

**LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNE UYGULANAN ULTRASON VE ALTERNATİF
YÖNTEMLERİN FOSFAT TAMPONLU TUZLU SU ORTAMINDA
AFLATOKSİN M1 DETOKSİFİKASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

**Hakan TAVŞANLI¹, Tevhide Elif GÜNER^{2*},
Büşra ASLAN AKYOL³, Cengiz GÖKBULUT^{3,4}**

¹ Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

² Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

³ Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

⁴ Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye

Geliş / Received 06.05.2025; Kabul / Accepted: 09.09.2025; Online baskı / Published online: 03.10.2025

Tavşanlı, H., Güner, T. E., Aslan Akyol, B., Gökbulut, C. (2025). Laktik asit bakterilerine uygulanan ultrason ve alternatif yöntemlerin fosfat tamponlu tuzlu su ortamında aflatoksin M1 detoksifikasyonu üzerine etkisi. GIDA (2025) 50 (5) 883-895 doi: 10.15237/ gida.GD25060

Tavşanlı, H., Güner, T. E., Aslan Akyol, B., Gökbulut, C. (2025). The effect of ultrasound and alternative treatments applied to lactic acid bacteria on aflatoxin M1 detoxification in phosphate-buffered saline. GIDA (2025) 50 (5) 883-895 doi: 10.15237/ gida.GD25060

ÖZ

Aflatoksin M1 (AFM1), süt ve süt ürünleri yoluyla insanlara bulaşabilen, ısıya dayanıklı ve hepatotoksik etkileriyle dikkat çeken bir mikotoksindir. Bu çalışmada, *Lactobacillus acidophilus*, *Limosilactobacillus reuteri* ve *Lactocaseibacillus rhamnosus* suşlarının, fosfat tamponlu tuzlu su ortamında AFM1 bağlama kapasiteleri değerlendirilmiştir. Her bir bakteri tek başına ve kombinasyon halinde kullanılarak farklı işlemlere (ultrasonla aktivasyon; ısı, asit ve ultrasonla inaktivasyon) tabi tutulmuştur. Bulgular, uygulanan işlemlerin tümünün bağlanma oranlarını anlamlı biçimde artırdığını göstermiştir ($P<0.05$). En yüksek bağlanma oranı (%33.5), ultrasonla aktive edilmiş bakterilerin birlikte kullanıldığı grupta saptanmıştır. Laktik asit bakterileri tek başına değerlendirildiğinde fizyolojik duruma göre bağlanma oranları arasında anlamlı bir fark tespit edilmezken, bakterilerin birlikte bulunduğu gruplarda farklılıklar gözlemlenmiştir. Canlı bakterilerin yer aldığı miks gruplarda (%30–33.5), ısı ve asitle inaktive edilen gruplara (%14.5-19) göre daha yüksek bağlanma belirlenmiştir ($P<0.05$). Sonuç olarak mevcut veriler laktik asit bakterilerinin biyolojik detoksifikasyonda etkili bir yöntem olabileceğini gösterirken, farklı aktivasyon ve inaktivasyon işlemlerinin etkinliğinin değerlendirildiği daha ayrıntılı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Aflatoksin M1, biyolojik detoksifikasyon, laktik asit bakterileri, ultrason teknolojisi

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

tevhideelifguner@gmail.com, Tel: (+90) 266 613 6692 / 241328

Hakan Tavşanlı; ORCID no: 0000-0002-5124-3702

Tevhide Elif Güner; ORCID no: 0000-0002-8706-1417

Büşra Aslan Akyol; ORCID no: 0000-0002-4123-8408

Cengiz Gökbulut; ORCID no: 0000-0002-4912-7307

THE EFFECT OF ULTRASOUND AND ALTERNATIVE TREATMENTS APPLIED TO LACTIC ACID BACTERIA ON AFLATOXIN M1 DETOXIFICATION IN PHOSPHATE-BUFFERED SALINE

ABSTRACT

Aflatoxin M1 (AFM1) is a heat-resistant mycotoxin with hepatotoxic properties that can be transmitted to humans through milk and dairy products. This study evaluated the AFM1 binding capacities of *Lactobacillus acidophilus*, *Limosilactobacillus reuteri*, and *Lacticaseibacillus rhamnosus* strains in a phosphate-buffered saline medium. Each bacterial strain was tested individually and in combination under various treatment conditions, including ultrasonic activation and inactivation by heat, acid, and ultrasound. The results revealed that all treatments significantly increased binding rates ($P<0.05$). The highest binding rate (33.5%) was observed in the group where ultrasound-activated bacteria were used in combination. While no significant differences were found among individual strains depending on their physiological state, notable variations emerged in the mixed-strain groups. Binding levels were significantly higher in mixtures containing live bacteria (30–33.5%) compared to those with heat- or acid-inactivated bacteria (14.5–19%) ($P<0.05$). These findings indicate that lactic acid bacteria may serve as an effective tool for biological detoxification, although further studies are needed to assess the efficiency of various activation and inactivation methods.

Key words: Aflatoxin M1, biological detoxification, lactic acid bacteria, ultrasound technology

GİRİŞ

Mikotoksinler, küflerin metabolik faaliyetleri sonucunda sentezlenen ve hem insan hem de hayvan sağlığını tehdit eden toksik bileşiklerdir. Bunlar arasında aflatoksinler, moleküler stabilite ve biyolojik aktiviteleri nedeniyle öne çıkan en tehlikeli toksin grubudur. Aflatoksin B1 (AFB1), özellikle *Aspergillus (A.) flavus*, *A. parasiticus* ve *A. nomius* türleri tarafından üretilmektedir. İnsanların mikotoksine maruziyeti, doğrudan kontamine tarım ürünlerinin (tahıl, mısır, meyve vb.) alımı sırasında veya çiftlik hayvanlarının mikotoksinlerle bulaşık olan yemleri tüketmesiyle alınan mikotoksinlerin karaciğerde metabolize olarak “carry over” şeklinde AFM1 formuna dönüşmesiyle gerçekleşebilmektedir (Fashandi vd., 2018). Bu metabolit, süt ve diğer biyolojik sıvılar yoluyla insan beslenme zincirine dâhil olabilmektedir. AFM1’in karsinojenik ve genotoksik etkileri, özellikle bağışıklık sistemi gelişmemiş bireylerde daha ciddi sonuçlar doğurabilmektedir. Son yıllarda sadece süt değil, aynı zamanda peynir, yoğurt, et ve anne sütü gibi çeşitli besin matrislerinde de AFM1 tespiti yapılması, bu toksinin yaygınlığını ortaya koymuştur (Turna ve Wu, 2021). Türkiye ve Şili’de yapılan çalışmalar, süt ve anne sütü yoluyla çocukların AFM1’e maruz kalabildiğini ve bu durumun halk sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturduğunu

göstermiştir (Ünusan, 2019; Foerster vd., 2023). Bu durum, AFM1’in yalnızca bölgesel değil, küresel düzeyde de halk sağlığı açısından öncelikli bir kontaminant olduğunu göstermektedir.

Bu bağlamda, aflatoksinleri gıda zincirinden uzaklaştırmak veya seviyelerini tolere edilebilir düzeylere indirmek amacıyla çok sayıda fiziksel, kimyasal ve biyolojik detoksifikasyon stratejisi geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında, güvenli ve sürdürülebilir özellikleri nedeniyle biyolojik yaklaşımlar ön plana çıkmaktadır. Özellikle laktik asit bakterileri (LAB), hücre duvarı yapılarında yer alan bileşenler aracılığıyla toksinlere bağlanabilmektedir (Peltonen vd., 2001). Canlılık durumuna bağlı olarak toksin bağlama kapasitesinde değişiklikler gözlenmekte, bu farklılığın arkasındaki mekanizmalar tam olarak netleştirilememektedir. Yapılan bazı araştırmalarda, hücre inaktivasyonu ile yüzey alanının artması veya yüzey yapısının reorganizasyonu gibi faktörlerin bu duruma katkı sağladığı belirtilmiştir (Haskard vd., 2001). Literatürde, LAB’lerin toksin bağlama etkinliğini artırmaya yönelik farklı inaktivasyon tekniklerine literatürde sıkça yer verilmektedir. Bunlar arasında ısıyla inaktivasyon, asidik muameleler ve son yıllarda dikkat çeken ultrason (US) uygulamaları yer almaktadır. US, bakteriler üzerinde hem fiziksel hem de termal etkiler yaratabilmekte;

hücre zarında değişikliklere yol açarak yüzey özelliklerini değiştirebilmektedir (Guimarães vd., 2021).

Bu çalışmada, farklı durumlara (canlı; US ile aktive; asit, ısı ve US ile inaktive) maruz bırakılmış *Lactobacillus acidophilus*, *Limosilactobacillus reuteri* ve *Lactocaseibacillus rhamnosus* suşlarının, fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ortamında AFM1 bağlama kapasiteleri değerlendirilmiştir. Model sistem olarak PBS'nin tercih edilmesinin nedeni, süt gibi kompleks matrislerde özellikle kazein varlığının AFM1 bağlanma analizlerini etkileyerek sonuçların yorumlanmasını zorlaştırmasıdır (Chavarria vd., 2017). Böylelikle yalnızca mikrobiyal bağlanma kapasitesine odaklanmak mümkün hale gelmiştir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular, ileride gerçekleştirilecek gıda modelleme çalışmalarına temel oluşturabileceği gibi, LAB temelli biyolojik detoksifikasyon stratejilerine de bilimsel katkı sağlamayı hedeflemektedir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kullanılan Bakteri Suşları ve Kültürlerin Hazırlanması

Bu çalışmada, son yıllarda probiyotik özellikleri en yoğun şekilde araştırılan suşlar tercih edilmiştir. *Lactobacillus acidophilus* CECT 4529, *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938 ve *Lactocaseibacillus rhamnosus* ATCC 7469 suşları kullanılmıştır. Bakteri izolatları, Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Canlandırma amacıyla, her bir suş 10 ml MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) Broth (Merck, Almanya) içinde 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrasında süspansiyonlar soğuk ortamda (4°C), 5000 rpm hızda 15 dakika santrifüjlenmiş ve sıvı faz uzaklaştırılmıştır. Kalan hücre peletleri 10 ml PBS ile vorteksenerek yıkanmıştır. Bu işlem iki kez tekrarlanmıştır. Yıkanan süspansiyonlar, McFarland 0.5 standardına (yaklaşık 1.2×10^8 kob/ml) göre ayarlanmıştır. Doğrulmaları için MRS Agar'a üçlü ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübasyon yapılmıştır.

Fosfat Tamponlu Tuzlu Su Çözeltisinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılmak üzere PBS (Sigma-Aldrich SIAL-P4417) çözeltisi, üretici talimatına uygun şekilde hazırlanmıştır. Bir adet PBS tableti, 100 ml saf suya ilave edilerek çözölmüş, ardından 115°C'de 10 dakika süreyle otoklavlanarak sterilizasyon sağlanmıştır. Hazırlanan çözelti, deney öncesi oda sıcaklığına getirilerek kullanılmıştır.

Aflatoksin M1 Stok ve Çalışma Solüsyonlarının Hazırlanması

AFM1 standardı (Lab. Instruments), asetonitril (ACN) içinde çözölmüş sıvı formda temin edilmiştir (≥ 1.1 ml, 10 µg/ml). Stok solüsyon, 0.5 ml standart çözeltinin 9.5 ml ACN ve ultra saf su (1:1, v/v) karışımı ile seyreltilmesiyle 500 ng/ml konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Işıktan korunması amacıyla alüminyum folyo ile sarılan solüsyon, +4°C'de muhafaza edilmiştir. Her deney öncesinde, stok çözeltiden belirli hacimde alınarak steril distile suyla 1:10 oranında seyreltme yapılmış ve 50 ng/ml'lik taze çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

Deney Gruplarının Oluşturulması ve İşlemler

Çalışmada farklı uygulamalara tabi tutulan LAB hücreleri aşağıdaki şekilde deney gruplarına ayrılmıştır:

K (Kontrol): 0.4 ml AFM1 (50 ± 0.01 ng/ml) ve 9.6 ml PBS içeren, bakteri içermeyen gruptur. Kontrol grubunda AFM1 düzeyi 2 ng/ml belirlenmiştir.

CB (Canlı Bakteri): Canlı LAB hücreleri 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatantı uzaklaştırılmış ve oluşan pelet bağlanma testine alınmıştır.

Iİ (Isı ile İnaktive): LAB'ler 10 ml PBS içerisinde 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak inaktive edilmiştir (Shahin, 2007).

Aİ (Asit ile İnaktive): 2M HCl içeren 10 ml çözelti içinde bakteriler 37°C'de 1 saat inkübe edilerek inaktivasyon sağlanmıştır (Peltonen vd., 2001).

Uİ (US ile İnaktive): 100 ml PBS içindeki bakteri süspansiyonuna, problu ultrasonik sistem (Bandelin Hd 2200.2, TT 13, Amplichron®) ile %100 genlikte 20 kHz frekansta, sıcaklık 90°C'ye

ulaşana kadar (yaklaşık 16 dk 15 sn) US uygulanmıştır.

UA (US ile Aktive): 100 ml PBS içindeki süspansiyona, %15 genlikte 20 kHz frekansta ve sıcaklık 45°C'ye ulaşana kadar (yaklaşık 10 dk 54 sn) US uygulanmıştır. Ardından, örnekler santrifüjlenmiş, 10 ml PBS ile iki kez yıkanarak bağlanma deneyi için hazırlanmıştır.

Bakterilerin Fizyolojik Durumunun Belirlenmesi

Her deney grubu için, uygulama öncesi ve sonrası bakteri canlılığı ve sayısal yoğunluğu, MRS Agar'a dökme plak yöntemiyle ve her biri üç paralel olacak şekilde belirlenmiştir. CB grubu için uygun dilüsyonlardan, inaktive gruplar için ise doğrudan süspansiyonlardan ekim yapılmıştır. UA grubunda uygulama öncesi ve sonrası sayımlar karşılaştırılmıştır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Çalışma gruplarında kullanılan LAB sayıları (kob/ml)

Table 1. LAB counts used in the experimental groups (cfu/ml)

	CB	II	AI	UI	UA (önce) UA (before)	UA (sonra) UA (after)
<i>L. acidophilus</i>	2.0×10 ⁸	0	0	0	1.0×10 ⁸	3.0×10 ⁸
	1.2×10 ⁸	0	0	0	1.4×10 ⁸	1.4×10 ⁸
	1.1×10 ⁸	0	0	0	1.2×10 ⁸	2.2×10 ⁸
<i>L. reuteri</i>	1.8×10 ⁸	0	0	0	4.0×10 ⁸	1.0×10 ⁸
	1.6×10 ⁸	0	0	0	4.0×10 ⁸	5.0×10 ⁸
	1.2×10 ⁸	0	0	0	4.0×10 ⁸	3.0×10 ⁸
<i>L. rhamnosus</i>	2.0×10 ⁸	0	0	0	1.1×10 ⁸	1.0×10 ⁸
	1.5×10 ⁸	0	0	0	1.6×10 ⁸	3.0×10 ⁸
	1.2×10 ⁸	0	0	0	1.4×10 ⁸	2.0×10 ⁸
Miks	1.1×10 ⁸	0	0	0	1.0×10 ⁸	3.0×10 ⁸
	1.3×10 ⁸	0	0	0	3.0×10 ⁸	1.0×10 ⁸
	2.0×10 ⁸	0	0	0	2.0×10 ⁸	2.0×10 ⁸

CB: Canlı LAB; II: Isı ile inaktive edilmiş LAB; AI: Asit ile inaktive edilmiş LAB; UI: PBS içerisinde US ile inaktive edilmiş LAB; UA: PBS içerisinde US ile aktive edilmiş LAB; Miks: *L. acidophilus*, *L. reuteri* ve *L. rhamnosus* bir arada. CB: Live LAB; II: Heat-inactivated LAB; AI: Acid-inactivated LAB; UI: Ultrasound-inactivated LAB in PBS; UA: Ultrasound-activated LAB in PBS; Miks: *L. acidophilus*, *L. reuteri*, and *L. rhamnosus* used in combination.

Aflatoksin M1 Detoksifikasyonunun Belirlenmesi

Yaklaşık 10⁸ kob/ml içeren LAB peletlerinin üzerine 2 ng/ml AFM1 çözeltisi ilave edilerek, tüm örnekler 37°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Ardından örnekler 4°C'de 5000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiş, peletler atılmış ve oluşan süpernatantlar -20°C'de HPLC analizine kadar muhafaza edilmiştir. HPLC analiz gününde süpernatantlardan 0.5 ml'lik örnekler alınarak AFM1 miktarı tayin edilmiştir. Süpernatantlarda tespit edilen AFM1 düzeyi 2 ng/ml başlangıç inokülasyonundan çıkarılarak yüzdesi alınmıştır.

$$B (\%) = ((A - S) / A) \times 100$$

Bağlanma yüzdesi (%)

A: Başlangıç AFM1 miktarı (2 ng/ml)

S: Süpernatantta kalan AFM1 miktarı (ng/ml)

Aflatoksin M1 Miktarının Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi ile Belirlenmesi

AFM1 düzeyleri, Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Laboratuvarı'nda bulunan High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) sistemi (Agilent 1260, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. AFM1 standart solüsyonu (500 ng/ml), analitik saflıkta AFM1 standardı ile asetoneitril ve ultra saf su (1:1, v/v) kullanılarak hazırlanmıştır. Bu stok solüsyondan 1, 5 ve 50 ng/ml yoğunluğunda ara standart solüsyonları hazırlanmış, korelasyon katsayısı (r²) hesaplanarak yöntemin doğruluğu teyit edilmiştir (Çizelge 2). Örneklerin HPLC analizine başlamadan önce, içinde AFM1 bulunmadığı bilinen PBS örnekleri Eppendorf tüplerine aktarılmış ve biri boş olmak üzere, 1, 2

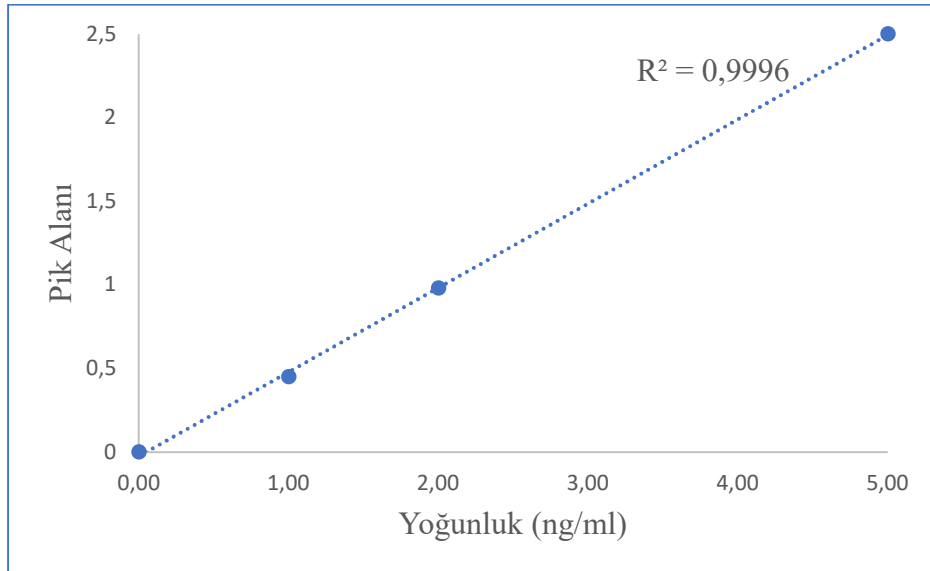
ve 5 ng/ml olacak şekilde AFM1 standart solüsyonu ilave edilmiştir. Hazırlanan bu çalışma yoğunluklarının kromatografik analizleri yapılarak standart eğriler oluşturulmuş ve elde edilen korelasyon katsayısı (r^2) değerleri, yöntemin doğruluğunu teyit etmek amacıyla hesaplanmıştır

(Şekil 1). Boş PBS, 2 ng/ml yoğunluğundaki PBS örneği ve 5 ng/ml yoğunluğundaki standart solüsyona ait kromatogramlar Şekil 2'de sunulmuştur.

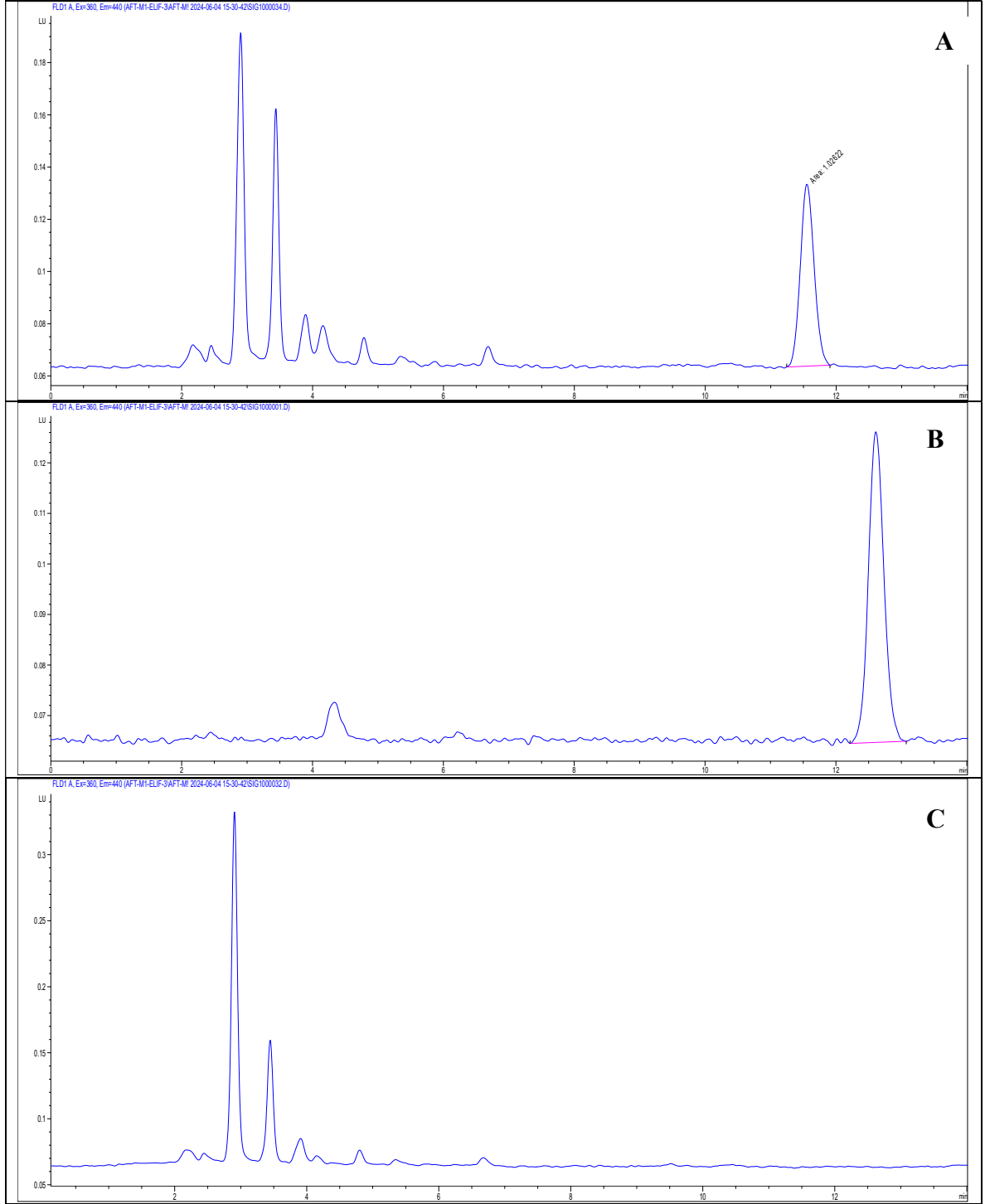
Çizelge 2. HPLC analizi ile AFM1 için belirlenen validasyon parametreleri
Table 2. Validation parameters determined for AFM1 by HPLC analysis

Parametreler Parameters	AFM1
LOD değeri LOD value	0.25 ng/ml
LOQ değeri LOQ value	0.75 ng/ml
Çalışılan yoğunluklar Tested concentrations	1-5 ng/ml
r^2 değeri r^2 value	0.99998
Gün içi geri alım (%) Intra-day recovery (%)	92.30
Gün içi varyasyon katsayısı (%) Intra-day coefficient of variation (%)	8.69
Günler arası geri alım (%) Inter-day recovery (%)	92.81
Günler arası varyasyon katsayısı (%) Inter-day coefficient of variation (%)	3.39

LOD: En küçük tespit limiti; LOQ: En küçük yoğunluk belirleme limiti; r^2 : Korelasyon katsayısı.
LOD: Limit of detection; LOQ: Limit of quantification; r^2 : Correlation coefficient



Şekil 1. AFM1 analizi için çalışılan yoğunlukların kalibrasyon eğrisi
Figure 1. Calibration curve of the tested concentrations for AFM1 analysis



Şekil 2. A: 2 ng/ml yoğunluğunda hazırlanan PBS örneğinin kromatogramı; B: 5 ng/ml yoğunluğundaki standart kromatogramı; C: Boş PBS kromatogramı.

Figure 2. A: Chromatogram of the PBS sample prepared at a concentration of 2 ng/ml; B: Chromatogram of the standard solution at a concentration of 5 ng/ml; C: Chromatogram of blank PBS.

AFM1 düzeyleri Markaki ve Melissari (1997) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek belirlenmiştir. Buna göre ekstraksiyon için 0.5 ml PBS örnekleri 2 ml'lik Eppendorf tüplerine aktararak 1 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra 1 ml asetronitril eklenerek 2 dakika boyunca vortekslenmiştir. Ardından, örnekler 0.2 g magnezyum sülfat (MgSO₄) eklenerek tekrar vorteks işlemi uygulanmıştır. Örnekler 12.000 rpm'de, 10 dakika boyunca mikrosantrifüj edilerek süpernatant ayrılmış ve pipet yardımıyla alınarak 10 ml'lik cam tüplere transfer edilmiştir. Süpernatant, 65°C'ye ayarlanmış vakum konsantratörde uçurulduktan sonra 200 µl mobil faz ile çözdürülmüş ve 75 µl'si analiz için kromatografik sisteme enjekte edilmiştir. Analiz öncesinde, yöntemin validasyonunda en düşük tespit limiti (LOD) ve en küçük yoğunluk belirleme limiti (LOQ) saptanmıştır (Çizelge 2). Analizlerde C18 kolon (Eclipse XDB, 5µm, 4.6×250 mm) ve kolon koruyucu olarak Nükleosil C18 (3µm) kartuş kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 60°C'ye ayarlanmış olup, floresan dedektörde 360 nm eksitasyon ve 440 nm emisyon dalga boylarında analiz gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler IBM SPSS 26 (USA) programı ile değerlendirilmiştir. Verilerin dağılım uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmiş, gruplar arası farklar One-Way ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ile analiz edilmiştir. Tüm analizlerde $P < 0.05$ istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

AFM1'in süt ve süt ürünlerinde bulunması hem halk sağlığı hem de gıda güvenliği açısından ciddi riskler taşımaktadır. Özellikle ısıya dayanıklı yapısı nedeniyle klasik yöntemlerle uzaklaştırılamaması, biyolojik detoksifikasyon yaklaşımlarına olan ilgiyi artırmaktadır. Bu bağlamda, toksin bağlama potansiyeline sahip LAB'lerin farklı ön işlemlerle değerlendirilmesi, alandaki mevcut eksikliklerin giderilmesine katkı sunmaktadır.

Bu çalışmada, farklı ön işlemlere tabi tutulmuş LAB'lerin PBS ortamında AFM1 bağlama kapasiteleri değerlendirilmiştir. Bu amaçla; canlı, aktivasyon düzeyinde US uygulanmış, ısı, asit ve US ile inaktive edilmiş *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus* ile bu üç türün karışımından (miks) oluşan toplam altı farklı grup incelenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Tüm çalışma gruplarında AFM1 konsantrasyonu $\pm$ standart sapma (% bağlama oranı).

Table 3. AFM1 concentration $\pm$ standard deviation (% binding rate) in all study groups.

	CB	İİ	Aİ	UA	Uİ
Bakteriler <i>Bacteria</i>	K 2.00 $\pm$ 0.01 (0) ^a				
<i>L. acidophilus</i>	1.50 $\pm$ 0.18 (25.0) ^{ba}	1.44 $\pm$ 0.09 (28.0) ^{ba}	1.66 $\pm$ 0.11 (17.0) ^{ba}	1.40 $\pm$ 0.18 (30.0) ^{ba}	1.63 $\pm$ 0.25 (18.5) ^{ba}
<i>L. reuteri</i>	1.47 $\pm$ 0.17 (26.5) ^{ba}	1.66 $\pm$ 0.21 (17.0) ^{ba}	1.70 $\pm$ 0.19 (15.0) ^{ba}	1.59 $\pm$ 0.34 (20.5) ^{ba}	1.64 $\pm$ 0.20 (18.0) ^{ba}
<i>L. rhamnosus</i>	1.48 $\pm$ 0.17 (26.0) ^{ba}	1.75 $\pm$ 0.25 (12.5) ^{ba}	1.73 $\pm$ 0.19 (13.5) ^{ba}	1.49 $\pm$ 0.19 (25.5) ^{ba}	1.60 $\pm$ 0.25 (20.0) ^{ba}
Miks	1.40 $\pm$ 0.09 (30.0) ^{bb}	1.62 $\pm$ 0.11 (19.0) ^{ba}	1.71 $\pm$ 0.08 (14.5) ^{ba}	1.33 $\pm$ 0.17 (33.5) ^{bb}	1.53 $\pm$ 0.04 (23.5) ^{bab}

K: PBS + AFM1 (kontrol); CB: Canlı LAB + PBS + AFM1; İİ: Isı ile inaktive edilmiş LAB + PBS + AFM1; Aİ: Asit ile inaktive edilmiş LAB + PBS + AFM1; UA: US ile aktive edilmiş LAB + PBS + AFM1; Uİ: US ile inaktive edilmiş LAB + PBS + AFM1; Miks: *L. acidophilus*, *L. reuteri* ve *L. rhamnosus* bir arada; ^{a-b}: Her bir sütunun kendi içerisinde sahip olduğu farklı üst simgeler arasındaki ortalamalar anlamlı derecede farklıdır ($P < 0.05$); ^{A-B}: Her bir satırın kendi içerisinde sahip olduğu farklı üst simgeler arasındaki ortalamalar anlamlı derecede farklıdır ($P < 0.05$).

K: PBS + AFM1 (kontrol); CB: Live LAB + PBS + AFM1; İİ: Heat-inactivated LAB + PBS + AFM1; Aİ: Acid-inactivated LAB + PBS + AFM1; UA: Ultrasound-activated LAB + PBS + AFM1; Uİ: Ultrasound-inactivated LAB + PBS + AFM1; Miks: *L. acidophilus*, *L. reuteri*, and *L. rhamnosus* combined; ^{a-b}: Mean values within each column that do not share a common superscript differ significantly ($P < 0.05$); ^{A-B}: Mean values within each row that do not share a common superscript differ significantly ($P < 0.05$)

Kontrol (K) grubunda, 2.00 ± 0.01 ng/ml düzeyinde AFM1 tespit edilmiş ve bağlanma gözlenmemiştir. Kontrol dışındaki tüm gruplarda anlamlı düzeyde ($P < 0.05$) AFM1 bağlanması gözlemlenmiştir. Buradan bakterilerin detoksifikasyonda kullanımının etkili olduğu görülmektedir. Çalışmada LAB türlerinin seçiminde probiyotik özellikleri araştırılan ve ticari preparatları en yoğun bulunan suşlar seçilmiştir.

Canlı bakterilerin kullanıldığı CB grubunda, bağlama oranları *L. acidophilus* için %25.0, *L. reuteri* için %26.5, *L. rhamnosus* için %26.0 ve miks için %30.0 olarak tespit edilmiştir. UA grubunda ise bu oranlar sırasıyla %30.0, %20.5, %25.5 ve %33.5'tir. CB ve UA grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($P > 0.05$). UA uygulamasında düşük güçlü US'nin hücre zarında hafif geçirgenlik artışına ve bağlayıcı yüzeylerin daha erişilebilir hale gelmesine neden olduğu düşünülmektedir (Ojha vd., 2017; Guimarães vd., 2021; Tavşanlı vd., 2024). Akustik kaviteasyon meydana gelmeksizin oluşan mekanik etkiler, bakteriyel metabolizmanın uyarılması ve yüzey proteinlerinin üretimi gibi süreçleri etkileyebilir. Artan metabolik aktivite sonucu bakterilerin hücre duvarındaki bağlanabilir bölgelere toksinin daha kolay erişmesi sağlanmış olabilir. Bununla birlikte, aktivasyon sonrası 1 saatlik inkübasyon sonucunda bakteri sayılarında artış gözlenmemiştir (Çizelge 1). Benzer şekilde, süt ortamında düşük güçlü US uygulanan çalışmalarda da hücre sayılarında artış gözlenmediği, ancak metabolik profillerde farklılıklar meydana geldiği bildirilmiştir (Wu vd., 2000; Tavşanlı vd., 2024; Güner vd., 2025). Literatürde, süt ortamında düşük güçte US uygulanmasıyla *L. rhamnosus*'un %43.5 oranında AFM1 detoksifikasyonu sağladığı bildirilmiştir (Güner vd., 2025). Mevcut çalışmada süt yerine PBS ortamının tercih edilmesi, bağlanma oranlarının daha düşük tespit edilmesine neden olmuş olabilir. Brackett ve Marth (1982), kazein fraksiyonlarının AFM1'e gram başına 17.9–55.3 µg arasında bağlandığını bildirmiştir. Bu duruma bağlı olarak süt ortamındaki protein varlığı bağlanmayı artırıcı bir etken olabilir.

Literatürde, LAB'nin mikotoksin bağlama kapasitesini etkileyen pek çok faktör olduğu bildirilmiştir. Bu faktörler arasında kullanılan probiyotik suşların türüne, hücre yapısına (canlı veya inaktive olması), inkübasyon süresi, pH, bakteri yoğunluğu ve kullanılan ortamın özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca suşların kombinasyon halinde kullanılması ve uygulanan aktivasyon/inaktivasyon işlemleri de bağlanma kapasitesini önemli ölçüde etkilemektedir (Campagnollo vd., 2020; Macit vd., 2024). Literatürde, PBS ortamında canlı *L. reuteri* ile AFM1 bağlanmasına ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle, farklı ortamlar, koşullar, inkübasyon süreleri ve toksin konsantrasyonları kullanılarak türler arasındaki bağlanma oranları karşılaştırılmıştır. Serrano-Niño vd. (2013) PBS ortamında gerçekleştirdikleri çalışmada *L. reuteri*'nin bağlanma oranları (%19,95–25,28) bizim bulgularımızla uyumludur. Ayrıca, canlı *L. rhamnosus*'un bağlanma oranı, Abbès vd. (2013) ile Kabak ve Var (2008) tarafından bildirilen değerlerle örtüşmekte, ancak Bovo vd. (2013) çalışmasında daha düşük bağlanma oranları gözlemlenmiştir. Canlı *L. acidophilus* ile yapılan araştırmalar ise değişken sonuçlar sunmakta; bazı çalışmalar mevcut bulgularla benzer bağlanma oranları bildirirken (Kabak ve Var, 2008; Serrano-Niño vd., 2013), diğerleri daha yüksek (Elsanhoty vd., 2014; Abdelmotilib vd., 2018) veya daha düşük oranlar rapor etmiştir (Pierides vd., 2000; Sanaldi ve Coban, 2023). Literatürde farklı deneysel koşulların kullanılması, bağlanma oranlarının doğrudan karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır. Ancak genel olarak yapılan çalışmalar incelendiğinde, çalışmada kullanılan bakteriler arasındaki bağlanma oranlarındaki farklılıkların, bakterilerin alt türleri arasında dahi gözlemlenen varyasyonlarla açıklanabileceği görülmektedir.

Isı ile inaktive edilen (II) grupta bağlanma oranları %28.0 (*L. acidophilus*), %17.0 (*L. reuteri*), %12.5 (*L. rhamnosus*) ve %19.0 (miks) olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, bakterilerin toksinleri ortamdaki uzaklaştırılmasının büyük ölçüde hücre duvarı yapılarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Haskard vd., 2001). Isıl işlemlerin, hücre yüzeyinde Maillard reaksiyon ürünlerinin oluşumu

ve artan hidrofobik özellik gibi değişimlere yol açarak toksin bağlama kapasitesini artırabileceği bildirilmektedir (Piotrowska, 2014). Pierides vd. (2000), *L. acidophilus*'un benzer bir bağlanma kapasitesine (%25.5) sahip olduğunu bildirirken, farklı çalışmalarda daha yüksek (%45.9-58.98) (Elsanhoty vd., 2014; Abdelmotilib vd., 2018) veya daha düşük (%16.82) (Kabak ve Var, 2008) oranlar tespit edilmiştir. Bu farklılıkların suş farklılığı ve toksin konsantrasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Literatür taramalarına göre, PBS ortamında ısı ile inaktive edilen *L. reuteri* üzerine yapılmış benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır. *L. rhamnosus* için yapılan çalışmalarda da farklı bağlanma oranları tespit edilmiştir. Kabak ve Var (2008) ile Bovo vd. (2013), bu bakterinin sırasıyla %23.37 ve %35.69 oranında AFM1 bağladığını bildirmiştir. Pierides vd. (2000) ise üç farklı *L. rhamnosus* suşunun %39.9, %51.6 ve %57.8 oranlarında bağlanma kapasitesine sahip olduğunu rapor etmiştir.

Literatürde, aflatoksinlerin mikrobiyal hücre duvarındaki yapısal bileşenlere (örneğin peptidoglikan ve yüzey polisakkaritleri) fiziksel olarak bağlanarak ortamdan uzaklaştırıldığı belirtilmektedir. Bu sürecin biyolojik parçalanmadan ziyade adsorbsiyon yoluyla gerçekleştiği vurgulanmıştır (Haskard vd., 2001). Ayrıca hücre yüzeyi ve duvar hacmindeki artışın bağlanma kapasitesini artırabileceği belirtilmektedir (Wang vd., 2015). Hatta aynı tür içindeki farklı LAB suşlarının aflatoksin bağlama kapasitesinde belirgin farklılıklar gözlemlenebilir (Ahlberg vd., 2015). Ancak çalışmamızda aynı gruptaki bakteriler arasında bu yönde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bu benzerlik, test edilen tüm suşların yüzey yapılarındaki ortak yapısal özelliklerden ve çalışmada inkübasyon süresinin sabit tutulmasından kaynaklanıyor olabilir. Bununla birlikte literatürde LAB'ler arasında toksin bağlama kapasiteleri bakımından fark olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (Kabak ve Var, 2008; Bovo vd., 2013; Adriansyah vd., 2022).

Asit ile inaktive edilen (Aİ) grupta bağlanma oranları %17.0 (*L. acidophilus*), %15.0 (*L. reuteri*), %13.5 (*L. rhamnosus*) ve %14.5 (miks) olmuştur.

Asidik işlemlerin, hücre duvarındaki teikoik asit ve polisakkarit yapıları hedef alarak glikozidik ve amid bağlarını parçalayabildiği, böylece gözenek boyutunu artırarak bağlanma yüzeyini genişletebildiği bildirilmektedir (Haskard vd., 2001; Bejaoui vd., 2004). Bu değişimlerin, hücre içi bağlanma dahil olmak üzere, toksin etkileşimini kolaylaştırabileceği ifade edilmektedir. Literatürde asit ile öldürülen LAB'lerin bağlanma kapasitelerine dair PBS ortamında yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Karazhiyan vd. (2016), asit ile inaktive edilen *Saccharomyces cerevisiae*'nin yoğurt ortamında %76.46 oranında AFM1 bağladığını bildirmiştir. Bu yüksek bağlanma oranı, farklı ortam koşulları ve mayaların hücre boyutunun laktik asit bakterilerinin hücre boyutlarına göre çok daha büyük olmasından kaynaklanmaktadır. Güner vd. (2025) tarafından ise süt ortamında asit ile inaktive LAB'lerin %18-22.5 düzeyinde AFM1 bağladığı belirtilmiştir. Çalışmanın sonuçları mevcut çalışma bulgularına benzerdir.

UI grubundaki bakterilerin bağlama oranları %18.5 (*L. acidophilus*), %18.0 (*L. reuteri*), %20.0 (*L. rhamnosus*) ve %23.5 (miks) olarak belirlenmiştir. Yüksek güçlü US uygulamasıyla oluşan akustik kaviteasyon; basınç, lokalize ısıtma ve serbest radikal üretimi gibi etkilerle hücre zarının bütünlüğünü bozmakta ve bakteriyi inaktive etmektedir (Mehenktaş, 2022; Onyeaka vd., 2023). Bu süreçte membran geçirgenliğinin artması ve hücre içeriğinin dış ortama salınması, hücre yüzeyine ve çevresine toksin bağlanmasını kolaylaştırabilecek yapısal değişiklikler meydana getirebilmektedir. Yapılan bir çalışmada AFB1 bağlanma kapasitesinin bu değişimlerle arttığı rapor edilmiştir (Abedi vd., 2022). Ancak sonuçlarımızda inaktive gruplar (İİ, Aİ, UI) arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Karazhiyan vd. (2016) da yaptıkları çalışmada sonuçlarımıza benzer olarak ısı, asit ve US ile inaktive edilmiş mikroorganizmalar arasında fark olmadığını bildirmiştir.

Araştırmamızda, farklı bakteri türlerinin AFM1 bağlanma kapasitesinden ziyade, bakterilerin birlikte bulunmasının bağlanma üzerinde daha belirgin bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Özellikle bakterilerin canlı olarak kullanıldığı gruplarda bu etkinin istatistiksel olarak daha anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği belirlenmiştir ($P<0.05$). Sanaldi ve Coban (2023), çalışmamızın bulgularına benzer şekilde, PBS ortamında miks grupların (*L. acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *B. bifidum*) tek gruplara göre daha fazla toksin bağladığını bildirmiştir. Bununla birlikte, bakterilerin tek başlarına kullanıldıklarında, birlikte kullanımlarına kıyasla daha yüksek oranda toksin bağladığını bildiren çalışmalarda mevcuttur (Halttunen vd., 2008; El Khoury vd., 2011). Söz konusu çalışmalarda kullanılan bakteri ve toksin türlerinin farklılığı, sonuçların farklı olmasına neden olmuş olabilir. Farklı bakteri türlerinin bir arada kullanılması, aralarındaki etkileşimlere bağlı olarak toksin bağlama kapasitelerinde değişikliğe yol açabilir. Bu etkileşimler bazı durumlarda sinerjistik ya da antagonistik özellik gösterebilir (Halttunen vd., 2008).

Tüm gruplar arasında genel eğilim canlı bakterilerin daha yüksek bağlama oranına sahip olduğunu gösterse de bu fark yalnızca miks gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Bireysel suşlar için canlı ve inaktive gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($P>0.05$). Canlı ve inaktive bakterilerin toksin bağlama kapasiteleri arasında fark olmadığını rapor eden başka çalışmalar da mevcuttur (Lee vd., 2003; Bueno vd., 2007; Chaudhary ve Patel, 2022).

Bu çalışma, PBS ortamında canlı, US ile aktive edilmiş canlı ve farklı yöntemlerle inaktive edilmiş LAB'lerin karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği sınırlı sayıdaki araştırmalardan biri olması açısından önem arz etmektedir. Isı ve asit gibi çeşitli inaktivasyon tekniklerinin etkileri karşılaştırılmış ve miks gruplar ile tekli suşlar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak raporlanmıştır. Özellikle canlı ve US ile aktive edilmiş miks gruplarının yüksek detoksifikasyon potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Canlı probiyotik bakterilerin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri dikkate alındığında, canlı mikroorganizma kullanımının sindirim sistemi fonksiyonlarının desteklenmesi ve bağırsıklık sisteminin güçlendirilmesi gibi önemli avantajları bulunmaktadır. Bununla birlikte, canlı

mikroorganizmaların bazı gıda ürünlerinde stabilite ve raf ömrü gibi sınırlamalarının varlığı, canlı bakterilerin kullanımını kısıtlamaktadır. Bu bağlamda, US ile inaktive edilmiş ya da diğer inaktivasyon yöntemleri kullanılmış LAB formları, hem insan sağlığı açısından faydalı etkilerini korumak hem de biyolojik detoksifikasyon stratejilerinde güvenli ve etkin bir alternatif sunmak bakımından önemli bir potansiyele sahiptir.

SONUÇ

Son dönemde, süt ve süt ürünlerinin fonksiyonel özelliklerini artırmak amacıyla yaygın olarak kullanılan laktobasil suşları, bu çalışmada aflatoksin detoksifikasyonu amacıyla değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, aflatoksinlerin etkisiz hale getirilmesine yönelik yenilikçi yaklaşımların geliştirilmesine önemli katkılar sağlayabilir. Bu çalışma, AFM1 gibi güçlü toksinlerin biyolojik yöntemlerle uzaklaştırılmasında LAB'lerin potansiyelini değerlendirmeyi ve US gibi yenilikçi teknolojilerin mikrobiyal yüzey yapılarında oluşturduğu değişimlerin bağlanma kapasitesine etkisini ortaya koymuştur. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, gıda güvenliği perspektifinden gıdalarda toksin azaltımına yönelik uygulanabilir biyolojik müdahalelerin şekillendirilmesinde yol gösterici olabilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

YAZARLARIN KATKISI

Yazarlar araştırmanın planlanması, yürütülmesi, istatistiksel değerlendirilme ve makale yazım aşamasında görev almıştır. Yazarlar makalenin son halini okumuş ve onaylamışlardır.

TEŞEKKÜR

Çalışma Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından 2023/104 numaralı proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

Abbès, S., Salah-Abbès, J. B., Sharafi, H., Jebali, R., Noghabi, K. A., Oueslati, R. (2013). Ability of

- Lactobacillus rhamnosus* GAF01 to remove AFM₁ in vitro and to counteract AFM₁ immunotoxicity in vivo. *Journal of Immunotoxicology*, 10(3), 279-286. <https://doi.org/10.3109/1547691X.2012.718810>
- Abdelmotilib, N. M., Hamad, G. M., Elderea, H. B., Salem, E. G., El Sohaimy, S. A. (2018). Aflatoxin M₁ reduction in milk by a novel combination of probiotic bacterial and yeast strains. *European Journal of Nutrition and Food Safety*, 8(2) 83-99. <https://doi.org/10.9734/EJNFS/2018/39486>
- Abedi, E., Pourmohammadi, K., Mousavifard, M., Sayadi, M. (2022). Comparison between surface hydrophobicity of heated and thermosonicated cells to detoxify aflatoxin B₁ by co-culture *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* in sourdough: Modeling studies. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 154, 112616. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112616>
- Adriansyah, P. N. A., Rahayu, W. P., Kusumaningrum, H. D., Kawamura, O. (2022). Aflatoxin M₁ reduction by microorganisms isolated from kefir grains. *International Food Research Journal*, 29(1) 78-85. <https://doi.org/10.47836/ifrj.29.1.09>
- Ahlberg, S. H., Joutsjoki, V., Korhonen, H. J. (2015). Potential of lactic acid bacteria in aflatoxin risk mitigation. *International Journal of Food Microbiology*, 207, 87-102. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.042>
- Bejaoui, H., Mathieu, F., Taillandier, P., Lebrihi, A. (2004). Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological *Saccharomyces* strains. *Journal of Applied Microbiology*, 97(5), 1038-1044. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02385.x>
- Bovo, F., Corassin, C. H., Rosim, R. E., de Oliveira, C. A. (2013). Efficiency of lactic acid bacteria strains for decontamination of aflatoxin m₁ in phosphate buffer saline solution and in skimmed milk. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 2230-2234. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0770-9>
- Brackett, R. E., Marth, E. H. (1982). Association of aflatoxin M₁ with casein. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 174(6), 439-441. <https://doi.org/10.1007/bf01042721>
- Bueno, D. J., Casale, C. H., Pizzolitto, R. P., Salvano, M. A., Oliver, G. (2007). Physical adsorption of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*: a theoretical model. *Journal of Food Protection*, 70(9), 2148-2154. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.9.2148>
- Campagnollo, F. B., Khaneghah, A. M., Borges, L. L., Bonato, M. A., Fakhri, Y., Barbalho, C. B., Barbalho, R. L. C., Corassin, C. H., Oliveira, C. A. F. (2020). In vitro and in vivo capacity of yeast-based products to bind to aflatoxins B₁ and M₁ in media and foodstuffs: a systematic review and meta-analysis. *Food Research International*, 137, 109505. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109505>
- Chavarría, G., Molina, A., Leiva, A., Méndez, G., Wong-González, E., Cortés-Muñoz, M., Rodríguez, C., Granados-Chinchilla, F. (2017). Distribution, stability, and protein interactions of Aflatoxin M₁ in fresh cheese. *Food Control* 73:581–586. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.005>
- Chaudhary, H. J., Patel, A. R. (2022). Removal of aflatoxin M₁ from milk and aqueous medium by indigenously isolated strains of *W. confusa* H1 and *L. plantarum* S2. *Food Bioscience*, 45, 101468. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101468>
- El Khoury, A., Atoui, A., Yaghi, J. (2011). Analysis of aflatoxin M₁ in milk and yogurt and AFM₁ reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. *Food Control*, 22(10), 1695-1699. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.001>
- Elsanhoty, R. M., Salam, S. A., Ramadan, M. F., Badr, F. H. (2014). Detoxification of aflatoxin M₁ in yoghurt using probiotics and lactic acid bacteria. *Food Control*, 43, 129-134. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.03.002>
- Fashandi, H. M., Abbasi, R., Mousavi Khaneghah, A. (2018). The detoxification of aflatoxin M₁ by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.: A review. *Journal of Food Processing and*

Preservation, 42(9), e13704. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13704>

Foerster, C., Monsalve, L., Ríos-Gajardo, G. (2023). Occurrence of aflatoxin M₁ in milk and exposure estimation for its consumption in the Chilean population. *Food Control*, 148, 109677. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109677>

Guimarães, J. T., Scudino, H., Ramos, G. L. P. A., Oliveira, G. A. R., Margalho, L. P., Costa, L. E. O., Freitas, M. Q., Duarte, M. C. K. H., Sant'Ana, A. S., Cruz, A. G. (2021). Current applications of high-intensity ultrasound with microbial inactivation or stimulation purposes in dairy products. *Current Opinion in Food Science*, 42, 140-147. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.06.004>

Güner, T. E., Akyol, B. A., Tavşanlı, H., Gökbulut, C. (2025). Effects of different inactivation and activation treatments applied to lactic acid bacteria on AFM1 detoxification in milk. *Food Bioscience*, 106974. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106974>

Halttunen, T., Collado, M. C., El-Nezami, H., Meriluoto, J., Salminen, S. (2008). Combining strains of lactic acid bacteria may reduce their toxin and heavy metal removal efficiency from aqueous solution. *Letters in Applied Microbiology*, 46(2), 160-165. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2007.02276.x>

Haskard, C. A., El-Nezami, H. S., Kankaanpää, P. E., Salminen, S., Ahokas, J. T. (2001). Surface binding of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(7), 3086-3091. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.7.3086-3091.2001>

Kabak, B., Var, I. (2008). Factors affecting the removal of aflatoxin M₁ from food model by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Journal of Environmental Science and Health, part B*, 43(7), 617-624. <https://doi.org/10.1080/03601230802234740>

Karazhiyan, H., Mehraban, SM, Karazhyan, R., Mehrzad, A., Haghighi, E. (2016). Ability of different treatments of *Saccharomyces cerevisiae* to surface bind aflatoxin M₁ in yoghurt. *Journal of Agricultural Food*, 18, 1489-1498

Lee, Y. K., El-Nezami, H., Haskard, C. A., Gratz, S., Puong, K. Y., Salminen, S., Mykkänen, H. (2003). Kinetics of adsorption and desorption of aflatoxin B₁ by viable and nonviable bacteria. *Journal of Food Protection*, 66(3), 426-430. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.3.426>

Macit, A., Sevim, S., Kizil, M. (2024). Aflatoxin B1 and M1 detoxification in foodstuffs: Examining the efficacy of probiotics with and without prebiotics—A systematic review. *Food Bioscience*, 58, 103724. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103724>

Markaki, P., Melissari, E. (1997). Occurrence of aflatoxin M₁ in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC. *Food Additives and Contaminants*, 14(5), 451-456. <https://doi.org/10.1080/02652039709374551>

Mehenktaş, C. (2022). Süt işlemede ultrason kullanımı. *Akademik Gıda*, 20(4), 474-481.

Ojha, K. S., Mason, T. J., O'Donnell, C. P., Kerry, J. P., Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 410-417. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.001>

Onyeaka, H., Miri, T., Hart, A., Anumudu, C., Nwabor, O. F. (2023). Application of Ultrasound Technology in Food Processing with emphasis on bacterial spores. *Food Reviews International*, 39(7), 3663-3675. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2013255>

Peltonen, K. D., El-Nezami, H. S., Salminen, S. J., Ahokas, J. T. (2001). Binding of aflatoxin B1 by probiotic bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1942-1945. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(200010\)80:13<1942::AID-JSFA741>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1097-0010(200010)80:13<1942::AID-JSFA741>3.0.CO;2-7)

Pierides, M., El-Nezami, H., Peltonen, K., Salminen, S., Ahokas, J. (2000). Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M₁ in a food model. *Journal of Food Protection*, 63(5), 645-650. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.5.645>

Piotrowska, M. (2014). The adsorption of ochratoxin A by *Lactobacillus* species. *Toxins*, 6(9),

- 2826-2839. <https://doi.org/10.3390/toxins6092826>
- Sanaldi, K., Coban, A. Y. (2023). Detoxification of aflatoxin M₁ in different milk types using probiotics. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 95(1), e20220794. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202320220794>
- Serrano-Niño, J. C., Cavazos-Garduño, A., Hernandez-Mendoza, A., Applegate, B., Ferruzzi, M. G., San Martin-González, M. F., García, H. S. (2013). Assessment of probiotic strains ability to reduce the bioaccessibility of aflatoxin M₁ in artificially contaminated milk using an in vitro digestive model. *Food Control*, 31(1), 202-207. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.023>
- Shahin, A. A. M. 2007. Removal of Aflatoxin B1 from Contaminated Liquid Media by Dairy Lactic Acid Bacteria. *International Journal of Agriculture and Biology*, 9(1): 71-75.
- Tavşanlı, H., Güner, T. E., Altundal, B., Ektik, N., İlhak, O. İ. (2024). The effect of ultrasound process on lactic acid bacteria, physicochemical and sensory properties of yoghurt, before and after inoculation of starter cultures into milk. *International Journal of Dairy Technology*, 77(1), 105–113. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.13013>
- Turna, N. S., Wu, F. (2021). Aflatoxin M1 in milk: A global occurrence, intake, & exposure assessment. *Trends in Food Science and Technology*, 110, 183–192. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.081>
- Ünusan, N. (2019). Systematic review of mycotoxins in food and feeds in Turkey. *Food Control*, 97, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.10.015>
- Wang, L., Wang, Z., Yuan, Y., Cai, R., Niu, C., Yue, T. (2015). Identification of key factors involved in the biosorption of patulin by inactivated lactic acid bacteria (LAB) cells. *Public Library of Science*, 10(11), e0143431. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143431>
- Wu, H., Hulbert, G. J., Mount, J. R. (2000). Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1(3), 211-218. [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(00\)00020-5](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00020-5)