



**T.C.**  
**MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANNE SÜTÜNDEN İZOLE EDİLMİŞ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN  
MALDI-TOF MS İLE TANIMLANMASI VE BİYOLOJİK  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Ali Osman KESKİN**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Ağustos-2022**  
**MUŞ**  
**Her Hakkı Saklıdır**



**T.C.**  
**MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANNE SÜTÜNDEN İZOLE EDİLMİŞ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN  
MALDI-TOF MS İLE TANIMLANMASI VE BİYOLOJİK  
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Ali Osman KESKİN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Yusuf ALAN**

**Ağustos-2022**  
**MUŞ**  
**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ KABUL VE ONAYI

Doç. Dr. Yusuf ALAN Danışmanlığında Ali Osman KESKİN tarafından hazırlanan

“Anne Sütünden İzole Edilmiş Laktik Asit Bakterilerinin MALDI-TOF MS ile Tanımlanması ve Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 27/07/2022 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

### Jüri Üyeleri

#### Başkan

**Dr. Öğr. Üyesi Metin ERTAŞ**

Hakkari Üniversitesi, Yüksekova MYO  
Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü

#### Danışman

**Doç. Dr. Yusuf ALAN**

Muş Alparslan Üniversitesi  
Fen Edebiyat Fakültesi  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

#### Üye

**Dr. Öğr. Üyesi Ahmet SAVCI**

Muş Alparslan Üniversitesi  
Fen Edebiyat Fakültesi  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

### İmza

.....

.....

.....

### Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu ...../...../..... Tarih ve ...../..... nolu kararı ile onaylanmıştır.

**Doç. Dr. Sedat BOZARI**  
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Muş Alparslan Üniversitesi tarafından BAP-22-FEF-4902-06 nolu proje ile desteklenmiştir.

## TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

**İmza**

**Ali Osman KESKİN**

**Tarih:**

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

# ANNE SÜTÜNDEN İZOLE EDİLMİŞ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN MALDI-TOF MS İLE TANIMLANMASI VE BİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ali Osman KESKİN

Muş Alparslan Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Yusuf ALAN

Bu çalışmada anne sütünden izole edilmiş laktik asit bakterilerinin MALDI-TOF MS ile tanımlanması ve biyolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlandı. Çalışma kapsamında kullanılan 12 izolatın pH2 ile pH3 pepsin, safra tuzu ve pankreatin ortamındaki dirençlilikleri araştırıldı. Ayrıca izolatların *in vitro* antioksidan özellikleri ile EPS içerikleri çalışıldı. Çalışma sonucunda 12 izolatın midenin pH pepsin, safra tuzu ve pankreatin ortamında standartlara benzer ya da daha dirençli oldukları görüldü. Bununla birlikte *L. brevis* 18 izolatının diğer mikroorganizmalardan daha fazla EPS içerdiği tespit edildi. DPPH süpürme aktivitesi sonuçlarına göre *P. pentosaceus* 1, 10 ve 11, *L. plantarum* 13 ve *L. brevis* 18 izolatları, BHA ve AA standartlarına göre daha düşük ancak standart mikroorganizmalara göre daha yüksek aktivite gösterdi. İzolatların ABTS radikal süpürme aktivite sonuçlarına göre, bütün izolatların standart antioksidanlara benzer aktivite sergilediği belirlendi. Bütün sonuçlar göz önüne alındığında, *L. brevis* 18 nolu izolatın diğer suşlardan ve standart olarak kullanılan mikroorganizmalardan daha iyi aktivite gösterdiği gözlemlendi. Çalışmanın sonuçlarına göre bu mikroorganizmaların *in vivo* çalışmalarının yapılması durumunda ilaç benzeri gıda takviye ürünleri, gıda ve ilaç endüstrisine önemli katkılar sağlayacağı düşünülebilir.

**2022, 71 Sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Anne sütü, Antioksidan, Laktik Asit Bakterileri, MALDI TOF-MS, Probiyotik

## ABSTRACT

### IDENTIFICATION AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM BREAST MILK BY MALDI-TOF MS

Ali Osman Keskin

Muş Alparslan University  
Institute of Sciences  
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Yusuf ALAN

In this study, it was aimed to identify lactic acid bacteria isolated from breast milk by MALDI-TOF MS and to determine their biological properties. The resistances of 12 isolates used in the study at pH2 and pH3 pepsin, bile salt and pancreatin media were investigated. In addition, in vitro antioxidant properties and EPS contents of the isolates were studied. As a result of the study, 12 isolates were found to be similar or more resistant to the standards in the gastric pH pepsin, bile salt and pancreatin media. However, it was determined that *L. brevis* 18 isolate contained more EPS than other microorganisms. According to DPPH scavenging activity results, *P. pentosaceus* 1, 10 and 11, *L. plantarum* 13 and *L. brevis* 18 isolates showed lower activity than BHA and AA standards but higher than standard microorganisms. According to ABTS radical scavenging activity results of isolates, it was determined that all isolates exhibited similar activity to standard antioxidants. Considering all the results, it was observed that *L. brevis* isolate 18 showed better activity than other strains and microorganisms used as standard. According to the results of the study, it can be thought that in the case of in vivo studies of these microorganisms, drug-like food supplement products will make significant contributions to the food and pharmaceutical industry.

**2022, 71 Pages**

**Keywords:** Antioxidant, Breast milk, Lactic Acid Bacteria, MALDI-TOF MS, Probiotic

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her safhasında büyük bir öz veri ve titizlikle bana yol gösteren ve yardımını esirgemeyen Muş Alparslan Üniversitesi öğretim üyesi, danışman hocam sayın Doç. Dr. Yusuf ALAN'a,

Beni danışman hocamla tanıştıran, bilgi ve birikimlerini bana aktaran, her konuda yardımcı olan Dr. Öğretim Üyesi Ahmet SAVCI hocama,

Akademik kariyere beni teşvik eden, örnek aldığım abim Doç. Dr. Ali İhsan KESKİN 'e,

Çalışmalarım boyunca yeterince ilgilenemediğim çocuklarım ve her zor zamanımda varlığı ile bana destek olan eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Ali Osman KESKİN**  
**MUŞ-2022**

# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xi
<b>1.GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1 Anne Sütü.....	1
1.2. Anne Sütünde Bulunan Laktik Asit Bakterileri ve Önemi.....	2
1.2.1. <i>Lactobacillus</i> .....	3
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> .....	4
<i>Lactobacillus brevis</i> .....	4
1.2.2. <i>Pediococcus</i> .....	5
<i>Pediococcus pentosaceus</i> .....	5
1.3. Probiyotikler.....	6
1.3.1.Tarihçesi .....	6
1.3.2. Özellikleri.....	7
1.4 Anne Sütündeki Probiyotik Mikroorganizmalar .....	10
1.5. MALDI-TOF MS Tayini.....	11
1.5.1 MALDI-TOF MS çalışma prensibi .....	12
1.6. Probiyotiklerde Aranılan Önemli Özellikler .....	14
1.6.1. pH.....	14
1.6.2. Pepsin .....	15
1.6.3. Pankreatin.....	15
1.6.4. Safra .....	16
1.7. Probiyotiklerin Antioksidan Özellikleri.....	17
1.7.1. Serbest radikaller ve oksidatif stres.....	17
1.7.2. Antioksidanlar .....	18
1.8. Ekzopolisakkaritler (EPS) .....	19
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....</b>	<b>21</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM .....</b>	<b>25</b>
3.1. Materyal .....	25
3.1.1. Laktik asit bakteri suşlarının temini .....	25
3.1.2. Kullanılan Aletler.....	26
3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri .....	26
3.1.4. Kullanılan çözeltiler ve tamponlar .....	27
3.2 Yöntem.....	27

3.2.1. Laktik asit bakterilerinin tanımlanması.....	27
3.2.2. Probiyotik özelliklerin belirlenmesi.....	27
3.2.2.1. LAB'ın kültür süspansiyonunun hazırlanması.....	27
3.2.2.2. LAB'ın simüle mide suyuna karşı dirençlilikleri.....	28
3.2.2.3. LAB'ın pankreatine karşı direnç özelliğinin belirlenmesi.....	28
3.2.2.4. LAB'ın safra tuzuna karşı direnç özelliğinin belirlenmesi.....	28
3.2.3. Antioksidan özellik.....	29
3.2.3.1. DPPH radikali süpürme aktivitesi.....	29
Kullanılan Çözeltiler.....	29
3.2.3.2. ABTS+ süpürme aktivitesi.....	29
3.3. Ekzopolisakkarit (EPS) tayini.....	30
3.3.1. İstatistiksel analiz.....	31
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>32</b>
4.1. Laktik Asit Bakterilerinin MALDI-TOF MS ile Tanımlanması.....	32
4.2. LAB Suşlarının Probiyotik Özellikleri.....	35
4.2.1. LAB'ın simüle mide suyuna karşı dirençlilikleri.....	35
4.2.2. LAB'ın pankreatine karşı dirençlilikleri.....	42
4.2.3. LAB'ın safra tuzuna karşı dirençlilikleri.....	44
4.3. Ekzopolisakkarit (EPS).....	47
4.4. Antioksidan Özellikler.....	49
4.4.1. DPPH süpürme aktivitesi.....	49
4.4.2. ABTS+ süpürme aktivitesi.....	52
<b>5. SONUÇ .....</b>	<b>53</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>54</b>

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Probiyotik gıdaların insanlar üzerindeki muhtemel bazı fizyolojik yararları .....	7
Şekil 2. İyonize edilmiş izolatların MS analizinin genel şeması. ....	12
Şekil 3. MALDI-TOF MS'nin lazer atışı ile desorbisyonu ve iyoizasyonu .....	13
Şekil 4. Oksidatif stres .....	17
Şekil 5. Antioksidan sistem .....	18
Şekil 6. MALDI-TOF MS Analizi.....	25
Şekil 7. Glikoz standart eğrisi.....	29
Şekil 8. <i>P. pentosaceus</i> suşlarının pH2+pepsin ortamlarında (1.saat, 2.saat ve 3. saat) direnç özellikleri	34
Şekil 9. <i>L. brevis</i> suşlarının pH2+pepsin ortamlarında (1.saat, 2.saat ve 3.saat) direnç özellikleri .....	38
Şekil 10. <i>L. plantarum</i> suşlarının pH2+pepsin ortamlarında (1.saat, 2.saat ve 3.saat) direnç özellikleri ...	35
Şekil 11. <i>P. pentosaceus</i> suşlarının pH3+pepsin ortamında (1.saat, 2.saat ve 3. saat) direnç özellikleri ...	36
Şekil 12. <i>L.brevis</i> suşlarının pH3+pepsin (1.saat, 2.saat ve 3. saat) direnç özellikleri .....	40
Şekil 13. <i>L. plantarum</i> suşlarının pH3+pepsin ortamlarında (1.saat, 2.saat ve 3.saat) direnç özellikleri ...	37
Şekil 14. İzolatların pankreatine karşı direnç özellikleri .....	43
Şekil 15. <i>P. pentosaceus</i> suşlarının (%0,3, %0,5 ve %1) safra ortamında direnç özelliği .....	45
Şekil 16. <i>L. brevis</i> suşlarının (%0,3, %0,5 ve %1) safra ortamında direnç özelliği .....	46
Şekil 17. <i>L. plantarum</i> suşlarının (%0,3, %0,5 ve %1) safra ortamında direnç özelliği .....	43
Şekil 18. İzolatların EPS dağılımı .....	45
Şekil 19. İzolatların DPPH süpürme aktiviteleri.....	50

## ÇİZELGE LİSTESİ

<b>Çizelge 1.</b> Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar.....	9
<b>Çizelge 2.</b> Anne sütündeki bakteri türleri.....	11
<b>Çizelge 3.</b> MRS besi ortamlarının kompozisyon içeriği.....	24
<b>Çizelge 4.</b> Anne sütünden izole edilen izolatların MALDI-TOF MS analiz sonuçları.....	33
<b>Çizelge 5.</b> Çalışılacak izolatlar.....	34
<b>Çizelge 6.</b> Çalışılan izolatlar.....	32
<b>Çizelge 7.</b> İzolatların pH2 ve pH3 pepsin değerlerine karşı direnç özellikleri.....	36
<b>Çizelge 8.</b> İzolatların Safra tuzları (%0,3, %0,5 ve %1) ve pankreatin ortamında direnç özellikleri.....	40
<b>Çizelge 9.</b> İzolatların EPS içerikleri.....	44
<b>Çizelge 10.</b> Probiyotiklerin DPPH radikali giderme aktivitelerinin BHA ve AA ile kıyaslanması.....	50
<b>Çizelge 11.</b> Probiyotiklerin ABTS radikali giderme aktivitelerinin BHA ve AA ile kıyaslanması.....	52

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

°C	: Santigrat
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	: Tartarik Asit
C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	: Sitrik Asit
FeCl <sub>2</sub>	: Demir II klorür
FeCl <sub>3</sub>	: Demir III klorür
HCl	: Hidroklorik Asit
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Sülfirik Asit
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	: Fosforik Asit
KCl	: Potasyum klorür
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Monopotasyum Fosfat
NaCl	: Sodyum klorür
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	: Disodyum Fosfat
NH <sub>4</sub> SCN	: Amonyum Tiyosiyanat

### Kısaltmalar

ABTS	: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)
BHA	: Butillenmiş Hidroksi Anisol
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 1,1-difenil 2-pikril hidrazil
EPS	: Ekzopolisakkarit
GSH-Px	: Glutatayon Peroksidaz
IFN-γ	: İnterferon alfa
IgA	: İmmunglobülin A
IC <sub>50</sub>	: Subisratın yarısı ile etkileşime giren enzim miktarı
LAB	: Laktik Asit Bakterisi
LogCFU/ml	: Toplam bakteri sayımının birimi
MALDI-TOF MS	: Matriks assisted lazer desorption ionization time of flight massspec trometry

<b>mM</b>	: Mili molar
<b>ml</b>	: Mili litre
<b>MRS</b>	: Man Rogosa and Sharpe
<b>NEK</b>	: Nekrotizan Entere Kolit
<b>Ph</b>	: Power Hydrogene
<b>ppm</b>	: Parçacık sayısına göre ölçüm birimi
<b>RNA</b>	: Ribo Nükleik Asit
<b>RAPD</b>	: Rastgele Artırılmış Polimorfik DNA
<b>SOD</b>	: Süper Oksid Dizmutaz
<b>STD</b>	: Standart
<b>TBA</b>	: Tribarbütirik Asit
<b>TCA</b>	: Trikloro Asetik Asit
<b>µl</b>	: Mikro litre

## 1.GİRİŞ

### 1.1 Anne Sütü

Anne sütü yapısı itibari ile içerdiği vitaminler, mineraller, protein, lipit miktarları ve karbonhidratlar sayesinde ilk altı ay boyunca takviye gıdalara gerek kalmadan yeni doğan bebekler için iyi bir besin kaynağıdır (Cinar ve ark., 2012). Anne sütü ucuz ve kolay ulaşılır olması, yapısında bulunan zengin ve doyurucu besin içeriğinin yanı sıra emzirmeden dolayı bebek ve anne arasında çok güçlü psikolojik bağ kurulmasını sağlar (Martin ve ark., 2016). İnsan vücuduna giren herhangi bir patojene karşı bağışıklık sisteminde birkaç organ rol almaktadır (Periferik lenf organları, kemik iliği, dalak, lenf nodları, mukozal lenfoid doku gibi). Patojenlerin vücuda giriş şekli genellikle mukoza aracılığı ile olur, dolayısıyla insan mukozal savunma sisteminin çok iyi olması gerekmektedir. En önemlisi de bağırsak mukozasıdır, mikrobiyal uyarı bu yolla olmaktadır. Sağlıklı kişilerde mukozal savunma sistemi uyarılması ve artması için mikrobiyal flora gereklidir. Sindirim sistemine ait bağışıklık dokusu bütün vücudun savunma sisteminin %80'ini oluşturur. Yeni doğanlarda doğum esnasında ve sonraki dönemde mikrobiyolojik çevrenin mukozal bağışıklık sistemi için çok önemli olduğu düşünülmektedir (MacDonald ve Spencer, 1994). Yeni doğan bebeklerin doğum sonrası steril ortamdaki non-steril ortama gelmesi ile birlikte enfeksiyona yakalanma ihtimalleri çok yüksektir. Bundan dolayı doğumdan sonra ilk anne sütünü (Kolostrum) alması sütte bulunan immün faktörler ile doğal bir bağışıklık sistemi gelişir ve bebek hastalıklardan korunur. Zamanından önce doğan bebekler ile zamanında doğan bebeklerin anne sütü içeriği aynı değildir. Prematüre doğan bebeklerin zamanında doğan bebeklere göre anne sütünün içeriği gereksinimler göz önüne alındığında daha uygundur. Bebek büyüdükçe salgılanan anne sütü içeriğinde farklılıklar olur. Bu farklılık gece ve gündüz salgılanan anne sütünde bile gözlenir (Amin ve ark., 2002). Yeni doğan bebeklerde ilk yarım saat içinde beslenmeye bağlı olarak kan şekeri düzeyinde ani yükselmeye sebep olur, bebek için çok riskli bir durumdur. Anne sütünde bulunan karbonhidratların ve laktozun sindirimi yeni doğan bebeklerin fizyolojik yapısına uygun olduğundan, bebek için risk ortadan kalkmaktadır (Rochow ve ark., 2013). İçerik olarak inek sütünde çok fazla kazein bulunurken anne sütünde globülin ve albümin fazladır, demir oranı fazla olmasından dolayı da kalsiyum Emilimi daha kolaydır (Fukushima ve ark., 1998; Musumeci ve ark., 2006). Anne sütü ile beslenen bebekler bağırsak florasındaki yararlı bakterilerin anne sütünde bulunan oligosakkaritlerin bebeğe geçmesi ile probiyotik

bakterilerinin kolonize edilmesi sağlanır ve yeni doğan bebeklerde sıklıkla görülen Nekrotizan Enterekolit (NEK) gelişimini engelleyen lizozom, laktoferrin ve diğer antimikrobiyal proteinler ile bağışıklığı düzenleyici ajanlar içermektedir (Sherman ve ark., 2015). Anne sütü; büyüme, sindirim sistemi gelişmesi, yeni doğan bebeklerin bağırsak yapısı ile ilişkili lenfoid dokuların gelişmesine katkı sağlayan, bebeklerde gastrointestinal sistem üzerinde olumlu fonksiyonu olan ana besindir (Arda, 2018). Bebeklere ilk altı ay boyunca ek sıvı vermeden bebeğin anne sütünü alması gerekli sıvı ihtiyacını karşılamaktadır. Anne sütü alan bebeklerin almayan bebeklere oranla ishal, orta kulak iltihabı, solunum yolu enfeksiyonları, menenjit gibi enfeksiyonlardan korunduğu gibi ani bebek ölüm sendromu ve bebek ölümleri daha az görülmektedir (Stuebe, 2009). Anne sütünde bulunan en önemli besin bileşenleri oligosakkaritlerdir. Oligosakkaritler konakçı hücreler ile etkileşime girerek beyin gelişimini destekler, probiyotik gibi davranarak bebek için faydalı bakterilerin kolonizasyonunu uyarırlar (Ayechu-Muruzabal ve ark., 2018).

## **1.2. Anne Sütünde Bulunan Laktik Asit Bakterileri ve Önemi**

Probiyotik mikroorganizmaların çoğunluğunu Laktik Asit Bakterileri (LAB) oluşturur. LAB'lar yapıları itibari ile basil ve kok şeklinde, spor oluşturmayan, hareketsiz, gram pozitif, katalaz negatif, aerotolerant, aside dayanıklı, nitratı indirgemeyen, yüksek alkoller ve karbonhidratları fermente eden son ürün olarak laktik asit üreten gruptur. Toprakta ve suda bulunmaz; genellikle buldukları ortamlar süt ve süt ürünleri, taze veya çürümüş bitkiler, fermente gıdalar, insan ve hayvanların bağırsak mukozalarıdır (Bosch ve ark., 2014; dos Reis ve ark., 2017). İnsan gastrointestinal sisteminin mikrobiyal florasının büyük çoğunluğu LAB türleri tarafından oluşturulur. LAB'lar gastrointestinal sistemi dışında vücudun farklı bölgelerinde de (deri, vajina ve saç) bulunmaktadır. Ürettikleri asetaldehit, CO<sub>2</sub> yardımı ile pH'ı değiştirir ve salgıladığı mikroorganizmalar tarafından ribozomal olarak üretilen, protein yapısında antagonistik etkiye sahip maddeler ile zararlı mikroorganizmaların gelişmesini önlemeye çalışırlar (Tannock, 1999). Gebelik döneminde bebeklerde sindirim sisteminin en önemli parçası olan bağırsaklar steril yapıdadır. Doğumdan sonra çevresel faktörler ve anne bağırsak florası bebeğin bağırsak florasını oluşturan temel etmenlerdir. Doğum sonrası dönemde tüketilen tüm besinler bebeğin yaşamı boyunca bağırsak florasını ve sağlığını etkiler, bu yüzden sezaryen ile doğan bebekler normal doğum ile dünyaya gelen bebeklere nazaran

daha zayıftır. Yetişkinlik dönemine kadar devam edecek olan gelişim bebeğin bağırsak florasındaki mikroorganizma türü ve sayısı, immün sistemini büyük oranda etkiler

( Fernández ve ark., 2003). Yeni doğan bebeklerin bağırsak mikrobiyotasının oluşumu ve gelişmesinde en önemli faktör anne sütü ile beslenmedir. Yeni doğumu takip eden birkaç hafta sonra bebeğin bağırsak florasında sürekli bir mikroorganizma kaynağı oluşturulur. Yeni doğan bebeklerin anne sütü almasıyla yaklaşık 800.000 tane bakterinin bebeğe geçtiği düşünülmektedir (Heikkilä ve Saris, 2003). Yapılan çalışmada 800 ml anne sütü alan bebeklerde  $1 \times 10^5$  -  $1 \times 10^7$  tane bakterinin bebek bağırsağına geçtiğinden, bebeğin bağırsak florasının ana kaynağını *Bifidobacterium* türleri oluşturur (Ozgun ve Vural, 2011). Yeni doğan bebeklerde ilk birkaç gün içerisinde sindirim sisteminde *Enterobacteria* grubunda bulunan bakteriler çoğalmaya başlar. Anne sütü alan bebeklerde floranın %80-90'nı *Bifidobacterium* bakterileri oluşturur ve burada beslenme ile birlikte *Enterobacteria* türleri azalırken *Bacteroides* ve *Lactobacillus* miktarlarında artış olur. Anne sütü ile beslenmeyen bebeklerde *Koliform* bakterileri ve *Bacteroides* türleri daha fazladır (Harmsen ve ark., 2000; Yoshioka ve ark., 1983). Anne sütünde bulunan türler içerisinde en baskın olanları *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* oldukları bilinmektedir (Jost ve ark., 2015; McGuire ve McGuire, 2017). Ayrıca anne sütünde zorunlu anerob mikroorganizmalar bulunur ve bunlar bağırsak kaynaklıdır. *Clostridium*, *Callinsella*, *Blautia* ve *Veillonella* bulunan bu türler ile birlikte *Coprococcus*, *Faecalibacterium* ve *Roseburia* gibi kısa zincirli yağ asidi üretebilen türlerin de olduğu tespit edilmiştir (Jost ve ark., 2015; McGuire ve McGuire, 2017). *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *tetrogenococcus*, *Weisella*, *Vagococcus* ve *Aerococcus* cinsleri LAB gurubunda yer alır. Starter (başlatıcı) kültür fermente süt ve süt üretiminde kullanılan *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* cinsi laktik asit bakterileridir (Di Cerbo ve ark., 2016).

### 1.2.1. *Lactobacillus*

*Lactobacillus* cinsleri izole edildikleri alanlar oldukça geniştir. Fermente süt ve süt ürünleri, et, hayvan ve insanların mukoza membranlarından elde edilebilir (dos Reis ve ark., 2017). *Lactobacilluslar* spor oluşturmeyen, katalaz negatif ve gram pozitifdir. DNA yapılarında %50 den az guanin +sitozin bulunur, basil ya da kok basildirler. Oksijene toleranslı veya oksijensiz, düşük veya yüksek pH ortamına adapte olabilen ve

çok karmaşık besin ihtiyaçları olan bakteri grubudurlar. *Laktobasiller* glikoz ihtiyaçlarına göre ya homofermantatiftir ya da heterofermantatiftirler. Malat, sitrat, nitrat, tarterat, nitrit gibi birçok bileşiği enerji kaynağı olarak metabolize edilebilir hale getirirler. Bunun yanı sıra elektron taşıma sistemi elemanı olarak da kullanılabilirler (Hammes ve Vogel, 1995). *Lactobacillus* cinsinde bulunan türler: *L. rhamnosus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. paracasei*, *L. reuteri*, *L. plantarum*'dır (dos Reis ve ark., 2017). Bu mikroorganizmaların en önemli özelliği Diyare'nin bazı türlerini tedavi etmesi, bağışıklık sistemini kuvvetlendirmesi, sütte bulunan temel karbonhidrat olan laktozun sindirim sistemine bağlı olarak gelişen sindirim sistemi hastalığı (şişkinlik, ishal ve karın ağrısı) gibi şikayetlerin hafifletilmesi, kandaki kolesterol seviyesinin düşürülmesi ve kanseri önleme etkilerini göstermeleri, probiyotik özelliklere sahip olduklarını gösterir (Naidu ve ark., 1999; Soomro ve ark., 2002).

### ***Lactiplantibacillus plantarum***

*L. plantarum* türleri insanlarda sindirim sisteminde, ağız içinde, süt ve süt ürünlerinden veya fermente bitkilerden elde edilirler. Görünüm olarak beyaz, sarı ya da koyu sarı renkte olabilirler. Kamçısız olmalarına rağmen hareket kabiliyetleri vardır; yapısal olarak düzgün, çomak, tekli yapı, çiftli yapı veya kısa zincirler halinde bulunurlar (Gan ve ark., 2019). İçerik olarak guanin ve sitozin düşük bir değere sahiptir ve 15-45 °C büyüme gösterirler. Laktik asit üretimleri glikoz fermantasyonu yolu ile olur, bu yöntem ile D- ve L- laktik asit üretirler. Ribozom, mannitol ve sukroz dahil 10 tür karbonhidratın %90'dan fazlasını fermente edebilirler. Kısa zincirler oluşturabilir veya tek başlarına büyüme özellikleri bulunmaktadır. Dış hücre zarları yoktur, hücre duvarları peptidoglikanlardan yüksektir ve diğer LAB guruplarına nazaran genomları büyüktür. Gıda endüstrisinde koruyucu ve başlatıcı olarak büyük bir uygulama alanına sahiptirler ve birçok zararlı patoloji baskılamayı başarabilirler. *L. plantarum* kandaki yüksek kolesterolün düşürülmesinde, Diyare tedavisinde, mide ve bağırsak sisteminde gelişen işlev bozukluklarında, şişkinlik ve ağrı şikayetlerin azalmasına yardımcı olurlar (*L. plantarum: Özellikleri, Morfoloji, uygulamalar - bilim*, 2022).

### ***Lactobacillus brevis***

Bu bakteri türleri gram pozitifdir ve izole edildikleri yerler şunlardır: insan ve hayvanların bağırsak florası, ağız içerisi, süt ve süt ürünleri, ekşimiş hamur ve lahana turşusudur. Metabolizma sonucu birden çok ürün ortaya çıkarabilirler, bunlar: laktik

asidin yanı sıra karbondioksit, etanol veya asetik asit oluştururlar (Singh ve ark., 2020). Birçok probiyotik mikroorganizmalar gibi *L. brevis* de yoğurt gibi süt ürünlerinde “canlı ve aktif kültürler” ile bulunmaktadır. Bulunan bütün probiyotiklerin kaynağının süt ürünleri olduğu anlamına gelmez ve bazı suşlar insan vücudunda doğal olarak meydana gelir (Tasli ve ark., 2006). *L. brevis* bağışıklık sistemimizi güçlendirmek için doğal öldürücü hücreleri artırır, antimikrobiyal etki gösterir (Rushdy ve Gomaa, 2013; Waki ve ark., 2014). Normal mikrobiyota ve fermente gıdalar gibi birçok ortamda bulunurlar, bira bozulmasının en yaygın sebebidir. Bağırsak florası, dışkı ve vajina florasında yaygın olarak bulunurlar, *L. brevis*'ler tibicos tanelerinde bulunur ve kefir yapımında kullanılan en önemli *Lactobacillus*'tur (Pidoux, 1989).

### **1.2.2. *Pediococcus***

Bu bakteriye ait cinslerde hareket kabiliyetleri yoktur, gram pozitif ve katalaz negatiftir. Çiftler ya da dörtlüler şeklinde bulunurlar ve fermantasyon sürecinde endüstriyel mayalanma olarak kullanıldığı bazı türlerinin bakteriler tarafından ribozom al olarak sentezlenen protein doğasında antagonistik etkiye sahip bileşikler ürettiği bilinmektedir. İzolasyonları süt ve süt ürünlerinden mümkündür (Holland ve ark., 2011). *Pediococcus* türlerinin diasetil üreten ve üretmeyen bazı suşları bulunmakta, malolaktik fermantasyonunda (sitrik asidin laktik aside dönüştürülmesi) farklı sıcaklıklara diasetil üretimini etkileyebilir (Wade ve ark., 2019). *Pediococcus* türleri diasetil üretimlerinden dolayı uzun depolama sürelerine sahiptir (Garcia-Garcia ve ark., 2017). LAB'lar ve *Pediococcus* türlere ve suşa bağlı olarak SO<sub>2</sub> karşı kuvvetli bir dirence sahiptirler ve bütün türler için büyüme koşulları B<sub>5</sub> , B<sub>7</sub> ve nikotonik asit gerekmektedir (Wade ve ark., 2019).

### ***Pediococcus pentosaceus***

Bu cins bakteriler fermente gıdaları bozulma etmenlerine ve hastalık yapıcı mikroorganizmalara karşı korurlar ve ortamda oksijen varsa kullanırlar aksi taktirde fermantasyon yoluna geçerler. Glikozu farklı metabolik yollar ile kullanırlar, görünüm olarak koksi şeklindedirler, hareket kabiliyetleri yoktur ve gram pozitifdir (Dobrogosz ve Stone, 1962). Katalaz enziminin hidrojen peroksitti parçalarken, laktik asit bakterilerine herhangi bir zarar vermezler. LAB insan sağlığına faydalı olmasının en önemli etkisi katalaz negatif olmasındandır. Bu sayede parçalanmaz ve bundan dolayı zararlı mikroorganizmaların insan sağlığına zarar vermesini engellediklerinden dolayı,

antimikrobiyal etki gösterirler (Ramos ve ark., 2012). Bakteriyosin üretimi diğer mikroorganizmalar ile fermente edildiğindeki oran kendi başına fermente edilmesinden daha yüksektir (Gutiérrez-Cortés ve ark., 2018).

### 1.3. Probiyotikler

#### 1.3.1.Tarihçesi

Probiyotik teriminin kökeni Yunanca bir kelime olup “Pro” ve “biota” iki kelimeden oluşan “ For life” yaşam için anlamına gelmektedir (Coşkun, 2006). Antibiyotik teriminin anlamca karşıtıdır. 1908 yılında Nobel ödüllü araştırmacı Elie Metchnikof tarafından yapılan bir araştırmada bazı mikroorganizmaların insan sağlığı üzerindeki olumlu etkiler gösterdiği ortaya atılmış (Çakir ve Çakmakçı, 2004). Rus araştırmacı yapmış olduğu araştırmalarda Bulgar köylülerinin uzun ve sağlıklı yaşadıklarını gözlemlemiş, gözlem sonucunda bu insanların yoğurt tüketiminin fazla olduğunu, yoğurt üzerinde yapmış olduğu incelemelerde canlı mikroorganizmalar ile karşılaşmış, bulduğu bu canlı bakterilere *Lactobacillus bulgaricus* adı verilmiş (Taşdemir, 2017). Daha sonraki tarihlerde probiyotikler farklı tanımlar verilmiştir.

1965 yılında Lilly ve Stiwell “Diğer canlıların gelişmesine yardımcı olan bir mikroorganizma tarafından salgılanan metabolitler” olarak tanımlamıştır.

1971 yılında Sperti probiyotik terimini “Mikrobiyal üremeye yardımcı doku ekstraları” için kullanmıştır.

1974 yılında Parker “Probiyotik terimin günümüz anlamı intestinal mikrobiyal dengeyi koruyan mikroorganizmalar ve metabolitler” olarak tanımlamıştır.

1989 yılında Fuller’in yapmış olduğu tanımlama “Zararlı mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen konakçıya yararlı etkiler sağlayan faydalı mikroorganizmalar içeren besin maddeleri” (Afric, 1989; Fuller, 1991).

1992 yılında Havenaar ve Huis in’t Veld tarafından “ Hayvan ve insanda yararlı mikro floranın gelişimine yardımcı olan canlı mikroorganizma kültürü” şeklinde tanımlamış (Klaenhammer, 2000).

1992 yılında Filler “Konakçının intestinal mikro florasının gelişmesine teşvik eden canlı mikrobiyal katkı maddeleri” olarak tanımlamıştır.

1998 yılında Guarner ve Schaafsman’ın yapmış olduğu tanımlama “sağlıklı bir şekilde yaşamayı sunmasının yanı sıra belirli bir sağlık kazancı sağlayan canlı mikroorganizmalar” (Klaenhammer, 2000).

1999 yılında salminen “Canlıların sağlığını ve beslenmesini pozitif yönde etki eden canlı mikroorganizmalar ve fermente süt ve süt ürünleri” olarak tanımlamış.

### 1.3.2. Özellikleri

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar konakçıya verildiğinde konakçıda bulunan diğer mikroorganizmalara karşı etkinlik göstermeli. Canlılığın sağlığı üzerinde olumlu etki göstermesi probiyotiklerin en önemli özelliğidir. Probiyotikler olumsuz çevre koşulları, düşük pH ve safra tuzlarından etkilenmemeli (Koçak ve ark., 2016).

Probiyotikler;

- İnsan kaynaklı olmalı
- Bağırsak mukozasına tutunabilmeli
- Güvenilir olmalı
- Sağlık için yararlı olduğu kanıtlanmalı
- Canlı olmalı, besinlere katıldığında canlılığını korumalı
- Canlı florasını bozmamalı, patojen mikroorganizmaya etki etmeli, normal floraya uyum sağlamalı
- Antimikrobiyal maddeleri salgılayabilmeli

Sindirim yolunda geçici olarak çoğalabilmeli (Uymaz, 2010).



**Şekil 1.** Probiyotik gıdaların insanlar üzerindeki muhtemel bazı fizyolojik yararları (Granato ve ark.,2010).

Probiyotik bakterilerin bağırsağa ulaşması halinde, bağırsak hareketlerinden dolayı sindirim sistemine yerleşebilmesi için bağırsak lümenini çevreleyen mukozal yapısına ve epitel hücrelerine tutunması gerekmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların bu işlemi yapması, kolonizasyon ve patojenlere karşı antogonistik etki yapması gerekir (Fernández ve ark., 2003). Probiyotik mikroorganizmaların tercih edilmesinde bağırsak mukozasına tutunabilme özelliği en önemli ölçütlerden biridir. İntestinal sistemin epitel ve mukozal yüzeylere yapışması ile hidrofobisite gibi kompleks işlemler gerektirdiğinden bakteri hücrelerin yapışması genellikle epitel hücrelerin yüzey yapısı ile ilişkilidir (Collado ve ark., 2007). Bağırsak florasını probiyotikler olumlu yönde etkilemelidir. IgA salgılanmasını tetiklemektedir, böylece IFN- $\gamma$  salgılanması artmaktadır. LAB'lar bağırsak florasındaki hasarı yok etmekte, bununla birlikte bağırsak duvarının yapısını korumak için lokal ve sistemik bağışıklık tepkimelerini uyarmaktadır (Bhakdi ve Tranum-Jensen, 1991). Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda Laktobasiller gibi probiyotik suşlarının bazıları antijen spesifik IgA yanıtlarının mukozal yüzeylerinde ortaya çıktığı görülmüş, insanlarda ise probiyotik tedavilerinde hem serum hem de fekal IgA seviyesinin yükseldiği saptanmıştır (Chong, 2014). Probiyotikler yeterli miktarda tüketildiğinde mikrobiyal dengeyi iyileştirerek sağlık üzerinde olumlu etki gösteren canlı mikroorganizmalardır. Probiyotikler ağız yolu ile alınır (Taşdemir, 2017). Probiyotik suşlarının kullanılabilmesi önemli olmakla birlikte, sindirim sisteminde hayatta kalarak ulaşabilmesi için mide asidi, bağırsak pH'ı ve safra tuzlarından etkilenmemesi, sağlık için önemli etki göstermesi önemlidir (Butel, 2014). Bu mikroorganizmalar farklı maya ve suşlar içermektedir. Probiyotik olarak tüketilen gıdalar vücut direncini artırmak hastalıkların etkisini azaltmak amacıyla tüketilen gıdaların yanında yararlı mikroorganizmalar içeren besinler tercih edilmektedir. En fazla tercih edilenlerin başında LAB gurupları gelmektedir (Schaafsma, 1996). Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların başında *Enterococcuslar*, *Laktobasiller*, *Bifidobakteriler* gelmektedir (Fontana vd., 2013). İnsan ve hayvanların doğal florasına adapte olup kolonize olan, konakçı tarafından tüketildiği andan itibaren tüm sindirim sistemi ve üst solunum yollarında konakçı sağlığına olumlu etki yaparak zararlı mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyip, enfeksiyonların iyileşmesine katkı sağlayan mikroorganizma kültürleridir (Darılmaz ve Beyatlı, 2012). Probiyotik olarak kullanılan laktik asit türlerine ait mikroorganizmalar *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* 6 grup olarak bilinmektedir (Tannock, 1997). Bu türlerin dışında *Aspergillus* ve *Bacillus*

*saccharomyces* türlerinin de probiyotik mikroorganizmalardan olduğu bildirilmiştir. Oksijensiz ortamda yaşayabilen Laktobasiller ortam pH'ı 3 olduğu ortamlarda tolerans gösterirler, böylelikle düşük mide pH'ında canlılığını sürdürüp bağırsak kanalından bağırsağa geçerek etkinliğini gerçekleştirir, on iki parmak bağırsağında iken safra tuzlarına dayanıklı olurlar. *Lactobacilluslar* yüksek sıcaklığa (45-48 °C) ve de basınca dayanıklılığından dolayı yem yapım işlemleri esnasında canlılıklarını koruyabilirler (Gilliland ve ark., 1984). *Enterococlar*, safra tuz oranının %40, NaCl'nin %6,5, 10-45°C ortam sıcaklığında ve pH'ı 9.6 olduğu durumlarda gelişimini sürdürebilirler. Bağırsak hastalıklarında etkili olan *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* cinsleri de probiyotik olarak kullanılmaktadır. Probiyotik olarak kullanılan bakteriyosin üretimine dayanmakta, zararlı mikroorganizmalara direnç gen geçişi olasılığından dolayı kullanımları tartışılmaktadır (Mombelli ve Gismondo, 2000). Probiyotik içeren ek besinlerin amacı, hücrelerin endojen savunma mekanizmalarını artırmak, sindirim sisteminin dengesini sağlamak, zararlı mikroorganizmaların çoğalmasını engellemek ve antibiyotiklerin yan etkilerini kontrol altına almaya yardımcı olmaktır ( Fernández ve ark., 2003).

**Çizelge 1.** Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar (Kumar ve ark.,2017; Olveira ve Gonzalez-Molero.,2016; Yirgo 2015).

<i>Lactobacillus</i>	<i>L. bulgaricus, L. brevis L. delbrueckii, L. reuteri</i> <i>L. lactis L. casei L. curvatus, L. helveticus L. acidophilus,</i> <i>L. fermentum L. amylovorus, L. plantarum L. farmicinis,</i> <i>L. rhamnosus L. salivarius, L. gasseri L. johnsonii</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. adolescentis, B. bifidum B. breve B. infantis</i> <i>B. longum B. pseudolongum B. thermophilum, B. lactis</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. subtilis, B. pumilis B. lentus, B. licheniformis</i> <i>B. cereus, B. coagulans</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis, E. faecium</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. cerevisiae, P. acidilactici, P. pentosaceus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. cremoris, S. thermophilus, S. intermedius</i> <i>S. lactis, S. diacetylactis, S. infantarius</i> <i>S. salivarius</i>
<i>Bacteriodes</i>	<i>B. capillus, B. juis</i> <i>B. ruminicola, B. amylophilus</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>L. mesenteroides</i> <i>L. citreum</i> <i>L. lactis</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>A. niger</i> <i>A. oryzae</i>
Mayalar: <i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae, S. boulardii, S. poslarianus</i> <i>Candida torulopsis</i>

#### 1.4 Anne Sütündeki Probiyotik Mikroorganizmalar

Mikrobiyota insan vücudunda yaşamakta olan mikroorganizmalar, mikrobiyom ise vücudumuzda yaşayan iki taraf içinde çıkar ilişkisi olan mikroorganizmaların taşıdıkları genoma denir. Ortalama insan vücudunda %90'a kadar mikrobiyal hücreden oluşur, geriye kalan %10 ise insan hücresidir (Belkaid ve Hand, 2014). İnsanlarda sağlık ve hastalık durumunun en önemli rolü mikrobiyotadır. Zararlı mikroorganizmaların çoğalıp koloni oluşturmaları için en uygun ortam kolondur. Sindirim sisteminin geniş lümen alanına sahip olması ve çeşitli besin öğeleri içermesinden dolayı, kolon sistemi tek başına mikroorganizmaların %70'ten fazlasını barındırmaktadır (Whitman ve ark., 1998). İnsan bağırsak mikrobiyota'sı virüs, maya ve bakterilerin çeşitli türlerini içerir. Bağırsak mikrobiyotasının %90'ını *Bacteroidetes* ve *Firmicutes* oluşturur. Baskın mikrobiyal şubede *Fimicutes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicobia*, *Bacteroidetes* bakterileri vardır. *Firmicutes* şubesi *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Ruminococcus* gibi farklı cinslerden 200 çeşit bulunur. *Bakteroidetes* şubesindeki baskın cinsler *Bacterioides* ve *Prevotella*'dır. *Actinobakteria* şubesi az miktarda bulunur ve bu şubede en baskın cins *Bifidobakterium*'dur (Matsuki ve ark., 2016). Doğum sonrası bebek beslenmesinde anne sütü alan ve mama ile beslenen çocuklar arasındaki mikrobiyota açısından en büyük fark Bifidobakteriler türlerinin sayılarıdır. Anne sütü faydaları açısından bifidojenik faktörler, laktik asit ve Bifidobakterilerin varlığıdır (Jiménez ve ark., 2008). Anne sütü ile beslenen bebeklerin bağırsak mikrobiyota'sı ile, mama ile beslenen yeni doğanların bağırsak mikrobiyota'sı farklılık göstermektedir. Anne sütü alan bebeklerde Bifidobakterileri sayısı daha baskın iken anne sütü almayanlarda ise Bakteroidler, Bifidobakteriler, *Streptococlar*, ve *Klostrdia* daha karmaşık yapıya sahip mikro flora bulunmaktadır (Arici ve ark., 2004). Doğumu takip eden ikinci yıldan sonra bebeğin anne sütü ile beslenmesi kesilince mikro flora oluşumu erişkinlerinkine benzemeye başlar ve doğumdan sonra altı ay boyunca sadece anne sütü alan bebeklerde Bifidobakteri türleri baskın iken, anne sütü almayıp formül ile beslenen bebeklerde enterobakter türlerinin daha baskın oldukları tespit edilmiştir. Mama ile beslenen bebeklerde Bifidobakteriler altıncı ayda baskın duruma gelir, anne sütü ve mama ile beslenen çocuklarda ise bir yılın sonunda bağırsak mikro florası benzer hale gelir (Holscher, 2012). 2010 yılında yapılan bir çalışmada sadece anne sütü ile beslenen 20 bebek ve anneden birinci gün, yeni doğan bebeklerin dışkılarının izole edilmesi sonucu en çok tespit edilen türler *E. feacalis* ve *S. salivarius* olduğu tespit edilmiş, anne sütü

izolatların 'da *Lactobacillus* cinsi %5 olduğu görülmüştür. *Lactobacillus* cinsinde en çok rastlanan tür ise *L. gasseri*'dir. *Bifidobacterium* ve izole edilmeyen anaerobik mikroorganizmaların oranı %5 kadardır (Solís ve ark., 2010). Normal doğum yapan sağlıklı annelerde ve sadece anne sütü ile beslenen bebeklerde, anne ve bebek dışkılarında ve anne sütünde izole edilen bakterilerin *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *E. faecalis* ve *L. pentosaceus* türlerinin ortak olduğu tespit edilmiştir (Heikkilä ve Saris, 2003). Anne sütünde bulunan mikroorganizmalar çizelge 2'de gösterilmiştir.

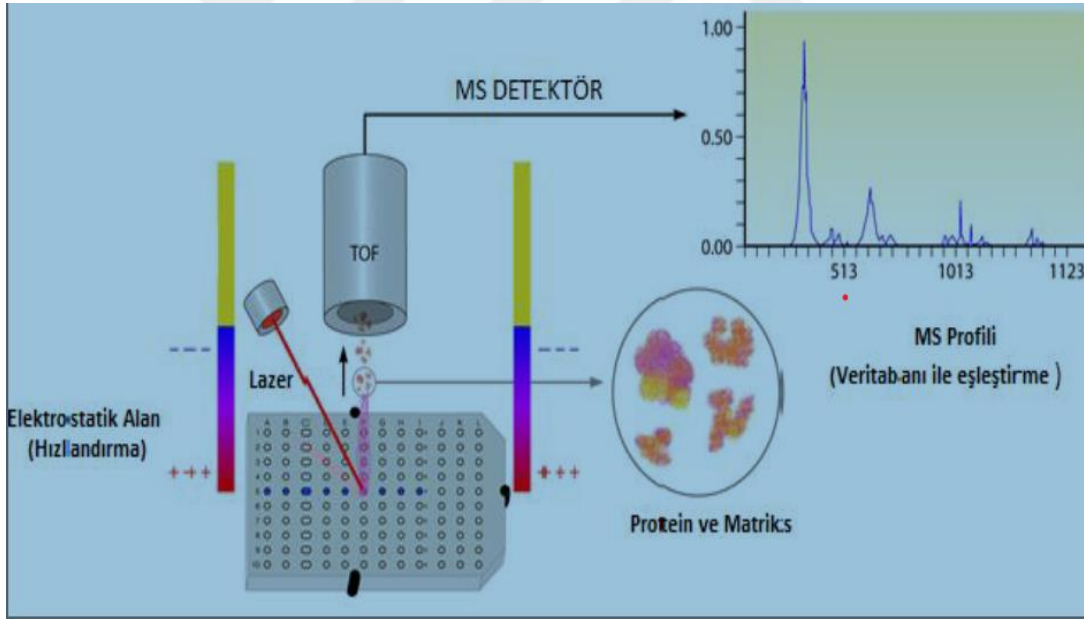
**Çizelge 2.** Anne sütündeki bakteri türleri (martin ve ark., 2003).

<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>L. gasseri</i> <i>L. salivarius</i> <i>L. rhamosus</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. reuteri</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>
<i>Staphylococcus</i>	<i>S. salivarius</i> <i>S. parasanguis</i> <i>S. peares</i> <i>S. mitis</i>

### 1.5. MALDI-TOF MS Tayini

MALDI-TOF MS (Matriks assisted lazer desorption ionization time of flight massspec trometry) yönteminde, veri tabanında bulunan protein sekansının kolonileri doğrudan alınıp sisteme yüklenmesi ile karşılaştırılarak tanı yapılır. Mikroorganizmaların tanımlamasının yapılabilmesi için mikroorganizmaların kendine özgü parmak izi oluşturmasıdır. Bu yöntemin birçok metoda göre avantajları vardır ve hızlı sonuç verme özelliği bulunmaktadır. Mikroorganizmaların tanımlanmasında geleneksel yöntemlere göre bir saat bazen daha da az bir sürede sonuç verebilmektedir. 16rRNA gen sekansı gibi ayrımı zor olan türlerin tespitinde yeni bir yöntem olmasına rağmen, kolaylıkla ayrımı yapılabilmektedir (Wieser ve ark., 2012). MALDI-TOF MS çalışmalarında alınan numuneler 48 saat içerisinde çalışmanın iyi bir analiz, sonucu vermesi açısından oldukça önemli bir durumdur. Çalışma tekniğinde besiyerlerin kültür

amacıyla kullanılması üreme şartlarından etkilenmemektedir. 48 saati geçen kültürlerin pik sayısı ve ayırt edici özellikleri maksimum sonuç almayı düşürmektedir. Bundan dolayı, süreyi aşan kültürlerde ribozomal proteinlerin parçalanmasına sebep olmaktadır (Wieser ve ark., 2012). Bu yöntem ile gram negatif bakteriler, *stafilococlar*, *Enterobacteriacealar* ve *streptococlar* kolay ve hızlı bir şekilde türleri yönünde güvenle tanımlanabilirler (Holler ve ark., 2011). Yapılan bazı çalışmalarda; geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında, MALDI-TOF MS yönteminin anaerop, bazı gram negatif bakteriler ve gram pozitif basillerin tanımlanmasında daha iyi olduğu görülmüştür (Barbuddhe ve ark., 2008). MALDI-TOF MS yöntemi maliyet açısından geleneksel yöntemlerden daha uygun olması ve mikroorganizma tanısında biyokimyasal testler ile kıyas yapıldığında, yöntemin %75 daha düşük maliyette olduğu tespit edilmiştir (Seng ve ark., 2009). Bu yöntem geleneksel yöntemlere kıyaslandığında, mikroorganizma tayininde biyobelirteç ile ayırma, parçalama yada temizlik işlemleri yapılmaksızın sonuç vermesi klinik mikrobiyolojisi ve gıda laboratuvarları için çok önemli potansiyele sahiptir (Pineda ve ark., 2003).

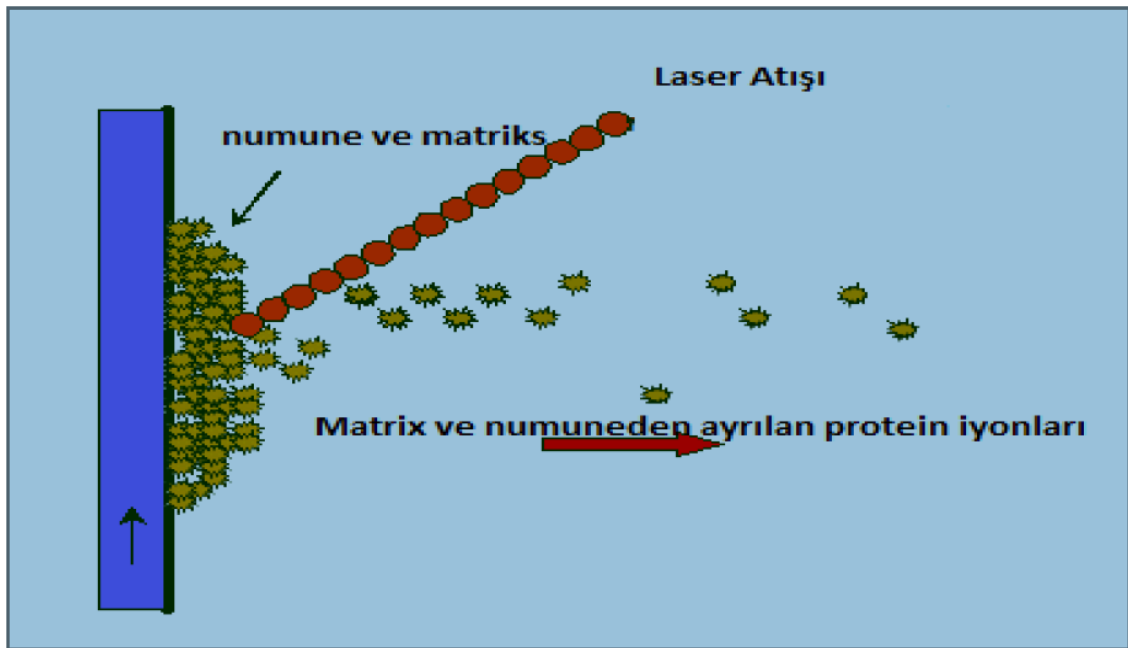


Şekil 2. İyonize edilmiş izolatların MS analizinin genel şeması (Ayanoglu, 2021).

### 1.5.1 MALDI-TOF MS çalışma prensibi

MALDI-TOF MS çalışma yönteminde mikroorganizmaya ait büyük organik moleküllerin (Protein, şeker, peptid gibi biyomoleküller ve polimer dendrimer, makromolekül) elektromanyetik uçuş tüpünden geçirilmesi lazer atışı yardımıyla olmaktadır. Lazer atışı yapılırken matris molekülleri arasında bulunan ışıktan gelen enerji ile olan etkileşimin sublimasyonu tetiklemesi matrisin gaz fazına geçmesi ile

olur. Yapılan yoğun ışın atışları ile birlikte matriks lazerden gelen ışığı absorbe eder (şekil 3), örnekte bulunan moleküller iyonize olur. Numune, matrikste sublimasyon ve iyonizasyon olur, moleküllerin iyonize hal alması ile cihazda bulunan moleküllerin ağırlıkları ile orantılı olarak uçmaya başlar, bu sayede iyonlar farklı sinyal ve hızda detektöre çarpar. Mikroorganizmaların cins ve tür bazında tanımlanması; detektörden gelen sinyaller ile proteinlerin kütle spektralarını oluşturur ve sistemin veri tabanında bulunan görüntüler ile spektrum görüntüleri eşleştirilerek tanımlama yapılır. Analiz için  $10^4$  - $10^6$  miktarında mikroorganizma sayısı bile yeterlidir (Guo ve ark., 2014; Kačániová ve ark., 2017; Kanak ve Yılmaz, 2018).



**Şekil 3.** MALDI-TOF MS'nin lazer atışı ile desorbisyonu ve iyozisasyonu

Mikroorganizmanın tanımlanabilmesi için mikroorganizmaya ait orta hidrofobik özellikteki ribozomal proteinlerin hücre içerisinde çok sayıda bulunması gerekmektedir. Ribozomal proteinler genel olarak 4-15 kDa aralığında bulunurlar ve mikrobiyolojik üreme ve çevresel koşullardan çok az miktarda etkilenirler. Seçilecek olan Matriks solüsyonu da özellikle bu proteinleri iyonize edecek şekilde tercih edilmelidir (Suh ve Limbach, 2004).

## 1.6. Probiyotiklerde Aranılan Önemli Özellikler

Probiyotik mikroorganizmalar konakçıya verildikten sonra zararlı mikroorganizmalara karşı etkili olmalıdır. Konakçının sağlığına olumlu etki yapması en önemli özelliklerindedir. Probiyotik mikroorganizmalar insanlarda ve hayvanlarda yan etki oluşturmamalı ve güvenilir olması gerekmektedir. Toksik madde üretmeyip patojenik olmamalıdır. Bu mikroorganizmalar konakçıya verildikten sonra stabilitesi yüksek- düşük pH ve safra tuzları gibi ortamlardan etkilenmemelidir. Bağırsak florasına tutunup kolonize olmalı ve antibiyotiklere karşı dirençli olmalıdır. İlaçlara dirençli olması bağırsak hastalıklarında özellikle diyare durumlarında bağırsak florasını düzenlemek için kullanılmalıdır (Ezema, 2013; Yılsay ve Kurdal, 2000). Probiyotik mikroorganizmalar alındıktan sonra sindirim sisteminde birçok engel ile karşılaşmaktadır, en önemli engeller midenin asidik ortamı ve ince bağırsakta bulunan safra suyudur (Gueimonde ve Salminen, 2006). Probiyotik mikroorganizmalar mide ve bağırsak ortamına adapte olamıyorsa, sağlık açısından etkisi ya çok azdır ya da hiç yoktur (Goktepe ve ark., 2005). Mide ve bağırsak ortamına adapte olup canlılığını koruyabilen probiyotik mikroorganizmaların kalın bağırsağa geçerek tutunabilmesi ve etki göstermesi gerekmektedir (Morelli, 2007). LAB'ların pankreatin, pepsin, asitlik derecesi ve safra tuzlarına direnç özellikleri probiyotik tercihinde en önemli kriterlerdendir. Probiyotikler midenin asitlik ortamından bağırsaklara ulaştıktan sonra %0.3'lük derişime sahip safraya karşı dirençli olması gereklidir (Mainville ve ark., 2005).

### 1.6.1. pH

pH biyolojik sistemlerde kimyasal tepkime veya tepkime hızını artıran enzim aktiviteleri için önemli bir faktördür. Bundan dolayı, mikroorganizmaların gelişebilmesi türüne, iç ve dış faktörlere bağlı olduğu gibi, minimum ve maksimum pH değerlerine de bağlıdır. LAB türleri gelişip çoğaldıkları ortamlarda Hidroklorik asit (HCl), Sitrik asit (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>), Fosforik asit (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) ve tartarik asit (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>) bulunan ortamlarda, asetik asit ve laktik asidin bulunduğu ortama oranla pH'ı daha düşük olduğu değerlerde gelişmektedir. Bazı mikroorganizmalar ortam pH'ının uygun olmadığı durumlarda kötü yönde etkilenmektedir. Önemli enzimlerin görevini yapamaması, DNA ve RNA baz diziliminde mutasyon geçirmesi veya hasar alması, zar sisteminde geçirgenliğin olmaması gibi etkiler sıralanabilir (Lu ve ark., 2003). Probiyotik mikroorganizmalardan en faydalı şekilde yararlanabilmek için bağırsak florasını geçtikten sonra asit ve safraya

karşı canlılığını sürdürebilmesidir. Bütün mikroorganizmaların mide pH'ı dayanıklılıkları farklılık gösterir ve mide ortamı yüksek asit ve düşük pH (2.0) değerlere sahiptir. Ortalama sağlıklı bir insanda bu oran 3,5 ile 5,5 arasındadır (Saarela ve ark., 2000). Probiyotik mikroorganizmaların mide asidine dayanıklılıkları diğer mikroorganizmalara nazaran daha iyidir, alınan probiyotikler bağırsak florasına ulaşmadan önce pH'ı 2,5 ile 3,5 arasında olan mide asidine maruz kalmaktadır (Ramirez-Chavarin ve ark., 2013; Vasiljevic ve Shah, 2008). Beslenme ile birlikte mideye ulaşan besinler düşük mide pH ortamına maruz kalmaktadır. 20 dk. sonra mide pH'ı yükselmeye başlar ve ortalama 120 dk'nın sonunda mide pH seviyesi normal değerine geri döner (Chen ve ark., 2011). Laktik asit bakterilerinin asit toleransları yüksek olmasına rağmen, *lactobacillusların* genel özelliklerinden dolayı bazı türlerin ve suşların pH 3.0 altındaki değerlerde asit dirençliliğinin azaldığı tespit edilmiştir (Corcoran ve ark., 2005).

### 1.6.2. Pepsin

Pepsin, sindirim sisteminde proteazlardan olup genelde aromatik ve hidrofobik arasında bulunan peptit bağların parçalanmasını sağlayan, midedeki ana hücreler tarafından salınarak yiyeceklerde bulunan proteinleri peptitlere indirgeyen enzimdir (Spelzini ve ark., 2008). Beşinci domain ve iki aspartat aminoasit uçları arasındaki yer pepsinin aktif olarak bağlanma bölgesidir (Fang ve ark., 2015). Midede bulunan parietal hücreler diyet ile alınan proteinlerin bozulmasına sebep olmaktadır. Gelişen bu olay pepsinojenin aktive olması ile pepsinin aktif hale gelmesini sağlamakta, aktifleşen pepsin proteinlere etki ederek aminoasitleri metabolize etmektedir. Pepsin, tripsin ve kimatripsin ince bağırsak enzimleri sindirim sistemindeki protein hidrolizinden sorumludur (Korhonen ve Pihlanto, 2003). Sağlıklı bir insanda mide sıvısının içerisinde 0,8 -1,0 mg/mL değerinde pepsin bulunur ve yiyecekler ile alınan proteinleri indirger (Chen ve ark., 2011).

### 1.6.3. Pankreatin

Pankreatin, pankreasın salgıladığı sıvıyı virsung kanalı aracılığı ile on iki parmak bağırsağına aktarır. Salgıladığı sıvıdan iç salgısını direk kanala aktarırken, pankreas öz suyunu duodenuma (ince bağırsağın ilk kısmı) aktarır. Yetişkin ve sağlıklı bir insanda gün içerisinde 1-1,5 lt pankreas öz suyu salgılanır (Nagai, 2003). Mideden ince bağırsağına gelen kimusun nötrleşmesini sağlayan pankreas sıvısıdır. Salgılanan

pankreas sıvısının pH değeri 8.5'dir. Salgının aktifleşmesi ince bağırsağa ulaşınca gerçekleşir. Pankreas sıvısında amilaz, lipaz, ribonükleaz, tripsinojen, kimotripsinojen ve deoksiribonükleaz bulunur. Bulunan bu enzimler protein sindiriminde, tripsinojen-kimotripsinojen karbonhidratlar etkiliyken, amilaz ve çekirdek asitlerin sindirilmesinde ise deoksiribonükleaz- ribonükleaz etkilidir. Ayrıca glukagan hormonu ve insülin üretimi pankreas tarafından yapılmaktadır (Kimura, 2000). Pankreas tarafından üretilen kompleks bir enzim olan pankreatin, pankreas tarafından ekzokrin hücrelerin sentezlendiği amilaz, lipaz ve proteaz enzimlerinin karışımıdır. Mikroorganizmalar midenin asidik ortamını aştıktan sonra ince bağırsağa ulaştığında canlı kalabilmesi ve aktif davranabilmesi için aşması gereken engellerden biridir. İnce bağırsakta pankreatin ile birlikte safra tuzları kolonileşmeyi olumsuz yönde etkiler (Merritt ve Donaldson, 2009).

#### **1.6.4. Safra**

Safra, karaciğer tarafından üretilen plazmayla izo-ozmotik ve sarı-yeşil renk karışımı bir sıvıdır. Yağların sindirimi için gerekli olan safra A-E-K-D vitaminlerinin yağda erimesi sonucu vücuda emilimini artırmaktadır. Mide ortamında gelen yüksek asidik besinlerin bazik hale gelmesini de sağlar (Mann ve ark., 2009). Bir insanda 24 saatte 600-1200 ml salgılanır ve 7.8 pH değerine sahiptir. Önemli organik birleşği safra tuzlarıdır (Ceydilek ve Beyler, 2005). Safra asitleri safra kesesinde depolanan, karaciğerde kolesterolden sentezlenen steroid türevidir. Lipitlerin emilimini artırmakta, gıda sindirimine yardımcı olmaktadır. Glikoz ve tirigiliserid gibi moleküllerin parçalanmasını kontrol eder ve kandaki kolesterolün dengede kalmasını sağlar, ayrıca sinyal molekülleri ve metabolik düzenleyici rolünde görev yaparlar (Matos, 2016; Wu ve ark., 2008). Kolesterolden sentezlenen safra asitleri 24 karbon atomu içerir ve yapı itibari ile 2 veya 3 hidroksil ve 1 karboksil grubu bulundurur (Ceydilek ve Beyler, 2005). Mikroorganizmalar midenin asidik ortamını geçtikten sonra ince bağırsakta ilerleme esnasında safra tuzları ile karşılaşılır, safra toleransı probiyotik seçiminde önemli kriterlere sahiptir (Dunne ve ark., 1999). Mikroorganizmaların probiyotik olarak tanımlanabilmesi için sindirim sisteminde gastrik asit ve safra tuzu konsantrasyonlarının bulunduğu ortamlarda canlılığını sürdürebilir olması gerekmektedir (Soliman ve ark., 2015).

## 1.7. Probiyotiklerin Antioksidan Özellikleri

### 1.7.1. Serbest radikaller ve oksidatif stres

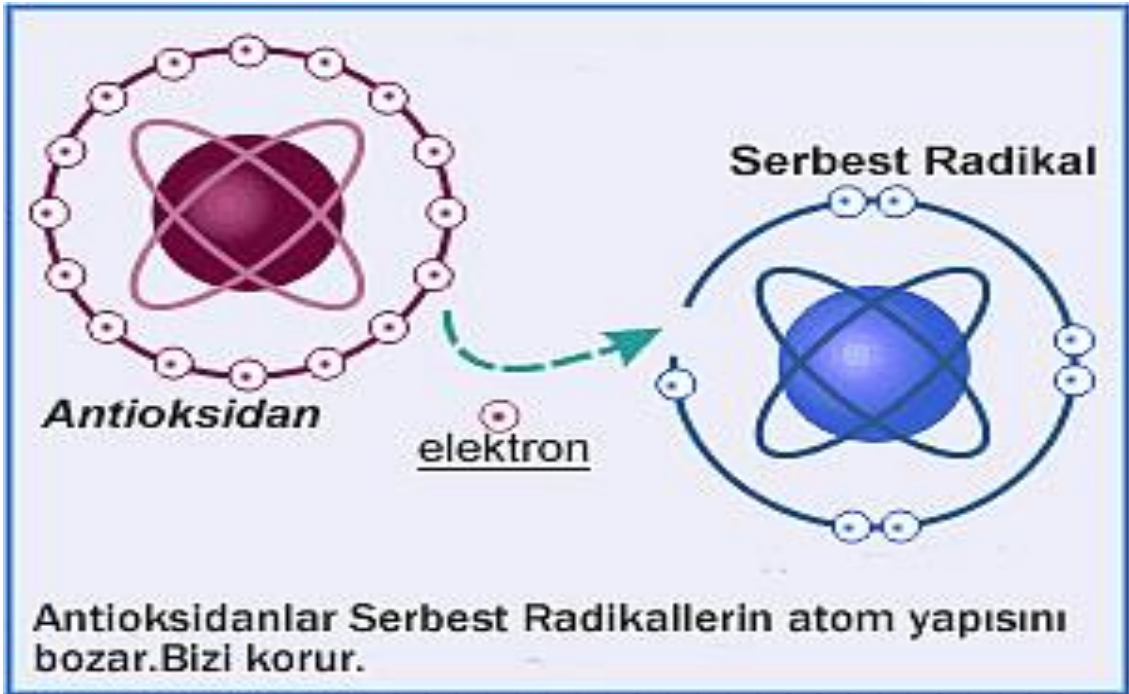
Atom temel olarak bir çekirdek ve etrafında bulunan elektron bulutundan oluşur. Yapısal olarak moleküllerin büyük bir kısmı çift elektronlu, az sayıda molekül ise tek elektronlu yapıya sahiptir. Eksik elektronlu moleküller bulabildikleri moleküller ile etkileşim haline girerek ya bir elektron alır ya da verir. Yapılan bu alışveriş esnasında moleküllerin yapısında bozulma olur, bozulan bu moleküllere “serbest radikaller”, “oksidant moleküller” veya “reaktif oksijen partikülleri” olarak adlandırılmaktadır. En önemli olanları hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri ve süper oksittir (Akkuş, 1995; Bulkley, 1983; Defraigne ve ark., 1993; Delibaş ve Özçankaya, 1995; Kehrer, 1993; Padberg Jr ve ark., 1989). İnsan vücudunda bağışıklık sisteminin zayıflaması ile enfeksiyonlara maruz kalması sonucu vücudun savunma sistemi tarafından serbest radikaller üretilmektedir. Enfeksiyon gelişiminde en önemli savunma mekanizması olan serbest radikaller; stotoksisitede, zararlı mikroorganizmalara karşı savunmada doğal bir işleve sahip olan nörotransmisyonunda önemli bir rol oynar (Özkan, 2015). Vücudumuzda serbest radikallerin oluşma hızı ile radikallerin ortadan kaldırılma hızının bir dengesi bulunmaktadır. Bu dengenin oluşması oksidatif denge olarak tanımlanabilir, oluşan bu dengenin korunması ise hücrelerin ve dokuların serbest radikallerden zarar görmesini engellemektedir. Serbest radikallerin oluşma hızında ani artış olması veya aniden ortadan kaldırılması durumunda denge bozulur, bozulan bu dengeye oksidatif stres denir. Kısacası vücutta serbest radikal oluşması ve antioksidan savunma mekanizmalarının oluşturduğu değişimin bozulması ile hücre ölümleri yani doku hasarı oluşur (Savcı, 2012).



Şekil 4. Oksidatif stres (Anonim 2022).

### 1.7.2. Antioksidanlar

İnsan vücudunda savunma sisteminde görev yapan reaktif oksijen türlerini engellemek amacıyla bu maddelerin sebep olduğu hasarı ve toksinleri temizleyen savunma sistemlerine antioksidanlar veya antioksidan savunma sistemleri denir (Şener ve Berrak Ç, 2009). Vücudumuzda serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresin etkisini yok etmeye yarayan en önemli silah antioksidanlardır. Hücre hasarını engelleyen ve buna sebep olan serbest radikalleri yok eden maddelerdir. Antioksidanlar vücutta süpürücü görevi görür, vücut kendisi üretir ya da dışardan besinler ile alınır ve immün sisteminin etkisini artırarak hastalığa yakalanma riskini en az seviyeye düşürürler (Shinde ve ark., 2012).



Şekil 5. Antioksidan sistem (Anonim 2022).

Serbest radikaller, membran lipitlerinin hidrojen peroksiti ve diğer organik peroksitleri parçalayan enzimlerden dolayı membramlarda geçirgenliğin artmasına bağlı olarak hücrenin iyon dengesi bozulur. Dokularda meydana gelen oksidatif stresin en önemli belirtileri lipit peroksit belirleyicileridir (malondialdehit benzeri tiyobarbitürik asit reaktifleri, konjuge dienler, lipit hidroperoksitlerin belirlenmesi). Serbest radikallerin doku hasarına sebep olmasını engellemek amacıyla insan vücudunda enzimatik süper oksit dismutaz(SOD), glutatyon peroksidaz(GSH-Px) ve katalaz(CAT), enzim olmayıp indirgenmiş glutatyon(GSH), (A,E,C) vitaminleri vücudumuzda

antioksidanların savunma mekanizmalarını oluşturur ve vücut savunmasında bunlar yeterli olmadığından dolayı hasarı önlemek ya da en aza indirmek için antioksidan yönünden zengin maddelerin tüketilmesi gerekmektedir (M.-Y. Lin ve Yen, 1999; Mercan, 2004; Virtanen ve ark., 2007). Süt, yeni doğan canlıların tüm besin öğelerini içermesinin yanında çok iyi bir antioksidan etkiye sahip besin öğesidir. Yapısında bulunan E, A, C vitaminleri, kazein, proteinler, peptitler, aminoasitler, karotenoidler, enzimler ve laktik asit bakterileri sağlığa faydalı antioksidan özelliklere sahiptirler. Süper oksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) sütte bulunan enzimler antioksidan etkiye sahiptir (Usta ve Yılmaz-Ersan, 2013).

### 1.8. Ekzopolisakkaritler (EPS)

LAB'lar genel itibariyle güvenilir olarak kabul gören, sağlık açısından risk teşkil etmeyen, çeşitliliği çok fazla olan ve ekzopolisakkarit üretim yeteneğine sahiptir (Surayot ve ark., 2014). LAB tarafından üretilen EPS'ler içerdikleri şeker ve şeker bağları, kimyasal ve fiziksel özellikleri, polimer dallanma ve uzunlukları, sertlik, üç boyutlu yapıları, proteinler ile ilişkileri farklılık gösterir (Welman ve Maddox, 2003). EPS'nin farklı bileşenleri bulunmaktadır. Yağlar, nükleik asitler, humik asit ve üronik asit EPS içeriğinde bulunmasına rağmen ana bileşeni polisakkaritlerdir (Lin ve ark., 2014). EPS'nin meydana gelmesinde glukozil-transferaz, UDP glukoz-dehidrogenaz, galaktozil-transferaz 1 ve 2, polimerazlar polisakkaritlerin birleşmesine özgün olmayan birden fazla enzim rol almaktadır. Sentez iki farklı yolla gerçekleşebilir: hücre dışında ve membranda (Yılmaz ve Çelik, 2007). EPS'nin tekrarlanan dizinleri içerisinde değişiklik görülme sebebi kimyasal yapısı ile alakalı olarak farklılığın çok fazla olmasıdır. Doğrusal bir polimer yapıya sahip olan EPS'ler molekül ağırlıkları  $1 \times 10^5$  -  $3 \times 10^5$  aralığındadır. Monosakkarit yapıda olmasına karşın sülfat, asetat, fosfat, pirüvat ve süksinat yapılarına da sahip olmaktadır. Genel olarak üronik asitler, hekzozlar, amino şekerler ve pentozlar EPS yapısında bulunmaktadır (Kambourova ve ark., 2015). LAB'lardan elde edilen EPS'ler ağız içinde tat ve his oluşturmanın yanı sıra kanser, ülser, yüksek kolesterolü önleme, bağışıklık sistemini uyarma ve güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir (Doleyres ve ark., 2005; Kim ve ark., 2010; Van Calsteren ve ark., 2002). EPS'ler insan sindirim sisteminde ve probiyotik mikroorganizmaların gelişip çoğalmasında yüksek direnç göstermektedir. Fruktooligosakkarit, galaktooligosakkarit, insülin gibi karbon kaynağı olarak kullanılır. Endüstriyel piyasada ticari prebiyotikler şeklinde faydalı bakterilerin kolonda çoğalması

ve seçici olarak yüksek kalitede olması sağlanmaktadır (Hongpattarakere ve ark., 2012). EPS'lerin faydalı olmaları ve monosakkaritlerin çok iyi bir şekilde bir araya gelmesi; dallanma şekillerine, bağların oluşum türüne ve molekül ağırlığına bağlıdır (Ivanova ve ark., 2006). LAB'lar farklı fonksiyonda oligosakkaritler üretirler, üretilen oligosakkaritlerin endüstriyel olanları ilaç (özellikle kolon kanserine karşı), tatlandırıcı, nemlendirici, prebiyotik ve bağışıklık sistemini uyaran geniş bir yelpazeye sahiptir (Remaud-Simeon ve ark., 2000). EPS'ler çok fazla çeşitliliğe sahip polimerlerdir, sınıflandırılmaları bundan dolayı farklılık göstermektedir. Tercih edilen sınıflandırma çeşidi monomer birleşimidir. İki kısımda incelenmektedirler; biyosentez ve birbirini tekrarlayan birimlerin birleşimine göre homo ve hetero polisakkaritlerdir (Mende ve ark., 2016).



## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Anne sütü yapısı itibari ile glikonlar, antikorlar, bakteriler ve immünomodülatör proteinler gibi çok çeşitliliğe sahip besleyiciliği olmayan biyoaktif birleşenler ile birlikte besinler sağlayan biyolojik sıvıdır (Goldsmith ve ark., 2015).

2011 yılında yapılan bir çalışmada anne sütünden izole ettikleri bakteriler *L. brevis*, *L. oris*, *L. animalis*, *E. durans*, *E. hirae*, *Pediococcus* spp., *S. gallolyticus*, *S. vestibularis*, *S. australis* ve *S. haemolyticus* (Albesharat ve ark., 2011).

Ozgun ve ark. 2011 yılında yaptıkları çalışmada 800 ml anne sütü alan bebeklerde  $1 \times 10^5$  -  $1 \times 10^7$  mikroorganizmanın bebeğin sindirim sistemine ulaştığında bağırsak mikro florasının ana kaynağının *Bifidobacterium* olduğunu tespit etmişlerdir.

Solis ve ark.2010 yılında 20 anne ve bebek çiftleri üzerinde yaptıkları çalışmada anne sütünde bulunan izolatların %5'i *Lactobacillus* cinsine ait, %5'i *Bifidobacterium*, anne sütünden izole edilmeyen anaerobik mikroorganizmalar olduğunu, türler içerisinde en fazla *Lactobacillus* olduğunu, *L. gasseri* cinsinin de çok sayıda olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada 3-30 günlük anne sütü alan 50 bebekten fekal örneği analiz edilmiş kolostrumdan(ilk süt) izole edilen LAB'ların *L.acidophilus*, *L.brevis*, *L.casei*, bebek dışkılarından ise *L.brevis*, *L.fermentum*, *L.reuteri*, *Lrhamnosus* ve *L.plantarum* olduğu tespit edilmiş (L. Fernández ve ark., 2013).

Yapılan bir araştırmada ilk 3 ay ve 10'cu ayda anne sütü ve bebek dışkıları karşılaştırılmış, yapılan çalışmada hem anne sütünde hem de bebek dışkılarında bulunan ortak bakteri türlerinin olduğu tespit edilmiş (Murphy ve ark., 2017). 2020 yılında yapılan çalışmada yeni doğmuş bebek dışkısı ve ekşi hamurdan izole edilen LAB'ların Probiyotik özelliklerinin tespiti yapılmıştır (Kaya, 2020).

2007 yılında yapılan bir çalışmada normal doğum yapan, sezer yan ile doğum yapan beş anne ve bebekten, anne sütü, vajinal sürüntü ve bebek dışkısı alınmıştır. *Lactobacillus* çeşitliliğini tanımlamak için kolon kütüphaneleri oluşturulmuş, vajinal sürüntülerden tespit edilen türlerden hiçbiri anne sütünden izole edilen türler ile uyuşmadığı, bebek dışkisından izole edilen sadece birkaç türün tespit edildiği görülmüş (Martín ve ark., 2007).

2015 yılında yapılan çalışmada anne sütü oligosakkaritler sağlıklı bir bebeğin bağırsak florasının şekillenip korunmasında önemli bir rol oynadığını tespit etmişlerdir (De Leoz ve ark., 2015).

2003 yılında martin ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada anne sütünde bulunan bakterilerin, meme cildindeki bulunan bakterilerin olmadığı anne ve bebeğin fekal mikrobiyota'sı ile aynı olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan araştırmada anne sütü ile beslenen sekiz bebeğin ağız sürüntüleri, meme başından aldıkları sürüntüleri, bebek dışkısı ve anne sütünden izole ettikleri izolatları incelediklerinde tüm örneklerde LAB'a rastlamışlar, meme başından izole edilen LAB'ın RAPD (Rastgele Arttırılmış polimorfik DNA) profilin diğer örneklerle aynı olmadığı tespit edilmiştir.

2013 yılında yapılan bir çalışmada hastaneye başvuruda bulunan 25-50 yaş arası sindirim sistemi rahatsızlıkları olmayan 48 hastanın gaita örneklerinden izole edilen *Lactobacillus* spp. suşları kullanılmıştır. Elde edilen bu 25 adet suşun yüksek safra tuzu konsantrasyonlarına karşı toleransı ve safra tuzu (kolik asit) hidrolizi, düşük mide pH dirençlerinin belirlenmesi, antimikrobiyal aktiviteleri ve kolesterol asimilasyonu, bazı patojen mikroorganizmalara karşı inhibitör etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda, 5 suştan iyi sonuçlar elde edilmiştir. Bu suşların probiyotik olabileceği düşünülmektedir (Zoral, 2013).

2015 yılında yapılan çalışmada farklı insan ve fermente gıdalardan 40 adet izolat elde edilmiş ve bu izolatlarda probiyotik özellikleri araştırılmıştır. *Laktobasil*, *pediokok*, *laktokok*, ve *enterokok* cinslerine ait 13 suş tanımlanmış. Daha sonra yapılan işlemlerde tanımlanan izolatların düşük pH, safra tuzlarına karşı direnç, pankreatin, pepsin ve bazı probiyotik özellikleri, hemolitik aktivitesi ve antibiyotik dirençliliği tespit edilmiştir (Oral, 2015).

2019 yılındaki bir çalışmada çeşitli fermente gıda ve bitkilerden izole edilen LAB suşları ve tüm suşların safra tuzu ve düşük ph dirençleri belirlenmiştir. Suşların EPS üretimi ve toplam kolesterol asimilasyon özellikleri test yapılmış 1,1 ile 11,9 mg/L arasındaki rasyonlarda EPS üretimi gözlenmiş ve toplam kolesterol asimilasyon yüzdeleri 16,71 ile 60,71 arasında değişmiş, kolesterol asimilasyon yeteneği ve EPS üretimi arasında bir ilişki saptanamamıştır (Duygu ve Kuleaşan, 2019)

1993 yılında yapılan çalışmada ticari probiyotiklerden preparatlardan izole edilen *Lactobacillus spp*'lerin *L.monocytogenes*, *E.coli* ve *salmonella ssp*. Suşlarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (Chateau ve ark., 1993). 1999 yılında yapılan bir çalışmada *L.Plantarium*'un dekarboksilaz aktivitesine sahip 16 suştan yalnızca bir tanesinde olduğu tespit edilmiştir (Bover-Cid ve Holzapfel, 1999).

2017 yılında yapılan bir araştırmada konstipasyon gelişimi tespit edilen ratlarda üç oligosakkarit türünde uygulanan farklı dozlarda kısa incirli yağ asidi ve bağırsak

mikrobiyota'sı üzerinde yapmış olduğu etkiler incelenmiştir. Oligosakkaritlerin beslenmeye ek olarak uygulanması sonucu konstipasyona iyi geldiği, kısa zincirli yağ asitlerinin yoğunluğunu artırdığı gösterilmiştir (L. Wang ve ark., 2017).

Yapılan çalışmada emzirilen bebeklerde beyindeki sialik asit yoğunluğunun mama tüketen bebeklere oranla anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca anne sütü ile beslenen bebeklerde siroptogenez ve beyinsel ve sinirsel gelişiminde farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2003).

Wanhlem ve ark. 'nın (2010) yaptıkları araştırmada, 274 adet LAB'ın mide ve bağırsak ortamlarında canlı kalabilmeleri, pH 3.0 de 37°C'de dört saatlik inkübasyon süresinin sonunda gözlemler sonucu canlı kalabilme oranının %50'nin üzerinde olduğu, pH 2,5 ortamında aynı izolatların canlı kalabilme oranı daha düşük olduğu tespit edilmiş.

2005 yılında yapılan çalışmada yedi laktobasil'den pH 2,0 ve 3,0 direnç gösteren yalnız üç suşun olduğunu tespit etmişlerdir (Mishra ve Prasad, 2005). 2017 yılında yapılan çalışmada 16 adet *lactobacillus* suşları üzerinde yapılan araştırmada pH2,5 değerine karşı direnç özelliğinin belirlenmesinde 13 suşun direnç gösterdiği tespit edilmiştir (Doğan, 2017).

2019 yılında Çinde yapılan bir çalışmada turşuda izole edilen iki farklı LAB'dan %1,%3 ve %5 safra tuzlarına karşı direnç özelliklerinin belirlenmesinde %5 *L. plantarum* AT4'ün direnç gösterirken *L. plantarum* AT282'nin koloni oluşturması düşük olduğu,%1 ve %3'te izolatların direnç gösterme oranlarının daha fazla olduğu görülmüştür (Rao ve ark., 2019).

2020 yılında 22 adet izolat ile yapılan çalışmada Y5 nolu suşun DPPH radikali süpürme aktivitesinin BHA standardına yakın olduğu ortamda iyi aktivite gösterdiği görülmüş, çalışmada kullanılan bütün izolatların radikal giderme aktiviteleri %50 civarında olduğu tespit edilmiştir (Özkan, 2020).

2016 yılında yapılan çalışmada *Lactobacillus* cinsine ait 20 izolatın DPPH serbest radikal giderme aktivitesine bakılmış. Çalışma kapsamında *L. brevis* KIR12 suşunda %81,9 oranında en yüksek aktiviteye sahip olduğu belirtilmiş (Selin ve Yüksekdağ, 2016).

2019 yılında meyveli kefir ve kontrol kefir gurubu üzerine yapılan çalışmada DPPH serbest radikal giderme aktivitelerine bakılmış. Meyveli kefirin antioksidan kapasitelerinin kontrol gurubunda bulunan kefirde daha yüksek aktivite sergilediği,

meyve oranının artması ile antioksidan kapasitenin aynı oranda artığı gözlemlenmiş (Çınar ve Yıldız, 2019).

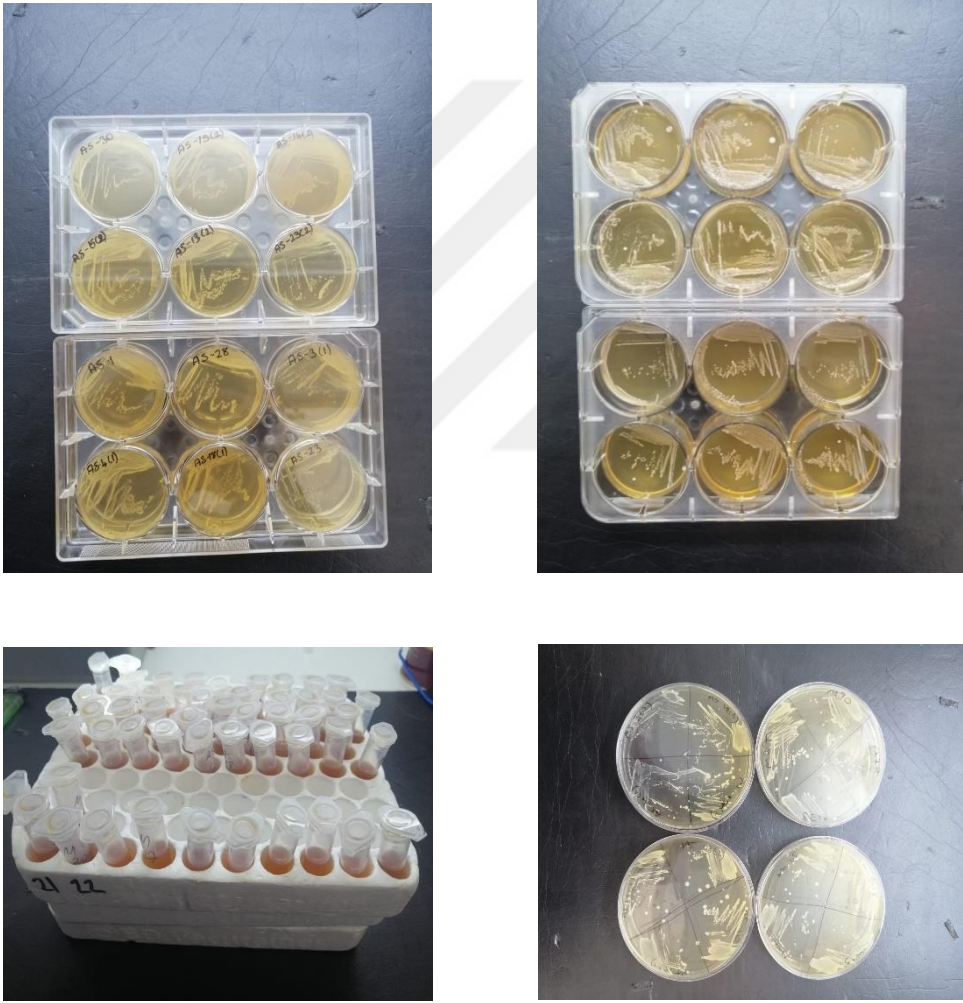


### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Laktik asit bakteri suşlarının temini

Çalışmamızda anne sütünden daha önce izole edilmiş (Çizelge 5) 50 adet laktik asit bakteri suşu (Sönmez, 2018) kullanıldı. MALDI-TOF MS verilerine göre 50 adet LAB suşundan çalışmamıza (çizelge 6) belirlenen 27 adet iyi sonuç veren izolatlar ile devam edildi.



Şekil 6. MALDI-TOF MS Analizi

### 3.1.2. Kullanılan Aletler

Cihazlar	Marka/Özellik
Saf su cihazı	Liston A 1210, Rusya
Derin dondurucu	Arçelik, Türkiye
Ph-metre	Hanna Instrument
Manyetik karıştırıcı	Stuart Scientific
Vorteks	Four E'S Scientific Led Digital, Vortex Mixer
İnkübatör	Elektro- Mag (0-300°C)
Otomatik pipetler	Biohit, Socorex ve Oxford Pipettors
Santrifüj	Medline scientific limited
Hassas terazi	Scaltec SBA 41
Çalkalayıcı	Nüve SL 350
UV-Spektrofotometre küveti	3 cm <sup>3</sup> 'lük quartz küvet
Otoklav	Nüve SteamArt OT400L
UV-VIS Spektrofotometre	Shimadzu, UV-1208

### 3.1.3. Çalışmada kullanılan besiyerleri

Çalışmamızda, çizelge 3' de içerik olarak verilen MRS Broth (Man Rogosa nad Sharpe) (Sigma) sıvı besi ortamı ve MRS Agar (Man Rogosa and Sharpe) (Sigma) katı besi ortamı kullanıldı.

**Çizelge 3.** MRS besi ortamlarının kompozisyon içeriği

MRS Broth (Merck)	Kimyasallar Miktar (g/1)
Pepton	10
Et özütü	8
Maya özütü	4
Glikoz	20
Potasyum hidrojen fosfat	2
Diamonyum hidrojen fosfat	2
Sodyum asetat	5
Magnezyum sülfat	0.2
Mangan sülfat	0.04

LAB kültürleri için kullanılan MRS Broth besiyerlerinin kompozisyonu Çizelge 3'deki gibi 15 dakika süre ile 121°C'de otoklavda steril edilir. İçerik olarak 52 g dehidre besiyeri 1 litre su ile çözülür. Agarlı besiyeri için 1 litreye 15 gr agar eklendi.

### 3.1.4. Kullanılan çözeltiler ve tamponlar

Çalışmamızda, suşlarının probiyotik özelliklerini belirlenmesi için 5M'lık HCl asit ile pH'ı 2.0- 3.0'e ayarlandı ve PBS tamponu ile çalışıldı. İzotonik ortam ve kontrol gurubu olarak pH 7.4 olan PBS tamponu kullanıldı. İn vitro şartlarda sindirim sistemi ortamını hazırlamak için ticari amaçlı üretilen Sigma marka, pepsin, pankreatin ve safra tuzları kullanıldı. Suşlarının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi için; antioksidan aktivite kapasitesi ölçüm testlerinde kullanılan kimyasal maddelerden 1,1- difenil-2-pikril-hidrazil radikali (DPPH), Butillenmiş Hidroksi Anisol (BHA) 2,2-Azino-bis-3-etilbenzo-tiyazolin-6-sülfonik asit radikali (ABTS), Butillenmiş Hidroksi Toluen (BHT), neokuprin, FeCl<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>SCN, Trikolar asetik asit (TCA), etil alkol, FeCl<sub>3</sub>, Fosfat tamponu (50 mM), EDTA'lı Fosfat Tamponu (pH=7), 3,2M Amonyum Sülfat (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, %10'luk Triklorasetik Asit (TCA) ve %0.675'lik Tribarbütirik Asit (TBA) kullanıldı.

Fosfat tamponu (PBS) için 1000 ml saf suda; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,24 g, KCl 0,2 g, NaCl 8 g ve Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,44 g birlikte tartılarak çözüldü. Steril etmek için, hazırlanan PBS çözeltisi 15 dakika boyunca 121 °C'de otoklavda steril edildi.

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1. Laktik asit bakterilerinin tanımlanması

Anne sütü örneklerinden izole edilmiş LAB'lar kullanıldı (Sönmez, 2018). Bu çalışmada anne sütünden daha önce izole edilmiş 50 adet LAB suşu MALDI-TOF MS analizi ile tür tayini, hizmet alımı şeklinde Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapıldı.

### 3.2.2. Probiyotik özelliklerin belirlenmesi

#### 3.2.2.1. LAB'ın kültür süspansiyonunun hazırlanması

LAB kültürlerini simüle mide suyu, pankreatin ve safra tuzuna karşı dirençliliklerini tespit etmek amacıyla bakteri süspansiyonu hazırlandı. Bu amaçla, daha önceden aktifleştirilmiş bakteri kültürlerinden 1 ml alınarak 12000 rpm'de 5 dakika süre ile 4°C'de santrifüj işlemi yapılarak üst faz uzaklaştırıldı. Altta kalan bakteriler alınarak iki defa PBS (pH 7. 4) ile yıkama işlemi yapıldı.

### **3.2.2.2. LAB'ın simüle mide suyuna karşı dirençlilikleri**

Starter kültürlerin mide ortamından geçerek ince bağırsağa geçiş kabiliyetinin değerlendirilebilmesi amacıyla mide ortamı solüsyonu kullanıldı. 100 ml' de steril edilmiş PBS tamponu içerisine %0,3 pepsin (SIGMA-Life science, USA) ilave edilerek, pH 2.0 ve pH 3.0'e ayarlanmış mide ortamı çözeltisi hazırlandı (Elçioglu ve Kunduhoğlu, 2014). Hazırlanan starter kültür süspansiyonları pepsin ihtiva eden PBS (pH 2.0 ve pH 3.0) tamponları ile homojenize edilerek, 37°C' de üç saat inkübasyona bırakıldı. İnkübe işlemi sürerken 0., 1., 2., ve 3. saatlerde, her suştan alınan örneklerin seri dilüsyonları hazırlandı. LAB'ın mide ortamı uygulamasından sonra hazırlanan dilüsyonlar ise dirigasyon ile MRS agar besi ortamına, üç paralel olacak şekilde ekim işlemi gerçekleştirildi. Örneklerin 37 °C'de 24-48 saat inkübasyon süresinin sonunda kontrol grubu ve deney grubundaki koloni sayımı, Log CFU/ml veriler hesaplandı (Maragkoudakis ve ark., 2006; Tokatlı ve ark., 2015).

### **3.2.2.3. LAB'ın pankreatine karşı direnç özelliğinin belirlenmesi**

İzolatların pankreatine karşı direnç özelliklerini belirlemek için, süspanse edilmiş suşlar pankreatin içeren PBS tampon ortamına %1 oranında aktarılarak 4 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. Kontrol olarak PBS (pH 7.4) kullanıldı. İnkübasyonun akabinde 0. ve 4. saatin sonunda bakteri örneklerinden numuneler alınarak, seri dilüsyonları yapıldı. LAB'ın pankreatin ortamına uygulandıktan sonra hazırlanan dilüsyonlar ise dirigasyon ile uygulanarak MRS agar besi ortamına, üç paralel olacak şekilde ekim işlemi gerçekleştirildi. Örneklerin 37 °C'de 24-48 saat inkübasyonun sonunda kontrol grubu ve deney grubundaki koloni sayımı yapıp Log CFU/ml değerleri olarak hesaplandı (Maragkoudakis ve ark., 2006; Tokatlı ve ark., 2015).

### **3.2.2.4. LAB'ın safra tuzuna karşı direnç özelliğinin belirlenmesi**

Süspanse edilerek hazırlanmış LAB örneklerinin safra tuzuna karşı direnç özelliğini belirlemek için %0,3, %0,5 ve %1 oranında safra tuzu ihtiva eden PBS içerisine %1 oranında aktarılarak, 4 saat 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun akabinde 0. ve 4. saatin sonunda bakteri örneklerinden numuneler alınarak, seri dilüsyonları yapıldı. LAB'ın safra ortamına uygulandıktan sonra hazırlanan dilüsyonlar ise dirigasyon ile uygulanarak MRS agar besi ortamına, üç paralel olacak şekilde ekim işlemi gerçekleştirildi. Örneklerin 24-48 saat 37 °C'de inkübasyonunun sonunda kontrol

grubu ve deney grubundaki koloniler sayılıp, Log CFU/ml olarak değerler hesaplandı (Maragkoudakis ve ark., 2006; Collado ve San 2006; Tokatlı ve ark., 2015).

### 3.2.3. Antioksidan özellik

#### 3.2.3.1. DPPH radikali süpürme aktivitesi

Kullanılan Çözeltiler

$10^{-3}$  M'lık DPPH• çözeltilisinin hazırlanması: 10 mg DPPH Yaklaşık 30 ml etanolde tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Toplam hacim etanol ile 50 ml'ye tamamlandı.

Metot

Ekstraktların serbest radikal giderme aktiviteleri Savcı ve arkadaşlarının kullandığı yöntemle yapıldı (Savcı ve ark., 2020). 10, 20 ve 30 µg / mL konsantrasyondaki ekstraktlar ve standart antioksidanlar deney tüplerine alınarak toplam hacimleri etanol ile 600 µL'ye tamamlandı. Üzerlerine 200 µL DPPH radikali çözeltilisinden eklendi. Numuneler vorteks işleminden sonra 30 dk inkubasyona bırakıldı. İşlemin sonunda spektrofotometrede (Schimadzu 1800) 517 nm'de absorbansları alındı. Ekstraktların ve standartların DPPH radikali süpürme yüzdeleri aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplandı:

$$\text{DPPH radikali süpürme kapasitesi (\%)} = \left(1 - \frac{A \text{ örnek}}{A \text{ kontrol}}\right) \times 100$$

Burada; A örnek: Örneklerin absorbansını, A kontrol: Kontrolün absorbansını göstermektedir.

#### 3.2.3.2. ABTS+ süpürme aktivitesi

Kullanılan çözeltiler

a) 0,1 M'lık fosfat tamponunun hazırlanması (pH: 7,4): 1,42 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  90 ml destile suda çözüldü. pH metre kullanılarak pH'sı 7,4'e ayarlandı. Toplam hacim destile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

b) 2 mM'lık ABTS çözeltilisinin hazırlanması: 55 mg ABTS 0,1 M'lık ve pH'sı 7,4 olan Fosfat

tamponunda tamamen çözününceye kadar bir gece boyunca karıştırıldı. Toplam hacim destile su ile 50 ml'ye tamamlandı.

c) 2,45 mM'lık potasyum persülfat çözeltisinin hazırlanması: 33,13 mg  $K_2O_8S_2$  0,1M'lık ve pH'sı 7,4 olan fosfat tamponunda tamamen çözününceye kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Toplam hacim destile su ile 50 ml'ye tamamlandı.

Metot

Ekstraktların ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) serbest radikal süpürücü aktivitesi Re ve arkadaşlarının yaptığı metoda göre belirlendi (Re ve ark., 1999).

İlk olarak, 2 mM ABTS solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyona 2.45 mM  $K_2S_2O_8$  solüsyonu eklenerek  $ABTS^+$  radikali elde edildi. Ekstraktların absorbands değeri ölçülmeden önce  $ABTS^+$  solüsyonunun 734 nm'deki absorbandsı  $0.700 \pm 0.025$  nm'ye ayarlandı. Farklı konsantrasyonlardaki bileşiklerin (10, 20, 30  $\mu\text{g/mL}$ ) hacimleri distile su ile 50 mL'ye tamamlandıktan sonra üzerlerine 1 mL  $ABTS^+$  solüsyonu eklendi. 734 nm'de absorbandsları kaydedildi. Ekstraktların ve standartların ABTS radikali süpürme yüzdeleri aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplandı:

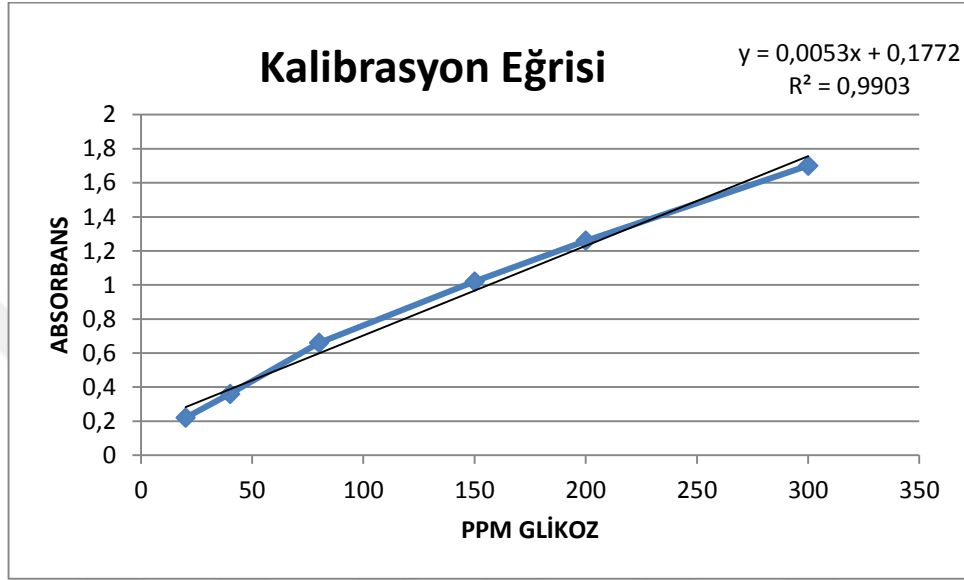
$$\text{ABTS radikal süpürme kapasitesi (\%)} = \left( \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100$$

Burada; A örnek: Örneklerin absorbandsını, A kontrol: Kontrolün absorbandsını göstermektedir.

### 3.3. Ekzopolisakkarit (EPS) tayini

Laktik asit bakteri suşları saf kültürleri elde edilerek, EPS üretim miktarları tespit edildi (Marshall ve Rawson, 1999). Saf kültürler MRS broth ortamında  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat inkübe edilerek aktifleştirildi. Daha sonra suşlar 5 mL' lik sıvı besi yerinde ikişer paralelli olacak şekilde %2 oranında ekim yapılarak,  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24 saat aktif edildi. Aktif suşlardan 1 ml tüpe aktarılarak,  $100^\circ\text{C}$ 'de 10-15 dk inkübe edildikten sonra oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi. %85'lik Trikloroasetik asit (TCA)'ten %0,2 oranında alınarak, 1 ml numune üzerine eklenerek, 10 000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. 0.5 ml süpernatant kısmından alınarak, başka bir tüpe konulup üzerine eşit hacimde etanol eklendi ve 10 000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Elde edilen pelet 0.5 mL etanol ilave edildi ve 10 000 rpm'de 20 dk santrifüj yapıldı. 1 ml steril saf suda elde edilen pelletler çözündürüldükten sonra fenol sülfürik asit metodu uygulandı (Torino ve ark., 2001). 0,5 ml fenol örneklerin üzerine eklendikten sonra hızlıca 5 ml  $H_2SO_4$  ilave edildi. Homojenat oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra iyice çalkalandı. Oda sıcaklığındaki örnekler 10-20 dakika bekletildi. Absorbans değerlerini

ölçmek için, OD değerleri 490 nm dalga boyunda iki paralelli olacak şekilde ölçüldü. 0-100 ppm arasında değişen miktarlarda glikoza fenol sülfürik asit metodu uygulanarak, EPS üretim miktarlarını belirlemek için standart glikoz eğrisi oluşturuldu (Şekil 7). Daha sonra elde edilen absorbans değerleri Şekil 7.'deki kalibrasyon grafiğindeki yere yazılarak örnekteki EPS miktarı ppm cinsinden hesaplandı.



Şekil 7. Glikoz standart eğrisi

### 3.3.1. İstatistiksel analiz

GraphPad Prism 8 yazılımı yardımıyla probiyotik özelliklerin istatistiksel analizleri, Tukey ve Dunnett testi ile yapıldı. Standart sapmaların sonuçları verilerin (n=3) ortalama değerleri  $\pm$  hesaplanarak verildi. Twoway (ANOVA) varyans analizleri EPS tayininde elde edilen sonuçlar,  $p < 0.001$ 'te farklılıkları anlamlı kabul edildi.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Laktik Asit Bakterilerinin MALDI-TOF MS ile Tanımlanması

Anne sütü yapısı itibari ile protein çeşitliliği bakımından zengin, kolay sindirilebilen ve bağışıklık sistemini güçlendiren yapıya sahip olmasından dolayı enfeksiyonlara karşı koruyucu özelliği bulunmaktadır. Yapılan araştırmalarda biyolojik bir karışım olduğu ve canlı mikroorganizmalar içerdiği tespit edilmiştir. Anne sütünde bulunan mikrobiyal çeşitlilik bireyler arasında sayı ve tür bakımından farklılık göstermektedir. LAB'ın en çok bulunduğu ortamlar, bağırsak florası, süt ve süt ürünleri, fermente gıdalar ve bitkilerde bulunurlar ve fermantasyona göre sınıflandırıldıklarında hemo ve hetrofermantatif olarak iki gruba ayrılırlar. Homofermantatif yöntem ile glukozdan laktik asit üretme oranı (% 95-100) hetero fermentatif yöntemi ile glukozdan laktik asit üretme oranı % 50 kadardır, bunun yanında ayrıca fruktoz, gliserol, asetik asit, mannitol ve etanol da meydana gelmektedir (Evren ve ark., 2011). Anne sütlerinden izole edilmiş 50 laktik asit bakteri izolatının tanımlanması MALDI-TOF MS ile yapıldı. Bu izolatlardan elde edilen sonuçlar izelge 4'te verildi. Elde edilen sonuçlara göre tanımlanan 27 kadar izolatın suşlara ve daha sonra yapılması planlanan çalışmalarda kullanılmak üzere -20°C' de saklanmıştır.

Çizelge 4. Anne sütünden izole edilen izolatların MALDI-TOF MS analiz sonuçları

İZOLATLAR	BAKTERİLER	BENZERLİK ORANI
AS-14(2)	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	2.026
AS-19(2)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.627
AS-30	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.699
AS-29(2)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.594
AS-13(2)	<i>Lactobacillus brevis</i>	2.25
AS-15(2)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.309
AS-10	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.845
AS-12(1)	<i>Lactobacillus brevis</i>	1.812
AS-5	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.625
AS-6	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.415
AS-15(1)	<i>Lactobacillus brevis</i>	2.469
AS-14(1)	<i>Lactobacillus brevis</i>	1.812
AS-3(1)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.29
AS-28	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.493
AS-1	<b>Eşleştirilemedi</b>	<0
AS-23	<i>Lactobacillus brevis</i>	2.394
AS-18(1)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.647
AS-4(1)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.406
M-27	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.614
M-25	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.959
M-18	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.767
M-30	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	2.214
M-33	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.643
M-20	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	1.894
AS-10	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.481
AS-2	<i>Lactobacillus brevis</i>	1.734
AS-20	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.362
AS-24	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.791
AS-11(1)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.523
AS-26(1)	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.8
AS-17(1)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.591
AS-13(1)	<i>Lactobacillus brevis</i>	2.005
AS-16	<b>Eşleştirilemedi</b>	<0
AS-29(1)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.65
AS-19(1)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.515
AS-8(1)	<i>Lactobacillus brevis</i>	1.95
M-8	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.674
M-21	<i>Lactobacillus brevis</i>	2.229
M-16	<i>Lactobacillus brevis</i>	2.106
M-19	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	2.115
M-29	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	2.008
M-9	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.53
AS-3(2)	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.93
AS-8(2)	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.906
AS-26(2)	<b>Eşleştirilemedi</b>	1.288
AS-7(2)	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.859
AS-4(2)	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.746
AS-17(2)	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.715
AS-11(2)	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	1.729
AS-18(2)	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	2.38

Çizelge 5. Çalışılacak izolatlar

AS14(2) <i>P. pentosaceus</i> 1	AS13(2) <i>L. brevis</i> 2	AS10 <i>L. plantarum</i> 3	AS12(1) <i>L. brevis</i> 4	AS15(1) <i>L. brevis</i> 5	AS14(1) <i>L. brevis</i> 6
AS23 <i>L. brevis</i> 7	M25 <i>L. plantarum</i> 8	M18 <i>L. plantarum</i> 9	M30 <i>P. pentosaceus</i> 10	M20 <i>P. pentosaceus</i> 11	AS2 <i>L. brevis</i> 12
AS24 <i>L. plantarum</i> 13	AS26(1) <i>L. plantarum</i> 14	AS13(1) <i>L. brevis</i> 15	AS8(1) <i>L. brevis</i> 16	M21 <i>L. brevis</i> 17	M16 <i>L. brevis</i> 18
M19 <i>P. pentosaceus</i> 19	M29 <i>P. pentosaceus</i> 20	AS3(2) <i>L. plantarum</i> 21	AS8(2) <i>L. plantarum</i> 22	AS7(2) <i>L. plantarum</i> 23	AS4(2) <i>L. plantarum</i> 24
AS17(2) <i>L. plantarum</i> 25	AS11(2) <i>L. plantarum</i> 26	AS18(2) <i>P. pentosaceus</i> 27			

## 4.2. LAB Suşlarının Probiyotik Özellikleri

### 4.2.1. LAB'ın simüle mide suyuna karşı dirençlilikleri

Mikroorganizmaların probiyotik olarak kabul edilebilmesi için pH 1-4 arasında olduğu mide ortamına direnç göstermesi, besinlerin midede kalma süreleri göz önünde bulundurularak probiyotik mikroorganizmaların 3 saat boyunca midenin düşük pH 'da canlılığını koruması gerekmektedir (Dunne, 2001; Vinderola ve Reinheimer, 2003). Kompleks bir enzim olan protein, pepsin ve türevleri sindirim sistemi için çok önemli etkiye sahiptir. Probiyotik olarak kabul edilen mikroorganizmaların en önemli özelliklerinden biri de proteinin sindirilmesini kolaylaştıran mide sıvısı içinde bulunan pepsini ve midenin düşük pH'ını aşarak ince bağırsağa ulaşmasıdır. Probiyotik mikroorganizmaların hem midenin düşük pH'ını hem de pepsine maruz kaldıkları düşünüldüğünde, gastrointestinal sisteme ulaşan bakterilerin midenin gastrik koşullarına direnç düzeylerinin *in-vitro* olarak belirlenmesidir (Alp, 2018; Maragkoudakis ve ark., 2006). MALDI-TOF MS analiz sonuçlarına göre 27 izolatın öncelikle pH2'deki gelişimleri gözlemlendi. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda iyi gelişim gösteren 12 izolat seçildi (Çizelge 6). Daha sonra seçilen bu izolatların probiyotik özellikleri araştırıldı.

Çizelge 6. Çalışılan izolatlar

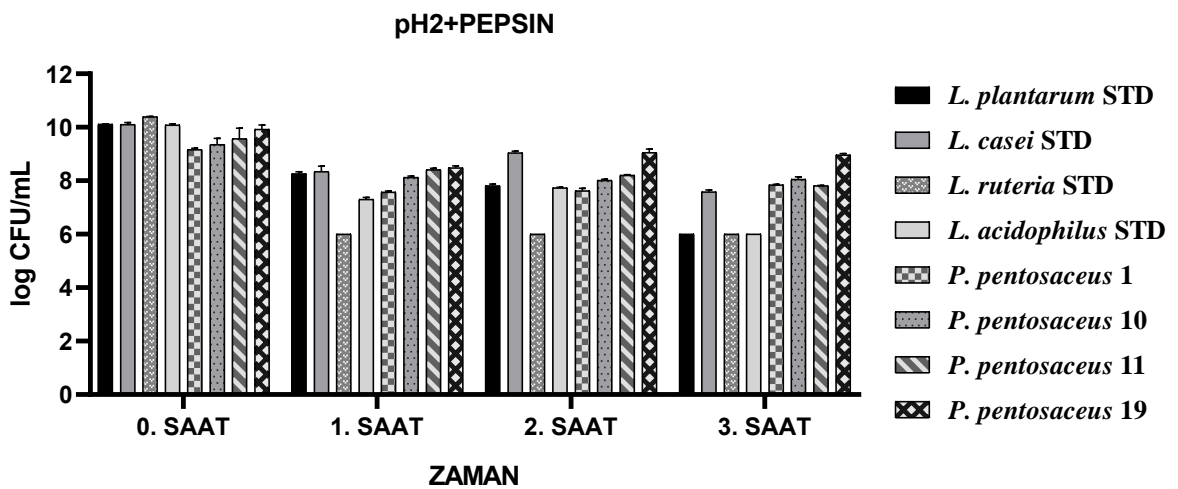
<i>P. pentosaceus</i> 1	<i>P. pentosaceus</i> 10	<i>P. pentosaceus</i> 11	<i>P. pentosaceus</i> 19
<i>L. brevis</i> 2	<i>L. brevis</i> 6	<i>L. brevis</i> 12	<i>L. brevis</i> 18
<i>L. plantarum</i> 3	<i>L. plantarum</i> 9	<i>L. plantarum</i> 13	<i>L. plantarum</i> 26

Çizelge 7. İzolatların pH2 ve pH3 pepsin değerlerine karşı direnç özellikleri

BAKTERİLER	pH 2 PEPSİN (Log CFU/ml)			pH 3 PEPSİN (Log CFU/ml)		
	1. SAAT	2. SAAT	3. SAAT	1. SAAT	2. SAAT	3. SAAT
<i>L. plantarum</i> STD	8.26±0.07	7.81±0.65	6.00±0.00	7.86±0.02	8.22±0.02	8.62±0.15
<i>L. casei</i> STD	8.35±0.20	9.05±0.05	7.58±0.07	8.37±0.01	8.89±0.01	8.17±0.08
<i>L. ruteria</i> STD	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	8.28±0.15	8.36±0.07	7.96±0.07
<i>L. acidophilus</i> STD	7.30±0.08	7.73±0.01	7.50±0.00	7.83±0.51	8.55±0.01	8.52±0.10
<i>P. pentosaceus</i> 1	7.57±0.05 <sup>eeeb</sup>	7.62±0.92 <sup>aeaa</sup>	7.84±0.01 <sup>eaec</sup>	8.96±0.05 <sup>eeee</sup>	8.73±0.10 <sup>eaca</sup>	8.91±0.05 <sup>aeaa</sup>
<i>P. pentosaceus</i> 10	8.12±0.05 <sup>eaee</sup>	8.16±0.03 <sup>aeeb</sup>	8.05±0.87 <sup>eeee</sup>	7.84±0.03 <sup>aeaa</sup>	8.40±0.04 <sup>aeaa</sup>	8.01±0.09 <sup>daac</sup>
<i>P. pentosaceus</i> 11	8.41±0.05 <sup>aaee</sup>	8.20±0.02 <sup>beec</sup>	7.81±0.01 <sup>eaeb</sup>	8.43±0.04 <sup>eaee</sup>	9.26±0.01 <sup>eece</sup>	9.03±0.01 <sup>beec</sup>
<i>P. pentosaceus</i> 19	8.48±0.07 <sup>aaee</sup>	9.05±0.13 <sup>eaee</sup>	8.96±0.05 <sup>eeee</sup>	8.29±0.06 <sup>eaee</sup>	9.15±0.04 <sup>eaee</sup>	8.72±0.27 <sup>aceaa</sup>
<i>L. brevis</i> 2	8.23±0.06 <sup>aaee</sup>	8.20±0.07 <sup>beec</sup>	8.73±0.03 <sup>eeee</sup>	8.17±0.08 <sup>ebae</sup>	8.81±0.02 <sup>eaea</sup>	8.53±0.25 <sup>aada</sup>
<i>L. brevis</i> 6	7.76±0.02 <sup>eeee</sup>	7.79±0.03 <sup>aeaa</sup>	7.69±0.05 <sup>eaea</sup>	7.97±0.04 <sup>aeda</sup>	8.90±0.01 <sup>eaec</sup>	8.82±0.16 <sup>aada</sup>
<i>L. brevis</i> 12	8.48±0.03 <sup>aaee</sup>	8.78±0.11 <sup>eaee</sup>	8.69±0.01 <sup>eeee</sup>	8.27±0.01 <sup>eaee</sup>	8.98±0.20 <sup>eaed</sup>	8.43±0.07 <sup>aaba</sup>
<i>L. brevis</i> 18	8.40±0.09 <sup>aaee</sup>	7.66±0.28 <sup>aeaa</sup>	8.59±0.07 <sup>eeee</sup>	8.28±0.02 <sup>eaee</sup>	8.57±0.06 <sup>cbaa</sup>	8.92±0.02 <sup>aeeb</sup>
<i>L. plantarum</i> 3	7.18±0.14 <sup>eeea</sup>	7.04±0.08 <sup>eeee</sup>	7.35±0.01 <sup>eaea</sup>	8.21±0.04 <sup>eaee</sup>	9.08±0.03 <sup>eaee</sup>	8.16±0.05 <sup>baaa</sup>
<i>L. plantarum</i> 9	7.12±0.40 <sup>eeea</sup>	6.93±0.02 <sup>eeee</sup>	6.36±0.31 <sup>cece</sup>	7.86±0.02 <sup>aeaa</sup>	8.70±0.17 <sup>eaca</sup>	8.64±0.01 <sup>abea</sup>
<i>L. plantarum</i> 13	7.23±0.06 <sup>eeea</sup>	8.94±0.07 <sup>eaee</sup>	9.04±0.04 <sup>eeee</sup>	8.35±0.04 <sup>eaee</sup>	8.83±0.02 <sup>eaeb</sup>	8.77±0.20 <sup>aada</sup>
<i>L. plantarum</i> 26	7.18±0.01 <sup>eeea</sup>	7.53±0.15 <sup>aeaa</sup>	7.60±0.01 <sup>eaea</sup>	7.99±0.12 <sup>aeda</sup>	8.11±0.18 <sup>abad</sup>	8.55±0.09 <sup>aada</sup>

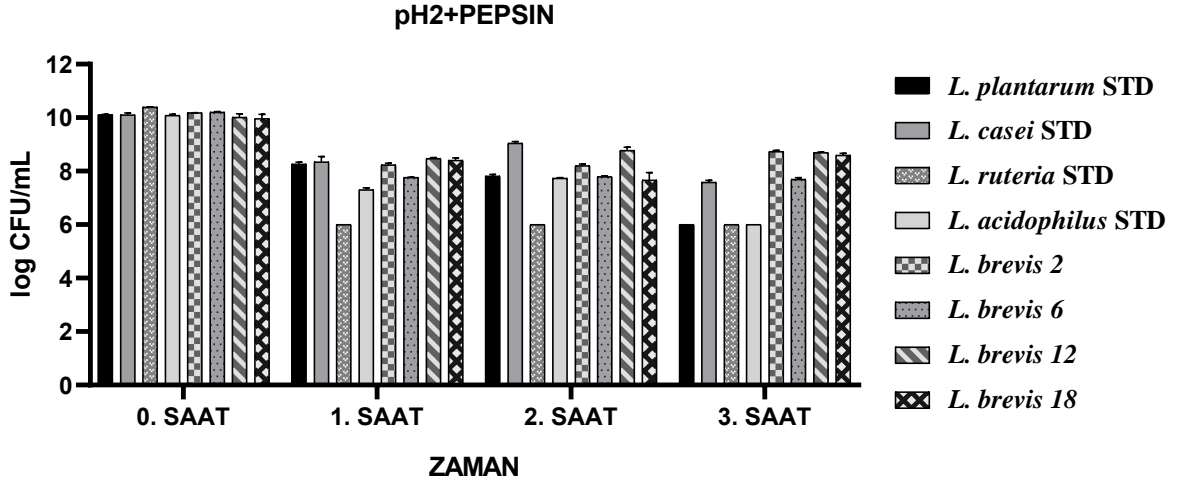
a: Fark yok. b: \*. c: \*\*. d: \*\*\*. e: \*\*\*\*

pH2 ve pepsin içeren ortamda izolatlarımız 1. saatte  $7.12 \pm 0.40$ - $8.48 \pm 0.03$  Log CFU/ml aralığında gelişim gösterdikleri gözlemlendi. *L. brevis* 6 izolatımızın standartlardan yüksek anlamlı bir fark sergilediği tespit edildi ( $P < 0.0001$ ). Ayrıca *P. pentosaceus* 11, 19, *L. brevis* 2, 12 ve *L. brevis* 18 nolu izolatların ise *L. plantarum* STD ve *L. casei* STD standartlarına benzer gelişim gösterdikleri tespit edildi. *L. plantarum* 3, 9, 13 ve 26 nolu izolatlarımız *L. acidophilus* STD standardına benzer gelişim gösterirken, diğer standartlara karşı yüksek anlamlı bir fark sergilediği gözlemlendi ( $P < 0.0001$ ). pH2 ve pepsin içeren ortamdaki izolatlarımız 2. saatte *L. plantarum* 3 ve 9 izolatlarımız  $6.93 \pm 0.02$ - $9.05 \pm 0.13$  Log CFU/ml aralığında standartlardan yüksek anlamlı fark gösterdiler ( $P < 0.0001$ ). 2. saatin sonunda *P. pentosaceus* 1, *L. brevis* 6 ve 18, *L. plantarum* 26 izolatları, *L. plantarum* STD ve *L. acidophilus* STD standartları ile benzer özellik sergiledi. *L. brevis* 12 izolatu ile *L. plantarum* 13 izolatu, *L. reuteri* STD benzer özellik gösterirken diğer standartlara karşı anlamlı yüksek bir fark olduğu tespit edildi ( $P < 0.0001$ ). Ortamın 3. saatinde  $6.36 \pm 0.31$ - $9.04 \pm 0.04$  Log CFU/ml aralığında gelişimleri gözlenen *P. pentosaceus* 10, *L. brevis* 2, 12, 18 ve *L. plantarum* 13 izolatlarımız standartlara göre anlamlı bir şekilde yüksek bir fark sergilediler ( $P < 0.0001$ ). *P. pentosaceus* 1 ve 11, *L. brevis* 6, *L. plantarum* 3 izolatları *L. casei* STD ile benzer özellik gösterirken, *L. brevis* 6 ve *L. plantarum* 3 ve 26 izolatları, *L. acidophilus* STD ile benzer özellik sergilediği görüldü (Çizelge 7).



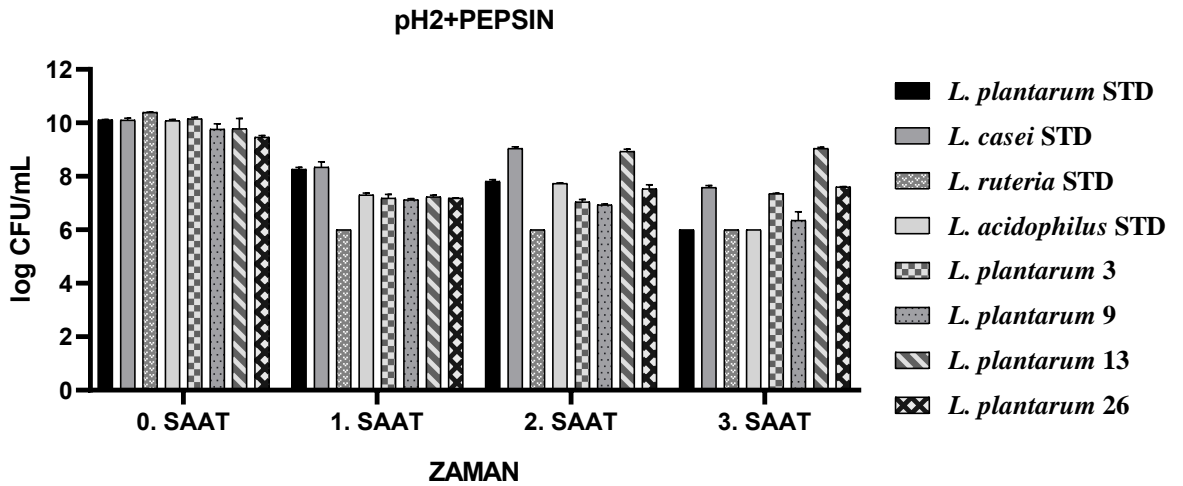
Şekil 8. *P. pentosaceus* suşlarının pH2+pepsin ortamlarında (1.saat, 2.saat ve 3. saat) direnç özellikleri

*P. pentosaceus* 10 ve 19 izolatlarımız pH2 ve pepsin içeren ortamda saat ilerledikçe gelişimlerinin artışı gözlemlendi. *P. pentosaceus* 1 ve 11 nolu izolatımızda ise zamana bağlı olarak koloni sayısında azalmanın olduğu tespit edildi.



Şekil 9. *L. brevis* suşlarının pH2+pepsin ortamlarında (1.saat, 2.saat ve 3.saat) direnç özellikleri

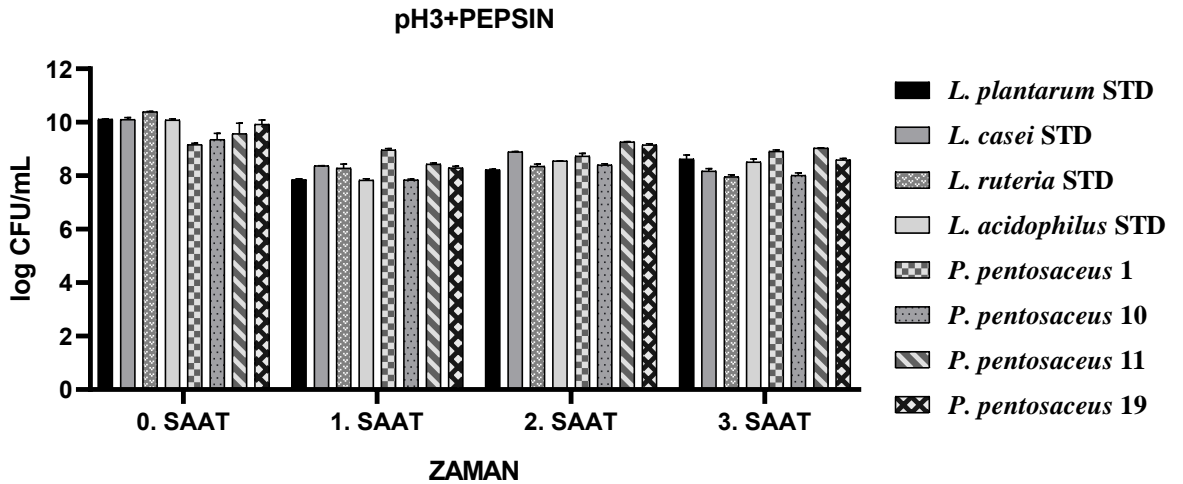
*L. brevis* 2, 12 ve 18 izolatları pH2 ve pepsin ortamında zaman ilerledikçe gelişim gösterdikleri gözlemlendi. *L. brevis* 6 izolatımızda zamana bağlı olarak diğer 3 izolatımıza kıyasla koloni oluşum sayısında azalma görüldü.



Şekil 10. *L. plantarum* suşlarının pH2+pepsin ortamlarında (1.saat, 2.saat ve 3.saat) direnç özellikleri

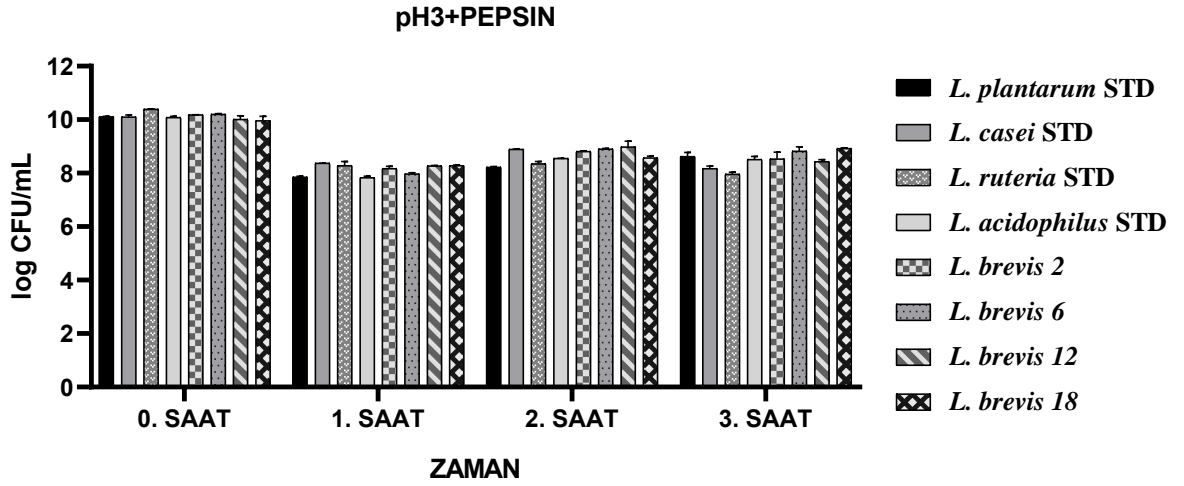
pH2 pepsin içeren ortamda zaman ilerledikçe *L. plantarum* 13 nolu izolatımızda gelişim gözlenirken, *L. plantarum* 3 nolu izolatımızda zamana bağlı olarak koloni oluşturma sayısında azalma olduğu gözlemlendi.

pH3 ve pepsin bulunduğu ortamda izolatların 1. saatinde  $7.84 \pm 0.03$ - $8.96 \pm 0.05$  Log CFU/ml aralığında gelişim gösterdiği tespit edildi. *P. pentosaceus* 1 izolatının standartlardan anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görüldü ( $P < 0.0001$ ). *P. pentosaceus* 11 ve 19, *L. brevis* 12 ve 18 ve *L. plantarum* 13 izolatları *L. plantarum* STD ve *L. acidophilus* STD anlamlı bir şekilde yüksek seyrederken ( $P < 0.0001$ ), *L. casei* STD ve *L. reuteri* STD ile aynı özellikleri sergiledi. *L. plantarum* 9 izolatı, *L. plantarum* STD ve *L. acidophilus* STD ile benzer özellik gösterirken *L. casei* STD ve *L. reuteri* STD' dan anlamlı bir şekilde yüksek anlamlı fark görüldü ( $P < 0.0001$ ). Ortamın 2. saatinde izolatlar  $8.11 \pm 0.18$ - $9.26 \pm 0.01$  Log CFU/ml aralığında gelişim gösterdikleri gözlemlendi. *P. pentosaceus* 11 ve 19 ile *L. plantarum* 3 izolatlarının *L. plantarum* STD, *L. reuteri* STD ve *L. acidophilus* STD ile yüksek anlamlı fark gösterdi ( $P < 0.0001$ ). *P. pentosaceus* 1, *L. brevis* 2, *L. plantarum* 3 izolatlarının *L. casei* STD ve *L. acidophilus* STD ile benzer özellik sergilediği görüldü. 3. saatin sonunda yapılan gözlemlerde *P. pentosaceus* 1 ve 11 ve *L. brevis* 18 izolatlarının *L. casei* STD ve *L. reuteri* STD dan yüksek bir fark olduğu tespit edildi ( $P < 0.0001$ ). *L. brevis* 2 ve 12 ve *L. plantarum* 26 izolatlarının *L. plantarum* STD, *L. casei* STD ve *L. acidophilus* STD ile benzer özellikler gösterdiği gözlemlendi. *P. pentosaceus* 1 ve 19, *L. brevis* 6 ve *L. plantarum* 9 ve 13 izolatları, *L. plantarum* STD ve *L. acidophilus* STD ile benzer özellik gösterdiği tespit edildi.



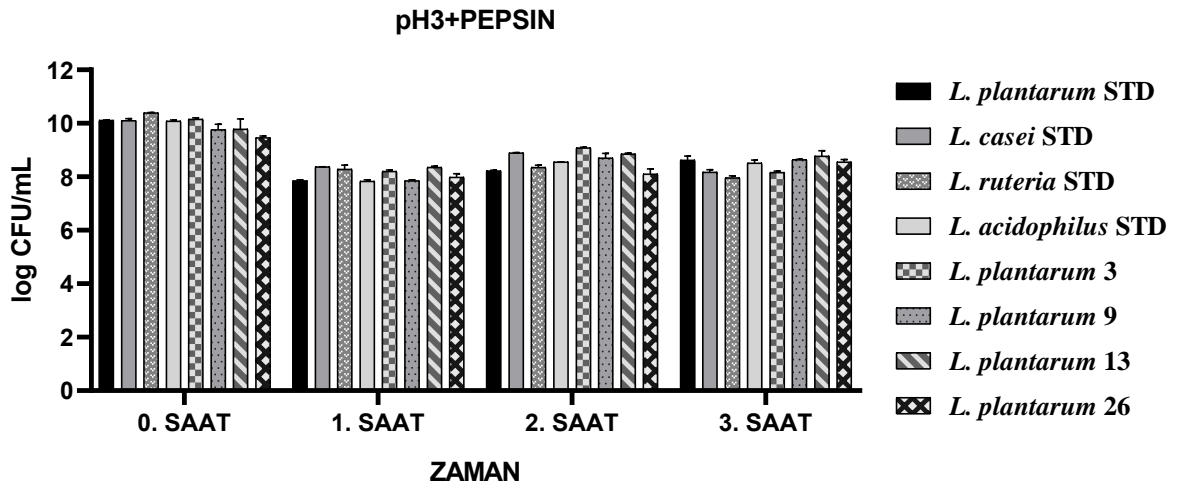
Şekil 11. *P. pentosaceus* suşlarının pH3+pepsin ortamında (1.saat, 2.saat ve 3. saat) direnç özellikleri

*P. pentosaceus* 10, 11 ve 19 nolu izolatlar pH3 ve pepsin içeren ortamda saat ilerledikçe gelişimlerinde artış gözlemlendi. *P. pentosaceus* 1 izolatımızın zamana bağlı olarak koloni oluşturma sayısında azalma olduğu belirlendi.



Şekil 12. *L. brevis* suşlarının pH3+pepsin (1. saat, 2. saat ve 3. saat) direnç özellikleri

*L. brevis* izolatlarımızdan pH3 pepsin ortamında *L. brevis* 18 nolu izolatin saat ilerledikçe gelişim gösterdiği gözlenirken, *L. brevis* 2, 6 ve 12 izolatlarının koloni sayısında zamana bağlı olarak düşüş tespit edildi. *L. brevis* 2'de düşüşün daha fazla olduğu saptandı.



Şekil 13. *L. plantarum* suşlarının pH3+pepsin ortamlarında (1. saat, 2. saat ve 3. saat) direnç özellikleri

*L. plantarum* 3, 9, 13 ve 26 izolatlarının pH3 pepsin içeren ortamda saat ilerledikçe koloni sayısında azalma olduğu görüldü ve en fazla azalmanın *L. plantarum* 3 izolatında olduğu tespit edildi.

2013 yılında yapılan bir çalışmada birbirinden farklı 7 *L. plantarum* suşunun probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla pH2 ortamında 3 izolatın 1. saatten sonra canlılıklarını koruyamadıkları 4 izolatın sayısal olarak 2 log'luk azalma tespit edilmiştir. pH3 ortamında bütün izolatların canlılıklarını koruduğu sayısal olarak önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir (Yu ve ark., 2013). Yapılan bir çalışmada *L. plantarum* izolatlarının (K3, K4, E41) pH 2,5 pepsin ortamında canlı kalabildiği tespit edilmiştir. İnkübasyon süresinin uzamasına bağlı olarak koloni oluşturmada ciddi bir azalma olmadığı görülmüştür (Huang ve ark., 2015). Miray ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma kapsamında, 39 izolat üzerinde pH 3 ortamında 10 izolatın gelişim gösterdiği tespit edilmiş, 30 izolatın pepsin ortamında varlıklarını sürdürdüğü görülmüştür (Bingöl ve Şengün, 2022). Tokatlı ve arkadaşlarının 2015 yılında yaptıkları çalışmada, 21 izolat içerisinden 4 izolatın pepsin ortamında canlılığını kaybettiği ve 17 izolatın canlılığını koruduğu gözlemlenmiştir (Tokatlı ve ark., 2015). 14 izolat üzerinde yapılan bir çalışmada pH 3 ortamında canlılıklarını sürdürmüşlerdir. MH13 izolatının kolonileşmesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiş, pH 2 ortamında 3 saatin sonunda 14 izolatın da canlılığını koruyamadığı görülmüştür (Melda ve Harun, 2021). 1998 yılında yapılan bir çalışmada *Lactobacillus*'ların pH2 ortamına direnç özelliği belirlenmiş, çalışma kapsamında *L. fermentum* KLD izolatının dirençli olduğu gözlemlenmiştir (Charteris ve ark., 1998). 2007 yılında pH 4 ve pH 3,5 değerleri ile yapılan çalışmada insan gaitasından izole edilen *L. brevis* ve *L. plantarum* izolatlarının *L. brevis*'in pH4'e *L. plantarum*'un da pH3 canlı kalabildikleri, pH değerinin daha düşük olduğu durumlarda da her iki izolatın gelişimlerinin durduğu görülmüştür (Delgado ve ark., 2007). 2020 yılında geleneksel turşulardan izole edilen *L. plantarum* suşları ile ilgili çalışmada; pH1'de izolatların herhangi bir aktivite göstermediği, zaman ilerledikçe pH2 ve pH3 ortamında izolatların aktif oldukları görülmüştür (Özkan, 2020).

Çalışmamızda kullanılan 12 izolatın 4 adet standart izolatla pH2 pepsin ve pH3 pepsin ortamında elde edilen sonuçlara göre; pH2 pepsin ortamında 1. saatte *L. brevis* 6 izolatımızın 4 standarttan kıyasla daha iyi gelişim gösterdiği saptandı. *L. plantarum* STD, *L. casei* STD ve *L. reuteri* STD'de yüksek seyreden *P. pentosaceus* 1, *L. plantarum* 3, 9, 13 ve 26 izolatlarıdır, *L. reuteri* STD ve *L. acidophilus* STD kıyasla iyi gelişim gösterenler *P. pentosaceus* 11 ve 19, *L. brevis* 2, 12 ve 18 izolatları, *P.*

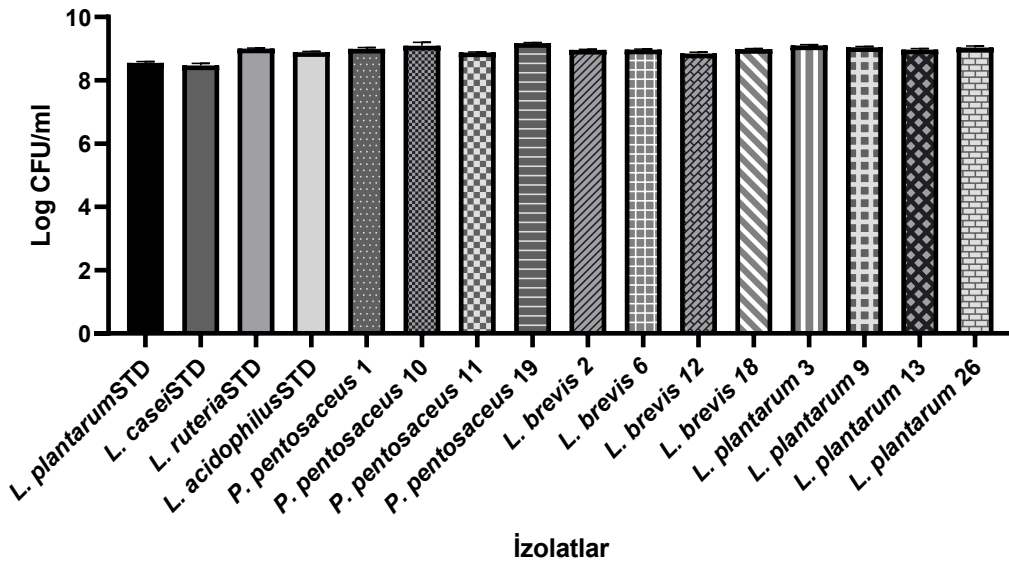
*pentosaceus* 11 ve 19, *L. brevis* 2 ve 12 izolatları, *L. plantarum* STD ve *L. casei* STD benzer özellikler gösterdiği sergilendi. Çalışmanın 2. saatinde 4 standartta kıyasla daha iyi gelişim gösteren izolatlar: *L. plantarum* 3 ve 9. *L. casei* STD ve *L. reuteri* STD' lerde daha iyi gelişim gösteren *P. pentosaceus* 1 ve 11, *L. brevis* 2, 6 ve 18 ve *L. plantarum* 26 izolatlarıdır. *P. pentosaceus* 1, *L. brevis* 6 ve 18 ve *L. plantarum* 26 izolatlarının *L. plantarum* STD ve *L. acidophilus* STD ile benzer özellikler gösterdiği görüldü. Çalışmanın 3. saatinde 4 standarda kıyasla gelişim gösteren *P. pentosaceus* 10 ve 19, *L. brevis* 2, 12 ve 18 ve *L. plantarum* 13 izolatları olduğu görüldü. pH2 pepsin ortamında yapmış olduğumuz çalışmada zaman geçtikçe izolatların genel olarak gelişim gösterdikleri gözlemlendi, literatür çalışmaları ile paralel sonuçlar elde edildi.

pH3 pepsin ortamında 1. saatinde yapılan çalışmada 4 standarda kıyasla iyi gelişim gösteren *P. pentosaceus* 1 izolatı, *L. casei* STD ve *L. reuteri* STD benzer özellik gösteren *P. pentosaceus* 11 ve 19 ve *L. brevis* 12 ve 18 izolatlarıdır. 2. saatin sonunda *L. plantarum* STD, *L. reuteri* STD ve *L. acidophilus* STD' a göre daha iyi gelişim gösteren *L. plantarum* 3 ve *P. pentosaceus* 11 ve 19 izolatları olduğu, *P. pentosaceus* 10 ve *L. brevis* 18 izolatları ise *L. reuteri* STD ve *L. acidophilus* STD ile benzer özellik göstermişlerdir. Çalışmanın 3. saatinin sonunda *P. pentosaceus* 1 ve 11 ve *L. brevis* 18 izolatları *L. casei* STD ve *L. reuteri* STD daha iyi gelişim gösterirken, *L. plantarum* 26 ve *L. brevis* 2 izolatları *L. reuteri* STD dışında bulunan diğer 3 standarda benzer özellikler gösterdiği sonucuna varıldı. pH3 pepsin ortamında yapılan çalışmada zamana bağlı izolatların genel olarak gelişim gösterdikleri ve literatür çalışmaları ile paralel sonuçlar elde edildiği tespit edildi.

#### 4.2.2. LAB'ın pankreatine karşı dirençlilikleri

Midenin düşük pH'ı ve pepsin bariyerini aşan mikroorganizmaların ince bağırsağa ulaştıktan sonra aşması gereken engellerden bir tanesi de mikrobiyal gelişimi olumsuz yönde etkileyen kompleks bir yapıya sahip pankreatin enzimidir. Canlılıklarını ve aktivitelerini sürdürebilmeleri önemlidir (Merritt ve Donaldson, 2009). LAB suşlarının yapmış olduğumuz çalışmada pankreatine karşı direnç özelliğinin belirlenmesi amacıyla PBS tamponları ile çalışıldı ve pH değeri 8.0 olarak ayarlanan 1 mg/ml pankreatin hazırlandı (Maragkoudakis vd., 2006). Zaman aralığı 4 saat ve pH 8,0 ortamında sonuçlar çizelge 8' de belirtildi. Yapmış olduğumuz çalışmada 12 suşun pankreatine 4. saatte elde edilen verilerin ortalamaları hesaplanarak kontrol sonuç elde edilmiş olup, istatistiksel analizi yapıldı.

Pankreatin bulunduğu ortamda izolatların 4. saatinde  $8.84 \pm 0.04$ - $9.17 \pm 0.01$  Log CFU/ml aralığında gelişim gösterdiği gözlemlendi. Çalışılan izolatların *L. plantarum* STD ve *L. casei* STD karşı yüksek olduğu görüldü ( $P < 0.0001$ ). *P. pentosaceus* 1, *L. brevis* 2, 6 ve 18 ve *L. plantarum* 13 izolatlarının *L. reuteri* STD ve *L. acidophilus* STD ile benzer özellik gösterdiği tespit edildi (Çizelge 8).



Şekil 14. İzolatların pankreatine karşı direnç özellikleri

Pankreatin içeren ortamda *P. pentosaceus* 1 ve 19 izolatlarının gelişiminin *P. pentosaceus* 10 ve 11 izolatlarından daha iyi olduğu, *L. brevis* izolatlarının hepsinin benzer oranda gelişim gösterdiği tespit edildi. *L. plantarum* 3 izolatı *L. plantarum* 9, 13 ve 26 izolatlarına oranla gelişiminin daha iyi olduğu tespit edildi.

2021 yılında yapılan bir çalışmada, 14 izolatın pankreatine karşı 4 saatin sonunda kolonileştiği tespit edilmiş olup, MH13 izolatının en yüksek seviyede olduğu görülmüştür (Melda ve Harun, 2021). 2015 yılında 21 izolat üzerinde yapılan bir çalışmada, 12 izolatın koloni oluşturduğu, 9 izolatın canlılığını koruyamadığı ve koloni oluşturan izolatların sayısında ciddi bir azalma olduğu tespit edilmiştir (Tokatlı ve ark., 2015). 2022 yılında yapılan bir çalışmada ise 39 izolattan 6 saatlik inkübasyon sonunda 23 izolatın canlılıklarını sürdürdüğü görülmüştür (Bingöl ve Şengün, 2022).

Çalışmamızda, pankreatin içeren ortamda kullanılan 12 izolatın 4 standart izolatla kıyaslanması sonucunda; kullanılan bütün izolatların *L. plantarum* STD ve *L. casei* STD'ye kıyasla daha iyi gelişim gösterdiği görüldü. *L. plantarum* 13, *P.*

*pentosaceus* 1 ve *L. brevis* 2, 6 ve 18 izolatlarının *L. reuteri* STD ve *L. acidophilus* STD' ye benzer özellik gösterdiği tespit edildi. İzolatların genel olarak gelişim gösterdikleri literatür çalışmaları ile paralel veriler elde edildiği sonucuna varıldı.

**Çizelge 8.** İzolatların Safra tuzları (%0,3, %0,5 ve %1) ve pankreatin ortamında direnç özellikleri

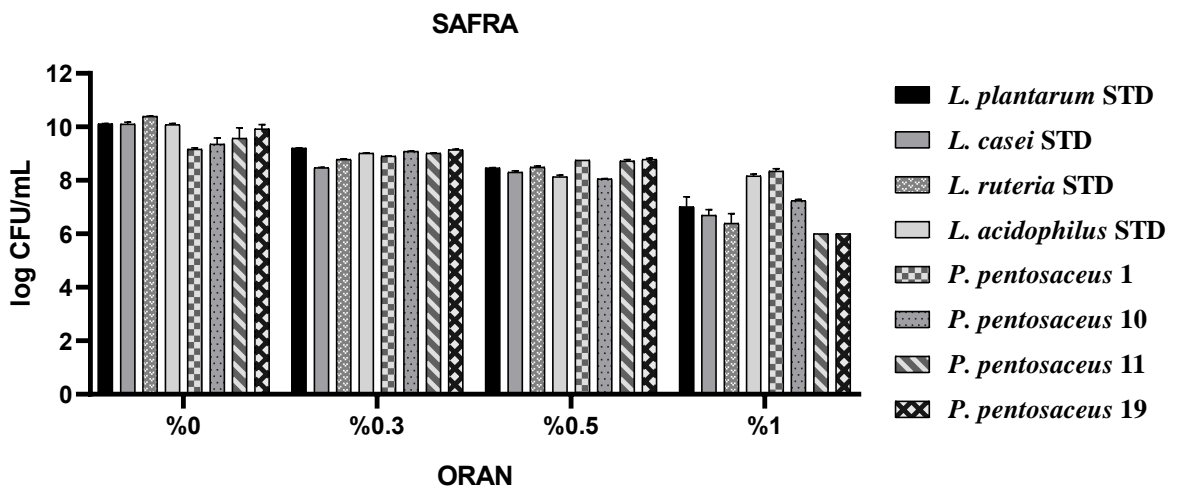
BAKTERİLER	SAFRA			PANKREATİN
	%0,3	%0,5	%1	4. SAAT
<i>L. plantarum</i> STD	9.20±0.01	8.46±0.01	7.01±0.36	8.55±0.04
<i>L. casei</i> STD	8.47±0.01	8.30±0.05	6.70±0.21	8.46±0.07
<i>L. reuteri</i> STD	8.80±0.02	8.49±0.03	6.40±0.35	9.00±0.01
<i>L. acidophilus</i> STD	9.01±0.02	8.13±0.06	8.16±0.07	8.88±0.02
<i>P. pentosaceus</i> 1	8.90±0.01 <sup>eebb</sup>	8.77±0.02 <sup>eeee</sup>	8.34±0.09 <sup>eeea</sup>	8.99±0.03 <sup>eeaa</sup>
<i>P. pentosaceus</i> 10	9.08±0.01 <sup>beea</sup>	8.05±0.00 <sup>eeee</sup>	7.24±0.04 <sup>abee</sup>	9.09±0.10 <sup>eeae</sup>
<i>P. pentosaceus</i> 11	9.02±0.01 <sup>eeea</sup>	8.72±0.05 <sup>eeea</sup>	6.00±0.00 <sup>edae</sup>	8.87±0.01 <sup>eeba</sup>
<i>P. pentosaceus</i> 19	9.14±0.02 <sup>aec</sup>	8.78±0.04 <sup>eeee</sup>	6.00±0.00 <sup>edae</sup>	9.17±0.01 <sup>eece</sup>
<i>L. brevis</i> 2	9.20±0.00 <sup>aece</sup>	8.07±0.01 <sup>eeea</sup>	7.21±0.07 <sup>abee</sup>	8.96±0.02 <sup>eeaa</sup>
<i>L. brevis</i> 6	9.00±0.02 <sup>eeea</sup>	8.47±0.04 <sup>adae</sup>	7.04±0.17 <sup>aace</sup>	8.96±0.01 <sup>eeaa</sup>
<i>L. brevis</i> 12	9.01±0.01 <sup>eeea</sup>	8.60±0.03 <sup>beae</sup>	6.00±0.00 <sup>edae</sup>	8.84±0.04 <sup>eeca</sup>
<i>L. brevis</i> 18	8.85±0.07 <sup>ead</sup>	8.68±0.04 <sup>eede</sup>	8.50±0.03 <sup>eeea</sup>	8.98±0.01 <sup>eeaa</sup>
<i>L. plantarum</i> 3	9.15±0.02 <sup>aec</sup>	8.50±0.04 <sup>adee</sup>	7.04±0.17 <sup>aace</sup>	9.10±0.02 <sup>eeae</sup>
<i>L. plantarum</i> 9	9.07±0.02 <sup>ceea</sup>	8.22±0.03 <sup>eaaa</sup>	6.72±0.04 <sup>aaae</sup>	9.04±0.02 <sup>eeac</sup>
<i>L. plantarum</i> 13	9.20±0.01 <sup>aece</sup>	9.10±0.00 <sup>eeae</sup>	6.00±0.00 <sup>edae</sup>	8.96±0.03 <sup>eeaa</sup>
<i>L. plantarum</i> 26	9.06±0.10 <sup>ceea</sup>	8.50±0.04 <sup>adee</sup>	6.00±0.00 <sup>edae</sup>	9.03±0.04 <sup>eeac</sup>

a: Fark yok. b: \*. c: \*\*. d: \*\*\*, e: \*\*\*\*

#### 4.2.3. LAB'ın safra tuzuna karşı dirençlilikleri

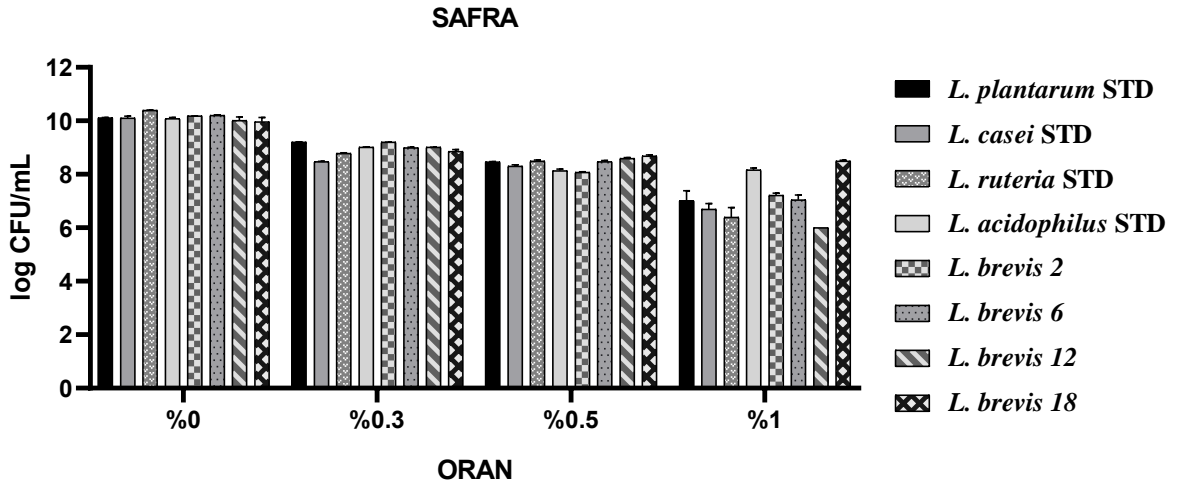
Mikroorganizmaların probiyotik olarak kabul edilebilme özelliklerinden biride sindirim sisteminin büyük bir kısmı olan ve safra salgısının yoğun olduğu ince bağırsak sisteminde canlılığını koruyabilmesi ve kolonize olması aranılan en önemli kriterlerin başında gelmektedir (Maldonado ve Nader, 2015). Yapılan bilimsel çalışmalarda %0,3 safra tuzu konsantrasyonunu kritik değer kabul edildiği kültürlerin direnç özelliğinin belirlenmesi, bu değer baz alınarak yapılmaktadır (Erkkilä ve Petäjä, 2000; Gilliland ve ark., 1985). Çalışmamızda %0,3 %0,5 ve %1 safra ortamlarında izolatların probiyotik özellikleri belirlendi. %0,3 safra tuzunun oluşturulduğu ortamda izolatların 8.85±0.07-9.20±0.01 Log CFU/ml aralığında gelişim gösterdiği gözlemlendi. Bu gözlemler sonucunda *P. pentosaceus* 11, *L. brevis* 6, 12 izolatları *L. plantarum* STD, *L. casei* STD ve *L. reuteri* STD' de anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi (P<0.0001) (Çizelge 8). Çalışılan 12 izolatın %0,3 safra ortamında *L. casei* STD' de anlamlı bir şekilde yüksek olduğu görüldü (P<0.0001). *L. acidophilus* STD' ye benzer özellik gösteren izolatların *P. pentosaceus* 10 ve 11, *L. brevis* 6 ve 12 ve *L. plantarum* 9 ve 26 olduğu tespit edildi.

%0,5 safra ortamında  $8.05 \pm 0.00$ - $9.10 \pm 0.00$  Log CFU/ml aralığında geliştikleri gözlemlendi. Bu gözlem sonucunda *P. pentosaceus* 11 ve *L. brevis* 2 izolatlarının *L. plantarum* STD, *L. reuteri* STD, *L. casei* STD standartlarına göre yüksek seyrettiği tespit edildi ( $P < 0.0001$ ). Bununla birlikte, *L. acidophilus* STD'ye benzer özellik sergiledi. *L. plantarum* 9 izolatımız *L. plantarum* STD' den anlamlı bir şekilde yüksek seyrettiği ( $P < 0.0001$ ), *L. casei* STD, *L. reuteri* STD ve *L. acidophilus* STD standartlarına ise benzer özellik gösterdi. %1 safra ortamında  $6.00 \pm 0.00$ - $8.50 \pm 0.03$  Log CFU/ml aralığında *P. pentosaceus* 1, *L. brevis* 18 izolatları *L. acidophilus* STD dışındaki diğer üç standarttan anlamlı bir şekilde yüksek seyrettiği gözlemlendi ( $P < 0.0001$ ). *L. plantarum* 9 izolatı *L. acidophilus* STD kıyaslandığında anlamlı bir şekilde yüksek seyrederken ( $P < 0.0001$ ), diğer standartlara benzer özellik gösterdiği belirlendi.



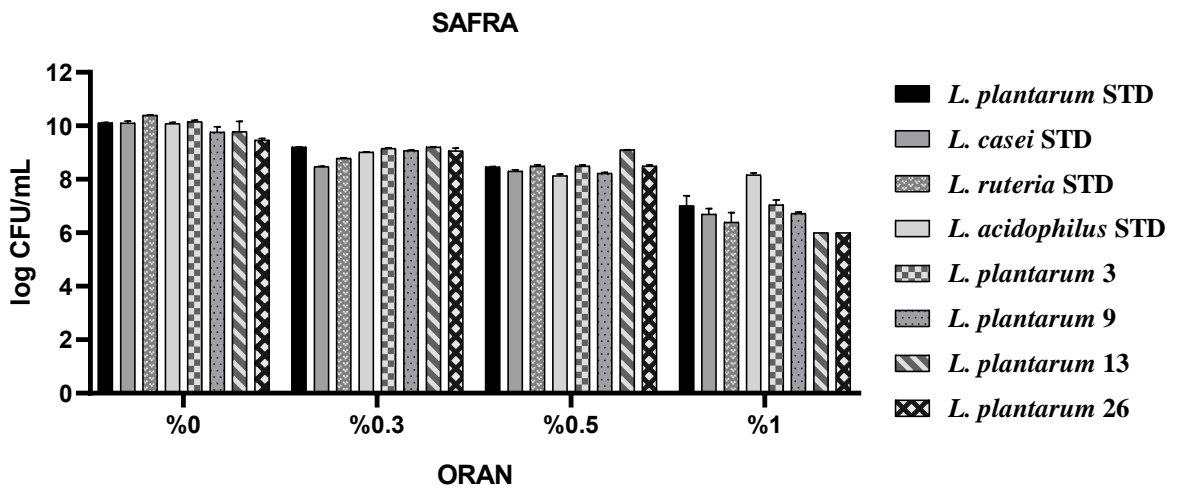
Şekil 15. *P. pentosaceus* suşlarının (%0,3, %0,5 ve %1) safra ortamında direnç özelliği

%0,3 safra içeren ortamda *P. pentosaceus* 11 izolatı *P. pentosaceus* 1, 10 ve 19 izolatlarından daha iyi gelişim gösterdiği gözlemlendi. %0,5 safra içeren ortamda *P. pentosaceus* 1, 10 ve 19 izolatlarının gelişiminin *P. pentosaceus* 11 izolatının gelişiminden daha iyi olduğu görüldü. %1 safra içeren ortamda gelişim gösteren izolatlardan *P. pentosaceus* 1 izolatı *P. pentosaceus* 10, 11 ve 19 izolatlarından daha iyi geliştiği tespit edildi.



Şekil 16. *L. brevis* suşlarının (%0,3, %0,5 ve %1) safra ortamında direnç özelliği

%0,3 safra içeren ortamda *L. brevis* 2, 6 ve 12 izolatlarının gelişimi *L. brevis* 18 izolatından daha iyi geliştiği tespit edildi. %0,5 safra ortamında *L. brevis* 2 ve 18 izolatları gelişiminin *L. brevis* 6, 12 izolatlarından daha iyi olduğu görüldü. %1 safra ortamında izolatların gelişim oranının *L. brevis* 18 izolatındaki gelişim *L. brevis* 2, 6 ve 12 izolatlarından iyi olduğu tespit edildi.



Şekil 17. *L. plantarum* suşlarının (%0,3, %0,5 ve %1) safra ortamında direnç özelliği

%0,3 safra içeren ortamdaki *L. plantarum* izolatlarında gelişim oranları; *L. plantarum* 13 *L. plantarum* 3, 9 ve 26 izolatlarından iyi geliştiği tespit edildi. %0,3 ve

%0,5 safra ortamında *L. plantarum* izolatlarının gelişimlerinin aynı olduğu görüldü. %1 safra içeren ortamda; *L. plantarum* 13 ve 26 izolatları *L. plantarum* 3 ve 9 izolatlarından daha iyi olduğu tespit edildi.

2020 yılında yapılan çalışmada; safra tuzlarına karşı ve düşük asit değerine en iyi direnç gösteren *L. plantarum* E680 izolatının olduğu saptanmıştır (Zheng ve ark., 2016). Yapılan başka bir çalışmada % 0,3'lük ortamda K3, K4, E41 izolatlarının canlılıklarını sürdürdüğü, inkübasyon süresinin artması sonucu 0,27-3,4 log aralığında sayılarında azalma olduğu gözlenmiştir (Huang ve ark., 2015). Miray ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; % 0,3 ve % 1 safra ortamında elde edilen verilere göre bütün izolatların canlılığını koruduğu, gözlemler sonucunda % 0,3 safra ortamında kolonileşmenin daha hızlı olduğu gözlenmiştir (Bingöl ve Şengün, 2022). 2021 yılında yapılan çalışmada ise; % 0,3, % 0,5 ve % 1 safra tuzunun bulunduğu şartlarda yapılan çalışmada 14 izolatın da canlılığını sürdürdüğü MH10 izolatının % 0,3 ortamında canlılık oranının en yüksek olduğu gözlenmiştir (Melda ve Harun, 2021).

%0,3 safra tuzunun bulunduğu ortamda 12 izolat ve 4 standart ile yapılan çalışmamızda; *P. pentosaceus* 11 ve *L. brevis* 6 ve 12 izolatlarının *L. acidophilus* STD dışındaki diğer 3 STD' ye göre daha iyi gelişim gösterdiği tespit edildi. *L. brevis* 2 ve *L. plantarum* 13 izolatlarının *L. plantarum* STD dışında bulunan diğer 3 STD' ye göre daha iyi gelişim gösterdiği gözlemlendi. Safra tuzu yoğunluğunun %0,5 olduğu ortamda *P. pentosaceus* 1, 10 ve 19 izolatları çalışmada kullanılan 4 STD' ye göre daha iyi gelişim gösterdiği belirlendi. *P. pentosaceus* 11 ve *L. brevis* 2 izolatları *L. acidophilus* STD' ye benzer özellik gösterirken, *L. plantarum* 13 ve *L. brevis* 18 izolatlarının *L. reuteri* STD dışında bulunan 3 standarda göre daha iyi gelişim gösterdi. Safra tuzu yoğunluğunun %1 olduğu ortamda yaptığımız çalışmada; *P. pentosaceus* 1 ve *L. brevis* 18 izolatları *L. acidophilus* STD dışındaki diğer 3 STD'ye göre daha iyi gelişim gösterdiği tespit edildi. *L. plantarum* 9 izolatının *L. acidophilus* STD kıyasla iyi gelişim gösterirken, diğer 3 STD'ye göre benzer özellik sergiledi. *L. plantarum* 13 ve 26 izolatları standartlara kıyasla birbiriyle benzer özellik sergilediği belirlendi. Çalışmamızda kullanılan 12 izolatın da %0,3 %0,5 ve %1 safra tuzu ortamlarında genel olarak gelişim gösterdikleri, literatür çalışmaları ile paralel sonuçlara ulaşıldığı tespit edildi.

### 4.3. Ekzopolisakkarit (EPS)

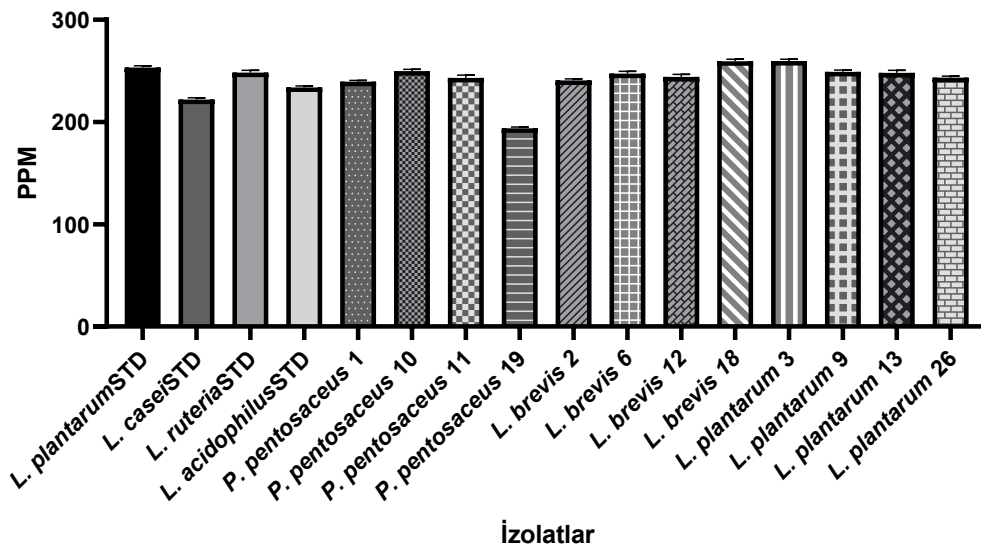
EPS doğal bir polimer olarak bakterilerin buldukları ortamda doğaya salgıladıkları, çevreye faydalı geri dönüşebilen yüksek molekül ağırlığına sahip

polimerler olarak tanımlanır. Farklı kullanım alanlarına sahip EPS' ler genel olarak ilaç üretme, endüstriyel atık arıtma, tekstil, petrol arıtma, tıp ve gıda sanayisinde kullanılır (Freitas ve ark., 2011). EPS' nin son yıllarda tercih edilmesinin sebebi insan sağlığı üzerinde faydalı etki göstermeleridir (Mancuso Nichols ve ark., 2009). LAB' lardan elde edilen EPS' ler ağız içinde tat ve his oluşturmanın yanı sıra kanser, ülser, yüksek kolesterolü önleme, bağışıklık sistemini uyarma ve güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu belirtilmektedir (Doleyres ve ark., 2005; Kim ve ark., 2010; Van Calsteren ve ark., 2002).

Çizelge9. İzolatların EPS içerikleri

BAKTERİLER	EPS MİKTARI (PPM)	ABSORBANS DEĞERİ
<i>L. plantarum</i> STD	253.0±1.82	1.52±0.03
<i>L. casei</i> STD	221.9±1.67	1.37±0.08
<i>L. ruteria</i> STD	248.2±2.04	1.49±0.09
<i>L. acidophilus</i> STD	233.7±1.52	1.41±0.04
<i>P. pentosaceus</i> 1	239.3±1.25 <sup>ebba</sup>	1.44±0.05
<i>P. pentosaceus</i> 10	249.7±1.58 <sup>eaac</sup>	1.50±0.01
<i>P. pentosaceus</i> 11	243.0±2.70 <sup>eaac</sup>	1.47±0.05
<i>P. pentosaceus</i> 19	193.6±1.41 <sup>eece</sup>	1.21±0.01
<i>L. brevis</i> 2	240.5±1.40 <sup>deba</sup>	1.45±0.02
<i>L. brevis</i> 6	247.2±2.02 <sup>aeae</sup>	1.48±0.02
<i>L. brevis</i> 12	243.9±2.60 <sup>beac</sup>	1.47±0.02
<i>L. brevis</i> 18	259.2±2.06 <sup>aece</sup>	1.55±0.03
<i>L. plantarum</i> 3	259.6±1.53 <sup>aece</sup>	1.55±0.08
<i>L. plantarum</i> 9	248.8±1.70 <sup>aeae</sup>	1.49±0.06
<i>L. plantarum</i> 13	247.8±2.50 <sup>aeae</sup>	1.49±0.09
<i>L. plantarum</i> 26	243.3±1.26 <sup>ceac</sup>	1.46±0.05

a: Fark yok. b: \*. c: \*\*. d: \*\*\*. e: \*\*\*\*



Şekil 18. İzolatların EPS dağılımı

EPS miktarının belirlenmesi kapsamında 12 izolat ile yapmış olduğumuz çalışmada, *P. pentosaceus* 19'da  $193.6 \pm 1.41$  ppm oranında az miktarda EPS içerirken *L. brevis* 18 ise  $259.2 \pm 2.06$  ppm oranında en fazla miktarda EPS içerdiği tespit edildi.

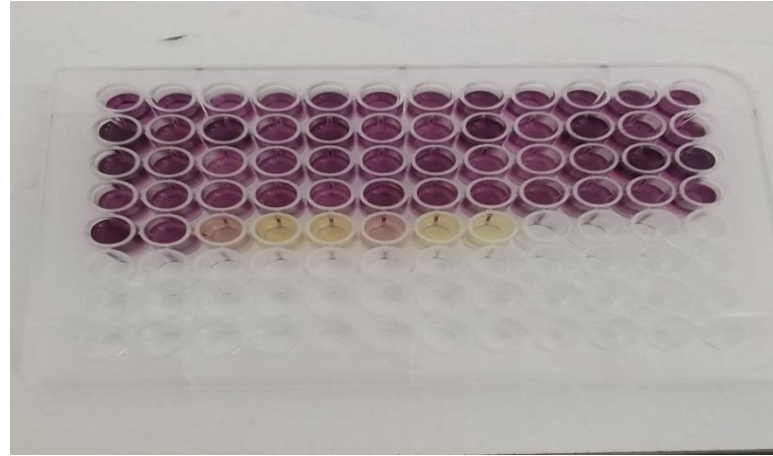
2019 yılında yapılan çalışmada farklı kaynaklarda izole edilen LAB' dan EPS üretiminde 11,9 ile 1,1 mg/L arasında değişiklik gözlenmiştir (Duygu ve Kuleşan, 2019). Yapılan bir çalışmada 182 adet *Lactobacillus* suşlarının EPS üretimi incelenmiş, 60 izolatın EPS ürettiği tespit edilmişken bunlardan 17 tanesinin 100 mg/L üzerinde EPS ürettiği tespit edilmiştir (van Geel-Schutten ve ark., 1998). Yapılan bir çalışmada W22 ile B3 izolatlarında üretilen yoğurtlarda EPS üretim miktarının fazla olduğu tespit edilmiş (Hassan ve ark., 1996). 2007 yılında yapılan bir çalışmada izole edilmiş 174 LAB' nin EPS üretimleri incelenmiş, 50 g/L şeker ilave edilen sütte gelişimi incelenen *Lactococcus lactis* ve *Leuconostoc citreum*' ların ortam sıcaklıkları 37 °C ve 12 saat inkübasyon süresinin sonunda kapsül benzeri polisakkarit üreten *Lactococcus lactis* olduğu tespit edilmiştir. EPS üretiminin ise *Leuconostoc citreum* kıyasla 10 kat daha az olduğu görülmüştür (Van der Meulen ve ark., 2007).

Çalışmamız kapsamında *P. pentosaceus* 19 izolatının dışında geriye kalan 11 izolatın da EPS içeriklerinin fazla olduğu görüldü.

#### **4.4. Antioksidan Özellikler**

##### **4.4.1. DPPH süpürme aktivitesi**

Uzun ömürlü, kararlı bir yapıya sahip olan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), antioksidan aktivite ölçümünde organik ve inorganik maddeler için sıkça kullanılan bir substrattır (Gümüş ve ark., 2020; Ozcelik ve ark., 2003). Yöntemin esası koyu menekşe rengine sahip DPPH çözeltisinin sahip olduğu rengin açılması ve buna bağlı olarak absorbans değerinde azalma meydana gelmesidir. Spektrofotometre yardımı ile Absorbans değerindeki bu azalma ölçülür. DPPH çözeltisinde koyu renk açıldıkça, absorbanstaki değer düşmeye başlar ve absorbans değerinde gerçekleşen azalmanın olması yüksek değerlerde radikal süpürme aktivitesi demektir (Ndhlala ve ark., 2010). Bu, hızlı ve kolay sonuç elde etmek için uygulanan bir yöntemdir.



Şekil 19. İzolatların DPPH süpürme aktiviteleri

Antioksidanların DPPH radikal süpürme aktiviteleri, hidrojen verme yeteneği veya örneklerden radikal süpürme aktivitesinden dolayı olmaktadır. İnhibitörlerin antioksidan aktivitesi, üretilen biyolojik sistemlerde radikal merkezlerini hidrojen veya elektron bağışlayarak nötr etme biçimine bağlıdır. Aktiviteyi göstermesinde önemli bir role sahip olması inhibitörün yapısı ve özellikleri ile alakalıdır.

Çizelge 10. Probiyotiklerin DPPH radikali giderme aktivitelerinin BHA ve AA ile kıyaslanması

İzolatlar	Conc.	10	20	30	IC50
<i>P. pentosaceus 1</i>	%	37,470	27,790	9,940	56,97±0,21
<i>P. pentosaceus 10</i>	%	31,506	31,754	29,7993	37,96±0,59
<i>P. pentosaceus 11</i>	%	35,025	29,401	19,594	45,87±0,57
<i>P. pentosaceus 19</i>	%	42,284	13,058	5,011	83,89±0,34
<i>L. brevis 2</i>	%	29,710	20,320	2,740	89,09±0,22
<i>L. brevis 6</i>	%	36,530	2,248	11,840	91,44±0,46
<i>L. brevis 12</i>	%	32,138	10,745	4,874	102,56±0,22
<i>L. brevis 18</i>	%	29,701	12,433	42,010	38,76±0,23
<i>L.plantarum 3</i>	%	31,730	23,750	17,780	52,8±0,11
<i>L.plantarum 9</i>	%	3,564	22,631	5,037	109,48±0,24
<i>L.plantarum 13</i>	%	49,902	28,802	13,260	47,52±0,28
<i>L.plantarum 26</i>	%	3,036	3,349	27,016	76,92±0,33
<i>L. plantarum STD</i>	%	27,075	18,304	41,059	37,59±0,17
<i>L. casei STD</i>	%	12,172	10,608	27,961	59,52±0,14
<i>L. reuteri STD</i>	%	12,576	21,868	20,207	60,24±0,07
<i>L. acidophilus STD</i>	%	34,178	4,822	12,948	84,75±0,43
<b>BHA</b>	%	75,042	86,810	87,358	13,7±0,10
<b>AA</b>	%	76,436	91,046	92,512	13,05±0,13

2012 yılında Kefir ve boza üzerine yapılan bir çalışmada; DPPH radikalini standart antioksidanlar ile karşılaştırması sonucunda 100µg/ml konsantrasyonda kefirin %10,95 bozanın %10,67 DPPH radikallerini süpürdüğü tespit edilmiştir. DPPH

radikalinin; yüksek konsantrasyonlarda kefir ve bozada tutucu etkiye sahip olduğu görülmüştür (Özpinar, 2012). Polen ve fermente edilen polen örnekleri ile 2016 yılında yapılan bir çalışmada; DPPH antioksidan aktivite sonuçlarına göre Afyon, Sivas ve İzmit bölgelerinden toplanan polen örneklerinden, fermente edilen polenlerin bölgesel olarak %52, %210 ve %44 olarak antioksidan aktivitelerinde artış olduğu saptanmıştır (Gönül, 2016). 2001 yılında *L. delbrueckii spp.* ve *bulgaricus* ile fermente edilen süt üzerinde yaptıkları çalışmada DPPH radikale bağlanma aktivitesi gösteren kaynağı kazein olan bir peptidin olduğu, çalışmalarda kazein kaynaklı peptidlerin antioksidan aktivite sağladığı görülmüştür (Kudoh ve ark., 2001). Yoğurt numuneleri üzerinde yapılan bir çalışmada, DPPH giderme aktiviteleri belirlenmiştir. Birinci ve ikinci haftalarda yapılan çalışmada N, 1P, 2P, 3P ve 4P örneklerine ait yoğurtlarda DPPH giderme aktiviteleri 4P<3P<2P<1P<N şeklinde bulunmuş, ortamın probiyotik oranının artması ile DPPH yüzde oranının arttığı tespit edilmiştir (Çebi, 2019). Fecrinin yapmış olduğu çalışmada 100mg/µl konsantrasyonda kullanılan izolatların %50' nin üzerinde DPPH radikali süpürme aktivitesi gösterdiği tespitinde bulunmuştur (Özkan, 2020). 2012 yılında yapılan çalışmada DPPH giderme aktivitelerini belirlemek için probiyotik ve sinbiyotik yoğurt örneklerinden *L. plantarum* ve *L. fermentum* içeriği bulunan simbiyotik yoğurt numunelerinin DPPH giderme aktivitesinin kontrol grubundan daha yüksek olduğu görülmüştür (Madhu ve ark., 2012). Hashemi ve arkadaşlarının çalışmasında *L. plantarum* ile fermente edilmiş kaymağın DPPH giderme aktivitesinin %50'den fazla olduğunu, antioksidan bakımından *L. plantarum* suşunun faydalı etkileri olduğu tespit edilmiştir (Hashemi ve ark., 2017). 2019 yılında yapılan çalışmada 23 adet LAB DPPH giderme aktiviteleri belirlenmiş, çalışma kapsamında süttten yapılan peynirlerden elde edilen LAB izolatlarının DPPH giderme aktiviteleri *L. rhamnosus* GG içeren probiyotik suşlardan yüksek olduğu tespit edilmiş (Shi vd., 2019).

DPPH radikali süpürme aktivitesi ile yapmış olduğumuz çalışmamızda, 12 izolatın antioksidan özellikleri belirlendi. Çalışma kapsamında *P. pentosaceus* 10 ve *L. brevis* 18 izolatlarının konsantrasyon miktarı artıkça standart olarak kullanılan BHA ve AA aktivitelerine çok yakın aktivite gösterdiği tespit edildi. En yüksek aktiviteyi *P. pentosaceus* 10 izolatı gösterirken en düşük *L. plantarum* 9 izolatı gösterdiği gözlemlendi. Genel olarak çalışma kapsamında DPPH radikali giderme aktivitesi belirlemek amacıyla yaptığımız çalışmada 12 izolatımızın %66,6 oranında iyi sonuç verdiği tespit edildi.

#### 4.4.2. ABTS+ süpürme aktivitesi

ABTS giderme aktivitesinin belirlemek amacıyla yapılan çalışmada Yoğurt örneklerinin birinci ve ikinci haftalarda alınan örneklerin N, 1P, 2P, 3P ve 4P olarak sıralandığı belirlenmiş, ortamda probiyotik mikroorganizmaların artması ile ABTS giderme aktivitesinin arttığı görülmüş (Çebi, 2019). Geleneksel süttten yapılan peynirlerden izole edilen 23 adet LAB'dan 8 izolatin *L. rhamnosus* GG içeren standart probiyotikler ile kıyaslandığında ABTS radikali giderme aktivitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Shi ve ark., 2019).

ABTS radikali süpürme aktivitesi ile yapmış olduğumuz çalışmada 12 izolatin antioksidan özellikleri belirlendi. Çalışma kapsamında, bütün izolatlarımızın konsantrasyon miktarı arttıkça standart olarak kullanılan BHA ve AA benzer özellikler sergilediği, ABTS değerleri birbirine yakın özellik göstermelerinden dolayı çalışılan izolatların hepsinin ortamda iyi aktivite gösterdiği sonucuna varıldı.

**Çizelge 11.** Probiyotiklerin ABTS radikali giderme aktivitelerinin BHA ve AA ile kıyaslanması

İzolatlar	Conc.	10	20	30	IC50
<i>P. pentosaceus 1</i>	%	74,818	76,242	75,719	15,4±0,01
<i>P. pentosaceus 10</i>	%	78,926	75,902	77,156	15,14±0,02
<i>P. pentosaceus 11</i>	%	72,356	77,013	76,804	15,32±0,04
<i>P. pentosaceus 19</i>	%	79,664	78,541	80,513	14,63±0,02
<i>L. brevis 2</i>	%	78,240	77,652	77,920	14,98±0,01
<i>L. brevis 6</i>	%	75,066	76,268	76,399	15,33±0,01
<i>L. brevis 12</i>	%	75,367	76,209	79,997	14,96±0,04
<i>L. brevis 18</i>	%	77,280	75,106	77,940	15,17±0,02
<i>L.plantarum 3</i>	%	72,565	74,146	76,222	15,57±0,03
<i>L.plantarum 9</i>	%	77,652	77,404	77,607	15,04±0,01
<i>L.plantarum 13</i>	%	71,338	73,290	77,169	15,58±0,05
<i>L.plantarum 26</i>	%	76,928	76,941	76,353	15,22±0,01
<i>L. plantarum STD</i>	%	76,784	76,281	76,340	15,27±0,01
<i>L. casei STD</i>	%	70,436	78,893	75,608	15,38±0,06
<i>L. reuteri STD</i>	%	75,445	76,660	74,420	15,48±0,02
<i>L. acidophilus STD</i>	%	70,809	77,110	78,456	15,2±0,06
<b>BHA</b>	%	74,877	79,755	77,607	14,98±0,04
<b>AA</b>	%	75,269	79,109	77,130	15,05±0,03

## 5. SONUÇ

Probiyotik mikroorganizmaların çoğunu laktik asit bakterileri (LAB) oluşturur. Probiyotik olarak kabul edilen bu mikroorganizmaların insan sağlığına faydalı olması için sindirim sisteminde koloni oluşturup zararlı mikroorganizmalara karşı savaşabilmesi gerekmektedir. LAB' ların probiyotik olarak kabul edilebilmesi için midenin pH, pepsin, safra tuzu ve pankreatine karşı dirençli olması ve çoğalabilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada, anne sütünden izole edilen laktik asit bakterilerinin, MALDI-TOF MS tanımlanması ve biyolojik özelliklerinin belirlenmesi amaçlandı. Anne sütünden izole edilen 50 adet suştan MALDI- TOF MS yöntemi ile analiz sonuçlarına göre iyi sonuç veren 27 adet izolat ile çalışılmaya başlandı, çalışmanın ilk etabında pH2 ortamında en iyi sonucu veren 12 adet izolat belirlendi.

Sonuç olarak pH2 ve pH3 pepsin içeren ortamda izolatların genel olarak standartlara kıyasla iyi gelişim gösterdiği görüldü. Çalışmanın diğer safhasında safra tuzuna direnç özelliği belirlendi. Safra yoğunluğunun artması ile izolat gelişimlerinin paralel olduğu, pankreatin ortamının dördüncü saatinde izolatların, bazı standartlar ile benzer özellik gösterdiği ve bir kısmından yüksek anlamlı fark sergiledikleri görüldü. Ekzopolisakkarit tayini sonuçlarına göre, *P. pentosaceus* 19 izolatının standartlara göre daha az, *L. brevis* 18 izolatının daha fazla miktarda EPS içerdiği. İzolatların, antioksidan özelliklerini belirlemek için DPPH ve ABTS radikal süpürme aktivitelerine bakıldı. DPPH süpürme aktivitesi sonuçlarına göre *P. pentosaceus* 1, 10 ve 11, *L. plantarum* 13 ve *L. brevis* 18 izolatları, BHA ve AA standartlarına göre daha düşük ancak standart mikroorganizmalara göre daha yüksek aktivite gösterdi. İzolatların ABTS radikal süpürme aktivite sonuçlarına göre, bütün izolatların standart antioksidanlara benzer aktivite sergilediği belirlendi. Bütün sonuçlar göz önüne alındığında, *L. brevis* 18 nolu izolatın diğer suşlardan ve standart olarak kullanılan mikroorganizmalardan daha iyi aktivite gösterdiği gözlemlendi. Çalışmanın sonuçlarına göre bu mikroorganizmaların *in vivo* çalışmalarının yapılması durumunda ilaç benzeri gıda takviye ürünleri, gıda ve ilaç endüstrisine önemli katkılar sağlayacağı düşünülebilir.

## KAYNAKÇA

- Afric, R. F. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66(5), 365-378.
- Akkuş, İ. (1995). Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya*, 1, 57-63.
- Albesharat, R., Ehrmann, M. A., Korakli, M., Yazaji, S., and Vogel, R. F. (2011). Phenotypic and genotypic analyses of lactic acid bacteria in local fermented food, breast milk and faeces of mothers and their babies. *Systematic and Applied Microbiology*, 34(2), 148-155.
- Alp, D. (2018). Doğal kaynaklardan izole edilen laktik asit bakterilerinin bazı probiyotik özelliklerinin araştırılması ve in vitro bağırsak modelinde patojenlerin tutunmasını engelleme özelliklerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Isparta, Türkiye*.
- Amin, H. J., Zamora, S. A., McMillan, D. D., Fick, G. H., Butzner, J. D., Parsons, H. G., and Scott, R. B. (2002). Arginine supplementation prevents necrotizing enterocolitis in the premature infant. *The Journal of Pediatrics*, 140(4), 425-431.
- Arda, D. B. (2018). 0-2 yaş çocuklarda anne sütü ile beslenme süresinin enfeksiyon sıklığı üzerine etkileri. <https://acikbilim.yok.gov.tr/handle/20.500.12812/644730>
- Arici, M., Bilgin, B., Sagdic, O., & Ozdemir, C. (2004). Some characteristics of Lactobacillus isolates from infant faeces. *Food Microbiology*, 21(1), 19-24.
- Ayechu-Muruzabal, V., van Stigt, A. H., Mank, M., Willemsen, L. E. M., Stahl, B., Garssen, J., and van't Land, B. (2018). Diversity of Human Milk Oligosaccharides and Effects on Early Life Immune Development. *Frontiers in Pediatrics*, 6, 239.
- Barbuddhe, S. B., Maier, T., Schwarz, G., Kostrzewa, M., Hof, H., Domann, E., Chakraborty, T., and Hain, T. (2008). Rapid identification and typing of listeria species by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Applied and environmental microbiology*, 74(17), 5402-5407.
- Belkaid, Y., and Hand, T. W. (2014). Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. *Cell*, 157(1), 121-141.
- Bhakdi, S., and Tranum-Jensen, J. (1991). Alpha-toxin of Staphylococcus aureus. *Microbiological Reviews*. <https://doi.org/10.1128/mr.55.4.733-751.1991>
- Bingöl, M. G., ve Şengün, İ. (2022). Susuz lahanadan turşusundan izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik potansiyeli. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 15(1), 38-49.
- Bosch, M., Fuentes, M. C., Audivert, S., Bonachera, M. A., Peiró, S., and Cuñé, J. (2014). *Lactiplantibacillus plantarum* CECT 7527, 7528 and 7529: Probiotic candidates to reduce cholesterol levels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(4), 803-809.
- Bover-Cid, S., and Holzappel, W. H. (1999). Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 53(1), 33-41.
- Bulkley, G. B. (1983). The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery*, 94, 407-411.
- Butel, M.-J. (2014). Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 44(1), 1-8.

- Ceydilek, B., ve Beyler, A. R. (2005). Safra oluşumunda rol oynayan transport proteinleri Transport proteins in bile production. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 58(2), 68-72.
- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L., and Collins, J. K. (1998). Antibiotic susceptibility of potentially probiotic Lactobacillus species. *Journal of food protection*, 61(12), 1636-1643.
- Chateau, N., Castellanos, I., and Deschamps, A. M. (1993). Distribution of pathogen inhibition in the Lactobacillus isolates of a commercial probiotic consortium. *Journal of applied bacteriology*, 74(1), 36-40.
- Chen, J., Gaikwad, V., Holmes, M., Murray, B., Povey, M., Wang, Y., and Zhang, Y. (2011). Development of a simple model device for in vitro gastric digestion investigation. *Food & Function*, 2(3-4), 174.
- Chong, E. S. L. (2014). A potential role of probiotics in colorectal cancer prevention: Review of possible mechanisms of action. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(2), 351-374.
- Cinar, N., Kose, D., and Dogu, O. (2012). Breast Feeding In Multiple Babies. *Sakarya Medical Journal*, 2(3), 115-121.
- Collado, M. C., Meriluoto, J., and Salminen, S. (2007). Development of New Probiotics by Strain Combinations: Is It Possible to Improve the Adhesion to Intestinal Mucus? *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2710-2716.
- Corcoran, B. M., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., and Ross, R. (2005). Survival of probiotic lactobacilli in acidic environments is enhanced in the presence of metabolizable sugars. *Applied and environmental microbiology*, 71(6), 3060-3067.
- Coşkun, T. (2006). Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 49(2), 21.
- Çakır, İ., ve Çakmakçı, M. L. (2004). Probiyotikler: Tanımı, etki mekanizması, seçim ve güvenilirlik kriterleri. *GIDA*, 29(6), 427-434.
- Çebi, N. (2019). *Probiyotik ilavesinin ev yapımı yoğurdun antioksidan aktivitesi üzerine etkisinin incelenmesi* [Yüksek Lisans Tez]. İstanbul Üniversitesi.
- Çınar, K., ve Yıldız, H. (2019). *Farklı konsantrasyonlarda maviyemiş ilavesiyle üretilen kefirlerin depolama süresince mikrobiyolojik, fizikokimyasal ve in vitro antioksidan kapasitesindeki değişimin tespiti* [Master's Thesis]. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi.
- Darılmaz, D. O., ve Beyatlı, Y. (2012). Investigating Hydrophobicity and the Effect of Exopolysaccharide on Aggregation Properties of Dairy Propionibacteria Isolated from Turkish Homemade Cheeses. *Journal of Food Protection*, 75(2), 359-365.
- De Leoz, M. L. A., Kalanetra, K. M., Bokulich, N. A., Strum, J. S., Underwood, M. A., German, J. B., Mills, D. A., and Lebrilla, C. B. (2015). Human milk glycomics and gut microbial genomics in infant feces show a correlation between human milk oligosaccharides and gut microbiota: A proof-of-concept study. *Journal of proteome research*, 14(1), 491-502.
- Defraigne, J. O., Pincemail, J., Franssen, C., Meurisse, M., Defechereux, T., Philippart, C., Serteyn, D., Lamy, M., Deby, C., and Limet, R. (1993). In vivo free radical production after cross-clamping and reperfusion of the renal artery in the rabbit. *Cardiovascular Surgery*, 1(4), 343-349.
- Delgado, S., O'sullivan, E., Fitzgerald, G., and Mayo, B. (2007). Subtractive screening for probiotic properties of Lactobacillus species from the human gastrointestinal tract in the search for new probiotics. *Journal of Food Science*, 72(8), M310-M315.

- Delibaş, N., ve Özçankaya, R. (1995). Serbest radikaller. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2(3).
- Di Cerbo, A., Palmieri, B., Aponte, M., Morales-Medina, J. C., and Iannitti, T. (2016). Mechanisms and therapeutic effectiveness of lactobacilli. *Journal of Clinical Pathology*, 69(3), 187-203.
- Dobrogosz, W. J., and Stone, R. W. (1962). Oxidative Metabolism in *Pediococcus Pentosaceus* II. Oxidative metabolism in *Pediococcus pentosaceus*. II. Factors controlling the formation of oxidative activities. *Journal of Bacteriology*, 84(4):724-9.
- Doğan, M. (2017). *Bazı Gıdalardan İzole edilen Bakterilerin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması* [PhD Thesis]. İstanbul Aydın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Doleyres, Y., Schaub, L., and Lacroix, C. (2005). Comparison of the functionality of exopolysaccharides produced in situ or added as bioingredients on yogurt properties. *Journal of Dairy Science*, 88(12), 4146-4156.
- dos Reis, S. A., da Conceição, L. L., Siqueira, N. P., Rosa, D. D., da Silva, L. L., and Peluzio, M. do C. G. (2017). Review of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. *Nutrition Research*, 37, 1-19.
- Dunne, C. (2001). Adaptation of bacteria to the intestinal niche: Probiotics and gut disorder. *Inflammatory bowel diseases*, 7(2), 136-145.
- Dunne, C., Murphy, L., Flynn, S., O'Mahony, L., O'Halloran, S., Feeney, M., Morrissey, D., Thornton, G., Fitzgerald, G., and Daly, C. (1999). Probiotics: From myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications*, 76, 279-292.
- Duygu, A. L. P., ve Kuleaşan, H. (2019). Farklı Kaynaklardan İzole Edilmiş Laktik Asit Bakterilerinin Ekzopolisakkarit Üretimi ve Kolesterol Asimilasyonu Yeteneklerinin Belirlenmesi. *Gıda*, 44(2), 191-201.
- Erkkilä, S., and Petäjä, E. (2000). Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat science*, 55(3), 297-300.
- Evren, M., Apan, M., Tutkun, E., ve Evren, S. (2011). Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(1), 11-17.
- Ezema, C. (2013). Probiotics in animal production: A review. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 5(11), 308-316.
- Fang, Y., Xu, H., Shen, L., Huang, F., Yibulayin, S., Huang, S., Tian, S., Hu, Z., He, Z., Li, F., Li, Y., and Zhou, K. (2015). Study on the mechanism of the interaction between acteoside and pepsin using spectroscopic techniques. *Luminescence*, 30(6), 859-866.
- Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R., and Rodríguez, J. M. (2013). The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological research*, 69(1), 1-10.
- Fernández, M. f., Boris, S., and Barbés, C. (2003). Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*, 94(3), 449-455.
- Fontana, L., Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Muñoz-Quezada, S., and Gil, A. (2013). Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *British Journal of Nutrition*, 109(S2), S35-S50.
- Freitas, F., Alves, V. D., and Reis, M. A. (2011). Advances in bacterial exopolysaccharides: From production to biotechnological applications. *Trends in biotechnology*, 29(8), 388-398.

- Fukushima, Y., Kawata, Y., Hara, H., Terada, A., and Mitsuoka, T. (1998). Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children. *International Journal of Food Microbiology*, 42(1), 39-44.
- Fuller, R. (1991). Probiotics in human medicine. *Gut*, 32(4), 439-442.
- Gan, Y., Su, S., Li, B., and Fang, C. (2019). Efficacy of Probiotics and Prebiotics in Prevention of Infectious Complications Following Hepatic Resections: Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, 28, 205-211.
- Garcia-Garcia, J. H., Damas-Buenrostro, L. C., Cabada-Amaya, J. C., Elias-Santos, M., and Pereyra-Alferez, B. (2017). *Pediococcus damnosus* strains isolated from a brewery environment carry the *horA* gene: *P. damnosus* strains carry the *horA* gene. *Journal of the Institute of Brewing*, 123(1), 77-80.
- Gilliland, S. E., Nelson, C. R., and Maxwell, C. (1985). Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and environmental microbiology*, 49(2), 377-381.
- Gilliland, S. E., Staley, T. E., and Bush, L. J. (1984). Importance of Bile Tolerance of *Lactobacillus acidophilus* Used as a Dietary Adjunct. *Journal of Dairy Science*, 67(12), 3045-3051.
- Goktepe, I., Juneja, V. K., and Ahmedna, M. (2005). *Probiotics in Food Safety and Human Health*. CRC Press.
- Goldsmith, F., O'Sullivan, A., Smilowitz, J. T., and Freeman, S. L. (2015). Lactation and intestinal microbiota: How early diet shapes the infant gut. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 20(3), 149-158.
- Gönül, S. (2016). *Polen Fermentasyonunun Fenolik Bileşiklerin Biyoyararlılığı Ve Profilleri Üzerindeki Etkisi* [PhD Thesis]. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Gueimonde, M., and Salminen, S. (2006). New methods for selecting and evaluating probiotics. *Digestive and Liver Disease*, 38, S242-S247.
- Guo, L., Ye, L., Zhao, Q., Ma, Y., Yang, J., and Luo, Y. (2014). Comparative study of MALDI-TOF MS and VITEK 2 in bacteria identification. *Journal of Thoracic Disease*, 6(5), 534-538.
- Gutiérrez-Cortés, C., Suarez, H., Buitrago, G., Nero, L. A., and Todorov, S. D. (2018). Enhanced Bacteriocin Production by *Pediococcus pentosaceus* 147 in Co-culture With *Lactobacillus plantarum* LE27 on Cheese Whey Broth. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2952. h
- Gümüş, A., Okumuş, V., ve Gümüş, S. (2020). Synthesis, biological evaluation of antioxidant-antibacterial activities and computational studies of novel anthracene-and pyrene-based Schiff base derivatives. *Turkish Journal of Chemistry*, 44(4), 1200-1215.
- Hammes, W. P., and Vogel, R. F. (1995). The genus *Lactobacillus*. İçinde B. J. B. Wood & W. H. Holzapfel (Ed.), *The Genera of Lactic Acid Bacteria* (ss. 19-54). Springer US.
- Harmsen, H. J. M., Wildeboer-Veloo, A. C. M., Raangs, G. C., Wagendorp, A. A., Klijn, N., Bindels, J. G., and Welling, G. W. (2000). Analysis of Intestinal Flora Development in Breast-Fed and Formula-Fed Infants by Using Molecular Identification and Detection Methods. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 30(1), 61.
- Hashemi, S. M. B., Mousavi Khaneghah, A., Kontominas, M. G., Eş, I., Sant'Ana, A. S., Martinez, R. R., and Drider, D. (2017). Fermentation of sarshir (kaymak) by lactic acid bacteria: Antibacterial activity, antioxidant properties, lipid and

- protein oxidation and fatty acid profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(13), 4595-4603.
- Hassan, A. N., Frank, J. F., Schmidt, K. A., and Shalabi, S. I. (1996). Textural properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures. *Journal of Dairy Science*, 79(12), 2098-2103.
- Heikkilä, M. p., & Saris, P. e. j. (2003). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of Applied Microbiology*, 95(3), 471-478.
- Holland, R., Crow, V., and Curry, B. (2011). Lactic Acid Bacteria | *Pediococcus* spp. İçinde *Encyclopedia of Dairy Sciences* (ss. 149-152). Elsevier.
- Holler, J. G., Pedersen, L. K., Calum, H., Nielsen, J. B., Tvede, M., Schønning, K., and Knudsen, J. D. (2011). Using MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid and accurate diagnostic tool in infective endocarditis: A case report of a patient with mitral valve infective endocarditis caused by *Abiotrophia defectiva*. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 43(3), 234-237.
- Holscher, H. D. (2012). *The role of probiotics, prebiotics, and human milk oligosaccharides in infant formulae*. University of Illinois at Urbana-Champaign.
- Hongpattarakere, T., Chertong, N., Wichienchot, S., Kolida, S., and Rastall, R. A. (2012). In vitro prebiotic evaluation of exopolysaccharides produced by marine isolated lactic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*, 87(1), 846-852.
- Huang, R., Tao, X., Wan, C., Li, S., Xu, H., Xu, F., Shah, N. P., and Wei, H. (2015). In vitro probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* ZDY 2013 and its modulatory effect on gut microbiota of mice. *Journal of dairy science*, 98(9), 5850-5861.
- Ivanova, I., Ignatova, C., and Iliev, I. (2006). Glucansucrases from lactic acid bacteria (LAB). *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 20(3), 15-20.
- Jiménez, E., Delgado, S., Maldonado, A., Arroyo, R., Albújar, M., García, N., Jariod, M., Fernández, L., Gómez, A., and Rodríguez, J. M. (2008). *Staphylococcus epidermidis*: A differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. *BMC microbiology*, 8(1), 1-11.
- Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C., and Chassard, C. (2015). Impact of human milk bacteria and oligosaccharides on neonatal gut microbiota establishment and gut health. *Nutrition Reviews*, 73(7), 426-437.
- Kačániová, M., Terentjeva, M., Godočiková, L., Puchalski, C., Kunová, S., Kluz, M., Kordiaka, R., and Haščík, P. (2017). Identification of Lactic Acid Bacteria in Milk and Milk Products with MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Scientific Papers: Animal Science & Biotechnologies/Lucrari Stiintifice: Zootehnie si Biotehnologii*, 50(1).
- Kambourova, M., Oner, E. T., and Poli, A. (2015). Exopolysaccharides from prokaryotic microorganisms—Promising sources for white biotechnology processes. İçinde *Industrial Biorefineries and White Biotechnology* (ss. 523-554). Elsevier.
- Kaya, Y. (2020). *Farklı kaynaklardan izole edilen laktik asit bakterilerinin (LAB) probiyotik potansiyelinin belirlenmesi* [Master's Thesis]. Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Kehrer, J. P. (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical reviews in toxicology*, 23(1), 21-48.
- Kılıç Kanak, eda, ve Öztürk Yılmaz, S. (2018). Identification of lactic acid bacteria isolated from traditionally produced local cheese by MALDI-TOF MS

- and determination of antibiotic resistants. *Sakarya University Journal of Science*, 1055-1062.
- Kim, Y., Oh, S., Yun, H. S., Oh, S., and Kim, S. H. (2010). Cell-bound exopolysaccharide from probiotic bacteria induces autophagic cell death of tumour cells. *Letters in applied microbiology*, 51(2), 123-130.
- Kimura, W. (2000). Surgical anatomy of the pancreas for limited resection. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery*, 7(5), 473-479.
- Klaenhammer, T. R. (2000). Probiotic Bacteria: Today and Tomorrow. *The Journal of Nutrition*, 130(2), 415S-416S.
- Koçak, Y., Findik, A., and Çiftçi, A. (2016). Probiyotikler: Genel Özellikleri ve Güvenilirlikleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 27(2), 118-122.
- Korhonen, H., and Pihlanto, A. (2003). Food-derived Bioactive Peptides—Opportunities for Designing Future Foods. *Current Pharmaceutical Design*, 9(16), 1297-1308.
- Kudoh, Y., Matsuda, S., Igoshi, K., and Oki, T. (2001). Antioxidative peptide from milk fermented with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IFO13953. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Japan)*.
- Lactobacillus Plantarum: Özellikleri, Morfoloji, uygulamalar—Bilim.* (2022, Ocak 9). <https://tr.warbletoncouncil.org/lactobacillus-plantarum>.
- Lin, H., Zhang, M., Wang, F., Meng, F., Liao, B.-Q., Hong, H., Chen, J., and Gao, W. (2014). A critical review of extracellular polymeric substances (EPSs) in membrane bioreactors: Characteristics, roles in membrane fouling and control strategies. *Journal of Membrane science*, 460, 110-125.
- Lin, M.-Y., and Yen, C.-L. (1999). Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(4), 1460-1466.
- Lu, Z., Breidt, F., Fleming, H. P., Altermann, E., and Klaenhammer, T. R. (2003). Isolation and characterization of a *Lactobacillus plantarum* bacteriophage, ΦJL-1, from a cucumber fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 84(2), 225-235.
- MacDonald, T. T., and Spencer, J. (1994). Ontogeny of the gut-associated lymphoid system in man. *Acta Paediatrica*, 83(395), 3-5.
- Madhu, A. N., Amrutha, N., and Prapulla, S. G. (2012). Characterization and antioxidant property of probiotic and synbiotic yogurts. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 4(2), 90-97.
- Mainville, I., Arcand, Y., and Farnworth, E. R. (2005). A dynamic model that simulates the human upper gastrointestinal tract for the study of probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 99(3), 287-296.
- Maldonado, N. C., and Nader, M. E. F. (2015). Functional properties (acid and bile tolerance) and antibiotic susceptibility of lactic acid bacteria isolated from newborn calves for the design of a probiotic product. *International Journal of Veterinary Science and Research*, 1(1), 011-022.
- Mancuso Nichols, C. A., Nairn, K. M., Glattauer, V., Blackburn, S. I., Ramshaw, J. A., and Graham, L. D. (2009). Screening microalgal cultures in search of microbial exopolysaccharides with potential as adhesives. *The Journal of Adhesion*, 85(2-3), 97-125.
- Mann, C. D., Briggs, C. D., Neal, C. P., Rajesh, A., and Berry, D. P. (2009). Defining ductal anatomy using CT cholangiography in a patient with gallbladder duplication. *The British Journal of Radiology*, 82(981), 175-177.

- Maragkoudakis, P. A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., and Tsakalidou, E. (2006). Probiotic potential of Lactobacillus strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16(3), 189-199.
- Martin, C. R., Ling, P.-R., and Blackburn, G. L. (2016). Review of Infant Feeding: Key Features of Breast Milk and Infant Formula. *Nutrients*, 8(5), 279.
- Martín, R., Heilig, G. H. J., Zoetendal, E. G., Smidt, H., and Rodríguez, J. M. (2007). Diversity of the Lactobacillus group in breast milk and vagina of healthy women and potential role in the colonization of the infant gut. *Journal of applied microbiology*, 103(6), 2638-2644.
- Matos, A. A. C. de. (2016). *Development of bile acid sequestrants based on cationic hydrogels* [PhD Thesis].
- Matsuki, T., Yahagi, K., Mori, H., Matsumoto, H., Hara, T., Tajima, S., Ogawa, E., Kodama, H., Yamamoto, K., Yamada, T., Matsumoto, S., and Kurokawa, K. (2016). A key genetic factor for fucosyllactose utilization affects infant gut microbiota development. *Nature Communications*, 7(1), 11939.
- McGuire, M. K., and McGuire, M. A. (2017). Got bacteria? The astounding, yet not-so-surprising, microbiome of human milk. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 63-68.
- Melda, O., ve Harun, Ö. (2021). Farklı Gıda Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 32, 562-572.
- Mende, S., Rohm, H., and Jaros, D. (2016). Influence of exopolysaccharides on the structure, texture, stability and sensory properties of yoghurt and related products. *International Dairy Journal*, 52, 57-71.
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 91-96.
- Merritt, M. E., and Donaldson, J. R. (2009). Effect of bile salts on the DNA and membrane integrity of enteric bacteria. *Journal of medical microbiology*, 58(12), 1533-1541.
- Mishra, V., and Prasad, D. N. (2005). Application of in vitro methods for selection of Lactobacillus casei strains as potential probiotics. *International journal of food microbiology*, 103(1), 109-115.
- Mombelli, B., and Gismondo, M. R. (2000). The use of probiotics in medical practice. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 16(4), 531-536.
- Morelli, L. (2007). In vitro assessment of probiotic bacteria: From survival to functionality. *International Dairy Journal*, 17(11), 1278-1283.
- Murphy, K., Curley, D., O'Callaghan, T. F., O'Shea, C.-A., Dempsey, E. M., O'Toole, P. W., Ross, R. P., Ryan, C. A., and Stanton, C. (2017). The composition of human milk and infant faecal microbiota over the first three months of life: A pilot study. *Scientific reports*, 7(1), 1-10.
- Musumeci, M., Simpure, J., D'Agata, A., Sotgiu, S., and Musumeci, S. (2006). Oligosaccharides in Colostrum of Italian and Burkinabe Women. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 43(3), 372.
- Nagai, H. (2003). Configurational anatomy of the pancreas: Its surgical relevance from ontogenetic and comparative-anatomical viewpoints. *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery*, 10(1), 48-56.
- Naidu, A. S., Bidlack, W. R., and Clemens, R. A. (1999). Probiotic Spectra of Lactic Acid Bacteria (LAB). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39(1), 13-126.

- Ndhkala, A. R., Moyo, M., and Van Staden, J. (2010). Natural antioxidants: Fascinating or mythical biomolecules? *Molecules*, 15(10), 6905-6930.
- Oral, Hande. (2015). *Farklı Kaynaklardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi*.
- Ozcelik, B., Lee, J. H., and Min, D. B. (2003). Effects of light, oxygen, and pH on the absorbance of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of Food Science*, 68(2), 487-490.
- Ozgun, D., ve Vural, H. C. (2011). Identification of Lactobacillus strains isolated from faecal specimens of babies and human milk colostrum by API 50 CHL system. *Journal of Medical Genetics and Genomics*, 3(3), 46-49.
- Özkan, A. İ. (2015). *Yeni sentezlenmiş bazı geçiş metal komplekslerinin antimikrobiyal, antioksidan ve mutajenik aktivitelerinin araştırılması*.
- Özkan, F. (2020). *Turşulardan izole edilmiş lactobacillus plantarum suşlarının probiyotik ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi* [Master's Thesis]. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Özpinar, A. (2012). *Kefir ve bozanın in vitro antioksidan aktivitelerinin araştırılması* [Tez (Yüksek Lisans)]. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Padberg Jr, F. T., Franco, C. D., Kerr, J. C., Lynch, T. G., Burns, W. F., and Hobson 2nd, R. W. (1989). Acute ischemia-reperfusion injury in the canine hindlimb. *The Journal of cardiovascular surgery*, 30(6), 925-931.
- Pidoux, M. (1989). The microbial flora of sugary kefir grain (the gingerbeer plant): Biosynthesis of the grain from *Lactobacillus hilgardii* producing a polysaccharide gel. *MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 5(2), 223-238.
- Pineda, F. J., Antoine, M. D., Demirev, P. A., Feldman, A. B., Jackman, J., Longenecker, M., and Lin, J. S. (2003). Microorganism Identification by Matrix-Assisted Laser/Desorption Ionization Mass Spectrometry and Model-Derived Ribosomal Protein Biomarkers. *Analytical Chemistry*, 75(15), 3817-3822.
- Ramirez-Chavarin, M. L., Wachter, C., Eslava-Campos, C. A., and Perez-Chabela, M. L. (2013). Probiotic potential of thermotolerant lactic acid bacteria strains isolated from cooked meat products. *International Food Research Journal*, 20(2).
- Ramos, A. N., Sesto Cabral, M. E., Nosedá, D., Bosch, A., Yantorno, O. M., and Valdez, J. C. (2012). Antipathogenic properties of *Lactobacillus plantarum* on *Pseudomonas aeruginosa*: The potential use of its supernatants in the treatment of infected chronic wounds. *Wound Repair and Regeneration*, 20(4), 552-562.
- Rao, Y., Tao, Y., Li, Y., She, X., Yang, J., Qian, Y., Du, H., Liu, L., and Xiao, H. (2019). Characterization of a probiotic starter culture with anti-Candida activity for Chinese pickle fermentation. *Food & Function*, 10(10), 6936-6944.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Remaud-Simeon, M., Willemot, R.-M., Sarçabal, P., de Montalk, G. P., and Monsan, P. (2000). Glucansucrases: Molecular engineering and oligosaccharide synthesis. *Journal of molecular catalysis B: Enzymatic*, 10(1-3), 117-128.
- Rochow, N., Fusch, G., Choi, A., Chessell, L., Elliott, L., McDonald, K., Kuiper, E., Purcha, M., Turner, S., Chan, E., Xia, M. Y., and Fusch, C. (2013). Target Fortification of Breast Milk with Fat, Protein, and Carbohydrates for Preterm Infants. *The Journal of Pediatrics*, 163(4), 1001-1007.

- Rushdy, A. A., and Gomaa, E. Z. (2013). Antimicrobial compounds produced by probiotic *Lactobacillus brevis* isolated from dairy products. *Annals of Microbiology*, 63(1), 81-90.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., and Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84(3), 197-215.
- Savcı, A. (2012). *Rat karaciğer ve böbrek dokularında 2, 3, 7, 8-Tetraklorodibenzo-p-dioksin (TCDD)'nin neden olduğu oksidatif stres üzerine protokateşik asit'in koruyucu etkilerinin araştırılması* [Yüksek Lisans Tez]. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Schaafsma, G. (1996). State of the art concerning probiotic strains in milk products. *IDF Nutr Newsl*, 5, 23-24.
- Selin, U., ve Yüksekdağ, Z. (t.y.). Lactobacillus Cinsi Bakterilerinin Farklı Yöntemler ile Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 1(1-2), 13-21.
- Seng, P., Drancourt, M., Gourié, F., La Scola, B., Fournier, P.-E., Rolain, J. M., and Raoult, D. (2009). Ongoing Revolution in Bacteriology: Routine Identification of Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Clinical Infectious Diseases*, 49(4), 543-551.
- Sherman, M. P., Zaghouni, H., and Niklas, V. (2015). Gut microbiota, the immune system, and diet influence the neonatal gut-brain axis. *Pediatric Research*, 77(1), 127-135.
- Shi, Y., Cui, X., Gu, S., Yan, X., Li, R., Xia, S., Chen, H., and Ge, J. (2019). Antioxidative and probiotic activities of lactic acid bacteria isolated from traditional artisanal milk cheese from Northeast China. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(4), 1086-1099.
- Shinde, A., Ganu, J., and Naik, P. (2012). Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress: A Review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63.
- Singh, V., Ganger, S., and Patil, S. (2020). Characterization of *Lactobacillus brevis* with Potential Probiotic Properties and Biofilm Inhibition against *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings*, 66(1), 14.
- Soliman, A. H. S., Sharoba, A. M., Bahlol, H. E. M., Soliman, A. S., and Radi, O. M. M. (2015). Evaluation of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* for probiotic characteristics. *Middle East Journal of Applied Sciences*, 5(1), 10-18.
- Solis, G., de los Reyes-Gavilan, C. G., Fernández, N., Margolles, A., and Gueimonde, M. (2010). Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. *Anaerobe*, 16(3), 307-310.
- Soomro, A. H., Masud, T., and Anwaar, K. (2002). Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-a review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1), 20-24.
- Sönmez Mehmet. (2018). *Anne Sütünden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin 16s Rrna Dizi Analizi Ile Tanımlanması, Antibiyotik Dirençlilik Ve Antibakteryal Aktivitelerinin Belirlenmesi*. Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Spelzini, D., Peleteiro, J., Picó, G., and Farruggia, B. (2008). Polyethyleneglycol-pepsin interaction and its relationship with protein partitioning in aqueous two-phase systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 67(2), 151-156.
- Stuebe, A. (2009). The Risks of Not Breastfeeding for Mothers and Infants. *Reviews in Obstetrics and Gynecology*, 2(4), 222-231.

- Suh, M.-J., and Limbach, P. A. (2004). Investigation of methods suitable for the matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric analysis of proteins from ribonucleoprotein complexes. *European journal of mass spectrometry*, 10(1), 89-99.
- Surayot, U., Wang, J., Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Tabarsa, M., Lee, Y., Kim, J.-K., Park, W., and You, S. (2014). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Structural analysis, molecular weight effect on immunomodulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 68, 233-240.
- Şener, G., ve Berrak Ç, Y. (2009). İskemi reperfüzyon hasarı. *Klinik Gelişim Derg*, 22(3), 5-14.
- Tannock, G. W. (1997). Probiotic properties of lactic-acid bacteria: Plenty of scope for fundamental R and D. *Trends in Biotechnology*, 15(7), 270-274.
- Tannock, G. W. (1999). Identification of Lactobacilli and Bifidobacteria. *Current Issues in Molecular Biology*, 1(1), 53-64.
- Tasli, L., Mat, C., De Simone, C., and Yazici, H. (2006). Lactobacilli lozenges in the management of oral ulcers of Behçet's syndrome. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 24(5 Suppl 42), S83-6.
- Taşdemir, A. (2017). Probiyotikler, Prebiyotikler, Sinbiyotikler. *Sağlık Akademisi Kastamonu*, 2(1), 71-88.
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Bağder Elmacı, S., Arslankoz İşleyen, N., ve Özçelik, F. (2015). In vitro properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles. *BioMed Research International*, 2015.
- Usta, B., ve Yılmaz-Ersan, L. (2013). Sütün Antioksidan Enzimleri ve Biyolojik Etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(2), 123-130.
- Uymaz, B. (2010). Probiyotikler ve Kullanım Alanları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1), 95-104.
- Van Calsteren, M.-R., Pau-Roblot, C., Bégin, A., and Roy, D. (2002). Structure determination of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strains RW-9595M and R. *Biochemical Journal*, 363(1), 7-17.
- Van der Meulen, R., Grosu-Tudor, S., Mozzi, F., Vaningelgem, F., Zamfir, M., de Valdez, G. F., and De Vuyst, L. (2007). Screening of lactic acid bacteria isolates from dairy and cereal products for exopolysaccharide production and genes involved. *International journal of food microbiology*, 118(3), 250-258.
- van Geel-Schutten, G. H., Flesch, F., Ten Brink, B., Smith, M. R., and Dijkhuizen, L. (1998). Screening and characterization of Lactobacillus strains producing large amounts of exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50(6), 697-703.
- Vasiljevic, T., and Shah, N. P. (2008). Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18(7), 714-728.
- Vinderola, C. G., and Reinheimer, J. A. (2003). Lactic acid starter and probiotic bacteria: A comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 36(9-10), 895-904.
- Virtanen, T., Pihlanto, A., Akkanen, S., and Korhonen, H. (2007). Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. *Journal of applied microbiology*, 102(1), 106-115.
- Wade, M. E., Strickland, M. T., Osborne, J. P., and Edwards, C. G. (2019). Role of *Pediococcus* in winemaking: *Pediococcus* in winemaking. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 25(1), 7-24.
- Waki, N., Matsumoto, M., Fukui, Y., & Suganuma, H. (2014). Effects of probiotic *Lactobacillus brevis* KB 290 on incidence of influenza infection among

- schoolchildren: An open- label pilot study. *Letters in Applied Microbiology*, 59(6), 565-571.
- Wang, B., McVeagh, P., Petocz, P., and Brand-Miller, J. (2003). Brain ganglioside and glycoprotein sialic acid in breastfed compared with formula-fed infants. *The American journal of clinical nutrition*, 78(5), 1024-1029.
- Wang, L., Hu, L., Yan, S., Jiang, T., Fang, S., Wang, G., Zhao, J., Zhang, H., and Chen, W. (2017). Effects of different oligosaccharides at various dosages on the composition of gut microbiota and short-chain fatty acids in mice with constipation. *Food and Function*, 8(5), 1966-1978.
- Welman, A. D., and Maddox, I. S. (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Perspectives and challenges. *Trends in biotechnology*, 21(6), 269-274.
- Whitman, W. B., Coleman, D. C., and Wiebe, W. J. (1998). Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(12), 6578-6583.
- Wieser, A., Schneider, L., Jung, J., and Schubert, S. (2012). MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—Identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(3), 965-974.
- Wu, Z., Hu, X., Tao, C., Li, Y., Liu, J., Yang, C., Shen, D., and Li, G. (2008). Direct and label-free detection of cholic acid based on molecularly imprinted photonic hydrogels. *Journal of Materials Chemistry*, 18(45), 5452.
- Yılmaz, M., ve Çelik, G. Y. (2007). Bakteriyel ekstraselüler polisakkaritler (EPS). *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2), 7-13.
- Yılsay, T., ve Kurdal, E. (2000). Probiyotik süt ürünlerinin beslenme ve sağlık üzerindeki etkisi. *VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu (Ed. M. Demirci), Tekirdağ*, 279-286.
- Yoshioka, H., Iseki, K., and Fujita, K. (1983). Development and Differences of Intestinal Flora in the Neonatal Period in Breast-Fed and Bottle-Fed Infants. *Pediatrics*, 72(3), 317-321.
- Yu, Z., Zhang, X., Li, S., Li, C., Li, D., and Yang, Z. (2013). Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese sauerkraut. *World Journal of Microbiology and biotechnology*, 29(3), 489-498.
- Zheng, H., Chen, Y., Zhang, J., Wang, L., Jin, Z., Huang, H., Man, S., and Gao, W. (2016). Evaluation of protective effects of costunolide and dehydrocostuslactone on ethanol-induced gastric ulcer in mice based on multi-pathway regulation. *Chemico-biological interactions*, 250, 68-77.
- Zoral, S. (2013). *İnsan kaynaklı Lactobacillus spp. Suşlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi* [Master's Thesis]. Fen Bilimleri Enstitüsü.