

# Probiyotik Bakterilerin Aflatoksin M1 Detoksifikasyonu Üzerine Etkisi

## *The Effect of Probiotic Bacteria on Aflatoxin M1 Detoxification*

Sümevra Sevim<sup>1</sup>, Mevlüde Kızıl<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara, Türkiye

### ÖZET

Aflatoksin, mutajenik, karsinojenik, hepatotoksik ve immüno-supresif özellikte, insan ve hayvan sağlığına olumsuz etkiler gösteren güçlü bir mikotoksidir. Aflatoksin M1 ise sıklıkla süt ve süt ürünlerinde bulunan kuvvetli bir toksindir. Süt ve süt ürünlerinin her yaşta birey tarafından sıklıkla tüketildiği göz önüne alındığında süt ve sütteki yüksek AFM1 düzeyi önemli bir halk sağlığı riski oluşturmaktadır. Günümüzde, aflatoksinin etkisiz hale getirilmesinde kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemlerin etkin olmaması nedeniyle güvenilir detoksifikasyon yöntemlerine gereksinim duyulmaktadır. Literatürde, yararlı mikroorganizmalar olarak bilinen probiyotik bakterilerin aflatoksin M1'i bağlayarak bu toksini detoksifiye etme yeteneğinin olduğu çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir ve probiyotik bakteriler biyolojik olması nedeniyle de umut verici görülmektedir. Bu derlemede, probiyotik bakterilerin aflatoksin M1 detoksifikasyonu üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar değerlendirilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Aflatoksin M1, probiyotik bakteriler, detoksifikasyon, süt ve süt ürünleri

### ABSTRACT

Aflatoxins are strong mycotoxins with mutagenic, carcinogenic, hepatotoxic and immunosuppressive properties that can cause harmful effects on animal and human health. Aflatoxin M1 (AFM1) is also a potent toxic compound frequently found in milk and dairy products. A high AFM1 incidence in milk and milk products creates an important public health risk due to the fact that milk and milk products are consumed widely by all age groups. Since physical and chemical methods that are used to deactivate aflatoxin are not effective enough, safe detoxification methods are needed. Probiotic bacteria which are known as beneficial microorganisms show a potential for biological control. In literature, several studies have reported that probiotic bacteria have detoxification ability through binding of AFM1. This review evaluates detoxification effects of probiotic bacteria on aflatoxin M1.

**Keywords:** Aflatoxin M1, probiotic bacteria, detoxification, milk and milk products

### GİRİŞ

Mikotoksinler, küfler tarafından doğal olarak üretilen ikincil toksik metabolitlerdir. Sağlık risklerine neden olan mikotoksinler, aflatoksin (AF), okratoksin, trikotesenler, zearalenon, patulin, siklopiazonik asit ve fumonisin olarak sıralanabilir. Bilinen 400 mikotoksin arasında aflatoksinler insan sağlığı açısından en tehlikeli olanlardır. Aflatoksin (AF), *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* mantar türlerinin ikincil toksik metabolitidir (1,2).

Aflatoksinler ilk olarak 1960 yılında karaciğer nekrozu ile karakterize Turkey X hastalığı etmeni olarak keşfedilmiştir. İngiltere'de ve Amerika'da 100.000'den fazla hindinin ve çiftlik hayvanlarının ölümüne neden olmuştur. Hayvanların tükettiği Brezilya fıncığında yoğun miktarda *Aspergillus flavus* ve bu küfün ürettiği toksin izole edilmiştir. Bu nedenle de bu toksine aflatoksin (*Aspergillus flavus*-toksin) denilmiştir (3,4).

#### İletişim/Correspondence:

Araş. Gör. Sümevra Sevim  
Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 06100 Ankara, Türkiye

E-posta: sumeyrasevim@hacettepe.edu.tr

Geliş tarihi/Received: 17.07.2015

Kabul tarihi/Accepted: 19.08.2015

Günümüze kadar 18 farklı aflatoksin türü saptanmıştır. Bunlar içerisinde toksijenik *Aspergillus* türleri tarafından doğal olarak oluşan aflatoksin B1, B2, G1 ve G2 en yaygın görülen temel türleridir: M1 ve M2 de sütte görülen en yaygın türleridir (5). Dört majör aflatoksin türünün isimlendirilmesi ultraviyole ışınları altında gösterdikleri renkler sonucunda gerçekleşmiştir, mavi (Blue) floresan renk verenler AFB1 ve AFB2, yeşil (Green) floresan renk verenler ise AFG1 ve AFG2 olarak adlandırılmıştır. AFM1 ve AFM2 ise sütte (Milk) bulunması nedeniyle M ile adlandırılmıştır. Bir (1) olarak numaralandırılan majör, iki (2) olarak numaralandırılan minör bileşimdir (3). Dünya Sağlık Örgütü, Uluslararası Kanser Araştırma Enstitüsü tarafından 1993 yılında, AFB1 1. grup insan karsinojenleri olarak, AFM1 ise 2B sınıfı insan karsinojeni olarak sınıflandırılmıştır (6). Bu derlemede toksik etkisi ispatlanmış olan Aflatoksin M1'in süt ve süt ürünlerinde probiyotik bakteriler tarafından detoksifiye edilmesine yönelik çalışmalar değerlendirilmiştir.

### Aflatoksin Metabolizması ve Sağlıkla İlişkisi

Aflatoksinler insan ve hayvan sağlığı üzerinde karsinojenik, mutajenik, teratojenik ve bağışıklığı baskılayıcı etkilere sahiptir (7). Aflatoksin yüksek oranda yağda çözünür bir yapıdadır ve genellikle maruziyet durumunda sindirim sistemi ve solunum sisteminden hızlıca absorbe edilir. İnsanlarda aflatoksinler, özellikle AFB1, mikrozomal enzim sitokrom P-450 (CYP450) tarafından aflatoksin-8,9-epokside metabolize edilir. Bu reaktif form serumda DNA'ya ve albümine bağlanarak DNA hasarına neden olur ve karaciğer kanserini tetikler (3,8).

Aflatoksin ile kontamine olmuş besin ve yemlerin tüketimi insan ve hayvan sağlığı üzerinde ciddi olumsuz sonuçlara neden olabilir. Dünyada gelişmekte olan ülkelerde 5 milyardan fazla insan aflatoksin ile kontamine besin tüketmesi nedeniyle kronik aflatoksin maruziyeti riski altında olduğu vebu bireylerin pek çoğunda aflatoksinle ilişkili karaciğer kanseri geliştiği tahmin edilmektedir (3). Aflatoksin maruziyeti temel olarak gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde bir sorundur. Çünkü bu

ülkelerde besin işleme ve depolamasına yönelik yönetmelikler yeterli değildir, ayrıca bu ülkelerde malnütrisyon düzeyi de oldukça yüksektir. Sahra altı Afrika ülkesi çocuklarında protein enerji malnütrisyonundan kaynaklı kwashiorkor ve marasmus insidansı ile Aflatoksin maruziyeti arasında bir ilişkili bulunmuştur (4,9). İnsan çalışmaları, aflatoksinin tümör nekrozis faktörünü (TNF- $\alpha$ ) artırdığını ve bu mikotoksinlerin insanlar için immünotoksik olduğunu ileri sürmektedir. Aflatoksinin vücutta bağışıklık sistemini baskılayıcı etkisinden dolayı HIV ve tüberkülozis ile ilişkili olduğu bulunmuştur (10,11). Aflatoksinin gelişen fetus için de bir tehdit olduğu ispatlanmış ve anne sütüyle bebeğe geçtiği belirtilmiştir (12,13).

Aflatoksinlerin karaciğer kanseri ve siroza neden olduklarına dair birçok çalışma bulunmaktadır (14-16). Karaciğer hasarıyla birlikte vücutta birçok yapı da zarar görmektedir (16). Aflatoksin nedenli akut karaciğer hasarı oluşmakta ve bu durum karaciğer enzimlerinin bozulmasına neden olmaktadır (3). Epidemiyolojik çalışmalar ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalar da aflatoksinler ve karaciğer kanseri arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (8,14,15). Ayrıca aflatoksinin oksidatif stres ve genotoksikite oluşturduğu, lipid peroksidasyonunda artışa neden olduğu rapor edilmiştir (1).

### Aflatotoksin M1

Aflatoksin M1 (AFM1), aflatoksin B1 ile kontamine yemlerle beslenmiş hayvanların karaciğerinde AFB1'in 4-hidroksi türevine dönüşerek süte salgılanan hepatokarsinojen bir toksindir. Bu dönüşüm insanda karaciğerde sitokrom P450 1A2 tarafından gerçekleştirilmektedir. Sağlık durumu, diyetin tipi, süt üretimi ve sindirim oranı gibi birçok etmen AFB1'in AFM1'e dönüşümüne etki etmektedir. Kontaminasyon düzeyine göre bu dönüşüm %0.3-6.2 arasında olmaktadır. AFM1, AFB1'den on kat daha az toksik olmasına rağmen AFM1'in sitotoksik, genotoksik ve karsinojenik etkileri de birçok tür üzerinden ispatlanmıştır (2,17).

Süt ve süt ürünlerinin günlük tüketimi ve bu

ürünlerin çocukların beslenmesinin temelini oluşturduğu göz önüne alındığında birçok ülkede yasal düzenlemelerle AFM1 için kabul edilebilir üst sınır belirlenmiştir (18). Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi'nde süt ve süt ürünleri için bulunan yasal düzenlemeye göre, çiğ süt, ısıtılmış süt ve süt bazlı ürünlerin üretiminde kullanılan sütte bulunabilecek en yüksek AFM1 miktarı 0.050 µg/kg (50 ng/kg) olarak belirlenmiştir (19). Brezilya, sütle kabul edilebilir en yüksek AFM1 düzeyi için 0.5µg/L, Avrupa Birliği çiğ sütle, ısıtılmış süt ve süt ürünlerinde en yüksek 0.05 µg/L AFM1 miktarını kabul etmektedir (18).

Türkiye'de farklı besin örneklerinde aflatoksin M1 saptanmasının önemi 1960'lardan bu yana artmaktadır. Fakat ülkemizde süt ürünlerinde AFM1 kontaminasyonuna yönelik veriler hala sınırlıdır. Süt ürünleri her yaş grubu tarafından tüketilmektedir ve özellikle çocukların beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle süt ve süt ürünlerinde aflatoksinin potansiyel zararları önemli bir halk sağlığı riski haline gelmektedir (20).

Ülkemizde süt ve süt ürünlerinin AFM1 içerikleri üzerine yapılan çalışmalar incelendiğinde, Ankara'da yapılan bir çalışmada 39 peynir örneğinin %28'inde, 40 yoğurt örneğinin de %80'inde AFM1 saptanmıştır ve 32 yoğurt örneğinde AFM1 düzeyi Avrupa Komisyonu'nun kabul ettiği yasal sınırın (50 ng/kg) oldukça üzerinde bulunmuştur (20). Afyonkarahisar'da yapılan bir çalışmada normal yoğurtların %12'sinin, meyveli yoğurtların %9.5'inin, torba yoğurdunun %21'inin AFM1 düzeyi Türk Gıda Kodeksi'nin kabul edilebilir düzeyinden (50 ng/kg) yüksek bulunmuştur (21). Kayseri'de yapılan bir çalışmada ise 210 süt ve süt ürünü (50 süt, 60 peynir, 50 yoğurt, 50 sütlü tatlı) örneklerinin %64'ünde AFM1 saptanmış, bu ürünlerin de %7'sinde AFM1 düzeyi yasal düzeyin (50 ng/kg) üzerinde bulunmuştur (22). Erzurum'da yapılan bir çalışmada rastgele seçilen 80 yoğurdun %88'inde AFM1 düzeyinin belirlenebilir düzeyin (5 ng/kg) üzerinde olduğu, %14'ünün de Türk Gıda Kodeksi limitlerinin üzerinde olduğu görülmüştür (23). Bu yüksek kontaminasyon düzeyi halk sağlığı için önemli bir sorun

oluşturabilir çünkü tüm yaş grupları, yeni doğan ve çocuklar da dahil, bu ürünleri tüketmektedirler (21). Bunun yanı sıra AFM1 pastörizasyon ve sterilizasyon gibi ısıtılmış işlemlerden etkilenmemekte ve çeşitli süt ürünlerinin depolanması sırasında dayanıklılığını korumaktadır (1). Yapılan bir çalışmada farklı düzeylerde AFM1 ile kontamine yoğurtlarda depolamanın AFM1 üzerindeki etkisi incelenmiş ve buzdolabında +4°C'de 2 haftalık depolamadan sonra yoğurtlarda AFM1'in stabil kaldığı saptanmıştır (24). Buna karşın, başka bir çalışmada 7 günlük depolamaya kadar yoğurtta AFM1'in stabil olduğu ancak 12 günlük depolamadan sonra AFM1 düzeyinin %9 düştüğü rapor edilmiştir (25).

### **Aflatoksin Detoksifikasyonu İçin Kullanılan Yöntemler**

Aflatoksinin etkisiz hale getirilmesinde kullanılan fiziksel yöntemler ısıyla müdahale, UV ışınları veya iyonize radyasyon tekniklerini içermektedir. Fakat bu yöntemler yeterince etkili değildir. Kimyasal yöntemler ise genellikle klorlayıcı, oksitleyici ya da hidrolize ajanların eklenmesini gerektiren yöntemlerdir. Kimyasal yöntemler pahalı araç-gereç gerektirmektedir ve besin kalitesinde ciddi düşümlere neden olabilmektedir. Bu yöntemlerin etkin bir şekilde kullanılmaması nedeniyle insan sağlığına zarar vermeyecek güvenilir ve başarılı yöntemlere gereksinim duyulmaktadır (26-28). Günümüzde mikotoksinlerin neden olduğu zararlı etkileri ortadan kaldırmak için (i) kontaminasyonun engellenmesi, (ii) mikotoksinli besin ve yemlerin dekontaminasyonu (iii) tüketilen besinlerdeki mikotoksinin sindirim sistemlerinde emiliminin engellenmesi ve (iv) mikroorganizmaların kullanımıyla mikotoksinlerin parçalanması yaklaşımları bulunmaktadır (1,29). Bu yaklaşımlar doğrultusunda aflatoksinin kontrolü için insektisit, pestisit kullanımı, biyolojik kontrol gibi birçok strateji geliştirilmiştir. Bunlar içerisinde biyolojik kontrol en umut verici yaklaşım olarak kabul edilmektedir. Bakteri, maya ve nontoksijenik mantarları içeren mikroorganizmaların kullanımı son yıllarda besinlerde ve yemlerde aflatoksin kontrolü için üzerinde en çok durulan stratejidir (1).

Aflatoksinin mikroorganizmalar tarafından metabolik olarak detoksifiye edilmesinin yanı sıra yapılan güncel çalışmalarda bağırsaktaki yararlı mikroorganizmaların aflatoksinle bağlandığı ve bu bağlanmanın intestinal lümenin karsinojenlerin emilimini ve biyoyararlılığını azaltabileceği belirtilmektedir. Bu azalmanın da mikroorganizma-aflatoksin kompleksinin vücut dışına atılması ile sağlanabileceği üzerinde durulmaktadır (27).

### Probiyotiklerin Aflatoksin M1 Üzerine Etkisi

Probiyotik kelimesi Yunanca kökenli bir terim olarak “yaşam için” anlamına gelmekte ve “yeterli miktarda alındığında konakçı üzerinde sağlık yararı olan canlı mikroorganizmalar” olarak belirtilmektedir (30). Probiyotik terimi genellikle fermente süt ürünleri ya da diyet katkısı olarak alınabilen, biyolojik aktiviteleri ve intestinal sistemde canlılıklarını sürdürmeleriyle tanımlanan *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., ve *Bifidobacterium* spp. türlerini ifade etmek için kullanılmaktadır (31,32). Bu türlerin kullanılmasının temel nedeni bu mikroorganizmaların güvenilirliklerinin uzun bir geçmişe dayanması ve GRAS "generally recognized as safe" (genel olarak güvenilir kabul edilen) olarak kabul edilmesidir. Ayrıca *Lactobacillus* ince bağırsakta, *Bifidobacterium* da kalın bağırsakta olmak üzere insan intestinalinde dominant türlerdir (33).

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak nitelendirilebilmesi için bazı kriterler vardır: (a) bulunduğu konağa ispatlanmış yararlı etkileri olmalı (b) patojenik ve toksik olmamalı (c) mideden geçerken canlı kalabilmeli ve metabolik enzimlere karşı dirençli olmalı (d) depolama sürecinde canlılığını sürdürmeli ve stabil olmalı (34). Yoğurt yapımında başlatıcı olarak kullanılan ve “starter mikroorganizmalar” olarak bilinen klasik mikroorganizmaların (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) barsaklara tutunma ve kolonize olma özellikleri yoktur. Bu nedenle starter bakterileri tek başına probiyotik bakteri olarak nitelendirilememektedir (35).

Probiyotikler, sağlığa yararlı etkilerini

gösterebilmeleri için, tüketim zamanına kadar belli miktarlarda besin içerisinde bulunmalıdır. Besin endüstrisi, genellikle en düşük düzeyi  $10^6$  CFU  $ml^{-1}$  olarak kabul etmektedir. FDA da aynı şekilde bir probiyotik besinde bulunması gereken probiyotik bakteri miktarının en az  $10^6$  CFU  $ml^{-1}$  olmasını önermektedir. Ancak sindirim ve depolamanın canlılık üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, probiyotiklerin başarılı bir aktivite göstermesi için besinlerdeki miktarın  $10^8$ - $10^9$  CFU  $ml^{-1}$  olması gerektiği belirtilmektedir (33).

Probiyotik bakterilerin insan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkisi çeşitli çalışmalarla ispatlanmıştır. Probiyotik bakteriler antimikrobiyal, antikarsinojenik, antitumörjenik özelliklere sahiptirler ve gastrointestinal enfeksiyonlara karşı koruyucudurlar. Ayrıca laktoz metabolizmasının düzenlenmesinde, immün sistemin iyileştirilmesinde, kolesterol düzeyinin düşürülmesinde, diyare tedavisinde, *Helikobakter pilori* enfeksiyonunu baskılamada ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarının tedavisinde etkin oldukları belirtilmektedir (36).

Sağlık etkilerinin yanı sıra, insan bağırsak florasının önemli bir kısmını oluşturan ve birçok probiyotik etki gösteren *Bifidobacterium* ve bazı *Lactobacillus* türlerinin aflatoksin B1 ve aflatoksin M1'e etkili bir şekilde bağlanma yeteneği olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (27,37,38). Bağlanma mekanizmasının, henüz net olmamasına rağmen, bir metabolik yıkımdan ziyade, hücre duvarına veya hücre duvarı bileşenlerine (polisakkarit ve peptidoglikan) adezyon yeteneğinden kaynaklandığı belirtilmektedir. Bu yüzden bakteri hücre duvarı bileşenleri bütünlüğünün, aflatoksinle bağlanma sürecinde oldukça önemli olduğu belirtilmektedir (5,26,39). Özellikle spesifik laktik asit bakterilerinin (LAB) hücre duvarlarındaki hidrofobik kısımlarla aflatoksinle non-kovalent bağlarla bağlanarak aflatoksinin etkisiz hale getirdiği ve bu bakteri-aflatoksin kompleksinin vücut dışına atıldığı ileri sürülmektedir (1,2,27).

Bakterilerin mikotoksini bağlama yeteneği, toksinin özelliklerine göre de farklılık göstermektedir. Probiyotik LAB'nin aflatoksin

bağlamayeteneginintoksinin polaritesi ile yakından ilişkili olduğu ve bağlama yeteneğinin sırasıyla AFB1>AFB2 >AFG1 >AFG2'ye doğru azalma gösterdiği saptanmıştır (37). Bunun yanı sıra çevresel koşullar, asit ve ısı uygulamaları, bakteri popülasyonu, bakteri canlılığı, pH ve inkübasyon sıcaklığı da mikroorganizmaların aflatoksini bağlama etkinliğini değiştirebilmektedir (40,41).

Probiyotik bakterilerin süt ve süt ürünlerinde AFM1'in azaltılmasında önemli bir ajan olabileceği belirtilmektedir. Yapılan ilk çalışmalarda probiyotik bakterilerin in vitro ve in vivo modellerde süttten AFM1'i temizleyebildiği gösterilmiştir (36). *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. türlerinin solüsyon içinde AFM1'e bağlanma yeteneklerinin olduğu Elgerbi ve arkadaşları (42) tarafından gösterilmiştir. Bu çalışmada, bu bakterilerin 96 saat sonunda %5-73 oranında AFM1'e bağlandığı gösterilmiştir.

Yapılan bir çalışmada yoğurt starter bakterileri olan *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus*'un kontamine PBS'de (Fosfat Buffer Salin), sütte ve yoğurtta AFM1'e bağlanma kapasitesi araştırılmıştır. Çalışma sonunda PBS'de %19-29 oranında, sütte %28-39 oranında AFM1'e bağlanma yeteneği gözlemlenmiş, sütte ve PBS'de *S. thermophilus*'un bağlama yeteneği, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'den daha yüksek bulmuştur. Süt ve PBS'ye göre yoğurtta bağlanma daha az gerçekleşmiş ve bu durum aflatoksinin kazeine bağlanma özelliği ile ilişkilendirilmiştir (43).

Bovo ve arkadaşları (18) PBS'de ve yağsız sütte AFM1'in bazı probiyotik bakteri türleri (*Lactobacillus plantarum*, *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus* LB 340, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus gasseri*) tarafından detoksifiye edilmesini araştırmışlardır. Çalışma sonunda 37°C'de 15 dakika içinde PBS'de test bakterilerinin AFM1'in yarıdan fazlasını bağladığını göstermişlerdir. Ayrıca *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, ve *B. lactis*'in AFM1'i bağlama kapasiteleri yağsız UHT sütte de araştırılmış ve %14 oranında bağlanma gösterilmiştir. Benzer bir çalışma Kabak ve arkadaşları (6) tarafından

yapılmış, PBS'de ve yağsız sütte *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. bifidum* türlerinin AFM1'e bağlanma kapasiteleri araştırılmıştır. Çalışma sonunda canlı probiyotik bakterilerin sütteki AFM1'i %8-26 oranında, PBS'deki AFM1'i %10-27 oranında bağladığı bulunmuştur. Ayrıca *B. bifidum* Bb 13'ün AFM1'e en yüksek bağlanma kapasitesine sahip olduğu, *L. acidophilus* NCC 68'in en düşük bağlanma kapasitesine sahip olduğu belirtilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* tarafından AFM1'in bağlanma kapasitesi PBS'de ve yoğurt yapımı işleminde araştırılmıştır. Çalışma sonunda LAB ve bifidobakterinin AFM1'e bağlanma kapasitesine sahip olduğu, *L. plantarum* türünün en yüksek bağlanma kapasitesine sahip olduğu ve *L. bulgaricus*'un *S. thermophilus*'a göre daha yüksek bağlanma kapasitesi gösterdiği bulunmuştur. Sonuç olarak LAB'ın AFM1'in temizlenmesinde önemli rol oynadığı ve AFM1'in azaltılması için biyolojik ajan olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (44).

Başka bir çalışmada *L. rhamnosus* ve *L. plantarum* türünün PBS'de ve yağsız sütte AFM1'i bağlama yeteneği gösterilmiştir. İn vivo olarak *L. rhamnosus* GAF01'in farelerde beyaz ve kırmızı kan hücrelerinde ve lenfosit alt tiplerinde AFM1 kaynaklı etkileri engellediği bulunmuştur. Ayrıca  $10^8$  CFU *ml*<sup>-1</sup> bakteri popülasyonunun PBS'de ve yağsız sütte AFM1'i bağlamada oldukça uygun olduğu saptanmıştır (45). Kabak ve arkadaşları da (6) bakteri popülasyonunun AFM1'i bağlama kapasitesini etkileyen en önemli etmen olduğunu belirtmektedir.

Serrano-Niño ve arkadaşları (46) in vitro sindirim modeli kullanarak kontamine sütte *L. acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *L. rhamnosus*, *Lactobacillus johnson* ve *B. bifidum* türlerinin AFM1'in biyoyararlılığını düşürücü etkisini araştırmışlardır. Probiyotik bakteri türlerine bağlı olarak AFM1 düzeyinde in vitro sindirim modelinde %23-45 oranında, PBS'de %20-25 oranında düşüş bulunmuştur. Bakteri türleri arasında en yüksek düşüşü *B. bifidum* sağlamıştır. Bu çalışma sonunda test edilen probiyotik türlerinin kontamine süt ve

süt ürünlerinin tüketimiyle aflatoksin maruz kalan bireylerde AFM1'in zararlı etkilerini düşürmeye yardımcı olabileceği belirtilmektedir.

Elsanhoty ve arkadaşları (2) yapmış oldukları çalışmada yoğurttan LAB ve bifidobakteri türlerinin AFM1'i etkili bir şekilde azalttığını göstermişlerdir. *L. plantarum*'un AFM1'i azaltmada diğer mikroorganizmalara göre (*L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium angulatum*, *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*) en yüksek kapasiteye sahip olduğu ve bakterilere termal uygulamanın bağlanma kapasitesini etkileyebileceği belirtilmiştir. Benzer bir çalışmada *L. plantarum*'un PBS'de AFM1'e bağlanma yeteneği ve farelerde AFM1'in immünotoksik ve genotoksik etkisine karşı olan yeteneği araştırılmıştır. Çalışma sonunda, 12 saatlik inkübasyondan sonra canlı *L. plantarum*'un PBS'de AFM1'in %67'sini bağladığı, 24 saatlik inkübasyondan sonra %93'ünü bağladığı bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları doğrultusunda *L. plantarum*'un gastrointestinal sistemde AFM1'in emilimini azalttığı ve potansiyel toksik etkiyi düşürdüğü belirtilmektedir (47).

Bir başka çalışmada kontamine süt ve yoğurt örneklerine %2 oranında tekli *L. acidophilus* ve *B. lactis* ve %1 oranında ikili bakteri eklenerek AFM1'de anlamlı bir azalış gösterilmiştir. En fazla düşüş iki bakterinin beraber kullanıldığı %1'lik konsantrasyonda 2 gün sonunda kaydedilmiştir. Üçüncü gün sonunda da AFM1 hiç saptanmamıştır (48).

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Aflatoksin M1 süt ve süt ürünlerinde bulunabilen karsinogenik bir metabolittir. Süt ve süt ürünlerinin her yaşta bireyin özellikle de bebekler ve çocukların beslenmesinde temel olarak bulunması bu toksini önemli bir halk sağlığı sorunu yapmaktadır. Ayrıca pastörizasyon, depolama ve çeşitli işlemlerde stabil kalması bu sorunu daha da ciddileştirmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda sağlık üzerinde birçok olumlu etkisi ispatlanmış probiyotik bakterilerin diyet mutajenlerine ve karsinogenlerine bağlanabileceği belirtilmektedir.

Bunun yanı sıra probiyotik bakterilerin biyolojik ajanlar olarak kullanılması detoksifikasyon yöntemlerinin güvenilirliğini artırmaktadır. Farklı orijinli LAB ve bifidobakteri türleri AFM1'i detoksifiye etmek veya miktarını güvenilir düzeylere düşürmek için potansiyel bir kapasiteye sahiptir. Detoksifikasyon mekanizması kimyasal ya da metabolik bir süreçten ziyade, probiyotik bakterilerin hücre duvarı veya hücre duvarı bileşenlerine fiziksel bir adezyonla bağlanma yeteneğine dayalı olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte bakteri popülasyonunun AFM1'i bağlama kapasitesini etkileyen en önemli etmen olduğu belirtilmektedir. Ancak detoksifikasyon mekanizmasını ve bu mekanizmayı etkileyen etmenleri açıklayacak daha fazla çalışmaya gereksinim vardır. Bunun yanı sıra *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *B. bifidum*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* ve *L. acidophilus* türlerinin iyi bağlanma yeteneğine sahip olduğu birçok çalışmada belirtilmektedir. Bu türlerin besin endüstrisinde kullanımının artması besin ve yemlerin güvenilirliğini geliştirmek için oldukça önemlidir. Özellikle günlük diyetle önemli bir yere sahip olan süt ve süt ürünlerinde bu fenomenin uygulanması önemli bir halk sağlığı riskini en aza indirmeye yardımcı olacaktır (2).

*Çıkar çatışması/Conflict of interest: Yazarlar ya da yazı ile ilgili bildirilen herhangi bir çıkar çatışması yoktur.*

## KAYNAKLAR

1. Aliabadi MA, Alikhani FE, Mohammadi M, Darsanaki RK. Biological control of aflatoxins. *Euro J Exp Bio* 2013;3 (2):162-166.
2. Elsanhoty RM, Salam SA, Ramadan MF, BadrFH. Detoxification of aflatoxin M1 in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria. *Food Control* 2014;43:129-134.
3. Bbosa GS, Lubega A, Kyegombe DB, Kitya D, Ogwal-Okeng J, Anokbonggo WW. Review of the biological and health effects of aflatoxins on body organs and body systems. 2013. Available at: <http://dx.doi.org/10.5772/51201> Accessed February 15, 2015.
4. Rustom IY. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chem* 1997;59 (1):57-67.
5. Wu Q, Jezkova A, Yuan Z, Pavlikova L, Dohnal V, Kuca K. Biological degradation of aflatoxins. *Drug Metab Rev* 2009;41 (1):1-7.
6. Kabak B, Var I. Factors affecting the removal of aflatoxin M1 from food model by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *J Environ Sci Health B* 2008;43 (7):617-624.

7. Tayfur M. Gıda Hijyeni, gıda kaynaklı enfeksiyonlar ve zehirlenmeler. 1. Basım. Ankara; 2009.
8. Sabuncuoğlu SA, Baydar T, Giray B, Şahin G. Mikotoksinler: toksik etkileri, degradasyonları, oluşumlarının önlenmesi ve zararlı etkilerinin azaltılması. Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi 2008;28 (1):63-92.
9. Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. Toxic effects of mycotoxins in humans. Bull World Health Org 1999;77 (9):754-766.
10. Groopman JD, Kensler TW, Wild CP. Protective interventions to prevent aflatoxin-induced carcinogenesis in developing countries. Annu Rev Public Health 2008;29:187-203.
11. Liu Y, Wu F. Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: a risk assessment. Environ Health Perspect 2010;118 (6):818-824.
12. Thrasher JD, Crawley SL. Neurotoxicity of Mycotoxins. 2015. Available from: <http://www.drthrasher.org/page189.html> Accessed February 15, 2015.
13. Dvorackova I, Kusak V, Veseli D, Vesela J, Nesnidal P. Aflatoxin and encephalopathy with fatty degeneration of viscera (Reye). Ann Nutr Aliment 1977;31 (4-6):977-989.
14. Sharma V, Sharma C, Paliwal R, Pracheta SS, Sharma S. Ameliorative effects of Curcuma longa and curcumin on aflatoxin B1 induced serological and biochemical changes in kidney of male mice. Asian J Biochem Pharmaceut Res 2011;2 (1):338-351.
15. Mohamed AM, Metwally NS. Antiaflatoxicogenic activities of some aqueous plant extracts against AFB1 induced Renal and Cardiac damage. J Pharmacol Toxicol 2009;4 (1):1-16.
16. Wangikar P, Dwivedi P, Sinha N, Sharma A, Telang A. Teratogenic effects in rabbits of simultaneous exposure to ochratoxin A and aflatoxin B 1 with special reference to microscopic effects. Toxicology 2005;215 (1):37-47.
17. Gürbay A, Sabuncuoğlu SA, Girgin G, Sahin G, Yigit S, Yurdakök M, et al. Exposure of newborns to aflatoxin M1 and B1 from mothers' breast milk in Ankara, Turkey. Food Chem Toxicol 2010;48:314-319.
18. Bovo F, Corassin CH, Rosim RE, Oliveira CA. Efficiency of lactic acid bacteria strains for decontamination of aflatoxin M1 in phosphate buffer saline solution and in skimmed milk. Food Bioprocess Technol 2013;6 (8):2230-2234.
19. T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliği. Resmi Gazete: 29.12.2011- 28157. Erişim: <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-8.htm> Erişim tarihi: 10 Temmuz 2015.
20. Gürbay A, Engin AB, Çağlayan A, Şahin G. Aflatoxin M1 levels in commonly consumed cheese and yogurt samples in Ankara, Turkey. Ecol Food Nutr 2006;45 (6):449-459.
21. Akkaya L, Birdane YO, Oguz H, Cemek M. Occurrence of aflatoxin M1 in yogurt samples from Afyonkarahisar, Turkey. Bull Vet Inst Pulawy 2006;50 (4):517-519.
22. Ertas N, Gonulalan Z, Yildirim Y, Karadal FA. Survey of concentration of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Turkey. Food Control 2011;22 (12):1956-1959.
23. Atasever MA, Atasever M, Özturan K. Aflatoxin M1 levels in retail yoghurt and ayran in Erzurum in Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2011;35 (1):59-62.
24. Şanlı T, Deveci O, Sezgin E. Effects of pasteurization and storage on stability of aflatoxin M1 in yogurt. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012;18 (6):987-990.
25. Blanco J, Carrion BA, Liria N, Diaz S, Garcia ME, Dominguez L, et al. Behavior of aflatoxins during manufacture and storage of yoghurt. Milchwissenschaft 1993;48:385-387.
26. El-Nezami H, Kankaanpää P, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B1. Food Chem Toxicol 1998;36 (4):321-326.
27. Peltonen KD, El-Nezami HS, Salminen SJ, Ahokas JT. Binding of aflatoxin B1 by probiotic bacteria. J Sci Food Agric 2000;80 (13):1942-1945.
28. Kabak B, Var I. Mikotoksin biyosentezinin engellenmesinde ve mikotoksinlerin detoksifikasyonunda biyolojik ajanların kullanımı. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi 2004;5:39-45.
29. Arıcı M, Çelikyurt G. Gıda ve Yemlerde Bulunan Mikotoksinlerin Mikroorganizmalar Tarafından Detoksifikasyonu, in Türkiye 10. Gıda Kongresi 2008: Erzurum.
30. World Health Organization. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report. WHO: Canada, 2002
31. Rafter J. Lactic acid bacteria and cancer: mechanistic perspective. Br J Nutr 2002;88 (1):89-94.
32. Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, Cordoba, Argentina: October 2001
33. Tripathi MK, Giri SK. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. J Funct Foods 2014;9:225-241.
34. Gratz S. Aflatoxin Binding by Probiotics Experimental Studies on Intestinal Aflatoxin Transport, Metabolism and Toxicity. Kuopio University Publications D. Medical Sciences 404. 2007. 85 p. ISBN 978-951-27-0741-6 (PDF) Available at: [http://epublications.uef.fi/pub/urn\\_isbn\\_978-951-27-0741-6/urn\\_isbn\\_978-951-27-0741-6.pdf](http://epublications.uef.fi/pub/urn_isbn_978-951-27-0741-6/urn_isbn_978-951-27-0741-6.pdf) Accessed July 7, 2015
35. Çakır İ, Çakmakçı M. Probiyotikler: tanımı, etki mekanizması, seçim ve güvenilirlik kriterleri. Gıda 2004;6 (29):427-434.
36. Montaseri H, Arjmandtalab S, Dehghanzadeh G, Karami S, Razzmjoo M, Sayadi M, et al. Effect of production and storage of probiotic yogurt on aflatoxin M1 residue. J Food Qual Hazards Control 2014;1 (1):7-14.
37. Haskard C, Binnion C, Ahokas J. Factors affecting the sequestration of aflatoxin by Lactobacillus rhamnosus strain GG. Chem Biol Interact 2000;128 (1):39-49.
38. Pierides M, El-Nezami H, Peltonen K, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M1 in a food model. J Food Prot 2000;63 (5):645-650.
39. Peltonen K, El-Nezami H, Haskard C, Ahokas J, Salminen S. Aflatoxin B 1 binding by dairy strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria. J Dairy Sci 2001;84 (10):2152-2156.
40. Haskard CA, El-Nezami HS, Kankaanpää PE, Salminen S, Ahokas JT. Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. Appl Environ Microbiol 2001;67 (7):3086-3091.

41. Hernandez-Mendoza A, Guzman-de-Peña D, Garcia H. Key role of teichoic acids on aflatoxin B1 binding by probiotic bacteria. *J Appl Microbiol* 2009;107 (2):395-403.
42. Elgerbi A, Aidoo K, Candlish A, Williams A. Effects of lactic acid bacteria and bifidobacteria on levels of aflatoxin M1 in milk and phosphate buffer. *Milchwissenschaft* 2006;61 (2):197-199.
43. Sarımeçmetoğlu B, Küplülü Ö. Binding ability of aflatoxin M1 to yoghurt bacteria. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2004;51:195-198.
44. El Khoury A, Atoui A, Yaghi J. Analysis of aflatoxin M1 in milk and yogurt and AFM1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. *Food Control* 2011;22 (10):1695-1699.
45. Abbès S, Salah-Abbès JB, Sharafi H, Jebali R, Noghabi KA, Oueslati, R. Ability of *Lactobacillus rhamnosus* GAF01 to remove AFM1 in vitro and to counteract AFM1 immunotoxicity in vivo. *J Immunotoxicol* 2013;10 (3):279-286.
46. Serrano-Niño J, Cavazos-Garduño A, Hernandez-Mendoza A, Applegate B, Ferruzzi M, San Martin-González M ve ark. Assessment of probiotic strains ability to reduce the bioaccessibility of aflatoxin M 1 in artificially contaminated milk using an in vitro digestive model. *Food Control* 2013;31 (1):202-207.
47. Ben Salah-Abbès J, Abbès S, Jebali R, Haous Z, Oueslati R. Potential preventive role of lactic acid bacteria against Aflatoxin M1 immunotoxicity and genotoxicity in mice. *J Immunotoxicol* 2015;12 (2):107-114.
48. El-kest MM, Hariri ME, Khafaga NIM, Refai MK. Studies on contamination of dairy products by aflatoxin M1 and its control by probiotics. *J Global Biosci* 2015;4 (1):1295-1312.