



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TURŞULARDAN İZOLE EDİLMİŞ
***Lactobacillus plantarum* SUŞLARININ**
PROBİYOTİK VE ANTİOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Fecri ÖZKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Nisan-2020
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır



T.C.
MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TURŞULARDAN İZOLE EDİLMİŞ
Lactobacillus plantarum SUŞLARININ
PROBİYOTİK VE ANTIOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Fecri ÖZKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN

Nisan-2020
MUŞ
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

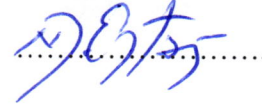
Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN Danışmanlığında Fecri ÖZKAN tarafından hazırlanan “Turşulardan İzole Edilmiş *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Probiyotik ve Antioksidan Özelliklerin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 16/04/2020 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Metin ERTAŞ
Hakkari Üniversitesi
Yüksekova MYO
Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü



Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN
Muş Alparslan Üniversitesi
Eğitim Fakültesi
Temel Eğitimi Bölümü

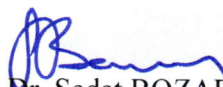


Üye

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet SAVCI
Muş Alparslan Üniversitesi
Fen Edebiyat Fakültesi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü



Yukarıdaki sonuç;
Enstitü Yönetim Kurulu 29/04/2020 Tarih ve 12/I nolu kararı ile onaylanmıştır.


Doç. Dr. Sedat BOZARI
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

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 materials and results that are not original to this work.



Fecri ÖZKAN

Tarih: 16/04/2020

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Turşulardan İzole Edilmiş *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Probiyotik ve Antioksidan özelliklerinin Belirlenmesi

Fecri ÖZKAN

**Muş Alparslan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN

Bu çalışmada, geleneksel olarak üretilen turşulardan izole edilmiş *Lactobacillus plantarum* suşlarının probiyotik ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *L. plantarum* suşlarının probiyotik kapasitelerinin belirlenmesinde suşların pH, pepsin, pankreatin ve safra tuzlarına karşı direnç özellikleri araştırılmıştır. Araştırmada ayrıca *L. plantarum* suşlarının redükte glutasyon (GSH), malondialdehit (MDA) seviyeleri, glutasyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri ile 1,1-difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) radikal giderme aktiviteleri ölçülerek antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; pH1.0'de izolatların 1. saat dışında aktivite göstermedikleri belirlenmiştir. İzolatların pH 2.0 ve pH 3.0'te ise zamana bağlı olarak aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. İzolatların pepsin, pankreatin ve safra tuzuna karşı direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Antioksidan özellikler bakımından; izolatların DPPH radikalini gidermede ve MDA seviyelerini düşürmede iyi etki gösterdikleri belirlenmiştir. İzolatların GSH-Px, CAT enzim aktivitesi ve GSH seviyelerine bakıldığında ise, suşlarının büyük bir kısmının kontrollerden daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Y51 ve Y72 nolu izolatların pH 1.0'deki aktiviteleri diğer izolatlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Y5 nolu izolatın DPPH süpürmede iyi bir etki gösterdiği ve Y1 nolu izolatın katalaz aktivitesinin ise kontrolden 20 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde Y25 nolu izolatın hem probiyotik özellik hem de antioksidan kapasite açısından en iyi aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen bulgular ışığında; Y25 nolu izolatın kullanılmasının gıda, ilaç ve ilaç benzeri takviye gıda ürünleri endüstrilerine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2020, 79 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Antioksidan aktivite, Laktik asit bakterileri *L. plantarum*, Probiyotik, Turşu.

ABSTRACT

MS Thesis

Determination of Probiotic and Antioxidant Properties of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Pickles

Fecri ÖZKAN

Muş Alparslan University

The Graduate School of Natural and Applied Science

Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Yusuf ALAN

In this study, probiotic and antioxidant capacities of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from conventional pickles were assessed. In order to determine the probiotic capacities of *L. plantarum* strains, their resistance was examined against pH, pepsin, pancreatin and bile salts. For their antioxidant capacities, the level of reduced glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) and the enzyme activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) were evaluated. Moreover, 1,1-diphenyl 2-picrylhydrazyl (DPPH •) radical removal activities were measured for this purpose. The results indicated that at pH 1.0 the isolates did not exhibit any activity apart from the first hour, whereas at pH 2.0 and pH 3.0 the isolates showed some activity with time. It was found that the isolates resisted to pepsin, pancreatin and bile salt. With regards to antioxidant properties, the isolates were observed to remove DPPH radical and considerably reduce MDA levels. When the enzyme activities of GSH-Px and CAT and the GSH levels of the isolates were analysed, most of the strains were seen to show much higher activity than the controls. Moreover, the activities of Y51 and Y72 isolates at pH 1.0 were higher than other isolates. The Y5 isolate did significantly sweep DPPH, and the catalase activity of Y1 isolate was 20 times higher than the control. In general, the Y25 isolate was found to show the highest activity in terms of both probiotic properties and antioxidant capacity. In the light of these findings, the use of isolate Y25 will contribute to the food, medicine and drug-like supplement food products industries.

2020, 79 Pages

Key Words: Antioxidant activity, *L. plantarum*, Lactic acid bacteria, Pickles, Probiotic.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen ve özenle takip eden tez danışmanlığımı yürüten kıymetli hocam Muş Alparslan Üniversitesi Eğitim Fakültesi Temel Eğitim Bölümü ABD Üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yusuf ALAN'a,

Akademik hayatındaki tecrübelerini paylaşan, tez çalışmalarımın gerçekleşmesinde olanağı sağlayan Muş Alparslan Üniversitesi Moleküler Biyoloji ABD Başkanı Dr. Öğr. Üyesi Sayın Ahmet SAVCI'ya, Muş Alparslan Üniversitesi Moleküler Biyoloji ABD Dr. Öğr. Üyesi Sayın Hüseyin ALLAHVERDİ'ye, Muş Alparslan Üniversitesi Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölüm Başkanı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Enver Fehim KOÇPINAR'a, Yüksek Lisans'tan arkadaşım Nimet YILMAZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Manevi desteklerinden dolayı eşime teşekkürler.

Fecri ÖZKAN

Nisan, 2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
ÇİZELGELER LİSTESİ	x
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Probiyotikler.....	2
1.1.1. Probiyotiklerin tarihçesi	3
1.1.2. Probiyotiklerin kullanım alanları	4
1.1.3. Probiyotik mikroorganizmalar	5
1.1.3.1. Probiyotik olarak kullanılan bakteriler.....	5
1.1.3.2. Probiyotik bakterilerin özellikleri	6
1.1.3.3. Probiyotik bakterilerin etki mekanizması	7
1.1.4. Laktik asit bakterileri	8
1.1.5. <i>Lactobacillus plantarum</i>	10
1.2. Probiyotik Özellik	11
1.2.1. pH.....	12
1.2.2. Pepsin	13
1.2.3. Pankreatin.....	14
1.2.4. Safra	14
1.3. Probiyotiklerin Antioksidan Özellikleri	15
1.3.1. Serbest radikaller ve oksidatif stres	15
1.3.2. Antioksidanlar	17
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	20
3. MATERYAL ve YÖNTEM	24
3.1. Materyal	24
3.1.1. <i>Lactobacillus plantarum</i> suşlarının temini.....	24
3.1.3 Çalışmada kullanılan çözeltiler ve tamponlar	24
3.1.4. Yararlanılan alet ve cihazlar.....	25
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. Probiyotik özelliklerin belirlenmesi	25
3.2.1.1. <i>L. plantarum</i> suşlarının farklı pH değerlerine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi.....	25
3.2.1.2. <i>L. plantarum</i> suşlarının pepsine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi	26
3.2.1.3. <i>L. plantarum</i> suşlarının pankreatine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi.....	26
3.2.1.4. <i>L. plantarum</i> suşlarının safra tuzuna karşı direnç özelliğinin belirlenmesi ..	27

3.2.2. <i>L. plantarum</i> suşlarının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi.....	27
3.2.2.1. Redükte Glutasyon (GSH) düzeylerinin belirlenmesi	27
3.2.2.2. Malondialdehit (MDA) düzeylerinin belirlenmesi.....	28
3.2.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin belirlenmesi	29
3.2.2.4. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	30
3.2.2.5. DPPH radikal giderme aktivitesinin ölçülmesi	31
3.2.3. İstatistiksel analiz.....	31
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	32
4.1. <i>L. plantarum</i> Suşlarının Probiyotik Özellikleri.....	32
4.1.1 <i>L. plantarum</i> suşlarının farklı pH değerlerine karşı direnç özellikleri.....	32
4.1.2. <i>L. plantarum</i> suşlarının pepsine karşı direnç özellikleri	38
4.1.3. <i>L. plantarum</i> suşlarının pankreatine karşı direnç özellikleri.....	45
4.1.4. <i>L. plantarum</i> suşlarının safra tuzuna karşı direnç özellikleri.....	47
4.2. LAB'ların Antioksidan Özellikleri	51
4.2.1. <i>L. plantarum</i> suşlarının MDA seviyeleri	52
4.2.2. <i>L. plantarum</i> suşlarının GSH seviyeleri.....	53
4.2.3. <i>L. plantarum</i> suşlarının GSH-Px aktivitesi	54
4.2.4. <i>L. plantarum</i> suşlarının CAT aktivitesi.....	54
4.2.5. DPPH' giderme aktivitesi.....	55
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	58
6. KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	79

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	<i>L. plantarum</i> 'un morfolojik koloni görüntüsü.....	10
Şekil 1.2.	Oksidatif stres.....	16
Şekil 1.3.	Antioksidan sistemler.....	17
Şekil 4.1.	<i>L. plantarum</i> suşlarının pH 1 değerine karşı direnç özellikleri.....	32
Şekil 4.2.	<i>L. plantarum</i> suşlarının pH 2 değerine karşı direnç özellikleri.....	33
Şekil 4.3.	<i>L. plantarum</i> suşlarının pH 3 değerine karşı direnç özellikleri.....	34
Şekil 4.4.	<i>L. plantarum</i> suşlarının pepsin pH 2 değerine karşı direnç özellikleri.....	39
Şekil 4.5.	<i>L. plantarum</i> suşlarının pepsin pH 3 değerine karşı direnç özellikleri.....	40
Şekil 4.6.	<i>L. plantarum</i> suşlarının pankreatin değerine karşı direnç özellikleri.....	44
Şekil 4.7.	<i>L. plantarum</i> suşlarının safra tuzuna karşı direnç özellikleri.....	47
Şekil 4.8.	Y1, Y4, Y5, Y8, Y24, Y35, Y36, Y40, Y45, Y51 ve Y72 bakterilerinin farklı konsantrasyonlarda (25mg/µl, 50mg/µl ve 100mg/µl) DPPH radikali giderme aktivitelerinin BHA standart antioksidanı aktivitesi ile karşılaştırılması.....	57
Şekil 4.9.	Y6, Y9, Y12, Y13, Y14, Y19, Y23, Y25, Y26, Y49 ve Y70 bakterilerinin farklı konsantrasyonlarda (25mg/µl, 50mg/µl ve 100mg/µl) DPPH radikali giderme aktivitelerinin BHA standart antioksidanı aktivitesi ile karşılaştırılması.....	57

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 3.1.	<i>L. plantarum</i> suşları.....	24
Çizelge 3.2.	GSH tayininde kullanılan çözeltiler.....	28
Çizelge 3.3.	Toplam glutatyon analizindeki pipetleme metodu.....	28
Çizelge 3.4.	MDA tayininde kullanılan çözeltiler.....	29
Çizelge 3.5.	GPx aktivitesinde kullanılan çözeltiler.....	29
Çizelge 3.6.	GPx aktivite ölçüm prosedürü.....	30
Çizelge 3.7.	Katalaz aktivitesinde kullanılan çözeltiler.....	30
Çizelge 3.8.	Katalaz enzimi aktivite ölçümündeki pipetaj.....	31
Çizelge 4.1.	<i>L. plantarum</i> suşlarının farklı pH değerlerine karşı direnç özellikleri.....	35-36
Çizelge 4.2.	<i>L. plantarum</i> suşlarının pepsine karşı direnç özellikleri.....	43
Çizelge 4.3.	<i>L. plantarum</i> suşlarının pankreatine karşı direnç özellikleri.....	45
Çizelge 4.4.	<i>L. plantarum</i> suşlarının safra tuzuna karşı direnç özellikleri.....	48
Çizelge 4.5.	<i>L. plantarum</i> İzolatlarının MDA, GSH seviyeleri ile GPx ve CAT enzim aktiviteleri.....	51
Çizelge 4.6.	<i>L. plantarum</i> izolatlarının %DPPH radikal giderme aktiviteleri.....	56

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Santigrat
Cu ²⁺	: Kuprik iyon
CuCl ₂	: Bakır(II) Klorür
Fe ⁺³ – TPTZ	: Ferrik-Tripiridiltriazin Kompleksi
FeCl ₂	: Demir(II) Klorid
FeCl ₃	: Demir(III)Klorür
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
K ₂ SO ₈	: Potasyum Persülfat
K ₃ Fe(CN) ₆	: Potasyum Ferrosiyandır
K ₃ Fe(CN) ₆	: Potasyum ferrisiyandır
Na ₂ HPO ₄	: Disodyum Fosfat
NaN ₃	: Sodyum Azid
(NH ₄) ₂ SO ₄	: Amonyum Sülfat
NH ₄ SCN	: Amonyum Tiyosiyanat
O ^{2·-}	: Süper Oksit Radikali
·OH	: Hidroksil Radikali
OH ⁻	: Hidroksil Grubu
SCN ⁻	: Siyanür Radikali

Kısaltmalar

µl	: Mikro Litre
ABTS	: 2,2-Azino-Bis-3-Etilbenzo-Tiyazolin-6-Sülfonik Asit
BHA	: Butillenmiş Hidroksi Anisol
BHT	: Butillenmiş Hidroksi Tolüen
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
DPPH	: 1,1-difenil 2-pikril hidrazil
EPS	: Extracellular polymeric substances
FAO	: Food and Agriculture Organization
GSH	: Glutatayon
GSH-Px	: Glutatayon Peroksidaz
GSSG	: Okside Glutatayon
HCl	: Hidroklorik Asit
LAB	: Laktik Asit Bakterisi
MDA	: Malonaldehit
ml	: Mili Litre
MRS	: Man Rogosa and Sharpe
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
nm	: Nano Metre
PBS	: Phosphate Buffered Saline
PET	: Polietilen terafitalat
Ph	: Power Hydrogene
PHA	: Polihidroksi alkanotlar
PLA	: Polilaktik asit
RNA	: Ribo Nükleik Asit

ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süper Oksid Dizmutaz
TBA	: Tribarbütirik Asit
TCA	: Trikloro Asetik Asit
UV	: Ultra Viyole
WHO	: World Health Organization
Vb.	: Ve benzeri

1. GİRİŞ

Probiyotik Latince dilimize aktarılan bir sözcüktür. Türkçe kelime anlamı ‘yaşam için’ şeklinde ifade edilmiştir. Probiyotikler insanların ve hayvan gastrointestinal sistemindeki mikrobiyolojik dengeyi sağlayarak konakçıya yarar sağlayan sadece bir türden meydana gelen veya birden fazla türü içeren “canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanmıştır. Probiyotiklerin biyokimyasal özellikleri ve sağlığa pozitif etkileri üzerine ilk çalışma Rus bilim insanı Metchnikoff tarafından yapılmıştır. Metchnikoff 19. yüzyılın sonlarında, gastrointestinal mikrofloranın oluşması üzerine yaptığı sistemli çalışma sonucunda; fermente edilmiş süt mamullerinin organizmanın ürettiği sekonder metabolit olan toksik bir maddeden zehirlenmeyi önlediğini bildirmiştir (Fuller, 1989; Fuller, 1999; Gismondo ve Drago, 1999).

Probiyotik bakteriler farklı maya ve bakteriyel suşları içermektedir. Günümüzde de hastalıkların sağıtımı, vücut direncinin artırılması amacı ile birçok gıdanın yanı sıra farklı mikroorganizmaları içeren besinler de probiyotik olarak tüketilmektedir. Probiyotik amaçlı olarak kullanılan mikroorganizmalar içerisinde, en çok tercih edilenlerin başında LAB (Laktik Asit Bakterileri) grubu gelmektedir (Schaafsma, 1996). En yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalar, LAB sınıfında yer alır. Taksonomide LAB başlıca 6 grupta sınıflandırılır (Tannock, 1997). Bunlar; *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Bifidobacterium Lactobacillus*'dur. İnsanların yaşam kalitesini arttırmak ve hastalıklara karşı korunmak için diyetlerinde; hayvanlarda ise ürün kalitesini ayrıca verimi arttırmak için, yem katkı maddesi olarak sık kullanılan probiyotik mikroorganizmalar arasında *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus* gibi LAB yer almaktadır (Başyiğit, 2004).

İyi bir probiyotik; patojen olmamalı kullanıldığı insan ve hayvanda olumsuz etkiler oluşturmamalıdır. Aynı zamanda mide ve duodenumdan geçişi sırasında ortamın yüksek asitliliğine toleranslı olmalı, sindirim sisteminde ilerlerken ince bağırsağın üst bölümünde, safra salgılarına duyarlı olmamalıdır. İstenilen bir başka özellik ise bağırsak lümenine kısa sürede yapışıp çoğalmasıdır. Antibiyotik maddeleri sentezleyerek patojen etki gösteren mikroorganizmaların, sindirim sisteminde sayısal artışlarını durdurmaları gerekir. İnsan ve hayvan sağlığında çeşitli nedenlerden dolayı kullanılan antibiyotiklere karşı dirençlilik göstermelidir. Sağlığı tehdit eden patojen mikroorganizmalara karşı

antagonistik etki yaratmalı, hidrojen peroksit, bakteriyosin, laktik asit ve benzeri olan organik asit türevlerini sentezleyebilmelidir. Ayrıca bağırsağın pH'sını düşürmeli, mide ve diğer sindirim kanallarından geçişleri sırasında hayatta kalabilmelidir. Epitel yüzeylere tutunmayı sağlayan maddeler (ekzopolisakkarit, lektin vb.) üretebilmeli, bakterinin yüzeyi hidrofobik yapıda olmalıdır. Agregasyon ve koagregasyon yeteneğine sahip olmalı. Stoklanma süresi boyunca canlılığını ve stabilitesini korumalıdır. Konakçıya has olmalı, antikor üretimini uyararak, bağışıklık sistemini güçlendirmelidir (Nousiainen ve Setälä, 1993).

Probiyotikler sağlık üzerine olumlu pek çok etkisinin yanı sıra antioksidan özelliğe de sahiptirler (Wang ve ark., 2015). Biyolojik sistemlerde antioksidan maddeler, çeşitli nedenlerden dolayı meydana gelen serbest radikalleri biyokimyasal tepkimeler ile nötralize ederek hücrelerin serbest radikallerden olumsuz etkilenmesini önler ve hücrelerin rejenerasyonunu sağlarlar (Gök ve Sertsever, 2003).

Bu çalışmada; geleneksel yöntemlerle hazırlanmış turşulardan izole edilmiş *L. plantarum* suşlarının düşük pH, pepsin, pankreatin ve safra tuzlarına karşı direnç gösteren probiyotik özellikler incelenmiştir. Ayrıca redükte glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) katalaz (CAT) ve 1,1-difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) gibi antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Probiyotikler

Probiyotikler, besin yolu ile vücuda alındığında konakçıya belirli bazı yararları olan, düşük pH'da dayanıklı, bağırsakların iç lümen epitel hücrelerine yapışabilen, hastalık oluşturmeyen sindirim kanalı boyunca canlı kalabilen mikroorganizmalardır. Probiyotik sözcüğü, Yunanca; ilk veya öncü anlamını taşıyan 'pro' ve yaşam manasına gelen 'biota' sözcüklerinin bileşiminden türetilmiştir. 'Yaşam için' anlamına gelen probiyotik ifadesi, antibiyotik sözcüğü ile zıt anlam taşımaktadır (Bengmark, 2003).

Su ve toprakta neredeyse hiç rastlanılmayan probiyotik bakteri grubuna ait çeşitli cins ve türler süt ve süt ürünlerinde, bitkilerde, bitkisel ürünlerde ve bitki atıklarında, insanların ve diğer canlı organizmaların sindirim sistemlerinde rastlanabilir. Bu bakteri gruplarına ayrıca diş ve ağız bölümünde, nadiren idrar yollarında ve lokal enfeksiyonlarda da rastlanabilir. Sağlıklı kadınların vajinal mikroflorasında ise baskın türler olarak bulunmaktadır (Esil, 2007; Er, 2016).

1.1.1. Probiyotiklerin tarihçesi

Yaşam için, canlı için anlamına gelen probiyotik kelimesi, Yunancadan türetilmiştir. İlk olarak “probiyotik” terimi Nobel ödüllü araştırmacı Elie Metchnikoff’un çalışmaları sonucunda dile getirilmiştir. 19.yy. başlarında Metchnikoff köy kesimlerinde yaşayan Bulgarların uzun bir hayat sürmelerini, kullanmış oldukları fermente süt ürünlerine bağlamış ve belirli bakteri türlerinin gastrointestinal sistemde olumlu etkilere neden olabileceği teorisini ileri sürmüştür (Kopp-Hoolihan, 2001; Sanders, 2003).

Biyolojik bir terim olarak “Probiyotik” ifadesi, ilk kez Ferdinand Vergin tarafından 1954 yılında yapılan “Anti-und Probiotika” isimli çalışmada kullanılmıştır. Bu çalışmada, Vergin antibiyotiklerin etki mekanizmalarını ve mikroflora üzerindeki patojenite göstermeyen bakterilerin faydalı “Probiotika” etkileriyle ilişkisini araştırmıştır (Corthier, 2004; Polewski ve ark., 2016; Vergin, 1954).

Vergin’in önerisinin dışında veteriner kökenli Lilly ve Stillwell ilk kez 1962 yılında bu yararlı mikroorganizmalar için “probiyotik” terimini önermiş ve bu terim günümüze kadar gelmiştir. Parker 1974 yılında ilk kez probiyotik kelimesini bugün kullanıldığı anlamı ile aynı anlamda kullanmıştır. Parker, probiyotikleri hayvan yemlerinde bulunan ve konakçı organizmanın bağırsak flora dengesinin düzenlenmesini, gelişmesini sağlayan maddeleri, mikroorganizmaları tanımlamak için kullanmıştır (Malago ve ark., 2011; Parker, 1974).

Bu yeni kavram özellikle İngiliz mikrobiyolog Rol Fuller tarafından incelenmiş ve çalışmalarını daha çok LAB üzerine yoğunlaştırmıştır. Fuller 1989 yılında probiyotikleri, konakçının “bağırsak mikrobiyal dengesini güçlendiren canlı mikrobiyal katkı maddeleri” şeklinde ifade etmiştir (Fuller, 1989; Malago ve ark., 2011).

Avrupa Birliği’nin katkıları ile 1995’de Brüksel’de düzenlenen probiyotik konulu uzmanların katıldığı toplantıda ise probiyotiğin tanımı; sağlıkta koruyucu etki eden, sindirim sistemi, üreme sistemi ve solunum sistemine faydalı etkileri olan, canlı, bir ve ya birden fazla belirli mikroorganizmalar tarafından oluşturulan saf ya da karışık kültürler olarak tanımlanmıştır. Günümüzde ise daha genel bir kavram ile yeterli miktarda tüketildiklerinde insan ve hayvan sağlığına olumlu katkı sağlayan yararlı, canlı mikrobiyal gıda içerikleri olarak tanımlanmaktadır (Önal ve ark., 2005).

FAO ve WHO ise 2002 yılında probiyotikleri, uygun miktarlarda alındıklarında konakçının sağlığı üzerinde faydalı etkileri olan canlı mikroorganizmalar olarak

tanımlamışlardır. Aynı zamanda bu mikroorganizmaların GRAS (genel olarak güvenli bilinen) sistemine uygun olması gerektiğini bildirmişlerdir. Günümüzde ise probiyotikler insan ve hayvan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan gıda, hayvan yemi ya da gıda katkı maddelerine eklenen, canlı mikrobiyal preparatlar olarak tanımlanmaktadır. Probiyotiklerin bağırsak mukozasında tutunma bölgeleri için, rekabet ederek patojen mikroorganizmaların epitel hücrelerine tutunmasını engellemeleri, bakteriyosin olarak bilinen antimikrobiyal maddeler üretmeleri ve sindirim için elzem bazı enzimleri sentezleyerek besinlerin kimyasal sindirimine yardımcı olmaları da ayrı bir özellikleridir (Bengmark ve ark., 2003).

1.1.2. Probiyotiklerin kullanım alanları

Probiyotik bakteriler folik asit, biotin, laktik asit, lactolin, acidophilin, lactocidin nisin, K vitamini sentezi ve karbonhidratın kimyasal sindirimi gibi bazı nitelikleri taşımaktadırlar. Bu bakteriler arasından en bilindik türler *Lactobacillus* ailesine aittir (O'Hara, 2006; Zoetendal, 2006; Serino ve ark., 2009). Bu özelliklere sahip bakteri kolonileri potansiyel olarak, patojen etki gösteren istilacı bakterilerin gelişmesini (genellikle rekabetçi dışlama yoluyla) önlemektedir. Bu özelliklerinden dolayı "iyi" bakterilerin bir kısmı günlük diyetle probiyotik destek ürünü olarak kullanılmaktadır (Salminen, 2005). Probiyotik bakteriler konakçı bünyesinde; immün sistemin modülasyonu, mukozal bariyer takviyesi, ilaç metabolizması, kan damarlarının oluşumu, sindirim sistemi motilitesinin düzenlenmesi ve doğum sonrası (postnatal) bağırsakların gelişmesi gibi işlevleri bulunmaktadır (Serino ve ark., 2009; Ouwehand, 2002).

Asit stresi gıda teknolojisinde kullanılan bakteriler için özel bir öneme sahiptir. Fermente ürünlerin işlenmesi ve depolanması sırasında ürünün asitliğinden dolayı canlılığını kaybedebilmektedir. Bazı fermente ürünlerin yapısal özellikleri probiyotik bakterilerin depolanma, olgunlaşma ve sindirim sistemine taşınmasında koruyucu olabilmektedir (Jan ve ark., 2001).

Probiyotik olan LAB'lar insanların beslenmesinde çok önemli bir role sahiptir. Bu mikroorganizmalar özellikle gıda teknolojisinde, sauerkraut, salamura yeşil zeytin, lahana turşusu, şalgam gibi fermantasyonla elde edilen, bitkisel ürünler, kıyma, yoğurt, kefir, gibi fermente süt mamülleri, balık sosu, sucuk, şarap ve bunların yanısıra; ekmekek, oğ, boza, tarhana, malt gibi tahıl ürünleri ve pek çok gıdanın üretimi, olgunlaştırılması, raf ömrünün uzatılmasında LAB'lar kullanılırlar (Blandio ve ark., 2003).

Ayrıca probiyotik LAB'lar, çok sayıda mono (heksoz ve pentoz) ve di-sakkaritleri metabolize edebilirler. LAB gıda ve gıda dışı sektörlerde desteklenen uygulamalara dahil olan birçok metaboliti doğal olarak üretmektedirler. Örneğin; bakteriyosinler gibi antimikrobiyal moleküller; diasetil ve asetaldehit gibi gıda aroma ve tatları; vitamin gibi gıda kompleksleri; ekzopolisakkaritler gibi gıda tekstür ajanlarını; mannitol gibi tatlandırıcıları; γ aminobütirik asit, opioid peptitler, selenometabolitler gibi nutrasötik moleküller; laktik asit ve etanol gibi kitlesel halde elde edilen kimyasallar, hatta plastik polimer üretimindeki uygulamalarla birlikte polilaktik asit (PLA) yada polietilen terafitalat (PET); etil asetat ve etanol gibi çözünen yada biyoyakıtlar; polihidroksialkanotlar (PHA) gibi biyoçözünür plastiklerin üretiminde kullanılırlar (Ross ve ark., 2002; Mazzoli ve ark., 2014).

1.1.3. Probiyotik mikroorganizmalar

Probiyotikler, insan ve hayvanların doğal mikroflorasında olumlu etkiler gösteren ve doğal mikrofloraya ait çeşitli anatomik fizyolojik özelliklerin işlevselliğini arttıran, konakçı tarafından tüketildiğinde, ağız mikroflorasında, gastrointestinal sistemde, ürogenital kanallarda, üst solunum yollarında, olumlu etkileri ile konakçının sağlığına pozitif yönde etki eden ve bu floralarda patojenlerin kolonize olmasını engelleyerek, oluşan enfeksiyonların iyileşme sürecine katkı sağlayan bir ve ya birden fazla, karışık mikroorganizma kültürleridir (Darılmaz ve ark., 2012).

Günümüzde birçok mikroorganizma probiyotik olarak kullanılmaktadır. Probiyotiklerin çoğunluğunu genel olarak LAB oluşturur. Yoğurt üretiminde rol alan mikroorganizmalar (*Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) hariç, geriye kalan bütün LAB türleri bağırsak mikroflorası üyeleridir. En sık kullanılan probiyotik LAB (*Streptococcus* spp, *Lactobacillus* spp, *Enterococcus* spp, *Pediococcus* spp, *Leuconostoc* spp, *Bifidobacterium* spp.) dir. LAB'ın probiyotik olarak kullanılması yanında, bir maya mantarı olan *Saccharomyces boulardii* de probiyotik olarak sıkça kullanılmaktadır. *Saccharomyces boulardii*, Dr. Boulard tarafından menşeyi uzakdoğu olan tropikal bir meyvenin kabuğundan izole edilmiştir (Reid ve ark., 2003).

1.1.3.1. Probiyotik olarak kullanılan bakteriler

Günümüzde probiyotik takviye için, birçok farklı cinsten mikroorganizma tercih edilmektedir. Ancak probiyotik amaçla tercih edilen bakterilerin başında *Laktobasiller*, *Bifidobakteriler* ve *Enterococcuslar* gelmektedir (Fontana ve ark., 2013). Hastalık etkeni

olmayan ve aynı zamanda zehirli madde üretmeyen bu mikroorganizmalar stoklama esnasında üründe canlılığını yitirmedeği ve tüketimi sonrası tüketen canlıların mikroflorasında yer aldığı ölçüde faydaları artmaktadır. Probiyotik bir mamül bu mikroorganizmaların bir türünü ya da birden fazla türü ihtiva edebilir. Probiyotik bir ürünün daha da etkili olması içerdiği mikroorganizma sayısı ile doğru orantılıdır. Mikroorganizma sayısı arttıkça, probiyotiğin kullanım alanı (sindirim kanalı, ürogenital kanallar, üst solunum yolu vb.) ve etkinliği (folik asit, biotin, laktik asit, lactolin, acidophilin, lactocidin nisin, K vitamini sentezi ve karbonhidratın kimyasal sindirimi gibi özellikler) genişlemektedir (Akalin ve ark., 2000).

İnsanların gastrointestinal sisteminde 500 çeşidin üzerinde probiyotik cinsleri mevcuttur. Bu mikroorganizmaların çoğu, *Enterococcus* veya *Bifidobacterium* cinsine mensup bakterilerdir (David, 2003). *L. bulgaricus*, *L. cellebiosus*, *L. delbrueckii*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *L. johsonli*, *L. plantarum*, *L. helveticus*, *L. salivarius*, *L. gasseri*, *Bifidobacterium adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *Propionibacterium shermanii*, *B. longum*, *B. thermophilum*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *B. lentus*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *Streptococcus cremoris*, *S. thermophilus*, *S. intermedius*, *L. rhamnosus*, *S. lactis*, *S. diacetylactis*, *Pediococcus cerevisiae*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Bacteriodes capillus*, *Bacteriodes suis*, *B. ruminicola*, *B. amylophilus* *L. brevis*, *P. freudenreichii*, *L. mesenteroides*, probiyotik bakteriler olarak kullanılırlar (Prabhu ve ark., 2012).

1.1.3.2. Probiyotik bakterilerin özellikleri

Her mikroorganizma probiyotik değildir. Herhangi bir mikroorganizmanın probiyotik amacıyla kullanılabilmesi için öncelikle bilimsel olarak gereken araştırmalar yapılmalıdır. Yapılan çalışmalar kontrollü deneylerle ve klinik çalışmalarla desteklenmelidir. Bu çalışmaların iki temel basamağı vardır. İlk aşama probiyotik suşun taksonomik olarak sınıflandırılması ve sahip olduğu özelliklerin belirlenmesidir. İkinci aşama ise seçilen probiyotik mikroorganizma türlerin fonksiyonel olan etki mekanizmalarının ayrıntılı bir şekilde belirlenmesidir (Gülmez ve Güven, 2002).

Probiyotiklerin fizyolojik özellikleri detaylı araştırıldıkça ve kontrollü deneylerle aynı genetik yapı gösteren suşlar arasındaki farklılıklar net bir şekilde belirtile; suşlara özgü tahmin edilen probiyotik etkilerde kanıtlanmış olacaktır. Probiyotik bakterilerin seçiminde bazı özel kriterlerden yararlanılmaktadır. Bu kriterler; güvenilir ve stabil

olmalıdır, EPS üretebilmeli, düşük pH ve safra tuzlarına karşı dayanıklı olmalıdır. Mide ve bağırsak kanalından geçişleri sırasında canlı kalabilmelidirler, Agregasyon ve koagregasyon yeteneğine sahip olmalıdır, patojen bakterilere karşı antagonistik etkileri olmalıdır, patojenik olmamalı ve toksik madde üretmemelidir (Huang, 2004).

Probiyotik seçim kriterlerinde en çok istenen özellik suşların asit ve safra tuzlarına karşı direnç gösterebilmeleri ve gastrointestinal sistemde canlılıklarını uzun süre sürdürebilmeleridir. Bağırsak mukozasına bağlanma yeteneği de önemli probiyotik seçim kriterlerinden biridir. Çünkü suşların bağırsak mukozasına tutunabilmesi kolonizasyonu için gerekli olmakla birlikte patojen mikroorganizmaların tutunması ve kolonizasyonun engellenmesi açısından da önemlidir. Bunun yanında fenotip, genotip ve plazmit stabilitesi, epitel dokulara tutunabilme yeteneği, antimikrobiyal maddeler üretmesi, antibiyotiklere karşı direnç gösterebilmesi, patojenleri inhibe edebilme kabiliyeti de istenen özellikler arasında yer alır (Ahire ve ark., 2012; Desai, 2008).

1.1.3.3. Probiyotik bakterilerin etki mekanizması

Yakın zamanda kullanılan mikroorganizmaların probiyotik olarak potansiyeli, sağlık açısından faydalarının teyit edilmesi, probiyotiklerin tetkik ve teşhisin yapılmasına ilişkin, bilimsel çalışmalarda önemli ölçüde bir artışın olduğu gözlenmektedir. Probiyotik mikroorganizmalar olarak tanımlanmış kimi özel suşların insanların tüketimi için güvenli, sağlık açısından faydalı fonksiyonlarının olduğu çeşitli bilimsel araştırmalarla ispatlanmıştır (Senok ve ark., 2005).

Günümüze kadar yapılan araştırmalar sonucunda, probiyotiklerin insan ve hayvan sağlığı üzerinde çok sayıda olumlu etki sergilediği iyi bir şekilde anlaşılmıştır. Probiyotiklerin ağızdan alımı yararlı mikroorganizmaların gelişmesini stimüle eder ve patojenlerin miktarını azaltır, böylelikle konakçının intestinal mikrobiyal dengesi düzenlenir ve gastro-intestinal hastalıkların riski azalır (Fuller, 1989; Chiang ve Pan, 2012).

Probiyotiklerin bakteriyel laktaz enzimini ürettiği ve laktozun sindiriminde katkı sağladığı, ayrıca IgA sentezlemesinin artırılması ile bağışıklık sisteminin stimüle edilmesini, antijen etki gösteren maddelerin kardiyovasküler sistemine geçişinin önlenmesi ile vücudun alerjenlere karşı, aşırı tepkisinin azaltılması yönünde bulgular tespit edilmiştir (Kailasapathy ve ark., 2013).

İnsanlarda probiyotiklerin kullanımı neticesinde belirtilen yararları; laktoz intoleransını baskılaması, gastrointestinal enfeksiyonlarını önlemesi, kansere yakalanma riskini azaltması, kan şekerini dengelemesi, kolesterol seviyesinde azalmayı ve kalp-damar rahatsızlıklarını engellemesi, gaz şişkinlik kabızlık gibi sindirim rahatsızlıklarını gidermesi, çeşitli vitaminleri sentezleyerek besinsel değeri arttırması ve immün sistemini güçlendirmesi olarak özetlenmektedir (Salminen ve ark., 1998; Fooks ark., 1999; O'sullivan, 2006).

Bununla birlikte kalp hastalıklarını iyileştirici yönde *L. rhamnosus*, çocuklarda görülen ishal salgını tedavisinde ve bağırsak hastalıklarını önleyici yönde *L. plantarum* rapor edilmiştir (Goldenberg ve ark., 2013; Johnson ve ark., 2016; Kumar ve ark., 2013). Ayrıca fonksiyonel kabızlığın görüldüğü çocuklarda, probiyotik mikroorganizmaların kullanılması sonucu bir çok vakkada olumlu etki gösterdiği rapor edilmiştir (Asburçe ve ark., 2013).

LAB'ın pek çok türünün bakteriyosin ürettiği çeşitli araştırmalar sonucunda bildirilmiştir. Başlıca tanımlanan bakteriyosinler; lactolin, acidophilin, lactocidin ve nisindir. Bakteriyosinler, *L. plantarum* tarafından sentezlenen lactolin ya da *L. lactis* 'in ürettiği nisin gibi antibiyotik, antibiyotik türevleri ve ya antibiyotik benzeri maddeler baz alınarak tanımlanması yapılmıştır. LAB tarafından sentezlenen bakteriyosinler ele alındığında; *L. lactis* subsp. *lactis* tarafından sentezlenen nisin en iyi tanımlanması yapılan bakteriyosindir. Antibakteriyel etki *L. acidophilus* tarafından üretilen lactocidin ve acidophilin, üretilen bakteriyosinler aracılığıyla bakteriyosinin türüne bağlı olarak özellikle *S. aureus*, *Listeria spp.*, *B. cereus*, *C. perfringens* gibi su veya gıda kökenli olan patojen bakterilere olumsuz etki edebilmektedirler (Dinçer ve ark., 2009).

1.1.4. Laktik asit bakterileri

LAB (Laktik asit bakterisi) ifadesi, uzun zamandan beri farklı çevrelerce "süt ekşitici organizmalar" terimi ile eş anlamlı olarak kullanılmıştır. Fakat ilerleyen zaman ve sürekli gelişmekte olan teknoloji ile birlikte son yıllarda farklı çeşitlilikte fermente ürünlerinin üretimi, saklanması, olgunlaştırılmasında rolü olan önemli endüstriyel mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Batish ve ark., 1997). LAB, birçok gıda ürünlerinin besin değerine ve besinlerin doğal yollarla muhafaza edilmesinde rol oynarlar. Bu özelliklerinden dolayı yüzyıllardan beri önemini koruyan mikroorganizmalar arasında yer alırlar. Mikrobiyal ekolojileri incelendiğinde; bu mikroorganizmaların büyük bir kısmının insanların, hayvanların ve bitkilerin yaşadığı

doğal habitatlarda yaşadığı gözlenir. LAB doğal ortamlardan izolasyonu yapılabilen, çeşitli biyoteknolojik araştırmalarda ve geniş ölçekte (endüstriyel) gıda üretimi gibi birçok alanda kullanılırlar. Beslenmemizde kullandığımız birçok fermente ürün LAB sayesinde tazeliğini ve besin değerini korur. LAB, beslenmemiz ve sağlığımız konusunda oldukça önemli mikrobiyal ajanlar olarak kabul edilir. LAB'ın bazı türleri insan ve hayvanların solunum yolu, sindirim sistemi ve ürogenital sistemlerinde de görülmektedir (Holzapfel ve Wood, 2014).

LAB, probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların en önemli grubunu oluşturmaktadır. LAB grubu içerisinde ise, probiyotik olarak en sık kullanılan ve en geniş kullanım alanına sahip olan mikroorganizmalar *Lactobacillus* türleridir. LAB'lar, karbonhidrat metabolizmaları sırasında şekerleri laktik asite (laktat'a) dönüştürebilen mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır. LAB'lar hücre duvarı yapısı bakımından Gram pozitif, katalaz enzim aktivitesi yönüyle katalaz negatif reaksiyon verirler. Ayırt edici özellik gösteren birkaç üye dışında tümü hareketsizdir. Tüm üyelerden sadece *Sporolactobacillus inulinus* türü spor oluşturur. Bütün LAB'lar anaerobik şartlarda gelişim gösterebilmektedir. Fakat pek çok anaerobik bakterinin aksine oksijen varlığına toleranslıdırlar, yani oksijenin bulunduğu ortamlarda da gelişebilirler. Bu özelliklerinden dolayı, aerotolerant anaerob veya fakültatif organizmalar şeklinde isimlendirilirler. Fermantasyon olayı sonucunda, ana ürün olarak laktik asit sentezleyen bu bakteriler mezozomları olmadığı için sitokrom içermezler ve elektron taşıma sistemine sahip değiller. Bu nedenden dolayı, enerji ihtiyacı sadece substrat düzeyinde fosforilasyondan elde edilmektedir. Fizyolojik özellikleri açısından birbirine benzer oldukları halde, sitomorfolojik özellikleri açısından oldukça birbirinden farklı olan cinsleri içerirler. Hücresel morfolojileri, kok (streptokok, laktokok, enterokok, pediokok, leukonostok) veya çomak/çubuktan (laktobasiller) oluşan farklı uzunlukta zincir şeklindedir (Klein ve ark., 1998; Renault, 2002; Liu, 2003; Françoise, 2010).

LAB'lar genel olarak mezofilik bakterilerdir ancak 5 °C'den 45 °C'ye kadar oldukça geniş bir sıcaklık aralığında da gelişebilirler. Onlar hem asit hem de alkali çevrelere toleranslıdırlar. LAB'lar gıda endüstrisi açısından önem arzeden zayıf da olsa proteolitik ve lipolitik özelliğe sahiptirler. Çünkü çoğu bozucu reaksiyonlar bu bakteriyal aktivitelerden kaynaklanmaktadır. Gelişebilmeleri için serbest aminoasit ve vitaminlere ihtiyaç duyarlar. Onların metabolizmaları fermentatif süreçlere (homo-hetero heterofermentatif) dayalıdır (Trias ve ark., 2008).

LAB'ler katalaz negatif, '*Sporolactobacillus inulinus*' hariç spor oluşturmeyen sitokromdan yoksun ve hareketsiz (bir iki istisna durumu olan türler dışında) olan bu grubun önemli cinsleri arasında *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Melissococcus*, *Lactosphaera*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Vagococcus* *Tetragenococcus* ve *Weissella* yer almaktadır (Eryılmaz, 2011; Dinçer ve ark.,2009).

1.1.5. *Lactobacillus plantarum*

L. plantarum gram pozitif basil şeklinde laktik asit üreten katalaz pozitif bir bakteri türüdür diğer laktik asit bakterilerinden daha yüksek asit toleransına sahip olduğundan dolayı etkin bir probiyotiktir (Salminen ve ark., 2004). *L. plantarum* suşlarının % 0,5-10 tuz içeren ortamlarda gelişebildiği çeşitli araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (Dinçer, 2007; Milesi ve ark., 2008; Gómez-Ruiz ve ark., 2008).



Şekil 1.1. *L. plantarum*'un morfolojik koloni görüntüsü (Fecri ÖZKAN 11.07.2019)

L. plantarum, çubuk şeklinde tek hücre halinde ya da kısa zincirler halinde bulunur. Uygun koşullar söz konusu olduğunda kısa çubuklar halindedir. Olumsuz koşullarda, örneğin fermente sebzelerde asitlik arttıkça, daha uzun yapı oluşturur. Gelişimi sırasında sıvı ortamda birkaç gün sonra berraklaşan bir bulanıklık görülür. Bazı suşlar ise bulanıklaşmayla birlikte küçük parçalar (flokulasyon) oluşturur. Harrison ve Hansen tarafından keşfedilen bir suş dışında hareketsiz olan bu tür diğer LAB türleri gibi Gram (+)'dir. Suşlarının büyük çoğunluğu glikoz, früktoz, arabinoz, mannoz, galaktoz, laktoz, sakkaroz, maltoz, rafinoz ve salisin kaynaklarından asit meydana getirir. Bir kısmı sorbitol, dekstrin, mannitol ksiloz, ve gliserol fermente edip asit oluştururken; nişasta, ramnoz, ve inulini genelde fermente etmez. Fermantasyon sırasında heksoz şekerlerden esas olarak laktik asit, çok küçük miktarlarda ise asetik asit ve karbondioksit oluşturur. Pentozlardan ise asetik ve laktik asit oluşturur. Sıvı ortamda yaklaşık %1.2 kadar bir asitlik meydana getirir. Tuza dirençliliği %5.5 seviyesine ulaşabilmektedir.

Mikroaerofilik olan *L. plantarum* 10-40°C sıcaklık aralığında gelişebilmektedir. En uygun sıcaklık gelişimi ise 30°C'dir. Ancak özel besi ortamında nitratları indirgeyebilmektedir. Doğada oldukça geniş bir alana yayılmıştır, ancak özellikle fermente sebzelerde ve hayvansal ürünlerde yer alır (Orla-Jensen, 1919).

1.2. Probiyotik Özellik

Sindirim sisteminde bulunan yararlı mikroorganizmalar, besin maddelerinin sindirilmesine yardımcı olurken, açığa çıkardıkları bazı maddeler yardımı ile organizmayı patojen mikroorganizmaların zararlı etkilerine karşı korurlar. Bu mikroorganizmalar "probiyotik mikroorganizmalar" olarak isimlendirilir. LAB'ın bazı cins ve türleri probiyotik mikroorganizmalar grubu içerisine dahildir (Tannock ve ark., 1999; McCartney ve ark., 1996; Matsumiya ve ark., 2002; Tannock ve ark., 2000)

Probiyotik suşlardan genetik, biyoteknolojik, immünolojik, fizyolojik ve metabolik, özelliklerin yanında toksik etki yaratmaması, patojeniteye sahip olmama, immün tepkilerini modüle etme yeteneği ve antimikrobiyal maddelerin sentezi gibi yararlı özelliklere sahip olmaları istenmektedir. Ayrıca hedef bölgeye ulaşım yapılabilmeli, mide asidine, pankreasın ekzokrin hücrelerinden salgılanan pankreatine ve safra tuzlarına karşı direnç göstermelidir. Sindirim sisteminde canlı kalabilmeli ve sayısal artış göstermenin yanı sıra *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* *Salmonella typhimurium* ve *Helicobacter pylori* gibi su ve gıda kökenli patojen bakterilere karşı antagonize olabilmeye gibi niteliklerinin de olması beklenen kriterler arasındadır (Sung-Mee ve ark., 2009). Probiyotiklerin yararlı etkilerini içine alan mekanizmalar, antibakteriyel bileşikler sentezleyip besinler için veya barınacakları kolonize bölgeleri için rekabet ederek, patojen bakterileri baskı altında tutmalarıdır (Kılıç, 2001).

LAB'ın asitlik derecesi, pepsin, pankreatin ve safra tuzlarına direnç özellikleri probiyotiklerin seçiminde önemli kriterlerdendir. Probiyotiklerin mide asidi bariyerini aşabilmesi ayrıca bağırsak sistemine geçtiklerinde ise safra bileşenlerine karşı duyarlı olmamaları, probiyotik seçimi kriterinde önemli bir unsurdur. Yapılan bilimsel ve tıbbi araştırmalara göre sağlıklı bir insanda midenin pH 1.0 ile 3.0 arasında değişmektedir. Bu değerlerdeki değişimin nedeni açlık ve tokluk faktörüdür. Genel olarak araştırmacılar *in vitro* yaptıkları çalışmalarda; pH 1.0 ile 3.0 arasında probiyotiklerin direnç göstermeleri gerektiğini ifade etmişler. Ayrıca probiyotiklerin mideden ince bağırsaklara geçtiklerinde

ise %0.3'lük derişimi olan safra bileşenlerine karşı dirençli olmaları gerekmektedir (Mainville ve ark., 2005).

1.2.1. pH

pH aralığı, tüm biyolojik sistemlerde biyokimyasal faaliyetleri katalizleyen enzimlerin aktivitelerinde önemli rol oynar. Bu nedenle her bir mikroorganizmanın gelişebildiği minimum, optimum, maksimum pH değeri mevcuttur. Mikroorganizmaların gelişebildiği pH aralığı; mikroorganizmaların türlerine, mikroorganizmaların iç (genetik) faktörlerine ve çevre (dış) şartlarına bağlı olarak değişmektedir. LAB türleri, gelişme ortamındaki fosforik asit, hidroklorik asit, sitrik asit, ve tartarik asitin varlığında, laktik asit ve asetik asit varlığına oranla daha düşük pH değerlerinde gelişebilmektedir. Birçok mikroorganizma optimum olmayan pH değerlerinde olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu olumsuz etkilerin başında; mikroorganizmaların zar sisteminde seçici geçirgenliğin aksaması veya durması, deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA)'ın baz diziliminde mutasyonların olması ya da hasar görmesi ve bazı önemli enzimlerin işlevini tam yerine getirememesi olarak sıralanabilir (Lu ve ark., 2003). Probiyotik mikroorganizmaların seleksiyonlarında ilk kriter suşların bağırsağın girişindeki asit ve safraya karşı canlılığını koruyabilmeleridir. Mikroorganizmaların midenin düşük pH'sına karşı toleranslılıkları farklıdır. Midenin asitliği yüksek, pH'sı düşüktür (pH 2.0). Genellikle midenin pH'sı 3.5 ile 5.5 arasındadır (Saarela ve ark., 2009).

Probiyotiklerin seçim kriterlerinden en önemlilerden biride yüksek asite karşı direnç özellikleridir ve ilk şart derişik mide asidinden en az miktarda zarar görmeleridir (Dianawati ve ark., 2016; Onal ve ark., 2005; Ashraf ve ark., 2016;).

Probiyotik mikroorganizmalar; diğer mikroorganizmalara göre, mide asitliğine karşı daha toleranslı mikroorganizmalar olarak bilinir. Probiyotikler kolana varmadan önce genel olarak pH'sı 2,5 ile 3,5 arasında değişen mide asidi ile karşılaşmaktadır. Bu asidik ortam probiyotiklerin maruz kaldığı ilk fizyolojik bariyerin başında gelir (Masco ve ark., 2007; Vasiljevic ve ark., 2008; Ramirez-Chavarin ve ark., 2013).

Probiyotiklerin, bağırsak sistemine ulaşabilmeleri için düşük asidik ortamlara karşı duyarlı olmamaları gerekmektedir (Corcoran ve ark., 2005). Bu sebepten dolayı başta lizozim enzimi olmak üzere, ağız florasında yer alan diğer enzimlere karşı dirençli olması ve midenin sekresyonundan (pH:1.5-3.0) etkilenmemelidir (Eryılmaz, 2011).

Genel olarak LAB'a mensup olan grupların asit toleransları yüksektir. Ancak *Lactobacillus* suşlarının tabiatında bu özellik olmasına rağmen bazı türler ve suşlar arasında pH 3.0 ve altında aside karşı direnç özelliklerinin azaldığı gözlenmektedir. Probiyotik seçimi kriterleri içerisinde istenilen özelliklerden biri de asit toleransıdır. Mikroorganizmaların içerisinde probiyotikleri belirlemek amacıyla çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlardan en sık kullanılan yöntemlerin başında; *in vivo* ve *in vitro* yapılan gastrik transit çalışmaları yer almaktadır. Birçok sindirim sistemi modellemesinde; yapay mide suyu kullanılmakla beraber, hayvanların ve insanların gastrik sekresyonları da kullanılmaktadır. Fakat her iki çalışmada da sınırlandırıcı faktörler vardır. Bu faktörlerden bazıları olumlu yönde etki eder. Örneğin mide salgılarının ve diyetle alınan gıda bileşenlerinin probiyotiklerin canlı kalması üzerinde olumlu etkiler sergilediği söylenebilir. Bunların yanında çalışmalarda tercih edilen asitlendirilmiş MRS besiyeri gibi tamponlama özelliği olan ortamların bu çalışmalarda kullanılması, mikroorganizmalara enerji ve gerekli olan metabolik öncülleri temin ederek derişik olan ortamın asidine karşı koruma sağlar. Bu şartlar göz önünde bulundurularak; sindirim sisteminde probiyotiklerin canlı kalabilmelerini sağlamak için, diyetle alınan gıda bileşenlerinin kullanımı detaylı bir şekilde araştırılması gerektiği belirtilmektedir (Corcoran ve ark., 2005).

1.2.2. Pepsin

Pepsin, protein ve türevlerinin sindiriminde etkin rol oynayan önemli kompleks bir enzimdir. Midenin kısımları olan kardiya ve fundusta bulunan salgı bezlerinin nonpariyetal hücreleri (temel hücreler) tarafından pepsinin inaktif formu olan pepsinojen sentezlenir. İnaktif olan pepsinojen, midenin gastrik ortamında HCl'den gelen H⁺ iyonlarını kofaktör olarak bünyesine katar, ayrıca mide ortamında az miktarda bulunan pepsinin etkisiyle pepsinojen; otokatalitik olarak aktifleşir. Böylece midede en önemli proteolitik enzim olan pepsin sentezlenmiş olur (Ashraf ve ark., 2016; Altınışık, 2010).

Probiyotik özelliklerin belirlenmesi amaçlanan çalışmalarda kullanılacak bir *in vitro* sindirim modelinde çalışmanın amacına yönelik enzim türleri seçilmelidir. Ayrıca günlük diyetle alınan besinlerin de bileşenleri göz ardı edilmemelidir. Örneğin protein sindirimi için proteazlar lipid sindirimi için lipazlar, ve nişasta sindirim için amilazları ihtiva etmelidir (Hur ve ark., 2011). Sindirim kanalı boyunca besinler farklı kısımlarda farklı enzim ve sekresyonlarla karşılaşır. *In vitro* yapılan çalışmalarda bu özelliğe dikkat edilerek işlemler yürütülmelidir. Her basamağın deneyini doğru yapabilmek için farklı

enzimleri birlikte çalışmamak gerekir. Her enzimin sırayla ilave edilmesi gerektiği unutulmamalıdır. Yapılan birçok *in vitro* gastrointestinal sistemi benzetme modellerinde de pepsin ilavesinden sonra pankreatin enzim kompleksi verilmektedir (Boisen ve Eggum, 1991; Hur ve ark., 2011).

1.2.3. Pankreatin

Pankreatin kompleks bir enzim olup, pankreasın ekzokrin hücrelerinin sentezlediği proteaz, amilaz ve lipaz gibi enzimlerin karışımıdır. Mikroorganizmaların aşması gereken engellerden biride, ince bağırsak sisteminde canlılık ve aktivitelerini koruyabilmeleridir. İnce bağırsakta safra tuzları ve pankreatin mikrobiyal üremeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Megan ve Janet, 2009).

Pankreasın ekzokrin hücreleri tarafından üretilen salgıda en fazla bulunan enzim çeşitleri proteinlerin kimyasal sindiriminde rol alan, kimotripsin, tripsin ve karboksipeptidazlardır. Bu enzimler ekzokrin salgısında zimojenler halinde bulunurlar. Yapılan bazı *in vivo* çalışmalarda, kobay olarak kullanılan farklı hayvanların pankreasın ekzokrin salgılarında psödokolinesteraz, elastaz, kolinesteraz β -glikozidaz, β -galaktozidaz, RNAaz, DNAaz, lipaz, esteraz ve α -amilaz, fosfolipaz A, kolesterolünde bulunduğu tespit edilmiştir. Somatostadin, Enteroglukagon gibi hormon benzeri yapıların pankreatik polipeptit pankreasın ekzokrin salgısını inhibe ederler (Altınışik, 2010; Işık, 2016).

1.2.4. Safra

Safra organik ve inorganik bileşiklerin karışımından meydana gelen biyolojik bir salgı maddesidir. Safra, karaciğerde safra kanaliküllerinde sentezlenen, plazmayla izo-ozmotik, sarıya çalan yeşil rengi ile karakterize edilir. Sağlıklı bir insanda yaklaşık olarak günde 600-1200 ml arasında pH'sı 7.8 olan safra sıvısı salgılanır. Safranın en önemli organik bileşiği safra tuzlarıdır. Safra asitleri glisin ve hepatositte taurin ile konjuge edilir. Sentezde meydana gelen birincil safra asitleri kenodeoksikolik asit ve kolik asittir; safrada oransal olarak 2:1 şeklinde bulunurlar. Kimyasal yapı bakımından 24 karbon atomu içeren safra tuzlarının sentezi çok basamaklı bir yöntem izleyerek kolesterolden sentezlenirler. Safranın yapısında, iki veya üç adet hidroksil ve bir adet karboksil grubu bulundurur (Ceydilek ve Beyler, 2005).

Safra bileşenlerinin etki mekanizması, safra tuzlarının derişimi ve etki ettiği yüzey/substratın karakterine bağlı olarak farklılık gösterir. Mikroorganizmaların gelişimi

üzerinde, safra bileşenlerinin derişimi ile mikroorganizmaların karakteristiği arasında ilişki bulunmaktadır. Bakteriler, midenin asidik ortamından geçtikten sonra, bağırsak yolunuda ilerleme sürecinde, farklı safra tuzu konsantrasyonlarıyla karşılaşırlar. Probiyotikler farklı konsantrasyonlarda canlılıklarını sürdürme yeteneğine sahip olabilirler. Safra toleransı probiyotiklerin seçiminde kullanılan önemli kriterlerden birdir. Safra yağları parçalayarak yağların yağ asitlerine dönüşmelerini sağlar ve bağırsaklardan emilimlerine yardımcı olur. Karaciğer tarafından ince bağırsağa salgılanan safra asitleri, bakterilerin yüksek oranda fosfolipit ve yağ asitlerini içeren hücre zarlarına zarar vermek kaydıyla inhibitör etki yapmaktadır (Dunne, 1999). Bundan dolayı, insan sindirim sisteminin farklı kısımlarında gastrik asit ve safra tuzu konsantrasyonlarının olduğu şartlarda canlı kalabilen suşlar, potansiyel probiyotik mikroorganizmalar olarak kabul edilir (Soliman ve ark., 2015). Probiyotik amaçlı olarak tercih edilen bakterilerin bağırsak sisteminde, probiyotik özellik gösterebilmeleri için safra salgısına karşı duyarlı olmamaları gerekmektedir (Succi, 2005). Bununla beraber, insan kullanımı için probiyotiklerin seçimindeki safra toleransı çalışmalarında %0.15 ve %0.30 derişimlerinde safranın kullanılması önerilmektedir (Huang, 2004). Yapılan birçok çalışmada araştırmacılar insandaki safra konsantrasyonuna yakın bir değer olması nedeniyle safraya karşı direnç özelliği gösteren probiyotik suşları belirlemek amacıyla özellikle %0,30'lük safra derişiminin kritik bir değer olduğunu bildirmişler (Erkkila, 2000).

1.3. Probiyotiklerin Antioksidan Özellikleri

1.3.1. Serbest radikaller ve oksidatif stres

Maddelerin aralarında elektron alış verişi sonucu oluşturduğu yeni moleküllere kimyasal bileşikler denir. Elektronlar bileşik oluştururken son orbitallerindeki elektronlarını çift elektron haline getirerek kararlı hale gelirler. Son orbitallerinde ortaklanmamış bir tek elektron bulunduran maddelere serbest radikal denir (Şekil 1.3.) (Bursal, 2009; Aras, 2016).

Serbest radikaller, son orbitallerinde eşlenmemiş elektronlardan dolayı elektron alış- verişine meyilli atom veya molekül şeklinde bulunan maddelerdir (Mercan, 2004). Serbest radikallerin elektron alış-verişi isteğinden dolayı bu maddeler canlı organizmalarda bulunan nükleik asitler, proteinler, lipidler ve bunların türevleri olan diğer biyomoleküllerle tepkime vererek, hayati öneme sahip olan doku, organ veya

sistemlerin fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır (Şekil 1.2.) (Velioglu, 2000).



Şekil 1.2. Oksidatif stres (Anonim, 2019)

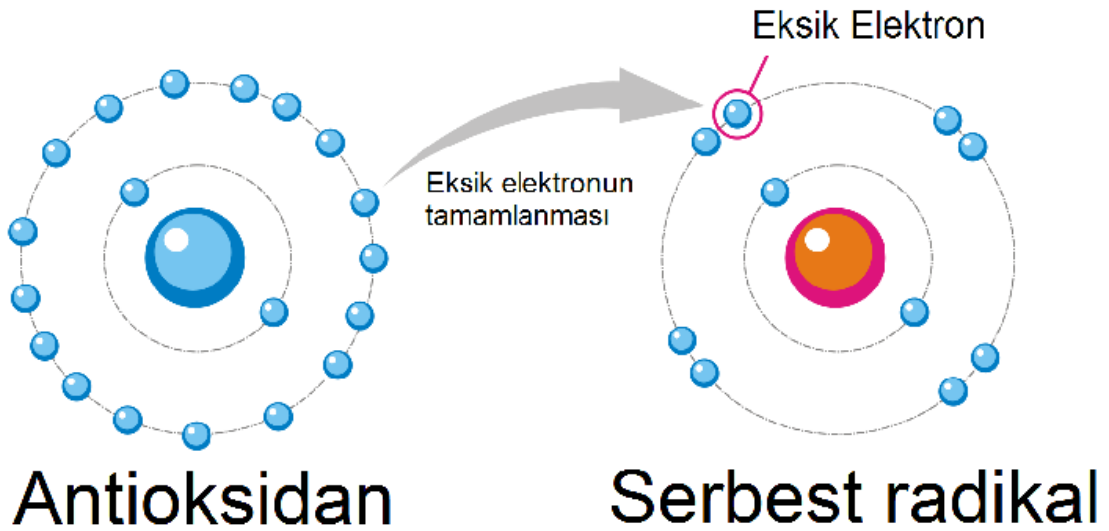
Serbest radikallerin oluşmasına neden olan etkenler arasında eksojen kaynaklı olan; iyonize radyasyon, UV ışınları, çevresel kirleticiler, ağır elementler, karsinojenik bileşikler, sigara dumanı, kimyasal maddeler, ilaçlar gibi uyarıcılar sayılabilir. Diğerleri ise endojen kaynaklı olan, oksijenin metabolizmada kullanılmasının doğal bir sonucudur. Hücresel solunumda oksidatif fosforilasyon yapmak zorunda olan organizmalarda serbest radikaller daha fazla oluşmaktadır. Çünkü oksijenli solunumda oksijen birden fazla zincir reaksiyonla H_2O 'ya indirgenmektedir. Oksijenin metabolizmada kullanılması sonucunda biyolojik sistemlerde, yüksek düzeyde reaktivite gösteren reaktif oksijen türü olan (ROT); süper oksit radikali ($O_2^{\cdot -}$), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ile radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) üretilir (Dizdaroglu, 2012; Aras, 2017)

Oksidatif denge, organizmada meydana gelen serbest radikallerin oluşum hızı ve oluşan serbest radikallerin süpürülmesi hızının bir denge içerisinde olması durumudur. Organizmada, oksidatif denge durumu sağlandığı müddetçe serbest radikaller organizmaya etki edemezler. Serbest radikallerin ortaya çıkma hızında artışın olması ve ya bertaraf edilmelerindeki sistemin hızında bir azalma oksidatif dengenin aksamasına neden olur. "Oksidatif stres" olarak bilinen bu durum, sonuç olarak dokuların zarar görmesine ve işlevinde yetersiz kalmasına neden olmaktadır (Serafini ve Rio, 2004). Literatürde yer alan birçok çalışmanın sonuçları ele alındığında serbest radikal mekanizmasının çeşitli hastalıklarla alakalı olduğu bildirilmiştir. Bu hastalıkların başında; erken yaşlanma, kıkırdak doku iltihabı, kardiyovasküler rahatsızlıklar (arteroskleroz ve hiper tansiyon), diyabet (şeker hastalığı), romatizmal artrit, sinir sistemi

hastalıkları (Parkinson ve Alzheimer hastalıkları), çeşitli kanserler, şeklinde sıralanabilir (Gardes-Albert ark., 2002). Güçlü reaktivitesi olan serbest radikaller, hücrenin çeşitli kısımlarında bulunan protein, karbonhidrat, lipid, DNA ve RNA gibi biyomoleküller üzerine etki ederek, farklı değişikliklerin veya mutasyonların meydana gelmesine sebep olurlar (Keser, 2012).

1.3.2. Antioksidanlar

Oksidasyon; canlı organizmaların hücrelerinde veya lipid katkılı gıda ürünlerinin oksijenle temas etmesi sonucunda görüntü, koku ve tatlarında meydana gelen, genel olarak istenmeyen durumdur. Oksidan madde ise; ilişkili olduğu ortamda diğer biyokimyasal molekülleri oksitleme kabiliyeti olan maddelerdir. *In vivo* veya *in vitro* oluşan oksidasyon reaksiyonlarını engelleyen ya da tepkime hızında azalmayı sağlayan bileşenlerde antioksidan olarak tanımlanmaktadır (Oğuz, 2008).



Şekil 1.3. Antioksidan Sistemler (Anonim, 2019)

Canlıların birçoğunda fosforilasyon olayı için oksijen hayati önem arz eder. Ancak oksijen aktivitesi sonucunda bazı toksik maddeler oluşur. Oluşan toksik maddelere ve serbest radikallere karşı canlı organizma kendini korumak için, salgıladığı veya dışardan hazır aldığı bazı önemli organik ve inorganik maddeler mevcuttur. Bu maddelere antioksidan maddeler denir (Fantel, 1996; Tempel, 2000; Silinsin, 2016). Özellikle oksijenli solunum yapan canlı organizmalar reaktif oksijen ve toksik etki eden azotlu bileşik çeşitlerine karşı farklı savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Canlı organizmalarda tespit edilen bu sistemler 'Antioksidan Sistem' olarak isimlendirilir (Bursal, 2009).

Antioksidan ajanlar; canlı sistemlerde çeşitli nedenlerden dolayı ortaya çıkan serbest radikalleri süpürüp nötürleştirerek, hücre ve dokuların serbest radikallerden etkilenmesini engelleyen ya da hücrelerin yenilenmesini (rejenerasyonunu) sağlayan maddelerdir (Gök ve Sertsever, 2003). Canlılar nesillerini devam ettirme güdüsünü ve olası tehlikeleri bertaraf etme gibi kabiliyetlerini genlerinde taşırlar. Canlıların birçoğu hem eksojen hemde endojen kaynaklı olumsuz durumlara ve çeşitli stres türlerine karşı çeitli sistemler geliştirmişlerdir. Bunlara örnek olarak, reaktif oksijen türlerinden kendilerini savunmak veya daha az etkilenmek amacıyla geliştirdikleri karmaşık antioksidan sistemler verilebilir. Organizmalar bu antioksidan sistemler aracılığı ile vücutlarındaki hücre, doku, organ ve sistemlerini korumaya almışlardır (Sernikli, 2015).

Antioksidan maddeleri yapısal olarak iki grupta incelemek mümkündür. Bunlar organizmanın kendi vücudunda sentezleyebildiği endojenler ve organizmanın dışarıdan besinlerle hazır olarak aldığı ekzojenlerdir. Bilinen en önemli doğal antioksidan kaynakları arasında bazı mikroorganizmalar, bitkilerden elde edilen ürünler, hayvan kökenli mamüller, enzimler yer almaktadır (Hall, 2001; Yılmaz, 2018).

Literatürde yer alan birçok çalışma ve bilgi birikimine dayanarak; LAB'ın insanların sağlığı ve refahı ile bütünleşik çeşitli yönleri değiştirmede hayati bir rol oynadığı söylenebilir. Probiyotik özelliklerinin yanı sıra LAB türlerinin birçoğunun antioksidan kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2019).

Oksijenli ortamda LAB, flavoprotein oksidaz enzim kompleksinin aktivitesi sonucunda H_2O_2 üretir. LAB katalaz negatif bir mikroorganizma olduğundan, H_2O_2 'in bulunduğu ortamda çoğalır ve *Pseudomonas* spp. ve *S. aureus* gibi mikroorganizmalar üzerinde inhibitör etkisi yapar. Söz konusu olan inhibisyon etkisi, hidrojen peroksite hücre zarı lipitleri ve hücrenin diğer proteinleri üzerine kuvvetli oksidasyonu ile ortaya çıkar. LAB diğer bakterilere göre hidrojen peroksite daha dirençlidir (Adams ve Nicolaides 1997). H_2O_2 ayrıca, hipotiyosiyanat gibi antimikrobiyal bileşiklerin oluşumuyla birlikte taze sütlerde laktoperoksidaz sistemini aktive eder (Fitzgerald ve Caplice, 1999).

Fermantasyon sonucu oluşan sekonder metabolitler ekstrem bir çevre oluşturarak antimikrobiyal aktivite sergiler. Ortamın pH seviyesini düşürerek ve hücre zarının olumsuz etkilenmesi sonucu gıda kaynaklı mikroorganizmalar bakteriyosin ile etki ederler. *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* suşlarını da içeren LAB'lar sitrat aktivitesinde rol oynayarak diasetil üretirler. Gram negatif bakteriler,

küfler ve mayalar arjinin kullanımına etkileyerek diasetile duyarlılık göstermektedirler (Fitzgerald ve Caplice, 1999).

Mycobacterium tuberculosis, *Aeromonas hydrophila*, *Y. enterocolitica*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus* spp., *E. coli*, *Salmonella* spp., *Pseudomonas* spp. ve *S. aureus* diasetile duyarlılığı olan mikroorganizmalara örnek verilebilir (Adams ve Nicolaides, 1997).

Gram pozitif bakteriler tarafından sentezlenen bakteriyosinler biyolojik açıdan aktif proteinler olarak adlandırılırlar. *Listeria* spp. *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, ve *Bacillus cereus* gibi LAB'lar tarafından üretilen bakteriyosinler gıdadaki patojenlerin üremesini inhibe etme özelliğindedirler (Montville ve ark., 1991).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Kullisaar ve ark. (2002) iki antioksidatif *L. fermentum* E-3 ve *L. fermentum* E-18 suşunun dikkat çekici GSH seviyeleri içerdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca, ilk kez, araştırma grubu *Lactobacillus fermentum* ME-3'te tam bir GSH sisteminin bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Papamanoli ve ark. (2003) iki tip fermente kuru sosis örneklerinden elde ettikleri 147 LAB'ın tanımlaması ve probiyotik özelliklerinin araştırılmasını amaçlamışlardır. Bu doğrultuda yapılan çalışmalar sonucunda, bu suşların çoğunlukla, *L. sakei* (49), *L. curvatus* (24), *L. plantarum* (7), *Weissella viridescens*, *Leu. pseudomesenteroides* ve *Leuconostoc* sp. olduğu tespit edilmiştir. İzolatların probiyotik özelliklerinin araştırılması amacıyla tuzlu ortamda gelişim, safra tuzlarına karşı direnç ve bazı patojenlere karşı inhibisyon etkisi gibi testler de uygulanmıştır.

Daha önce yapılan bir araştırmada farklı kaynaklardan izole edilen *L. plantarum* ve *E. faecium* suşlarının potansiyel probiyotik özellikleri incelenmiş, ayrıca bazı patojenlerinde mevcut olduğu bir grup mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Daha sonra bu iki suşun mide gastrik pH'sında ve safra bileşenlerinde bulunduğu ortamlarında logaritmik gelişme durumları araştırılmıştır. Yapılan uygulamalar sonucunda hem yüksek asitliğe hem de safra bileşenlerine karşı duyarlı olmadıkları gözlenmiştir (Çakır, 2004).

Yapılan diğer bir çalışmada ise, yedi adet laktobasilden yalnız üç suşun (%43) pH 2.0 veya 3.0'e karşı direnç gösterdiği bildirilmiştir (Mishra ve ark., 2005).

Wanhlem ve ark. 'nın (2010) yaptıkları çalışmada, 274 adet LAB'ın mide-bağırsak ortamına gösterdikleri tolerans, pH 3.0 de 37°C'de dört saat inkübe edilerek incelenmiştir. Test edilen LAB'lardan yalnız 10 adet suşta %50'nin üzerinde canlılık oranı tespit edilirken, pH 2.5'de aynı suşların canlılık oranlarında daha fazla azalma olduğu gözlenmiştir.

Alp ve Aslım, (2010) çalışmalarında anne sütü ve anne sütü ile beslenen bebeklerin dışkılarından mupirosin ilave edilerek değiştirdikleri BSM (*Bifidobacterium Selective Medium*) katı besiyerini kullanılarak, 59 adet *Bifidobacterium* izole etmişlerdir. İzole ettikleri tüm suşların asit direnci, safra toleransı, ekzopolisakkarit üretimi, antimikrobiyal aktiviteleri ve hemagglütinasyon kabiliyetleri gibi probiyotik kullanım açısından önemli olan bazı özelliklerini araştırmışlardır.

Yapılan bir çalışmada hamur mayasından izole edilmiş *L. acidophilus* Z10 suşunun, pH 4.5 pankreatin içeren ortam ve pH 7.0 pankreatin içeren ortam olmak üzere iki farklı test uygulanmıştır. 0., 2., 4., ve 24. saatlerde yapılan canlılık ölçümü sonucunda, *L. acidophilus* Z10 suşunun pH 4.5 pankreatin ihtiva eden ortamda 2.8 logaritmik azalma, pH 7.0 pankreatin ortamında ise 2.4 logaritmik azalmanın olduğu gözlenmiştir (Denkova ve ark.,2012)

Ejtahed ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada; probiyotik yoğurdun, serum konsantrasyonunda MDA seviyesinin belirgin bir şekilde azaldığı bildirilmiştir.

Zhang ve Zhang (2013) yaptıkları çalışmada, antioksidan etkileri olan birçok *Lactobacillus* suşunun sadece MDA seviyesini düşürmekle kalmayıp, aynı zamanda antioksidan üretimini de arttırdığını gözlemlemişlerdir.

Cho ve ark. (2013) Kore'nin geleneksel fermente bir ürünü olan Kimçinin farklı bölgelerden toplanması ve bu üründen elde edilen LAB'ların tanımlanmasına dayanan bir çalışma yürütmüşlerdir. İzole edilen 106 suşun fenotipik ve genotipik tanıları yapılmış ve 16S rDNA gen tanılama sonuçlarına göre bu suşların; *L. paracasei*, *L. casei* ve *L. plantarum* olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra, tanımlanması yapılan bu suşlar üzerinde asitlik ve safra toleransı testleri yapılmıştır.

Liu ve ark. (2013) Çin'in farklı etnik azınlık bölgelerinden alınan 18 insan dışkı örneğinden, 29 *Bifidobacterium* suşu izole etmişlerdir. İzole edilen *Bifidobacterium* suşlarına 16S rRNA dizi analizi yapılarak 9 suşu *B. longum* ve 20 suşu da *B. pseudocatenulatum* olarak tanımlamışlardır. Bu suşların asit direnci, safra toleransı ve yapay gastrointestinal sıvısına dirençlilikleri gibi probiyotik kullanım açısından önemli olan bazı özellikleri araştırılmıştır.

Argyri ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada, fermente zeytinden izole edilen LAB'ların potansiyel probiyotik olarak kullanılabilme olanakları araştırılmış, bu amaçla izole edilen 71 LAB'ın; 17'sinin *Leu. mesenteroides*, birinin *Leu. pseudomesenteroides*, 13'ünün *L. plantarum*, 37'sinin *L. pentosus*, birinin *L. paraplantarum* ve iki tanesinin *L. paracasei* subsp. *paracasei* olduğu tespit edilmiştir. Daha sonraki aşamalarda ise probiyotik özellik için çeşitli testler uygulanmış, üç *L. pentosus*, dört *L. plantarum* ve iki *L. paracasei* subsp. *paracasei* suşunun, üç saat düşük pH'ya maruz kaldıktan sonra en yüksek son populasyon miktarını gösterdiği bildirilmiştir.

Balamurugan ve ark. (2014) çalışmalarında endüstriyel olmayan doğal üretilen kaymaktan 12 adet *Lactobacillus* suşunu izole etmişlerdir. İzole ettikleri suşların potansiyel probiyotik olma özelliklerini incelemişlerdir.

Başka bir çalışmada ise fermente bir süt ürünü olan kefirde izole edilmiş *Lactobacillus* suşlarının asit ve safra tuzlarına karşı direnç gösterdiği tespit edilmiştir (Günel, 2014)

Günel ve Okuklu (2014) tarafından yapılan çalışmada, Urla bölgesinden toplanan doğal yoğurtlardan elde edilen suşların tanımlanması ve probiyotik özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. 13 farklı doğal yoğurt örneği toplanmış ve bu örneklerden 473 suş izole edilmiştir. Bu izolatların probiyotik özelliklerinin araştırılması için; katalaz, düşük pH toleransı, simüle insan gastrik suyu, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim, safra tuzu toleransı, antibiyotik direnç profilleri, yapışma kabiliyeti ve prebiyotik varlığında gelişim gibi testler uygulanmıştır. Bu suşlardan beş *S. thermophilus* ve 26 *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* potansiyel probiyotik olarak belirlenmiştir.

Enterococcus faecium CFR 3003'ün antioksidan, antiinflamatuvar ve nöromodülatör potansiyeli araştırıldığı bir çalışmada; *in vivo* fare modelinde, oral takviyelerin 28 gün boyunca *E. faecium* ve *L. rhamnosus* ile sağlanan genç farelerin, beyinde oksidatif markerler, c-aminobütirik asit ve dopamin seviyelerinde azalma ile birlikte antioksidan enzimlerin aktivitelerinde artış gözlemlendiği, düşük dozda, *E. faecium*'un bazal ROS seviyelerinde marjinal bir düşüşe neden olurken, yüksek dozda korteks seviyelerini önemli ölçüde azalttığı ve CAT aktivitesini anlamlı olarak arttırdığı bildirilmiştir (Divyashri ve ark., 2015)

Araştırmamıza benzer yapılan bir çalışmada ise karma turşulardan izole edilmiş 21 adet *L. plantarum*, 11 adet *P. ethanolidurans* ve yedi adet *L. brevis* izolatlarının potansiyel probiyotik olma özellikleri araştırılmıştır. Probiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla pankreatine karşı dirençlilik testi için pH'sı 8.0'e ayarlanmış ve 1mg/mL pankreatin içeren PBS tamponunda mikroorganizmalar dört saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda suşların en çok %63'lük bir canlılık oranı gösterdiği bildirilmiştir (Tokatlı ark., 2015).

Işık, (2016) 'Deneysel Stres Modeliyle İndüklenen Gastrik Lezyonlara Karşı *L. rhamnosus*'un Koruyucu Etkilerinin Araştırılması' adlı çalışmasında *L. rhamnosus* GG (ATCC 53103)'un CAT seviyesini arttırdığını bildirmiştir.

Suo ve ark.'nın (2016) yaptığı çalışmada; *L. fermentum* -LF-Suo suşunun etanol ile indüklenen gastrik lezyonlarda GSH-Px aktivitesinde artmaya neden olduğu bildirilmiştir.

El-Sheekh ve ark. (2016) tarafından, 13 adet LAB suşu kullanılarak probiyotik bakterilerin antioksidan ajan olarak potansiyel rolünün araştırıldığı çalışmada; incelenen LAB suşlarının asitliliğe, safra tuzuna karşı yüksek tolerans gösterdiği ve değişken antioksidan etkilere (MDA, GSH, GSH-Px, CAT, DPPH) sahip olduğu tespit edilmiştir. Suşlar arasında *L. plantarum* DSMZ 20174 ve *L. acidophilus* DSMZ 20079T'nin en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Çalışmamıza benzerlik gösteren bir araştırmasında; yöresel olan fermente hububat mamülü numunelerinden izole edilmiş 54 adet *L. plantarum* suşlarının gastrik mide asitliğine ve safra bileşenlerine karşı toleransları araştırmıştır. Yapılan çalışmada birkaç suş hariç, tüm suşların mide asidine ve safra tuzlarına karşı duyarlı oldukları belirlenmiştir. Araştırmada suşların sadece 24 tanesi (%44) asit ve safraya karşı direnç gösterebilmiştir. Canlılıklarını sürdürebilen altı izolat (%11) ise, potansiyel probiyotik olma özelliği bakımından incelenmiştir. Sonuç olarak sadece *L. plantarum* RYPR1 (%1.9) suşunun çok iyi bir probiyotik özellik gösterdiği bildirilmiştir (Yadav, 2016).

Zhang ve ark.'nın (2017) yaptığı çalışmada; diyetel probiyotik olarak kullanılan *L. delbrueckii* ile beslenen *Cyprinus carpio* türü balıkların karaciğerlerinde SOD, CAT, T-AOC ve GPX aktivitelerinin arttığı ve MDA seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir.

Alp (2018), yaptığı çalışmada, suşların pankreatine karşı direnç özelliklerini belirlemek için pH'sı 8.0'e ayarlanmış ve 1 mg/ml pankreatin içeren PBS tamponu kullanmıştır. Testin sonunda 31 adet suşun canlılığını koruduğunu belirlemiştir.

Wang ve ark. (2018) çalışmamıza benzer yaptıkları araştırmada, bal arılarının sindirim sisteminden izole ettikleri beş *L. plantarum* suşunun probiyotik ve antioksidan özellik gösterdiğini bildirmişlerdir. Elde ettikleri sonuca göre; DPPH radikal süpürme aktivitesinin sırayla *L. plantarum* H24, *L. plantarum* H47, *L. plantarum* H15 ve *L. plantarum* H28 (%76.58 ±% 0.55, %59.13 ±%4.01, %20.16 ± 0.36) yüzde (p> 0.05) olduğunu gözlemlemişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Lactobacillus plantarum* suşlarının temini

Çalışmamız geleneksel olarak üretilen turşulardan izole edilmiş ve tanımlaması yapılmış (Çizelge 3.1.) 40 adet *L. plantarum* suşu (Alan ve ark., 2018) kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 3.1. *L. plantarum* suşları

Y11	Y10	Y18	Y15	Y13	Y7	Y34	Y64	Y14	Y20
Y9	Y8	Y27	Y35	Y19	Y53	Y37	Y72	Y36	Y6
Y51	Y70	Y45	Y24	Y26	Y49	Y15	Y1	Y40	Y38
Y12	Y25	Y29	Y22	Y23	Y2	Y3	Y4	Y5	Y27

3.1.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri

Çalışmamızda MRS Broth (Man Rogosa and Sharpe) (Sigma) sıvı besi ortamı ve MRS Agar (Man Rogosa and Sharpe) (Sigma) katı besi ortamı kullanılmıştır.

3.1.3 Çalışmada kullanılan çözeltiler ve tamponlar

Çalışmamızda, *L. plantarum* suşlarının probiyotik özelliklerini belirlenmesi için 5M'lık HCl asit ile pH'ı 1.0, 2.0, 3.0' e ayarlanmış PBS tamponu ile çalışılmıştır. İzotonik ortam ve kontrol grubu olarak, pH 7.4 olan PBS tamponu kullanılmıştır. *In vitro* şartlarda sindirim sistemi ortamını hazırlamak için ticari amaçlı üretilen Sigma marka, pepsin, pankreatin ve safra tuzları kullanılmıştır.

Çalışmamızda *L. plantarum* 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), ve Butillenmiş Hidroksi Toluen (BHT), neokuprin, FeCl₂, NH₄SCN, GSH Redüktaz, Tris-EDTA Tamponu (pH= 8.9), Na₂HPO₄, K₃Fe(CN)₆, Trikloro asetik asit (TCA), etil alkol, FeCl₃, Fosfat tamponu (50 mM), EDTA'lı Fosfat Tamponu (pH=7), 0,01M NADPH, 0.01M Sodyum Azid (NaN₃), Hidrojen Peroksit (H₂O₂), 3,2M Amonyum Sülfat (NH₄)₂SO₄, %10'luk Triklorasetik Asit

(TCA), 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB), %0.675'lik Tribarbütirik Asit (TBA) kullanılmıştır.

3.1.4. Yararlanılan alet ve cihazlar

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

3.2. Yöntem

3.2.1. Probiyotik özelliklerin belirlenmesi

3.2.1.1. *L. plantarum* suşlarının farklı pH değerlerine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi

Suşların düşük pH şartlarına karşı dirençliliklerini belirlenmek için kullanılan pH konsantrasyonu ve inkübe süresi, besinlerin insan gastrointestinal sisteminden geçişi sırasında midede kaldığı süre göz önüne alınarak belirlenmiştir. Diyetle alınan besinlerin genel olarak sağlıklı bir insanın midesinde kalma süresi üç saattir. Bu zaman zarfında alınan besinlerin türüne göre (lipit, karbonhidrat ve protein) midenin pH'sı 1 ile 4 arasında değişmektedir (Vinderola ve ark., 2000). *L. plantarum* izolatlarının düşük pH'da canlılıklarını sürdürme oranları (Maragkoudakis, 2006; Claire ve ark., 2006) tarafından belirtilen yöntemler modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir.

L. plantarum izolatları 1ml MRS broth besi ortamında, 37 °C'de 18 saat boyunca inkübe işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon işleminden sonra, suşların ekimi için MRS broth besi ortamının pH'sı 1mol/L HCl kullanılarak pH 2.0 ve 3.0 olacak şekilde ayarlanması yapılmıştır. Hazırlanan besi ortamına suşların ekimleri yapılmıştır. Deneyin kontrol grubu pH 7.4'e ayarlanan PBS tamponu tercih edilmiştir. Belirlenen inkübasyon süresi dolduktan sonra, numuneler her saatin sonunda (0., 1., 2., ve 3. saatler) alınarak,

seri dilüsyonları yapıp MRS agar besiyerlerine ekimler üç paralel şekilde gerçekleştirilmiştir. Ekim işlemi biten besi ortamları, 37 °C'de ve 48 saat süre ile inkübe edilmeye bırakılmıştır. İnkübasyon işleminin sonrasında kontrol grubu ve deney gruplarındaki koloniler sayılarak, Log CFU/ml türünden değerler hesaplanmıştır (Alp, 2018; Claire ve ark., 2006).

3.2.1.2. *L. plantarum* suşlarının pepsine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi

İzolatların mide ortamından geçerek ince bağırsağa ulaşabilme yeteneklerinin test edilebilmesi için mide ortamı çözeltisi kullanılmıştır. Bu amaçla, 100 ml steril edilmiş PBS içerisine %0.3 pepsin (w/v) ilave edilerek, pH 2.0 ve pH 3.0'e ayarlanmış mide ortamı çözeltisi hazırlanmıştır (Elçioglu ve Kunduhoğlu, 2014).

Suşların pepsine karşı direnç özelliklerinin tespit etmek amacıyla pepsin (Sigma) ihtiva eden farklı pH değerlerine sahip olan PBS tamponu (pH 2.0 ve pH 3.0) ile çalışılmıştır. Daha önceden aktifleştirilmiş bakteri kültürlerinden 1 ml alınarak 12000 rpm'de 5 dakika süre ile 4°C'de santrifüj işlemi yapılarak üst kısımdaki çözelti (süpernatant) uzaklaştırılmıştır. Altta pelet oluşturan bakteriler alınıp, daha sonra iki defa PBS (pH 7.4) ile yıkama işlemi yapılmıştır. Ardından pepsin ihtiva eden PBS (pH 2.0 ve pH 3.0) tamponları ile homojenize edilerek, 37°C de üç saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübe işlemi sürerken 0., 1., 2., ve 3. saatlerde; her suştan alınan numuneler seri dilüsyon işleminden geçirilmiş ve sonrasında ise damla kültür metodu uygulanarak MRS agar besi ortamına ekimleri, üç paralel olacak şekilde ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Örneklerin 37 °C'de 24-48 saat inkübasyonunun sonunda test ve kontrol gruplarındaki bakteri kolonileri sayılıp, Log CFU/ml olarak değerler hesaplanmıştır (Maragkoudakis ve ark., 2006; Collado ve San 2006; Tokatlı ve ark., 2015).

3.2.1.3. *L. plantarum* suşlarının pankreatine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi

İzolatların pankreatine karşı direnç özelliklerini belirlemek için yapılan testlerde İzolatlar 37°C'de 18 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Aktifleştirilmiş bakteri kültüründen 1 ml alınarak 12000 rpm' de 5 dakika süreyle 4 °C sıcaklıkta santrifüj işlemi yapılarak süpernatant kısmı uzaklaştırılıp akabinde ise pelet kısmı iki defa PBS (pH 7.4) ile yıkama işleminden geçirilmiştir. Ardından pH'sı 8.0'a ayarlanan PBS tamponuna 1 mg/ml pankreatin eklenmiştir. Hazırlanan pankreatinli PBS tampon ortamına, aktifleştirilmiş kültürlerden %1 oranında bakteriler aktarılmış ve optimum sıcaklıkta (37 °C) 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak PBS (pH 7.4) kullanılmıştır.

İnkübasyonun akabinde 0. ve 4. saatin sonunda suş örneklerinden numuneler alınarak, seri dilüsyonları yapılmıştır. Daha sonra damla kültür metoduyla MRS agar besi ortamına ekimler, yayma ekim üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Belirlenen süreler mütakiben, örneklerin 37 °C’de inkübasyonunun 24 ve 48. saatleri sonunda, kontrol grubu ve deney grubundaki koloniler sayılıp, Log CFU/ml olarak değerler hesaplanmıştır (Alp, 2018; Maragkoudakis ve ark., 2006; Collado ve San 2006; Tokatlı ve ark., 2015).

3.2.1.4. *L. plantarum* suşlarının safra tuzuna karşı direnç özelliğinin belirlenmesi

Çalışmamızda MRS broth besi ortamında 37°C’de 18 saatte aktifleştirilen *L. plantarum* izolatları kullanılmıştır. Aktifleştirme işlemi sonrasında, bakteri suşlarının safra bileşenlerine karşı direnç özelliğini belirlemek için %0.3, %0.5 ve %1 oranında safra bileşenlerini ihtiva eden, PBS içerisine %1 oranında *L. plantarum* izolatları eklenmiştir. İnkübasyonun 0. ve 4. saati sonunda örneklerden alınan numunelerin, seri dilüsyonları yapılarak daha sonra damla kültür metodu ile MRS agar besi ortamına yayma ekim üç paralel olarak yapılmıştır. Belirlenen süreler mütakiben, örneklerin 37 °C’de inkübasyonunun 24. ve 48. saati sonunda kontrol grubu ve deney grubundaki koloniler sayılıp, Log CFU/ml olarak değerler hesaplanmıştır (Eryılmaz, 2011; Sahadeva ve ark., 2011; Jamaly ve ark., 2011; Xiao ve ark., 2014; Soliman ve ark., 2015).

3.2.2. *L. plantarum* suşlarının antioksidan özelliklerinin belirlenmesi

3.2.2.1. Redükte Glutatyon (GSH) düzeylerinin belirlenmesi

L. plantarum suşlarının GSH düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Sedlak and Lindsay (Sedlak ve Lindsay, 1968) metoduna göre yapılmıştır. GSH tayininde kullanılan çözeltiler (Çizelge 3.2)’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. GSH tayininde kullanılan çözeltiler

%5'lik TCA	100 ml saf suda 5 gr TCA çödürüldü.
1.25 M Na₂CO₃	0.1325 g Na ₂ CO ₃ 8 ml saf suda çözüldü ve son hacmi 10 ml'ye tamamlandı.
200 mM KH₂PO₄/50 mM EDTA (pH:7.5)	80 ml saf suda 2.72 g KH ₂ PO ₄ , 1,46 g EDTA alınıp çözüldü. pH 7.5'e ayarlandı. Son olarak toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.
2 mM NADPH Çözeltisi	5 ml'ye tamamlanacak şekilde 8.3 mg NADPH alınarak saf suda çözüldü.
6 mM DTNB	0.0172 g DTNB alınarak 10 ml 200 mM KH ₂ PO ₄ /50 mM EDTA (pH: 7,5) tamponunda çözüldü.
0,5 EÜ/ml GR (mayadan saflaştırılmış)	100 EÜ/ml'lik GR'dan 5 µL alınıp saf suyla 1000 µl'ye tamamlandı.
2 mM GSSG Çözeltisi (standart grafik hazırlamak için)	5 ml'ye tamamlanacak şekilde 6.188 mg okside glutasyon alınarak saf suda çözüldü.

L. plantarum bütün protein olmayan sülfidril grupları GSH şeklinde bulunur. 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB), sülfidril bileşikleri tarafından redükte edilerek bir disülfid bileşiği olan sarı renkli bir disülfid birleşimi meydana gelir. 412 nm dalga boyunda sarı renkli bileşiğin optik dansitesi ölçülerek GSH aktivitesi saptanır (Savcı, 2016). GSH analizindeki pipetleme prosedürü (Çizelge 3.3)'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Toplam glutasyon analizindeki pipetleme metodu

Çözeltiler	Kör (µl)	Numune(µl)
200 mM fosfat tamponu (50 mM EDTA'lı)	770	670
2 mM NADPH	100	100
6 mM DTNB	100	100
Süpernatant	-	100
0.5 EU/mL GR	30	30

3.2.2.2. Malondialdehit (MDA) düzeylerinin belirlenmesi

Preşip: *L. plantarum* suşlarının, MDA düzeylerinin tayini spektrofotometrik olarak Yagi (Yagi, 1984) metoduna göre yapılmıştır. *L. plantarum* suşlarının MDA tayini; aerobik şartlar altında ve pH 3.5'te, su banyosunda 60 dakika inkubasyonu ile, MDA'nın TBA gibi sekonder ürünlerin lipid peroksidasyonu ile oluşturduğu pembe renkli yapı 532

nm’de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır (Savcı, 2012). MDA tayininde kullanılan çözeltiler (Çizelge 3.4)’teki prosedüre göre hazırlanmıştır.

Çizelge 3.4. MDA tayininde kullanılan çözeltiler

Triklorasetik Asit (TCA)	% 10’luk TCA kullanıldı.
Tribarbütirik Asit (TBA)	% 0.675’lik TBA kullanıldı.

Hesaplama:

$$\text{MDA}(\text{nmol}/(\mu\text{L})) = (\text{örnek O. D} \times \text{Std. konsantrasyonu})/(\text{Std. O. D})$$

3.2.2.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) aktivitesinin belirlenmesi

H₂O₂’nin redükte glutasyonu ile suya dönüşümünü katalizleyen GSH-Px enzimidir. GSH-Px aktivitesi Paglia de Valentine (Paglia, 1967) metoduna göre yapılmıştır. Aktivite ölçülmesinde kullanılan çözeltiler (Çizelge 3.5)’te gösterilmiştir.

GSH-Px aktivitesi, deney ortamındaki NADPH’ın NADP⁺’ya çevrilmesi ile optik yoğunluktan meydana gelen absorbans farkının 340 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile hesaplanmıştır (Savcı, 2012). GSH-Px aktivite ölçüm prosedürü (Çizelge 3.6)’da gösterildiği gibi yapılmıştır.

Çizelge 3.5. GSHPx Aktivitesinde Kullanılan Çözeltiler

Tampon Çözelti	5 mM EDTA içeren 1M Tris/HCl (pH:8) 0.0935 gr EDTA ve 6.05 gr Tris 40 mL saf suda çözüldü. pH’sı HCl ile 8’e ayarlandı. Son hacim 50 ml’ye tamamlandı.
20 mM GSH	0.061 gr GSH alındı ve hacmi saf su ile 10 ml’ye tamamlandı.
2mM NADPH	0.0083 gr NADPH alındı, hacmi saf su ile 5 ml’ye tamamlandı.
10 EÜ/mL GR	500 EÜ/mL kullanıldı.50 kat seyreltildi.20 µL alınıp 1000 µL’ye tamamlandı.
7 mM t-bütil hidroperoksid	9.61 µL alınıp 10 ml’ye tamamlandı.

Çizelge 3.6. GSH-Px aktivite ölçüm prosedürü

	Kör (µl)	Numune(µl)
Tampon	100	100
GSH	100	100
GR	100	100
NADPH	100	100
Homojenat	10	10
Su	590	580
t-bütil HPx	-	10

Hesaplama:

$$\frac{EU}{ml} = \frac{\Delta OD}{3 \times 6,22} \times \frac{Vt}{Ve} \times Sf$$

3.2.2.4. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Prencip: Suşların CAT enzim aktiviteleri (Aebi, 1984) metoduna göre tayin edilmiştir. Hidrojen peroksit, 240 nm dalga boyunda maksimum absorbanans göstermektedir. Deney ortamına ilave edilen H₂O₂'nin CAT enzimi tarafından parçalanması, ultraviyole spektrumda bir absorbanans azalması olarak takip edilir (Çizelge 3.7). Absorbansta görülen bu azalma enzim aktivitesi ile doğru orantılıdır (Kılınç 1985; Reiter ve ark., 1997; Savcı, 2016). Katalaz enzim aktivitesi pipetleme prosedürü (Çizelge 3.8) baz alınarak yapılmıştır.

Çizelge 3.7. Katalaz aktivitesinde kullanılan çözeltiler

50 mM K-Fosfat (pH:7)	0.68 gr KH ₂ PO ₄ 80 mL saf suda çözüldükten sonra pH 7'ye ayarlandı ve son hacim 100 ml'ye tamamlandı.
HPx çözeltisi	Son hacmi 5 ml saf su olacak şekilde 7 µL %30'luk H ₂ O ₂ ilave edildi.

Çizelge 3.8. Katalaz enzimi aktivite ölçümündeki pipetaj

	Kör (µl)	Numune(µl)
50 mM pH: 7.4 KH₂PO₄	1500	1490
Hidrojen peroksit (H₂O₂)	1500	1500
Homojenat	-	10
Toplam Hacim	3000	3000

Hesaplama:

$$\frac{EU}{ml} = \frac{\Delta OD}{0,0396} \times \frac{Vt}{Ve}$$

3.2.2.5. DPPH radikal giderme aktivitesinin ölçülmesi

Numunelerin DPPH[•] serbest radikali süpürme aktivitesi Blois metoduna (Blois, 1958) göre yapılmıştır. 1 mM'lık DPPH[•] çözeltisi serbest radikal olarak kullanılmıştır. 1 mg/ml konsantrasyonundaki stok oluşturacak şekilde stok çözeltiler aktarılıp ve toplam hacimleri 3 ml olacak şekilde destile etanol ile tamamlanmıştır. Sonraki aşamada her bir tüpe stok DPPH[•] çözeltisinden 1 ml ilave edilerek, karanlık ortamda oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlemin ardından etanolden elde edilen köre karşı 517 nm'de absorbansları ölçülmüştür (Özçelik ve ark., 2003).

10⁻³ M'lık DPPH[•] çözeltisi: Etanolde tamamen çözününceye kadar 39 mg DPPH[•] bir gece boyunca manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak toplam hacim 200 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır.

3.2.3. İstatistiksel analiz

Probiyotik özelliklerin istatistiksel analizleri GraphPad Prism 8 yazılımı kullanılarak, Dunnett ve Tukey testi ile yapıldı. Verilerin (n=3) ortalama değerleri ± standart sapmaları hesaplanarak verildi. Fermantasyon boyunca elde edilen verilerde two-way (ANOVA) varyans analizi yapıldı. Farklılıklar p <0.001'te anlamlı kabul edildi.

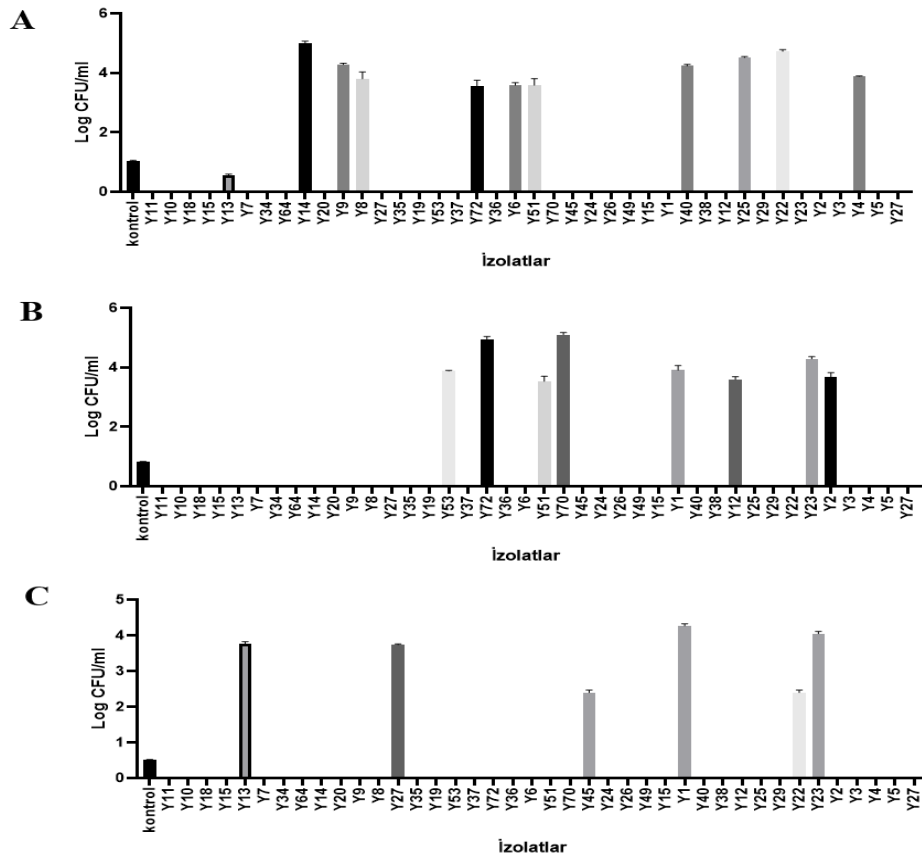
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. *L. plantarum* Suşlarının Probiyotik Özellikleri

4.1.1 *L. plantarum* suşlarının farklı pH değerlerine karşı direnç özellikleri

Bakterilerin probiyotik özellik gösterebilmesi için sindirim sisteminden geçerken midenin 1-4 arasında değişen düşük pH'sına karşı dirençli olması gerekmektedir. Midede kalma süresi üç saat olduğu için suşların düşük pH seviyelerinde üç saat süreyle canlılık değişimi gözlenmiştir (Vinderola ve Reinheimer, 2003; Dunne ve ark., 2001).

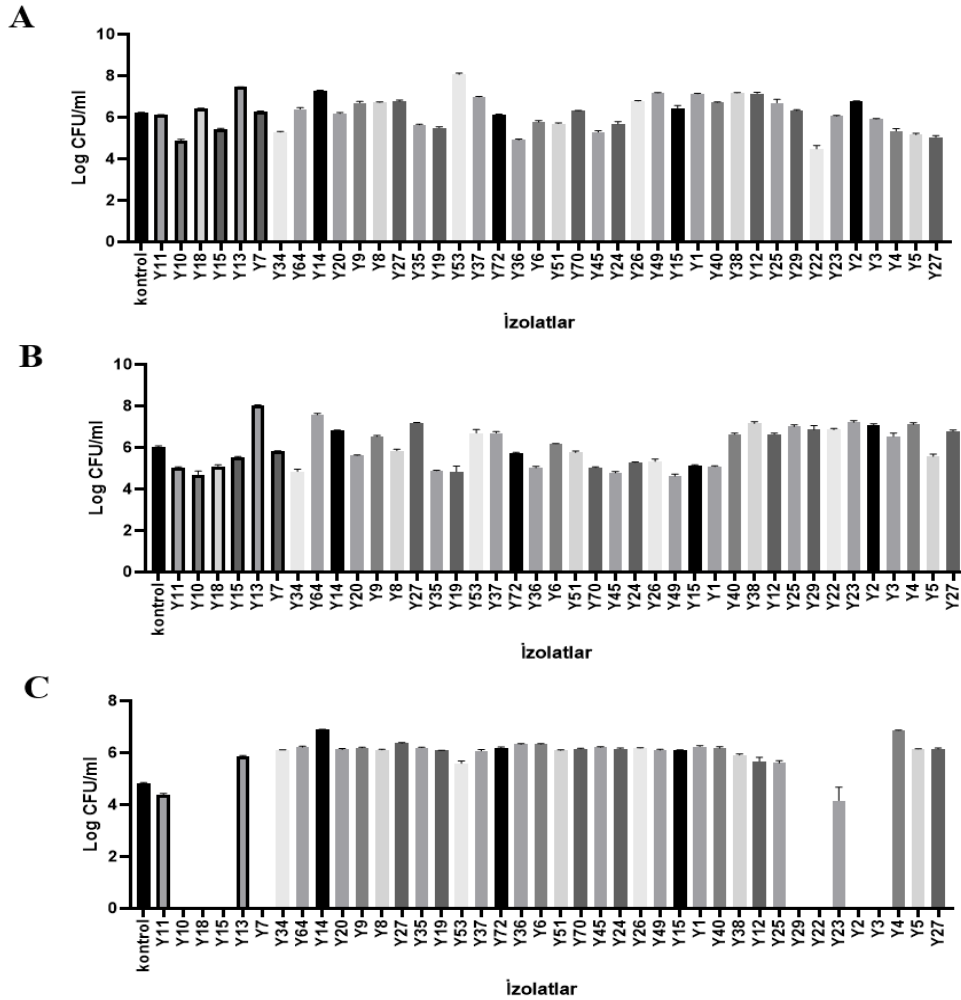
Çalışmamız ise, üç farklı saat ve üç farklı pH aralığında yapılmış olup sonuçlar (Çizelge 4.1.) verilmiştir. Çalışmamızda 40 adet *L. plantarum* suşunun farklı pH ve zaman aralığında elde edilen sonuçlarının ortalamaları hesaplanarak kontrol grup olarak alınmış olup, istatistiksel olarak değerlendirilmeleri yapılmıştır.



Şekil 4.1. *L. plantarum* suşlarının pH 1 (A: 1. saat, B: 2. saat ve C: 3. saat) değerine karşı direnç özellikleri

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, pH 1.0 ve 1. saatte *L. plantarum* suşlarının %27.5 (11 izolat) kontrolden daha fazla gelişerek anlamlı bir fark göstermiştir

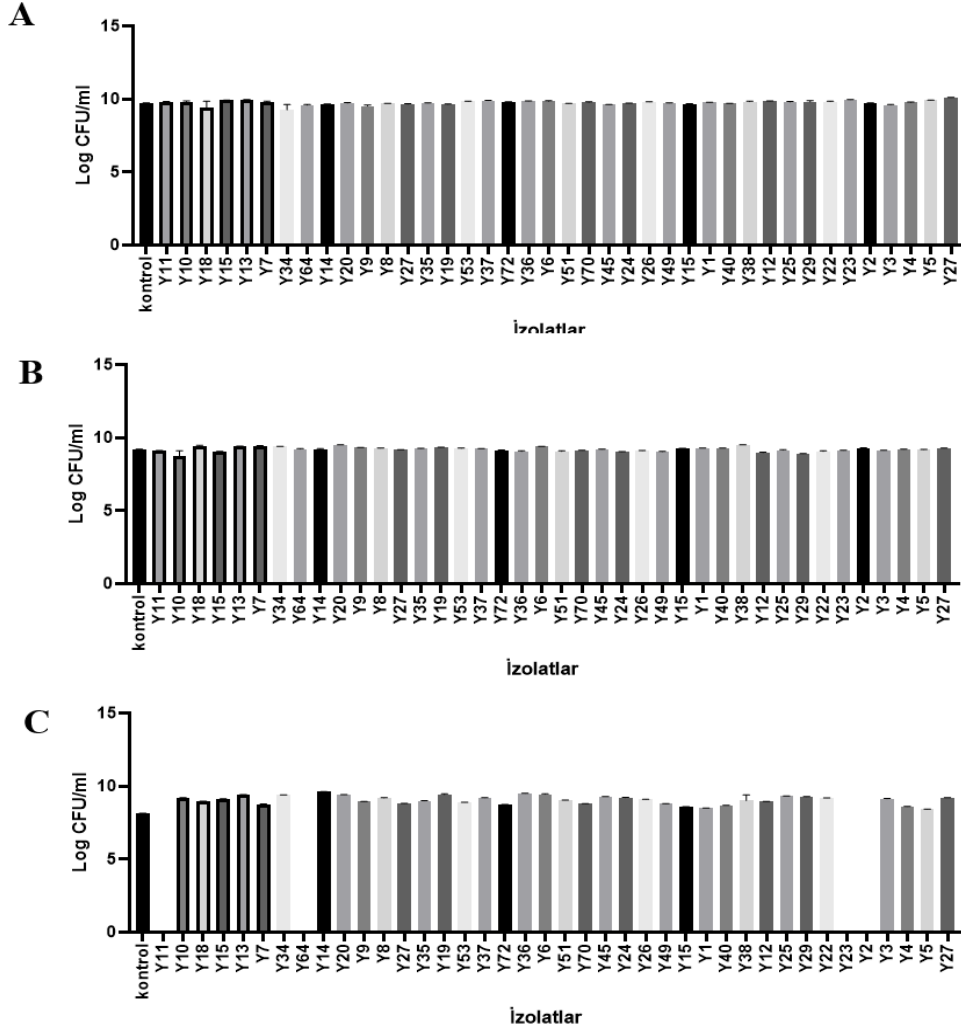
($P<0.001$). Ayrıca suşlarını %72.5 (29 suş) kontrolden daha az gelişerek anlamlı bir fark göstermiştir ($P<0.001$). pH 1.0'ın 2. saati incelendiğinde sadece Y72 ve Y51 nolu suşlarda yüksek anlamlı bir fark belirlenmiştir ($P<0.001$). Ayrıca pH 1.0 3. saatte ise hiçbir izolatin gelişmediği gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.2 *L. plantarum* suşlarının pH 2 (A: 1. saat, B: 2. saat ve C: 3. saat) değerine karşı direnç özellikleri

pH 2.0'nin 1. saatinin sonuçları değerlendirildiğinde ise, *L. plantarum* izolalarının, %40 (16 izolat) kontrolden daha fazla gelişerek anlamlı bir fark göstermiştir ($P<0.001$). İzolatlardan 14 tanesi (%35) de kontrol grubundan daha az gelişme göstererek yüksek anlamlı bir fark oluşturmuştur ($P<0.001$). pH 2.0'nin 2. saati incelendiğinde *L. plantarum* suşlarının, %45'i (18 izolat) kontrolden daha fazla gelişme gösterdiği ve yüksek anlamlı bir farkın olduğu görülmüştür ($P<0.001$). Ayrıca izolatlardan %42.5'i (17 izolat) kontrol değerinden daha az gelişme göstererek yüksek anlamlı fark meydana getirmiştir ($P<0.001$). pH 2.0'nin 3. saati ele alındığında *L. plantarum* suşlarının, %75'

inin (30 izolat) kontrolden daha çok gelişerek yüksek anlamlı bir fark sergilemiştir ($P<0.001$). Diğer yandan *L. plantarum* izolatlarının %5'i ise (Y11 ve Y23) kontrolden az gelişerek yüksek anlamlı fark göstermiştir ($P<0.001$). *L. plantarum* izolatlarının %20'lik kısmı (8 izolat) ise hiçbir gelişme göstermeyerek (Şekil 4.2) yüksek anlamlı bir fark gösterdiği kaydedilmiştir ($P<0.001$).



Şekil 4.3. *L. plantarum* suşlarının pH 3 (A: 1. saat, B: 2. saat ve C: 3. saat) değerine karşı direnç özellikleri

Çizelge 4.1. *L. plantarum* suşlarının farklı pH değerlerine karşı direnç özellikleri

İZOLATLAR	0. SAAT	pH 1			pH 2			pH 3		
		1. SAAT	2. SAAT	3. SAAT	1. SAAT	2. SAAT	3. SAAT	1. SAAT	2. SAAT	3. SAAT
KONTROL	10.01±0.15	1.04±0.02	0.21±0.01	0.00±0.00 ¹	6.20±0.04	6.02±0.06	4.83±0.02	9.70±0.01	9.20±0.01	8.14±0.01
Y11	10.16±0.23 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.11±0.02 ¹	5.03±0.03 ⁵	4.38±0.06 ⁵	9.76±0.08 ¹	9.10±0.01 ¹	0.00±0.00 ⁵
Y10	9.86±0.48 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	4.88±0.08 ⁵	4.70±0.17 ⁵	0.00±0.00 ⁵	9.83±0.04 ¹	8.70±0.04 ⁵	9.19±0.02 ⁵
Y18	10.31±0.35 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.43±0.02 ⁴	5.9±0.07 ⁵	0.00±0.00 ⁵	9.42±0.42 ⁴	9.45±0.03 ⁵	8.95±0.02 ⁵
Y15	10.16±0.29 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.43±0.04 ⁵	5.52±0.04 ⁵	0.00±0.00 ⁵	9.90±0.01 ¹	9.03±0.02 ³	9.07±0.06 ⁵
Y13	10.27±0.25 ¹	0.55±0.05 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	7.46±0.01 ⁵	8.00±0.04 ⁵	5.88±0.02 ⁵	9.90±0.03 ¹	9.41±0.01 ⁴	9.41±0.01 ⁵
Y7	10.14±0.36 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.28±0.02 ¹	5.82±0.02 ¹	0.00±0.00 ⁵	9.77±0.09 ¹	9.44±0.02 ⁵	8.72±0.06 ⁵
Y34	9.63±0.50 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.28±0.03 ⁵	4.85±0.11 ⁵	6.11±0.08 ⁵	9.26±0.36 ⁵	9.40±0.01 ⁴	9.40±0.01 ⁵
Y64	10.07±0.27 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.40±0.07 ³	7.58±0.08 ⁵	6.21±0.03 ⁵	9.58±0.04 ¹	9.23±0.01 ¹	0.00±0.00 ⁵
Y14	10.13±0.18 ¹	5.00±0.08 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	7.29±0.01 ⁵	6.81±0.03 ⁵	6.90±0.09 ⁵	9.64±0.02 ¹	9.23±0.01 ¹	9.61±0.01 ⁵
Y20	10.21±0.16 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.18±0.05 ¹	5.61±0.03 ⁵	6.12±0.04 ⁵	9.71±0.04 ¹	9.50±0.01 ⁵	9.40±0.01 ⁵
Y9	9.73±0.30 ¹	4.28±0.04 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.40±0.07 ⁵	6.53±0.05 ⁵	6.20±0.02 ⁵	9.52±0.06 ²	9.32±0.01 ¹	8.92±0.02 ⁵
Y8	10.25±0.20 ¹	3.80±0.24 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.71±0.04 ⁵	5.85±0.07 ¹	6.11±0.02 ⁵	9.70±0.01 ¹	9.27±0.01 ¹	9.19±0.02 ⁵
Y27	9.86±0.48 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.77±0.06 ⁵	7.19±0.09 ⁵	6.37±0.04 ⁵	9.64±0.04 ¹	9.17±0.01 ¹	8.80±0.02 ⁵
Y35	10.13±0.12 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.64±0.03 ⁵	4.88±0.02 ⁵	6.20±0.01 ⁵	9.70±0.02 ¹	9.24±0.03 ¹	8.90±0.02 ⁵
Y19	9.95±0.49 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.50±0.05 ⁵	4.83±0.27 ⁵	6.08±0.01 ⁵	9.63±0.03 ¹	9.33±0.02 ¹	9.41±0.05 ⁵
Y53	9.96±0.55 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	8.06±0.06 ⁵	6.70±0.17 ⁵	5.60±0.09 ⁵	9.83±0.02 ¹	9.26±0.02 ¹	8.89±0.01 ⁵
Y37	10.03±0.15 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.98±0.02 ⁵	6.70±0.07 ⁵	6.07±0.04 ⁵	9.90±0.01 ¹	9.25±0.01 ¹	9.20±0.01 ⁵
Y72	9.66±0.12 ¹	3.56±0.20 ⁵	4.95±0.09 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.14±0.02 ¹	5.73±0.03 ⁴	6.17±0.05 ⁵	9.78±0.03 ¹	9.13±0.02 ¹	8.71±0.03 ⁵
Y36	10.30±0.28 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	4.90±0.04 ⁵	5.05±0.07 ⁵	6.32±0.03 ⁵	9.84±0.04 ¹	9.05±0.04 ²	9.50±0.01 ⁵
Y6	10.00±0.35 ¹	3.58±0.01 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.77±0.08 ⁵	6.18±0.02 ¹	6.33±0.03 ⁵	9.85±0.03 ¹	9.40±0.01 ³	9.43±0.03 ⁵

1: Fark yok. 2: *. 3: **. 4: *** ve 5: ****

Çizelge 4.1.'in devamı

İZOLATLAR	0. SAAT	pH 1			pH 2			pH 3		
		1. SAAT	2. SAAT	3. SAAT	1. SAAT	2. SAAT	3. SAAT	1. SAAT	2. SAAT	3. SAAT
KONTROL	10.01±0.15	1.04±0.02	0.21±0.01	0.00±0.00 ¹	6.20±0.04	6.02±0.06	4.83±0.02	9.70±0.01	9.20±0.01	8.14±0.01
Y51	10.00±0.25 ¹	3.58±0.23 ⁵	3.53±0.17 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.70±0.03 ⁵	5.75±0.07 ³	6.09±0.01 ⁵	9.70±0.01 ¹	9.05±0.04 ²	9.02±0.02 ⁵
Y70	10.12±0.09 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.30±0.02 ¹	5.03±0.03 ⁵	6.15±0.02 ⁵	9.77±0.05 ¹	9.11±0.01 ¹	8.78±0.02 ⁵
Y45	10.14±0.09 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.29±0.07 ⁵	4.80±0.06 ⁵	6.21±0.02 ⁵	9.60±0.01 ¹	9.19±0.03 ¹	9.02±0.01 ⁵
Y24	9.70±0.43 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.70±0.01 ⁵	5.28±0.03 ⁵	6.16±0.03 ⁵	9.70±0.01 ¹	9.02±0.02 ³	9.20±0.03 ⁵
Y26	9.75±0.33 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.78±0.03 ⁵	5.32±0.11 ⁵	6.18±0.02 ⁵	9.80±0.01 ¹	9.09±0.01 ¹	9.08±0.01 ⁵
Y49	9.90±0.06 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	7.20±0.03 ⁵	4.61±0.10 ⁵	6.10±0.03 ⁵	9.70±0.01 ¹	9.03±0.03 ³	8.78±0.03 ⁵
Y15	9.80±0.50 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.41±0.16 ⁴	5.12±0.04 ⁵	6.09±0.03 ⁵	9.63±0.05 ¹	9.24±0.03 ¹	8.58±0.01 ⁵
Y1	10.11±0.01 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	7.13±0.02 ⁵	5.08±0.03 ⁵	6.23±0.04 ⁵	9.76±0.02 ¹	9.29±0.01 ¹	8.50±0.01 ⁵
Y40	10.00±0.13 ¹	4.23±0.05 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.71±0.03 ⁵	6.38±0.05 ⁵	6.18±0.05 ⁵	9.70±0.01 ¹	9.29±0.01 ¹	8.68±0.02 ⁵
Y38	9.88±0.05 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	7.17±0.02 ⁵	7.15±0.08 ⁵	5.90±0.04 ⁵	9.83±0.03 ¹	9.50±0.01 ⁵	9.00±0.04 ⁵
Y12	10.23±0.16 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	7.15±0.05 ⁵	6.63±0.04 ⁵	5.67±0.15 ⁵	9.84±0.02 ¹	8.97±0.03 ⁵	8.90±0.03 ⁵
Y25	9.96±0.10 ¹	4.52±0.03 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.70±0.17 ⁵	7.00±0.09 ⁵	5.60±0.09 ⁵	9.80±0.03 ¹	9.15±0.03 ¹	9.31±0.02 ⁵
Y29	10.01±0.17 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.32±0.04 ¹	6.86±0.20 ⁵	0.00±0.00 ⁵	9.80±0.07 ¹	8.90±0.01 ⁵	9.27±0.02 ⁵
Y22	9.94±0.04 ¹	4.72±0.06 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	4.48±0.17 ⁵	6.86±0.05 ⁵	0.00±0.00 ⁵	9.82±0.02 ¹	9.05±0.04 ²	9.19±0.01 ⁵
Y23	10.12±0.16 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.05±0.04 ¹	7.21±0.09 ⁵	4.16±0.51 ⁵	9.94±0.02 ¹	9.12±0.02 ¹	0.00±0.00 ⁵
Y2	10.21±0.42 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	6.76±0.04 ⁵	7.06±0.09 ⁵	0.00±0.00 ⁵	9.70±0.04 ¹	9.30±0.01 ¹	0.00±0.00 ⁵
Y3	9.84±0.14 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.91±0.03 ⁵	6.53±0.17 ⁵	0.00±0.00 ⁵	9.60±0.02 ¹	9.11±0.02 ¹	9.14±0.03 ⁵
Y4	10.08±0.26 ¹	3.88±0.02 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.33±0.11 ⁵	7.11±0.09 ⁵	6.86±0.02 ⁵	9.76±0.04 ¹	9.20±0.02 ¹	8.59±0.02 ⁵
Y5	10.29±0.23 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.17±0.07 ⁵	5.57±0.10 ⁵	6.15±0.05 ⁵	9.90±0.02 ¹	9.17±0.02 ¹	8.40±0.03 ⁵
Y27	10.49±0.17 ¹	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ⁵	0.00±0.00 ¹	5.03±0.09 ⁵	6.57±0.06 ⁵	6.14±0.04 ⁵	10.09±0.02 ⁵	9.27±0.01 ¹	9.20±0.02 ⁵

1: Fark yok, 2: *, 3: **, 4: *** ve 5: ***

pH 3.0'ün 1. saatinin sonuçları incelendiğinde; *L. plantarum* izolatlarından sadece Y34 ve Y27 kodlu suşlarının (%5) kontrolden daha çok gelişerek yüksek anlamlı bir fark oluşturduğu gözlemlenmiştir ($P<0.001$). pH 3.0'ün 2. saatinin sonuçları göz önüne alındığında *L. plantarum* izolatlarından, sadece 7 izolat (%17.5) (Y10, Y18, Y7, Y20, Y38, Y12 ve Y29) kontrolden daha fazla gelişme göstererek yüksek anlamlı fark sergilediği belirlenmiştir ($P<0.001$). pH 3.0'ün 2. saatinin sonuçları değerlendirildiğinde ise *L. plantarum* izolatlarının %90'nı (36 izolat) kontrol değerinden daha fazla gelişim göstererek yüksek anlamlı bir fark göstermiştir ($P<0.001$). Geriye kalan %10'luk (4 suş) *L. plantarum* izolatları ise herhangi bir gelişme gösterememişlerdir (Şekil 4.3).

Probiyotiklerin hayatta kalma mücadelesinde karşılaştıkları ilk fizyolojik bariyer midenin asidik ortamıdır (Ramirez-Chavarin ve ark., 2013; Vasiljevic ve ark., 2008). Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmalarda bazı seçim kriterleri aranmaktadır. Bu kriterlerden, en önemli olanlarından biri de bakterinin aside karşı direnç özellikleridir. Bağırsak yoluna ulaştığında, mide asidinden en az oranda zarar görmüş olmalarıdır (Ashraf ve ark., 2016; Dianawati ve ark., 2016). Probiyotik özelliklerin araştırıldığı bir çalışmada, 16 adet *Laktobacillus* suşundan 13 tanesinin (%81) ve 127 adet *Enterococcus faecium* türüne ait 22 adedi (%17) pH 2.5 değerine karşı dirençli olduğu bildirilmiştir (Doğan, 2017).

Yapılan bir başka çalışmada ise yedi adet laktobasilden yalnızca üç suşun (%43) pH 2.0 veya 3.0'e karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (Mishra ve ark., 2005).

Oral (2015) tarafından yapılan çalışmada; pH 1.0 değerinde 1 saat içerisinde bütün izolatların canlılıklarını yitirdikleri rapor edilmiştir. Aynı çalışmada *L. sakei* (OZH3) suşlarının pH 2.0'de 1. saatin sonunda %18.6 oranında canlılık gösterdiği, 2. saatin sonunda ise canlılığını tamamen kaybettiğini gözlemlemiştir. pH 3.0 için yapılan deneylerde bu suşun 1. saatin sonunda canlılığını %95 oranında, 2. saatin sonunda canlılığını %93 oranında ve 3. saatin sonunda ise canlılığını %87.5 oranında korumuştur. *L. plantarum* (OZH8) suşlarının pH 2.0'de 1. saatin sonunda %37 oranında canlılık gösterdiği, 2. saatin sonunda ise suşun canlılığını tamamen yitirdiği belirlenmiştir. pH 3.0 için yapılan deneylerde suşlarının 1. saatin sonunda canlılığını %98 oranında korurken 3. saatin sonunda canlılık %97 oranında olduğunu belirlemiştir.

Charteris ve ark. (1998) yaptıkları araştırmada; mide asidine benzer bir ortamda pH 2.0'de, sadece bir laktobasil suşunun (*L. fermentum* KLD) dirençli olduğunu ancak, ortama süt proteinleri eklenerek yapılan denemede ise *L. casei* 2123 ve *B. infantis* 25962 suşlarının %100 geçiş toleransı olduğunu belirlemişlerdir.

Zhang ve ark. (2016)'da yürüttükleri araştırmada; çiğ olan süttten üretilmiş peynirden izolasyonunu yaptıkları 69 *Lactobacillus* suşunun, potansiyel probiyotik olma özelliklerini araştırmışlar. 69 *Lactobacillus* suşundan 29 adet suşun pH 2.0 ve pH 3.0'e karşı 2. saatin sonunda %90 oranında canlı kaldıklarını gözlemlemişlerdir.

İnsan gaytasından izole edilen *L. brevis*'in pH 4.0'de, *L. plantarum*'un ise pH 3.5'da canlı kalabildiği, ancak daha düşük pH değerlerinde gelişimlerinin durduğu saptanmıştır (Delgado ve ark., 2007).

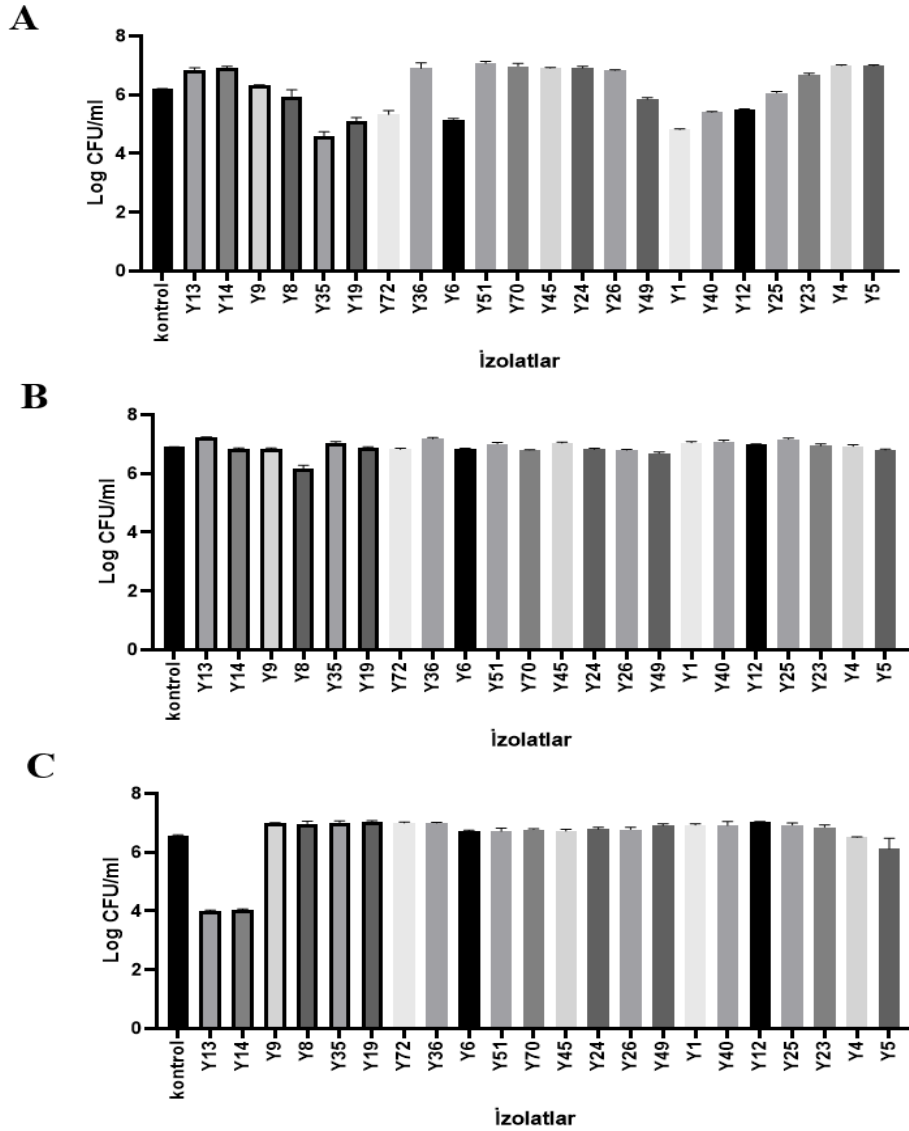
Çalışmamızda ise *L. plantarum* suşlarının pH 1.0 ve 1. saatte %27'si kontrolden daha fazla gelişerek anlamlı bir fark göstermiştir. pH 1.0 ve 2. saatte ise sadece iki izolatın kontrolden daha fazla gelişme göstererek yüksek anlamlı fark sergilediği tespit edilmiştir. pH 1.0 ve 3. saatin sonunda hiçbir izolatın gelişme göstermediği kaydedilmiştir. pH 2.0'nin 1. saatinin sonuçlarına göre, *L. plantarum* izolatlarının, %100'ü kontrolden daha az gelişme göstermiştir. Ancak %75'i yüksek anlamlı fark sergilemiştir. Ayrıca pH 2.0'nin 2. saati incelendiğinde *L. plantarum* suşlarının tümü kontrolden daha az gelişerek canlılığını sürdürmüş ve %60.5'inin yüksek anlamlı fark gösterdiği kaydedilmiştir. pH 2'in 3. saatin de *L. plantarum* suşlarının, %82.5'inin canlılığını sürdürdüğü gözlemlenmiştir. Geriye kalan *L. plantarum* izolatlarının %17.5'lik kısmı ise hiçbir gelişme göstermemiştir. pH 3.0'ün 1. saatinin sonuçlarına göre *L. plantarum* izolatlarının tamamı canlılığını korumuş, sadece Y34 ve Y27 kodlu izolatların yüksek anlamlı fark sergilediği gözlemlenmiştir. pH 3.0'ün 2. saatinin sonuçları göz önüne alındığında *L. plantarum* suşlarının tümünde gelişme gözlenmiştir. *L. plantarum* izolatlarından %17.5'i (7 izolat) yüksek anlamlı fark gösterdiği kaydedilmiştir. pH 3.0'ün 3. saatinin sonuçlarına bakıldığında ise *L. plantarum* izolatlarının %90'nı (36 izolat) canlılığını korumuştur. Geriye kalan %10'luk (4 suş) *L. plantarum* izolatları ise herhangi bir gelişme göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Çalışmamızın sonuçları literatürde yer alan birçok çalışma ile paralellik göstermektedir.

4.1.2. *L. plantarum* suşlarının pepsine karşı direnç özellikleri

Pepsin, protein ve türevlerinin sindiriminde etkin rol oynayan önemli kompleks bir enzimdir. Probiyotik seçimi kriterlerinden biri de mikroorganizmaların, mide sıvısında bulunan ve protein sindiriminde rol oynayan pepsin bariyerini aşarak bağırsaklara ulaşmalarıdır. Sağlıklı bir insanın mide pH'sı 2.0–3.0 aralığındadır. Besinlerin midede kalma süresi yaklaşık olarak üç saat olduğu için suşların pepsin ve düşük pH'a aynı anda maruz kaldıkları göz önünde bulundurulmalıdır. pH 2.0 ve 3.0'deki

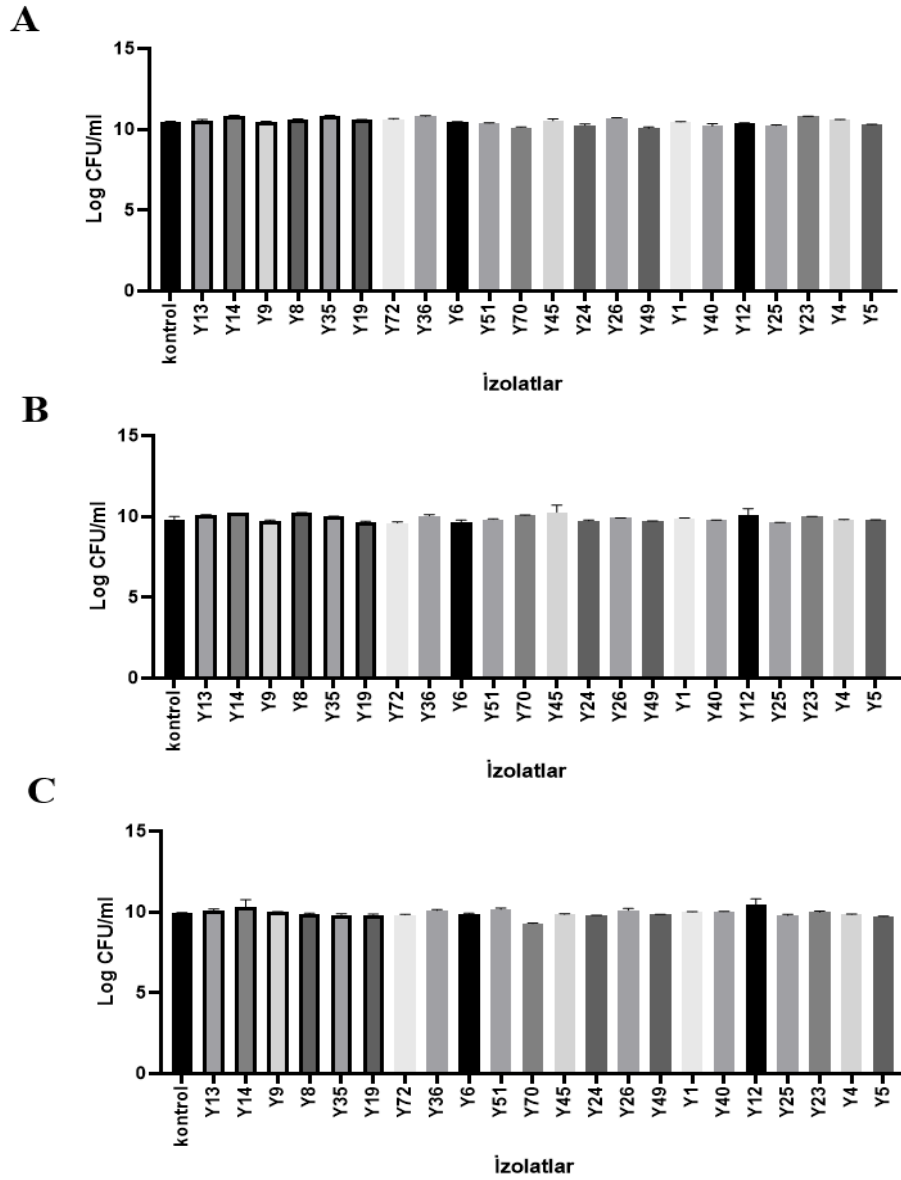
pepsin uygulamasının amacı sindirim kanalına ulaşan mikroorganizmaların midenin gastrik koşullarına direnç düzeylerinin *in-vitro* olarak belirlenmesidir (Maragkoudakis ve ark., 2006; Alp, 2018). Çalışmamızın diğer aşamalarını yürütmek amacıyla, *L. plantarum* suşlarından pH'a karşı iyi direnç gösterebilen 22 adet izolat belirlenmiş olup, bu izolatlar kullanılarak araştırmanın diğer basamakları gerçekleştirilmiştir.

L. plantarum izolatlarının pepsin ile üç farklı saat (1., 2., 3. saat) ve iki farklı pH (pH 2.0 ve pH 3.0) aralığında muamele edilmiş olup sonuçlar Çizelge 4.2. de verilmiştir. Çalışmamızda 22 suşun farklı pH ve zaman aralığında elde edilen sonuçlarının ortalamaları hesaplanarak kontrol değeri olarak alınmış olup, istatistiksel değerlendirilmesi yapılmıştır.



Şekil 4.4. *L. plantarum* suşlarının pepsin pH 2 (A: 1. saat, B: 2. saat ve C: 3. saat) değerine karşı direnç özellikleri

Pepsin ile muamele edilen suşların sonuçları değerlendirildiğinde; pH 2.0 ve 1. saatte *L. plantarum* izolatlarının %50'si (11 izolat) kontrolden daha fazla gelişme gösterip yüksek anlamlı bir fark oluşturduğu gözlemlenmiştir ($P<0.001$). Ayrıca *L. plantarum* suşlarının %36.4'ü (8 izolat) kontrolden daha az gelişme göstererek yüksek anlamlı bir fark oluşturmuştur ($P<0.001$). pH 2.0 ve 2. saatte ise *L. plantarum* izolatlarından Y13, Y36, Y40, Y25 nolu izolatlar (%18.2) kontrol grubundan daha fazla gelişerek yüksek anlamlı fark göstermiştir ($P<0.001$). *L. plantarum* izolatlarından sadece Y8 ve Y49 nolu izolatlar (%9.1) kontrolden daha az gelişme göstererek anlamlı bir fark belirlemiştir ($P<0.001$). pH 2.0 ve 3. saatinde de *L. plantarum* suşlarının %40.1'i (9 izolat) kontrol grubundan daha fazla gelişme gösterip yüksek anlamlı bir fark sergilemiştir ($P<0.001$). Diğer yandan *L. plantarum* izolatlarının %13.6'sı (3 izolat) kontrolden daha az gelişme göstermiş ve yüksek anlamlı bir farkın olduğu belirlenmiştir ($P<0.001$) (Şekil 4.4).



Şekil 4.5. *L. plantarum* suşlarının pepsin pH 3 (A: 1. saat, B: 2. saat ve C: 3. saat) değerine karşı direnç özellikleri

pH 3.0'ün 1. saatinde *L. plantarum* izolatlarının %22.7'si (5 izolat) kontrolden daha fazla gelişme gösterip yüksek anlamlı bir fark meydana getirmiştir ($P < 0.001$). *L. plantarum* izolatlarının %27.2'si (6 izolat) ise kontrolden daha az gelişip yüksek anlamlı fark göstermiştir ($P < 0.001$). pH 3.0 ün 2. saatinde *L. plantarum* izolatlarından sadece Y45 nolu izolat, kontrolden daha fazla gelişerek yüksek anlamlı bir fark göstermiştir ($P < 0.001$). pH 3.0 ün 3. saatinde ise *L. plantarum* izolatlarından sadece Y70 ve Y12 nolu izolatlar yüksek anlamlı bir fark meydana getirmiştir ($P < 0.001$) (Şekil 4.5).

L. sakei (OZH3) suşunun pepsin uygulamasında pH 2.0'de 1. saatin sonunda canlılık oranının %14'e kadar düştüğü, 2. saatten itibaren tamamen kaybolduğu

gözlemlenmiştir. pH 3.0 pepsin uygulamasında *L. sakei* (OZH3) suşu canlılığını 1. saatin sonunda %96.5 oranında, 2. saatin sonunda %93 oranında, 3. saatin sonunda ise %87 oranında korumuştur. *L. plantarum* (OZH8) suşu pH 2.0 pepsin uygulamasının 1. saatinde canlılığını %37 oranında devam ettirirken 2. saatin sonundan itibaren canlılığını kaybettiği tespit edilmiştir. pH 3.0 pepsin uygulamasında bu suş canlılığını 1. saatin sonunda %97 oranında korurken 3. saatin sonunda %96 oranında devam ettiği gözlemlenmiştir. pH 3.0 pepsin uygulamasında bu suşun 1. saat sonunda %46.5 oranına düşen canlılığını 3. saat sonunda ancak %35 oranına kadar koruyabildiği kaydedilmiştir (Oral, 2015).

Daniel ve ark. (2006) tarafında yapılan çalışmada ise; mide modellemesinde (*in vitro* ortamda) farklı beş *Lactobacillus* suşunun probiyotik özellikleri araştırılmıştır. Denemenin sonucunda; suşların 20. dakikaya kadar %65 ve üstünde canlılık oranı kaydedilirken; 1. saatin sonunda bu oranın giderek düştüğü ve canlı kalabilen suşların oranı en çok %39 olarak belirlenmiştir.

Cholakov ve ark. (2014) tarafından yürütülen çalışmada ise; bozadan izole edilmiş *L. plantarum* BG24 suşlarının probiyotik olma özelliklerini tespit etmek için, *in vitro* mide modellemesi hazırlamışlardır. Mideye benzer bir ortam oluşturmak için pH 2.0'de %0.5 NaCl ve pepsin ilave edilmiş PBS tamponda 0., 2., 4., 24. saatlerde canlılık oranının tespitini yapmışlardır. 24. saatin sonunda belirgin bir azalmanın olduğu tespit etmişlerdir.

Bir başka çalışmada ise salata sosundan izole edilmiş *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* TAB2 ve *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B1, suşlarının pH 2.0'de pepsine karşı dirençlilik özellikleri araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda her iki suşun 2. saatin sonunda ortalama olarak 6 kob/ml direnç gösteremedikleri tespit edilmiştir (Teneva ve ark., 2015).

17 farklı LAB'ın probiyotik olma özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada; mide ortamına benzer yapılan denemede, pH 2.0 ve pH 3.0'te yedi farklı suşun %55 ve üzerinde bir oranla direnç gösterdiği belirlenmiştir (Ashraf ve Smith, 2016)

Probiyotik özellikleri belirlemek amacıyla, süt mamullerinden izolasyonu yapılan *Lactobacillus* suşlarıyla yapılan bir çalışmada ise, pH 2.0 pepsin uygulamasının 1. saatinde 29 suşun 21'nin direnç gösterdiği, ancak uygulamanın devamında 3. saatinde 13'ünde direnç göstermeyip, canlılığını tamamen kaybettiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada; 3. saatin sonucunda suşlardan en iyi direnç gösteren izolatların ise *L. rhamnosus* ve *L. paracasei* subsp. *paracasei* olduğu bildirilmiştir (Maragkoudakis ve ark., 2006).

pH 2.0'de yürütülen pepsin uygulamasında; 1 saatin sonunda insan kaynaklı *L. casei* BH97 ve BH100 ve gıda kaynaklı *L. brevis* BG8, BG9, BG11, BG12, BG13, BG15, BG16 ve BG19; *P. pentosaceus* BG10 ve BG17; *L. plantarum* BG28, BG31, BG32 ve BG34, canlılıklarını devam ettirmiş, ancak uygulamanın 3. saatinde tüm suşların canlılığını yitirdiği saptanmıştır (Uymaz, 2009).

Çalışmamızda ise pepsin ile muamele edilen suşların sonuçları değerlendirildiğinde, pH 2.0 ve 1. saatte *L. plantarum* izolatlarının canlılık oranlarının %50' ye kadar düştüğü daha sonra 2. ve 3. saatlerde ise geometrik artışlar gözlenmiştir. pH 3.0 ve 1, 2 ve 3. saatlerinde suşların canlılıklarında önemli bir azalmanın olmadığı ve tüm suşların canlılıklarını devam ettirdiği kaydedilmiştir. Yaptığımız çalışmanın sonucu literatürdeki birçok çalışmanın sonucu ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 *L. plantarum* suşlarının pepsine karşı direnç özellikleri

İZOLATLAR	0.SAAT	pH 2			pH 3		
		1.SAAT	2.SAAT	3.SAAT	1.SAAT	2.SAAT	3.SAAT
KONTROL	10.27±0.42	6.19±0.03	6.90±0.01	6.58±0.01	10.49±0.02	9.79±0.02	9.92±0.04
Y13	10.66±0.62 ¹	6.85±0.07 ⁵	7.21±0.04 ⁵	4.01±0.03 ⁵	10.55±0.06 ¹	10.06±0.04 ¹	10.07±0.01 ¹
Y14	10.46±0.64 ¹	6.90±0.07 ⁵	6.82±0.05 ¹	4.02±0.05 ⁵	10.84±0.03 ⁵	10.20±0.01 ⁴	10.29±0.47 ³
Y9	10.01±0.50 ¹	6.31±0.03 ¹	6.82±0.04 ¹	7.00±0.01 ⁵	10.49±0.02 ¹	9.74±0.05 ¹	10.00±0.03 ¹
Y8	10.53±0.45 ¹	5.95±0.02 ³	6.16±0.12 ⁵	6.97±0.08 ⁵	10.62±0.03 ²	10.22±0.02 ⁴	9.87±0.05 ¹
Y35	10.41±0.45 ¹	4.60±0.01 ⁵	7.03±0.05 ³	7.01±0.06 ⁵	10.83±0.04 ⁵	10.00±0.03 ¹	9.83±0.05 ¹
Y19	10.17±0.50 ¹	5.09±0.01 ⁵	6.89±0.02 ¹	7.04±0.04 ⁵	10.57±0.05 ¹	9.65±0.05 ¹	9.83±0.04 ¹
Y72	10.01±0.55 ¹	5.33±0.01 ⁵	6.83±0.04 ¹	7.00±0.04 ⁵	10.62±0.05 ²	9.60±0.05 ¹	9.83±0.03 ¹
Y36	10.65±0.58 ¹	6.90±0.02 ⁵	7.19±0.03 ⁵	7.00±0.02 ⁵	10.81±0.05 ⁵	10.04±0.07 ¹	10.10±0.06 ¹
Y6	9.86±0.34 ¹	5.16±0.04 ⁵	6.83±0.03 ¹	6.70±0.05 ¹	10.44±0.04 ¹	9.67±0.10 ¹	9.90±0.01 ¹
Y51	10.40±0.65 ¹	7.06±0.07 ⁵	7.01±0.05 ²	6.71±0.10 ¹	10.38±0.03 ¹	9.83±0.03 ¹	10.17±0.08 ¹
Y70	10.46±0.53 ¹	6.97±0.01 ⁵	6.80±0.01 ²	6.77±0.03 ¹	10.12±0.03 ⁵	10.05±0.04 ¹	9.29±0.03 ⁵
Y45	10.16±0.08 ¹	6.90±0.03 ⁵	7.04±0.03 ³	6.72±0.06 ¹	10.54±0.01 ¹	10.26±0.04 ⁵	9.85±0.05 ¹
Y24	9.41±0.55 ¹	6.91±0.06 ⁵	6.83±0.03 ¹	6.79±0.07 ²	10.25±0.08 ⁵	9.74±0.05 ¹	9.79±0.01 ¹
Y26	10.13±0.65 ¹	6.83±0.02 ⁵	6.80±0.03 ²	6.77±0.08 ¹	10.71±0.01 ⁵	9.90±0.01 ¹	10.10±0.11 ¹
Y49	10.20±0.48 ¹	5.85±0.05 ⁵	6.70±0.04 ⁵	6.91±0.06 ⁴	10.06±0.08 ⁵	9.70±0.01 ¹	9.85±0.01 ¹
Y1	10.39±0.43 ¹	4.81±0.03 ⁵	7.04±0.05 ³	6.92±0.04 ⁵	10.46±0.02 ¹	9.89±0.02 ¹	10.00±0.02 ¹
Y40	10.39±0.75 ¹	5.40±0.02 ⁵	7.07±0.06 ⁵	6.91±0.13 ⁴	10.20±0.01 ⁵	9.76±0.02 ¹	10.02±0.03 ¹
Y12	10.43±0.33 ¹	5.50±0.02 ⁵	7.00±0.01 ¹	7.01±0.03 ⁵	10.35±0.05 ²	10.10±0.04 ²	10.42±0.04 ⁵
Y25	10.42±0.80 ¹	6.06±0.05 ¹	7.17±0.03 ⁵	6.92±0.08 ⁵	10.24±0.03 ⁵	9.62±0.02 ¹	9.79±0.06 ¹
Y23	10.36±0.39 ¹	6.67±0.06 ⁵	7.00±0.06 ¹	6.85±0.08 ³	10.80±0.03 ⁵	10.00±0.02 ¹	10.00±0.06 ¹
Y4	10.30±0.39 ¹	7.00±0.02 ⁵	6.92±0.05 ¹	6.50±0.02 ¹	10.59±0.02 ¹	9.79±0.04 ¹	9.85±0.003 ¹
Y5	10.51±0.39 ¹	7.00±0.03 ⁵	6.80±0.02 ²	6.11±0.36 ⁵	10.28±0.04 ⁵	9.77±0.03 ¹	9.72±0.03 ¹

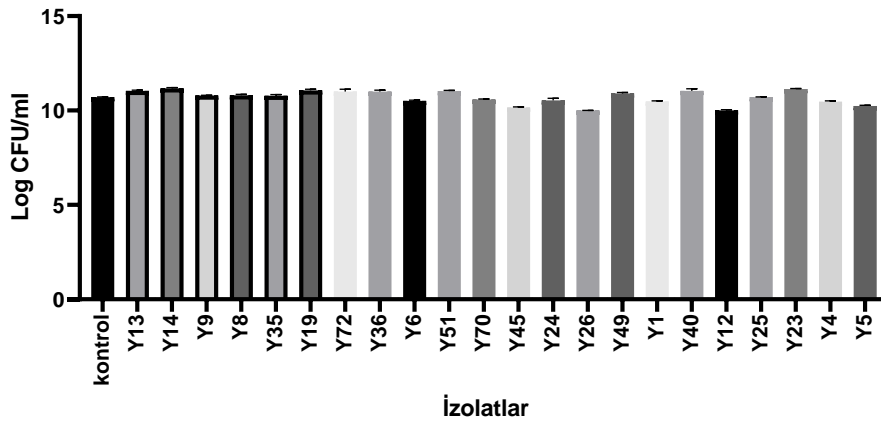
1: Fark yok, 2: *, 3: **, 4: *** ve 5: ****

4.1.3. *L. plantarum* suşlarının pankreatine karşı direnç özellikleri

Mikroorganizmaların karşısındaki bir diğer engelde ince bağırsak sisteminde canlılık ve aktivitelerini koruyabilmesidir. İnce bağırsakta safra tuzlarının yanı sıra mikrobiyal üremeyi olumsuz yönde etkileyen pankreatin gibi kompleks bir enzimin varlığıdır (Megan ve Janet, 2009).

Çalışmamızda *L. plantarum* suşlarının pankreatine karşı direnç özelliklerinin belirlenmesi amacıyla 1 mg/ml pankreatin içeren ve pH değeri 8.0'a ayarlanmış PBS tamponları ile çalışılmıştır (Maragkoudakis ve ark., 2006). Çalışmamızda pankreatinin pH'sı 8.0 ve zaman aralığı 4 saat olup sonuçlar (Çizelge 4.3) verilmiştir. Çalışmamızda 22 suşun pankreatine 4. saatte ki elde edilen sonuçlarının ortalamaları hesaplanarak kontrol değer olarak alınmış olup, istatistiksel değerlendirilmesi yapılmıştır.

Çalışmada pankreatin ile muamele edilen suşların sonuçları değerlendirildiğinde; pH 8.0 ve 4. saatte *L. plantarum* suşlarının %40.1'i (9 izolat) kontrolden daha fazla gelişerek yüksek anlamlı fark göstermiştir ($P<0.001$). Aynı zamanda *L. plantarum* izolatlarının %31.8'i de (7 izolat) kontrolden daha az gelişerek yüksek anlamlı bir fark sergilediği belirlenmiştir ($P<0.001$) (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. *L. plantarum* suşlarının pankreatin değerine karşı direnç özellikleri

Yapılan bir çalışmada; *L. sakei* (OZH3) suşunun, pankreatin uygulamasında 4. saatin sonunda kontrol grubunda canlılık %98 iken deney grubunda ise %93 olarak hesaplanmıştır. *L. plantarum* suşu pankreatinle muamele edildiği kontrol grubunda *L. plantarum* (OZH8) suşunun 4. saatin sonunda canlılığını %97 oranında korurken, pankreatin deney grubunda aynı saat sonunda %96 oranında koruduğu tespit edilmiştir. *L. sakei* suşunun kontrol grubunda 4. saatin sonunda %95 canlılık gözlemlenmiş ve

pankreatin içeren ortamdan alınan sonuçlarda suşun canlılığının %85 oranında olduğu belirtilmiştir (Oral, 2015).

Yapılan bir çalışmada hamur mayasından izole edilmiş *L. acidophilus* Z10 suşunun pH 4.5 pankreatin içeren ortam ve pH 7.0 pankreatin içeren ortam olmak üzere iki farklı test uygulanmıştır. 0., 2., 4., ve 24. saatlerde yapılan canlılık tespiti sonucunda *L. acidophilus* Z10 suşunun pH 4.5 pankreatin içeren ortamda 2.8 logaritmik azalma, pH 7.0 pankreatinli ortamda ise 2.4 logaritmik azalmanın olduğu gözlenmiştir (Denkova ve ark.,2012)

Çizelge 4.3. *L. plantarum* suşlarının pankreatine karşı direnç özellikleri

İZOLATLAR	0. SAAT	4. SAAT
KONTROL	10.27±0.42	10.71±0.01
Y13	10.66±0.62 ¹	11.04±0.04 ⁵
Y14	10.46±0.64 ¹	11.18±0.04 ⁵
Y9	10.01±0.50 ¹	10.80±0.01 ¹
Y8	10.53±0.45 ¹	10.81±0.05 ¹
Y35	10.41±0.45 ¹	10.79±0.05 ¹
Y19	10.17±0.50 ¹	11.07±0.55 ⁵
Y72	10.01±0.55 ¹	11.01±0.11 ⁵
Y36	10.65±0.58 ¹	11.00±0.08 ⁵
Y6	9.86±0.34 ¹	10.51±0.05 ⁵
Y51	10.40±0.65 ¹	11.03±0.03 ⁵
Y70	10.46±0.53 ¹	10.58±0.03 ²
Y45	10.16±0.08 ¹	10.15±0.04 ⁵
Y24	9.41±0.55 ¹	10.54±0.11 ³
Y26	10.13±0.65 ¹	10.00±0.01 ⁵
Y49	10.20±0.48 ¹	10.91±0.04 ⁵
Y1	10.39±0.43 ¹	10.47±0.04 ⁵
Y40	10.39±0.75 ¹	11.04±0.11 ⁵
Y12	10.43±0.33 ¹	10.01±0.03 ⁵
Y25	10.42±0.80 ¹	10.71±0.02 ¹
Y23	10.36±0.39 ¹	11.14±0.02 ⁵
Y4	10.30±0.39 ¹	10.46±0.05 ⁵
Y5	10.51±0.39 ¹	10.24±0.04 ⁵

1: Fark yok, 2: *, 3: **, 4: *** ve 5: ****

Araştırmamıza benzer yapılan bir çalışmada; karışık turşudan izole edilmiş 21 adet *L. plantarum*, 11 adet *P. ethanolidurans* ve yedi adet *L. brevis* izolatlarının potansiyel probiyotik olma özellikleri araştırılmıştır. Probiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla pankreatine karşı dirençlilik testi için pH'sı 8.0'e ayarlanmış ve 1mg/ml pankreatin içeren PBS tamponunda mikroorganizmalar dört saatlik inkübasyona

birakılmıştır. İnkübasyon sonunda suşların en çok %63'lük bir canlılık oranı gösterdiği bildirilmiştir (Tokatlı ark., 2015).

Antibakteriyel aktiviteye sahip suşlar ile yürütülen pankreatin uygulamasında; *L. plantarum* BH102, *L. casei* BH100, *P. pentosaceus* BH105, *L. brevis* BG8, *L. plantarum* BG29, BG30, BG32 ve *L. casei* BG9'un yüksek direnç gösteren suşlar olarak belirlenmiştir. Buna karşılık, *L. casei* BG35 izolatının pankreatin uygulamasının 4. saatinde canlılığını tamamen kaybettiği saptanmıştır (Uymaz, 2009).

Çalışmamızda kullandığımız 22 adet *L. plantarum* izolatlarının (Çizelge 4.3) pankreatine karşı direnç özellikleri incelendiğinde tüm izolatların pankreatine karşı yüksek bir dirence sahip olduğu ve *L. plantarum* izolatlarının 4. saatin sonuna kadar canlılığını devam ettirdiği gözlemlenmiştir. Yapılan birçok çalışmanın sonucu, bizim yaptığımız çalışma ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

4.1.4. *L. plantarum* suşlarının safra tuzuna karşı direnç özellikleri

Safra tuzlarına karşı direnç, probiyotik mikroorganizmaların tercih edilmesinde aranan önemli kriterlerden biridir (FAO/WHO 2002; Burns ve ark., 2008). Bundan dolayı probiyotik olarak kullanılması düşünülen bakterilerin sindirim sisteminin önemli bir kısmı olan ince bağırsak sisteminde canlı kalabilmeleri için safra salgısına karşı duyarlı olmamaları istenilen bir durumdur (Maldonado ve ark., 2015).

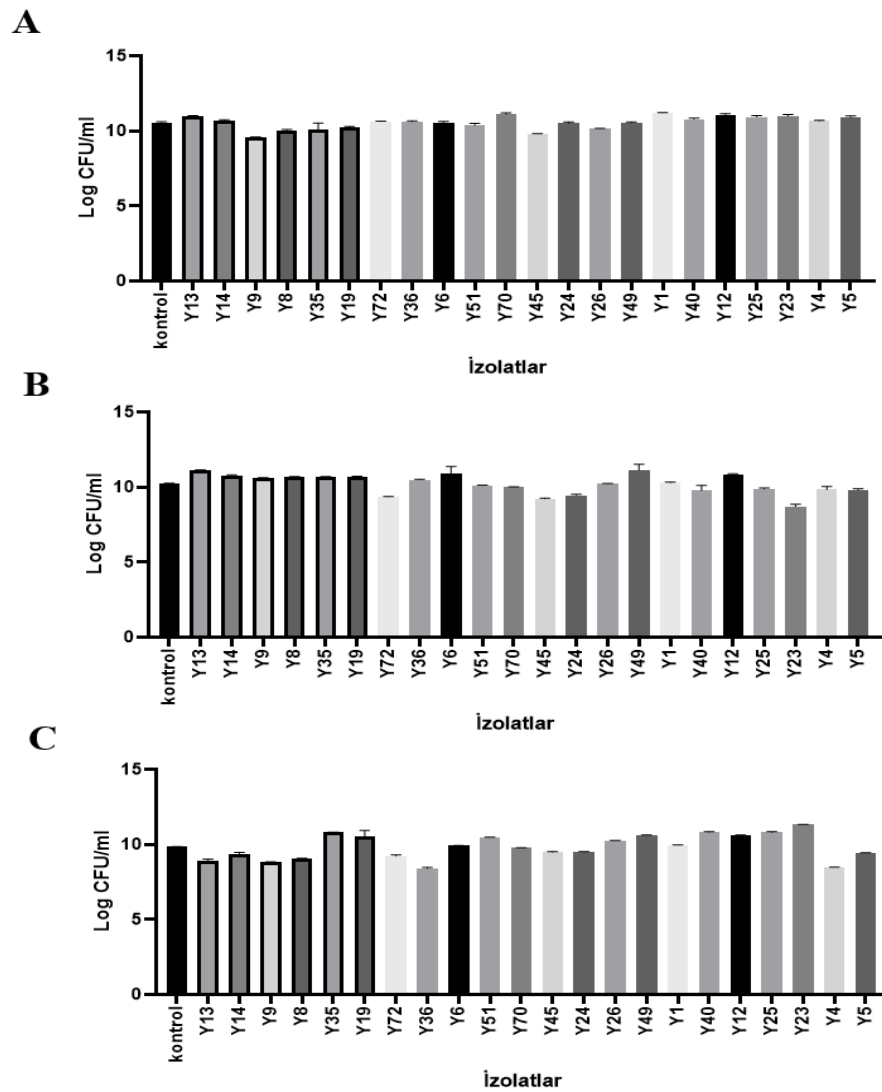
Probiyotik bakteriler safra tuzlarına karşı direnç özellikleri bakımından farklılık göstermektedirler. Probiyotik bakterilerin direnç mekanizmalarının işleyişi hakkında çeşitli hipotezler olmasına karşın direnç mekanizmasının fonksiyonelliği net bir şekilde tanımlanamamıştır (Begley ve ark., 2006).

Yapılan birçok bilimsel araştırma sonucunda safra tuzuna karşı dirençli olan kültürlerin belirlenmesi için %0,3 safra tuzu derişiminin kritik bir değer olduğu belirtilmektedir (Erkkila ve Petaja, 2000; Gilliland ve ark., 1985).

Çalışmamızda ise %0.3, %0.5 ve %1 safra tuzu konsantrasyonları ve 4. saatte ki direnç özellikleri belirlenmiş olup sonuçlar (Çizelge 4.4) verilmiştir. Çalışmamızda 22 adet *L. plantarum* suşunun farklı safra tuzu konsantrasyonlarında ve 4. saatteki elde edilen sonuçlarının ortalamaları hesaplanarak kontrol değer olarak alınmış ve istatistiksel analizleri yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; %0.3'lük safrada *L. plantarum* izolatlarının %22.7'si (5 izolat) kontrolden daha fazla gelişerek yüksek anlamlı bir fark göstermiştir ($P<0.001$). Aynı zamanda, *L. plantarum* izolatlarının %22.7'si de (5 izolat)

kontrolden daha az gelişerek yüksek anlamlı bir fark belirlemiştir ($P<0.001$). %0.5'lik safrada ise *L. plantarum* suşlarının %22.7 (5 izolat) kontrolden daha fazla gelişip yüksek anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($P<0.001$). Ayrıca, *L. plantarum* izolatlarının %18.1'i (4 izolat) kontrolden daha az gelişerek yüksek anlamlı bir fark göstermiştir ($P<0.001$). %1'lik safrada ise *L. plantarum* izolatlarının %40.1'i (9 izolat) kontrolden daha fazla gelişerek yüksek anlamlı bir fark göstermiştir ($P<0.001$). *L. plantarum* izolatlarının %40.1'i (9 izolat) kontrolden daha az gelişerek yüksek anlamlı bir fark belirlemiştir ($P<0.001$) (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. *L. plantarum* suşlarının safra tuzuna (A: % 0.3, B: % 0.5 ve C: % 1) karşı direnç özellikleri

Yapılan birçok çalışmada; insandaki safra tuzu konsantrasyonu baz alınarak denemeler gerçekleştirilmiştir. Birçok çalışmada, genellikle insandaki safra tuzu

derişimine yakın değer olması nedeniyle %0.3'lük safra tuzu konsantrasyonu kullanılmış ve bu oranın bakterilerin probiyotik özelliklerini saptamak için safra tuzuna karşı direnç gösterme ayırt edici bir özellik olduğu, birçok araştımacı tarafından bildirilmiştir (Klingberg ve ark., 2005).

Mikroorganizmaların probiyotik özelliklerin belirlenmesi için yürütölen birçok araştırmada çeşitli safra tuzu derişimleri denenmiş %0,3'lük safra tuzu derişiminin bakteri izolatlarının safra tuzuna karşı direncinin tespit edilmesi için kritik bir değer olduğu belirlenmiştir (Gilliand ve ark., 1984; Goldin ve Gorbach, 1992).

Çizelge 4.4. *L. plantarum* suşlarının safra tuzuna karşı direnç özellikleri

İZOLATLAR	0. SAAT	4. SAAT		
		%0.3	%0.5	%1
KONTROL	10.27±0.42 ¹	10.57±0.05	10.21±0.05	9.84±0.01
Y13	10.66±0.62 ¹	10.99±0.03 ⁵	11.11±0.03 ⁵	8.92±0.10 ⁵
Y14	10.46±0.64 ¹	10.67±0.07 ¹	10.79±0.02 ⁵	9.38±0.09 ⁵
Y9	10.01±0.50 ¹	9.57±0.02 ⁵	10.61±0.02 ²	8.81±0.03 ⁵
Y8	10.53±0.45 ¹	10.05±0.05 ⁵	10.69±0.02 ³	9.02±0.05 ⁵
Y35	10.41±0.45 ¹	10.06±0.05 ⁵	10.69±0.03 ³	10.81±0.02 ⁵
Y19	10.17±0.50 ¹	10.25±0.05 ³	10.70±0.02 ³	10.51±0.40 ⁵
Y72	10.01±0.55 ¹	10.63±0.02 ¹	9.33±0.04 ⁵	9.22±0.09 ⁵
Y36	10.65±0.58 ¹	10.61±0.04 ¹	10.49±0.03 ¹	8.39±0.07 ⁵
Y6	9.86±0.34 ¹	10.55±0.09 ¹	10.87±0.50 ⁵	9.90±0.02 ¹
Y51	10.40±0.65 ¹	10.39±0.10 ¹	10.12±0.01 ¹	10.48±0.02 ⁵
Y70	10.46±0.53 ¹	11.11±0.09 ⁵	10.00±0.02 ¹	9.76±0.03 ¹
Y45	10.16±0.08 ¹	9.80±0.02 ⁵	9.21±0.03 ⁵	9.47±0.05 ⁵
Y24	9.41±0.55 ¹	10.51±0.08 ¹	9.46±0.06 ⁵	9.50±0.03 ⁴
Y26	10.13±0.65 ¹	10.13±0.03 ⁵	10.21±0.02 ¹	10.24±0.03 ⁵
Y49	10.20±0.48 ¹	10.53±0.05 ¹	11.13±0.04 ⁵	10.61±0.02 ⁵
Y1	10.39±0.43 ¹	11.20±0.02 ⁵	10.29±0.05 ¹	9.95±0.02 ¹
Y40	10.39±0.75 ¹	10.79±0.07 ¹	9.77±0.03 ³	10.81±0.04 ⁵
Y12	10.43±0.33 ¹	11.07±0.07 ⁵	10.86±0.02 ⁵	10.59±0.03 ⁵
Y25	10.42±0.80 ¹	10.93±0.09 ⁴	9.88±0.07 ¹	10.80±0.04 ⁵
Y23	10.36±0.39 ¹	10.99±0.10 ⁵	8.70±0.02 ⁵	11.31±0.03 ⁵
Y4	10.30±0.39 ¹	10.66±0.04 ¹	9.84±0.02 ²	8.49±0.01 ⁵
Y5	10.51±0.39 ¹	10.93±0.07 ⁴	9.83±0.05 ²	9.42±0.03 ⁵

1: Fark yok, 2: *, 3: **, 4: *** ve 5: ****

Oral (2015) tarafından yapılan çalışmada, *L. sakei* (OZH3) suşunun safra uygulamasında 4. saatin sonunda canlılık oranları; %0.3'lük safra tuzu denemesinde %89.5 oranında, %0.5'lik safra tuzu denemesinde %87.2 oranında ve %1'lik safra tuzu denemesinde ise %82.5 oranında devam etmiştir *L. plantarum* (OZH8) suşunun safra tuzuna karşı dirençlilik testlerinde 4. saatin sonunda canlılık oranları; %0.3'lük safra tuzu

denemesinde %88.5, %0.5'lik safra tuzu denemesinde %85.3 ve %1'lik safra tuzu denemesinde ise %81 oranında canlı kaldıkları gözlemlenmiştir. *L. sakei* (OZH9) suşunun safra tuzu uygulamasında 4. saatin sonunda canlılıkları; %0.3'lük safra tuzu uygulamasında %88.3 oranında, %0.5'lik safra tuzu denemesinde %85 oranında ve %1'lik safra tuzu denemesinde ise %81.3 oranında canlı kaldığı belirlenmiştir.

Yapılan bir başka çalışmada ise; vajinadan izolasyonu yapılmış 12 adet LAB suşunun %0,1'lik ve %0,3'lük safra ihtiva eden MRS broth besi ortamında 0., 1., 2. ve 4. saatin sonundaki canlılık oranları araştırılmıştır. Araştırmanın sonucuna bakıldığında %0,1'lik ve %0,3'lük safra tuzu bulunan her iki ortamda da tüm LAB suşlarının sayılarında düşüş olduğu gözlenmiş ancak 3. saatin sonunda teste tabi tutulan tüm suşlarda üremenin olduğu gözlemlenmiştir (Er, 2016).

Çalışmamıza benzer bir araştırmada; *L. paraplantarum*, *L. plantarum* ve *L. brevis* suşlarının safra tuzuna karşı dirençleri yüksek bulunmuşken; *E. faecium* suşlarının direncinin ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir. *L. brevis* ve *L. plantarum* suşlarının safra tuzlarına karşı dirençli davrandıkları bildirilmiştir (Ramos, 2013; Golowczyc, 2008).

Lactobacillus suşlarının safra tuzuna karşı toleransının araştırıldığı başka bir çalışmada; %0.3 ve %1.0 oranında safra tuzu içeren PBS ile tamponlanan ortamda suşların 2., 4., 7., 24. ve 48. saatlerdeki canlı kalabilme oranları incelenmiştir. Araştırma verilerine göre %0.3'lük derişime karşı bütün suşların %95 üzerinde canlı oldukları gözlenirken, %1.0 oranındaki safra konsantrasyonuna karşı tolerans *Lactobacillus* suşlarında 24 ve 48. saatlerde artarak ortalama %90 canlılık oranı tespit edilmiştir (Horáčková ve ark., 2011).

12 adet *L. acidophilus* suşunun safra tuzlarına karşı toleransının araştırdığı bir çalışmada ise; suşlar arasında safra direnci açısından önemli farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (Gilliland ve Walker, 1990)

Yapılan bir araştırmada ise; *L. fermentum* AS83 ve *L. oris* AS17 suşlarının %0.3'lük safra tuzu içeren ortamda 4 saat süreyle safra tuzuna karşı direnç özellikleri incelenmiş ve bu iki izolatın %0.3'lük safra tuzu derişiminde canlı kalabildikleri belirtilmiştir (Alp, 2018)

Yaptığımız safra tuzu denemesinde *L. plantarum* suşları farklı safra tuzu konsantrasyonlarında (%0.3, %0.5 ve %1) farklı logaritmik gelişmeler göstermiştir. Ancak izolatların tümü deneme boyunca canlılıklarını koruduğu gözlemlenmiştir.

Literatürde çalışmamıza benzer yapılan çalışmalar mevcut olup, elde ettiğimiz sonuçları destekler nitelikte sonuçların olduğu görülmüştür.

4.2. LAB'ların Antioksidan Özellikleri

Mikroorganizmaların probiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar içerisinde antioksidan çalışmalar önemli bir yer tutmaktadır. Gıda takviyesi olarak alınan probiyotiklerin sindirime yardımcı olmalarının yanı sıra, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif stresi ortadan kaldırması ya da azaltması beklenir. Probiyotiklerin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmış çeşitli *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar mevcuttur.

Çalışmamızda *L. plantarum* türüne ait suşların antioksidan aktiviteleri farklı yöntemler kullanılarak araştırılmıştır. *L. plantarum* suşlarının, malondialdehit (MDA) ve redükte glutatyon (GSH) seviyelerinin ölçülmesinin yanı sıra; glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri (Çizelge 4.5.) ayrıca 1,1-difenil 2-pikril hidrazil (DPPH) radikal giderme aktiviteleri araştırılmıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.5 *L. plantarum* İzolatlarının MDA, GSH seviyeleri ile GPx ve CAT enzim aktiviteleri

Örnek	MDA (nmol/μL)	GSH (mg/mL)	GSH-Px (EU/mL)	CAT (EU/mL)
LR1	0.05086±0.001395 ^{ns/ ns}	0.0314±0.0002 ^{ns/ns}	0.5225±0.0405 ^{ns/ns}	1.122334
LR2	0.05364±0.000805 ^{ns/ ns}	0.0281±0.004 ^{ns/ns}	0.4557±0.0708 ^{ns/ns}	3.928
Y1	0.062±0 ^{ns/ ns}	0.0055±0.0008 ^{ns/ns}	0.643±0 ^{ns/ns}	59.4837
Y4	0.03344±0.0007 ^{*/●●}	0.0057±0.0003 ^{ns/ns}	0.563±0 ^{ns/ns}	18.5185
Y5	0.06432±0.005355 ^{ns/ ns}	SY	0.5225±0.0405 ^{ns/ns}	1.122334
Y6	0.03414±0 ^{ns/●●}	0.2223±0.0473 ^{***/●●●●}	0.0884±0.161 ^{ns/ns}	SY
Y8	0.03484±0.000695 ^{ns/●}	0.0379±0.0305 ^{ns/ns}	0.603±0.362 ^{ns/ns}	SY
Y9	0.00934±0 ^{***/●}	0.0088±0.0015 ^{ns/ns}	0.643±0.0929 ^{ns/ns}	7.295174
Y12	0.05225±0 ^{ns/ ns}	0.0022±0.001 ^{ns/ns}	0.563±0 ^{ns/ns}	1.122334
Y13	0.0411±0 ^{ns/ ns}	0.0180±0.005 ^{ns/ns}	0.603±0.04 ^{ns/ns}	SY
Y14	0.03901±0.00209 ^{ns/ ns}	0.0589±0.0303 ^{ns/ns}	0.6835±0.120 ^{ns/ns}	0.56561167
Y18	SY	SY	SY	2.244669
Y19	0.04389±0 ^{ns/ ns}	0.077±0.064 ^{ns/ns}	0.362±0.04 ^{ns/ns}	SY
Y23	0.04807±0 ^{ns/ ns}	0.0023±0.0004 ^{ns/ns}	0.5225±0.0405 ^{ns/ns}	SY
Y24	0.06061±0 ^{ns/ ns}	0.0081±0.0011 ^{ns/ns}	0.5897±0.02667 ^{ns/ns}	SY
Y25	0.009335±0.002505 ^{***/●●●●}	0.0693±0.0654 ^{ns/ns}	0.9245±0.3615 ^{ns/ns}	10.66218
Y26	0.05039±0.004048 ^{ns/ ns}	0.0029±0.0004 ^{ns/ns}	0.616±0.302 ^{ns/ns}	SY
Y35	0.06688±0.00906 ^{ns/ ns}	0.096±0.0284 ^{ns/ns}	0.5225±0.0405 ^{ns/ns}	2.244669
Y36	0.03971±0 ^{ns/ ns}	0.017±0.004 ^{ns/ns}	0.7235±0.0805 ^{ns/ns}	13.46801
Y40	0.03832±0.001395 ^{ns/ ns}	0.0767±0.0621 ^{ns/ns}	0.375±0.1875 ^{ns/ns}	6.17284
Y45	0.062±0 ^{ns/ ns}	0.013±0.0015 ^{ns/ns}	0.5225±0.0405 ^{ns/ns}	SY
Y49	0.04668±0.002413 ^{ns/ ns}	0.1077±0.0003 ^{ns/ns}	0.4425±0.1205 ^{ns/ns}	6.734007
Y51	0.0085±0 ^{***/●●●●}	0.0034±0.001 ^{ns/ns}	0.5225±0.1205 ^{ns/ns}	SY
Y70	0.04853±0.007815 ^{ns/ ns}	0.0318±0.023 ^{ns/ns}	0.603±0.04 ^{ns/ns}	3.928171
Y72	0.09126±0 ^{***/●●●●}	0.007±0.0031 ^{ns/ns}	0.645±0 ^{ns/ns}	SY

ns:Anlamli sonuç yok, SY: Sonuç yok, * Lr1 standardına göre, ● Lr2 standardına göre istatistiksel olarak kıyaslandığını göstermektedir.

4.2.1. *L. plantarum* suşlarının MDA seviyeleri

MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünü olup oksidatif stresin ve hücrel hasarın biyobelirteçlerinden biri olarak kabul edilir. Lipit peroksidasyonu oksidatif hasarın ana belirtilerinden olup, toksisite ve kanserojenlikte de önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Carampin ve arkadaşları, 2003). Ayrıca, MDA'nın artması karaciğer hasarında önemli bir faktör olarak kabul edilmiştir (Mateos ve ark., 2005).

Ejtahed ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan çalışmada probiyotik yoğurtun serum malondialdehit (MDA) konsantrasyonunu belirgin şekilde azalttığı bildirilmiştir. Diğer bir çalışmada ise; Zhang ve Zhang (2013) antioksidan etkileri olan birçok *Lactobacillus* suşunun sadece MDA seviyesini düşürmekle kalmayıp, aynı zamanda antioksidan üretimini arttırdığı kaydedilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda ise, LAB'ın MDA süpürme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. *In vitro* deneyler, *L. acidophilus* ve *B. longum*'un kültürlenmiş memeli hücrelerinde MDA'yı düşürdüğünü göstermiştir (Lin ve Yen, 1999).

Wang ve ark. (2017) çalışmalarında *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* F17 ile tedavi edilen D-gal kaynaklı yaşlanan fareler grubunda, D-gal grubununkine kıyasla, serum ve karaciğer MDA'sında belirgin bir azalmanın olduğunu gözlemlemiştirler. Ek olarak, *L.delbrueckii subsp bulgaricus* F17 ile tedavi edilmiş farelerde karaciğer MDA seviyelerinin normal kontrol farelerinden daha düşük olduğunu kaydetmişlerdir. Ayrıca, *L. delbrueckii* subsp *bulgaricus* F17, D-gal kaynaklı yaşlanan farelerin karaciğerlerinde C vitamini (3 mg/d) 'e benzer bir MDA azaltma kapasitesi gösterdiği belirtilmiştir.

Zang ve ark. (2017) *in vivo* olarak yaptıkları çalışmada; *L. delbrueckii* ile beslenen *Cyprinus carpio* ve *Huanghe var* türü balıklarının karaciğer hücrelerinde, MDA içeriğinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir.

Çalışmamızın MDA sonuçları incelendiğinde yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde genel olarak izolatların MDA seviyelerini önemli derecede azalttığı görülmektedir. Özellikle Y4, Y6, Y8, Y9, Y25 ve Y51 suşlarının kontrol olarak kullanılan Lr1 ve Lr2 probiyotiklerine göre MDA'yı anlamlı bir şekilde düşürdüğü gözlemlenmiştir. Sadece Y72 nolu izolatın MDA seviyesini yükselttiği ve anlamlı fark oluşturduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Y1, Y5, Y24, Y35 ve Y45 nolu izolatların MDA seviyelerinin kontrol mikroorganizmalara göre yüksek çıktığı ancak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edilmiştir.

4.2.2. *L. plantarum* şuşlarının GSH seviyeleri

Bir tripeptit olan glutasyon (GSH) glisin, glutamik asit ve sistein aminoasitlerinden meydana gelir. Ökaryotik yapıya sahip hücrelerin neredeyse tamamında GSH bulunur. Prokaryot yapı arz eden hücrelerde ise *E. coli* başta olmak üzere Gram-negatif hücre duvarına sahip bakterilerde görülürken, Gram-pozitif özellik gösteren bakterilerin sadece bazı türlerinde belirlenmiştir. Ayrıca Gram-pozitif bakterilerde GSH'a benzer fonksiyonları olan başka tiyollerde (alkollerin kükürt analogu) mevcuttur. GSH, bulunduğu hücreyi oksidatif stres ve diğer çevresel streslerin oluşturacakları hasara karşı korur. Örneğin *E. coli*'de GSH, düşük pH, ozmotik şok, klor bileşikleri, toksik maddeler gibi çevresel stres etmenlerine karşı, hücrenin savunmasında önemli rol oynamaktadır (Kanat ve Coşansu-Akdemir, 2014).

Probiyotikler, glutasyon (GSH), bütirat ve folat gibi antioksidan aktiviteye sahip çeşitli metabolitler üretebilir. Folat, donör moleküllerinden bir karbon birimini kabul eden ve birçok metabolik yolda bulunan bir vitamindir. DNA replikasyonu, onarımı ve metilasyonunun etkinliği folat mevcudiyetinden etkilenir. Potansiyel olarak antioksidan uygulamalar nedeniyle, folat üretme kabiliyeti, çeşitli kökenlerden gelen birçok probiyotik izolatında yoğun olarak araştırılmıştır. Folat üreten *Bifidobacteria*'nın hem sıçanlarda hem de insanda folat durumunu arttırdığı bildirilmiştir (Wang ve ark.,2017).

Yapılan bir çalışmada; *L. fermentum* suşu, E-3 ve E-18'in GSH seviyelerinde dikkat çekici artışın olduğu bildirilmiştir (Kullisaar ve arkadaşları, 2017). Ayrıca, ilk kez, bir araştırma grubu *L. fermentum* ME-3'te bütün bir GSH sisteminin bulunduğunu tespit etmişlerdir (Li ve ark.,2017).

Başka bir çalışmada ise, oksidatif durumun *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* ile negatif, *E. coli* ile pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Ratlar üzerinde yapılan çalışmalarda, barsak mikrobiyotasının konakçının amino asit metabolizmasını etkilediği ve böylece glutasyon metabolizmasını düzenlediği bildirilmiştir (Ersoy, 2019).

Güven ve Gülmez (2003) farelerde karbontetraklorürle indüklenen oksidatif hasarda, kefirde bulunan bazı laktobasillerin redükte glutasyon ve glutasyon peroksidaz düzeylerini artırarak, lipid peroksidasyonunu ise azaltarak vitamin E'den daha koruyucu etki gösterdiğini saptamışlardır.

Çalışmamızın GSH sonuçlarına bakıldığında yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde bazı izolatların GSH seviyelerinde önemli derecede artış olduğu tespit edilmiştir. Özellikle Y49 ve Y6 nolu izolatlarda kontrole göre önemli bir artış olduğu ancak

istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edilmiştir. Y1, Y4, Y8, Y14, Y19, Y25, Y35, Y40 ve Y70 nolu izolatların GSH seviyeleride Lr1 ve Lr2 probiyotiklerinin GSH seviyeleriden daha yüksek bulunmuştur.

4.2.3. *L. plantarum* şuşlarının GSH-Px aktivitesi

GSH-Px yapısında bir metal olan selenyumu bulundurduğundan dolayı metalloenzim sınıfında değerlendirilir. *In vitro* ortamlarda GSH'ı GSSG'ye çevirir. Bu reaksiyonda H_2O_2 'yi yüksek özgülük ile katalizleyerek detoksifiye eder. GSH'ın GSSG formuna dönüştüğü kimyasal tepkimelerde glutatyon peroksidaz enzimi H_2O_2 'yi suya indirger. Ardından glutatyon redüktaz enziminin katalizlediği tepkime ile NADPH ara bileşiği kullanılarak okside glutatyon tekrar redükte hale çevrilebilir.

Yapılan birçok çalışmada *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin GSH-Px aktivitelerinin kontrol grubuna göre daha yüksek anlamlı bir fark oluşturduğu bildirilmiştir (Işık, 2016). 4 farklı suşun enzim aktivitesini araştıran Chen ve ark. (2015) *Pediococcus pentosaceus*, *L. brevis* ve *L. fermentum*'un SOD ve GSH-Px aktiviteleri gösterdiğini, ancak *L. curvatus*'un sadece SOD aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızın GSH-Px sonuçları ele alındığında yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde bazı izolatların GSH-Px aktivitelerinin önemli derecede arttığı görülmektedir. Sonuçlar incelendiğinde çalışmada kullanılan izolatların GSH-Px aktivitelerinin kontrol mikroorganizmalardan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Özellikle Y25 ve Y36 nolu izolatların GSH-Px aktiviteleri diğer numunelerden ve kontrollerden daha yüksek bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark kaydedilmemiştir.

4.2.4. *L. plantarum* şuşlarının CAT aktivitesi

Katalaz enzimi peroksizomlarda lokalize bir şekilde yer alan ve yapısında 4 “hem” grubu bulunduran bir tür hemoproteindir. Genellikle hidrojen peroksitin derişiminin yüksek olduğu ortamlarda etkilidir. Dokularda enzimin aktivitesi büyük farklılık gösterir. Ortamda oluşan H_2O_2 'yi parçalayan enzimlerin etkisiyle direkt olarak H_2O 'ya dönüştürür. Katalaz enzim aktivitesi, ortamda H_2O_2 derişiminin çok arttığı durumlarda; bariz bir şekilde artmaktadır. Ortamdaki H_2O_2 derişiminin düşük olduğu durumlarda GSH-Px veya H_2O_2 'yi substrat olarak seçen antioksidan olan diğer enzimler devreye girerek H_2O_2 'yi ortamdan bertaraf ederler. Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri, etkilerinin benzer olmasına karşın hücre içi yerleşim yerleri ve etki alanları açısından farklılık göstermektedirler (Ugan, 2008).

Işık, (2016) 'DeneySEL Stres Modeliyle İndüklenen Gastrik Lezyonlara Karşı *L. rhamnosus*'un Koruyucu Etkilerinin Araştırılması' adlı çalışmasında *L. rhamnosus GG* (ATCC 53103)'un CAT seviyesini arttırdığını bildirmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise *L. curvatus* SR6'nın CAT aktivitesi, 2.71 ± 1.08 U / ml olduğu ve *L. paracasei* SR10-1'in CAT aktivitesinin saptanmadığı, bildirilmiştir (Li ve ark., 2017).

Sıçan pençe dokularında probiyotiklerin antioksidan özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada *L. mukoza* AN1 ve *L. fermentum* SNR1 izolatlarının uygulandığı gruplarda yüksek katalaz aktivitesi sergilendiği tespit edilmiştir (Ayyanna ve ark.,2018).

Yılmaz (2008) yaptığı çalışmada ise *Lactobacillus ssp.* izolatlarının CAT aktivitesinin yükselerek anlamlı bir fark oluşturduğunu bildirmiştir.

Chen ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada *P. pentosaceus*, *L. brevis* ve *L. fermentum* izolatlarından hiçbir izolatın CAT aktivitesi göstermediğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda CAT aktivitelerinin sonuçlarına bakıldığında yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde bazı izolatların CAT aktivitelerinin önemli derecede arttığı gözlenirken, bazı izolatların CAT aktivitelerinde anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız *L. plantarum* izolatlarının % 45.4'ünde anlamlı bir sonuç görülmez iken, *L. plantarum* izolatlarının %18.1'i (4 izolat) kontrol grubundan daha az bir aktivite göstermiştir. Ancak Y1, Y4, Y49, Y36, Y9, Y70, Y40, Y25 *L. plantarum* izolatlarının kontrol grubu olarak kullanılan Lr1 ve Lr2 *Lactobacillus* izolatlarından daha fazla aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle Y1 nolu izolatın, kontrol grubunun neredeyse 20 katı kadar bir aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

4.2.5. DPPH' giderme aktivitesi

Çalışmanın DPPH' radikali giderme sonuçlarına bakıldığında; 100 mg/µl konsantrasyonda bütün numunelerin radikalleri %50'nin üzerinde süpürdüğü gözlemlendi (Çizelge 4.6). Özellikle Y5 nolu izolatın DPPH' radikalini süpürme yüzdesi standart olarak kullanılan BHA'nın aktivitesine çok yakın aktivite gösterdiği tespit edildi (BHA: %95.3; Y5: %91.5). Y1, Y4, Y5 ve Y8 kod numaralı numunelerin radikal giderme aktivitesi, konsantrasyon artışına bağlı olarak artış gösterirken diğer numunelerde bu durum gözlemlenemedi (Şekil 4.8. ve Şekil 4.9). 100 mg/µl konsantrasyonda en yüksek aktiviteyi Y5 nolu izolat gösterirken en düşük aktiviteyi ise Y14 nolu izolat sergiledi.

Çizelge 4.6. *L. plantarum* izolatlarının %DPPH radikal giderme aktiviteleri

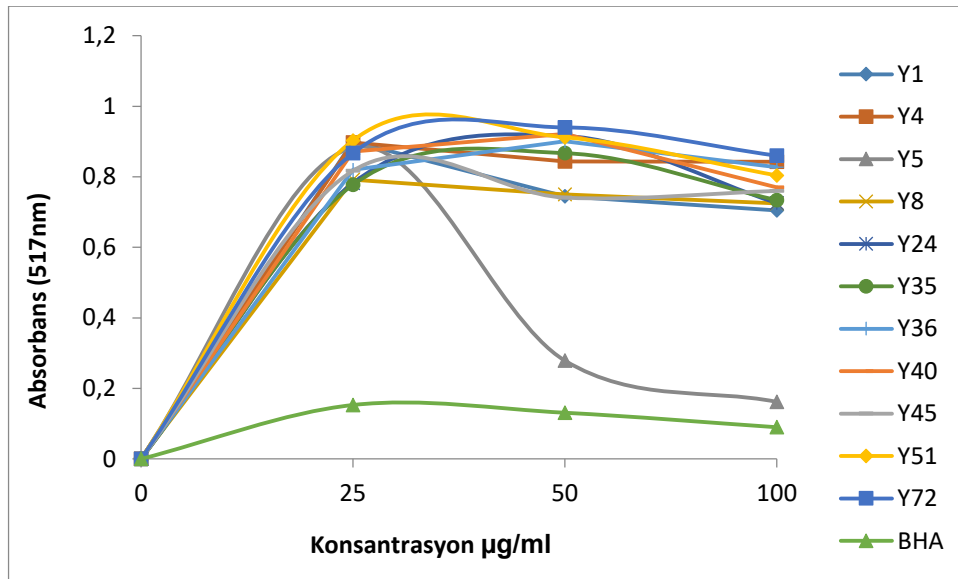
Numuneler	Y1	Y4	Y5	Y8	Y24	Y35	Y36	Y40	Y45	Y51	Y72	BHA
%DPPH Giderme	63.1	55.9	91.5	62.1	62.0	61.6	56.7	59.7	60.3	57.9	55.0	95.3
Numuneler	Y6	Y9	Y12	Y13	Y14	Y19	Y23	Y25	Y26	Y49	Y70	BHA
%DPPH Giderme	54.8	56.4	54.7	54.8	53.1	54.8	54.4	58.5	57.8	53.1	56.5	95.3

Daha önce yapılan bir çalışmada, *L. fermentum* suşunun *in vitro* antioksidan özellikleri incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda kullanılan suşun DPPH^{*} radikalini önemli ölçüde süpürdüğü ve konsantrasyon artışına bağlı olarak radikal giderme aktivitesinin de arttığı tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2019).

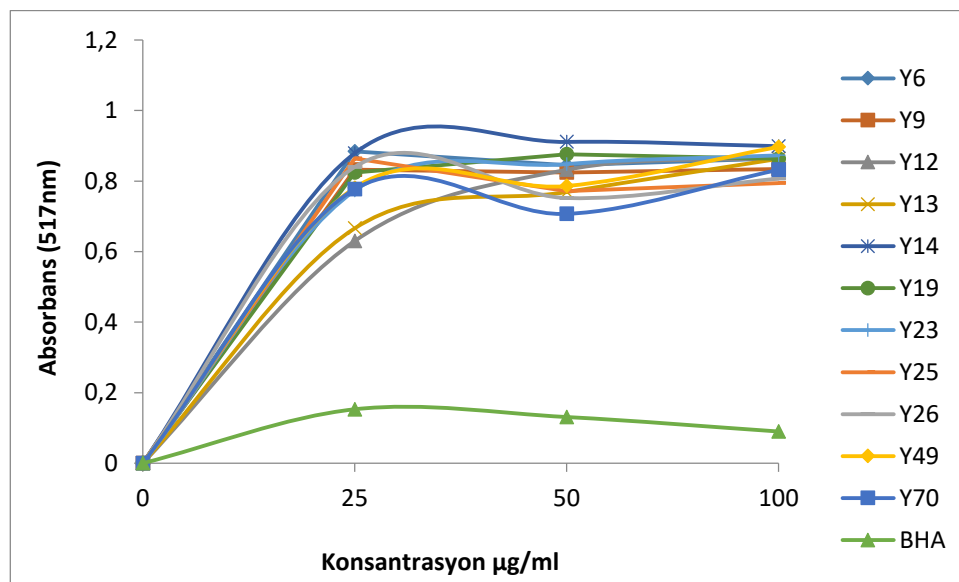
Başka bir çalışmada ise; *L. rhamnosus* suşunun antiradikal aktivitesinin nispeten orta düzeyde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *L. lactis* suşunun serbest radikal süpürme aktivitesinin, *L. casei* suşlarının aktivitelerinin yaklaşık iki katı olduğu tespit edilmiştir. Buna ilaveten *Lactobacillus* suşlarının dondurularak kurutulmuş hücrelerinden elde edilen metanol özütlerinin, önemli DPPH^{*} süpürme aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir. Çalışmada farklı konsantrasyonlar kullanılmış ve konsantrasyon artışına bağlı olarak radikal giderme aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir (Richard ve ark., 2015).

L. plantarum C88 ve *L. fermentum* ile yapılan bir çalışmada, elde edilen hücresiz supernatantların, sırasıyla %53.1 ve %87.9 DPPH^{*} inhibisyon aktivitelerine sahip olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark., 2009; Li ve ark., 2012).

B. animalis, *L. brevis* ve *L. plantarum* suşları ile yapılan diğer bir çalışmada suşların önemli derecede DPPH^{*} radikal giderme aktivitelerine sahip oldukları belirlenmiştir (Shen ve ark. 2011; Lee ve ark, 2010; Li ve ark, 2012; Kanno ve ark, 2012; Li ve ark, 2012).



Şekil 4.8. Y1, Y4, Y5, Y8, Y24, Y35, Y36, Y40, Y45, Y51 ve Y72 bakterilerinin farklı konsantrasyonlarda (25mg/µl, 50mg/µl ve 100mg/µl) DPPH radikali giderme aktivitelerinin BHA standart antioksidanı aktivitesi ile karşılaştırılması



Şekil 4.9. Y6, Y9, Y12, Y13, Y14, Y19, Y23, Y25, Y26, Y49 ve Y70 bakterilerinin farklı konsantrasyonlarda (25mg/µl, 50mg/µl ve 100mg/µl) DPPH radikali giderme aktivitelerinin BHA standart antioksidanı aktivitesi ile karşılaştırılması

Çalışmamızın DPPH* sonuçlarına bakıldığında yukarıdaki çalışmalara benzer şekilde konsantrasyon artışına bağlı olarak bazı suşlarda DPPH* radikal giderme aktivitesinin önemli derecede arttığı gözlemlendi. Ayrıca Y5 suşunun standart BHA radikal giderme aktivitesine çok yakın aktivite gösterdiği tespit edildi. (%91.5). Diğer izolatların radikal giderme aktiviteleri konsantrasyon artışına bağlı olarak artış göstermezken, bütün izolatların radikal giderme yüzdelerinin %50 civarında olduğu tespit edildi.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

İnsanlar, yüzyıllar boyunca mikroorganizmalardan farklı şekillerde faydalanmışlardır. Mikroorganizmalar içerisinde en sık kullanılan grup LAB olarak bildirilmiştir. Ürünlerin üretimi, depolanması ve saklanması aşamasında LAB'tan yararlanılmışlardır. Günümüzde ise teknolojik gelişmelerle paralellik gösteren endüstride de LAB önemli bir yer tutmaktadır. Bazı gıdaların, ilaçların ve ilaç benzeri gıda takviyelerinin endüstriyel ölçekte LAB'tan yararlanılarak üretimi sağlanmaktadır.

Çalışmamızda daha önce ülkemizin farklı yerlerinden toplanan doğal turşulardan izole edilmiş 40 adet *L. plantarum* suşu kullanılmıştır. Bu bağlamda *L. plantarum* suşlarının probiyotik özelliklerini belirlemek amacıyla pH, pepsin, pankreatin ve safra tuzlarına karşı direnç özellikleri araştırılmıştır. Araştırmada ayrıca *L. plantarum* suşlarının antioksidan özelliklerinin tespit edilmesinde ise GSH, MDA seviyeleri ölçülmüş, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinin yanında DPPH* serbest radikalini süpürme gibi antioksidan özellikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; pH 1.0'in 1. saatinde izolatların %27.5'i kontrolden daha fazla gelişerek yüksek anlamlı bir fark sergilemiştir. Ancak pH 1.0'in 2. saatinde sadece Y72 ve Y51 nolu izolatlarda gelişme olduğu gözlemlenmiştir. pH 1.0'in 3. saatinde ise hiçbir izolatta gelişme gözlenmemiştir. pH 2.0 ve pH 3.0'te ise suşların zamana bağlı olarak aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir.

Diğer probiyotik deneme basamakları değerlendirildiğinde, izolatların büyük çoğunluğunun pepsine karşı aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Pankreatine karşı suşların tamamı direnç özelliği göstermiştir. Bazı suşlar kontrolden daha fazla gelişme göstererek yüksek anlamlı fark sergilerken, bazı suşlar ise daha az gelişme göstererek yüksek anlamlı bir fark sergilemiştir. Probiyotik özellik olarak baktığımız safra tuzuna karşı dirençlilik testinde ise, safranın izolatlar üzerinde hiçbir etki gösteremediği gözlemlenmiştir. Safra tuzlarına karşı dirençlilik deneyinde, izolatların istatistiksel analizleri değerlendirildiğinde ise bazı suşlarda yüksek anlamlı fark gözlenirken, bazılarında ise düşük anlamlı fark gözlemlenmiştir. Ayrıca bazı suşlar hiçbir anlamlı fark sergileyememiştir.

Antioksidan özelliklerin sonucuna bakıldığında; bütün izolatların DPPH* serbest radikalini %50'nin üzerinde giderdiği ve birçok suşun MDA seviyesini önemli derecede düşürdüğü belirlenmiştir. Ayrıca GSH seviyelerine bakıldığında ise, suşların büyük bir kısmının kontrollerden daha fazla etki gösterdiği belirlenmiştir. GSH-Px ve CAT enzim

aktivitesi sonuçları değerlendirildiğinde ise bazı izolatların enzim aktivitelerinin kontrollerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızın sonuçları değerlendirildiğinde; birçok izolatın hem probiyotik özellik hem de antioksidan özellik sergilediği belirlenmiştir. Özellikle Y25 nolu izolatın bütün basamaklarının kontrol gruplarından daha yüksek aktivite gösterdiği ve Y1 nolu izolatın CAT enzim aktivitesinin kontrolden 20 kat daha fazla olduğu, ayrıca GSH seviyesini yükselttiği ve DPPH* serbest radikalini süpürmede etkili olduğu belirlenmiştir. Y5 nolu izolatın ise DPPH* serbest radikalini süpürmede kontrole yakın bir değerle (%91.5) etki gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde edilen probiyotik (pH, pepsin, pankreatin ve safra tuzları) ve antioksidan (GSH, MDA, GSH-Px, CAT ve DPPH*) özelliklerden en iyi aktivite sergileyen Y25 nolu gibi izolatların farklı probiyotik özellikleri ve enzim aktiviteleri çalışılabilir. Bu özellikteki izolatlar üzerine *in vivo* çalışmalar yapılırsa, litaretüre daha iyi katkı sağlayacaktır. Ayrıca iyi aktivite gösteren *L. plantarum* izolatlarının gıda, ilaç benzeri gıda takviye ürünleri ve ilaç endüstrisinde kullanılarak insan ve hayvan sağlığına önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Adams, M.R. and Marteau, P. 1995. On the safety of lactic acid bacteria from food, *International Journal of Food Microbiology*, 27, 263-264.
- Adams, M.R., 1999. Safety of industrial lactic acid bacteria, *Journal of Biotechnology*, 68, 171-178.
- Adams, R.A. and Moss, M.O. 2008. Food Microbiology, *RSC Publishing*, Cambridge, UK.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro assay methods, *Methods in Enzymology*. 105, 121-126.
- Ahire, J., Bhat, A., Thakare, J.M., Pawar, P.B., Zope, D.G., Jain, R.M. and Chaudhari, B.L. 2012. Cholesterol Assimilation and Biotransformation by *Lactobacillus helveticus*, *Biotechnology Letters*, 34, 103–107.
- Akalın, S., Gönç, S. ve Senderya, S., 2000, Probiyotik süt ürünleri ve prebiyotikler, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Süt Mikrobiyolojisi ve katkı maddeler, Tebliğler Kitabı, *Rebel Yayıncılık*. 29-38.
- Aktan, N., Yücel, U. ve Kalkan, H., 1998, Turşu Teknolojisi, *Ege Üniversitesi Basımevi*, Bornova- İzmir, 138.
- Alan, Y., Topalcengiz, Z. and Dığrak, M. 2018. Biogenic amine and fermentation metabolite production assessments of *Lactobacillus plantarum* isolates for naturally fermented pickles, *LWT - Food Science and Technology*, 98, 322-328
- Alp, D., 2018, Doğal Kaynaklardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması ve İn Vitro Bağırsak Modelinde Patojenlerin Tutunmasını Engelleme Özelliklerinin Belirlenmesi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta s.89-93.
- Alp, G. and Aslim, B. 2010. Relationship Between The Resistance To Bile Salts And Low pH With Exopolysaccharide (EPS) Production of *Bifidobacterium* spp. isolated from infants feces and breast milk, *Anaerobe*, 16, 101–105.
- Alp, G., 2008, Bifidobacterium cinsi bakterilerin bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gazi Üniversitesi, 22-40.
- Alperden, İ., 1993, Et ve su ürünleri mikrobiyolojisi/ Gıda Sanayiinde Mikrobiyoloji ve Uygulamaları, *Marmara Araştırma Merkezi Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü* Yayın No:124, Kocaeli, 78-101.
- Altınışik, M., 2010, Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar, *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı*, Aydın, 14-35.
- Ambrosini, V. M., Gonzales, S., Holgado, A.P.R. and Oliver, G. 1998. Study of the morphology of the cell walls of some strains of lactic acid bacteria and related species, *Journal Food Protection*, 61 (5), 557-562.
- Anonymous, 2019. <http://www.chats.gen.tr/serbest-radikal-nedir.html>. Erişim tarihi: [20 Aralık 2019].
- Aras, A., 2017, Türkiye’de yetişen endemik *Nepeta nuda subsp.lydiae* bitkisine ait farklı ekstraktların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve fenolik bileşik içeriklerinin Lc-Ms/Ms ile analizi, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Dicle Üniversitesi.
- Armstrong, R.N., 1997, Structure, catalytic mechanism, and evolution of the glutathione transferases, *Chemical Research in Toxicology*, 10 (1), 2-18.
- Asburçe, M., Olgaç, B. ve Sezer O.B. 2013. Fonksiyonel kabızlığı olan çocuklarda probiyotik ve laktoluz tedavilerinin etkinliğinin karşılaştırılması ve kabızlık tedavisinin yaşam kalitesi üzerine olan etkisinin değerlendirilmesi, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 56, 1-7

- Ashraf, R. and Smith, S.C. 2016. Commercial lactic acid bacteria and Probiotic strains-tolerance to bile, pepsin and antibiotics, *International Food Research Journal*, 23 (2), 777-789.
- Axelsson, L.T.1998. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology, (S. Salminen and A. von Wright, editörler), Lactic Acid Bacteria, Marcel Dekker, Inc, New York. pp, 1-72.
- Ayyanna, R., Ankaiah, D. and Arul, V. 2018. Anti-inflammatory and antioxidant properties of probiotic bacterium *Lactobacillus mucosae* AN1 and *Lactobacillus fermentum* SNR1 in wistar albino rats, *Food Microbiology/Journal Frontiers in Microbiology*, 9 (10), 3063.
- Balamurugan, R., Chandragunasekaran, A.S., Chellappan, G., Rajaram, K., Balakrishnan, G. and Ramakrishna, S. 2014. Probiotic Potential Of Lactic Acid Bacteria Present In Home Made Curd In Southern India, *Indian Journal of Medical Resources*, 140, 345-355.
- Basu, S., Chatterjee, M., Ganguly, S. and Chandra, P. K. 2007. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG in persistent diarrhea in Indian children: a randomized controlled trial, *Journal of Clinical Gastroenterology*, 41 (8), 756-760.
- Başıyğit, G., 2004, Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Olarak Kullanılma Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Süleyman Demirel Üniversitesi.
- Batish, V.K., Roy, U. and Grover, S. 1997. Antifungal attributes of lactic acid bacteria-A review, *Critical Reviews in Biotechnology*, 17 (3), 209-225.
- Beasley, S., 2004, Isolation, identification and exploitation of lactic acid bacteria from human and animal microbiota, *Department of Applied Chemistry and Microbiology University of Helsinki* Finland Academic Dissertation.
- Begley, M., Gahan, C.G. and Hill, C. 2005. The interaction between bacteria and bile, *Trends in Microbiology*, 4 (11), 430-435,
- Bengmark, S. 2003. Use of some pre-, pro- and synbiotics in critically ill patients, *Best Practice Research Clin Gastroenterology*, 17, 833-848.
- Berg, R.D., 1996. The indigenous gastrointestinal microflora, *Trends in Microbiology*, 4 (11), 430-435/ *Bilimsel Gıda*, 2, 30-34.
- Bhardwaj, A., Malik, R. K. and Chauhan, P. 2008. Functional and safety aspects of enterococci in dairy foods, *Indian Journal of Microbiology*, 48 (3), 317- 325.
- Blandio, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D. and Webb, C. 2003. Cereal-based fermented foods and beverages, *Food Research International*, 36, 527-543.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199.
- Boisen, S., Eggum, B.O. 1991. Critical evaluation of in vitro methods for estimating digestibility in simple-stomach animals, *Nutrition Research Reviews*, 4, 141-162.
- Breidt, F., McFeeters, R. F., Perez-Diaz, I. and Lee, C., 2013. Fermented Vegetables. 841-855, *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 4th Ed. Edited by M. P. Doyle and R. L. Buchanan © 2013 ASM Press, Washington, D.C.
- Burns, P., Vinderola, G., Binetti, A., Quiberoni, A., de Los Reyes-Gavilan, C.G. and Reinheimer, J. 2008. Bile-resistant derivatives obtained from non-intestinal dairy lactobacilli, *International Dairy Journal*, 18 (4), 377- 385.
- Bursal, E., 2009, Kivi meyvesinin (*Actinidia deliciosa*) antioksidan ve antiradikal aktivitelerinin belirlenmesi, karbonik anhidraz enziminin saflaştırılması ve karakterizasyonu, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Atatürk Üniversitesi.
- Butel, M. J. 2014. Probiotics, gut microbiota and health, *Médecine et maladies infectieuses*, 44 (1), 1-8.

- Can, Ö.P., 2007, Probiyotik mikroorganizmaların yararları, *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, 107-110.
- Caplice, E. and Fitzgerald, G.F. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation, *International Journal of Food Microbiology*, 50, 131–149.
- Ceydilek, B., ve Beyler, A.R. 2005. Safra oluşumunda rol oynayan transport proteinleri, *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 58, 68-72.
- Ceyhan, N. ve Alıç, H. 2012. Barsak mikroflorası ve probiyotikler, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5 (1), 107-113.
- Chagnaud, P., Machinis, K., Coutte, L.A., Marecat, A. and Mercenier, A. 2001. Rapid PCR- based procedure to identify lactic acid bacteria application to six common *Lactobacillus* species, *Journal of Microbiological Methods*, 44, 139-148.
- Chang-Qing, Y. and Li Rong, L., 2015. Cloning and expression of bile salt hydrolase gene from *Lactobacillus plantarum* M1-Uvs29, *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)*, 22 (2), 60-66.
- 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; 1636-1643.
- Chen, H. and Hoover, D. G. 2003. Bacteriocins and food applications, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 82-100.
- Chen, H., Zheng, Z., Chen, P., Wu, X. G. and Zhao, G. 2012. Inhibitory effect of extracellular polysaccharide eps-11 from pseudoalteromonas on candida adhesion to cornea in vitro, *Biomedicine Environ Sci*, 25 (2), 210-215.
- Chen, R.C., Xu, L.M., Du, S.J., Huang, S.S., Wu, H., Dong, J.J. and Chen, Y.P. 2016. *Lactobacillus rhamnosus* GG supernatant promotes intestinal barrier function, balances T reg and T H 17 cells and ameliorates hepatic injury in a mouse model of chronic-binge alcohol feeding, *Toxicology Letters*, 241, 103-110.
- Chen, Y.M., Wei, L., Chiu Y.S., and Tsai T.Y. 2016. *Lactobacillus plantarum* TWK10 supplementation improves exercise performance and increases muscle mass in mice, *Nutrients*, 8 (205), 1–15.
- Cheng, C.C., Etoh, J., Tanimura, T., Egashira, Y., Ohta, T. and Sanada, H. 1996. Effects of dietary gluten on the hepatotoxic action of galactosamine and/or endotoxin in rats, *Biosciens, Biotechnology, Biochemistry*, 60, 439-43.
- Chiang, S.S. and Pan, T.M. 2012. Beneficial effects of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 and its fermented products, *Appl Microbiology Biotechnol*, 93, 903-916.
- Cho, C., Koo, M., Garg, G. and Ogle, C. 1992. Stress-induced gastric ulceration: its aetiology and clinical implications, *Scandinavian journal of gastroenterology*, 27 (4), 257-262.
- Cho, Y. H., Hong, S. M. and Kim, C. H. 2013. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from kimchi, Korean traditional fermented food to apply into fermented dairy products, *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 33 (1), 75-82.
- Cholakov, R., Yanakieva, V., Denkova, Z., Sotirova, E., 2014. Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* Bg24. isolated from naturally fermented cereal beverages, *Научни Трудове На Русенския Университет*, 10 (2), 46-50.
- Chong, E.S.L. 2014. A potential role of probiotics in colorectal cancer prevention: review of possible mechanisms of action, *World Journal Microbiology Biotechnology*, 30, 351–74.

- Claire, L., Glenn, V., Gibson, R. and Robert, A. 2006. "Carbohydrate preference, acid tolerance and bile tolerance in five strains of *Bifidobacterium*," *Journan Applied Microbiology*, 100, 846–853.
- Corcoran, B.M., Stanton, C., Fitzgerald, G.F. and Rossi, R.P. 2005. Survival of probiotic lactobacilli in acidic environments is enhanced in the presence of metabolizable sugars, *Applied And Environmental Microbiology*, 71 (6), 3060–3067.
- Corthier, G., 2004, The health benefits of probiotics, Danone Nutritopics, *Route Departmentale Palaiseau Cedex*, France 17, 1-4.
- Çakır, İ. 2004. Probiyotikler: tanımı, etki mekanizması, seçim ve güvenilirlik kriterleri, *Gıda Dergisi*, 29 (6), 427-434.
- Daly, C. and Davis, R. 1998. The biotechnology of lactic acid bacteria with emphasis on applications in food safety and human health, *Agric. Food Science Finland*, 7, 219–250.
- Dam-ampai, S.O.J. and Nilnond, C. 2005. Effect of cattle manure and dolomite on soil properties and plant growth in acid upland soils, *Songklanakarın Journal of Science and Technoloh*, 27 (3), 727-737.
- Darılmaz, D., Aslım, B., Suludere, Z. and Akça, G. 2011. Influence of gastrointestinal system conditions on adhesion of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains to caco-2 cells, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54, 917- 926.
- Darılmaz, D.O. and Beyatlı, Y. 2011. Acid-bile antibiotic resistance and inhibitory properties of propionibacteria isolated from Turkish traditional home-made cheeses, *Anaerobe*, 18, 122-127.
- Darılmaz, D.O. and 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.
- David, C., 2003. Probiotics as functional foods, *Nutritional in Clinical Practice*, 18 (6), 497.
- De Bartolomeo, A., Trotta, F., La Rosa, F., Saltalamacchia, G. and Mastrandrea, V. 1991. Numerical analysis and DNA base compositions of some thermophilic *Bacillus* species, *Inernationalt Journal System Bacteriolgy*, 41 (4), 502-509.
- Delgado, S. and Mayo, B. 2003. Development of *Lactobacillus plantarum* LL441 and its plasmid-curred derivates in cheese. *Journal Industraduction/ Microbiology, Biotechnology*, 30, 216-219.
- Delgado, S. and Mayo, B. 2004. Phenotypic and genetic diversity of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus* spp. strains isolated from Northern Spain starter-free farmhouse cheeses, *Journal of Food Microbiology*, 90, 309-319.
- 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, *International Journal of Food Science*, 72, 310-315.
- Demir, E., 2014, Fermente süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinde bakteriyosin üretiminin karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın.
- Denkova, R., Ilieva, S., Dimbareva, D., Denkova, Z., 2012. Probiotic Properties of *Lactobacillus acidophilus* Z10. Isolated from naturally fermented Sourdough, *Food And Environment Safety*, 11 (3), 15-20.
- Desai, A., 2008, Strain identification, viability and probiotics properties of *Lactobacillus casei*, PhD Thesis, *Victoria University*, Victoria, Australia, 228.

- Dinçer, E., 2007, Et ve et ürünlerinden laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve bunların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
- Dinçer, E., Kıvanç, M. ve Karaca, H., 2009, Biyokoruyucu olarak laktik asit bakterileri ve bakteriyosinler. *Gıda*, 20 (3), 1-8.
- Divyashri, G., Krishna, G. and Prapulla S.G. 2015. Probiotic attributes, antioxidant, anti-inflammatory and neuromodulatory effects of *Enterococcus faecium* CFR 3003: in vitro and in vivo evidence, *Journal Medical Microbiology*, 64 (12), 1527-1540.
- Dizdaroğlu, M., 1991. Chemical determination of free radical-induced damage to DNA, *Free Radical Biology and Medicine*, 10, 225-242.
- Doğan, M. 2012. Probiyotik bakterilerin gastrointestinal sistemdeki etki mekanizması, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7 (1), 20-27.
- Doğan, M. 2017. Bazı gıdalardan izole edilen bakterilerin probiyotik özelliklerinin araştırılması, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul Aydın Üniversitesi, 98-104.
- Dönmez, M., Cankurtaran, M., Diken F. ve Günendi P., 2010, Gıda beslenmesi ve kanser ilişkisi, *Ulusal Meslek Yüksekokulları Öğrenci Sempozyumu (MYO-OS)*, 21-22 Ekim, Düzce.
- Dunne, C. 2001. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder, *Inflammatory Bowel Diseases*, 7, 136-145.
- Dunne, C. 2002. The survival and colonic adhesion of *Bifidobacterium infantis* in patient with ulcerative colitis, *International Dairy Journal*, 12, 197-200
- Dunne, C., Murphy, L., Flynn, S., O'Mahony, L., O'Halloran, S., Feeney, M., Morrissey, D., Thornton, G., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., Quigley, E.M.M., O'Sullivan, G.C., Shanahan, F. and Collins, J.K. 1999. Probiotics: From myth to reality, Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials, *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 279-292.
- Dündar R., 2017, Geleneksel Olarak Üretilmiş Ev Tipi Turşularda Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Tanısı, Yüksek Yisans Tezi, *Fen bilimleri Enstitüsü Atatürk Üniversitesi*, Erzurum.
- Ejtahed, H. S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari- Jafarabadi, M. and Mofid, V. 2012. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients, *Nutrition*, 28 (5), 539-543.
- Elcioğlu, O. and Kunduhoğlu, B. 2014. Probiotic characteristics of natural lactobacilli isolated from traditional kargi tulum cheese, *Italian Journal of Food Science*, 26 (1), 31-40.
- El-Sheekh, M., Allam, N.G., Sarhan N. I. and Alfakharany G. 2016. Potential role of probiotic bacteria as antioxidants agent, *Journal of Bioscience and Applied Research*, 2 (8), 595-600.
- Er, S., 2016, Vajenden Probiyotik Bakterilerin İzolasyonu ve Bunların Antikanserojen Etkisinin Araştırılması, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 103-105.
- Erkkilä, S. and Pithva, 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, 297-300.
- Ersoy, N., Ersoy, G., 2019, Barsak mikrobiyotası ve dayanıklılık egzersizleri, *Sağlık Bilimleri ve Meslekleri Dergisi*, 6 (1), 170-178.
- Eryılmaz, F., 2011, Vajinal Sekresyondan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerine Ait Bazı Suşların Potansiyel Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi, Doktora Tezi, *Biyoteknoloji Enstitüsü*, Ankara Üniversitesi, 95.

- Esil, H., 2007. Vajen Kaynaklı *Lactobacillus* Spp.'nin Ekzopolisakkarit (Eps) Üretimlerinin Antibiyotik Dirençliliğine ve Epitel Hücre Yüzeylerine Yapışmadaki Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gazi Üniversitesi.
- Evren, M., Apan, M., Tutkun, E. ve Evren, S. 2011. Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri, *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, TR, 11-17.
- Fantel, A.G., 1996, Reactive oxygen species in developmental toxicity. Review and hypothesis, University of Washington, *Department of Pediatrics*, Seattle, Washington, 98195-6320.
- FAO/WHO, 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Working Group Report, Canada, 1-11.
- Ferris, D.G, Francis, S.L, Dickman, E.D., Miler-Miles, K., Waller, J.L. and McClendon, N. 2006. Variability of vaginal pH determination by patients and clinicians, *Journal of the American Board of Family Medicine*, 19 (4), 368–373.
- Fitzgerald, G. F. and Caplice, E. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation, *International Journal of Food Microbiology*, 50, 131-149
- 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, 35–50.
- Fooks, L.J. and Gibson, G.R. 2002. Probiotics as modulators of the gut flora, *British Journal of Nutrition*, 88 (1), 39-49.
- Fooks, L.J., Fuller, R. and Gibson, G.R. 1999. Prebiotics, probiotics and human gut, *International Journal of Food Microbiology*, 9, 53-61.
- Françoise, L. 2010. Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products fresco cheese, *Journal Of Dairy Science*, 83, 1905-1911.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and Animals, *Journal Applied Bacteriology*, 66, 365-378.
- Fuller, R. 1991. Probiotics in human medicine, *Gut*, 32, 439-442.
- Fuller, R. and Gibson, G.R. 1999. Prebiotics, probiotics and human gut, *Journal of Internatinal Aplied Dairy Microbiology* 9, 53-61.
- Gan, X. T., Ettinger, G., Huang, C. X., Burton, J. P., Haist, J. V., Rajapurohitam, V. and Reid, G. 2014. Probiotic administration attenuates myocardial hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in the rat clinical perspective circulation, *Heart Failure*, 7 (3), 491-499.
- Gardes-Albert, M., Jore, D., Abendinzadeh, Z., Remita, S., Rouscilles, A. 2002, Oxidative Stress, Expresion of Interest for the VI. Framework Programme of the European Commisison, Annex 3, *Network of Excellence projet, Laboratoire de chimie Physique*, Universite Paris.
- Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microflora introducing the concept of probiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412
- Gill, H.S. and F. Guarner. 2004. Probiotics and human health: a clinical perspective, postgrad, *Journal of medicine*, 80, 516-526.
- Gilliand, S., Staley, T. and Bush, L. 1984. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as dietary adjunct, *Journal of Dairy Science*, 67, 3045-3051.
- Gilliland, S.E., Nelson, C.R., Maxwell, C. 1985. Assimilation of Cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*, *Applied Environment Microbiology*, 49, 377.

- Gionchetti, P., Rizello, F., Venturi, A. and Campieri, M., 2000. Probiotics in infective diarrhoea and inflammatory bowel disease, *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15, 489-493.
- Giraffa G. and Carminati D. 2008. Molecular techniques in food fermentation: principles and applications. In: Molecular techniques in the microbial ecology of fermented foods, L. Coccolin and D. Ercolini (Editors). *Springer Science*, New York, pp. 1-30.
- Gismondo, M.R. and Drago, L. 1999. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 12, 287-292.
- Goldenberg, J. Z. Ma, S. S. Saxton, J. D. Martzen, M. R. Vandvik, P. O. Thorlund, K. and Johnston, B. C. 2013. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile* associated diarrhea in adults and children, *The Cochrane Library*.
- Goldin B.R. and Gorbach S.L. 1977. Alterations in fecal microflora enzymes related to diet, age, *Lactobacillus* supplements, and dimethylhydrazine, *Cancer*, 40 (5) 2421-6.
- Goldin, B. R. and Gorbach, S. L. 1992. Probiotics for humans In R. Fuller, Probiotics the scientific basis London, *Chapman and Hall*, 355-376.
- Goldin, B.R. and Gorbach S.L. 1984. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 39, 756-61.
- Goldin, B.R. and Gorbach, S.L. 2008. Clinical indications for probiotics an overview, *Clinical Infectious diseases*, 46 (2), 96-100.
- Gomes, A.M.P. and Malcata, F.X. 1999. *Bifidobacterium* ssp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics, *Trends in Food Science and Technology*, 10 (4-5), 139-157.
- Gómez-Ruiz, J.A., Cabezas, L., Martínez-Castro, I., González-Viñas, M.A. and Poveda, J.M. 2008. Influence of a defined-strain starter and *Lactobacillus plantarum* as adjunct culture on volatile compounds and sensory characteristics of Manchego cheese, *European Food Research and Technology*, 227, 18-190.
- Gorbach, S.L. 2002. Probiotics in the third millennium, *Digest Liver Disease*, 34 (21), 2-7.
- Grimoud, J. Durand, H. De Souza, S. Monsan, P. Ouarné, F. Theodorou, V. And Roques, C. 2010. In vitro screening of probiotics and synbiotics according to anti-inflammatory and anti-proliferative effects, *International Journal Food Microbiology*, 144 (1), 42-50.
- Guarner, F., Perdigon, G., Corthier, G., Salminen, S., Koletzko, B. and Morelli, L. 2005. Should yoghurt cultures be considered probiotic, *British Journal of Nutrition*, 93, 783-786
- Gueimonde, M. and Salminen, S. 2006. New methods for selecting and evaluating probiotics, *Digestive and Liver Disease*, 38, 242-247.
- Guslandi, M. 2003. Probiotics for Chronic Intestinal Disorders, *American Journal of Gastroenterology*, 98, 520-521.
- Gülel, Ş. 2014. Molecular identification and probiotic properties of '*Lactobacillus acidophilus*' group isolates from Turkish Kefir, *Middle East Technical University*, Doctoral dissertation.
- Gülmez, M. ve Güven, A. 2002. Probiyotik, Prebiyotik ve Sinbiyotikler, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 8 (1), 83-89.

- Gürsoy, O. ve Kınık, Ö. 2005. *Laktobasiller* ve probiyotik peynir üretiminde kullanım potansiyelleri, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3 (11), 361-371.
- Güven, A ve Gülmez, M. 2006. Fonksiyonel Gıdalar ve Sağlıkla İlişkisi, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8, 83-89.
- Hall, C., 2001, Source of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources, antioxidants in food, practical applications, Pokorny J. Yanishlieva N. and Gordon M. (eds), pp. 169-219, *Woodhead Publishing Ltd*. Cambridge.
- Hayaloğlu, A.A. ve Erginkaya, Z. 2001, Gıda Endüstrisinde Kullanılan Laktik Asit Bakterileri, Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No: 23, *Bizim Büro Basımevi Yayın Dağıtım sanayi Ticaret limited şirketi*, 26, Ankara.
- Helander, I. M., Von, Wright, A. and Mattila-Sandholm, T.M. 1997. Potential of lactic acid bacteria and noval antimicrobials against gram-negative bacteria, *Trends Food Sciens*, 8, 146-150.
- Herreros, M.A., Sandoval, H., González, L., Castro, J.M., Fresno, J.M. and Tornadijo, M.E., 2005. Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese), *Food Microbiology*, 22 (5), 455-459.
- Heyman, M., 2002, effect of lactic acid bacteria on diarrheal diseases, *National Institute of Health and Medical Research*, INSERM E9925, *Faculte Necker*, 156 rue de Vaugirard, 75730 Paris, France.
- Holzappel, W.H. and Wood, B.J.B., 2014, Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy, NY: Wiley-Blackwell, New York, 632.
- Horáčková, S., Plocková, M., Demnerová, K. 2017. Importance of microbial defence systems to bile salts and mechanisms of serum cholesterol reduction, *Biotechnology Advances*.
- Hove, H., Nørgaard, H. and Mortensen, P.B. 1999. Lactic acid bacteria and the human gastrointestinal tract, *European Journal of Clinical Nutrition*, 53, 339-350.
- Huang, Y. and Adams, M.C. 2004. In vitro assessment of the upper gastrointestinal tolerance of potential probiotic dairy propionibacteria, *International Journal Food Microbiology*, 91, 253-260
- Hugenholz, J. 2008. The Lactic acid bacterium as a cell factory for food ingredient production, *International Dairy Journal*, 18 (5), 466-475.
- Hur, S.J., Lim, B.O., Decker, E.A. and McClements, D.J. 2011. In vitro human digestion models for food applications, *Food Chemistry*, 125, 1–12.
- Hutkins, R.W., 2006, Microbiology and technology of fermented foods, *IFT Press*, *Blackwell Publishing*, Oxford, UK, 473.
- Isolauri, E. 2004. The role of probiotics in paediatrics, *Current Paediatrics*, 14, 104–109.
- Işık, M. 2016, Deneysel stres modeliyle indüklenen gastrik lezyonlara karşı *Lactobacillus rhamnosus*'un koruyucu etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi *Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir Osman Gazi Üniversitesi, Eskişehir, 77-85.
- İnanç, N., Şahin, H. ve Çiçek, B. 2005. Probiyotik ve prebiyotiklerin sağlık üzerine etkileri, *Erciyes Tıp Dergisi*, 27 (3), 122-127.
- Jamaly, N., Benjouad, A. and Bouksaim, M. 2011. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from known popular traditional moroccan dairy products, *British Microbiology Research Journal*, 1 (4), 79–94.
- Jan, G., Leverrier, P., Pichereau, V. and Boyaval, P. 2001. Changes in protein synthesis and morphology during acid adaption of *Propionibacterium freudenreichii*, *Applied Environ. Microbiology*, 67, 2029-2036.

- Jin, J., Song, J., Ren, F., Zhang, H., Xie, Y., Ma, J., & Li, X. 2016. Investigation of growth phase-dependent acid tolerance in *Bifidobacteria longum* BBM68, *Current Microbiology*, 18 (5), 78.
- Johnson, E. M., Yang, S. H., Sahoo, M., Dash, I., Das, B., Palaniyandi, S. K. and Jayabalan, R. 2016. Biotherapeutic propensity of the probiotic strains isolated from human gut microbiota against enteric infection by *Salmonella typhimurium*, *Journal of Clinical Gastroenterology*, 25-14.
- Kailasapathy, K. 2002. Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications, *Current issues in intestinal microbiology*, 3 (2), 39- 48.
- Kailasapathy, K. 2013. Commercial sources of probiotic strains and their validated and potential health benefits-a review, *International Journal of Fermented Foods*, 2 (1), 1.
- Kanat, N., Coşansu Akdemir, S., 2014, Bakterilerde glutatyon ve önemi, *Samsun Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18 (2),111-117.
- Karahan, A. G. ve Çakmakçı, M. L. 1996. Probiyotikler, *Gıda Dergisi*, 21 (4), 297-302.
- Keser, S., 2012. Civanperçemi (*Achillea millefolium*) ve böğürtlen (*Rubus discolor*)’in toplam antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi ve oksidatif stres oluşturulmuş ratlarda bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkilerinin incelenmesi, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Fırat Üniversitesi.
- Kılıç, E. ve Aslım, B. 2003. Laktik asit bakterilerinin vajen florasındaki önemi ve probiyotik olarak kullanımı, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1 (2), 70-82.
- Kılıç, G., Kuleaşan, H., Sömer, V.F., Akpınar, D., 2013. Determining Potential Probiotic Properties Of Human Originated *Lactobacillus plantarum* Strains *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18, 479-485.
- Kılıç, S., 2001, Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları* 1. Baskı, İzmir, 542.
- Kılınç, K. 1985. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksid dismutaz, *Biyokimya Dergisi*, 3, 59-76.
- Kıran, F. ve Osmanağaoğlu, Ö. 2011. Laktik asit bakterilerinin identifikasyonunda/ tiplendirilmesinde kullanılan moleküler yöntemler, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 27 (1), 62-74.
- Kıslı, D. and Ünlütürk, A. 1998. A new type of fermented milk product manufactured by *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium longum*, *Advances in Food Sciences*, 20, 234-39.
- Kiebling, G., Schneider, J. and Jahreis, G. 2002. Long term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol, *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, 843-849.
- Klaenhammer, T.R. and Kullen, M.J. 1999. Selection and design probiotics, *International Journal of Food Microbiolog*, 50 (1), 45-57.
- Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C. and Reuter, G. 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria, *International Journal Food Microbiology*, 41 (2), 103-25.
- Klingberg, T.D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D. and Budde, B.B. 2005. Identification of potential probiotic cultures for scandinavia-type fermented sausages, *International Journal of Food Microbiology*, 105, 419-431.
- Kopp-Hoolihan, L. 2001. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: A Review, *Journal of American Diet Associate*, 101, 229-241.
- Kullisaar, T., Zilmer, M., Mikelsaar, M., Vihalemm, T., Annuk, H., Kairane, C. and Kilk, A. 2002. Two antioxidative *Lactobacilli* strains as promising probiotics, *International Journal of Food Microbiology*, 72, 215-224.

- Kumar, A.S., Mody, K. and Jha, B. 2007. Bacterial exopolysaccharides – a perception, *Journal. Basic Microbiology*, 47 (2), 103–117.
- Kumar, M. and Berwal, J.S. 1998. Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*), *Journal Applied Microbiology*, 84, 213-215.
- Kumar, M., Nagpal, R., Verma, V., Kumar, A., Kaur, N., Hemalatha, R. and Singh, B. 2013. Probiotic metabolites as epigenetic targets in the prevention of colon cancer, *Nutrition Reviews*, 71 (1), 23-34.
- Kumar, M., Verma, V., Nagpal., R., Kumar, A., Behare, P.V. and Singh B. 2012. Anticarcinogenic effect of probiotic fermented milk and chlorophyllin on aflatoxin-B1-induced liver carcinogenesis in rats, *British Journal of Nutrition*, 107, 1006–16.
- Le, B., and Yang, S.H. 2018. Isolation of weissella strains as potent probiotics to improve antioxidant activity of salted squid by fermentation, *Journal Of Applied Biology Chemical*, 61 (1), 93–100.
- Lee J., Rheem S., Yun B., Ahn Y., Joung J., Lee S.K., Oh S., Chun S., Rheem I., Yea H.S., Lim K.S., Cha J.M. and Kim S. 2013. Effects of probiotic yoghurt on symptoms and intestinal microbiota in patients with irritable bowel syndrome, *International Journal of Dairy Technology*, 66 (2), 243-255.
- Lee, J.W., Shin, J.G., Kim, E.H., Kang, H.E., Yim, I.B., Kim, J.Y., Joo, H.G. and Woo, H.J. 2004. Immunomodulatory and anti-tumor effects in vivo by the cytoplasmic fraction of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium longum*, *Journal Vet. Science*, 5, 41–48.
- Lee, N.K., Han, K.J., Son, S.H., Eom, S.J., Lee, S.K. and Paik, H.D. 2015. Multifunctional effect of probiotic *Lactococcus lactis* KC24 isolated from kimchi, *Food Science Technoogyl*, 64, 1036-1041.
- Lee, S.H. and Kim, Y.J. 2014. A comparative study of the effect of probiotics on cariogenic biofilm model for preventing dental caries, *Arch Microbiology*, 196 (8), 601-9.
- Li, Q., Liu, X., Dong, M., Zhou, J. and Wang, Y. 2015. Aggregation and adhesion abilities of 18 lactic acid bacteria strains isolated from traditional fermented Food, *International Journal Of Agricultural Policy And Research*, 3 (2), 84-92.
- Li, S., Zhao, Y., Zhang, L., Zhang, X., Huang, L., Li, D., Niu, C., Yang, Z. and Wang, Q. 2012. Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods, *Food Chemistry*, 135, 1914–1919.
- Lin, D.C. 2003. Probiotics as functional foods, *Nutritional in Clinical Practice*, 18, 497-507.
- Liu, C., Lu, J., Lu, L., Liu, Y., Wang, F. and Xiao, M. 2010. Isolation, structural characterization and immunological activity of an exopolysaccharide produced by *Bacillus licheniformis* 8-37-0-1, *Bioresource Technology*, 101 (14), 5528-5533.
- Liu, C.F., Tseng, K.C., Chiang, S.S., Lee, B.H., Hsu, W.H. and Pan, T.M. 2011. Immunomodulatory and antioxidant potential of *Lactobacillus exopolysaccharides*, *Science Food Agric*, 91, 2284–2291.
- Liu, C.T., Chu, F.J., Chou, C.C. and Yu, R.C. 2011b. Antiproliferative and anticytotoxic effects of cell fractions and exopolysaccharides from *Lactobacillus casei* 01, *Mutation Research*, 721, 157–162.
- Liu, J.J. Reid, G. Jiang, Y. Turner, M.S. and Tsai, C.C. 2007. Activity of HIV entry and fusion inhibitors expressed by the human vaginal colonizing probiotic *Lactobacillus reuteri* RC-14, *Cell Microbiology*, 9 (1), 120-30.

- Liu, S. Q. and Pilone, G.J. 1998. A REVIEW: Arginine metabolism in wine lactic acid bacteria and its practical significance, *Journal Applied Microbiology*, 84, 315–327.
- Liu, S.N., Han, Y. and Zhou, Z.J. 2011. Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods, *Food Research International*, 44, 643–651.
- Liu, S.Q. 2003. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations, *International Journal of Food Microbiology*, 83 (2), 115-131.
- Lu, Z., Breidt J.F., Fleming, H.P., Altermann, E. and Klaenhammer, T.R. 2003. Isolation and characterization of a *Lactobacillus plantarum* bacteriophage, AJL-1, from a cucumber fermentation, *International Journal of Food Microbiology*, 84, 225–235.
- Madigan, M.T. and Matrinko, J.M., 2006, Brock biology of microorganisms, pearson education, Inc. Eleventh Edition, 375-378.
- Mainville, I., Arcand, Y. and Farnworth, E.R. 2005. A dynamic model that simulates the human upper gastro-intestinal tract for the study of probiotics, *International Journal of Food Microbiology*, 99, 287-296.
- Majcherczyk, A., Johannes, C. and Hutterman, A. 1999. Oxidation of aromatic alcohols by laccase from *Trametes versicolor* mediated by the 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonate) ABTS cation radical and di cation, *Applied Microbial Biotechnology*, 51 (2), 267-76
- Malago, J. J., Koninkx, J. F.J. G. and Marinsek-Logar, R. 2011. Probiotic bacteria and enteric infections, *Springer*, 30 (2), 28- 29.
- Maldonado, N. C. and Nader-Macías, 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 products, *International Journal Vet. Science Research*, 1 (1), 11-22.
- Malov, Y.S. and Kulikov, A.N. 1998. Bicarbonate deficiency and duodenal ulcer, *Terapevticheskii Arkhiv*, 70 (2), 28-32.
- 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.
- Matsumiya, Y., Kato, N. and Watanabe, K. 2002. Molecular epidemiological study of vertical transmission of vaginal *Lactobacillus* species from mothers to newborn infants in Japanese, by arbitrarily primed polymerase chain reaction, *Japanese Society of Chemotherapy and The Japanese Association for Infectious Diseases*, 8,43-49.
- Matu, M. N., Orinda, G. O., Njagi, E. N. M., Cohen, C. R. and Bukusi, E. A. 2010. In vitro inhibitory activity of human vaginal lactobacilli against pathogenic bacteria associated with bacterial vaginosis in Kenyan women, *Anaerobe*, 16, 210-215.
- Mazzoli, R., Bosco, F., Mizrahi, I., Bayer, E.A. and Pessione, E. 2014. Towards lactic acid bacteria-based biorefineries, *Biotechnology Advances*, 32, 1216–1236.
- McCartney, A.L., Wenzhi, W. and Tannock, G.F. 1996. Molecular analysis of the *Bifidobacterial* and *Lactobacillus* microflora of human, *Applied and Environmental Microbiology*, 4608-4613.
- McCue, P. and Shetty, K. 2003. Role of carbohydrate- cleaving enzymes in phenolic antioxidant mobilization from whole soybean fermented with *Rhizopus oligosporus*, *Food Biotechnology*, 17 (1), 27 37.
- Megan, E. M. and Janet, R. D. 2009. Effect of bile salts on the DNA and membrane integrity of enteric Bacteria, *Journal of Medical Microbiology*, 5 (8), 1533-1541.

- Mercan U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15, 91-96.
- Mercenier, A., Pavan, S. and Pot , B. 2002. Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects, *Current Pharmacology Design*, 8, 99-110.
- Milesi, M.M., McSweeney, P.L.H. and Hynes, E.R. 2008. Viability and contribution to proteolysis of an adjunct culture of *Lactobacillus plantarum* in two model cheese systems: cheddar cheese-type and soft-cheese type, *Journal of Applied Microbiology*, 105, 884–892.
- 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.
- Montville, T. J., Lewus, C. B. and Kaiser, A. 1991. Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat, *Applied and Environmental Microbiology*, 6, 1683- 1688.
- Mulholland, F., 1997, Proteolytic systems of dairy lactic acid bacteria, (B.A. LAW, editor). *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, Blackie Academic and Professional Publishing, London, 299-318.
- Naidu A.S., Bidlack W.R. and Clemens R.A. 1999. Probiotic spectra of lactic acid bacteria, *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 38, 13-126.
- Nessler, S. 1994. Crystallization of D-lactate dehydrogenase from *Lactobacils bulgaricus*, *Jornal of Molecular Biology*, 7, (235), 370-371.
- Nousiainen, J., and Setälä, J., 1993, Lactic acid bacteria as animal probiotics, in Salminen, S. and A. /von Wright (eds), *Lactic Acid Bacteria*, Marcel Dekker, New York: 315-356.
- O'Hara, O.A. and Shanahan, F. 2006. The Gut flora as a forgotten organ, *European Molecular Biology Organization*, 7 (7), 688-693.
- O'sullivan, D.J. 2001. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria, *A Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (4), 1751-1760.
- Oğuz, A., 2008, Bazı çerez gıdaların antioksidan kapasiteleri, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gaziosmanpaşa Üniversitesi.
- Ohman, H. and Vahlquist, A. 1994. In vivo studies concerning a pH gradient in human stratum corneum and upper epidermis, *Acta Dermato-Venereologica*, 74 (5), 375-379.
- Ong, L., Henriksson, A. and Shah, N.P. 2006. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid, *International Dairy Journal*, 16, 446-456.
- Oral, H., 2015, Farklı Kaynaklardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara Üniversitesi, 43-45.
- Orla-Jensen, S., 1919, *The lactic acid bacteria*, A. F. Host and Sons Forlag, Copenhagen, 1-196.
- Ouwehand, A., Salminen, S. and Isolauri, E. 2002. Probiotics an overview of beneficial effects Antonie van Leeuwenhoek, *Applied and Environmental Microbiology*, 82, 279-289.
- Önal, D, 2005, Bazı laktik asit bakterilerinin probiyotik özelliklerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Gazi Üniversitesi, 7-29.
- Önal, D., Beyatlı, Y. ve Aslım, B. 2005. Probiyotik bakterilerin epitel yüzeylere yapışması, *Orlab On-Line Mikrobiologu Letters*, 03, 1-10.

- Özden A. 2008. Diğer fermente süt ürünleri (biyoyoğurt-probiyotik yoğurt), *Güncel Gastroenteroloji*, 12 (3), 169-181.
- Özdoğan, D. 2011. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* L127 suşunun probiyotik özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara Üniversitesi, 62.
- Paglia De Valentine, W. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70, 158-159.
- Paolillo, R., Carratelli, C.R., Sorrentino, S., Mazzola, N. and Rizzo, A. 2009. Immunomodulatory effects of *Lactobacillus plantarum* on human colon cancer cells, *International Immunopharmacology*, 9, 1265-1271.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Kotzekidou, P. 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties, *Meat Science*, 65, 859-867.
- Parker, R. B., 1974, The other half of antibiotic story, *Animal Nutrition Health*, 29, 4-8.
- Penna, A.L.B., Rao-Gurram, S. and Barbosa-Ca'novas, G.V. 2007. Effect of milk treatment on acidification, physicochemical characteristics, and probiotic cell counts in low fat yogurt, *Milchwissenschaft*, 62, 48-52
- Pereira, D.I.A. and Gibson, G. 2002. Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut, *Applied Environment Microbiology*, 68, 4689-4693.
- Pereira, D.I.A. and Gibson, G.R. 2002. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans, *Crit. Review Biochemistry Molecular Biology*, 37 (4), 259-281.
- Pessione, E. 2012. Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 1-15.
- Peterson J, and Dwyer J. 1998. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity, *Nutrient Research*, 18, 1995-2018
- Polewski, M.A., Krueger, C.G., Reed, J.D., and Leyer, G. 2016. Ability of cranberry proanthocyanidins in combination with a probiotic formulation to inhibit in vitro invasion of gut epithelial cells by extra-intestinal pathogenic *E. coli*, *Journal of Functional Foods*, 25, 123-134.
- Prabhu, P., Srinivas, R. and Srinivasa, T.S. 2012. Probiotics for prevention, *International Journal of Contemporary Dentistry*, 3 (1), 68-72.
- Priyodip, P., Prakash, P.Y. and Balaji, S. 2017. Phytases of probiotic bacteria: characteristics and beneficial aspects, *Indian Journal of Microbiology*, 57 (2), 148-154.
- Rafter, J. 2003. Probiotics and colon cancer, *Best Practice Research Clinical Gastroenterology*, 17 (5), 849-859.
- 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), 991-1000.
- Rao VA. 2001. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels, *Nutrient Research*, 21, 843-848.
- Reid, G. and Bruce, A.W. 2003. Urogenital infections in women: can probiotics help, *Postgrad Medical Journal*, 79, 428-432.
- Reid, G., Jass, J., Sebulsky, M.T. and McCormick, J.K. 2003. Potential uses of probiotics in clinical practice, *Clinical Microbiology*, 16, 658-672.

- Renault, P. 2002. Genetically modified lactic acid bacteria: applications to food or health and risk assessment, *Biochimie*, 84 (11), 1073–1087.
- Reiter, R., Tang L, Garcia JJ, Muñoz-Hoyos A. 1997. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology, *Life Sci*, 60 (25), 2255-227.
- Ross, R.P., Fitzgerald, G., Collins, K. and Stanton, C. 2002. Cheese delivering biocultures probiotic cheese. *Australia Journal Dairy Technology*, 57, 71-78.
- Ross, R.P., Morgan, S., Hill, C. 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79, 3 – 16.
- Ross, S., Aleljung, P., Robert, N., Lee, B., Wadstrom, T., Lindberg, M. and Jonsson, H. 1996. A collagen binding protein from *Lactobacillus reuteri* is part of an ABC transporter system. *FEMS Microbiology Letters*, 144, 33-38.
- Rossi, E.A., Vendramini, R.C., Carlos, I.Z., Pei, Y.C. and DeValdez, G.F. 1999. Development of a novel fermented soymilk product with potential probiotic properties, *European Food Research Technology*, 209, 305-307.
- Rouhi, M., Sohrabvandi, S. and Mortazavian, A. M. 2013. Probiotic fermented sausage: viability of probiotic microorganisms and sensory characteristics, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 331–348.
- Roy, U., Batish, V.K., Grover, S. and Neelakantan, S. 1996. Production of antifungal substance by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CHD-28.3, *International Journal of Food Microbiology*, 32 (1-2), 27-34.
- Rubio, R., Jofré, A., Martín, B., Aymerich, T. and Garriga, M. 2013. Characterization of lactic acid bacteria isolated from infant faeces as potential probiotic starter cultures for fermented sausages, *Food Microbiology*, 84, 256-259
- Rycroft, C.E., Fooks, L.J. and Gibson, G.R. 1999. Methods for assessing the potential of prebiotics and probiotics, *Current Opinion in Clinical Nutrition and metabolic Care*, 14, 236-238
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Matto, J., Mattila-Sandholm, T. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties, *Journal of Biotechnology*, 84, 197– 215.
- Sağdıç, O., Arıcı, M. and Şimşek, O. 2002. Selection of starters for traditional Turkish yayık butter made from yoghurt, *Food Microbiology*, 19, 303-312.
- Sahadeva, R.P.K., Leong, S.F., Chua, K.H., Tan, C.H., Chan, H.Y., Tong, E.V., Wong, S.Y.W., Chan, H.K. 2011. Survival of commercial probiotic strains to pH and bile, *Research International Journal Food*, 18 (4), 1515-1522.
- Salminen, S., Bouley, C., Boutron- Ruault, M.C., Cummings, J.H., Franck, A., Gibson, G.R., Isolauri E., Moreau M.C., Roberfroid M., Rowland O. 1998. Functional Food Science and Gastrointestinal Physiology and Function, *Britain Journal of Nutrition*, 80 (1), 147-171
- Salminen, S., Ouwehand, A., Benno., and Wright, A. 2004. Lactic Acid Bacteria, microbial and Functional Aspects, *Food Science Technology*, 3, 1-53.
- Salminen, S., Von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Buassant, D., Vos de, W.M., Fonde'n, R., Saxelin, M., Collins, K., Mogensen, G., Birkeland, S.E. and Sandholm, T.M. 1998. Demonstration of safety of probiotics-a review, *International Journal of Food Microbiology*, 44, 93-106.
- Salminen, S.J., Gueimonde, M. and Isolauri, E. 2005. Probiotics that modify disease risk, *Journal of Nutrition*, 135, 1294–1298.
- Sanders, M. E. 1999. Probiotics, *Food Technology*, 53, 67–77.
- Sanders, M.E. 2003. Probiotics: considerations for human health, *Nutrition Reviews*, 61, 91-99.

- Sanders, M.E. and Huisin't Veld, J. 1999. Bringing a probiotic- containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues, *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 293–315.
- Savadogo, A., Ouattara, C.A.T., Bassole, I.H.N. and Traore, S.A. 2006. Bacteriocins and lactic acid bacteria-a minireview, *African Journal of Biotechnology*, 5 (9), 678-683.
- 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 Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, İnönü Üniversitesi, Malatya, 26-55.
- Savcı, A. 2016, Gentamisin Sülfat, Amoksisilin Ve Sefazolin Sodyum Antibiyotiklerinin Fare Kalp Dokusunda Antioksidan Enzim Aktiviteleri, Protein ve Gen Ekspresyon Düzeyleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Bingöl Üniversitesi, Bingöl, 30-52.
- Schaafsma, G. 1996. State of the art concerning probiotic strains in milk products, *IDF Nutrition Newsletter*. 5, 23–24.
- Schillinger, U. and Lücke, F.K. 1987. Identification of lactobacilli from meat and meat products, *Food Microbiology*, 4 (3), 199-208.
- Schnürer, M. and Magnusson, J. 2005. Antifungal lactic acid bacteria asbiopreservatives, *Trends in Food Science and Technology*, 16 (1-3), 70-78.
- Sedlak, J. and Lindsay, R.H. 1968. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent, *Analytical Biochemistry*, 24 (25), 192-205.
- Senok, A.C., Ismaeel, A.Y. and Botta, G.A. 2005. Probiotics: facts and myths, *Clinical Microbiology Infected*, 11, 958-966.
- Serino, M., Luche, E., Chabo, C., Amar, J. and Burcelin, R., 2009. Intestinal microflora and metabolic diseases, *Diabetes and Metabolism*, 35, 262–272.
- Sernikli, C., 2015, Karadut (*Morus nigra*) suyunda toplam fenolik madde ve suda çözünen vitaminlerin ısı parçalanma kinetiği, Yüksek Lisans, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tezi Pamukkale Üniversitesi.
- Sertsever, A. ve Gök, V., 2003, Doğal Antioksidanların Biyoaralığı, 3. *Gıda Mühendisliği Kongresi*, Ankara, 2-4 Ekim, 83-98.
- Shah, N.P. 2007. Functional cultures and health benefits, *International journal of Dairy*, 17, 1262–1277.
- Shen, L., Su, G., Wang, X., Du, Q. and Wang, K. 2010. Endogenous and exogenous enzymolysis of vegetable-sourced glucosinolates and influencing factors, *Food Chemistry*, 119, 987-994.
- Shinoda, T., Kusuda, D., Ishida, Y., Ikeda, N., Kaneko, K. and Masuda, O. 2001. Survival of *Lactobacillus helveticus* strain CP53 in the human gastrointestinal tract, *Letters in Applied Microbiology*, 32, 108-113.
- Short, C. 1999. The Probiotic Century Historical and Current Perspective, *Trend Food Science and Technology*, 10411-417.
- Silinsin, M. 2016, “*Inula graveolens* L. desf. bitki türüne ait su ve etanol ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin değişik *in vitro* metotlar ile belirlenmesi,” Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Muş Alparslan Üniversitesi, 13-18.
- Singh, V.P., Sharma, J., Babu, S. and Singla, A. 2013. Role of probiotics in health and disease, A review, *Journal of Pakistan Medical Association*, 253-257.
- Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G., 1986, *Bergey's manual of systematic bacteriology*, *Williams and Wilkins*, London.

- 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, *MEJAS*, 5 (1), 10–18.
- Stiles, M.E. and Holzapfel, W.H. 1997, Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy, *International Journal of Food Microbiology*, 36, 1-29.
- Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Sorrentino, E., Grazia, L., Pacifino, F. and Coppola, R. 2005. Bile salt and acid tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolates from Parmigiano Reggiano cheese, *Fems Microbiology Letters*, 244, 129-137.
- Sung-Mee, L. and Dong-Soon, I. 2009. Screening and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from Korean fermented foods, *Journal of Microbiology Biotechnology*, 19 (2), 178–186.
- Suo, H., Zhao, X., Qian, Y., Sun, P., Zhu, K., Li, J. and Sun, B. 2016. *Lactobacillus fermentum* Suo Attenuates HCl/ethanol induced gastric injury in mice through its antioxidant effects, *Nutrients*, 8 (3), 155.
- Tagg, J. R., Dajani, A. S. and Wannamaker, L. W. 1976. Bacteriocins of gram positive bacteria, *Bacteriology Review*, 40, 722-756.
- Tamime, A.Y. and Marshall, V.M.E. 1997. Microbiology and technology of reference strains from human origin and probiotic product isolates of Bifidobacterium, *Journal of dairy science*, 90 (8), 3572-3578.
- Tangüler, H., 2010, Şalgam suyu üretiminde etkili olan laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve şalgam suyu üretim tekniğinin geliştirilmesi, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi*.
- Tannock, G.W. 1997 Probiotic Properties of lactic acid bacteria: Plenty of Scope for fundamental, *Tibtech*, 15, 270-274.
- Tannock, G.W. 1999. Identification of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*, *Current Issues Molecular Biology*, 1, 53–64.
- Tannock, G.W., Munro, K., Harsmen, H.J., Welling, G.W., Smat, J. and Gopal, P.K. 2000. Analysis of the fecal microflora of human subjects consuming a product containing *Lactobacillus rhamnosus* DR20, *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 2578-2588.
- Tannock, G.W., Tilsala-Timisjarvi, A., Rodtong, S., et al. 1999. Identification of *Lactobacillus* isolates from the gastrointestinal tract, silage, and yoghurt by 16S-23SrRNA gene intergenic spacer region sequence comparisons, *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 4264-4267.
- Tekinşen, O.C ve Atasever, M., 1994, Süt ürünleri üretiminde starter kültür, *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitisi*, Konya, 150.
- Tempel, T. and Jakobsen, M. 2000. The technological characteristics of *Debaryomyces hansenii* and *Yarrowia lipolytica* and their potential as starter cultures for roduction of danablu, *International Dairy Journal*, 10, 263-270.
- Teneva, D., Denkova, R., Goranov, B. and Denkova, Z. 2015. Probiotic properties of *lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* strains isolated from salad dressings, *Scientificiation Of University Of Food Technologies*, 340-346.
- Timmerman, H.M., Koning, C.J.M., Mulder, L., Rombouts, F.M and Beynen, A.C. 2004. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics-a comparison of functionality and efficacy, *International Journal of Food Microbiology*, 219-233.
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Elmacı, S., Arslanköz, N., and Özçelik, F. 2015. In vitro properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles, *BioMed Research International*, 8, 315-819

- Tolonen, M., Rajaniemi, S., Pihlava, J.-M., Johansson, T., Saris, P.E.J. and Ryhänen, E. L. 2004. Formation of nisin, plant-derived biomolecules and antimicrobial activity in starter culture fermentations of sauerkraut, *Food Microbiology* 21 (2), 167–179.
- Trias, R., Bañeras, L., Montesinos, E. and Badosa, E. 2008. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi, *International FFMicrobiology*, 11, 231-236.
- Tsai, H.J., and Sandine, W.E. 1987. Conjugal transfer of nisin plasmid genes from *Streptococcus lactis* 7962 to *Leuconostoc dextranicum* 18 1, *Applied and Environmental Microbiology*, 53, 352-357.
- Turantaş, F., 1999, Fermantasyonda rol oynayan mikroorganizmalar, *Gıda Mikrobiyolojisi* (Ünlütürk, A., Turantaş, F. ed.), İkinci Baskı, İzmir. 425-473.
- Turantaş, F., ve Ünlütürk, A., 1998, Gıda mikrobiyolojisi, *Mengi Tan Basımevi*, Çınarlı-İzmir, 433-453.
- Turhan, İ., 2012, Kaşar peyniri üretimi için starter kültür izolasyonu ve izolatların FTIR spektroskopisi ile tanısının yapılması, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Süleyman Demirel Üniversitesi.
- Turner, L. 2012. Balancing your body's pH for better health, *Alternative Medicine*, 53-55.
- Ugan, Y. 2008, Sıçanlarda D-Galaktozamin ile Oluşturulan Hepatitte Kefir'in Koruyucu Etkisi, Uzmanlık Tezi, *Tıp Fköltesi*, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 37-40.
- Uymaz B., 2009, Probiyotik özellik taşıyan gıda ve insan kaynaklı laktobasillerin izolasyonu tanımlanması ve bakteriyosin üretim yeteneklerinin karakterizasyonu, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü* Ankara Üniversitesi, Ankara, 80-89.
- Vasiljevic, T. and Shah, N.P. 2008. Probiotics-from Metchnikoff to bioactives, *Journal of International Dairy*, 18, 714-728.
- Velioglu, S., 2000, Doğal antioksidanların insan sağlığına etkileri, *GIDA KONGRESİ*, 25, 167-176.
- Vergin, F., 1954. Anti- und Probiotika, *Hippokrates*, 25, 116-119.
- Vinderola, C.G. and Reinheimer, J.A. 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria comparative 'in vitro' study of probiotic characteristic and biological barrier resistance, *Food Research International*, 36, 895-904.
- Vinderola, C.G., Prosello, W., Ghiberto, D. and Reinheimer, J.A. 2000. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian Fresco cheese, *Journal of Dairy Science*, 83 (9), 1905-1911.
- Wang, D., Liu, W., Ren, Y., De, L., Zhang, D., Yang, Y., Menghe, B., 2016. Isolation and identification of lactic acid bacteria from traditional dairy products in Baotou and Bayannur of Midwestern Inner Mongolia and q-PCR analysis of predominant species, *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36 (4), 499-507.
- Wang, J., Zhao, X., Tian, Z., Yang, Y. and Yang, Z. 2015. Characterization of an Exopolysaccharide Produced by *Lactobacillus plantarum* YW11 Isolated from Tibet Kefir, *Carbohydrate Polymers*, 125, 16–25.
- Wang, K., Niua, M., Wua, Y., Zhua, R., Zhaoa, J., Lua, B. and Niua, G. 2019. Physicochemical characterization and antioxidant activity of cell-bound exopolysaccharides from *Lactobacillus fermentum* s1 obtained by two extraction methods, *Process Biochemistry*, 85, 195–205.
- Wang, L., Zhang, J., Guo, Z., Kwok, L., Ma, C., Zhang, W. and Zhang, H. 2014. Effect of oral consumption of probiotic *Lactobacillus plantarum* P-8 on fecal microbiota, SIgA, SCFAs, and TBAs of adults of different ages, *Nutrition*, 30 (7), 776-783.

- Wang, S.C., Chang, C.K., Chan, S.C., Shieh, J.S., Chiu, C.K. and Duh, P. 2014. Effects of lactic acid bacteria isolated from fermented mustard on lowering cholesterol, *Asian Pacific Journal Trop Biomedical*, 4 (7), 523-528.
- Wang, Y., Ahmed, Z., Feng, W., Li, C. and Song, S. 2008. Physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir, *International Journal Biology Macromol*, 43 (3), 283–288.
- Wang, Y., Gänzle, M. G. and Schwab, C. 2010. Exopolysaccharide synthesized by *Lactobacillus reuteri* decreases the ability of enterotoxigenic *E.coli* to bind to porcine erythrocytes, *Applied and environmental microbiology*, 76 (14), 4863-4866.
- Wang, Y., Liu, Y., Sidhu, A., Ma, Z., McClain, C. and Feng, W. 2012. *Lactobacillus rhamnosus* GG culture supernatant ameliorates acute alcohol-induced intestinal permeability and liver injury, *Am Journal Physiol Gastrointest Liver Physiology*, 303 (1), 32-41.
- Wang, Y., Xu, N., Xi, A., Ahmed, Z., Zhang, B. and Bai, X. 2009. Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84 (2), 341-347.
- Wang, Z. H., Gao, Q. Y., and Fang, J. Y. 2013. Meta-analysis of the efficacy and safety of *Lactobacillus*-containing and Bifidobacterium containing probiotic compound preparation in *Helicobacter pylori* eradication therapy, *Journal of clinical gastroenterology*, 47 (1), 25-32.
- Xiao, K., 2014, Bile Resistance In *Lactobacillus rhamnosus* GG: Stability and Mechanisms, Master's Thesis, Biotechnology, University Of Helsinki MBIOT 72.
- Xie L., Miller L. M., Chatterjee C., Averin O., Kelleher N. L. and Donk W.A., 2004. *Lactacin* 481: *in vitro* reconstitution of lantibiotic synthetase activity, *Science*, 303, 679.
- Xiraphi, N., Georgalaki, M., Rantsiou, K., Cocolin, L., Tsakalidou, E. and Drosinos, E.H. 2008. Purification and characterization of bacteriocin by *Leuconostoc mesenteroides* E131, *Meat Science*, 80, 194-203
- Yadav, R., Puniya, A.K., Shukla, P. 2016. Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* RYPR1 from an indigenous fermented beverage Raabadi, *Frontiers in Microbiology*, 7, 1683.
- Yagi, K. 1984. Assay of lipid peroxidation in blood plasma or serum, *Methods in enzymology*, 105, 328-331.
- Yagi, K. 1994. Lipid peroxidase and related radicals in clinical medicine /Free Radicals in diagnostic medicine, Edi: D. Armstrong, *Plenum Press*, New York of U.S, 17-27.
- Yang, X., Hang, X., Zhang, M., Liu, X. and Yang, H. 2015. Relationship between acid tolerance and cell membrane in *Bifidobacterium*, revealed by comparative analysis of acid resistant derivatives and their parental strains grown in medium with and without Tween 80, *Applied microbiology and biotechnology*, 99 (12), 5227-5236.
- Yılmaz, N. 2018, “Muş ilindeki *Verbascum insulare* ve *Inula helenium* subsp. *pseudohelenium* bitkilerinden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri ile fenolik içerikleri” Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Muş Alparslan Üniversitesi, 14-20.
- Yılmaz, R. ve Temiz, A. 2003. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 'un klasik ve moleküler yöntemler

- kullanılarak tanımlanması ve karakterizasyonu, *Orlab On-Line Mikrobiology Letters*, 1, 19-42.
- Yuksekdag, Z. and Aslim, B. 2008. Influence of different carbon sources on exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (B3, G12) and *Streptococcus thermophilus* (W22), *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51 (3), 581-585.
- Zammaretti, P. S. and Ubbink, J. 2003. The cell wall of lactic acid bacteria: surface constituents and macromolecular conformations, *Biophysical Journal*, 85, 4076-4092.
- Zarate, G., Morata De Ambrosini, V. I., Chaia, A. P. and González, N.S. 2002. Some factors affecting the adherence of *Propionibacterium acidipropionici* CRL 1198 to intestinal epithelial cells, *Canadian Journal of Microbiology*, 48, 449-457.
- Zhang, B., Wang, Y., Tan, Y., Li, Z., Jiao, Z. and Huang, Q. 2016. Screening of probiotic activities of *Lactobacilli* strains isolated from traditional Tibetan Qula, a raw yak milk cheese, *Asian Australas. Journal of Animal Science*, 29 (10), 1490-1499.
- Zhang, L., Liu, C., Li, D., Zhao, Y., Zhang, X., Zeng, X., Yang, Z. and Li, S. 2013. Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88, *International Journal of Biological Macromolecules*, 54, 270–275.
- Zheng, H., Chen, Y., Zhang, J., Wang, L., Jin, Z., Huang, H. 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.
- Zoetendal, E.G., Vaughan, E.E. and Vos, M.W. 2006. A microbial world within us, *Molecular Microbiology*, 59 (6), 1639–1650.
- Zoral, S., 2013, İnsan Kaynaklı *Lactobacillus* spp. Suşlarının Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ahi Evran Üniversitesi, Kırşehir, 83.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Fecri ÖZKAN

Uyruğu : T.C.

Doğum Yeri ve Tarihi: Patnos / 1988

Telefon : 0542 890 06 02

e-mail : fecrizozkan@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise:	Patnos Anadolu Lisesi- Patnos/AĞRI	2006
Lisans:	Muş Alparslan Üniversitesi-MUŞ	2013
Yüksek Lisans:	Muş Alparslan Üniversitesi-MUŞ	Halen Devam Ediyor

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2013/2014	Özel Hastaneler	Biyolog
2014/2019	M.E.B	Biyoloji Öğretmeni
2019/...	Özel Eğitim Kursu	Biyoloji Öğretmeni
2019/...	Halk Eğitim Merkezi	Uzman Öğretici

UZMANLIK ALANI

Uzman Öğretici/Öğretmen

YABANCI DİLLER

İngilizce

SERTİFİKALAR

- * Kişisel Gelişim Sertifikası
- * Arıcılık Sertifikası
- *Liderlik Okulu Katılım Belgesi
- * Bilgisayar Sertifikası
- *Besicilik Sertifikası
- * İdari Taktir Belgesi (T.S.K)