin
1.	<i>L. acidophilus</i>
2.	<i>L. rhamnosus</i>
3.	<i>B. bifidum</i>
4.	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>
5.	<i>L. rhamnosus</i> + <i>B. bifidum</i>
6.	<i>L. acidophilus</i> + inülin
7.	<i>L. rhamnosus</i> + inülin
8.	<i>B. bifidum</i> + inülin
9.	<i>L. acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> + inülin
10.	<i>L. rhamnosus</i> + <i>B. bifidum</i> + inülin

3.2.4. Bakterilerin AFM1 Bağlama Yeteneklerinin Belirlenmesi

Örnekler 4 saat 37°C’de inkübe edildikten sonra +4°C’de 1 gün depolanmıştır.

+4°C’de 1 gün depolanan süt ve PBS örneklerinin AFM1 analizi AgraQuant®

Aflatoxin M1 test kitinde belirtilen çalışma protokolü izlenerek yapılmıştır. Çalışma 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Kit içeriği:

- 1) 96 kuyucuklu plate
- 2) 1,5 ml’lik 6 adet AFM1 standardı
- 3) 15 ml’lik AFM1 konjugat solüsyonu
- 4) 15 ml’lik substrat solüsyonu
- 5) 15 ml’lik stop solüsyonu
- 6) 25 ml’lik yıkama solüsyonu

Bu protokole göre numuneler analizden önce 3000 g’de 10 dakika santrifüjlenmiştir. İlk 6 kuyucuğa 100 ng/l, 50 ng/l, 25 ng/l, 10 ng/l, 5 ng/l ve 0 ng/l standartları 100 µl olarak eklenmiştir. Ardından örnekler sırasıyla 100 µl olarak eklenmiş ve 45 dakika oda sıcaklığında inkübasyonu sağlanmıştır. Süre sonunda yıkama solüsyonuyla 5 kez yıkama işlemi yapılmıştır. Ardından her kuyucuğa 100 µl konjugat solüsyonu eklenip 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Tekrar 5 kez yıkama işlemi uygulanmıştır. Yıkama işleminden sonra her kuyucuğa 100 µl substrat solüsyonu eklenmiş ve 15 dakika oda sıcaklığında inkübasyonu sağlanmıştır. Süre sonunda 100 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon sonlandırılmıştır. Numuneler, ELISA okuyucuda (Allsheng; AMR-100 Microplate Reader) 450 nm absorbans değerinde okunmuştur. Standart ve numunelerden elde edilen absorbans değerlerine karşılık gelen AFM1 miktarı hesaplanmıştır.

3.2.5. İstatistiksel değerlendirme

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesinde grup içi karşılaştırmalarda Dunnett’s Multiple Comparison post-test, gruplar arası karşılaştırmalarda Tukey-Kramer Multiple Comparison test ve ANOVA testleri kullanılmıştır. Elde edilen verilerin grafiklendirilmesi için Sigma Plot 10.0 (SPSS Inc., USA) programı kullanılmıştır. Anlamlılık değeri $p < 0,05$ alınmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Çalışmada Kullanılan Farklı Süt Türlerinin Bileşimi

Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan inek sütü, keçi sütü ve koyun sütünün bileşimi

	İnek sütü	Keçi sütü	Koyun sütü
Protein (%)	2,59	3,04	5,68
Yağ	<0,01	<0,01	<0,01
Kuru madde (%)	9,17	9,79	12,56
pH	6,69	6,61	6,77

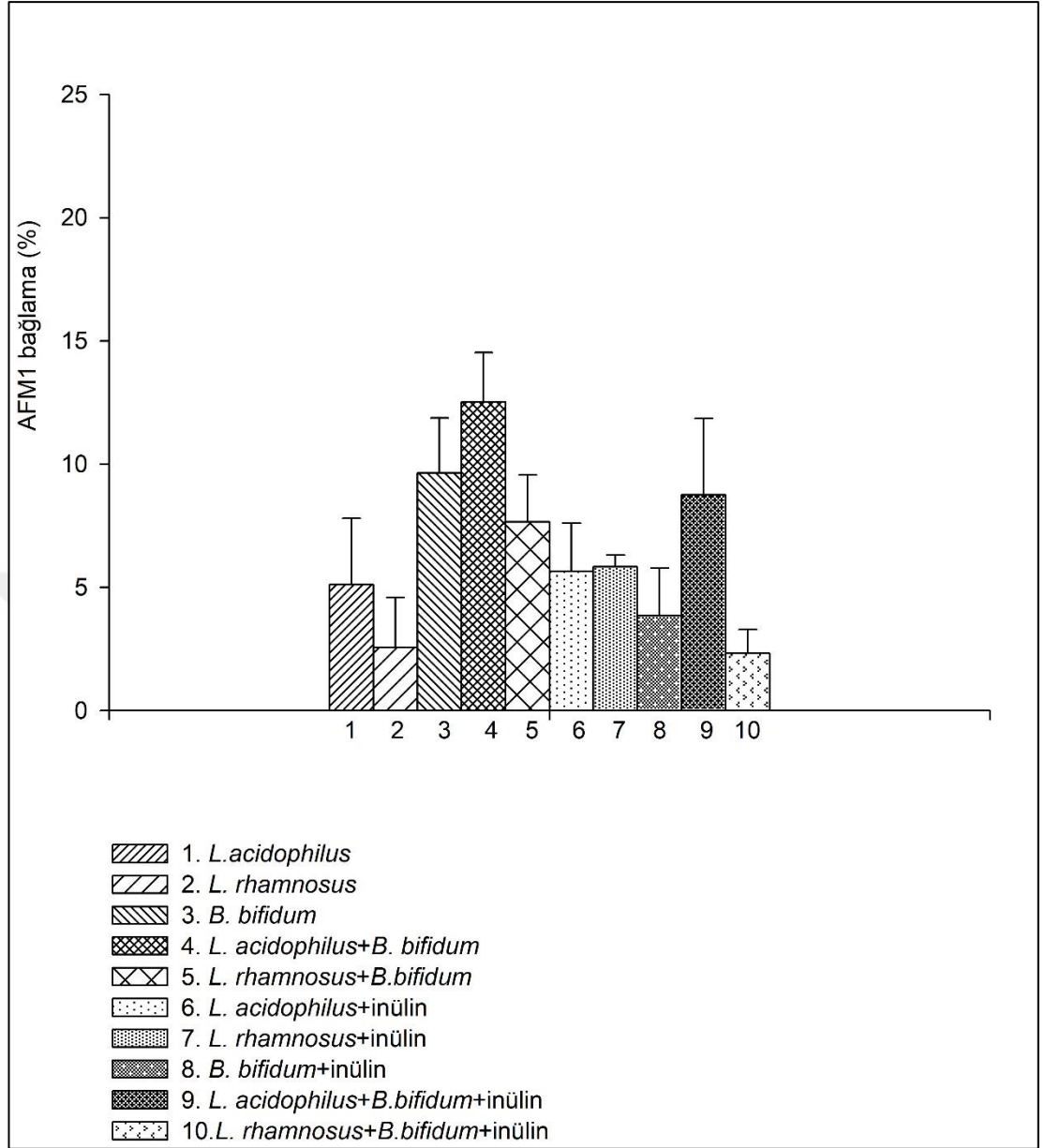
Çalışmada kullanılan inek sütü, keçi sütü ve koyun sütünün protein, yağ, kuru madde ve pH analizi yapılmıştır. 3 farklı süt türü arasında %5,68 ile en yüksek protein içeriği koyun sütünde tespit edilmiş olup en düşük protein içeriği ise %2,59 ile inek sütünde tespit edilmiştir (Tablo 4.1.).

Çalışmada kullanılan 3 farklı süt türünün de yağ oranı <0,01'den az olup yağsız süt kategorisine girmektedir. Süt türleri arasında kuru madde içeriği en yüksek süt %12,56 ile koyun sütü olup kuru madde içeriği en düşük süt ise %9,17 ile inek sütüdür. 3 farklı süt türünün pH değeri birbirine yakın olup inek sütünün 6,69 olarak, keçi sütünün 6,61 olarak, koyun sütünün ise 6,77 olarak bulunmuştur (Tablo 4.1.).

4.2. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde İncelenmesi

4.2.1. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin PBS'de incelenmesi

PBS'de 1'den 10'a kadar numaralandırılmış çalışma gruplarının AFM1 bağlama yüzdeleri Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin PBS’de incelenmesi

Probiyotik bakterilerin inülin içermeyen PBS’de AFM1 bağlama yeteneği *L. acidophilus* için $5,11 \pm 2,69$, *L. rhamnosus* için $2,56 \pm 2,02$, *B. bifidum* için $9,64 \pm 2,23$, *L. acidophilus*+*B. bifidum* için $12,52 \pm 1,19$, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* için $7,65 \pm 1,90$ olarak bulunmuştur.

Probiyotik bakterilerin inülin içeren PBS’de AFM1 bağlama yeteneği *L. acidophilus* için $5,64 \pm 1,96$, *L. rhamnosus* için $5,84 \pm 0,47$, *B. bifidum* için $3,84 \pm 1,93$, *L. acidophilus*+*B. bifidum* için $8,75 \pm 3,10$, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* için $2,32 \pm 0,96$ olarak bulunmuştur.

PBS’de en düşük AFM1 bağlama yeteneği $2,32 \pm 0,96$ oranıyla *L. rhamnosus*+*B. bifidum*+inülin içeren grupta tespit edilmiştir ($p>0,05$). En yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $12,52 \pm 1,19$ oranıyla *L. acidophilus*+*B. bifidum* içeren grupta tespit edilmiştir ($p<0,01$).

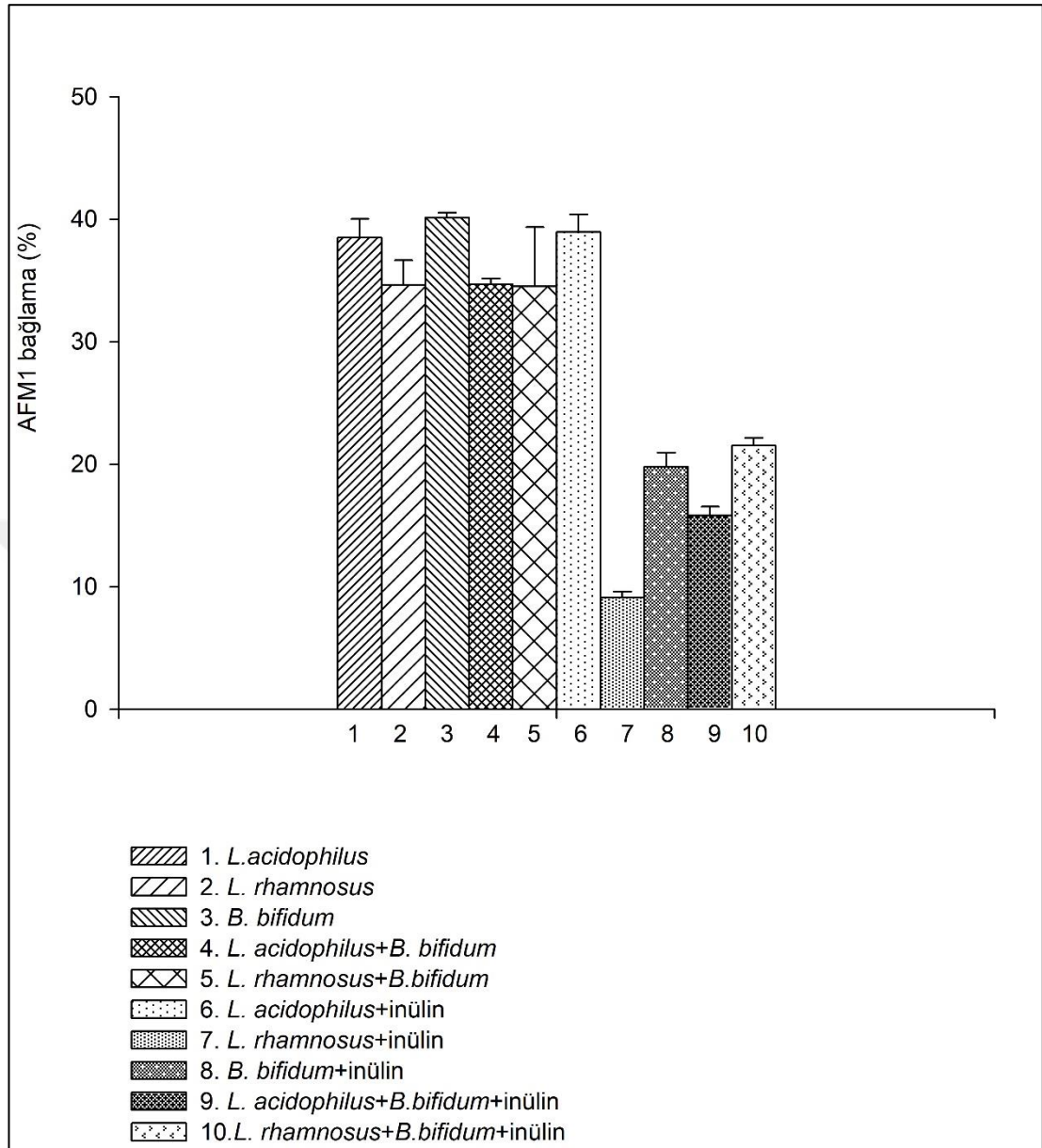
PBS’de *L. acidophilus*+*B. bifidum* içeren grupta $12,52 \pm 1,19$ oranında AFM1 bağlama yeteneği ($p<0,01$), *B. bifidum* içeren grupta $9,64 \pm 2,23$ oranında AFM1 bağlama yeteneği ($p<0,05$) ve *L. acidophilus*+*B. bifidum*+inülin içeren grupta $8,75 \pm 3,10$ oranında AFM1 bağlama yeteneği ($p<0,05$) başlangıca göre anlamlı bulunmuştur. Diğer çalışma gruplarının AFM1 bağlama yetenekleri ise başlangıca göre anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

İnülin eklenmemiş gruplar arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $2,56 \pm 2,02$ oranıyla *L. rhamnosus* içeren grupta, en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $12,52 \pm 1,19$ oranıyla *L. acidophilus*+*B. bifidum* içeren grupta tespit edilmiştir. İnülin eklenmemiş çalışma grupları arasında AFM1 bağlama yeteneği bakımından *L. acidophilus* ile *L. acidophilus*+*B. bifidum* arasında ($p<0,01$), *L. rhamnosus* ile *L. acidophilus*+*B. bifidum* arasında ($p<0,01$) ve *L. rhamnosus* ile *B. bifidum* arasında ($p<0,05$) anlamlı bir fark bulunmuştur. Diğer çalışma grupları arasında AFM1 bağlama yeteneği bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

İnülin eklenmiş gruplar arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $2,32 \pm 0,96$ oranıyla *L. rhamnosus*+*B. bifidum* içeren grupta, en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $8,75 \pm 3,10$ oranıyla *L. acidophilus*+*B. bifidum* içeren grupta tespit edilmiştir. İnülin eklenmiş çalışma grupları arasında AFM1 bağlama yeteneği bakımından *B. bifidum* ile *L. acidophilus*+*B. bifidum* arasında ($p<0,05$) ve *L. acidophilus*+*B. bifidum* ile *L. rhamnosus*+*B. bifidum* arasında ($p<0,05$) anlamlı bir fark bulunurken diğer çalışma grupları arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

4.2.2. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin İnek Sütünde İncelenmesi

İnek sütünde 1’den 10’a kadar numaralandırılmış çalışma gruplarının AFM1 bağlama yüzdeleri Şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.2. Probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin inek sütünde incelenmesi

Probiyotik bakterilerin inülin içermeyen inek sütünde AFM1 bağlama yeteneği *L. acidophilus* için $38,50 \pm 1,50$, *L. rhamnosus* için $34,63 \pm 2,01$, *B. bifidum* için $40,14 \pm 0,38$, *L. acidophilus*+*B. bifidum* için $34,68 \pm 0,47$, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* için $34,50 \pm 4,83$ olarak bulunmuştur.

Probiyotik bakterilerin inülin içeren inek sütünde AFM1 bağlama yeteneği *L. acidophilus* için $38,94 \pm 1,45$, *L. rhamnosus* için $9,08 \pm 0,50$, *B. bifidum* için $19,78 \pm 1,16$, *L. acidophilus*+*B. bifidum* için $15,79 \pm 0,72$, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* için $21,50 \pm 0,66$ olarak bulunmuştur.

İnek sütünde en düşük AFM1 bağlama yeteneği $9,08 \pm 0,50$ oranıyla *L. rhamnosus*+inülin içeren grupta tespit edilmiştir ($p < 0,05$). En yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $40,14 \pm 0,38$ AFM1 düzeyiyle *B. bifidum* içeren grupta tespit edilmiştir ($p < 0,01$). İnek sütünde *L. rhamnosus*+inülin içeren grupta ($p < 0,05$) ve diğer gruplarda AFM1 bağlama yeteneği başlangıca göre anlamlı ($p < 0,01$) bulunmuştur.

İnülin eklenmemiş gruplar arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $34,50 \pm 4,83$ oranıyla *L. rhamnosus*+*B. bifidum* içeren grupta, en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $40,14 \pm 0,38$ oranıyla *B. bifidum* içeren grupta tespit edilmiştir. İnülin eklenmemiş çalışma grupları arasında AFM1 bağlama yeteneği bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

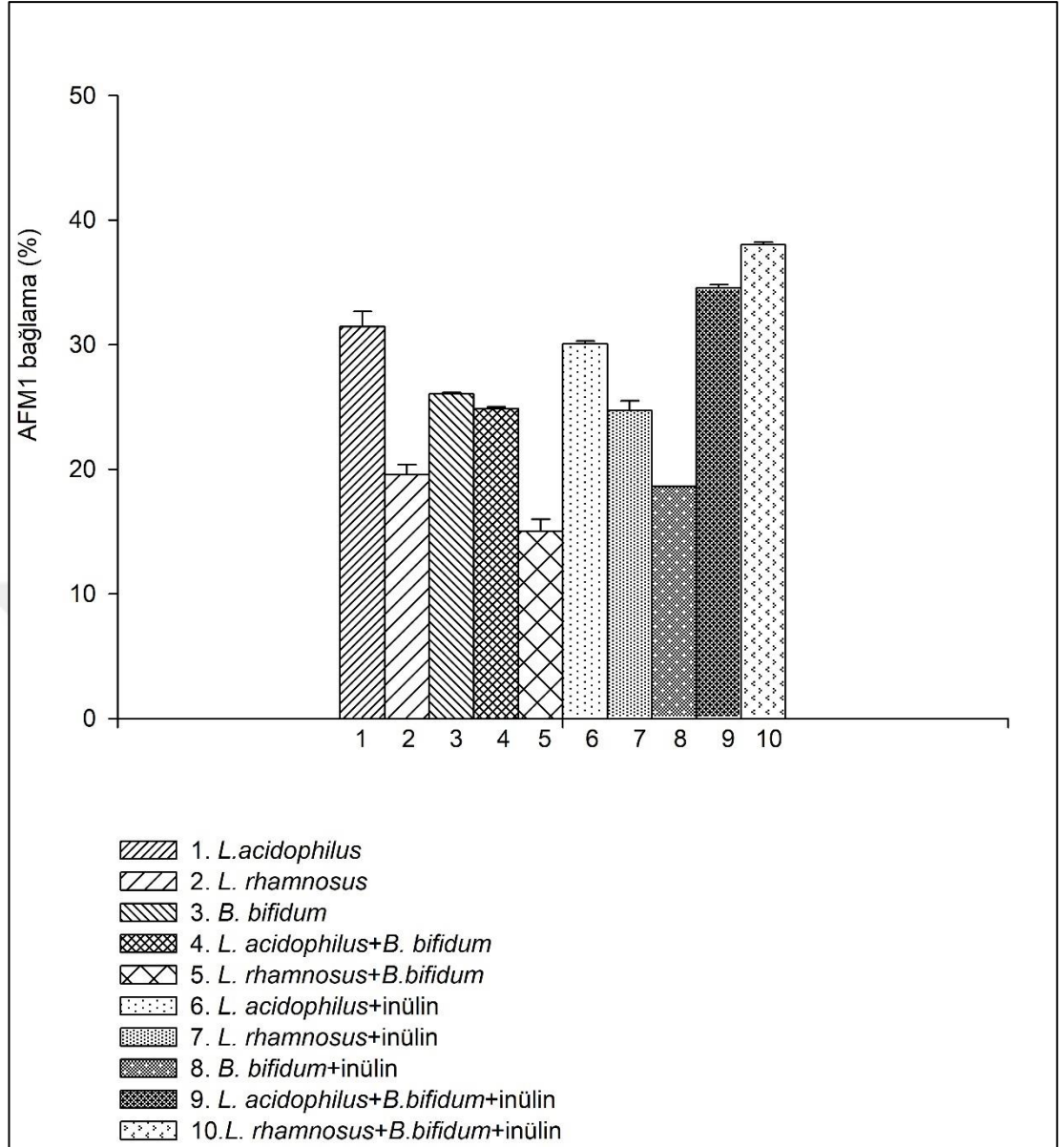
İnülin eklenmiş gruplar arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $9,08 \pm 0,50$ oranıyla *L. rhamnosus* içeren grupta, en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $38,94 \pm 1,45$ oranıyla *L. acidophilus* içeren grupta tespit edilmiştir. İnülin eklenmiş çalışma grupları arasında *B. bifidum* ile *L. acidophilus*+*B. bifidum* arasında ve *B. bifidum* ile *L. rhamnosus*+*B. bifidum* arasında anlamlı bir fark bulunmazken ($p > 0,05$) *L. acidophilus*+*B. bifidum* ile *L. rhamnosus*+*B. bifidum* arasında ($p < 0,05$), *L. rhamnosus* ile *L. acidophilus*+*B. bifidum* arasında ($p < 0,01$) ve diğer grupların arasında ($p < 0,001$) anlamlı bir fark bulunmuştur.

4.2.3. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin Keçi Sütünde İncelenmesi

Keçi sütünde 1'den 10'a kadar numaralandırılmış çalışma gruplarının AFM1 bağlama yüzdeleri Şekil 4.3'de verilmiştir.

Probiyotik bakterilerin inülin içermeyen keçi sütünde AFM1 bağlama yeteneği *L. acidophilus* için $31,45 \pm 1,20$, *L. rhamnosus* için $19,56 \pm 0,82$, *B. bifidum* için $26,03 \pm 0,10$, *L. acidophilus*+*B. bifidum* için $24,87 \pm 0,14$, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* için $15,01 \pm 0,97$ olarak bulunmuştur.

Probiyotik bakterilerin inülin içeren keçi sütünde AFM1 bağlama yeteneği *L. acidophilus* için $30,07 \pm 0,22$, *L. rhamnosus* için $24,70 \pm 0,78$, *B. bifidum* için $18,59 \pm 0,05$, *L. acidophilus*+*B. bifidum* için $34,57 \pm 0,23$, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* için $38,01 \pm 0,21$ olarak bulunmuştur.



Şekil 4.3. Probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin keçi sütünde incelenmesi

Keçi sütünde en düşük AFM1 bağlama yeteneği $15,01 \pm 0,97$ oranıyla *L. rhamnosus*+*B. bifidum* içeren grupta tespit edilmiştir ($p < 0,01$). En yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $38,01 \pm 0,21$ AFM1 düzeyiyle *L. rhamnosus*+*B. bifidum*+inülin içeren grupta tespit edilmiştir ($p < 0,01$). Keçi sütünde tüm çalışma gruplarının AFM1 bağlama yeteneği başlangıca göre anlamlı bulunmuştur ($p < 0,01$).

İnülin eklenmemiş gruplar arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $15,01 \pm 0,97$ oranıyla *L. rhamnosus*+*B. bifidum* içeren grupta, en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $31,45 \pm 1,20$ oranıyla *L. acidophilus* içeren grupta tespit edilmiştir. İnülin eklenmemiş çalışma grupları arasında AFM1 bağlama yeteneği bakımından *B. bifidum*

ile *L. acidophilus*+*B. bifidum* arasında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$). *L. rhamnosus* ile *L. rhamnosus*+*B. bifidum* arasında ($p<0,05$), *L. acidophilus* ile *B. bifidum* arasında ($p<0,01$), *L. acidophilus* ile *L. acidophilus*+*B. bifidum* arasında ($p<0,01$), *L. rhamnosus* ile *B. bifidum* arasında ($p<0,01$), *L. rhamnosus* ile *L. acidophilus*+*B. bifidum* arasında ($p<0,01$) anlamlı fark bulunmuştur. Diğer grupların arasında ise $p<0,001$ düzeyinde anlamlı bir fark bulunmuştur.

İnülin eklenmiş gruplar arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $\%18,59\pm0,05$ oranıyla *B. bifidum* içeren grupta, en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $\%38,01\pm0,21$ AFM1 düzeyiyle *L. rhamnosus*+*B. bifidum* içeren grupta tespit edilmiştir. İnülin eklenmiş çalışma grupları arasında AFM1 bağlama yeteneği bakımından *L. acidophilus*+*B. bifidum* ile *L. rhamnosus*+*B. bifidum* arasında ($p<0,01$) ve diğer tüm çalışma grupları arasında ($p<0,001$) anlamlı bir fark bulunmuştur.

4.2.4. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin Koyun Sütünde İncelenmesi

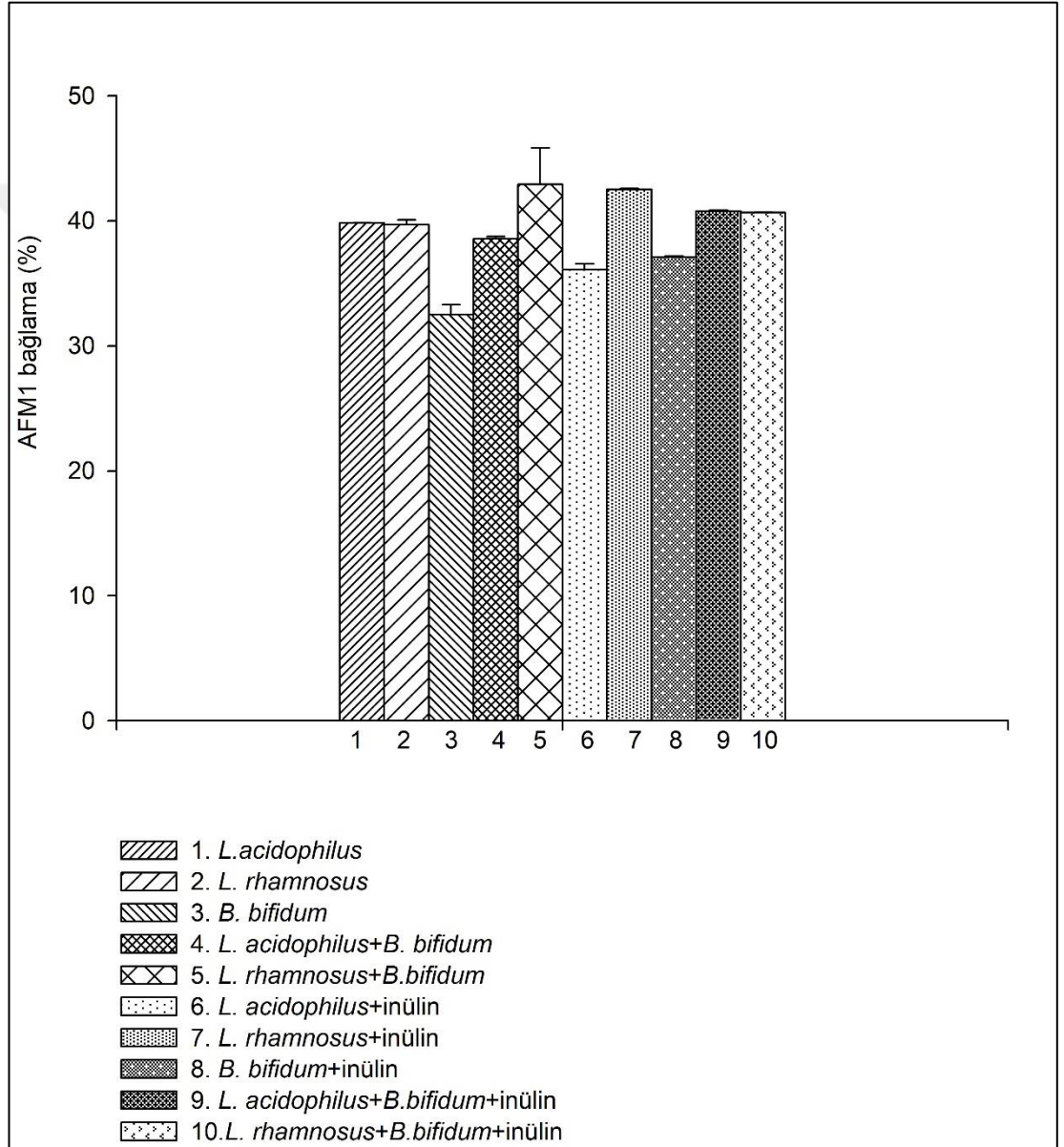
Koyun sütünde 1'den 10'a kadar numaralandırılmış çalışma gruplarının AFM1 bağlama yüzdeleri Şekil 4.4'de verilmiştir.

Probiyotik bakterilerin inülin içermeyen koyun sütünde AFM1 bağlama yeteneği *L. acidophilus* için $\%39,81\pm0,03$, *L. rhamnosus* için $\%39,71\pm0,34$, *B. bifidum* için $\%32,49\pm0,78$, *L. acidophilus*+*B. bifidum* için $\%38,55\pm0,18$, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* için $\%42,90\pm2,92$ olarak bulunmuştur.

Probiyotik bakterilerin inülin içeren koyun sütünde AFM1 bağlama yeteneği *L. acidophilus* için $\%36,07\pm0,47$, *L. rhamnosus* için $\%42,51\pm0,08$, *B. bifidum* için $\%37,09\pm0,09$, *L. acidophilus*+*B. bifidum* için $\%40,77\pm0,05$, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* için $\%40,64\pm0,03$ olarak bulunmuştur.

Koyun sütünde en düşük AFM1 bağlama yeteneği $\%32,49\pm0,78$ oranıyla *B. bifidum* içeren grupta tespit edilmiştir ($p<0,01$). En yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $\%42,90\pm2,92$ oranıyla *L. rhamnosus*+*B. bifidum* içeren grupta tespit edilmiştir ($p<0,01$). Koyun sütünde tüm çalışma gruplarının AFM1 bağlama yeteneği başlangıca göre anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$).

İnülin eklenmemiş gruplar arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $32,49 \pm 0,78$ oranıyla *B. bifidum* içeren grupta, en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $42,90 \pm 2,92$ oranıyla *L. rhamnosus*+*B. bifidum* içeren grupta tespit edilmiştir. İnülin eklenmemiş çalışma grupları arasında AFM1 bağlama yeteneği bakımından *B. bifidum* ile *L. acidophilus* arasında ($p < 0,05$), *B. bifidum* ile *L. rhamnosus* arasında ($p < 0,05$), *B. bifidum* ile *L. rhamnosus*+*B. bifidum* arasında ($p < 0,01$) anlamlı bir fark bulunmuştur. Diğer gruplar arasında ise fark anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 4.4. Probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin koyun sütünde incelenmesi

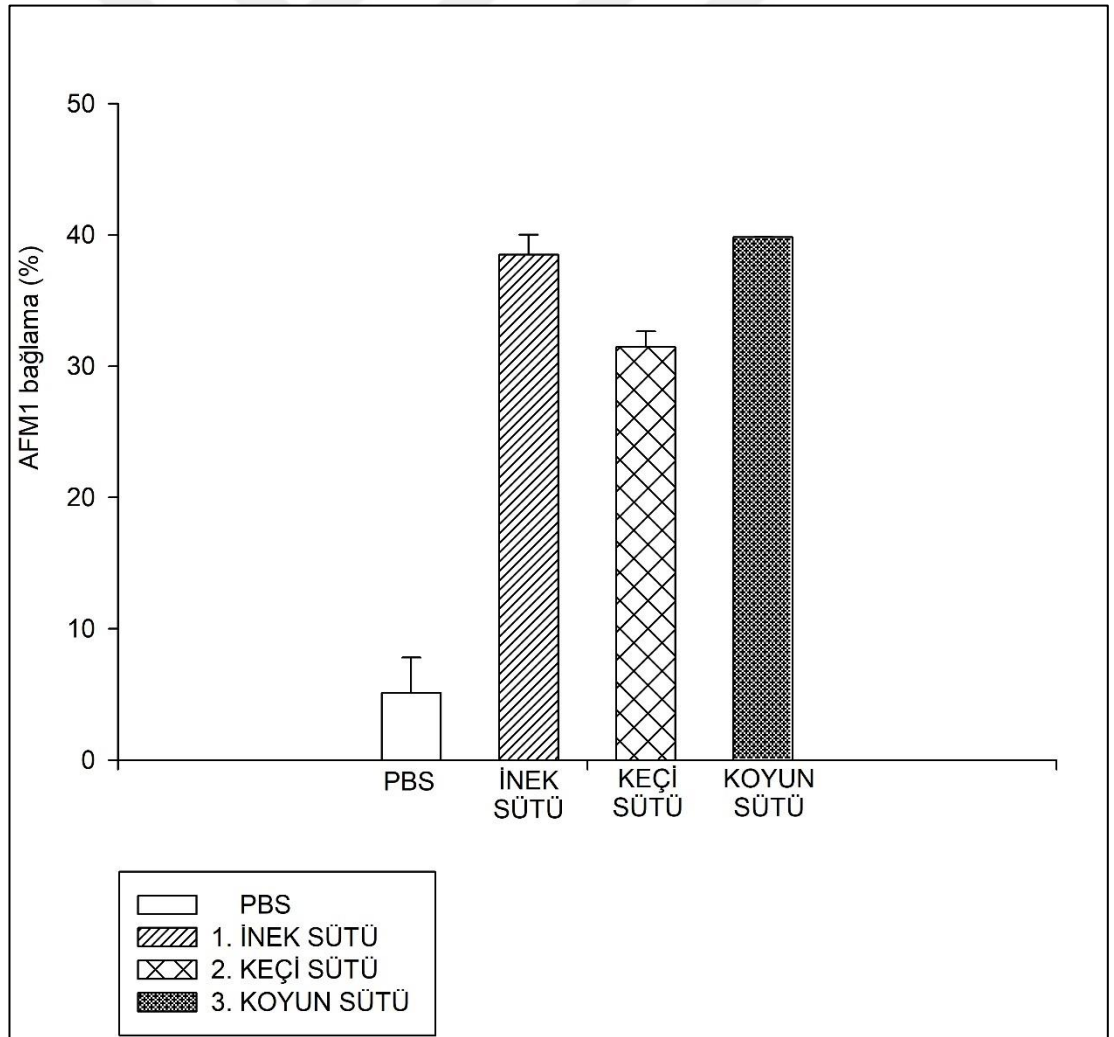
İnülin eklenmiş gruplar arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $36,07 \pm 0,47$ oranıyla *L. acidophilus* içeren grupta, en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise

%42,51±0,08 oranıyla *L. rhamnosus* içeren grupta tespit edilmiştir. İnülin eklenmiş çalışma grupları arasında *L. acidophilus* ile *L. rhamnosus* arasında, *L. acidophilus* ile *L. acidophilus*+*B. bifidum* arasında, *L. acidophilus* ile *L. rhamnosus*+*B. bifidum* arasında ve *L. rhamnosus* ile *B. bifidum* arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

4.3. Probiyotik Bakterilerin Tekli ve İnülinli Kombinasyonlarının AFM1 Bağlama Yeteneğine Etkisinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

4.3.1. *L. acidophilus*'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

L. acidophilus'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. *L. acidophilus*'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması

L. acidophilus'un PBS'de $5,11 \pm 2,69$, inek sütünde $38,50 \pm 1,50$, keçi sütünde $31,45 \pm 1,20$ ve koyun sütünde $39,81 \pm 0,03$ oranında AFM1 bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

En düşük AFM1 bağlama yeteneği $5,11 \pm 2,69$ oranıyla PBS'de gerçekleşirken ($p > 0,05$) en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $39,81 \pm 0,03$ oranıyla koyun sütünde ($p < 0,01$) gerçekleşmiştir.

L. acidophilus içeren PBS ile inek sütü, keçi sütü ve koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,001$). Süt türleri arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $31,45 \pm 1,20$ oranıyla keçi sütünde gerçekleşirken en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $39,81 \pm 0,03$ oranıyla koyun sütünde gerçekleşmiştir. İnek sütü ile koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). İnek sütü ile keçi sütü arasında ($p < 0,05$) ve keçi sütü ile koyun sütü arasında ($p < 0,01$) fark anlamlı bulunmuştur.

4.3.2. *L. rhamnosus*'un AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

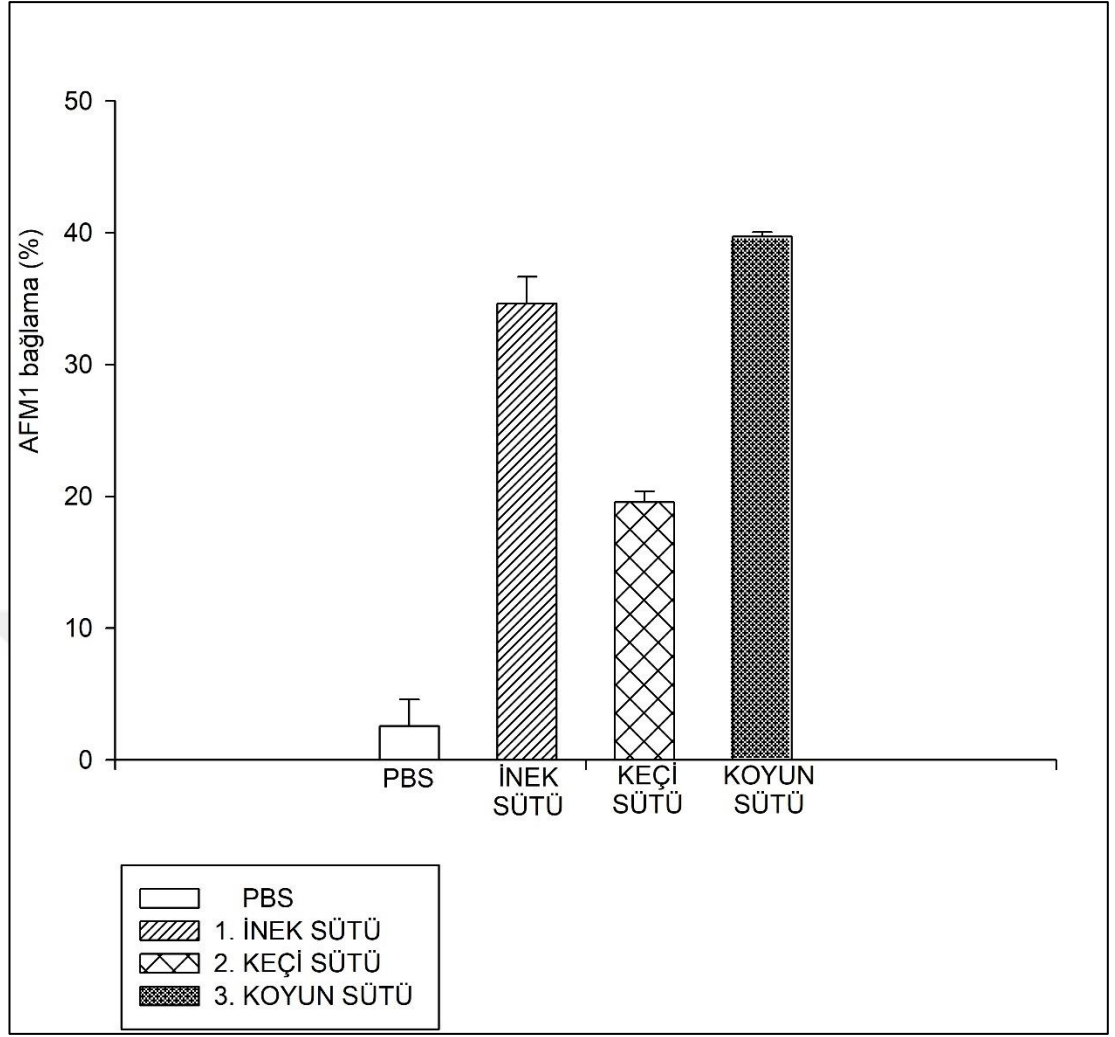
L. rhamnosus'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması Şekil 4.6'da verilmiştir.

L. rhamnosus'un PBS'de $2,56 \pm 2,02$, inek sütünde $34,63 \pm 2,01$, keçi sütünde $19,56 \pm 0,82$ ve koyun sütünde $39,71 \pm 0,34$ oranında AFM1 bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

En düşük AFM1 bağlama yeteneği $2,56 \pm 2,02$ oranıyla PBS'de gerçekleşirken ($p > 0,05$) en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $39,71 \pm 0,34$ oranıyla koyun sütünde ($p < 0,01$) gerçekleşmiştir.

L. rhamnosus içeren PBS ile inek sütü, keçi sütü ve koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,001$). Süt türleri arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $19,56 \pm 0,82$ oranıyla keçi sütünde gerçekleşirken en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $39,71 \pm 0,34$ oranıyla koyun sütünde gerçekleşmiştir.

İnek sütü ile koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$). Keçi sütü ile inek sütü arasında ve keçi sütü ile koyun sütü arasında fark anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$).



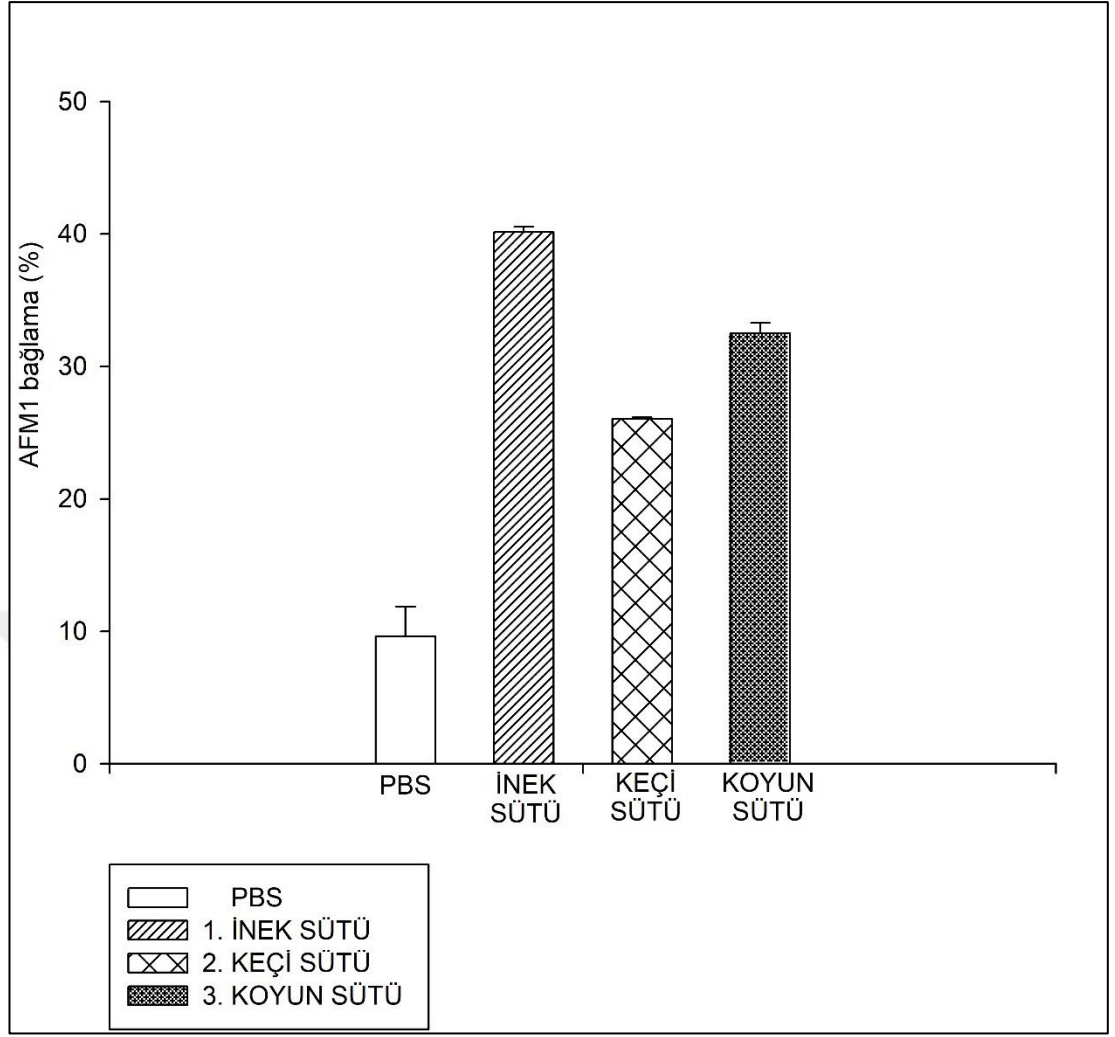
Şekil 4.6. *L. rhamnosus*'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması

4.3.3.B. *bifidum*'un AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

B. bifidum'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması Şekil 4.7'de verilmiştir.

B. bifidum'un PBS'de $9,64 \pm 2,23$, inek sütünde $40,14 \pm 0,38$, keçi sütünde $26,03 \pm 0,10$ ve koyun sütünde $32,49 \pm 0,78$ oranında bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

En düşük AFM1 bağlama yeteneği $9,64 \pm 2,23$ oranıyla PBS'de gerçekleşirken ($p < 0,05$) en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $40,14 \pm 0,38$ oranıyla inek sütünde ($p < 0,01$) gerçekleşmiştir.



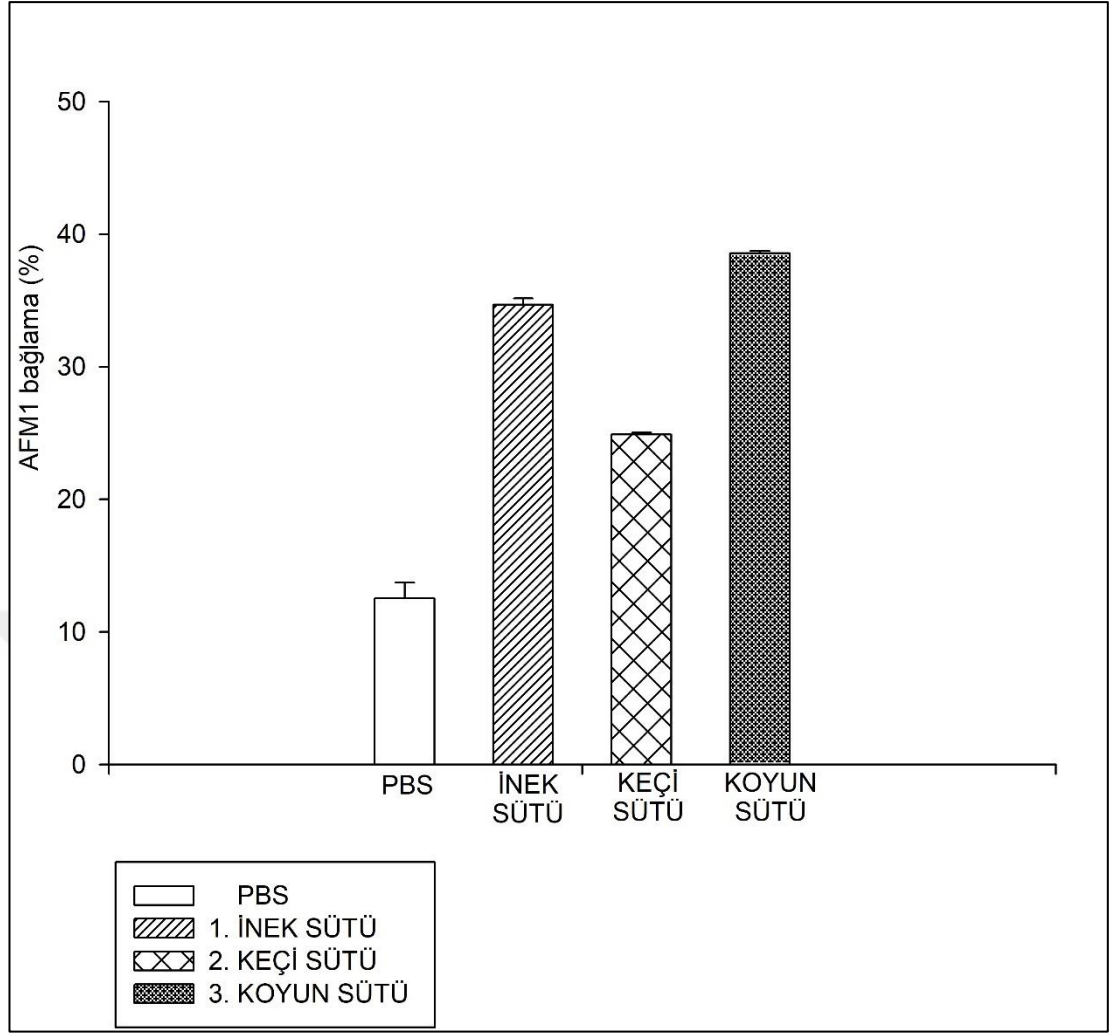
Şekil 4.7. *B. bifidum*'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması

B. bifidum içeren PBS ile inek sütü, keçi sütü ve koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,001$). Süt türleri arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $\%26,03\pm0,10$ oranıyla keçi sütünde gerçekleşirken en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $\%40,14\pm0,38$ oranıyla inek sütünde gerçekleşmiştir.

İnek sütü ile koyun sütü arasında ($p<0,01$), inek sütü ile keçi sütü arasında ($p<0,001$) ve koyun sütü ile keçi sütü arasında ($p<0,001$) fark anlamlı bulunmuştur.

4.3.4.L. *acidophilus*+*B. bifidum*'un AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

L. acidophilus+*B. bifidum*'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. *L. acidophilus* + *B. bifidum*'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması

L. acidophilus+*B. bifidum*'un PBS'de %12,52±1,19, inek sütünde %34,68±0,47, keçi sütünde %24,87±0,14 ve koyun sütünde %38,55±0,18 oranında AFM1 bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

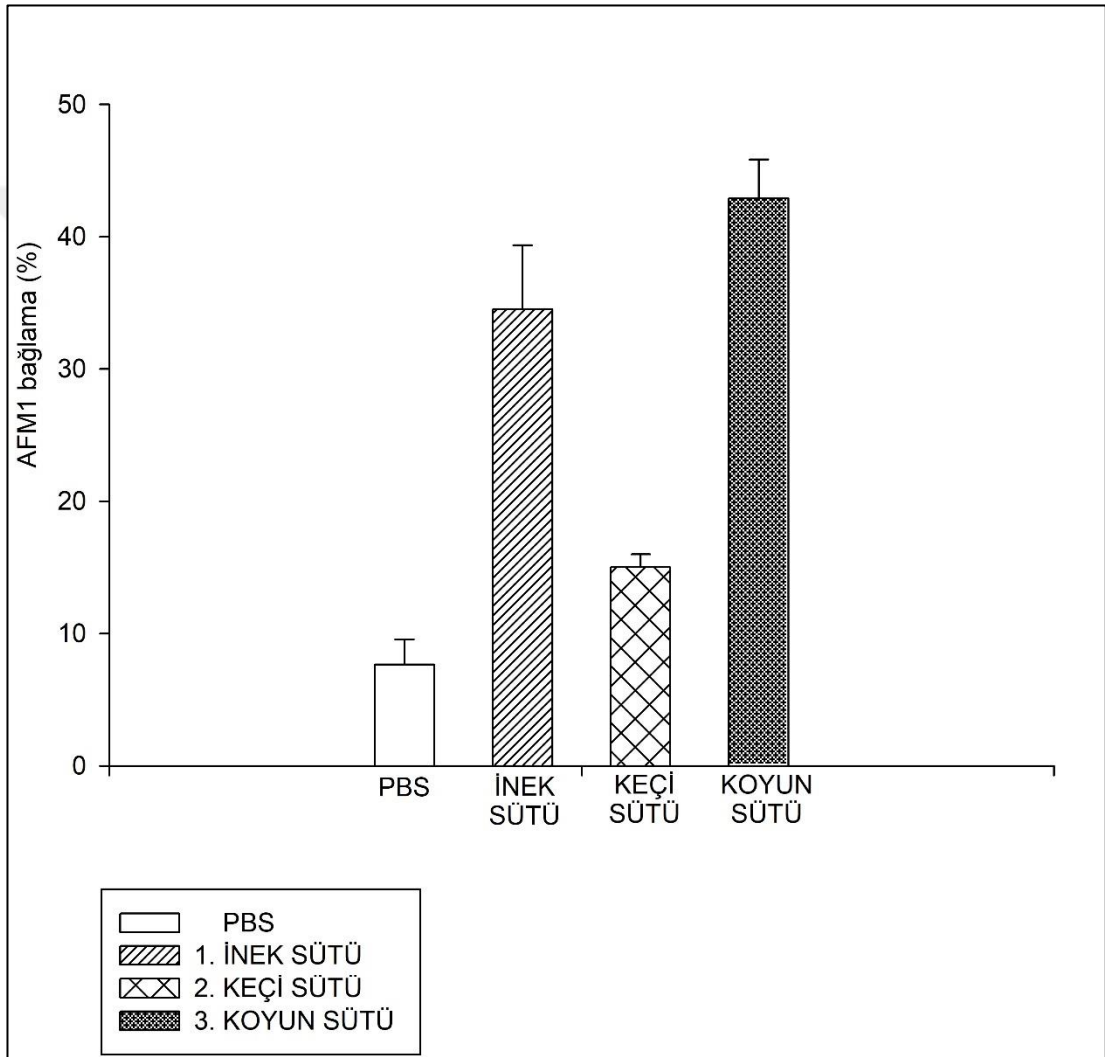
En düşük AFM1 bağlama yeteneği %12,52±1,19 oranıyla PBS'de gerçekleşirken ($p<0,01$) en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise %38,55±0,18 oranıyla koyun sütünde ($p<0,01$) gerçekleşmiştir.

PBS ile inek sütü, keçi sütü ve koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,001$). Süt türleri arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği %24,87±0,14 oranıyla keçi sütünde gerçekleşirken en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise %38,55±0,18 oranıyla koyun sütünde gerçekleşmiştir.

İnek sütü ile koyun sütü arasında ($p<0,05$), inek sütü ile keçi sütü arasında ($p<0,001$), koyun sütü ile keçi sütü arasında ($p<0,001$) fark anlamlı bulunmuştur.

4.3.5. *L. rhamnosus*+ *B. bifidum*'un AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

L. rhamnosus+ *B. bifidum*'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.9. *L. rhamnosus*+ *B. bifidum*'un AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması

L. rhamnosus+*B. bifidum*'un PBS'de %7,65±1,19, inek sütünde %34,50±4,83, keçi sütünde %15,01±0,97 ve koyun sütünde %42,90±2,92 oranında AFM1 bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

En düşük AFM1 bağlama yeteneği $7,65 \pm 1,19$ oranıyla PBS’de gerçekleşirken ($p > 0,05$) en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $42,90 \pm 2,92$ oranıyla koyun sütünde ($p < 0,01$) gerçekleşmiştir.

PBS ile inek sütü, keçi sütü ve koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,001$). Süt türleri arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $15,01 \pm 0,97$ oranıyla keçi sütünde gerçekleşirken en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $42,90 \pm 2,92$ oranıyla koyun sütünde gerçekleşmiştir.

İnek sütü ile koyun sütü arasında ($p < 0,01$), keçi sütü ile inek sütü arasında ($p < 0,001$) ve keçi sütü ile koyun sütü arasında ($p < 0,001$) fark anlamlı bulunmuştur.

4.3.6.L. *acidophilus*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

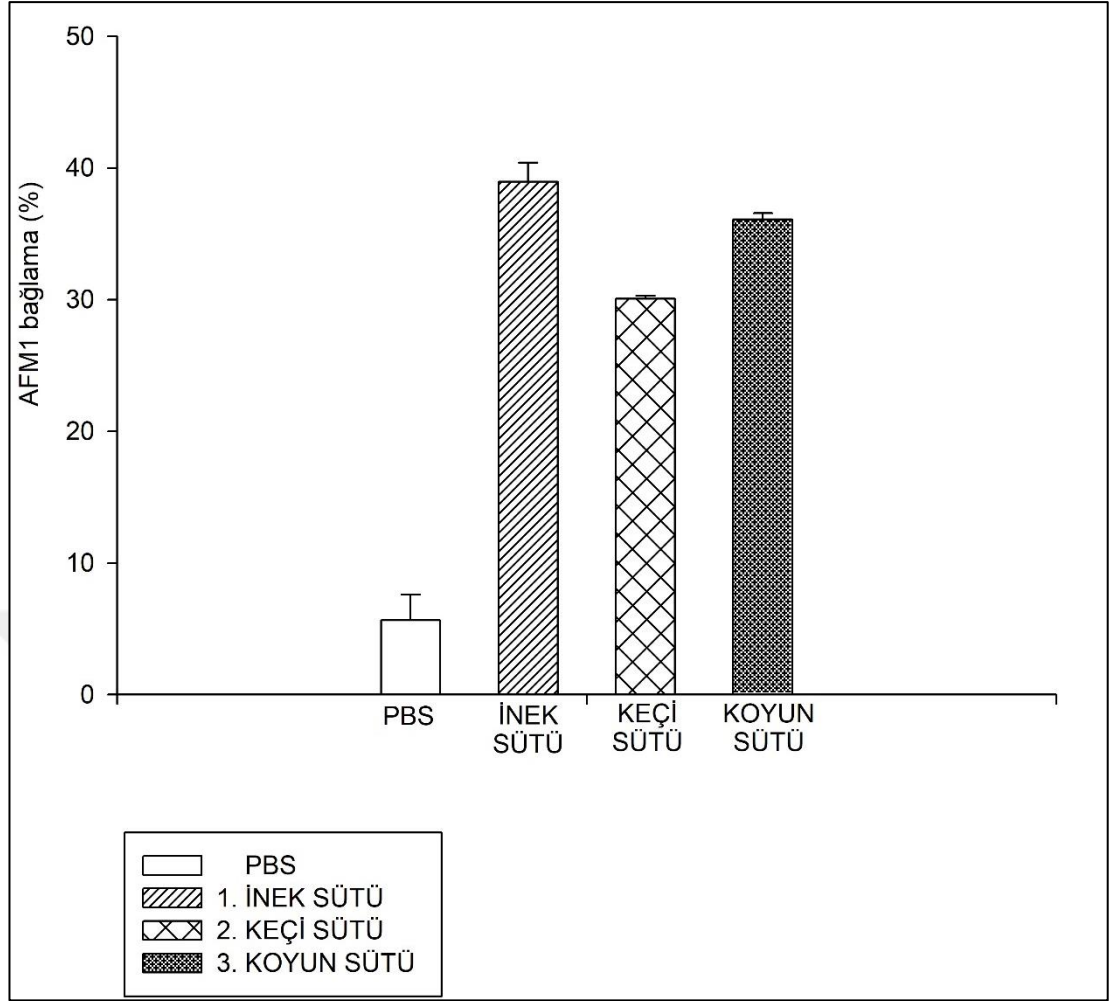
L. acidophilus+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması Şekil 4.10’da verilmiştir.

L. acidophilus+inülinin PBS’de $5,64 \pm 1,96$, inek sütünde $38,94 \pm 1,45$, keçi sütünde $30,07 \pm 0,22$ ve koyun sütünde $36,07 \pm 0,47$ oranında AFM1 bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

En düşük AFM1 bağlama yeteneği $5,64 \pm 1,96$ oranıyla PBS’de gerçekleşirken ($p > 0,05$) en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $38,94 \pm 1,45$ oranıyla inek sütünde ($p < 0,01$) gerçekleşmiştir.

L. acidophilus+inülin içeren PBS ile inek sütü, keçi sütü ve koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,001$). Süt türleri arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $30,07 \pm 0,22$ oranıyla keçi sütünde gerçekleşirken en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $38,94 \pm 1,45$ oranıyla inek sütünde gerçekleşmiştir.

İnek sütü ile koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Keçi sütü ile koyun sütü arasında ($p < 0,05$) ve keçi sütü ile inek sütü arasında ($p < 0,01$) fark anlamlı bulunmuştur.



Şekil 4.10. *L. acidophilus*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması

4.3.7. *L. rhamnosus*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

L. rhamnosus+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması Şekil 4.11’de verilmiştir.

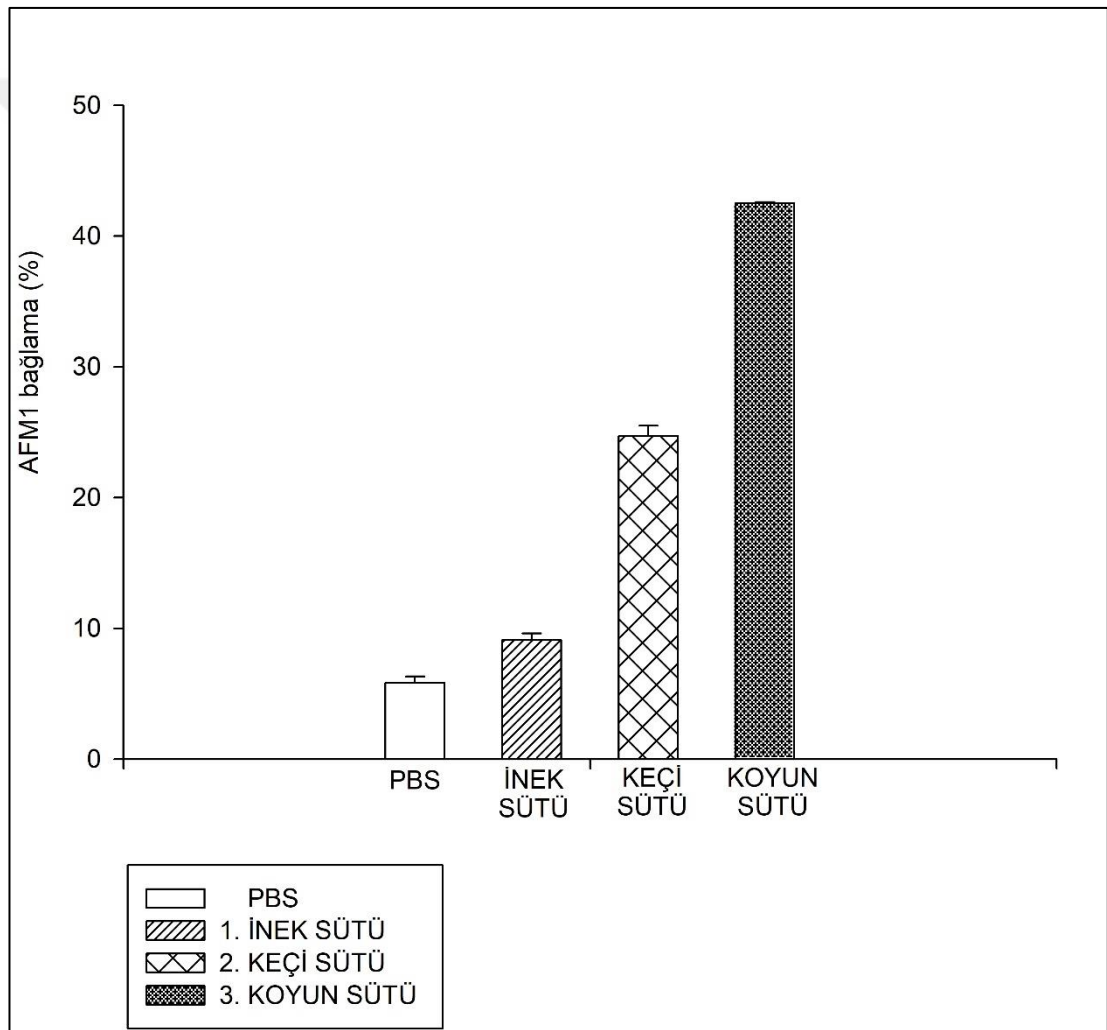
L. rhamnosus+inülinin PBS’de $5,84 \pm 0,47$, inek sütünde $9,08 \pm 0,50$, keçi sütünde $24,70 \pm 0,78$ ve koyun sütünde $42,51 \pm 0,08$ oranında AFM1 bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

En düşük AFM1 azalma yeteneği $5,84 \pm 0,47$ oranıyla PBS’de gerçekleşirken ($p > 0,05$) en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $42,51 \pm 0,08$ oranıyla koyun sütünde ($p < 0,01$) gerçekleşmiştir.

L. rhamnosus+inülin içeren PBS ile inek sütü arasında ($p<0,05$), PBS ile keçi sütü arasında ($p<0,001$) ve PBS ile koyun sütü arasında ($p<0,001$) anlamlı fark bulunmuştur.

Süt türleri arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $9,08\pm0,50$ oranıyla inek sütünde gerçekleşirken en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $42,51\pm0,08$ oranıyla koyun sütünde gerçekleşmiştir.

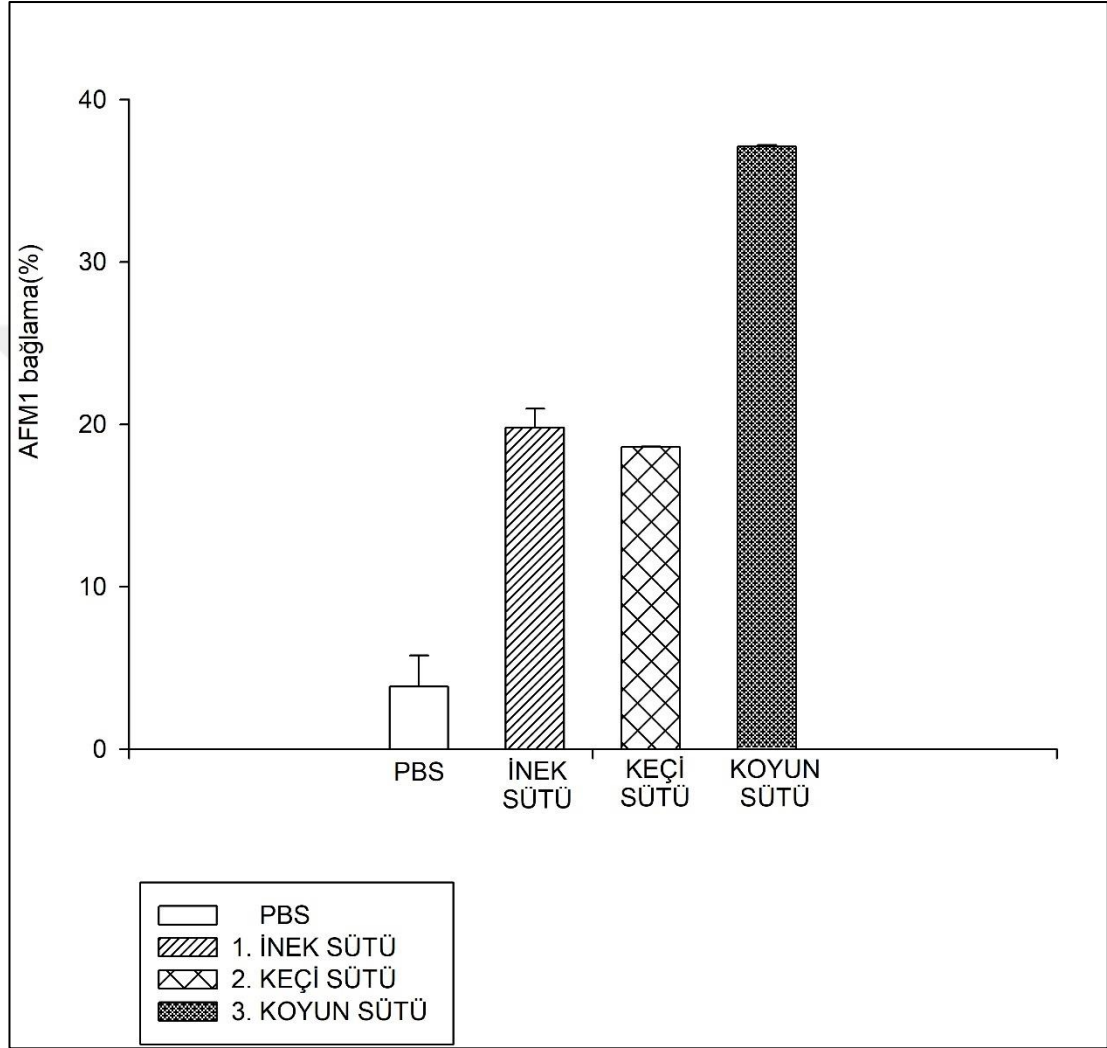
İnek sütü ile koyun sütü, inek sütü ile keçi sütü ve keçi sütü ile koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,001$).



Şekil 4.11. *L. rhamnosus*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması

4.3.8.B. *bifidum*+inülinin AFM1 Bağlama Yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

B. bifidum+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması Şekil 4.12’de verilmiştir.



Şekil 4.12. *B. bifidum*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması

B. bifidum+inülinin PBS’de %3,84±1,93, inek sütünde %19,78±1,16, keçi sütünde %18,59±0,05 ve koyun sütünde %37,09±0,09 oranında AFM1 bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

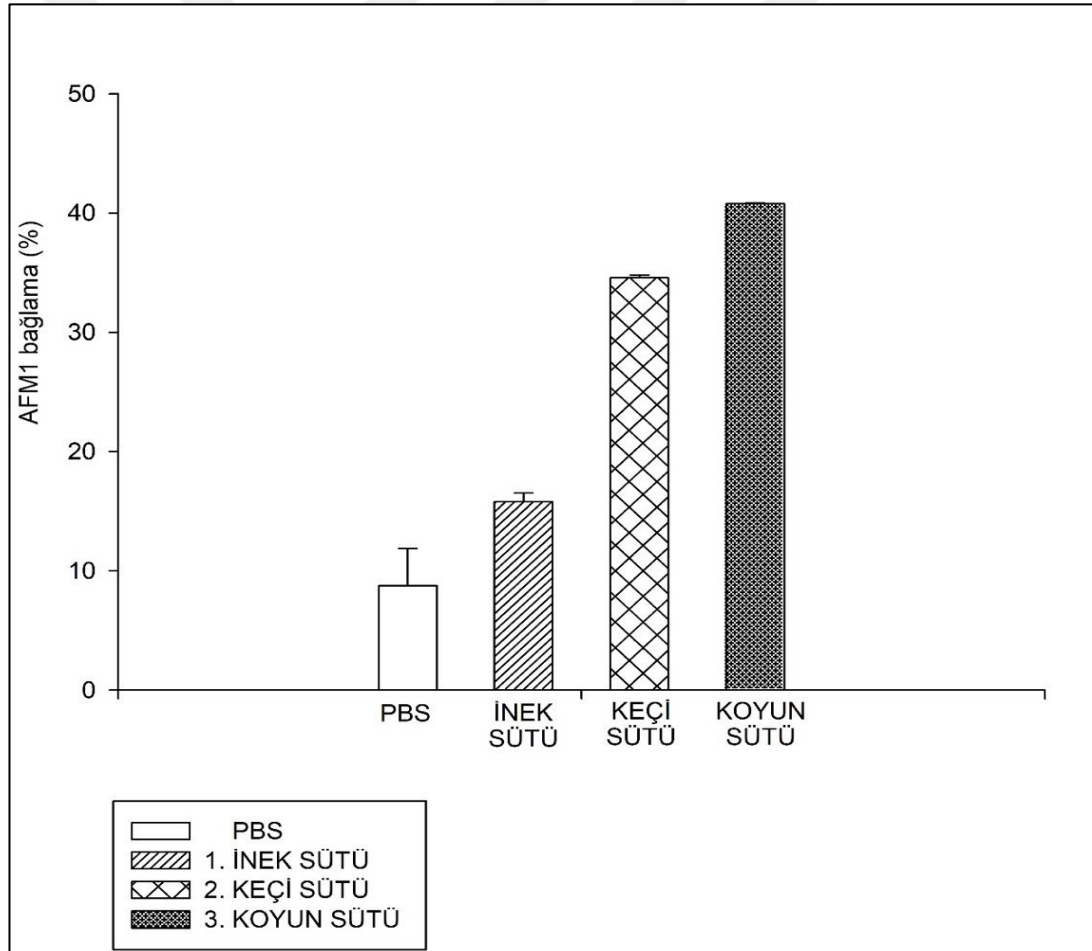
En düşük AFM1 bağlama yeteneği %3,84±1,93 oranıyla PBS’de gerçekleşirken ($p>0,05$) en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise %37,09±0,09 oranıyla koyun sütünde ($p<0,01$) gerçekleşmiştir

B. bifidum+inülin içeren PBS ile inek süt, keçi sütü ve koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,001$). Süt türleri arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $\%18,59\pm0,05$ oranıyla keçi sütünde gerçekleşirken en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $\%37,09\pm0,09$ oranıyla koyun sütünde gerçekleşmiştir.

İnek sütü ile keçi sütü arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). İnek sütü ile koyun sütü ve koyun sütü ile keçi sütü arasında fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

4.3.9.L. *acidophilus*+*B. bifidum*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

L. acidophilus+*B. bifidum*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması Şekil 4.13’de verilmiştir.



Şekil 4.13. *L. acidophilus*+*B. bifidum*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması

L. acidophilus+*B. bifidum*+inülinin PBS’de %8,75±3,10, inek sütünde %15,79±0,72, keçi sütünde %34,57±0,23 ve koyun sütünde %40,77±0,05 oranında AFM1 bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

En düşük AFM1 bağlama yeteneği %8,75±3,10 oranıyla PBS’de gerçekleşirken ($p<0,05$) en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise %40,77±0,05 oranıyla koyun sütünde ($p<0,01$) gerçekleşmiştir.

L. acidophilus+*B. bifidum*+inülin içeren PBS ile inek sütü, keçi sütü ve koyun sütü arasında anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,001$). Süt türleri arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği %15,79±0,72 oranıyla inek sütünde gerçekleşirken en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise %40,77±0,05 oranıyla koyun sütünde gerçekleşmiştir.

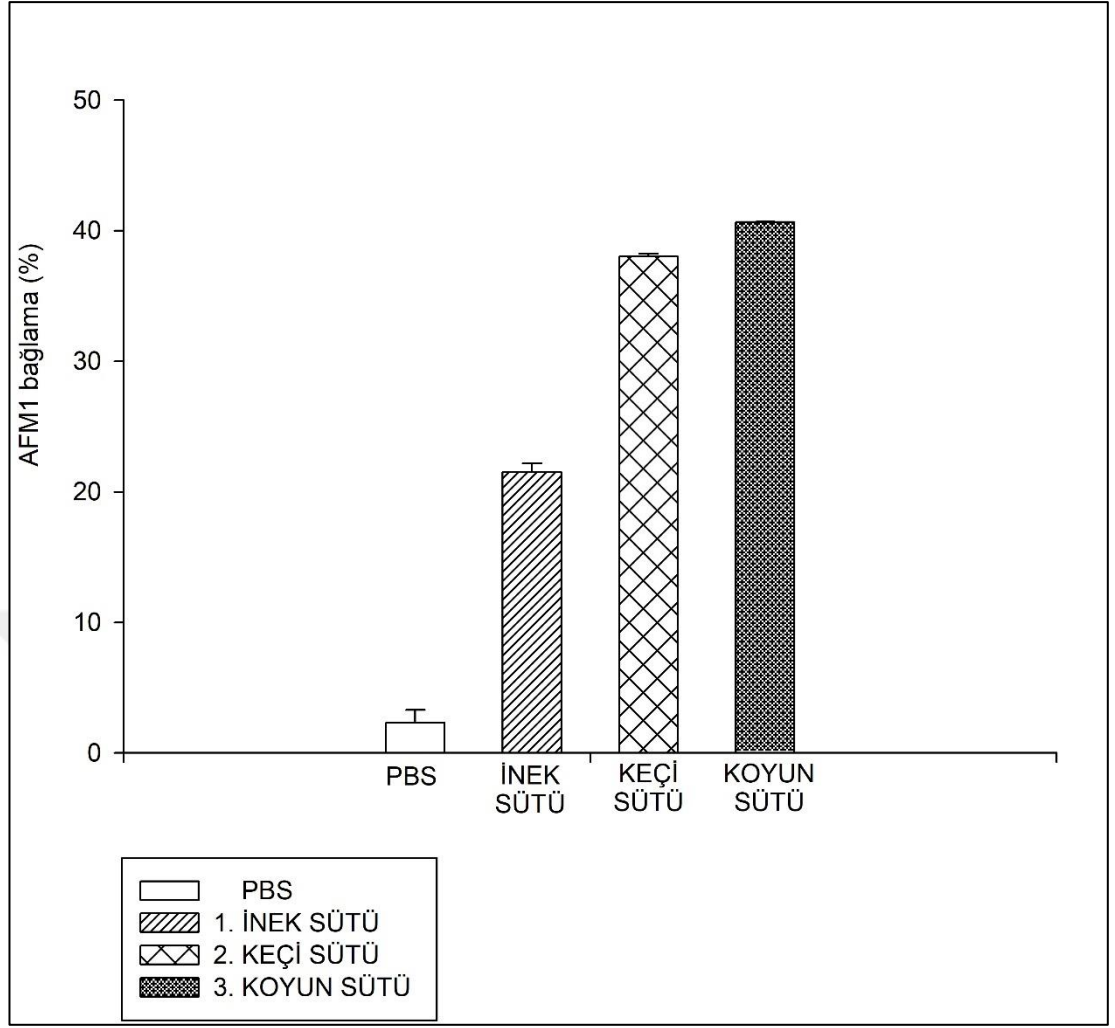
L. acidophilus+*B. bifidum*+inülin içeren keçi sütü ile koyun sütü arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). İnek sütü ile keçi sütü arasında ve inek sütü ile koyun sütü arasında fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

4.3.10.*L. rhamnosus*+*B. bifidum*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve Farklı Süt Türlerinde Karşılaştırılması

L. rhamnosus+*B. bifidum*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması Şekil 4.14’de verilmiştir.

L. rhamnosus+*B. bifidum*+inülinin PBS’de %2,32±0,96, inek sütünde %21,50±0,66, keçi sütünde %38,01±0,21 ve koyun sütünde %40,64±0,03 oranında AFM1 bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir.

En düşük AFM1 bağlama yeteneği %2,32±0,96 oranıyla PBS’de gerçekleşirken ($p>0,05$) en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise %40,64±0,03 oranıyla koyun sütünde ($p<0,01$) gerçekleşmiştir.



Şekil 4.14. *L. rhamnosus*+*B. bifidum*+inülinin AFM1 bağlama yeteneğinin PBS ve farklı süt türlerinde karşılaştırılması

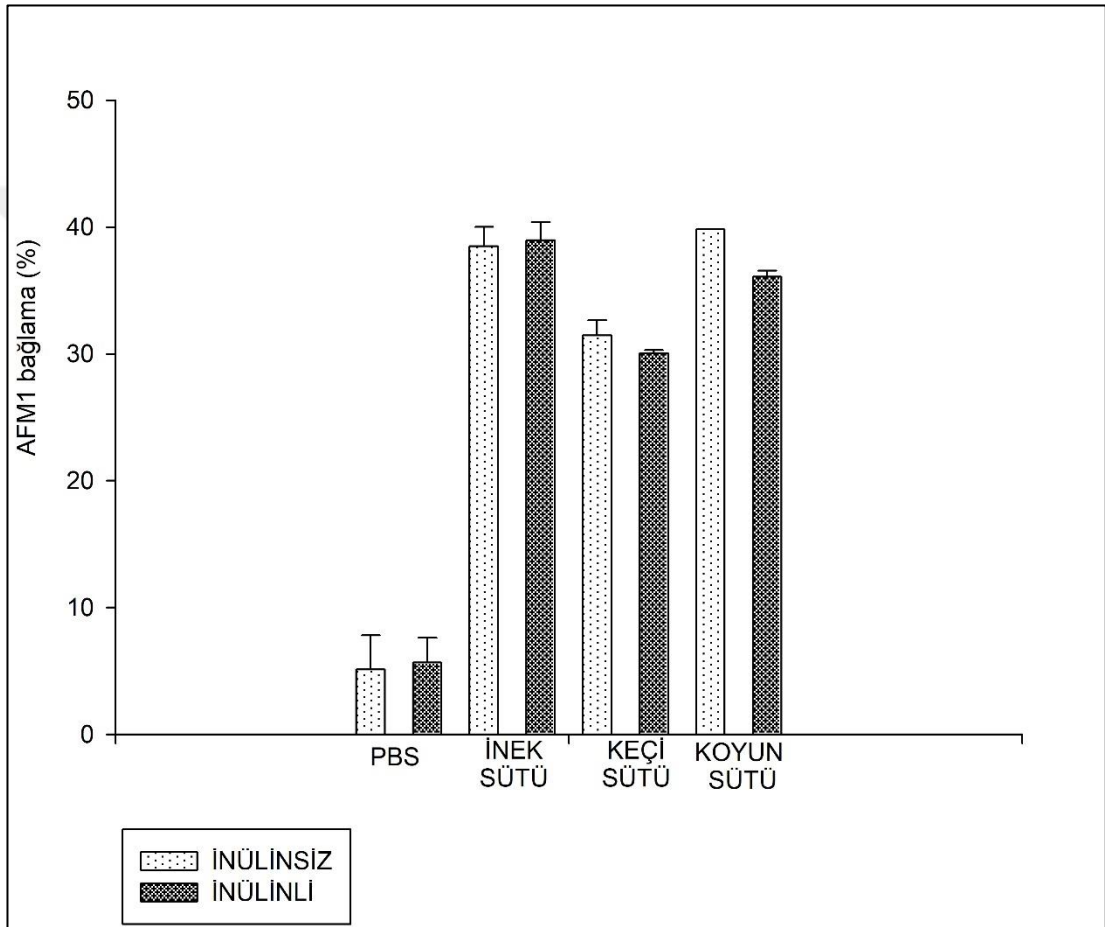
L. rhamnosus+*B. bifidum*+inülin içeren PBS ile inek sütü, keçi sütü ve koyun sütü arasında fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$). Süt türleri arasında en düşük AFM1 bağlama yeteneği $\%21,50\pm0,66$ oranıyla inek sütünde gerçekleşirken en yüksek AFM1 bağlama yeteneği ise $\%40,64\pm0,03$ oranıyla koyun sütünde gerçekleşmiştir.

L. rhamnosus+*B. bifidum*+inülin içeren keçi sütü ile koyun sütü arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). İnek sütü ile keçi sütü arasında ve inek sütü ile koyun sütü arasında fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

4.4. Probiyotik Bakterilerin PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Düzeyine İnülinin Etkisi

4.4.1. *L. acidophilus*'un PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Bağlama Yeteneğine İnülinin Etkisi

L. acidophilus'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi Şekil 4.15'de verilmiştir.



Şekil 4.15. *L. acidophilus*'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi

L. acidophilus+inülin içeren çalışma ortamları arasında en düşük AFM1 bağlanma yeteneği %5,64±1,96 oranıyla PBS'de ($p>0,05$), en yüksek AFM1 bağlanma yeteneği ise 38,94±1,45 oranıyla inek sütünde ($p<0,01$) gerçekleşmiştir. İnülin ilave edilen sütler arasında %38,94±1,45 oranıyla en yüksek AFM1 bağlanması inek sütünde gerçekleşmiştir.

İNülin ilave edilmeyen PBS'de %5,11±2,69 oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle artarak %5,64±1,96 oranında AFM1 bağlanma yeteneği

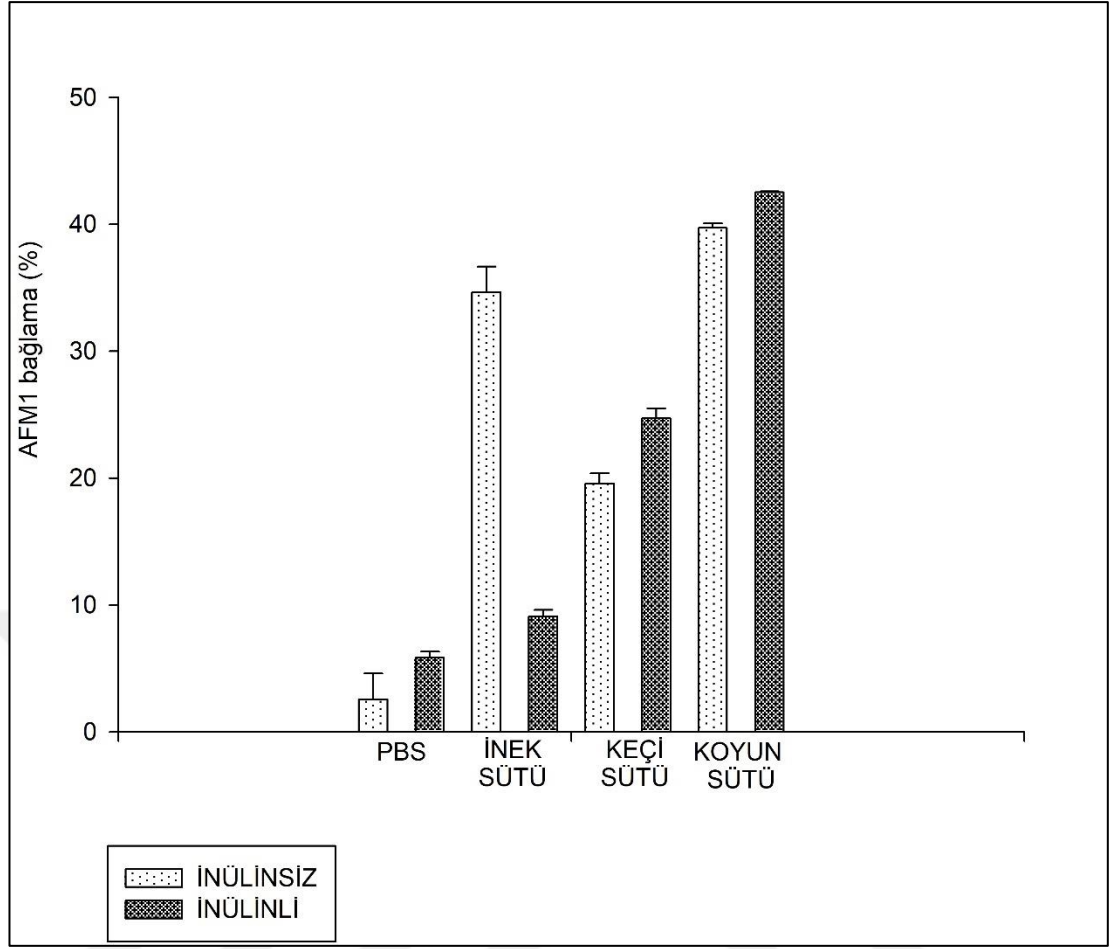
görülmüştür ($p>0,05$). İnülin ilave edilmeyen inek sütünde $38,50\pm1,50$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle artarak $38,94\pm1,45$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p>0,05$). İnülin ilave edilmeyen keçi sütünde $31,45\pm1,20$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak $30,07\pm0,22$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p>0,05$). İnülin ilave edilmeyen koyun sütünde $39,81\pm0,03$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak $36,07\pm0,47$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p>0,05$).

4.4.2.L. rhamnosus'un PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Bağlama Yeteneğine İnülinin Etkisi

L. rhamnosus'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi Şekil 4.16'da verilmiştir.

L. rhamnosus+inülin içeren çalışma ortamları arasında en düşük AFM1 bağlanma yeteneği $5,84\pm0,47$ oranıyla PBS'de gerçekleşirken ($p>0,05$) en yüksek AFM1 bağlanma yeteneği ise $42,51\pm0,08$ oranıyla koyun sütünde ($p<0,01$) gerçekleşmiştir.

Inülin ilave edilmeyen PBS'de $2,56\pm2,02$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle artarak $5,84\pm0,47$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p<0,05$). İnülin ilave edilmeyen inek sütünde $34,63\pm2,01$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak $9,08\pm0,50$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p<0,001$). İnülin ilave edilmeyen keçi sütünde $19,56\pm0,82$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle artarak $24,70\pm0,78$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p>0,05$). İnülin ilave edilmeyen koyun sütünde $39,71\pm0,34$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle artarak $42,51\pm0,08$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p>0,05$).

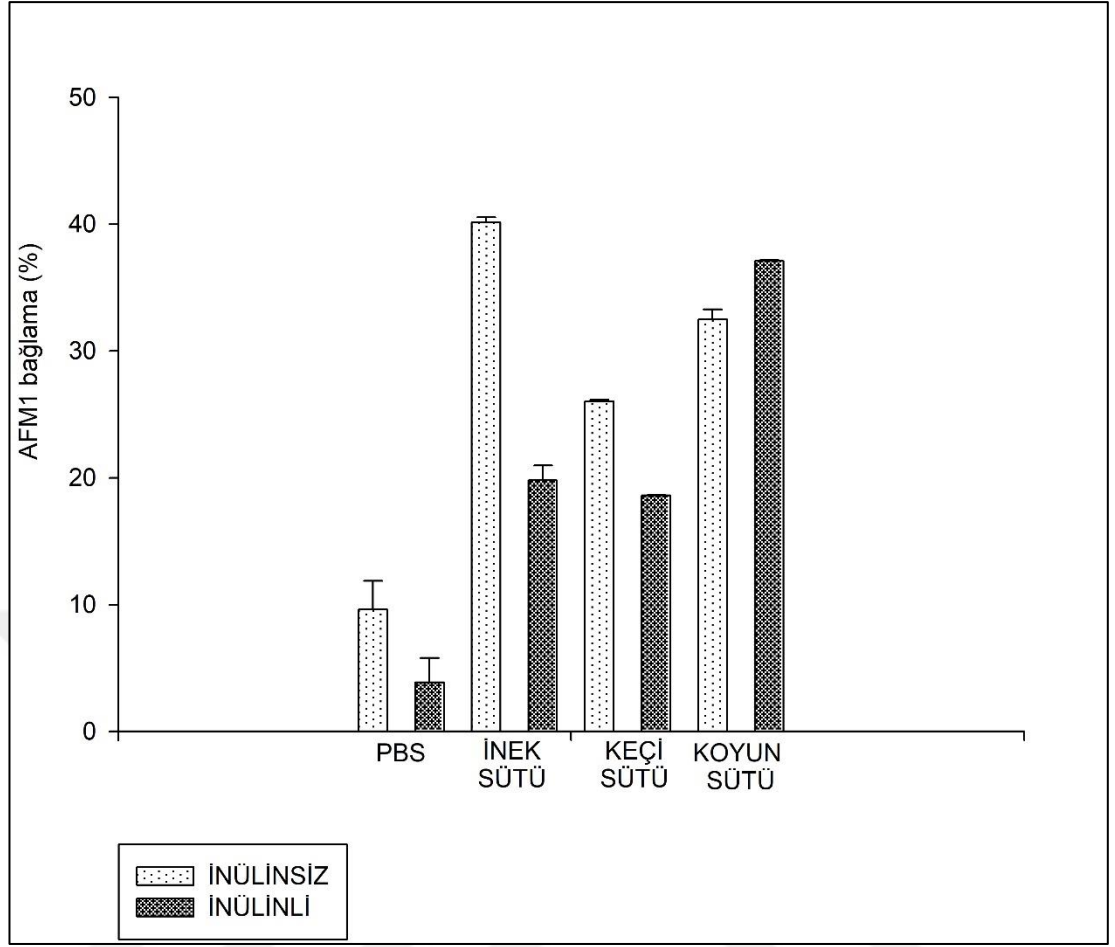


Şekil 4.16. *L. rhamnosus*'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi

4.4.3.B. *bifidum*'un PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Bağlama Yeteneğine İnülinin Etkisi

B. bifidum'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi Şekil 4.17'de verilmiştir.

B. bifidum+inülin içeren çalışma ortamları arasında en düşük AFM1 bağlanma yeteneği $3,84 \pm 1,93$ oranıyla PBS'de gerçekleşirken ($p > 0,05$) en yüksek AFM1 bağlanma yeteneği ise $37,09 \pm 0,09$ oranıyla koyun sütünde ($p < 0,01$) gerçekleşmiştir. İnülin ilave edilen sütler arasında $37,09 \pm 0,09$ oranıyla en yüksek AFM1 bağlanma yeteneği koyun sütünde gerçekleşmiştir.

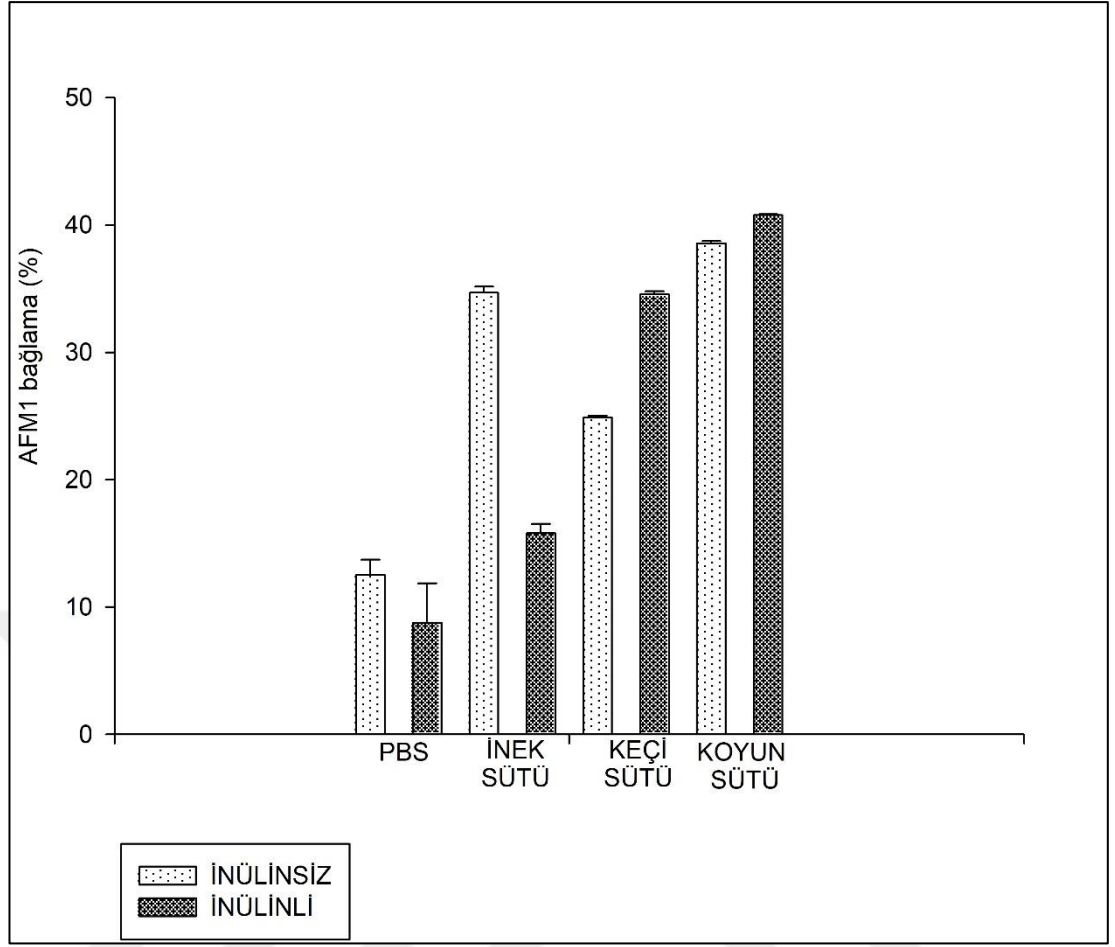


Şekil 4.17. *B. bifidum*'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi

İnülin ilave edilmeyen PBS'de $9,64 \pm 2,23$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak $3,84 \pm 1,93$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p < 0,05$). İnülin ilave edilmeyen inek sütünde $40,14 \pm 0,38$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak $19,78 \pm 1,16$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p < 0,001$). İnülin ilave edilmeyen keçi sütünde $26,03 \pm 0,10$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak $18,59 \pm 0,05$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p < 0,01$). İnülin ilave edilmeyen koyun sütünde $32,49 \pm 0,78$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle artarak $37,09 \pm 0,09$ oranında AFM1 bağlama yeteneği görülmüştür ($p > 0,05$).

4.4.4. *L. acidophilus*+ *B. bifidum*'un PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Bağlama Yeteneğine İnülinin Etkisi

L. acidophilus+*B. bifidum*'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi Şekil 4.18'de verilmiştir.



Şekil 4.18. *L. acidophilus*+*B. bifidum*'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi

L. acidophilus + *B. bifidum*+inülin içeren çalışma ortamları arasında en düşük AFM1 bağlanma yeteneği %8,75±3,10 oranıyla PBS'de gerçekleşirken ($p<0,05$) en yüksek AFM1 bağlanma yeteneği ise %40,77±0,05 oranıyla koyun sütünde ($p<0,01$) gerçekleşmiştir. İnülin ilave edilen sütler arasında %40,77±0,05 oranıyla en yüksek AFM1 bağlanma yeteneği koyun sütünde gerçekleşmiştir.

İnülin ilave edilmeyen PBS'de %12,52±1,19 oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak %8,75±3,10 oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p>0,05$). İnülin ilave edilmeyen inek sütünde %34,68±0,47 oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak %15,79±0,72 oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p<0,001$). İnülin ilave edilmeyen keçi sütünde %24,87±0,14 oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle artarak %34,57±0,23 oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p<0,001$). İnülin ilave edilmeyen koyun sütünde %38,55±0,18 oranında AFM1 bağlanma yeteneği

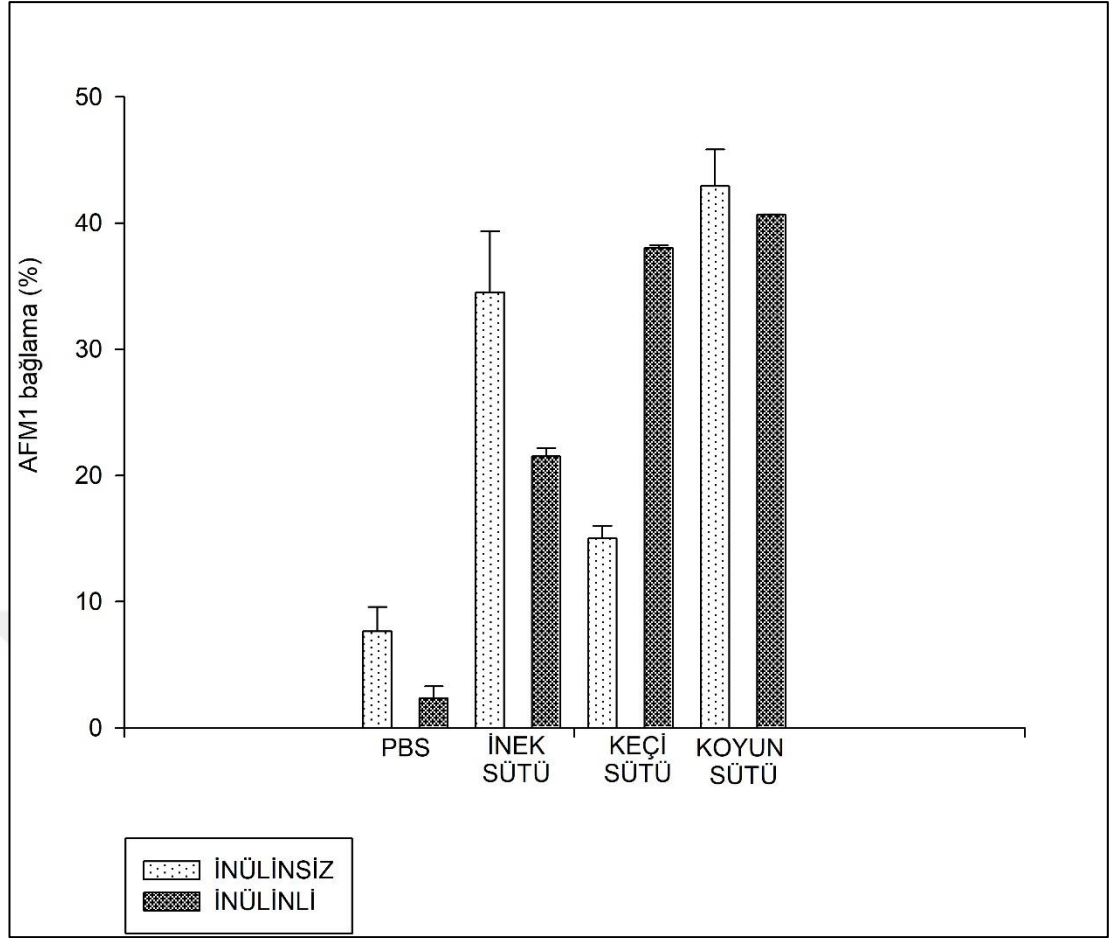
görülürken inülin ilavesiyle artarak $40,77 \pm 0,05$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p > 0,05$).

4.4.5.L. rhamnosus+B. bifidum'un PBS ve Farklı Süt Türlerinde AFM1 Bağlama Yeteneğine İnülinin Etkisi

L. rhamnosus+B. bifidum 'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi Şekil 4.19'da verilmiştir.

L. rhamnosus+ B. bifidum+inülin içeren çalışma ortamları arasında en düşük AFM1 bağlanma yeteneği $2,32 \pm 0,96$ oranıyla PBS'de gerçekleşirken ($p > 0,05$) en yüksek AFM1 bağlanma yeteneği ise $40,64 \pm 0,03$ oranıyla koyun sütünde ($p < 0,01$) gerçekleşmiştir. İnülin ilave edilen sütler arasında $40,64 \pm 0,03$ oranıyla en yüksek AFM1 bağlanma yeteneği koyun sütünde gerçekleşmiştir.

Inülin ilave edilmeyen PBS'de $7,65 \pm 1,90$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak $2,32 \pm 0,96$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p < 0,001$). İnülin ilave edilmeyen inek sütünde $34,50 \pm 4,83$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak $21,50 \pm 0,66$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p < 0,01$). İnülin ilave edilmeyen keçi sütünde $15,01 \pm 0,97$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle artarak $38,01 \pm 0,21$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p < 0,001$). İnülin ilave edilmeyen koyun sütünde $42,90 \pm 2,92$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülürken inülin ilavesiyle azalarak $40,64 \pm 0,03$ oranında AFM1 bağlanma yeteneği görülmüştür ($p > 0,05$).



Şekil 4.19, *L. rhamnosus*+*B. bifidum*'un PBS ve farklı süt türlerinde AFM1 bağlama yeteneğine inülinin etkisi

Ek 1'de probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin PBS ve farklı süt türlerinde incelenmesi toplu halde verilmiştir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmamızda probiyotik bakterilerin AFM1'i bağlama yeteneği PBS, inek sütü, keçi sütü ve koyun sütünde araştırılmıştır. Ayrıca prebiyotik özellikte olan inülinin probiyotiklerin gelişimini desteklemesi beklenmiş olup inülinin dolaylı etkisi de araştırılmıştır.

Çalışmamızda kullanılan *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. bifidum* insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olmayan güvenilir probiyotik mikroorganizmalardır. Son zamanlarda süt ve süt ürünlerine ilave edilerek besinlerin zenginleştirilmesinde rol almaktadır (Demir ve ark., 2019). Bu nedenle detoksifikasyon çalışmamız için de uygun görülerek seçilmiştir. Türk Gıda Kodeksinin ilgili yönetmeliklerinde belirtilen değerlere yakın olması nedeniyle 100 ng/l AFM1 konsantrasyonu ve 10⁸ kob/ml canlı mikroorganizma kullanılarak çalışmamız gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda, probiyotik bakterilerin AFM1 bağlama yeteneği incelendiğinde *L. acidophilus*'un %5,11-39,81 arasında, *L. rhamnosus*'un %2,56-39,71 arasında, *B. bifidum*'un %9,64-40,14 arasında, *L. acidophilus*+*B. bifidum*'un %12,52-38,55 arasında, *L. rhamnosus*+*B. bifidum*'un %7,65-42,90 arasında AFM1 bağlama yeteneği gösterdiği tespit edilmiştir. AFM1 bağlama yeteneği en yüksek probiyotik bakteri suşu PBS'de *L. acidophilus*+*B. bifidum*, inek sütünde *B. bifidum*, keçi sütünde *L. acidophilus*, koyun sütünde ise *L. rhamnosus*+*B. bifidum* olarak tespit edilmiştir (p<0,01). En yüksek AFM1 bağlama yeteneği farklı çalışma ortamlarında farklı probiyotik bakteriler tarafından gerçekleştiğinden etkili tek bir suş ön plana çıkmamaktadır.

Probiyotik bakterilerin aflatoksine bağlanma mekanizması henüz tam olarak netlik kazanmasa da bakteri hücre duvarındaki polisakkarit ve peptidoglikan gibi komponentlerle ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle bakteri hücre duvarı komponentlerinin bütünlüğü aflatoksin detoksifikasyonunda oldukça önem kazanmaktadır. Yapılan bir çalışma, hücre duvarının tamamen veya kısmi olarak hasara uğraması durumunda aflatoksin bağlama kapasitesinin önemli oranda azaldığını bildirmiştir (Hernandez-Mendoza ve ark 2009). Çalışmamızda da probiyotik bakteri türlerinin AFM1'i bağlama yeteneklerinin birbirinden farklılık göstermesi farklı hücre duvarı yapılarından kaynaklanabilmektedir. Ayrıca

bakterilerin depolama sürecinde birbirleriyle olan etkileşimleri de AFM1 düzeylerini etkilemiş olabilir.

Yapılan bir çalışmada *in vitro* sindirim modeli kullanarak kontamine sütte *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. johnsonii* ve *B. bifidum*'un AFM1'i azaltma yeteneği araştırılmıştır. Probiyotik bakteri türlerine bağlı olarak AFM1 düzeyinde %23-45 oranında düşüş gözlenmiştir. Bakteri türleri arasında en yüksek düşüşü *B. bifidum* sağlamıştır (Serrano ve ark., 2013). Başka bir çalışmada 10^8 kob/ml yoğunluğundaki *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. bifidum* suşlarının PBS ve süt ortamında AFM1'e bağlanma düzeyleri 4 saatin sonunda incelenmiştir. PBS (%25,02) ve sütte (%25,94) en yüksek AFM1 azalma düzeyiyle *B. bifidum* öne çıkmıştır (Kabak ve Var, 2008). Yine yapılan bir çalışmada PBS'de *L. acidophilus*'un AFM1'i azaltma düzeyi %15,9 olarak bulunurken *L. rhamnosus*'un AFM1'i azaltma düzeyi %16,7 olarak bulunmuştur. *L. acidophilus*'un yoğurt starter bakterileriyle kombinasyonunda AFM1'in azalma düzeyi ise %27,8 olarak bulunmuştur. Çalışma gruplarında pH'daki düşüşle birlikte AFM1 düzeylerinde de düşüş olduğu gösterilmiştir. Fermentasyon sırasında oluşan ısı ve asitliğin mikroorganizmaların AFM1'i bağlama kabiliyetini artırdığı düşünülmüştür (Elsanhoty ve ark., 2014).

Çalışmamızda kullanılan probiyotik bakterilerin kombinasyonun AFM1'i azaltma düzeyi tekli olarak kullanılan probiyotiklerin AFM1'i azaltma düzeyi toplamına eşit olmadığı tespit edilmiştir. Bu durumun bakteri türlerinin birbirleriyle olan etkileşimlerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Yapılan bir çalışmada *L. acidophilus* ve yoğurt starter bakterilerinin tekli ve kombinasyon halinde AFM1'i uzaklaştırma yetenekleri incelenmiştir. 100 ng/l AFM1 ile kontamine edilen süt örnekleri +4°C'de 21 gün boyunca depolanmıştır. *L. acidophilus*, tekli ve yoğurt starter kültürü varlığında benzer AFM1 azalma gösterirken tek başına yoğurt starter kültürü AFM1 azaltılmasında yetersiz kalmıştır. *L. acidophilus*'un ilk gün AFM1'in %90'ından fazlasını bağladığı gözlemlenmiştir (Adibpour ve ark., 2016).

Genel olarak probiyotik bakteriler zayıf proteolitik aktivite göstermektedirler. Bu nedenle sütte yavaş gelişmektedirler (Çelikel ve ark., 2018). Yoğurt başlangıç kültürleri (*L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*) ise yüksek proteolitik aktiviteye sahip olup fermentasyon sürecinde sütte hızlı gelişme göstermektedir. Bundan dolayı

probiyotik ürünlere fermentasyon sürecinin kısaltılması için yoğurt başlangıç kültürlerinin eklenmesi önerilmektedir (Fazilah ve ark., 2018).

Probiyotik yoğurt üretimi ve soğuk depolanması sırasında AFM1'in stabilitesini inceleyen bir çalışmada süt örneğine *L. acidophilus*, *B.lactis*, *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* içeren probiyotik kültür ilave edilip 100 ng/l düzeyinde AFM1 ile kontaminasyonu sağlanmıştır. Ardından sütler 21 gün +4°C'de depolanmıştır. Depolama sonunda AFM1 düzeyinde azalmanın yaklaşık %41 oranında olduğu bulunmuştur (Montaseri ve ark., 2014).

AFM1 azalma düzeyi kullanılan bakteri türü, toksin konsantrasyonu, inkübasyon sıcaklığı, inkübasyon süresi ve analiz metodu gibi birçok değişkene bağlı olduğundan bizim çalışmamızdan elde edilen verilerin önceki çalışmalardan farklılık göstermesi beklenen bir durumdur.

Fermentasyonun olası etkilerinden kaçınmak ve daha yüksek bağlanma oranlarına ulaşmak için ısıyla öldürülmüş hücreler tercih edilmektedir. Çalışmada kullanılacak bakterilerin ısıl işlem ile öldürülmesi, hücre duvarı bileşenleri arasında bazı reaksiyon ürünlerinin oluşması yoluyla bağlanmayı etkileyebilmektedir. Isıl işlem süresine, tipine ve sıcaklığına bağlı olarak tersinir veya tersinmez denatürasyon olayları meydana gelmektedir. Proteinlerin veya diğer hücre duvarı bileşenlerinin tersinir bir denatürasyonu, ısıtma sonrası renatürasyonlara neden olabilmektedir (Assaf ve ark., 2019). Bizim çalışmamızda bakterilere ısıl işlem uygulanmamış olup canlı hücrelerle çalışılmıştır.

Yapılan çalışmalar, aflatoksin ve mikroorganizmalar arasında kurulan bağlantının temasın daha ilk dakikalarında meydana gelen hızlı bir süreç olduğunu belirtmiştir (Bovo ve ark., 2013; Corassin ve ark., 2013; Serrano-Nino ve ark., 2013). Bu nedenle çalışmamızda probiyotik bakterilerin AFM1 bağlama yeteneğinin 1 günlük süre sonunda incelenmesi yeterli görülmüştür.

10⁹ kob/ml yoğunluğunda *L. plantarum* 'un süt ortamında AFM1 bağlama yeteneği farklı inkübasyon sürelerinde (30 dk, 1saat, 6saat, 24saat, 48 saat) araştırılmıştır. İnkübasyon sürecinde bağlanma büyük oranda ilk 30 dakika içerisinde tamamlanmış, sonraki süreçlerde önemli bir farka rastlanmamıştır (Yüksel ve Albayrak, 2020).

Yapılan bir çalışmada, ısı ile öldürülmüş 10^{10} kob/ml yoğunluğunda *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus* ve *B. lactis* bakterilerinin ve 10^9 kob/ml yoğunluğunda *S. cerevisiae* mayasının tekli ve kombinasyon halinde 500 ng/l AFM1 içeren sütte AFM1'i azaltma yüzdeleri araştırılmıştır. Sütteki AFM1'in azalma oranları 60 dakika sonra laktik asit bakterileri için %11,7 iken *S. cerevisiae* için %92,7 olarak tespit edilmiştir. Mayalar bakterilere kıyasla daha yüksek AFM1 bağlanma kapasitesi göstermiştir. *S. cerevisiae* ve laktik asit bakterilerinin kombinasyonunda ise 60 dakika sonra %100 bağlanma gözlemlenmiştir (Corassin ve ark., 2013).

Mekanik ve termal işlemlerin sütteki AFM1 konsantrasyonu üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada süt yağının ve farklı ısı işlemlerin AFM1 dağılımına etkisi araştırılmıştır. Süt örnekleri öncelikle yasal olarak izin verilen maksimum 50 ng/kg konsantrasyonunda AFM1 ile kontamine edilmiş daha sonra süt numunelerinin yağı ayrıştırılmış ve farklı pastörizasyon işlemleri (65°C-30 dak, 73°C-20 saniye, 95°C-15 dakika) uygulanmıştır. Araştırmanın sonuçlarına göre tam yağlı, yağsız ve pastörize süt örnekleri arasında AFM1 konsantrasyonlarında anlamlı fark bulunamamıştır (Barukčić ve ark., 2018).

Sığır dışı süt ürünleri arasında keçi sütü önemli bir probiyotik taşıyıcısı olarak kabul edilmektedir. Keçi sütü gibi koyun sütü de depolama süresince probiyotiklerin canlılığının korunmasına yardımcı olabilmektedir (Ranadheera ve ark., 2018). Yapılan bir çalışmada *L. acidophilus* içeren fermente keçi sütünün 21 gün +4°C depolama süresi boyunca canlılığını yeterli düzeyde ($>10^7$ kob/ml) koruyabildiği tespit edilmiştir (Ranadheera ve ark. 2016). Yapılan başka bir çalışmada da koyun sütünden yoğurt üretimi için standart bir yoğurt kültürü ve probiyotik bir suş olan *L. rhamnosus* kullanılmıştır. +4°C'de 21 günlük depolama süresi sonunda yoğurt kültürü bakterileri ve *L. rhamnosus*'un canlılığı yeterli düzeyde ($>10^6$ kob/ml) bulunmuştur (Zamberlin ve Samaržija, 2017).

Çalışmamızda, AFM1'in bağlanma yeteneği sütte PBS'den daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde bir çalışmada PBS'de *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*'un sırasıyla %18,7 ve %29,42 AFM1 azalma düzeyi gösterirken sütte artarak sırasıyla %27,56 ve %39,16 AFM1 azalma düzeyi gösterdiği tespit edilmiştir. Süte *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*'un birlikte eklenerek yoğurt oluşturulduğunda ise %14,82 AFM1 azalma düzeyi görülmüş olup bu durumun yoğurtta fermentasyon sürecinin hızlanıp

proteolitik aktiviteyi artırması nedeniyle protein-AFM1 arasında kurulan bağın azalmasından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Sarımehmetoğlu ve Küplülü, 2004). Bracket ve Marth (1982) tarafından yapılan bir çalışmada da proteolitik enzimle işlemden geçirilen sütte, işlenmemiş süte göre ortalama %30,7 daha fazla AFM1 bulunduğu bildirilmiş ve AFM1'in süt proteinine bağlandığı öne sürülmüştür. Bu durum aflatoksinin süt proteinleri ile etkileşimini doğrulamış olup protein miktarının arttıkça bağlanan AFM1 miktarının da artacağını göstermiştir (Bracket ve Marth, 1982).

Literatürde, AFM1 azalma düzeyine etki eden çalışmaların PBS ve inek sütü ortamlarında gerçekleştirildiği fakat keçi ve koyun sütünde herhangi bir çalışmanın bulunmadığı tespit edilmiştir. Probiyotik bakterilerin AFM1 üzerinde etkisinin farklı süt türlerinde incelendiği bu araştırmamızda 10 adet çalışma grubu oluşturulmuştur. 10 çalışma grubunun 8 tanesinde de en yüksek AFM1 bağlanma yeteneği koyun sütünde gerçekleşmiştir. En düşük AFM1 bağlanma yeteneği ise tüm çalışma gruplarında PBS ortamında gözlemlenmiştir. PBS'nin ardından en düşük AFM1 bağlanma yeteneğini keçi sütü takip etmiştir. İnülin ilave edilmeyen çalışma grupları ve inülin ilave edilen çalışma grupları incelendiğinde de en yüksek AFM1 bağlanma yeteneğinin koyun sütünde olduğu, ardından sırasıyla inek sütü, keçi sütü ve PBS'nin geldiği tespit edilmiştir. Ayrıca AFM1'in bağlanma yeteneği PBS'de %2,32-12,52 arasında, inek sütünde %9,08-40,14 arasında, keçi sütünde %15,01-38,01 arasında, koyun sütünde %32,49-42,90 arasında değişmektedir. Tüm bu verilerden yola çıkarak probiyotik bakterilerin farklı süt türleri arasında AFM1'i bağlama yeteneklerinin en yüksekten en düşüğe sırasıyla koyun sütü, inek sütü ve keçi sütünde gerçekleştiği söylenebilir.

Çalışmamızda kullanılan sütlerin protein yüzdeleri en yüksekten en düşüğe koyun sütü (%5,68) >keçi sütü (%3,04) >inek sütü (%2,59) olarak sıralanmıştır. Aflatoksinlerin süt proteinleri ile etkileşimlerinden yola çıkarak AFM1'in bağlanma yeteneklerinin de en yüksekten en düşüğe koyun sütü>keçi sütü>inek sütü olarak sıralanması beklenmiştir. Çalışmamızın sonuçlarında da beklenildiği şekilde %5,68 protein yüzdesiyle koyun sütünde en yüksek AFM1 bağlanması gerçekleşmiştir. Fakat keçi sütünde inek sütünden daha yüksek AFM1 bağlanması beklenirken tam tersi olarak

inek sütünde daha yüksek AFM1 bağlanması görülmüştür. Bu durum inek sütünün (%2,59) ve keçi (%3,04) sütünün protein değerlerinin yakın olmasıyla açıklanabilir.

Fermente sütlerde AFM1 seviyelerindeki düşüş, düşük pH, organik asit oluşumu veya diğer fermentasyon yan ürünleri gibi faktörlere bağlanmaktadır. Fermentasyon sırasında görülen düşük pH, süt proteinlerinden kazeinin yapısını değiştirmekte ve pıhtı oluşumuna yol açmaktadır. Fermente süt üretimi sırasında kazein yapısında meydana gelen değişiklikler AFM1'in bu protein ile ilişkisini etkilemektedir (Govaris ve ark., 2002). Bizim çalışmamızda süt proteinlerinin miktarı ile AFM1 arasında ilişki araştırılmış olup gelecekte farklı süt türlerinin protein miktarının araştırılmasına ek kazein miktarları ile AFM1 arasındaki ilişkiyi de araştırarak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Probiyotik ve prebiyotiklerin simbiyotik kullanımı, potansiyel olarak yararlı etkileri nedeniyle hem tüketicilerin hem de süt endüstrisinin dikkatini çekmektedir. Diyetle probiyotik, prebiyotik veya her ikisinden oluşan simbiyotik besinlerin yer alması gıda kaynaklı mutajenlerin uzaklaştırılmasında etkili biyolojik yöntemlerden biri olarak görülmektedir (Kearney ve Gibbons, 2018). Probiyotik ve prebiyotiklerin aflatoksin detoksifikasyonunda sinerjik etkisi, prebiyotiklerin fermente edilebilir enerji kaynağı olarak ve çözünür lif oluşturarak probiyotiklerin canlılığını artırmada rol almasından kaynaklanabilmektedir (Wochner ve ark., 2019). Böylelikle mikotoksinlerin bağırsaktan emiliminde daha yüksek azalma sağlanabilir.

Yapılan bir çalışmada *S. thermophilus*, *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium sp.* içeren yoğurda %1, %2 ve %3 konsantrasyonlarda inülin eklenmiş ve 21 gün +4 C'de depolanmıştır. İnülin, *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium sp* büyümesi üzerinde uyarıcı etki sergilemiştir. %2'lik inülin 1-14 gün içerisinde *L. acidophilus* un gelişimi üzerinde en yüksek etkiyi gösterirken *Bifidobacterium sp.* için bu süre 1-7 gün olarak belirlenmiştir. %2'lik inülin *L. acidophilus* gelişimi üzerinde en yüksek etkiyi 7. gün gösterirken *Bifidobacterium sp.*de 1. gün göstermiştir. Çalışmanın sonunda örneklerin %97'sinde laktik asit bakteri sayıları yeterli miktarda bulunmuştur. Prebiyotik olarak inülin eklenmesi ayrıca viskozite ve sertlikte bir artışla sonuçlanıp doku parametrelerini iyileştirmiştir (Gustaw ve ark., 2011).

Bizim çalışmamızda %2 inülin ilavesinin AFM1 bağlanmasına olumlu etki gösterdiği çalışma grupları bulunmaktadır. İnülin ilavesiyle *L. acidophilus*+*B. bifidum* içeren keçi sütünde $24,87 \pm 0,14$ oranından $34,57 \pm 0,23$ oranına AFM1 bağlanmasında artma, *L. rhamnosus*+*B. bifidum* içeren keçi sütünde $15,01 \pm 0,97$ oranından $38,01 \pm 0,21$ oranına AFM1 bağlanmasında artma gerçekleşmiş olup anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). *In vitro* sindirim modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada *L. acidophilus*'un inülin, oligofruktoz, β -glukan ve polidekstroz ile farklı kombinasyonlarla tam yağlı sütte AFM1 detoksifikasyonu üzerine etkisi araştırılmış olup çalışmanın sonunda *L. acidophilus*'un tek başına AFM1'i azaltma düzeyi prebiyotiklerin ilave edildiği duruma kıyasla daha yüksek bulunmuştur. *L. acidophilus*'un tekli ve prebiyotiklerle kombinasyon halinde de AFM1 biyoyararlanımını azalttığı görülmüştür (Wochner ve ark., 2019).

Çalışmamızda, inülinin prebiyotik etkisi probiyotik bakteriler arasında farklılık göstermiştir. Bu durum probiyotik bakteri suşlarının prebiyotiklere özgü yanıt oluşturmamasından kaynaklanmaktadır. İnülin ilavesinin AFM1'in bağlanmasına olumlu etkisi probiyotiklerin tekli kullanıldığı çalışma gruplarından ziyade kombine edildiği *L. acidophilus*+*B. bifidum* ve *L. rhamnosus*+*B. bifidum* çalışma gruplarında anlamlı olarak gözlemlenmiştir ($p < 0,001$). Burdan yola çıkarak çalışmamızda inülin ilavesinin probiyotiklerin kombinasyon halinde olduğu durumlarda AFM1 düzeyine olumlu etki gösterdiği söylenebilir. Benzer şekilde yapılan bir çalışmada yoğurt başlangıç kültürleri kullanılarak *L. plantarum*, *B. bifidum*, *B. animalis*'in tekli ve ikili kombinasyonlarda inülin ilavesiyle AFM1 bağlama yetenekleri araştırılmıştır. Bir günlük depolamanın sonunda inülin ilavesi *B. bifidum*+*B. animalis*'in AFM1 azaltma düzeyini olumsuz etkilerken *L. plantarum*+*B. bifidum* ve *L. plantarum*+*B. animalis*'in AFM1 azaltma düzeyini olumlu etkilemiştir (Sevim ve ark., 2019).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Elde edilen verilerden süt endüstrisinde sıklıkla kullanılan *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. bifidum* probiyotik bakterilerin AFM1 düzeylerini düşürmede etkili olduğu bulunmuştur. Bu nedenle probiyotik bakterilerin önemli bir rol oynadığı görülmektedir ve AFM1'in toksik etkisinin azaltılması için biyolojik bir ajan olarak kullanılabilir.

Çalışmamızda, AFM1'in azalma düzeyi sütte PBS'den daha yüksek bulunmuştur. Bu durum aflatoksinin süt proteinleri ile etkileşimini doğrulamıştır. İnülin ilavesi ise AFM1 azalma düzeyini genel olarak olumsuz etkilemiştir. Çalışmamızda koyun sütü en yüksek AFM1 azalmalarının görüldüğü ortam olarak tespit edilmiştir. Süt tüketimi yoluyla maruz kalınan AFM1'in azaltılması için probiyotik bakteri içeren sütler tercih edilebilir. Süt türleri arasında ise koyun sütüne öncelik verilebilir.

AFM1'in olumsuz etkilerini ortadan kaldırmaya yönelik *in vitro* ortamda gerçekleştirilen bu çalışma literatüre önemli bir katkı sağlayacaktır. Ek çalışmalarla da desteklenmesi beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdelmotilib NM, Hamad GM, Elderea HB, Salem EG, El Sohaimy SA. Aflatoxin M1 reduction in milk by a novel combination of probiotic bacterial and yeast strains. *European Journal of Nutrition & Food Safety*. 2018;8(2): 83-99.
- Abrar M, Anjum FM, Butt MS, Pasha I, Randhawa MA, Saeed F, Waqas K. Aflatoxins: biosynthesis, occurrence, toxicity, and remedies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2013; 53(8):862-74.
- Adibpour N, Soleimani-Zad S, Sarabi-Jamab M, Tajalli F. Effect of storage time and concentration of aflatoxin M1 on toxin binding capacity of *L. acidophilus* in fermented milk product. 2016;18(5):1209-1220.
- Altun D, Sarıcı SÜ. Keçi sütü: Bebek beslenmesinde ilk tercih mi olmalı. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2017; 60(1).
- Assaf JC, Nahle S, Chokr A, Louka N, Atoui A, El Khoury A. Assorted methods for decontamination of Aflatoxin M1 in milk using microbial adsorbents. *Toxins (Basel)*. 2019;11(6): 304.
- Barbiroli A, Bonomi F, Benedetti S, Mannino S, Monti L, Cattaneo T, Iametti S. Binding of aflatoxin M1 to different protein fractions in ovine and caprine milk. *Journal of Dairy Science*. 2007;90(2):532-540.
- Barukčić I, Bilandžić N, Markov K, Jakopović KL, Božanić R. Reduction in Aflatoxin M1 concentration during production and storage of selected fermented milks. *International Journal of Dairy Technology*. 2018;71(3): 734-740.
- Bbosa GS, Kitya D, Lubega A, Ogwal-Okeng J, Anokbonggo WW, Kyegombe DB. Review of the biological and health effects of aflatoxins on body organs and body systems. *Aflatoxins-Recent Advances And Future Prospects*. 2013;12: 239-265.
- Ben Salah-Abbes J, Abbes S, Jebali R, Haous Z, Oueslati R. Potential preventive role of lactic acid bacteria against Aflatoxin M1 immunotoxicity and genotoxicity in mice. *Journal of Immunotoxicology*. 2015;12(2): 107-114.

Benkerroum N. Chronic and acute toxicities of aflatoxins: Mechanisms of action. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020;17(2): 423.

Bovo F, Corassin CH, Rosim RE, de Oliveira CA. Efficiency of lactic acid bacteria strains for decontamination of Aflatoxin M1 in phosphate buffer saline solution and in skimmed milk. *Food and Bioprocess Technology*. 2013;6(8): 2230-2234.

Brackett RE, Marth EH. Association of aflatoxin M1 with casein. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*. 1982;174(6): 439-41.

Campagnollo FB, Ganey KC, Khaneghah AM, Portela JB, Cruz AG, Granato D, Corassin CH, Oliveira CA, Sant'Ana AS. The occurrence and effect of unit operations for dairy products processing on the fate of Aflatoxin M1: A review. *Food Control*. 2016;68: 310-329.

Corassin CH, Bovo F, Rosim RE, Oliveira CAF. Efficiency of *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria strains to bind aflatoxin M1 in UHT skim milk. *Food Control*. 2013;31(1): 80-83.

Çelikel A, Göncü B, Akın MB, Akın MS. Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin canlılığını etkileyen faktörler. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*. 2018;8(1): 59-68.

Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi SJ. Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*. 2019;8(3):92.

Demir E, Kılıç Başyigit G, Özbacı D. Biosafety assessment of probiotics “probiotics”. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*. 2019;7(4): 639-645.

Dinleyici M, Yıldırım GK, Aydemir Ö, Kaya TB, Çarman KB. Anne sütü Aflatoksin M1 (AFM1) düzeyleri ve annenin beslenme alışkanlıkları ile ilişkisinin değerlendirilmesi. *Osmangazi Tıp Dergisi*. 2018;40(3): 86-91.

Drago L, Rodighiero V, Celeste T, Rovetto L, De Vecchi E. Microbiological evaluation of commercial probiotic products available in the USA in 2009. *Journal of Chemotherapy*. 2010;22(6):373-377.

El Khoury A, Atoui A, Yaghi J. Analysis of aflatoxin M1 in milk and yogurt and AFM1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. *Food Control*. 2011;22(10):1695-1699.

Elal Muş T, Çetinkaya F. Probiyotik olarak bifidobakteriler. *Türkiye Klinikleri Gıda Bilimleri*. 2018. 21-27.

El-Nezami H, Kankaanpää P, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, Aflatoxin B1. *Food and Chemical Toxicology*. 1998;36(4): 321-326.

Elsanhoty RM, Salam SA, Ramadan MF, Badr FH. Detoxification of Aflatoxin M1 in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria. *Food Control*. 2014;43: 129-34.

Ekici B. Probiyotik ve prebiyotikler. Arslan M. Fonksiyonel Besinlerin Sağlıkta Rolü. 1. Basım. Güven Plus Grup A.Ş. Yayınları; 2021, 31-53.

Ertaş N, Gönülalan Z, Yıldırım Y, Karadal F. A survey of concentration of Aflatoxin M1 in dairy products marketed in Turkey. *Food Control*. 2011;22(12): 1956-9.

Fakhri Y, Rahmani J, Oliveira CAF, Franco LT, Corassin CH, Saba S, Rafique J, Khaneghah AM. (2019). Aflatoxin M1 in human breast milk: A global systematic review, meta-analysis, and risk assessment study (Monte Carlo simulation). *Trends In Food Science & Technology*. 2019; 88: 333-342.

Fazilah NF, Ariff AB, Khayat ME, Rios-Solis L, Halim M. Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. *Journal of Functional Foods*. 2018;48: 387-99.

Fung F, Clark RF. Health effects of mycotoxins: A toxicological overview. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*. 2004;42(2): 217-234.

Galli C, Risé P. The role of fats in milk and dairy products in nutrition and health from infancy to adulthood. Dairy in Human Health and Disease Across the Lifespan. 2017;4: 57–72.

Getaneh G, Mebrat A, Wubie A, Kendie H. Review on goat milk composition and its nutritive value. Journal of Nutrition and Health Sciences. 2016;3(4): 401-410.

Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) Consensus Statement On The Definition and Scope of Prebiotics. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology. 2017;14(8): 491-502.

Girgin G, Başaran N, Şahin G. Dünyada ve Türkiye’de insan sağlığını tehdit eden mikotoksinler. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi. 2001;58(3): 97-118.

Govaris A, Roussi V, Koidis PA, Botsoglou NA. Distribution and stability of Aflatoxin M1 during production and storage of yoghurt. Food Additives & Contaminants. 2002; 19(11): 1043-1050.

Guo Y, Yuan Y, Yue T. Aflatoxin M1 in milk products in China and dietary risk assessment. Journal of Food Protection. 2013;76(5): 849-53.

Gustaw, W, Kordowska-Wiater M, Koziol J. The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria. 2011;10(4):455-466.

Haenlein GFW. Goat milk in human nutrition. Small Ruminant Research. 2004;51(2): 155-163.

Haskard C, Binnion C, Ahokas J. Factors affecting the sequestration of aflatoxin by *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. Chemico-Biological Interactions. 2000. 15;128(1): 39-49.

Hawrelak JA. Prebiotics, Synbiotics, and Colonic Foods. Textbook of Natural Medicine. Fifth Edition. 2020; 797–808.

Hernandez-Mendoza A, Guzman-de-Peña D, Garcia HS. Key role of teichoic acids on aflatoxin B binding by probiotic bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 2009;107(2): 395-403.

Hof H. Mycotoxins in milk for human nutrition: Cow, sheep and human breast milk. *GMS Infectious Disease*. 2016;4: 3.

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. *IARC Monographs Evaluation Carcinogenic Risks to Humans*. 2002;82: 1-556.

Iqbal SZ, Jinap S, Pirouz AA, Faizal AA. Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2015;46(1): 110-119.

Ishikawa AT, Takabayashi-Yamashita CR, Ono EY, Bagatin AK, Rigobello FF, Kawamura O, Hirooka EY, Itano EN. Exposure assessment of infants to Aflatoxin M1 through consumption of breast milk and infant powdered milk in Brazil. *Toxins*. 2016;8(9): 246.

Ismail A, Levin RE, Riaz M, Akhtar S, Gong YY, de Oliveira CAF. Effect of different microbial concentrations on binding of Aflatoxin M1 and stability testing. *Food Control*. 2017;73: 492-496.

Jana T, Acker BW, Cash BD. Probiotics and prebiotics, including fibers and medicinal foods. In *Clinical and Basic Neurogastroenterology and Motility*. Academic Press. 2020: 587-600.

Kabak B, Dobson AD. Mycotoxins in spices and herbs-An update. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017;57(1): 18-34.

Kabak B, Var I. Factors affecting the removal of aflatoxin M1 from food model by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Journal of Environmental Science and Health*, 2008;43(7):617-624.

Kaptan H. Bifidobakteriler, karakteristik özellikleri, insan sağlığındaki rolleri ve süt ve süt ürünlerindeki potansiyel kullanımları. *Gıda*. 2000;25(6); 459-465.

Karadal F, Onmaz N, Hızlısoy H, Yıldırım Y, Serhat A, Gönülalan Z. Niğde İlindeki Çiğ Koyun, Keçi ve İnek Sütlerinde Aflatoxin M1 Düzeyleri. Kocatepe Veteriner Dergisi. 2018;11(2):119-25.

Kearney SM, Gibbons SM. Designing synbiotics for improved human health. Microbial Biotechnology. 2018;11(1):141-144.

Kip P, Meyer D, Jellema R. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. International Dairy Journal. 2006;16(9):1098-103.

Liu A, Zheng Y, Liu L, Chen S, He L, Ao X, Yang Y, Liu S. Decontamination of aflatoxins by lactic acid bacteria. Current Microbiology. 2020;77(12): 3821-3830.

Madalı B, Güleç A, Ayaz A. A survey of Aflatoxin M1 in different milk types in Turkey: risk assessment of children's exposure. Progress in Nutrition. 2018;20(4): 659-64.

Mahmood Fashandi H, Abbasi R, Mousavi Khaneghah A. The detoxification of Aflatoxin M1 by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.*: A review. Journal of Food Processing and Preservation. 2018;42(9):13704.

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. 2018;10(6): 214.

Markowiak P, Śliżewska K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. Nutrients. 2017. 15;9(9): 1021.

Mills S, Ross RP, Hill C, Fitzgerald GF, Stanton C. Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. International Dairy Journal. 2011;21: 377-401.

Montaseri H, Arjmandtalab S, Dehghanzadeh G, Karami S, Razmjoo M, Sayadi M. Effect of production and storage of probiotic yogurt on Aflatoxin M1 residue. Journal of Food Quality and Hazards Control. 2014;1(1):7-14.

Murphy PA, Hendrich S, Landgren C, Bryant CM. Food mycotoxins: An update. Journal of Food Science. 2006;71: 51-65.

Nazhand A, Durazzo A, Lucarini M, Souto EB, Santini A. Characteristics, occurrence, detection and detoxification of aflatoxins in foods and feeds. *Foods*. 2020;9(5): 644.

Nduti N, McMillan A, Seney S, Sumarah M, Njeru P, Mwaniki M, Reid G. Investigating probiotic yoghurt to reduce an Aflatoxin B1 biomarker among school children in eastern Kenya: Preliminary study." *International Dairy Journal*. 2016;63: 124-129.

Niness KR. Inulin and oligofructose: what are they? *The Journal of Nutrition*. 1999;129(7): 1402S-6S.

Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions - A review. *International Journal of Medical Microbiology*. 2010;300(1): 57-62.

Omak G, Özcan T, Ersan Yılmaz L. Biyolojik detoksifikasyon ve probiyotikler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2016; 30(1): 157-168.

Özkaya Ş, Temiz A. Aflatoksinler: Kimyasal yapıları, toksisiteleri ve detoksifikasyonları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*. 2003;1: 1-21.

Palumbo R, Crisci A, Venâncio A, Cortiñas Abrahantes J, Dorne JL, Battilani P, Toscano P. Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in cereal-based feed and food. *Microorganisms*. 2020;8(1):74.

Pamuk Ş. Koyun ve Keçi Sütü. *Türkiye Klinikleri Gıda Bilimleri-Özel Konular* 2019;5(1): 44-51.

Park YW, Juarez M, Ranos M, Haenlein GFW. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*. 2007;68: 88-113.

Park YW, Nam MS. Bioactive peptides in milk and dairy products: A Review. *Korean Journal for Food Science and Animal Resources*. 2015;35(6): 831-840.

Pereira PC. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*. 2014;30(6):619-627.

Probiotics and prebiotics. *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines*. February 2017.

Ranadheera CS, Evans CA, Adams M, Baines SK. Co-culturing of probiotics influences the microbial and physico-chemical properties but not sensory quality of fermented dairy drink made from goats' milk. *Small Ruminant Research*. 2016;136: 104-108.

Ranadheera CS, Naumovski N, Ajlouni S. Non-bovine milk products as emerging probiotic carriers: Recent developments and innovations. *Current Opinion in Food Science*. 2018; 22: 109–114.

Rezac S, Kok CR, Heermann M, Hutkins R. Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Frontiers In Microbiology*. 2018;9: 1785.

Roberfroid MB, Delzenne NM. Dietary fructans. *Annual Review of Nutrition*. 1998;(18): 117-143.

Rocha M, Freire F, Maia F, Guedes M, Rondina D. Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*. 2014;36(1): 159-65.

Rossoni RD, Ribeiro FC, Barros PP, Mylonakis E, Junqueira JC. A prerequisite for health: probiotics. In *Microbiomics*. Academic Press. 2020; 225-244.

Santini A, Ritieni A. Aflatoxins: risk, exposure and remediation. *Aflatoxins-Recent Advances and Future Prospects*. 2013;16: 343- 376.

Sarımehmetoğlu B, Küplülü Ö. Binding ability of aflatoxin M1 to yoghurt bacteria. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2004; (51):195-198.

Serrano-Nino J, Cavazos-Garduno A, Hernandez-Mendoza A, Applegate B, Ferruzzi M, San Martin-González M. Assessment of probiotic strains ability to reduce the bioaccessibility of Aflatoxin M1 in artificially contaminated milk using an in vitro digestive model. *Food Control*. 2013;31(1): 202-207.

Sevim S, Topal GG, Tengilimoglu Metin MM, Sancak B, Kizil M. Effects of inulin and lactic acid bacteria strains on Aflatoxin M1 detoxification in yoghurt. *Food Control*. 2019;100: 235-239.

Shahbazi Y. Aflatoxin M1 contamination in milk and dairy products: Implications on human health. In *Nutrients in Dairy and their Implications on Health and Disease*. 2017; 237-250.

Sherif SO, Salama EE, Abdel-Wahhab MA. Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2009;212(4): 347-68.

Tesfamariam K, De Boevre M, Kolsteren P, Belachew T, Mesfin A, De Saeger S, Lachat C. Dietary mycotoxins exposure and child growth, immune system, morbidity, and mortality: a systematic literature review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020;60(19): 3321-3341.

Toscano M, Vecchi E, Rodighiero V, Drago L. Microbiological and genetic identification of some probiotics proposed for medical use in 2011. *Journal of Chemotherapy*. 2013;25(3): 156-61.

Tuz MK, Asan A, Ökten S. Devam sütlerinde aflatoksin M1 varlığının elisa yöntemiyle tespit edilmesi. *Trakya University Journal of Natural Sciences*. 2017;18(1): 55-58.

Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerindeki Bulaşanların Maksimum Limitleri Hakkında Tebliğ. 17 Mayıs 2008. Sayı: 26879.

Türkiye Özgü Beslenme Rehberi (TÜBER). 2015.

Ullah M, Raza A, Ye L, Yu Z. Viability and composition validation of commercial probiotic products by selective culturing combined with next-generation sequencing. *Microorganisms*. 2019; 29;(7):188.

Ünüsan N. Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*. 2006;44(11): 1897-900.

Ünüsan N. Systematic review of mycotoxins in food and feeds in Turkey. *Food Control*. 2019;(97):1-14.

Vaz A, Cabral Silva AC, Rodrigues P, Venâncio A. Detection methods for Aflatoxin M1 in dairy products. *Microorganisms*. 2020;8(2): 246.

Verduci E, D'Elia S, Cerrato L, Comberiati P, Calvani M, Palazzo S, Martelli A, Landi M, Trikamjee T, Peroni DG. Cow's milk substitutes for children: nutritional aspects of milk from different mammalian species, special formula and plant-based beverages. *Nutrients*. 2019;11(8):1739.

Wild CP, Gong YY. Mycotoxins and human disease: A largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*. 2010;31(1): 71-82.

Wochner KF, Moreira MCC, Kalschne DL, Colla E, Drunkler DA. Detoxification of Aflatoxin B 1 and M1 by *Lactobacillus acidophilus* and prebiotics in whole cow's milk. *Journal of Food Safety*. 2019;39(5).

World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. Probiotics and prebiotics. February 2017.

Yörük NG, Güner A. Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması ve Weissella türlerinin gıda mikrobiyolojisinde önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*. 2011;6(2): 163-176.

Yüksel N, Albayrak Bulut Ç. Süt Ortamında *Lactobacillus plantarum* NRRLB 4496'nın Aflatoksin M1 (AFM1) Bağlama Potansiyeli. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2020; 8(1): 99-106.

Zamberlin Š, Samaržija D. The effect of non-standard heat treatment of sheep's milk on physico-chemical properties, sensory characteristics, and the bacterial viability of classical and probiotic yogurt. *Food Chemistry*. 2017;225: 62-68.

EKLER



EK 1. Probiyotik bakterilerin tekli ve inülinli kombinasyonlarının AFM1 bağlama yeteneğine etkisinin PBS ve farklı süt türlerinde incelenmesi-özet

	<i>L.acidophilus</i>	<i>L.rhamnosus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>L.acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i>	<i>L.rhamnosus</i> + <i>B. bifidum</i>	<i>L.acidophilus</i> + inülin	<i>L.rhamnosus</i> + inülin	<i>B.bifidum</i> + inülin	<i>L.acidophilus</i> + <i>B. bifidum</i> + inülin	<i>L.rhamnosus</i> + <i>B. bifidum</i> + inülin
PBS	%5,11 ±2,69	%2,56 ±2,02	%9,64 ±2,23	%12,52 ±1,19	%7,65 ±1,90	%5,64 ±1,96	%5,84 ±0,47	%3,84 ±1,93	%8,75 ±3,10	%2,32 ±0,96
İNEK SÜTÜ	%38,50 ±1,50	%34,63 ±2,01	%40,14 ±0,38	%34,68 ±0,47	%34,50 ±4,83	%38,94 ±1,45	%9,08 ±0,50	%19,78 ±1,16	%15,79 ±0,72	%21,50 ±0,66
KEÇİ SÜTÜ	%31,45 ±1,20	%19,56 ±0,82	%26,03 ±0,10	%24,87 ±0,14	%15,01 ±0,97	%30,07 ±0,22	%24,70 ±0,78	%18,59 ±0,05	%34,57 ±0,23	%38,01 ±0,21
KOYUN SÜTÜ	%39,81 ±0,03	%39,71 ±0,34	%32,49 ±0,78	%38,55 ±0,18	%42,90 ±2,92	%36,07 ±0,47	%42,51 ±0,08	%37,09 ±0,09	%40,77 ±0,05	%40,64 ±0,03

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	KÜBRA	Uyruğu	TC
Soyadı	ŞANALDI	Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	AFYONKARAHİSAR ALİ ÇAĞLAR ANADOLU LİSESİ	2013
Lisans	ANKARA ÜNİVERSİTESİ	2017
Yüksek Lisans	AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ	2021
Doktora		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İNGİLİZCE	YÖKDİL	81.25

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
PROBİYOTİK BAKTERİLERİN FARKLI SÜT TÜRLERİNDE AFLATOKSİN M1 DETOKSİFİKASYON KAPASİTELERİNİN BELİRLENMESİ	AKDENİZ BAP	2020-2021

Burslar-Ödüller:

Yayınlar ve Bildiriler