



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



TARHANADAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN PROBİYOTİK POTANSİYELİ

Yüksek Lisans Tezi

Kıvanç ATLAMA

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

İzmir
2021

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

TARHANADAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN PROBİYOTİK POTANSİYELİ

Kıvanç ATLAMA

Danışman : Prof. Dr. İlkin ŞENGÜN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Programı

İzmir
2021

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Tarhanadan izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik potansiyeli” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.../.../2021

İmzası

Kıvanç ATLAMA

ÖZET

TARHANADAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
PROBİYOTİK POTANSİYELİ

ATLAMA, Kıvanç

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. İlkin ŞENGÜN

Ağustos 2021, 145 sayfa

Bu çalışmada, önceki çalışma (Sengun et al., 2009) kapsamında farklı tarhana örneklerinden izole edilip *Enterococcus faecium*, *Limosilactibacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lac. paraplantarum*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lacticaseibacillus casei*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leu. citreum*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Streptococcus thermophilus* ve *Weissella cibaria* olarak tanımlanan izolatların probiyotik potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, 226 adet LAB izolatu içerisinde temsilatif olarak seçilen 30 adet izolat; farklı pH değerlerinde ve tuz konsantrasyonlarında gelişim, safra tuzlarına tolerans, pepsin, pankreatin ve fenol varlığında gelişim, antibiyotik direnci, hemolitik, proteolitik, β -galaktosidaz, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite ve safra tuzları hidrolaz (BSH) aktivitesi, bakteriyosin üretimi, oto- ve co-agregasyon, hidrofobisite, bakteriyel tutunma, bariyer direnci ve geçirgenliğine etki ve kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) üretimi açısından incelenmiştir. Toplam 22 izolat pH 2, 3 ve 4 değerlerinde gelişim gösterirken *Lim. fermentum* A33 hariç tüm izolatlar ise safra tuzları, pepsin, pankreatin ve fenol varlığında canlılığını sürdürmüştür. Tüm izolatlar antibiyotiklere karşı farklı oranlarda duyarlılık göstermiş, *Ent. faecium* B42 ve *Lac. paraplantarum* D99 hariç hiçbir izolat hemolitik aktivite sergilememiştir. İzolatların antioksidan aktivitesi %5.62-%31.08 (DPPH indirgeme), proteolitik aktivitesi 0.011-0.076 mg tirozin/mL arasında değişim göstermiştir. Tüm izolatlar %1.5 tuz konsantrasyonunda, 8 izolat hariç diğer izolatlar %10 tuz konsantrasyonunda da gelişim gösterebilmiştir. İzolatların oto- ve co-agregasyon değeri sırasıyla %7.51-%55.86 ve %0.34-%62.09, ksilen ve etil asetat hidrofobisiteyi sırasıyla %69.40-%91.81 ve %72.36-%95.21 ve Caco-2 tutunmaları %0.233-%12.347 arasında değişim göstermiştir. Tüm izolatlar, test mikroorganizmaları (*Ba. subtilis* ATCC 6037, *Ent. faecalis* ATCC 29212, *Li. monocytogenes* Scott A, *St. aureus* 6538P, *E. coli* ATCC 1103, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *S. Typhimurium* NRRLB 4420) üzerine antimikrobiyal aktivite (7-30 mm) göstermiştir. İzolatların asetat, bütirat ve propiyonat üretimleri sırasıyla 11945.110–17715.445 μ g/mL, 0.0580–0.1110 μ g/mL ve 14335.515–22650.080 μ g/mL aralığında tespit edilmiştir. Ayrıca, en yüksek bariyer direncini *Leu. pseudomesenteroides* D112 göstermiştir. Sonuç olarak, çalışma kapsamında incelenen izolatlar içerisinde *Lac. plantarum* G53, *Leu pseudomesenteroides* D112, *Ent. faecium* A25 ve C90, *P. acidilactici* G3 probiyotik olarak değerlendirilmiştir.

Anahtar sözcükler: Tarhana, probiyotik, laktik asit bakterisi.



ABSTRACT

THE PROBIOTIC POTENTIAL OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM TARHANA

ATLAMA, Kıvanç

MSc in Food Eng.

Supervisor: Prof. Dr. İlkin ŞENGÜN

August 2021, 145 pages

In this study, it was aimed to determine the probiotic potential of isolates isolated from different tarhana samples and defined as *Enterococcus faecium*, *Limosilactibacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lac. paraplantarum*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lacticaseibacillus casei*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Leu. citreum*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Streptococcus thermophilus* and *Weissella cibaria* within the scope of the previous study (Sengun et al., 2009). For this purpose, 30 isolates selected from 226 LAB isolates as representatives were investigated in terms of growth at different pH values and salt concentrations, tolerance to bile salts, growth in the presence of pepsin, pancreatin and phenol, antibiotic resistance, hemolytic, proteolytic, β -galactosidase, antioxidant and antimicrobial activity and bile salts hydrolase (BSH) activity, bacteriocin production, auto- and the effects of co-aggregation, hydrophobicity, bacterial adherence, barrier resistance and permeability, and production of short-chain fatty acids (SCFAs). A total of 22 isolates grew at pH 2, 3 and 4, while all isolates except *Lim. fermentum* A33 survived in the presence of bile salts, pepsin, pancreatin and phenol. All isolates showed varying degrees of susceptibility to antibiotics, none of the isolates exhibited hemolytic activity except *Ent. faecium* B42 and *Lac. paraplantarum* D99. The antioxidant activity of the isolates ranged from 5.62% to 31.08% (DPPH reduction), and their proteolytic activity ranged between 0.011 and 0.076 mg tyrosine/mL. All isolates were able to grow at 1.5% of salt concentration, except 8 isolates, other isolates were able to grow at 10% of salt concentration. Auto- and co-aggregation values of the isolates varied in the range of 7.51%-55.86% and 0.34%-62.09% respectively, xylene and ethyl acetate hydrophobicity of the isolates varied in the range 69.40%-91.81% and 72.36%-95.21%, respectively and Caco-2 adhesions of the isolates varied between 0.233% and 12.347%. All isolates showed antimicrobial activity (7-30 mm) on test microorganisms (*Ba. subtilis* ATCC 6037, *Ent. faecalis* ATCC 29212, *Li. monocytogenes* Scott A, *St. aureus* 6538P, *E. coli* ATCC 1103, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *S. Typhimurium* NRRLB 4420). The acetate, butyrate and propionate productions of the isolates were determined in the range of 11945.110–17715.445 μ g/mL, 0.0580–0.1110 μ g/mL and 14335.515–22650.080 μ g/mL, respectively. Also, *Leu. pseudomesenteroides* D112 showed the highest barrier resistance. As a result, among the isolates investigated in the scope of this study *Lac. plantarum* G53, *Leu pseudomesenteroides* D112, *Ent. faecium* A25 and C90, *P. acidilactici* G3 were determined as probiotics.

Keywords: Tarhana, probiotic, lactic acid bacteria.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	2
2.1. Probiyotikler	2
2.1.1. Laktik asit bakterileri	7
2.1.2. Laktik asit bakterilerinin probiyotik potansiyelini belirlemek üzere uygulanan testler	13
2.1.3. Fermente gıdalar, mikrobiyolojisi ve probiyotik potansiyeli	21
2.2. Tarhana	39
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	47
3.1. Materyal.....	47
3.1.1. LAB izolatlarının aktivasyonu.....	47
3.2. Yöntem	48
3.2.1. Farklı pH değerlerinde gelişimin belirlenmesi	48
3.2.2. Safra tuzlarına toleransın belirlenmesi	48
3.2.3. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimin belirlenmesi	49
3.2.4. Pepsin ve pankreatin varlığında gelişimin belirlenmesi	49
3.2.5. Antibiyotiklere karşı direncin belirlenmesi	49
3.2.6. Hemolitik aktivite tayini	50
3.2.7. Antimikrobiyal aktivite tayini.....	50
3.2.8. %0.4 (v/v) fenol varlığında gelişimin belirlenmesi	50

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.2.9. Proteolitik enzim aktivitesi tayini	51
3.2.10. β -Galaktosidaz enzim aktivitesi tayini	52
3.2.11. Kalitatif kolesterol düşürücü etki, BSH aktivitesi tayini.....	53
3.2.12. Antioksidan aktivite tayini	53
3.2.13. Bakteriyosin tayini	58
3.2.14. Kısa zincirli yağ asitleri tayini	58
3.2.15. Oto-agregasyon ve co-agregasyon testi.....	60
3.2.16. Hücre yüzey hidrofobisitesi	61
3.2.17. Bakteriyel tutunma testi	62
3.2.18. Epitelyal bariyer direncine ve geçirgenliğine etkinin belirlenmesi.....	63
3.2.19. İstatistiksel değerlendirme.....	63
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	65
4.1. Zorlu Ortam Koşullarında Gelişim	65
4.1.1. İzolatların farklı pH değerlerinde gelişimi	65
4.1.2. İzolatların safra tuzlarına toleransı	66
4.1.3. İzolatların pepsin ve pankreatin varlığında gelişimi	68
4.1.4. İzolatların %0.4 (v/v) fenol varlığında gelişimi	70
4.2. Biyogüvenlik Özellikleri.....	72
4.2.1. İzolatların antibiyotiklere karşı direnci	72
4.2.2. İzolatların hemolitik aktiviteleri.....	74
4.3. Teknolojik Özellikler	75
4.3.1. İzolatların proteolitik enzim aktivitesi	75
4.3.2. İzolatların β -Galaktosidaz enzim aktivitesi.....	77
4.3.3. İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi.....	79
4.4. Metabolitler ve Biyoaktif Etkiler	80

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.4.1. İzolatların antioksidan aktivitesi.....	80
4.4.2. İzolatların antimikrobiyal aktivitesi.....	82
4.4.3. İzolatların kalitatif kolesterol düşürücü etkisi, BSH aktivitesi	84
4.4.4. İzolatların bakteriyosin üretme yetenekleri	86
4.5. <i>In Vitro</i> Bakteriyel Tutunma, Kolonizasyon, Bariyer Fonksiyonu ve KZYA Üretimi	87
4.5.1. İzolatların oto-agregasyon ve co-agregasyon özellikleri	87
4.5.2. Hücre yüzey hidrofobisitesi	92
4.5.3. Bakteriyel tutunma.....	93
4.5.4. Epitelyal bariyer direncine ve geçirgenliğine etki	96
4.5.5. Kısa zincirli yağ asitleri	97
5. SONUÇ	101
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	109
TEŞEKKÜR	144
ÖZGEÇMİŞ.....	145

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.1 İzolatların (A25, B112, C40, B44, C65) oto-agregasyon kabiliyetleri.....	88
Şekil 4.2 İzolatların (B42, D99, G65, G53, G62) oto-agregasyon kabiliyetleri	88
Şekil 4.3 İzolatların (B97, C38, C90, G3, B70) oto-agregasyon kabiliyetleri.....	89
Şekil 4.4 İzolatların (B78, C24, E40, F25, G47) oto-agregasyon kabiliyetleri	89
Şekil 4.5 İzolatların (D112, D68, A15, A40, D53) oto-agregasyon kabiliyetleri	90
Şekil 4.6 İzolatların (F18, F8, F9, A33, D30) oto-agregasyon kabiliyetleri	90
Şekil 4.7 İzolatların Co-agregasyon kabiliyetleri	91
Şekil 4.8 İzolatların Caco-2 hücrelerine tutunma kabiliyetleri	95
Şekil 4.9 İzolatların epitelyal bariyer direnci ve geçirgenliğe etkileri	96

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 Günümüze kadar yapılmış probiyotik tanımları.....	2
Çizelge 2.2 Güncel olarak bilinen ve kullanılan probiyotik cinsler ve türleri.....	4
Çizelge 2.3 İsimlendirmeleri değişen bazı <i>Lactobacillus</i> türleri.....	10
Çizelge 2.4 Bazı süt ve süt ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar.....	22
Çizelge 2.5 Bazı meyve-sebze ve ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar.....	27
Çizelge 2.6 Bazı hububatlardan ve fermente hububat ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların ve probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar.....	35
Çizelge 2.7 Fermentasyon süresi sonunda tarhana örneklerinin LAB sayım sonuçları	42
Çizelge 2.8 Tarhanadan izole edilip tür bazında tanımlanan LAB'leri	43
Çizelge 3.1 Test kültürü olarak seçilen izolatlar	48
Çizelge 3.2 Tirozin standart eğrisi.....	52
Çizelge 3.3 <i>Ent. faecium</i> McFarland değeri	54
Çizelge 3.4 <i>L. bulgaricus</i> McFarland değeri	54
Çizelge 3.5 <i>La. casei</i> McFarland değeri	54
Çizelge 3.6 <i>Lim. fermentum</i> McFarland değeri	55
Çizelge 3.7 <i>Lac. paraplantarum</i> McFarland değeri	55
Çizelge 3.8 <i>Lac. plantarum</i> McFarland değeri.....	55
Çizelge 3.9 <i>Leu. citreum</i> McFarland değeri	56
Çizelge 3.10 <i>Leu. pseudomesenteroides</i> McFarland değeri	56
Çizelge 3.11 <i>P. acidilactici</i> McFarland değeri	56
Çizelge 3.12 <i>P. pentosaceus</i> McFarland değeri	57
Çizelge 3.13 <i>Str. thermophilus</i> McFarland değeri.....	57
Çizelge 3.14 <i>W. cibaria</i> McFarland değeri	57

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.15 Asetat kalibrasyon grafiği.....	59
Çizelge 3.16 Propiyonat kalibrasyon grafiği.....	60
Çizelge 3.17 Bütirat kalibrasyon grafiği	60
Çizelge 4.1 İzolatların farklı pH değerlerinde gelişimi.....	65
Çizelge 4.2 İzolatların safra tuzları varlığında canlılığı (%).....	67
Çizelge 4.3 İzolatların simüle mide (pepsin) ve ince bağırsak (pankreatin) ortamlarında canlılıkları (%)	69
Çizelge 4.4 İzolatların %0.4 (v/v) fenol varlığında canlılıkları (%)	71
Çizelge 4.5 İzolatların antibiyotiklere karşı duyarlılıkları	73
Çizelge 4.6 İzolatların hemolitik aktivite seviyeleri	74
Çizelge 4.7 İzolatların proteolitik enzim aktivitesi (mg tirozin/mL)	76
Çizelge 4.8 İzolatların β -galaktosidaz aktivitesi	78
Çizelge 4.9 İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi	79
Çizelge 4.10 İzolatların antioksidan aktivitesi, DPPH inhibisyonu.....	80
Çizelge 4.11 İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri	83
Çizelge 4.12 İzolatların safra tuzunu (TDCA) parçalama aktivitesi.....	85
Çizelge 4.13 İzolatların hidrofobisite değerleri (%)	92
Çizelge 4.14 İzolatların KZYA üretim kapasiteleri	98
Çizelge 5.1 İzolatların zorlu ortam koşullarında canlılıkları (%)	101
Çizelge 5.2 İzolatların biyogüvenlik özellikleri.....	103
Çizelge 5.3 İzolatların teknolojik özellikleri.....	105
Çizelge 5.4 İzolatların biyoaktif etkileri ve ürettikleri KZYA'leri	106

1. GİRİŞ

Tarhana, ilk olarak Orta Asya’da yaşayan Türkler tarafından bulunmuş ve Türk yerleşimciler tarafından Anadolu, Orta Doğu, Balkanlar ve bazı Avrupa ülkelerine taşınmış, özellikle kış aylarında yaygın olarak tüketilen, hububat temelli, kurutularak muhafaza edilen fermente bir üründür. Tarhana, üretiminde yer alan hammaddelerin çeşitliliği ve üretildiği bölgeye bağlı olarak fermentasyon sürecinde maya ve laktik asit bakterileri gibi birden fazla mikroorganizma grubunu içermektedir (Georgala, 2020). Yapılan birçok çalışmada tarhanada bulunan LAB’lerinin sayısının genel olarak yüksek olduğu bildirilmiş ve bu grup içerisinde yer alan suşların tür bazında tanımlanması üzerine çalışmalar yapılmıştır.

Probiyotikler, “yeterli miktarda alındığında kişinin sağlığı üzerinde olumlu etki gösteren canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanmaktadır (WHO/FAO, 2002). Mikroorganizmaların probiyotik olarak nitelendirilebilmesi için temel birtakım özellikleri taşıması gerekmektedir. Probiyotik özellikte bir mikroorganizmanın bağırsak epiteline birçok zorlu ortamdan en az düzeyde etkilenecek veya hiç etkilenecek şekilde ulaşması ve sonucunda sağlığa fayda sağlayacak doğrudan ve/veya dolaylı birtakım etkiler göstermesi beklenmektedir. Bu kapsamda hücrelerin farklı ortamlarda canlı kalabilme yüzdesi ve ürettiği metabolitler ve/veya sergilediği enzimatik aktivitelerin etki düzeyi ve miktarları saptanmaktadır (Donnet-Hughes et al., 1999; Gibson ve Fuller, 2000; Gülmez ve Güven, 2002; Özener ve Kuru, 2015).

Tez çalışmasında, tarhanadan izole edilen ve moleküler düzeyde tanımlanan 226 adet laktik asit bakterisi içerisinde her türü temsil edecek sayıda toplam 30 adet suş belirlenmiş ve probiyotik potansiyellerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Teste alınacak kültürler gliserol stoktan aktive edilmiş ve kültürlerle periyodik (slant tazeleme öncesi) olarak tez süresi boyunca saflık kontrolü yapılmıştır. Kültür gruplarının tazelemesi için ilgili sıvı besiyeri (MRS/M17) ve sıcaklıkta (30/42°C) her analiz öncesi geliştirilmiştir. Kültürlerin farklı koşullarda canlılıklarının belirlenmesi kapsamında farklı pH ve tuz değerlerinde, safra tuzu varlığında, pepsin ve pankreatin varlığında, fenol varlığında gelişimleri incelenmiş, antibiyotiklere karşı dirençleri, hemolitik, proteolitik, β -galaktosidaz, antioksidan, safra tuzlarını hidrolaz ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Kültürlerin ürettiği metabolitlerin belirlenmesi kapsamında bakteriyosin açısından antimikrobiyal aktivitesi ve asetat, bütirat ve propiyonat kısa zincirli yağ asitlerini üretim miktarları ölçülmüştür. Son olarak, izolatların oto-agregasyon, co-agregasyon, hidrofobisite ve *in vitro* tutunma değerleri ve epitelyal bariyer direnci ve geçirgenliğe etkileri belirlenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Probiyotikler

Probiyotik terimi literatürde ilk kez Kollath (1953) tarafından kullanılmış, bilimsel tanımı ilk kez Lilly ve Stillwell (1965) tarafından yapılmıştır. Günümüzde kabul edilen tanımı Dünya Sağlık Örgütü tarafından “yeterli miktarda alındığında kişinin sağlığı üzerinde olumlu etki gösteren canlı mikroorganizmalar” olarak yapılmıştır (Çizelge 2.1) (WHO/FAO, 2002).

Çizelge 2.1 Günümüze kadar yapılmış probiyotik tanımları (Vasiljevic and Shah, 2008; Özener ve Kuru, 2015).

Yıl	Yazar	Tanım
1953	Kollath	Zararlı antibiyotiklerin aksine probiyotikler, gıdalara ilave edilerek lezzetli bir şekilde tüketilebilir.
1954	Vergin	Probiyotikler antibiyotiklerin karşıtlarıdır.
1955	Kolb	Antibiyotiklerin yıkıcı etkileri probiyotik ile tedavi edilerek önlenir.
1965	Lilly and Stillwell	Bir mikroorganizma tarafından salgılanan ve diğer bir mikroorganizmanın çoğalmasını uyaran faktördür.
1971	Sperti	Mikroorganizmaların üremelerini destekleyen doku ekstraktlarıdır.
1973	Fujii and Cook	Konakta enfeksiyona karşı direnç geliştiren, fakat <i>in vitro</i> şartlarda mikroorganizmaların gelişmesini engellemeyen bileşiklerdir.
1974	Parker	Bağırsakta mikrobiyal dengenin oluşmasına katkıda bulunan mikroorganizma ve ürettikleri maddelerdir.
1989	Fuller	Konak hayvanda mikrobiyal dengeyi geliştirerek konakçı hayvanın sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikrobiyal besin desteğidir.
1992	Havenaar and Huisint'Veld	İnsan ve hayvana verildiğinde endojen mikrofloranın özelliklerini olumlu yönde etkileyen tek veya karışık canlı mikroorganizma kültürüdür.
1996	Salminen	Konak canlıının beslenmesi ve sağlığı üzerinde faydalı etkiler gösteren canlı mikroorganizma kültürü veya kültüre edilmiş süt ürünüdür.

Çizelge 2.1 Günümüze kadar yapılmış probiyotik tanımları (Vasiljevic and Shah, 2008; Özener ve Kuru, 2015) (devamı).

Yıl	Yazar	Tanım
1996	Schaafsma	Belirli miktarda alındığında, doğal temel beslenmenin ötesinde, sağlığa faydalı etkiler gösteren mikrobiyal hücre içerikleri ve ürünleridir.
1999	Salminen	Konak canlının sağlığı üzerinde iyileşme sağlayan veya faydalı etkiler gösteren mikrobiyal hücre içerikleri veya ürünleridir.
1999	Naidu	Sindirim sisteminde besinsel ve mikrobiyal dengeyi arttırarak mukozal ve sistemik bağışıklığı düzenleyen ve böylece konak fizyolojisi üzerine yararlı etkiler sağlayan mikrobiyal besin desteğidir.
2001	Schrezenmeir and DeVrese	Konak canlıda (ekim veya kolonizasyon yoluyla) mikroflorayı değiştirerek konak sağlığı üzerinde faydalı etkiler gösteren, belirli sayıda ve belirlenmiş tipte canlı mikroorganizma içeren preparatlardır.
2002	WHO/FAO	Yeterli miktarda alındığında kişinin sağlığı üzerine olumlu etki gösteren canlı mikroorganizmalardır

Mikroorganizmaların probiyotik olarak ifade edilmesi için bazı özelliklere sahip olması ve dolayısıyla sağlık üzerine olumlu birtakım etkiler göstermesi gerekmektedir;

- Güvenilir olmalıdır, probiyotiklerden hazırlanan preparatlar patojenik olmamalı ve toksin üretmemelidir.
- İnsan kolon hücrelerine adezyonu kuvvetli olmalı ve kolonizasyon gösterebilmelidir.
- Probiyotikler, canlılıklarını sürdürebilmeleri ve metabolik faaliyetlerini gösterebilmeleri için mide asidine, enzimlere ve safra tuzlarına karşı dirençli olmalıdır.
- Patojenler ile rekabet edebilmeli, bağırsak epiteline patojenlerden önce tutunabilmelidir.
- Karsinojenik ve patojenik bakterilere karşı antagonistik etki göstermelidir.

- f) Laktat, bütirat, propiyonat, bakteriyosin, hidrojen peroksit, vb. antimikrobiyal maddeler üretebilmelidir.
- g) Konakta hastalıklara karşı tedavi yanıtını indüklemeli, hastalıklara etken mekanizmalara doğrudan veya dolaylı olarak ekspresyon uygulayabilmelidir.
- h) Antibiyotiklere karşı duyarlı olmalıdır.
- i) Teknolojik uygulamaların yer aldığı üretim ve depolama sırasında canlılığını ve aktivitesini koruyabilmelidir.
- j) Sindirim sistemi sekresyonlarını düzenleyerek kontrol altına alabilmelidir.
- k) İlave edildiği gıdanın kalitesini düşürmemelidir.
- l) Gıda alerjenlerine ve patojenlere karşı bağışıklık sistemini güçlendirebilmelidir.
- m) Konakçının besin biyoyararlanımını yükseltmelidir (Donnet-Huges et al., 1999; Gibson and Fuller, 2000; Gülmez ve Güven, 2002; Özener ve Kuru, 2015).

Yukarıda verilen özelliklere sahip, probiyotik olarak bilinen ve kullanılan birçok mikroorganizma bulunmaktadır (Çizelge 2.2). Laktik asit bakterileri yapıları ve sergiledikleri etkiler nedeniyle bu grupta çoğunluğu oluşturan bir topluluktur. Bakterilerin yanında bilinen tek probiyotik maya ise *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *boulardii*'dir.

Çizelge 2.2 Güncel olarak bilinen ve kullanılan probiyotik cinsler ve türleri (Sengun and Kilic, 2019; Zheng et al., 2020).

<i>Akkermansia</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>Lactococcus</i>
<i>A. muciniphila</i>	<i>E. coli</i> Nissle	<i>Bac. uniformis</i>	<i>Lc. lactis</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>Peptostreptococcus</i>
<i>Ent. faecalis</i> ,	<i>P. acidilactici</i> ,	<i>Pr. jensenii</i> ,	<i>Pe. productus</i>
<i>Ent. faecium</i>	<i>P. pentosaceus</i>	<i>Pr. freudenreichii</i>	
<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Bacillus</i>
<i>L. bulgaricus</i> ,	<i>B. adolescentis</i> ,	<i>Str. cremoris</i> ,	<i>Ba. cereus</i> Toyoi,
<i>L. crispatus</i> ,	<i>B. animalis</i> ,	<i>Str. diacetylactis</i> ,	<i>Ba. coagulans</i> ,
<i>L. delbrueckii</i> ,	<i>B. bifidum</i> ,	<i>Str. intermedius</i> ,	<i>Ba. laterosporus</i> ,
<i>L. gasseri</i> ,	<i>B. breve</i> ,	<i>Str. salivarius</i> ,	<i>Ba. subtilis</i>
<i>L. helveticus</i> ,	<i>B. catenulatum</i> ,	<i>Str. sanguis</i> ,	

Çizelge 2.2 Güncel olarak bilinen ve kullanılan probiyotik cinsler ve türleri (Sengun and Kilic, 2019; Zheng et al., 2020) (devamı).

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	
<i>L. johnsonii</i> ,	<i>B. infantis</i> ,	<i>Str. oralis</i> ,	
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. longum</i> ,	<i>Str. mitis</i> ,	<i>Saccharomyces</i>
	<i>B. thermophilum</i>	<i>Str. thermophilus</i>	<i>Sacc. boulardii</i>
<i>Levilactobacillus</i>	<i>Lacticaseibacillus</i>	<i>Limosilactobacillus</i>	<i>Lactiplantibacillus</i>
<i>Le. brevis</i> ¹	<i>La. casei</i> , ²	<i>Lim. fermentum</i> , ³	<i>Lac. plantarum</i> ⁴
	<i>La. paracasei</i> , ⁵	<i>Lim. reuteri</i> ⁶	<i>Lac. paraplantarum</i> ⁷
	<i>La. rhamnosus</i> ⁸		<i>Lac. pentosus</i> ⁹

İnsan vücuduna zarar veren patojenlerin olumsuz etkilerinin bilinmesi kadar, her yönüyle iyileştirici, koruyucu ve düzenleyici etkileri olan probiyotiklerin veya diğer bir deyişle faydalı mikrobiyotanın etkilerinin ve mekanizmalarının bilinmesi de önemlidir. Bu amaçla yapılmış birçok klinik *in vivo* ve *in vitro* çalışmada probiyotiklerin doğrudan ve/veya dolaylı etkileri ve etki mekanizmaları aydınlatılmıştır.

Yaygın bağırsak hastalıklarından olan ülseratif kolit ve Chron, genetik yatkınlık ve/veya çevresel etkenlerle ortaya çıkan rahatsızlıklardır. İmmün sistem ve mikrobiyom arasındaki dengesizlikte açığa çıkabilecek proenflamatuar ve antienflamatuar sitokin seviyesindeki bozulma, bağırsak savunma sisteminde homeostazın bozulmasına neden olabilmektedir (Elgert, 2009; Khor et al., 2011). Yapılan çalışmalarda, koliti bulunan sıçanların diyetine ağız yoluyla probiyotik *Ligilactobacillus salivarius* veya *Lactobacillus kefiranofaciens* suşu eklenmiş ve sonucunda antienflamatuar sitokin seviyesinin arttığı, apikal ve bazolateral kemokin ve CCL-20 miktarının arttığı ve trans epitelyal elektrik direncini (TEER) geliştirerek epitelyumun

¹ Eski isim: *Lactobacillus brevis*

² Eski isim: *Lactobacillus casei*

³ Eski isim: *Lactobacillus fermentum*

⁴ Eski isim: *Lactobacillus plantarum*

⁵ Eski isim: *Lactobacillus paracasei*

⁶ Eski isim: *Lactobacillus reuteri*

⁷ Eski isim: *Lactobacillus paraplantarum*

⁸ Eski isim: *Lactobacillus rhamnosus*

⁹ Eski isim: *Lactobacillus pentosus*

bariyer fonksiyonunu güçlendirmesine bağlı olarak nekrozun azaldığı ve devamında kolitin iyileştiği bildirilmiştir (Peran et al., 2005; Foligne et al., 2007; Duary, 2012; Chen et al., 2012).

Hipokolesterolemik etki, probiyotiklerin birden fazla etki mekanizması ile gerçekleştirdiği kabiliyettir. Bu mekanizmalar arasında kolesterol asimilasyonu, kolesterolün çökmesi (Zhang et al., 2008), kolesterolün hücresel yüzeye bağlanması (Lye et al., 2010) gibi farklı yollardan hipokolesterolemik etkinin oluşturulabileceği bildirilmektedir. Bunun yanında safra tuzu hidrolaz (BSH) ve bağırsak emiliminde etkili misel salgılanması ile safra asitlerinin dekonjugasyonu gerçekleşmekte ve safra tuzlarının yoğunluğu düşerek dışkı yoluyla vücuttan atılmaktadır. Bu nedenle, azalan safra asidinin yerinin doldurulması için serumda bulunan kolesterol çekilmekte, novo sentezi artmaktadır. Bu sayede hipokolesterolemik etki görülmektedir (Nguyen et al., 2007; Lambert et al., 2008). *Lactobacillus* türleri kullanılarak yapılan *in vivo* çalışmalarda genel olarak toplam ve düşük yoğunluktaki kolesterolün düştüğü, yüksek yoğunluklu kolesterolün yükseldiği belirlenmiştir (AgerholmLarsen et al., 2000; El-Gawad et al., 2005; Nguyen et al., 2007; Kumar et al., 2011; Mohania et al., 2013).

Probiyotiklerin ağız sağlığını koruma ve iyileştirmede kullanılabileceği, birçok çalışma ile ortaya koyulmuştur (Shimauchi et al., 2008; Cildar et al., 2009; Masdea et al., 2012). Çoğunlukla *Str. mutans*'ın neden olduğu diş çürüğünü, periodontal enfeksiyonu ve yaygın olarak karşılaşılan ağız kokusunu gidermede probiyotiklerin etkili olduğu bildirilmektedir (Shi et al., 2016). Diş çürüğü, diş minesinde meydana gelen asit demineralizasyonu ile ilişkilendirilen ve mikrobiyal etkeni olan bir sağlık sorunudur (Selwitz et al., 2007). Yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin genel olarak iki farklı yol ile çürükleri engellediği bildirilmektedir. Bunlardan biri, ağız asitliğini düşürerek demineralizasyonu engellemek ve çürük oluşumunu inhibe etmek, diğeri ise karyojenik Streptokok'ların diş yüzeyine kolonizasyonunu engelleyerek çürük oluşumunu inhibe etmektir (Jensen and Wefel, 1990; Nikawa et al., 2004; Haukioja et al., 2008). Ağız kokusu, ağız mikroflorasında yerleşerek metabolit olarak uçucu sülfür bileşikleri üreten *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* ve *Treponema denticola* gibi mikroorganizmalardan kaynaklanmaktadır (Shi et al., 2016). Yapılan çalışmalarda, *Weissella cibaria*'nın ürettiği hidrojen peroksitin *F. nucleatum* inhibisyonunu sağladığı, *Str. salivarius*'un ise sülfür gazı üreten suşlar ile birlikte kolonize olarak etkinliklerini baskılayacak bakteriyosinler ürettiği, bu sayede koku oluşumunun engellendiği bildirilmiştir (Burton et al., 2005; Kang et al., 2006).

Antimikrobiyal bileşikler üreten probiyotikler, istenmeyen türlerle yarışabilme yeteneğine sahiptir. İstenilen metabolitlerin üretim miktarı, diğer tür ve ortamlara etkisi ve hayatta kalabilme kabiliyetlerinden dolayı laktik asit bakterileri potansiyel birer probiyotiktir. Probiyotik özellikli LAB'leri mide öz sıvısı gibi yüksek asitli ortamlara karşı tolerans göstermekte ve aynı zamanda pepsin, lizozim ve pankreatin enzimlerine ve bağırsak sıvılarına dayanıklılık göstererek canlı kalabilmektedir. Ayrıca birçok LAB safra tuzuna dayanıklı olup, bağırsak mukozasına tutunabilme açısından diğer mikroorganizmalarla yarışarak, sistemde canlı kalabilmekte ve burada kolonize olabilmektedir (Soomro et al., 2002). Patojen özellik göstermeyen probiyotiklerin yararlı etkileri, depolama sırasında üründe canlı kalma seviyesi ve tüketim sonrası insan vücudunda tutunabildiği ölçüde geçerlidir (Mezaini and Bouras, 2013).

2.1.1. Laktik asit bakterileri

Laktik asit bakterileri (LAB), fermentasyon ürünü olarak yüksek oranda veya tamamen laktik asit üreten, Gram pozitif, katalaz negatif, çubuk veya kok şeklinde, spor oluşturmeyen hareketsiz mikroorganizmalardır (Holzapfel et al., 2007). LAB'leri sitokrom ve porfirin içermediklerinden sadece substrat düzeyinde fosforilasyon yaparak enerji sağlayabilirler. Tüm LAB'lerinin anaerobik özellikte olmalarına karşın çoğu oksijene karşı duyarlı değildir, LAB'leri genel olarak enerjilerini şekeri metabolize ederek sağlamaktadır. Biyosentez kabiliyetleri sınırlı olduğundan gelişebilmeleri için amino asitler, vitaminler, pürin ve pirimidinler gibi besin maddelerine ihtiyaç duymaktadır (Madigan et al., 2018).

LAB'leri sınıflandırmada temel olarak genom dizisindeki benzerliklerden yola çıkılarak belli gruplara dahil olmaktadır. Ancak zamanla genom azalması ile sürekli olarak değişim meydana gelmektedir. Örneğin *Bacilli* grubunda yer alan *Lactobacillales*, zamanla birçok enzimin üretiminden sorumlu 600-1200 genin kaybolması ile bu gruptan uzaklaşmıştır. Benzer şekilde, şuan patojen olmayan *Str. thermophilus*, zaman içerisinde patojen *Streptococcus* türlerinde görülen antibiyotik direnci ve adezyon kabiliyetini kaybetmiştir. Bununla birlikte genoma, besin ortamına göre zengin olan ve geniş bir spektruma uyum sağlamasına imkân veren bazı genler de yetenek olarak eklenmiştir (Pfeiler and Klaenhammer, 2007).

İçerisinde koliformların da bulunduğu LAB'leri ilk olarak sütünü fermente ederek koagülasyon oluşturma yeteneklerine göre bir grup olarak tanımlanmıştır. Ancak *Lactobacillus* cinsine ait türlerin Gram pozitif olduğu anlaşıldıktan sonra LAB'lerinin koliform bakterilerden ayrılımları 1901 yılında gerçekleşmiştir. 1919 yılında ise Orla-Jensen, LAB'lerini kısmen

tanımlayarak Gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmeyen, kok veya çubuk şeklinde, karbonhidratları ve bazı yüksek alkollerini metabolize ederek çoğunlukla laktik asit üreten bir grup olarak tanımlamış ve *Betabacterium*, *Thermobacterium*, *Streptobacterium*, *Streptococcus*, *Betacoccus*, *Microbacterium* ve *Tetracoccus* adında yedi farklı laktik grup olduğunu ileri sürmüştür (Stiles and Holzapfel, 1997; Yörük ve Güner, 2011). Sonraki çalışmalar süt ve süt ürünlerinde önemli bir yeri olan Streptokoklar üzerine olmuş ve ilk sistematik sınıflandırma 1937 yılında Sherman tarafından yapılmıştır. Zorunlu anaerobların ve pnömokokların olmadığı bu grup Piyojenik, Viridans, Laktik ve *Enterococcus* adında dört alt gruba ayrılmıştır (Stiles and Hozapfel, 1997).

Günümüze kadar bakterilerin taksonomik sınıflandırmasında morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik özellikler göz önünde bulundurulmuştur. Çalışmaların ilerlemesiyle çeşitlilik, hücre duvarı bileşimi, yağ asidi barındırmaları ve aromatik bileşiklerden kinon ve izopren gibi bileşiklerin oluşumu vb. farklılıklar açısından değerlendirilmiştir. Günümüzde ise bakteri DNA'sı nükleotit oranları da kullanılmaktadır. Bu sayede LAB'leri alt gruplara ayrılmış ve elde edilen genlerin elektroforetik özelliklerinin de değerlendirilmesiyle DNA hibridizasyonu ve RNA sıralaması gibi özellikler de belirlenmiş ve LAB taksonomisinin oluşturulması sağlanmıştır (Stiles and Hozapfel, 1997; Yörük ve Güner, 2011). Son yıllarda yapılan çalışmalarda LAB'leri genel olarak *Aerococcus*, *Acetilactobacillus*, *Agrilactobacillus*, *Amylolactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Bombilactobacillus*, *Carnobacterium*, *Companilactobacillus*, *Dellaglioia*, *Enterococcus*, *Fructilactobacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Holzapfelia*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Lapidilactobacillus*, *Latilactobacillus*, *Lentilactobacillus*, *Levilacatobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Liquorilactobacillus*, *Loigolactobacillus*, *Paucilactobacillus*, *Pediococcus*, *Secundilactobacillus*, *Schleiferilactobacillus*, *Streptococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenecoccus*, *Vagococcus* ve *Weissella* cinslerinden oluştuğu görülmektedir (Stiles and Holzapfel, 1997; Endo and Okada, 2005; Yörük ve Güner, 2011; Zheng et al., 2020).

Streptococcus

Çoğunluğu hareketsiz, kok veya oval şekilde, Gram pozitif, katalaz negatif, bazen gelişim için karbondioksit gereksinim duyan, optimum gelişme sıcaklığı 37°C olan fakültatif anaerob mikroorganizmalardır (Yaygın ve Kılıç, 1993; Yörük ve Güner, 2011). *Streptococcus* cinsi fenotipik ve genotipik özelliklerine göre, patojen olan *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus pyogenes* ve *Streptococcus agalactia* gibi türleri, probiyotik potansiyeli bulunan *Streptococcus*

faecalis (yeni ismi *Enterococcus faecalis* (*Ent. faecalis*)) ve *Streptococcus faecium* (yeni ismi *Enterococcus faecium* (*Ent. faecium*)) gibi türleri ve starter olarak kullanılan *Streptococcus cremoris* ve *Streptococcus lactis* (yeni ismi *Lactococcus lactis* (*Lc. lactis*)) gibi türleri ile bilinmektedir (Khalkhali and Mojgani, 2017; Oh et al., 2018; Bin Masalam et al., 2018). *Str. thermophilus* türünün probiyotik özellikte olduğunu belirleyen net bir çalışma olmamakla birlikte bu türün probiyotik potansiyelinin belirlenmesi üzerine çalışmalar bulunmaktadır (Mukisa et al., 2019; Wacoo et al., 2019; Kuerman et al., 2020).

Lactococcus

Laktokoklar, kokobasil şeklinde ve bazen düz zincir yapısındadır. Laktokokların büyük bir kısmı 1985 yılında Streptokok grubundan ayrılmıştır. Sığırlarda mastitise neden olan *Lactococcus garvieae* (Smith et al., 2020), bezelyede bulunan *Lac. plantarum* (Ben-Harb et al., 2019), somon balıklarında bulunan *Lactococcus piscium* (Macé et al., 2013; Leroi et al., 2015; Wiernasz et al., 2020) ve işlem görmemiş çiğ sütte bulunan *Lactococcus raffinolactis* ve *Lc. lactis* (Carafa et al., 2020) yaygın olarak bulunan türlerdir. Bunun yanında endüstride kullanımı, fayda sağlayan Laktokoklar arasında ise *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* bulunmaktadır (Dorau et al., 2019; Ullah et al., 2020). Ayrıca *Lc. lactis*'in önemli bir bakteriyosin olan nisin üreticisi olduğu da bilinmektedir (Landete et al., 2020; Settler-Ramírez et al., 2020; de Almeida et al., 2020; Poorinmohammad et al., 2020). *Lc. lactis*'in probiyotik potansiyelinin incelendiği çalışmalarda *in vivo* antikarsinojenik etkilerinin değerlendirmesinde pozitif sonuç verdiği, antimikrobiyal etkisinin yüksek olduğu, asidik/alkali ortamda, safra tuzları varlığında ve pepsin/tripsin varlığında canlılığını koruduğu, yüzey hidrofobisitesinin ve oto-agregasyon kabiliyetinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Jaskulski et al., 2020; Kong et al., 2020).

Enterococcus

Optimum 9.6 pH değerinde ve %6.5 NaCl varlığında 10-45°C sıcaklıkta gelişebilen, genellikle katalaz negatif olup, bazen yalancı katalaz pozitif sonuç veren, fakültatif anaerob LAB'leridir. Enterokoklar (*Ent. faecalis* ve *Ent. faecium*) genel olarak halk sağlığı açısından enterokokal enfeksiyonlardan intraabdominal enfeksiyonlar¹⁰, gıda kaynaklı hastalıklarda etken olarak bilinmelerinden dolayı gıda güvenliği açısından indikatör olarak ele alınsa da starter

¹⁰ Bağırsaklardaki yırtılma veya parçalanma sonrası bakterilerin karın içine geçerek çeşitli kanamalara sebebiyet vermesiyle sonuçlanan rahatsızlıklar.

olarak kullanılan ve ticari probiyotik kültür olarak bilinen suşları da bulunmaktadır (Moellering, 1992; Shi et al., 2019; Li et al., 2019). *Ent. faecium*'un probiyotik potansiyelinin incelendiği çalışmalarda, *Aeromonas veronii* ve *Staphylococcus haemolyticus*'a karşı inhibisyon etkisi gösterdiği, yüksek asitlikte, safra varlığında ve yüksek sıcaklıkta (80°C) canlılığını sürdürdüğü, hemolitik aktivite açısından herhangi bir toksisiteye sahip olmadığı, adezyon, oto-agregasyon ve co-agregasyon kabiliyetinin yüksek, antibiyotik direncinin düşük olduğu bildirilmiştir (Mao et al., 2020; Li et al., 2020).

Lactobacillus

Laktobasiller, çubuk şeklinde, Gram pozitif, sporsuz, katalaz ve oksidaz negatif, optimum 30-40°C sıcaklıkta gelişebilen, LAB'leri arasında aside direnci en yüksek olan cinstir (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2006; Madigan et al., 2018). Son yıllarda yapılan taksonomi çalışmalarında *Lactobacillus* cinsi bazı türlerin cins isimlendirmeleri değişmiştir (Çizelge 2.3). Endüstride starter kültür olarak kullanımları, üretiminde yer aldıkları ürünün organoleptik özelliklerini geliştirmesi ve raf ömrünü uzatan antimikrobiyal etkili bileşikler üretmesi nedeniyle oldukça yaygındır (Varnan et al., 2020; Benítez-Cabello et al., 2020; Gunduz et al., 2020). *Lactobacillus* cinsine ait türlerin probiyotik potansiyelinin incelendiği çalışmalarda, zorlu ortam koşullarında (gastrointestinal geçiş) canlılıklarını sürdürmelerinin yanı sıra insan sağlığına sağladığı faydalar açısından değerlendirildiğinde, T hücrelerinin destek mekanizmasını ve dentritik hücrelerin gelişimini indüklediği ve vücudun düşük antimikrobiyal cevabını tersine çevirdiği, bağışıklık sistemini geliştirdiği, kolon yüzeyine kolonizasyonunun kuvvetli olduğu, diyetinde ilgili suşu (*Lac. plantarum*) bulunduran ve aşırı yağlı beslenen farelerde lipojenik gen ekspresyonunu indükleyerek anti-obezite etkisi gösterdiği bildirilmiştir (Hrdý et al., 2020; Prete et al., 2020; Choi et al., 2020).

Çizelge 2.3 İsimlendirmeleri değişen bazı *Lactobacillus* türleri (Zheng et al., 2020).

Eski isim	Yeni isim
<i>Lactobacillus paralimentarius</i>	<i>Companilactobacillus paralimentarius</i> (<i>Com. paralimentarius</i>)
<i>Lactobacillus rossiae</i>	<i>Furfurilactobacillus rossiae</i> (<i>Fur. rossiae</i>)
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactocaseibacillus casei</i> (<i>La. casei</i>)
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactocaseibacillus paracasei</i> (<i>La. paracasei</i>)
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> (<i>La. rhamnosus</i>)
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus paraplantarum</i> (<i>Lac. paraplantarum</i>)
<i>Lactobacillus pentosus</i>	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> (<i>Lac. pentosus</i>)

Çizelge 2.3 İsimlendirmeleri değişen bazı *Lactobacillus* türleri (Zheng et al., 2020) (devamı).

Eski isim	Yeni isim
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> (Lac. plantarum)
<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Latilactibacillus curvatus</i> (Lati. curvatus)
<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Lentilactobacillus buchneri</i> (Len. buchneri)
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i> (Le. brevis)
<i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Ligilactobacillus salivarius</i> (Lig. salivarius)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i> (Lim. fermentum)
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i> (Lim. reuteri)
<i>Lactobacillus hordei</i>	<i>Liquorilactobacillus hordei</i> (Liq. hordei)
<i>Lactobacillus coryniformis</i>	<i>Loigolactobacillus coryniformis</i> (Loi. coryniformis)
<i>Lactobacillus harbinensis</i>	<i>Schleiferilactobacillus harbinensis</i> (Sch. harbinensis)

Leuconostoc

Leuconostoc cinsine ait türler genel olarak bitki orijinli olup, cins içerisinde en bilinen ve en yaygın izole edilen tür *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (*Leu. mesenteroides*)'tir. Bu türün fermente gıdaların üretiminde starter kültür olarak kullanımı yaygın olmakla birlikte üretimde kullanılan hammaddelerin doğal mikroflorasında da bulunduğu, son ürünün duyusal özelliklerini geliştirdiği ve raf ömrünü uzattığı bildirilmektedir (Biolcati et al., 2020; Gunduz et al., 2020; Kouamé et al., 2020; Gaglio et al., 2020; Chytiri et al., 2020; Yang et al., 2020). *Leuconostoc* türlerinin probiyotik potansiyelini değerlendirmek üzere yapılan çalışmalarda, *Leu. mesenteroides*'in α -glukosidaz inhibitör aktivitesinin ve antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu, simüle mide ortamında (düşük pH ve pepsin varlığı) canlılığını sürdürdüğü, yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği, antibiyotik direncinin düşük/duyarlılığının yüksek olduğu, hemolitik aktivitesinin olmadığı ve safra tuzlarını parçalama kabiliyeti sayesinde kolesterol düşürücü etki gösterebildiği belirtilmiştir (Lee and Kim, 2019; Alonso et al., 2019).

Pediococcus

Pediococcus cinsine ait türler, morfolojik olarak tetrat yapıda olan, optimum 35°C'de gelişebilen katalaz negatif ve Gram pozitif LAB'leridir. 50°C gibi yüksek sıcaklıklarda gelişimlerini devam ettirebildikleri için ısıl işlemlerden sonra canlılıklarını sürdürebilirler. Yalancı katalaz aktivitesi ve tuz toleransı bakımından mikrokoklara benzerlik gösterirler (Yörük ve Güner, 2011). *Pediococcus*'lar yaygın olarak sebze ve meyvelerin doğal

mikroflorasında bulunmalarının yanı sıra biyokoruyucu etkileri nedeniyle fermente gıda üretiminde starter kültür olarak da kullanılmaktadır (Varnan et al., 2020; Gunduz et al., 2020; Aka et al., 2020). Diğer LAB'lerinde olduğu gibi *Pediococcus* cinsine ait türlerin de probiyotik potansiyeli birçok çalışmada inceleme konusu olmuştur. *Pediococcus pentosaceus* (*P. pentosaceus*) türünün *in vitro* olarak enterotoksijenik *Escherichia coli* (*E. coli*)'ye karşı inflamasyon yanıtını güçlendirdiği, gastrointestinal geçişte canlılığını koruyarak kolonizasyonunu sağlayabildiği, antimikrobiyal aktivitesinin, hidrofobisitesinin, oto-agregasyon ve Caco-2 yüzeyine adezyon kabiliyetinin ve organik asit üretiminin yüksek olduğu, hemolitik aktivitesinin ve antibiyotik direncinin olmadığı belirlenmiştir (Huang et al., 2020; Yin et al., 2020).

Weissella

Weissella cinsine ait türler, Gram pozitif, katalaz negatif, sporsuz ve hareketsiz, kısa çubuk veya kokoid görünümünde LAB'leridir. Yapılan ilk çalışmalarda *Leuconostoc* cinsi ile benzerlik göstermesine ve aynı zamanda *Lactobacillus* cinsi içerisinde değerlendirilmesine karşın sonraki çalışmalarda *Weissella* cinsinin genetik olarak söz konusu cinsler ile farklılıklarının olduğu, bu nedenle ayrı olarak isimlendirildiği belirtilmektedir (Stiles and Hozapfel, 1997; Yörük ve Güner, 2011). Bu cinsin taze sebzelerin, şeker kamışının ve işlem görmemiş çiğ sütün doğal mikroflorasında bulunabileceği gibi insan bağırsak mikrobiyotasında da yer alabileceği bildirilmiştir (Jang et al., 2002; Shin et al., 2007). *Weissella* cinsine ait türlerden özellikle *Weissella confusa* (*W. confusa*), *Weissella cibaria* (*W. cibaria*) ve *Weissella paramesenteroides* (*W. paramesenteroides*)'in son ürünün raf ömrünü uzatmak ve ürün çeşitliliğini sağlamak amacıyla starter kültür olarak kullanımı ve doğal mikrofloradan izolasyonu ve tanımlaması üzerine yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır (Gunduz et al., 2020; Aka et al., 2020; Silva et al., 2020; Gaglio et al., 2020). *W. confusa* ve *W. cibaria*'nın probiyotik potansiyelinin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada, gastrointestinal ortam, lizozom enzimi ve fenol varlığı gibi zorlu koşullarda canlılığını devam ettirdiği, oto-agregasyon ve co-agregasyon kabiliyeti ile HT-29 adezyonu kabiliyetinin ve gıda kaynaklı hastalıklara neden olan patojenler üzerine yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği, safra tuzlarını yüksek oranda parçalayarak kolesterol düşürücü etki ve yüksek seviyede antioksidan aktivite gösterdiği, antibiyotiklere karşı hassasiyetinin olduğu ve hemolitik aktivite sergilemediği belirlenmiştir (Lakra et al., 2020).

Probiyotik özellik gösteren birçok LAB türü gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Starter kültürler, geliştikleri ortamda üretmiş oldukları organik asitler (laktik asit gibi) sayesinde hızlı bir asitlik artışı sağlamaktadır. LAB'leri, organik asitlerin yanında ürettikleri etanol, aroma bileşikleri, bakteriyosinler, ekzopolisakkaritler ve bazı enzimlerle de ürünün raf ömrünü uzatma, mikrobiyal güvenliği sağlama ve organoleptik özelliklerde iyileştirme gibi birtakım yararlı etkiler sağlamaktadır (Leroy ve De Vuyst, 2004; Şengün, 2006).

2.1.2. Laktik asit bakterilerinin probiyotik potansiyelini belirlemek üzere uygulanan testler

Mikroorganizmaların probiyotik olarak nitelendirilebilmesi için temel birtakım özellikleri taşıması gerekmektedir. Probiyotik özellikte bir mikroorganizmanın bağırsak epiteline birçok zorlu ortamdan en az düzeyde etkilenerek veya hiç etkilenmeyerek ulaşması ve sonucunda sağlığa fayda sağlayacak doğrudan ve/veya dolaylı birtakım etkiler göstermesi beklenmektedir. Bu kapsamda hücrelerin farklı ortamlarda canlı kalabilme yüzdesi ve ürettiği metabolitler ve/veya sergilediği enzimatik aktivitelerin etki düzeyi ve miktarları saptanmaktadır (Donnet-Hughes et al., 1999; Gibson and Fuller, 2000; Gülmez ve Güven, 2002; Özener ve Kuru, 2015).

Düşük pH değerinde gelişme

Probiyotiklerin öncelikle mide asitliğine (pH 1.5-3.0) direnç gösterip canlı olarak bağırsağa ulaşmaları gerekmektedir (Doğan, 2017). Akman (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, hidroklorik asit kullanılarak hazırlanan ortamda *Lac. plantarum*, *La. casei*, *Le. brevis*, *P. pentosaceus*, *P. acidilactici* ve *Ent. faecalis* gibi LAB'lerinin pH 2.5 değerinde canlılıklarını koruyabildiği belirlenmiştir. Başka bir çalışmada, anne sütünden izole edilen *P. pentosaceus* OZF'nin pH 3'te 3 saat canlılığını koruyabildiği; başlangıç popülasyonunun (8.2-9.0 log kob/mL) 3 saat sonunda 6.41 log kob/mL'ye düştüğü belirlenmiştir (Osmanağaoğlu vd., 2010). Bir diğer çalışmada, tuzlanmış ve fermente Kore deniz ürünlerinden izole edilen üç farklı *P. pentosaceus* suşunun, pH 3 değerinde 2 saat süre ile canlılıklarını %7.5 ile %32.6 oranında korudukları belirlenmiştir (Lee et al., 2014).

Yüksek tuz konsantrasyonunda gelişme

Tuz, genel olarak birçok gıdanın bileşiminde bulunan, gıdaların duysal özelliklerini geliştirmek ve ayrıca bozulmalara karşı koruyarak raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanılan bir maddedir. Özellikle turşu gibi tuz konsantrasyonu yüksek olan fermente ürünlerde probiyotiklerin canlılığını sürdürebilmesi, teknolojik olarak istenmektedir. Yapılan çalışmalarda yüksek tuz konsantrasyonuna sahip turşularda *Leu. mesenteroides*, *P. pentosaceus* ve *Lac. plantarum* gibi probiyotik potansiyeline sahip laktik asit bakterilerinin bulunduğu bildirilmiştir (Goma, 2008; Tokatlı vd., 2015).

Safra tuzları varlığında gelişme

Mide ortamından geçen probiyotikler, intestinal sistemde safra ile karşılaşmaktadır. Safranin miktar olarak en önemli bileşenleri fosfatidilkolin (lesitin) ve safra tuzlarıdır. İnsan safrasının fizyolojik konsantrasyonları %0.3-0.5 arasında değişmekte ve probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların bağırsakta canlılığını koruyabilmeleri için bu seviyedeki safraya tolerans göstermeleri gerekmektedir (Doğan, 2017). Yapılan çalışmalarda probiyotiklerin safra tuzlarına tolerans gösterebildikleri belirlenmiştir. Hernández-Alcántara et al. (2018) tarafından yapılan çalışmada, *Lac. plantarum* ve *P. pentosaceus*'un %0.3 safra konsantrasyonunda gelişebildikleri belirtilmiştir. Başka bir çalışmada, Güney Hindistan'ın geleneksel fermente gıdalarından izole edilen bazı *P. pentosaceus* suşlarının, safra varlığında bağırsak sistemindeki gıdaların ortalama geçiş süresi olan 2 ile 8 saat arasında canlılığını sürdürdüğü bildirilmiştir (Vidhyasagar and Jeevaratnam, 2013).

Fenol varlığında gelişme

Fenoller, vücut tarafından üretilen veya proteinlerin parçalanmasıyla oluşan amino asitlerin sindirim sisteminde bulunan bazı bakterilerin deaminasyon aktivitesi sonucu üretilmekte ve bu bileşiklerin özellikle *Lactobacillus* kültürleri üzerinde gelişmeyi önleyici etkisi olabileceği bildirilmektedir (Samolada et al. 1998; Akman, 2009). Akman (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, test edilen kültürlerin %0.4 fenol konsantrasyonunu tolere edebildiği, *La. casei*'nin bu ortamda gelişim gösterdiği, *Ent. faecalis* ve *La. casei*'nin ise 2 logaritmik birimin altında bir azalma gösterdiği tespit edilmiştir (Akman, 2009). Başka bir çalışmada, *Bifidobacterium* suşlarının %0.2-0.5 arasında 4 farklı fenol konsantrasyonunda

canlılığı incelenmiş ve test edilen kültürlerin tamamının %0.2 fenol varlığında gelişim gösterdiği, ancak konsantrasyon arttıkça kültürlerin canlılığının azaldığı, %0.5 fenol varlığında hiçbir kültürün gelişmediği tespit edilmiştir (Acharya and Shah, 2002).

Pepsin ve pankreatin varlığında gelişme

Probiyotiklerin, simüle edilmiş mide suyuna direnç göstermeleri gerektiği bildirilmekte olup bu özelliğin incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır (Roberts et al., 2018). Yapılan bir çalışmada, simüle edilmiş mide suyu, pepsin (3 mg/mL) ve %0.5'lik (w/v) sodyum klorür kullanılarak hazırlanmış ve çözeltinin pH'sı 2.0 olarak ayarlanmıştır. Probiyotik potansiyeli incelenen koagülaz negatif stafilocok suşları 50 mM K₂HPO₄ çözeltisi ile süspanse edilerek simule edilmiş mide suyu ile karıştırılmış ve hücrelerin canlılık durumları incelenmiştir. Çalışma sonucunda tüm izolatların simüle edilmiş mide suyunda 3 saatlik inkübasyon süresinde %80 oranında canlı kalarak direnç gösterdiği belirlenmiştir (Khusro et al., 2018).

Antibiyotiklere karşı duyarlılık

Bir bakterinin gıda ve yemlerde probiyotik olarak kullanımının onaylanabilmesi için antibiyotik duyarlılığı ön koşul olarak kabul edilmektedir (Jansen et al., 2006). Probiyotiklerin antibiyotiklere karşı direnç genini taşıması, olası bir patojene direnç genini transfer edebilme olasılığını doğurduğundan dolayı istenmeyen bir durumdur ve bu nedenle probiyotiklerin güvenlik değerlendirmesi açısından incelenmesi önemlidir. Antibiyotiğe duyarlılık testi, birçok çalışmada disk difüzyon yöntemi kullanılarak uygulanmıştır. Güney Hindistan'ın geleneksel bir fermente ürünü olan Koozh'dan izole edilen koagülaz negatif stafilocok suşlarının probiyotik özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, nalidiksik asit hariç izolatların test edilen antibiyotiklere karşı çeşitli derecelerde hassasiyet gösterdiği, izolatların tümünün penisilin G, gentamisin ve rifampisin'e karşı yüksek, kloramfenikol ve kanamisin'e orta, streptomisin'e karşı ise daha düşük duyarlılık gösterdiği belirtilmiştir (Khusro et al., 2018). Yapılan başka bir çalışmada, Viyana sosislerinden izole edilen *Ent. faecium* ve *P. pentosaceus*'a ait suşların ısıya dayanıklılık ve antibiyotik dirençleri test edilmiş ve hemen hemen tüm suşların düşük seviyede de olsa eritromisin, azitromisin, klaritromisin, tetrasiklin ve kloramfenikol gibi antibiyotiklere ve hücre duvarı sentezini inhibe eden β -laktam antibiyotiklerine (penisilin G, sefalotin, sefuroksim, seftizoksım ve sefaleksim) karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir (Hernández-Alcántara et al., 2018).

Proteolitik enzim aktivitesi

Probiyotiklerin büyük bir çoğunluğunu oluşturan LAB'lerinin genellikle proteolitik enzim aktivitesi kabiliyetine sahip olmadığı bilinmektedir (da Silva et al., 2019). Bazı süt ürünlerinde fermentasyona yardımcı olarak α -kazein gibi proteinleri degrade etmelerinin istenmesinin yanında starter olarak kullanılan probiyotik suşların farklı düzey ve çeşitte aktivite göstererek son üründe acılaşma ve kötü koku oluşumu gibi kalite kusurlarına yol açan peptit ve amino asit oluşumuna sebebiyet verebilmesi nedeniyle genellikle istenmeyen bir özelliktir (Bajić et al., 2020a; 2020b). Bu nedenle, probiyotik potansiyeli incelenen bir kültürün proteolitik aktivitesinin incelenmesi önem arz etmektedir.

Hemolitik enzim aktivitesi

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak değerlendirilmesinde herhangi bir patojeniteye sahip olmaması en önemli kriterdir. Hemolitik aktiviteye sahip bir mikroorganizma, kırmızı kan hücrelerini parçalayarak “hemolitik anemi”ye neden olmaktadır. Bunun sonucunda hücrelere yeteri kadar oksijen taşınmamakta ve gerekli enerji elde edilememektedir (Liu et al., 2020; Huang et al., 2020; Lakra et al., 2020). Bu nedenle biyogüvenlik açısından probiyotiklerin hemoliz kabiliyetine sahip olmaması istenmektedir.

β -Galaktosidaz enzim aktivitesi

Probiyotiklerin fonksiyonel özellikleri bakımından β -galaktosidaz aktivitesine sahip olması istenen bir özelliktir. Laktoz intoleransına sahip kişilerin laktoz içermeyen ürünleri tüketmesi gerekmektedir. Laktozun probiyotikler tarafından metabolize edilmesi laktoz ile ilgili sağlık problemi olan kişilerin bu ürünleri tüketmesine olanak sağlanabilmektedir (Oliveira et al., 2019; Shivangi et al., 2020).

Safra tuzu hidrolaz (BSH) aktivitesi

Safra tuzlarının parçalanması sonucunda molekül ağırlıkları düşmekte ve böylece dışkı yoluyla vücuttan atılabilmektedir. Azalan safra asitlerinin yerinin doldurulması amacıyla, kan serumunda taşınan kolesterol çekilerek dönüştürülmektedir (Nguyen et al., 2007; Lambert et al., 2008). Bu sayede kandaki kolesterol düşmekte ve dolayısıyla kolesterol yüksekliğine bağlı kalp ve damar hastalıkları büyük ölçüde engellenebilmektedir. Safra asitlerinin parçalanması

sonucunda dolaylı olarak toplam kolesterol ve düşük yoğunluktaki kolesterolde azalma sağlanarak vücut için pozitif bir etki sağlanmaktadır (AgerholmLarsen et al., 2000; El-Gawad et al., 2005; Nguyen et al., 2007; Kumar et al., 2011; Mohania et al., 2013). Bu nedenle probiyotik olarak değerlendirilen kültürlerin bu aktiviteyi sergilemesi istenilen bir durumdur.

Antimikrobiyal aktivite

Probiyotiklerin sahip olması istenen özelliklerden biri de gıda kaynaklı hastalıklara ve bozulmalara neden olan mikroorganizmaların inhibisyonunu sağlamalarıdır. Kolonizasyon aşamasında probiyotikler istenmeyen mikroorganizmaların kolonda tutunmasını önlemekte, ayrıca ürettikleri metabolitler sayesinde bu mikroorganizmaların faaliyetlerini baskılamakta ve gelişimlerini engellemektedir. Probiyotikler gıdalarda da benzer şekilde üründe bulunabilecek rekabetçi florayı, ürettikleri metabolitler (laktik asit, asetik asit, bakteriyosin, CO₂, H₂O₂, vb.) sayesinde inhibe etmekte ve bu şekilde koruyucu etki göstererek gıda güvenliğine katkı sağlamaktadır (de Souza Rodrigues et al., 2020). Bu nedenle, mikroorganizmaların probiyotik potansiyeli değerlendirilirken, antimikrobiyal etkinliğe sahip olma durumları mutlaka incelenmektedir (Xu et al., 2020).

Bakteriyosin üretimi

Bakteriyosin olarak adlandırılan antimikrobiyal peptitler, bakterilerin savunma sistemi tarafından üretilen oldukça önemli maddelerdir (Nes et al., 2007). Bakteriyosin terimi genellikle antibiyotik ile karıştırılmaktadır (De Vuyst and Leroy, 2007). Genel olarak bakteriyosinlerin antibiyotiklerden farkı; sentezlenme şekillerinin, etki mekanizmalarının, antimikrobiyal spektrumlarının, toksik etkilerinin ve direnç mekanizmalarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır (Cleveland et al., 2001). Bakteriyosinler düşük konsantrasyonlarda kullanıldıklarında hedef mikroorganizma üzerinde engelleyici etki gösterebilirken, antibiyotiklerde daha yüksek konsantrasyonlara ihtiyaç duyulmaktadır (Nes et al., 2007). Hurst 1981 yılında yayınladığı bir çalışmada, bakteriyosinlerin medikal amaçlı kullanılamayacağını, bu yüzden antibiyotiklere eşdeğer olarak düşünülemeyeceğini belirterek, bakteriyosinler için “biyolojik gıda koruyucuları” ifadesini kullanmıştır. Yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerin aksine bakteriyosinlerin çok eski çağlardan beri gıdalarda doğal olarak bulunması nedeniyle, antibiyotiklere kıyasla daha doğal olduğu düşünülmektedir (Cleveland et al., 2001). Birçok araştırmacı tarafından ağız boşluğu ve solunum sisteminde,

gastrointestinal sistem ve ürogenital sistemde önemli koruyucu özelliğe sahip bakteriyosinlerin varlığı tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, insan ürogenital sisteminin doğal mikroflorasını oluşturan *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. iners* ve *L. gasseri* gibi mikroorganizmaların sayıca azalması sonucunda *Candida albicans* gibi mayaların bu ortamda çoğalıp hastalık yapabilme riskini arttırdığı bildirilmiştir (Dündar, 2006). Benzer bir çalışmada, probiyotik *L. acidophilus* KS400 suşunun bakteriyosin ürettiği ve ürogenital patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Gaspar et al., 2018).

Kısa zincirli yağ asidi üretimi

Kısa zincirli yağ asitleri (KZYA), diyet liflerinin bağırsak mikrobiyotası tarafından fermentasyonu sonucu oluşan ve sağlık üzerine sağladığı faydalı etkiler nedeniyle oldukça önemli son ürünlerdir. Asetat, bütirat ve propiyonat en yaygın üretilen KZYA'leri arasındadır (den Besten et al., 2013). KZYA'leri, histon deasetilaz (HDAC) inhibitörü, ATP ve G protein-bağlı reseptör (GPCR) aktivatörü üretmek için enerji metaboliti olması gibi bir dizi biyolojik fonksiyona sahip olan küçük moleküllerdir. Bu bileşikler ayrıca epitel hücreler için enerji kaynağıdır (den Besten et al., 2013). Ortamın bileşimi, KZYA'lerinin üretimini etkileyen önemli bir faktördür. Wang et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, yeni bir prebiyotik (*Coralline pilulifera* polisakkaridi) kaynağının etkisini belirlemek üzere KZYA oluşumları incelenmiş, prebiyotik kaynağı bulunan ortamda (22.17 mmol/L), prebiyotik bulunmayan ortama (16.17 mmol/L) kıyasla oldukça yüksek seviyede KZYA oluştuğu tespit edilmiştir.

Antioksidan aktivite

İnsan sağlığını olumsuz yönde etkileyerek kanser, diyabet, kardiyovasküler vb. hastalıklar ve yaşlanmaya yol açabilen serbest radikaller, proteinler, lipitler ve DNA moleküllerini hasara uğratabilmektedir (Firuzi et al., 2011; Hunyadi, 2019; Kruk et al., 2019). Bu durumu engellemek üzere insan vücudu savunma sisteminde oksidatif stresi baskılayan antioksidan enzimler ancak belirli bir düzeyde sentezlenmektedir (Serafini and Del Rio, 2004). Antioksidanlar, oksidatif strese bağlı serbest radikal oluşumunu engelleyen veya bu radikallerin bertaraf edilmesini tetikleyen maddelerdir. Yapay olarak üretilen antioksidan maddeler yaygın olarak kullanılsa da yan etkileri nedeniyle son yıllarda yerini doğal antioksidanlara bırakmıştır. Probiyotiklerin potansiyel antioksidan üreticileri oldukları düşünülmektedir (Lobo et al., 2010; Ragul et al., 2020).

Antibiyofilm aktivitesi

Biyofilm, canlı veya cansız yüzeye tutunmayı ve burada kolonize olarak zorlu ortam koşullarına direnç göstermeyi sağlayan, canlı hücrelerin içerisinde bulunduğu kompleks bir hücre dışı polimerik maddedir (Costerton, 1995; Srey et al., 2013). Gıda kaynaklı patojenlerin biyofilm oluşturma yeteneği oldukça gelişmiştir. Bu patojenlerin başında, gıda işletmelerinde yaygın olarak karşılaşılan ve farklı yüzeylerde biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olan *Listeria monocytogenes* (*Li. monocytogenes*) gelmektedir (Simões et al., 2010; Bridier et al., 2015; Mizan et al., 2015). Bir diğer sık karşılaşılan ve biyofilm oluşturma kapasitesi yüksek mikroorganizma ise genellikle diş çürümelerinden sorumlu olan *Str. mutans*'tır (de Souza Rodrigues et al., 2020). Laktik asit bakterilerinin biyofilm oluşturan bu mikroorganizmaların gelişimi ve biyofilm oluşturmaları üzerine inhibitif etkilerini inceleyen birçok çalışma bulunmaktadır (Zhao et al., 2013; Ibarreche et al., 2014). Gıda güvenliği ve kalitesinin sağlanması amacıyla antibiyofilm aktivite gösterme kabiliyetine sahip probiyotiklerin gıda endüstrisinde kullanımının önemli faydalar sağlayacağı bildirilmektedir (Hossain et al., 2020).

Antiviral aktivite

Viral kaynaklı enfeksiyonlar, bakteri kaynaklı enfeksiyonlardan daha şiddetli ve ölümcül olabilmektedir. Yapılan birçok çalışmada, virüslerin enfeksiyon öncesi, inkübasyonunu tamamlamadan veya enfeksiyon sonrasında etkisizleştirilmesinde probiyotiklerin kullanımı değerlendirilmiştir (Yasui et al., 2004; Olivares et al., 2007; Maeda et al., 2009; Maragkoudakis et al., 2010). Probiyotiklerin virüsler üzerine oluşturduğu etkiler, probiyotikler tarafından üretilen metabolitler ve/veya probiyotiklerin doğrudan virüsler ile etkileşimi (bağlanma, tutunma rekabeti ile) sonucu antagonistik etki göstermesi ve/veya dolaylı olarak adaptif immün sistemi tetikleme, geliştirme veya hızlandırması şeklinde açıklanmaktadır (Al Kassaa et al., 2014).

Ekzopolisakkarit üretimi

Ekzopolisakkarit (EPS) olarak tanımlanan bileşikler, LAB'lerinin starter olarak kullanıldığı veya doğal mikroflorada bulunarak fermentasyona katıldığı ürünlerde fermentasyon sonucu açığa çıkan, üründe doku, lezzet ve reolojik özelliklerin iyileştirilmesinde etkisi olan şeker türevleridir (Ruas-Madiedo and De Los Reyes-Gavilán, 2005; Dincer and

Kivanc, 2019). LAB'leri tarafından sentezlenen EPS'ler, homopolisakkaritler (HoPS) ve heteropolisakkaritler (HePS) olmak üzere iki grup altında toplanmaktadır (Korcz et al., 2018). EPS'yi üreten suşa ve ortama bağlı olarak HoPS'ler glikoz ve/veya fruktoz gibi mono yapıda iken HePS'ler ise oligosakkarit gibi polimer yapıdadır (De Vuyst and Degeest, 1999; Baruah et al., 2016; Bajpai et al., 2016). EPS'ler gıdalarda fizikokimyasal ve tekstürel özellikleri geliştirmenin yanı sıra prebiyotik olarak insan vücudunda serum trigliseridi ve karaciğer kolesterolü gibi maddelerin konsantrasyonunu azaltarak kolesterol düşürücü etki de göstermektedir (Tok and Aslim, 2010; London et al., 2014; Ghoneim et al., 2016). Ayrıca EPS'lerin ülser oluşumunu engellediği veya tedavi ettiği ve antioksidan aktivite gösterdiği de tespit edilmiştir (Nagaoka et al., 1994; Rodríguez et al., 2009; Li et al., 2013). Yapılan birçok çalışmada son ürün kalitesinde iyileşme sağlaması ve tüketimi ile insan vücudunda yarattığı birden fazla pozitif etki nedeniyle probiyotiklerin EPS üretiminde bulunmalarının önemi üzerinde durulmaktadır (Kazancıgil vd., 2019; Sharma et al., 2019; Yu et al., 2019; Pabari et al., 2020).

Sitotoksosite

Sitotoksosite, kimyasal bileşiklerin veya doğal olarak açığa çıkan toksik etkili maddelerin canlı hücrede yarattığı öldürücü etki olarak tanımlanmaktadır (Lee et al., 2020). HT-29, Caco-2 ve SW 480 kolon hücrelerinde ve meme hücrelerinde meydana gelen mutasyonlar sonucu oluşan kanser hücrelerinin apoptosisinin tetiklenmesi ile görülen anti-kanser etki, LAB'leri tarafından sentezlenen EPS ve türevi maddelerin etkileri ile de ilişkilendirilmekte ve sitotoksik aktivite olarak değerlendirilmektedir (Rajoka et al., 2019; Ayyash et al., 2020; Sharma et al., 2020; Purkayastha et al., 2020). Her ne kadar EPS'lerin bu etkileri sağladığı gözlemlense de her EPS'nin sitotoksik etki gösteremeyeceği, ancak üretici suşa, ortama ve konsantrasyona bağlı olarak etkinin olabileceği düşünülmektedir. Sitotoksosite testleri sadece kanser hücreleri veya genel olarak insan hücreleri üzerine yapılmayıp, *Salmonella* spp. gibi gıda kaynaklı hastalıklara neden olan mikroorganizmalar üzerinde de kullanılmaktadır (Kowalska et al., 2020). Farklı suşların probiyotik potansiyelinin belirlenmesi üzerine yapılmış çalışmalarda, sitotoksik etkilerinin incelenmesi, sağlık üzerine olumlu etkilerinden (anti-kanser gibi) ve gıda güvenliğini sağlamada rol oynayabileceğinden dolayı değerlendirmeye alınmaktadır (AlKabani et al., 2019; Ayyash et al., 2020; Chelliah et al., 2020; Sharma et al., 2020).

Agregasyon ve adezyon kabiliyeti

Oto-agregasyon, probiyotiklerin saf olarak kolonize olabilmeleri şeklinde bilinen ve intestinal epitel hücrelere yapışmasında önemli etken olan bir kavramdır. Co-agregasyon ise probiyotiklerin patojenler ile birlikte bulunduğu ortamda kolonizasyonu ile ilgili bir ifadedir. Oto-agregasyonda bahsedilen probiyotiklerin intestinal epitel hücrelere tutunmasını kolaylaştıran mekanizma, co-agregasyonda patojenler için ters işlemekte ve patojenlerin tutunmasını engelleyerek bir savunma görevi görmektedir (Vasiee et al., 2020). Mukozal hücrelere tutunabilme potansiyeli, bakterilerin probiyotik suş olarak tanımlanmasında ana kriterlerden biridir. İnsan vücudunda intestinal sistemde kanser oluşumunda potansiyel hücre hattı içerisinde yer alan kolorektal adenokarsinom (Caco-2) hücreleri, tutunma testi için *in vitro* çalışmalarda bağırsak epitel bariyerinin modeli olarak kullanılmaktadır (Hojjati et al., 2020).

Shivangi et al. (2020) yaptığı bir çalışmada, hububat temelli fermente bir ürün olan Idli'den izole edilen *Bacillus* spp.'lerinin probiyotik potansiyeli incelenmiş ve izolatlardan 3 ve 24 saatlik sürelerde alınan absorbans ölçümlerinde %11.05 (3 sa) ve %29.9 (24 sa) oto-agregasyon gösterdiği, yine aynı sürelerde alınan co-agregasyon ölçümlerinde en yüksek seviyenin *Li. monocytogenes* (%18-45) ve *Staphylococcus epidermidis* (%10-32) varlığında olduğu bildirilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, İran'ın geleneksel bir fermente ürünü olan Tarkhineh¹¹'den izole edilip tanımlanmış *P. pentosaceus* ve *P. acidilactici* suşlarının 3 saatlik süre sonunda %48 (*P. acidilactici* IAH-5) oto-agregasyon sergilediği, *Salmonella* Typhimurium (*S. Typhimurium*) PTCC 1609 ile yapılan co-agregasyon analizinde ise en yüksek *P. acidilactici* VKU2 suşunun %45.1 agromerasyon gösterdiği ve aynı suşun %16.32 oranında Caco-2 adezyonu gerçekleştirebildiği belirtilmiştir (Vasiee et al., 2020). Hojjati et al. (2020) yaptığı çalışmada ise *Le. brevis*'e ait suşun 30 dk'lık sürede oto-agregasyon değerinin %40.2, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ile co-agregasyon değerinin %48.3, Caco-2 adezyonunun ise %13.4 seviyesinde olduğu bildirilmiştir.

2.1.3. Fermente gıdalar, mikrobiyolojisi ve probiyotik potansiyeli

Son yıllarda tüm dünyada yararlı canlı mikroorganizmaları içeren ürünlerin tüketiminde artış görülmektedir. Bu nedenle ülkemizde ve dünyada probiyotiklerin kullanım alanı tüketicilerin bilinçlenmesi ile birlikte her geçen gün artış göstermektedir. Probiyotikler

¹¹ Tarhana benzeri süt bazlı fermente bir ürün.

çoğunlukla, su ürünleri yetiştiriciliğinde, tarımsal alanda, medikal tedavi ve destek ürünlerinde (Coleman and Cervin, 2019), kimya endüstrisinde (Al-Marzooq et al., 2018) ve özellikle gıda endüstrisinde oldukça yaygın şekilde kullanılmaktadır. Probiyotik gıda ürünlerinin çoğunda *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait türler bulunmaktadır. Bu tip ürünlere karşı ticari yönelimin yüksek olması, araştırmacıları da bu alana yönlendirmiştir. Özellikle sindirim sistemi üzerine etkilerin araştırıldığı çalışmalarda *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerinin önemli bir yer tuttuğu görülmektedir (Penner et al., 2005; Yang et al., 2018a).

Probiyotikler başta süt endüstrisi olmak üzere birçok fonksiyonel gıdanın geliştirilmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu gıdalara örnek olarak bebek mamaları, fermente süt ve süt ürünleri, fermente meyve suları, fermente soya ürünleri, fermente et ürünleri ve hububat bazlı ürünler verilebilmektedir (Hugas and Monfort, 1997; Angelov et al., 2006; Mousavi et al., 2011).

Yaygın olarak tüketilen yogurt ve peynir gibi fermente süt ürünlerinin üretimde yer alan LAB'leri arasında çoğunlukla *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Pediococcus* cinslerine ait olan türler bulunmaktadır (Daly et al., 1998; De Vuyst, 2000). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, fermente süt ve süt ürünlerinin içerdiği mikroorganizmalar nedeniyle probiyotik potansiyele sahip gıdalar olabileceği belirtilmiştir (Çizelge 2.4).

Çizelge 2.4 Bazı süt ve süt ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar.

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Keçi sütü	<i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i>	- Enterosin P ve enterosin B bakteriyosinleri üretimi - <i>S. Typhimurium</i> MTCC 1472 ve MTCC 1251, <i>St. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Rosenbach ATCC 6538 ve Rosenbach ATCC 33951D-5, <i>E. coli</i> ATCC 10536 ve INCQS 00033 ve <i>Clostridium perfringens</i> INCQS 00130 suşlarına karşı antagonistik aktivite - Jelatinaz aktivitesi	dos Santos et al., 2020

Çizelge 2.4 Bazı süt ve süt ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Keçi sütü	<i>Streptococcus infantarius</i> subsp. <i>infantarius</i>	- β-galaktosidaz aktivitesi - 1573.48 U/mg PTN düzeyinde yüksek proteolitik aktivite - Penisilin G, ampisilin, vankomisin, rifampisin, streptomisin, eritromisin, ko-trimaksozol ve metronidazole karşı direnç, tetrasiklin ve kloramfenikole karşı duyarlılık - Mide ortamında en yüksek %63.93 oranında, bağırsak ortamında en yüksek %86.87 oranında canlılık - %89.97 hidrofobisite - Safra tuzlarının dekonjugasyonu - Oto-agregasyon değeri %67.92, co-agregasyon değeri <i>E. coli</i> ile %60	dos Santos et al., 2020
Tarkhineh	<i>P. acidilactici</i> VKU2, <i>P. acidilactici</i> IAH-5, <i>P. pentosaceus</i> DHR005	- Mide ve bağırsak ortamına karşı direnç - IAH-5: %67.52 oranında kolesterol parçalama aktivitesi - IAH-5: %58.32 hidroksil radikali inhibisyonu - IAH-5: %40.3 hidrofobisite - IAH-5: %48 oto-agregasyon - Caco-2 hücrelerine %16.32 ile %12.25 arasında tutunabilme - <i>E. coli</i> ATCC 25922, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Ps. <i>aeruginosa</i>) PTCC 1707, <i>S. Typhimurium</i> PTCC 1609 ve <i>St. aureus</i> ATCC 25923'e karşı inhibisyon - Hemolitik aktiviteye sahip değil	Vasiee et al., 2020

Çizelge 2.4 Bazı süt ve süt ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Fermente tek hörgüçlü deve sütü	<i>Ent.faecalis</i> , <i>Ent. faecium</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Str. pasteurianus</i> , <i>Str. suis</i>	- Asit üretimi ve proteolitik aktivite - Eksopolisakkarit üretimi - <i>E. coli</i>, <i>S. typhi</i>, <i>St. aureus</i> ve <i>Ba. cereus</i>'a karşı inhibisyon - Amoksisilin, rifampisin, tetrasiklin ve vankomisine karşı duyarlılık - Hemolitik aktiviteye sahip değil - 4 saatlik süredeki oto-agregasyon değerleri %22.30 ile %76.52 arasında - <i>St. aureus</i> ATCC 25923, <i>Ba. cereus</i> ATCC 11778, <i>S. typhi</i> ATCC 19430 ve <i>E. coli</i> ATCC 25922 suşları ile co-agregasyonları %7.42 ile %50.43 arasında - Mide ortamında en yüksek %92.97, bağırsak ortamında ise en yüksek %90.10 oranında canlılık - %27.2 ile %41.85 arasında DPPH radikalini, %52.68 ile %79.79 arasında ise ABTS radikalini indirgeme	Oussaief et al., 2020
Fermente keçi ve inek sütü	<i>Lc. lactis</i>	- Nisin üretimi - <i>Lc. lactis</i>'e ait bazı alt suşlar hücre dışı proteolitik ve kazeinolitik aktiviteye sahip, lipolitik aktiviteye sahip değil - Diasetil üretimi - %4 NaCl konsantrasyonunda gelişim - En düşük 6 µg/mL konsantrasyonundaki tetrasikline karşı duyarlılık	Kondrotiene et al., 2018

Çizelge 2.4 Bazı süt ve süt ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
İtalyan peynirleri	<i>La. casei</i> , <i>Lac. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> , <i>Lac. plantarum</i> , <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Ent. faecium</i> , <i>Ent. lactis</i>	- <i>Lac. plantarum</i> ve <i>La. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> suşları en yüksek, <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> suşları en düşük, <i>La. casei</i> , <i>Ent. faecium</i> ve <i>Ent. lactis</i> suşları ise orta düzeyde kolesterol düşürücü etkiye sahip - <i>La. casei</i> VC199, <i>La. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> SE160 ve VC213, <i>Lac. plantarum</i> VS513 ve VS166, <i>Ent. faecium</i> VC223 ve <i>Ent. lactis</i> BT161: düşük pH ve proteolitik enzimler, safra tuzları ve pankreatik sıvı varlığında canlılık	Albano et al., 2018
Feta peyniri	<i>La. paracasei</i> K5	- pH 2, 3 ve 4 değerlerinde gelişim - Mide ve bağırsak ortamında gelişim - Safra tuzlarına tolerans - Vankomisin ve metronidazole karşı direnç	Plessas et al., 2017
Deve sütü	<i>Lc. lactis</i> <i>Lac. plantarum</i>	- Yüksek asit ve safra tuzlarına karşı tolerans - 3 saatlik ve 24 saatlik sürelerde en yüksek %10 ve %38 oranında oto-agregasyon	Abushelaibi et al., 2017

Çizelge 2.4 Bazı süt ve süt ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Deve sütü	<i>Lc. lactis</i> <i>Lac. plantarum</i>	- 2 saatlik ve 4 saatlik sürelerde 20°C'lik sıcaklıkta en yüksek <i>S. Typhimurium</i> ile %10.7 (2 sa), <i>Li. monocytogenes</i> ile %20.9 (4 sa) oranında co-agregasyon, 37°C'lik sıcaklıkta <i>E. coli</i> O157:H7 ile %14.8 (2 sa), <i>S. Typhimurium</i> ile %19 (4 sa) oranında co-agregasyon - Penisilin, ampisilin, klindamisin ve eritromisine karşı duyarlılık, trimetoprim ve vankomisine karşı direnç - <i>St. aureus</i>'a yüksek, <i>E. coli</i>, <i>S. Typhimurium</i> ve <i>Li. monocytogenes</i>'e karşı orta düzeyde antimikrobiyal etki (çoğu izolatta) - Safra tuzları hidrolizasyonu - Kolesterol asimilasyonu (farklı seviyelerde) - Eksopolisakkarit üretimi (çoğu izolatta) - Bir izolatta α-hemoliz, iki izolatta β-hemoliz, diğer izolatlar hemolitik aktiviteye sahip değil - Lizozim enzimine tolerans	Abushelaibi et al., 2017
Xinjiang peyniri	<i>La. rhamnosus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>Ent. hirae</i>	- Yüksek aside tolerans - %0.3 oranında safra tuzuna tolerans - <i>E. coli</i>, <i>St. aureus</i>, <i>S. Typhimurium</i>, <i>Li. monocytogenes</i> ve <i>Ent. faecalis</i>'e karşı antimikrobiyal etki (en yüksek inhibisyonu <i>La. rhamnosus</i> R4 suşu göstermiştir)	Azat et al., 2016

Çizelge 2.4 Bazı süt ve süt ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Xinjiang ¹² peyniri	<i>La. rhamnosus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>Ent. hirae</i>	- Oto-agregasyon kabiliyetlerinin %23.33 ile %45.83 arasında - En yüksek hidrofobisite değeri %83.22 (<i>La. rhamnosus</i> R4) - En yüksek DPPH radikali indirgeme %53.78 (<i>La. rhamnosus</i> R4)	Azat et al., 2016

Meyve ve sebze gibi çeşitliliği yüksek hammadde grupları kullanılarak üretilen ürünlerdeki mikroorganizma çeşitliliği de fazla olmaktadır. Mikrobiyal zenginlik asidik koşullar ile birleştiğinde, fermente meyve ve/veya sebze ürünlerinde ya da hammaddede laktik asit bakterilerinin bulunabilme olasılığı yükselmektedir. Literatürde bu tip kaynaklardan mikroorganizmaların izole edilip tanımlandığı ve sonrasında da bu mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5 Bazı meyve-sebze ve ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar.

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Fermente kakao suyu	29 LAB (tanımlanmamış)	- pH 2'de 3 saatlik süre sonunda canlılık - <i>Helicobacter pylori</i> üzerine en yüksek %65.52 antagonistik etki	Mabeku et al., 2020
Beyaz kabak, papaya ve domates turşusu	<i>Lac. plantarum</i> (3), <i>Lac. paraplantarum</i> (2), <i>Com. paralimentarius</i> / <i>kimchii</i> (1),	- Yüksek aside tolerans (<i>Lac. paraplantarum</i> (1), <i>Lac. plantarum</i> (1), <i>Lc. pseudomesenteroides</i> (5),	Fessard and Remize, 2019

¹² Sincan Uygur Özerk Bölgesi menşeli bir peynir çeşidi.

Çizelge 2.5 Bazı meyve-sebze ve ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Beyaz kabak, papaya ve domates turşusu	<i>Fructobacillus tropaeoli</i> (1), <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> (13), <i>Lc. pseudomesenteroides</i> (25), <i>Lc. citreum</i> (14), <i>Lc. mesenteroides</i> (7), <i>Lc. lactis</i> (1), <i>W. cibaria</i> (4), <i>W. confusa</i> (4), <i>W. paramesenteroides</i> (1), <i>W. soli</i> (1)	- <i>Lc. lactis</i> (1), <i>Lc. mesenteroides</i> (1), <i>Lc. citreum</i> (2), <i>W. cibaria</i> (2) ve <i>W. confusa</i> (3)) - %5 NaCl tuz konsantrasyonunda inhibisyon (<i>Lc. citreum</i> (1), <i>W. confusa</i> (1) ve <i>W. paramesenteroides</i> (1)) - Eksopolisakkarit üretimi (<i>Lc. pseudomesenteroides</i> (12), <i>Lc. lactis</i> (1), <i>Lc. mesenteroides</i> (6), <i>Lc. citreum</i> (4), <i>W. cibaria</i> (6), <i>W. confusa</i> (5), <i>W. koreensis</i> (1)) %0.2 ve %0.3 safra tuzu varlığında inaktivasyon	Fessard and Remize, 2019
Acı kabak, şişe kabağı, çıkıntılı kabak, lahana, çemen otu, hurma şarabı, palmiye nektarı, solkadi ¹³	<i>Lim. fermentum</i> <i>Lac. pentosus</i> <i>Lac. plantarum</i>	- Safra tuzlarına, yüksek pH'a karşı orta seviyede, pankreatine karşı ise düşük seviyede tolerans - İnsan patojenleri üzerine antimikrobiyal etki gösteren izolatlarda antioksidan aktivite - Bazı izolatlarda kamisine karşı direnç, streptomisin, ticarcillin ve imipeneme karşı orta düzeyde duyarlılık	Junnarkar et al., 2018

¹³ Batı Hindistan'a ait bir çeşit fermente ürün.

Çizelge 2.5 Bazı meyve-sebze ve ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Fermente brokoli, kiraz, zencefil, beyaz turp ve beyaz pitaya suları	<i>Lac. plantarum</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> , <i>W. cibaria</i> , <i>W. soli</i> , <i>W. confusa</i> , <i>Ent. gallinarum</i> , <i>Ent. durans</i> , <i>Ent. hirae</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>Ba. coagulans</i> , <i>Lc. garvieae</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>Str. thermophilus</i>	- Tüm izolatlar arasında antibiyotiklere en dirençli suş <i>Leu. mesenteroides</i> - Hidrofobisite değerleri: etil asetat için %13.4 ile %36.4 arasında, ksilen için ise %21.6 ile %69.6 arasında - Simüle mide ortamında <i>P. pentosaceus</i> Ca-4 ve <i>Leu. mesenteroides</i> B-25 için sırasıyla %22.4 ve %21.2 oranlarında canlılık	Xu et al., 2018
Fermente kızılıçık suyu	<i>Lac. plantarum</i> , <i>La. casei</i> , <i>Le. brevis</i> , <i>Liq. hordei</i> , <i>Lac. paraplantarum</i> , <i>Loi. coryniformis</i> , <i>Len. buchneri</i> , <i>Len. parabuchneri</i> , <i>La. pantheris</i> , <i>Sch. harbinensis</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> , <i>Leu. pseudomesenteroides</i>	- Tüm <i>Lac. plantarum</i> suşlarında pH 2.5 ve 3.5'de gelişim, <i>L. casei</i> 'nin 3, <i>Le. brevis</i> 'in 1 ve <i>Len. buchneri</i> 'nin 1 suşunda pH 2.5'de inaktivasyon, <i>L. casei</i> ve <i>Len. buchneri</i> 'in 1 suşunda pH 3.5'de inaktivasyon - Tüm izolatlarda %0.15 ve %0.3 konsantrasyonunda safra tuzu varlığına direnç - Hidrofobisite değeri: %0.5 ile %87.5 (<i>Lac. plantarum</i>) arasında	Sagdic et al., 2014

Çizelge 2.5 Bazı meyve-sebze ve ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Fermente kızılıcık suyu	<i>Lac. plantarum</i> , <i>La. casei</i> , <i>Le. brevis</i> , <i>Liq. hordei</i> , <i>Lac. paraplantarum</i> , <i>Loi. coryniformis</i> , <i>Len. buchneri</i> , <i>Len. parabunchneri</i> , <i>La. pantheris</i> , <i>Sch. harbinensis</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> , <i>Leu. pseudomesenteroides</i>	- <i>Leu. mesenteroides</i> 'in 2, <i>Leu. pseudomesenteroides</i> , <i>La. casei</i> ve <i>Len. bunchneri</i> 'nin 1'er suşları sadece <i>Li. monocytogenes</i> üzerine antimikrobiyal etki, <i>Lac. plantarum</i> suşları tüm test kültürleri üzerine yüksek antimikrobiyal etki - Tüm izolatlarda kanamisin, streptomisin ve vankomisine karşı dirençli, <i>Liq. hordei</i> 'de ampisilin, kloramfenikol, penisilin, eritromisin ve tetrasiklin hidroklorüre karşı duyarlılık, <i>Lac. plantarum</i> 'un 2 suşunda antibiyotiklere karşı direnç	Sagdic et al., 2014
Domates, havuç, turp, sarımsak, zencefil, salatalık, limon, tatlı patates, ahududu, üzüm, portakal, elma, kivi	26 LAB (tanımlanmamış)	- pH 3'de inaktivasyon - %2 safra tuzu varlığında canlılık - 8 izolatta %6.5 NaCl konsantrasyonunda canlılık - Amoksiklav ve oksasiline karşı direnç, eritromisin, penisilin G, sefalotin ve klindamisinine karşı duyarlılık	Pundir et al., 2013

Çizelge 2.5 Bazı meyve-sebze ve ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Sebze turşuları, fermente <i>Madhuca longifolia</i> ¹⁴ çiçeği ve pirinç	<i>L. helveticus</i> 'a ait suşlar, <i>La. casei</i> 'a ait suşlar, <i>L. delbrueckii</i> 'a ait suşlar, <i>L. bulgaricus</i> 'a ait suşlar	- Mide ortamında ve pH 3'de canlılık - Safra tuzlarını hidrolize etme - Enterik patojenlerden <i>Ent. sakazakii</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>Shigella flexneri</i> 2a, <i>Li. monocytogenes</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> ve <i>Aeromonas hydrophila</i> üzerine antagonistik etki - 4 izolatta streptomisin, gentamisin, vankomisin, penisilin, ampisilin, tetrasiklin, oksasilin ve siprofloksasine karşı duyarlılık - 4 izolatta %0.4 fenol'e karşı tolerans, lösin arilamidaz, valin arilamidaz, asit fosfataz, naftol- AS-BI-fosfohidrolaz, α ve β - galaktosidaz, β -glukozidaz ve N-asetil- β -glukozaminidaz enzimlerinin üretimi, - %60'ın üzerinde hidrofobisite	Kumar et al., 2012

¹⁴ Genellikle orta ve kuzey Hindistan ovalarında ve ormanlarında bulunan tropikal bir ağaç.

Çizelge 2.5 Bazı meyve-sebze ve ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Fransız bezelyesi, havuç, domates, ananas, karnabahar, kereviz	<i>Lim. fermentum</i> (F1, F2), <i>Lac. plantarum</i> (C2, C5, POM1, POM8, POM20, POM24, POM27, POM29, POM35, POM40, POM42, POM43, 1LE11, 1LS9, 1LS16, 2LC1, 2LS4), <i>Lati. curvatus</i> (CV1), <i>Le. brevis</i> (POM2, POM4), <i>Fur. rossiae</i> (2LC17, 2LS23, 2LE14), <i>Leu. mesenteroides</i> (C9), <i>P. pentosaceus</i> (POM7, POM10), <i>W. cibaria</i> (POM6, POM9, POM11, POM12, POM14, POM15, POM18, POM19, 3XLC3, SE1, SE3, SE4, SE11)	- pH 2 değerinde 3 saat canlılık (C2, C5, POM1, POM10, POM20, POM27, POM35, POM40, POM42, POM43, 1LS9, 1LS16, 2LC1, 2LS4, 2LE14, 2LC17 ve 2LS2), pH 3 değerinde mide ortamına en dirençli suşlar <i>Lac. plantarum</i> POM20 ve 1LS16 - Antienflamatuvar aktivitede sitokin üretiminde artış (birkaç suş) - <i>Lac. plantarum</i> C2 suşunda 1.91×10^4 bakteri hücresi/100 Caco-2 hücresi tutunma değeri ile en yüksek tutunma, <i>Lac. plantarum</i> 1LS9, 1LS16 ve POM20 suşlarında sırasıyla 1.04×10^4, 8.49×10^3 ve 7.97×10^3 bakteri hücresi/100 Caco-2 hücresi tutunma değerleri ile orta düzeylerde tutunma, - <i>Lac. plantarum</i> suşlarında enterohemorajik <i>E. coli</i> K12 ve <i>Ba. megaterium</i> F6 üzerine antimikrobiyal etki, <i>St. aureus</i> ATCC 25923'e karşı sadece <i>Lac. plantarum</i> C5 ve 1LS16 suşları etkili	Vitali et al., 2012

Çizelge 2.5 Bazı meyve-sebze ve ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların probiyotik potansiyelinin araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Gundruk, sinki, khalpi, inziangsang ¹⁵ , bambu filizi	<i>Le. brevis</i> , <i>Lac. plantarum</i> , <i>Lati. curvatus</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> , <i>Leu. fallax</i> , <i>Leu. lactis</i> , <i>Leu. citreum</i> , <i>Ent. durans</i>	- <i>Lac. plantarum</i> (11), <i>Le. brevis</i> (11), <i>Pediococcus</i> spp. (10), <i>Leu. fallax</i> (5), <i>Leu. lactis</i> (3) ve <i>Leu. mesenteroides</i> (1) dışında tüm izolatlarda <i>Li. innocua</i> DSM20649, <i>Li. monocytogenes</i> DSM20600, <i>Ba. cereus</i> CCM2010, <i>St. aureus</i> S1, <i>Ent. faecium</i> DSM20477, <i>Str. mutans</i> DSM6178, <i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> BFE147, <i>Ent. cloacae</i> BFE282, <i>Ent. agglomerans</i> BFE154 ve <i>Ps. aeruginosa</i> BFE162 üzerine antagonistik etki - <i>Lac. plantarum</i> IB2 suşunda <i>St. aureus</i> S1 indikatörlüğünde 32 AU/mL seviyesinde bakteriyosin aktivitesi - İzolatların %59'unda fitik asit degradasyonu - 94 izolattan 7'si %70'den fazla hidrofobisite değerine sahip, bu izolatlar aynı zamanda HT-29 MTX hücrelerine tutunma özelliğinde	Tamang et al., 2009

¹⁵ Himalayalara özgü yerel fermente sebzeler.

Hububatlar ve hububat bazlı ürünler diyet lifi, enerji, mineral, vitamin ve antioksidanları içermesi bakımından insan sağlığı bakımından önemlidir. Bununla birlikte bu ürünler, düşük protein içeriği, belirli temel amino asitlerin eksikliği (lisin), belirlenmiş antinutrientlerin (fitik asit, tanenler ve polifenoller) varlığı ve düşük nişasta bulundurabilmeleri (Chavan et al., 1989) gibi bazı dezavantajlara sahip olabilmektedir. Bu nedenle, hububatların besin kalitesi ve duyuşsal özellikleri, süt ve süt ürünlerine kıyasla bazen daha düşük veya zayıf olabilmektedir. Genel olarak hububat bazlı ürünlerde fermentasyondan sonra karbonhidrat, sindirilemeyen oligo/polisakkarit seviyeleri ve substrat toksisitesi azalırken, B grubu vitamin içeriği ve çözünür demir, çinko ve kalsiyum miktarları, protein miktarı ve kalitesi artmaktadır. Ayrıca bazı amino asitlerin sentezi de fermentasyonla gerçekleşmektedir (Teniola and Odunfa, 2001; Blandino et al., 2003). Fermentasyondan sonra son ürünün raf ömrü, aroması (diasetilasetik asit ve butirik asit gibi), dokusu ve tadında genel bir iyileşme de meydana gelmektedir (Chavan et al., 1989). Yapılan birçok çalışma, hububat bazlı ürünlerin vücudu diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi çeşitli hastalıklara karşı koruduğunu ortaya koymuştur (Chatenoud et al., 1998, 1999; Venn and Mann, 2004).

Hububat bazlı ürünlerin fermentasyonunda bakteri, küf ve mayalar rol alabilmektedir (Steinkraus, 1998; Blandino et al., 2003). Bununla birlikte fermentasyonda baskın florayı laktik asit bakterileri oluşturmakta ve cins bazında çoğunlukla *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc*'a ait türler bulunmaktadır (Kalui et al., 2010). Ayrıca tür bazında *Lac. plantarum* ve *Lim. fermentum*'un hububat bazlı fermente ürünlerin çoğunda bulunduğu bildirilmektedir (Kalui et al., 2010; Franz et al., 2014; Kohajdova, 2017). Hububat bazlı ürünlerde sıkça karşılaşılan diğer LAB'leri ise *Le. brevis*, *Lig. salivarius*, *Lc. lactis*, *P. pentosaceus*, *P. acidilactici*, *Leu. mesenteroides* ve *W. confusa*'dır. Oldukça zengin bir mikrofloraya sahip hububat bazlı fermente ürünlerden izole edilen LAB'lerinin probiyotik potansiyeli olabileceği yapılan çalışmalarda ortaya koyulmuştur (Çizelge 2.6).

Çizelge 2.6 Bazı hububatlardan ve fermente hububat ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların ve probiyotik potansiyelini araştırıldığı çalışmalar.

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Ogi (pap, akamu)	<i>Lac. plantarum</i> , <i>Lim. fermentum</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>W. cibaria</i>	- En yüksek DPPH radikali (%58.77) ve lipid peroksidaz (%57.94) inhibisyonu aktivitesi (<i>Lac. plantarum</i>) - 14 izolatta pH 2 değerinde ve %1 safra tuzu varlığında canlılık - Aynı 14 izolatta oto-agregasyon değerleri: 3 saat sonunda %7.19 ile %22.43, 24 saat sonunda ise %14.34 ile %46.45 arasında - Ksilen ve n-hegzadekan için hidrofobisite değerleri sırasıyla %11.79 ile %62.45 ve %5.44 ile %58.96 arasında - Bir izolatta α-hemoliz, iki izolatta β-hemoliz aktivitesi - Tüm izolatlarda vankomisine karşı direnç, penisilin G, gentamisin, kinupristin/dalfopristin, eritromisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, siprofloksasin ve ampisiline karşı ise genel olarak duyarlılık - En yüksek antimikrobiyal etki <i>St. aureus</i> üzerinde - Tüm izolatlar lizozim enzimine karşı dirençli - Tüm izolatlarda safra tuzlarını hidrolizi - Tüm izolatlarda β-galaktosidaz aktivite ve polisakkarit üretimi	Ajayeoba and Ijabadeniyi, 2019

Çizelge 2.6 Bazı hububatlardan ve fermente hububat ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların ve probiyotik potansiyelini araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Dosa hamuru	<i>Lac. plantarum</i> LD1, <i>Ent. hirae</i> LD3, <i>W. cibaria</i> 13 ve 16	- <i>Lac. plantarum</i> LD1: kanamisine karşı dirençli, tetrasiklin, eritromisin, kloramfenikol ve gentamisinine karşı duyarlı, <i>Ent. hirae</i> LD3: kanamisin ve gentamisinine karşı dirençli, tetrasiklin, eritromisin ve kloramfenikole karşı duyarlı, <i>W. cibaria</i> 13 ve 16: penisilin G, sefotaksim, gentamisin, tetrasiklin, kloramfenikol, klindamisin, eritromisin, linezolid, linkomisin ve siprofloksasine karşı duyarlı, - <i>Lac. plantarum</i> LD1 ve <i>Ent. hirae</i> LD3 için pH 2 değerinde sırasıyla %78 ve %84 oranında canlılık, <i>W. cibaria</i> 13 ve 16 için pH 3 değerinde canlılık - Hidrofobisite değeri <i>Lac. plantarum</i> LD1 ve <i>Ent. hirae</i> LD3 için sırasıyla %62 ve %30, <i>W. cibaria</i> 13 için düşük hidrofobisite, <i>W. cibaria</i> 16 suşunda ksilen, hegzan, kloroform ve hegzadekan için sırasıyla %15, %21, %22 ve %13 oranında hidrofobisite - <i>W. cibaria</i> 13 ve 16 suşlarında <i>E. coli</i> ve <i>S. Typhimurium</i> 'a karşı antimikrobiyal aktivite, <i>Lac. plantarum</i> LD1 suşunda <i>Micrococcus luteus</i> , <i>St. aureus</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>Shigella flexneri</i> , <i>Ps. fluorescens</i> , <i>Ps. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> ve <i>Vibrio</i> spp. üzerine antimikrobiyal aktivite	Gupta and Tiwari, 2014; 2015; Singh et al., 2018

Çizelge 2.6 Bazı hububatlardan ve fermente hububat ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların ve probiyotik potansiyelini araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Dosa hamuru	<i>Lac. plantarum</i> LD1, <i>Ent. hirae</i> LD3, <i>W. cibaria</i> 13 ve 16	- <i>W. cibaria</i> 13 ve 16 suşlarında %8 ve %17 oranında kolesterol asimilasyonu, <i>Lac. plantarum</i> LD1 ve <i>Ent. hirae</i> LD3 suşlarında safra tuzları hidrolizi - <i>W. cibaria</i> 13 ve 16 suşlarında Caco-2 tutunma değerleri sırasıyla %64 ve %65	Gupta and Tiwari, 2014; 2015; Singh et al., 2018
Sannas	<i>Lac. plantarum</i>	- <i>Lac. plantarum</i> MYS14 suşunda antibiyotiklere karşı duyarlılık - DPPH radikalini indirgeme - Kolesterol asimilasyonu - <i>Ps. aeruginosa</i> MTCC 7903'e karşı antibiyofilm aktivitesi	Rao et al., 2017
Idli, idli hamuru, piper betle ¹⁶ içeren idli	<i>Lac. plantarum</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>W. cibaria</i> 92, <i>P. parvulus</i> AI1, <i>P. pentosaceus</i> , <i>Lac. plantarum</i> subsp. <i>argentoratensis</i> , <i>Lac. paraplantarum</i> ,	- <i>W. cibaria</i> ve <i>P. parvulus</i> suşlarında pH 3 değerinde canlılık, <i>Lac. plantarum</i> ve <i>Lc. lactis</i> 'de gelişim, <i>Lac. plantarum</i> subsp. <i>argentoratensis</i> , <i>Lac. paraplantarum</i> ve <i>P. pentosaceus</i> suşlarında pH 2 ve 2.5 değerlerinde canlılık - <i>Lac. plantarum</i> ve <i>Lc. lactis</i> suşlarında %2 safra tuzu varlığında, <i>W. cibaria</i> , <i>P. parvulus</i> , <i>Lac. plantarum</i> subsp. <i>argentoratensis</i> , <i>Lac. paraplantarum</i> ve <i>P. pentosaceus</i> suşlarında ise %0.3 safra tuzu varlığında gelişim	Iyer et al., 2013; Patel et al., 2014; Sadishkumar and Jeevaratnam, 2017

¹⁶ Bir çeşit asma yaprağı.

Çizelge 2.6 Bazı hububatlardan ve fermente hububat ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların ve probiyotik potansiyelini araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Idli, idli hamuru, piper betle ¹⁷ içeren idli	<i>Lac. plantarum</i> , <i>Lc. lactis</i> , <i>W. cibaria</i> 92, <i>P. parvulus</i> AI1, <i>P. pentosaceus</i> , <i>Lac. plantarum</i> subsp. <i>argentoratensis</i> , <i>Lac. paraplantarum</i> ,	- <i>P. parvulus</i> suşunda vankomisin, gentamisin, kanamisin ve norfloksasine karşı direnç, <i>W. cibaria</i> suşunda bu antibiyotiklere ek olarak polimiksine karşı direnç - <i>Lac. plantarum</i> subsp. <i>argentoratensis</i> , <i>Lac. paraplantarum</i> ve <i>P. pentosaceus</i> suşlarında %32 ile %70 arasında kolesterol düşürücü etki ve %40 ile %60 arasında mün adezyonu - En yüksek hidrofobisite (%32) hegzadekan üzerinde (<i>Lac. paraplantarum</i>) - <i>Lac. plantarum</i> subsp. <i>argentoratensis</i> , <i>Lac. paraplantarum</i> ve <i>P. pentosaceus</i> için oto-agregasyon değeri %63 ile %79, <i>Li. monocytogenes</i> MTCC657 ve <i>E. coli</i> MTCC 728 ile co-agregasyon değerleri %63 ile %76 arasında	Iyer et al., 2013; Patel et al., 2014; Sadishkumar and Jeevaratnam, 2017
Boza	<i>Lac. plantarum</i> (ST194BZ, ST441BZ ve ST664BZ), <i>La. paracasei</i> (ST242BZ ve ST284BZ),	- Tüm izolatlarda bakteriyosin üretimi - Tüm izolatlarda pH 3 değerinde gelişim - İzolatların çoğunluğunda %0.3, az bir kısmında %0.6 safra tuzu varlığında canlılık - <i>La. paracasei</i> ST284BZ'de HSV-1 virüsüne karşı yüksek antiviral etki	Todorov et al., 2008

¹⁷ Bir çeşit asma yaprağı.

Çizelge 2.6 Bazı hububatlardan ve fermente hububat ürünlerinden izole edilen mikroorganizmaların ve probiyotik potansiyelini araştırıldığı çalışmalar (devamı).

Ürün(ler)	İzole edilen m.o.'lar	Probiyotik özellik	Kaynaklar
Boza	<i>Lac. plantarum</i> (ST194BZ, ST441BZ ve ST664BZ), <i>La. paracasei</i> (ST242BZ ve ST284BZ), <i>La. rhamnosus</i> (ST461BZ ve ST462BZ), <i>Lac. pentosus</i> (ST712BZ)	- İzolatların %67 ile %99 arasında oto-agregasyon, <i>Li. innocua</i> LMG 13568, <i>Lat. sakei</i> DSM 20017, <i>Ent. faecium</i> HKLHS ve <i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> HV219 ile %80.67 ile %95.68 arasında co-agregasyon - İzolatların HT-29 ve Caco-2 hücrelerine tutunma değerleri sırasıyla %18 ile %22 ve %0.26 ile %9 aralığında - Hidrofobisite değeri %75 ile %80 arasında	Todorov et al., 2008

2.2. Tarhana

Tarhana, ilk olarak Orta Asya'da yaşayan Türkler tarafından bulunmuş ve Türk yerleşimciler tarafından Anadolu, Orta Doğu, Balkanlar ve bazı Avrupa ülkelerine taşınmış, özellikle kış aylarında yaygın olarak tüketilen, hububat temelli, kurutulmuş muhafaza edilen fermente bir üründür. Türk Standartları Enstitüsü Tarhana Standardı (TS 2282)'na göre "tarhana, buğday unu, kırması, irmik veya bunların karışımı ile yoğurt, biber, tuz, soğan, domates ve tat, koku verici, sağlığa zararsız bitkisel maddelerin karıştırılıp yoğurulduktan ve fermente edildikten sonra kurutulması, öğütülmesi ve elenmesiyle elde edilen bir besin maddesidir" (Anonim, 2004). Ülkemizde tarhana olarak adlandırılan ürün, farklı ülkelerde farklı şekillerde adlandırılmaktadır: İran ve Irak'ta "kushuk"; Suriye, Mısır ve Lübnan'da "kishk"; Yunanistan'da "trahanas"; İskoçya'da "atole" ve Macaristan ile Finlandiya'da "tahonyaltalkuna" gibi farklı isimler almıştır (Sengun et al., 2009; Sengun et al., 2012). Kelime anlamı olarak; Divan-ı Lügat-it Türk'te yazdan kışa saklanan yoğurt anlamında "tar" kelimesi

ve Farsça’da “terhuvane” ve “terhime” kelimeleri kullanılmıştır. Türk sözlüklerinde ise ilk olarak Kıpçak ve Mısır Memlûk Türklerine ait sözler arasında “tarhanan” şeklinde yazılmış ve 14. yüzyılda Türkçe’deki gelişimini tamamlayarak “kışlık azık” için kullanılmıştır (Sormaz et al., 2019).

Tarhana, TS 2282:2004’nolu standarda göre dört farklı grupta toplanmaktadır. Bu sınıflandırma tarhana üretiminde kullanılan buğdayın yapısı ile ilgilidir. Üretiminde kullanılan yoğurt, sebzeler ve baharatlar haricinde buğday kırması ve irmiğinin kullanılmadığı, sadece buğday unu kullanılarak yapılan tarhana “un tarhanası”, buğday unu ve irmiği içermeyen, sadece buğday kırması kullanılarak yapılan tarhana “göce tarhanası”, buğday unu ve kırması içermeyen, sadece buğday irmiği kullanılarak yapılan tarhana “irmik tarhanası”, buğday unu, kırması veya irmiğinden en az ikisi kullanılarak yapılan tarhana ise “karışık tarhana” olarak isimlendirilmektedir (Anonim, 2004).

Tarhana her bölgeye ve hatta yöreye göre farklı hammaddeler ve yardımcı maddeler kullanılarak, farklı üretim yöntemleri ile üretilmektedir. Ana hammaddesi buğday unu ve yoğurt olan tarhana, pişmiş veya pişmemiş kırmızı biber, yeşil biber, domates, maydanoz, nane, patates, tarhana otu (*Echinophora sibthorpiana*) gibi yardımcı maddeler ile lezzetlendirilmekte ve besin değeri arttırılmaktadır (Bilgiçli ve Elgün, 2005; Tamer vd., 2007; Ozdemir et al., 2007). Tarhana, ülkemiz sınırları içerisinde oldukça fazla çeşitliliğe sahiptir. Bununla birlikte malzeme ve hazırlama yöntem kullanılarak üretilmesine karşın coğrafi farklılıklar, kullanılan malzemelerin yetiştirildiği iklimler, kullanılan su ve hatta ortamın havası son üründe belirgin lezzet farklılıklarına sebebiyet vermektedir.

Tarhana üretimi genel olarak dört aşamadan oluşmaktadır (Ozdemir et al., 2007; Sengun and Karapinar, 2012). İlk aşama, tarhana hamurunun hazırlanmasıdır. Bu aşamada, kullanılan hammaddelerin çeşidi ve birbiri ile karıştırılma şekilleri farklılık gösterebilir. Temel olarak domates, biber, soğan gibi çiğ sebzeler doğranır veya olabildiğince boyut küçültme işlemi uygulanır. Hazırlanan karışıma tuz ve nane, kekik, dereotu ve tarhana otu gibi baharatlar eklendikten sonra opsiyonel olarak kaynatma işlemi uygulanır. Karışım kaynatılıyorsa oda sıcaklığına geldikten sonra yoğurt ve buğday unu ilave edilerek yoğurulur ve hamur elde edilir. Yoğurma aşaması öncesinde tercihe göre ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) da eklenebilmektedir (Coskun, 2019). İkinci aşama, fermentasyon aşamasıdır. Bu aşamada, oda sıcaklığında veya 30-35°C gibi farklı sıcaklıklarda ve 1 günden 3 haftaya kadar varan sürelerde fermentasyon işlemi gerçekleştirilmektedir. Üçüncü aşama kurutma işleminin gerçekleştirildiği

aşamadır. Bu aşamada, fermentasyon süresi biten hamurlar küçük bezeler şeklinde veya hamurun kıvamına göre ince bir tabaka olacak şekilde serilip güneş altında veya ticari kurutucularda kurutulmaktadır. Son aşamada ise kuruyan hamurlara boyut küçültme işlemi uygulanmaktadır. Bu aşama opsiyoneldir ve bazı tarhana tiplerinde (göce tarhanası gibi) boyut küçültme işlemi uygulanmadan ürün kuru bezeler şeklinde muhafaza edilmektedir.

Tarhana B vitaminleri, mineraller, organik asitler ve serbest amino asitler açısından oldukça iyi bir kaynaktır (Bilgiçli vd., 2006; Georgala, 2013). Fermentasyon ve depolama sırasında tarhanada organik asit ve yağ asidi bileşiklerinin varyasyonları meydana gelmektedir. Tarhana fermentasyonu sırasında, laktik asit, baskın organik asit olarak tespit edilmektedir (Georgala, 2013; O'Callaghan et al., 2019). Bununla birlikte depolama sırasında tarhanada tiramin benzeri biyogen amin bileşiklerinin bulunabileceği (Özdestan ve Üren, 2013), ancak üzüm çekirdeği ekstraktı kullanımı ile biyogen amin miktarının düşürülebileceği bildirilmektedir (Akan ve Ocak, 2019).

Tarhana, üretiminde yer alan hammaddelerin çeşitliliği ve üretildiği bölgeye bağlı olarak fermentasyon sürecinde maya ve laktik asit bakterileri gibi birden fazla mikroorganizma grubunu içermektedir (Georgala, 2020). Tarhana mikroflorası üzerine yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. İbanoğlu et al. (1999) 4 günlük fermentasyon süreci sonunda tarhana (un tarhanası, Manchester, İngiltere) örneklerindeki maya sayısının 2.2×10^6 kob/g ile 2.3×10^6 kob/g, LAB sayısının ise 4.0×10^6 kob/g ile 3.8×10^7 kob/g arasında değiştiğini bildirmiştir. Erbaş vd. (2005), yaptıkları çalışmada, 3 günlük fermentasyon süreci sonunda tarhana (un tarhanası, Antalya, Türkiye) hamurlarındaki maya ve küf sayısının 5.78 log kob/g, LAB (*Lactobacillus* türleri) sayısının ise 5.44 log kob/g seviyesinde olduğunu bildirmiştir. Değirmencioğlu vd. (2005) tarafından yapılmış bir çalışmada, 4 günlük fermentasyon süreci sonrası kurutulmuş tarhana (un tarhanası, Bursa ve Bandırma, Türkiye) örneklerindeki maya sayısının 4.05×10^5 kob/g ile 5.85×10^6 kob/g, LAB sayısının ise 1.22×10^6 kob/g ile 1.78×10^6 kob/g arasında değiştiği belirtilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada, 5 günlük fermentasyon süresi sonunda tarhana (un tarhanası, İzmir, Türkiye) hamuru örneklerindeki LAB sayısının 6.42 log kob/g, 7 günlük kurutma süresi sonunda 4.40 log kob/g ve paketlenme sonrası 4.75 log kob/g seviyesinde olduğu bildirilmiştir (Karagozlu vd., 2008).

Farklı tarhana örneklerinin mikrobiyolojik kalitesinin incelendiği ve fermentasyonda rol alan laktik asit bakterilerinin ilk kez moleküler düzeyde tanımlandığı çalışma olması nedeniyle önem arz eden çalışma ise bu tez çalışmasının danışmanı tarafından gerçekleştirilmiştir (Sengun

et al., 2009). Bu çalışma kapsamında 8 farklı tarhana örneği (1:Aydın/İncirliova, 2 gün fermentasyon; 2:Milas/Bodrum-Gündoğan Köyü, 4 gün fermentasyon; 3:İzmir/Hatay, 6 gün fermentasyon süresi; 4:Manisa/Gölmarmara-Tiyenli Köyü, 15 gün fermentasyon; 5:İzmir/Urla-Gülbahçe Köyü, 1 gün fermentasyon; 6:İzmir/Çeşme-Barbaros Köyü, 1 gün fermentasyon; 7:Uşak/Şehir merkezi, 21 gün fermentasyon; 8:Isparta/Şarikaraağaç, 3 gün fermentasyon) fermentasyon süresince (0., 1., 2., 3., 4., 5., 6., 15. ve 21.günlerde) ve kurutulduktan sonra örneklenmiş ve LAB sayımı yapılmıştır (Şengün, 2006). Örneklerde LAB sayımı cins bazında ve 2 farklı sıcaklıkta yapılmıştır. Bu amaçla *Lactobacillus* sayımında MRS (de Man Rogosa and Sharpe), *Streptococcus* sayımında M17 ve *Enterococcus* sayımında SAB (Slanetz and Bartley Medium) kullanılmış ve ekim yapılan petriler 30°C ve 42°C'de ayrı ayrı inkübe edilmiştir (Çizelge 2.7).

Çizelge 2.7 Fermentasyon süresi sonunda tarhana örneklerinin LAB sayısı sonuçları (Şengün, 2006).

Ortam		LAB (log kob/g)								Cins
(°C)	Besiyeri	Aydın	Milas	İzmir/ Hatay	Manisa	İzmir/ Urla	İzmir/ Çeşme	Uşak	Isparta	
30	MRS	7.2	6.5	7.3	5.2	6.6	<1	7.7	6.9	<i>Lactobacillus</i> spp.
	M17	6.5	6.6	5.3	5.0	7.1	5.9	7.7	7.0	<i>Streptococcus</i> spp.
	SAB	<1	3.5	4.7	3.3	2.1	1.8	5.1	1.8	<i>Enterococcus</i> spp.
42	MRS	6.4	7.2	7.2	3.0	6.8	<1	6.0	6.9	<i>Lactobacillus</i> spp.
	M17	6.9	6.1	4.9	4.0	6.6	5.9	6.0	10.3	<i>Streptococcus</i> spp.
	SAB	<1	3.3	4.6	4.3	5.3	1.8	4.2	3.4	<i>Enterococcus</i> spp.

Kurutulmuş örneklerde Aydın tarhanasında *Enterococcus* ve İzmir/Çeşme tarhanasında *Lactobacillus* ve *Streptococcus* türleri tespit limitlerinin altında kalırken diğer örneklerde LAB sayısının 1.2 log kob/g ile 6.5 log kob/g arasında değiştiği belirtilmiştir (Şengün, 2006). Şimşek vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, 15 günlük fermentasyon sonrasında tarhana (un tarhanası, Uşak, Türkiye) hamurlarındaki LAB sayısının ortalama 6.52 log kob/g seviyesinde olduğu tespit edilmiştir. Arslan-Tontul et al. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, 3 günlük fermentasyon süresi sonunda tarhana (un tarhanası, İzmir, Türkiye) hamurunda maya sayısının 7.57 log kob/g, LAB sayısının ise 8.26 log kob/g seviyesinde olduğu tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada (Ertop et al., 2019), 9 farklı tarhana (un tarhanası, Kastamonu, Türkiye) örneğindeki maya sayısının 2.4×10^4 kob/g ile 3.0×10^7 kob/g, LAB sayısının 1.1×10^4 kob/g ile

1.1×10^7 kob/g, anaerobik LAB sayısının ise 7.8×10^6 kob/g ile 4.0×10^7 kob/g arasında değiştiği bildirilmiştir.

Yapılan birçok çalışmada tarhanada bulunan LAB'lerinin sayısının genel olarak yüksek olduğu bildirilmiş ve bu grup içerisinde yer alan suşların tür bazında tanımlanması üzerine çalışmalar yapılmıştır (Çizelge 2.8). Yapılan çalışmalarda, tarhanadan izole edilip tanımlanmış LAB'leri arasında en çok tespit edilen suşların sırasıyla *Lac. plantarum*, *Le. brevis*, *Lim. fermentum*, *La. casei*, *Lac. pentosus*, *P. pentosaceus* ve *Ent. faecium* olduğu görülmektedir. Tanımlanan diğer suşlar ise *Str. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. intestinalis*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *La. paracasei*, *Lac. paraplantarum*, *Lac. fabifermentas*, *Lac. pentosus*, *Liq. nagelii*, *Loi. bifermentans*, *Lig. agilis*, *Lentilactobacillus diolivorans*, *Len. diolivorans*, *Com. alimentarius*, *Com. paralimentarius*, *Leu. pseudomesenteroides*, *Leu. citreum*, *Leu. mesenteroides*, *Leu. cremoris*, *W. cibaria*, *P. acidilactici*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Ent. durans*, *Ent. faecalis* ve *Ent. dispar*'dır.

Çizelge 2.8 Tarhanadan izole edilip tür bazında tanımlanan LAB'leri.

LAB (leri)	Tanımlama	Kaynaklar
<i>Str. thermophilus</i> , <i>Lim. fermentum</i> , <i>Lac. plantarum</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lac. paraplantarum</i> , <i>La. casei</i> , <i>Ent. faecium</i> , <i>P. pentosaceus</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>Leu. pseudomesenteroides</i> , <i>Leu. citreum</i> , <i>W. cibaria</i>	16S rRNA genotipik	Sengun et al., 2009
<i>P. acidilactici</i> , <i>Lac. plantarum</i> , <i>Le. brevis</i>	16S rRNA genotipik	Settanni et al., 2011

Çizelge 2.8 Tarhanadan izole edilip tür bazında tanımlanan LAB'leri (devamı).

LAB (leri)	Tanımlama	Kaynaklar
<i>Liq. nagelii</i> , <i>Loi. bifermentans</i> , <i>Lim. fermentum</i> , <i>L. intestinalis</i> , <i>Lig. agilis</i> , <i>Leu. cremoris</i>	Morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik	Tabatabaei-Yazdi et al., 2012
<i>Lac. plantarum</i> , <i>Lim. fermentum</i> , <i>Lac. pentosus</i> , <i>Le. brevis</i> , <i>Len. Diolivorans</i>	Rep-PCR	Vasiee et al., 2014
<i>Lc lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>La. paracasei</i> , <i>Ent. durans</i> , <i>Pediococcus</i> spp.	Riboprinter	Kivanc and Funda, 2017
<i>La. casei</i> , <i>Com. alimentarius</i> , <i>Lac. fabifermentas</i> , <i>Com. paralimentarius</i> , <i>Lac. plantarum</i> , <i>Le. brevis</i>	16S rRNA genotipik	Şimşek vd., 2017

Çizelge 2.8 Tarhanadan izole edilip tür bazında tanımlanan LAB'leri (devamı).

LAB (leri)	Tanımlama	Kaynaklar
<i>Lac. plantarum</i> , <i>Lim. fermentum</i> , <i>Lac. pentosus</i> , <i>Le. brevis</i> , <i>Len. diolivorans</i> , <i>Ent. faecium</i> , <i>Ent. faecalis</i> , <i>Leu. citreum</i> , <i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i> ,	16S rRNA genotipik	Vasiee et al., 2018
<i>Le. brevis</i> , <i>Lac. plantarum</i> , <i>Lac. pentosus</i>	Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre (FTIR)	Şenol vd., 2019
<i>Ent. faecium</i> , <i>Ent. dispar</i> , <i>Lac. plantarum</i> , <i>P. pentosaceus</i>	PCR-RFLP ve RAPD-PCR	Cebeci et al., 2020
<i>Lac. plantarum</i> , <i>Com. alimentarius</i> , <i>Le. brevis</i>	16S rRNA genotipik	Özel vd., 2020

Literatürde tarhanadan izole edilen LAB'lerinin bazı özelliklerini belirlemek adına yapılmış olan birkaç çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan Ateş (2019) tarafından yapılan çalışmada, tarhanadan izole edilip MALDI-TOF MS ile tanımlanan LAB izolatlarına asit tolerans (pH 3.0), safra tuzu tolerans (%0.3), antibiyotik duyarlılığı (penisilin G, vankomisin, sefalotin, kloramfenikol ve amoksisilin) ve antimikrobiyal aktivite (*St. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* ATCC 14028) testleri uygulanmıştır. Çalışmada incelenen

P. pentosaceus (14 ad.), *Le. brevis* (2 ad.), *Lac. pentosus* (1 ad.), *Lac. plantarum* (1 ad.), *Lac. paraplantarum* (1 ad.), *Lim. fermentum* (4 ad.), *Ent. faecalis* (4 ad.) ve *Ent. faecium* (2 ad.) suşlarının pH 3.0'de 4 saatlik süre sonunda %0.18 ile %28.47 arasında canlı kalabildiği, %0.3 safra tuzu varlığında ise %0.10 ile %41.05 arasında canlı kalabildiği bildirilmiştir. İzolatların penisilin G, kloramfenikol ve sefalotin antibiyotiklerine karşı yüksek seviyede duyarlılık gösterdiği, vankomisin ve amoksisiline karşı ise düşük seviyede duyarlılık gösterdikleri belirtilmiştir. En yüksek antimikrobiyal aktiviteyi ise *P. pentosaceus*, *Le. brevis* ve *Lim. fermentum*'un sergilediği bildirilmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, İran tarhanası, "Tarkhineh" den izole edilip tanımlanmış LAB'leri pH 2.5'te canlılık, safra tuzlarına tolerans ve antibakteriyel aktivite testlerine tâbi tutulmuştur (Vasiee et al., 2014). Çalışma kapsamında incelenen *Lac. plantarum* (19 ad.), *Lim. fermentum* (17 ad.), *Lac. pentosus* (9 ad.), *Le. brevis* (8 ad.) ve *Len. diolivorans* (1 ad.) suşları içerisinde sadece 3'ünün (*Lim. fermentum* (2 ad.) ve *Lac. plantarum* (1 ad.)) pH 2.5'te canlılığını sürdürebildiği, %0.4 safra tuzuna tolerans gösterdiği ve *St. aureus*, *Li. innocua* ve *E. coli* üzerine antibakteriyel aktivitesinin bulunduğu bildirilmiştir (Vasiee et al., 2014). Abbas Ahmadi et al. (2014) tarafından yapılan çalışmada, tarhana örneklerinden izole edilip tanımlanan *La. casei*, *Lac. plantarum* ve *Le. brevis*'e ait bazı suşların antimutajenik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmalar genel olarak incelendiğinde, tarhana izolatlarının özelliklerini belirlemek adına oldukça sınırlı sayıda analizin yapıldığı, probiyotik özelliklerin belirlenmesinde bu testlerin yetersiz kaldığı görülmektedir. Bu nedenle yürütülen bu tez çalışması kapsamında, Türkiye'nin sekiz farklı yöresine ait tarhana örneklerinden izole edilip tanımlanan LAB'nin probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Tez çalışmasında öncelikle mevcut LAB izolatlarının farklı ortam koşullarında canlılıkları incelenmiş, ardından bu ortamlarda canlılıklarını koruyabilen izolatların ürettikleri metabolitler belirlenmiş ve son aşamada izolatların intestinal epitel yüzeyine tutunma ve epitelyal bariyer direncine ve geçirgenliğine etkisi belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. LAB izolatlarının aktivasyonu

Bu çalışma, önceki çalışma (Sengun et al., 2009) kapsamında farklı tarhana örneklerinden izole edilip *Ent. faecium*, *Lim. fermentum*, *Lac. plantarum*, *Lac. paraplantarum*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *La. casei*, *Leu. pseudomesenteroides*, *Leu. citreum*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Str. thermophilus* ve *W. cibaria* olarak tanımlanan izolatlar ile gerçekleştirilmiştir. -20°C’de gliserol stokta (%15 v/v) muhafaza edilen 226 adet LAB izolatı içerisinde toplam 30 izolat seçilmiş ve analizler representatif olarak seçilen bu izolatlar üzerinde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.1). İzolatlar, izolasyonlarında kullanılan besiyeri ve inkübasyon sıcaklığına uygun olacak şekilde Man Rogosa and Sharp Broth (MRS, pH 6,2±0,2, CM0359, Oxoid) veya M17 Broth (pH 6,9±0,2, CM0817, Oxoid) besiyerinde, 30°C veya 42°C’de 24 saat inkübe edilerek aktive edilmiştir. Elde edilen aktif sıvı kültürler analizlerde kullanılmıştır.

Çizelge 3.1 Test kültürü olarak seçilen izolatlar.

Tür	İzolat	İzolasyon kaynağı
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Ent. faecium</i> A25	Aydın/İncirlioğlu
	<i>Ent. faecium</i> C90	İzmir/Hatay
	<i>Ent. faecium</i> B42	Milas/Bodrum
	<i>Ent. faecium</i> F8	İzmir/Çeşme
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>L. bulgaricus</i> B70	Milas/Bodrum
	<i>L. bulgaricus</i> B112	Milas/Bodrum
<i>Lacticaseibacillus casei</i>	<i>La. casei</i> D53	Manisa/Gölmarmara
<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	<i>Lim. fermentum</i> C40	İzmir/Hatay
	<i>Lim. fermentum</i> A33	Aydın/İncirlioğlu
<i>Lactiplantibacillus paraplantarum</i>	<i>Lac. paraplantarum</i> D99	Manisa/Gölmarmara
	<i>Lac. paraplantarum</i> C65	İzmir/Hatay
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lac. plantarum</i> G53	Uşak/Merkez
	<i>Lac. plantarum</i> G62	Uşak/Merkez

Çizelge 3.1 Test kültürü olarak seçilen izolatlar (devamı).

Tür	İzolat	İzolasyon kaynağı
<i>Leuconostoc citreum</i>	<i>Leu. citreum</i> C38	İzmir/Hatay
	<i>Leu. citreum</i> A15	Aydın/İncirliova
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	<i>Leu. pseudomesenteroides</i> D112	Manisa/Gölmarmara
<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>P. acidilactici</i> C24	İzmir/Hatay
	<i>P. acidilactici</i> G3	Uşak/Merkez
	<i>P. acidilactici</i> B78	Milas/Bodrum
	<i>P. acidilactici</i> B97	Milas/Bodrum
	<i>P. acidilactici</i> D68	Manisa/Gölmarmara
	<i>P. acidilactici</i> G65	Uşak/Merkez
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	<i>P. pentosaceus</i> B44	Milas/Bodrum
	<i>P. pentosaceus</i> G47	Uşak/Merkez
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Str. thermophilus</i> E40	İzmir/Urla
	<i>Str. thermophilus</i> A40	Aydın/İncirliova
	<i>Str. thermophilus</i> F9	İzmir/Çeşme
	<i>Str. thermophilus</i> F18	İzmir/Çeşme
<i>Weissella cibaria</i>	<i>W. cibaria</i> D30	Manisa/Gölmarmara
	<i>W. cibaria</i> F25	İzmir/Çeşme

3.2. Yöntem

3.2.1. Farklı pH değerlerinde gelişimin belirlenmesi

Sıvı kültürlerden, NaOH ve HCl ile pH değeri 2, 3 ve 4'e ayarlanan MRS/M17 Broth besiyerlerine öze ile ekim yapılmış ve tüpler 30°C'de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda tüplerde bulanıklık oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (G-Alegría et al., 2004).

3.2.2. Safra tuzlarına toleransın belirlenmesi

Sıvı kültür, %0.3 ve %1.0 (w/v) oranında safra tuzu içeren MRS/M17 Broth besiyerine öze ile inoküle edilmiş ve ekim yapılan tüpler 30°C'de 4 saat inkübe edilmiştir. İnoküle edilen tüplerden 0. ve 4. saatlerde MRS Agar (pH 6.2±0.2, CM0361, Oxoid)/M17 Agar (pH 6.9±0.2,

CM0785, Oxoid) besiyerlerine yayma plak yöntemi ile ekim yapılmış ve petriler 30°C’de 3-5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda izolatların canlılık düzeyi; $N_i/N_x \times 100$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır ($N_i = \log \text{ kob/mL}$ 4 saatlik inkübasyon sonrası, $N_x = \log \text{ kob/mL}$ başlangıç miktarı) (Zielińska et al., 2015).

3.2.3. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimin belirlenmesi

Sıvı kültürlerden %1.5 ve %10 (w/v) NaCl içeren MRS/M17 Broth besiyerlerine ekim yapılmış ve tüpler 30°C’de 3-5 gün inkübe edildikten sonra bulanıklık gözlemlenen tüpler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Adnan ve Tan, 2007).

3.2.4. Pepsin ve pankreatin varlığında gelişimin belirlenmesi

Pepsin varlığında gelişimin belirlenmesi amacıyla, içerisinde %1 oranında fizyolojik tuzlu su (FTS, %0.85 NaCl, 3 mg/mL pepsin, pH 2.5) çözeltisi bulunan ortama 1 öze dolusu sıvı kültür inoküle edilmiş ve tüpler 30°C’de 4 saat inkübe edilmiştir. Pankreatin varlığında gelişimin belirlenmesi amacıyla %1 oranında FTS (%0.85 NaCl, %0.3 safra tuzu, 1 mg/mL pankreatin, pH 8) çözeltisi içeren ortama kültür inokülasyonu yapılmış ve tüpler 30°C’de 6 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon öncesi ve sonrası tüplerden MRS/M17 Agar besiyerlerine yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petriler 30°C’de 3-5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda izolatların canlılık düzeyi; $N_i/N_x \times 100$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır ($N_i = \log \text{ kob/mL}$ 4/6 saatlik inkübasyon sonrası, $N_x = \log \text{ kob/mL}$ başlangıç miktarı) (Musikasang et al., 2009; Tokatlı vd., 2015).

3.2.5. Antibiyotiklere karşı direncin belirlenmesi

Test kültürlerinin antibiyotiklere karşı (kloramfenikol, ampicilin, eritromisin, tetramisin, kanamisin) direncini belirlemek üzere disk difüzyon metodu kullanılmıştır. Sıvı kültürler MRS/M17 Agar besiyerine yayma plak yöntemine göre ekilmiş ve oda sıcaklığında 20 dk’lık bekleme süresi sonunda antibiyotik diskleri ekim yapılan petriler üzerine yerleştirilmiştir. Petriler 30°C’de 3-5 gün inkübe edilmiş ve süre sonunda antibiyotik diskleri etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülmüştür (Tambekar and Bhutada, 2010).

3.2.6. Hemolitik aktivite tayini

Test kültürlerinin hemolitik aktivitesini belirlemek üzere %5 koyun kanı içeren Colombia CNA Agar (Biomerieux)'a çizme plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petriler 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinde gelişen kolonilerin çevresinde oluşan zonların rengine bakarak aşağıdaki kriterlere göre hemolitik aktivite düzeyi belirlenmiştir (Kumar et al., 2017).

Beta Hemolitik; eritrositlerin tam olarak eritilmesine bağlı olarak şeffaf zonlar oluşur.

Alfa Hemolitik; eritrositlerin tam olarak eritilmemesi sonucu yeşilimsi bir bölge oluşur.

Gama Hemolitik (Non Hemolitik); koloni etrafında herhangi bir hemoliz/zon oluşmaz.

3.2.7. Antimikrobiyal aktivite tayini

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi amacıyla agar difüzyon yönteminden yararlanılmıştır. Çalışmada test kültürü olarak *Ba. subtilis* ATCC 6037, *Ent. faecalis* ATCC 29212, *Li. monocytogenes* Scott A, *St. aureus* 6538P, *E. coli* ATCC 1103, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *S. Typhimurium* NRRLB 4420 kullanılmıştır. Tryptone Soya Broth'ta (TSB, pH 7.3±0.2, Oxoid) geliştirilen (37°C'de 24 sa) kültürlerin McFarland değeri 0.5'e ayarlanmış ve 0.1 mL inokulum üzerine 20 mL Plate Count Agar (PCA, pH 7.2±0.2, Oxoid) ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 20 dk bekletilmiştir. Ardından petrilere 6 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. MRS/M17 Broth besiyerinde geliştirilen LAB izolatları 4500 rpm'de 4°C'de 15 dk santrifüj edilmiş ve açılan kuyucuklara 100 µL süpernatant kısmından inokule edilmiştir. Petriler 37°C 24 sa inkübe edilmiştir. Süre sonunda kuyucukların etrafında oluşan inhibisyon zonları ölçülmüştür (Lakra et al., 2020).

3.2.8. %0.4 (v/v) fenol varlığında gelişimin belirlenmesi

Saf kültürler %0.4 (v/v) fenol içeren ve içermeyen MRS/M17 Broth besiyerlerine inoküle edilmiş, başlangıçta ve 24 sa inkübasyon sonrasında MRS/M17 Agar'a yayma plak yöntemine göre ekim yapılmış ve petriler 30°C'de 3-5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda izolatların canlılık düzeyi; $N_i/N_x \times 100$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır (N_i = log kob/mL 24 sa'lik inkübasyon sonrası, N_x = log kob/mL başlangıç miktarı) (Zielińska et al., 2015).

3.2.9. Proteolitik enzim aktivitesi tayini

Proteolitik aktivitenin belirlenmesi amacıyla test kültürleri 5 mL 10% Skim Milk (LP0031, Oxoid) besiyerinde 30°C'de 42 sa inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresini tamamlamış tüplere 1 mL saf su ve 10 mL triklorasetik asit (TCA) ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 10 dk bekledikten sonra Whatman No:1 filtre kağıdından geçirilmiştir. Ardından süzüntüden 5 mL alınmış, üzerine 10 mL Na₂CO₃, Na₄P₂O₇ ve 3 mL fenol ayırıcı ilave edilip mavi renk gözlemlenene kadar çalkalanmıştır. Çözelti 4500 rpm'de 15 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen üst faz spektrofotometrede (Agilent Technologies, Carry 60 UV-Visible) 650 nm ölçülmüştür. Sonuçlar mg tirozin/mL cinsinden ifade edilmiştir. Tirozin standart çözeltileri aşağıdaki konsantrasyonlarda hazırlanmış ve aynı işlemler o çözeltilere de uygulandıktan sonra spektrofotometrede 650 nm'de absorbansları okunmuş ve standart grafiği çizdirilmiştir (Çizelge 3.2) (Şimşek vd., 2006).

0.72 N triklorasetik asit (TCA) çözeltisi: Yoğunluğu 1.63 g/mL olan TCA'dan 36.1 mL alıp üzeri saf su ile 500 mL'ye tamamlanmıştır.

Na₂CO₃, Na₄P₂O₇: 75 g Na₂CO₃ ve 10 g Na₄P₂O₇ saf su ile 500 mL'ye tamamlanmıştır.

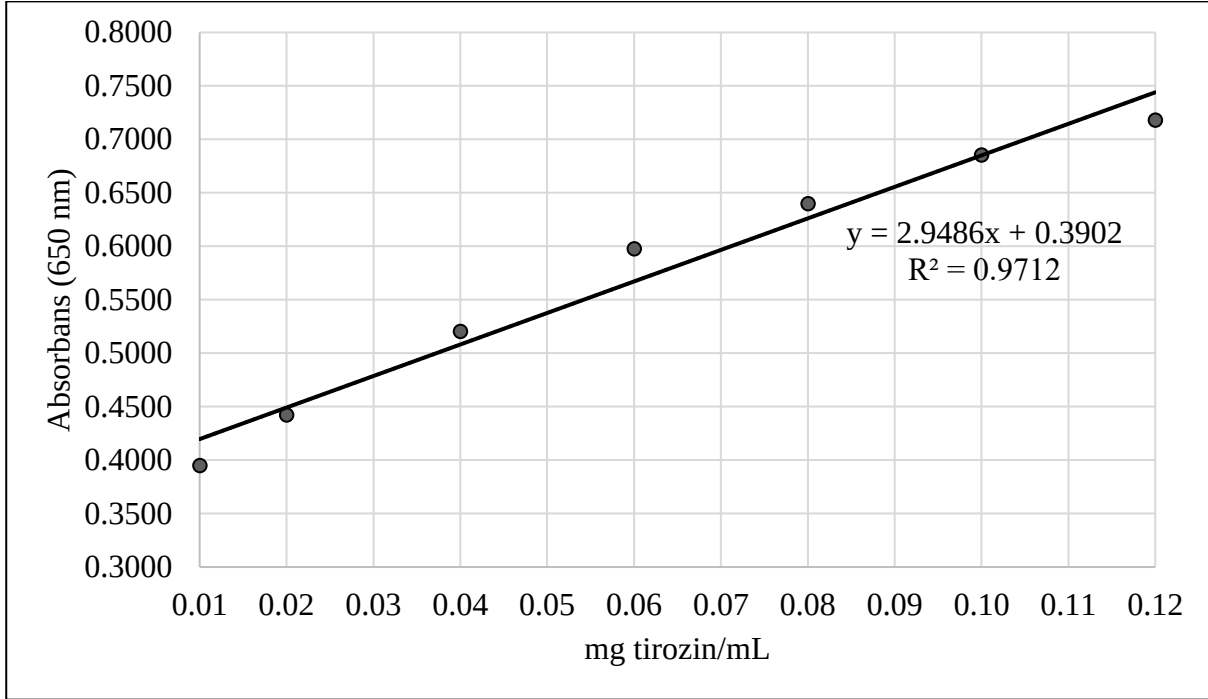
Fenol ayırıcı: 1 kısım Folin Ciocalteus çözeltisi ve 2 kısım saf su karıştırılmıştır.

Tirozin ana stok çözeltisi: 0.1 g tirozin ve 250 mL saf su karıştırılmıştır. Tirozin zor çözünen bir madde olduğu için öncelikle 200 mL kadar saf su ile hafif ısıtılarak (45-50°C) çözülmüş ve ardından 250 mL'ye tamamlanmıştır. Tirozin eriyince renksiz, berrak bir hal almıştır.

Tirozin standartları: Ana stok tirozin çözeltisinden 0.01; 0.02; 0.04; 0.06; 0.08; 0.10 ve 0.12 mg tirozin/mL konsantrasyonundaki standartlar aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır:

- ST1 (0.01 mg tirozin/mL) 5 mL skim-milk ortamına ana stoktan 125 µL ilave edilmiştir.
- ST2 (0.02 mg tirozin/mL) 5 mL skim-milk ortamına ana stoktan 250 µL ilave edilmiştir.
- ST3 (0.04 mg tirozin/mL) 5 mL skim-milk ortamına ana stoktan 500 µL ilave edilmiştir.
- ST4 (0.06 mg tirozin/mL) 5 mL skim-milk ortamına ana stoktan 750 µL ilave edilmiştir.
- ST5 (0.08 mg tirozin/mL) 5 mL skim-milk ortamına ana stoktan 1000 µL ilave edilmiştir.
- ST6 (0.10 mg tirozin/mL) 5 mL skim-milk ortamına ana stoktan 1250 µL ilave edilmiştir.
- ST7: (0.12 mg tirozin/mL) 5 mL skim-milk ortamına ana stoktan 1500 µL ilave edilmiştir.

Çizelge 3.2 Tirozin standart eğrisi.



3.2.10. β -Galaktosidaz enzim aktivitesi tayini

Laktozlu MRS/M17 Broth besiyerinde geliştirilen izolatlardan bir öze dolusu alınarak 0.25 mL fizyolojik suda süspanse edilmiştir. Süspanسیونun üzerine 0.25 mL O-nitrofenil- β -D-galaktopronosid (ONPG) peptonlu besiyeri ilave edilerek optimum sıcaklıkta (30°C’de) 3-4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda tüplerde sarı renk oluşumu enzim aktivitesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Hébert et al., 2000).

ONPG peptonlu su: 30 mL A ve 10 mL B çözeltisinden alınıp karıştırılmış, aseptik koşullar altında steril tüplere 2’şer mL dağıtılmıştır.

A çözeltisi: 100 mL saf su içinde 10 g tripton ve 5 g NaCl eritilerek pH 7,5’e ayarlanmıştır. 121°C’de 15 dk süre ile sterilize edilmiştir.

B çözeltisi: 0.6 g ONPG alınarak 100 mL 0.01 M sodyum fosfat tamponunda (pH 7.5) çözdürülmüş ve 0.45 μ m porlu filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir.

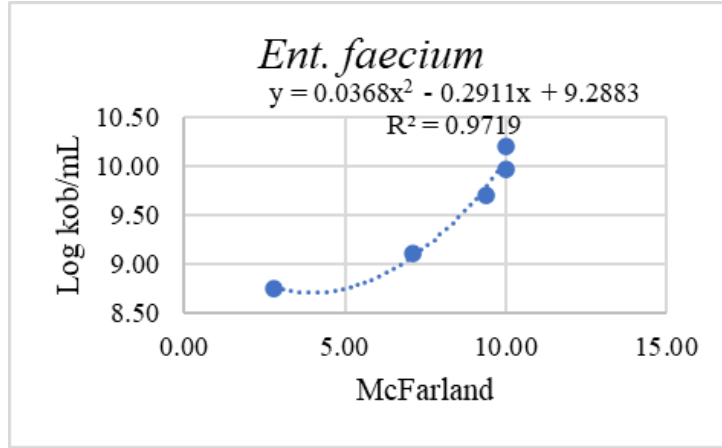
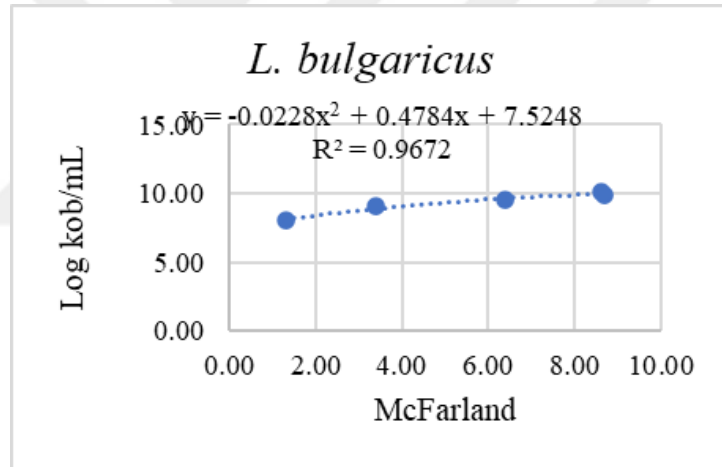
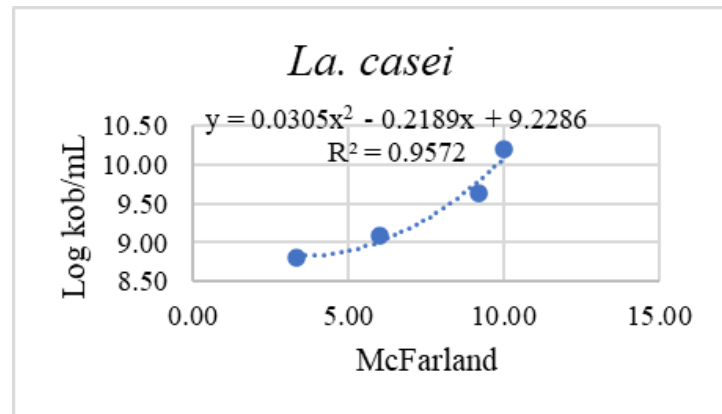
3.2.11. Kalitatif kolesterol düşürücü etki, BSH aktivitesi tayini

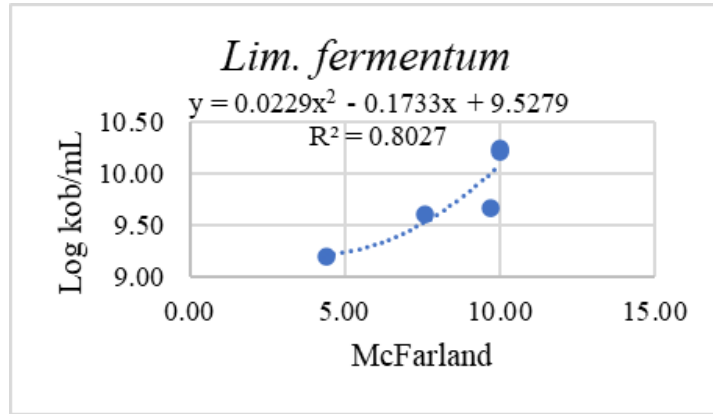
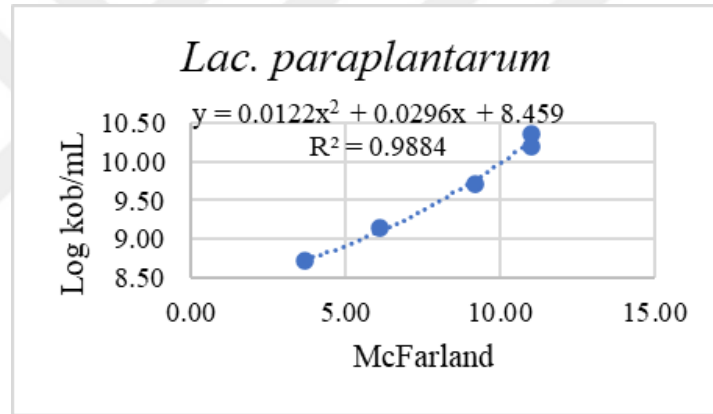
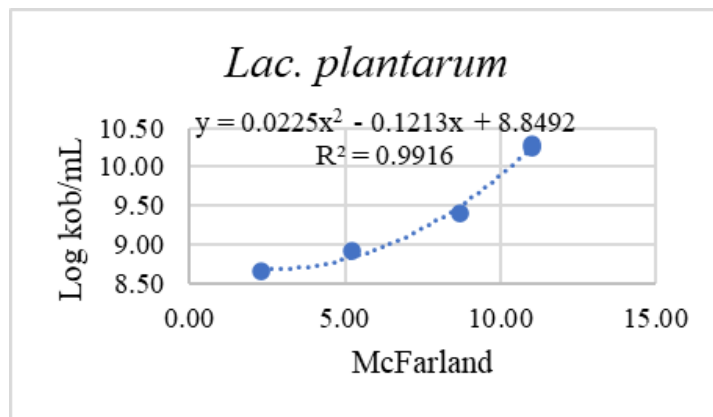
İzolatlar MRS/M17 Broth (10 mL) besiyerinde 30/42°C’de 3-5 gün inkübe edilerek iki defa canlandırılmıştır. Geliştirilen izolatlar tekrar MRS Broth ortamına %2 oranında inokule edilmiş ve 37°C’de 24 sa inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası izolatlar 5000xg’de 4°C’de 5 dk santrifüj edilmiştir. Pellet kısmı fosfatlanmış tampon çözelti (PBS, pH 7.2±0.2) ile iki defa yıkanıp PBS ile süspanse edilmiştir. Hücre yükü PBS ile 8 log kob/mL olacak şekilde ayarlanmış ve test için kullanılabilecek kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir. MRS Agar ortamına %0.5 (w/v) oranında taurodeoxycholic asidin (TDCA) sodyum tuzu ve 0.37 g/L CaCl₂ ilave edilmiş ve steril petrilere 20 mL olacak şekilde dökülmüştür. Aktarılan besiyeri donana kadar petrilere ters konumda anaerobik jarlarda oda sıcaklığında 48 sa bekletilmiştir. 6 mm çaplı steril filtre kağıtlarına 10 µL hücre süspansiyonu emdirilerek hazırlanan diskler, hazırlanan TDCA ilaveli MRS Agar üzerine yerleştirilmiştir. Negatif kontrol amacıyla TDCA içermeyen MRS Agar besiyerine de hücre süspansiyonu emdirilmiş diskler yerleştirilmiştir. İnkübasyon işlemi anaerobik şartlarda 37°C’de 48 sa süre ile gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan opak halo zonlar, TDCA aktivitesi cinsinden BSH pozitif olarak yorumlanmıştır (Liang et al., 2020).

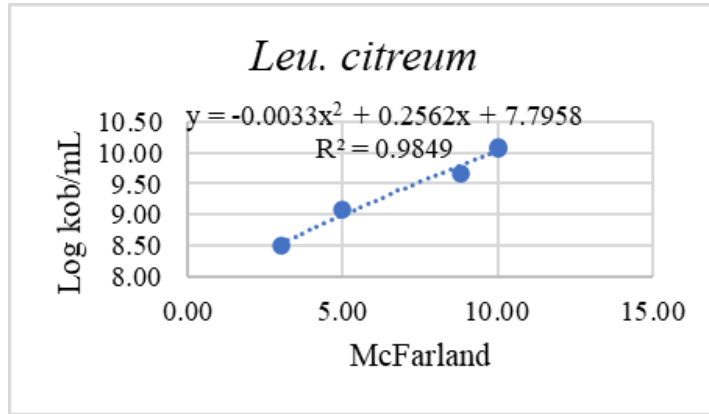
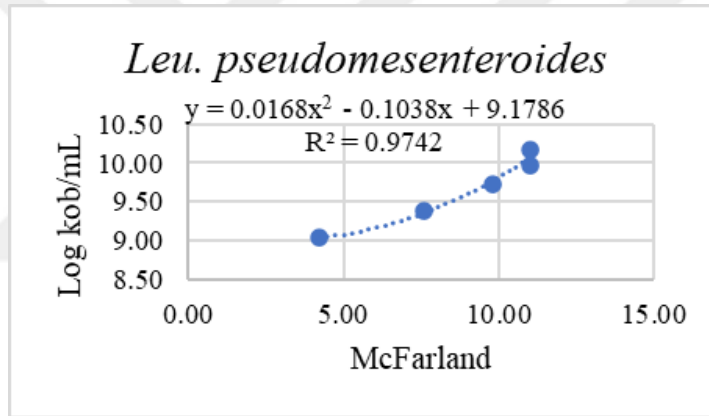
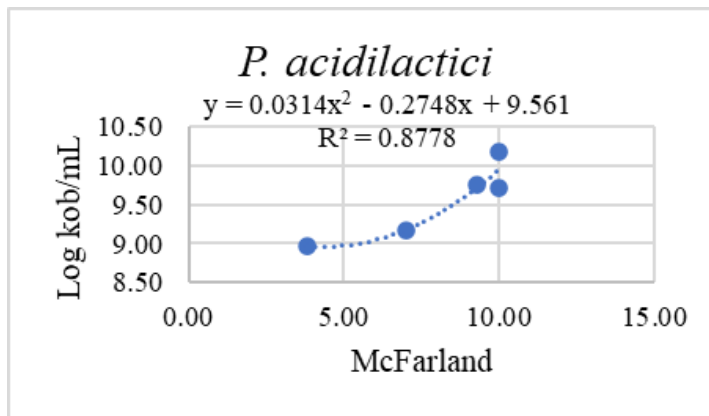
3.2.12. Antioksidan aktivite tayini

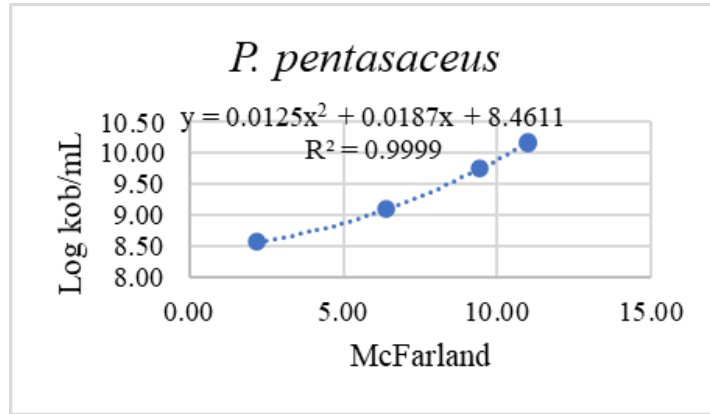
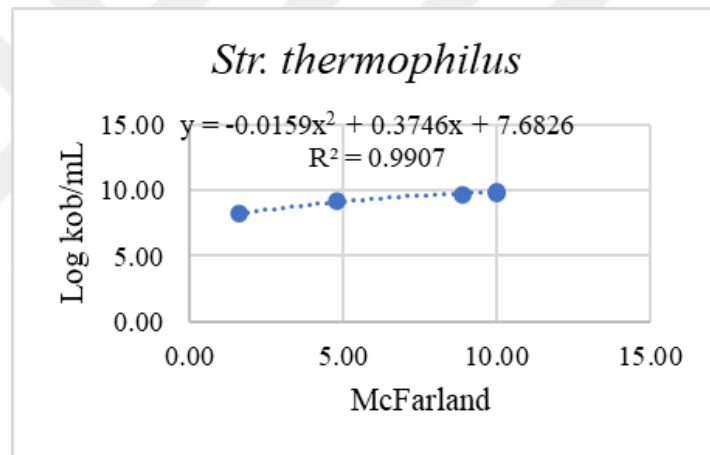
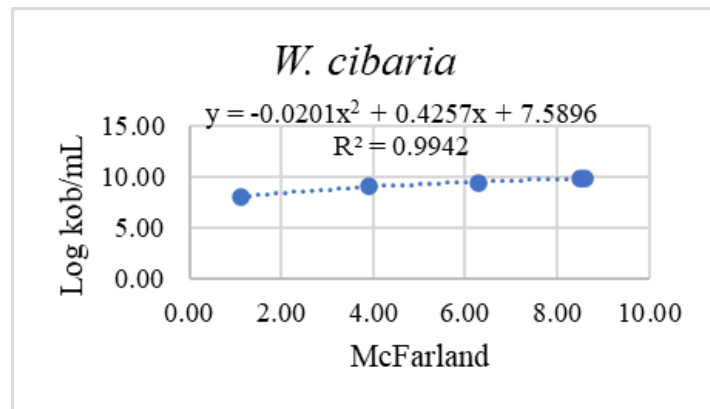
Test kültürleri 37°C’de 16 sa MRS/M17 Broth besiyeri içerisinde geliştirilmiş, ardından 7000xg’de 4°C’de 5 dk santrifüj edilmiş ve pellet kısmı PBS (pH 7.2±0.2) ile 2 defa yıkanmıştır. Santrifüj ve yıkama sonrası pellet PBS ile süspanse edilmiş ve süspanse edilen hücre yoğunluğu PBS ile 9.4 log kob/mL olacak şekilde ayarlanmıştır (konsantrasyon ayarlaması için inkübasyon süresi boyunca 2 saatte bir ekim ve McFarland okuması yapılarak standart eğri çizdirilmiştir) (Çizelge 3.3 – Çizelge 3.14). Yoğunluğu ayarlanan süspansiyondan 1 mL alınıp 2 mL 0.2 mM’lık DPPH ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında karanlıkta 30 dk bekletilmiştir. Kontrol olarak 1 mL PBS ve 2 mL 0.2 mM DPPH karıştırılmış ($A_{kontrol}$) ve bekletme işlemi uygulanmıştır. Kör çözelti olarak 1 mL PBS ve 2 mL %99.5 etanol ($A_{kör}$) karıştırılmıştır. Bekletme işlemi sonrasında örneklerin ($A_{örnek}$) 517 nm’de absorbanları okunmuştur. Antioksidan aktivitesi DPPH radikali indirgemesi cinsinden eşitlik 3.1 kullanılarak yüzde olarak ifade edilmiştir (Rajab et al., 2020).

$$\%DPPH \text{ indirgeme aktivitesi} = \frac{A_{kontrol} - A_{örnek}}{A_{kontrol}} \times 100 \quad (3.1)$$

Çizelge 3.3 *Ent. faecium* McFarland değeri.Çizelge 3.4 *L. bulgaricus* McFarland değeri.Çizelge 3.5 *La. casei* McFarland değeri.

Çizelge 3.6 *Lim. fermentum* McFarland değeri.Çizelge 3.7 *Lac. paraplantarum* McFarland değeri.Çizelge 3.8 *Lac. plantarum* McFarland değeri.

Çizelge 3.9 *Leu. citreum* McFarland değeri.Çizelge 3.10 *Leu. pseudomesenteroides* McFarland değeri.Çizelge 3.11 *P. acidilactici* McFarland değeri.

Çizelge 3.12 *P. pentosaceus* McFarland değeri.Çizelge 3.13 *Str. thermophilus* McFarland değeri.Çizelge 3.14 *W. cibaria* McFarland değeri.

3.2.13. Bakteriyosin tayini

Kültürler 10 mL MRS/M17 Broth besiyerinde 37°C’de 24 sa inkübe edilmiş ve proteaz enziminin inhibisyonu için 70°C’de 30 dk ısıtılmış ve 4500 rpm’de 4°C’de 15 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı alınmıştır. Organik asitlerin etkisini ortadan kaldırmak üzere elde edilen fazın pH değeri 10 M’lık NaOH ile 6.5’e ayarlanmıştır. Hidrojen peroksidi elimine etmek için ortama 5 mg/mL katalaz ilave edilmiş ve kalan diğer yabancı maddelerden kurtulmak için içerik 0.2 µm por çaplı selüloz asetat filtreden geçirilmiştir (Gaspar et al., 2018).

İndikatör mikroorganizma hazırlığı: Boş petriye 10 mL steril Plate Count Agar besiyeri (PCA) dökülmüştür. İndikatör olarak kullanılacak olan *Li. monocytogenes* Scott A Tryptone Soya Broth besiyerinde (TSB) geliştirilmiş, McFarland değeri Peptone Water kullanılarak 1.0’a ayarlanmıştır. 7 mL donmamış PCA içerisine optik ayarlaması yapılan Scott A’dan 200 µL aktarılmış ve vortekslelendikten hemen sonra 10 mL’lik donmuş katı besiyeri üzerine dökülmüş ve petriler +4°C’de 1 sa bekletilmiştir. İndikatör m.o. ilave edilmiş petrilere 4 mm çapında silindir şeklinde kuyucuklar açılmıştır. Açılan kuyucuklardan birine negatif kontrol olarak 100 µL PBS koyulmuş, aynı petrideki diğer kuyucuklara 100 µL süpernatant ilave edilmiştir. Doldurulan kuyucuklardaki sıvıların besiyerine difüze olması için petriler oda sıcaklığında 3 sa bekletilmiş ve ardından 37°C’de 24-48 sa inkübe edilmiştir. Kuyucuk etrafında oluşan temiz zon çapı, bakteriyosin kaynaklı antimikrobiyal etkinin derecesi olarak ifade edilmiştir (Gaspar et al., 2018).

3.2.14. Kısa zincirli yağ asitleri tayini

İzolatların KZYA üretimlerini kantitatif olarak belirlemek üzere HPLC metodundan yararlanılmıştır. Oliveira et al. (2019) ve Hati et al. (2019) yöntemleri modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu analiz hizmet alımı şeklinde Ege MATA kurumu tarafından gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar asetat, propiyonat ve bütirat analitlerinin konsantrasyonları (µg/mL) cinsinden ifade edilmiştir.

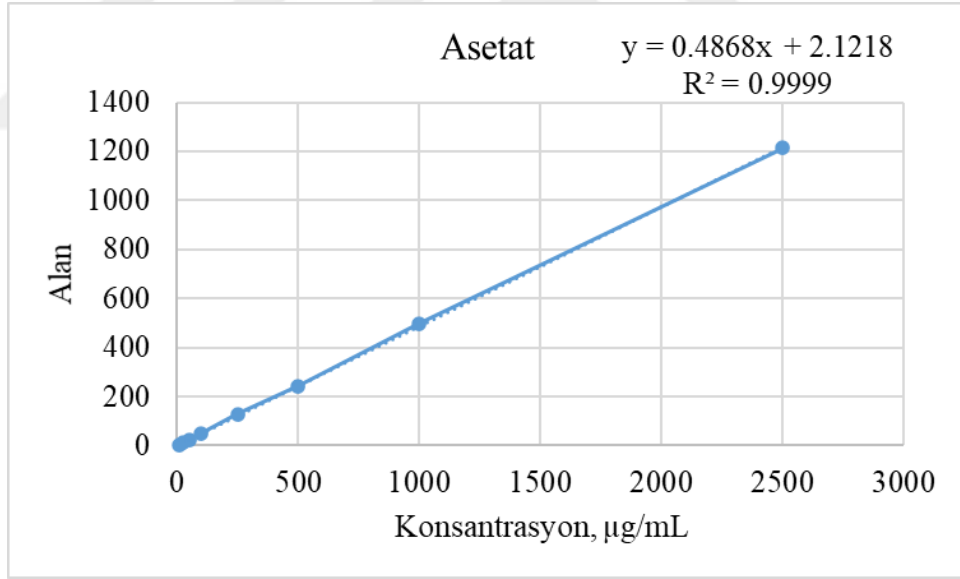
Test kültürlerinin geliştirilmesi amacıyla %2 pepton, %1 maya ekstraktı ve %2 inülin içeren sıvı besi ortamı oluşturulmuş ve steril hale getirilmiştir (121°C’de 15 dk). Test kültürleri ile inoküle edilen besiyeri anaerobik koşullarda 37°C’de 18 sa inkübe edilmiştir. Aynı işlem pozitif kontrol olarak kullanılan *L. acidophilus* LA-5, *B. lactis* BB-12 ve *La. rhamnosus* GG

(1:1:1) kültür karışımı için de uygulanmıştır. İnkübasyon sonrası hücre içermeyen süpernatant eldesi için kültürler 4800xg'de 5 dk satrifüj edilmiş ve üst faz 0.45 µm por çaplı şırınga ucu steril filtreden geçirilmiştir. Elde edilen süpernatant HPLC enjeksiyonu için vial'lere aktarılmıştır.

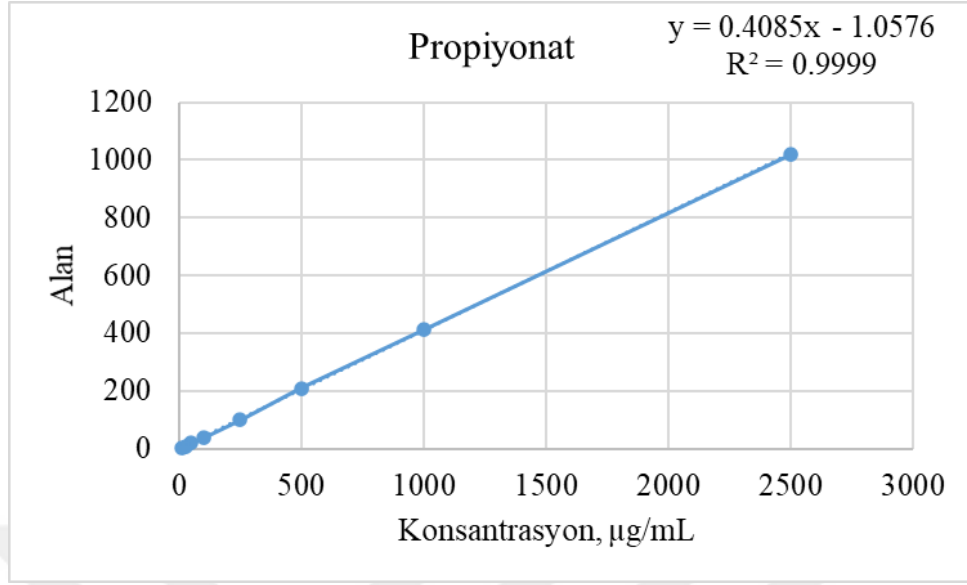
Agilent 1260 Infinity HPLC System cihazı, Agilent 5 µm, 150x4.6 mm C8 kolon ve DAD dedektörü analizde kullanılmıştır. Dalga boyu 210 nm, akış hızı 0.8 mL/dk olacak şekilde ayarlanmış ve mobil faz olarak 10 mM'lık H₂SO₄ çözeltisi (%100) kullanılmıştır.

Test kültürlerinin asetat, propiyonat ve bütirat konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 ve 2500 µg/mL konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlanmış ve kalibrasyon grafikleri çizdirilmiştir (Çizelge 3.15 – 3.17).

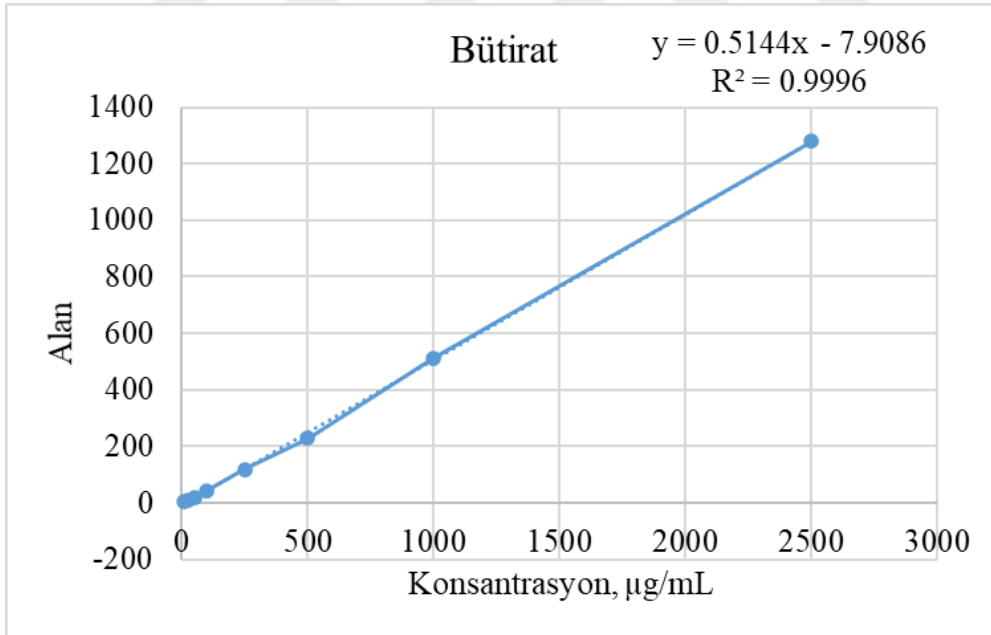
Çizelge 3.15 Asetat kalibrasyon grafiği.



Çizelge 3.16 Propiyonat kalibrasyon grafiği.



Çizelge 3.17 Bütirat kalibrasyon grafiği.



3.2.15. Oto-agregasyon ve co-agregasyon testi

Sıvı kültürler 5000 rpm'de 4°C'de 10 dk santrifüjlenmiş, pellet kısmı alınıp PBS ile üç kez yıkanmış, 5 mL PBS ile süspanse edilmiş ve 600 nm'deki absorbans değeri PBS ile 0.25'e

ayarlanmıştır. Süspansiyondan 3 mL alınıp 10 saniye vortekslenmiş ve izolatlar 37°C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince 0., 2., 16., 20. ve 24. sa’lerde spektrofotometrede (Agilent Technologies, Cary 60 UV-Vis, UNITED STATES) 600 nm’de absorbansları okunmuştur (Collado et al., 2008; Gil-Rodríguez et al., 2015). Absorbans okuması sonrası oto-agregasyon yüzdesi eşitlik 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%Oto - agregasyon = \left[1 - \frac{A_{2,16,20,24}}{A_0} \right] \times 100 \quad (3.2)$$

Kültürlerin co-agregasyon yüzdelerinin belirlenmesi amacıyla *S. Typhimurium* NRRLB 4420 kullanılmıştır. Sıvı LAB kültürleri ve *S. Typhimurium* 5000 rpm’de 4°C’de 10 dk santrifüjlenmiş, pellet kısmı alınıp PBS ile üç kez yıkanmış, 5 mL PBS ile süspanse edilmiş ve 600 nm’deki absorbans değeri PBS ile 0.25’e ayarlanmıştır. LAB kültürlerinden 1.5’er mL alınmış ve her biri 1.5’er mL *S. Typhimurium* ile karıştırılmıştır. LAB izolatları, *S. Typhimurium* ve karışım 37°C’de 4 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon öncesi (A_{LAB} ve $A_{Salmonella}$) ve sonrası ($A_{karışım}$) 600 nm’de absorbans değerleri okunmuştur (Agilent Technologies, Cary 60 UV-Vis, UNITED STATES). LAB izolatlarının co-agregasyon yüzdesi eşitlik 3.3 kullanılarak hesaplanmıştır (Collado et al., 2008).

$$\%Co - agregasyon = \left[\frac{\frac{OD_{600}(A_{LAB} + A_{Salmonella})}{2} - OD_{600}(A_{karışım})}{\frac{OD_{600}(A_{LAB} + A_{Salmonella})}{2}} \right] \times 100 \quad (3.3)$$

3.2.16. Hücre yüzey hidrofobisitesi

LAB izolatlarının hücre yüzey hidrofobisite değerini belirlemek amacıyla ksilen ve etil asetat hidrokarbonları kullanılmıştır. MRS/M17 Broth besiyerinde geliştirilen kültürler 4500 rpm’de 4°C’de 15 dk santrifüj edildikten sonra üst faz dökülerek pellet kısmı PBS ile üç defa yıkanmış ve tekrar PBS ile süspanse edilmiştir. Süspanse edilen kültürler PBS içerisinde 600 nm’deki değeri 1.0 olacak şekilde ayarlanmıştır. Boş bir tüpün içerisine 1.5 mL hücre süspansiyonu ve 1.5 mL test için kullanılacak hidrokarbon koyulmuştur. Her hidrokarbon için ayrı işlem yapılmıştır. Tüpteki karışım 120 sn vortekslenmiş, daha sonra oda sıcaklığında 2 saat faz ayrımı için bekletilmiştir. Bekleme sonrası üst fazın 600 nm’de absorbans değeri

ölçülmüştür (Xu et al., 2018). Hidrofobisite yüzdesi eşitlik 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır (A_0 : başlangıç absorbansı, A_2 : 2 saat sonra absorbansı).

$$\% \text{Hidrofobisite} = \frac{A_0 - A_2}{A_0} \times 100 \quad (3.4)$$

3.2.17. Bakteriyel tutunma testi

Analiz kapsamında Caco-2 (insan kolorektal adenokarsinom hücreleri) kullanılmıştır. Hücreler, DMEM Ham's F12 (%10 FBS, %1 L-glutamin, %1 gentamisin ve 1 mM HEPES) besi ortamı içerisinde 37°C'ye ayarlanmış CO₂'li inkübatörde inkübe edilmiştir. Hücrelerin besi ortamları iki günde bir değiştirilmiştir. Hücreler kültür kabının yüzeyini kapladıklarında pasajlanmış ve logaritmik fazda aktif olarak çoğalan hücreler testlerde kullanılmıştır.

Test kültürlerinin Caco-2 adezyon kapasitesini belirlemek amacıyla, Jensen et al. (2012) ile Argyri et al. (2013) yöntemleri modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla hücreler 24 gözlü hücre kültürü pleytlerinde başlangıç konsantrasyonu 2×10^5 hücre/mL olacak şekilde %5 CO₂ içeren nemli etüvde inkübe edilmiştir. Hücreler tamamen yüzeyi kaplayana kadar 2-3 günde bir ortam değiştirilerek inkübasyona devam edilmiştir. Bakteri kültürü eklenmeden önce hücre kültürü ortamı antibiyotiksiz ve serumsuz taze ortam ile değiştirilmiştir. Ardından pleytte her göze, MRS ortamında 1 gece kültüre edilen durağan fazdaki bakteri kültürü (steril PBS (pH 7.2±0.2) ile 2 defa yıkandıktan sonra son yükü yaklaşık 7 log kob/mL olacak şekilde) eklenmiştir. Hücreler 4 sa bakteri ile 37°C'de ko-kültüre edilmiştir. Daha sonra kültür 2 defa PBS ile yıkanmış ve 2 mL Triton X-100 içeren PBS (1% v/v) ile lize etmek amacıyla 37°C'de 15 dk inkübe edilmiş ve hücre lizatından seri dilüsyonlar hazırlanarak MRS Agar'a yayma plak yöntemine göre ekilmiştir. Tutunan bakteri sayısı eşitlik 3.5 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{Tutunma} = \frac{\text{Bakteri yükü, kob/mL}_{4.\text{sa}}}{\text{Bakteri yükü, kob/mL}_{\text{başlangıç inokulasyonu}}} \times 100 \quad (3.5)$$

3.2.18. Epitelyal bariyer direncine ve geçirgenliğine etkinin belirlenmesi

Çalışmada TEER (trans epitelyal elektrik direnci) ile izolatların epitelyal bariyer üzerine direnci ve geçirgenliğine etkisini belirlemek üzere Jensen et al. (2012) yöntemi modifiye edilmiş ve analizlerde Caco-2 hücreleri kullanılmıştır. Caco-2 hücreleri yeterli sayıya (2×10^5 hücre/mL) ulaştığında 24 gözlü insertlere (ThinCert™, por açıklığı 1 μ m, çap 13.85 mm) ekim işlemi gerçekleştirilmiş, transport kuyularının apikal kısmına 225 μ L hücre içeren antibiyotikli ve serumlu ortam (DMEM Ham's F12), bazolateral kısmına 500 μ L antibiyotikli ve serumlu ortam (DMEM Ham's F12) ilave edilmiş ve insertler 37°C'de %5 CO₂ ortamında inkübe edilmiştir. Kullanılan ortam 2-3 günde bir değiştirilmiş ve 14 gün sonra hücre tabakası yeterli düzeye (400-600 ohm.cm²) ulaştığında antibiyotiksiz ve serumsuz ortamın (DMEM Ham's F12) tazelenmesi yapılmış ve aynı ortam içerisinde süspanse edilen test (LAB) kültürleri konsantrasyonu 10⁸ kob/mL olacak şekilde apikal kısma 25 μ L olarak inokule edilmiş ve 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 0., 1., 2., 4., 6. ve 24. saatlerinde mikrovoltmetre (Millicell® ERS-2, Millipore) ile direnç ölçümü yapılmıştır. Sonuçlar TEER oranı olarak hesaplanmıştır (Eşitlik 3.6).

$$\text{TEER oranı} = \frac{\text{TEER}_{\text{tx}}}{\text{TEER}_{\text{t0}}} \quad (3.6)$$

TEER_{tx}: x anında alınan ölçüm değeri, ohm.cm²

TEER_{t0}: 0.sa'te alınan ölçüm değeri, ohm.cm²

3.2.19. İstatistiksel değerlendirme

Bu tez çalışmasında yapılan 3.2.17 ve 3.2.18 başlıklı analizler üç paralel üç tekrarlı olacak şekilde, diğer tüm analizler ise iki paralel ve üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel farklılıkları ve benzerlikleri belirlemek için SPSS 22.0 paket programı kullanılarak t testi ve %95 güven aralığında tek yönlü varyans analizi ardından Tukey testi uygulanmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Zorlu Ortam Koşullarında Gelişim

4.1.1. İzolatların farklı pH değerlerinde gelişimi

Probiyotikler, insan vücudunda gastrointestinal bölgeden geçerken yüksek asidik ortama maruz kalmakta, bu sırada canlı kalmaları ise kolona ulaşabilmeleri adına önem taşımaktadır. Bu nedenle mevcut izolatların farklı pH değerlerinde gelişimlerinin belirlenmesi amacıyla, pH değerleri 1 M'lık HCl ile 2, 3 ve 4'e ayarlanmış MRS/M17 Broth besiyerlerine inokülasyon yapılmıştır. 30/42°C'de inkübasyon sonrası bulanıklık oluşumunun pozitif olarak değerlendirildiği sonuçlara göre; 5 izolat (*Ent. faecium* A25, *L. bulgaricus* B112, *Lim. fermentum* A33 ve C40, *P. pentosaceus* B44) pH 4'te dahi gelişememiş, 3 izolat (*Lac. plantarum* G53, *P. acidilactici* D68, *W. cibaria* D30) sadece pH 4'te gelişebilmiş ve diğer 22 izolat pH 2, 3 ve 4 değerlerinde gelişim göstermiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 İzolatların farklı pH değerlerinde gelişimi.

İzolat kodu	pH değeri			İzolat kodu	pH değeri			İzolat kodu	pH değeri		
	2	3	4		2	3	4		2	3	4
A25	-	-	-	B97	+	+	+	D112	+	+	+
B112	-	-	-	C38	+	+	+	D68	-	-	+
C40	-	-	-	C90	+	+	+	A15	+	+	+
B44	-	-	-	G3	+	+	+	A40	+	+	+
C65	+	+	+	B70	+	+	+	D53	+	+	+
B42	+	+	+	B78	+	+	+	F18	+	+	+
D99	+	+	+	C24	+	+	+	F8	+	+	+
G65	+	+	+	E40	+	+	+	F9	+	+	+
G53	-	-	+	F25	+	+	+	A33	-	-	-
G62	+	+	+	G47	+	+	+	D30	-	-	+

Ateş (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, tarhanadan izole edilen LAB'lerinin pH 3'de gelişimi incelenmiş, 4 saatlik inkübasyon süresi sonunda izolatların %0.18-%28.47 aralığında değişen oranlarda canlı kalabildikleri tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada,

İran tarhanasından izole edilen LAB'lerinden (54 ad.) sadece *Lim. fermentum* (2 ad.) ve *Le. brevis* (1 ad.)'in pH 2.5 değerinde canlılığını sürdürebildiği tespit edilmiştir (Vasiee et al., 2014). Bu tez çalışması kapsamında pH toleransları incelenen *Lim. fermentum* ve *P. pentosaceus* suşlarının da, literatüre benzer şekilde düşük pH değerlerine tolerans gösterdikleri saptanmıştır. Buna ek olarak, literatürde tarhanadan izole edilen LAB'leri arasında *La. casei*, *Lac. paraplantarum*, *Lac. plantarum*, *Leu. citreum*, *Leu. pseudomesenteroides*, *P. acidilactici* ve *Str. thermophilus* suşlarının düşük pH değerlerinde canlılığının incelendiği çalışma bulunmamaktadır.

Literatürde, farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerinin düşük pH değerlerinde gelişimlerinin değerlendirildiği birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, gül reçelinden izole edilen 61 LAB'nin (*P. pentosaceus*) düşük pH değerlerinde gelişimlerinin incelendiği bir çalışmada, pH 2 ve 3 değerlerine ayarlanmış ortamlarda 5 izolatın canlılığını sürdürebildiği bildirilmiştir (Xia et al., 2021). Petrovic et al. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, Sokobanja¹⁸ sosisinden izole edilmiş *Ent. faecium* (21 ad.) suşlarının pH'ı 3, 4 ve 5'e ayarlanmış ortamlarda 2 saatlik inkübasyon sonrasındaki canlılıkları incelenmiş ve tüm izolatların üç farklı pH değerinde de canlılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir. Labba et al. (2020) tarafından yapılmış bir çalışmada, İsveç fasulyesinden izole edilmiş *Ba. coagulans*, *Ent. hirae*, *Ent. faecium*, *Ent. mundtii* ve *P. pentosaceus* suşlarının pH'ı 2.5'e ayarlanmış ortamdaki canlılıkları incelenmiş ve 2 saatlik inkübasyon sonrası *Ba. coagulans* suşlarının hepsi gelişim gösterirken *Ent. faecium* ve *Ent. mundtii* suşlarının tamamen inhibe olduğu, *P. pentosaceus* suşlarının ise çoğunluğunun canlı kaldığı bildirilmiştir.

Sonuç olarak, farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerinden, özellikle *P. pentosaceus* *Ent. faecium* *Lim. fermentum* suşlarının düşük pH değerlerine tolerans gösterdikleri, bu türlerin aynı zamanda tarhanadan da izole edilen türler olduğu görülmektedir.

4.1.2. İzolatların safra tuzlarına toleransı

Probiyotikler, intestinal geçiş sırasında sindirim sistemi yardımcı maddelerinden olan ve mikroorganizmalar üzerine inhibitif etki gösteren safra tuzları ile karşılaşmaktadır. Bununla birlikte probiyotikler safra tuzlarının bulunduğu ortamdan etkilenmeden veya minimum düzeyde etkilenecek ya da bu tuzları metabolize ederek canlılıklarını sürdürebilmektedirler.

¹⁸ Sırbistan'da bir bölge.

Çalışma kapsamında incelenen izolatların safra tuzlarına toleranslarını belirlemek üzere iki farklı konsantrasyonda safra içeren (%0.3 ve %1.0) MRS/M17 Broth besiyerlerine inokulasyon yapılmış ve izolatların başlangıç ve inkübasyon (30/42°C’de 4 sa) sonrası yüzdesel canlı kalma seviyelerini belirlemek üzere MRS/M17 Agar besiyerlerine ekim yapılmıştır. Tüm izolatların iki safra konsantrasyonuna da tolerans gösterdiği, 7 izolatın sayılarının (*P. pentosaceus* B44, *Lac. paraplantarum* C65 ve D99, *Lac. plantarum* G62, *Leu. citreum* A15, *Str. thermophilus* F9 ve F18) ise başlangıç seviyesinin de üzerine çıktığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 İzolatların safra tuzları varlığında canlılığı (%).

İzolat kodu	Canlılık (%)		İzolat kodu	Canlılık (%)		İzolat kodu	Canlılık (%)	
	Safra (%0.3)	Safra (%1.0)		Safra (%0.3)	Safra (%1.0)		Safra (%0.3)	Safra (%1.0)
A25	112.60	91.24	B97	97.94	98.33	D112	102.28	98.62
B112	103.31	96.31	C38	94.91	101.07	D68	97.65	96.94
C40	83.78	93.56	C90	100.09	96.33	A15	104.94	115.30
B44	105.12	108.10	G3	95.52	102.60	A40	107.39	98.70
C65	105.41	114.27	B70	109.57	96.11	D53	99.29	105.69
B42	103.18	98.60	B78	88.13	97.97	F18	104.94	108.55
D99	100.87	101.84	C24	98.69	100.96	F8	107.85	99.25
G65	98.66	110.82	E40	98.81	96.40	F9	106.24	107.19
G53	96.23	99.31	F25	95.43	97.65	A33	87.80	96.85
G62	104.49	113.07	G47	97.45	101.04	D30	99.58	94.94

Ateş (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, tarhana’dan izole edilen *P. pentosaceus* (13 ad.), *Le. brevis* (2 ad.), *Ent. faecalis* (5 ad.), *Ent. faecium* (2 ad.) ve *Lim. fermentum* (4 ad.) suşlarının %0.3 safra tuzu varlığında 4 saatlik sürede gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer bir çalışmada ise, tarhana orijinli *Lim. fermentum* (2 ad.) ve *Lac. plantarum* (1 ad.) suşlarının %0.4 safra tuzu varlığında canlı kalabildiği tespit edilmiştir (Vasiee et al., 2014). Bu tez çalışmasında ise, incelenen tüm izolatların %1 safra tuzu içeren ortamda dahi canlı kalabildiği, *L. bulgaricus* (1 ad.), *La. casei* (1 ad.), *Lac. plantarum* (1 ad.), *Leu. citreum* (1 ad.) ve *Str. thermophilus* (3 ad.) suşlarının ise inkübasyon sonunda başlangıç inokulasyon seviyesinin üzerine çıkarak gelişim gösterdiği belirlenmiştir.

Literatürde, farklı gıdalardan izole edilen LAB'lerinin safra tuzlarına toleranslarının incelendiği çalışmalar bulunmaktadır. Taze inek ve keçi sütünden izole edilen *Lactobacillus* türlerinin safra tuzları varlığında canlılığının incelendiği bir çalışmada, %0.3 oranında safra tuzu içeren ortamda 6 saatlik inkübasyon sonunda toplam 63 izolat içerisinde 10'unun canlılığını sürdürdüğü bildirilmiştir (Reuben et al., 2020). Fermente palm özünden izole edilen *La. paracasei* (8 ad.), *Lim. fermentum* (1 ad.) ve *Le. brevis* (1 ad.) suşlarının %0.3 safra tuzu içeren ortamda canlılıkları incelenmiş ve 4 saatlik inkübasyon sonunda incelenen tüm izolatların ortamda canlılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir (Sornsenee et al., 2021). Fermente kırmızı acı biber ve peru meyvesinden izole edilen *Lac. pentosus* (2 ad.) ve *Lim. fermentum* suşlarının %2 ve %4 konsantrasyonlarında safra tuzu içeren ortamlarda canlılıklarını korudukları belirtilmiştir (Boricha et al., 2019). Jawan et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, fermente pirinç ve durian meyvesinden izole edilen *P. acidilactici* ve *Companilactobacillus farciminis* (*Co. farciminis*) (eski ismi: *Lactobacillus farciminis*) suşlarının %0.3 konsantrasyonunda safra tuzu içeren ortamda canlı kaldığı bildirilmiştir. Taze piliçten izole edilen *Lim. reuteri*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *Ent. faecium* suşlarının %0.3 konsantrasyonunda safra tuzu içeren ortamda 6 saatlik inkübasyon sonunda canlılığını koruduğu tespit edilmiştir (Reuben et al., 2019). İsveç fasulyelerinden izole edilen *Ba. coagulans*, *Ent. hirae*, *Ent. faecium*, *Ent. mundtii* ve *P. pentosaceus* suşlarının %0.3 konsantrasyonunda safra tuzu içeren ortamda canlılıkları incelenmiş, inkübasyon sonunda *Ent. faecium* suşlarının tamamının canlı kaldığı, diğer izolatların ise çoğunluğunun canlılığını sürdürdüğü, bir kısmının ise inhibe olduğu belirlenmiştir (Labba et al., 2020).

LAB'lerinin safra tuzlarına toleransının incelendiği çalışmalar, farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerinden *La. paracasei*, *Lim. fermentum*, *Le. brevis*, *Lac. pentosus*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Co. farciminis*, *Lim. reuteri*, *Ent. faecium*, *Ent. hirae* ve *Ent. mundtii* suşlarının safra tuzlarına tolerans gösterdiklerini, bu türler içerisinde *Lim. fermentum*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *Ent. faecium*'un aynı zamanda bu çalışma kapsamında incelenen tarhana örneklerinden izole edilen türler olduğunu ortaya koymuştur.

4.1.3. İzolatların pepsin ve pankreatin varlığında gelişimi

Mikroorganizmalar insan vücudunda yüksek asitlik ve safra tuzları haricinde enzimatik birtakım zorluklarla da karşılaşmaktadır. Bu enzimlerin başında, midede bulunan pepsin ve ince bağırsakta bulunan pankreatin gelmektedir. İzolatların pepsin varlığında gelişimini belirlemek

üzere, mide ortamını simüle edecek şekilde pH değeri 2.5'e ayarlanmış ve pepsin ilave edilmiş fizyolojik tuzlu su (FTS) ortamı kullanılmıştır. İzolatların pankreatin varlığında gelişimini belirlemek üzere ise ince bağırsak ortamını simüle edecek şekilde pH değeri 8'e ayarlanmış FTS'ya pankreatin enzimi ve safra tuzu eklenmiştir. Hazırlanan ortamlara inokule edilen izolatlar, başlangıçta ve inkübasyon sonrasında MRS/M17 Agar besiyerine ekilerek canlılık seviyeleri hesaplanmıştır. Çalışmada, sadece 1 izolatın (*Lim. fermentum* A33) pepsin içeren ortamda tamamen inhibe olduğu, diğer tüm izolatların ise her iki ortamda da canlılığını sürdürdüğü, pepsin içeren ortamda 3 izolatın (*Lim. fermentum* C40, *W. cibaria* F25, *La. casei* D53) sayısının başlangıç seviyesinin üzerine çıktığı, pankreatin içeren ortam da ise 8 izolatın (*Lac. paraplantarum* C65 ve G62, *Leu. citreum* A15, *Str. thermophilus* A40, F9 ve F18, *Lac. plantarum* D53, *Ent. faecium* F8) sayısının başlangıç seviyesi üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 İzolatların simüle mide (pepsin) ve ince bağırsak (pankreatin) ortamında canlılıkları (%).

İzolat kodu	Canlılık (%)		İzolat kodu	Canlılık (%)		İzolat kodu	Canlılık (%)	
	Pepsin	Pankreatin		Pepsin	Pankreatin		Pepsin	Pankreatin
A25	76.83	90.13	B97	81.09	73.52	D112	90.91	93.50
B112	97.46	96.60	C38	72.28	93.44	D68	71.27	81.24
C40	126.52	97.77	C90	96.73	72.66	A15	66.72	104.82
B44	99.60	79.97	G3	89.26	92.73	A40	71.20	102.02
C65	65.27	104.97	B70	98.99	85.25	D53	105.07	106.15
B42	73.23	89.76	B78	80.00	96.82	F18	76.05	101.48
D99	81.35	95.95	C24	77.75	86.51	F8	76.25	104.65
G65	79.07	96.89	E40	95.16	90.52	F9	76.93	104.91
G53	99.65	89.13	F25	125.74	95.59	A33	0.00	90.83
G62	89.81	104.38	G47	89.20	97.38	D30	84.98	93.21

Tarhana kaynaklı LAB izolatlarının pepsin ve pankreatin varlığında gelişimlerinin incelendiği çalışmalara araştırmacıların bilgisi dahilinde rastlanılmamıştır. Bununla birlikte, literatürde farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerinin pepsin, pankreatin ve lizozim varlığında gelişimlerinin incelendiği çalışmalar bulunmaktadır. Keçi sütü ve yoğurttan izole edilen

Ent. faecium (2 ad.) ve *P. acidilactici* (3 ad.) suşlarının pepsin ve lizozim içeren ortamda canlı kaldığı tespit edilmiştir (Sarkar et al., 2020). Gül reçelinden izole edilen *P. pentosaceus* (61 ad.) suşlarının pepsin ve ayrıca pankreatin içeren ortamda canlılıkları test edilmiş ve 5 suşun bu ortamlarda inkübasyon sonunda canlı kalabildiği bildirilmiştir (Xia et al., 2021). Taze piliçten izole edilen *Lim. reuteri*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *Ent. faecium* suşlarının lizozim varlığında simüle mide ortamındaki canlılıkları incelenmiş, 90 dk'lık inkübasyon süresi sonunda tüm izolatların canlılıklarını sürdürebildikleri tespit edilmiştir (Reuben et al., 2019). Fermente palm özünde izole edilmiş *La. paracasei* (8 ad.), *Lim. fermentum* (1 ad.) ve *Le. brevis* (1 ad.) suşlarının pankreatin varlığında canlılıkları incelenmiş ve tüm izolatların 4 saatlik inkübasyon sonunda canlı kaldığı bildirilmiştir (Sornsenee et al., 2021). Nath et al. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, fermente süttten izole edilen *Lac. plantarum*'un %0.5 pankreatin varlığında canlılığı incelenmiş ve 48 saatlik inkübasyon sonunda canlı kaldığı belirtilmiştir.

LAB'lerinin pepsin, pankreatin ve lizozim varlığında gelişimlerinin incelendiği çalışmalar, farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerinden *La. paracasei*, *Lim. fermentum*, *Le. brevis*, *Lac. plantarum*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *Ent. faecium* suşlarının bu enzimlerin varlığında gelişim gösterdiklerini, bu türler içerisinde *Lim. fermentum*, *Lac. plantarum*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *Ent. faecium*'un aynı zamanda bu çalışma kapsamında incelenen tarhana örneklerinden izole edilen türler olduğunu ortaya koymuştur.

4.1.4. İzolatların %0.4 (v/v) fenol varlığında gelişimi

Düşük konsantrasyonlarda dahi biyolojik materyaller üzerine toksik etki yapabilecek özellikte olan fenol, insan sindirim sisteminde bulunabilen bir maddedir. Doğal olarak bağırsak mikrobiyotası üzerine de etki gösterebilmektedir (Xanthopoulos et al., 2000). Probiyotiklerin fenol varlığında canlı kalabilmeleri istenilen bir durumdur. Bu çalışma kapsamında, izolatların fenol varlığında gelişimini belirlemek üzere, %0.4 oranında fenol içeren MRS/M17 Broth besiyerleri kullanılmış ve hazırlanan ortamlara inokule edilen izolatlar, başlangıçta ve inkübasyon sonrasında MRS/M17 Agar besiyerine ekilerek canlılık seviyeleri hesaplanmıştır. Analiz sonuçları, incelenen tüm izolatların %0.4 fenol içeren ortamda canlılığını sürdürdüğünü ortaya koymuştur (Çizelge 3.8). Ayrıca fenol varlığında toplam 8 izolatın (*Ent. faecium* B42 ve C90, *P. acidilactici* B97, D68 ve G3, *Leu. citreum* C38, *L. bulgaricus* B70,

Leu. pseudomesenteroides D112) inkübasyon süresi sonunda başlangıç sayısının üzerine çıktığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 İzolatların %0.4 (v/v) fenol varlığında canlılıkları (%).

İzolat kodu	Canlılık (%)	İzolat kodu	Canlılık (%)	İzolat kodu	Canlılık (%)
A25	95.44	B97	110.77	D112	101.23
B112	99.41	C38	103.83	D68	109.19
C40	99.64	C90	113.44	A15	90.03
B44	99.06	G3	115.81	A40	98.71
C65	94.40	B70	113.46	D53	96.38
B42	104.55	B78	67.70	F18	76.35
D99	102.47	C24	108.94	F8	91.99
G65	105.23	E40	105.16	F9	90.80
G53	97.50	F25	102.96	A33	100.93
G62	108.47	G47	108.27	D30	107.95

Fenol varlığında LAB'nin gelişiminin incelendiği birçok çalışma literatürde yer almaktadır. Kumar et al. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, çeşitli sebze turşularından izole edilip tanımlanan 34 izolattan sadece *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *La. casei* ve *L. delbrueckii* türlerine ait birer suşun %0.4 fenol varlığında canlılığını sürdürdüğü bildirilmiştir. Sokobanja sosisinden izole edilip tanımlanan 21 *Ent. faecium* suşunun %0.1, %0.2 ve %0.3 konsantrasyonlarında (Petrović et al., 2020), fermente yeşil zeytinden izole edilip tanımlanan *Le. brevis* (5 ad.), *Lac. pentosus* (2 ad.) ve *Lac. plantarum* (7 ad.) suşlarının 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda %0.4 ve %0.6 konsantrasyonunda (Abouloifa et al., 2019), fermente Mudakathan dosai¹⁹ hamurundan izole edilip tanımlanan *W. confusa* ve *W. cibaria* suşlarının %0.25 ve %0.5 konsantrasyonlarda (Lakra et al., 2020) ve fermente pirinç ve fermente durian'dan izole edilip tanımlanan *P. acidilactici* ve *Co. farciminis* suşlarının %0.1, %0.3 ve %0.5 konsantrasyonlarında fenol içeren ortamlarda canlılıklarını sürdürdüğü (Jawan et al., 2019) belirlenmiştir.

¹⁹ Hindistan menşeli krep/akıtma.

Reuben et al. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, taze inek sütü ve keçi sütünden izole edilip tanımlanan *Lactobacillus* türlerinin %0.1, %0.2, %0.3 ve %0.4 konsantrasyonlarında fenol içeren ortamlarda canlılıkları incelenmiş, %0.4 fenol içeren ortamda sadece 4 izolatın canlı kalabildiği, diğer konsantrasyonlarda ise tüm izolatların canlılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir. Yapılan benzer bir çalışmada, keçi sütü ve yoğurttan izole edilip tanımlanan *P. acidilactici* ve *Ent. faecium* suşlarının %0.1, %0.2, %0.3 ve %0.4 konsantrasyonlarında fenol içeren ortamların tümünde canlı kalabildiği, ancak fenol konsantrasyonu arttıkça (%0.1'den %0.4'e) gelişme hızlarının düştüğü bildirilmiştir (Sarkar et al., 2020). Taze piliçten izole edilip tanımlanan *Lim. reuteri*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *Ent. faecium* suşlarının %0.1, %0.2, %0.3 ve %0.4 konsantrasyonlarında fenol içeren ortamlarda canlılıkları test edilmiş, tüm izolatların %0.4 hariç diğer konsantrasyonlarda canlı kalabildiği, %0.4 konsantrasyonda fenol içeren ortamda ise sadece 6 izolatın (*Lim. reuteri* (1 ad.), *P. acidilactici* (3 ad.), *P. pentosaceus* (1 ad.), *Ent. faecium* (1 ad.)) canlı kalabildiği tespit edilmiştir (Reuben et al., 2019). Bunun dışında İsveç fasulyesinden izole edilip tanımlanan *Ba. coagulans*, *Ent. hirae*, *Ent. faecium*, *Ent. mundtii* ve *P. pentosaceus* suşlarının (Labba et al., 2020) ve fermente kırmızı acı biber ve peru meyvesinden izole edilen *Lac. pentosus* ve *Lim. fermentum* türlerine ait suşların %0.4 fenol konsantrasyonunda canlılığını sürdürdüğü (Boricha et al., 2019) tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalar genel olarak değerlendirildiğinde, farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerinin farklı fenol konsantrasyonlarında önemli seviyede canlılıklarını sürdürebildikleri görülmektedir. Yürütülen bu tez çalışması kapsamında incelen tüm izolatlar, literatüre bu anlamda paralellik göstermektedir.

4.2. Biyogüvenlik Özellikleri

4.2.1. İzolatların antibiyotiklere karşı direnci

Probiyotiklerin antibiyotiklere karşı direnç genini taşıması, olası bir patojene o geni transfer edebilme olasılığı nedeniyle istenmeyen bir durumdur. Bu nedenle çalışma kapsamında mevcut izolatların farklı antibiyotiklere (eritromisin, tetramisin, kloramfenikol, ampisilin, kanamisin) karşı direnç durumları disk difüzyon metodu kullanılarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 İzolatların antibiyotiklere karşı duyarlılıkları.

İzolat kodu	Antibiyotik duyarlılık (mm)					İzolat kodu	Antibiyotik duyarlılık (mm)				
	Kl.	E.	K.	A.	T.		Kl.	E.	K.	A.	T.
A25	28	24	10	20	18	B78	26	24	8	30	20
B112	24	24	6	36	18	C24	6	22	6	6	20
C40	24	24	10	6	18	E40	22	22	8	14	14
B44	26	20	6	14	14	F25	28	26	6	18	18
C65	6	20	6	6	6	G47	30	24	6	24	18
B42	28	12	8	28	28	D112	28	12	10	30	32
D99	30	12	10	30	32	D68	28	10	8	32	30
G65	6	14	8	6	6	A15	28	26	8	22	16
G53	24	22	6	22	14	A40	30	26	6	20	20
G62	26	24	8	38	24	D53	22	18	6	30	16
B97	28	12	8	32	30	F18	26	22	8	24	18
C38	28	10	8	32	28	F8	28	26	6	18	14
C90	26	22	6	28	14	F9	26	20	8	22	14
G3	24	26	8	24	8	A33	26	10	8	24	24
B70	32	24	8	22	16	D30	28	12	10	32	30

Kl: kloramfenikol, E: eritromisin, K: kanamisin, A: ampicilin, T: tetramisin. Disk çapı 6 mm.

Çalışma kapsamında incelenen kültürlerin eritromisine (%100) karşı duyarlı olduğu, diğer antibiyotikler için ise duyarlılık derecesinin daha düşük (tetramisin, %93; kloramfenikol, %90; ampicilin, %87; kanamisin, %63) olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.5). En düşük duyarlılığın ise kanamisine karşı olduğu belirlenmiştir.

Ateş (2019) tarafından yapılan çalışmada, tarhanadan izole edilen LAB'lerinin (*P. pentosaceus*, *Le. brevis*, *Lac. pentosus*, *Lac. plantarum*, *Lac. paraplantarum*, *Lim. fermentum*, *Ent. faecalis* ve *Ent. faecium*) kloramfenikole duyarlı olduğu belirlenmiştir. Hububat bazlı fermente bir ürün olan dosa hamurundan izole edilen *Lac. plantarum*, *Ent. hirae* ve *W. cibaria*'nın eritromisin, tetramisin ve kloramfenikole karşı duyarlı olduğu, *W. cibaria* hariç izolatların kanamisine karşı ise dirençli olduğu bildirilmiştir (Gupta and Tiwari, 2014; 2015; Singh et al., 2018). Diğer bir fermente hububat ürünü olan oğuz'dan izole edilen *Lac. plantarum*, *Lim. fermentum*, *P. pentosaceus* ve *W. cibaria*'nın eritromisin, tetramisin,

kloramfenikol ve ampisiline karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir (Ajayeoba, and Ijabadeniyi, 2019). Sarkar et al. (2020) tarafından yapılan çalışmada, keçi sütü ve yoğurttan izole edilen *P. acidilactici* ve *Ent. faecium* suşlarının kloramfenikole karşı duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Gül reçelinden izole edilip tanımlanan *P. pentosaceus* suşlarının biyogüvenlik değerlendirmesi amacıyla antibiyotiklere duyarlılığı değerlendirilmiş, tüm suşların ampisilin ve kloramfenikole karşı duyarlı, eritromisine karşı ise dirençli olduğu bildirilmiştir (Xia et al., 2021).

Yapılan çalışmalarda, taze ve fermente gıdalardan izole edilen LAB'lerinin türe, alt türe ve izole edildiği kaynağa göre farklı derecelerde antibiyotik duyarlılığı sergilediği görülmektedir (Abouloifa et al., 2019; Boricha et al., 2019; Jawan et al., 2019; Labba et al., 2020; Lakra et al., 2020; Reuben et al., 2019; 2020; Sarkar et al., 2020; Petrović et al., 2020). Genel olarak çoğu LAB'sinin kloramfenikol, ampisilin, tetramisin ve eritromisine karşı duyarlı, kanamisine karşı ise dirençli olduğu belirtilmiştir.

4.2.2. İzolatların hemolitik aktiviteleri

Probiyotiklerin sağlık üzerine herhangi bir olumsuz etki göstermemesi, biyogüvenlik açısından risk teşkil etmemesi gerekmektedir. Hemoliz gibi enzimatik reaksiyonlar kanda bulunan alyuvarların parçalanması ile sonuçlanan ve “hemolitik anemi” olarak adlandırılan rahatsızlığa neden olmaktadır. Bu nedenle hemolitik aktivite probiyotiklerde istenmeyen bir özelliktir. Bu analiz kapsamında izolatlar, %5 koyun kanı içeren CNA Agar besiyerine çizilmiş ve koloni etrafındaki zon çeşidine göre değerlendirme yapılmıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 İzolatların hemolitik aktivite seviyeleri.

İzolat kodu	Aktivite	İzolat kodu	Aktivite	İzolat kodu	Aktivite
A25	γ	B97	γ	D112	γ
B112	γ	C38	γ	D68	γ
C40	γ	C90	γ	A15	γ
B44	γ	G3	γ	A40	γ
C65	γ	B70	γ	D53	γ
B42	β	B78	γ	F18	γ
D99	β	C24	γ	F8	γ

γ : hemoliz yok, β : 1.dereceden hemoliz.

Çizelge 4.6 İzolatların hemolitik aktivite seviyeleri (devamı).

İzolat kodu	Aktivite	İzolat kodu	Aktivite	İzolat kodu	Aktivite
G65	β	E40	γ	F9	γ
G53	γ	F25	γ	A33	γ
G62	γ	G47	γ	D30	γ

γ : hemoliz yok, β : 1.dereceden hemoliz.

İncelenen izolatlar içerisinde sadece 3 izolatın (*Ent. faecium* B42, *Lac. paraplantarum* D99, *P. acidilactici* G65) beta düzeyinde hemoliz gerçekleştirdiği, diğer izolatların ise hemoliz gerçekleştirmediği tespit edilmiştir (Çizelge 3.6). Literatürde tarhanadan izole edilen LAB'lerinin hemolitik aktivitelerinin değerlendirildiği bir çalışmaya araştırmacıların bilgisi dahilinde rastlanılmamıştır.

Bununla birlikte Ogi'den izole edilen *Lac. plantarum*, *Lim. fermentum*, *P. pentosaceus* ve *W. cibaria* türlerine ait suşlardan birinin α -hemoliz, iki tanesinin ise β -hemoliz aktivitesi gösterdiği, diğer hiçbir suşun hemolitik aktivite göstermediği bildirilmiştir (Ajayeoba, and Ijabadeniyi, 2019). Keçi sütü ve yoğurttan izole edilen LAB'nin (Sarkar et al., 2020), fermente yeşil zeytinden izole edilen *Le. brevis*, *Lac. pentosus* ve *Lac. plantarum*'un (Abouloifa et al., 2019), fermente krep hamurundan izole edilen *W. confusa* ve *W. cibaria*'nın (Lakra et al., 2020), taze inek ve keçi sütünden izole edilen *Lactobacillus*'ların (Reuben et al., 2020), taze piliçten izole edilen *Lim. reuteri*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *Ent. faecium*'un (Reuben et al., 2019), fermente kırmızı acı biber ve peru meyvesinden izole edilen *Lac. pentosus* ve *Lim. fermentum*'un (Boricha et al., 2019) hemolitik aktiviteye sahip olmadığı bildirilmiştir. Genel olarak yapılan çalışmalara bakıldığında, test edilen LAB'lerinin bu tez çalışmasında incelenen izolatlarla benzer şekilde hemolitik aktivite göstermediği görülmektedir.

4.3. Teknolojik Özellikler

4.3.1. İzolatların proteolitik enzim aktivitesi

Proteolitik enzim aktivitesinin 0.050 mg tirozin/mL üzerinde olması durumunda son üründe acılaşıma ve kötü koku oluşumu gibi kalite kusurlarına yol açan, peptit ve amino asit

düzeyinde parçalanmaların olduğu bildirilmektedir (Özkalp ve Akçelik, 2006; Bajic et al., 2020a; 2020b). Bununla birlikte probiyotiklerin büyük bir çoğunluğunu oluşturan LAB'lerinin genellikle proteolitik enzim aktivitesi kabiliyetine sahip olmadığı bilinmektedir (da Silva et al., 2019). Bu çalışmada istatistiksel açıdan önemli olmamakla birlikte, 9 izolatta (*Ent. faecium* A25, *Lim. fermentum* C40, *P. pentosaceus* B44 ve G47, *P. acidilactici* D68, *Lac. plantarum* G53, *Leu. citreum* A15, *Str. thermophilus* F18, *W. cibaria* F25) proteolitik aktivite değerinin 0.050 mg tirozin/mL'nin üzerinde olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 İzolatların proteolitik enzim aktivitesi (mg tirozin/mL).

İzolat kodu	Proteolitik aktivite	İzolat kodu	Proteolitik aktivite	İzolat kodu	Proteolitik aktivite
A25	0.056	B97	0.031	D112	0.023
B112	0.046	C38	0.048	D68	0.059
C40	0.067	C90	0.028	A15	0.059
B44	0.076	G3	0.036	A40	0.035
C65	0.045	B70	0.048	D53	0.011
B42	0.031	B78	0.044	F18	0.065
D99	0.046	C24	0.034	F8	0.036
G65	0.027	E40	0.033	F9	0.035
G53	0.051	F25	0.055	A33	0.043
G62	0.038	G47	0.053	D30	0.039

Literatürde, farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerinin proteolitik enzim aktivitelerinin değerlendirildiği çalışmalar bulunmaktadır. Oussaief et al. (2020) tarafından yapılan çalışmada, fermente deve sütünden izole edilen *Ent. faecalis*, *Ent. faecium*, *Lc. lactis*, *Str. pasteurianus* ve *Str. suis*'in proteolitik enzim aktivitesinin ölçülmesi amacıyla MRS Broth besiyerinde geliştirilen kültürlerin hücre içermeyen süpernatantları 6 mm çapındaki steril boş disklerle 50 µL hacminde emdirilmiş ve emdirilen diskler %1 oranında tributirin içeren MRS Agar besiyerine yerleştirilmiştir. 37°C'de 72 saatlik inkübasyon sonrası disk etrafındaki temiz zon çapı ile proteolitik enzim aktivitesi ifade edilmiştir. En yüksek proteolitik aktiviteyi yaklaşık 23-24 mm zon ile *Lc. lactis* ve *Streptococcus* türlerinin gösterdiği bildirilmiştir. Kondrotiene et al. (2018) tarafından yapılan çalışmada, fermente keçi ve inek sütünden izole

edilen *Lc. lactis* suşlarının proteolitik aktivitelerini incelemek amacıyla agar içeren süt tozu besiyerine spot difüzyon ile kültürleri inokule edilmiştir. 30°C’de 4 günlük inkübasyonun ardından koloni etrafındaki temiz zon ile proteolitik enzim aktivitesi ifade edilmiştir. 12 suş içerisinde 3 tanesinin hücre dışı proteolitik enzim aktivitesi sergilediği bildirilmiştir.

LAB’lerinin proteolitik aktivitesinin genel olarak düşük olduğu bilinmesine karşın literatürdeki çalışmalarda probiyotik potansiyeli incelenen izolatların düşük oranlarda da olsa proteolitik aktivite sergileyebildiği görülmektedir. Proteinlerin parçalanması sonucu acılaşma ve kötü koku oluşumu gibi problemlerin sık karşılaşıldığı ürünlerin başında gelen süt bazlı ürünlerin çalışmalarda incelenen ortamlar olduğu da anlaşılmaktadır.

Sonuç olarak çalışma kapsamında incelen izolatların teknolojik açıdan starter kültür olarak kullanılabilirliğinin ölçüldüğü bu analizde, mevcut izolatların proteaz grubu enzimler bakımından genel olarak iyi durumda olduğu belirlenmiştir.

4.3.2. İzolatların β -Galaktosidaz enzim aktivitesi

Probiyotiklerde β -galaktosidaz enzim aktivitesi istenilen bir özelliktir. Fermente ürünlerde bu aktiviteye sahip starter kültürler kullanıldığında sindirilebilirlik artmakta ve laktoz intoleransına yönelik semptomlar ortadan kalkmaktadır.

Bu tez çalışmasında incelenen 30 adet LAB içerisinde 7 adedinin (*Lim. fermentum* C40, *Ent. faecium* B42, *Lac. paraplantarum* D99, *P. acidilactici* B78 ve G65, *Leu. pseudomesenteroides* D112, *Str. thermophilus* F9) orta düzeyde, 1 adedinin (*Leu. citreum* C38) kuvvetli düzeyde aktivite sergilediği, diğer izolatların ise bu kabiliyette olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 İzolatların β -galaktosidaz aktivitesi.

İzolat	Aktivite	İzolat	Aktivite	İzolat	Aktivite
A25	-	B97	-	D112	+
B112	-	C38	++	D68	-
C40	+	C90	-	A15	-
B44	-	G3	-	A40	-
C65	-	B70	-	D53	-
B42	+	B78	+	F18	-
D99	+	C24	-	F8	-
G65	+	E40	-	F9	+
G53	-	F25	-	A33	-
G62	-	G47	-	D30	-

-:aktivite yok ,+:orta düzey aktivite, ++:kuvvetli aktivite.

Hububat bazlı fermente bir ürün olan oğuz'den izole edilen *Lac. plantarum*, *Lim. fermentum*, *P. pentosaceus* ve *W. cibaria* suşlarının β -galaktosidaz enzim aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir (Ajayeoba and Ijabadeniyi, 2019). Kumar et al. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, mango turşusundan (*La. casei*), sarımsak-biber turşusundan (*L. helveticus*), fermente Mahua²⁰ liköründen (*L. bulgaricus*) ve fermente pirinç liköründen (*L. delbrueckii*) izole edilen suşların iyi derecede β -galaktosidaz enzim aktivitesi sergilediği bildirilmiştir. Başka bir çalışmada, keçi sütünden izole edilen *Str. infantarius* subsp. *infantarius* suşlarının çoğunluğunun β -galaktosidaz pozitif sonuç verdiği belirlenmiştir (dos Santos et al., 2020). Boricha et al. (2019) tarafından yapılan çalışmada ise fermente kırmızı acı biber ve peru meyvesinden izole edilen *Lac. pentosus* (2 ad.) ve *Lim. fermentum* suşlarının Miller birimi cinsinden 175 ile 419 değerlerinde β -galaktosidaz aktivitesi sergilediği tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda, farklı kaynaklardan izole edilen LAB'nin değişen oranlarda β -galaktosidaz enzim aktivitesine sahip olduğu görülmektedir. Benzer şekilde, bu tez çalışması kapsamında incelenen LAB izolatlarının da farklı seviyelerde β -galaktosidaz aktivitesi gösterdiği ortaya koyulmuştur.

²⁰ Hindistan kökenli bir çeşit bitki.

4.3.3. İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi

Probiyotiklerin, fermente ürünlerin üretiminde starter kültür olarak kullanılması ve aynı zamanda son üründe probiyotik gıda olarak nitelendirebilecek seviyede ($>6 \log \text{ kob/mL-g}$) kalabilmeleri, bulunduğu gıda matriksinin yapısı ile ilişkilidir. Bu çalışma kapsamında, izolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimlerini belirlemek adına iki farklı konsantrasyonda (%1.5 ve %10) tuz içeren MRS/M17 Broth besiyerleri kullanılmış ve inoküle edilen tüplerde inkübasyon sonrası bulanıklık oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarında gelişimi.

İzolat kodu	Tuz (%)		İzolat kodu	Tuz (%)		İzolat kodu	Tuz (%)	
	1.5	10		1.5	10		1.5	10
A25	+	-	B97	+	+	D112	+	+
B112	+	-	C38	+	+	D68	+	-
C40	+	-	C90	+	+	A15	+	+
B44	+	-	G3	+	+	A40	+	+
C65	+	+	B70	+	+	D53	+	+
B42	+	+	B78	+	-	F18	+	+
D99	+	+	C24	+	+	F8	+	+
G65	+	+	E40	+	+	F9	+	+
G53	+	+	F25	+	+	A33	+	-
G62	+	+	G47	+	+	D30	+	-

Çalışmada incelenen izolatlar arasından 8 izolatın (*Ent. faecium* A25, *L. bulgaricus* B112, *Lim. fermentum* C40 ve A33, *P. pentosaceus* B44, *P. acidilactici* B78 ve D68, *W. cibaria* D30) %10'luk tuz konsantrasyonunda inhibe olduğu, ancak %1.5'luk tuz konsantrasyonunda gelişebildiği, bunun dışındaki tüm izolatların ise her iki tuz konsantrasyonunda da gelişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.9).

Farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerinin tuza toleransları da farklılık göstermektedir. Keçi sütü ve yoğurttan izole edilen LAB'lerinin %1, %2, %3, %4, %5, %6,

%7, %8, %9 ve %10 konsantrasyonlarında NaCl içeren ortamlarda canlılıkları incelenmiş, %6 ve altındaki NaCl konsantrasyonlarında tüm izolatların canlılığını sürdürdüğü, diğer konsantrasyonlarda ise inhibe oldukları tespit edilmiştir (Sarkar et al., 2020). Taze piliçten izole edilen *Lim. reuteri*, *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* suşlarının %6.5 ve %10 konsantrasyonlarında canlı kalabildiği (Reuben et al., 2019), fermente kırmızı acı biber ve peru meyvesinden izole edilen *Lac. pentosus* (2 ad.) ve *Lim. fermentum* suşlarının ise %4 ve %6 oranlarında NaCl içeren ortamda canlılığını koruduğu (Boricha et al., 2019), fermente pirinç ve durian meyvesinden izole edilen *P. acidilactici* ve *Co. farciminis* suşlarının %5 oranında NaCl içeren ortamda canlılıklarını sürdürdüğü, ancak %10 oranında NaCl içeren ortamda inhibe olduğu (Jawan et al., 2019) bildirilmiştir.

Literatürde yapılan çalışmalarda incelenen izolatların yüksek konsantrasyonda NaCl içeren ortamda farklı oranlarda canlı kalabildiği veya inhibe olduğu görülmektedir. Yürütülen bu tez çalışmasında, yüksek oranda tuz içeren ortamda canlılığını sürdürdüğü belirlenen izolatlar, tuz oranı yüksek olan ürünlerde starter kültür olarak kullanılabilimleri açısından önem arz etmektedir.

4.4. Metabolitler ve Biyoaktif Etkiler

4.4.1. İzolatların antioksidan aktivitesi

Çalışma kapsamında antioksidan aktivitesini belirlemek üzere analize alınan LAB hücre süspansiyonları, DPPH radikalini inhibe etme kabiliyeti bakımından incelenmiştir. İzolatların DPPH indirgeme değerlerinin %5.62-%31.08 arasında değiştiği, en yüksek aktiviteyi *P. acidilactici* G65'in, en düşük aktiviteyi ise *Lac. plantarum* G62'nin gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 İzolatların antioksidan aktivitesi, DPPH inhibisyonu.

İzolat kodu	Antioksidan aktivite (%)	İzolat kodu	Antioksidan aktivite (%)	İzolat kodu	Antioksidan aktivite (%)
A25	20.64	B97	18.77	D112	15.19
B112	17.77	C38	19.19	D68	8.08
C40	22.64	C90	14.79	A15	14.25

Çizelge 4.10 İzolatların antioksidan aktivitesi, DPPH inhibisyonu (devamı).

İzolat kodu	Antioksidan aktivite (%)	İzolat kodu	Antioksidan aktivite (%)	İzolat kodu	Antioksidan aktivite (%)
B44	14.16	G3	17.93	A40	14.26
C65	22.55	B70	17.27	D53	13.63
B42	14.59	B78	18.03	F18	12.12
D99	16.31	C24	12.17	F8	13.11
G65	31.08	E40	22.32	F9	14.54
G53	18.70	F25	26.73	A33	11.16
G62	5.62	G47	26.15	D30	13.31

Tarhana dışında diğer jaynaklardan izole edilen LAB'lerinin antioksidan aktivitelerinin değerlendirildiği bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin Xinjiang²¹ peynirinden izole edilen LAB'lerinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amacıyla MRS Broth besiyerinde inkübe edilen kültürler santrifüj sonrası iki faz olarak (PBS içerisinde hücre süspansiyonu, hücre içermeyen süpernatant) analize alınmıştır. Çalışmada en yüksek DPPH indirgeme kapasitesi hücre süspansiyonu olarak %53.78 ile *La. rhamnosus*'a ait suşta ölçülürken, süpernatant olarak *Ent. hirae*'ye ait suşun en yüksek antioksidan aktivite sergilediği belirlenmiştir. *La. rhamnosus*'a ait aynı suşun süpernatantının antioksidan aktivitesinin, hücre süspansiyonunun aktivitesinden daha düşük olduğu, *Ent. hirae*'ye ait suşun da hücre süspansiyonunun antioksidan aktivitesinin, süpernatantının aktivitesinden düşük (%18.95) olduğu belirtilmiştir (Azat et al., 2016).

Ajayeoba and Ijabadeniyi (2019) yaptıkları bir çalışmada, oğ²²den izole ettikleri *Lac. plantarum*, *Lim. fermentum*, *P. pentosaceus* ve *W. cibaria* suşlarının antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla izolatları süt tozu besiyerinde 37°C'de 24 saat geliştirmişler ve hücre içermeyen süpernatantların DPPH indirgeme değerlerini belirlemişlerdir. Çalışmada en yüksek antioksidan aktivite değerinin %58.1 ile *Lac. plantarum*'a ait suşta, en düşük değerin ise %4.45 ile *Lac. plantarum*'a ait başka bir suşta gözlemlenmiştir.

²¹ Sincan Uygur Özerk Bölgesi.

²² Hububat bazlı fermente bir ürün.

Deve (tek hörgüçlü) sütünden izole edilen LAB'lerinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amacıyla MRS Broth besiyerinde geliştirilen izolatlar sıvı kültür olarak analize alınmıştır. En yüksek DPPH indirgeme aktivitesinin %41.85 ile *Ent. faecium* suşunda gözlemlendiği, en düşük aktiviteyi ise %27.2 ile *Ent. faecalis* suşunun sergilediği belirtilmiştir (Oussaief et al., 2020).

Fermente yeşil zeytinden izole edilen *Le. brevis* (5 ad.), *Lac. pentosus* (2 ad.) ve *Lac. plantarum* (7 ad.)'un antioksidan aktivitesinin belirlenmesi amacıyla kültürler MRS Broth besiyerinde geliştirilmiş ve santrifüj sonrası hücre içermeyen süpernatant kısmı analizde kullanılmıştır. İzolatların DPPH indirgeme değerlerinin %43.11 ile %52.54 arasında değiştiği bildirilmiştir (Abouloifa et al., 2019).

Lakra et al. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, fermente Mudakathan dosai hamurundan izole edilen *W. confusa* ve *W. cibaria*'nın hücre süspansiyonlarının DPPH indirgeme değerinin %69.15 ile %74.34 olduğu bildirilmiştir.

Yapılan çalışmalarda izolatların üç farklı formda da (hücre içermeyen süpernatant, hücre süspansiyonu ve sıvı kültür (hücre+süpernatant)) antioksidan aktivite sergileyebileceği belirlenmiştir. İzole edildiği kaynağa ve türe bağlı olarak bazı suşların test edilen hücre formu süpernatant formundan, bazı suşların ise süpernatant formu hücre formundan daha iyi antioksidan aktivite sergilemekte, sıvı kültür formu ise antioksidan aktivite bakımından değişkenlik göstermektedir. Ayrıca çalışmalarda antioksidan aktivitenin belirlenmesi amacıyla kullanılan DPPH radikalının konsantrasyonu ve çözücü (etanol veya metanol) farklılığından kaynaklanan yöntemsel değişkenler, antioksidan aktivite sonucunda etkili olmaktadır.

4.4.2. İzolatların antimikrobiyal aktivitesi

LAB'lerinin, başta organik asit ve bakteriyosinler olmak üzere, üretmiş oldukları birçok antimikrobiyal etkili metabolit bulunmaktadır. Tarhanadan izole edilen LAB'lerinin antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla izolatlar öncelikle MRS/M17 Broth ortamlarında geliştirilmiş, santrifüj edilmiş ve ardından süpernatant kısmı ayrılarak analizde kullanılmıştır. MRS/M17 Agar petrilere yapılan ekim ve inkübasyon sonrasında oluşan inhibisyon zonları mm olarak ölçülerek antimikrobiyal aktivite değerleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, izolatların farklı oranlarda antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya

koymuştur. İnhibisyon zonlarının 7 mm ile 30 mm arasında değiştiği, tüm patojenler üzerine etkili izolatın *P. acidilactici* B97 olduğu, genel olarak ise tüm izolatların en çok *E. coli* O157:H7 üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 İzolatların antimikrobiyal aktiviteleri.

Antimikrobiyal aktivite (mm)								Antimikrobiyal aktivite (mm)							
İzolat kodu	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>Li. monocytogenes</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ba. subtilis</i>	İzolat kodu	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>Li. monocytogenes</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ba. subtilis</i>
A25	17	13	11	12	7	12	11	B78	20	22	17	18	19	13	16
B112	17	18	18	18	15	18	18	C24	20	19	18	18	17	18	18
C40	20	18	15	18	16	16	18	E40	19	16	18	14	15	13	16
B44	18	15	14	12	9	16	14	F25	18	17	19	16	17	17	20
C65	18	15	14	12	9	16	14	G47	19	17	17	16	18	17	18
B42	23	22	17	17	16	13	16	D112	30	16	14	16	10	14	15
D99	22	14	17	16	15	12	16	D68	24	15	19	20	15	20	17
G65	18	15	14	12	9	16	14	A15	16	17	16	15	15	16	18
G53	17	18	16	15	13	16	16	A40	17	16	14	20	16	20	17
G62	20	16	15	21	13	19	17	D53	17	17	14	17	19	20	16
B97	26	17	19	20	15	22	20	F18	15	21	20	21	15	15	18
C38	22	16	16	14	16	12	16	F8	22	16	19	18	13	16	17
C90	21	20	20	15	17	15	15	F9	18	16	19	19	13	17	18
G3	17	16	15	16	15	13	16	A33	20	19	20	17	16	13	17
B70	20	18	17	20	15	18	16	D30	20	16	17	16	14	12	16

Kuyucuk çapı 6 mm.

Ateş (2019) tarafından yapılan çalışmada, tarhanadan izole edilen *P. pentosaceus* (14 ad.), *Le. brevis* (2 ad.), *Lac. pentosus* (1 ad.), *Lac. plantarum* (1 ad.), *Lac. paraplantarum* (1 ad.), *Lim. fermentum* (4 ad.), *Ent. faecalis* (4 ad.) ve *Ent. faecium* (2 ad.) suşlarının *St. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* ATCC 14028 üzerine antimikrobiyal

etkileri incelenmiş, en yüksek antimikrobiyal aktivitenin *P. pentosaceus*, *Le. brevis* ve *Lim. fermentum* tarafından sergilendiği tespit edilmiştir. Tarkhineh²³'den izole edilen *Lac. plantarum* (19 ad.), *Lim. fermentum* (17 ad.), *Lac. pentosus* (9 ad.), *Le. brevis* (8 ad.) ve *Len. diolivorans* (1 ad.) suşlarının *St. aureus*, *Li. innocua* ve *E. coli* üzerine antimikrobiyal aktivitesinin bulunduğu belirlenmiştir (Vasiee et al., 2014).

Yapılan diğer bir çalışmada, Sokobanja sosisinden izole edilen *Ent. faecium* (21 ad.) suşlarının antimikrobiyal aktivitelerini ölçmek üzere agar difüzyon (5 mm çap, 100 µL hacim) yönteminden faydalanılmış, sıvı besiyerinde geliştirilen izolatların santrifüj sonrası hücre içermeyen süpernatant kısmı analizde kullanılmıştır. Çalışma sonucunda, incelen tüm izolatların *Pseudomonas* (20-30 mm) ve *E. coli* (12-35 mm) türleri üzerine etkili olduğu (20-30 mm), *Li. monocytogenes*'e karşı ise zon oluşturmeyen izolatlar olduğu gibi etkili olanların (16.5-30 mm) da bulunduğu bildirilmiştir (Petrovic et al., 2020). Fermente mudakathan dosai hamurundan izole edilen *W. confusa* ve *W. cibaria* suşlarının antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek amacıyla agar difüzyon yöntemi kullanılmış, her iki izolatın da *E. coli* (13.33 mm ve 13.83 mm), *Li. monocytogenes* (14.83 mm ve 18 mm) ve *St. aureus* (18.17 mm ve 17.67 mm) üzerine inhibisyon etkisi tespit edilmiştir (Lakra et al., 2020).

Yapılan çalışmalar genel olarak değerlendirildiğinde, farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerinin patojen özellikteki birçok mikroorganizma üzerine antimikrobiyal etki gösterdiği, bu etkinin tür ve suş bazında değişebildiğini göstermektedir. Yürütülen bu çalışma kapsamında incelen LAB izolatlarının da önemli seviyede antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, tespit edilen bu etkinin etmenini belirlemek adına ileri analizlerin yapılması önem arz etmektedir.

4.4.3. İzolatların kalitatif kolesterol düşürücü etkisi, BSH aktivitesi

Mikroorganizmaların safra tuzlarını parçalaması ile düşük molekül ağırlıklı safra tuzları hızlıca vücuttan atılmaktadır. Kanda serbest halde bulunan kolesterol, safra tuzlarının sentezinde kullanılmakta ve böylece toplam kolestrol seviyesinde azalma meydana gelmektedir. Bu mekanizma, probiyotiklerin kolesterol düşürücü etki sağladığı yollardan biridir. Bu tez çalışması kapsamında test edilen izolatların tümü TDCA sodyum tuzunu

²³ Tarhana benzeri, süt bazlı fermente bir ürün.

parçalayarak halo opak zon oluşturmuş ve BSH aktivitesi açısından orta düzeyde aktif olarak yorumlanmıştır (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12 İzolatların safra tuzunu (TDCA) parçalama aktivitesi

İzolat kodu	Aktivite	İzolat kodu	Aktivite	İzolat kodu	Aktivite
A25	+	B97	+	D112	+
B112	+	C38	+	D68	+
C40	+	C90	+	A15	+
B44	+	G3	+	A40	+
C65	+	B70	+	D53	+
B42	+	B78	+	F18	+
D99	+	C24	+	F8	+
G65	+	E40	+	F9	+
G53	+	F25	+	A33	+
G62	+	G47	+	D30	+

+: Aktivite var, -: aktivite yok.

Boricha et al. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, fermente acı biber ve peru meyvesinden izole edilen *Lac. pentosus* (2 ad.) ve *Lim. fermentum* suşlarının safra tuzları hidrolaz aktivitesi sergilediği belirlenmiştir. Diğer bir çalışmada, İsveç fasulyesinden izole edilen *Ba. coagulans*, *Ent. hirae*, *Ent. faecium*, *Ent. mundtii* ve *P. pentosaceus* suşlarından *Ba. coagulans* ve *P. pentosaceus* hariç tüm suşların safra tuzlarını hidroliz edebildiği tespit edilmiştir (Labba et al., 2020). Lakra et al. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, fermente mudakathan dosai hamurundan izole edilen *W. confusa* ve *W. cibaria* suşlarının TDCA sodyum tuzunu parçalayarak safra tuzlarını parçalama aktivitesinde bulunduğu belirlenmiştir. Sarkar et al. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, keçi sütü ve yoğurttan izole edilen LAB'lerinin safra tuzlarını hidroliz edebilme özellikleri incelenmiş, tüm izolatların TDCA sodyum tuzunu parçalayabildiği tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalarda, safra tuzları varlığında canlılık testinde iyi sonuç veren izolatların, BSH aktivitesi analizinde pozitif sonuç verdiği görülmektedir. LAB izolatları safra tuzları varlığında canlılıklarını iki şekilde (safra tuzlarından etkilenmeyerek ve/veya safra

tuzlarını parçalayarak) korumaktadır. Bu tez çalışması kapsamında incelenen izolatların tamamının safra tuzu (TDCA sodyum tuzunu) içeren ortamda (MRS/M17 Agar) gelişerek zon oluşturduğu, safra tuzunu parçaladığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde, diğer çalışmalarda da incelenen izolatların tarama analizlerinde BSH pozitif sonuç verdiği görülmektedir.

4.4.4. İzolatların bakteriyosin üretme yetenekleri

Bazı LAB'leri, antimikrobiyal etkili metabolitler arasında yer alan ve hücrede sekonder metabolitler olarak üretilen bakteriyosinleri üretebilme yeteneklerine sahiptir. Çalışma kapsamında izolatlara bakteriyosin açısından antimikrobiyal aktivite belirleme analizi uygulanmıştır. Bu amaçla sadece daha önce yapılan antimikrobiyal aktivite analizinde yüksek inhibisyon etkisi gösteren izolatlar değerlendirilmiştir. İzolatların MRS/M17 Broth besiyerinde 37°C'de 24 sa geliştirilmesinin ardından elde edilen süpernatantlar, besiyerine açılan kuyucuklara aktarılmış ve inkübasyon sonunda zon oluşumu açısından petriler değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, bu analizde elde edilen sonuçlar, incelenen izolatların bakteriyosin açısından antimikrobiyal aktivitesinin bulunmadığını göstermiştir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, tarhana'dan izole edilen LAB'lerinin (*P. acidilactici* ve *Lc. lactis*) potansiyel bakteriyosin üreticisi olduğu tespit edilmiştir (Kaya, 2013; Kaya and Simsek, 2020).

Tarhana dışında farklı gıdalardan izole edilen LAB'lerinin bakteriyosin üretme özelliklerinin incelendiği birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde, *L. acidophilus* KS400 suşunun bakteriyosin üretim potansiyelinin araştırılması amacıyla kültür 10 mL MRS Broth besiyerinde 37°C'de %10 CO₂'te 24 sa inkübe edilmiş, proteaz enzimi inhibisyonu için sıvı kültür 70°C'de 30 dk ısıtılmış ve 4500 rpm'de 4°C'de 15 dk'lık santrifüj ile süpernatant elde edilmiştir. Elde edilen süpernetantın pH değeri 10 M'lık NaOH ile 6.5'e ayarlanmış, ardından ortama 5 mg/mL katalaz ilave edildikten sonra 0.2 µm'lik filtreden geçirilmiştir. Çalışmada indikatör olarak *L. delbrueckii* ATCC 9649, besiyeri olarak MRS Soft Agar kullanılmış, kuyucuk çapı 4 mm ve süpernatantın inokulasyon hacmi 100 µL olarak ayarlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre test edilen *L. acidophilus* KS400 suşunun süpernatantının eklendiği kuyucuk etrafında temiz zon gözlemlendiği, dolayısıyla incelenen örneğin bakteriyosin anlamında antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Gaspar et al., 2018).

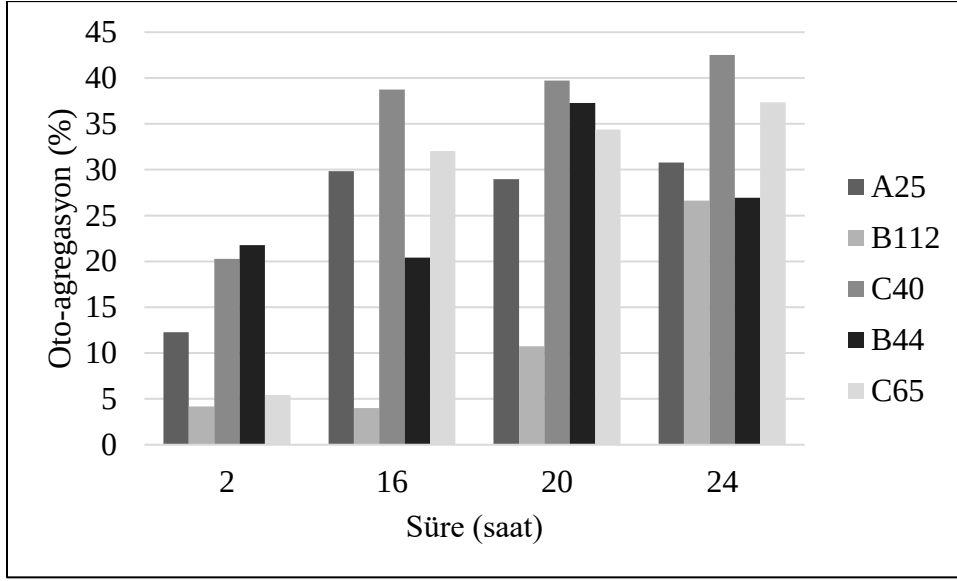
LAB'lerinin bakteriyosin üretme yeteneklerinin belirlenmesinde uygulanacak analizlerde, kullanılan geliştirme ortamı, inkübasyon sıcaklığı ve süresi, inkübasyon ortamının oksijen kontrolü, fermentasyon ortamı hacmi (besiyeri), indikatör olarak kullanılan mikroorganizma çeşidi ve bakteriyosin saflaştırmada uygulanan alt akım işlemleri (proteaz enzim inhibisyonu için ısıtma işlemi, ortam asitliğinin nötralize edilmesi, hidrojen peroksit eliminasyonu için katalaz ilavesi, safsızlıkların uzaklaştırılması için filtrasyon, vd.) gibi değişkenler, mikroorganizma tarafından üretilen bakteriyosinin tespit edilmesini büyük ölçüde etkilemektedir. Dolayısıyla, bu çalışma kapsamında incelenen LAB izolatlarının gerçekte bakteriyosin üreticisi olup olmadıkları, ileride yapılacak kapsamlı analizlerle ve farklı parametreler kullanılarak (üst akım işlemleri, fermentasyon koşulları ve ortamı, alt akım işlemleri) tekrardan değerlendirilecektir.

4.5. *In Vitro* Bakteriyel Tutunma, Kolonizasyon, Bariyer Fonksiyonu ve KZYA Üretimi

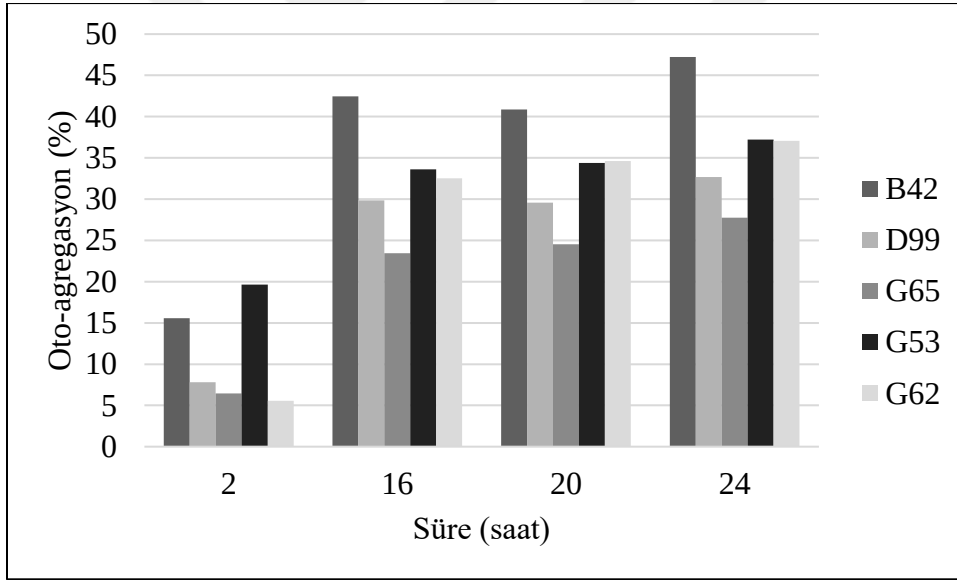
4.5.1. İzolatların oto-agregasyon ve co-agregasyon özellikleri

Bu tez çalışmasında, tarhanadan izole edilip tanımlanan LAB'lerinin, kolonizasyonda etkili faktörlerden biri olan oto-agregasyon ve co-agregasyon yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla, 24 saatlik inkübasyon süresi sonundaki oto-agregasyon ve 4 saatlik inkübasyon süresi sonundaki co-agregasyon değerleri incelenmiştir.

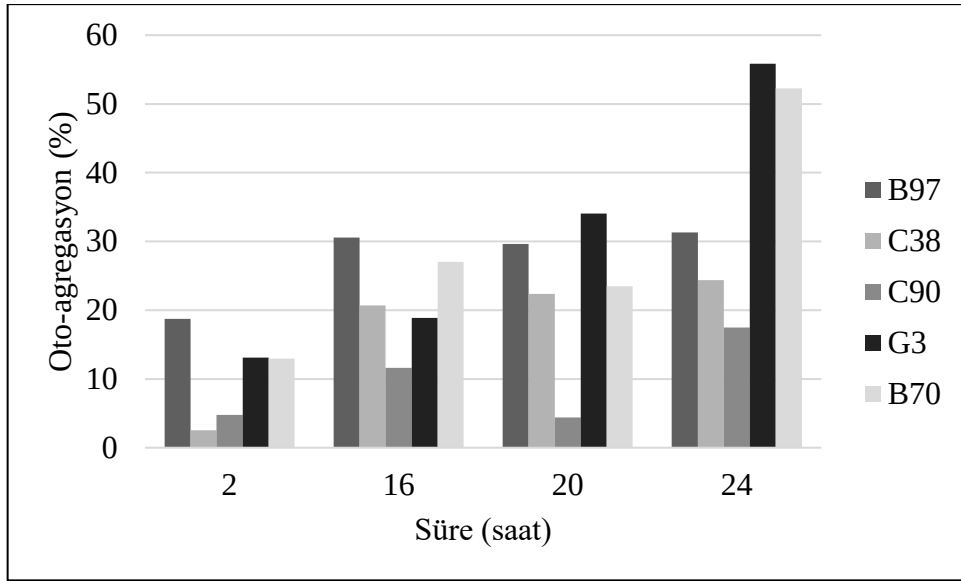
İzolatların inkübasyon sonundaki oto-agregasyon değerleri %7.51 ile %55.86 arasında değişim göstermiştir (Şekil 4.1-4.6). 24 saat sonunda en yüksek oto-agregasyon %55.86 ile *P. acidilactici* G3 suşunda (%1.94 agregasyon/saat), en düşük ancak en hızlı oto-agregasyon ise %7.51 ile *Ent. faecium* F8 suşunda (%2.19 agregasyon/saat) gözlemlenmiştir.



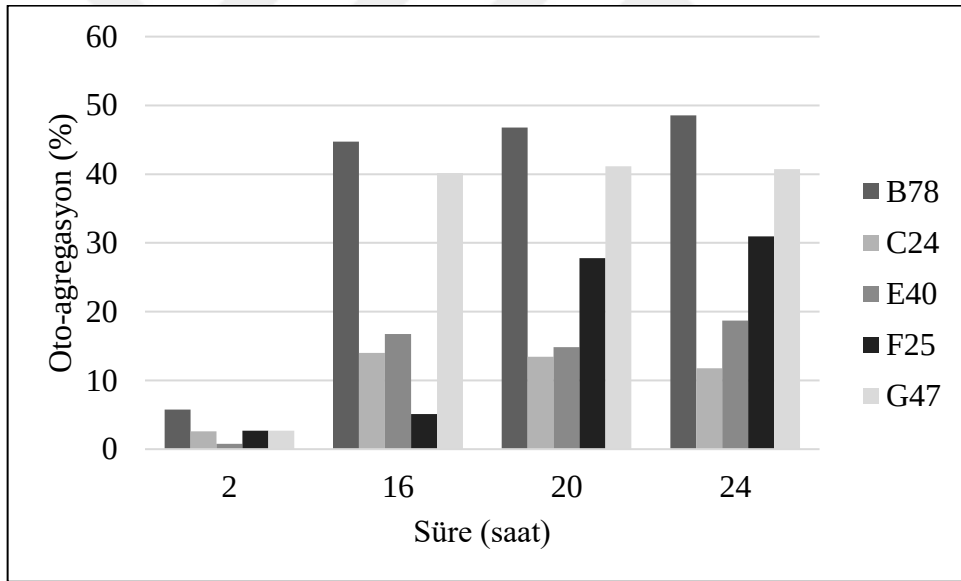
Şekil 4.1 İzolatların (A25, B112, C40, B44, C65) oto-agregasyon kabiliyetleri.



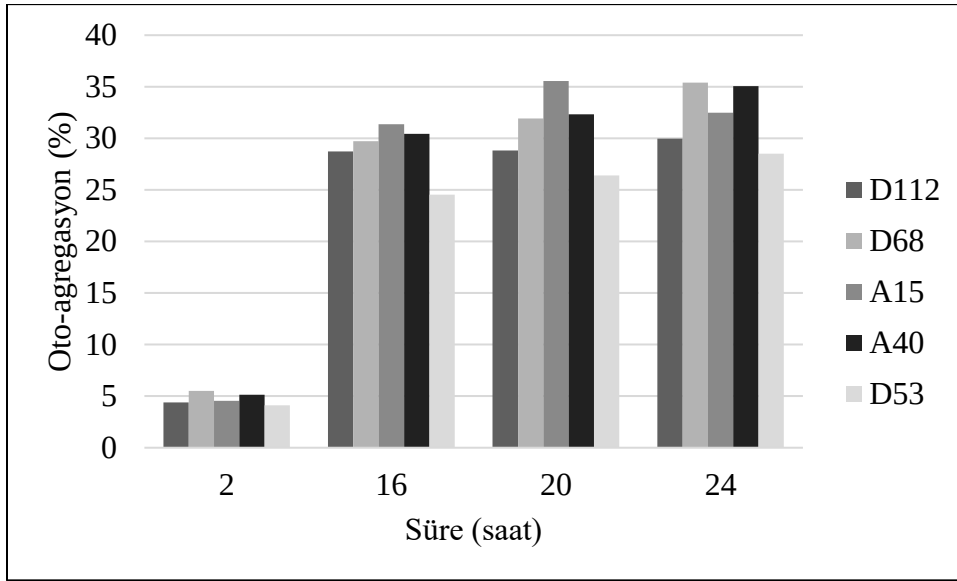
Şekil 4.2 İzolatların (B42, D99, G65, G53, G62) oto-agregasyon kabiliyetleri.



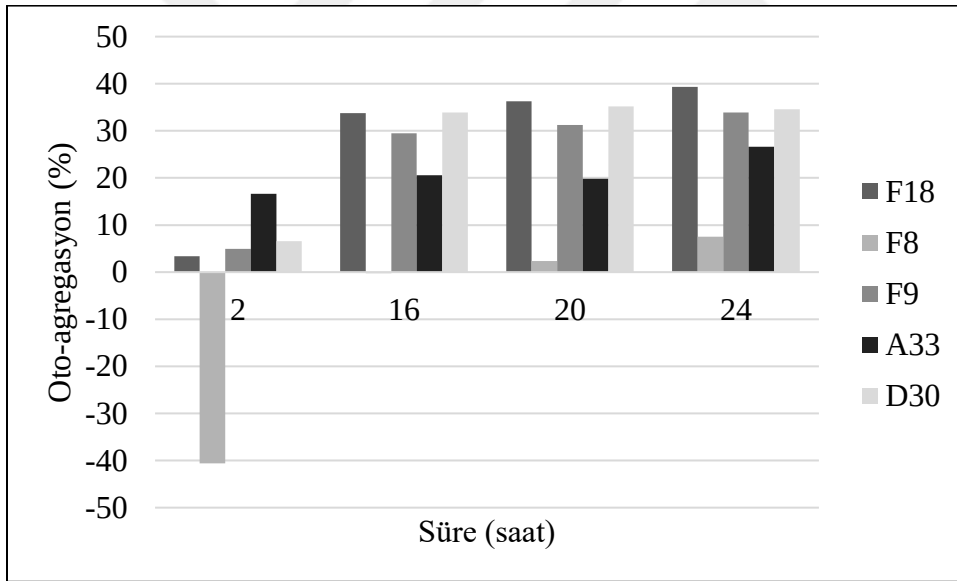
Şekil 4.3 İzolatların (B97, C38, C90, G3, B70) oto-agregasyon kabiliyetleri.



Şekil 4.4 İzolatların (B78, C24, E40, F25, G47) oto-agregasyon kabiliyetleri.



Şekil 4.5 İzolatların (D112, D68, A15, A40, D53) oto-agregasyon kabiliyetleri.

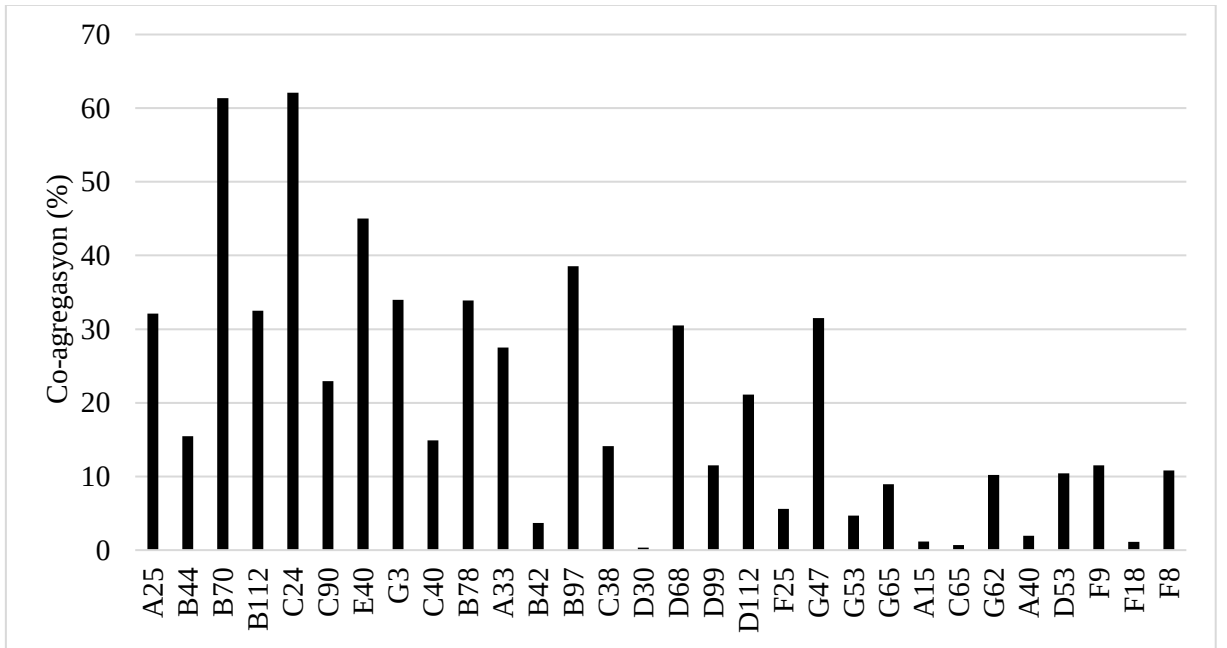


Şekil 4.6 İzolatların (F18, F8, F9, A33, D30) oto-agregasyon kabiliyetleri.

LAB'lerinin oto-agregasyon değerlerinin incelendiği, Reuben et al. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, taze inek ve keçi sütünden izole edilen *Lactobacillus* türlerinin 2 saatlik oto-agregasyon değerlerinin %38.50 ile %54.50 arasında değiştiği bildirilmiştir. Benzer şekilde taze piliçten izole edilen *Lim. reuteri*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *Ent. faecium*'un 2 saatlik oto-agregasyon değerlerinin %32 ile %56.5 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Reuben et al., 2019). Fermente yeşil zeytinden izole edilen *Le. brevis* (5 ad.), *Lac. pentosus* (2 ad.) ve *Lac. plantarum* (7 ad.) suşlarının 5 saatlik oto-agregasyon değerlerinin %10.29 ile %41.34

arasında değiştiği belirlenmiştir (Abouloifa et al., 2019). Ajayeoba and Ijabadeniyi (2019) tarafından yapılan çalışmada ise oğiden izole edilen *Lac. plantarum*, *Lim. fermentum*, *P. pentosaceus* ve *W. cibaria*'nın 24 saatlik oto-agregasyon değerlerinin %14.34 ile %46.45 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Yürütülen bu çalışma kapsamında incelenen LAB izolatlarının 4 saatlik inkübasyonda *S. Typhimurium* NRRLB 4420 ile co-agregasyon değerlerinin %0.34 ile %62.09 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Şekil 4.7). En yüksek co-agregasyonu *P. acidilactici* C24'ün, en düşük co-agregasyonu ise *W. cibaria* D30'un gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.7 İzolatların co-agregasyon kabiliyetleri.

Reuben et al. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, taze inek ve keçi sütünden izole edilmiş *Lactobacillus* türlerinin *S. Typhimurium* ile 2 saatlik co-agregasyon değerlerinin %5.96 ile %89.23 arasında değiştiği bildirilmiştir. Benzer şekilde taze piliçten izole edilen *Lim. reuteri*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* ve *Ent. faecium*'un *S. Typhimurium* ile 2 saatlik co-agregasyon değerlerinin %45.46 ile %78.51 arasında değiştiği bildirilmiştir (Reuben et al., 2019).

Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, LAB'lerinin farklı seviyelerde oto-agregasyon ve co-agregasyon kabiliyetleri olduğunu ortaya koymuştur. Oto-agregasyon kabiliyeti, bakterilerin insan kolonunda bir araya gelerek birim yoğunluğunu arttırıp epitel

hücre yüzeyine tutunmasına katkı sağlamaktadır (Özkan et al., 2020). Bununla birlikte, bakterilerin oto-agregasyon değerinin düşük olması, insan epitel hücre yüzeyine tutunmanın az olacağı ya da bakterilerin oto-agregasyon değerinin yüksek olması, insan epitel hücre yüzeyine tutunmanın yüksek olacağı anlamına gelmemekte, bu durum sadece bakterinin epitel hücrelere tutunmasını pozitif (yüksek) ya da negatif (düşük) olarak etkileyebilmektedir. Ayrıca, co-agregasyon kabiliyeti yüksek olan LAB'leri testte yer alan patojenin insan kolonunda kolonizasyonunu ve tutunmasını engelleyebilmektedir (Sui et al., 2021).

4.5.2. Hücre yüzey hidrofobisitesi

Hücre yüzey hidrofobisitesi, bakterilerin insan epitel hücrelerine tutunma potansiyelleri ile ilgili fikir vermektedir. Yüksek hidrofobisite ile insan epitel hücrelerine yapışma arasında doğru orantılı bir ilişki bulunmaktadır (Özkan et al., 2020). Çalışma kapsamında incelenen LAB izolatlarının hücre yüzey hidrofobisite değerlerinin belirlenmesi amacıyla ksilen ve etil asetat kullanılmış ve hidrofobisite değerlerinin ksilen için %69.40 ile %91.81, etil asetat için ise %72.36 ile %95.21 arasında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.13). LAB izolatlarının genel olarak test edilen kimyasallar içerisinde etil asetata karşı daha yüksek hidrofobisite sergilediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.13 İzolatların hidrofobisite değerleri (%).

İzolat kodu	Hidrofobisite (%)		İzolat kodu	Hidrofobisite (%)		İzolat kodu	Hidrofobisite (%)	
	Ksilen	Etilasetat		Ksilen	Etilasetat		Ksilen	Etilasetat
A25	74.97	93.13	A33	91.81	92.80	G53	88.11	94.14
B44	78.99	78.72	B42	78.81	94.13	G65	81.63	95.03
B70	79.66	94.64	B97	81.85	72.36	A15	72.75	94.12
B112	77.32	95.00	C38	75.28	93.45	C65	69.40	93.41
C24	82.06	94.18	D30	78.35	84.54	G62	83.97	95.21
C90	77.21	92.26	D68	76.58	94.17	A40	76.40	94.05
E40	85.93	96.05	D99	79.42	94.84	D53	79.47	94.58
G3	70.41	93.54	D112	70.16	92.67	F9	79.27	94.46
C40	85.94	92.95	F25	78.14	77.41	F18	78.34	93.54
B78	85.67	96.04	G47	80.05	94.63	F8	84.54	92.47

Xu et al. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada fermente brokoli, kiraz, zencefil, beyaz turp ve beyaz pitaya sularından izole edilen LAB'lerinin ksilen %21.6 ile %69.6, etil asetat için ise %13.4 ile %36.4 arasında hidrofobisite gösterdiği bildirilmiştir. Fermente kızılıçık suyundan izole edilen LAB'lerinin hücre yüzey hidrofobisitelerinin n-hekzadekan için %0.5 ile %87.5 arasında değiştiği, en yüksek hidrofobisiteyi *Lac. plantarum*'un sergilediği bildirilmiştir (Sagdic et al., 2014).

Bir bakterinin hücre yüzey hidrofobisite değerinin yüksek olması, insan epitel hücrelerine tutunması açısından önem taşımaktadır. Elde edilen sonuçlar bu anlamda değerlendirildiğinde, tarhanadan izole edilen LAB'lerinin ksilen ve etil asetat hidrokarbonlarına karşı yüksek hidrofobisite göstermesi ile insan epitel hücre yüzeyine tutunma potansiyellerinin yüksek olduğu görülmektedir.

4.5.3. Bakteriyel tutunma

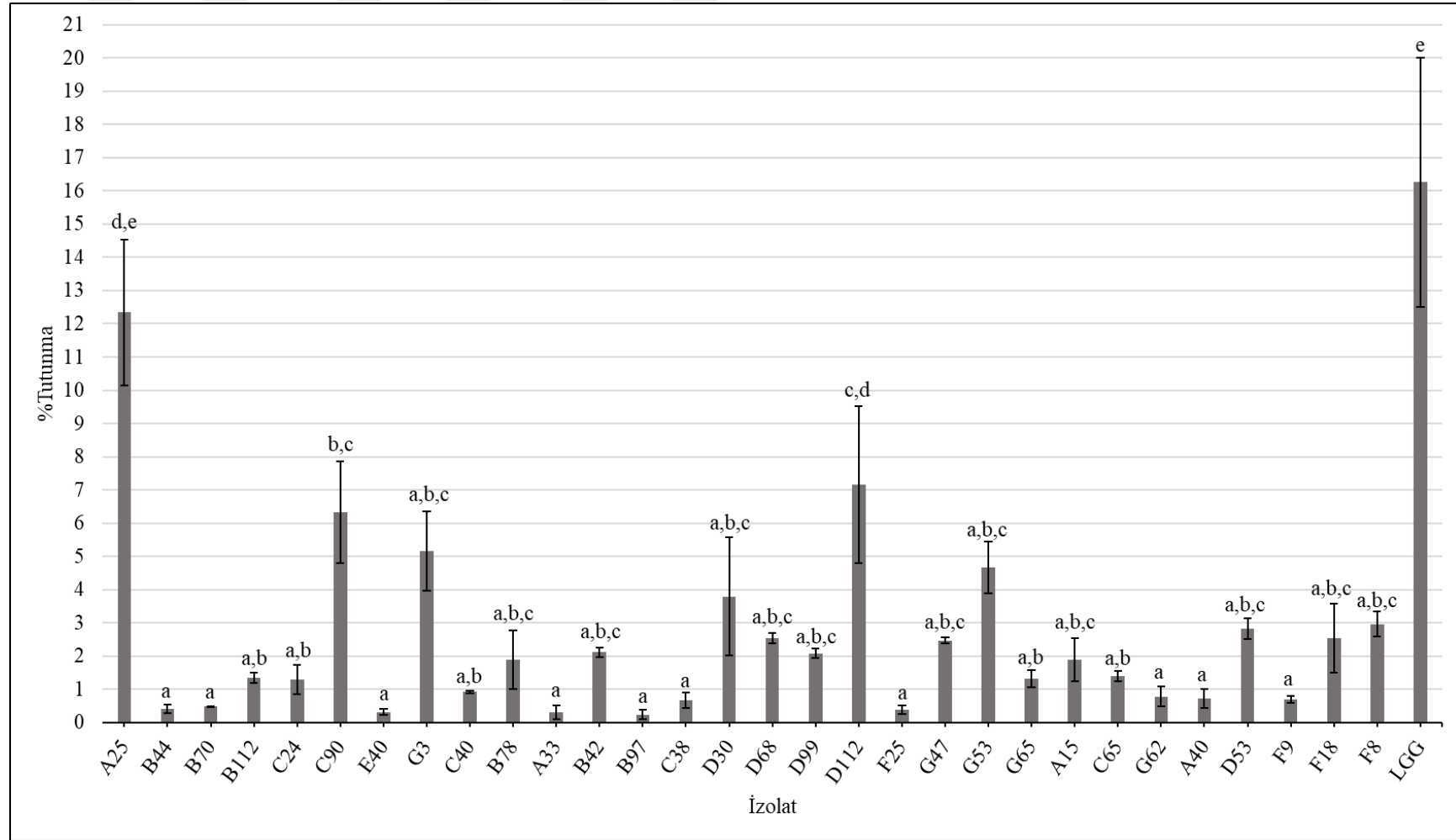
Probiyotiklerin insan kolon hücrelerine tutunması, patojenlerin bu bölgelere tutunmasını engellemesi, patojenlerin inhibisyonu sağlayacak antimikrobiyal etkili metabolitler üretmesi ve ayrıca sağlığa yararlı birçok metabolik faaliyetini (BSH, KZYA, antioksidan aktivite, vb.) gerçekleştirebilmesi için önemlidir. *In vitro* çalışmalarda insan kolorektal adenokarsinom hücreleri (Caco-2), probiyotiklerin tutunma testlerinin gerçekleştirilmesinde sıkça kullanılan hücrelerdir (Hojjati et al., 2020).

Bu tez çalışmasında, izolatların 4 saatlik inkübasyon sürecinde Caco-2 hücre hattına tutunma değerleri belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan *La. rhamnosus* GG suşunun tutunma değeri 16.256 ± 3.747 olarak tespit edilirken LAB izolatların tutunma değeri 0.233 ± 0.140 ile 12.347 ± 2.195 arasında değişmiştir. En iyi tutunma sonucu veren suşların *Ent. faecium* A25 (12.347 ± 2.195), *Leu. pseudomesenteroides* D112 (7.151 ± 2.365), *Ent. faecium* C90 (6.325 ± 1.522), *P. acidilactici* G3 (5.160 ± 1.198) ve *Lac. plantarum* G53 (4.671 ± 0.787) olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 4.8).

Todorov et al. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada bozadan izole edilen *Lac. plantarum* (3 ad.), *La. paracasei* (2 ad.), *La. rhamnosus* (2 ad.) ve *Lac. pentosus* (1 ad.) suşlarının Caco-2 hücrelerine tutunma değerlerinin %0.26 ile %9 arasında değiştiği, en yüksek *Lac. pentosus*'un tutunduğu, pozitif kontrol olarak kullanılan *La. rhamnosus* GG'nin ise %7-9

arası sonuç verdiği belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada, Tarkhineh'den izole edilen *P. acidilactici* (2 ad.) ve *P. pentosaceus* (1 ad.) suşlarının Caco-2 hücrelerine tutunma değerleri incelenmiş ve en yüksek tutunma değerini *P. acidilactici*'nin (%16.32), en düşük tutunma değerini ise *P. pentosaceus*'un (%4.92) verdiği tespit edilmiştir (Vasiee et al., 2020). Khikki peynirinden izole edilen *Le. brevis* gp104 suşunun Caco-2 hücrelerine tutunma değeri %13.4 olarak belirlenmiştir (Hojjati et al., 2020). Mandalina sirkesinden izole edilen *Lac. plantarum* (5 ad.) suşlarının ise Caco-2 hücrelerine tutunma değerlerinin %15.1 ile %21 arasında değiştiği, pozitif kontrol olarak kullanılan *Lac. plantarum* ATCC 14917 suşunun %16.3 olarak sonuç verdiği tespit edilmiştir (Sui et al., 2021).

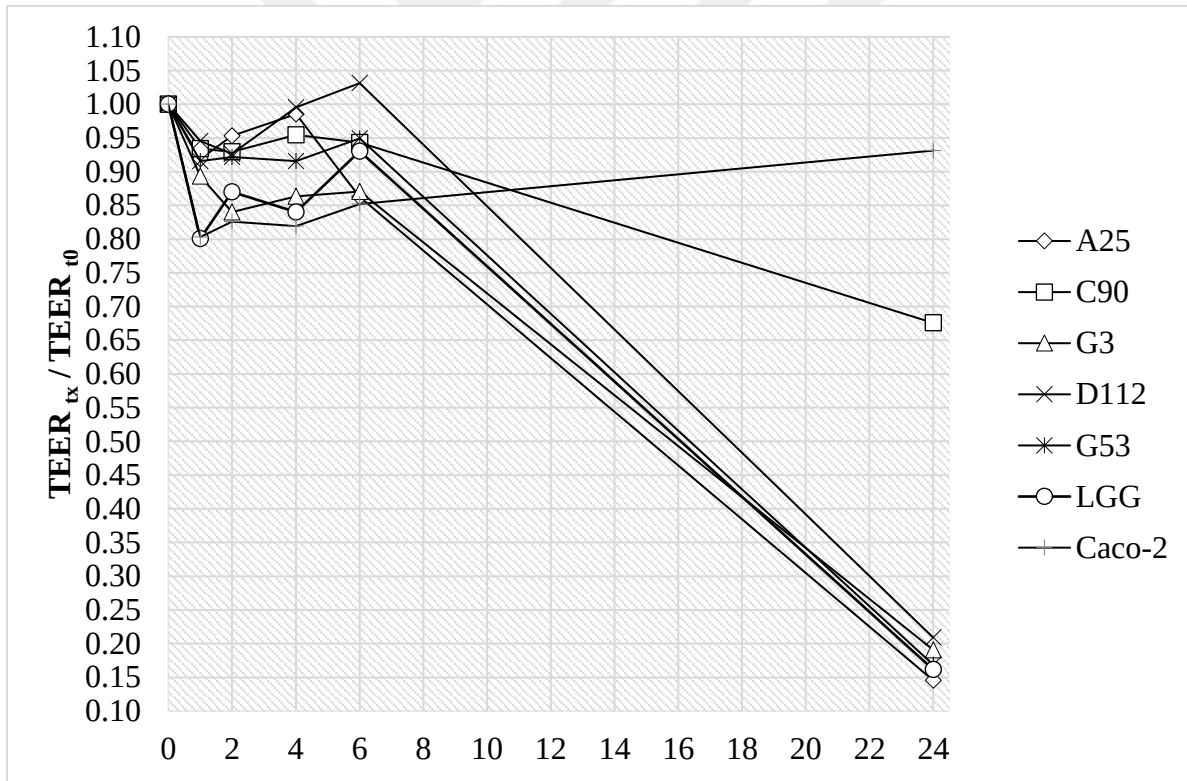
Tutunma testlerinden elde edilen sonuçlar literatür ile karşılaştırıldığında, Tarhana'dan izole edilen LAB'lerinin oldukça iyi seviyelerde tutunma gösterdikleri, ancak bu değerlerin analizde kullanılan Caco-2 hücrelerinin sayısına ve canlılığına, analize alınan suşa, bakterilerin başlangıç inokulasyon yüküne ve ayrıca genç olmasına bağlı olarak değişim gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.8 İzolatların Caco-2 hücrelerine tutunma kabiliyetleri. Farklı küçük harfler (a, b, c, d, e) istatistiksel farklılığı ($p < 0.05$) ifade etmektedir.

4.5.4. Epitelyal bariyer direncine ve geçirgenliğine etki

TEER testi, probiyotik potansiyeli belirleme çalışmalarında uygulanan bir analizdir. Probiyotikler kolon hücre hattına tutunarak epitel bariyer fonksiyonunu geliştirmekte, geçirgenliği kontrol etmektedir. Bu tez çalışmasında Caco-2 hücrelerinin por açıklıkları model olarak kullanılmış ve direnç ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Analizde, tutunma testinde en yüksek sonucu veren 5 izolat ve pozitif kontrol olarak *La. rhamnosus* GG teste tabi tutulmuştur. Tüm izolatların ilk 6 saatlik sürede bakteri kültürü içermeyen Caco-2 ortamına kıyasla bariyer direncini arttırdığı, en yüksek direnci ise başlangıç bariyer değerinin üzerine çıkarak *Leu. pseudomesenteroides* D112'in gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte 6-24 saatlik sürede tüm izolatların direnç değeri düşmüştür (Şekil 4.9). Bu çalışmada elde edilen verilerde ilk 6 saatlik direnç değerlerinin istatistiksel açıdan anlamlı olmayan derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$).



Şekil 4.9 İzolatların epitelyal bariyer direnci ve geçirgenliğe etkileri.

Jensen et al. (2012) tarafından yapılan çalışmada, ot silajından (*Lac. plantarum*), ekşi hamurdan (*Lac. plantarum*, 2 ad.), Norveç koyun salamından (*Lac. plantarum*, 2 ad.), taze etten (*L. sakei*), sosisten (*L. sakei*), fermente sosisten (*L. farciminis*), fermente balıktan (*L. sakei*),

insan bağırsak sisteminden (*La. rhamnosus* GG, *L. gasseri* ATCC 33323 ve *L. reuteri*), insan sütünden (*L. reuteri* DSM 17938 ve ATCC PTA 6475) ve ağız boşluğundan (*L. reuteri* ATCC PTA 5289) izole edilen suşların epitel bariyer direnci ve geçirgenliği incelenmiş ve sadece *L. reuteri*, (4 ad.) suşlarının 24 saatlik sürede bariyer direncini arttırdığı, *La. rhamnosus* GG suşunun ise aynı sürede en düşük direnç değerine düştüğü belirlenmiştir.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, test edilen tüm izolatların ilk 6 saatlik sürede geçirgenliği azaltarak bariyer direnci fonksiyonunu geliştirdiği, sonuçların tutunma değerleri ile kısmen korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Tutunma yüzdesi yüksek olan izolatların bariyer direncini aynı oranda arttıracakları düşünülmektedir. Ancak, bakteri hücresinin boyutu ve tutunma yüzdesi birlikte düşünülmektedir. Bu çalışmada yer alan *Ent. faecium* A25 suşu en yüksek tutunma değerine sahipken 6 saat sonundaki bariyer direnci *Leu. pseudomesenteroides* D112'den daha düşüktür. Bu durumun *Ent. faecium* suşunun hücre boyutunun *Leu. pseudomesenteroides* suşundan daha küçük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.5.5. Kısa zincirli yağ asitleri

Vücutta sağladığı faydalı etkilerden dolayı KZYA'lerinin biyolojik açıdan oldukça fonksiyonel özelliklere sahip olduğunu bildirilmektedir (Figuerola et al., 2021). Bu tez çalışmasında, izolatların KZYA üretme yetenekleri değerlendirilmeden önce tutunma ve kolonizasyon testleri gerçekleştirilmiş, bu testlerden elde edilen sonuçlara göre en iyi tutunma ve oto-agregasyon değerine sahip izolatlar KZYA analizine alınmıştır. Kontrol örneği olarak ticari probiyotik suşlar karışık olarak (*L. acidophilus* LA-5, *B. lactis* BB-12 ve *La. rhamnosus* GG, (1:1:1)) kullanılmıştır.. Analiz kapsamında izolatların ürettikleri asetat, bütirat ve propiyonat analitlerinin miktarı belirlenmiştir. İzolatların gelişimini sağlamak amacıyla besi ortamına prebiyotik kaynak olarak inülin ilave edilmiş ve inkübasyon anaerobik şartlarda 18 saat olarak uygulanmıştır.

Ent. faecium C90 ve *P. acidilactici* G3'ün sırasıyla 17715.445 ± 5.805 µg/mL ve 17668.195 ± 29.055 µg/mL konsantrasyonlarında asetat ürettiği ve bu miktarların kontrolle kıyaslandığında daha yüksek olduğu ($p < 0.05$) belirlenmiştir (Çizelge 4.14). Bütirat analitini en fazla üreten izolatın *Lac. plantarum* G53 (0.1110 ± 0.0000 µg/mL) olduğu, bu anlamda kontrol ile istatistiksel açıdan benzerlik gösterdiği ($p > 0.05$) tespit edilmiştir. Propiyonat analitinin ise

22650.080±147.135 µg/mL ile yine *Lac. plantarum* G53 tarafından üretildiği ve bu miktarın kontrolden daha yüksek olduğu ($p<0.05$) tespit edilmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14 İzolatların KZYA üretim kapasiteleri.

İzolat kodu	Asetat (µg/mL)	Bütirat (µg/mL)	Propiyonat (µg/mL)
A25	16496.550 ±15.980 ^a	0.0785 ±0.0007 ^a	14335.515 ±27.697 ^a
C90	17715.445 ±5.805^b	0.0710 ±0.0028 ^a	21986.680 ±109.050 ^b
G3	17668.195 ±29.055^b	0.0825 ±0.0035 ^a	21011.160 ±173.100 ^c
D112	16804.395 ±13.074 ^c	0.0580 ±0.0057 ^b	21319.605 ±41.543 ^c
G53	11945.110 ±40.673 ^d	0.1110 ±0.0000^d	22650.080 ±147.135^d
Probiyotik mix kültür	13249.545 ±52.291 ^e	0.1185 ±0.0021 ^d	21164.155 ±36.352 ^c

Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfler (a, b, c, d, e) istatistiksel farklılığı ($p<0.05$) ifade etmektedir.

Yapılan bir çalışmada, Canastra peynirinden izole edilen 11 adet *Kluyveromyces lactis* suşunun *in vitro* kısa zincirli yağ asidi üretim potansiyeli incelenmiştir. Kültürler %2 pepton, %1 maya ekstraktı ve %2 ticari prebiyotik (Tamarine fibers®) içeren ortamda anaerobik şartlarda 37°C’de 24 sa inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak ticari probiyotik kültür karışımı (Probiatop®, *L. paracasei*, *La. rhamnosus*, *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium lactis*) kullanılmıştır. 24 saatlik inkübasyon sonunda *K. lactis* suşları en yüksek 8.76 mmol asetat/L (517.19 µg/mL), 0.13 mmol bütirat/L (11.45 µg/mL) ve 0.26 mmol propiyonat/L (19.26 µg/mL) oranında KZYA üretirken kontrol grubu 310.81 mmol asetat/L (18350.22 µg/mL), 0.25 mmol bütirat/L (22.03 µg/mL) ve 0.52 mmol propiyonat/L (38.52 µg/mL) oranında KZYA üretmiştir (Oliveira et al., 2019). Hindistan’a özgü pirinç bazlı fermente ürünlerden izole edilen *Lactobacillus* izolatlarının KZYA üretiminin incelendiği bir çalışmada, kültürler 10 mL süt tozu besiyerinde 37°C’de 24 sa inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrası sıvı kültürden 5 mL alınıp üzerine 45 mL su ilave edilmiş ve vortekslendikten sonra oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir (Hati et al., 2019). Karışım Whatman no 42’den ve ardından 0.45 µm şırınga ucu filtreden geçirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre izolatların en yüksek 15.41 µg asetat/mL, 5.18 µg laktat/mL ve 0.16 µg bütirat/mL oranlarında KZYA ürettikleri bildirilmiştir (Hati et al., 2019).

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen veriler değerlendirildiğinde literatürde tarhanadan izole edilen LAB’lerinin ürettikleri KZYA ile karşılaştırıldıklarında, bu çalışma

kapsamında incelenen izolatların asetat ve propiyonat açısından daha yüksek, bütirat açısından ise daha düşük üretim gerçekleştirdiği görülmüştür. Analizde kullanılan geliştirme ortamı, kullanılan pozitif kontrol (farklı ticari probiyotikler), kültürün bakteri ya da maya olması gibi faktörlerin analiz sonuçlarını değiştirdiği görülmektedir.





5. SONUÇ

Test edilen LAB izolatlarının yüksek asidik ortamlarda canlılıklarına bakıldığında *L. bulgaricus* B70, *Lac. plantarum* G62, *Lac. paraplantarum* C65 ve D99, *La. casei* D53, *Leu. citreum* A15 ve C38, *Leu. pseudomeseteroides* D112, *Ent. faecium* B42, C90 ve F8, *P. acidilactici* B78, B97, C24, G3 ve G65, *P. pentosaceus* G47, *Str. thermophilus* A40, E40, F18 ve F9, *W. cibaria* F25 suşlarının pH 2, 3 ve 4 değerlerinde canlı kaldığı, aynı izolatların %0.3 ve %1.0 safra tuzları, pepsin ve pankreatin ve %0.4 fenol varlığında da canlı kaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 5.1). Sonuç olarak zorlu ortam koşullarında canlılığını koruduğu belirlenen söz konusu izolatların kalın bağırsağa ulaşabileceği ortaya koyulmuştur.

Çizelge 5.1 İzolatların zorlu ortam koşullarında canlılıkları.

İzolat kodu	pH			Safra varlığında		Enzim varlığında		%0.4 Fenol varlığında
	2	3	4	0.3	1.0	Pepsin	Pankreatin	
A25	-	-	-	112.60	91.24	76.83	90.13	95.44
B112	-	-	-	103.31	96.31	97.46	96.60	99.41
C40	-	-	-	83.78	93.56	126.52	97.77	99.64
B44	-	-	-	105.12	108.10	99.60	79.97	99.06
C65	+	+	+	105.41	114.27	65.27	104.97	94.40
B42	+	+	+	103.18	98.60	73.23	89.76	104.55
D99	+	+	+	100.87	101.84	81.35	95.95	102.47
G65	+	+	+	98.66	110.82	79.07	96.89	105.23
G53	-	-	+	96.23	99.31	99.65	89.13	97.50
G62	+	+	+	104.49	113.07	89.81	104.38	108.47
B97	+	+	+	97.94	98.33	81.09	73.52	110.77
C38	+	+	+	94.91	101.07	72.28	93.44	103.83
C90	+	+	+	100.09	96.33	96.73	72.66	113.44
G3	+	+	+	95.52	102.60	89.26	92.73	115.81
B70	+	+	+	109.57	96.11	98.99	85.25	113.46
B78	+	+	+	88.13	97.97	80.00	96.82	67.70
C24	+	+	+	98.69	100.96	77.75	86.51	108.94
E40	+	+	+	98.81	96.40	95.16	90.52	105.16

Çizelge 5.1 İzolatların zorlu ortam koşullarında canlılıkları ve gelişimleri (devamı).

İzolat kodu	pH			Safra varlığında		Enzim varlığında		%0.4 Fenol varlığında
	2	3	4	0.3	1.0	Pepsin	Pankreatin	
F25	+	+	+	95.43	97.65	125.74	95.59	102.96
G47	+	+	+	97.45	101.04	89.20	97.38	108.27
D112	+	+	+	102.28	98.62	90.91	93.50	101.23
D68	-	-	+	97.65	96.94	71.27	81.24	109.19
A15	+	+	+	104.94	115.30	66.72	104.82	90.03
A40	+	+	+	107.39	98.70	71.20	102.02	98.71
D53	+	+	+	99.29	105.69	105.07	106.15	96.38
F18	+	+	+	104.94	108.55	76.05	101.48	76.35
F8	+	+	+	107.85	99.25	76.25	104.65	91.99
F9	+	+	+	106.24	107.19	76.93	104.91	90.80
A33	-	-	-	87.80	96.85	0.00	90.83	100.93
D30	-	-	+	99.58	94.94	84.98	93.21	107.95

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak değerlendirilebilmesi için biyogüvenlik testlerinden geçebilmesi, antibiyotik duyarlılığının ve hemolitik aktivitesinin olup olmadığının belirlenmesi gerekmektedir. Test edilen izolatlardan *L. bulgaricus* B70, *Lac. plantarum* G62, *Lac. paraplantarum* D99, *Leu. citreum* A15 ve C38, *Leu. pseudomesenteroides* D112, *Lim. fermentum* A33 ve C40, *Ent. faecium* A25 ve B42, *P. acidilactici* B78, B97, D68 ve G3, *Str. thermophilus* E40, F18 ve F9, *W. cibaria* D30 suşlarının kloramfenikol, eritromisin, kanamisin, ampisilin ve tetramisine karşı duyarlı olduğu, ancak *Ent. faecium* B42 ve *Lac. paraplantarum* D99 suşlarının β düzeyinde hemolitik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 5.2). Sonuç olarak test edilen izolatlardan antibiyotiklere duyarlı ve hemolitik aktivitesi olmayan söz konusu suşların biyogüvenlik açısından risk teşkil etmediği görülmektedir.

Çizelge 5.2 İzolatların biyogüvenlik özellikleri.

İzolat kodu	Antibiyotik duyarlılığı (mm)					Hemolitik aktivite
	Kl.	E.	K.	A.	T.	
A25	28	24	10	20	18	γ
B112	24	24	6	36	18	γ
C40	24	24	10	6	18	γ
B44	26	20	6	14	14	γ
C65	6	20	6	6	6	γ
B42	28	12	8	28	28	β
D99	30	12	10	30	32	β
G65	6	14	8	6	6	β
G53	24	22	6	22	14	γ
G62	26	24	8	38	24	γ
B97	28	12	8	32	30	γ
C38	28	10	8	32	28	γ
C90	26	22	6	28	14	γ
G3	24	26	8	24	8	γ
B70	32	24	8	22	16	γ
B78	26	24	8	30	20	γ
C24	6	22	6	6	20	γ
E40	22	22	8	14	14	γ
F25	28	26	6	18	18	γ
G47	30	24	6	24	18	γ
D112	28	12	10	30	32	γ
D68	28	10	8	32	30	γ
A15	28	26	8	22	16	γ
A40	30	26	6	20	20	γ
D53	22	18	6	30	16	γ
F18	26	22	8	24	18	γ
F8	28	26	6	18	14	γ
F9	26	20	8	22	14	γ
A33	26	10	8	24	24	γ
D30	28	12	10	32	30	γ

Kl: kloramfenikol, E: eritromisin, K: kanamisin, A: ampisilin, T: tetramisin. Disk çapı 6 mm.

γ: hemoliz yok, β: 1.dereceden hemoliz.

Teknolojik açıdan kullanılabilirliğinin belirlenmesi amacıyla izolatlara proteolitik ve β -galaktosidaz enzim aktivitesi ve yüksek tuz konsantrasyonunda canlılık testleri uygulanmıştır. Protein içeren ortamlarda (süt, et, vb.) fermentasyon işleminde ve/veya depolama sürecinde enzimatik reaksiyon sonucu kalite kusurlarına yol açması nedeniyle proteolitik enzim aktivitesi probiyotiklerde genellikle istenmeyen bir özelliktir (sadece bazı fermente et ürünlerinde lezzet oluşumuna katkısından dolayı belirli bir düzeyde istenmektedir). Tirozin amino asidi cinsinden ifade edilen aktivite sonuçları 0.050 mg tirozin/mL değerinin altında kalan izolatların bu tip ürünlerde kullanılabileceği belirtilmekte olduğundan (Özkalp ve Akçelik, 2006), bu çalışma kapsamında test edilen izolatlar içerisinde *L. bulgaricus* B112 ve B70, *La. casei* D53, *Lac. plantarum* G62, *Lac. paraplantarum* C65 ve D99, *Leu citreum* C38, *Leu. pseudomesenteroides* D112, *Lim. fermentum* A33, *Ent. faecium* B42, C90 ve F8, *P. acidilactici* B78, B97, C24, G3 ve G65, *Str. thermophilus* A40, E40 ve F9, *W. cibaria* D30'un bu anlamda kullanım potansiyelinin olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 5.3).

İzolatların süt bazlı fermente ürünler açısından kullanımı incelendiğinde *Lim. fermentum* C40, *Ent. faecium* B42, *Lac. paraplantarum* D99, *P. acidilactici* G65, *Leu citreum* C38, *P. acidilactici* B78, *Leu. pseudomesenteroides* D112, ve *Str. thermophilus* F9 suşlarının β -galaktosidaz aktivitesi gösterdiği ve bu tip ürünlerde kullanılabileceği tespit edilmiştir (Çizelge 5.3).

Yüksek oranda tuz içeren fermente ürünlerde (turşu vb.) starter olarak kullanım potansiyeli, canlılıkları incelenen LAB izolatlarından *Ent. faecium* A25, *L. bulgaricus* B112, *Lim. fermentum* C40 ve A33, *P. pentosaceus* B44, *P. acidilactici* B78 ve D68, *W. cibaria* D30'un sadece %1.5 oranında tuz içeren ürünlerde, diğer izolatların ise %10'a kadar tüm oranlarda tuz içeren ürünlerde kullanılabileceği belirlenmiştir (Çizelge 5.3).

Çizelge 5.3 İzolatların teknolojik özellikleri.

İzolat kodu	Proteolitik aktivite (mg tirozin/mL)	β -Galaktosidaz aktivite	Tuz konsantrasyonu (%) - canlılık	
			1.5	10
A25	0.056	-	+	-
B112	0.046	-	+	-
C40	0.067	+	+	-
B44	0.076	-	+	-
C65	0.045	-	+	+
B42	0.031	+	+	+
D99	0.046	+	+	+
G65	0.027	+	+	+
G53	0.051	-	+	+
G62	0.038	-	+	+
B97	0.031	-	+	+
C38	0.048	++	+	+
C90	0.028	-	+	+
G3	0.036	-	+	+
B70	0.048	-	+	+
B78	0.044	+	+	-
C24	0.034	-	+	+
E40	0.033	-	+	+
F25	0.055	-	+	+
G47	0.053	-	+	+
D112	0.023	+	+	+
D68	0.059	-	+	-
A15	0.059	-	+	+
A40	0.035	-	+	+
D53	0.011	-	+	+
F18	0.065	-	+	+
F8	0.036	-	+	+
F9	0.035	+	+	+
A33	0.043	-	+	-
D30	0.039	-	+	-

Tarhanadan izole edilen LAB'lerinin %5.62-31.08 arasında DPPH indirgeme aktivitesinin olduğu, yer aldığı ürünlerde ve/veya ortamlarda (insan vücudu) farklı düzeylerde antioksidan aktivite sergileyeceği sonucuna varılmıştır (Çizelge 5.4).

Çizelge 5.4 İzolatların biyoaktif etkileri ve ürettikleri KZYA'leri.

İzolat kodu	Antioksidan aktivite (%DPPH indirgeme)	Antimikrobiyal aktivite (mm)							KZYA (µg/mL)		
		<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>Li. monocytogenes</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ba. subtilis</i>	Asetat	Bütirat	Propiyonat
A25	20.64	17	13	11	12	7	12	11	16496.550	0.0785	14335.515
B112	17.77	17	18	18	18	15	18	18			
C40	22.64	20	18	15	18	16	16	18			
B44	14.16	18	15	14	12	9	16	14			
C65	22.55	18	15	14	12	9	16	14			
B42	14.59	23	22	17	17	16	13	16			
D99	16.31	22	14	17	16	15	12	16			
G65	31.08	18	15	14	12	9	16	14			
G53	18.70	17	18	16	15	13	16	16	11945.110	0.1110	22650.080
G62	5.62	20	16	15	21	13	19	17			
B97	18.77	26	17	19	20	15	22	20			
C38	19.19	22	16	16	14	16	12	16			
C90	14.79	21	20	20	15	17	15	15	17715.445	0.0710	21986.680
G3	17.93	17	16	15	16	15	13	16	17668.195	0.0825	21011.160
B70	17.27	20	18	17	20	15	18	16			
B78	18.03	20	22	17	18	19	13	16			
C24	12.17	20	19	18	18	17	18	18			
E40	22.32	19	16	18	14	15	13	16			
F25	26.73	18	17	19	16	17	17	20			
G47	26.15	19	17	17	16	18	17	18			
D112	15.19	30	16	14	16	10	14	15	16804.395	0.0580	21319.605

Çizelge 5.4 İzolatların biyoaktif etkileri ve ürettikleri KZYA'leri (devamı).

İzolat kodu	Antioksidan aktivite (%DPPH indirgeme)	Antimikrobiyal aktivite (mm)							KZYA (µg/mL)		
		<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. coli</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>Li. monocytogenes</i>	<i>St. aureus</i>	<i>Ent. faecalis</i>	<i>Ba. subtilis</i>	Asetat	Bütirat	Propiyonat
D68	8.08	24	15	19	20	15	20	17			
A15	14.25	16	17	16	15	15	16	18			
A40	14.26	17	16	14	20	16	20	17			
D53	13.63	17	17	14	17	19	20	16			
F18	12.12	15	21	20	21	15	15	18			
F8	13.11	22	16	19	18	13	16	17			
F9	14.54	18	16	19	19	13	17	18			
A33	11.16	20	19	20	17	16	13	17			
D30	13.31	20	16	17	16	14	12	16			

Çalışmada, izolatların antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi amacıyla *Ba. subtilis* ATCC 6037, *Ent. faecalis* ATCC 29212, *Li. monocytogenes* Scott A, *St. aureus* 6538P, *E. coli* ATCC 1103, *E. coli* O157:H7 ATCC 43895 ve *S. Typhimurium* NRRLB 4420 kültürleri indikatör olarak kullanılmış ve agar difüzyon yöntemine göre tüm bakteriler üzerine antimikrobiyal etkisi olan izolatların *Lac. paraplantarum* D99, *Leu. pseudomesenteroides* D112 ve *Lim. fermentum* A33 olduğu, diğer izolatların ise farklı oranlarda etkili olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal etkisi indikatör bazında yüksek olan suşların, gıda güvenliğini sağlama ve/veya insan mikrobiyotasında patojenler üzerine inhibisyon etkisi gösterme açısından fayda sağlayacağı düşünülmektedir (Çizelge 5.4).

Başta antikanserojenik etki olmak üzere sağlık üzerine birçok fayda sağlayan KZYA'lerinin tarhanadan izole edilen LAB'leri tarafından üretilme durumlarının incelenmesinden önce bakteriyel tutunma ve oto-agregasyon testleri (Çizelge 5.5) gerçekleştirilmiş ve istatistiksel olarak farklı en yüksek tutunma ve oto-agregasyon değerine sahip izolatlar seçilmiştir. KZYA'lerinin kolonda anaerobik ortamda fermentasyon sonucu

açığa çıkan bileşikler olduğu ve ortama kolonize olan, tutunabilen mikrobiyota tarafından üretildiği göz önünde bulundurularak bu yola gidilmiştir. Sonuç olarak seçilen izolatların kontrol grubu probiyotiklere (*L. acidophilus* LA-5, *B. lactis* BB-12 ve *La. rhamnosus* GG) yakın miktarlarda asetat, bütirat ve propiyonat metaolitlerini ürettiği, *Leu. pseudomesenteroides* D112, *Ent. faecium* A25 ve C90, *P. acidilactici* G3 suşlarının kontrol grubundan daha yüksek asetat üretimine sahip olduğu, *Ent. faecium* C90 ve *Lac. plantarum* G53 suşlarının ise propiyonat açısından kontrol grubundan daha yüksek üretime sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5.4). Söz konusu 5 izolatın (*Lac. plantarum* G53, *Leu. pseudomesenteroides* D112, *Ent. faecium* A25 ve C90, *P. acidilactici* G3) antibiyotik duyarlılığının yüksek olması, hemolitik aktivite sergilememesi, neredeyse hepsinin (sadece A25 düşük pH değerinde gelişim göstermemiştir) zorlu ortam koşullarında canlılığını sürdürebilmesi sayesinde fermente ürünlerde starter olarak kullanılması durumunda probiyotik olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, düşük pH değerlerinde canlı kalamayan *Ent. faecium* A25 suşu mikrokapsüle edilerek kullanılabilecektir.

Bu tez çalışmasından elde edilen veriler genel olarak değerlendirildiğinde, uygulanan zorlu ortam koşullarında gelişim (düşük pH değerinde, pepsin ve pankreatin ve %0.4 fenol varlığında gelişim), biyogüvenlik (antibiyotiklere karşı direnç, hemolitik aktivite), teknolojik özellikler (proteolitik enzim aktivitesi, β -galaktosidaz enzim aktivitesi, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim), metabolitler ve biyoaktif etkiler (antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite, BSH aktivitesi) ve *in vitro* bakteriyel tutunma, kolonizasyon ve KZYA üretimi (oto-agregasyon, co-agregasyon, hücre yüzey hidrofobisitesi, bakteriyel tutunma, KZYA, epitelyal bariyer direncine ve geçirgenliğine etki) testlerinin tümünde (5 izolat arasından TEER değeri başlangıç direnç değerinin üzerine çıkan tek izolat) iyi sonuç veren *Leu. pseudomesenteroides* D112 suşunun, probiyotik olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abbas Ahmadi, M., Tajabadi Ebrahimi, M., Mehrabian, S., Tafvizi, F., Bahrami, H. and Dameshghian, M.**, 2014, Antimutagenic and anticancer effects of lactic acid bacteria isolated from Tarhana through Ames test and phylogenetic analysis by 16S rDNA, *Nutrition and cancer*, 66(8):1406-1413.
- Abouloifa, H., Rokni, Y., Bellaouchi, R., Ghabbour, N., Karboune, S., Brasca, M., Ben Salah, R., Chihib, N.E., Saalaoui, E. and Asehraou, A.**, 2019, Characterization of probiotic properties of antifungal *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermenting green olives, *Probiotics and antimicrobial proteins*, 1-14.
- Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N.P. and Ayyash, M.**, 2017, Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk, *LWT-Food Science and Technology*, 79, 316-325.
- Acharya, M.R. and Shah, R.K.**, 2002, Selection of human isolates of Bifidobacteria for their use as probiotics, *Applied biochemistry and biotechnology*, 102(1-6):81-98.
- Adnan, A.F.M. and Tan, I.K.**, 2007, Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential, *Bioresource technology*, 98(7):1380-1385.
- Agerholm-Larsen, L., Bell, M.L., Grunwald, G.K. and Astrup, A.**, 2000, The effect of a probiotic milk product on plasma cholesterol: a meta-analysis of short-term intervention studies, *European Journal of Clinical Nutrition*, 54(11):856-860.
- Ajayeoba, T.A. and Ijabadeniyi, O.A.**, 2019, Characterization and antioxidant ability of potential probiotic lactic acid bacteria in ogi liquor and lemon juice-ogi liquor, *Annals of Microbiology*, 69(7):777-786.
- Aka, S., Dridi, B., Bolotin, A., Yapó, E.A., Koussemon-Camara, M., Bonfoh, B. and Renault, P.**, 2020, Characterization of lactic acid bacteria isolated from a traditional Ivorian beer process to develop starter cultures for safe sorghum-based beverages, *International Journal of Food Microbiology*, 322, 108547.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Akan, S. and Ocak, Ö.Ö.**, 2019, Evaluation of storage time and grape seed extract addition on biogenic amines content of tarhana: A cereal-based fermented food, *LWT*, 111, 861-868.
- Akman, E.**, 2009, Bazı laktik asit bakterilerinin probiyotik özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 63.
- Al Kassaa, I., Hober, D., Hamze, M., Chihib, N.E. and Drider, D.**, 2014, Antiviral potential of lactic acid bacteria and their bacteriocins, *Probiotics and antimicrobial proteins*, 6(3-4):177-185.
- Albano, C., Morandi, S., Silvetti, T., Casiraghi, M.C., Manini, F. and Brasca, M.**, 2018, Lactic acid bacteria with cholesterol-lowering properties for dairy applications: *In vitro* and in situ activity, *Journal of dairy science*, 101(12):10807-10818.
- AlKalbani, N.S., Turner, M.S. and Ayyash, M.M.**, 2019, Isolation, identification, and potential probiotic characterization of isolated lactic acid bacteria and *in vitro* investigation of the cytotoxicity, antioxidant, and antidiabetic activities in fermented sausage, *Microbial cell factories*, 18(1):188.
- Al-Marzooq, F., Al Bayat, S., Sayyar, F., Ishaq, H., Nasralla, H., Koutaich, R. and Al Kawas, S.**, 2018, Can probiotic cleaning solutions replace chemical disinfectants in dental clinics?, *European journal of dentistry*, 12(4):532.
- Alonso, S., Castro, M. C., Berdasco, M., de la Banda, I.G., Moreno-Ventas, X. and de Rojas, A.H.**, 2019, Isolation and partial characterization of lactic acid bacteria from the gut microbiota of marine fishes for potential application as probiotics in aquaculture, *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(2):569-579.
- Angelov, A., Gotcheva, V., Kunchewa, R. and Hristozova, T.**, 2006, Development of a new oat-based probiotic drink, *International journal of food microbiology*, 112(1):75-80.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Anonim., 2004, TS 2282:2004 Tarhana Standardı, Türk Standartları Enstitüsü.

Argyri, A.A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K.A.G., Tsakalidou, E., Nychas, G.J.E., Panagou, E.Z. and Tassou, C.C., 2013, Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by *in vitro* tests, *Food microbiology*, 33(2):282-291.

Arslan-Tontul, S., Mutlu, C., Candal, C. and Erbaş, M., 2018, Microbiological and chemical properties of wet tarhana produced by different dairy products, *Journal of food science and technology*, 55(12):4770-4781.

Ateş, K., 2019, Tarhana Örneklerinden Laktik asit bakterilerin izolasyonu ve bazı probiyotik özelliklerinin karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Aydın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 66 s.

Ayyash, M., Abu-Jdayil, B., Itsaranuwat, P., Galiwango, E., Tamiello-Rosa, C., Abdullah, H., Espasito, G., Hunashal, Y., Obaid, R.S. and Hamed, F., 2020, Characterization, bioactivities, and rheological properties of exopolysaccharide produced by novel probiotic *Lactobacillus plantarum* C70 isolated from camel milk, *International journal of biological macromolecules*, 144, 938-946.

Azat, R., Liu, Y., Li, W., Kayir, A., Lin, D.B., Zhou, W.W. and Zheng, X.D., 2016, Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese, *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 17(8):597-609.

Bajic, S.S.S., Mihajlovic, S.B., Radojevic, D.D., Popovic, D.D., Djokic, J.M., Stanisavljevic, S.M., Lazarevic, M.N., Miljkovic, D.M., Ruas-Madiedo, P., Golic, N.E. and Tolinacki, M.S., 2020a, Characterization of pH resistance and the proteolytic activity of GABA producing *Lactobacillus brevis* BGZLS10-17 in preparation of fermented milk beverage and the effects on the symptoms of the experimental autoimmune encephalomyelitis, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 85(2):163-176.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bajic, S.S., Đokić, J., Dinić, M., Tomić, S., Popović, N., Brdarić, E., Golić, N. and Tolinački, M.**, 2020b, GABA potentiate the immunoregulatory effects of *Lactobacillus brevis* BGZLS10-17 via ATG5-dependent autophagy *in vitro*, *Scientific reports*, 10(1):1-13.
- Bajpai, V.K., Rather, I. A., Majumder, R., Shukla, S., Aeron, A., Kim, K., Kang, S.C., Dubey, R.C., Maheshwari, D.K., Lim, J. and Park, Y.H.**, 2016, Exopolysaccharide and lactic acid bacteria: Perception, functionality and prospects, *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11(1):1-23.
- Baruah, R., Das, D. and Goyal, A.**, 2016, Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria: current trends and applications, *J Prob Health*, 4(141):2.
- Ben-Harb, S., Saint-Eve, A., Panouillé, M., Souchon, I., Bonnarme, P., Dugat-Bony, E. and Irlinger, F.**, 2019, Design of microbial consortia for the fermentation of pea-protein-enriched emulsions, *International journal of food microbiology*, 293, 124-136.
- Benítez-Cabello, A., Calero-Delgado, B., Rodríguez-Gómez, F., Bautista-Gallego, J., Garrido-Fernández, A., Jiménez-Díaz, R. and Arroyo-López, F.N.**, 2020, The use of multifunctional yeast-lactobacilli starter cultures improves fermentation performance of Spanish-style green table olives, *Food Microbiology*, 103497.
- Bilgiçli, N. and Elgün, A.**, 2005, Changes in some physical and nutritional properties of tarhana, a Turkish fermented cereal food, added various phytase sources, *Food science and technology international*, 11(5):383-389.
- Bilgiçli, N., Elgün, A. and Türker, S.**, 2006, Effects of various phytase sources on phytic acid content, mineral extractability and protein digestibility of tarhana, *Food chemistry*, 98(2):329-337.
- Bilgiçli, N., Elgün, A., Herken, E.N., Ertas, N. and İbanoglu, Ş.**, 2006, Effect of wheat germ/bran addition on the chemical, nutritional and sensory quality of tarhana, a fermented wheat flour-yoghurt product, *Journal of Food Engineering*, 77(3):680-686.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bin Masalam, M.S., Bahieldin, A., Alharbi, M.G., Al-Masaudi, S., Al-Jaouni, S.K., Harakeh, S.M. and Al-Hindi, R.R.**, 2018, Isolation, molecular characterization and probiotic potential of lactic acid bacteria in Saudi raw and fermented milk, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.
- Biolcati, F., Andrighetto, C., Bottero, M.T. and Dalmaso, A.**, 2020, Microbial characterization of an artisanal production of Robiola di Roccaverano cheese, *Journal of Dairy Science*.
- Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D. and Webb, C.**, 2003, Cereal-based fermented foods and beverages, *Food research international*, 36(6):527-543.
- Boricha, A.A., Shekh, S.L., Pithva, S.P., Ambalam, P.S. and Vyas, B.R.M.**, 2019, *In vitro* evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* species of food and human origin, *LWT*, 106, 201-208.
- Bridier, A., Sanchez-Vizuet, P., Guilbaud, M., Piard, J.C., Naitali, M. and Briandet, R.**, 2015, Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens, *Food microbiology*, 45, 167-178.
- Burton, J.P., Chilcott, C.N., Moore, C.J., Speiser, G. and Tagg, J.R.**, 2006, A preliminary study of the effect of probiotic *Streptococcus salivarius* K12 on oral malodour parameters, *Journal of applied microbiology*, 100(4):754-764.
- Carafa, I., Navarro, I.C., Bittante, G., Tagliapietra, F., Gallo, L., Tuohy, K. and Franciosi, E.**, 2020, Shift in the cow milk microbiota during alpine pasture as analyzed by culture dependent and high-throughput sequencing techniques, *Food Microbiology*, 103504.
- Cebeci, A., Polat, M.F. and Çalış, B.**, 2020, Isolation of Lactic Acid Bacteria from Tarhana, *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8(1):51-59.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chatenoud, L., La Vecchia, C., Franceschi, S., Tavani, A., Jacobs Jr, D.R., Parpinel, M.T., Soler, M. and Negri, E.**, 1999, Refined-cereal intake and risk of selected cancers in Italy, *The American journal of clinical nutrition*, 70(6):1107-1110.
- Chatenoud, L., Tavani, A., La Vecchia, C., Jacobs Jr, D.R., Negri, E., Levi, F., and Franceschi, S.**, 1998, Whole grain food intake and cancer risk, *International journal of cancer*, 77(1):24-28.
- Chavan, J.K., Kadam, S.S. and Beuchat, L.R.**, 1989, Nutritional improvement of cereals by fermentation, *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 28(5):349-400.
- Chelliah, R., Saravanakumar, K., Daliri, E.B.M., Kim, J.H., Lee, J.K., Jo, H.Y., Kim, S.H., Ramakrishnan, S.R., Madar, I.H., Wei, S., Rubab, M., Barathikannan, K., Ofofu, F.K., Subin, H., Eun-ji, P., Yeong, J.D., Elahi, F., Wang, M.H., Park, J.H., Ahn, J., Kim, D.H., Park, S.J. and Oh, D.H.**, 2020, Unveiling the potentials of bacteriocin (Pediocin L50) from *Pediococcus acidilactici* with antagonist spectrum in a *Caenorhabditis elegans* model, *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 555-572.
- Chen, Y.P., Hsiao, P.J., Hong, W.S., Dai, T.Y. and Chen, M.J.**, 2012, *Lactobacillus kefiranoferiens* M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis *in vitro* and *in vivo*, *Journal of dairy science*, 95(1):63-74.
- Choi, W.J., Dong, H.J., Jeong, H.U., Ryu, D.W., Song, S.M., Kim, Y.R., Jung, H.H., Kim, T.H. and Kim, Y.H.**, 2020, *Lactobacillus plantarum* LMT1-48 exerts anti-obesity effect in high-fat diet-induced obese mice by regulating expression of lipogenic genes, *Scientific reports*, 10(1):1-9.
- Chytiri, A., Tasioula-Margari, M., Bleve, G., Kontogianni, V.G., Kallimanis, A. and Kontominas, M.G.**, 2020, Effect of different inoculation strategies of selected yeast and LAB cultures on Conservolea and Kalamata table olives considering phenol content, texture, and sensory attributes, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(3):926-935.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cildir, S.K., Germec, D., Sandalli, N., Ozdemir, F.I., Arun, T., Twetman, S. and Caglar, E.**, 2009, Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria, *The European Journal of Orthodontics*, 31(4):407-411.
- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F. and Chikindas, M.L.**, 2001, Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation, *International journal of food microbiology*, 71(1):1-20.
- Coleman, A. and Cervin, A.**, 2019, Probiotics in the treatment of otitis media. The past, the present and the future, *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 116, 135-140.
- Collado, M.C., Meriluoto, J. and Salminen, S.**, 2008, Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains, *European food research and technology*, 226(5):1065-1073.
- Coskun, F.**, 2019, Microbiological Quality and sensory properties of tarhanas produced by addition *Saccharomyces cerevisiae* and sourdough as starter culture after different fermentation periods, *Asian Food Science Journal*, 1-8.
- Costerton, J.W.**, 1995, Overview of microbial biofilms, *Journal of industrial microbiology*, 15(3):137-140.
- da Silva, L.A., Neto, J.H.P.L. and Cardarelli, H.R.**, 2019, Safety and probiotic functionality of isolated goat milk lactic acid bacteria, *Annals of Microbiology*, 69(13):1497-1505.
- Daglioğlu, O.**, 2000, Tarhana as a traditional Turkish fermented cereal food. Its recipe, production and composition, *Food/Nahrung*, 44(2):85-88.
- Daly, C., Fitzgerald, G.F., O'Connor, L. and Davis, R.**, 1998, Technological and health benefits of dairy starter cultures, *International Dairy Journal*, 8(3):195-205.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- de Almeida, G.M., Mendonça, C.M.N., Converti, A. and de Souza Oliveira, R.P.,** 2020, Kinetic and thermodynamic parameters of nisin thermoinactivation, *Journal of Food Engineering*, 280, 109986.
- de Souza Rodrigues, J.Z., Passos, M.R., de Macêdo Neres, N.S., Almeida, R.S., Pita, L.S., Santos, I.A. and Lima, B.O.,** 2020, Antimicrobial activity of *Lactobacillus fermentum* TcUESC01 against *Streptococcus mutans* UA159, *Microbial Pathogenesis*, 142, 104063.
- De Vuyst, L.,** 2000, Technology aspects related to the application of functional starter cultures, *Food Technology and Biotechnology*, 38(2):105-112.
- De Vuyst, L. and Degeest, B.,** 1999, Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria, *FEMS microbiology reviews*, 23(2):153-177.
- De Vuyst, L. and Leroy, F.,** 2007, Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications, *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 13(4):194-199.
- Değirmencioglu, N., Göçmen, D., Dağdelen, A. and Dağdelen, F.,** 2005, Influence of tarhana herb (*Echinophora sibthorpiana*) on fermentation of tarhana, Turkish traditional fermented food, *Food Technol. Biotechnol*, 43(2):175-179.
- den Besten, G., van Eunen, K., Groen, A. K., Venema, K., Reijngoud, D.J. and Bakker, B.M.,** 2013, The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism, *Journal of lipid research*, 54(9):2325-2340.
- Dincer, E. and Kivanc, M.,** 2019, Characterization of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Turkish pastırma and possibility to use of food industry, *Food Science and Technology*, 40(2): 498-507.
- Doğan, M.,** 2017. Bazı gıdalardan izole edilen bakterilerin probiyotik özelliklerinin araştırılması, Doktora Tezi, İstanbul Aydın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 164 Sayfa.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Donnet-Hughes, A., Rochat, F., Serrant, P., Aeschlimann, J.M. and Schiffrin, E.J.,** 1999, Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: effective dose, *Journal of Dairy Science*, 82(5):863-869.
- Dorau, R., Chen, L., Liu, J., Jensen, P.R. and Solem, C.,** 2019, Efficient production of α -acetolactate by whole cell catalytic transformation of fermentation-derived pyruvate, *Microbial Cell Factories*, 18(1):217.
- Dos Santos, K.M.O., de Matos, C.R., Salles, H.O., de Melo Franco, B.D.G., Arellano, K., Holzapfel, W.H. and Todorov, S.D.,** 2020, Exploring Beneficial/Virulence Properties of Two Dairy-Related Strains of *Streptococcus infantarius* subsp. *infantarius*, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-18.
- Duary, R.K., Bhausheb, M.A., Batish, V.K. and Grover, S.,** 2012, Anti-inflammatory and immunomodulatory efficacy of indigenous probiotic *Lactobacillus plantarum* Lp91 in colitis mouse model, *Molecular biology reports*, 39(4):4765-4775.
- Dündar, H.,** 2006, Characterization and purification of a bacteriocin produced by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*. Middle East Technical University, Department of Biotechnology, Ph. D. Thesis, Ankara, 195.
- El-Gawad, I.A.A., El-Sayed, E.M., Hafez, S.A., El-Zeini, H.M. and Saleh, F.A.,** 2005, The hypocholesterolaemic effect of milk yoghurt and soy-yoghurt containing bifidobacteria in rats fed on a cholesterol-enriched diet, *International Dairy Journal*, 15(1):37-44.
- Elgert, K.D.,** 2009, Immunology, understanding the immune system, 2nd ed. New Jersey: Willey-Blackwell, 285–292.
- Endo, A. and Okada, S.,** 2005, Monitoring the lactic acid bacterial diversity during shochu fermentation by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis, *Journal of bioscience and bioengineering*, 99(3):216-221.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Erbaş, M., Certel, M. and Uslu, M.K.,** 2005, Microbiological and chemical properties of Tarhana during fermentation and storage as wet—sensorial properties of Tarhana soup, *LWT-Food Science and Technology*, 38(4):409-416.
- Ertop, M.H., Cerit, Z.G. and Atasoy, R.,** 2019, Evaluation of physicochemical, nutritional and sensory properties of the wet tarhana, *Evaluation*, 83.
- Fessard, A. and Remize, F.,** 2019, Genetic and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from tropically grown fruits and vegetables, *International journal of food microbiology*, 301, 61-72.
- Figueroa, L.M., Ramírez-Jiménez, A.K., Senés-Guerrero, C., Santacruz, A., Pacheco, A. and Gutiérrez-Urbe, J.A.,** 2021, Assessment of the bacterial diversity of agave sap concentrate, resistance to in vitro gastrointestinal conditions and short-chain fatty acids production, *Food Research International*, 140, 109862.
- Firuzi, O., Miri, R., Tavakkoli, M. and Saso, L.,** 2011, Antioxidant therapy: current status and future prospects, *Current medicinal chemistry*, 18(25):3871-3888.
- Foligne, B., Nutton, S., Grangette, C., Dennin, V., Goudercourt, D., Poiret, S., Dewulf, J., Brassart, D., Mercenier, A. and Pot, B.,** 2007, Correlation between *in vitro* and *in vivo* immunomodulatory properties of lactic acid bacteria, *World journal of gastroenterology: WJG*, 13(2):236.
- Franz, C.M., Huch, M., Mathara, J.M., Abriouel, H., Benomar, N., Reid, G., Galvez, A. and Holzappel, W.H.,** 2014, African fermented foods and probiotics, *International Journal of Food Microbiology*, 190, 84-96.
- Gaglio, R., Alfonzo, A., Barbera, M., Franciosi, E., Francesca, N., Moschetti, G. and Settanni, L.,** 2020, Persistence of a mixed lactic acid bacterial starter culture during lysine fortification of sourdough breads by addition of pistachio powder, *Food microbiology*, 86, 103349.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- G-Alegría, E., López, I., Ruiz, J.I., Sáenz, J., Fernández, E., Zarazaga, M., Dizy, M., Torres, C. and Ruiz-Larrea, F.,** 2004, High tolerance of wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains to lyophilisation and stress environmental conditions of acid pH and ethanol, *FEMS Microbiology Letters*, 230 (1):53-61.
- Gaspar, C., Donders, G.G., Palmeira-de-Oliveira, R., Queiroz, J.A., Tomaz, C., Martinez-de-Oliveira, J. and Palmeira-de-Oliveira, A.,** 2018, Bacteriocin production of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* KS400, *Amb Express*, 8(1):153.
- Georgala, A.,** 2013, The nutritional value of two fermented milk/cereal foods named ‘Greek Trahanas’ and ‘Turkish tarhana’: A Review, *Journal of Nutritional Disorder and Therapy S*, 11, 2161-0509.
- Georgala, A.,** 2020, The microbiology of Greek/Cyprus Trahanas and of Turkish Tarhana: a review of some literature data, *Food Science and Applied Biotechnology*, 3(2):134-148.
- Ghoneim, M.A., Hassan, A.I., Mahmoud, M.G. and Asker, M.S.,** 2016, Effect of polysaccharide from *Bacillus subtilis* sp. on cardiovascular diseases and atherogenic indices in diabetic rats, *BMC complementary and alternative medicine*, 16(1):112.
- Gibson, G.R. and Fuller, R.,** 2000, 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.
- Gil-Rodríguez, A.M., Carrascosa, A.V. and Requena, T.,** 2015, Yeasts in foods and beverages: *in vitro* characterisation of probiotic traits, *LWT-Food Science and Technology*, 64(2):1156-1162.
- Goma, G.,** 2008, *Advances in Biochemical Engineering*, Springer Verlag, Berlin, Vol.61.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gunduz, C.P.B., Gaglio, R., Franciosi, E., Settanni, L. and Erten, H.,** 2020, Molecular analysis of the dominant lactic acid bacteria of chickpea liquid starters and doughs and propagation of chickpea sourdoughs with selected *Weissella confusa*, *Food Microbiology*, 103490.
- Gupta, A. and Tiwari, S.K.,** 2014, Probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* LD1 isolated from batter of Dosa, a South Indian fermented food, *Probiotics and antimicrobial proteins*, 6(2):73-81.
- Gupta, A. and Tiwari, S.K.,** 2015, Probiotic potential of bacteriocin-producing *Enterococcus hirae* strain LD3 isolated from dosa batter, *Annals of microbiology*, 65(4):2333-2342.
- Gülmez, M. ve Güven, A.,** 2002, Probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotikler, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8(1):83-89.
- Hati, S., Patel, M., Mishra, B.K. and Das, S.,** 2019, Short-chain fatty acid and vitamin production potentials of *Lactobacillus* isolated from fermented foods of Khasi Tribes, Meghalaya, India, *Annals of Microbiology*, 69(11):1191-1199.
- Haukioja, A., Loimaranta, V. and Tenovuo, J.,** 2008, Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion *in vitro*, *Oral microbiology and immunology*, 23(4):336-343.
- Hébert, E.M., Raya, R.R., Tailliez, P. and de Giori, G.S.,** 2000, Characterization of natural isolates of *Lactobacillus* strains to be used as starter cultures in dairy fermentation, *International journal of food microbiology*, 59(1-2):19-27.
- Hernández-Alcántara, A.M., Wachter, C., Llamas, M.G., López, P. and Pérez-Chabela, M.L.,** 2018, Probiotic properties and stress response of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from cooked meat products, *LWT*, 91, 249-257.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hojjati, M., Behabehani, B.A. and Falah, F.**, 2020, Aggregation, adherence, anti-adhesion and antagonistic activity properties relating to surface charge of probiotic *Lactobacillus brevis* gp104 against *Staphylococcus aureus*, *Microbial Pathogenesis*, 147, 104420.
- Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. and Schillinger, U.**, 2007, *The American Society for Nutr. J. Nutr*, 137, 838S-846S.
- Hossain, M.I., Mizan, M.F.R., Ashrafudoulla, M., Nahar, S., Joo, H. J., Jahid, I.K., Park, S.H., Kim, K.S. and Ha, S.D.**, 2020, Inhibitory effects of probiotic potential lactic acid bacteria isolated from kimchi against *Listeria monocytogenes* biofilm on lettuce, stainless-steel surfaces, and MBEC™ biofilm device, *LWT*, 118, 108864.
- Hrdý, J., Alard, J., Couturier-Maillard, A., Boulard, O., Boutillier, D., Delacre, M., Lapadatescu, C., Cesaro, A., Blanc, P., Pot, B., Ryffel, B., Chamaillard, M. and Ryffel, B.**, 2020, *Lactobacillus reuteri* 5454 and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* 5764 improve colitis while differentially impacting dendritic cells maturation and antimicrobial responses, *Scientific reports*, 10(1):1-11.
- Huang, J., Zhang, W., Hu, Z., Liu, Z., Du, T., Dai, Y. and Xiong, T.**, 2020, Isolation, characterization and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from feces of wild boar, native pig and commercial pig, *Livestock Science*, 104036.
- Hugas, M. and Monfort, J.M.**, 1997, Bacterial starter cultures for meat fermentation, *Food chemistry*, 59(4):547-554.
- Hunyadi, A.**, 2019, The mechanism (s) of action of antioxidants: From scavenging reactive oxygen/nitrogen species to redox signaling and the generation of bioactive secondary metabolites, *Medicinal research reviews*, 39(6):2505-2533.
- Ibarreche, M.P., Castellano, P. and Vignolo, G.**, 2014, Evaluation of anti-*Listeria* meat borne *Lactobacillus* for biofilm formation on selected abiotic surfaces, *Meat science*, 96(1):295-303.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Iyer, B.K., Singhal, R.S. and Ananthanarayan, L.,** 2013, Characterization and *in vitro* probiotic evaluation of lactic acid bacteria isolated from idli batter, *Journal of food science and technology*, 50(6):1114-1121.
- İbanoğlu, Ş., İbanoğlu, E. and Ainsworth, P.,** 1999, Effect of different ingredients on the fermentation activity in tarhana, *Food Chemistry*, 64(1):103-106.
- Jang, J., Kim, B., Lee, J., Kim, J., Jeong, G. and Han, H.,** 2002, Identification of *Weissella* species by the genus-specific amplified ribosomal DNA restriction analysis, *FEMS microbiology letters*, 212(1):29-34.
- Jansen, W.T.M., Van der Bruggen, J.T., Verhoef, J. and Fluit, A.C.,** 2006, Bacterial resistance: a sensitive issue: complexity of the challenge and containment strategy in Europe, *Drug Resistance Updates*, 9(3):123-133.
- Jaskulski, I.B., Uecker, J., Bordini, F., Moura, F., Gonçalves, T., Chaves, N. G. and Andreazza, R.,** 2020, *In vivo* action of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolate (R7) with probiotic potential in the stabilization of cancer cells in the colorectal epithelium, *Process Biochemistry*, 91, 165-171.
- Jawan, R., Kasimin, M.E., Jalal, S.N., Faik, A.M., Abbasiliasi, S. and Ariff, A.,** 2019, November, Isolation, characterisation and *in vitro* evaluation of bacteriocins-producing lactic acid bacteria from fermented products of Northern Borneo for their beneficial roles in food industry, *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1358, No. 1, p. 012020). IOP Publishing.
- Jensen, H., Grimmer, S., Naterstad, K. and Axelsson, L.,** 2012, *In vitro* testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria, *International journal of food microbiology*, 153(1-2):216-222.
- Jensen, M.E. and Wefel, J.S.,** 1990, Effects of processed cheese on human plaque pH and demineralization and remineralization, *American journal of dentistry*, 3(5):217-223.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Junnarkar, M.V., Thakare, P.M., Yewale, P.P., Rahman, A., Jass, J., Mandal, A. and Nawani, N.N.**, 2018, Evaluation of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from different sources in Western India, *Food biotechnology*, 32(2):112-129.
- Kalui, C.M., Mathara, J.M. and Kutima, P.M.**, 2010, Probiotic potential of spontaneously fermented cereal based foods–A review, *African Journal of Biotechnology*, 9(17):2490-2498.
- Kang, M.S., Kim, B.G., Chung, J., Lee, H.C. and Oh, J.S.**, 2006, Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds, *Journal of clinical periodontology*, 33(3):226-232.
- Karagozlu, N., Ergonul, B. and Karagozlu, C.**, 2008, Microbiological attributes of instant tarhana during fermentation and drying, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 14(6):535-541.
- Kaya, H.I. and Simsek, Ö.**, 2020, Characterization of *Pediococcus acidilactici* PFC69 and *Lactococcus lactis* PFC77 Bacteriocins and Their Antimicrobial Activities in Tarhana Fermentation, *Microorganisms*, 8(7):1083.
- Kaya, H.İ.**, 2013, Tarhana izolatu bazı laktik asit bakterilerinin bakteriyosinleri ve fermantasyonda patojen bakteriler üzerine etkisi (Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü):86 sayfa.
- Kazancıgil, E., Demirci, T., Öztürk-Negiş, H.İ. and Akın, N.**, 2019, Isolation, technological characterization and *in vitro* probiotic evaluation of *Lactococcus* strains from traditional Turkish skin bag Tulum cheeses, *Annals of Microbiology*, 69(12):1275-1287.
- Khalkhali, S. and Mojtani, N.**, 2017, Bacteriocinogenic potential and virulence traits of *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* isolated from human milk, *Iranian Journal of Microbiology*, 9(4):224.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Khor, B., Gardet, A. and Xavier, R.J.**, 2011, Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease, *Nature*, 474(7351):307-317.
- Khusro, A., Aarti, C., Dusthacker, A. and Agastian, P.**, 2018, Anti-tubercular and probiotic properties of coagulase-negative staphylococci isolated from Koozh, a traditional fermented food of South India, *Microbial pathogenesis*, 114, 239-250.
- Kıran, F.Y. ve Osmanağaoğlu, Ö.T.D.**, 2006, Hücre duvarı protein profilleri ve pilazmid içeriklerine göre laktik asit bakterilerinin moleküler tanısı (Doctoral Dissertation, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı).
- Kivanc, M. and Funda, E.G.**, 2017, A functional food: a traditional Tarhana fermentation, *Food Science and Technology*, 37(2):269-274.
- Kohajdová, Z.**, 2017, Fermented cereal products, *In Current Developments in Biotechnology and Bioengineering* (pp. 91-117). Elsevier.
- Kondrotiene, K., Kasnauskite, N., Serniene, L., Gölz, G., Alter, T., Kaskoniene, V., Maruska, A.S. and Malakauskas, M.**, 2018, Characterization and application of newly isolated nisin producing *Lactococcus lactis* strains for control of *Listeria monocytogenes* growth in fresh cheese, *LWT*, 87, 507-514.
- Kong, Y., Li, M., Li, R., Shan, X. and Wang, G.**, 2020, Evaluation of cholesterol lowering property and antibacterial activity of two potential lactic acid bacteria isolated from the intestine of snakehead fish (*Channa argus*):*Aquaculture Reports*, 17, 100342.
- Korcz, E., Kerényi, Z. and Varga, L.**, 2018, Dietary fibers, prebiotics, and exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: potential health benefits with special regard to cholesterol-lowering effects, *Food & function*, 9(6):3057-3068.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kouamé, H.K., Aké, M.D.F., Assohou, N.M.C., Djè, M.K. and Djéni, N.T.,** 2020, Dynamics and species diversity of lactic acid bacteria involved in the spontaneous fermentation of various palm tree saps during palm wine tapping in Côte d'Ivoire, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(64):64.
- Kowalska, J.D., Nowak, A., Śliżewska, K., Stańczyk, M., Łukasiak, M. and Dastyh, J.,** 2020, Anti-Salmonella Potential of New *Lactobacillus* Strains with the Application in the Poultry Industry, *Polish Journal of Microbiology*, 69(1):5-18.
- Kruk, J., Aboul-Enein, H.Y., Kładna, A. and Bowser, J.E.,** 2019, Oxidative stress in biological systems and its relation with pathophysiological functions: the effect of physical activity on cellular redox homeostasis, *Free radical research*, 53(5):497-521.
- Kuerman, M., Bao, Y., Guo, Y. and Guo, M.,** 2020, Effects of prebiotic carbohydrates on the growth promotion and cholesterol-lowering abilities of compound probiotics *in vitro*, *LWT*, 118, 108703.
- Kumar, M., Ghosh, M. and Ganguli, A.,** 2012, Mitogenic response and probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from indigenously pickled vegetables and fermented beverages, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(2):703-711.
- Kumar, R., Grover, S. and Batish, V.K.,** 2011, Hypocholesterolaemic effect of dietary inclusion of two putative probiotic bile salt hydrolase-producing *Lactobacillus plantarum* strains in Sprague–Dawley rats, *British Journal of Nutrition*, 105(4):561-573.
- Kumar, V., Kumari, A., Angmo, K. and Bhalla, T.C.,** 2017, Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional pickles of Himachal Pradesh, India, *Journal of food science and technology*, 54(7):1945-1952.
- Labba, I.C.M., Andlid, T., Lindgren, A., Sandberg, A.S. and Sjöberg, F.,** 2020, Isolation, identification, and selection of strains as candidate probiotics and starters for fermentation of Swedish legumes, *Food & Nutrition Research*, 64.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lakra, A.K., Domdi, L., Hanjon, G., Tilwani, Y.M. and Arul, V.,** 2020, Some probiotic potential of *Weissella confusa* MD1 and *Weissella cibaria* MD2 isolated from fermented batter, *LWT*, 125, 109261.
- Lambert, J.M., Bongers, R.S., de Vos, W.M. and Kleerebezem, M.,** 2008, Functional analysis of four bile salt hydrolase and penicillin acylase family members in *Lactobacillus plantarum* WCFS1, *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(15):4719-4726.
- Landete, J.M., Langa, S., Escudero, C. and ArquÚs, J.L.,** 2020, Fluorescent detection of nisin by genetically modified *Lactococcus lactis* strains in milk and a colonic model: Application of whole-cell nisin biosensors, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 129(4):435-440.
- Lee, K.W., Park, J.Y., Sa, H.D., Jeong, J.H., Jin, D.E., Heo, H.J. and Kim, J.H.,** 2014, Probiotic properties of *Pediococcus* strains isolated from jeotgals, salted and fermented Korean sea-food, *Anaerobe*, 28, 199-206.
- Lee, S.W., Lim, J.M., Mohan, H., Seralathan, K.K., Park, Y.J., Lee, J.H. and Oh, B.T.,** 2020, Enhanced bioactivity of *Zanthoxylum schinifolium* fermented extract: Anti-inflammatory, anti-bacterial, and anti-melanogenic activity, *Journal of Bioscience and Bioengineering*.
- Lee, S. and Kim, M.,** 2019, *Leuconostoc mesenteroides* MKSR isolated from kimchi possesses α -glucosidase inhibitory activity, antioxidant activity, and cholesterol-lowering effects, *LWT*, 116, 108570.
- Leroi, F., Cornet, J., Chevalier, F., Cardinal, M., Coeuret, G., Chaillou, S. and Joffraud, J.J.,** 2015, Selection of bioprotective cultures for preventing cold-smoked salmon spoilage, *International journal of food microbiology*, 213, 79-87.
- Leroy, F. and De Vuyst, L.,** 2004, Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry, *Trends in Food Science & Technology*, 15(2):67-78.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Li, J.Y., Jin, M.M., Meng, J., Gao, S.M. and Lu, R.R.**, 2013, Exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* LP6: Antioxidation and the effect on oxidative stress, *Carbohydrate polymers*, 98(1):1147-1152.
- Li, M., Wang, Y., Cui, H., Li, Y., Sun, Y. and Qiu, H.J.**, 2020, Characterization of lactic acid bacteria isolated from the gastrointestinal tract of a wild boar as potential probiotics, *Frontiers in veterinary science*, 7, 49.
- Li, N., Yu, H., Liu, H., Wang, Y., Zhou, J., Ma, X., Wang, Z., Sun, C. and Qiao, S.**, 2019, Horizontal transfer of vanA between probiotic *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* in fermented soybean meal and in digestive tract of growing pigs, *Journal of animal science and biotechnology*, 10(1):36.
- Liang, X., Lv, Y., Zhang, Z., Yi, H., Liu, T., Li, R., Yu, Z. and Zhang, L.**, 2020, Study on intestinal survival and cholesterol metabolism of probiotics, *LWT*, 124, 109132.
- Liu, J., Wang, Y., Li, A., Iqbal, M., Zhang, L., Pan, H., Li, Z. and Li, J.**, 2020, Probiotic potential and safety assessment of *Lactobacillus* isolated from yaks, *Microbial Pathogenesis*, 104213.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N.**, 2010, Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, *Pharmacognosy reviews*, 4(8):118.
- London, L.E., Kumar, A.H., Wall, R., Casey, P.G., O'Sullivan, O., Shanahan, F., Hill, C., Cotter, P.D., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P., Caplice, N.M. and Stanton, C.**, 2014, Exopolysaccharide-producing probiotic *Lactobacilli* reduce serum cholesterol and modify enteric microbiota in ApoE-deficient mice, *The Journal of nutrition*, 144(12):1956-1962.
- Lye, H.S., Rahmat-Ali, G.R. and Liong, M.T.**, 2010, Mechanisms of cholesterol removal by *Lactobacilli* under conditions that mimic the human gastrointestinal tract, *International Dairy Journal*, 20(3):169-175.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mabeku, L.B.K., Ngue, S., Nguemo, I.B. and Leundji, H.**, 2020, Potential of selected lactic acid bacteria from Theobroma cacao fermented fruit juice and cell-free supernatants from cultures as inhibitors of *Helicobacter pylori* and as good probiotic, *BMC research notes*, 13(1):64.
- Macé, S., Joffraud, J.J., Cardinal, M., Malcheva, M., Cornet, J., Lalanne, V., Chevalier, F., Sérot, T., Pilet, M.F. and Dousset, X.**, 2013, Evaluation of the spoilage potential of bacteria isolated from spoiled raw salmon (*Salmo salar*) fillets stored under modified atmosphere packaging, *International journal of food microbiology*, 160(3):227-238.
- Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M. and Stahl, D.A.**, 2018, Brock Biology of Microorganisms, 15th Global edition. Boston, US: Benjamin Cummins.
- Maeda, N., Nakamura, R., Hirose, Y., Murosaki, S., Yamamoto, Y., Kase, T. and Yoshikai, Y.**, 2009, Oral administration of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 enhances protection against influenza virus infection by stimulation of type I interferon production in mice, *International immunopharmacology*, 9(9):1122-1125.
- Mao, Q., Sun, X., Sun, J., Zhang, F., Lv, A., Hu, X. and Guo, Y.**, 2020, A candidate probiotic strain of *Enterococcus faecium* from the intestine of the crucian carp *Carassius auratus*, *AMB Express*, 10(1):1-9.
- Maragkoudakis, P.A., Chingwaru, W., Gradisnik, L., Tsakalidou, E. and Cencic, A.**, 2010, Lactic acid bacteria efficiently protect human and animal intestinal epithelial and immune cells from enteric virus infection, *International journal of food microbiology*, 141, S91-S97.
- Masdea, L., Kulik, E.M., Hauser-Gerspach, I., Ramseier, A.M., Filippi, A. and Waltimo, T.**, 2012, Antimicrobial activity of *Streptococcus salivarius* K12 on bacteria involved in oral malodour, *Archives of oral biology*, 57(8):1041-1047.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mezaini, A. and Bouras, A.D.**, 2013, Antibacterial activity and probiotic properties of some lactic acid bacteria isolated from dairy products, *African Journal of Biotechnology*, 12(20).
- Mizan, M.F.R., Jahid, I.K. and Ha, S.D.**, 2015, Microbial biofilms in seafood: a food-hygiene challenge, *Food microbiology*, 49, 41-55.
- Moellering Jr, R.C.**, 1992, Emergence of *Enterococcus* as a significant pathogen, *Clinical infectious diseases*, 1173-1176.
- Mohania, D., Kansal, V.K., Shah, D., Nagpal, R., Kumar, M., Gautam, S.K., Singh, B. and Behare, P.V.**, 2013, Therapeutic effect of probiotic dahi on plasma, aortic, and hepatic lipid profile of hypercholesterolemic rats, *Journal of Cardiovascular pharmacology and Therapeutics*, 18(5):490-497.
- Mousavi, Z.E., Mousavi, S.M., Razavi, S.H., Emam-Djomeh, Z. and Kiani, H.**, 2011, Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(1):123-128.
- Mukisa, I.M., Byakika, S., Meeme, R., Wacoo, A.P., Sybesma, W. and Kort, R.**, 2019, Adopting traditional fermented foods as carriers for probiotics, *Nutrition & Food Science*.
- Musikasang, H., Tani, A., H-kittikun, A. and Maneerat, S.**, 2009, Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25 (8):1337-1345.
- Nagaoka, M., Hashimoto, S., Watanabe, T., Yokokura, T. and Mori, Y.**, 1994, Anti-ulcer effects of lactic acid bacteria and their cell wall polysaccharides, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 17(8):1012-1017.
- Nath, S., Sikidar, J., Roy, M. and Deb, B.**, 2020, *In vitro* screening of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented milk product, *Food Quality and Safety*, 4(4):213-223.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Nes, I.F., Diep, D.B. and Holo, H., 2007, Bacteriocin diversity in *Streptococcus* and *Enterococcus*, *Journal of bacteriology*, 189(4):1189-1198.
- Nguyen, T.D.T., Kang, J.H. and Lee, M.S., 2007, Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects, *International journal of food microbiology*, 113(3):358-361.
- Nikawa, H., Makihira, S., Fukushima, H., Nishimura, H., Ozaki, Y., Ishida, K., Darmawan, S., Hamada, T., Hara, K., Matsumoto, A., Takemoto, T. and Aimi, R., 2004, *Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci, *International journal of food microbiology*, 95(2):219-223.
- O'Callaghan, Y.C., Shevade, A.V., Guinee, T.P., O'Connor, T.P. and O'Brien, N.M., 2019, Comparison of the nutritional composition of experimental fermented milk: Wheat bulgur blends and commercially available kishk and tarhana products, *Food chemistry*, 278, 110-118.
- Oh, A., Daliri, E.B.M. and Oh, D.H., 2018, Screening for potential probiotic bacteria from Korean fermented soybean paste: *In vitro* and *Caenorhabditis elegans* model testing, *LWT*, 88, 132-138.
- Olivares, M., Díaz-Ropero, M.P., Sierra, S., Lara-Villoslada, F., Fonollá, J., Navas, M., Rodríguez, J.M. and Xaus, J., 2007, Oral intake of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 enhances the effects of influenza vaccination, *Nutrition*, 23(3):254-260.
- Oliveira, D.R., Lopes, A.C.A., Pereira, R.A., Cardoso, P.G. and Duarte, W.F., 2019, Selection of potentially probiotic *Kluyveromyces lactis* for the fermentation of cheese whey-based beverage, *Annals of Microbiology*, 69(13):1361-1372.
- Osmanagaoglu, O., Kiran, F. and Ataoglu, H., 2010, Evaluation of *in vitro* probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* OZF isolated from human breast milk, *Probiotics and antimicrobial proteins*, 2(3):162-174.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Oussaief, O., Jrad, Z., Sbissi, I., Nasri, W., Khorchani, T. and El-Hatmi, H., 2020,** Technological and probiotic potential of autochthonous lactic acid bacteria from spontaneously fermented dromedary milk, *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9):e14685.
- Ozdemir, S., Gocmen, D. and Yildirim Kumral, A., 2007,** A traditional Turkish fermented cereal food: Tarhana, *Food Reviews International*, 23(2):107-121.
- Özdestan, Ö. and Üren, A., 2013,** Biogenic amine content of tarhana: A traditional fermented food, *International Journal of Food Properties*, 16(2):416-428.
- Özel, B., Şimşek, Ö., Settanni, L. and Erten, H., 2020,** The influence of backslopping on lactic acid bacteria diversity in tarhana fermentation, *International Journal of Food Microbiology*, 335, 108886.
- Özener, H.Ö. ve Kuru, B.E., 2015,** Probiyotiklerin periodontal tedavideki yeri, *Clinical and Experimental Health Sciences*, 5(1):53-64.
- Özkalp, B. ve Akçelik, M., 2006,** Doğal tip *Lactococcus lactis* suşlarının endüstriyel starter kültür potansiyellerinin belirlenmesi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 101.
- Özkan, E.R., Demirci, T., Öztürk, H.İ. and Akın, N., 2020,** Screening *Lactobacillus* strains from artisanal Turkish goat skin casing Tulum cheeses produced by nomads via molecular and *in vitro* probiotic characteristics, *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Pabari, K., Pithva, S., Kothari, C., Purama, R.K., Kondepudi, K.K., Vyas, B.R.M. and Ambalam, P., 2020,** Evaluation of Probiotic Properties and Prebiotic Utilization Potential of *Weissella paramesenteroides* Isolated From Fruits, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-13.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Patel, A., Prajapati, J.B., Holst, O. and Ljungh, A.**, 2014, Determining probiotic potential of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from vegetables and traditional Indian fermented food products, *Food Bioscience*, 5, 27-33.
- Penner, R.M. and Fedorak, R.N.**, 2005, Probiotics in the management of inflammatory bowel disease, *Medscape General Medicine*, 7(3):19.
- Peran, L., Camuesco, D., Comalada, M., Nieto, A., Concha, A., Diaz-Ropero, M.P., Olivares, M., Xaus, J., Zarzuelo, A. and Galvez, J.**, 2005, Preventative effects of a probiotic, *Lactobacillus salivarius* ssp. *salivarius*, in the TNBS model of rat colitis, *World journal of gastroenterology: WJG*, 11(33):5185.
- Petrović, T.D.Ž., Ilić, P.D., Grujović, M.Ž., Mladenović, K.G., Kocić-Tanackov, S.D. and Čomić, L.R.**, 2020, Assessment of safety aspect and probiotic potential of autochthonous *Enterococcus faecium* strains isolated from spontaneous fermented sausage, *Biotechnology letters*, 42(8):1513-1525.
- Pfeiler, E.A. and Klaenhammer, T.R.**, 2007, The genomics of lactic acid bacteria, *Trends in microbiology*, 15(12):546-553.
- Plessas, S., Nouska, C., Karapetsas, A., Kazakos, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Chondrou, P., Fournomiti, M., Galanis, A. and Bezirtzoglou, E.**, 2017, Isolation, characterization and evaluation of the probiotic potential of a novel *Lactobacillus* strain isolated from Feta-type cheese, *Food chemistry*, 226, 102-108.
- Poorinmohammad, N., Hamedi, J. and Masoudi-Nejad, A.**, 2020, Genome-scale exploration of transcriptional regulation in the nisin Z producer *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* IO-1, *Scientific reports*, 10(1):1-13.
- Prete, R., Long, S.L., Gallardo, A.L., Gahan, C.G., Corsetti, A. and Joyce, S.A.**, 2020, Beneficial bile acid metabolism from *Lactobacillus plantarum* of food origin, *Scientific reports*, 10(1):1-11.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pundir, R.K., Rana, S., Kashyap, N. and Kaur, A.,** 2013, Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from food samples: an *in vitro* study, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(3):85.
- Purkayastha, S.D., Bhattacharya, M.K., Prasad, H.K., Bhattacharjee, M.J., de Mandal, S., Mathipi, V. and Kumar, N.S.,** 2020, Probiotic and cytotoxic potential of vaginal *Lactobacillus* isolated from healthy northeast Indian, *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(1):205-214.
- Ragul, K., Kandasamy, S., Devi, P.B. and Shetty, P.H.,** 2020, Evaluation of functional properties of potential probiotic isolates from fermented brine pickle, *Food Chemistry*, 311, 126057.
- Rajab, S., Tabandeh, F., Shahraky, M.K. and Alahyaribeik, S.,** 2020, The effect of *Lactobacillus* cell size on its probiotic characteristics, *Anaerobe*, 62, 102103.
- Rajoka, M.S.R., Zhao, H., Mehwish, H.M., Li, N., Lu, Y., Lian, Z., Shao, D., Lin, M., Li, Q., Zhao, L. and Shi, J.,** 2019, Anti-tumor potential of cell free culture supernatant of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from human breast milk, *Food Research International*, 123, 286-297.
- Rao, K.P., Kumar, N.K. and Sreenivasa, M.Y.,** 2017, Characterization of probiotic *Lactobacillus plantarum* MYS14 isolated from sannas, a traditional fermented food for its therapeutic potential, *Current Nutrition & Food Science*, 13(2):110-120.
- Reuben, R.C., Roy, P.C., Sarkar, S.L., Alam, A.R.U. and Jahid, I.K.,** 2020, Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties, *Journal of dairy science*, 103(2):1223-1237.
- Reuben, R.C., Roy, P.C., Sarkar, S.L., Alam, R.U. and Jahid, I.K.,** 2019, Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics, *BMC microbiology*, 19(1):1-20.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Roberts, D., Reyes, V., Bonilla, F., Dzandu, B., Liu, C., Chouljenko, A. and Sathivel, S.,** 2018, Viability of *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826 in fermented apple juice under simulated gastric and intestinal conditions, *LWT*, 97, 144-150.
- Rodríguez, C., Medici, M., Rodríguez, A.V., Mozzi, F. and de Valdez, G.F.,** 2009, Prevention of chronic gastritis by fermented milks made with exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strains, *Journal of dairy science*, 92(6):2423-2434.
- Ruas-Madiedo, P. and De Los Reyes-Gavilán, C.G.,** 2005, Invited review: methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria, *Journal of dairy science*, 88(3):843-856.
- Sadishkumar, V. and Jeevaratnam, K.,** 2017, *In vitro* probiotic evaluation of potential antioxidant lactic acid bacteria isolated from idli batter fermented with Piper betle leaves, *International Journal of Food Science & Technology*, 52(2):329-340.
- Sagdic, O., Ozturk, I., Yapar, N. and Yetim, H.,** 2014, Diversity and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from gilaburu, a traditional Turkish fermented European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit drink, *Food research international*, 64, 537-545.
- Samolada, M., Litopoulou-Tzanetaki, E., Xanthopoulos, V. and Tzanetakis, N.,** 1998, Changes in microbial flora during manufacture of a traditional fermented milk from ewe's milk, *Food microbiology*, 15(1):43-50.
- Sarkar, S.L., Hossain, M.I., Monika, S.A., Sanyal, S.K., Roy, P.C., Hossain, M.A. and Jahid, I.K.,** 2020, Probiotic potential of *Pediococcus acidilactici* and *Enterococcus faecium* isolated from indigenous yogurt and raw goat milk, *Microbiology and Biotechnology Letters*, 48(3):276-286.
- Selwitz, R.H., Ismail, A.I. and Pitts, N.B.,** 2007, Dental caries, *The Lancet*, 369(9555):51-59.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sengun, I.Y. and Karapinar, M.,** 2012, Microbiological quality of T arhana, T urkish cereal based fermented food, *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 4(1):17-25.
- Sengun, I.Y., Nielsen, D.S., Karapinar, M. and Jakobsen, M.,** 2009, Identification of lactic acid bacteria isolated from Tarhana, a traditional Turkish fermented food, *International journal of food microbiology*, 135(2):105-111.
- Sengun, I.Y. and Kilic, G.,** 2019, Innovative functional fruit and vegetable-based drinks including probiotics, Chapter 21 In: *Fermented Food Products* (Eds. A. Sankaranarayanan, N. Ameresan and D. Dhanasekaran): CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp. 341-365.
- Serafini, M. and Del Rio, D.,** 2004, Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?, *Redox report*, 9(3):145-152.
- Settanni, L., Tanguler, H., Moschetti, G., Reale, S., Gargano, V. and Erten, H.,** 2011, Evolution of fermenting microbiota in tarhana produced under controlled technological conditions, *Food Microbiology*, 28(7):1367-1373.
- Settier-Ramírez, L., López-Carballo, G., Gavara, R. and Hernández-Muñoz, P.,** 2020, PVOH/protein blend films embedded with lactic acid bacteria and their antilisterial activity in pasteurized milk, *International Journal of Food Microbiology*, 322, 108545.
- Sharma, K., Attri, S. and Goel, G.,** 2019, Selection and evaluation of probiotic and functional characteristics of Autochthonous lactic acid bacteria isolated from fermented wheat flour dough babroo, *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(3):774-784.
- Sharma, M., Chandel, D. and Shukla, G.,** 2020, Antigenotoxicity and cytotoxic potentials of metabiotics extracted from isolated probiotic, *Lactobacillus rhamnosus* MD 14 on Caco-2 and HT-29 human colon cancer cells, *Nutrition and Cancer*, 72(1):110-119.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Shi, L.H., Balakrishnan, K., Thiagarajah, K., Ismail, N.I.M. and Yin, O.S.,** 2016, Beneficial properties of probiotics, *Tropical life sciences research*, 27(2):73.
- Shi, Y., Cui, X., Gu, S., Yan, X., Li, R., Xia, S., Chen, H. and Ge, J.,** 2019, Antioxidative and probiotic activities of lactic acid bacteria isolated from traditional artisanal milk cheese from Northeast China, *Probiotics and antimicrobial proteins*, 11(4):1086-1099.
- Shimauchi, H., Mayanagi, G., Nakaya, S., Minamibuchi, M., Ito, Y., Yamaki, K. and Hirata, H.,** 2008, Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study, *Journal of clinical periodontology*, 35(10):897-905.
- Shin, J.H., Kim, D.I., Kim, H.R., Kim, D.S., Kook, J.K. and Lee, J.N.,** 2007, Severe infective endocarditis of native valves caused by *Weissella confusa* detected incidentally on echocardiography, *Journal of Infection*, 54(3):e149-e151.
- Shivangi, S., Devi, P.B., Ragul, K. and Shetty, P.H.,** 2020, Probiotic potential of *Bacillus* strains isolated from an acidic fermented food idli, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-12.
- Silva, G.O., Castro, R.D., Oliveira, L.G., Sant'Anna, F.M., Barbosa, C.D., Sandes, S.H.C., Silva, R.S., Resende, M.F.S., Lana, A.M.Q., Nunes, A.C., Cerqueira, M.M.O.P. and Souza, M.R.,** 2020, Viability of *Staphylococcus aureus* and expression of its toxins (SEC and TSST-1) in cheeses using *Lactobacillus rhamnosus* D1 or *Weissella paramesenteroides* GIR16L4 or both as starter cultures, *Journal of Dairy Science*.
- Simões, M., Simões, L.C. and Vieira, M.J.,** 2010, A review of current and emergent biofilm control strategies, *LWT-Food Science and Technology*, 43(4):573-583.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Singh, S., Bhatia, R., Singh, A., Singh, P., Kaur, R., Khare, P., Purama, R.K., Boparai, R.K., Rishi, P., Ambalam, P., Bhadada, S.K., Bishnoi, M., Kaur, J. and Kondepudi, K.K.**, 2018, Probiotic attributes and prevention of LPS-induced pro-inflammatory stress in RAW264. 7 macrophages and human intestinal epithelial cell line (Caco-2) by newly isolated *Weissella cibaria* strains, *Food & function*, 9(2):1254-1264.
- Smith, J.S., Moroni, P., Santisteban, C.G., Rauch, B.J., Ospina, P.A. and Nydam, D.V.**, 2020, Distribution of *Lactococcus* spp. in New York State dairy farms and the association of somatic cell count resolution and bacteriological cure in clinical mastitis samples, *Journal of Dairy Science*, 103(2):1785-1794.
- Soomro, A.H., Masud, T. and Anwaar, K.**, 2002, Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-a review, *Pakistan Journal of Nutrition*, 1(1):20-24.
- Sormaz, Ü., Neslihan, O.N.U.R., Güneş, H.F. ve Nizamhoğlu, H.F.**, 2019, Türk mutfağı geleneksel ürünlerinde yöresel farklılıklar: Tarhana örneği, *Aydın Gastronomy*, 3(1):1-9.
- Sornsenee, P., Singkhamanan, K., Sangkhathat, S., Saengsuwan, P. and Romyasamit, C.**, 2021, Probiotic properties of *Lactobacillus* species isolated from fermented palm sap in Thailand, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-13.
- Srey, S., Jahid, I.K. and Ha, S.D.**, 2013, Biofilm formation in food industries: a food safety concern, *Food control*, 31(2):572-585.
- Steinkraus, K.H.**, 1998, Bio-enrichment: production of vitamins in fermented foods. In *Microbiology of fermented foods* (pp. 603-621):Springer, Boston, MA.
- Stiles, M.E. and Holzapfel, W.H.**, 1997, Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy, *International journal of food microbiology*, 36(1):1-29.
- Sui, Y., Liu, J., Liu, Y., Wang, Y., Xiao, Y., Gao, B. and Zhu, D.**, 2021, *In vitro* probiotic characterization of *Lactobacillus* strains from fermented tangerine vinegar and their cholesterol degradation activity, *Food Bioscience*, 39, 100843.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Şengün, İ.**, 2006, Ege bölgesinin bazı yörelerinde yapılan geleneksel tarhana ve bileşenlerinin bakteri florasının tanımlanması (Doctoral dissertation, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir).
- Şenol, E., Halime, U.Ğ.U.R., Kaynar, K., Güven, Ş.H. ve Durak, M.Z.**, 2019, Farklı yörelerden toplanan geleneksel fermente ürünlerin (turşu suyu, tarhana ve ekşi maya) probiyotik içeriğinin fourier dönüşümlü infrared spektrofotometre (FTIR) ile belirlenmesi, *İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(3):9-13.
- Şimşek, Ö., Çon, A.H. and Tulumoglu, Ş.**, 2006, Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes, *Food Control*, 17(4):263-270.
- Şimşek, Ö., Özel, S. and Çon, A.H.**, 2017, Comparison of lactic acid bacteria diversity during the fermentation of Tarhana produced at home and on a commercial scale, *Food science and biotechnology*, 26(1):181-187.
- Şimşek, Ö., Serap, Ö.Z.E.L. ve Çon, A.H.**, 2012, Ev ve işletme tipi Uşak tarhanası hamurlarında fermantasyon sürecine ait mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerin karşılaştırılması, *Gıda*, 37(6):341-348.
- Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Mohebbi, M., Mortazavi, S.A. and Ghaitaranpour, A.**, 2012, Identification of lactic acid bacteria isolated from Tarkhineh, a traditional Iranian fermented food, *Sci. J. Microbiol*, 1(7):152-159.
- Tamang, J.P., Tamang, B., Schillinger, U., Guigas, C. and Holzapfel, W.H.**, 2009, Functional properties of lactic acid bacteria isolated from ethnic fermented vegetables of the Himalayas, *International Journal of Food Microbiology*, 135(1):28-33.
- Tambekar, D.H. and Bhutada, S.A.**, 2010, An evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus* sp. from milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections, *Recent Research in Science and Technology*.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tamer, C.E., Kumral, A., Aşan, M. and Şahin, İ.**, 2007, Chemical compositions of traditional tarhana having different formulations, *Journal of food processing and preservation*, 31(1):116-126.
- Teniola, O.D. and Odunfa, S.A.**, 2001, The effects of processing methods on the levels of lysine, methionine and the general acceptability of ogi processed using starter cultures, *International Journal of Food Microbiology*, 63(1-2):1-9.
- Todorov, S.D., Botes, M., Guigas, C., Schillinger, U., Wiid, I., Wachsman, M.B., Hozapfel, W.H. and Dicks, L.M.T.**, 2008, Boza, a natural source of probiotic lactic acid bacteria, *Journal of Applied Microbiology*, 104(2):465-477.
- Tok, E. and Aslim, B.**, 2010, Cholesterol removal by some lactic acid bacteria that can be used as probiotic, *Microbiology and immunology*, 54(5):257-264.
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Bağder Elmacı, S., Arslankoz İşleyen, N. and Özçelik, F.**, 2015, *In vitro* properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles, *BioMed research international*, 2015.
- Ullah, R., Nadeem, M., Imran, M., Khan, M.K., Mushtaq, Z., Asif, M. and Din, A.**, 2020, Effect of microcapsules of chia oil on Ω -3 fatty acids, antioxidant characteristics and oxidative stability of butter, *Lipids in Health and Disease*, 19(1):10.
- Varnan, M., Mohsenzadeh, M. and Salari, A.**, 2020, Antimicrobial Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* Bioprotective Starters against Foodborne Pathogens in Fermented Chicken Meats, *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 14(4):55-66.
- Vasiee, A.R., Mortazavi, A., Tabatabaei-yazdi, F. and Dovom, M.R.**, 2018, Detection, identification and phylogenetic analysis of lactic acid bacteria isolated from Tarkhineh, Iranian fermented cereal product, by amplifying the 16s rRNA gene with universal primers and differentiation using rep-PCR, *International Food Research Journal*, 25(1).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vasiee, A.R., Yazdi, T.F., Mortazavi, A. and Edalatian, M.R.,** 2014, Isolation, identification and characterization of probiotic *Lactobacilli* spp. from Tarkhineh, *International Food Research Journal*, 21(6):2487.
- Vasiee, A., Falah, F., Behbahani, B.A. and Tabatabaee-Yazdi, F.,** 2020, Probiotic characterization of *Pediococcus* strains isolated from Iranian cereal-dairy fermented product: Interaction with pathogenic bacteria and the enteric cell line Caco-2, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 130(5):471-479.
- Vasiljevic, T. and Shah, N.P.,** 2008, Probiotics—from Metchnikoff to bioactives, *International Dairy Journal*, 18(7):714-728.
- Venn, B.J. and Mann, J.I.,** 2004, Cereal grains, legumes and diabetes, *European journal of clinical nutrition*, 58(11):1443-1461.
- Vidhyasagar, V. and Jeevaratnam, K.,** 2013, Evaluation of *Pediococcus pentosaceus* strains isolated from Idly batter for probiotic properties *in vitro*, *Journal of Functional Foods*, 5(1):235-243.
- Vitali, B., Minervini, G., Rizzello, C.G., Spisni, E., Maccaferri, S., Brigidi, P., Gobbetti, M. and Di Cagno, R.,** 2012, Novel probiotic candidates for humans isolated from raw fruits and vegetables, *Food Microbiology*, 31(1):116-125.
- Wacoo, A.P., Mukisa, I.M., Meeme, R., Byakika, S., Wendi, D., Sybesma, W. and Kort, R.,** 2019, Probiotic enrichment and reduction of aflatoxins in a traditional African maize-based fermented food, *Nutrients*, 11(2):265.
- Wang, Y., Chen, G., Peng, Y., Rui, Y., Zeng, X. and Ye, H.,** 2019, Simulated digestion and fermentation *in vitro* with human gut microbiota of polysaccharides from *Coralline pilulifera*, *LWT*, 100, 167-174.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- WHO/FAO.**, 2002, Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, London, Ontario www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf, Erişim tarihi: 19.04.2020.
- Wiernasz, N., Leroi, F., Chevalier, F., Cornet, J., Cardinal, M., Rohloff, J., Passerini, D., Skirnisdóttir, S. and Pilet, M.F.**, 2020, Salmon gravlax biopreservation with lactic acid bacteria: A polyphasic approach to assessing the impact on organoleptic properties, microbial ecosystem and volatiline composition, *Frontiers in Microbiology*, 10, 3103.
- Xanthopoulos, V., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Tzanetakis, N.**, 2000, Characterization of *Lactobacillus* isolates from infant faeces as dietary adjuncts, *Food Microbiology*, 17(2):205-215.
- Xia, A.N., Meng, X.S., Tang, X.J., Zhang, Y.Z., Lei, S.M. and Liu, Y.G.**, 2021, Probiotic and related properties of a novel lactic acid bacteria strain isolated from fermented rose jam, *LWT*, 136, 110327.
- Xu, X., Luo, D., Bao, Y., Liao, X. and Wu, J.**, 2018, Characterization of diversity and probiotic efficiency of the autochthonous lactic acid bacteria in the fermentation of selected raw fruit and vegetable juices, *Frontiers in Microbiology*, 9, 2539.
- Xu, Y., Zhou, T., Tang, H., Li, X., Chen, Y., Zhang, L. and Zhang, J.**, 2020, Probiotic potential and amylolytic properties of lactic acid bacteria isolated from Chinese fermented cereal foods, *Food Control*, 111, 107057.
- Yang, B., Chen, H., Gao, H., Wang, J., Stanton, C., Ross, R.P., Zhang, H. and Chen, W.**, 2018, *Bifidobacterium breve* CCFM683 could ameliorate DSS-induced colitis in mice primarily via conjugated linoleic acid production and gut microbiota modulation, *Journal of Functional Foods*, 49, 61-72.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yang, X., Hu, W., Xiu, Z., Jiang, A., Yang, X., Ji, Y., Guan, Y. and Feng, K.,** 2020, Microbial dynamics and volatiline profiles during the fermentation of Chinese northeast sauerkraut by *Leuconostoc mesenteroides* ORC 2 and *Lactobacillus plantarum* HBUAS 51041 under different salt concentrations, *Food Research International*, 130, 108926.
- Yasui, H., Kiyoshima, J. and Hori, T.,** 2004, Reduction of influenza virus titer and protection against influenza virus infection in infant mice fed *Lactobacillus casei* Shirota, *Clin. Diagn. Lab. Immunol*, 11(4):675-679.
- Yaygın, H. ve Kılıç, S.,** 1993, Süt endüstrisinde saf kültür. *Altındağ Matbaacılık*, 107.
- Yin, H., Ye, P., Lei, Q., Cheng, Y., Yu, H., Du, J., Pan, H. and Cao, Z.,** 2020, *In vitro* probiotic properties of *Pediococcus pentosaceus* L1 and its effects on enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced inflammatory responses in porcine intestinal epithelial cells, *Microbial Pathogenesis*, 104163.
- Yörük, G. ve Güner, A.,** 2011, Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılması ve *Weissella* türlerinin gıda mikrobiyolojisinde önemi, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 6(2):163-176.
- Yu, H.S., Jang, H.J., Lee, N.K. and Paik, H.D.,** 2019, Evaluation of the probiotic characteristics and prophylactic potential of *Weissella cibaria* strains isolated from kimchi, *LWT*, 112, 108229.
- Zhang, M., Hang, X., Fan, X., Li, D. and Yang, H.,** 2008, Characterization and selection of *Lactobacillus* strains for their effect on bile tolerance, taurocholate deconjugation and cholesterol removal, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(1):7-14.
- Zhao, T., Podtburg, T.C., Zhao, P., Chen, D., Baker, D.A., Cords, B. and Doyle, M.P.,** 2013, Reduction by competitive bacteria of *Listeria monocytogenes* in biofilms and *Listeria* bacteria in floor drains in a ready-to-eat poultry processing plant, *Journal of food protection*, 76(4):601-607.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C.M., Harris, H.M., Mattarelli, P., O'Toole, P.W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G.E., Gänzle, M.G. and Lebeer, S., 2020, A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4):2782-2858.

Zielińska, D., Rzepkowska, A., Radawska, A. and Zieliński, K., 2015, *In vitro* screening of selected probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermented cabbage and cucumber, *Current microbiology*, 70(2):183-194.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen ve vermiş olduğu manevi desteklerden dolayı değerli tez danışmanım sayın Prof. Dr. İlkin ŞENGÜN'e teşekkürü bir borç bilirim. Laboratuvar çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen Tekn. Figen BECERİK'e, Yük. Müh. Gülden KILIÇ'a, Yük. Müh. Berna ÖZTÜRK'e, Yük. Müh. Ahmet GARGI'ya, Yük. Müh. Miray Gizem BAŞDOĞAN'e, Yük. Müh. Olcay TÜKEL'e, Yük. Müh. Melike KASAP'a, Gıda Müh. Ayşegül KIRMIZIGÜL'e ve Gıda Müh. Yunus YAHŞI'ye çok teşekkür ederim. Son olarak hayatım boyunca maddi-manevi destekleriyle hep yanımda olan annem Mesude ATLAMA'ya, babam Şahin ATLAMA'ya ve ablam Ezelhan ÖZDAĞ'a çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması 119O165 nolu TÜBİTAK projesinin bir parçası olup, desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a çok teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini İstanbul’da tamamladı. 2013-2014 yılları arasında Ege Üniversitesi Yabancı Diller Yüksekokulu’nda İngilizce hazırlık eğitiminin ardından 2014 yılında Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde lisans eğitimine başladı. Lisans eğitimini 2018 yılında tamamladıktan sonra aynı yıl Ege Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Bilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı.