



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Lactobacillus plantarum HP1'İN PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ

BAHAREH REZAEIAN TABRIZI

Eylül 2021



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

*LACTOBACİLLUS PLANTARUM HP1 'İN PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ*

BAHAREH REZAEIAN TABRIZI

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM

Eylül 2021

Bahareh REZAEIAN TABRIZI tarafından **Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM** danışmanlığında hazırlanan “*Lactobacillus plantarum* HP1’in Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

: Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Ayşe ÖZBEY, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye

: Dr. Öğr. Üyesi Nilgün ÖNCÜL, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/....../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/....../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...
Prof. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Bahareh REZAEIAN TABRIZI



ÖZET

Lactobacillus plantarum HP1'İN PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

REZAEIAN TABRIZI, Bahareh
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM

Eylül 2021, 77 sayfa

Bu çalışmanın amacı, *Lactobacillus plantarum* HP1 bakterisinin *in vitro* koşullarda probiyotik özellikleri belirleyerek probiyotik bakteri olarak kullanılabilme potansiyelini ortaya koymaktır. Bu amaçla *Lb. plantarum* HP1'in düşük asitliğe, safra tuzuna, pepsin, pankreatin, yapay mide sıvısı, fenol ve antibiyotiklere karşı direnci belirlenmiştir. Ayrıca; hemolitik aktivite, antimikrobiyal aktivite, otoaggregasyon, koaggregasyon ve hidrofobisite özellikleri de tespit edilmiştir.

Araştırma sonucunda, *Lb. plantarum* HP1'in hemoliz negatif, düşük asitliğe, safra tuzuna, pepsin, pankreatin, yapay mide sıvısı ve fenole dayanıklı olduğu ve test edilen 11 antibiyotikten sadece birine duyarlı olduğu, otoaggregasyon, koaggregasyon ve hidrofobisite özelliklerini iyi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca patojen bakterilerden *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* ve *L. ivanovii*'ya karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, *Lb. plantarum* HP1 bakterisinin gıda endüstrisinde probiyotik olarak kullanma potansiyeline sahip olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: *Lactobacillus plantarum* HP1, probiyotik, hemolitik aktivite, safra tuzu, pepsin, pankreatin, fenol, otoaggregasyon, koaggregasyon, hidrofobisite, antimikrobiyal aktivite

SUMMARY

DETERMINATION OF PROBIOTIC PROPERTIES OF *Lactobacillus plantarum* HP1

REZAEIAN TABRIZI, Bahareh
Nigde Ömer Halisdemir University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor : Professor Dr. Zeliha YILDIRIM

September 2021, 77 pages

The aim of this study was to determine the probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* HP1 bacterium in vitro condition and to reveal its potential to be used as a probiotic bacterium. For this purpose, *Lb. plantarum* HP1's resistance to low acidity, bile salt, pepsin, pancreatin, artificial gastric juice, phenol and antibiotics was determined. In addition, hemolytic activity, antimicrobial activity, autoaggregation, coaggregation and hydrophobicity properties were also determined.

As a result of the research, *Lb. plantarum* HP1 was hemolysis negative, resistant to low acidity, bile salt, pepsin, pancreatin, artificial gastric juice and phenol, and was sensitive to only one of the 11 tested antibiotics, with good autoaggregation, coaggregation and hydrophobicity properties. It has also been observed to have inhibitory activity against pathogenic bacteria *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* and *Listeria ivanovii*. As a result, *Lb. plantarum* HP1 bacterium has the potential to be used as a probiotic in the food industry.

Keywords: *Lactobacillus plantarum* HP1, probiotic, hemolytic activity, bile salt, pepsin, pancreatin, phenol, autoaggregation, coaggregation, hydrophobicity, antimicrobial activity.

ÖN SÖZ

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bilgi ve önerileri ile bana yol gösteren, tecrübeleriyle bana ışık tutan, yardımcı olan, sunduğu imkânlarla en temel bilgileri edinmemi sağlayan ve akademik gelişimimde büyük emeği olan yardım ve desteğini her zaman hissettiğim değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM'a

Deney aşamasında çalışmamın gerçekleştirmem için laboratuvar imkânlarından yararlanmama izin veren birlikte çalışma imkânı bulduğum, tecrübeleriyle yanımda olan, yönlendiren, çalışmalarımdaya benimle gece gündüz çalışan, destek olan değerli hocam Dr. Tuba SAKİN'e

Eğitimim için çaba harcayan, beni bugünlere getiren, yüksek lisans tezim boyunca bana sabır gösteren, her şekilde yanımda olan annem Mansoureh BAYRABABADİ ve babam Rouhollah REZAEIAN TABRIZI'a,

Yaşam kaynağım, en kötü günümde bile beni güldürmeyi başaran, maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen canım kardeşim Amin REZAEIAN TABRIZI'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca yanımda olan bana manevi desteklerini eksik etmeyen Nida NUR URGANCI'a ve tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü'nce desteklenmiştir. Proje No: TGT 2021/1-LÜTEP.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGE ve KISALTMALAR.....	xi
BÖLÜM I.....	1
GİRİŞ	1
BÖLÜM II	5
KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
2.1 Probiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi	5
2.2 Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar.....	7
2.3 Probiyotik Mikroorganizmaların Genel Özellikleri.....	8
BÖLÜM III.....	27
MATERYAL VE METOT	27
3.1 Bakteriler ve Besi Ortamları	27
3.2 <i>Lactobacillus plantarum</i> HP1'in Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	27
3.2.1 Hemolitik aktivitesinin belirlenmesi.....	27
3.2.2 Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi	28
3.2.3 Düşük pH'ya direnç özelliğinin belirlenmesi	28
3.2.4 Safra tuzuna karşı direnç özelliğinin belirlenmesi.....	29
3.2.5 Pepsine karşı direnç özelliğinin belirlenmesi	29
3.2.6 Pankreatine karşı direnç özelliğinin belirlenmesi	30
3.2.7 Yapay mide sıvısına direncinin belirlenmesi.....	30
3.2.8 Fenole karşı duyarlılığın belirlenmesi	31
3.2.9 Otoagregasyon aktivitesi	31
3.2.10 Patojen bakterilerle koagregasyon özelliğinin belirlenmesi	31
3.2.11 Hidrokarbonlara Tutunma Yeteneği	32
3.2.12 Antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi	33
3. 3 İstatiksel Analiz	34
BÖLÜM IV	35
BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4.1 <i>Lb. plantarum</i> HP1'in hemoliz aktivitesi	35

4.2 Antibiyotiğe Duyarlılık.....	36
4.3 Aside Dayanıklılık	37
4.4 Safra Tuzunun <i>Lb. plantarum</i> HP1'in canlılığı üzerine etkisi.....	39
4.5 Pepsinin <i>Lb. plantarum</i> HP1'in canlılığı üzerine etkisi.....	41
4.6 Pankreatinin <i>Lb. plantarum</i> HP1'in canlılığı üzerine etkisi	42
4.7 Yapay mide sıvısına karşı direnç özelliğinin belirlenmesi	42
4.8 Fenolün <i>Lb. plantarum</i> HP1'in canlılığı üzerine etkisi	43
4.9 <i>Lb. plantarum</i> HP1'in otoagregasyon ve koagregasyon özelliği.....	45
4.10 <i>Lb. plantarum</i> HP1'in hidrokarbonlara tutunma özellikleri	47
4.11 <i>Lb. plantarum</i> HP1'in antimikrobiyal aktivitesi.....	48
BÖLÜM V	52
SONUÇLAR.....	52
KAYNAKLAR	54
ÖZ GEÇMİŞ.....	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Probiyotik olarak bilinen mikroorganizmalar.....	7
Çizelge 2.2. Probiyotik bakterilerin başlıca özellikleri.....	10
Çizelge 2.3. Probiyotiklerin insanlarda kullanım kriterleri	11
Çizelge 2.4. <i>Lb. plantarum</i> suşlarından türetilen ticari olarak temin edilebilen probiyotik ürünler	21
Çizelge 4.1. <i>Lb. plantarum</i> HP1'in antibiyotiklere direnç özelliği	36
Çizelge 4.2. Düşük pH değerlerinin <i>Lb. plantarum</i> HP1'in canlılığı üzerine etkisi.....	39
Çizelge 4.3. Safra tuzunun <i>Lb. plantarum</i> HP1'in canlılığı üzerine etkisi	40
Çizelge 4.4. Pepsin içeren gastrik ortamda <i>Lb. plantarum</i> HP1 direnci.....	41
Çizelge 4.5. Pankreatinin <i>Lb. plantarum</i> HP1'in canlılığı üzerine etkisi	42
Çizelge 4.6. <i>Lb. plantarum</i> HP1'in yapay mide sıvısına karşı direnci	44
Çizelge 4.7. <i>Lb. plantarum</i> HP1'in fenole karşı direnci	44
Çizelge 4.8. <i>Lb. plantarum</i> HP1'in otoagregasyon özelliği	46
Çizelge 4.9. <i>Lb. plantarum</i> HP1'in 37°C'de 5 saat inkübasyon işlemi sonunda koagregasyon özelliği	47
Çizelge 4.10. <i>Lb. plantarum</i> HP1'in farklı hidrokarbonlara karşı hidrofobite yeteneği	48
Çizelge 4.11. <i>Lb. plantarum</i> HP1'nin antimikrobiyal spektrumu	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Probiyotik bakterilerin insan sağlığı üzerindeki genel faydaları.....	12
Şekil 4.1. <i>Lb. plantarum</i> HP1'in hemoliz aktivite testi	355



SİMGE ve KISALTMALAR

Simgeler

Açıklama

µL	Mikrolitre
kob/mL veya g	Mililitrede veya gramda koloni oluşturan birimi
Da	Dalton
<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>

Kısaltmalar

GIT	Gastrointestinal Tract
BSH	Bile Salt Hydrolase
FAO	Food and Agriculture Organisation
GRAS	Generally Recognised as Safe
IgA	Immunoglobulin A
IgM	Immunoglobulin M
Kob	Koloni Oluşturan Birim
LAB	Laktik Asit Bakterileri
MRS	De-Mann Rogoso Sharp
Th1	Type-I helper
Th2	Type-II helper
WHO	World Health Organisation
EPS	Ekzopolisakkarit

BÖLÜM I

GİRİŞ

Gıda kaynaklı hastalıklar, dünyadaki en kritik halk sağlığı sorunlarından biri olarak kabul edilebilir (CDC 2015). Bağırsak, gıdalar yoluyla bulaşan en önemli bakteriyel patojenlerin ana kaynağı durumundadır. Bağırsak sisteminde bulunan karmaşık mikrobiyal topluluklar, metabolik tepkilerin, bağışıklık sisteminin ve insan sağlığının modülatörleri olarak çok önemli roller oynarlar. İnsan sağlığının birçok yönünün bağırsak mikrobiyotasından etkilendiği birçok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir, ancak etki mekanizmalarına ilişkin bilgiler hala eksiktir (Valdes vd., 2018; Carding vd., 2015; Danneskiold-Samsøe vd., 2019). Bununla birlikte, çok sayıda çalışma, bağırsak mikrobiyotasının enerji homeostazında önemli bir rol oynadığı ve bu nedenle kilo kaybını veya alımını ve obezite ile ilişkili bozuklukları modüle edebileceğini (Rosenbaum, Knight ve Leibel, 2015), bağırsak mikrobiyotası ve bakteriyel metabolitlerin ayrıca kan basıncının düzenlenmesi (Marques vd., 2018), kronik böbrek hastalığı (Sircana vd., 2018) ve kardiyovasküler hastalık ile ilişkili kritik faktörler ile ilişkilendirilmiştir. Bunlara ilave olarak, bağırsak mikrobiyal bileşimi veya işlevindeki değişiklikler, yaşa bağlı sağlık bozukluğu (Clark ve Walker, 2018; O'Toole ve Jeffery, 2018), konakçı bağışıklık durumundaki değişiklikler (Rooks ve Garrett, 2016) ve dolayısıyla inflamatuvar bağırsak hastalığı, alerji ve astım ile ilişkilendirilmiştir (Carding vd., 2015).

Yaş, diyet, stres, hastalıklar ve ilaçlar gibi faktörler, yaygın olarak “disbiyoz” olarak bilinen bağırsak mikrobiyotasının fiziksel veya kimyasal bileşiminde doğrudan değişiklikler yapar. Bu nedenle bağırsağın doğru işlevini sürdürebilmesi için mikrobiyota arasındaki dengenin korunması gerekir. Kanıtlar, bağırsak mikrobiyotasının bağırsak sağlığı için çok önemli bir faktör olduğunu ve mikrobiyota bileşimine herhangi bir müdahalenin gastrointestinal rahatsızlık riski ile ilişkili olduğunu açıklığa kavuşturmuştur (Wan, Forsythe vd. 2018; Wan, Ling vd. 2018). Hastalıklarla başa çıkmak ve bağırsak mikrobiyotasının dengesinin geri kazanılması için yeni stratejiler düşünülmektedir. Bu stratejilerden biri, probiyotiklerin ya takviye olarak ya da gıda ürünleri yoluyla tüketilmesidir (Esaiassen vd., 2018; de Almada vd., 2015; Danneskiold-Samsøe vd., 2019).

Besinlerin sadece enerji ve besin kaynağı olmadığı ve Hipokrat'ın "Gıda ilacınız, ilacınız gıdanız olsun" sözünün öneminin son yıllarda anlaşılmasıyla fonksiyonel gıdalar kavramı geliştirilmiş ve ilk defa Japonya'da 1980'lerde ortaya çıkmıştır. Bir gıda, yeterli beslenme etkilerinin ötesinde vücuttaki bir veya daha fazla hedef işlevi olumlu yönde etkilediğini tatmin edici bir şekilde gösteriyorsa, fonksiyonel olarak kabul edilebilir. Kanada Sağlık örgütü, fonksiyonel gıdaları geleneksel gıdalara benzeyen ancak fizyolojik faydaları kanıtlanmış ürünler olarak tanımlar (De Sousa vd., 2011).

Günümüzde fonksiyonel gıdalardan probiyotik ürünlerin tüketimi her geçen gün artmakta ve gıda pazarının büyük payını oluşturmaktadır. Avrupa ülkelerinde probiyotik süt ürünlerinin en çok tüketilen ürünler arasında ikinci sırada yer aldığı bildirilmektedir (Menrad 2003; Saarela 2007).

'Probiyotik' terimi Yunanca "Pro" ve "biota" olmak üzere iki kelimedenden oluşmakta ve "yaşam için" anlamına gelmektedir. Probiyotikler, insan sağlığı üzerine yararlı mikroorganizmalar olarak bilinmektedir. Besinlerle birlikte veya ayrı olarak alınan, mukozal ve sistemik immüniteyi düzenleyerek, bağırsaklarda besinsel ve mikrobiyal dengeyi sağlayarak konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen mikroorganizmalara "probiyotik" denilmektedir (Güzel-Seydim vd., 2016; Sanders, 2003; Gibson ve Fuller, 2000). FAO/WHO (2002), probiyotikleri "yeterli sayıda alındıklarında konakçıya fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlamaktadır. Yüzyıllardır probiyotikler fermente süt ürünleri (yoğurt, kefir vs.) aracılığıyla insan beslenmesinde yerini almıştır. Probiyotik mikroorganizmalar ürettikleri maddeler yardımıyla gıdaların sindirimine ve zararlı mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların önlenmesine yardımcı olarak doğal floranın dengesini korumaktadır. Bu özelliklerinden dolayı son yıllarda bu faydalı bakteriler, yoğurt gibi fermente süt ürünlerine eklenerek, probiyotik ürün olarak piyasaya sunulmaktadır (Sanders, 2003).

Probiyotik mikroorganizmaların taşınması gereken önemli özellikler; tüketici sağlığı üzerine olumsuz etki göstermemeli, dolayısıyla patojen olmamalı ve toksik bileşikler üretmemeli, sindirim sistemindeki mide asitliğinin, pankreatik enzimlerin ve safra tuzlarının neden olduğu zorlu koşullardan etkilenmeden geçerek kalın bağırsağa ulaşabilmeli ve burada bağırsak mukozasına tutunarak kolonize olabilmelidir. Probiyotiklerin bağırsağa ulaştıktan sonra peristaltik hareketler ile bağırsaktan

atılmamaları için bağırsak epitel hücrelerine tutunması gerekmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların sahip olması gereken diğer özellikler; bağırsak sistemindeki normal flora ile rekabet edebilmeli, bağırsak mikroflorasını stabilize edebilmeli, patojenlere karşı antimikrobiyal bileşikler oluşturabilmeli, antibiyotiklere dirençli olmalı ve konukçu üzerindeki olumlu etkilerini çok kısa sürede gösterebilmeli (birkaç veya 1 haftadan kısa) şeklinde sıralanabilir. Ayrıca teknolojik özellikler açısından, çok suşlu preparatların hazırlanmasına uygun olmalı, yüksek canlılık oranına ve iyi depolama ömrüne sahip olmalıdır (Güzel-Seydim vd., 2016; Pandey vd., 2015; Ouwehand ve Röytiö, 2015; Syngai vd., 2016).

Çok sayıda çalışma, probiyotiklerin iltihaplı bağırsak hastalığı, irritabl bağırsak sendromu, kabızlık, antibiyotik ilişkili ve akut ishal, hipertansiyon ve diyabet semptomlarını önleyebileceğini veya hafifletebileceğini göstermiştir (Weichselbaum, 2009). Probiyotikleri içeren fonksiyonel gıdalar, antihipertansiyon, antikanser ve hipoglisemik özellikler ile antioksidan ve immünomodülatör gibi çeşitli terapötik faydalara sahiptir (Clare ve Swaisgood, 2000; Khan, 2014; Parvez vd. 2006). Genel olarak probiyotikler mide-bağırsak hastalıklarının tedavisinde ve önlenmesinde faydalıdır; ancak amaca uygun bir probiyotik seçmeden önce, hastalığın türü ve probiyotik türü (suşu) dikkate alınması gereken en önemli faktörlerdir. Bu nedenle sağlığı geliştirici faydaları olan yeni probiyotik suşların izole edilmesi ve probiyotik özelliklerinin ortaya konulması hem tıbbi hem de endüstriyel açıdan önemlidir. Bifidobakterilerle birlikte laktik asit bakterileri (LAB), son yıllarda en çok araştırılan probiyotiklerdir (Khaneghah ve Fakhri, 2019).

Yeni LAB izolatlarını probiyotik olarak kabul etmek için asit ve safra koşullarına tolerans, kolesterol düşürme potansiyeli, safra tuzunu hidrolize etme yeteneği, hemolitik olmama, antimikrobiyal özelliklere sahip olma ve fermentasyon sürecinde hayatta kalabilme gibi çeşitli kriterler kullanılmaktadır (Vijaya-Kumar vd., 2015). Genel olarak, potansiyel probiyotikler, bu mikroorganizmaların kullanıldığı gıda matrislerinden izole edilir.

Lactobacillus cinsi, insan ve hayvanların normal mukozal mikrobiyotasına aittir (Lahtinen vd., 2010). Bu bakteri grubu, gastrointestinal sistemin stabilitesini korumak, bağırsak enfeksiyonlarını önlemek ve genel olarak bağırsak sağlığını desteklemek için

önemlidir (Gu R.X. vd., 2008). Bu tez projesinin amacı biyokimyasal ve moleküller tekniklerle tanımlanan ve bozadan izole edilen *Lb. plantarum* HP1'in probiyotik özelliklerini ortaya koymaktır.



BÖLÜM II

KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Probiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi

Fermente gıdaların besinsel sağlık yararları çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Ancak, geçen yüzyılın başında Elie Metchnikoff, canlı mikroorganizmaların yutulmasının bağırsak mikroflorası üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu ve böylece insan sağlığını ve uzun ömürlülüğünü iyileştirdiğini varsaymıştır. O zamandan beri, insanların veya hayvanların sağlık durumunu iyileştirmek için canlı mikroorganizmaların yardımıyla bağırsak florasını modüle etmek için çok sayıda girişimde bulunulmuştur. Bu canlı ve faydalı mikroorganizmalar, artık ya kapsüller ve sachetler halinde saf biçimde ya da gıda formülasyonlarına dahil edilmiş olarak 'probiyotikler' adı altında ticari olarak pazarlanmaktadır (Scott vd., 2017).

Probiyotik kavramı olarak ilk kez 19. yüzyılın sonlarına doğru ortaya çıkmıştır ve Yunanca iki kelime ‘pro’ ve ‘biota’dan türetilmiştir ve “yaşam için” anlamlarına gelmektedir. Bu kavramı ilk kez 1908 yılında Nobel ödüllü Rus bilim adamı Élie Metchnikoff tanıtmıştır. Metchnikoff, Kafkas ve Bulgar köylülerinin uzun ömürlü olduklarını fark etmiş ve bu durumu köylülerin çok fazla miktarda fermente süt ürünlerini tüketmelerine bağlamıştır.

Probiyotik terim olarak ilk kez 1954 yılında Ferdinand Vergin tarafından kullanılmış ve “Anti und probiotika” adlı makalesinde probiyotiklerin antibiyotik ve antimikrobiyal maddelerin tersine yaşam için yararlı olduğunu belirtmiştir. 1965 yılında Lilley ve Stillwell tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, “bir protoza tarafından salgılanan bir maddenin başka bir protozanın gelişimini teşvik ettiğini ve böylece probiyotik mikroorganizmalar tarafından üretilen maddelerin diğer mikroorganizmaların gelişmesini teşvik edici oldukları” anlamında ve “antibiyotik” teriminin karşısı olarak kullanılmıştır (Fuller, 1989; Rusch, 2002; Schrezenmier ve de Vrese, 2001; Salminen vd., 1999). Parker tarafından 1974 yılında intestinal mikroflora üzerinde yararlı etkileri olan ilave tamamlayıcı besinler olarak tanımlanmıştır.

Probiyotiklerin günümüzde en çok kabul gören tanımı 1989 yılında Roy Fuller tarafından yapılmıştır. Fuller'e göre Probiyotik, "tüketicinin intestinal florasını koruyup gelişmesine yardımcı olan canlı mikrobiyal gıda katkılarıdır" şeklindedir (Fuller, 1989). Bu tanım daha sonraları bağırsak doğal mikroflorasının özelliklerini iyileştirerek insan veya hayvanlar için yararlı olan tek veya karışık canlı kültür mikroorganizmaları şeklinde genişletilmiştir (Haveraar vd., 1992). Salminen vd. (1999) tarafından bu tanım 'insan ve hayvanların sağlığını geliştirmek için tasarlanan gıda, yem ya da besinsel katkılardaki canlı mikrobiyal preparatlar' olarak değiştirilmiştir.

Gıda ve Tarım Örgütü ve Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO)'nün tanımına göre, probiyotikler "yeterli miktarda tüketildiğinde konakçı sağlığına yararlı etkileri olan canlı mikroorganizmalardır" (FAO/WHO, 2001 ve 2002). Tarihten günümüze kadar birçok anlamda açıklanan probiyotik teriminin en çok kabul gören tanımı: "Bağırsak mikrobiyal dengeyi iyileştirerek konakçı hayvan veya insan sağlığını olumlu yönde etkileyen yararlı canlı mikrobiyal gıda katkısıdır" (Ceapa vd., 2013).

Bu tanımların dayandığı üç temel ilke; (i) mikroorganizmalar canlıdır, (ii) mikroorganizmalar ağız yoluyla alınır ve (iii) mikrobiyal dengeyi etkileyebilmesi için mikroorganizmaların bağırsağa kadar canlı olarak ulaşması gerekir (Fijan, 2014).

Probiyotiklere "biyoterapötik ajanlar" da denir. Probiyotik ile tedaviye "bakteriyel yerine koyma tedavisi", "bakteriyoterapi" ve "patojen mikroorganizmaların patojen olmayanlar ile kontrollü tedavisi" şeklinde adlandırmalar da yapılmaktadır (Mercenier vd., 2003). Probiyotikler; beslenme durumumuz üzerinde etkili oldukları gibi bağırsaklar ve bağırsak dışı (beyin ve deri gibi) vücudumuzun çeşitli bölgelerini ilgilendiren tıbbi durumlar üzerinde de etkilidir. Bu nedenle, beslenme üzerindeki etkileri belirgin probiyotikler; nütribiyotikler ve terapötik ve farmakolojik etkileri belirgin probiyotikler; farmabiyotikler olarak ifade edilebilmektedir. Bağırsak mikrobiyotasının sağlık üzerine olan etkileri konusunda bilgilerin her geçen gün artmasıyla birlikte gelecekte bağırsak mikrobiyotası bazlı sağlık yaklaşımı önem kazanacaktır. Burada nütribiyotikler sağlığımızı devam ettirmemize yardımcı olurken, farmabiyotikler önemli bir tedavi aracı olarak yerini alacaktır (Lee vd., 2018).

2.2 Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Probiyotik mikroorganizmaların en önemli grubunu laktik asit bakterileri ile bifidobakteriler oluşturmaktadır. Bunlar arasında, geleneksel kullanım süreçlerine bağlı olarak GRAS (generally recognised as safe) statüsünde olmaları, sindirim sisteminde doğal olarak bulunmaları ve sindirim ortamına uyum sağlayabilmeleri nedeniyle *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri en yaygın olarak kullanılanlarıdır. *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacterium* ve *Saccharomyces* önemli probiyotik mikroorganizmalardır (O’Sullivan, 2006; Vesterlund vd., 2007; Prado vd., 2008; Varsha ve Singh, 2014; Syngai vd., 2016). Ayrıca probiyotik ürünlerin hazırlanmasında bazı diğer bakteri cinsleri ile maya ve küf türlerinden de yararlanılmaktadır (Varsha ve Singh, 2014). Çizelge 2.1’de sık kullanılan probiyotik mikroorganizmalar verilmiştir (Rastogi vd., 2011; Kechagia vd., 2013; Syngai vd., 2016).

Çizelge 2.1. Probiyotik olarak bilinen mikroorganizmalar

Laktik Asit Bakterileri	Diğer Bakteriler	Mayalar ve Küfler
Lactobacillus <i>Lb. rhamnosus</i> , <i>Lb. cellobiosus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> , <i>Lb. lactis</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. reuteri</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. curvatus</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. johnsonii</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. salivarius</i> , <i>Lb. gasse</i> , <i>Lb. sporogenes</i> , Leuconostoc <i>L. mesenteroides</i> Lactococcus <i>L. lactis</i> subs. <i>cremoris</i> , <i>L. lactis</i> subs. <i>lactis</i> <i>L. lactis</i> subs. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i> Pediococcus <i>P. cerevisiae</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i> ,	Bifidobacterium <i>B. adolescentis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. thermophilum</i> Propionibacterium <i>P. shermanii</i> , <i>P. freudenreichii</i> Bacteriodes <i>B. capillus</i> , <i>B. suis</i> , <i>B. ruminicola</i> , <i>B. amylophilus</i> Bacillus <i>B. subtilis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. lentus</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. coagulans</i> Escherichia <i>E. coli</i> Nissle	Aspergillus <i>A. niger</i> , <i>A. oryzae</i> Saccharomyces <i>S. cerevisiae</i> , <i>S. boulardii</i> Candida <i>C. torulopsis</i>

2.3 Probiyotik Mikroorganizmaların Genel Özellikleri

Probiyotiklerin, insan ve hayvan vücudunda sağlık üzerine yararlı etkilerini gösterebilmeleri için probiyotik ürünlerde minimum konsantrasyonlarının en az 10^6 - 10^7 kob/g-mL düzeyinde olması gerektiği ve probiyotik etki için günlük yaklaşık 10^6 - 10^9 kob/g düzeyinde probiyotik alınması gerektiği belirtilmektedir (Zárate vd., 2000; FAO/WHO, 2001; Champagne ve Gardner, 2005). Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddelerinin Genel Etiketleme ve Beslenme Yönünden Etiketleme Kuralları Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ (2006)'de probiyotik terimi "besinlerle alınan ve belirli miktarda alındığında bağırsak florasını dengeleyip konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalar" şeklinde tanımlanmakta ve bir gıda maddesinin probiyotik beyanına sahip olabilmesi için raf ömrü sonuna kadar en az 1×10^6 kob/g probiyotik bakteri içermesi gereği belirtilmiştir (Anonim, 2006).

Probiyotik mikroorganizmalar, bağırsak sistemi koruyucu bariyerlerini canlı olarak geçmeleri ve bağırsak sistemi florası ile rekabet etmek zorundadırlar. Bundan dolayı probiyotiklerin bazı karakteristik özelliklere sahip olmaları gerekmektedir. Birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda probiyotik mikroorganizmaların taşımaları gereken özellikler belirlenmiştir. Bunlar (Saarela vd., 2000 ve 2002; Dunne vd., 2001; Parvez vd., 2006; Parracho vd., 2007; Singh vd. 2011; Kral vd., 2012; Fontana vd., 2013; Kechagia vd., 2013; Khan ve Naz 2013; Mitropoulou vd., 2013; Maurya vd., 2014; Syngai vd., 2016):

- a) Patojenik olmamalı ve toksin üretmemeli yani GRAS (generally regarded as safe) statüsünde olmalı,
- b) Tercihen insan orijinli olmalı,
- c) Mide asitliğine ve safra tuzuna dayanıklı olmalı,
- d) Antibiyotik dayanıklılık genlerin taşıyıcısı olmamalı,
- e) Canlı olarak bağırsak sistemine geçebilmeli,
- f) Bağırsak epitel yüzeyine tutunabilme ve kolonize olma yeteneğine sahip olmalı veya bağırsak sisteminde kısa da olsa yaşamını devam ettirebilmeli,
- g) Bağırsak mikroflorası ile rekabet edebilmeli ve bağırsak mikroflorası tarafından üretilen antimikrobiyallara karşı dayanıklı olmalı,

- h) Patojenik bakterilere karşı antagonistik etki gösterebilmesi için antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler üretebilmeli,
- i) Klinik olarak ispatlanmış bir veya daha fazla sağlık üzerine yararlı etki gösterebilmeli (örneğin antimutajenik, antikanserojenik, laktoz intoleransı gibi);
- j) Biyoaktif bileşikler (enzimler, peptitler) üretebilmeli.
- k) Gastrointestinal enfeksiyonlara karşı doğal direnci arttırmalı.
- l) Gıda alerjilerine ve patojenlere karşı savunmayı güçlendirebilmeli.
- m) Sindirimi kolaylaştırmalı.
- n) Bağışıklık sistemini uyarmalı.
- o) Agregasyon ve koagregasyon yeteneğine sahip olmalı.
- p) İnsan ve hayvan sağlığında çeşitli nedenlerden dolayı kullanılan antibiyotiklere karşı dirençli olmalı.
- q) Kolaylıkla hazırlanabilmeli ve teknolojik süreçlere (ticari üretim, işleme ve dağıtım koşullarına) dayanıklı olmalı.
- r) Yüksek canlılığa ve iyi depolama özelliğine sahip olmalı.
- s) Gıdaların duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkilememeli.

Probiyotiklerin başlıca özellikleri Çizelge 2.2 ve insanlarda kullanımı için temel kriterleri Çizelge 2.3'de verilmiştir. FAO/WHO (2002)'ya göre bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için aşağıdaki aşamalardan geçmesi gerekmektedir:

- a) Tanımlama: Probiyotik özellikleri belirlenecek mikroorganizmanın türü veya suşu net olarak bilinmelidir.
- b) Probiyotik potansiyelini ortaya koymak için *in vitro* testler: Mide asitliğine, safra tuzuna ve pankreatik enzimlere direnci, antimikrobiyal aktivite, patojenik bakterilerin tutunma özelliklerini azaltma, mukozal ve epitel dokuya tutunma ve benzeri testleri içermektedir. Ancak probiyotik özelliklerin belirlenmesi için *in vitro* testler tek başlarına yeterli değildir.
- c) Güvenlik testleri: Virülans faktörlere sahip olup olmadığının ve antibiyotik direnç yapısının belirlenmesi ve insanlar ve/veya hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarla yan etkilerinin incelenmesi ve ayrıca bazı metabolik aktivitelerinin belirlenmesi (örneğin safra tuzu dekonjugasyonu) gerekmektedir.
- d) *In vivo* testler: Bir probiyotik kültürün sağlık üzerine olan yararlı etkisinin insan ve hayvan denekler üzerinde yapılan sağlam bilimsel kanıtlarla ispatlanması gerekmektedir. İnsanlar ve/veya hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen denemelerin

doğrulanması amacıyla birden fazla laboratuvar tarafından tekrarlanması önerilmektedir.

2.4 Probiyotik Kaynakları

Yaygın probiyotik kaynakları yoğurt, kültürlü ayran, peynir ve kefiridir. Bakteriyel fermentasyon ile üretilen diğer yiyecekler Japon misosu, tempeh, sauerkraut, bira, ekşi hamur, ekmek, çikolata, kimchi, zeytin ve turşudur. Ancak bunlar arasında, probiyotikler için baskın gıda araçları yoğurt ve fermente sütlerdir çünkü her ikisi de probiyotik bakterilerin yaşaması için gerekli olan nispeten düşük bir pH ortamı sağlamaktadır. Bununla birlikte, birçok çalışma probiyotik suşların, soya bazlı ürünler, tahıllar, baklagiller, lahana, mısır, inci darı, sorgum ve benzerlerini içeren süt ürünü olmayan fermente edilmiş substratlarda da bulunduğunu göstermiştir (Anandharaj vd. 2014).

Çizelge 2.2. Probiyotik bakterilerin başlıca özellikleri (Syngai vd., 2016)

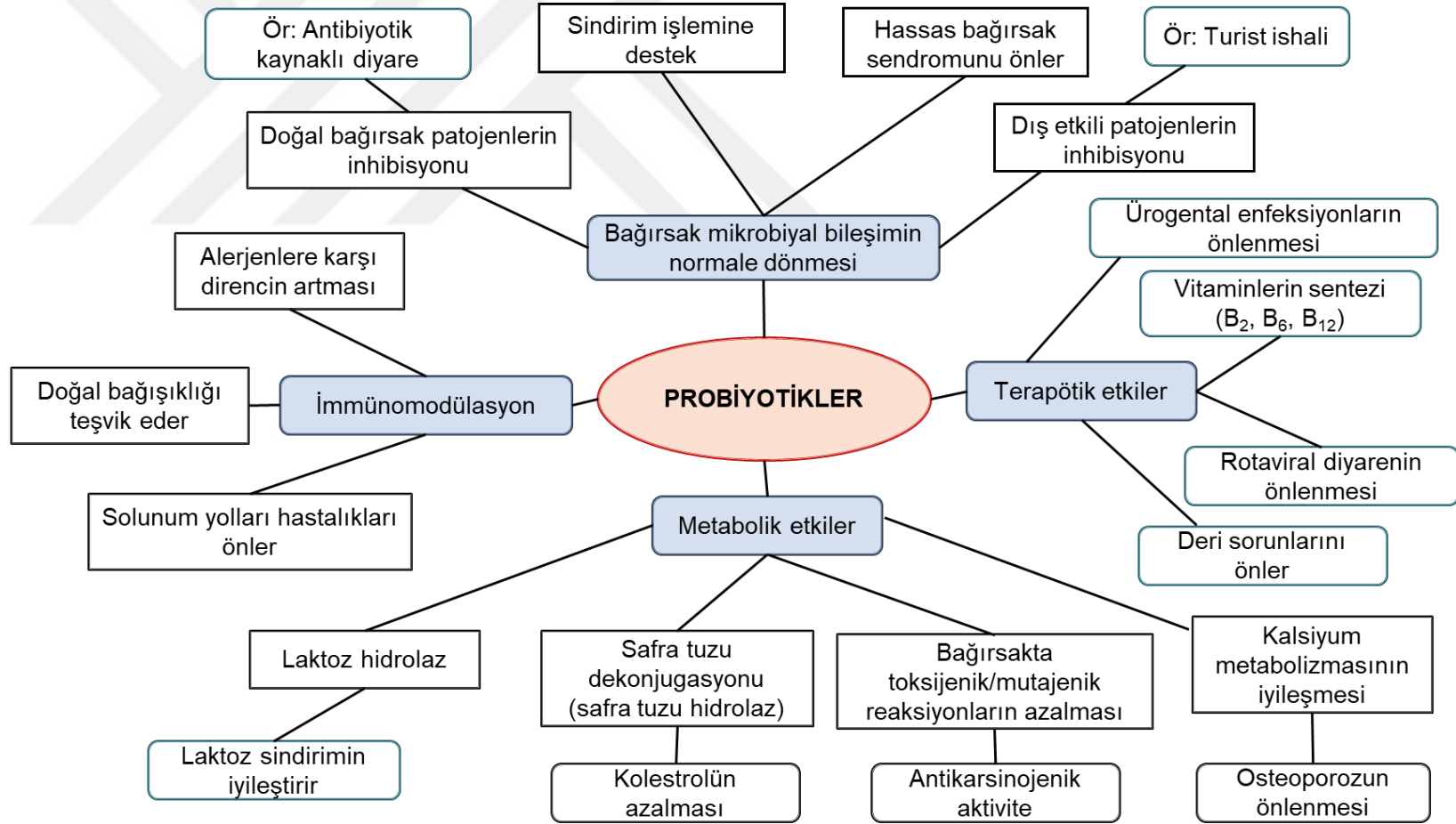
Özellik	Yararı
Pankreatik enzimlere, aside ve safra tuzuna karşı dayanıklı olmalı	• Bağırsak sistemine canlı olarak ulaşabilir.
Bağırsak mukozasına tutunmalı	• İmmunomodulasyonu teşvik eder. • Zarar görmüş mukozanın iyileşmesini teşvik eder. • Uzun kolonizasyon geçişine sahip olur.
İnsan orijinli olmalı	• Konukçu ile spesifik interaksiyona girebilir.
İspatlanmış sağlık etkileri olmalı	• Yararlı sağlık etkilerinin gerçek olduğu ortaya konulur.
Güvenli olmalı	• Tüketici için sağlık riski oluşturmaz
İyi teknolojik özelliklere sahip olmalı	• Stabilitesi iyi olmalı • İyi depolama ömrüne sahip olmalı • Büyük miktarda üretililebilmeli • Oksijen toleransı iyi olmalı. Oksijene toleransı olmayan probiyotiklerin teknolojik olarak kullanımı zor.

Çizelge 2.3. Probiyotiklerin insanlarda kullanım kriterleri (Borchers vd. 2009)

Cins, tür ve suş düzeyinde tanımlanmış olmalıdır • Tür tanımlaması için standard fenotipik analizler ve moleküler analizler (tanımlama için DNA-DNA hibridizasyon tekniği ve fenotipik testlerin doğrulanması için 16S rRNA dizi sekanızı) kullanılmalıdır. • Suş uluslararası bir kültür koleksiyonunda biriktirilmelidir.
Gıda ve klinik kullanım için güvenli olmalı • Patojenik olmamalı • Bağırsak mukozasını parçalamamalı • Aktarılabılır antibiyotik direnç genleri taşımamalı • Safra asitlerini konjuge etmemeli • Antibiyotiklere duyarlı olmalı
Bağırsağa geçişinde canlı kalabilme • Asit ve safra tuzuna toleranslı olmalı
Mukozal yüzeylere tutunabilmeli ve insan bağırsağına kolonize olabilmeli (en azından geçici olarak)
Antimikrobiyal maddeler üretebilmeli ve patojenik bakterileri antagonize edebilmeli
Klinik olarak belgelenmiş ve onaylanmış sağlık etkilerine sahip olmalı. • En az bir faz iki çalışmayla sağlık üzerine etkisi ortaya konulmalı, tercihen sonuçların başka bir merkez tarafından bağımsız olarak doğrulanmış olması gerekir.
Üretim, işleme ve depolama sırasında canlılığını koruyabilmelidir.

2.5 Probiyotiklerin İnsan Sağlığı Üzerine Olan Yararlı Etkileri

Probiyotiklerin insan sağlığı için faydalı özellikleri oldukça çeşitlidir ve yararlı etkilerini farklı ve karmaşık mekanizmalar vasıtasıyla gerçekleştirirler (Salvetti vd., 2016; Lee, 2018). İnsan ve hayvan sağlığı üzerine yararlı etkileri yerel (lokal) veya sistemik olabilir (dışsal etkiler). Genel olarak, probiyotikler, konak ile etkileşim yoluyla sağlık üzerinde yararlı etkiler göstermektedirler (Borriello vd., 2003). Probiyotik bakterilerin insan sağlığı üzerindeki genel faydaları Şekil 2.1’te sunulmuştur (Anandharaj vd., 2014).



Şekil 2.1. Probiyotik bakterilerin insan sağlığı üzerindeki genel faydaları (Anandharaj vd., 2014)

2.5.1 Bağırsak ile ilgili hastalıkların önlenmesi ve/veya semptomlarının azalması

i) Antibiyotikle ilişkili ishal: Hafif veya şiddetli diyare atakları antibiyotik tedavisinin yaygın yan etkisidir çünkü antibiyotik kullanımına paralel olarak normal mikroflora baskılanmakta ve fırsatçı patojenik suşların aşırı gelişmesi teşvik olmaktadır (Syngai vd. 2016). *Clostridium difficile*'nin aşırı gelişmesinden kaynaklanan antibiyotiğe bağlı diyarenin önlenmesi ve iyileştirilmesinde *Bacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Leuconostoc cremoris*, *Saccharomyces* spp. ve *Streptococcus* spp. ile ayrı ayrı veya kombinasyon halinde yapılan tedavilerin, antibiyotik ilişkili ishalin önlenmesinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Ouwehand vd., 2002; Fontana vd., 2013; Kechagia vd., 2013).

ii) Rotavirüs ishali: Rotavirüs, akut neonatal ishalin en yaygın nedeni ve dünya çapında neonatal ölümlerin önde gelen nedenidir (Syngai vd. 2016). Klinik çalışmalar, probiyotiklerin akut rotavirüs ishali süresini kısaltabildiğini ve *Lb. rhamnosus* GG, *Lb. reuteri*, *bL. casei* Shirota, *Bifidobacterium animalis* B12 ve *B. animal* gibi probiyotiklerin etkinliğinin en güçlü kanıtını göstermiştir (Saarela vd., 2002; Kechagia vd., 2013).

iii) Turist ishali: Daha sıcak iklimlere ve daha az gelişmiş ülkelere seyahat eden insanlar, genellikle %50 aralığında yüksek bir ishal insidansı yaşarlar (Goldin ve Gorbach 2008). *Saccharomyces boulardii* tek başına ve *Lb. acidophilus* ve *B. bifidum* birlikte kullanıldığında koruyucu etkisi kanıtlanmıştır (Guarino vd., 2008).

iv) Hassas bağırsak sendromu: Hassas bağırsak sendromu (IBS), popülasyonun %3-25'ini etkileyen ve tedavisi bulunmayan kronik bir hastalıktır. Buna göre tedavi semptomları azaltmaya yöneliktir (Fontana vd., 2013). *B. longum* LA101, *Lb. acidophilus* LA102, *L. lactis* LA103, *Str. thermophilus* LA104 probiyotiklerin kombinasyon halinde alındığında IBS semptomlarını gidermede başarılı olduğu belirtilmiştir (Drouault-Holowacz vd., 2008).

v) İnflamatuvar bağırsak hastalığı: İnflamatuvar bağırsak hastalığı, en yaygın iki formu ülseratif kolit ve Crohn hastalığı için kullanılan bir terimdir; kronik veya tekrarlayan mukozal inflamasyon ile karakterize edilmektedir (Syngai vd. 2016). *S. boulardii* *Lb. rhamnosus* GG, *Lb. salivarius*, *Lb. plantarum* ve patojenik olmayan *E. coli* Nissle'nin

inflatuar bağırsak hastalığının belirtilerinin iyileşmesinde etkili olduğu ortaya konulmuştur (Ouweland vd., 2002; Maurya vd., 2014).

vi) Laktoz intoleransı: Laktoz intoleransı, laktozun monosakkaritleri glikoz ve galaktoza hidrolize edilememesiyle sonuçlanan genetik olarak belirlenmiş bir beta-galaktosidaz (laktaz) eksikliğidir. Laktoz intoleransı olan bireylerde, süt veya süt ürünleri tükettikten sonra ishal, karın rahatsızlığı ve şişkinlik gelişmektedir (Syngai vd. 2016). *Str. thermophilus* ve *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kısmen yüksek beta-galaktosidaz (laktaz) aktivitesi nedeniyle bu rahatsızlığın giderilmesinde önemli rol oynadıkları belirtilmiştir (Kechagia ve ark. 2013).

2.5.2 Anti-alerjik etkileri

Bağırsakta kolonize olan bakterilerin, gıda alerjileri ve atopik ekzema, astım ve diğer alerjileri içeren atopik hastalıkların önlenmesinde ve tedavisinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Probiyotikler bağırsaklardaki koruyucu mukoza bariyerini güçlendirir; böylece bağırsak geçirgenliğini azaltarak alerjik maddelerin kana geçmesini engeller. Ayrıca, probiyotiklerin sekreter IgE ve IgA antikor üretimini artırarak mukozal bağışıklığı iyileştirdikleri ve alerji gelişimini önledikleri de belirtilmektedir (Koop-Hoolihan, 2001; Michail, 2009). Bebeklerde alerjinin tedavisinde ve önlenmesinde etkinlikleri açısından sınırlı sayıda suş test edilmesine karşın atopik egzamadan muzdarip anne sütüyle beslenen bebekler üzerinde yapılan bir araştırma, *Bifidobacterium lactis* ve *Lb. rhamnosus* GG'nin egzama şiddetini azaltmada etkili olduğunu bildirmiştir (Kechagia vd., 2013). Ayrıca *Lb. rhamnosus* GG'nin, yüksek riskli bebeklerde atopik egzama oluşumunu önlemede başarılı bulunmuştur (Isolauri vd., 2000). Probiyotiklerin astım hastalığının belirtilerinin azaltılmasında etkili olmadığı bildirilmiştir (Kechagia vd., 2013).

2.5.3 Serum kolesterol seviyesinde azalma

Probiyotik bakteriler kan lipid düzeyi üzerine pozitif bir etkiye sahiptirler. *Lb. acidophilus*, *Lb. bulgaricus*, *Lb. reuteri*, *Lb. casei* F0822, *Lb. plantarum* MA2, *B. bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. animalis*, *Str. thermophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* gibi birçok probiyotik bakterilerin antikolesterol etkileri ortaya konmuştur (Koop-

Hoolihan, 2001). Probiyotikler antikolesterol etkilerini birkaç farklı mekanizma ile göstermektedirler: (i) Probiyotikler tarafından salgılanan safra tuzu hidrolaz enziminin etkisiyle safra tuzlarını dekonjuge edebilmesi, (ii) kolesterolün dekonjüge safra tuzları ile birlikte presipitasyonu, (iii) kolesterolün hücre membranına asimilasyonu ve hücre membranına dahil edilmesi, (iv) kolesterolün kolesterol redüktaz enzimi ile koprostanole dönüştürülmesi ve bunun feçesle dışarı atılması, (v) bağırsak kolesterol taşıyıcı genin ekspresyonunun inhibisyonu, buna bağlı olarak kolesterol ve lipidlerin emiliminin azalması, (vi) sindirilemeyen karbonhidratların probiyotik bakteriler tarafından fermentasyonu sonucu oluşan propiyonatin, karaciğer enzimi 3-hidroksi-metil-3-glutaril-CoA (HMG-CoA) redüktazın aktivitesini inhibe etmesi ve (vii) lipid metabolizmasını düzenleyerek (Reis vd., 2017; Anandharaj vd., 2014; Oner vd., 2013).

2.5.4 Antimutajenik ve antikarsinojenik aktiviteleri

Genel olarak kansere, hücre büyümesini ve bölünmesini kontrol eden anormal genlerin mutasyonu veya aktivasyonu neden olur. Bu anormal hücrelerin çoğu kansere neden olmaz, çünkü normal hücreler genellikle anormal olanları geride bırakır. Ayrıca, bağışıklık sistemi çoğu anormal hücreyi tanır ve yok eder. Fakat birçok süreç veya maruziyet anormal hücre oluşumunu artırabilir. Kansere neden olan etmenleri en aza indiren önlemler kanser riskini azaltır. Potansiyel olarak önemli riskli etmenler arasında yer olanlardan birisi kimyasal maddelerdir. Kansere neden olan kimyasallar (kanserojenler), sindirim sisteminde yaşayan mikroorganizmaların metabolik aktivitesi sonucunda parçalanabilir veya üretilebilir (Parvez vd., 2006). Yapılan çalışmalarla probiyotiklerin antikarsinojenik ve antimutajenik aktiviteye sahip oldukları ve bu etkilerini; (i) karsinojen/prokarsinojenleri bağlayarak, bloke ederek veya parçalayarak; (ii) kanserojen bileşikler oluşturan bakterilerin (*E. coli* ve *Clostridium perfringens* dahil enteropatojen bakteriler) çoğalmasını baskılayarak; (iii) prokarsinojen bileşiklerin aktif karsinojenlere dönüştüren enzimlerin (β -glukuronidaz, azoredüktaz, üreaz, nitroredüktaz, azodoredüktaz ve glikolik asit hidrolaz) aktivitesini azaltarak, (iv) antimutajenik ve antikarsinojenik bileşikler üreterek (konjuge linoleik asit); (v) bağırsak pH'sını düşürerek mikroflora aktivitesini ve safra asidi çözünürlüğünün değişmesine neden olarak; (vi) bir hücrenin ölmesi gerektiğinde ölme yeteneğini geliştiren metabolik ürünleri (örneğin bütirat) üreterek (apoptoz veya programlanmış hücre ölümü olarak bilinen bir süreç); (vii) bağırsaktan geçiş süresini değiştirerek fekal mutajenlerin çok hızlı bir şekilde

uzaklaşmasına sebep olarak ve (viii) immun sistemini teşvik ederek gösterirler (Parvez vd., 2006; Khaneghah vd., 2020; Hirayama ve Rafter, 2000; Kumar vd., 2010,).

2.5.6 İdrar yolu enfeksiyonları

İdrar yolu enfeksiyonları (UTI) kadınlar arasında yaygındır ve sıklıkla tekrarlama eğilimi gösterir. Etken organizmalar, başlıca bağırsak üropatojenleri olan *E. coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Staphylococcus* spp.'yi içerir. Probiyotikler genital ve üriner sistem enfeksiyonları azaltılar ve bu etkilerini pH değerini düşürerek, salgıladıkları H₂O₂ ve bakteriyosinleri gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip bileşikler ile bakterileri imha ederek ve hastalık yapan bakterilerin mukozaya yapışmasını engelleyerek (yarışmalı inhibisyon) gösterirler (Fontana vd., 2013; Maurya vd., 2014; Bermudez-Brito vd., 2012).

2.5.7 *Helicobacter pylori* enfeksiyonu

Helicobacter pylori gastrit, peptik ülser ve mide kanserinden sorumlu tutulan bir Gram-negatif bakteridir. *In vitro* ve hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar *Lb. salivarius*, *Lb. johnsonii* gibi probiyotik bakterilerin *H. pylori*'nin gastrik kolonizasyon ve aktivitesini inhibe ettiği gözlenmiştir (Khaneghah vd., 2020; Lorca vd., 2001; Fang vd., 2019).

2.5.8 İmmunomodülatör özellikleri

In vitro sistemlerde, hayvan ve insanlar üzerine yapılan araştırmalarda probiyotik bakterilerin hem spesifik (doğal immunité) hem de spesifik olmayan (adaptif immunité) immun yanıtları artırarak konakçının immun sistemi üzerine pozitif etkilere sahip olduğu saptanmıştır. Bu etkileri (i) makrofajları aktivite edip fagozitos kapasitelerini artırarak, (ii) doğal öldürücü hücrelerin aktivitesini artırarak, (iii) immunoglobulinlerin (IgA) düzeyini artırarak, (iv) sitokinlerin düzeyini artırarak gerçekleştirirler (Delcenserie vd., 2008; Yaqoob, 2014; Bron vd., 2012; Syngai vd., 2016) .

2.5.9 Diş çürüğü oluşumunun önlenmesi

Str. mutans, diş çürüklerinin oluşumunda rol oynayan ana mikroorganizmadır. *Lb. rhamnosus* GG gibi probiyotiklerin kullanımının, patojenlerin oral kolonizasyonu

engellediği ve böylece çocuklarda diş çürüğü insidansını azalttığı bildirilmiştir (Goel vd. 2014).

2.5.10 Besin maddeleri sentezi ve biyolojik değeri artırma fonksiyonları

Probiyotiklerin beslenme açısından birçok yararları bulunmaktadır. Gerek fermente gıdaların hazırlanması sırasında gerekse sindirim sisteminde bazı besin maddelerin miktarının, biyolojik değerinin ve sindirilebilirliğinin probiyotik mikroorganizmaların faaliyeti ile iyileştiği belirtilmektedir. Laktik asit bakterilerinin bağırsak lümenine çeşitli enzimler ve vitaminler saldığı bilinmektedir. Probiyotikler tarafından salgılanan değişik enzimler vasıtasıyla protein, yağ ve karbonhidratların bir ön fermentasyona uğratılması bunların besleyici değeri ve sindirilmelerini kolaylaştırmaktadır. Ca, Mg ve Fe gibi minerallerin daha iyi absorbe edilmesini sağlamaktadırlar. Folik asit, niasin, biotin, pantotenik asit, B1, B2, B3, B6, B9 ve B12 vitaminleri ile K vitaminini sentezledikleri tespit edilmiştir (Parves vd., 2006; Li P. and Gu, 2016; Gu Q. vd., 2015; Pompei vd, 2007; Markowiak ve Slisewska, 2017)

2.6 Laktik Asit Bakterileri ve Genel Özellikleri

Laktik asit bakterileri (LAB) “milk-souring organisms- sütü pıhtılaştırıcı organizmalar” anlamına gelmektedir. LAB’leri morfolojik, metabolik ve fizyolojik karakteristikleriyle birleşmiş Gram (+) bakterilerinin bir grubunu oluşturmaktadır. Lactobacillales takımında yer alırlar. LAB’lerin kesin bir tanımları olmamakla birlikte şöyle tanımlayabiliriz: Gram (+), kok, çubuk ve kokobasil şeklinde, spor oluşturmeyen, hareketsiz (birkaç üyesi hariç), katalaz negatif, sitokroma sahip olmayan ve solunum yapmayan, fakültatif anaerobik, fakat anaerobik, aerotolerant, mikroaerofilik olan türlerde mevcut asidi tolere edebilen, % guanin+sitozin oranı düşük kuvvetli fermentatif olup şeker fermentasyonu sırasında başlıca son ürün olarak laktik asit üreten bakterilerdir. LAB’leri şekerleri laktik aside dönüştürme yeteneğine sahip bakterilerdir. LAB genellikle fermente süt ürünleri, ekmek, tahıllar ve sebzeler dahil olmak üzere fermente gıdalar üretmek için kullanılır (de Vos ve Hugenholtz, 2004; Chao vd., 2009; Khalid, 2011). LAB’leri, "Lactobacillales" takımında yer alırlar ve Aerococaceae, Carnobacteriaceae, Enterococcaceae, Lactobacillaceae, Leuconostocaceae ve Streptococcaceae olmak üzere altı familyadan oluşmaktadırlar. *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus*, *Weissella*,

Enterococcus, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Carnobacterium*, *Streptococcus*, *Lactococcus* gibi cinsleri içermektedirler. LAB'ler doğada oldukça yaygın olup genellikle besin içeriği bakımından zengin olan gıda, yem, insanlar, hayvanlar, bitkiler ve toprak gibi habitatlarda bulunurlar. Fakat bazı üyeleri ağız, bağırsak gibi vücudun bazı kısımlarında bulunmaktadır. Sitokromları ve porfirinleri (solunum zincirlerinin bileşenleri) sentezleme yeteneklerinden yoksundurlar ve bu nedenle bir proton gradyanı oluşturarak ATP üretemezler. Dolayısıyla LAB'leri elektron transport sistemlerine sahip değillerdir. Enerjiyi daha çok fermantasyon yoluyla örneğin substrat düzeyinde fosforilizasyon yaparak sağlamaktadırlar (Holzapfel ve Wood, 2014; Vinderola vd., 2019). LAB'leri gelişme sıcaklık aralığı bakımından termofil ve özellikle mezofil grupta yer almaktadır. Genellikle 10-40°C arasında gelişirler, optimum gelişme sıcaklıkları 25 ile 35°C arasındadır. Bazıları ise 5°C'nin altında ve 45°C'de gelişebilmektedirler. Çoğu pH 4-8 aralığında gelişmektedirler. Bazıları ise 3,2 gibi düşük ve 9,6 gibi yüksek pH değerlerinde gelişebilmektedir. Optimum pH değerleri pH 5,5-5,8'dir. Yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişme ve asit veya alkaliye karşı tolere etme yeteneklerine sahiptirler. Düşük pH değerlerine karşı toleranslıdır. Bu özellikleri LAB'lerin doğal fermantasyonlarda diğer bakterilere karşı rekabet etme gücü kazandırmaktadır. Yani organik asit (laktik asit gibi) üretiminden kaynaklanan yüksek asitliğe dayanabilmektedirler. Heterotrofik olup genellikle kompleks besiyerlerine ihtiyaç duyarlar çünkü biyosentez yetenekleri çok düşüktür. Birçok tür gelişebilmeleri için amino asitlere, peptitlere, nükleotit bazlara, vitaminlere ve yağ asitlerine ihtiyaç duymaktadır. Bundan dolayı LAB'leri bu gereksinimlerinin karşılandığı ortamlarda yalnızca bulunurlar. Çoğunlukla bulundukları yerler insan ve hayvanların ağız ve bağırsak sistemi (örneğin *Lactobacillus*, *Enterococcus*), bitki yaprakları (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*) ve parçalanmış (çürümüş) bitki ve hayvansal ürünler (örneğin çürümüş bitki, dışkı vb.)'dir (Khalid, 2011; Carr vd., 2002).

LAB'nin ana işlevi, laktik asit üretmek, yani gıdayı asitlendirmektir. Bu nedenle, LAB'nin gıda endüstrisinde ana uygulaması, çok çeşitli fermente süt ürünleri, et, balık, meyve, sebze ve tahıl ürünleri ile starter kültür olarak kullanılmalarıdır. Ayrıca LAB, aroma bileşenlerinin üretimi yoluyla fermente gıdaların lezzet, doku ve besin değerine katkıda bulunur ve yardımcı kültürler olarak kullanılır; ekzopolisakkaritlerin, lipidlerin ve proteinlerin üretimi veya parçalanması, vitaminler gibi besin bileşenlerinin üretimi ve fonksiyonel kültürler ve probiyotikler olarak kullanılırlar ve terapötik etkileri teşvik

ederler. Ayrıca bozulma ve patojen mikroorganizmaların inhibisyonuna katkıda bulunurlar ve böylece biyo-koruyucu kültürler olarak kullanılırlar (Bintsis, 2018; Grattepanche vd., 2008; Khalid, 2011; Leroy F. ve de Vuyst, 2004; Wedajo, 2015).

2.6.1 *Lactobacillus* türü

LAB'leri arasında, *Lactobacillus* türleri/suşları, insan ve hayvan mikrobiyotasının önemli üyeleridir ve konakçı sağlığı üzerindeki çeşitli etkileri nedeniyle oldukça fazla ilgi görmektedirler. Laktobasiller, en yaygın kullanılan probiyotikler arasındadır (Wang et al. 2016).

LAB'leri içerisinde en büyük grubu oluşturan *Lactobacillus*, Lactobacillaceae familyasının en büyük cinsi olup 300'den fazla tür içermektedir. Oldukça heterojenik olup fenotipik, biyokimyasal ve fizyolojik özellikler açısından oldukça farklı türleri içermektedirler. Heterojenlik türlerin DNA'sındaki %G+C içeriğine de yansımakta ve %G+C aralığı %32-53 arasında değişmektedir. *Lactobacillus* cinsindeki türler, fermente gıdalarda uzun süredir güvenli kullanım geçmişine sahip olmaları ve insanların normal bağırsak ve ürogenital mikrobiyotalarında bulunmaları nedeniyle ABD Gıda ve İlaç İdaresi'ne göre "genel olarak güvenli (GRAS)" olarak kabul edilmektedir (Parte, 2014).

Lactobacillus türü içinde yer alan türlere *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus cripatus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus bervis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus collinodites*, *Lactobacillus coprophilus*, *Lactobacillus cremoris*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus faecalis*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus heterohiochii*, *Lactobacillus jugurthi*, *Lactobacillus mali*, *Lactobacillus maltaromicus*, *Lactobacillus ruminis*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus thermophilus*, *Lactobacillus vaginalis* örnek olarak verilebilir (Liu vd., 2018; Behera vd., 2018).

Lactobacilli, birçok gıda türünde ve hayvanların gastrointestinal ve genitoüriner sisteminde ve birçok hayvan türünün kalın bağırsağının doğal mikroflorasının üyesi

olarak bulunmaktadır. Lactobacillerin çubuk şeklinde, düz çubuk, kokobasil veya uzun çubuk şeklindedir. Çubuk şekli bazen kurve veya filament uzantılı olabilir. Hareketsizdir. Doğada çok yaygın olarak silaj, hayvan ve insan bağırsağı ve sütte bulunmaktadır. Çoğu türü fakültatif anaerobik olup hem oksijenli hem oksijensiz ortamda gelişebilmektedir. Fakat insan kaynaklı bazı türleri zorunlu anaerobiktir. Farklı memelilerin gastrointestinal sistemleri genellikle *Lactobacillus* spp. ile kolonize olmaktadır. Gastrointestinal sistemde en fazla izole edilen *Lactobacillus* türleri *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus salivarius*'dur. (Guidone vd., 2014). *Lactobacillus* cinsi içinde probiyotik olarak en çok kullanılan türler *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei/paracasei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus salivarius* (Upadrasta vd., 2011).

2.6.2 *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus cinsi içinde *Lb. plantarum* yararlı özelliklere sahip çok yönlü bir tür olup çok sayıda fermente gıda ürününde bulunur (Guidone vd., 2014). Laktobasiller, farklı ekolojik ortamlarda izole edilebilir. *Lactobacillus delbrueckii* veya *Lactobacillus rhamnosus* gibi bazı *Lactobacillus* türleri çok sınırlı ortamlarda bulunmasına karşın *Lb. plantarum* süt ürünlerinde (Agaliya ve Jeevaratnam, 2012), sebzelerde (Khemariya vd., 2016), ette (Schillinger ve Luke 1989), silaj (Valan-Arasu vd., 2015), şarap (Berbegal vd., 2016), gastrointestinal, vajinal ve ürogenital yollarda (Wang vd., 2011; Nami vd., 2014) bulunabilmektedir. Bu her yerde bulunma özelliği, *Lb. plantarum*'un adaptasyonunu ve metabolik yol çeşitliliğinin artmasına neden olabilmektedir. Farklı büyüme ortamlarına adaptasyonu nedeniyle, *Lb. plantarum*, çevreden insanlara, insanlardan çevreye transfer olduklarından “göçebe-nomadic” olarak adlandırılmıştır (Liu vd., 2018). Ayrıca, *Lb. plantarum* peynir, kefir gibi süt ürünleri, lahana turşusu, fermente et ürünleri, fermente sebzeler ve içeceklerin fermantasyonunda kullanılmaktadır (Agaliya ve Jeevaratnam, 2012; Chang vd., 2016; Khemariya P vd., 2016; Todorov ve Franco 2010). *Lb. plantarum*'un sağlık yararlı etkilerinden dolayı ticari olarak farklı probiyotik formülasyonlar geliştirmeye (Çizelge 2.4) ve antibakteriyel özellikleri ile de biyolojik koruma teknolojisiyle gıda güvenliğinin sağlanması amacıyla da kullanım alanı bulmuştur (Huang R vd., 2015; Li C vd., 2015; Seddik vd., 2017; Behera vd., 2018). *Lb.*

plantarum, endüstriyel fermentasyon ve çiğ gıdaların işlenmesinde yaygın olarak kullanılmakta ve “GRAS” ve nitelikli güvenlik varsayımı (QPS) statüsüne sahiptir (Ricci vd., 2017).

Çizelge 2.4. *Lb. plantarum* suşlarından türetilen ticari olarak temin edilebilen probiyotik ürünler (Seddik vd., 2017).

Ürün Adı	Probiyotiği Üreten Firma	Probiyotik Suş
Kapsül Ideal Bowel Support FloraFIT®	Jarrow Formulas, CA, USA DuPont Danisco, Copenhagen, Denmark	<i>Lb. plantarum</i> 299v <i>Lb. plantarum</i> Lp-115
InnerBowel Support AB-LIFE	Swanson, Fargo, ND, USA AB-Biotics, Barcelona, Spain	<i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. plantarum</i> (CECT 7527, 7528 ve 7529)
For your cholesterol	OptiBacProbiotics, Andover, UK	<i>Lb. plantarum</i> (CECT 7527, 7528 ve 7529)
Vitafor®probi-intestis® Vitafor®probi-immun®	Vifor Pharma, Zurich, Switzerland Vifor Pharma, Zurich, Switzerland	<i>Lb. plantarum</i> 299v <i>Lb. paracasei</i> 8700:2 ve <i>Lb. plantarum</i> HEAL9
DIGESTIVE CARE Sanprobi IBS PROBIOCHARGE	Jamieson, Windsor, Canada SANPROBI, Szczecin, Poland Dr. Jockers, GA, USA	<i>Lb. plantarum</i> 299v <i>Lb. plantarum</i> 299v <i>Lb. acidophilus</i> La-14, <i>Lb. plantarum</i> Lp-115, <i>Bifidobacterium longum</i> B1-05 ve <i>Bifidobacterium lactis</i> HN019
VSL #3*	Sigma-Tau Pharmaceuticals, Rome, Italy	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> ve <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i>
İçecek PROVIVA ACTIVE GoodBelly	Probi, Lund, Sweden NextFoods, CO, USA	<i>Lb. plantarum</i> 299v <i>Lb. plantarum</i> 299v

Doğada yaygın olan ve farklı ortamlara uyum sağlayabilen *Lb. plantarum*, fakültatif heterofermentatiftir (Siezen vd., 2010) ve LAB grubu içinde en büyük genoma (~3.3 Mb) sahiptir (Martino vd., 2016). Ayrıca, sindirim sistemi stresi (Parente vd., 2010), gastrointestinal, vajinal ve ürogenital sistem (Jose vd., 2015) dahil olmak üzere çeşitli zorlu koşullara son derece toleranslıdır ancak insan gastrointestinal sisteminde stabil bir

popölasyon oluşturmaz. *Lactobacillus*'un faydalı etkileri suşa bağlıdır ve evrensel değildir (Seddik vd., 2017).

Lb. plantarum genellikle insan ve diğer memelilerin gastrointestinal kanallarında, tükürükte ve çeşitli gıda ürünlerinde bulunur. Katalaz negatif, spor oluşturmayan, asit toleranslı, solunum yapmayan, G+C içeriği düşük, fakültatif anaerobik bir bakteridir. Ayrıca, gıda endüstrisinde starter kültür ve koruyucu olarak çeşitli uygulamalara sahiptir (Holzapfel vd., 2001). Gelişebildiği sıcaklık aralığı 15-45°C arasındadır. Optimum gelişme sıcaklığı 30-35°C'dir, 15°C'de gelişebilir, fakat çoğunlukla 45°C'de gelişemez.

Heterofermantatifler, heksos ve pentozları fermente ederler. DL laktik asit oluşturur ve sütte %0,3-1,2 arasında değişen miktarda laktik asit oluşturur. Ayrıca geleneksel gıda fermentasyonunda ve endüstriyel uygulamada kültür olarak kullanılır. Fermente gıdaların korunmasına, lezzetine ve dokusuna katkıda bulunurlar (Valan-Arasu vd., 2013; De Vries 2006).

Lb. plantarum monosakkarit, disakkarit ve polisakkaritler dahil olmak üzere çok çeşitli karbonhidratları fermente etme kapasitesine sahiptir (Bringel vd., 2001). Ayrıca, belirli koşullar ve seçici substratlar altında asetik asit, süksinik asit ve laktik asit, etanol veya karbon dioksit gibi organik asitleri ana metabolitler olarak üretir (Di Cagno vd., 2010). Ayrıca, *Lb. plantarum*, katalaz, peroksidaz ve redüktazlara sahip olduğundan oksidatif stresle başa çıkabilmektedir. *Lb. plantarum* tannaz aktivitesine sahip olabilir ve fenolik asitleri metabolize edebilir (Kleerebezem vd., 2009).

Lb. plantarum'um probiyotik kriterlere sahip olduğuna ilişkin birçok çalışma mevcuttur. *Lb. plantarum*, mide asitliğine (pH 2,0) ve safra tuzlarına yüksek tolerans gösteren gastrointestinal sistemde düşük tamponlama kapasitesi altında büyüme özelliğine sahiptir. Asit ve safra tuzuna dirençli olma özelliği, *Lb. plantarum*'un mide ve üst gastrointestinal kanaldan geçişini sağlar. Bağırsak epitel hücrelerine tutunma yeteneği, alt gastrointestinal kanalda kolonizasyonu iyileştirir ve patojenlerin rekabetçi inhibisyonuna yardımcı olur (Liu vd., 2018; Russo vd., 2016).

2.6.2.1 *Lb. plantarum* Güvenliği

Lb. plantarum, Avrupa Gıda Güvenliği Otoriteleri (EFSA) tarafından nitelikli güvenlik varsayımı (QPS) statüsüne ve ABD Gıda ve İlaç İdaresi (ABD FDA) tarafından genel olarak kabul edilen güvenli (GRAS) statüsüne sahiptir. Ayrıca belgelenmiş bir gıda kullanımı geçmişı olan bir mikroorganizma olarak kabul edilir (Mogensen vd., 2002).

2.6.2.2 Probiyotik Olarak *Lb. plantarum*'un Bazı Özellikleri

a) Sağlık üzerine yararlı etkileri: 1970'lerin sonlarında, *Lb. plantarum*'un, potansiyel bir immünolojik adjuvan olarak tanımlanmış (Bloksma vd., 1979) ve şu anda birçok çalışma, *Lb. plantarum*'un bağışıklık homeostazını olumsuz etkilemeden mukozal bağışıklık yanıtı ve hastalık direncini iyileştirdiği (Bron vd., 2012; Maeda vd., 2014; Sornplang ve Piyadeatsoontorn, 2016), konakçıda faydalı bağırsak mikroflorasının dengesinin korunmasında rol oynadığı (Kassayova vd., 2014), *Lb. plantarum*'un probiyotik olarak potansiyel faydaları, bağışıklık sistemini düzenlediği, kolesterol seviyesini düşürdüğü, bağırsak mikroorganizmaların stabil dengesini koruduğu ve tümör veya kanser tehlikesini azaltmayı belirtilmektedir. Dolayısıyla, *Lb. plantarum*'un spesifik olarak, bir anti-kanser ajanı, bir antikoagülan, bir antimikrobiyal, immün modölatör, bir anti-inflamatuar, bir anti-diyabetik ajan ve bir antioksidan olarak çeşitli faydalı etkiler gösterdiği; aynı zamanda serbest radikal süpürücü aktivite sergilediği ve bağırsak enfeksiyonlarından koruduğu ifade edilmektedir (De Vries vd., 2006; Rigaux vd., 2009; Nguyen vd., 2007; Ducrotté vd., 2012). Ek olarak, klinik çalışmalar, *Lb. plantarum* suşlarının, hassas bağırsak sendromu ve ülseratif kolit dahil olmak üzere gastrointestinal rahatsızlıklar ve antibiyotikle ilişkili diyare ve *Clostridium difficile* kaynaklı diyare gibi diyare hastalıklarının tedavisinde veya önlenmesinde etkinliği ortaya konmuştur (O'Brien vd., 2014).

Lb. plantarum suşları, antikor üretimini teşvik ettiği de belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada, *Lb. plantarum*'un kullanan bir çalışma, bunun *Borrelia burgdorferi* OspA lipoproteinine özel IgA ve IgG antikorları ile pro- ve anti-inflamatuar sitokinlerin üretimini uyardığı bulunmuştur. Epitelyal hücreler tarafından sitokin (IL-8) salgılanmasına yol açmadığı ve inflammatuar etkilere neden olmadığı belirtilmiştir (Del Rio vd., 2010).

Bazı *Lb. plantarum* suşlarının, bağışıklık sistemini düzenleyerek tip I alerjik hastalıkları inhibe ettiği belirtilmektedir (Song vd., 2015). *Lb. plantarum*'un en yaygın anti-alerjik aktivitesi, olgunlaşmamış dendritik hücreleri kontrol etme, T hücre fonksiyonunu düzenleme ve patojenlerin bağırsakta tutunmasını engelleme gibi yararlı etkileri olduğu bilinen bazı *Lactobacillus* suşlarından izole edilen glikoproteinlerden kaynaklandığı ifade edilmektedir (Song vd., 2016a). *Lb. plantarum* L67'den izole edilen glikoprotein (18 kDa) anti-inflamatuar ve anti-alerji etkileri olduğu bilinmektedir (Song vd., 2016b).

b) Antimikrobiyal aktivite: Probiyotik mikroorganizmalar patojenik bakterilere karşı antagonistik aktiviteyi birkaç farklı mekanizma ile göstermektedirler. Bunlar (Bermudez-Brito vd., 2012; Otutumi vd., 2012; Ng vd., 2009; Syngai vd., 2016; Kanmani vd., 2013; Khaneghah vd., 2020):

- a) Bağırsak epitel hücrelerine patojen bakterilerin tutunmasını engelleyerek
- b) Tutunma bölgelerine tutunarak patojenik kolonizasyon için mevcut yüzey alanını azaltarak,
- c) Besin maddeleri için rekabet ederek patojenlerin kullanma olasılıklarını azaltarak (patojenik bakterilerle yarışmalı inhibisyon),
- d) Bağırsıklık hücrelerine sinyaller göndererek sitokinlerin salgılanmasına ve patojen bakterilerin imhası için onları hedef haline getirerek
- e) Antimikrobiyal bileşikler üreterek (organik asitler, bakteriyosinler, kısa zincirli yağ asitleri, reuterin, karbondioksit, hidrojen peroksit vb)
- f) Lümen pH'ını düşürerek

Lb. plantarum organik asitler ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal maddeler üreterek, besin maddeleri için rekabet ederek ve bağışıklık sistemini uyararak antimikrobiyal etki sergileyebilmektedirler. *Lb. plantarum*'un 9 farklı suşunun gıda kaynaklı patojen bakterileri olan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium ve *Shigella flexneri*'ye karşı inhibitör etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Li vd., 2015). Bakteriyosin üreten *Lb. plantarum* suşları et, balık, meyve, sebze ve süten izole edilmiştir (Todorov SD, 2009). Bu bakteriyosinler genellikle plantarisinler olarak adlandırılır. Tanımlanan plantarisinlerin çoğu, iki peptitli bakteriyosinler olarak bilinen ve optimal aktivite için her iki peptitin varlığını gerektiren sınıf IIb bakteriyosinlere aittir. Örnek olarak plantarisin PlnA, E, F, J, NC8, PlnJK ve

PlnEF verilebilir. Bu plantarisinlerin bazıları, *S. enterica*, *E. coli*, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* gibi gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahiptir (Jiang vd., 2016; Das ve Goyal, 2013; Diep DB vd., 2009; Field vd., 2016; Nissen-Meyer vd., 2009).

c) Ekzopolisakkarit (EPS) üretimi: EPS, hücre dışı olarak salgılanan mikrobiyal polisakkaritlerdir; miktarı ve yapıları, bireysel mikroplara ve mevcut karbon substratına bağlıdır (Korakli vd., 2001). EPS, yoğurt ve peynir gibi fermente süt ürünlerinin dokusunu, reolojisini ve tadını iyileştirmektedir (Ismail ve Nampoothiri, 2010). Bazı araştırmacılar, LAB ekzopolisakkaritlerini, anti-biyofilm, antioksidan, anti-tümör ve bağışıklık uyarıcı aktivitelere sahip olduklarını ve ayrıca asit, safra gibi zorlu koşullarda hücreleri koruma fonksiyonuna sahip olduğunu belirtmektedirler (Liu vd., 2018). Bu nedenle, *Lb. plantarum* tarafından üretilen en önemli biyoaktif bileşiklerden biri ekzopolisakkarittir (Dilna vd., 2015; Zhang vd., 2016).

ç) pH ve Safra asidine karşı stabilite: Bazı *Lb. plantarum* suşları, ör. LC56 (Hamon vd., 2011) ve LP3 (Karasu vd., 2010) suşları safraya duyarlı olup *Lb. casei* suşları 212.3 ve F19, pH 2,0'da oldukça zayıf bir şekilde hayatta kalmıştır (Charteris vd., 1998). Diğer *Lactobacillus* suşları 2,5-4,5 pH değerlerinde hayatta kalmış, ancak daha düşük pH değerlerinde canlılığını kaybetmiştir (Conway vd., 1987; Jacobsen vd., 1999; Maragkoudakis vd., 2006).

d) Fenola karşı stabilite: Bağırsaktaki aromatik amino asit metabolizmasının yaygın bir yan ürünüdür. Yapılan bir çalışmada, test edilen tüm suşların yüksek fenol konsantrasyonlarını (%0,4) tolere etmesi, fenolün bağırsaktaki bakteriyostatik etkisine karşı koyabildiklerini göstermektedir (Palaniswamy ve Govindaswamy, 2016). Minimum %40 hidrofobiklik değeri, probiyotik bir suş için temel bir gerekliliktir (Del Re vd., 2000).

e) Otoagregasyon, koagregasyon, hidrofobisite yeteneği: Koagregasyon, gastrointestinal sistemden patojenlerin elimine edilmesinde önemli bir rol oynayabilir (Todorov vd., 2008). *Lactobacillus* suşları, koagregasyon yoluyla patojenik bakteriler tarafından kolonizasyonu önleyen bir bariyer oluşturabilir (Ferreira vd., 2011). Potansiyel bir patojen ile koagregasyon, probiyotik suşun kendilerine çok yakın antimikrobiyal maddeler üretmesine izin verir, bu da gastrointestinal sistemdeki patojenik suşların

büyümesini engelleyebilmektedir (Reid vd., 1988). *Lactobacillus* suşlarının gastrointestinal kanalda tutunması ve kolonizasyonu, suşların insanlar üzerinde faydalı etki göstermesi için ön koşuldur (von Ossowski vd., 2010). Bazı probiyotik suşlar, otoagregasyon yoluyla bir bariyer oluşturarak veya patojenlerle doğrudan koagregasyon yoluyla patojenik bakterilerin bağırsak mukozasına yapışmasını engelleyebilir (Collado vd., 2007a; Vlková vd., 2008; Ferreira vd., 2011).

Tuo vd., (2013), yirmi *Lactobacillus* suşunun 37 °C'de 5 saatlik inkübasyondan sonra %24,16 ila %41,39'luk bir otoagregasyon aralığı gösterdiğini bulmuşlardır. Onbeş *Lactobacillus plantarum* suşunun hidrofobikliği ile otoagregasyon arasında önemli bir ilişki ($P<0.01$) olduğu ve bu özelliğin türe özgü olduğu belirtilmiştir.

Bazı çalışmalarda, suşlar guanidin-HCl ile muamele edildiğinde, yüzeye bağlı proteinler dışındaki faktörlerin yapışmaya dahil olduğu ortaya konmuştur. Bakteri hücre duvarının yüzeyindeki proteinler, glikoproteinler ve taykoik ve lipotaykoik asit suşların yapışmasına, kendi kendine toplanmasına ve hidrofobikliğine katkıda bulunur (Kos vd., 2003).

BÖLÜM III

MATERYAL VE METOT

3.1 Bakteriler ve Besi Ortamları

Çalışmada, tarafımızca daha önce bozadan izole edilen ve TÜBİTAK tarafından desteklenen projede (Erinç vd., 2017) konjuge linoleik asit üretim yeteneği açısından incelenip karakterize edilen ve kültür koleksiyonumuzda bulunan *Lactobacillus plantarum* HP1 bakterisinin probiyotik özellikleri belirlenmiştir. Bakterinin geliştirilmesinde de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) besiyeri ve inkübasyon sıcaklığı olarak da 37°C kullanılmıştır. Bakteri %20 gliserol içeren MRS besiyerinde -80°C’de muhafaza edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite testinde kullanılan indikatör bakteriler *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium*, diğer *Salmonella enterica* serovarları, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*’in suşları ile *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Lactococcus* türleri kültür koleksiyonumuzdan temin edilmiştir. Laktik asit bakterilerinin geliştirilmesinde MRS besiyeri, diğer bakterilerin geliştirilmesinde ise brain hearth infusion (BHI) besiyeri kullanılmıştır.

3.2 *Lactobacillus plantarum* HP1’in Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

3.2.1 Hemolitik aktivitesinin belirlenmesi

Hemolitik aktivitenin belirlenmesi için 37°C’de 18 saat geliştirilen kültürden ticari olarak temin edilen ve %5 koyun kanı içeren Colombia-agar ortamına çizgi ekimleri yapılmıştır. Pozitif kontrol örneği olarak *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* ATCC 6538 suşları kullanılmıştır. 37°C’de 24 saat inkübasyon işleminden sonra, kolonilerin etrafında, parlak-yeşil zon oluşturan koloniler α -hemolitik, berrak zon oluşturanlar β -hemolitik, zon oluşturmayanlar ise α -hemolitik olarak değerlendirilmiştir (Maragkoudakis vd. 2006).

3.2.2 Antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi

Lb. plantarum HP1'in antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi için antibiyotik disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. 37°C'de 18 saat geliştirilen bakteri kültürü yoğunluğu yaklaşık 10^7 'ye ayarlanmıştır. *Lb. plantarum* HBI inoküle edilen (%1) MRS agar, steril Petri kutularına dökülmüş ve besiyeri katılaştıktan sonra farklı konsantrasyonlarda antibiyotik içeren diskler katı besiyerinin üzerine konulmuştur. İnkübasyon işleminin (37°C'de 24 saat) sonunda oluşan berrak zonların çapı ölçülerek (Santos vd., 2016) Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü tabloları (CLSI, 2014) ile kıyaslanmış ve dirençlilik ya da duyarlılıkları (dirençli, duyarlı, orta düzeyde duyarlı) belirlenmiştir. Kontrol olarak *S. aureus* ATCC 6538 kullanılmıştır. Kullanılan antibiyotikler: Metropenem, rifampicin, tetracycline, penicilin G, gentamicin, piperacillin, bacitracin, vancomycin, trimethoprim, ceftazidime, erythromycin, telcoplanin, ampicillin.

3.2.3 Düşük pH'ya direnç özelliğinin belirlenmesi

MRS besiyerine %1 oranında inoküle edilen 18 saatlik kültürden 1 mL alınarak 10000 g'de 5 dakika (4°C) santrifüj (Nüve – NF800R, Türkiye) edildi ve pH değeri 7,0 olan fosfat tamponu (130 mM sodyum klorür, 10 mM sodyum fosfat, pH 7.0) ile iki kez yıkandı. Hücre peletlerine (yaklaşık 10^8 kob/mL), pH değeri 0,1 N HCl ile 1, 2 ve 3'e ayarlanmış MRS besiyeri (1 mL) ilave edilip çözündürülmüş ve 37°C'de 3 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyonun 0., 1. ve 3. saatlerinde kontrol (pH değeri ayarlanmamış besiyeri) ve deney gruplarından numuneler alınarak seri dilüsyonları hazırlanmış ve MRS katı ortamlara yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. 37°C'de 24-48 saat inkübasyon sonucunda kontrol ve deney gruplarındaki koloniler sayılıp, sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir. Canlı hücre oranı aşağıda belirtilen eşitlik kullanılarak belirlenmiştir (Oh ve Jung, 2015).

$$\text{Canlı hücre oranı (\%)} = \frac{\text{HCl içeren MRS'de canlı bakteri sayısı (log kob/mL)}}{\text{İnokülasyon başlangıç bakteri sayısı (log kob/mL)}} \times 100 \quad (3.1)$$

3.2.4 Safra tuzuna karşı direnç özelliğinin belirlenmesi

MRS besiyerinde (12 mL) aktif olarak geliştirilen (37°C’de 18 saat) kültür 10000 g’de 10 dk santrifüj edilmiş ve pellet iki kez fosfat tamponu (pH 7,0) ile yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Tamponla yıkama işlemi sırasında 4 eşit kısma bölünmüştür. Peletler %0,3, % 0,5 ve % 1,0 (w/v) oranında safra tuzu içeren ve içermeyen 2 mL MRS besiyerinde çözündürülmüştür. Hazırlanan örnekler 37°C’de 4 saat inkübe edilmiş ve inkübasyonun 0. ve 4. saatlerinde örnekler alınarak seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. MRS katı besiyerine ekimler yapıldıktan sonra 37°C’de 24-48 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon işlemi sonucunda koloniler sayılmış ve sonuç log kob/mL olarak verilmiştir. Kontrol örneğinde besiyeri olarak safra tuzu içermeyen MRS besiyeri kullanılmıştır (Oh ve Jung, 2015; Maragkoudakis vd. 2006). Canlı hücre oranı aşağıda belirtilen eşitlik kullanılarak belirlenmiştir.

$$\text{Canlı hücre oranı (\%)} = \frac{\text{Safra tuzu içeren MRS’de canlı bakteri sayısı (log kob/mL)}}{\text{İnokülasyon başlangıç bakteri sayısı (log kob/mL)}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.5 Pepsine karşı direnç özelliğinin belirlenmesi

Lb. plantarum HP1’in pepsine toleransını belirlemek için gastrik koşulun oluşturulması için pepsin içeren ve pH değeri 0,1 N HCl ile 2,0 ve 3,0’e ayarlanan MRS besiyeri kullanılmıştır. Aktif geliştirilen kültürden 1 mL alınarak 10000 g’de 10 dakika (4°C) santrifüj edilmiş ve fosfat tamponu ile iki kez yıkanmıştır. Hücre peletlerine, pepsin (3 mg/mL) içeren MRS besiyeri (pH 2,0 ve 3,0) ilave edilmiş, vorteksle karıştırıldıktan sonra 37°C’de 3 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Kontrol örneği için besiyeri olarak pepsin içermeyen ve pH değeri ayarlanmayan MRS kullanılmıştır. İnkübasyon işleminin 0., 1 ve 3. saatinde örnekler alınıp seri dilüsyonlar hazırlandıktan sonra MRS agara plak yayma yöntemiyle ekimler yapılmıştır. İnkübasyon işleminden (37°C’de 24-48 saat) sonra koloniler sayılarak sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir (Maragkoudakis vd. 2006). Canlı hücre oranı aşağıda belirtilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Canlı hücre oranı (\%)} = \frac{\text{Pepsin içeren MRS'de canlı bakteri sayısı (log kob/mL)}}{\text{İnokülasyon başlangıç bakteri sayısı (log kob/mL)}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.2.6 Pankreatine karşı direnç özelliğinin belirlenmesi

Aktif geliştirilen bakteri kültüründen 1 mL alınıp 10000 g'de 10 dakika (4°C) santrifüj edilmiş ve süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra pellet fosfat tamponu ile yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra pelete pankreatin içeren (1 mg/mL) MRS besiyeri (pH 8,0) ilave edilip vortekslenmiştir. Hazırlanan örnekler 37°C'de 4 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. Kontrol grubuna ise sadece MRS besiyeri ilave edilmiştir. İnkübasyonun 0. ve 4. saatinde örnekler alınıp seri dilüsyonları hazırlanarak MRS agara ekim yapılmıştır. İnkübasyon işleminden sonra (37°C'de 24-48 saat) koloniler sayılarak sonuç log kob/mL olarak verilmiştir (Maragkoudakis vd., 2006). Canlı hücre oranı aşağıda belirtilen eşitlik kullanılarak belirlenmiştir.

$$\text{Canlı hücre oranı (\%)} = \frac{\text{Pankreatin içeren MRS'de canlı bakteri sayısı (log kob/mL)}}{\text{İnokülasyon başlangıç bakteri sayısı (log kob/mL)}} \times 100 \quad (3.4)$$

3.2.7 Yapay mide sıvısına direncinin belirlenmesi

Yapay mide sıvısı (%0,3 w/v pepsin ve %0,5 w/v NaCl) hazırlandıktan sonra, derişik HCl ile pH'ları sırasıyla 2 ve 3'e ayarlanmıştır. Aktif geliştirilen (37°C'de 18 saat) bakteri kültürü (30 mL) santrifüj edilerek ve iki kez fosfat tamponu ile yıkanmış ve 3 mL fosfat tamponunda çözündürülmüştür. Hazırlanan hücre süspansiyonundan 1 mL alınarak 10 mL yapay mide sıvısına ilave edilerek 37°C'de 4 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon işleminin 0, 1, 2, 3 ve 4'üncü saatlerinde örnekler alınarak MRS agara ekim yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda plaklarda üreme olup olmadığı belirlenmiş ve sonuçlar log kob/mL olarak verilmiştir (Vinderola ve Reinheimer, 2003).

3.2.8 Fenole karşı duyarlılığın belirlenmesi

Bakterinin fenol solüsyonu varlığında yaşama ve/veya canlılığını sürdürme yeteneği Xanthopoulos vd. (2000) tarafından bildirilen yöntemle göre yapılmıştır. Kısaca, bakteri kültürü (10^7 kob/mL), %0,4 fenol içeren MRS sıvı besiyerine inoküle edildikten sonra 37°C'de 24 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyonun 0 ve 24'üncü saatlerinde örnek alınıp seri dilüsyonlar hazırlandıktan MRS agara ekim yapılmış bakteri sayımı gerçekleştirilmiştir.

3.2.9 Otoagregasyon aktivitesi

MRS besiyerinde 37°C'de 18 saat geliştirilen bakteri kültürü 10000 g'de 15 dakika santrifüj edilemiştir. Pelletler iki kez pH'sı 7,0 olan fosfat tamponu ile yıkanmıştır. Pelete bakteri konsantrasyonu yaklaşık 10^8 kob/mL ($A_{600}=0,25\pm0,05$) olacak şekilde fosfat tamponu (5 mL) ilave edilmiş ve vortekslenerek çözündürülmüştür. Hücre süspansiyonları 2'şer mL örnekler şeklinde steril tüplere konularak porsiyonlara bölünmüş ve 37°C'de 24 saat bekletilerek otoagregasyon yetenekleri belirlenmiştir. İnkübasyonun 0, 2, 4, 6, 12 ve 24'üncü saatlerinde süspansiyonun üstünden 0,1 mL alınıp üzerine 4,9 mL fosfat tamponu eklenip karıştırıldıktan sonra 600 nm'de absorbans değerleri (Evolution 300 UV-Vis spektrofotometre, Thermo Fisher, Amerika Birleşik Devletleri) okunmuştur. Otoagregasyon yüzdesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Kos vd., 2003; Collado vd., 2008).

$$\text{Otoagregasyon (\%)} = \left(1 - \frac{A_t}{A_0}\right) \times 100 \quad (3.5)$$

Burada, A_t : 0, 2, 4, 6, 12 ve 24'inci saatteki absorbans değeri; A_0 ise sıfırıncı saatteki absorbans değeridir.

3.2.10 Patojen bakterilerle koagregasyon özelliğinin belirlenmesi

Koagregasyon analizi için hücre süspansiyonları otoagregasyonda belirtildiği gibi hazırlanmıştır. *Lb. plantarum* HP1 ve farklı patojen bakteri suşlarının tek başlarına ve karışım halinde eşit hacimde karıştırılan hücreleri (1 mL) 37°C'de çalkalanmadan 5 saat

inkübe edilmiştir. Karışım ve tek başına hücre süspansiyonlarının absorbans değerleri 600 nm de okunmuştur. Koagregasyon yüzde hesaplamaları aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır (Tuo vd. 2013).

$$\text{Koagregasyon (\%)} = \frac{[(A_{pat} + A_{probio})/2 - A_{karışım}]}{[(A_{pat} + A_{probio})/2]} \times 100 \quad (3.6)$$

Burada, A_{pat} ve A_{probio} inkübasyonun 5'inci saatinde probiyotik (A_{probio}) ve patojen bakteri (A_{pat}) hücrelerinin ayrı ayrı 600 nm'deki absorbans değerleri (kontrol örnekleri); $A_{karışım}$ ise patojen bakteri ile probiyotik bakterinin karışımının absorbans değerini ifade etmektedir. Koagregasyon analizinde patojen bakteri olarak *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhymurium*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *E. faecalis* ve *E. faecium* kullanılmıştır.

3.2.11 Hidrokarbonlara Tutunma Yeteneği

Lb. plantarum HP1'in hidrokarbonlara tutunma veya hidrofobisite yeteneği Collado vd. (2008)'nin belirttiği ksilen (apolar solvent) ekstraksiyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bakteri süspansiyonları yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. Fosfat tamponunda çözündürülmüş bakteri süspansiyonuna (yaklaşık 108 kob/mL) eşit hacimde ksilen ilave edilmiş ve 2-fazlı bu ortam 3 dakika vorteksle karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon işleminden sonra sıvı faz uzaklaştırılıp alttaki fazın 600 nm'de absorbans değeri belirlenmiştir. Sulu fazın absorbans değerindeki azalma, hücre yüzeyi hidrofobisitesinin (%H) bir ölçüsü olarak kabul edilmiştir. Bakterinin hidrokarbonlara affinitesi (hidrofobisitesi) aşağıda verilen formül kullanılarak belirlenmiştir.

$$\text{Hidrofobisite (\%)} = \frac{(A_0 - A)}{A_0} \times 100 \quad (3.7)$$

Burada, A_0 ve A değerleri sırasıyla organik solventler (ksilen) ile ekstraksiyondan önce ve sonraki absorbans değerleridir. Ayrıca bakteri organik çözücülerden kloroform ve etil asetata karşı da test edilmiştir. Kloroform monopolar ve asidik solvent, etil asetat monopolar ve bazik solventtir. Yalnızca ksilene bakteriyel tutunma, hücre yüzeyinin

hidrofobikliğini veya hidrofilikliğini yansıtmaktadır. Kloroform ve etil asetat ile elde edilen hidrofobisite, sırasıyla bakterinin elektron verici (bazik) ve elektron alıcı (asidik) özelliklerinin bir ölçüsü olarak kabul edilmiştir (Bellon-Fontaine vd., 1996).

3.2.12 Antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi

Lb. plantarum HP1'in antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için indikatör bakteri olarak patojen bakterilerden *Salmonella Enteritidis*, *S. Typhimurium*, diğer *S. enterica* serovarları, *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*'in farklı suşları ile *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Lactococcus* cinsine ait bazı türlere karşı belirlenmiştir. Bu amaçla aktif geliştirilen (37 °C'de 18 saat) *Lb. plantarum* HP1 kültürü 10000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra süpernatant alınarak 0,45 µm çaplı steril membran filtreden (Sartorius, Almanya) geçirilmiştir. İndikatör bakterilerden laktik asit bakterileri MRS besiyerinde, patojenler ise BHI besiyerinde sırasıyla uygun sıcaklıkta (32-37°C) 18 saat geliştirilmiştir. Hazırlanan indikatör bakteriler %1 oranında 48-50°C'deki 5 mL yarı katı besiyerine (%0,7 agar içeren MRS ve BHI) inokule edilip karıştırılmış ve daha önce Petri kutularına dökülmüş katı besiyeri üzerine ilave edilmiştir. Noktalama yöntemi (spot agar yöntemi) kullanılarak besiyeri katılaştıktan sonra antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiş süpernatantlardan ikinin katları (1/2, 1/4, 1/8 vs.) şeklinde hazırlanan her dilüsyondan 10 µL alınmış ve nokta halinde indikatör mikroorganizma içeren yumuşak agarlı besiyeri üzerine konulmuştur. Bu petriler 32-37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve bu sürenin sonunda oluşan 2 mm veya daha büyük inhibisyon zonları pozitif olarak değerlendirilmiş ve oluşan zonların çapları ölçülmüştür. İnhibitör aktivite, arbitrary ünite (AU) olarak ifade edilmiştir. Arbitrary ünite, inhibisyon gösteren en son dilüsyonun tersi şeklinde tanımlanmaktadır (Bhunja vd. 1988; Isleroglu vd., 2012). İnhibitör aktivitenin düşük pH yani asitlikten kaynaklanıp kaynaklanmadığı süpernatantın pH değeri 7'ye ayarlanarak ve ayrıca süpernatant katalaz, proteolitik ezmimlere tabi tutularak inhibitör aktivitenin hidrprjen peroksit veya bakteriyosin gibi protein kaynaklı bir bileşikten kaynaklanıp kaynaklandığı da belirlenmiştir (Isleroglu vd., 2012).

3. 3 İstatiksel Analiz

Her bir analiz en az üç kez tekrarlanmış ve bakteri sayıları log kob/mL olarak verilmiştir. Araştırmadan elde edilmiş verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS (IBM SPSS Statistics 25) programı ile tek yönlü ANOVA analizi, ortalamalar arasında görülen farklılıkların önem seviyesinin kontrolünde ise Tukey testinden yararlanılmıştır.



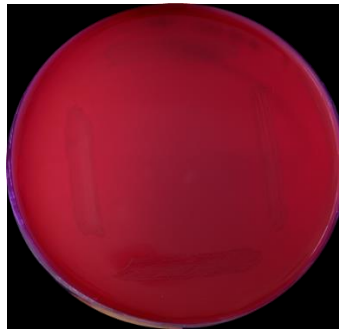
BÖLÜM IV

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 *Lb. plantarum* HP1'in Hemoliz Aktivitesi

Hemoliz, patojenler arasında yaygın bir virülans faktördür, mikroorganizmanın demire ulaşmasını kolaylaştırır ve konakta anemi ile ödeme neden olur. Alfa (α) hemoliz, gerçek bir hemoliz olmayıp, bakteri tarafından üretilen hidrojen peroksitin hemoglobini yeşil methemoglobine okside etmesi ve bakteri kolonisine yeşil rengi vermesiyle oluşur. Öte yandan, beta hemoliz (β -hemoliz), kırmızı kan hücrelerinin parçalanmasına ve dolayısıyla kanlı agarda koloni etrafının berrak ve şeffaf görünmesine neden olmaktadır. Dolayısıyla hemoliz, patojenik mikroorganizmalar arasında bilinen bir virülans faktör olduğu için probiyotik bakterilerin hemolitik aktiviteye sahip olmaması güvenlik açısından bir ön koşul olarak kabul edilmektedir (Elli vd., 2000; FAO/WHO, 2002).

Kanlı agarda yapılan analiz sonucunda *Lb. plantarum* HP1'in hemoliz negatif olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1). *Lb. plantarum*'un hemolitik aktiviteye sahip olmaması önemli bir özelliktir çünkü daha önce de ifade edildiği üzere β -hemoliz virülan faktörlerden biri olduğu için probiyotik mikroorganizmaların bu aktivitelere sahip olmaması tercih edilir. Benzer şekilde *Lb. plantarum* MJM60319, MJM60298 ve MJM60399 şuşlarının (Palaniyandi vd., 2017), *Lb. plantarum* RYPR1 ve diğer 5 farklı *Lactobacillus* şuşlarının hemolitik aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir. Maragkoudakis vd., (2006) süt ürünlerinden izole ettikleri 29 adet *Lactobacillus* şuşlarının hemoliz negatif olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 4.1. *Lb. plantarum* HP1'in hemoliz aktivite testi

4.2 Antibiyotiğe Duyarlılık

Bu çalışmada, disk difüzyon yöntemi kullanılarak *Lb. plantarum* HP1 suşunun meropenem, rifampicin, tetrasiklin, penisilin G, gentamisin, piperasillin, basitrasin, vankomisin, trimethoprim, seftazidim, erithromisin, telkoplanin ve ampisillin antibiyotiklerine karşı direnci belirlenmiştir. İnhibisyon zonları ölçülüp duyarlılık direnç (R), orta düzeyde duyarlılık (MS) ve duyarlılık (S) cinsinden ifade edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Çizelgeden de görüldüğü üzere *Lb. plantarum* HP1 göreceli olarak rifampisin’e orta duyarlı, trimethoprim’e dirençli, meropenem, tetrasikline, penisilin G, gentamisin, piperasillin, basitrasin, vankomisin, seftazidim, erithromisin, telkoplanin ve ampisillin antibiyotiklerine karşı oldukça duyarlı olduğu belirlenmiştir. Trimethoprim antibiyotiği bakteriyel DNA sentezini inhibe eden bir antibiyotik olup daha çok üriner enfeksiyonlarda kullanılmaktadır (Brogden vd., 1982). Antibiyotik duyarlılığının önemli bir avantajı, bu bakteri vasıtasıyla antibiyotik direnç genlerinin patojen ve diğer bakterilere transferinin mümkün olmamasıdır. Antibiyotik direnç genleri genellikle plazmitler üzerinde taşındığından konjugasyon yoluyla diğer bakterilere aktarılabilirler.

Çizelge 4.1. *Lb. plantarum* HP1’in antibiyotiklere direnç özelliği

Antibiyotik ve konsantrasyon µg/disk	Sonuç
Meropenem, 10 µg	S
Rifampisin, 5 µg	MS
Tetrasiklin, 30 µg	S
Penisilin G, 10 µg	S
Gentamisin, 10 µg	S
Piperasillin, 100 µg	S
Basitrasin, 10 µg	S
Vankomisin, 30 µg	S
Trimethoprim, 5 µg	R
Ceftazidim, 10 µg	S
Erithromisin, 15 µg	S
Telcoplanin, 30 µg	S
Ampisillin, 10 µg	S

S: Duyarlı; MS: Orta düzeyde duyarlı; R: Dayanıklı

Onüç farklı *Lb. plantarum* suşunun probiyotik özelliklerinin belirlendiği bir çalışmada, incelenen suşların hepsinin tobramisin, nalidiksik asit, fusidik asit, ofloksasin, amikasin, basitrasin, aztreonam, nitrofurantoin and sefoksitin dayanıklı olduğu, bazı suşlarının ampisillin, gentamisin, tetrasiklin, vankomisin ve polymiksin B'ye karşı duyarlı olduğu bulunmuştur (Cebeci ve Gurakan, 2003).

Başka bir çalışmada lahanada turşusundan izole edilen 7 farklı *Lb. plantarum* suşlarının erithromisin, kloromisetin, penisillin ve rifampisine karşı duyarlı olduğu, kanamisin, vankomisin, polymiksin B, streptomisin ve gentamisine karşı dayanıklı oldukları tespit edilmiştir (Yu, Z. vd., 2013).

Lb. plantarum ZDY 2013'nin macrolide (erythromycin), sulfonamides (rifampicin, sulphamethoxazole), aminoglycoside (streptomisin, gentamicin, kanamisin), tetrasiklin ve β -laktamlara (amoksisillin, penisillin) karşı duyarlı, glikopeptitler (bacitracin, polymiksin b), quinolonlar (ciprofloksasin, nalidiksik asit) ve kefalosporinlere (kefoksitin) karşı dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Huang vd., 2015).

Lb. plantarum RYPR1, RYPR9, RYPC5, RYPC7, RYPC15 ve RYPK3 suşlarının nalidiksik asit, siprofloksasin ve vankomisine direnç gösterdiği, ampisilin ve eritromisine karşı duyarlı oldukları ifade edilmiştir. RYPR1 izolatının test edilen antibiyotiklere karşı maksimum direnç gösterdiği belirtilmiştir (Yadav vd., 2016).

4.3 Aside Dayanıklılık

Hidroklorik asit, mide suyunun toplam hacminin %0,5'ini oluşturan ana bileşenlerinden biridir. Ancak mide asidindeki tek önemli madde bu değildir. Mide suyu ayrıca çok miktarda potasyum klorür ve sodyum klorür içerir. Mide asidinin pH değeri tüm bu maddelere rağmen 1 ila 2 civarında ve yiyecekleri sindirmek için yeterli asitlik değerine sahiptir (Chou ve Weimer, 1999). Gıdanın mideden geçiş süresi ise 90 dakikadır. Midedeki kök hücre adı verilen diğer hücreler, biri pepsinojen olarak adlandırılan diğer önemli maddeleri salgılar. Mide asidi pepsinojen ile temas ettiğinde onu pepsin adı verilen aktif bir enzime dönüştürür. Pepsin bir proteaz enzimidir. HCl olmadan pepsinojen asla pepsine dönüştürülemez ve vücut tüketilen gıdalardan proteinleri etkili bir şekilde sindiremez. HCl ise pepsin olmadan proteinleri kendi başına parçalayamaz.

Hidroklorik asit ayrıca bazı vitamin ve minerallerin emilmesine yardımcı olur. Hidroklorik asidin midedeki bir başka işlevi de enfeksiyon ve hastalığınıza neden olabilecek mikroorganizmaları öldürme yeteneğidir. Mide, bağışıklık sisteminin resmi bir bileşeni olmasa da, HCl asit tarafından oluşturulan asidik ortam, bakteri veya virüslerin yaşamasını engeller. Bu nedenle sindirime ek olarak mide asidinin varlığı da hastalık riskini azaltmaya yardımcı olur. Asit toleransı, bir probiyotik suşun mide asidik koşullarında hayatta kalabilmesi gerektiğinden önemli bir seçim kriteridir (Havenaar vd., 1992; Castorena-Alba vd., 2018). Bu nedenle probiyotik mikroorganizmanın mide pH değeri ve mideden geçiş süresini tolere edip edemediğini belirlemek için in-vitro tolerans testi kullanılır (Castorena-Alba vd., 2018).

Lb. plantarum HP1'nin düşük pH değerlerindeki stabilitesi Çizelge 4.2'de verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü üzere, pH 1'de canlılığını inkübasyon işleminin birinci saatinden sonra tamamen kaybettiği belirlenmiştir. pH değeri 2'ye ayarlanmış besi ortamı koşullarında ise inkübasyon işlemin birinci saatinde sayısının 9,49'dan 3,65'ye, ikinci saatinde ise 2,28 log kob/mL'ye düştüğü, dolayısıyla sırasıyla sayısında 5,84 ve 7,21 log'luk bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). pH değeri 3'e ayarlanan besiyerinde ise 3 saatlik inkübasyon işlemi süresince canlılığını koruduğu ve sayısında önemli bir değişimin olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Yu, Z. vd., (2013) 7 farklı *Lb. plantarum* suşlarının probiyotik özelliklerini belirledikleri çalışmada, üç suşun pH 2'de inkübasyon işleminin birinci saatinden itibaren aktivitelerini tamamen kaybettikleri, geriye kalan diğer suşların ise sayılarında ise yaklaşık 2 log'luk azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir. pH değeri 3'e ayarlanan ortamda ise tüm suşların canlılıklarını korudukları ve sayılarında önemli bir değişimin olmadığı rapor edilmiştir.

Bu çalışmaya benzer olarak, *Lb. plantarum* ZDY 2013 pH 3'te canlılığını koruduğu ve sayısında önemli bir değişimin olmadığı, ancak pH 2'de inkübasyon süresinin uzamasıyla birlikte sayısının azaldığı belirtilmiştir (Huang vd., 2015). *Lb. plantarum* RYPR1, RYPR9 RYPC5, RYPC7, RYPC15, RYPK3 suşlarının pH 2'de 2 saatlik inkübasyondan sonra canlılıklarını korudukları ve sayılarında önemli bir değişimin olmadığı bildirilmiştir (Yadav vd. 2016). Maragkoudakis vd. (2006) 29 farklı *Lactobacillus* tür/suşlarının

Çizelge 4.2. Düşük pH değerlerinin *Lb. plantarum* HP1'in canlılığı üzerine etkisi

pH değeri	İnkübasyon Süresi					
	0.saat		1. saat		3. saat	
	Log kob/mL	% Canlılık Oranı	Log kob/mL	% Canlılık Oranı	Log kob/mL	% Canlılık Oranı
pH 1	9,38±0,22	%100	0,00	0	0,00	0
pH 2	9,49±0,18	%100	3,65±0,09	38,52	2,28±0,06	24,05
pH 3	9,73±0,12	%100	9,68±0,14	99,45	9,67±0,15	99,43

probiyotik özelliklerini belirledikleri çalışmada, çoğu *Lactobacillus*'ların pH 1'de bir saatlik inkübasyon sonucunda aktivitelerini tamamen kaybettiklerini ifade etmişlerdir. pH 2 koşullarında ise bazılarının canlılıklarını tamamen kaybettikleri, bazılarında ise sayılarında önemli düzeyde azalma meydana geldiği, pH 3'te sayılarında önemli bir azalmanın olmadığı belirtilmiştir.

İnsan midesindeki pH değeri 1 (açlık sırasında) ile 4,5 (yemekten sonra) arasında değişir ve gıda sindirimi yaklaşık 3 saate kadar sürebilir. *Lactobacillus* suşlarının birçok fermente süt ürününün ortak nihai asitliği olan pH 4,6'da hayatta kaldığı bilinmektedir. İncelenen suşun 3 saat pH 3'e maruz bırakıldığında canlılığını tamamen koruduğu, ancak pH 1'e 1 saat maruz bırakıldığında canlılığını tamamen kaybettiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, *Lactobacillus* suşlarının 2,5-4,0 pH değerlerine maruz kaldıklarında canlılıklarını koruyabildikleri ancak daha düşük pH değerlerinde canlılık kaybı gösterdikleri önceki benzer çalışmalardan elde edilenlerle uyumludur (Jacobsen vd., 1999; Dunne ve Mahony, 2001; Maragkoudakis vd.,2006; Yadav vd. 2016; Huang vd, 2015; Yu vd., 2013).

4.4 Safra Tuzunun *Lb. plantarum* HP1'in Canlılığı Üzerine Etkisi

Safra tuzları canlı hücreler için toksiktir ve safra tuzu toleransı, laktik asit bakterilerinin ince bağırsakta yaşaması için gerekli olan temel özelliklerden biri olarak kabul edilir (Succi vd., 2005). Safra tuzu toleransı, konakçının ince bağırsağında bakterilerin metabolik aktivitesi ve kolonizasyonu için ön koşuldur (Havenaar vd., 1992). Safra tuzları, güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip organik bileşiklerdir. Amfipatik özelliği safra tuzuna deterjanlık özellik kazandırdığından hücre membran işlevselliğine zarar vererek veya hasara neden olarak antimikrobiyal etki göstermektedir. Ayrıca safra tuzları

oksidatif strese, DNA hasarına ve proteinlerin yanlış katlanmasına neden olur (Margolles ve Yokota, 2011).

Safra tuzunun *Lb. plantarum* HP1'in canlılığı üzerine etkisi Çizelge 4.3'te verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü üzere *Lb. plantarum* HP1'in safra tuzuna karşı oldukça dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Safra tuzunun %0,3 ve %0,5 oranında bulunan ortamda 4 saatlik süresince aktivitesinde veya sayısında yaklaşık 0,67-0,93 log'luk azalma veya canlılığında %8,94-9,29'luk bir kaybın meydana geldiği ($p>0,05$); %1,0 safra tuzu varlığında ise 1,33 log'luk (%13,21) belirlenmiştir ($p<0,05$).

Çalışmamıza benzer olarak, Yu vd., (2013) *Lb. plantarum*'un 7 farklı suşu ile yaptıkları araştırmada, suşların hepsinin %0,3 ve 0,5 safra tuzu varlığında sayısında önemli bir azalmanın olmadığı, %1,0 varlığında ise 1 log'luk azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. *Lb. plantarum* HU, NCIMB 1193, 80, DSM 20174, DSM 20246, 37 ve ATCC4356 (Cebeci ve Gürakan, 2003) LC56 (Hamon vd., 2011) ve LP3 (Karasu vd. 2010) suşlarının safra tuzuna duyarlı oldukları belirtilmiştir. Huang vd. (2015) yaptıkları çalışmada *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* K3, K4 ve E41 suşlarının %0,3 safra tuzu içeren besiyeri ortamında canlılıklarını korudukları ve 6 saatlik inkübasyon işlemi sonunda sayılarında yaklaşık 0,27-3,4 log arasında bir azalmanın olduğunu belirtmişlerdir. Beş farklı LAB'nin probiyotik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, düşük asitliğe ve safra tuzuna karşı en yüksek direnci *Lb. plantarum* E680 suşunun gösterdiği bildirilmiştir (Zheng vd., 2020). Zago vd. (2011) süt orijinli *Lb. plantarum* izolatlarının safra tuzuna toleransının %50,93-69,83, Guo vd., (2015) *Lb. plantarum* S04 ve S10 suşlarının düşük asitliğe (2,5 pH'da 3 saat) toleranslarının %63,2-73,4 arasında değiştiğini bulmuşlardır.

Çizelge 4.3. Safra tuzunun *Lb. plantarum* HP1'in canlılığı üzerine etkisi

Örnek	İnkübasyon süresi (saat)		% Canlılık
	0.	4.	
	Hücre sayısı (log kob/mL)		
% 0,3 safra tuzu	10,08±0,18	9,41±0,15	93,32
% 0,5 safra tuzu	10,01±0,15	9,14±0,21	90,71
% 1,0 safra tuzu	10,06±0,23	8,75±0,17	86,79
Kontrol	10,08±0,11	10,36±0,20	102,75

Lb. plantarum HP1'in farklı konsantrasyonlarda safra tuzuna dayanıklı olması muhtemelen bakteri hücrelerinde safra direnci ile ilgili proteinleri sentezlemesinden

kaynaklandığı düşünülmektedir (Hamon vd., 2011). Asit, safra ve GI yolunu simüle eden koşullara toleranslı olması ve canlılığını koruması, *Lb. plantarum* HP1 suşunun mideden ve safradan geçerek etkili bir şekilde işlevini yapma özelliği kazandıracaktır.

4.5 Pepsinin *Lb. plantarum* HP1'in Canlılığı Üzerine Etkisi

Midenin ana proteazı olan pepsin, gıda proteinlerinin daha küçük peptitlere sindirilmesinde önemli bir rol oynar ve sindirim fonksiyonunun yaklaşık %20'sini gerçekleştirir. Pepsin enzimi mide duvarında pepsinojen adı verilen zimojen formunda salgılanır ve mide içindeki hidroklorik asit vasıtasıyla aktive olur (Moradi vd., 2020). *Lb. plantarum* HP1'in pepsine toleransını belirlemek için MRS besiyerinin pH değeri HCl asit kullanılarak 2,0 ve 3,0 ayarlanmış ve pepsin enzimi de ilave edilerek gastrik koşul oluşturulmuş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4'te sunulmuştur. Analiz sonucunda *Lb. plantarum* HP1'in düşük pH koşullarında pepsin enzimden etkilenmediği ve elde edilen sonuçların düşük pH koşullarında elde edilen sonuçlarla (Çizelge 4.2) uyumlu olduğu gözlenmiştir. Pepsin içeren pH 2,0 ve pH 3,0 koşullarında inkübasyon işleminin birinci saatinde *Lb. plantarum* HP1'in sayısında 6,04 ($p<0,05$) ve 0,12 ($p>0,05$) log kob/mL, üçüncü saatinde 7,20 ($p<0,05$) ve 0,29 ($p>0,05$) log kob/mL azalma olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Pepsin içeren gastrik ortamda *Lb. plantarum* HP1 direnci

Örnek	İnkübasyon Süresi					
	0.		1.		3.	
	Log kob/mL	% Canlılık	Log kob/mL	% Canlılık	Log kob/mL	% Canlılık
Pepsin + pH 2,0	9,57±0,09	100	3,53±0,08	36,89	2,37±0,06	24,76
Pepsin + pH 3,0	9,65±0,10	100	9,53±0,13	98,72	9,37±0,18	97,02

Maragkoudakis vd., (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, 29 farklı *Lactobacillus* tür/suşlarının pH 2,0'de pepsin enzimi varlığında canlılıklarını korumada geniş bir varyasyon sergilediklerini belirlemişlerdir. Test edilen 8 suşun canlılıklarını tamamen kaybettikleri, diğer suşların sayılarında ise 1 ile 5,4 log'luk azalma olduğu bildirilmiştir. *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* K3, K4 ve E41 suşlarının pH 2,5'da pepsin varlığında canlılıklarını korudukları ve 6 saatlik inkübasyon süresince sayılarında önemli bir azalmanın olmadığı bildirilmiştir (Huang vd., 2015).

4.6 Pankreatinin *Lb. plantarum* HP1'in Canlılığı Üzerine Etkisi

Pankreas enzimleri, pankreas kanalı yoluyla ince bağırsağa salgılanır ve besinlerdeki proteinlerin, karbonhidratların ve yağların sindiriminde görev alırlar. Pankreas enzimlerinin varlığını tolere edebilme yeteneği, probiyotik bakteri seçiminde diğer önemli bir kriterdir. Pankreatin enziminin optimum pH değeri 8,0'dır (Plessas vd., 2017). *Lb. plantarum* HP1 pankreatin varlığında canlılığını koruduğu ve 4 saatlik inkübasyon işlemi sonunda sayısının 9,54 log kob/mL'den 10,55 log kob/mL'ye çıktığı ve %10,66'lık büyüme sergilediği belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Benzer şekilde *Lactobacillus* sp. G3_4_1TO2 ile *Lb. fermentum* (Tallapragada vd., 2018), NKC903, NKC17 (3b), NKC6L2 ve NKC18 (Khagwal vd., 2014) ve farklı *Lactobacillus* suşlarının (Maragkoudakis vd., 2006) pankreatine dayanıklı olduklarını ve pankreatin bulunan besiyerinde geliştiklerini belirtmişlerdir.

Çizelge 4.5. Pankreatinin *Lb. plantarum* HP1'in canlılığı üzerine etkisi

Örnek	İnkübasyon süresi (saat)		% Canlılık
	0. (log kob/mL)	4. (log kob/mL)	
<i>Lb. plantarum</i> HP1	9,54±0,21	10,55±0,17	110,66

4.7 Yapay Mide Sıvısına Karşı Direnç Özelliğinin Belirlenmesi

Günde yaklaşık 2,5 L mide suyu (pH değeri yaklaşık 2,0) atılır (Charteris vd., 1998), bu da sindirim yoluyla vücuda alınan mikroorganizmaların imhasında önemli rol oynamaktadır (Kimoto vd., 2000). Daha önce bahsedildiği üzere, bu çalışmada pH değeri 2,0 ve 3,0 olan yapay mide suyu (pepsin %0,3 w/v ve NaCl %0,5 w/v) oluşturulmuş ve bu koşullarda *Lb. plantarum* HP1'in stabilitesi belirlenmiş ve analiz sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü üzere, yapay mide sıvısında pH 2'de *Lb. plantarum* HP1 inkübasyon işleminin 3'üncü saatine kadar canlılığını koruduğu ve 4'cü saatte aktivitesini tamamen kaybettiği, yani inkübasyon süresinin uzamasıyla birlikte canlı kalan bakteri sayısının azaldığı belirlenmiştir ($p < 0,05$). Mide sıvısı pH'sında söz konusu bakterinin daha stabil olduğu ve inkübasyon işleminin sonuna kadar canlılığını koruduğu ve sayısında da önemli bir değişimin olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Elde

edilen sonuçların *Lb. plantarum* HP1'in düşük pH değerleri (Çizelge 4.2) ve pepsine (Çizelge 4.4) karşı direnci sonuçlarıyla uyumlu olduğu gözlenmiştir.

Yadav vd. (2016) yaptıkları çalışmada, *Lb. plantarum* RYPR1 ve diğer *Lactobacillus* suşları RYPR9, RYPC5, RYPC7, RYPC15 ve RYPK3 suşlarının pH değeri 3,0 olan yapay mide sıvısında 3 saatlik inkübasyon süresince biyolojik aktivitelerini yani canlılıklarını (%80,9-81,56) koruduklarını belirtmişlerdir. Ancak Vinderola ve Reinheimer (2003) starter bakterilerin probiyotik özelliklerini belirledikleri bir çalışmada, analiz edilen *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Bifidobacterium* türlerinin yapay mide sıvısında canlılıklarını yüksek oranda koruyamadıklarını ifade etmişlerdir.

4.8 Fenolün *Lb. plantarum* HP1'in Canlılığı Üzerine Etkisi

Enterobacteriaceae, Peptostreptococcus, Clostridia ve Eubacteria gibi bağırsak bakterileri, üreyi amonyak, fenol ve indolamin gibi potansiyel olarak toksik maddelere dönüştürebilmektedirler. Ayrıca bağırsak bakterileri diyet proteinlerinden hidroliz yoluyla oluşturdukları aromatik amino asitleri deaminasyona uğratarak fenol oluşturabilmektedirler. Bu nedenle probiyotik bakterilerin gastrointestinal koşullarda canlılıklarını devam ettirebilmelerinde için fenol direnci önem arz etmektedir (Yadav vd., 2016; Divisekera vd., 2019; Singhal vd., 2019).

Dolayısıyla %0,4 fenole direnç, gastrointestinal koşullar altında incelenen bakterinin hayatta kalmasını kontrol etmek için yapılan önemli bir analizdir. *Lb. plantarum* HP1'in fenole karşı tolerans sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir. Yapılan analiz sonucunda *Lb. plantarum* HP1'in %0,4 fenol varlığında canlılığını koruduğu ve 24 saatlik inkübasyon işlemi sonucunda sayısında önemli bir değişimin olduğu ve 9,31 log kob/mL'den 9,20 log kob/mL'ye düştüğü gözlenmiştir ($p < 0,05$). Bu sonuç, *Lb. plantarum* HP1'in insan gastrointestinal koşullarında hayatta kalabileceğini kanıtlamaktadır.

Çizelge 4.6. *Lb. plantarum* HP1'in yapay mide sıvısına karşı direnci

Örnek	İnkübasyon Süresi (Saat)								
	0.	1.		2.		3.		4.	
	Log kob/mL	Log kob/mL	% Canlılık	Log kob/mL	% Canlılık	Log kob/mL	% Canlılık	Log kob/mL	% Canlılık
Yapay mide+ pH 2,0	9,66±0,12	3,42±0,07	35,46	2,77±0,06	28,69	2,24±0,08	23,17	1<	0
Yapay mide+ pH 3,0	9,67±0,18	9,61±0,20	99,31	9,55±0,24	98,75	9,07±0,19	93,74	8,62±0,14	89,16

Çizelge 4.7. *Lb. plantarum* HP1'in fenole karşı direnci

Örnek	İnkübasyon Süresi (Saat)		% Canlılık
	0. (log kob/mL)	24. (log kob/mL)	
%0,4 fenol içeren MRS	9,31±0,10	9,20±0,12	98,88
Kontrol (MRS)	9,37±0,08	10,25±0,25	109,38

Yadav vd. (2016) *Lb. plantarum* RYPR1 ve *Lactobacillus*'un diğer RYPR9, RYPC5, RYPC7, RYPC15 ve RYPK3 suşları fenol direnci açısından farklılıklar sergiledikleri, *Lb. plantarum* RYPR1 suşun en direçli suş, RYPK3 ve RYPC15 suşlarının ise en duyarlı suşlar olduklarını bildirmişlerdir. Yalnızca *Lb. plantarum* RYPR1 ve RYPR9, 24 saatlik bir inkübasyon sonunda hayatta kalabilmiştir.

Pinto, M. G. V. vd. (2006) analiz ettikleri 10 farklı *Lb. plantarum* suşlarından sadece dördünün fenolü tolere edebildiği bildirilmiştir. Doğal fermente gıda kaynaklarından izole edilen LAB'lerin fenol toleranslı olduğunu bildiren birçok çalışma bulunmaktadır (Ghabbour vd., 2011).

4.9 *Lb. plantarum* HP1'in Otoagregasyon ve Koagregasyon Özelliği

Epitel hücrelere ve mukozal yüzeylere tutunma yeteneği, probiyotiklerde aranan önemli özelliklerden biri olarak kabul edilmektedir. Diğer bir ifade ile probiyotik suşların gastrointestinal sistemde tutunması ve kolonizasyonu, insanlar üzerinde faydalı etki göstermeleri için ön koşuldur (von Ossowski vd., 2010). Bağırsak epitel hücrelerine tutunduğu zaman peristaltik hareketle bağırsakta hızla uzaklaştırılmasını önlediği gibi bu ekosistemde rekabet avantajı da sağlamaktadır. Bakteriyel tutunma başlangıçta iki yüzey arasındaki spesifik olmayan fiziksel etkileşimlerle, daha sonra adezinler (genellikle proteinler) ve tamamlayıcı reseptörler arasındaki spesifik etkileşimler ile gerçekleşmektedir (Kos vd., 2003). Probiyotik suşların otoagregasyonu, bağırsak epitel hücrelerine tutunması için gereklidir, koagregasyon yetenekleri ise patojenik mikroorganizmaların kolonizasyonu önleyen bir bariyer olarak rol oynayabilmektedir (Del Re vd., 2000; Kos vd., 2003). Araştırmacılar bazı probiyotik suşların otoagregasyon yoluyla bir bariyer oluşturarak veya koagregasyon yoluyla patojenik bakterilerin bağırsak mukozasına yapışmasını engelleyebildiği bildirmektedirler (Collado vd., 2007a; Vlková vd., 2008; Ferreira vd., 2011). Potansiyel bir patojen ile koagregasyon, probiyotik bakteri ürettiği antimikrobiyal maddeler ile gastrointestinal sistemde patojenik suşların gelişmesini önleyebilmektedir (Reid vd., 1988). Yüksek otoagregasyon kabiliyetine sahip olan laktobasiller, yüksek hidrofobiklik gösterirler (Chen vd., 2010; Nikolic vd., 2010). Bakterilerin hücre duvarı yüzeyindeki proteinler, glikoproteinler ve taykoik ve lipotaykoik asitlerin suşların tutunmasına, otoagregasyonunda ve hidrofobikliğinde önemli rol oynadıkları bildirilmiştir (Lahtinen vd., 2010; Goh Y. J. ve Klaenhammer,

2010). Probiyotikler epitel hücreye tutunduklarında bağırsakta stabil bir şekilde işlev görebilirler. Bazı laktobasillerde tutunma yeteneği ile hidrofobiklik arasında bir ilişki gözlemlenmiştir. Bazı çalışmalarda, suşlar guanidin-HCl ile muamele edildiğinde, yüzeye bağlı proteinler dışındaki faktörlerin tutunmaya dahil olduğu bulunmuştur (Kos vd., 2003).

Lb. plantarum HP1'in otoagregasyon ve koagregasyon özellikleri Çizelge 4.8 ve 4.9'da sunulmuştur. İncelenen bakterinin otoagregasyonunun inkübasyonun ikinci saatinde %21,13 olduğu ve inkübasyon süresinin artmasıyla arttığı gözlenmiştir. İnkübasyonun 6'cı ve 24'cü saatlerinde sırasıyla %46,14 ve 72,32 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.8). *Lb. plantarum* HP1'in koagregasyon yeteneği 5 farklı patojen bakteri kullanılarak belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda koagregasyon değerinin %20,86 ile %35,92 arasında değiştiği, en düşük koagregasyonu *S. aureus*'a, en yüksek koagregasyonu ise *S. Enteritidis*e karşı gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Sonuçlardan da görüldüğü üzere *Lb. plantarum* HP1 yüksek otoagregasyon ve koagregasyon yeteneği sergilemiştir.

Tuo vd. (2013) yaptıkları bir çalışmada, 15 farklı *Lb. plantarum* suşlarının 37°C'de 5 saatlik inkübasyondan sonra otoagregasyon değerlerinin %24,83 ila %33,08, koagregasyon değerlerinin ise %21,36 ile %27,25 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Pozitif kontrol olarak kullanılan *Lb. rhamnosus* GG'nin en yüksek otoagregasyon yeteneğine (%41,39) sahip olduğu, koagregasyon değerinin ise %21,86 olduğu belirtilmiştir. Yadav vd. (2016) *Lb. plantarum* RYPR1 otoagregasyon değerinin %81,94, *Lactobacillus* RYPR9, RYPC5, RYPC7, RYPC15 ve RYPK3 suşlarının ise %53,42 ile %65,99 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Çizelge 4.8. *Lb. plantarum* HP1'in otoagregasyon özelliği

Örnek	İnkübasyon Süresi (Saat)				
	2.	4.	6.	12.	24.
<i>Lb. plantarum</i> HP1 otoagregasyon derecesi (%)	21,13±3,57	30,65±0,01	46,14±1,19	55,65±2,38	72,32±4,16

Çizelge 4.9. *Lb. plantarum* HP1'in 37°C'de 5 saat inkübasyon işlemi sonunda koagregasyon özelliği

Patojen Bakteri	<i>Lb. plantarum</i> HP1 ile Koagregasyon (%)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	24,35±0,42
<i>Salmonella</i> Enteritidis	35,92±1,12
<i>E. coli</i> O157:H7	23,88±0,32
<i>Listeria monocytogenes</i>	23,98±0,24
<i>Staphylococcus aureus</i>	20,86±0,50
<i>Enterococcus faecalis</i>	29,47±0,22
<i>Enterococcus faecium</i>	33,42±0,28

Lb. plantarum subsp. *plantarum* K3, K4 ve E41 suşlarının otoagregasyon değerlerinin inkübasyon işleminin ikinci saatinde sırasıyla %23,1, % 19,4 ve %20,3, beşinci saatinde ise % 52,6, %41,0 ve %47,5 olduğu ve incelenen LAB'leri arasında *Lb. plantarum* suşlarının en yüksek otoagregasyon yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar çalışmamıza benzer olarak bakterilerin otoagregasyon yeteneklerinin inkübasyon süresinin uzamasıyla birlikte arttığını belirtmişlerdir (Huang vd., 2015).

4.10 *Lb. plantarum* HP1'in Hidrokarbonlara Tutunma Özellikleri

Bakterilerin hidrofobiklik fenotipik özelliği, tutunma (adezyon) kapasiteleri ile ilgilidir (Del Re vd., 2000). Patel vd. (2009) bakteriyel hücre yüzeyi hidrofobikliği ile oto-agregasyon yeteneğinin doğrudan ilişkili olduğunu ve hidrofobik özelliğin, oto-agregasyonun belirleyici etmenlerden biri olduğunu belirtmişlerdir. Del Re vd. (2000). suşların, otoagregasyon yeteneğine ve hidrokarbonlara güçlü hidrofobisite göstermeleri durumunda hücre yüzeylerine tutunabileceklerini belirtmişlerdir.

Lb. plantarum HP1'in farklı hidrokarbonlara karşı hidrofobite yeteneği Çizelge 4.10'da verilmiştir. Çizelgeden de görüldüğü üzere bakterinin hidrokarbonlara karşı hidrofobisitesinin iyi olduğu ve %44,82-51,34 arasında değiştiği ve en yüksek kloroforma karşı gösterdiği belirlenmiştir.

Kos vd. (2003) yaptıkları çalışmada, *Lb. plantarum* L4 ksilen, kloroform ve etil asetatı karşı hidrofobisitesinin sırasıyla %6,52, %47,03 ve %18,32 olduğu; *Lb. acidophilus* M92'nin ise %70,96, %36,06 ve %0 olduğunu bulmuşlardır.

Çizelge 4.10. *Lb. plantarum* HP1’in farklı hidrokarbonlara karşı hidrofobite yeteneği

Hidrokarbon	Hidrofobisite (%)
Ksilen	45,72±0,82
Etil asetat	47,82±0,46
Kloroform	51,34±0,34
Hekzadekan	44,82±0,38

Collado vd., (2008), *Lb. plantarum* Lp-115’nin hidrokarbonlara karşı hidrofobisitesinin %44,2; Meira vd. (2012), 8 farklı *Lb. plantarum* suşlarının ksilene karşı hidrofobisite değerlerinin %34,9-76,5 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Çok farklı sayıda LAB ve bifidobakteri suş ve türlerinin probiyotik özelliklerinin incelendiği çalışmada, n-hekzadekan karşı hidrofobisite değerlerinin %5,86 ile %67,8 arasında değiştiği ortaya konmuştur (Vinderola vd., 2003).

Yadav vd. (2016), *Lb. plantarum* RYPR1 ksilene karşı hidrofobisite değerinin %79,13, *Lactobacillus* RYPR9, RYPC5, RYPC7, RYPC15 ve RYPK3 suşlarının hidrofobisite değerlerinin %51,83 ile %77,82 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

4.11 *Lb. plantarum* HP1’in Antimikrobiyal Aktivitesi

Probiyotik mikroorganizmaların gastrointestinal sistemde varlıklarını sürdürebilmeleri ve rekabet etmeleri ve ayrıca sağlık üzerine yararlı etkilerini gösterebilmeleri için sahip olmaları gereken en önemli özelliklerden biri de antagonistik aktiviteye sahip olmalarıdır (Henning vd., 2015; Son vd., 2017). Birçok probiyotik mikroorganizmanın organik asitler (laktik asit gibi), bakteriyosin, reuterin, karbondioksit, hidrojen peroksit, yağ asitleri gibi antimikrobiyal bileşikler üreterek antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları ortaya konmuştur (Henning vd., 2015; Son vd., 2017; Somashekaraiah vd., 2019; Isleroglu vd., 2012).

Lb. plantarum HP1’in antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymak amacıyla membran filtre (0,45 mm) ile sterilize edilen bakteri kültür supernatantı Gram-pozitif ve

Gram-negatif bakterilere karşı test edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.11’de verilmiştir. Antimikrobiyal aktivite testi sonucunda *Lb. plantarum* HP1’in gıda kaynaklı patojen bakterilerden *Enterococcus faecium* ATCC 9097, *E. faecalis* ATCC 8043, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 10875, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *L. monocytogenes* NCTC 5348 ve *Listeria ivanovii* AÜ’ya karşı antagonistik aktivite sergilediği saptanmıştır (Çizelge 4.11). Özellikle *E. faecium* ATCC 9097, *E. faecalis* ATCC 8043, *L. monocytogenes* ATCC 19115, *L. monocytogenes* NCTC 5348’e karşı kuvvetli antagonistik aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Gram-negatif patojen bakterilerden *E. coli* O157:H7 ATCC35150, *E. coli* ATCC 3509, *Salmonella Enteritidis* ATCC 13075, *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. Infantis* DMC7, *Yersinia enterocolitica* O:9 AU ve *Enterobacter aerogenes* AU’ya karşı etkili olmadığı belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite testinde supernatant *Lb. plantarum* HP1’ye yakın bakterilere karşı da test edilmiş ve *Leuconostoc mesenteroides* AÜ ve *Lb. plantarum* DSM 2601’ye karşı inhibitör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Huang vd. (2015) yaptıkları bir çalışmada, *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* K3, K4 ve E41 suşlarının hücre içermeyen süpernatantlarını metisilline-dirençli *S. aureus* (MRSA), *E. coli* and *Salmonella* Typhi’ye karşı test etmişler ve K3 ile K4 izolatların süpernatantlarının her üç patojen bakteriye karşı inhibisyon zonu (≥ 13 mm) oluşturduğunu, E41 suşunun test edilen hiçbir patojen bakteriye karşı inhibitör etkiye sahip olmadığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar inhibitör etkinin düşük pH’dan kaynaklandığı, K3 ve K4 suşlarının süpernatantlarının pH değerinin oldukça düşük olduğu ve inhibisyon zonunun büyüklüğünün direkt olarak süpernatant pH’sı ile ilişkili olduğunu belirtmiştir.

Lb. plantarum’un 8 farklı suşunun *L. monocytogenes* ATCC 7644, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *S. aureus* ATCC 1901, *E. coli* ATCC 8739, *S. Typhimurium*’a karşı antagonistik aktiviteye sahip olduğu ve inhibisyon zonlarının çapının 8,4 ile 20,0 mm arasında değiştiği bildirilmiştir (Meira vd., 2012).

Yadav vd. (2016) *Lb. plantarum* RYPR1 ve *Lactobacillus* RYPR9, RYPC5 ve RYPC7, suşlarının hücre içeren süpernatantlarının *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella alban*y, *Pseudomonas aeruginosa* karşı inhibitör etkiye sahip olduklarını, inhibisyon zon

büyükliğünün 1-5 mm arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Kos vd. (2008) de probiyotik suşların *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Y. enterocolitica* ve *L. monocytogenes*'e karşı

Çizelge 4.11. *Lb. plantarum* HP1'nin antimikrobiyal spektrumu

Bakteriler	İnhibisyon zonun çapı (mm)
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 9097	22,31±0,43
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 8043	21,88±0,26
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	12,93±0,38
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10875	10,96±0,18
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	19,75±0,14
<i>Listeria monocytogenes</i> NCTC 5348	20,24±0,20
<i>Listeria ivanovii</i> AÜ	10,82±0,30
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> AÜ	22,88±0,52
<i>Lactobacillus plantarum</i> DSM 2601	29,12±0,45
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC35150	-
<i>E. coli</i> ATCC 3509	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis ATCC 13075	-
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 14028	-
<i>Salmonella</i> Infantis DMC7	-
<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9 AÜ	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> AÜ	-
<i>Lactococcus cremoris</i> AÜ	-
<i>Pediococcus acidolactisi</i> AÜ	-

inhibitör aktiviteye sahip olduklarını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada analiz edilen 32 farklı *Lb. plantarum* suşun *L. innocua* BL86/26, *Lb. pentosus* ve *Lb. plantarum* suşlarına karşı inhibitör etkiye sahip olmadıkları bildirilmiştir (Guidone vd., 2014).

Lb. plantarum E680 *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* ve *S. Typhimurium*'a karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu, inhibisyon çapının 15 mm ile 20 mm arasında değiştiği belirtilmiştir (Zheng vd., 2020).

Lb. plantarum Lp9'un *Salmonella* Typhi, *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Kaushik vd., 2009). *Lb. plantarum*'un antibakteriyel aktivitesi organik asitler (örneğin laktik asit, asetik asit), hidrojen peroksit, bakteriyosinlerden kaynaklanabilmektedir (Garcia-Cano vd., 2019).

Lb. plantarum HP1'in inhibitör aktivitesinin organik asitlerden kaynaklanıp kaynaklanmadığını ortaya koymak amacıyla membran sterilize edilmiş supernatantın pH değeri 7'ye ayarlanıp inhibitör aktivite testi gerçekleştirilmiş ve inhibitör aktivitenin kaybolmadığı, dolayısıyla inhibitör aktivitenin organik asitlerden kaynaklanmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca supernatant katalaz enzimi ile muamele edildikten sonra antimikrobiyal aktivite testi gerçekleştirilmiş ve inhibitör etkinin yok olmadığı dolayısıyla inhibisyonun hidrojen peroksitten kaynaklanmadığı ortaya konmuştur. Bunlara ilaveten supernatant proteolitik, lipaz enzimi ile muamele edildikten sonra inhibitör etki belirlenmiştir. Lipaz enziminin inhibitör etkiyi olumsuz yönde etkilemediği, ancak proteolitik enzimlerden tripsin, pankreatin ve pepsin ile muamele edilen supernatant örneklerde inhibitör aktivitenin kaybolduğu dolayısıyla inhibitör etkinin bakteriyosin gibi protein yapısında bir bileşikten kaynaklandığı tahmin edilmiştir (İsleroğlu vd., 2012).

BÖLÜM V

SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında *Lb. plantarum* HP1'in probiyotik özellikleri ortaya konmaya çalışılmış ve araştırma sonucunda elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

- *Lb. plantarum* HP1'in α ve β -hemoliz negatif olduğu ve test edilen 13 antibiyotikten meropenem, tetrasiklin, penisilin G, gentamisin, piperasillin, basitrasin, vankomisin, keftazidim, erithromisin, telkoplanin ve ampisilline karşı çok duyarlı olduğu, rifampisin'e orta duyarlı, trimethoprim'e dirençli olduğu belirlenmiştir.
- Düşük asitliğe dayanıklılık açısından *Lb. plantarum* HP1 suşu pH 1 ortamında aktivitesini tamamen kaybettiği, pH 2 ve pH 3'te üç saatlik inkübasyon işlemi sonucunda canlılığını sırasıyla %24,05 ve %99,43 oranında koruduğu tespit edilmiştir.
- *Lb. plantarum* HP1'in safra tuzuna karşı oldukça dayanıklı olduğu, %0,3, %0,5 ve %1,0 oranında safra tuzu içeren ortamda 4 saatlik süresince aktivitesini koruduğu saptanmıştır.
- Pepsin içeren pH değeri 2 ve 3'e ayarlanan gastrik ortamda 3 saatlik inkübasyon işlemi sonucunda canlılığını sırasıyla %24,76 ve %97,02 oranında koruduğu ve pepsine dayanıklı olduğu görülmüştür. Ayrıca pankreatin enzimine karşı stabil olduğu da belirlenmiştir.
- pH değeri 2,0 ve 3,0 olan yapay mide sıvısında 3 saatlik inkübasyon işlemi sonunda canlılığını sırasıyla %23,17 ve %93,74 oranında koruduğu tespit edilmiştir.
- *Lb. plantarum* HP1'in fenole karşı oldukça dayanıklı olduğu ve %0,4 fenol içeren ortamda canlılığını %98,88 oranında koruduğu bulunmuştur.
- *Lb. plantarum* HP1'in otoaggregasyon ve koaggregasyon yeteneğinin iyi olduğu gözlenmiştir. Otoaggregasyon oranının inkübasyon süresinin uzamasıyla birlikte arttığı, inkübasyonun ikinci saatinde %21,13, 24'cü saatinde ise %72,32 olduğu tespit edilmiştir.
- *Lb. plantarum* HP1'in patojen bakterilerden *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. faecalis* ve *E. faecium* iyi bir

koaggregasyon yeteneği sergilediği ve koaggregasyon yüzdesinin %20,86 ile %35,92 arasında değiştiğ görölmüştür.

- *Lb. plantarum* HP1'in ksilen, etil asetat, kloroform ve hekzadekan hidrokarbonlara karşı iyi bir hidrofobisite sergilediği, hidrofobisite değerinin %44,82-51,34 arasında değiştiği arasında olduğu gözlenmiştir.
- Bakterinin membran filtre ile sterilize edilmiş supernatantının test edilen gıda kaynaklı patojen bakterilerden *Enterococcus faecium*, *E. faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, ve *Listeria ivanovii*'ya karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu, ancak *E. coli* O157:H7, *E. coli*, *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *Yersinia enterocolitica* O:9 ve *Enterobacter aerogenes*'ye karşı inhibitör etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir. İnhibitör aktivitenin organik asitlerden yani düşük pH'dan ve hidrojen peroksitten kaynaklanmadığı, protein yapısında (bakteriyosin gibi) bir bileşikten kaynaklandığı bulunmuştur.

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasıyla, hemolitik aktiviteye sahip olmaması, düşük pH'ya, safra tuzuna, pepsin, pankreatin, yapay mide sıvısına, fenole karşı dayanıklı olması, otoaggregasyon, koaggregasyon ve hidrofobisitesinin iyi olması ve gıda kaynaklı bazı patojenlere karşı inhibitör aktivite göstermesi *Lb. plantarum* HP1'in iyi bir probiyotik bakteri olduğu ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

Agaliya, P.J. and Jeevaratnam, K., “Screening of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented Idli batter for probiotic properties”, *African Journal of Biotechnology* 11,12856–12864, 2012.

Anandharaj, M., Balayogan S., and Rizwana P.R., “Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on hypercholesterolemia: a review”, *Chinese Journal of Biology* 2014.

Anonim, “Türk gıda kodeksi gıda maddelerinin genel etiketleme ve beslenme yönünden etiketleme kuralları tebliğinde değişiklik yapılması hakkında tebliğ, Tebliğ No (2006/34)”, **Resmi Gazete**, 26221, 07/07/2006, <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2006/07/2006070714.htm> (Erişim Tarihi: 8 Ağustos 2021), 2006.

Behera, S.S., Ray, R.C. and Zdolec N., “*Lactobacillus plantarum* with Functional Properties: An Approach to Increase Safety and Shelf-Life of Fermented Foods”, *Hindawi BioMed Research International* 1-18 pages, Article ID 9361614, 2018.

Bellon-Fontaine, M.N., Rault, J. and van Oss, C.J., “Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells”, *Colloids and Surfaces* 7, 47–53, 1996.

Berbegal, C., PeñaN, R.P, Grieco, F., Pardo, I., Ferrer, S., Spano, G. and Capozzi, V., “Technological properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Apulia wines”, *Food Microbiology* 57:187–194, 2016.

Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorrente, C. and Gil, A., “Probiotic mechanisms of action”, *Annals Nutrition and Metabolism* 61,160–174, 2012.

Bhunja, A., Johnson, M.C. and Ray, B., “Purification, characterization and antimicrobial spectrum of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*”, *Journal of Applied Bacteriology* 65, 261–268, 1988.

Bintsis, T., “Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics”, *AIMS Microbiology* 4(4), 665–684, 2018.

Bloksma, N., De Heer, E., Van Dijk, H. and Willers, J.M., “Adjuvanticity of lactobacilli. I. Differential effects of viable and killed bacteria”, *Clinical and Experimental Immunology* 37(2), 367-375, 1979.

Borchers, A.T., Selmi, C., Meyers, F.J., Keen, C.L. and Gershwin, M.E., “Probiotics and immunity”, *Journal of Gastroenterology* 44, 26–46, 2009.

Bringel F., Quénée P. and Tailliez P., “Polyphasic investigation of the diversity within *Lactobacillus plantarum* related strains revealed two *L. plantarum* subgroups”, *Systematic and applied microbiology* 24(4),561-571, 2001.

Brogden, R.N., Carmine, A.A., Heel, R.C., Speight, T.M. and Avery, G.S., "Trimethoprim: A review of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic use in urinary tract infections", *Drugs* 23 (6), 405–430, 1982.

Bron, P.A., Van Baarlen, P. and Kleerebezem, M., “Emerging molecular insights into the interaction between probiotics and the host intestinal mucosa”, *Nature Reviews Microbiology* 10(1), 66-78, 2012.

Carding, S., Verbeke, K., Vipond, D.T., Corfe, B. M., and Owen, L. j., “Dysbiosis of the gut microbiota in disease”, *Microbial Ecology in Health and Disease* 26, 26191, 2015.

Carr, F.J., Chill, D. and Maida N., “The lactic acid bacteria, a literature survey”, *Critical Reviews in Microbiology* 28(4),281–370, 2002.

Castorena-Alba, M. M., Vázquez-Rodríguez, J. A., López-Cabanillas Lomelí, M. and González-Martínez, B. E., “Cholesterol assimilation, acid and bile survival of probiotic bacteria isolated from food and reference strains”, *CyTA-Journal of Food* 16(1), 36-41, 2018.

Cebeci, A. and Gurakan, C., “Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains”, *Food Microbiology* 20, 511–518, 2003.

Champagne, C.P. and Gardner, N.J., “Challenges in the addition of probiotic cultures to foods”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45, 61–84, 2005.

Chang MH., Hong SF., Chen JH., Lin MF., Chen CS. and Wang SC., “Antibacterial activity Lactobacillus plantarum isolated from fermented vegetables and investigation of the plantaricin genes”, *Afr J Microbiol Res* 10:796–803, 2016.

Chao, S.H., Wu, R.J., Watanabe, K. and Tsai, Y.C., “Diversity of lactic acid bacteria in suan-tsai and fu-tsai, traditional fermented mustard products of Taiwan”, *Int. J. Food Microbiol* 135, 203–210, 2009.

Charteris, W. P., P. M. Kelly, L. Morelli, and J. K. Collins, “Antibiotic susceptibility of potentially probiotic Lactobacillus species”, *J. Food Prot.* 61:1636–1643, 1998.

Chen, X., Tian, F., Liu, X., Zhao, J., Zhang, H. P., Zhang, H. and Chen, W., “In vitro screening of lactobacilli with antagonistic activity against Helicobacter pylori from traditionally fermented foods”, *J. Dairy Sci* 93:5627–5634, 2010.

Chou, L. S. and Weimer, B., “Isolation and characterization of acid-and bile-tolerant isolates from strains of Lactobacillus acidophilus”, *Journal of Dairy Science* 82(1), 23–31, 1999.

Clare, D.A. and Swaisgood, H.E., “Bioactive milk peptides: a prospectus”, *Journal of Dairy Science* 83 1187–1195, 2000.

Clark, R. I., and Walker, D. W., “Role of gut microbiota in aging-related health decline: insights from invertebrate models”, *Cellular and molecular life sciences* 75(1), 93–101, 2018.

CLSI, “Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 24th informational supplement”, **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)** document M100-S24 Wayne, Pa: CLSI, 2014.

Collado, M.C., Meriluoto, J. and Salminen, S., “Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains”, *European Food Research and Technology* 226,1065–1073, 2008.

Collado, M. C., Meriluoto, J. and Salminen, S., “Measurement of aggregation properties between probiotics and pathogens: In vitro evaluation of different methods”, **J. Microbiol. Methods** 71:71–74, 2007a.

Conway PL, Gorbach SL. and Goldin BR., “Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells”, **J Dairy Sci** 70:1–12, 1987.

Das D and Goyal A., “Anti-listerial bactericidal activity of *Lactobacillus plantarum* DM5 isolated from fermented beverage Marcha”. **Probiotics and antimicrobial proteins** 5(3):206-215, 2013.

de Almada, C. N., De Almada, C. N., Martinez, R. C. R., and de Souza Sant’Ana, A., “Characterization of the intestinal microbiota and its interaction with probiotics and health impacts”, **Applied Microbiology and Biotechnology** 99(10), 4175-4199, 2015.

Delcenserie V., Martel D., Lamoureux M., Amiot J., Boutin Y. and Roy D., “Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract”, **Curr Issues Mol Biol** 10:37–54, 2008.

Del Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M. and Palenzona, D., “Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*”, **Letters in Applied Microbiology** 31(6), 438–42, 2000.

Del Rio, B., Seegers, J.F. and Gomes-Solecki, M., “Immune response to *Lactobacillus plantarum* expressing *Borrelia burgdorferi* OspA is modulated by the lipid modification of the antigen”, **PLoS One** 5(6),e11199(1-10), 2010.

De Sousa VMC, dos Santos EF. and Sgarbieri VC., “The importance of prebiotics in functional foods and clinical practice”, **Food Nutr Sci** 2(2):133–144, 2011.

de Vos, W.M. and Hugenholtz, J., “Engineering metabolic highways in Lactococci and other lactic acid bacteria”, **Trends Biotechnol** 22, 72–79, 2004.

De Vries, M.C., Vaughan, E.E., Kleerebezem, M. and de Vos, W.M., “*Lactobacillus plantarum*-survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract”, **International Dairy Journal** 16, 1018–1028, 2006.

- Di Cagno, R., Minervini, G., Sgarbi, E., Lazzi, C., Bernini, V., Neviani, E. and Gobbetti M., “Comparison of phenotypic (Biolog System) and genotypic (random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction, RAPD-PCR, and amplified fragment length polymorphism, AFLP) methods for typing *Lactobacillus plantarum* isolates from raw vegetables and fruits”, *International journal of food microbiology* 143(3),246-523, 2010.
- Diep, D.B., Straume, D., Kjos, M., Torres, C., Nes, I.F., “An overview of the mosaic bacteriocin pln loci from *Lactobacillus plantarum*”, *Peptides* 30:1562–1574, 2009.
- Dilna, S.V., Surya, H., Aswathy, R.G., Varsha, K.K., Sakthikumar, D.N., Pandey, A. and Nampoothiri, K.M., “Characterization of an exopolysaccharide with potential health-benefit properties from a probiotic *Lactobacillus plantarum* RJF4”, *LWT-Food Science and Technology* 64(2),1179-1186, 2015.
- Divisekera, D.M.W.D., Samarasekera, J.K.R.R., Hettiarachchi, C., Gooneratne, J., Choudhary, M.I., Gopalakrishnan, S., and Wahab, A.T. “Lactic acid bacteria isolated from fermented flour of finger millet, its probiotic attributes and bioactive properties”. *Annals of Microbiology*, 69(2), 79-92, 2019.
- Drouault-Holowacz, S., Bieuvelet, S., Burckel, A., “A double blind randomized controlled trial of a probiotic combination in 100 patients with irritable bowel syndrome”, *Gastroenterol Clin Biol* 32: 147–152, 2008.
- Ducrotté, P., Sawant, P. and Jayanthi, V., “Clinical trial: *Lactobacillus plantarum* 299v (DSM 9843) improves symptoms of irritable bowel syndrome”, *World Journal of Gastroenterology* WJG, 18(30),4012-4018, 2012.
- Dunne, C., O’Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O’Halloran, S., Feeney, M., Flynn, S., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., O’Sullivan, G.C., Shanahan, F. and Collins, J.K., “In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: Correlation with in vivo findings”, *American Journal of Clinical Nutrition* 73, 386S-92S, 2001.
- Elli, M., Zink, R., Rytz, A., Reniero, R., and Morelli, L., “Iron requirement of *Lactobacillus* spp. in completely chemically defined growth media”, *Journal of applied microbiology* 88(4), 695-703, 2000.

Erinç, H. Mikrobiyal ve Kimyasal Yöntemlerle Konjüge Linoleik Asit Üretimi, 213O129 Nolu **TÜBİTAK-TOVAG Projesi** 2017.

Esaiassen, E., Hjerde, E., Cavanagh, J. P., Pedersen, T., Andresen, J. H., Rettedal, S. I., and Klingenberg, C., “Effects of probiotic supplementation on the gut microbiota and antibiotic resistome development in preterm infants”, *Frontiers in pediatrics* 6, 347, 2018.

Fang, H.R., Zhang, G.Q., Cheng, J.Y. and Li, Z.Y., “Efficacy of lactobacillus supplemented triple therapy for *Helicobacter pylori* infection in children: A metaanalysis of randomized controlled trials”, *European Journal of Pediatrics* 178(1), 7–16, 2019.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization) “Health and nutritional properties of probiotics in food include powder milk with live lactic acid bacteria”, Cordoba, Argentina, 2001.

FAO/WHO, (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization) “Guidelines for the evaluation of probiotics in food”, Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, London, Ontario, Canada, 2002.

Ferreira, C. L., Grześkowiak L., Collado M. C., and Salminen, S., “In vitro evaluation of *Lactobacillus gasseri* strains of infant origin on adhesion and aggregation of specific pathogens”, *J. Food Prot.* 74:1482–1487, 2011.

Field, D., O’Connor, R., Cotter, P.D., Ross, R.P. and Hill, C., “In vitro activities of nisin and nisin derivatives alone and in combination with antibiotics against *Staphylococcus* biofilms”, *Frontiers in microbiology* 7:508(1-11), 2016.

Fijan, S., “Microorganisms with Claimed Probiotic Properties: An Overview of Recent Literature”, *International Journal of Environmental Research and Public Health* 11, 4745-4767, 2014.

Fontana, L., Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Munoz-Quezada, S. and Gil, A., “Sources, isolation, characterization and evaluation of probiotics”, *Br J Nutr* 109,S35–S50, 2013.

Fuller, R., “Probiotics in man and animals”, *Journal of Applied Bacteriology* 66, 365-378, 1989.

Gibson, G.R. and Fuller, R., “Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use”, *The Journal of Nutrition* 130 (2), 391S–395S, 2000.

Garcia-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E. and Jimenez-Flores, R., “Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins”, *Applied Microbiology and Biotechnology* 103(13), 5243–57, 2019.

Ghabbour, N., Lamzira, Z., Thonart, P., Cidalia, P., Markaoui, M., and Asehraou, A., “Selection of oleuropein-degrading lactic acid bacteria strains isolated from fermenting Moroccan green olives”, *grasas y aceites* 62(1), 84-89, 2011.

Goel R, VEDI A, Goyal P., “Probiotics: contribution to oral health”, *J Orofac Health Sci* 5(1):12–16, 2014.

Goh, Y.J., and Klaenhammer, T. R., “Functional roles of aggregation-promoting-like factor in stress tolerance and adherence of *Lactobacillus acidophilus* NCFM”, *Appl. Environ. Microbiol.* 76:5005–5012, 2010.

Goldin, B.R. and Gorbach, S.L., “Clinical indications for probiotics: an overview”, *Clin Infect Dis* 46,S96–S100, 2008.

Grattepanche, F., Miescher-Schwenninger, S., Meile, L. and Lacroix, C., “Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities”, *Dairy Science and Technology* 88, 421–444, 2008.

Guo, C.F., Zhang, S., Yuan, Y.H., Yue, T. L., and Li, J.Y., “Comparison of lactobacilli isolated from Chinese suan-tsai and koumiss for their probiotic and functional properties”, *Journal of Functional Foods* 12, 294-302, 2015.

Gu, Q., Zhang, C., Song, D., Li, P. and Zhu, X., “Enhancing vitamin B12 content in soy-yogurt by *Lactobacillus reuteri*”, *International Journal of Food Microbiology* 206, 56–59, 2015.

Gu, R.X., Zhen-Quan, Yang, Z.Q., Li, Z.H., Chen, S.L. and Luo, Z.L., “Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from stool samples of longevous people in regions of Hotan, Xinjiang and Bama, Guangxi, China”, **Anaerobe** 14, 313–317, 2008.

Guarino, A., Vecchio, A.L. and Canani, R.B., “Probiotics as prevention and treatment for diarrhea,” **Current Opinion Gastroenterology** 25,18–23, 2008.

Guidone, A., Zotta, T., Ross, R.P., Stanton, C., Rea, M.C., Parente, E. and Ricciardi, A., “Functional properties of *Lactobacillus plantarum* strains: A multivariate screening study”, **LWT-Food Science and Technology** 56, 69– 76, 2014.

Hamon, E., Horvatovich, P., Izquierdo, E., Bringel, F., Marchionil, E., Aoude'-Werner and D., Ennahar, S. “Comparative proteomic analysis of *Lactobacillus plantarum* for the identification of key proteins in bile tolerance”, **BMC Microbiology** 11,63, 2011.

Havenaar, R., Huis in't Veld, J. H .S., “Probiotics: A General View”, In: ‘Wood, B.J.B (Ed), The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease, The Lactic Acid Bacteria, Vol. 1, **Chapman and Hall**, New York, pp. 209-224, 1992.

Henning, C., Gautam, D., and Muriana, P. “Identification of multiple bacteriocins in *Enterococcus* spp. using an *Enterococcus*-specific bacteriocin PCR array” **Microorganisms** 3(1), 1-16, 2015.

Hirayama, K. and Rafter, J., “The role of probiotic bacteria in cancer prevention”, **Microbes Infection** 2, 681–686, 2000.

Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. and Schillinger, U., “Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition”, **The American Journal of Clinical Nutrition** 73 (2), 365-373, 2001.

Holzapfel, W.H. and Wood, B.J.B. “Introduction to the LAB”, pp. 1–12. In Holzapfel, W.H. and Wood, B.J.B. (eds.), Lactic acid bacteria: Biodiversity and taxonomy. **John Wiley & Sons, Ltd**, Chichester, UK, 2014.

Huang, R., Tao, X., Wan, C., Li, S., Xu, H., Xu, F., Shah, N.P. and Wei, H., “In vitro probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 and its modulatory effect on gut microbiota of mice”, **Journal of Dairy Science** 98:5850–5861, 2015.

Isleroglu, H., Yildirim, Z., Tokatli, M., Oncul N. and Yildirim, M., “Partial characterisation of enterocin KP produced by *Enterococcus faecalis* KP, a cheese isolate”, **International Journal of Dairy Technology** 65(1), 90-97, 2012.

Ismail, B. and Nampoothiri, K.M., “Production, purification and structural characterization of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510”, **Archives of microbiology** 192(12):1049-1057, 2010.

Isolauri, E., Arvola, T., Sutas, Y., Moilanen, E. and Salminen, S., “Probiotics in the management of atopic eczema”, **Clin Exp Allerg** 30(11):1604–1610, 2000.

Jose, N.M., Bunt, C.R. and Hussain, M.A., “Comparison of microbiological and probiotic characteristics of lactobacilli isolates from dairy food products and animal rumen contents”, **Microorganisms** 3(2), 198-212, 2015.

Jacobsen CN, Roesnfeldt Nielsen AE, Moller PL, Michaelsen KF, Paerregaard A, Sandstrom B, Tvede M, Jacobsen M., “Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans”. **Appl Environ Microbiol** 65:4949–4956, 1999.

Kanmani, P., Kumar, R.S., Yuvaraj, N., Paari, K.A., Pattukumar, V. And Arul V., “Probiotics and its functionally valuable products—A Review”, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 53,641–658, 2013.

Karasu, N., Şimşek, Ö. and Çon, A.H., “Technological and probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditionally produced fermented vegetables”, **Annual Microbiology** 60,227–234, 2010.

Kassayova M., Bobrov N., Strojny L., Kiskova T., Mikeš J., Demečková V., Orendáš P., Bojkova B., Pěč M., Kubatka P. and Bomba A., “Preventive effects of probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* and dietary fiber in chemically-induced mammary carcinogenesis”, **Anticancer Research** 34(9),4969-4975, 2014.

Kaushik, J.K., Kumar, A., Duary, R.K., Mohanty, A.K., Grover, S. and Batish, V.K., “Functional and probiotic attributes of an indigenous isolate of *Lactobacillus plantarum*”, **PLoS ONE** 4(12), e8099, 2009.

- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N. and Fakiri, E.M., “Health benefits of probiotics: a review”, *ISRN Nutrition* 1-7, 2013.
- Khagwal, N., Sharma, P.K. and Sharma, D.C., “Screening and evaluation of *Lactobacillus* spp. for the development of potential probiotics”, *African Journal of Microbiology Research* 8, 1573-1579, 2014
- Khalid, K., “An overview of lactic acid bacteria”, *International Journal of Bioscience* 1, 113, 2011.
- Khaneghah, A. M., Abhari, K., Eş, I., Soares, M.B., Oliveira, R.B.A., Hosseini, H., Rezaei, M., Balthazar, C.F., Silva, R., Cruz, A.G., Ranadheera, C.S. and Ana, A.S.S., “Interactions between probiotics and pathogenic microorganisms in hosts and foods, A review”, *Trends in Food Science & Technology* 95, 205–218, 2020.
- Khaneghah, A. M., and Fakhri, Y. “Probiotics and prebiotics as functional foods: State of the art”, *Current Nutrition and Food Science* 15(1), 20-30, 2019.
- Khan R.U. and Naz S., “The applications of probiotics in poultry production”, *World’s Poult Sci J* 69,621–632, 2013.
- Khan, U.S., “Probiotics in dairy foods: a review”, *Nutrition & Food Science*, 44(1),71–88, 2014.
- Khemariya, P., Singh, S., Jaiswal, N. and Chaurasia, S.N.S., “Isolation and identification of *Lactobacillus plantarum* from vegetable samples”, *Food Biotechnol* 30,94–62, 2016.
- Kimoto, H., Ohmomo, S., Nomura, M., Kobayashi, M., and Okamoto, T., “In vitro studies on probiotic properties of lactococci”, *Milchwissenschaft* 55(5), 245-249, 2000.
- Kleerebezem, M. and Vaughan, E.E., “Probiotic and gut Lactobacilli and Bifidobacteria: molecular approaches to study diversity and activity”, *Annual Review of Microbiology* 63, 269 290, 2009.
- Kopp-Hoolihan, L., “Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review”, *Journal of the American Dietetic Association* 101(2), 229-241, 2001.

- Korakli, M., Rossmann, A., Gänzle, M.G. and Vogel, R.F., “Sucrose metabolism and exopolysaccharide production in wheat and rye sourdoughs by *Lactobacillus sanfranciscensis*”, ***Journal of Agricultural and Food Chemistry*** 49(11):5194-5200, 2001.
- Kos, B., Suskovic, S., Simpraga, M., Frece, J. and Matosic, S., “Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92”, ***Journal Applied of Microbiology*** 94; 981-987, 2003.
- Kral, M., Angelovicova, M. and Mrazova, L., “Application of probiotics in poultry production”, ***Anim Sci Biotechnol*** 45(1):55–57, 2012.
- Kumar, M., Kumar, A., Nagpal R., Mohania, D., Behare, P., Verma, V., Kumar, P., Poddar, D., Aggarwal, P.K., Henry, C.J., Jain, S. and Yadav, H., “Cancer-preventing attributes of probiotics: an update”, ***International Journal of Food Sciences and Nutrition*** 61, 473–496, 2010.
- Lahtinen, T., Malinen, E., Koort, J.M., Mertaniemi-Hannus, U., Hankimo, T., Karikoski, N., Pakkanen, S., Laine, H., Sillanpaa, H., Soderholm, H. and Palva, A., “Probiotic properties of *Lactobacillus* isolates originating from porcine intestine and feces”, ***Anaerobe*** 16, 293–300, 2010.
- Lee, E.S., Song, E.J., Nam, Y.D. and Lee, S.Y., “Probiotics in human health and disease: from nutribiotics to pharmabiotics”, ***Journal of Microbiology*** 56(11),773-782. 2018.
- Leroy, F. and De Vuyst, L., “Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry”, ***Trends in Food Science & Technology*** 15, 67–78, 2004.
- Li, C., Chen, Y., Kwok, L. Y., Chen, X., Yu, H., Yang, H. and Zhang, H., “Identification of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* isolates with broad-spectrum antibacterialactivity”, ***Dairy science & technology*** 95(3), 381-392, 2015.
- Li, P. and Gu, Q., “Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* LZ95, a potential probiotic strain producing bacteriocins and B-group vitamin riboflavin”, ***Journal of Biotechnology*** 229, 1–2, 2016.

- Liu, Y.W., Liong, M.T. and Tsai, Y.C., “New perspectives of *Lactobacillus plantarum* as a probiotic: The gut-heart-brain axis”, ***Journal of Microbiology*** 56(9), 601–613, 2018.
- Lorca, G. L., Wadström, T., Font, de Valdez, G. and Ljungh, A., “*Lactobacillus acidophilus* autolysins inhibit *Helicobacter pylori* in vitro”, ***Current Microbiology*** 42,39–44, 2001.
- Maeda, M., Shibata, A., Biswas, G., Korenaga, H., Kono, T., Itami, T. and Sakai, M., “Isolation of lactic acid bacteria from kuruma shrimp (*Marsupenaeus japonicus*) intestine and assessment of immunomodulatory role of a selected strain as probiotic”, ***Marine Biotechnology*** 16(2),181-192, 2014.
- Maragkoudakis, P.A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B. and Tsakalidou, E., “Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products”, ***International Dairy Journal*** 16, 189-199, 2006.
- Markowiak, P. and Slizewska, K. “Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health”, ***Nutrients*** 9,1021, 2017
- Margolles, A. and Yokota, A., “Bile acid stress in lactic acid bacteria and bifidobacteria. In K. Sonomoto, & A. Yokota (Eds.), *Lactic acid bacteria and bifidobacteria: Current progress in advanced research*”, (pp. 111e142). Norfolk, UK, **Caister: Academic Press.**, 2011.
- Marques, F.Z., Mackay, C.R., and Kaye, D.M., “Beyond gut feelings: how the gut microbiota regulates blood pressure”, ***Nature Reviews Cardiology***, 15(1), 20-32, 2018.
- Martino, M.E., Bayjanov, J.R., Caffrey, B.E., Wels, M., Joncour, P., Hughes, S., Gillet, B., Kleerebezem, M., van Hijum, S.A.F.T. and Leulier, F. “Nomadic lifestyle of *Lactobacillus plantarum* revealed by comparative genomics of 54 strains isolated from different habitats”, ***Environmental Microbiology*** 18,4974–4989, 2016.
- Maurya, P., Mogra, R. and Bajpai, P., “Probiotics: an approach towards health and disease”, ***Trends Bioscience*** 7(20), 3107–3113, 2014.

- Meira, S.M.M., Helfer, V.E., Velho, R.V., Lopes, F.C. and Brandelli, A., “Probiotic potential of *Lactobacillus* spp. isolated from Brazilian regional ovine cheese”, *Journal of Dairy Research* 79(1), 119-127, 2012.
- Menrad, K., “Market and marketing of functional food in Europe”, *Journal of Food Engineering* 56(2-3), 181-188, 2003.
- Mercenier, A, Pavan, S. and Pot, B., “Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects”, *Current Pharmaceutical Design* 9(2), 175-91, 2003.
- Michail, S., “The role of Probiotics in allergic diseases”, *Allergy, Asthma & Clinical Immunology* 5, 5, 2009.
- Mitropoulou, G., Nedovic, V., Goyal, A. and Kourkoutas, Y., “Immobilization technologies in probiotic food production”, *Journal of Nutrition and Metabolism* Article ID 716861, 2013.
- Mogensen G, Salminen S, O’Brien J, Ouwehand A et al., “Food microorganisms—health benefits, safety evaluation and strains with documented history of use in foods”, *Bulletin of the International Dairy Federation* 377:4–19, 2002.
- Moradi, M., Kousheh, S. A., Almasi, H., Alizadeh, A., Guimarães, J. T., Yilmaz, N., and Lotfi, A., “Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety”, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 19(6), 3390-3415, 2020.
- Nagpal, R., Kumar, A., Kumar, M., Behare, P.V., Shalini Jain, S. and Yadav, H. “Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review”, *FEMS Microbiology Letter* 334, 1–15, 2012.
- Naidu, A.S., Bidlack, W.R. and Clemens, R.A., “Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB)”, *Critical Review Food Science and Nutrition* 39(1), 13-126, 1999.
- Nami, Y., Abdullah, N., Haghshenas, B., Radiah, D., Rosli, R. and Khosroushahi, A.Y., “Assessment of probiotic potential and anticancer activity of newly isolated vaginal bacterium *Lactobacillus plantarum* 5BL”. *Microbiol Immunology* 58, 492–502, 2014.

Ng, S.C., Hart, A.L., Kamm, M.A., Stagg, A.J. and Knight, S.C., “Mechanisms of action of probiotics: recent advances”, ***Inflammatory Bowel Diseases*** 15(2),300-310, 2009.

Nguyen, T.D., Kang, J.H. and Lee, M.S., “Characterization of *Lactobacillus plantarum* pH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects”, ***International Journal of Food Microbiology*** 113(3),358-3561, 2007.

Nikolic, M., B. Jovicic, M. Kojic, and L. Topisirovic, “Surface properties of *Lactobacillus* and *Leuconostoc* isolates from home-made cheeses showing auto-aggregation ability”, ***Eur. Food Res. Technol.*** 231:925–931, 2010.

Nissen-Meyer, J., Rogne, P., Oppegård, C., Haugen, H.S. and Kristiansen, P.E., “Structure-function relationships of the non-lanthionine-containing peptide (class II) bacteriocins produced by Gram-positive bacteria”, ***Curr Pharm Biotechnol*** 10: 19-37, 2009.

O’Brien, E., Dolinoy, D.C. and Mancuso, P., “Perinatal bisphenol A exposures increase production of pro-inflammatory mediators in bone marrow-derived mast cells of adult mice”, ***Journal of Immunotoxicology*** 11(3),205-212, 2014.

Oh, Y.J. and Jung, D.S., “Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* and *Pediococcus* strains isolated from Omegisool, a traditionally fermented millet alcoholic beverage in Korea”, ***LWT-Food Science and Technology*** 63(1), 437e444, 2015.

Oner, O., Aslim, B. and Aydas, B.S., “Mechanisms of cholesterol-lowering effects of lactobacilli and bifidobacteria strains as potential probiotics with their BSH gene analysis”, ***Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*** 24, 12–18, 2013.

O’Sullivan, D.J., “Primary sources of probiotic cultures”, In: *Probiotics in Food Safety and Human health*, Eds. I. Goktepe, V.K. Juneja ve M. Ahmedna, **Taylor and Francis Group**, CRC Press Boca Raton, ss. 67-91, 2006.

O’Toole, P.W., and Jeffery, I.B., “Microbiome–health interactions in older people”, ***Cellular and molecular life sciences*** 75(1), 119-128, 2018.

Otutumi, L.K., Góis, M.B., Garcia, E.R.M. and Loddi, M.M.. “Variations on the Efficacy of Probiotics in Poultry” In: Probiotic in Animals, Rigobelo, E.C. (Ed), **IntechOpen**, 10.5772/50058. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/39592>, 2012.

Ouwehand, A.C. and R  yti  , H., “Probiotic fermented foods and health promotion”, In: Advances in Fermented Foods and Beverages Improving Quality, Technologies and Health Benefits, **Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition** p. 3-22, 2015.

Ouwehand, A.C., Salminen, S. and Isolavri, E., “Probiotics: an overview of beneficial effects”, **Antonie van Leeuwenhoek** 82, 279-289, 2002.

Palaniswamy, S.K., and Govindaswamy, V., “In-vitro probiotic characteristics assessment of feruloyl esterase and glutamate decarboxylase producing *Lactobacillus* spp. isolated from traditional fermented millet porridge (kambu koozh) ”, **LWT-food Science and Technology** 68, 208-216, 2016.

Palaniyandi, S.A., Damodharan, K., Suh, J.W. and Yang, S.H., “In Vitro Characterization of *Lactobacillus plantarum* Strains with Inhibitory Activity on Enteropathogens for Use as Potential Animal Probiotics”, **Indian Journal of Microbiology** 57(2),201-210, 2017.

Pandey, K.R., Naik, S.R. and Vakil B.V., “Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review”, **Journal of Food Science and Technolnolgy** 52(12), 7577–7587, 2015.

Parente, E., Ciocia, F., Ricciardi, A., Zotta, T., Felis, G.E. and Torriani, S., “Diversity of stress tolerance in *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus paraplantarum*: a multivariate screening study”, **Int J Food Microbol** 144: 270-9, 2010.

Parracho, H., McCartney, A.L. and Gibson, G.R., “Probiotics and prebiotics in infant nutrition”, **Proc. Nutr. Soc.** 66:405–411, 2007.

Parte, A.C., “LPSN-list of prokaryotic names with standing in nomenclature”, **Nucleic Acids Res.** 42, D613–D616, 2014.

Parvez, S., Malik, K.A., Kang, S.A. and Kim, H.Y., “Probiotics and their fermented food products are beneficial for health”, **Journal of Applied Microbiology** 100, 1171–1185, 2006.

Patel, A.K., Ahire, J.J., Pawar, S.P., Chaudhari, B.L. and Chincholkar, S.B., “Comparative accounts of probiotic characteristics of *Bacillus* spp. isolated from food wastes”, ***Food Research International*** 42(4), 505–10, 2009.

Pinto, M.G.V., Franz, C.M., Schillinger, U., and Holzapfel, W.H., “Lactobacillus spp. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products”, ***International journal of food microbiology*** 109(3), 205-214, 2006.

Pisano, M., Casula, M., Corda, A., Fadda, M., Deplano, M. and Cosentino, S., “In vitro probiotic characteristics of lactobacillus strains isolated from fioresardo cheese”, ***Italian Journal of Food Science*** 20, 505–516, 2008.

Plessas, S., Nouska, C., Karapetsas, A., Kazakos, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., and Bezirtzoglou, E., “Isolation, characterization and evaluation of the probiotic potential of a novel Lactobacillus strain isolated from Feta-type cheese”, ***Food chemistry***, 226, 102-108, 2017.

Pompei, A., Cordisco, L., Amaretti, A., Zanoni, S., Matteuzzi, D. and Rossi, M., “Folate production by bifidobacteria as a potential probiotic property”, ***Applied and Environmental Microbiology*** 73,179–185, 2007.

Prado, F.C., Parada, J.L. and Padney, A., Soccol, C.R., “Trends in non-dairy probiotic beverages” ***Food Research International*** 41, 111–123, 2008.

Rastogi P, Saini H, Dixit J and Singhal R., “Probiotics and oral health”, ***National Journal of Maxillofacial Surgery*** 2(1),6–9, 2011.

Reid, G.,J.A., McGroarty, R., Angotti, and Cook., R.L., “Lactobacillus inhibitor production against Escherichia coli and coaggregation ability with uropathogens”, ***Can. J. Microbiol.*** 34:344–351, 1988.

Reis, S.A., Conceição, L.L., Rosa, D.D., Siqueira, N.P. and Peluzio, M.C.G., “Mechanisms responsible for the hypocholesterolaemic effect of regular consumption of probiotics”, ***Nutrition Research Reviews***, 30, 36–49, 2017.

Ricci, A., Allende, A., Bolton D., et al., “Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 5: suitability of taxonomic units notified to EFSA until September 2016”, **EFSA Journal** 15, 3, 2017.

Rigaux, P., Daniel, C., Hisbergues, M., Muraille, E., Hols, P., Pot, B., Pestel, J. and Jacquet A., “Immunomodulatory properties of *Lactobacillus plantarum* and its use as a recombinant vaccine against mite allergy”, **Allergy** 64(3),406-14, 2009.

Rosenbaum, M., Knight, R., and L Leibel, R., “The gut microbiota in human energy homeostasis and obesity”, **Trends Endocrinol Metab** 26(9),493-501, 2015

Rusch, V., “Probiotics: Bacteria And Bacterial Fragments As Immunomodulatory Agents”, 2001 **Old Herborn University Seminar** No. 15, 2002.

Russo P, Arena MP, Fiocco D, Capozzi V, Drider D. and Spano G., “Lactobacillus plantarum with broad antifungal activity: a promising approach to increase safety and shelf-life of cereal based products”, **Int J Food Microbiol** 2016.04.027, 2016.

Saarela, M., “Functional Foods: Probiotics”, In: Anti-Angiogenic Functional and Medicinal Foods, Edited by J.N. Losso, F. Shahidi ve D. Bagchi. **Taylor and Francis Group**, CRC Press Boca Raton, p. 611-625, 2007.

Saarela. M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S. and Mattila-Sanholm, T., “Gut bacteria and health foods-The European perspective”, **International Food Microbiology** 78, 99-117, 2002.

Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Matto and J. Mattil-Sandholm, T.M., “Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties”, **Journal of Biotechnology** 84,197-215, 2000.

Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y. and Lee, Y.K., “Probiotics: how should they be defined?”, **Trends in Food Science & Technology** 10, 107-110, 1999.

Salvetti, E., Orrù, L., Capozzi, V., Martina, A., Lamontanara, A., Keller, D., Cash, H., Felis, G.E., Cattivelli, L., Torriani, S. and Spano, G., “Integrate genome-based assessment of safety for probiotic strains: *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 as a case study”, **Appl Microbiol Biot** 100:4595–4605, 2016.

Samsøe, D., Banhos, N., Barros, H. D. F. Q., Santos, R., Bicas, J. L., Cazarin, C. B. B., et al. “Interplay between food and gut microbiota in health and disease”, **Food Research International** 115, 23-31, 2019.

Sanders, M.E., “Probiotics: considerations for human health”, **Nutrition Reviews** 61 (3); 91-99, 2003.

Santos, T.T., Santos Ornellas, R.M., Arcucio, L.B., Oliveira, M.M., Nicoli, J.R., Dias, C.V., Trovatti, A.P. and Vinderolac, U.G., “Characterization of *Lactobacilli* strains derived from cocoa fermentation in the south of Bahia for the development of probiotic cultures”, **LWT Food Science and Technology** 73, 259–266, 2016.

Schillinger, U. and Luke, F.K.,” Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat”, **Applied and Environmental Microbiology** 55:1901–1906, 1989.

Schrezenmeir, J. and deVrese, M., “Probiotics, prebiotics and synbiotics: Approaching a definition”, **American Journal of Clinical Nutrition** 73, 361S-364S, 2001.

Scott, K. A., Ida, M., Peterson, V. L., Prenderville, J. A., Moloney, G. M., Izumo, T. and Cryan, J. F., “Revisiting Metchnikoff: age-related alterations in microbiota-gut-brain axis in the mouse”, **Brain, behavior, and immunity** 65, 20-32, 2017.

Seddik, H.A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G. and Drider, D., “*Lactobacillus plantarum* and its probiotic and food potentialities”, **Probiotics & Antimicrobial Proteins** 9,111–122, 2017.

Seydim, Z.B., Yıldırım, Z. and Kök Taş, T., “Kalın Bağırsak Sağlığı: Probiyotikler ve Fonksiyonel Etkileri”, Bölüm 6, 79-96 s, Güzel-Seydim, Z.B. (Editör), Fonksiyonel Beslenme, **Sidaş Medya Ltd. Şti.**, İzmir, ISBN: 978-605-5267-31-5, 2016.

Siezen, R.J., Tzeneva, V.A., Castioni, A., Wels, M., Phan, H.T., Rademaker, J.L., Starrenburg, M.J., Kleerebezem, M., Molenaar, D., van Hylckama Vlieg, J.E., “Phenotypic and genomic diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from various environmental niches”, **Environmental Microbiology** 12,758–773, 2010.

Singh, K., Kallali, B., Kumar, A., Thaker, V., “Probiotics: a review”, **Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine** S287-S290, 2011.

Singhal, N., Maurya, A. K., Mohanty, S., Kumar, M., and Viridi, J. S. “Evaluation of bile salt hydrolases, cholesterol-lowering capabilities, and probiotic potential of *Enterococcus faecium* isolated from rhizosphere”, *Frontiers in microbiology* 10, 1567, 2019.

Sircana, A., Framarin, L., Leone, N., Berrutti, M., Castellino, F., Parente P., De Michieli, F., Paschetta, E. and Musso, G., “Altered Gut Microbiota in Type 2 Diabetes: Just a Coincidence? ”, *Curr Diab Rep* 13;18(10):98, 2018.

Soliman, A.H.S., Sharoba, A.M., Bahlol, H.E.M., Soliman, A.S., Radi, O.M.M., “Evaluation of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* for probiotic characteristics”, *Middle East Journal of Applied Sciences* 5 (1), 10–18, 2015.

Song M, Yun B, Moon JH, Park DJ, Lim K and Oh S., “Characterization of selected *Lactobacillus* strains for use as probiotics”, *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 35(4),551-556, 2015.

Song S, Oh S and Lim KT., “The glycoprotein (18 kDa) isolated from *Lactobacillus plantarum* L67 suppressed β -hexosaminidase, histamine, and the expression of TNF- α and IL-4 in the BPA-stimulated RBL-2H3 cells”, *Process Biochemistry*, 51(1):105-112, 2016a.

Song, S., Oh, S., Lim, K.T., “*Lactobacillus plantarum* L67 glycoprotein protects against cadmium chloride toxicity in RAW 264.7 cells”, *Journal of Dairy Science* 99(3),1812-1821, 2016.

Son, S.H., Jeon, H.L., Jeon, E.B., Lee, N.K., Park, Y.S., Kang, D.K. and Paik, H.D., “Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* Ln4 from kimchi: Evaluation of β -galactosidase and antioxidant activities”, *LWT-Food Science and Technology* 85, 181-186, 2017.

Sornplang, P. and Piyadeatsoontorn, S., “Probiotic isolates from unconventional sources: a review”, *Journal of animal science and technology* 58(1):26(1- 11), 2016.

Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Sorrentino, E., Grazia, L., Pacifico, S., and Coppola, R., “Bile salt and acid tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese”, *FEMS microbiology letters* 244(1), 129-137, 2005.

Syngai, G.G., Gopi, R., Bharali, R., Dey, S., Lakshmanan, G M.A. and Ahmed, G., “Probiotics - the versatile functional food ingredients”, ***Journal of Food Science and Technology*** 53(2), 921–933, 2016.

Tallapragada, P., Rayavarapu, B., Rao, P.P., Ranganath, N.N. and Veerabhadrapa, P.P., “Screening of potential probiotic lactic acid bacteria and production of amylase and its partial purification”, ***Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*** 16, 357–362, 2018.

Todorov SD., “Bacteriocins from *Lactobacillus plantarum*: production, genetic organization and mode of action”, ***Braz J Microbiol*** 40:209–221, 2009.

Todorov, S.D. and Franco, B.D., “*Lactobacillus plantarum*, characterization of the species and application in food production”, ***Food Review International*** 26,205–229, 2010.

Todorov, S.D., Botes, M., Guigas, C., Schillinger, U., Wiid, Ī., Wachsman, M. B., Holzapfel, W.H. and Dicks, L.M.T., “Boza, a natural source of probiotic lactic acid bacteria”. ***J. Appl. Microbiol.*** 104:465–477, 2008.

Tuo, Y., Yu, H., Ai, L., Wu, Z., Guo, B. and Chen, W., “Aggregation and adhesion properties of 22 *Lactobacillus* strains”, ***Journal of Dairy Science*** 96, 4252–4257, 2013.

Upadrasta, A., Stanton, C., Hill, C., Fitzgerald, G. and Ross, R.P., “Improving the Stress Tolerance of Probiotic Cultures: Recent Trends and Future Directions”, In: *Stress Responses of Lactic Acid Bacteria*, Tsakalidou, E., Papadimitriou, K. (Eds), pp. 395-438, ***Springer***, Boston, M.A., 2011.

Valan-Arasu, M., Jung, M.W., Ilavenil, S., Jane, M., Kim, D.H., Lee, K.D., Park, H.S., Hur, T.Y., Choi, G.J., Lim, Y.C. and Al-Dhabi, N.A., “Isolation and characterization of antifungal compound from *Lactobacillus plantarum* KCC-10 from forage silage with potential beneficial properties”, ***Journal of applied microbiology*** 115(5):1172-85, 2013.

Valan-Arasu, M., Jung, M.W., Kim, D.H., Park, H.S., Ilavenil, S., Al-Dhabi, N.A. and Choi, K.I. “Identification and phylogenetic characterization of novel *Lactobacillus plantarum* species and their metabolite profiles in grass silage”, ***Annual Microbiology*** 65,15, 2015.

Valdes, A.M., Walter, J., Segal, E., and Spector, T. D., “Role of the gut microbiota in nutrition and health”, **BMJ** 361, k2179, 2018.

Varsha, A. and Singh, R.B., “Probiotics and Gut Health”, **Journal International Medical Sciences Academy** 27 (1), 41-45, 2014.

Vesterlund, S., Vankerckhoven, V., Saxelin, M., Goossens, H., Salminen, S. and Ouwehand, A.C., “Safety assessment of *Lactobacillus* strains: presence of putative risk factors in faecal, blood and probiotic isolates”, **International Journal of Food Microbiology** 116, 325–331, 2007.

Vijaya Kumar, B., Vijayendra, S.V.N. and Reddy, O.V.S., “Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review”, **Journal of Food Science and Technology** 52(10), 6112e6124, 2015.

Vinderola, C.G. and Reinheimer, J.A., “Lactic acid starter and probiotic bacteria, a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance”, **Food Research International** 36, 895-904, 2003.

Vinderola, G., Ouwehand, A.C., Salminen, S. and von Wright, A., “Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects”, 5th ed., **CRC Press**: Boca Raton, FL, USA, 2019.

Vlková, E., Rada, V., Šmehilová, M. and Killer, J., “Auto-aggregation and co-aggregation ability in bifidobacteria and clostridia”, **Folia Microbiol** (Praha) 53:263–269, 2008.

von Ossowski, I., Reunanen, J., Satokari, R., Vesterlund, S., Kankainen, M., Huhtinen, H., Tynkkynen, S., Salminen, S., de Vos, W.M. and Palva, A., “Mucosal adhesion properties of the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG SpaCBA and SpaFED pilin subunits”, **Appl. Environ. Microbiol**, 76:2049–2057, 2010.

Wan, M.L.Y., Forsythe, S. J., and El-Nezami, H., “Probiotics interaction with foodborne pathogens, a potential alternative to antibiotics and future challenges”, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 1-14, 2018.

Wan, M. L. Y., Ling, K.H., El-Nezami, H. and Wang, M.F., “Influence of functional food components on gut health”, **Critical Reviews In Food Science And Nutrition** 1-10, 2018.

Wang, J., Ji, H., Zhang, D., Liu, H., Wang, S., Shan, D. and Wang, Y., “Assessment of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* ZLP001 isolated from gastrointestinal tract of weaning pigs”, ***African Journal of Biotechnology*** 10,11303–11308, 2011.

Wang, M., Pan, L., Zhou, P., Lv, J., Zhang, Z., Wang, Y., and Zhang, Y., “Protection against foot-and-mouth disease virus in guinea pigs via oral administration of recombinant *Lactobacillus plantarum* expressing VP1”, ***PloS one***, 10(12), e0143750, 2015.

Wedajo, B., “Lactic acid bacteria: Benefits, selection criteria and probiotic potential in fermented food”, ***Journal of Probiotic Health*** 3 (2), 2-9, 2015.

Weichselbaum, E., “Probiotics and health: A review of the evidence”, ***Nutrition Bulletin*** 34(4), 340e373, 2009.

Xanthopoulos, V., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Tzanetakis, N., “Characterisation of lactobacillus isolates from infant faeces as dietary adjuncts”, ***Food Microbiology*** 17, 205–15, 2000.

Yadav, R., Puniya, A.K. and Shukla, P., “Probiotic Properties of *Lactobacillus plantarum* RYPR1 from an indigenous fermented beverage Raabadi”, ***Frontier in Microbiology*** 7,1683, 2016.

Yaqoob P., “Ageing, immunity and influenza: a role for probiotics? ”, ***Proc Nutr Soc*** 73:309–317, 2014.

Yu, Z., Zhang, X., Li, S., Li, C., Li, D., and Yang, Z., “Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese sauerkraut”, ***World Journal of Microbiology and biotechnology*** 29(3), 489-498, 2013.

Zago, M., Fornasaria M.E., Domenico Carminati, D., Burns, P., Suárez, V., Vinderola, G., Reinheimer, J. and Giraffa, G., “Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses”, ***Food Microbiology*** 28(5), 1033-1040, 2011.

Zárate, G., Pèrez-Chaia, A., González, S. and Oliver, G., “Viability and β -galactosidase activity of dairy propionibacteria subjected to digestion by artificial gastric and intestinal fluids”, ***Journal Food Protection*** 63 (9), 1214-1221, 2000.

Zhang Z, Liu Z, Tao X and Wei H., “Characterization and sulfated modification of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 and its biological activities”, ***Carbohydrate polymers*** 153:25-33, 2016.

Zheng, Z. Y., Cao, F. W., Wang, W. J., Yu, J., Chen, C., Chen, B., and Ren, D. X. “Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* E680 and its effect on Hypercholesterolemic mice”, ***BMC microbiology*** 20(1), 1-9, 2020.



ÖZ GEÇMİŞ

KİŞİSEL:

İsim: Bahareh REZAEAN TABRIZI

E-posta:

Doğum tarihi: ../../....

Doğum yeri:

Cinsiyet: Kadın

EĞİTİMLER:

Lise: RAHBAR Lisesi, İran

Mezuniyet yılı:2000

Lisans: AYATOLLAH AMOLİ Üniversitesi, İran Gıda Mühendisliği

2001-2005

Yüksek Lisans: ÖMER HALİSDEMİR Üniversitesi, Türkiye 2019-

devam ediyor.

İŞ TECRÜBESİ:

Konserve balık fabrikası: Üretim Müdürü olarak

2005-2007

Margarin Paketleme Fabrikası: Kalite kontrol olarak

2007-2016

Süt ürünleri ve Meyve Suyu üreten Fabrikası: Kalite kontrol olarak

2017-2019