

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Yulaf Kepeği ile *LEUCONOSTOC LACTIS* Probiyotik Bakterisinin  
Badem Sütünde Aflatoksin B1 (AFB1) Biyoerişilebilirliği  
Üzerine Etkisi**

**Dyt. Ayşenur AYDIN**

**Toplu Beslenme Sistemleri Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ANKARA  
2024**



T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Yulaf Kepeği ile *LEUCONOSTOC LACTIS* Probiyotik Bakterisinin  
Badem Sütünde Aflatoksin B1 (AFB1) Biyoerişebilirliği Üzerine  
Etkisi**

**Dyt. Ayşenur AYDIN**

**Toplu Beslenme Sistemleri Programı  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. Mevlüde KIZIL**

**ANKARA**

**2024**

**ONAY SAYFASI****YULAF KEPEĞİ İLE *LEUCONOSTOC LACTIS* PROBİYOTİK BAKTERİSİNİN  
BADEM SÜTÜNDE AFLATOKSİN B1 (AFB1) BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİSİ****ÖĞrenci: Ayşenur AYDIN****Danışman: Prof. Dr. Mevlüde KIZIL**

Bu tez çalışması 17.05.2023 tarihinde jürimiz tarafından "Toplu Beslenme Sistemleri Programı" nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Başkanı:** *Dr. Öğr.Üyesi Sümeyra SEVİM KARACİF*  
*Ankara Medipol Üniversitesi*

**Tez Danışmanı:** *Prof. Dr. Mevlüde KIZIL*  
*Hacettepe Üniversitesi*

**Üye:** *Dr. Öğr. Üyesi Damla GÜMÜŞ*  
*Hacettepe Üniversitesi*

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

04 Haziran 2024

*Prof. Dr. Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN***Enstitü Müdürü**

## YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe Üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H.Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir. <sup>(1)</sup>
- Enstitü / Fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 6 ay ertelenmiştir. <sup>(2)</sup>
- Tezimle ilgili gizlilik kararı verilmiştir. <sup>(3)</sup>

04 /06/2024

Dyt. Ayşenur AYDIN

“Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge”

- (1) Madde 6. 1. Lisansüstü teze ilgili patent başvurusu yapılması veya patent alma sürecinin devam etmesi durumunda, tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu iki yıl süre ile tezin erişime açılmasının ertelenmesine karar verebilir.
- (2) Madde 6. 2. Yeni teknik, materyal ve metotların kullanıldığı, henüz makaleye dönüşmemiş veya patent gibi yöntemlerle korunmamış ve internette paylaşılması durumunda 3. şahıslara veya kurumlara haksız kazanç imkanı oluşturabilecek bilgi ve bulguları içeren tezler hakkında tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulunun gerekçeli kararı ile altı ayı aşmamak üzere tezin erişime açılması engellenebilir.
- (3) Madde 7. 1. Ulusal çıkarları veya güvenliği ilgilendiren, emniyet, istihbarat, savunma ve güvenlik, sağlık vb. konulara ilişkin lisansüstü tezlerle ilgili gizlilik kararı, tezin yapıldığı kurum tarafından verilir \*. Kurum ve kuruluşlarla yapılan işbirliği protokolü çerçevesinde hazırlanan lisansüstü tezlere ilişkin gizlilik kararı ise, ilgili kurum ve kuruluşun önerisi ile enstitü veya fakültenin uygun görüşü üzerine üniversite yönetim kurulu tarafından verilir. Gizlilik kararı verilen tezler Yükseköğretim Kuruluna bildirilir. Madde 7.2. Gizlilik kararı verilen tezler gizlilik süresince enstitü veya fakülte tarafından gizlilik kuralları çerçevesinde muhafaza edilir, gizlilik kararının kaldırılması halinde Tez Otomasyon Sistemine yüklenir

\* Tez danışmanının önerisi ve enstitü anabilim dalının uygun görüşü üzerine enstitü veya fakülte yönetim kurulu tarafından karar verilir.

## ETİK BEYAN

Bu çalışmadaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Prof. Dr. Mevlde KIZIL danışmanlığında tarafımdan üretildiğini ve Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Yönergesine göre yazıldığını beyan ederim.

Dyt. Ayşenur AYDIN

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyunca değerli deneyimlerini benimle her daim paylaşıp yol gösteren kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Mevlüde KIZIL'a

Tez ve laboratuvar çalışmasının her aşamasında bana yol gösterip emek veren çok değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Sümeyra SEVİM KARACİF ve Arş. Gör. Arife MACİT'e

Hayatımın her döneminde olduğu gibi tez çalışma dönemimde de yanımda olan en büyük destekçilerim ve şansım olan sevgili aileme,

Her daim desteğini esirgemeyen benim için arkadaştan öte olan kız kardeşim Beste Ömeroğlu'na,

TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2211-Yurt içi Lisansüstü Burs Programı kapsamında yüksek lisans sürecimde destekleri için BİDEB'e,

Sonsuz teşekkür ederim.

## ÖZET

**Aydın, A., Yulaf Kepeği İle *Leuconostoc Lactis* Probiyotik Bakterisinin Badem Sütünde Aflatoksin B1 (AFB1) Biyoerişilebilirliği Üzerine Etkisi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Toplu Beslenme Sistemleri Programı Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2024.** Aflatoksin B1 (AFB1), *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* mantarlarının ikincil metabolizması ile üretilen bir tür mikotoksindir. AFB1 detoksifikasyonu mikotoksin kaynaklı olası sağlık risklerini azaltılabilmektedir. Bu çalışmada probiyotik olarak *Leuconostoc lactis*, prebiyotik olarak yulaf kepeğinin badem sütünde AFB1'i bağlama kapasitesi ve *in vitro* sindirim modeli kullanılarak biyoerişilebilirlik düzeyi araştırılmıştır. Oluşturulan çalışma gruplarında (Pozitif ve negatif kontrol, AFB1+ *L. lactis*, AFB1+ yulaf kepeği, AFB1+ *L. lactis*+yulaf kepeği) serbest olarak bulunan AFB1 miktarı inkübasyon sonrası, *in vitro* sindirim modeli kullanılarak ince bağırsak ve kolonda sindirim sonrası Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) analizi ile belirlenmiştir. İnkübasyon sonrası AFB1 bağlama düzeyi %19,2-21,1 arasında bulunmuştur. En yüksek AFB1 bağlama kapasitesi *L. lactis*+ yulaf kepeği, en düşük AFB1 bağlama kapasitesi *L. lactis* içeren grupta görülmüştür, ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). İnce bağırsakta sindirim sonrası AFB1 bağlama düzeyi %25,8-60,3 oranları arasında bulunmuştur. En düşük AFB1 bağlanma düzeyi *L. lactis* probiyotik bakterisi içeren grupta en yüksek AFB1 bağlama düzeyi ise *L. lactis*+ yulaf kepeği içeren grupta bulunmuştur, veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Kolonda sindirim sonrası AFB1 bağlanma düzeyi %39,6-51,9 arasında bulunmuştur ancak gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). *In vitro* sindirim modeli kullanılarak AFB1'in badem sütünde biyoerişilebilirliği ince bağırsakta sindirim sonrası %74,2-39,7 arasında, kolonda sindirim sonrası %60,5-48,1 arasında bulunmuştur. İnce bağırsakta sindirim sonrası *L. lactis*+ yulaf kepeği içeren grupta pozitif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmüştür ( $p<0,05$ ). Kolonda sindirim sonrası en düşük biyoerişilebilirlik *L. lactis* + yulaf kepeği içeren grupta görülmüştür ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Bu çalışmada *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi ile yulaf kepeğinin AFB1 bağlanma kapasitesi ve *in vitro* sindirim sonrası biyoerişilebilirliği üzerine etkisi gösterilmiştir. *L. lactis* ile yulaf kepeği badem sütünde AFB1 biyoerişilebilirliği azaltıcı bir strateji olarak kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Aflatoksin B1, biyoerişilebilirlik, yulaf kepeği, *Leuconostoc lactis*, badem sütü



## ABSTRACT

**Aydin A., Effect of Oat Bran and *Leuconostoc Lactis* Probiotic Bacteria on Aflatoxin B1 (AFB1) Bioaccessibility in Almond Milk, Hacettepe University Graduate School of Health Sciences, Master of Sciences in Thesis in Food Service Systems Programme, Ankara, 2024.** Aflatoxin B1 (AFB1) is a type of mycotoxin produced by the secondary metabolism of the fungi *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. Mycotoxin induced possible health risks can be reduced with AFB1 detoxification. In this study, the binding capacity of *Leuconostoc lactis* as a probiotic and oat bran as a prebiotic in almond milk and its bioaccessibility level were investigated using an in vitro digestion model. The amount of free AFB1 in the created study groups (Positive and negative control, AFB1 + *L. lactis*, AFB1 + oat bran, AFB1 + *L. lactis* + oat bran) was determined after incubation and after digestion in the small intestine and colon using the in vitro digestion model (High Performance Liquid Chromatography). Determined by HPLC analysis. AFB1 binding level after incubation was found to be between 19.2-21.1%. The highest AFB1 binding capacity was seen in the group containing *L. lactis* + oat bran, and the lowest AFB1 binding capacity was seen in the group containing *L. lactis*, but the results were not statistically significant ( $p > 0.05$ ). Post-digestion AFB1 binding levels in the small intestine were found to be between 25.8-60.3%. The lowest AFB1 binding level was found in the group containing *L. lactis* probiotic bacteria and the highest AFB1 binding level was found in the group containing *L. lactis* + oat bran. The data was found to be statistically significant ( $p < 0.05$ ). Post-digestion AFB1 binding level in the colon was found to be between 39.6-51.9%, but the difference between groups was not statistically significant ( $p > 0.05$ ). Using an in vitro digestion model, the bioaccessibility of AFB1 in almond milk was found to be between 74.2-39.7% after digestion in the small intestine and 60.5-48.1% after digestion in the colon. After digestion in the small intestine, a statistically significant decrease was observed in the group containing *L. lactis* + oat bran compared to the positive control group ( $p < 0.05$ ). The lowest bioaccessibility after digestion in the colon was seen in the group containing *L. lactis* + oat bran, but it was not found to be statistically significant ( $p > 0.05$ ). In this study, the effects oat bran with *Leuconostoc lactis* probiotic bacteria on AFB1 binding capacity and bioaccessibility after in vitro digestion were demonstrated. Oat bran with *L. lactis* can be used as a reducing strategy of AFB1 bioaccessibility in almond milk.

**Key Words:** Aflatoxin B1, bioaccessibility, oat bran, *Leuconostoc Lactis*, almond milk

## İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI	iv
ETİK BEYAN	v
TEŞEKKÜR	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
ŞEKİLLER	xiii
TABLolar	xiv
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam	1
1.2. Amaç ve Varsayım	2
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Aflatoksinlerin Özellikleri ve Sınıflandırılması	3
2.2. Aflatoksin B1	5
2.3. Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri	6
2.4. Aflatoksinlerin Biyoerişilebilirliğinin Azaltılması	9
2.5. Probiyotikler	10
2.6. Prebiyotikler	11
2.7. Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu	14
2.7.1. AFB1 Detoksifikasyonunda Laktik Asit Bakterilerin Kullanımı	15
2.7.2. AFB1'in Detoksifikasyonunda Prebiyotiklerin Rolü	18
2.7.3. Aflatoksin Biyoerişilebilirliğinde <i>in vitro</i> Sindirim Modelleri	22
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	25
3.1. Gereç	25
3.2. Yöntem	25
3.2.1. Badem Sütü Örneklerinin Hazırlanması	25

3.2.2. Bakteri Ekiminin Yapılması	25
3.2.3. Çalışma Örneklerinin Hazırlanması	26
3.2.4. AFB1 Analizi	28
3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi	33
<b>4. BULGULAR</b>	34
4.1. AFB1 Analizi LOD, LOQ ve Geri Kazanım Değerleri	34
4.2. Probiyotik Bakteri ve Yulaf Kepeğinin İnkübasyon Sonrası Badem Sütünde AFB1'e Bağlanma Düzeyleri	35
4.3. <i>İn Vitro</i> Sindirim Modeli Uygulamasında İnce Bağırsak Sonrası Tespit Edilen AFB1 Biyoerişilebilirlik Düzeyleri	36
4.4. <i>İn Vitro</i> Sindirim Modeli Uygulamasında Kolon Sonrası Tespit Edilen AFB1 Biyoerişilebilirlik Düzeyleri	37
4.5. <i>İn Vitro</i> Sindirim Modeli Uygulamasında İnce Bağırsak ve Kolon Sonrası AFB1 Biyoerişilebilirlik Azalma Yüzdeleri	39
4.6. <i>İn Vitro</i> Sindirim Modeli Uygulamasında İnce Bağırsak ve Kolon Sonrası AFB1 Biyoerişilebilirlik Düzeylerinin Karşılaştırılması	40
<b>5. TARTIŞMA</b>	42
5.1. Probiyotik Bakteri ve Yulaf Kepeğinin Badem Sütünde AFB1'e Bağlanma Düzeyleri	43
5.2. Probiyotik Bakteri ve Yulaf Kepeğinin Badem Sütünde <i>İn Vitro</i> Sindirim Sonrası AFB1 Biyoerişilebilirlik Düzeyleri	45
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	49
6.1. Sonuçlar	49
6.2. Öneriler	51
<b>7. KAYNAKLAR</b>	53
<b>8. EKLER</b>	61
Ek-1: Tez Çalışması Orijinallik Raporu	
Ek-2: Orijinallik Ekran Çıktısı	
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	63

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

°C	Santigrat
µg	Mikrogram
βG	β-glukan
AF	Aflatoksin
AFAR	Aflatoksin aldehit redüktaz
AFB1	Aflatoksin B1
AFB2	Aflatoksin B2
AFBO	AFB1-exo-8,9-epoksit
AFG1	Aflatoksin G1
AFG2	Aflatoksin G2
AFM1	Aflatoksin M1
AFBQ1	Aflatoksin Q1
ANOVA	Tek Yönlü Varyans Analizi
Bkz	Bakınız
CYP450	Sitokrom P450
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
FOS	Frukto-oligosakkaritler
GI	Gastrointestinal
GST	Glutasyon S-transferaz
GOS	Galakto-oligosakkaritler
HCC	Hepatoselüler Karsinom
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
İVS	<i>İn Vitro</i> Sindirim

kg	Kilogram
kob	Koloni Oluşturan Birim
L	Litre
LAB	Laktik Asit Bakterisi
LC-MS/MS	Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi
LOD	Limit of Detection (Saptama Sınırı)
LOQ	Limit of Quantification (Ölçüm Limiti)
LPO	Lipid peroksidaz
MFO	Mikrozomal Karışık Fonksiyonlu Oksidaz
mg	Miligram
mL	Mililitre
MRS	De Man, Rogosa ve Sharpe
ng	Nanogram
ppb	Milyarda bir
ppm	Milyonda bir
PGH	Prostaglandin H
RNA	Ribonükleik Asid
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RSD	Relative Standard Deviation (Bağıl Standart Sapma)
SCFA	Kısa Zincirli Yağ Asitleri
SGT	Selenyum içeren yeşil çay
spp.	Türler
UHT	Ultra High Temperature (Ultra Yüksek Isı)
TOS	Trans-galakto-oligosakkaritler
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
ZEA	Zearalenon

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Aflatoksin B1'in kimyasal yapısı.	5
2.2. Aflatoksinlere akut ve kronik maruziyet durumunda karşılaşılan semptom ve hastalıklar.	8
2.3. Toksinlerin azaltılmasında probiyotiklerin rolü.	15
3.1. Bakteri ekimine ait besiyeri.	26
3.2. Badem sütü kontaminasyon öncesi AFB1 analizi kromatogramı.	26
3.3. %2, %4, %6 oranında yulaf kepeği eklenen badem sütleri.	27
3.4. <i>İn vitro</i> sindirimin şematik gösterimi.	32
4.1. Badem sütünde AFB1 kontaminasyonu sonrası tespit edilen AFB1 düzeyine ait HPLC kromatogramı.	34
4.2. Probiyotik bakteri ve yulaf kepeğinin inkübasyon sonrası badem sütünde AFB1'e bağlanma düzeyleri.	35
4.3. <i>İn vitro</i> sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri.	37
4.4. Yulaf kepeği bulunan örneklerde <i>in vitro</i> sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 düzeyine ait HPLC kromatogramı.	37
4.5. <i>İn vitro</i> sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri.	39
4.6. <i>Leuconostoc lactis</i> ve yulaf kepeği bulunan örneklerde <i>in vitro</i> sindirim modeli uygulamasında kolonda sindirim sonrası tespit edilen AFB1 düzeyine ait HPLC kromatogramı.	39
4.7. <i>İn vitro</i> sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak ve kolon sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri.	41

## TABLOLAR

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1. Türk Gıda Kodeksine göre gıdalardaki bulaşanların AFB1 maksimum limitleri	6
2.2. Probiyotiklerin seçilme kriterleri.	11
2.3. Prebiyotiklerin seçilme kriterleri.	12
2.4. Probiyotiklerin kaynakları ve sınıflandırılması.	13
2.5. Probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotiklerin AFB1'e bağlanması ile ilgili yapılan bazı çalışmalar.	20
2.6. <i>İn vitro</i> sindirim modeli kullanılarak AFB1 biyoerişilebilirliği ile ilgili yapılan çalışma özetleri.	24
3.1. Çalışma grupları ve içerikleri.	28
3.2. Uygulanan <i>in vitro</i> sindirim modeli bileşenleri.	30
3.3. <i>İn vitro</i> sindirim modelinin uygulama aşamaları.	31
4.1. AFB1'in geri kazanımı, LOD ve LOQ değerleri.	34
4.2. Probiyotik bakteri ve yulaf kepeğinin inkübasyon sonrası badem sütünde AFB1'e bağlanma düzeyleri.	35
4.3. <i>İn vitro</i> sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri.	36
4.4. <i>İn vitro</i> sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri.	38
4.5. <i>İn vitro</i> sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak ve kolon sonrasında AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdeleri.	40

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Kuramsal Yaklaşımlar ve Kapsam

Mikotoksinlerin hem insanlarda hem de hayvanlarda sağlığa olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Tüketilen miktarlara bağlı olarak, mikotoksinler ve metabolitleri ölüm de dahil ciddi akut zehirlenme ve olumsuz sağlık etkileri ile ilişkilidir. 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 (1).

Aflatoksinler (AF'ler), öncelikle *Aspergillus*'un iki türü olan *A. flavus* ve *A. parasiticus* tarafından üretilen en toksik mikotoksin grubudur. Doğada difuranokumarinler olarak adlandırılan bir gruba ait çeşitli AF türleri üretilir, ancak yalnızca dört tanesi, aflatoksin B1 (AFB1), aflatoksin B2 (AFB2), aflatoksin G1 (AFG1) ve aflatoksin G2 (AFG2) gıda maddelerinde bulunur. AFB1, en güçlü genotoksik ve kanserojen AF'dir ve gıdalarda en yaygın olarak bulunanlar arasındadır (2). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC) aflatoksinleri 1. grup insan kanserojen ajanı olarak sınıflandırmıştır (3).

Yüksek sıcaklık ve nem gibi çevresel koşullar, mantar gelişimi ve mikotoksin üretimi riskini artırır. Kontaminasyonu etkileyen faktörler arasında pH, mantar suşu ve substrat bulunur. Tüketiciyi korumak için mikotoksin maruziyeti mümkün olduğunca düşük tutulmalıdır. Pek çok ülkede, gıdalardaki mikotoksin ile ilgili olarak belirlenmiş kabul edilebilir sınırlarla ilgili düzenlemeler vardır. Aflatoksinlerin kabul edilebilir üst limiti, süt ve süt ürünlerinde toplam AFB1 için 1–20 µg/kg ve AFM1 için 0,05–0,5 µg/kg'dır (4).

Yapılan bazı çalışmalar, probiyotik mikroorganizmaların aflatoksin moleküllerine fiziksel bir yapışma yoluyla bağlanabildiğini ve bu olayda hücre duvarı yapısının çok önemli bir rol oynadığını belirtmiştir (4, 5). Probiyotiklerdeki aflatoksin B1 ve diğer kanserojen bileşiklere bağlanma bölgelerinin doğasını belirlemek için farklı kimyasal, fiziksel ve enzimatik eylemler incelenmiştir (6).



Sonuç olarak, aflatoksinlerin sağlık üzerinde olumsuz etkileri nedeniyle diyetle maruziyetini en aza indirmek için, detoksifikasyonda biyolojik yöntemler önem taşımaktadır ve bu yöndeki çalışmalar ilgi çekicidir. Bu doğrultuda, gastrointestinal sindirim sırasında mikotoksinlerin biyoyararlılığının azaltılmasında ilgi çeken stratejilerden biri biyolojik ajanların kullanılmasıdır. Bazı laktik asit bakterisi (LAB) suşlarının, hücre duvarlarına bağlanarak veya *in vitro* enzimleriyle bozularak farklı mikotoksinleri gıda maddelerinden uzaklaştırabildikleri bulunmuştur (7). Yapılan bu çalışmada da *in vitro* sindirim modeli de kullanılarak yulaf kepeği ile *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisinin badem sütünde Aflatoksin B1 (AFB1) biyoerişilebilirliği üzerine etkisi literatürde ilk kez incelenmiştir.

## 1.2. Amaç ve Varsayım

Yapılan bu çalışmanın amacı *in vitro* sindirim modeli kullanılarak yulaf kepeği ile *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisinin badem sütünde Aflatoksin B1 (AFB1) biyoerişilebilirliği üzerine etkisini araştırmaktır.

Varsayımlar;

1) Yulaf kepeğinin badem sütünde Aflatoksin B1 (AFB1) biyoerişebilirliği üzerine etkisi vardır.

2) *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisinin badem sütünde Aflatoksin B1 biyoerişebilirliği üzerine etkisi vardır.

3) *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi ve yulaf kepeği birlikte kullanıldığında badem sütünde Aflatoksin B1 biyoerişebilirliği üzerine etkisi daha yüksektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Aflatoksinlerin Özellikleri ve Sınıflandırılması

Günümüze kadar çeşitli mantar türleri tarafından üretilen, farklı kimyasal yapı ve özelliklere sahip 400'den fazla farklı mikotoksin türü tanımlanmıştır (3). Mikotoksin üreten mantarların ana cinsleri arasında *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* ve *Alternaria* bulunur. Bu cinsler tarafından üretilen mikotoksinler arasında aflatoksinler, fumonisinler, okratoksin A, zearalenon ve deoksinivalenol bulunur. Dünya çapında üretilen ve mikotoksin kontaminasyonu ile ilişkilendirilen besin ürünleri başlıca tahıllar, tohumlar, sert kabuklu yemişler, meyveler, sebzeler ve baharatlardır (8).

Aflatoksinler tarihte ilk olarak İngiltere'de 1960 yılında 100.000'nin üzerinde hindinin aniden hastalanıp öldüğü "Turkey X hastalığı" salgını sonrasında keşfedilmiştir. Hindiler zehirlenme belirtileri göstermiş ve bu hayvanlarda birkaç hafta içinde ölüm meydana gelmiştir. Ölüm sonrası analiz, hindilerin ciddi bağırsak iltihabına ve karaciğer nekrozuna sahip olduğunu göstermiştir. Kısa sürede bu hindilerin çoğunun Brezilya'dan gelen yer fıstığı unu ile beslendiği keşfedilmiş; bu yem denemeleri sırasında kümes hayvanlarına verildiğinde son derece zehirli olduğu ortaya çıkmıştır. Daha sonra bu olayların etken maddesinin *Aspergillus flavus'un* metabolitleri olan aflatoksinler olduğu keşfedilmiştir (9).

Aflatoksine akut maruziyet bulantı, kusma, karın ağrısı, akut konvülsiyonlara sebep olur. Kronik maruziyet ise hepatotoksisite, immünotoksisite ve teratojenisite gibi çeşitli komplikasyonlara yol açabilir. Aflatoksin, gelişmekte olan ülkelerde hepatoselüler karsinomun en önemli nedenlerinden biridir (10).

Aflatoksin ve metabolit türevlerinin yaklaşık 18 farklı formu tanımlanmıştır. Aralarında en toksik olanı, genotoksik, immünotoksik, teratojenik, kanserojen ve mutajenik toksik etkileri olduğu bilinen Aflatoksin B1'dir (11).

Aflatoksinler yer fıstığı, pirinç, mısır, badem, baharat ve incir gibi birçok ürünü kontamine etmektedir (12). Keşfedilen tüm mikotoksinler arasında AF'ler, güçlü akut

toksikolojik etkileri ve kronik hepatokarsinojenik etkileri nedeniyle en fazla araştırılan gruptur (13).

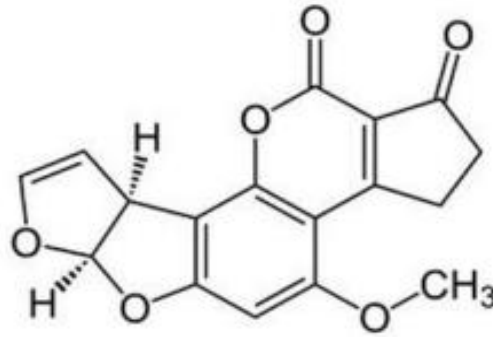
Dünyada yaklaşık 4,5 milyar kadar insan yüksek miktarlarda aflatoksine maruz kalmaktadır. Aflatoksin maruziyetinden özellikle çocuklar etkilenmektedir. Büyüme gelişme geriliğine ve karaciğer kanserine yol açan karaciğer hasarına neden olabilmektedir. Büyüme geriliği ile aflatoksin maruziyeti arasında nedensel bir ilişki kurmaya yönelik epidemiyolojik çalışmalar devam etmektedir. Yetişkinler, aflatoksin maruziyetine karşı çocuklardan daha yüksek bir toleransa sahiptir, ancak yine de risk altındadır. Hepatoselüler karsinom (HCC), aflatoksin maruziyeti sonucu ortaya çıkabilmekte ve tüm küresel HCC vakalarının %4,6 ila %28,2'sine aflatoksin neden olmaktadır. Tüm yüksek doz akut maruziyetlerin yaklaşık %25'i ölüme neden olabilmektedir (14, 15).

Aflatoksinin insan vücuduna en yaygın giriş yolu sindirimdir. Girişten sonra, karaciğerde mikrozomal karışık fonksiyonlu oksidaz (MFO) enzimleri tarafından reaktif epoksit ara maddesine metabolize edilir. MFO, sitokrom P450 (CYP450) süper ailesinin bir enzimidir. Bu epoksit ara maddesi (8,9-epoksit), DNA mutasyonundan sorumludur. Baskın mutasyon, p53 tümör baskılayıcı genin 249. kodonundaki G→T transversiyonu olarak tanımlanmıştır. Bu epoksit ayrıca RNA ve proteinler gibi diğer makromoleküllere bağlanarak hücrel düzensizliğe neden olabilir. Ayrıca proteinlerin, RNA'nın ve DNA sentezinin inhibisyonundan da sorumludur. Toksikiteye yol açan başka bir yol, glutatyonun tükenmesi ve ardından reaktif oksijen türlerinden kaynaklanan toksisitedir. Prostaglandin H (PGH) sentaz ve lipid peroksidaz (LPO) tarafından katalize edilen diğer karsinogenez yolları incelenmektedir (16).

Aflatoksin metabolizmasının başka bir yolu, AFB1'in hidroksilasyon yoluyla mikrozomal biyotransformasyonudur. AFM1 ve aflatoksin Q1 (AFQ1) gibi daha az toksik ve polar olmayan metabolitlerin oluşumuna yol açar. Ayrıca, AFB1 üzerindeki enzimatik ve enzimatik olmayan etki, bir dialdehit formu üretebilir. Aflatoksin dialdehit, aflatoksin aldehit redüktaz (AFAR) tarafından etki edilir ve dialkol olarak idrarla atılır. Çoğunlukla albümin olmak üzere proteinleri de bağlayabilir (10, 17).

## 2.2. Aflatoksin B1

Aflatoksin B1, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus parasiticus* mantarlarının ikincil metabolizması ile üretilen bir tür mikotoksindir (18). AFB1, siklopentenon halkasının kumarin yapısının lakton halkasına füzyonu ve ultraviyole ışığa maruz kaldığında mavi bölgede güçlü flüoresan emisyonu ile karakterize edilir. AFM1, AFB1'in başlıca hidroksillenmiş metabolitidir ve sitokrom P450 1A2'nin (CYP1A2) etkisi üzerine üretilir (19).



**Şekil 2.1.** Aflatoksin B1'in kimyasal yapısı (20).

Aflatoksin B1 bir "pro-kanserojendir" ve toksisitesi, biyoaktivasyon ve detoksifikasyon yollarıyla ilişkilidir. Toksisitesinden sorumlu mekanizmalar arasında oksidatif stresin indüklenmesi, sitotoksite ve DNA hasarı yer alır. AFB1 metabolizmasının baskın bölgesi karaciğerdir. Karaciğerde AFB1, sitokrom P450 1A1 (faz I ilaç metabolize edici enzimlerin CYP üst ailesinin bir üyesi) tarafından son derece reaktif ve elektrofilik bir türev olan AFB1-8,9-epoksite (AFBO) biyolojik olarak aktive edilir. Aflatoksin epoksit, DNA ve proteinler gibi makro moleküllere kovalent olarak bağlanır, böylece ciddi toksisiteden ve nihayetinde kanserojen aktiviteden sorumlu olan eklentiler oluşturur. AFBO'nun detoksifikasyonu, esas olarak, bir faz II konjugatif (detoksifikasyon) enzimi olan glutatyon S-transferaz (GST) tarafından glutatyon ile konjugasyonu yoluyla gerçekleşir. Özellikle, AFBO'nun yanı sıra, hayvan metabolizması aflatoksikol (AFL) veya AFM1 gibi nispeten daha az toksik metabolitler de üretebilir. Dikkate değer bir şekilde, bu metabolik yolların ve enzimlerin oluşturucu ekspresyonundaki ve katalitik aktivitedeki tür farklılıkları, çiftlik hayvanlarında AFB1'e karşı farklı duyarlılıktan sorumlu görünmektedir (21).

Türk Gıda Kodeksi'ne göre AFB1'in besinlerdeki maksimum limitleri Tablo 2.1'de verilmiştir.

**Tablo 2.1.**Türk Gıda Kodeksine göre gıdalardaki bulaşanların AFB1 maksimum limitleri (22).

Besin	AFB1 Maksimum Limit ( $\mu\text{g} / \text{kg}$ )
Yer fıstığı ve diğer yağlı tohumlar <sup>1</sup>	8,0
Brezilya fındığı ve fındık <sup>1</sup>	8,0
Antepfıstığı, badem, kayısı çekirdeği <sup>1</sup>	12,0
Sert kabuklu meyveler <sup>1</sup>	8,0
Antepfıstığı, badem, kayısı çekirdeği <sup>2</sup>	8,0
Brezilya fındığı ve fındık <sup>2</sup>	5,0
Kurutulmuş meyveler <sup>2</sup>	8,0
Tahıllar, bunlardan elde edilen ürünler ve bunların işlenmiş ürünleri	2,0
Mısır ve pirinç <sup>1</sup>	5,0
Bebek ve küçük çocuk ek gıdaları	0,10
Bebekler için özel tıbbi amaçlı diyet gıdalar	0,10

<sup>1</sup> Doğrudan insan tüketimine sunulmadan veya gıda bileşeni olarak kullanılmadan önce ayıklama veya diğer fiziksel işlemlere tabi tutulacak olan. <sup>2</sup> Doğrudan insan tüketimine sunulan veya gıda bileşeni olarak kullanılan

### 2.3. Aflatoksinlerin Sağlık Üzerine Etkileri

Aflatoksinlerle kontaminasyon tüm dünyada gıda kaynaklı hastalıkların ana nedenlerinden biridir. Aflatoksinler insan sağlığını kanserojen özellikleri nedeniyle olumsuz etkilemektedir. Bu toksin karaciğer hücrelerini önemli ölçüde etkilemektedir ve DNA'ya zarar veren toksik reaksiyonlarla sonuçlanabilmektedir (23). Aflatoksin oluşumunun kontrol altına alınması, kanseri önlemenin en kritik adımlarından biri olarak kabul edilebilir (8).

AFB1 maruziyeti, diyet alımı, cilt teması ve kontamine tozun solunması yoluyla gerçekleşir. Yutulan AFB1'in %80'den fazlası pasif taşıma yoluyla duodenum ve jejunumda emilir ve daha sonra karaciğer, böbrek ve dalakta birikir ancak

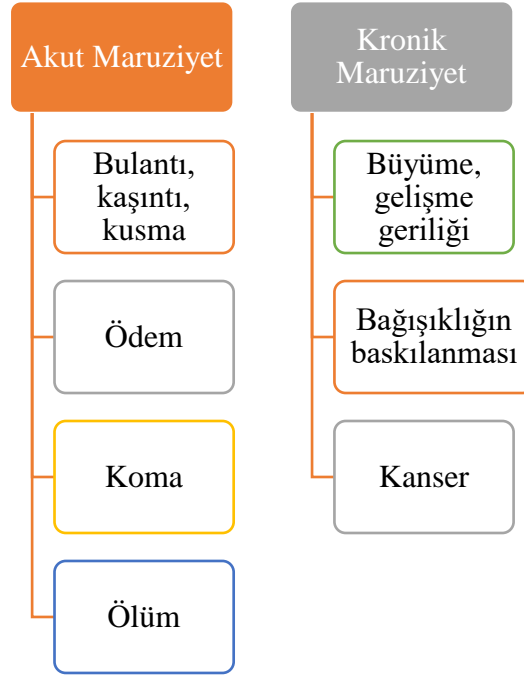
AFB1'in ana hedef organı karaciğerdir. AFB1'in toksik etkileri karaciğer, gastrointestinal sistem, sinir sistemi, bağışıklık hücreleri ve üreme organlarında gözlemlenmiştir (24).

Aflatoksin maruziyetinin dozu ve süresinin toksikoloji üzerinde önemli bir etkisi olduğuna dair kanıtlar vardır. Akut aflatoksikoz olarak bilinen yüksek dozlara maruz kalmak, akut hastalığa ve ölüme neden olabilmektedir. Yüksek düzeyde maruz kalma akut hepatik nekroza neden olabilmekte ve sonrasında siroz veya HCC ile sonuçlanabilmektedir. Akut karaciğer yetmezliği ateş, bulantı, kusma, karın ağrısı, kanama, sindirim sorunları, ödem, malabsorpsiyon, mental değişiklikler ve koma şeklinde kendini gösterebilmektedir (25).

Kronik ölümcül olmayan doza maruz kalmanın, aflatoksin B1 tarafından DNA alkilasyonuna büyük ölçüde neden olan beslenme ve immünolojik etkileri vardır. Doza bakılmaksızın, tüm maruz kalmaların kanser riski üzerinde kümülatif bir etkisi bulunmaktadır. Aflatoksin metabolitlerinin kanserojen etkisi, DNA'ya interkalasyon ve bazların epoksit kısmı tarafından alkillenmesi yoluyla. Bu, DNA mutasyonları veya programlanmış hücre ölümünün (apoptoz) sinyallenmesi durumlarında hücre döngüsü ilerlemesini önlemede önemli bir gen olan *p53* geninde mutasyonlara neden olur (16, 26, 27).

Aflatoksin maruziyetinden kaynaklanan sağlık etkileri, maruz kalma dozu ve süresinden kişinin yaşına, cinsiyetine, sağlığına, bağışıklığına, diyetine ve çevresel faktörlere kadar değişen çeşitli faktörlere bağlıdır. Aflatoksin toksisitesi olan hastalarda bir dizi spesifik olmayan belirti ve semptom olabilir, ancak baskın özellikler hepatotoksisitedir (28).

Akut toksisite, çok kısa sürede yüksek miktarda aflatoksin aldığı anda ortaya çıkar. Kronik toksisite ise, aflatoksinlerin uzun süreli düşük miktarlarda maruziyet ile ortaya çıkmaktadır. Akut ve kronik toksisiteye maruz kalınması ile karşılaşılan semptom ve hastalıklar Şekil 2.2'de verilmiştir (10).



**Şekil 2.2.** Aflatoksinlere akut ve kronik maruziyet durumunda karşılaşılan semptom ve hastalıklar.

Küresel olarak hepatoselüler karsinom (HCC), kansere bağlı ölümlerin ana nedenlerinden biridir. AFB1'in, küresel olarak AFB1 maruziyetine atfedilen HCC vakalarının %4,6-28,2'si ile önemli bir hepatokarsinojen olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, Hepatit B virüsü (HBV), AFB1'e maruz kalan kişilerde HCC riskini 30 kat artırabilmektedir. Yüksek maruziyet konsantrasyonları akut hepatite neden olmakta ve sonuç olarak kronik maruziyet karaciğer kanseri gelişimine neden olmaktadır (19). Diyetle aflatoksinlere düşük düzeyde kronik maruziyet, HCC gelişimi için bir risk faktörüdür. Bu tür maruziyetin deneysel olarak birçok hayvan türünde kansere neden olduğu gösterilmiştir ve çeşitli epidemiyolojik araştırmalar, diyetle aflatoksin alımının insanlarda HCC riski ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (29, 30). Yapılan bir çalışmada, AFB1'in karaciğer hücrelerinde yoğun reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini tetikleyerek oksidatif strese, iltihaplanmaya ve karaciğer hasarına yol açabileceğini de göstermiştir (24).

Aflatoksin ayrıca siroz ve hepatomegali dahil olmak üzere diğer karaciğer hastalıklarının etiolojisinde yer almaktadır. Kenya'da Gong ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, diyetle aflatoksin alımının çocuklarda hepatomegali ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (31).

Bağıışıklık sistemi, zararlı organizmalara karşı birincil ve temel koruyucu mekanizmadır. Mantarların ikincil bir metaboliti olan aflatoksin B1, bağıışıklık sisteminin baskılanmasına neden olur (32). Bağırsakta bulunan makrofajlar, bağırsak enfeksiyonuna karşı mukozal savunmada çok önemli bir rol oynar. Yapılan bir çalışmada AFB1'in M2 ve Paneth hücrelerini baskılayarak bağırsak bağıışıklık fonksiyonunu bozduğu bulunmuştur (33).

Anne sütünün immünolojik bileşenler içermesine rağmen, bebekler için potansiyel aflatoksin maruziyeti kaynağı olabilmektedir. AFM1, AFB1'in hidrosillenmiş metabolitidir ve anne sütünde AFB1 ile kontamine gıdaların alınmasından 12 ila 24 saat sonra tespit edilebilmektedir. Anne sütünün örneklerindeki AFM1 ile bozulmuş çocuk büyümesi arasındaki ilişkiyi araştıran birkaç epidemiyolojik çalışma vardır (34-36).

Aflatoksinler ayrıca beyin hücrelerinde kusurlu oksidatif fosforilasyon yoluyla mitokondriyal apoptozla sonuçlanan mitokondriyal DNA'nın işlevinde ve yapısında değışikliklere neden olur. İnsanda, AFB1'e kronik maruziyetin yalnızca hepatoselüler karsinoma değıil, aynı zamanda nöroblastoma ile sonuçlanabilmektedir (37). Yapılan çok sayıda çalışmada, AFB1'in nöronal dejenerasyonla (Reye sendromu) ciddi beyin ödemeine neden olan ensefalopatide etiyolojik bir ajan olabileceğini göstermiştir (38).

#### **2.4. Aflatoksinlerin Biyoerişilebilirliğinin Azaltılması**

Biyoerişilebilirlik, bir bileşimin gastrointestinal sistemdeki matriksinden salınan ve böylece bağırsaktan emilim için uygun hale gelen (yani kan dolaşımına giren) kısmı olarak tanımlanmıştır (39). *In vitro* çalışmalar, biyoaktif bileşenlerin biyoerişilebilirliğinin etkinliğinde çeşitli faktörlerin önemini ve kapsamını belirlemek ve gıda matrisinin bileşiminin sindirim süreci üzerindeki etkisinin derinlemesine analizini sağlamak için kullanılabilecek analitik bir yöntem oluşturmaktadır.

Gıdanın sindirim hızı ve üst gastrointestinal kanaldaki konumu öğün sonrası metabolizmayı ve insan sağlığını önemli ölçüde etkiler. İdeal olarak, besin sindirimini doğru ve güvenilir olarak çalışılması insanlar üzerinde *in vivo* olarak yapılmaktadır. Ancak insan klinik çalışmaları zordur çünkü her zaman teknik, finansal ve etik açıdan mümkün olmamaktadır. Bu nedenle insan gastrointestinal sistemini



yakından taklit edebilen güvenilir *in vitro* sindirim sistemlerinin elde edilmesine yönelik artan bir ilgi vardır. *In vitro* GI sistemleri, besinlerin üst gastrointestinal kanalındaki sindirimini ve insan sağlığı üzerindeki fizyolojik etkilerini araştırmak için son yıllarda yaygın olarak uygulanmıştır. İnsanlarda yapılan klinik çalışmalarla karşılaştırıldığında *in vitro* yaklaşımlar daha etkili, basit, daha ucuzdur ve daha da önemlisi etik kısıtlamalara sahip değildir (40). İnsanların beslenme gereksinimlerini karşıladıklarından emin olmak için farklı gıda ürünlerinin gastrointestinal kanalda nasıl sindirildiği ve emildiğinin iyi anlaşılması önemlidir. Bu nedenlerden dolayı gıda ve beslenme bilim insanları, gıdaların insan bağırsağındaki davranışını daha iyi anlamak için hem *in vitro* hem de *in vivo* sindirim modelleri de dahil olmak üzere farklı türde yöntemler geliştirmişlerdir (41).

İdeal *in vitro* model, insan gastrointestinal kanalında meydana gelen mekanik, kimyasal ve enzimatik süreçleri doğru bir şekilde simüle edebilmeli, aynı zamanda nispeten basit, hızlı ve gerçekleştirilmesi ucuz olmalıdır. Dahası, araştırmacıların gastrointestinal sistemin, özellikle ağız, mide ve ince bağırsak olmak üzere farklı bölgelerindeki gıda bileşenlerinin yapısı, bileşimi, sindirimi, salınımı ve çözünürlüğündeki değişiklikleri takip etmesine olanak sağlamalıdır (42).

## 2.5. Probiyotikler

Probiyotik özelliği gösteren bakterilere ilişkin ilk hipotez Rus bilim adamı Elie Metchnikoff tarafından ortaya atılmıştır. Metchnikoff, 1908 yılında bağırsak mikrobiyotasını değiştirmenin mümkün olabileceğini öne sürmüştür. Metchnikoff, Avrupa'da bazı kırsal popülasyonların daha uzun yaşadığını gözlemleyip yaptığı araştırmalar sonucunda o bölge halkının yoğurt tüketiminin çok daha fazla olduğunu fark etmiştir (40). Yaptığı incelemeler sonucunda yoğurdun yapısında canlı mikroorganizmalarla karşılaşmıştır. Bulduğu bu canlı mikroorganizmalara ise *Laktobasillus bulgaricus* adını vermiştir (43).

Dünya Sağlık Örgütü tanımına göre probiyotikler, uygun miktarlarda vücuda alındığında konak sağlığı üzerinde olumlu etki sağlayan canlı mikroorganizmalardır. *Bifidobacterium* ve LAB suşları, probiyotik özellikler sergileyen ve birçok fonksiyonel gıda ve diyet takviyesinde yer alan en yaygın kullanılan bakterilerdir.

Probiyotikler; hepatik hastalıklar, kabızlık, antibiyotik kullanımı sonrası diyare gibi gastrointestinal düzensizliklerin önlenmesinde fayda sağlamaktadır (44).

Bir organizmanın probiyotik olarak kullanılabilmesi için sahip olması gereken kriterler Tablo 2.2’de verilmiştir.

**Tablo 2.2.** Probiyotiklerin seçilme kriterleri.

1. İnsan kaynaklı suşların kullanımı
2. Mide asiditesine karşı dirençli olmalı
3. Mukozal yüzeylere tutunma
4. Sindirim kanalında canlı kalabilme
5. Konak sağlığı üzerinde olumlu etkileri olmalı
6. Canlı kalabilmeli
7. Patojen ve toksik olmamalı

Probiyotik özellik bakımından en iyi suşlar bu kriterlerin tamamına sahip suşlardır (45).

Sinbiyotikler ise bağırsak mikrobiyomu üzerinde yararlı bir etkiye sahip olduğu iddia edilen prebiyotiklerin ve probiyotiklerin bir kombinasyonudur (46).

## 2.6. Prebiyotikler

Prebiyotikler, bağırsak bakterilerinin büyümesini ve aktivitesini uyararak konakçı üzerinde yararlı bir etkiye sahip olan ve konağın genel sağlığını iyileştiren, sindirilmeyen besin öğeleridir. Probiyotik türleri, prebiyotikler mevcut olduğunda daha kolay çoğalabilmektedir (47).

Prebiyotikler insan sindirim sisteminde sindirilmeden kolona ulaşırlar. Bağırsakta fermantasyona uğrayarak kısa zincirli yağ asitlerine (SCFA) dönüşür (48). Kısa zincirli yağ asitleri, bazı patojenlerin büyümesini baskılayan ve bağırsak motilitesini etkileyen lümen pH'ını asitleştirir. Öte yandan kolon mukozası tarafından emilerek konakçıya enerji sağlanmasına katkıda bulunurlar. Bu etkilerin yanı sıra apoptozu uyararak ve inflamatuvar barsak hastalığında inflamasyonu iyileştirerek kolon kanserini azaltır (49, 50).

Bir bileşigi prebiyotik olarak sınıflandırmak için kullanılan kriterler Tablo 2.3'de verilmiştir.

**Tablo 2.3.** Prebiyotiklerin seçilme kriterleri (48).

- 
1. Midenin asidik pH'ına dirençli olmalı, memeli enzimleri tarafından hidrolize edilmemeli ve ayrıca gastrointestinal kanalda emilmemelidir.
  2. Kolon florasında bulunan bazı bakterilerin tarafından fermente edilebilmelidir.
  3. Bağırsak bakterilerinin büyümesi ve/veya aktivitesini artırabilmeli ve konakçı sağlığını olumlu yönde geliştirebilmelidir.
- 

İnülin ve pektin gibi prebiyotikler, ishalin yaygınlığının ve sıklığının azaltılmasını sağlar. Ayrıca mineral ve vitaminlerin biyoyararlanımının artmasında, tokluk hissi oluşturduğu için kilo kontrolünün sağlanmasında ve kolon kanseri riskinin azaltılmasında rol oynarlar (51).

Kuşkonmaz, şeker pancarı, sarımsak, hindiba, soğan, yer elması, buğday, bal, muz, arpa, domates, çavdar, soya fasulyesi, insan ve inek sütü, bezelye, fasulye, deniz yosunu ve mikroalgler prebiyotikler açısından zengin kaynaklardır (52). Tablo 2.4'de prebiyotiklerin kaynakları ve sınıflandırılması verilmiştir.

**Tablo 2.4.** Prebiyotiklerin kaynakları ve sınıflandırılması (53).

Prebiyotik Sınıfı	Prebiyotik Türleri	Gıda Kaynakları
1.Polioller(şeker alkolleri)	Laktuloz	Laktoz (süt)
2. Oligosakkaritler	Ksilitol, sorbitol, manitol, laktilol	
	Fruktooligosakkaritler	Meyveler ve sebzeler (soğan, muz, sarımsak vb.)
	Galaktooligosakkaritler	İnsan sütü
	Ksilooligosakkaritler	Bambu filizleri, süt, bal, meyve ve sebzeler
	İzomalto-oligosakkaritler	Nişasta (Buğday, arpa, mısır, pirinç, patates vb.)
	Rafinoz oligosakkaritler	Baklagiller, mercimek, bezelye, fasulye, nohut, ebegümeçi karışımı ve hardal tohumları
	İzomaltüloz İnülinler	Bal, şeker kamışı suyu Sarımsak, soğan, kuşkonmaz, hindiba, enginar
3.Lifler	$\beta$ -glukanlar, selüloz, pektin	Tahıllar,baklagiller, unlar,patatesler, sebzeler ve meyveler
4. Diğerleri	Baklagillerden elde edilen gıda	Acı bakla çekirdeği lifi
	Yaban mersini sulu özü, Hint dutu, Mantar ejder meyvesi ve Yacon kökü	Selenyum içeren yeşil çay (SGT) ve Çin yeşil çayı

**Yulaf kepeği**, insan bağışıklık sisteminin bakteriyel enfeksiyona etkisini önemli ölçüde artıran, yüksek kolesterol seviyelerini düşüren ve dolayısıyla kardiyovasküler hastalık ve felç riskini önemli ölçüde azaltan, *beta-glukan* olarak bilinen spesifik bir lif türü içerir. Gastrointestinal sistemde yulaf beta-glukanları, bütirat üreten mikroorganizmalar tarafından seçici olarak fermente edilen prebiyotiklerdir. Yulaf, lif faydalarının yanı sıra çok iyi bir selenyum kaynağıdır. Selenyum, immün sistemde ve antioksidan aktivitede görevli birçok

enzimin yapısında kofaktör olarak bulunan bir elementtir. Bu güçlü antioksidan etkiler, selenyumun astım semptomlarını azaltmada ve kalp hastalıklarının önlenmesinde yardımcı olmasını sağlar (54).

## 2.7. Aflatoksinlerin Detoksifikasyonu

Son yirmi yılda araştırmacılar, zararsız etkileri olan mikroorganizmaların kullanımına büyük önem vermişlerdir. Laktik asit bakterileri (LAB), çok çeşitli patojenik ve bozulmaya neden olan mantarlara karşı etkili olan antimikrobiyal bileşikler üretebilmektedir (8).

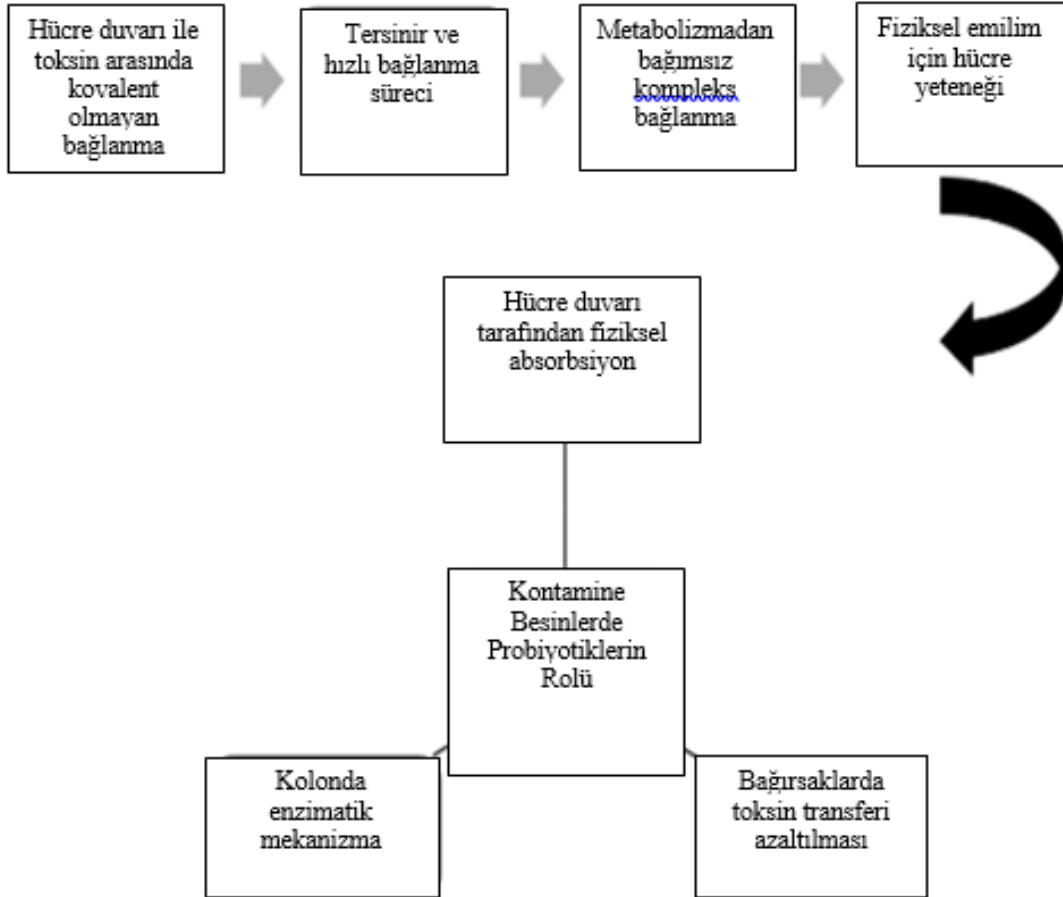
Mikotoksin miktarlarının besinlerde ve metabolizmada azaltılması veya önlenmesi üç ana grupta sınıflandırılabilir. Bunlar;

1. Mikotoksin kontaminasyonunun önlenmesi
2. Kontamine olmuş ürünlerin detoksifikasyonu
3. Kontamine olmuş besinin tüketilmesi durumunda mikotoksinin emiliminin engellenmesidir.

Mikotoksinler insan sağlığını olumsuz etkileyen toksik maddelerdir. Mikotoksin üretiminin önlenmesi ve mikotoksinlerin detoksifikasyonu, mikotoksin kontaminasyonunun kontrolüne yönelik iki ana stratejidir. Dekontaminasyon, besinlerdeki mikotoksin düzeylerini azaltmak için en uygun yöntem olup, bu toksinlerin tüketilmeden önce ham maddeden uzaklaştırılmasıdır. Mikotoksin detoksifikasyonu ise fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle sağlanmaktadır. Fiziksel yöntemler temel olarak termal işlem, ışınlama ve adsorpsiyon tekniklerini içerirken, kimyasal yöntemler asit/alkali çözeltisiyle işlem ve ozonlamayı içerir. Biyolojik detoksifikasyonun ana mekanizması, hücre dışı polimerik maddeler tarafından yüzeye bağlanmayı, enzim ve hücre metabolizma yoluyla parçalamayı içerir (55).

Mikotoksinlerin probiyotik bakteriler tarafından biyolojik detoksifikasyonu yıllar önce gözden geçirilmiştir. Probiyotikler, özellikle laktik asit bakterileri (LAB) ve *Saccharomyces* cinsi gibi mayalar, mikotoksinleri öncelikle yüzey adsorpsiyonu veya biyolojik bozunma olmak üzere iki mekanizma yoluyla giderebilir.

Mikroorganizmaların yüzey adsorpsiyonu yoluyla toksinlerin uzaklaştırılması, substratta herhangi bir kimyasal değişikliğe neden olmayan hızlı ve geri dönüşümlü bir işlemdir (55). Detoksifikasyon yönteminde ürünlerdeki toksin bileşenler inaktif olmalı veya toksin maddeyi üründen uzaklaştırmalıdır (56, 57). Toksinlerin azaltılmasında probiyotiklerin rolü Şekil 2.3'te ayrıntılı olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Toksinlerin azaltılmasında probiyotiklerin rolü (56).

### 2.7.1. AFB1 Detoksifikasyonunda Laktik Asit Bakterilerin Kullanımı

Mikotoksin adsorbe eden bakteriler, toksinleri sağlam bir şekilde bağlayabilmeli ve ayrışmadan hücre bütünlüğünü korumalıdır. LAB'nin probiyotik suş olarak seçilmesindeki en önemli faktörlerin, safra tuzlarının toksisitesi ve mide asidi koşulları gibi zorlu gastrointestinal sistem koşullarını tolere edebilme yetenekleri olduğu bilinmektedir. Öte yandan, probiyotik suşunun mülisnlere karşı direnç gösterme

yeteneği ve hatta bunların substrat olarak kullanılması, probiyotik seçim kriterlerinde dikkate alınması gereken temel faktörlerden biridir. Bu yetenekler, probiyotik mikroorganizmaların sindirim sisteminde varlığını sürdürmesini sağlar ve uygun bakteri kolonizasyonu ve mikotoksin azalmasıyla sonuçlanır (58).

Probiyotik bakteri suşları ile aflatoksin etkileşimi için en çok araştırılan mekanizma, bağlanma olarak bilinen fiziksel adsorpsiyondur. Aflatoksin salınımı, adsorpsiyon işlemi ile aflatoksinin kimyasal yapısında herhangi bir değişiklik olmaksızın gerçekleşir. Bağlanma olayı mikroorganizmanın hücre duvarı ile aflatoksin molekülü arasında gerçekleşir. Bu tür fiziksel bağlanma, Van der Waals, hidrofobik ve hidrojen bağları gibi kovalent olmayan etkileşimi içerir (59).

Bakteri suşlarının hücre duvarının bütünlüğü, aflatoksinin mikroorganizmaların yüzeyinde adsorpsiyonu için büyük öneme sahiptir. Pizzolitto, bu ilişkiyi adsorpsiyon izotermelerini kullanarak tanımlamış ve mikroorganizmadaki adsorpsiyon bölgelerinin sayısının ve aflatoksin moleküllerinin bağlanma bölgelerine olan afinitesinin aflatoksin adsorpsiyonunu etkilediğini ortaya koymuştur. Bueno ve diğerleri tarafından bazı probiyotik bakteriler kullanılarak aflatoksin B1'in fiziksel adsorpsiyonu için öngörülen modele göre probiyotik suş başına bağlanma bölgelerinin sayısı AFB1'i uzaklaştırma kapasitesini etkileyebilmektedir (60).

Probiyotik bakteriler tarafından aflatoksinin uzaklaştırılması için önerilen diğer mekanizma biyolojik bozunmadır. Biyodegradasyon, aflatoksin yapısının modifikasyonu ve bazı olası metabolitlerin üretimi ile sonuçlanır. Furfuran ve lakton halkası, aflatoksin molekülünün toksik özelliklerinde rol oynayan ana bileşen olduğundan, bunların bir mikroorganizma hücresi tarafından veya enzimatik metabolitleri aracılığıyla herhangi bir şekilde bölünmesi, detoksifikasyonda anahtar role sahiptir. Bununla birlikte, bazı bakteri ve mantar hücrelerinin aflatoksin parçalanması üzerinde etkili bir mikroorganizma olduğu bilinmektedir. Ayrıca, hücre içi ve hücre dışı enzimler gibi mikroorganizmaların çeşitli enzimatik metabolitleri, aflatoksin bozunması için etkili bileşikler olarak tanıtılmıştır. Bu mekanizmada aflatoksin toksik olmayan veya daha az toksik bileşiklere dönüşebilmektedir (5).

Suşların hücre duvarının karbonhidrat ve protein bileşenlerinin aflatoksin B1'e bağlanmada birincil rol oynadığı bilinmektedir. Bu bağlamda hücre duvarındaki peptidoglikan ve teikoik asit bölümünün bağlanmaya katkıda bulunabilmektedir. Haskard ve diğerleri, aflatoksinlerin LAB hücre dışı gibi probiyotiklere hidrofobik etkileşim yoluyla bağlanabileceğini öne sürmüştür (5).

Probiyotik bakterilerin bir bağlanma mekanizması yoluyla AFB1'i detoksifiye edebildiğini göstermiştir. *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* ve *L. lactis* dahil olmak üzere birçok *Lactobacillus* türü ve ayrıca bazı *Bifidobacterium*, *Enterococcus* ve *Pediococcus* türleri aflatoksin bağlama kapasitesine sahip olduğu belirtilmiştir (61).

DeneySEL çalışmaların mevcut meta-analizi, probiyotik bakterilerin *in vitro* aflatoksin B1 bağlama etkinliğinin suşa bağlı olduğunu göstermiştir. Gözden geçirilene çalışmalarda aflatoksin B1'i azaltmak için en çok denenene probiyotik mikroorganizmalar laktik asit bakterilerinin probiyotik suşları olmuştur. Daha yüksek bağlanma *Lactobasillus* ile ilişkilendirilmiştir ve ardından *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Lactococcus* ve *Enterococcus* türleri gelmiştir. Aflatoksin azaltma oranları, inkübasyon sıcaklığı, temas süresi, başlangıç mikrobiyal konsantrasyonu, başlangıç aflatoksin konsantrasyonu ve pH gibi değişkenlerden etkilenmektedir (6).

*Lactobasillus acidophilus* ve *L. rhamnosus* probiyotik suşları ile yoğurttaki AFB1'in biyolojik olarak azaltılmasının incelendiği bir çalışmada yoğurt başlangıç kültürleriyle karşılaştırmalı olarak eşit bakteriyel düzeyde bağlanma yeteneği araştırılmıştır. 4 °C'de 21 günlük saklama süresince değerlendirilen tüm test grupları arasında %64,56 ile %96,58 arasında değişen yüksek AFB1 bağlanma yüzdeleri bulunmuştur (58).

Fermente sorgum unu, darı unu ve obuşheradaki aflatoksin kontaminasyonunun azaltılmasında LAB rolünün araştırıldığı bir çalışmada *Lactobacillus rhamnosus*, *L. plantarum*, *Lactococcus lactis* ve *Weisella* probiyotik bakterileri kullanılmıştır. 1,0 µg/ml AFB1 ile kontamine olan örneklerde AFB1 bağlanma oranı %19,3-69,4 arasında bulunmuştur (62).



Simüle edilmiş bir gastrointestinal sistem modelinde *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei* probiyotik bakterilerinin aflatoksin B1 detoksifikasyonu üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada 8 çalışma grubu oluşturulmuştur. Bu gruplar gastrointestinal salgı süspansiyonu, sterilize süt, AFB1, fizyoloji serumu ve *L. acidophilus* ile *L. casei* probiyotik bakterilerinin kombinasyonu şekilde gruplandırılmıştır. Çalışmanın sonucunda en yüksek oran sterilize süt yokluğunda *L. acidophilus* varlığında %70 oranında azalma gözlenirken en düşük oran %13,86 oranı ile sterilize süt, AFB1 ve gastrointestinal salgı süspansiyonu içeren kontrol grubu olmuştur (63).

### 2.7.2. AFB1'in Detoksifikasyonunda Prebiyotiklerin Rolü

Probiyotikler ile prebiyotiklerin AFB1 detoksifikasyonundaki sinerjik etkisi ile ilgili olarak, prebiyotiklerin probiyotiklerin çoğalmasında fermente edilebilir bir enerji kaynağı olarak veya çözünebilir bir lif bariyeri olarak hareket ederek mikotoksinlerin bağırsaktan emilimini önleyebileceği varsayılmaktadır (64). Prebiyotikler, gıdanın besinsel, fiziksel-kimyasal ve duyuşsal özelliklerini iyileştirme gibi avantajlarının olması nedeniyle gıda endüstrisinde geniş bir ürün yelpazesine dahil edilmiştir. Ayrıca prebiyotikler antimutajenik ve antimikotoksijenik özelliklere de sahiptir. Bunun yanı sıra bazı araştırmacılar, probiyotiklerin bağlanma yeteneğini, prebiyotikler olarak bilinen başta  $\beta$ -glukan zincirleri olmak üzere kimyasal bileşenlerden oluşan hücre duvarı yapısına bağlamaktadır (65). Ayrıca prebiyotiklerin probiyotiklerle kombinasyon halinde kullanılmasının belirli koşullar altında aflatoksini azalttığı bildirilmiştir. Sevim ve ark. (2019) tarafından probiyotik bakteriler ile inülin kullanılarak AFM1 bağlama kapasitesinde artış olduğu bulunmuştur (66).

*Lactobasillus plantarum* ve prebiyotiklerin inek sütünde AFB1 detoksifikasyonunun araştırıldığı bir çalışmada yapay olarak kontamine edilen UHT sütte biyoerişilebilirlik oranlarına *in vitro* sindirilebilirlik analizi ile bakılmıştır. AFB1'deki en yüksek bağlanma %55,85 oranı ile *L.plantarum*'un inülin, oligofruktoz ve  $\beta$ -glukan ile birlikte eklenmesiyle meydana gelmiştir. Biyoerişilebilirlikteki en büyük azalma %51,09 oranı ile 10,0  $\mu$ g/l AFB1 konsantrasyonuna sahip inülin veya oligofruktoz ve *L. plantarum* eklenmesiyle meydana gelmiştir (67).

Tavuk sosislerinde aflatoksin B1 düzeyinin azaltılmasına  $\beta$ -glukan ( $\beta$ G) ve inülinin etkisi ile dokusal ve duyusal özelliklerinin incelendiği bir çalışmada  $\beta$ -glukan ve inülinin farklı oranlarda kullanılmıştır. Çalışma sonucunda tüm gruplarda AFB1 seviyelerinde azalma görülmüştür. En yüksek azalma %73,7 oranı ile 5  $\mu$ g/kg AFB1 ve %3  $\beta$ G içeren örneklerde gözlenmiştir. Ürünlerin hiçbiri duyusal özellikler açısından kontrol numunesinden önemli ölçüde farklı çıkmamıştır. Çalışma sonucuna göre  $\beta$ -glukan ve inülinin AFB1'in azaltılmasında etkili olabileceği bulunmuştur (68).

**Tablo 2.5.** Probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotiklerin AFB1'e bağlanması ile ilgili yapılan bazı çalışmalar.

Başlangıç AFB1 konsantrasyonu	Deney Koşulları		Mikroorganizma	AFB1 azalma seviyesi	Analiz Yöntemi	Çalışma Sonuçları	Yazar	
	Sıcaklık (°C)	Süre	Tür	Konsant. (kob/mL)				
20 ng/mL	42 °C'de 4 saat inkübasyon sonrası		<i>L. acidophilus</i>					
	4°C'de 21 gün depolama sonrasında		<i>L. rhamnosus</i>	10 <sup>9</sup>	HPLC	Bakteri türü ve depolama süresi AFB1 bağlama kapasitesini etkilemektedir.	Fatemeh Mosallaie ve ark. (2020) (58)	
		6 saat	<i>L. brevis</i> LOCK 1093 <i>L. casei</i> LOCK 0911 <i>L. casei</i> LOCK 0915 <i>L. paracasei</i> LOCK 1091 <i>L. pentosus</i> LOCK 1094					
100 µg/mL	37	12 saat	<i>L. plantarum</i> LOCK 0860 <i>L. plantarum</i> LOCK 0862 <i>L. rhamnosus</i> LOCK 1089 <i>L. reuteri</i> LOCK 1096	-	%39-65	HPLC	Tüm örneklerde en yüksek azalma 6 saatlik inkübasyon sonrası görülmüştür. AFB1 detoksifikasyonu için yapılacak ileri çalışmaların ardından probiyotik suşlar kullanılabilir.	Agnieszka Chlebicz, Katarzyna Śliżewska (2020) (5)
		24 saat	<i>L. rhamnosus</i> LOCK 1087 <i>L. rhamnosus</i> LOCK 1088		%44-71			
5,0 -10,0 µg/L	37	0-6 saat	<i>L. plantarum</i>	10 <sup>8</sup> (+%0,00 ila %0,75 inülin, oligofruktoz, β-glukan ve polidekstroz)	%0-55,85	UHPLC	AFB1'deki en büyük azalma, <i>L. plantarum</i> + inülin+oligofruktoz+β-glukan eklenen grupta meydana gelmiştir.	RuteAlexandra Machado VASCONCE LOS ve ark.(2020) (67)

**Tablo 2.5.** (Devamı) Probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotiklerin AFB1'e bağlanması ile ilgili yapılan bazı çalışmalar.

Başlangıç AFB1 konsantrasyonu	Deney Koşulları		Mikroorganizma		AFB1 azalma seviyesi	Analiz Yöntemi	Çalışma Sonuçları	Yazar
	Sıcaklık (°C)	Süre	Tür	Konsant. (kob/ml)				
1 -20 µg/mL	20-37	30 dk	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10 <sup>9</sup>	%48-53	HPLC	<i>S.cerevisiae</i> suşlarının, önemli miktarlarda aflatoksin B1 'i bağlamıştır.	Shetty ve arkadaşları (2007) (69)
		1 saat						
		2 saat						
		3 saat						
5,10,50 mg/mL	37	12 saat	<i>L. acidophilus</i>	10 <sup>10</sup>	%55-67	HPLC	Isıl işleme tabi tutulan bakterilerle aynı şekilde uzaklaştırma yeteneğine sahiptir.	El-Nezami ve ark. (1998) (70)
		0 saat						
		4 saat						
		24 saat						
		48 saat						
50 ppm 100 ppm	37	72 saat	<i>L. casei Shirota</i>	10 <sup>8</sup>	%33-58	HPLC	Enterococcus faecium suşları ile gerçekleştirilen ilk bağlama çalışmasıdır ve AFB1'i in vitro ortamda uzaklaştırma kapasitesine sahiptir.	Fernandez Juri ve ark. (2015) (71)
		48 saat	<i>L. gasseri</i>					
50 ppm 100 ppm	37	72 saat	<i>L. rhamnosus</i>	10 <sup>8</sup>	%75-82	HPLC	Enterococcus faecium suşları ile gerçekleştirilen ilk bağlama çalışmasıdır ve AFB1'i in vitro ortamda uzaklaştırma kapasitesine sahiptir.	Fernandez Juri ve ark. (2015) (71)
		48 saat	<i>L. rhamnosus MF4</i>					

### 2.7.3. Aflatoksin Biyoerişebilirliğinde *in vitro* Sindirim Modelleri

İnsan sağlığı risk değerlendirmesi, gıdanın yutulması, endüstriyel veya çevresel kontaminasyonun neden olduğu veya üretim süreçlerinin bir sonucu olarak ortaya çıkan birçok kirletici maddeye maruz kalmanın ana yolu olarak kabul edilir. Tüketilen kirletici maddenin toplam miktarı her zaman vücut tarafından biyolojik olarak erişilebilen miktarı yansıtmaz. Kirleticinin yalnızca belirli bir miktarı biyolojik olarak kullanılabilir olacaktır. Biyoyararlılık, gıdada sindirilen kirletici maddenin sistematik dolaşıma ulaşan oranını tanımlamak için kullanılan bir terimdir (72). Dolayısıyla A gıda matrisinde bir kirletici maddenin alınması toksisiteye yol açabilirken, B gıda matrisinde aynı miktarda kirletici maddenin alınması toksik etkiler yaratmayabilir. Bu nedenle, matrisin bir kirletici maddenin oral biyoyararlanımı üzerindeki etkisine ilişkin daha doğru bir sağlık riski değerlendirmesi gerekmektedir.

Bir bileşiğin oral biyoyararlanımı üç sürecin sonucu olarak görülebilir:

1. Bileşiğin matrisinden gastrointestinal sistemdeki sindirim suyuna salınması (biyoerişilebilirlik)
2. Bağırsak epiteli boyunca portal damara taşınma (bağırsak taşıma)
3. Bileşiğin karaciğerde ve bağırsakta bozulması (metabolizma)

Sindirilen üründen gastrointestinal kanalda kirletici maddenin salınması, kirletici maddenin vücutta alımı ve biyoyararlılığı için bir ön koşuldur. Daha sonra, kirletici maddenin oral biyoyararlanımı, kirletici maddenin bağırsak epiteli boyunca kısmi taşınması veya kirletici maddenin bozunması yoluyla daha sonra azaltılabilir. Bu nedenle, bir kirleticinin matrisinden biyolojik olarak erişilebilirliğinin belirlenmesi, kirleticinin maksimum oral biyoyararlanımının bir göstergesi olarak görülebilir. Belirli bir matristen bir bileşiğin biyoyararlanımının ve biyoerişilebilirliğinin niceliğinin belirlenmesi zordur. Bu nedenle gıda ve sağlık arasındaki kompleks ilişkinin aydınlatılmasında sindirilebilirlik ve biyoaktivite çalışmaları popüler bir konu haline gelmiştir. Son on yılda, toprak ve gıdalardan elde edilen bileşiklerin insan ağız yoluyla biyoyararlanımını incelemek için *in vitro* metodolojilerin kullanımına artan bir ilgi vardır (73-75).

*In vitro* sindirim modellerinin çoğu, gastrointestinal kanaldan geçiş sırasında bileşiklerin matrislerinden biyolojik olarak erişilebilirliğinin araştırılmasını sağlamak amacıyla ağız, mide ve ince bağırsaktaki sindirim süreçlerini basitleştirilmiş bir şekilde simüle eder. Gastrointestinal sistem simülasyonunu gerçekleştiren *in vitro* modeller, genellikle statik ve dinamik olarak iki ana kategoriye ayrılmaktadır. Statik modellerde, sindirim sistemi üzerindeki etkileri gözlemlenmek üzere gıda sabit bir konumda bulunur ve sindirim süreci boyunca gastrointestinal sistemdeki zamana bağlı değişkenler olan pH seviyeleri, enzim konsantrasyonları, akış hızları ve örnek hacmi gibi faktörler dikkate alınmaz. Dinamik modeller ise biyokimyasal, fiziksel ve mekanik işlemleri aynı anda ve zamana bağlı olarak ele almaktadır (76).

*In vitro* sindirim prosedürü, *in vitro* sindirim modelleriyle insanlarda gastrointestinal sistemdeki sindirim süreci, fizyolojik temelli koşullar, yani sindirim sıvılarının kimyasal bileşimi, pH ve her bir gastrointestinal faz için besinin kalış süreleri dikkate alınarak basitleştirilmiş bir şekilde simüle edilir. Oomen ve ark. (77) tarafından tanımlanan modelde, ağız, mide ve ince bağırsaktaki sindirim süreçlerini simüle eden üç aşamalı bir prosedürü tanımlamaktadır.

Simüle sindirim yöntemleri tipik olarak oral, mide ve ince bağırsak aşamalarını ve bazen de kalın bağırsak fermantasyonunu içerir. Kolon fazı, sindirim sisteminin son bölümü olan kolonun *in vitro* sindirim deneylerinde simüle edilen kısmıdır. Kolon fazı, sindirim işleminin son aşamasını taklit etmek için kullanılır ve genellikle mikrobiyal sindirimin gerçekleştiği yerdir. Bu aşamada, sindirim karışımı kolonda gerçekleşen doğal mikrobiyal aktiviteyi simüle etmek için uygun bir ortamda (genellikle 37°C ve belirli bir pH değeri) inkübe edilir. Bu inkübasyon süresi boyunca, sindirim karışımındaki mikroorganizmaların aktivitesi ve mikrobiyal enzimlerin sindirim sürecindeki rolü taklit edilir (78). *In vitro* sindirim modeli kullanılarak AFB1 biyoerişilebilirliği ile ilgili yapılan çalışma özetleri Tablo 2.6'da ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

**Tablo 2.6.** *In vitro* sindirim modeli kullanılarak AFB1 biyoerişilebilirliği ile ilgili yapılan çalışma özetleri.

Başlangıç AFB1 konsantrasyonu	Mikroorganizma		AFB1 biyoerişilebilirliği azalma oranı (%)	Analiz Yöntemi	Çalışma Sonuçları	Yazar
	Tür	Konsant. (kob/ml)				
5,0 -10,0 µg/L	<i>Lactobacillus plantarum</i>	10 <sup>8</sup> (+%0,0- %0,75 inülin, oligofruktoz, β-glukan ve polidekstroz)	%51,1	UHPLC	Biyoerişilebilirlikteki en büyük azalma 10,0 µg/L AFB1 konsantrasyonuna sahip inülin veya oligofruktoz ve <i>L. plantarum</i> eklenen grupta bulunmuştur.	RuteAlexandra Machado VASCONCELOS ve ark.(2020) (67)
0,5 µg/mL	<i>L. acidophilus</i> NCC 12 <i>L. acidophilus</i> NCC 68 <i>L. casei</i> Shirota <i>B. bifidum</i> Bb13 <i>B. bifidum</i> NCC 381 <i>B. species</i> 420	10 <sup>8</sup>	%37	HPLC	<i>L. acidophilus</i> NCC 12 ve <i>L. casei</i> Shirota'nın eklenmesi, AFB1 biyoerişilebilirliğinde en yüksek azalmayla sonuçlandı. Veriler probiyotiklerin biyoerişilebilirlik üzerinde etkili olduğunu göstermektedir.	Kabak ve ark. (2009) (79)
0,1-100 µg/L	<i>L. rhamnosus</i> <i>L. ruminis</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. casei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. adolesalis</i>	10 <sup>5</sup>	%76,38 ila %98,34	LC-MS/MS	AFB1 biyoerişilebilirliği probiyotik suşların kullanımını ile önemli ölçüde azalmıştır. Azalma düzeyi seçilen probiyotik suşun türüne bağlı bulunmuştur.	Saladino ve ark. (2018) (80)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Şubat-Nisan 2023 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Gereç

Çalışma kapsamında bağlanma yetenekleri araştırılan probiyotik bakteri *Leuconostoc lactis* suşları Hacettepe Üniversitesi Mikrobiyoloji Bölümünden temin edilmiştir.

AFB1 standardı (Triology's ISO/IEC) Sincer firmasından 25 µg/ml olarak satın alınmıştır.

Badem sütü örnekleri için çiğ badem ve yulaf kepeği yerel bir hipermarketten satın alınmıştır.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Badem Sütü Örneklerinin Hazırlanması

Piyasada satılan yerel bir firmanın çalışma ile aynı yıl üretilmiş çiğ bademleri badem sütü eldesinde kullanılmıştır. Badem sütü örneklerinin hazırlanması aşağıdaki adımlar izlenerek gerçekleştirilmiştir (81).

- Bir su bardağı çiğ badem 1 su bardağı suda 12 saat bekletildi.
- On iki saat sonunda bademin suyu süzüldü ve 750 ml su ile blender yardımı ile parçalama işlemi yapıldı.
- Whatman 1 filtre kağıdı ile süzme işlemi ardından badem sütü elde edildi.
- Elde edilen badem sütü 80-85°C'de 15 dakika pastörize edildi (82).

##### 3.2.2. Bakteri Ekiminin Yapılması

Çalışma kapsamında kullanılan ve bağlanma yeteneği araştırılan probiyotik bakteri *Leuconostoc lactis*'tir. Probiyotik bakteri için MRS (de Man, RogosaandSharpe) agar kullanılarak ekim yapılmıştır (83). Çalışma gruplarına



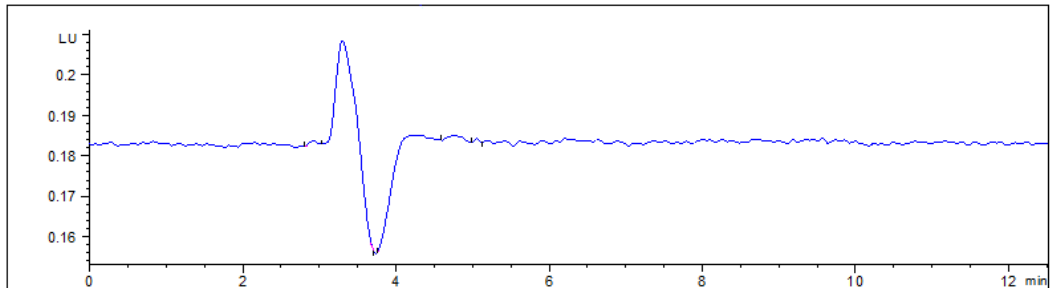
eklenecek bakteri miktarı McFairland densidometresi ile  $10^8$  kob/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. Probiyotik bakterilerin yoğunluğunu  $10^8$  kob/ml olarak ayarlanması için Fosfat Tamponlu Tuz (PBS) kullanılmıştır (84). Bakteri ekimine ait besiyeri Şekil 3.1’de gösterilmiştir.



**Şekil 3.1.** Bakteri ekimine ait besiyeri.

### 3.2.3. Çalışma Örneklerinin Hazırlanması

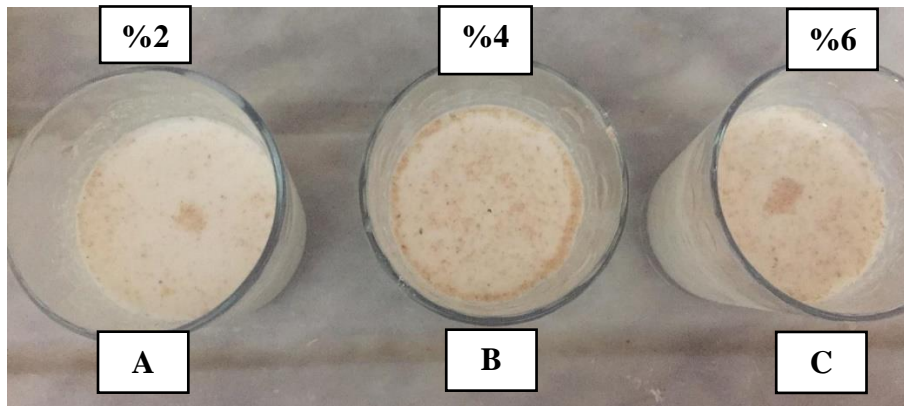
Örnekler AFB1 stok solüsyonundan seyreltme yapılarak 50 ng/mL AFB1 ile kontamine edilmiştir. Kontaminasyon öncesinde elde edilen badem sütünün AFB1 içeriği analiz edilmiştir. Badem sütü kontaminasyon öncesi AFB1 analizi kromatogramı Şekil 3.2’de verilmiştir.



**Şekil 3. 2.** Badem sütü kontaminasyon öncesi AFB1 analizi kromatogramı.

Probiyotik bakterilerden *Leuconostoc lactis* örneklerine  $10^8$  kob/ml olacak şekilde eklenmiştir. Kullanılan bakteri konsantrasyonu probiyotik besinde bulunması gereken minimum probiyotik konsantrasyonu olan  $10^6$  kob/ml ile sindirim ve depolamanın canlılık üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, probiyotiklerin başarılı bir aktivite gösterebilmesi için gerekli konsantrasyonu olan  $10^8$ - $10^9$  kob/ml önerileri dikkate alınarak belirlenmiştir (84).

Yulaf kepeği yerel bir firmadan temin edilmiştir ve örneklerle %4 oranında eklenmiştir. Kullanılan yulaf kepeği oranı duyuusal özellik ve probiyotik suş ile sinerjik etki gösterebilme yeteneği dikkate alınarak belirlenmiştir (47). Subjektif değerlendirme (tat, koku, görüntü) sırasında %2, %4, %6 oranlarında yulaf kepeği eklenen badem sütleri Şekil 3.3'te verilmiştir.



**Şekil 3. 3.** (A) %2, (B) %4, (C) %6 oranında yulaf kepeği eklenen badem sütleri.

Çalışma grupları ve içerikleri Tablo 3.1'de detaylı olarak gösterilmiştir. Kontrol gruplarında pozitif ve negatif kontrol olmak üzere iki grup bulunmaktadır. Pozitif kontrol grubunda sadece AFB1 kontamine badem sütü, negatif kontrol grubunda ise AFB1 olmayan, ancak kullanılan mikroorganizmanın bulunduğu badem sütü yer almaktadır. Diğer çalışma gruplarında probiyotik bakteri ve yulaf kepeği eklenmiştir. Her bir çalışma grubu dublike olarak oluşturulmuştur. Hazırlanan örnekler  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 4 saat inkübe edilmiştir.

**Tablo 3.1.** Çalışma grupları ve içerikleri.

<b>Çalışma grupları</b>	<b>Çalışma grubu içeriği</b>
Pozitif kontrol	Sadece AFB1 kontamine badem sütü
Negatif kontrol	AFB1 olmayan, mikroorganizma içeren badem sütü
Test grubu 1	AFB1 kontamine badem sütü + 10 <sup>8</sup> kob/ml bakteri
Test grubu 2	AFB1 kontamine badem sütü + yulaf kepeği (%4)
Test grubu 3	AFB1 kontamine badem sütü+ 10 <sup>8</sup> kob/ml bakteri + yulaf kepeği (%4)

### 3.2.4. AFB1 Analizi

Çalışma örneklerinde inkübasyon sonrası ve *in vitro* sindirim sonrası serbest AFB1 analizi Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi ile yapılmıştır.

Test parametrelerinde serbest AFB1 bağlanma yüzdeleri aşağıda verilen formülasyon ile hesaplanmıştır (85).

$$\text{Bağlanma yüzdesi} = 100 * \left(1 - \frac{\text{Örnekteki AFB1 pikinin alanı}}{\text{AFB1 kontrol pikinin alanı}}\right)$$

*In vitro* sindirim modeli, AFB1 kontamine örneklerden AFB1'in biyoerişilebilirliğini azaltmada prebiyotik ve probiyotiklerin etkinliğini belirlemek için kullanılmıştır. Hollanda Ulusal Halk Sağlığı ve Çevre Enstitüsü tarafından geliştirilen ağız, mide ve ince bağırsak bölümlerini içeren bir *in vitro* sindirim modeli kullanılmıştır. Bu model, ağız, mide ve ince bağırsaktaki sindirim süreçlerini simüle eden üç aşamalı bir prosedürü tanımlamaktadır. Uygulanan *in vitro* sindirim modeli 37°C'de ağızdaki sindirimin taklidi ile 5 dakika başlayıp midede 2 saat devam ettikten sonra ince bağırsakta da 2 saat uygulanmaktadır (77, 85). Bu çalışmada ayrıca kolon simülasyonu da uygulanmıştır. Kolon fazında florada bulunan bakteriyel enzimler (Proteaz ve Viscozyme L) kullanılarak kolon simülasyonu gerçekleştirilmiştir. Proteaz enzim solüsyonu eklendikten sonra 1 saat inkübe edilip sonrasında mikrobiyal enzimin bir simülasyonu olan Viscozyme L enzim solüsyonu eklenip 16 saat inkübe edilerek

*in vitro* sindirim tamamlanmıştır (86). Uygulanan *in vitro* sindirim modeli bileşenleri Tablo 3.2’de ayrıntılı olarak gösterilmiştir.

**Tablo 3.2.** Uygulanan *in vitro* sindirim modeli bileşenleri.

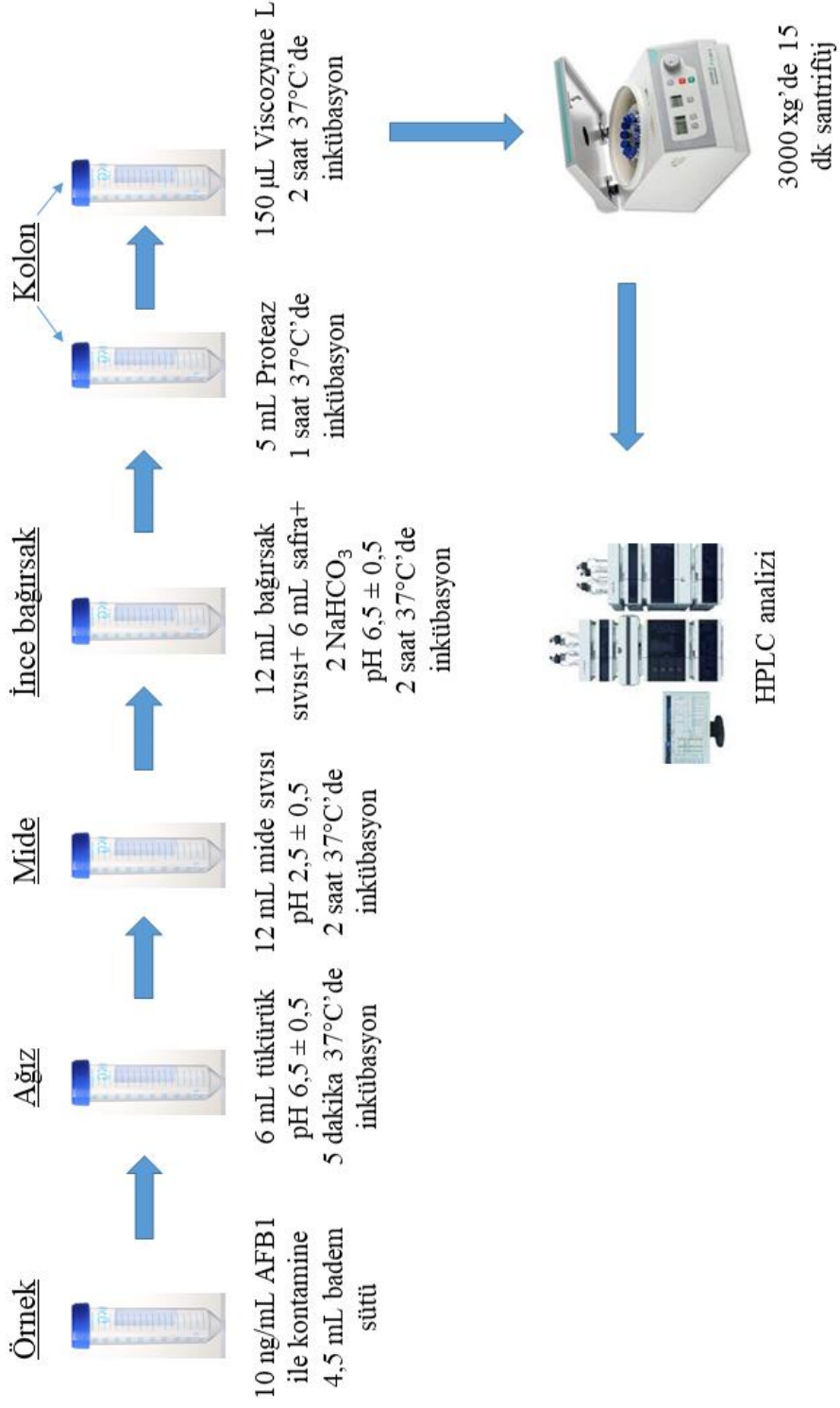
	<b>Tükürük</b>	<b>Mide suyu</b>	<b>Duedonal sıvı</b>	<b>Safra sıvısı</b>
<b>İnorganik solüsyon</b>	0,9 g KCl	2,75 g NaCl	7,01 g NaCl	5,26 g NaCl
	0,2 g KSCN	0,27 g NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	3,39 g NaHCO <sub>3</sub>	5,79 g NaHCO <sub>3</sub>
	0,9 g NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,82 g KCl	0,08 g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,38 g KCl
	0,57 g NaCl	0,4 g CaCl <sub>2</sub> -2H <sub>2</sub> O	0,56 g KCl	0,15 mL HCl %37
	1,7 g NaHCO <sub>3</sub>	0,31 g NH <sub>4</sub> Cl	0,05 g MgCl <sub>2</sub>	
		6,5 ml HCl	0,18 g mL HCl	
			0,1 g üre	
<b>Organik solüsyon</b>	0,2 g üre	0,65 g glukoz	0,2 g CaCl <sub>2</sub> -2H <sub>2</sub> O	0,25 g üre
		0,02 g glukuronik asit	1 g BSA	
		0,085 g üre	9 g pankreatin	
		0,33 g glukozamin hidroklorid	1,5 g lipaz	
<b>İnorganik ve organik solüsyon eklenecekler</b>	290 mg a-amilaz	1 g BSA	0,2 g CaCl <sub>2</sub> -2H <sub>2</sub> O	0,22 g CaCl <sub>2</sub> -2H <sub>2</sub> O
	15 mg ürik asit	2,5 g pepsin	1,8 g BSA	1,8 g BSA
	25 mg musin	3 g musin	9 g pankreatin	30 g safra
			1,5 g lipaz	

*İn vitro* sindirim modelinin uygulama aşamaları detaylı olarak Tablo 3.3'te ve Şekil 3.4'te verilmiştir.

**Tablo 3.3.** *İn vitro* sindirim modelinin uygulama aşamaları.

<b>ÖRNEK</b>	4,5 mL
<b>AĞIZ</b>	6 mL tükürük pH 6,5 ± 0,5 37°C'de 5 dakika
<b>MİDE</b>	12 mL mide suyu pH 2,5 ± 0,5 37°C'de 2 saat
<b>İNCE BAĞIRSAK</b>	12 mL duedonal sıvı+ 6 mL safra+2 mL NaHCO <sub>3</sub> pH 6,5 ± 0,5 37°C'de 2 saat
<b>KOLON</b>	5 mL Proteaz pH 8,0 37°C'de 1 saat 150 µL Viscozyme L 37°C'de 16 saat
<b>ELDE EDİLEN KARIŞIM</b>	3000 xg 15 dakika santrifüj

## İn Vitro Sindirim Modeli



**Şekil 3. 4.** *In vitro* sindirimin şematik gösterimi.

Pozitif ve negatif kontrol ile birlikte toplam 5 farklı çalışma grubu bulunmaktadır. Tüm örnekler dublike olarak çalışılmıştır. İnkübasyon sonrası, ince bağırsak *in vitro* sindirim sonrası ve kolonda sindirim sonrası AFB1 analizi yapılan toplam 30 örnek bulunmaktadır. Çalışmada kullanılan bademlerde örnekler hazırlanmadan önce AFB1 analizi yapılmıştır. İnkübasyon ve *in vitro* sindirim sonrası örnekler içerisindeki AFB1, AFB1'e özgü immünoafinite kolonu ile ekstraksiyonu yapılmış ve toplanan elüat AFB1, HPLC cihazı ile analizi yapılana kadar -20 °C'de saklanmıştır. HPLC analizi sırasında C18 (250x4.6 mm, 5 µm) kolon ve ultra saf su+asetonitril+ metanol (6:2:3)'den oluşan mobil faz kullanılmıştır (87). Kolon sıcaklığı 25°C'de, pompa akış hızı 1 mL/dakika, eksitasyon dalga boyu 360 nm, emisyon dalga boyu 440 nm, basınç <200 bar olarak ayarlanmıştır. Ayarlamalardan sonra her bir örnekten bir defa olmak üzere HPLC cihazına 100 µL enjeksiyon yapılarak sonuçlar elde edilmiştir.

Elde edilen verilen neticesinde AFB1 biyoerişebilirliği aşağıda verilen formülasyon ile hesaplanmıştır.

$$\text{Biyoerişilebilirlik} = 100 * \left( \frac{\text{in vitro sindirilmiş örnekteki miktar}}{\text{sindirim öncesi miktar}} \right)$$

### 3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi

İstatistiksel analizler için SPSS 23.0 paket programı kullanılmıştır. AFB1 bağlanma düzeyleri, ince bağırsak ve kolon biyoerişilebilirlik düzeyleri arasındaki farklılık tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farkın önemi ise Post-Hoc Tukey testi ile analiz edilmiştir. Sonuçlar %95 güven aralığında, anlamlılık p<0,05 düzeyinde değerlendirilmiştir.



## 4. BULGULAR

### 4.1. AFB1 Analizi LOD, LOQ ve Geri Kazanım Değerleri

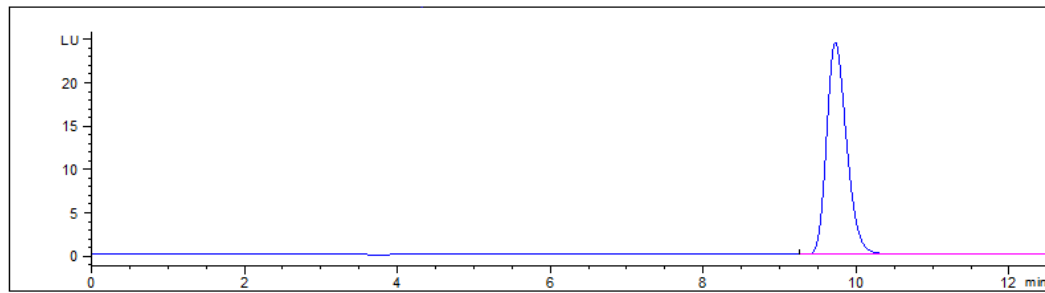
AFB1 geri kazanım miktarını belirlemek için standart ilave metodu kullanılmıştır. Bunun için ekstraksiyon öncesi örneğe 25, 50, 100 ng /mL AFB1 stok solüsyon eklenmiştir. AFB1 25 ve 50 ng/mL konsantrasyonlarda geri kazanım oranı ortalama %104 bulunmuştur. 100 ng/ml konsantrasyonlarda geri kazanım oranı ortalama %98 bulunmuştur. Çalışmada analiz edilen hesaplanan saptama sınırı (Limit of detection, LOD) ve ölçüm limiti (Limit of quantification, LOQ) değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4. 1.** AFB1’in geri kazanımı, LOD ve LOQ değerleri.

	Kons. (ng/ml)	Geri Kazanım (%)	LOD (ng/ml)	LOQ (ng/ml)	R <sup>2</sup>
AFB1	25	104,60±0.62	0,1	0,3	0,9972
	50	104,07±4.25			
	100	98,28±1.84			

Kons.: Konsantrasyon; LOD: Saptama Sınırı (Limit of Detection); LOQ: Ölçüm Limiti (Limit of Quantification).

Badem sütünde AFB1 kontaminasyonu sonrası tespit edilen AFB1 düzeyine ait HPLC kromatogramı Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



**Şekil 4. 1.** Badem sütünde AFB1 kontaminasyonu sonrası tespit edilen AFB1 düzeyine ait HPLC kromatogramı.

## 4.2. Probiyotik Bakteri ve Yulaf Kepeğinin İnkübasyon Sonrası Badem Sütünde AFB1'e Bağlanma Düzeyleri

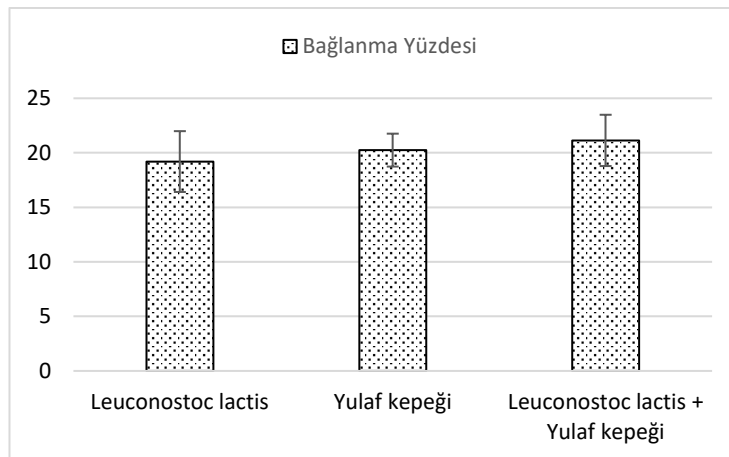
4 saat inkübasyon sonrası *Leuconostoc lactis* bağlanma yüzdesi ortalama  $19,20 \pm 2,79$  bulunmuştur. Çalışma grupları arasında en yüksek AFB1'e bağlanma yüzdesi  $21,14 \pm 2,35$  oranı ile *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği test parametresine sahip Test 3 grubudur. Yulaf kepeği test parametresine sahip Test 2 grubunun ise AFB1'e bağlanma yüzdesi  $20,25 \pm 1,51$  oranında bulunmuştur. Bu test gruplarında tespit edilen AFB1 bağlanma düzeyleri pozitif kontrol grubuna göre yüksek olmak birlikte bağlanma yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Probiyotik bakteri ve yulaf kepeğinin inkübasyon sonrası badem sütünde AFB1'e bağlanma düzeyleri ayrıntılı olarak Tablo 4.2'de ve Şekil 4.2'de verilmiştir.

**Tablo 4.2.** Probiyotik bakteri ve yulaf kepeğinin inkübasyon sonrası badem sütünde AFB1'e bağlanma düzeyleri.

Çalışma grupları	Test parametresi	Bağlanma Yüzdesi
Test grubu 1	<i>Leuconostoc lactis</i>	$19,20 \pm 2,79$
Test grubu 2	Yulaf kepeği	$20,25 \pm 1,51$
Test grubu 3	<i>Leuconostoc lactis</i> + Yulaf kepeği	$21,14 \pm 2,35$
p		0,609

Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

p, AFB1 bağlanma düzeyleri tek yönlü ANOVA ile analiz edilmiştir.



**Şekil 4.2.** Probiyotik bakteri ve yulaf kepeğinin inkübasyon sonrası badem sütünde AFB1'e bağlanma düzeyleri.

### 4.3. *İn Vitro* Sindirim Modeli Uygulamasında İnce Bağırsak Sonrası Tespit Edilen AFB1 Biyoerişilebilirlik Düzeyleri

Probiyotik bakteri ve yulaf kepeğinin *in vitro* sindirim sonrası badem sütünde tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeylerine bakıldığında en düşük oran  $39,71 \pm 5,12$  oranındaki *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği içeriğine sahip test 3 grubudur. Yulaf kepeği içeriğine sahip test 2 grubunda bu oran  $43,53 \pm 1,67$  olarak bulunmuştur. Test 2 ve test 3 grupları arasındaki oranlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

Test parametresi içermeyen pozitif kontrol grubunun AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyi  $86,26 \pm 1,47$  oranında bulunmuştur. *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi içeren Test 1 grubunda biyoerişilebilirlik düzeyi  $74,12 \pm 3,89$  oranında olup pozitif kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).

Sadece yulaf kepeği kullanılan test 2 grubunun *in vitro* sindirim sonrası biyoerişilebilirlik düzeyi  $43,53 \pm 1,67$  oranında bulunurken test grupları arasında en düşük biyoerişilebilirlik düzeyi  $39,71 \pm 5,12$  oranı ile *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği içeren test 3 grubu olmuştur. Test 2 ve test 3 grupları, test grubu içermeyen pozitif kontrol grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). *İn vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri ayrıntılı olarak Tablo 4.3'te ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

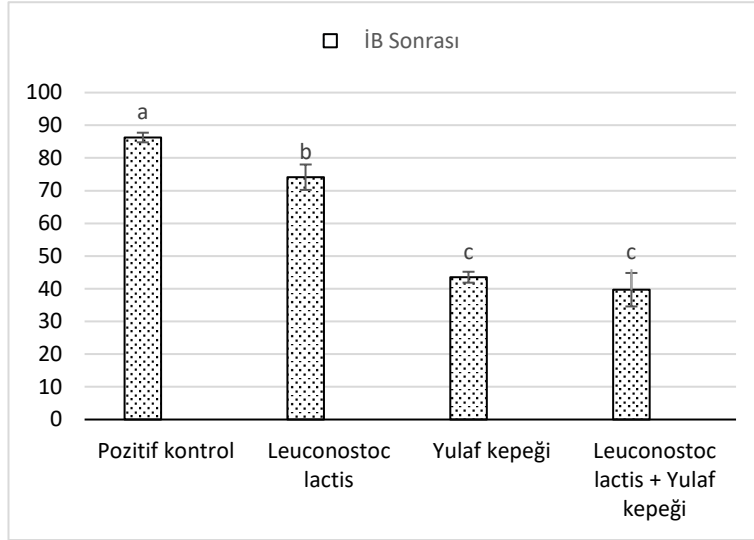
**Tablo 4.3.** *İn vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri.

Çalışma grupları		İB Sonrası
Pozitif kontrol	Test parametresi içermeyen kontrol grubu	$86,26 \pm 1,47^a$
Test grubu 1	<i>Leuconostoc lactis</i>	$74,12 \pm 3,89^b$
Test grubu 2	Yulaf kepeği	$43,53 \pm 1,67^c$
Test grubu 3	<i>Leuconostoc lactis</i> + Yulaf kepeği	$39,71 \pm 5,12^c$
p		<0,001

Veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

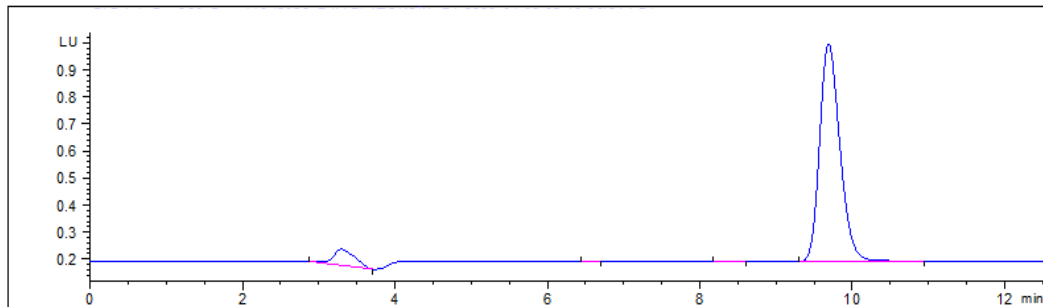
p, AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri tek yönlü ANOVA ile analiz edilmiştir.

Aynı sütun içinde farklı harfler Post-Hoc Tukey testine göre istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p < 0,05$ ), aynı harfler istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 4.3.** *In vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri.

Yulaf kepeği bulunan örneklerde *in vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 düzeyine ait HPLC kromatogramı Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



**Şekil 4.4.** Yulaf kepeği bulunan örneklerde *in vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 düzeyine ait HPLC kromatogramı.

#### 4.4. *In Vitro* Sindirim Modeli Uygulamasında Kolon Sonrası Tespit Edilen AFB1 Biyoerişilebilirlik Düzeyleri

Çalışma grupları arasında *in vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeylerine bakıldığında en düşük oran  $48,11 \pm 7,11$  oranı ile *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği test parametresine sahip test 3 grubudur. Test parametresi içermeyen pozitif kontrol grubunda tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyi  $72,01 \pm 4,42$  oranında bulunmuştur. Badem sütünde *in vitro*

sindirim modeli kullanılarak kolon sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyi ilk kez araştırılmıştır.

*Leuconostoc lactis* test parametresi olan test 1 grubunun ise kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyi  $60,40 \pm 6,49$  oranındadır. Yulaf kepeği test parametresi olan test 2 grubu ise  $59,60 \pm 2,76$  oranındadır. Test 1 ve test 2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).

Pozitif kontrol grubu ile *L. lactis*+ yulaf kepeği içeren test 3 grubu arasında kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). *In vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri ayrıntılı olarak Tablo 4.4'te ve Şekil 4.5'te verilmiştir.

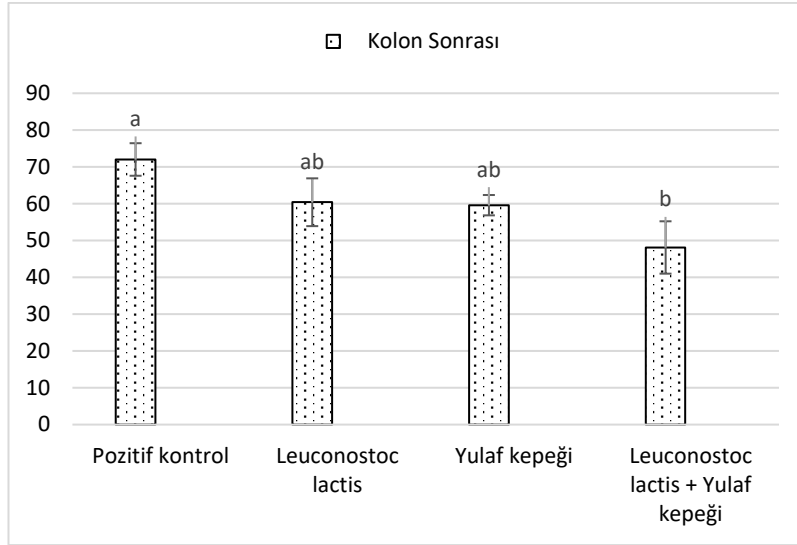
**Tablo 4.4.** *In vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri.

Çalışma grupları		Kolon Sonrası
Pozitif kontrol	Test parametresi içermeyen kontrol grubu	$72,01 \pm 4,42^a$
Test grubu 1	<i>Leuconostoc lactis</i>	$60,40 \pm 6,49^{ab}$
Test grubu 2	Yulaf kepeği	$59,60 \pm 2,76^{ab}$
Test grubu 3	<i>Leuconostoc lactis</i> + Yulaf kepeği	$48,11 \pm 7,11^b$
p		0,005

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

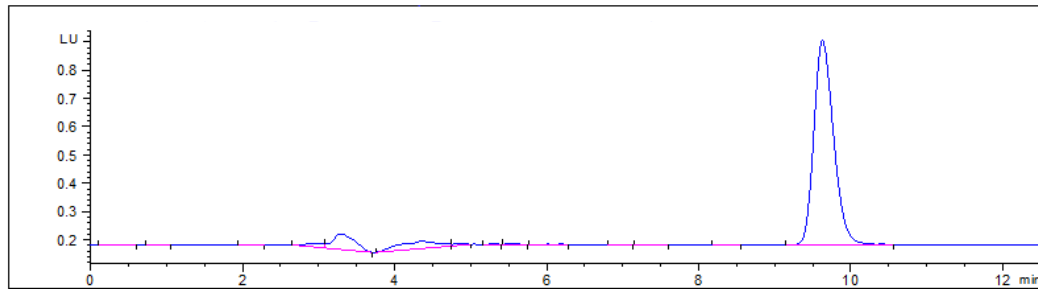
p, AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri tek yönlü ANOVA ile analiz edilmiştir.

Aynı sütun içinde farklı harfler Post-Hoc Tukey testine göre istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p < 0,05$ ), aynı harfler istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir ( $p > 0,05$ ).



**Şekil 4.5.** *In vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri.

*Leuconostoc lactis* ve yulaf kepeği bulunan örneklerde *in vitro* sindirim modeli uygulamasında kolonda sindirim sonrası tespit edilen AFB1 düzeyine ait HPLC kromatogramı Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



**Şekil 4.6.** *Leuconostoc lactis* ve yulaf kepeği bulunan örneklerde *in vitro* sindirim modeli uygulamasında kolonda sindirim sonrası tespit edilen AFB1 düzeyine ait HPLC kromatogramı.

#### 4.5. *In Vitro* Sindirim Modeli Uygulamasında İnce Bağırsak ve Kolon Sonrası AFB1 Biyoerişilebilirlik Azalma Yüzdeleri

*In vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak ve kolon sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdelerine bakıldığında en düşük yüzde *L. lactis* probiyotik bakterisi içeren test 1 grubunda, ince bağırsak sonrası %14,07±4,51 oranında bulunurken kolon sonrası %16,12±9,01 oranında bulunmuştur. AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdeleri en yüksek ise *Leuconostoc lactis* + Yulaf kepeği

içeriğine sahip test 3 grubunda, ince bağırsak sonrası  $53,96 \pm 5,94$  oranında bulunurken kolon sonrası  $33,19 \pm 9,87$  oranında bulunmuştur. Sadece yulaf kepeği içeren test 2 grubunda ince bağırsak sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik yüzdesi  $49,53 \pm 1,94$  oranında bulunurken kolon sonrası  $17,24 \pm 3,83$  oranında bulunmuştur.

İnce bağırsakta *in vitro* sindirim sonrasında AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdeleri yulaf kepeği içeren test 2 ve *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği içeren test 3 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Ancak test grubu 1 ve test 2 ile 3 grupları arasında istatistiksel olarak sonuçlar anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). *In vitro* sindirim sonrasında AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdeleri Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

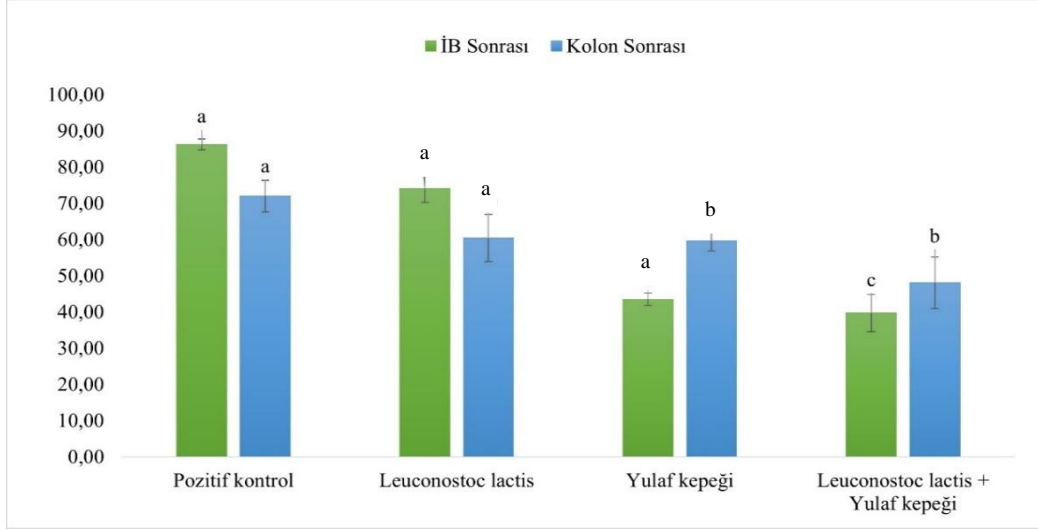
**Tablo 4.5.** *In vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak ve kolon sonrasında AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdeleri.

Çalışma grupları	İB sonrası	Kolon Sonrası
Test grubu 1 <i>Leuconostoc lactis</i>	$14,07 \pm 4,51^a$	$16,12 \pm 9,01$
Test grubu 2 Yulaf kepeği	$49,53 \pm 1,94^b$	$17,24 \pm 3,83$
Test grubu 3 <i>Leuconostoc lactis</i> + Yulaf kepeği	$53,96 \pm 5,94^b$	$33,19 \pm 9,87$
p	$< 0,001$	$0,071$

#### 4.6. *In Vitro* Sindirim Modeli Uygulamasında İnce Bağırsak ve Kolon Sonrası AFB1 Biyoerişilebilirlik Düzeylerinin Karşılaştırılması

*In vitro* sindirim sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri pozitif kontrol grubunda bakıldığında ince bağırsak sonrası biyoerişilebilirlik düzeyi kolon sonrasına göre daha yüksek bulunmuştur ancak ince bağırsak sonrası ve kolon sonrası biyoerişilebilirlik düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisinin bulunduğu grupta ince bağırsak sonrası biyoerişilebilirlik düzeyleri kolon sonrası biyoerişilebilirlik düzeyine göre daha yüksektir ancak sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Yulaf kepeği bulunan grupta kolon sonrası biyoerişilebilirlik düzeyleri ince bağırsak sonrası biyoerişilebilirlik düzeylerine göre daha yüksek bulunmuştur ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). *Leuconostoc lactis* ile yulaf kepeği içeren grupta ise ince bağırsak sonrası biyoerişilebilirlik düzeyleri kolon sonrasına göre daha düşük

bulunmuş ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). *In vitro* sindirim sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik düzeylerinin karşılaştırılması Şekil 4.7’de gösterilmiştir.



**Şekil 4.7.** *In vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak ve kolon sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyleri.

Her test grubu içinde farklı harfler Post-Hoc Tukey testine göre istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ( $p<0,05$ ), aynı harfler istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir ( $p>0,05$ ).



## 5. TARTIŞMA

Aflatoksinlerle kontaminasyon, tüm dünyada gıda kaynaklı hastalıkların ana nedenlerinden biridir. Aflatoksinler insan sağlığını kanserojen özellikleri nedeniyle olumsuz etkilemektedir. Son zamanlarda, aflatoksin maruziyetini önlemeye yönelik beslenme yaklaşımlarından biri olan alternatif önlemlere ve probiyotik gibi uygun maliyetli biyolojik yöntemlere olan ilgi giderek artmaktadır. Aflatoksinlerin kanserojenik etkilerinin azaltılması amacıyla probiyotik ve prebiyotik ajanların rolünün araştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır. Probiyotik mikroorganizmaların aflatoksin moleküllerini fiziksel olarak bağlama yetenekleri nedeniyle yapılan çalışmalar ilgi çekici olmuştur. Bu amaçla çalışmamızda *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi ve prebiyotik ajan olarak yulaf kepeğinin *in vitro* sindirim modelinde AFB1 biyoerişilebilirliği üzerine etkisi incelenmiştir.

Çalışmada inkübasyon süresi 4 saat ve sıcaklığı 37°C olarak sabit tutulmuştur. İnkübasyon sıcaklığı probiyotik bakterilerin aflatoksin detoksifikasyon yeteneğini etkileyebilir. El-Nezami ve ark. (88) laktik asit bakterilerinin AFB1'e bağlanması için en iyi sıcaklığın 37°C olduğunu öne sürmüşlerdir. Rahaie ve ark. (89) *Lactobacillus'un* aflatoksinlere yüzey bağlanma verimliliğinin ısı işlemi ile artabileceğini göstermiştir. Huang ve ark. (90) farklı *L. plantarum* suşlarının hem canlı hem de ısı ile öldürülmüş formunun AFB1 azaltma etkinliğine sahip olduğunu bildirmiştir.

İnkübasyon süresinin probiyotik bakterilerin mikotoksinlere bağlanması ile ilgili süre henüz netlik kazanmamıştır. Ancak AFB1 bağlanmasının hızlı bir süreç olduğu ve inkübasyonda büyük bir kısmının farklı suşlar tarafından fiziksel bağlanma yaptığı çalışmalarda vurgulanmaktadır. Chlebicz ve ark. (5) *Lactobacillus* cinsine ait 12 farklı bakterileri türünün AFB1 detoksifikasyonu üzerine etkisini incelemiştir ve 6 saatlik inkübasyon sonrasında AFB1 oranında %20-65 azalma gözlemlenmiştir. İstatiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmuştur. Sonraki saatlerde AFB1 konsantrasyonlarında daha fazla azalma görülmüştür. 24 saatlik inkübasyon sonrasında AFB1 konsantrasyonlarında %44-71 oranında azalma olmuştur. Kabak ve ark. (91) da mikotoksinlerin bağlanmasında LAB'lerinin optimum inkübasyon süresinin net olmadığını bildirmişlerdir ancak hızlı bağlanma sürecinin 0-4 saat arasında gerçekleştiğini belirtmiştir. Ancak Pizzolitto ve ark. (60) inkübasyon

süresinin 1 dakikadan 5 saate çıkarılması ile probiyotik bakterilerin aflatoksin bağlama kapasitesinde önemli bir fark elde etmemiştir. Sonuç olarak tüm bu verilerden yola çıkarak bu çalışmada test gruplarının aflatoksine bağlanma kapasitesini ortaya koymak için 4 saatlik inkübasyon süresinin yeterli olduğu düşünülmektedir.

Probiyotik bakterinin etkisini incelediğimiz çalışma gruplarında probiyotik bakteri konsantrasyonu  $10^8$  kob/mL olarak ayarlanmıştır. Aflatoksin bağlanması mikroorganizmanın başlangıç konsantrasyonundan etkilenmektedir. Kabak ve ark. (79) bazı probiyotik *Lactobacillus* suşlarının bakteri konsantrasyonu  $10^8$  kob/mL ve daha yüksek olduğunda aflatoksine daha iyi bağlandığını bildirmiştir. Rezasoltani ve ark. (92) probiyotik bakteriler için AFM1 bağlanmasının,  $10^7$  kob/mL'ye kıyasla  $10^9$  kob/mL'lik bakteri konsantrasyonunda daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ancak, önerilen bu seviyeye ulaşmak için gıda ürünlerinin en az  $10^8$ – $10^9$  kob/mL canlı hücre içermesi gerektiği öne sürülmektedir. Bu nedenle çalışmanın sonuçları dikkate alındığında en az  $10^8$ – $10^9$  kob/mL canlı probiyotik mikroorganizmanın kullanılması sadece aflatoksin bağlanması için değil aynı zamanda fonksiyonel etkiler açısından da iyi bir seçim olacağı düşünülmektedir (6).

Probiyotik bakterilerle birlikte prebiyotiklerin etkisini incelemek amacı ile prebiyotik olarak yulaf kepeği %4 oranında çalışma gruplarına eklenmiş ve sinbiyotik etkinin AFB1'in azaltılmasındaki rolü incelenmiştir. Prebiyotikler, bağırsak mikrobiyotasının bileşimini veya aktivitesini olumlu yönde etkileyen bileşenlerdir. Chaharaein ve ark. (65) tavuk sosis örneklerinde en yüksek AFB1 düşüşüne  $\beta$ -glukanın sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca,  $\beta$ -glukanın AFB1'i azaltmadaki etkinliğinin inülininden daha yüksek olduğunu da göstermişlerdir; bu sonucu,  $\beta$ -glukanın antioksidan aktivitesine ve yapısal niteliklerine atfetmişlerdir. Tüm bu veriler doğrultusunda çalışmamızda kullanılan yulaf kepeği oranı duyuşsal ve mikrobiyal özellikler dikkate alınarak belirlenmiştir.

### **5.1. Probiyotik Bakteri ve Yulaf Kepeğinin Badem Sütünde AFB1'e Bağlanma Düzeyleri**

Çalışmada 50 ng/ml AFB1 ile kontamine olmuş badem sütü örneklerine *Leuconostoc Lactis* probiyotik bakterisi, yulaf kepeği ve sinbiyotik etki görmek için

her iki ajan da eklenerek üç çalışma grubu incelenmiştir. Çalışma gruplarının inkübasyon sonrası AFB1'e bağlanma yüzdeleri %19,20-21,14 arasında değişmiştir. Probiyotik bakteri içeren çalışma grubunun bağlanma yüzdesi 19,20 oranında bulunurken prebiyotik olarak yulaf kepeği eklenen çalışma grubunda %20,25 oranında bulunmuştur. En yüksek bağlanma yüzdesi 21,14 oranı ile probiyotik bakteri ve prebiyotiğin beraber bulunduğu çalışma grubu olmuştur. Mosallaie F ve ark. (58) *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* probiyotik suşlarının 20 ng/ml AFB1 ile kontamine yoğurta 4 °C'de 21 günlük saklama süresi sonunda %64,56 ile %96,58 oranları arasında AFB1'e bağlandığını tespit etmişlerdir. Seçilen laktik asit bakterilerinin aflatoksin bağlama yeteneğinin hem zamana hem de bakteri türüne bağlı olduğu görülmüştür. Probiyotik bakterilerin AFB1'e bağlanma etkinliğinin farklı suşların sahip olduğu hücre duvarı yapısına, inkübasyon sıcaklığına, temas süresine, başlangıç mikrobiyal konsantrasyonuna, başlangıç aflatoksin konsantrasyonuna ve pH gibi değişkenlerden etkilenmektedir (60) bu iki çalışma arasındaki AFB1'e bağlanma oranındaki farklılığı açıklamaktadır.

Byakika ve ark. (2019) fermente sorgum unu, darı unu ve obusheradaki aflatoksin kontaminasyonunun azaltılmasında laktik asit bakterilerinin rolünü araştırmış, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *Lactococcus lactis* ve *Weisella* probiyotik bakterilerinin 1,0 µg/mL AFB1 ile kontamine olan örneklerde AFB1 bağlanma oranını %19,3-69,4 arasında bulmuşlardır (62). Chaharaein ve ark. (2021) tavuk sosislerinde aflatoksin B1 düzeyinin azaltılmasına β-glukan ve inülinin etkisini incelemiş, çalışma sonucunda tüm gruplarda AFB1 seviyelerinde azalma görülmüştür. En yüksek azalma %73,7 oranı ile β-glukan içeren örneklerde gözlenmiştir. Çalışma sonucuna göre β-glukan ve inülinin AFB1'in azaltılmasında etkili olabileceği bulunmuştur (68). Aflatoksinin probiyotiklerle etkileşimi için önerilen birincil mekanizma, metabolik bozunmadan ziyade genellikle bağlanma olarak bilinen fiziksel adsorpsiyonu içerir. Aflatoksin bağlama kapasitesindeki değişiklik, probiyotik türlerinin hücre duvarı yapılarındaki değişikliklere bağlanmaktadır (64). Haskard ve ark. (93) aflatoksinlerin LAB hücre yüzeyine hidrofobik etkileşimler aracılığıyla bağlanabileceğini öne sürmüştür. Lee ve ark. (94) ise ısıtılmanın hidrofobik özellikte bir azalmaya neden olduğunu, ancak adsorpsiyon afinitesinde bir artışa yol açtığını bildirmişlerdir.

Dolayısıyla, AFB1'in adsorpsiyonunda hidrofobik etkileşimlerin rolünün zayıfladığını ortaya koymuşlardır.

Sonuç olarak LAB, aflatoksinlere esas olarak geri dönüşümlü, kovalent olmayan zayıf bir etkileşim yoluyla bağlanır ve bağlanma, hücre duvarı aracılı olup hücre aktivitesinden bağımsızdır. LAB-aflatoksin kompleksinin stabilitesinin uygulama sırasında dikkate alınması gerekir. Her ne kadar LAB suşlarının bazıları yeterli dekontaminasyon etkinliği gösterse de, bağlanma kapasitesi suşun cinsi, pH değeri, sıcaklık, suşların konsantrasyonu gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilmektedir (95).

## **5.2. Probiyotik Bakteri ve Yulaf Kepeğinin Badem Sütünde *İn Vitro* Sindirim Sonrası AFB1 Biyoerişilebilirlik Düzeyleri**

*İn vitro* sindirim modelleri, simüle edilmiş gastrointestinal koşullar altında gıda bileşenlerinin yapısal değişikliklerini ve sindirilebilirliğini incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır (96). *İn vitro* sindirim modellerinin çoğu, gastrointestinal kanaldan geçiş sırasında bileşiklerin matrislerinden biyolojik olarak erişilebilirliğinin araştırılmasını sağlamak amacıyla ağız, mide ve ince bağırsaktaki sindirim süreçlerini basitleştirilmiş bir şekilde simüle eder (77). İdeal sindirim modeli, insan gastrointestinal kanalında meydana gelen mekanik, kimyasal ve enzimatik süreçleri doğru bir şekilde simüle edebilmeli, aynı zamanda gerçekleştirilmesi nispeten basit, hızlı ve ucuz olmalıdır (42).

Bir bileşiğin biyoyararlanımının ve biyoerişilebilirliğinin niceliğinin belirlenmesi zordur ve sıklıkla sindirimi içeren karmaşık işlemler tarafından engellenir. Son yıllarda, gıdalardan elde edilen bileşiklerin insan ağız yoluyla biyoyararlanımını incelemek için *in vitro* metodolojilerin kullanımına artan bir ilgi vardır (73, 74, 97) Biyoerişilebilirlik, bir maddenin gastrointestinal ortamda çözünebilen ve emilmeye hazır olan kısmıdır (74).

Sonuç olarak, sindirim enzimlerinin oluşumu ve konsantrasyonu, pH değerleri gibi çeşitli faktörler dikkate alınarak, insan sindirimi sırasında meydana gelen

fizyolojik süreçleri yakından taklit eden *in vitro* modellerin kullanılmasına ihtiyaç vardır (96).

Çalışmamızda *in vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeylerine baktığımızda pozitif grubun oranı  $86,26 \pm 1,47$  bulunmuştur. Test gruplarına bakıldığında en yüksek biyoerişilebilirlik düzeyi  $74,12 \pm 3,89$  oranı ile sadece *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi içeren test 1 grubudur. Test grupları arasında en düşük biyoerişilebilirlik düzeyi  $39,71 \pm 5,12$  oranı ile *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi ile yulaf kepeğinin beraber bulunduğu test 3 grubudur. Sadece yulaf kepeği bulunan test 2 grubunun biyoerişilebilirlik oranı ise  $43,53 \pm 1,67$  oranında bulunmuştur. Test 2 ve test 3 grubu pozitif kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi içeren test 1 grubu, yulaf kepeği içeren test 2 grubu ve *Leuconostoc lactis* + Yulaf kepeği içeren test 3 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Vasconcelos ve ark. (67) *Lactobasillus plantarum* ve prebiyotiklerin inek sütünde AFB1 detoksifikasyonu araştırmış ve yapay olarak kontamine olan UHT sütte biyoerişilebilirlik oranlarına *in vitro* sindirilebilirlik analizi ile bakmışlardır. Biyoerişilebilirlikteki en büyük azalma %51,1 oranı ile  $10,0 \mu\text{g/L}$  AFB1 konsantrasyonuna sahip inülin veya oligofruktoz ve *L. Plantarum* eklenmesiyle meydana gelmiştir. Saladino ve ark. (80) farklı *Lactobacillus* ve *Bifidobacteria* suşlarının, somun ekmeğine eklenen AFB1 ve AFB2'nin biyoerişilebilirliğini azaltma kapasitesini *in vitro* gastrointestinal sindirim sistemi ile değerlendirmiştir. Çalışma gruplarında en yüksek biyoerişilebilirlik, somun ekmeğinin *Lb. johnsoni*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum* ve *Lb. reuteri* ile birlikte sindirilmesiyle elde edilmiş ve %98,66 oranında AFB1'in azaldığı görülmüştür. Çalışmanın sonucunda spesifik probiyotik mikroorganizmalarla zenginleştirilmiş ve AF'lerle kontamine olmuş besinin tüketilmesi, besinde bulunan bu toksik bileşiklerin alımıyla ilişkili riski azaltabileceği bildirilmiştir.

*Leuconostoc lactis* ve yulaf kepeğinin kolonda *in vitro* sindirim sonrası biyoerişilebilirlik düzeylerine bakıldığında test parametresi içermeyen kontrol grubunda  $72,01 \pm 4,42$  oranında bulunmuştur. En yüksek biyoerişilebilirlik düzeyi  $60,40 \pm 6,49$  oranı ile sadece *Leuconostoc lactis* probiyotik bakteri içeren test 1 grubu

olmuştur. Sadece yulaf kepeği içeren test 2 grubunun biyoerişilebilirlik düzeyi  $59,60 \pm 2,76$  oranında bulunmuştur. En düşük biyoerişilebilirlik düzeyi  $48,11 \pm 7,11$  oranı ile *Leuconostoc lactis* ve yulaf kepeği içeren test 3 grubu olmuştur. *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi içeren test 1 grubu ile yulaf kepeği içeren test 2 grubu istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). Ancak *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği içeren test 3 grubu pozitif kontrol ve test 2 ile test 3 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Çalışmamız kolonda *in vitro* sindirim sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik düzeylerine bakılan ilk çalışmadır. Yapılan çalışmalarda yalnızca ince bağırsaktaki biyoerişilebilirlik değerlendirilmiştir ancak ince bağırsaktan emilmeden kolona geçen aflatoksin-biyolojik ajan kompleksinin kolonda bulunan mikroorganizmalar ve enzimler tarafından da değişikliğe uğrayabileceği düşünülmektedir (85).

*In vitro* sindirim sonrasında AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdelerine bakıldığında ince bağırsak sonrası ve kolon sonrası en yüksek azalma yüzdesi *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği içeren test 3 grubu olmuştur, en düşük azalma yüzdesi sadece *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi içeren test 1 grubu olmuştur. *In vitro* sindirim sonrasında AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdeleri ince bağırsak sonrası en düşük  $14,07 \pm 4,51$  oranı ile *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi içeren test 1 grubu olmuştur. En yüksek biyoerişilebilirlik azalma  $53,96 \pm 5,94$  oranı ile *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği içeren test 3 grubu olmuştur ve test 1 ile test 3 grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Sadece yulaf kepeği içeren test 2 grubunun *in vitro* sindirim sonrasında AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdesi ise  $49,53 \pm 1,94$  oranında bulunmuştur ve test 1 grubunu ile biyoerişilebilirlik azalma yüzdeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). *In vitro* sindirim sonrasında AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdeleri kolon sonrası yulaf kepeği içeren grupta  $17,24$  oranında bulunurken *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği içeren test grubunda  $33,19$  oranında bulunmuştur. Sinbiyotik olarak probiyotik ve prebiyotik ajanların eklendiği grupta biyoerişilebilirlik azalma yüzdesi daha yüksek bulunmakla birlikte bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi içeren test 1 grubu ile test 2 ve test 3 grupları arasında ise azalma yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). *In vitro* sindirim sonrasında AFB1 biyoerişilebilirlik

azalma yüzdeleri kolon sonrası en düşük  $16,12 \pm 9,01$  oranı ile *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi içeren test 1 grubu olurken en yüksek  $33,19 \pm 9,87$  oranı ile *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği içeren test 3 grubu olmuştur. Sadece yulaf kepeği içeren test 2 grubunun *in vitro* sindirim sonrasında AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdesi ise  $17,24 \pm 3,83$  oranı ile test 2 grubu olmuştur. Probiyotik ve prebiyotik ajanların eklendiği test grubunda biyoerişilebilirlik azalma yüzdesi daha yüksek bulunmakla birlikte bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ). AF'lerin biyoerişilebilirliğini azaltmada probiyotik suşları arasında gözlemlenen farklılıklar belirsizdir, ancak hücre yüzeyi hidrofobikliğin AF bağlanmasıyla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. AF moleküllerinin spesifik bakterilerin hücre duvarı bileşenlerine bağlandığı, dolayısıyla bakterilerin farklı etkinliğinin, farklı suşlarda bulunan tamamen farklı bağlanma bölgelerinden veya suşa bağlı olarak değişen benzer bağlanma bölgelerindeki küçük farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir (80).

Sonuç olarak test edilen probiyotik bakteri (*Leuconostoc lactis*) ve prebiyotiğin (yulaf kepeği) badem sütünde farklı oranlarda AFB1 bağlama kapasitesi olduğu gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan biyolojik ajanların ilk defa kullanılıyor olması sonuçların literatürdeki çalışmalar ile karşılaştırılmasında sınırlılıklara sebep olmuştur ancak uygulanan *in vitro* sindirim modeli kullanılarak bu biyolojik ajanların badem sütünde AFB1 biyoerişilebilirliği üzerindeki etkisi gösterilmiştir. *Leuconostoc lactis* ve yulaf kepeğinin besinde sağladıkları bağlanma düzeyi gastrointestinal sistem boyunca değişiklik göstermiştir. Dolayısıyla çalışmada kullanılan biyolojik ajanların farklı yapıya sahip olması nedeniyle toksin ile biyolojik ajan arasında gerçekleşen bağlanma düzeyleri arasında farklılık gözlenmiştir. Bunun sonucunda da farklı AFB bağlanma düzeyleri ortaya çıkmıştır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

### 6.1. Sonuçlar

Biyolojik ajan olarak *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi ve prebiyotik olarak yulaf kepeği kullanılarak badem sütünde AFB1 biyoerişebilirliğinin araştırılması amacı ile yapılan bu çalışmanın sonuçları maddeler halinde aşağıda gösterilmektedir.

1. İnkübasyon sonrası *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisinin AFB1'e bağlanma düzeyi  $19,20 \pm 2,79$ ; yulaf kepeğinin AFB1'e bağlanma düzeyi  $20,25 \pm 1,51$ ; *Leuconostoc lactis* ve yulaf kepeğinin birlikte olduğu örneklerde AFB1'e bağlanma düzeyi  $21,14 \pm 2,35$  olarak tespit edilmiştir. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).
2. *In vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyi test parametresi içermeyen kontrol grubunda  $86,26 \pm 1,47$  tespit edilmiştir.
3. *In vitro* sindirim modeli uygulamasında badem sütündeki AFB1'in ince bağırsak sonrası biyoerişilebilirlik düzeyi en yüksek *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi içeren örneklerde tespit edilmiş ( $74,12 \pm 3,89$ ) ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
4. *In vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyi yulaf kepeği içeren örneklerde  $43,53 \pm 1,67$  olarak tespit edilmiş ve kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda önemli düzeyde düşüş tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ).
5. *In vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyi en düşük *Leuconostoc lactis* ile yulaf kepeğinin birlikte olduğu örneklerde tespit edilmiş ( $39,71 \pm 5,12$ ), verilerde istatistiksel anlamda önemli ölçüde düşüş tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ).
6. *In vitro* sindirim modeli uygulamasında badem sütündeki AFB1'in kolon sonrasında biyoerişilebilirlik düzeyi  $72,01 \pm 4,42$  olarak tespit edilmiştir.



7. *İn vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyi en yüksek *Leuconostoc lactis* içeren örneklerde tespit edilmiştir ( $60,40 \pm 6,49$ ) ve test parametresi içermeyen kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).
8. *İn vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyi yulaf kepeği içeren örneklerde  $\%59,60 \pm 2,76$  tespit edilmiştir ve test parametresi içermeyen kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0,05$ ).
9. *İn vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası tespit edilen AFB1 biyoerişilebilirlik düzeyi en düşük *Leuconostoc lactis* + yulaf kepeği içeren örneklerde tespit edilmiştir ( $\%48,11 \pm 7,11$ ) ve test parametresi içermeyen kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
10. *İn vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdesi *Leuconostoc lactis* içeren test 1 grubunda  $\%14,07 \pm 4,51$  olarak hesaplanmıştır.
11. *İn vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdesi yulaf kepeği içeren test 2 grubunda  $\%49,53 \pm 1,94$  olarak hesaplanmıştır ve *Leuconostoc lactis* içeren test 1 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
12. *İn vitro* sindirim modeli uygulamasında ince bağırsak sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdesi *Leuconostoc lactis* + Yulaf kepeği içeren test 3 grubunda  $\%53,96 \pm 5,94$  olarak hesaplanmıştır ve *Leuconostoc lactis* içeren test 1 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).
13. *İn vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdesi *Leuconostoc lactis* içeren test 1 grubunda  $\%16,12 \pm 9,01$  olarak hesaplanmıştır.

14. *In vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdesi yulaf kepeği içeren test 2 grubunda %17,24±3,83 olarak hesaplanmıştır.

15. *In vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdesi *Leuconostoc lactis* + Yulaf kepeği içeren test 3 grubunda %33,19±9,87 olarak hesaplanmıştır.

16. *In vitro* sindirim modeli uygulamasında kolon sonrası AFB1 biyoerişilebilirlik azalma yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

## 6.2. Öneriler

Aflatoksinlerin ekonomi ve sağlık üzerindeki olumsuz etkileri, gıdalarda oluşumunun önlenmesi, kontamine ürünlerde bu toksinlerin ortadan kaldırılması, etkisiz hale getirilmesi veya biyoyararlılığının azaltılmasına yönelik stratejilerin araştırılmasına yol açmıştır. Aflatoksin eliminasyonu veya inaktivasyonu fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle sağlanabilmektedir. Fiziksel ve kimyasal yöntemler, ya kirletici maddelerin uzaklaştırılmasında etkili olmadıklarından ya da maliyetlerin yüksek olması, ürüne besinsel ve duyuşal zararlar vermesi nedeniyle güvenlik, ekonomi ve ürün kalitesi açısından en uygun yöntemler değildir. Bu nedenle hem çevre hem de vücut sağlığına dost olması nedeniyle biyolojik yöntemler ortaya çıkmış ve popülerlik kazanmıştır (98).

Yapılan bu çalışmada *in vitro* sindirim modeli de kullanılarak yulaf kepeği ile *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisinin badem sütünde Aflatoksin B1 (AFB1) biyoerişilebilirliği üzerine etkisi literatürde ilk kez incelenmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler inkübasyon sonrası badem sütündeki AFB1 miktarı ve *in vitro* sindirim sonrası aşamalarda AFB1 miktarı farklılık göstermiştir. *Leuconostoc lactis* probiyotik bakterisi ile yulaf kepeğinin AFB1 biyoerişilebilirliğini azaltmada etkili olabileceği ve sadece yulaf kepeğinin AFB1 bağlanmasında oldukça kararlı olduğu görülmüştür. İleri çalışmalarda *in vitro* sindirim modeli uygulanması, hem fonksiyonel hem de vegan özelliğinde alternatif bir içecek kullanılması ve farklı biyolojik ajanlar kullanılarak AFB1 bağlanma ve biyoerişilebilirliğinin etkisinin incelenmesi

açılardan katkı sağlanabilecektir. Ayrıca bu çalışma AFB1'in kolonda biyoerişilebilirliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır.

## 7.KAYNAKLAR

1. Rychlik M, Humpf H-U, Marko D, Dänicke S, Mally A, Berthiller F, ve ark. Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including “masked” mycotoxins. *Mycotoxin research*. 2014;30:197-205.
2. Kabak B, Ozbey F. Assessment of the bioaccessibility of aflatoxins from various food matrices using an in vitro digestion model, and the efficacy of probiotic bacteria in reducing bioaccessibility. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2012;27(1):21-31.
3. Palumbo R, Crisci A, Venâncio A, Cortiñas Abrahantes J, Dorne J-L, Battilani P, et al. Occurrence and co-occurrence of mycotoxins in cereal-based feed and food. *Microorganisms*. 2020;8(1):74.
4. Afshar P, Shokrzadeh M, Raeisi SN, Ghorbani-HasanSarai A, Nasiraii LR. Aflatoxins biotransformation strategies based on probiotic bacteria. *Toxicon*. 2020;178:50-8.
5. Chlebicz A, Śliżewska K. In vitro detoxification of aflatoxin B 1, deoxynivalenol, fumonisins, T-2 toxin and zearalenone by probiotic bacteria from genus *Lactobacillus* and *Saccharomyces cerevisiae* yeast. *Probiotics and antimicrobial proteins*. 2020;12:289-301.
6. Emadi A, Eslami M, Yousefi B, Abdolshahi A. In vitro strain specific reducing of aflatoxin B1 by probiotic bacteria: a systematic review and meta-analysis. *Toxin Reviews*. 2022;41(3):995-1006.
7. Escrivá L, Agahi F, Vila-Donat P, Mañes J, Meca G, Manyes L. Bioaccessibility study of aflatoxin B1 and ochratoxin A in bread enriched with fermented milk whey and/or pumpkin. *Toxins*. 2021;14(1):6.
8. Masoomshahi T, Ehsani J, Ebrahimi M. Isolation and Identification of Predominant Lactic Acid Bacterial Flora From Oat Bran Sourdough and Their Antifungal Ability. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2020;14(5):408-24.
9. Rushing BR, Selim MI. Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. *Food and chemical toxicology*. 2019;124:81-100.
10. Dhakal A, Sbar E. Aflatoxin toxicity. *StatPearls [Internet]: StatPearls Publishing*; 2021.
11. Wang X, Wang T, Nepovimova E, Long M, Wu W, Kuca K. Progress on the detoxification of aflatoxin B1 using natural anti-oxidants. *Food and Chemical Toxicology*. 2022:113417.
12. Commission E. Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Off J Eur Union L*. 2006;70:12-34.

13. Reddy K, Salleh B, Saad B, Abbas H, Abel C, Shier W. An overview of mycotoxin contamination in foods and its implications for human health. *Toxin reviews*. 2010;29(1):3-26.
14. Voth-Gaeddert LE, Stoker M, Torres O, Oerther DB. Association of aflatoxin exposure and height-for-age among young children in Guatemala. *International Journal of Environmental Health Research*. 2018;28(3):280-92.
15. Boonen J, Malysheva SV, Taevernier L, Di Mavungu JD, De Saeger S, De Spiegeleer B. Human skin penetration of selected model mycotoxins. *Toxicology*. 2012;301(1-3):21-32.
16. Jolly P, Inusah S, Lu B, Ellis W, Nyarko A, Phillips T, ve ark. Association between high aflatoxin B1 levels and high viral load in HIV-positive people. *World mycotoxin journal*. 2013;6(3):255-61.
17. Jolly P, Inusah S, Lu B, Ellis W, Nyarko A, Phillips T, ve ark. Association between high aflatoxin B1 levels and high viral load in HIV-positive people. *World mycotoxin journal*. 2013;6(3):255.
18. Dai Y, Huang K, Zhang B, Zhu L, Xu W. Aflatoxin B1-induced epigenetic alterations: An overview. *Food and Chemical Toxicology*. 2017;109:683-9.
19. 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.
20. Darsanaki RK, Kolavani MH, Chakoosari MMD, Shalkeh SE, Tajehmiri A. Biological control of aflatoxin B1 by probiotic bacteria. *Trends in Life Science*. 2014;3(1):2319-4731.
21. Pauletto M, Giantin M, Tolosi R, Bassan I, Barbarossa A, Zaghini A, ve ark. Curcumin mitigates AFB1-induced hepatic toxicity by triggering cattle antioxidant and anti-inflammatory pathways: A whole transcriptomic in vitro study. *Antioxidants*. 2020;9(11):1059.
22. Türk Gıda Kodeksi, Gıdalardaki AFB1 Maksimum Limitleri [İnternet]. 2011 [Erişim Tarihi 10 Kasım 2023] Erişim adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8-1.pdf>
23. Ariño A, Herrera M, Juan T, Estopañan G, Carramiñana J, Rota C, ve ark. Influence of agricultural practices on the contamination of maize by fumonisin mycotoxins. *Journal of food protection*. 2009;72(4):898-902.
24. Singh KB, Maurya BK, Trigun SK. Activation of oxidative stress and inflammatory factors could account for histopathological progression of aflatoxin-B1 induced hepatocarcinogenesis in rat. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2015;401(1):185-96.
25. Dhakal A, Sbar E. Aflatoxin Toxicity. StatPearls. StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA; 2022.
26. Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2004;80(5):1106-22.

27. Aguilar F, Hussain SP, Cerutti P. Aflatoxin B1 induces the transversion of G-> T in codon 249 of the p53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90(18):8586-90.
28. McMillan A, Renaud JB, Burgess KM, Orimadegun AE, Akinyinka OO, Allen SJ, et al. Aflatoxin exposure in Nigerian children with severe acute malnutrition. *Food and Chemical Toxicology*. 2018;111:356-62.
29. Magnussen A, Parsi MA. Aflatoxins, hepatocellular carcinoma and public health. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2013;19(10):1508.
30. Murray PR, Rosenthal K, Kobayashi G, Pfaller M. *Medical microbiology* 6th Ed. St Louis, Mo: Mosby. 2002.
31. Gong YY, Wilson S, Mwatha JK, Routledge MN, Castelino JM, Zhao B, et al. Aflatoxin exposure may contribute to chronic hepatomegaly in Kenyan school children. *Environmental Health Perspectives*. 2012;120(6):893-6.
32. Mohsenzadeh MS, Hedayati N, Riahi-Zanjani B, Karimi G. Immunosuppression following dietary aflatoxin B1 exposure: a review of the existing evidence. *Toxin Reviews*. 2016;35(3-4):121-7.
33. Wang W, Wang Y, Yang J, Wagner KM, Hwang SH, Cheng J, et al. Aflatoxin B1 exposure disrupts the intestinal immune function via a soluble epoxide hydrolase-mediated manner. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2023;249:114417.
34. Gong YY, Watson S, Routledge MN. Aflatoxin exposure and associated human health effects, a review of epidemiological studies. *Food safety*. 2016;4(1):14-27.
35. Gong YY, Cardwell K, Hounsa A, Egal S, Turner PC, Hall AJ, et al. Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Benin and Togo: cross sectional study. *Bmj*. 2002;325(7354):20-1.
36. Turner PC, Moore SE, Hall AJ, Prentice AM, Wild CP. Modification of immune function through exposure to dietary aflatoxin in Gambian children. *Environmental health perspectives*. 2003;111(2):217-20.
37. Hayashi A, José Dorantes-Aranda J, Bowman JP, Hallegraef G. Combined cytotoxicity of the phycotoxin okadaic acid and mycotoxins on intestinal and neuroblastoma human cell models. *Toxins*. 2018;10(12):526.
38. Li C, Liu X, Wu J, Ji X, Xu Q. Research progress in toxicological effects and mechanism of aflatoxin B1 toxin. *PeerJ*. 2022;10:e13850.
39. Fernández-García E, Carvajal-Lérida I, Pérez-Gálvez A. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *Nutrition research*. 2009;29(11):751-60.
40. Li C, Yu W, Wu P, Chen XD. Current in vitro digestion systems for understanding food digestion in human upper gastrointestinal tract. *Trends in Food Science & Technology*. 2020;96:114-26.
41. Dupont D, Alric M, Blanquet-Diot S, Bornhorst G, Cueva C, Deglaire A, et al. Can dynamic in vitro digestion systems mimic the physiological reality? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019;59(10):1546-62.

42. Zhou H, Tan Y, McClements DJ. Applications of the INFOGEST In Vitro Digestion Model to Foods: A Review. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2023;14:135-56.
43. Taşdemir A. Probiyotikler, prebiyotikler, sinbiyotikler. *Sağlık Akademisi Kastamonu*. 2017;2(1):71-88.
44. Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, Gil A. Mechanisms of action of probiotics. *Advances in nutrition*. 2019;10(suppl\_1):S49-S66.
45. Thakur N, Rokana N, Panwar H. Probiotics, Selection criteria, safety and role in health and. *Journal of Innovative Biology* January. 2016;3(1):259-70.
46. Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński M, Feleszko W. Postbiotics—a step beyond pre-and probiotics. *Nutrients*. 2020;12(8):2189.
47. Coman MM, Verdenelli MC, Cecchini C, Silvi S, Vasile A, Bahrim GE, ve ark. Effect of buckwheat flour and oat bran on growth and cell viability of the probiotic strains *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501®, *Lactobacillus paracasei* IMC 502® and their combination SYN BIO®, in synbiotic fermented milk. *International journal of food microbiology*. 2013;167(2):261-8.
48. Davani-Davari D, Negahdaripour M, Karimzadeh I, Seifan M, Mohkam M, Masoumi SJ, et al. Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*. 2019;8(3):92.
49. Den Besten G, Van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud D-J, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of lipid research*. 2013;54(9):2325-40.
50. Olveira G, González-Molero I. An update on probiotics, prebiotics and symbiotics in clinical nutrition. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*. 2016;63(9):482-94.
51. Pandey K, Naik S, Vakil B. Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. *Journal of food science and technology*. 2015;52(12):7577-87.
52. Varzakas T, Kandyli P, Dimitrellou D, Salamoura C, Zakynthinos G, Proestos C. Innovative and fortified food: Probiotics, prebiotics, GMOs, and superfood. *Preparation and processing of religious and cultural foods: Elsevier*; 2018. p. 67-129.
53. Mohanty D, Misra S, Mohapatra S, Sahu PS. Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition. *Food bioscience*. 2018;26:152-60.
54. Vasile A, Corcionivoschi N, Bahrim G. The prebiotic and protective effects of buckwheat flour and oat bran on *Lactobacillus acidophilus*. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI-Food Technology*. 2016;40(2):40-50.
55. Liu L, Xie M, Wei D. Biological detoxification of mycotoxins: Current status and future advances. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(3):1064.
56. Gizem O, Özcan T, Ersan Ly. Biyolojik detoksifikasyon ve probiyotikler. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2016;30(1):157-68.
57. Evren M, Çınkır NI, editors. *International Anatolian Agriculture Food Environment and Biology Conference*. Afyonkarahisar; 2019.

58. Mosallaie F, Jooyandeh H, Hojjati M, Fazlara A. Biological reduction of aflatoxin B1 in yogurt by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. *Food science and biotechnology*. 2020;29(6):793-803.
59. Wacoo AP, Atukunda P, Muhoozi G, Braster M, Wagner M, Van Den Broek TJ, ve ark. Aflatoxins: Occurrence, exposure, and binding to *Lactobacillus* species from the gut microbiota of rural Ugandan children. *Microorganisms*. 2020;8(3):347.
60. Pizzolitto RP, Bueno DJ, Armando MR, Cavaglieri LR, Dalcero AM, Salvano MA. Binding of aflatoxin B1 to lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in vitro: a useful model to determine the most efficient microorganism: InTech-Open Access Publisher; 2011.
61. Bartkiene E, Zavistanaviciute P, Lele V, Ruzauskas M, Bartkevics V, Bernatoniene J, ve ark. *Lactobacillus plantarum* LUHS135 and *paracasei* LUHS244 as functional starter cultures for the food fermentation industry: Characterisation, mycotoxin-reducing properties, optimisation of biomass growth and sustainable encapsulation by using dairy by-products. *LWT*. 2018;93:649-58.
62. Byakika S, Mukisa IM, Wacoo AP, Kort R, Byaruhanga YB, Muyanja C. Potential application of lactic acid starters in the reduction of aflatoxin contamination in fermented sorghum-millet beverages. *International Journal of Food Contamination*. 2019;6(1):1-8.
63. Tajik H, Sayadi M. Effects of probiotic bacteria of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* on aflatoxin B1 detoxification within a simulated gastrointestinal tract model. *Toxin Reviews*. 2022;41(1):92-9.
64. Wochner KF, Moreira MC, Kalschne DL, Colla E, Drunkler DA. Detoxification of Aflatoxin B1 and M1 by *Lactobacillus acidophilus* and prebiotics in whole cow's milk. *Journal of Food Safety*. 2019;39(5):e12670.
65. Macit A, Sevim S, Kizil M. Aflatoxin B1 and M1 detoxification in foodstuffs: Examining the efficacy of probiotics with and without prebiotics—A systematic review. *Food Bioscience*. 2024:103724.
66. 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;100:235-9.
67. Vasconcelos RAM, Kalschne DL, Wochner KF, Moreira MCC, Becker-Algeri TA, Centenaro AI, et al. Feasibility of *L. plantarum* and prebiotics on Aflatoxin B 1 detoxification in cow milk. *Food Science and Technology*. 2020;41:627-32.
68. Chaharaein M, Sadeghi E, Mohammadi R, Rouhi M, Soltani M. The effect of  $\beta$ -glucan and inulin on the reduction of aflatoxin B1 level and assessment of textural and sensory properties in chicken sausages. *Current research in food science*. 2021;4:765-72.
69. Shetty PH, Hald B, Jespersen L. Surface binding of aflatoxin B1 by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *International Journal of Food Microbiology*. 2007;113(1):41-6.



70. El-Nezami H, Kankaanpaa 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):321-6.
71. Fernandez Juri MG, Dalcerro AM, Magnoli CE. In vitro aflatoxin B1 binding capacity by two *Enterococcus faecium* strains isolated from healthy dog faeces. *Journal of Applied Microbiology*. 2015;118(3):574-82.
72. Versantvoort CH, Ondrewater RC, Duizer E, Van de Sandt JJ, Gilde AJ, Groten JP. Monolayers of IEC-18 cells as an in vitro model for screening the passive transcellular and paracellular transport across the intestinal barrier: comparison of active and passive transport with the human colon carcinoma Caco-2 cell line. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2002;11(3-4):335-44.
73. Oomen A, Rompelberg C, Bruil M, Dobbe C, Pereboom D, Sips A. Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 2003;44:0281-7.
74. Ruby MV, Schoof R, Brattin W, Goldade M, Post G, Harnois M, ve ark. Advances in evaluating the oral bioavailability of inorganics in soil for use in human health risk assessment. *Environmental science & technology*. 1999;33(21):3697-705.
75. Glahn RP, Wien EM, van Campen DR, Miller DD. Caco-2 cell iron uptake from meat and casein digests parallels in vivo studies: use of a novel in vitro method for rapid estimation of iron bioavailability. *The Journal of nutrition*. 1996;126(1):332-9.
76. Göçer EMÇ, Ergin F, Küçükçetin A. Sindirim sistemi modellerinde probiyotik mikroorganizmaların canlılığı. *Akademik Gıda*. 2016;14(2):158-65.
77. Versantvoort CH, Oomen AG, Van de Kamp E, Rompelberg CJ, Sips AJ. Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and chemical toxicology*. 2005;43(1):31-40.
78. Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C, ve ark. A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & function*. 2014;5(6):1113-24.
79. Kabak B, Brandon EF, Var I, Blokland M, Sips AJ. Effects of probiotic bacteria on the bioaccessibility of aflatoxin B1 and ochratoxin A using an in vitro digestion model under fed conditions. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 2009;44(5):472-80.
80. Saladino F, Posarelli E, Luz C, Luciano F, Rodriguez-Estrada M, Mañes J, ve ark. Influence of probiotic microorganisms on aflatoxins B1 and B2 bioaccessibility evaluated with a simulated gastrointestinal digestion. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2018;68:128-32.
81. Myers RH, Montgomery DC, Anderson-Cook CM. *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*: John Wiley & Sons; 2016.
82. Ceylan MM. *Badem sütü üretimi ve optimizasyonu [Yüksek Lisans]*: Hatay; Mustafa Kemal Üniversitesi; 2013.

83. ME HWM. *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. Academic Press: London; 1990.
84. Tripathi MK, Giri SK. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of functional foods*. 2014;9:225-41.
85. Sevim S. Aflatoksin M1 Biyoerişilebilirliği Üzerine Probiyotik Mikroorganizmalar, Biyopolimer Ve Diyet Lifi Etkinliğinin İncelenmesi [Doktora Tezi]: Ankara: Hacettepe Üniversitesi; 2024.
86. Regulation E. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, Geneva. 2006.
87. Güley Z, Uysal HR, Kılıç S. Doğal yolla küflendirilen bazı geleneksel peynirlerde aflatoksin M1, aflatoksin B1 ve aflatoksin üreten küflerin varlığının araştırılması. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2013;50(3).
88. El-Nezami H, Kankaanpää P, Salminen S, Ahokas J. Physicochemical alterations enhance the ability of dairy strains of lactic acid bacteria to remove aflatoxin from contaminated media. *Journal of Food Protection*. 1998;61(4):466-8.
89. Rahaie S, Emam-Djomeh Z, Razavi SH, Mazaheri M. Evaluation of aflatoxin decontaminating by two strains of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in pistachio nuts. *International Journal of Food Science & Technology*. 2012;47(8):1647-53.
90. Huang L, Duan C, Zhao Y, Gao L, Niu C, Xu J, ve ark. Reduction of aflatoxin B1 toxicity by *Lactobacillus plantarum* C88: a potential probiotic strain isolated from Chinese traditional fermented food “tofu”. *PloS one*. 2017;12(1):e0170109.
91. 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, part B*. 2008;43(7):617-24.
92. Rezasoltani S, Ebrahimi NA, Boroujeni RK, Aghdaei HA, Norouzinia M. Detoxification of aflatoxin M1 by probiotics *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus casei*, and *Lactobacillus acidophilus* in reconstituted milk. *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*. 2022;15(3):263.
93. Haskard C, Binnion C, Ahokas J. Factors affecting the sequestration of aflatoxin by *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. *Chemico-biological interactions*. 2000;128(1):39-49.
94. Lee Y, El-Nezami H, Haskard C, Gratz S, Puong K, Salminen S, ve ark. Kinetics of adsorption and desorption of aflatoxin B1 by viable and nonviable bacteria. *Journal of Food Protection*. 2003;66(3):426-30.
95. Liu A, Zheng Y, Liu L, Chen S, He L, Ao X, ve ark. Decontamination of aflatoxins by lactic acid bacteria. *Current Microbiology*. 2020;77:3821-30.
96. Lucas-González R, Viuda-Martos M, Pérez-Alvarez JA, Fernández-López J. In vitro digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. *Food Research International*. 2018;107:423-36.

97. Minekus M, Marteau P, Havenaar R, Veld JH. A multicompartmental dynamic computer-controlled model simulating the stomach and small intestine. *Alternatives to laboratory animals*. 1995;23(2):197-209.
98. Goncalves BL, Uliana RD, Coppa CFSC, Lee SHI, Kamimura ES, Oliveira CAF, et al. Aflatoxin M 1: biological decontamination methods in milk and cheese. *Food Science and Technology*. 2020;42.

## 8.EKLER

### Ek-1: Tez Çalışması Orijinallik Raporu

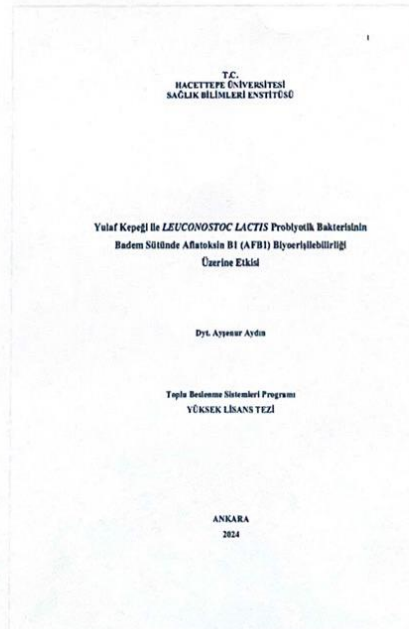


## Digital Receipt

This receipt acknowledges that Turnitin received your paper. Below you will find the receipt information regarding your submission.

The first page of your submissions is displayed below.

Submission author: aysenur aydin  
Assignment title: Yulaf Kepeği ile LEUCONOSTOC LACTIS Probiyotik Bakterisini...  
Submission title: Yulaf Kepeği ile LEUCONOSTOC LACTIS Probiyotik Bakterisini...  
File name: Ay\_enur\_AYDIN-YL\_tez.docx  
File size: 1.06M  
Page count: 61  
Word count: 12,701  
Character count: 88,605  
Submission date: 04-Jun-2024 01:18PM (UTC+0300)  
Submission ID: 2395309108



## Ek-2: Orijinallik Ekran Çıktısı

### Yulaf Kepeği ile LEUCONOSTOC LACTIS Probiyotik Bakterisinin Badem Sütünde Aflatoksin B1 (AFB1) Biyoerişilebilirliği Üzerine Etkisi

#### ORIGINALITY REPORT

**16%**

SIMILARITY INDEX

**15%**

INTERNET SOURCES

**7%**

PUBLICATIONS

**%**

STUDENT PAPERS

#### PRIMARY SOURCES

**1**

[openaccess.hacettepe.edu.tr](http://openaccess.hacettepe.edu.tr)

Internet Source

**9%**

**2**

[acikbilim.yok.gov.tr](http://acikbilim.yok.gov.tr)

Internet Source

**1%**

**3**

[avesis.hacettepe.edu.tr](http://avesis.hacettepe.edu.tr)

Internet Source

**1%**

**4**

[dergipark.org.tr](http://dergipark.org.tr)

Internet Source

**<1%**

**5**

Khadije Abdolmaleki, Fardin Javanmardi, Mohsen Gavahian, Yuthana Phimolsiripol et al. "Emerging technologies in combination with probiotics for aflatoxins removal: An updated review", International Journal of Food Science & Technology, 2022

Publication

**<1%**

**6**

[dspace.trakya.edu.tr:8080](http://dspace.trakya.edu.tr:8080)

Internet Source

**<1%**

[www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080](http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080)

## 9. ÖZGEÇMİŞ