

T. C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BAZI GIDALARDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN PROBİYOTİK
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

Murat DOĞAN
(Y1315.650001)

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR

NİSAN-2017



20/04/2017

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DOKTORA TEZ ONAY BELGESİ

Enstitümüz Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gıda Mühendisliği Doktora Programı Y1315.650001 numaralı öğrencisi Murat DOĞAN'ın "BAZI GIDA ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI" adlı doktora tez çalışması Enstitümüz Yönetim Kurulunun 24/03/2017 tarih ve 2017/08 sayılı kararı ile oluşturulan jüri tarafından 20/04/2017 ile Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvan- Ad-Soyad	İmza
Danışman	Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR	
Üye (TİK)	Prof. Dr. Güner ARKUN	
Üye (TİK)	Prof. Dr. Ahmet Levent BAŞ	
Üye	Prof. Dr. Şükrü KARATAŞ	
Üye	Prof. Dr. Gürkan Raif ÇİFCİOĞLU	

Tezin Savunulduğu Tarih: 20/04/2017

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25.04.2017 tarih ve 2017/10 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR

Enstitü Müdürü



YEMİN METNİ

Doktora Tezi olarak sunduğum “**Bazı Gıdalardan İzole Edilen Bakterilerin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması**” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadar ki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve etik geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin bibliyografyada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (20.04.2017)

Murat DOĞAN

ÖNSÖZ

“Bazı Gıdalardan İzole Edilen Bakterilerin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması” adlı doktora çalışmamın oluşmasında çok değerli görüşleri ve eleştirileriyle bana yol gösteren saygıdeğer hocam, tez danışmanım Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü Sayın Prof. Dr. Haydar ÖZPINAR’ a içtenliklerimle teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora dönemimde desteklerini esirgemeyen hocalarım Sayın Prof Dr. Şükrü KARATAŞ, Sayın Prof. Dr. Kamil BOSTAN ve Sayın Prof. Dr. İbrahim Adnan SARAÇOĞLU’ a teşekkür ederim.

Tez İzleme Komitesi Üyeleri Sayın Prof. Dr. Güner ARKUN ve Sayın Prof. Dr. Ahmet Levent BAŞ’ a destekleri, eleştirileri ve yönlendirmeleri için teşekkür ederim.

Doktora tez dönemimde desteklerini esirgemeyen; görev yapmakta olduğum Sağlık Bilimleri Fakültesi Dekanı Sayın Prof.Dr. Hakkı Cüneyt ULUTİN’e teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca bana destek ve sevgilerini esirgemeyen, daha başarılı bir kariyere ulaşmam için beni sürekli destekleyen canım annem Nevriye DOĞAN’ a ve özellikle sevgili babam Hamdi DOĞAN’ a en derin saygı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bana her zaman destek olan canım kardeşlerim Turgay DOĞAN ve Fatih DOĞAN’ a teşekkür ederim.

Her konuda desteklerini yanımda hissettiğim sevgili eşim Betül DOĞAN, canım oğlum Ahmet Emir DOĞAN ve canım kızım Şevval DOĞAN’ a bu çalışma süresince gösterdikleri anlayış için sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince desteklerini gördüğüm sevgili arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. İsmail Hakkı TEKİNER, Yrd. Doç. Dr. Muharrem BALCI, Dr. Murat Ay, Kudret ATEŞ, Öğr. Gör. Kadriye TÜRKESİZ, Araş. Gör. Hilal DEMİRKESEN BIÇAK’ a teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında büyük desteğini gördüğüm sevgili dostum Gıda Mühendisi Erdal ALSANCAK’ a ayrıca teşekkür ederim.

20 Nisan 2017

Murat DOĞAN





Betül, Ahmet Emir ve Şevval'e...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	vii
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xv
ÇİZELGE LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxi
ABSTRACT	xxiii
1 GİRİŞ ve AMAÇ	25
2 GENEL BİLGİLER	29
2.1 Probiyotik ve probiyotik bakteriler.....	29
2.1.1 Probiyotik bakteri olarak kullanılan mikroorganizmalar.....	30
2.1.2 Probiyotiklerin Özellikleri.....	32
2.2 Gastrointestinal Sistem Florası ve Önemi.....	33
2.2.1 Probiyotik Bakterilerin Aktivasyon ve Etki Mekanizmaları.....	35
2.3 Probiyotiklerin İnsan Sağlığı Üzerine Yararlı Etkileri.....	40
2.4 Probiyotik Bakteri Olma Kriterleri.....	43
2.4.1 Probiyotik bakterilerin asit tolerans özelliği.....	44
2.4.2 Probiyotiklerin Safra Toleransı Özelliği.....	44
2.4.3 Probiyotiklerin İntestinal Kanal Epitel Yüzeylerine Yapışma (adezyon,tutunma) Özelliği ve Hidrofobisite.....	45
2.4.4 Probiyotik bakterilerin antibiyotik duyarlılık veya dirençlilik özellikleri 49	49
2.4.4.1 GSBL (Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz).....	52
2.4.4.2 GSBL'lerin Klinik Önemi.....	53
2.4.4.3 GSBL Tanı Yöntemleri.....	53
2.4.4.4 Disk Taraması.....	54
2.4.4.5 Disk Tarama Konfirmasyonu.....	54
2.4.4.6 Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi.....	54
2.4.4.7 Otomatize Sistemler.....	55
2.4.5 Probiyotiklerin EPS üretim özelliği.....	55
2.4.6 Probiyotiklerin Metabolik ve Proteolitik Özellikleri.....	56
2.4.7 Probiyotiklerin Laktik Asit Üretim Yetenekleri.....	57
2.4.8 Probiyotiklerin Antimikrobiyal Etkileri.....	58
2.4.9 Probiyotiklerin Gıdalarda Canlılıklarını Koruma Özelliği.....	60
2.5 Probiyotiklerin Özellikleri Üzerine Yapılan Bazı Araştırmalar.....	60
3 GEREÇ ve YÖNTEM	63
3.1 Gereç.....	63
3.1.1 Örnek hazırlama ve homojenizasyon.....	63
3.1.2 Mikrobiyolojik inceleme için kullanılan gereçler.....	63
3.1.2.1 Besi Ortamları.....	63
3.1.2.2 Test bakterileri.....	68
3.1.2.3 Antibiyotik Diskler.....	68

3.1.2.4	Kullanılan Boyalar.....	68
3.1.2.5	Kullanılan Çözeltiler.....	69
3.2	Yöntem	71
3.2.1	Mikrobiyolojik inceleme	71
3.2.1.1	İzolatların selektif zenginleştirilmesi, izolasyonu ve saklanması	71
3.2.1.2	Stoktaki izolatların aktifleştirilmesi ve saflıklarının kontrolü	72
3.2.1.3	Hücre Morfolojisi	74
3.2.1.4	Gram Boyama	74
3.2.1.5	Katalaz Testi.....	75
3.2.1.6	Bakterilerin hücre gelişiminin ve toplam canlı bakteri sayısı	76
3.2.2	İzolatların MALDI-TOF MS (VITEK® MS) ile İdentifikasyonu.....	77
3.2.3	İzolatların asit toleranslarının tespiti.....	79
3.2.4	İzolatların safra tuzu toleranslarının tespiti	79
3.2.5	İzolatların hidrofobisitelerinin tespiti.....	79
3.2.6	İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının tespiti.....	80
3.2.6.1	GSBL tespiti.....	81
3.2.6.2	Disk difüzyon testi.....	81
3.2.6.3	Disk difüzyonu confirmasyonu testi	82
3.2.6.4	Antibiyoqram doğrulama ve MİK tayini	82
3.2.7	İzolatların EPS üretimlerinin tespiti.....	83
3.2.8	İzolatların proteolitik aktivitelerinin tespiti.....	84
3.2.9	İzolatların metabolik aktivitelerinin tespiti.....	85
3.2.10	İzolatların laktik asit üretim yeteneklerinin tespiti	86
3.2.11	İzolatların antimikrobiyal etkilerin tespiti.....	87
3.2.12	İzolatların gıdalarda canlılıklarının korunmasının tespiti.....	87
3.2.13	İstatistiksel değerlendirme.....	88
4	BULGULAR.....	89
4.1	MALDI-TOF MS (VITEK® MS) ile Tanımlama	89
4.2	Tanımlanan Bakterilerin Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	93
4.2.1	İzolatların asit toleransları	93
4.2.1.1	Bozadan izole edilmiş izolatların asit toleransları.....	93
4.2.1.2	Peynirden izole edilmiş izolatların asit toleransları.....	95
4.2.1.3	Çiğ süttten izole edilmiş izolatların asit toleransları	97
4.2.1.4	Kefirden izole edilmiş izolatların asit toleransları	99
4.2.1.5	Yüksek asit toleransı gösteren izolatların listesi	101
4.2.1.6	Mide dayanımını geçen izolatların ürün ve suşlara göre dağılımları 102	
4.2.2	İzolatların safra tuzu toleransları.....	105
4.2.2.1	Safra toleransı gösteren izolatların ürün ve suşlara göre dağılımları 107	
4.2.3	İzolatların hidrofobisiteleri	108
4.2.3.1	Yüksek hidrofobisite gösteren izolatların ürün ve suşlara göre dağılımları 109	
4.2.4	İzolatların antibiyotik duyarlılıkları	110
4.2.4.1	İzolatların antibiyotik disk confirmasyonu, antibiyoqram doğrulaması, MİK tayini ve GSBL tespiti	112
4.2.4.2	Probiyotik özellikleri sağlayan izolatlar	112
4.2.5	İzolatların EPS üretimleri	113
4.2.6	İzolatların proteolitik aktiviteleri	114
4.2.7	İzolatların metabolik aktiviteleri.....	115

4.2.8	İzolatların laktik asit üretimleri.....	117
4.2.9	İzolatların antimikrobiyal etkileri.....	118
4.2.10	İzolatların gıdalarda canlılıkları	120
4.2.11	İstatistiksel Bulgular	122
5	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	125
5.1	Asit toleransı.....	130
5.2	Safra tuzu toleransı	131
5.3	Hidrofobisite.....	132
5.4	Antibiyotik duyarlılığı	133
5.5	EPS üretimi	134
5.6	Proteolitik ve metabolik aktivite	135
5.7	Laktik asit üretimi.....	136
5.8	Antimikrobiyal etki.....	138
5.9	Gıdalarda canlılıkların korunması	139
5.10	Sağlığa Etkileri	140
5.11	Bulguların önemi ve öneriler.....	141
	KAYNAKLAR.....	143
	ÖZGEÇMİŞ	161



KISALTMALAR

°C	:Santigrat
A.B.D	:Amerika Birleşik Devletleri
AMC	:Amoksisilin/klavulanik asit diski
AP-1	:Activator protein 1
ATCC	:Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
ATM	:Aztreonam
ATP	:Adenozin Trifosfat
Caco-2	:Kolon Adeno Carcinoma, Kolon Kanseri
CAZ	:Seftazidim
CHCA	: α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid matrix solüsyonu
CLSI	:Clinical and Laboratory Standarts Institute
CPD	:Sefpodoksim
CRO	:Seftriakson
CTX	:Sefotaksim
DNA	:Deoksiribo Nükleik Asit
EPS	:Ekzopolisakkarit
GSBL	:Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar
f MLP	:N-formil metiyonin leucinphenylalanine
FAO	:Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	:Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GALT	:Gut-associated lymphoid tissue, Bağırsak ilişkili lenfoid doku
GIS	:Gastrointestinal Sistem
GRAS	:Genel Olarak Güvenilir-Zararsız Kabul Edilen
IgA	:İmmunoglobulin A
IgE	:İmmunoglobulin E
IL-10	:İnterlökin 10
INF- γ	:Interferon Gamma
ISO/TS	:Uluslar arası Standart Organizasyonu/Türk Standardı
İE-DAP	:Gamma-D-glutamil-mezo-diaminopimelic asit
kob	:Koloni Oluşturan Birim
LPS	:Lipopolisakkarit
lt	:Litre
MALDI-TOF MS	:Matriks Yardımlı Lazer İyonizasyon Kütle Spektrometresi
MDP	:Muramildipeptit
MHA	:Mueller Hinton Buyyon
MHB	:Mueller Hinton Buyyon
MİK	:Minimal İnhibitör Konsantrasyonu
mm	:Milimetre
MRS	:De-Man Rogosa Sharp
MS	:Orta dereceli hassas
MUC2	:Mucin 2, Oligomeric Mucus Gel-Forming
NF-KB	:Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
P	:İstatistiksel P Değeri veya Olasılığı

PBS	:Phosphate Buffered Saline, Tampon Çözeltisi
PGE2	:Prostaglandin E2
pH	:Bir Çözeltinin Asitlik veya Bazlık Derecesini Tarif Eden Ölçü
Birimi	
PPAR	:Peroksizom proliferatör-aktive reseptör
R	:Dirençli
Rho	:Terminatör faktör
S	:Hassas
SCFA	:Kısa zincirli yağ asitleri
spp.	:Alt Tür
SPSS	:Statistical Package for the Social Sciences
T	:Timüs
TCA	:Trikloroasetik asit
TGF- β	:Tümör Nekroz Faktör Alfa
TNF-α	:Tümör Nekrozu Faktörü
VFA	:Uçucu Yağ Asitleri
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü
μg	:Mikrogram
μL	:Mikro Litre

ÇİZELGE LİSTESİ

SAYFA

Çizelge 2.1: Probiyotik olarak kullanılan bakteriler	31
Çizelge 2.2: Probiyotik bakterilerin etki mekanizmaları (Salminen ve Ouwehand 2004; Bozkurt ve Aslım 2004)	38
Çizelge 2.2: Probiyotik bakterilerin etki mekanizmaları (Salminen ve Ouwehand 2004; Bozkurt ve Aslım 2004) (Devam).....	39
Çizelge 3.1: Örnek dağılımı.....	63
Çizelge 3.2: MRS Agar (Merck 1.10660) Lactobacillus Agar acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE	64
Çizelge 3.3: MRS Broth (Merck 1.10661)	64
Çizelge 3.4: M17 agar (1.15108 Merck)	65
Çizelge 3.5: M17 broth (1.15029 Merck).....	65
Çizelge 3.6: Litmus Milk	66
Çizelge 3.7: Nutrient broth	66
Çizelge 3.8: Nutrient agar	66
Çizelge 3.9: MHA (Merck-1.05437)	67
Çizelge 3.10: MHB (Merck-110293)	67
Çizelge 3.11: Kullanılan antibiyotik diskleri ve konsantrasyonları	68
Çizelge 3.12: Kristal violet	68
Çizelge 3.13: Safranin	69
Çizelge 3.14: Lugol	69
Çizelge 3.15: Fizyolojik tuzlu su	69
Çizelge 3.16: Gliserol.....	70
Çizelge 4.1: İzolatların gıda kaynağına göre dağılımı.....	89
Çizelge 4.2: Bozadan izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 saat sonrası canlılık değerleri	93
Çizelge 4.3: Peynirden izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 Saat sonrası canlılık değerleri.....	95
Çizelge 4.4: Çiğ süttten izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 Saat sonrası canlılık değerleri.....	97
Çizelge 4.4: Çiğ süttten izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 Saat sonrası canlılık değerleri (devam)	98
Çizelge 4.5: Kefirden izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 Saat sonrası canlılık değerleri.....	99
Çizelge 4.6: İzolatların asit toleranslarının tespiti.....	101
Çizelge 4.7: Mide Dayanımını Geçen İzolatların dağılımı.....	102
Çizelge 4.8: İzolatların safra tuzu toleranslarının tespiti.....	105
Çizelge 4.9: Safra Toleransı Gösteren İzolatların dağılımı	107
Çizelge 4.10: İzolatların hidrofobisitelelerinin tespiti.....	108
Çizelge 4.11: Yüksek hidrofobisite Gösteren İzolatların dağılımı.....	109
Çizelge 4.12: İzolatların antibiyotik duyarlılıkları.....	110

Çizelge 4.13: Çalışmada kullanılan antibiyotik disklerde görülen zonların antibiyotik direnç karşılıkları (Charteris ve ark. 1998).....	111
Çizelge 4.14: Numunelerin antibiyotik disk konfirmasyon zonları (mm), antibiyogram doğrulama ve MİK (µg/ml) sonuçları	112
Çizelge 4.15: Probiyotik özellikleri olan suşlar ve kaynakları.....	112
Çizelge 4.16: İzolatların EPS üretimleri	113
Çizelge 4.17: İzolatların proteolitik aktivitesi	114
Çizelge 4.18: İzolatların metabolik aktiviteleri	115
Çizelge 4.19: İzolatların laktik asit üretim yeteneklerinin tespiti.....	117
Çizelge 4.20: İzolatların antimikrobiyal etkilerin tespiti	118
Çizelge 4.21: İzolatların gıdalarda canlılıklarının korunmasının tespiti.....	120



ŞEKİL LİSTESİ

SAYFA

Şekil 2.1: Bağırsak florasını etkileyen faktörler (Çakır 2003).....	34
Şekil 2.2: İnsan intestinal epitelyum hücrelerine <i>Lactobacillus acidophilus</i> BG2FO4 'ün yapışmasıyla ilgili önerilmiş olan model. Laktobisillerin ürettiği ekstraselüler bağlayıcı proteinler bakterinin bağırsak epitelyum hücrelerine bağlanmasında köprü işlevi görür (Bernet ve ark. 1993; Önal ve ark. 2005).	48
Şekil 2.3: Bakteri için önerilen karbonhidrat mekanizması (Köseoğlu 2007).....	58
Şekil 3.1: İzolatların mikroskopta incelenmesi.....	72
Şekil 3.2: MRS agar ve M17 agara ekim ve saflaştırma	73
Şekil 3.3: Saflaştırılan izolatların – 80 °C’de % 20’lik gliserol içerisinde saklanması 73	
Şekil 3.4: Bakteri izolasyonu	74
Şekil 3.5: Katalaz testi (Aksoy 2007).....	76
Şekil 3.6: Hidrofobisite tespiti	80
Şekil 3.7: Thermo Scientific™ Multiskan™ FC Mikroplate Spektrofotometresi.....	83
Şekil 3.8: Kültürlerin santrifüjlenerek pelletlerin elde edilmesi	84
Şekil 3.9: Skim milk agar	85
Şekil 3.10: İzolatların laktik asit üretim yeteneklerinin tespiti.....	87
Şekil 4.1: Örneklerin bölgelere göre % dağılımı	90
Şekil 4.2: Örneklerin gıdalara göre % dağılımı	90
Şekil 4.3: Bozadan elde edilen izolatların % dağılımı	91
Şekil 4.4: Peynirden elde edilen izolatların % dağılımı	91
Şekil 4.5: Çiğ süttten elde edilen izolatların % dağılımı	92
Şekil 4.6: Kefirden elde edilen izolatların % dağılımı	92
Şekil 4.7: Bozadan izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 saat sonrası canlılık değerleri	94
Şekil 4.8: Peynirden izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 saat sonrası canlılık değerleri	96
Şekil 4.9: Çiğ süttten izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 saat sonrası canlılık değerleri	99
Şekil 4.10: Kefirden izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 saat sonrası canlılık değerleri	100
Şekil 4.11: <i>Enterococcus faecium</i> suşlarının mide asitliğine tolerans durumları (%) 102	
Şekil 4.12: <i>Lactobacillus brevis</i> suşlarının mide asitliğine tolerans durumları (%)	103
Şekil 4.13: <i>Lactobacillus plantarum</i> suşlarının mide asitliğine tolerans durumları (%) 103	
Şekil 4.14: <i>Lactobacillus paraplantarum</i> suşlarının mide asitliğine tolerans durumları (%)	104
Şekil 4.15: İzolatların safra tuzu toleranslarının tespiti.....	106
Şekil 4.16: İzolatların laktik asit üretim yeteneklerinin tespiti.....	106
Şekil 4.17: İzolatların hidrofobisiteilerinin tespiti	109

Şekil 4.18: İzolatların antibiyotik duyarlılıkları	111
Şekil 4.19: İzolatların metabolik aktiviteleri (litmus milk)	116
Şekil 4.20: İzolatların antimikrobiyal etkilerin tespiti	119



BAZI GIDA ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Probiyotikler insan vücut mukozasında ve gastrointestinal sistemlerinde koloni oluşturan ve yaptıkları faaliyetler sonucunda sağlığı olumlu yönde etkileyen mikroorganizmalardır. Probiyotikler sağlığa iyi yönde katkıları dolayısıyla ve hastalıkların tedavisinde doğal destekleyiciler olarak kullanılabilir. Probiyotiklerin etkili olabilmesi için öncelikli olarak mide asitlerine ve safra tuzlarına dayanım göstermesi ve bağırsaklara transferlerinden sonra epitel hücrelere yapışarak canlı koloni oluşturması gerekmektedir. Günümüzde hastalıklara karşı koruyucu etkileri ve sağlıklı gıdaların tüketimine yönelik yoğun ilginin ortaya çıkışına bağlı olarak probiyotiklere ilgi artırmıştır. Bu araştırmada probiyotik özellikleri olduğu bilinen ve doğal özellikleri korunmuş bazı gıdalardan alternatif probiyotik özelliğine sahip türlerin ortaya çıkartılması amaçlanmıştır. Araştırmamızda 10 adet boza, 40 adet peynir, 20 adet kefir ve 60 adet çiğ süt olmak üzere toplam 130 gıda örneği mikrobiyolojik bakımdan incelenmiştir. Sonuçta; 127 adet *Enterococcus faecium*, 7 adet *Lactobacillus plantarum*, 5 adet *Lactobacillus paraplantarum* ve 5 adet *Lactobacillus brevis* olmak üzere toplam 144 adet probiyotik etkisi gösterebilecek bakteri MALDI-TOF MS (VITEK® MS) ile karakterize edilerek tiplendirilmiştir. Daha sonra ise bu bakterilerin probiyotik özelliklerine uygunluğu konusunda gerekli olan tüm testler sırasıyla uygulanmıştır. Karakterize edilen 144 adet bakteriden sadece 35 adeti mide pH'sına dayanıklı olduğu saptanmıştır. Bir sonraki basamakta ise yine 35 adet izolatlardan sadece 8 adeti safra tuzu koşullarında canlılıklarını devam ettirebilmiştir. Safra tuzu dayanıklı izolattan sadece 6'sının hidrofobite yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. Kalan 6 adet izolatın antimikrobiyel direnç durumları incelenmiş dirençliliğe ve Genişlemiş Beta Laktamaz (GSBL) varlığına rastlanmamıştır. İncelemeler sonunda 144 adet izolattan sadece 6 (4,1 %) bakterinin probiyotik özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Bunlarda; 3 adet *Lactobacillus brevis* bozadan ve 3 adet *Lactobacillus plantarum* türü kefirde izole edilmişlerdir. Kefir ve bozadan probiyotik özellik gösteren bakteri izole edilirken diğer gıda örnekleri olan süt ve peynirden ise probiyotik özellik gösteren bakteri izole edilememiştir. Pearson'un non parametrik istatistiksel korelasyonuna göre izolatların Gastrointestinal Sistem'te safra tuzlarına dayanımlarının asitliğe göre daha yüksek olduğunu, proteolitik aktiviteleri ile Ekzopolisakkarit (EPS) ve laktik asit üretimleri ve gıdalarda canlılıklarını sürdürmeleri arasında anlamlı ilişki olduğunu ($P<0,01$) ve safra tuzu dayanımları ve EPS üretiminin patojenleri inhibe edici özellik gösterdiğini ($P<0,05$) ortaya koymuştur. Sonuç olarak, kefir ve boza gibi doğal gıda ürünlerinden izole edilen transgenetik olmayan mikroorganizmalar içinden probiyotik bakterilerin endüstriyel probiyotiklere alternatif olarak üretilebileceği bu araştırmada saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Probiyotikler, Boza, Süt, Peynir, Kefir, Probiyotik özellik



INVESTIGATION OF PROBIOTIC PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA STRAINS FROM SOME FOODS

ABSTRACT

Probiotics have significant benefits for the human health. Therefore, they can be used as natural support for the treatment of disease. Probiotics positively affect the gastrointestinal tract as a result of their activities. Probiotics are colony-forming bacteria in the human body mucosa and gastrointestinal tract. It stimulates mucosal and systemic immunity. In order for probiotic bacteria to be effective, they need to resist stomach acidity and bile salts, and can reach a large number of intestinal systems alive. They need to survive on the epithelial cell surfaces of intestinal mucosa and be colonized. The recent studies on probiotics provided that they contribute to lactose digestion, cancer preventing effect, stimulating immune system, reducing allergy preventive effect on cardiovascular disease, hypertension inhibitory effect, inhibitory effect of urogenital diseases, gastritis and ulcer-inhibiting effect was found for preventive effect on hepatic encephalopathy. In the present time, for the protective effect against diseases and consumption of healthy foods due to the emergence of the strong interest and increased interest in probiotics. Therefore, their well-known probiotic properties and natural features are intended to elicit alternative strains of preserved food. In this study, a total of 130 food samples (10 Boza, 40 cheeses, 20 pcs kefir and 60 raw milk) were microbiologically examined for the presence of probiotic bacteria. 144 strains were isolated, and identified by using MALDI-TOF MS (VITEK® MS). All necessary tests in compliance with the probiotic properties of these bacteria were applied. Of 144 bacterial strains, only 35 were resistant to gastric pH. After that, only 8 isolates from 35 isolates were able to survive under bile salt conditions. It was determined that only 6 of bile salt-resistant isolates have hydrophobicity ability. The remaining 6 isolates were examined for antimicrobial resistance and the presence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) resistance, and no strain was found as ESBL positive. Finally, we revealed that only 6 (4.1%) bacteria of 144 isolates were found to have probiotic properties, including . 3 *Lactobacillus plantarum* from kefir and 3 *Lactobacillus brevis* from boza. However, no probiotics could be isolated from other food samples such as milk and cheese. Statistically, Pearson's non-parametric statistical correlations based on GIS isolates is higher than the acidity of resistance to bile salts showed a significant association with bile salt resistance ($P < 0.05$) revealed. As a result, alternative non-transgenic strains of probiotic bacteria for industrial probiotics isolated from natural food products we were determined. Therefore, presented that probiotic bacteria could be produced as an alternative to industrial probiotics through non-transgenic microorganisms isolated from natural food products such as kefir and boza.

Keywords: Probiotics, Boza, Milk, Cheese, Kefir, Probiotic Properties



1 GİRİŞ ve AMAÇ

Probiyotikler insan ve hayvan bağırsak mikrobiyal dengesini düzelterek yararlı bir şekilde etkileyen canlı organizmalardır. Probiyotiklerin gerek sağlıklı bir gelişme gerekse hastalıkların tedavisinde ve doğal destekleyiciler olarak kullanılabilir. Bu bakteriler besin maddeleri için zararlı mikroorganizmalarla rekabete girerek bağırsak yüzeyinde kolonize olurlar ve bununla beraber gastrointestinal sistemdeki faaliyetleri ile sağlığı olumlu yönde etkilerler. Bunun yanı sıra bağırsak mikrobiyal ekosistem dengesini sağlamasıyla sağlığa olumlu etkilerinin olduğu Metchnikoff'un 1845 ve 1916 yılları arası yaptığı çalışmalarından itibaren bilinmektedir (Metchnikoff 2004).

Gastrointestinal sistemin büyük bir bölümü olan bağırsaklarda antibiyotik kullanılması, dengesiz beslenme ve bazı bağırsak hastalıkları vb. sonucunda zararlı (patojen) bakteriler, aynı ortamı paylaşan yararlı (probiyotik) bakterileri engelleyerek bağırsakta kolonize olmaya çalışırlar. Probiyotikler ise bağırsak epitelyum duvarlarına yapışarak, bu zararlıların bağırsaklara girişini inhibe ederler (Polewski ve ark. 2016). Bu doğrultuda uzun yıllar yapılan çalışmalarda immün sistemin stimüle edilmesi, gastro intestinal sistem düzensizliklerinde ve hastalıklarına karşı probiyotik alımının gerekli olduğu klinik deneyler ile kanıtlanmıştır (Butel 2014).

Yapılan bu çalışmalarda probiyotiklerin; yeni doğan çocuklarda *Escherichia coli*'ye bağlı ishal ve ölümleri engellediği bildirilmiştir (Martin ve ark. 2013; Doğan 2011). Ayrıca probiyotikler kolonda sindirilmeyen oligosakkarit yapısında olan diyet liflerini fermentasyon sonucunda parçalayarak uçucu yağ asitleri oluşturmakta bunlardan bütirik asit oluşumunun kolon kanserini engellediği bildirilmektedir (Cui ve ark. 2011). Probiyotikler bakteriyel laktaz enzimi ile laktozun sindirimine katkısı, IgA üretiminin artırılması ile immün sisteminin stimüle edilmesi, antijen etkiye sahip maddelerin dolaşım sistemine geçişinin engellenmesi ile alerjinin azaltılması yönünde bulgular tespit edilmiştir (Kailasapathy ve ark. 2013). Probiyotiklerin antioksidasyon etkisi ile kalp hastalıklarını önleyici etkisi, üreter ve vajinal bölge yüzeylerinde kolonize olmasıyla ürogenital hastalıklarda önleyici etkisi

raporlanmıştır (Reid ve ark. 1990). Bunların yanında *Helicobacter pylori* inhibitörlerin üretimi ile gastrit ve ülser önleyici etkisi, üreaz üreten bağırsak florasının engellenmesi ile serum amonyak düzeyinin düşmesini sağlayarak hepatik ensefalopati oluşumunu engelleyici etkisi olduğu bildirilmiştir (Butel 2014; Kailasapathy ve ark. 2013; Nagpal ve ark. 2012; Kechagia ve ark. 2013; Thushara ve ark. 2016). Bununla beraber çocukların ishal tedavilerinde *Lactobacillus rhamnosus*, bağırsak hastalıklarını önleyici yönde *Lactobacillus plantarum*, kolon kanserini önleyici yönde yine laktobasil türlerinden *Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus acidophilus*, kalp hastalıklarını tedavi edici yönde *Lactobacillus rhamnosus* rapor edilmiştir (Basu ve ark. 2007; Goldenberg ve ark. 2013; Gan ve ark. 2014; Johnson ve ark. 2016; Kumar ve ark. 2013; Tall ve ark. 2016). Probiyotiklerin kolon kanseri, ülser ve gastrit, alerji ve diyabet gibi hastalıkları tedavi edici yönde bulgulara rastlanmıştır (Georgiev ve ark. 2015; Lee ve ark. 2013; Ejtahed ve ark. 2012).

Yapılan bir çalışmada laktobasil türlerinden oluşturulmuş ticari bir kültür karışımının kolon kanserine neden olan tümör hücrelerini inhibe edici yönde antiproliferatif etkisinin olduğu bildirilmiştir (Georgiev ve ark. 2015). *Helicobacter pylori* 'nin neden olduğu enfeksiyonlara karşı laktobasil türlerinin ve özellikle *Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus acidophilus*'un tedavi edici yönde olumlu etkisinin olduğu bildirilmiştir (Wang ve ark. 2013). Probiyotik *Lactobacillus brevis* ile yapılan bir in vivo çalışmada anafilaksiyi azaltıcı yönde anti alerjik etki gözlemlenmiştir (Lee ve ark. 2013). Yapılan bir çalışmada probiyotik takviyesi verilen diabetik hastalarda HbA1c ve açlık kan şekerinin azalttığı yönde bulgular mevcuttur (Ejtahed ve ark. 2012). Bu nedenle birçok hastalığa karşı farklı etkide olan yeni probiyotik türlerinin geliştirilerek koruyucu hekimlikte kullanılması önemlidir. Bu durum sağlık açısından probiyotiklerin; ek gıda takviyesi veya gıdalardan alınmaları hedef tüketici sağlığı üzerinde yaratacağı olumlu etkiler açısından önemini artırmaktadır. Günümüzde hastalıklara karşı koruyucu etkileri nedeniyle probiyotiklere karşı ilgi artmıştır. Probiyotiklere olan ilgi arttıkça beraberinde yeni probiyotik ürünlerinin geliştirilmesi çalışmaları hız kazanmıştır. Bir çok ülkede biyoteknolojik araştırmalar sonucunda oluşturulan inovatif probiyotik ürünlerle biyoteknoloji pazarına hakim olmak için birbirleriyle rekabet etmektedirler. Probiyotik pazarı ve tüketimi ile ilgili yapılan araştırmalarda; 2011 yılında A.B.D'de \$ 28 milyon tutarında harcama yapıldığı bildirilmiştir (Tall ve ark. 2016). Bunun yanı sıra probiyotik olarak

kullanılabilecek bakterileri FDA GRAS (genel olarak güvenli kabul edilen) olarak tanımlanmışlardır.

Gıdalardan alınan probiyotiklerin beklenen yararlı etkiyi gösterebilmeleri için mide asitliğine ve safra tuzlarına karşı direnç gösterip canlı olarak intestinal sisteme ulaşmaları ve bağırsak mukozasının epitelyum hücre yüzeylerinde yaşayabilmeleri ve kolonize olmaları gerekmektedir (Otlés 2013). Probiyotiklerin asitliğe ve safra tuzuna karşı toleransları ve bağırsağa yapışma kapasiteleri, proteolitik özellikleri, laktik asit üretim yetenekleri gibi özelliklerinin araştırılması ve geliştirilmesi gıda biyoteknolojisinin hedeflerindedir. Bu özellikler aynı zamanda probiyotiklerin seçiminin en temel kriterleridir (Ranadheera ve ark. 2014; Maragkoudakis ve ark. 2006).

Çalışmamızda starter kültür içermeyen, doğal özellikleri korunmuş ve probiyotik bakteri içermeye olası yüksek gıdalardan probiyotik özellikleri olan alternatif türlerin ortaya çıkartılması amaçlanmış ve bunların gerçekten bu özelliğe sahip olup olmadığı araştırılmıştır. Türkiye'nin Marmara, İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinden sağlanan boza, peynir, kefir, çiğ süt örneklerinden izole edilen, tür ve suş bazında tanımlanan bakterilerin probiyotik özellikleri ve endüstriyel probiyotiklere alternatif olma durumları araştırılmıştır. Bu amaçla bakterilerin izolasyonu, identifikasyonu, performans testleri gerçekleştirilmiştir. Boza, peynir, kefir ve çiğ süt örneklerinden izole edilen bakteriler MALDI-TOF MS (VITEK® MS, bioMérieux, Marcy l'Etoile/Fransa) ile tanımlanması ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bakterilerden *Lactobacillus (L.) brevis*, *Lactobacillus (L.) plantarum*, *Lactobacillus (L.) paraplantarum*, *Enterococcus (E.) faecium* suşlarının probiyotik özelliklerinin incelenmesi ve performanslarının belirlenmesi için test parametreleri belirlenmiştir. Daha sonra ise bu parametreler arasındaki ilişki Pearson'un non parametrik istatistiksel korelasyonuna göre verilmiştir.



2 GENEL BİLGİLER

2.1 Probiyotik ve probiyotik bakteriler

Probiyotik terimi Yunancadan türetilen “Pro Biyo” kök sözcüklerinden gelir ve “Yaşam için” anlamına gelmekte olup ilk defa Lilly ve Stillwell tarafından 1965’te “Bir mikroorganizmanın salgıladığı ve diğer canlının gelişmesine yardımcı olan metabolitler” olarak ve 1971 yılında ise Sperti bu terimi mikrobiyal çoğalmaya yardımcı doku ekstraları için kullanmıştır (Ebner ve ark. 2014; Yiğit 2009).

Probiyotikler günümüze en yakın anlamını ilk kez 1974’te Parker kullanılmış ve intestinal mikrobiyal dengeyi koruyan mikroorganizmalar ve metabolitler şeklinde tanımlamıştır. Parker’ın yaptığı tanımdaki metabolitler ifadesi çıkarıldığında probiyotiğin günümüz anlamı tamamen ortaya çıkmaktadır (Lee ve Salminen 2009).

Guarner’a göre “Probiyotikler gıdalarla yeterli sayıda alındıklarında beslenmenin yanında sağlığa iyi yönde etkide bulunan canlı mikroorganizmalardır (Guarner 1998).

Salminen’in tanımıyla probiyotikler “İnsan sağlığını ve beslenmesini olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalar ile fermente edilmiş süt ürünleridir” (Salminen 1999).

Kısaca probiyotikler intestinal sistemde mikrobiyal flora dengesini olumlu yönde artırıcı etkileri olan canlı tek veya karışım mikrobiyal gıda katkı maddeleri olarak tanımlanmıştır (Fuller 1992).

Probiyotik bakteriler belli sayılarda sağlıklı insanın vücut mukoz membranı ve intestinal sistemlerin epitelyum hücre yüzeylerinde yaşayan ve kolonize olan mikroorganizmalar olup mikrobiyal florada dengeyi sağlayarak mukozal ve sistemik bağışıklığı stimüle ederler. İnsan sindirim sisteminde mikroorganizma florasında yaşayan 500 civarında farklı türde patojen ve/veya sağlığa yararlı (probiyotik) mikroorganizma belirli bir dengede bulunmaktadır. Gereksiz antibiyotik

kullanımı, enfeksiyon vb. bir çok hastalık nedeniyle patojen mikroorganizmalar sağlığa yararlı probiyotiklerle rekabet ederek bağırsağa yerleşmelerini engellemeye çalışırlar. Probiyotik bakteriler ise bağırsak mukozasına yapışarak patojen bakterilerin bağırsağa yerleşmesini engellerler (Fijan 2014;Timmerman ve ark. 2004; Gönülateş 2008).

Probiyotik bakteriler bağırsak duvar epitel hücreleri olan mukozadan salgılanan mukozda çoğalabilmekte ve bu salgıda bulunan müsini enerji kazanımı için kullanmaktadırlar. Gastrointestinal sistemlere transfer olan probiyotik bakterilerin canlı kalabilmesi; bunun yanında etkili olabilmeleri için sindirim pH'sına, safra tuzuna dayanıklı olması ve bağırsak hücre duvarlarına tutunarak koloni oluşturmalarına bağlıdır (Goktepe 2007; Kahraman 1993).

2.1.1 Probiyotik bakteri olarak kullanılan mikroorganizmalar

Probiyotik bakteriler genellikle laktik asit bakteri grubunda yer almaktadırlar. Probiyotik bakteriler Gram (+), sporsuz, çubuk, O₂ toleransına göre anaerop veya fakültatif anaerop olarak iki ana grupta değerlendirilebilir. Laktobasil gibi probiyotik bakteriler intestinal kanallarda redoks potansiyelini düşürdüğü rapor edilmiştir. Bu tür bakteriler substratlar transfer ederek karbonhidrat ve proteinleri metabolize edebilmektedirler. Oksijensiz ortam fosforilasyonunda elektron alıcı olarak rol oynayan metabolitler üretebilmektedirler. Anaerop fermentasyon sonucunda laktik asit, süksinat, asetat, propiyonat, bütirat, kısa zincirli uçucu yağ asitleri, hidrojen, karbondioksit, metan gibi mikrobiyal metabolit son ürünler üretilir (Dhanasekaran ve ark. 2008).

Yoğurt üretiminde kullanılan bakteriler (*Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) haricindeki diğer laktik asit bakterisi olan probiyotikler bağırsak mikroflorasında yaşayabilir ve çok sayıda bulunurlar (Timmerman ve ark. 2004; Yaşar ve Kurdaş 2009).

Probiyotik olarak adlandırılan bazı bakteri türleri, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus lactis*, ***Lactobacillus brevis***, ***Enterococcus faecium***, ***Lactobacillus plantarum***, ***Lactobacillus paraplantarum***'dur (Lee ve Salminen 2009; Yaşar ve Kurdaş 2009).

Çizelge 2.1: Probiyotik olarak kullanılan bakteriler (Lee ve Salminen 2009)

Laktobasil türleri	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus paraplantarum</i> , <i>Lactobacillus johnsonii</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i>
Bifidobakteri türleri	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium thermophilum</i>
Bacillus türleri	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus pumilis</i> , <i>Bacillus lentus</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus coagulans</i>
Pediococcus türleri	<i>Pediococcus acidilactici</i> , <i>Pediococcus pentoseceus</i> , <i>Pediococcus cerevisiae</i>
Streptococcus türleri	<i>Streptococcus cremoris</i> , <i>Streptococcus intermedius</i> , <i>Streptococcus lactis</i> , <i>Streptococcus diacetilactis</i>
Bacteriodes türleri	<i>Bacteriodes capillus</i> , <i>Bacteriodes juis</i> , <i>Bacteriodes ruminicola</i> , <i>Bacteriodes amylophilus</i>
Propionibacterium türleri	<i>Propionibacterium shermanii</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i>
Leuconostoc türleri	<i>Leuconostoc mesenteroides ssp. mesenteroides</i>
Enterococcus türleri	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
Küfler	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus oryzae</i>
Mayalar	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida torulopsis</i>

2.1.2 Probiyotiklerin Özellikleri

Probiyotik bakteriler Gram (+), spor oluşturmeyen, katalaz negatif, çubuk veya kok şeklinde olabilir. Probiyotik bakteriler midenin asit ortamına ve safra tuzlarına probiyotik olmayanlara nazaran çok daha fazla dayanım göstermektedir (Lee ve Salminen 2009; Yaşar ve Kurdaş 2009). Probiyotiklerin % 3 'lik safra tuzu ortamında aktivitelerine devam ettiği tespit edilmiştir. Bakteriler tarafından proteolitik enzimlerin üretildiği ve böylece normal bağırsak mikroflorasında bu bakterilerin proteinleri metabolize ettiği sonucuna varılmıştır (Novik ve ark. 2006).

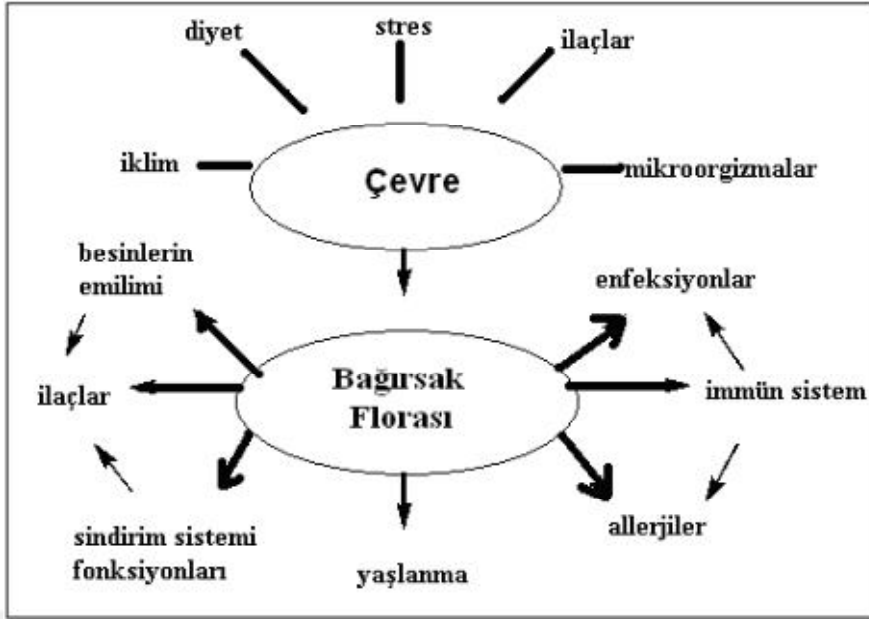
Probiyotikler bağırsak sisteminde; özellikle laktik asit bunun yanında asetik asit, bakteriyosin vb. inhibitör metabolitler üreterek zararlı bakterilerin varlığını engeller ve bağırsak mikroflorasının dengede kalmasını sağlarlar. Sağlıklı insan intestinal ekosistemi olan mikroflorasında probiyotik bakterilerin türü ve sayısal miktarları zamanla sabit bir hal almaktadır. Fakat enfeksiyon vb. hastalıklar, düzensiz ve dengesiz beslenme alışkanlıkları, gereksiz antibiyotik alımı vb. faktörler intestinal sistemlerde probiyotiklerin azalmalarına neden olur. Bununla beraber bağırsaklarda patojen bakteri sayısı artar ve hastalıklar ortaya çıkabilir. Probiyotik bakterilerin en önemli yeteneklerinden biri, bağırsak duvar mukozasına yapışabilmesidir. Yapışma yeteneği mikroorganizmanın bağırsak yüzeyinde canlı koloni oluşturması için gerekli olan en önemli bir özelliktir. Böylece probiyotik bakteriler intestinal epitelyum yüzeylere yapışarak patojenlerin yapışmasını engellemiş olurlar. Sindirim işlemi esnasında bağırsağın peristaltik hareketlerinden çok fazla etkilenmeden hızla çoğalarak sağlıklı mikrofloranın devamını sağlarlar (Ott 2013; Timmerman 2004; Yaşar ve Kurdaş 2009).

2.2 Gastrointestinal Sistem Florası ve Önemi

İnsanla simbiyotik ilişki içinde olan ve bu konakçıda canlılıklarını devam ettiren çok sayıda mikroorganizma vardır. Bu tür organizmaların yokluklarında gastrointestinal sistem hastalıkları ve bunu yanında çeşitli enfeksiyon hastalıkların oluşması kaçınılmazdır. İnsan vücudu ve bağırsak sistemi hücre sayısının 10–20 katı kadar mikroorganizma barındırmaktadır (Donaldson 2016).

Gastrointestinal sistem (GIS) enfeksiyonlara neden olabilecek patojen mikroorganizmaların en önemli giriş yollarından biri olmasına rağmen bu sistemin anatomik, kimyasal ve biyolojik bariyerleri enfeksiyon oluşumunu inhibe eden en önemli savunma mekanizmalarıdır. Bu mekanizmalar doğrudan ve dolaylı yollarla enfeksiyonun gelişimini engellerler. Sindirim sistemi mikrobiyası doğumda sterildir. Ancak doğum esnasında annenin vajinal ve fekal florasında bulunan laktobasil suşları, az miktarda *Escherichia coli* ve *Streptococcus* bebek sindirim mikrobiyasına geçmektedir. Bebek anne sütü ile beslenmeye başladığında bifidobakteri türleri artmaya başlar ve anne sütü almaya devam ettiği süre boyunca Bifidobakteri türleri florada baskın koloni oluştururlar. Sindirim sistemine yerleşen bu probiyotik etkili bakteriler yeni doğan bebekte hastalıklara karşı bir bağışıklığın oluşmasına katkı sağlarlar. Sağlıklı bebeklerde iki yaşından sonra erişkin bir bireyin bağırsak florasının benzeri flora oluşur. Bağırsak mikrobiyasında çevresel faktörlerin (iklim, diyet, stres, antibiyotik kullanımı, mikroorganizmalar vb.) yanında hastalık ve yaşlılık gibi nedenlerle patojen bakterilerin kolonizasyon riski artmaktadır (Isolauri 2004).

Sağlıklı bir insan mikroflorasında probiyotiklerin patojenlere karşı baskın koloni oluşturması sonucu patojen kolonizasyonuna karşı bir bariyer fonksiyonu oluşturduğu ve böylece immün sistemin geliştirilerek enfeksiyon ve alerji gibi hastalıkların azaldığı görülmüştür (Fuller 1992).



Şekil 2.1: Bağırsak florasını etkileyen faktörler (Çakır 2003)

Probiyotik bakterilerin bağırsaklarda sellülozu parçalamasıyla oluşan düşük pH, hidrojen sülfür ve kısa zincirli yağ asitleri patojen mikroorganizmaların oluşumunu engellemektedir.

Aslında intestinal mikroflora ve konakçı arasında oluşan denge karmaşık bir ekosistemdir. Son yıllarda insan gastrointestinal sistemindeki karmaşık mikrobiyal ekosistemine ilgi artmış ve bunun nedeni mikrobiyal ekosistemin koloni yapısının insana zararlı veya sağlıklı olmasıyla ilişkilendirilmesidir.

İnsanlarda bağırsak ekosisteminin mikroflorası genellikle fakültatif anaerob ve zorunlu anaeroblardan oluşmuş ve % 95'i *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* ve *Bacteroides* türlerinin içinde bulunduğu zorunlu anaerob , % 1-10'nunda ise Laktobasil, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* ve *Bacillus* türlerinin olduğu fakültatif anaeroblar bulunmaktadır (Delgado 2004; Kavas 2007).

2.2.1 Probiyotik Bakterilerin Aktivasyon ve Etki Mekanizmaları

Probiyotiklerin aktivasyon ve etki mekanizması üzerine yapılan ilk çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasında çıkan dengesizlikler ile GIS hastalıkları arasındaki ilişkiye odaklanılmıştır (Klaenhammer ve Kullen 1999; Salminen ve ark. 1999).

Probiyotiklerin etki mekanizmaları konusunda oluşan bilgiler doğrultusunda çoklu etki mekanizmalarının olabileceği ve her suşa özel işlevsel mekanizmalar öne sürülebilmektedir (Gueimonde ve Salminen, 2006).

Bununla birlikte günümüzde probiyotiklerin GIS'te aktivasyon ve etki mekanizması için özetle 3 olasılık öne sürülebilir (Oelschlaeger 2010; Salminen 1999; Forestier ve ark. 2001).

Patojen mikroorganizmaların inhibe edilmesi;

- a. Patojen mikroorganizmaları inhibe edici metabolitler (bakteriyosin vb.) üretmeleri,
- b. Besinler için diğer mikroorganizmalarla rekabet içinde olmaları,
- c. Koloni oluşturmak için diğer mikroorganizmalarla rekabet içinde olmaları; sonuçta bağırsak epitel bariyerini güçlendirerek diğer mikroorganizmaların (patojen vd.) lokalize olmalarını engellemeleri

GIS'te enzimatik aktivitenin değiştirilmesi;

- a. Sindirimi etkin hale getiren enzimlerin üretilmesi,
- b. Toksik etkili enzimlerin azaltılması,
- c. Kolon epitel hücre işlevlerinin iyileştirilmesi,

İmmün sistemin stimüle edilmesi;

- a) Antikor sayısal artışı,
- b) Makrofaj aktivasyonunun artışı,

Probiyotik bakterilerin diğerk mikroorganizmalar için inhibe edici özelliği olan maddeleri GIS’de salgılaması sonucu,

- Diğerk mikroorganizmaların reseptörü ile probiyotik bakteriler rekabet oluştururlar.
- İntestinal sistemde epitel bariyer fonksiyonunu geliştirir.
- Gut-associated lymphoid tissue (GALT) ;bağırsak ilişkili lenfoid doku etkileşimini güçlenir.

Kısaca aktivasyon mekanizması GIS’te diğerk mikroflara bakterileri ile kimyasal inhibisyon ve düzenleme, besin materyalleri için rekabet ve intestinal dokulara yapışma rekabeti içerisinde olmasıyla açıklanmaktadır (Otlis 2013).

Böylece probiyotik bakteriler bağırsak yüzeyine tutunarak patojen bakterilerin tutunmasını engeller, ürettikleri antimikrobiyal maddelerle (laktik asit, hidrojen peroksit vb.) bu bakterilerin çoğalmalarını kontrol altına alırlar.

Probiyotik bakterilerin % 3 ‘lük safra tuzu ortamında aktivitelerine devam ettiği, proteolitik enzimlerin pH 2,5–9,0 aralığında üretilerek proteinleri metabolize ettiği sonucuna varılmıştır (Novik ve ark. 2006).

Probiyotik bakteriler tarafından üretilen protein ve protein kompleksleri diğerk türler için antimikrobiyal etki mekanizmasını doğuran nedenlerdendir. Örneğin bakteriyosin üretimi ile diğerk mikroorganizmaları engelleme işlevi görüldür.

Probiyotik bakteriler kısa zincirli yağ asidi (SCFA) metabolik olarak üretmekte diğerk ve organizmalar için antimikrobiyal etki oluşturmaktadır.

Probiyotik bakteriler intestinal kanalda karbonhidrat fermantasyonu gerçekteştirmektedir. *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bifidobacterium animalis* veya *Lactobacillus casei türü* probiyotik bakteriler karbonhidratları metabolize ederler. Hekzozlar fructose-6-phosphate’a fructose-6-phosphate phosphoketolase enzimi yardımıyla fermente olurlar. Fermantasyon sonucu 3/2 oranında asetat ve laktat (laktik asidin sodyum (Na) ve potasyum (K) tuzu) son ürünü çıkar.

Bifidobakteri, laktobasil ve enterokok gibi probiyotik bakteriler metabolik fonksiyon olarak laktoz fermantasyonu sonucu laktik ve asetik asit üretmekte ve ortam pH’sını düşürmektedir. Buda patojenik mikroorganizmalar için gelişimini inhibe edici etki oluşturmaktadır. Probiyotik bakteriler fermantasyon sırasında saccharolytic (şekeri parçalayarak) yol izlerler. Laktobasiller metabolik yol ağısından homofermentative

veya heterofermentative yolla glikozu metabolize eden türlerdir (Fooks ve ark. 2002).

Laktobasiller homofermentative fermantasyon süreci sonunda iki pürivat molekülü oluşur daha sonra laktata dönüşür. Bu tip fermantasyonda her mol glikoza karşılık iki mol ATP üretilir. heterofermentative fermantasyonda pentoz fosfat yolu izlenir. Sonuçta laktat, karbondioksit ve etanol her bir glikoz için 1 ATP üretilir. Bu süreçte phosphoketolase enzimi temel işlev görür (Chichlowski 2006).

Hemodiyaliz hastalarında yapılan araştırmalarda probiyotik bakterilerin toksinlerin alımını inhibe etmeleri konusunda bir mekanizma öne sürülmüştür. Böbrek hastalarının uzun süre diyalize girmeleri nedeniyle böbreklerden tam olarak süzilemeyen üremik toksinler (fenoller, üre, ürik asit, hippürik vb.) ve bağırsaklarda oluşan toksik maddelerden dolayı nörolojik problemleri oluşmaktadır. Bu tür böbrek hastalarına probiyotik verildiğinde bağırsak mikroflorasının değiştiği ve toksik madde varlığının tamama yakın azaldığı tespit edilmiştir (Fang ve ark. 2014).

Probiyotik bakterilerin olası etki mekanizmaları aşağıda özetlenmiştir.

Antimikrobiyal metabolitler üretirler:

Probiyotik bakteriler Gram (+) ve Gram (-) mikroorganizmalara karşı etkili birçok metabolit üretmektedir. Bunlar organik asitler (laktik asit, asetik asit vd.), hidrojen peroksit, bakteriyosin gibi bakterisidal proteinlerdir. Özellikle laktik asit ortam pH'sını düşürerek diğer bakteriler için uygun olmayan bir durum oluşturmaktadır. *Lactobacillus acidophilus* Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı etkili olan asidofilin ve laktosidin ve *B. bifidum*'un bifidin adı verilen bir antimikrobiyal madde ürettiği belirlenmiştir (Takeda 2011).

Tutunma bölgelerini bloke ederler:

Probiyotikler tutunma bölgeleri için patojenlerle rekabete girerek intestinal sistemde ekolojik mikrobiyatayı kaplar; patojen kolonizasyonlarına direnç gösterir ve epitele tutunma ve epitele yerleşmelerini engel olur. Tutunma bölgesinde mukus yapımını uyarırlar ve epitel ve mukozanın engel oluşturma işlevini güçlendirirler. Ayrıca Mucin 2'yi (MUC2, Oligomeric Mucus Gel-Forming) uyararak patojenlerin tutunmalarına engel olur (Bernet ve ark. 1993).

Besin maddeleri için rekabet ederler:

Probiyotik bakterilerin patojen mikroorganizmalara gerekli olan besin maddelerini tüketerek, onların üremelerine engel olurlar.

GIS mikroflorasını düzenler:

Probiyotik bakteriler gastrointestinal sistem mikrobiyal dengesini stimüle ederek sağlığa faydalı etkilerini göstermektedirler (Carlson ve Slavin 2016, Frece ve ark. 2005).

Etki mekanizmaları Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2: Probiyotik bakterilerin etki mekanizmaları (Bozkurt ve Aslım 2004)

Yararlı etki	Etkinin mekanizması
Laktozun sindirilmesi	Bakteriyel laktaz ile laktozun sindirimi (Sanders 1998)
Kalsiyum emilimindeki artış	Fitik asitin parçalanması ve düşük pH’la beraber kalsiyum çözünürlüğündeki artış (Cashman 2003)
Enterik patojenlere karşı direnç	Kolonizasyonun oluşumu ile intestinal sistemin patojenlere uygun olmayan ortam oluşturması (pH düşüşü, kısa zincirli yağ asitleri ve bakteriyosin üretimi), toksine bağlanma yüzeylerinin yapısal olarak değişimi, bağırsak mikroflorasının üzerindeki etki, bağırsakta müsin üretimini stimüle ederek patojenlerin epitel hücrelere yapışmasını engellemek
Akut ishalin iyileşmesi	Kolon mikrobiotasının düzenli hale gelmesiyle
Enflamatuvar bağırsak hastalıklarında tedavi	Müsin sentezindeki artışla beraber lokal ve sistemik yanıtın, bağırsak epitel bariyer işlevinin ve mikrobiota dengesinin düzenlenmesi
Ürogenital	Ürinar ve vajinal bölge hücrelerine yapışma ve yüzeylere çok iyi şekilde kolonize olabilme, inhibitör madde üretimi (hidrojen, oksijen ve biyosülfaktant)
Alerji	Antijen etkisi olan materyallerin vücut dolaşım sistemine transferinin engellenmesi

Çizelge 2.2: Probiyotik bakterilerin etki mekanizmaları (Salminen ve Ouwehand 2004; Bozkurt ve Aslım 2004) (Devam)

Yararlı etki	Etkinin mekanizması
Kolon kanserini önleyici etki	İmmün sistemi güçlendirme, mutajenik materyalleri bağlama, kısa zincirli yağ asitlerinin oluşturulması ile kanser hücrelerinin oluşumunu engellenmesi, kanser yapıcıların aktivitelerini inhibe etme, intestinal sistem mikroorganizmalarının ürettiği kanser yapıcı materyalleri üreten enzimlerin engellenmesi, laktasif etki ile toksik metabolitlerinin kolonda kalışlarının azalması, ikincil safra tuzu derişimlerini etkileme (Laparra ve Sanz 2010).
İmmün sisteminin düzenlenmesi	Antijene özgü olarak bağışıklık yanıtı yardımcı etki, IgA üretiminin artırılması, tümör ve enfeksiyon oluşumunu engelleyici spesifik olmayan savunma mekanizmasını güçlendirilmesi (Timmerman ve ark. 2007).
Enfeksiyonlara yakalanma riskinin azaltılması	IgA ve müsin sentezindeki artış
Kan lipidleri ve kalp hastalıkları	Kolesterol maddelerinin mikroorganizma tarafından asimilasyonu, safra tuzu hidrolazın dekonjugasyonunun artması ile safra tuzlarının atımının artırılması ile lipid çözünürlüğünün ve emilimin düşürülmesi, antioksidan etki (Laparra ve Sanz 2010).
Hipertansiyonu önleyici etkisi	Peptidaz enziminin süt proteinlerine etki etmesi ile oluşan tripeptidler angiotensin1 enzim dönüşmesini engellemesi, hücre duvarı bileşenlerinin angiotensin 1 enzim engelleyicisi şeklinde hareket etmesi
<i>Helicobacter pylori</i> 'nin neden olduğu enfeksiyonlar	<i>Helicobacter pylori</i> inhibitör maddelerin (laktik asit, bakteriosin v.b.) üretimi (Dugas ve ark. 1999).
Hepatik ensefalopati	Üreaz üreten intestinal mikrofloranın engellenmesi
İltihaplı bağırsak hastalıkları	Kısa zincirli yağ asitleri üreterek iltihabın engellenmesi (Wolin ve ark. 1998).

2.3 Probiyotiklerin İnsan Sağlığı Üzerine Yararlı Etkileri

Probiyotiklerin gerek sağlıklı bir gelişme gerekse hastalıkların tedavisinde ve doğal destekleyiciler olarak kullanılabilir. Bu bakteriler besin maddeleri için zararlı mikroorganizmalarla rekabete girerek bağırsak yüzeyinde kolonize olurlar ve bununla beraber gastrointestinal sistemdeki faaliyetleri ile sağlığı olumlu yönde etkilerler. Yapılan çalışmalarda probiyotiklerin; yeni doğan çocuklarda *Escherichia coli*'ye bağlı ishal ve ölümleri engellediği bildirilmiştir (Polewski 2016).

Ayrıca probiyotikler kolonda sindirilmeyen oligosakkarit yapısında olan diyet liflerini fermantasyon sonucunda parçalayarak uçucu yağ asitleri oluşturmakta bunlardan bütürik asit oluşumunun kolon kanserini engellediği bildirilmektedir (Cui 2011).

Probiyotikler bakteriyel laktaz enzimi ile laktozun sindirimine katkısı, IgA üretiminin artırılması ile immün sisteminin stimüle edilmesi, antijen etkiye sahip maddelerin dolaşım sistemine geçişinin engellenmesi ile alerjinin azaltılması yönünde bulgular tespit edilmiştir. Probiyotiklerin antioksidasyon etki ile kalp hastalıklarını önleyici etkisi, hücre duvarı bileşenlerin angiotensin 1 enzim inhibitörleri gibi davranmasıyla hipertansiyonu önleyici etkisi, ürinar ve vajinal bölge yüzeylerinde kolonize olmasıyla ürogenital hastalıklarda önleyici etkisi raporlanmıştır. Bunların yanında *Helicobacter pylori* inhibitörlerin üretimi ile gastrit ve ülser önleyici etkisi, üreaz üreten bağırsak florasının engellenmesi ile serum amonyak düzeyinin düşmesini sağlayarak hepatik ensefalopati oluşumunu engelleyici etkisi olduğu bildirilmiştir (Butel 2014; Kailasapathy 2013; Nagpal ve ark. 2012; Kechagia ve ark. 2013).

Bununla beraber çocukların ishal tedavilerinde *Lactobacillus rhamnosus*, bağırsak hastalıklarını önleyici yönde *Lactobacillus plantarum*, kolon kanserini önleyici yönde yine laktobasil türlerinden *Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus acidophilus*, kalp hastalıklarını tedavi edici yönde *Lactobacillus rhamnosus* rapor edilmiştir (Basu ve ark. 2007; Goldenberg ve ark. 2013; Gan ve ark. 2014; Johnson ve ark. 2016; Kumar ve ark. 2013).

Probiyotiklerin sağlık açısından yararları aşağıda özetlenmiştir.

İşhali iyileştirme yönünde yararlı etkileri; özellikle bebek ve çocuklarda enterotoksijenik *Escherichia coli* ve Rota virüs sıklıkla görülebilmektedir. Fermente gıdalarla birlikte alınan probiyotiklerin ishal süresini azaltmasının yanı sıra yeni doğan ocuklarda *Escherichia coli* 'ye bağlı ishal ve ölümleri engellediği bildirilmiştir (Polewski ve ark. 2016).

***Helicobacter pylori* enfeksiyonu;** probiyotikler *Helicobacter pylori* inhibitörleri (organik asitler, hidrojen peroksit ve peptit vb. düşük moleküllü metabolitler) retimi ile gastrit ve ülser önleyici etkisine sahiptir. Bazı araştırmalarda probiyotik bakteri içeren yoğurdun *Helicobacter pylori* bakterisine etkisine bakılmıştır. Geleneksel yoğurttan *Lactobacillus kefiri*, *Lactobacillus fermentoshensis*, *Issatchenkia orientalis*, *Lactobacillus crispatus*, *Kluyveromyces lactis* bakterilerinin izolasyonu sağlanmış ve bu bakterilerin farklı yollarla (laktik asit ve diğer organik asitler, alkol ve bakteriosin üretimi) 10 farklı *Helicobacter pylori* suşunun tamamının gelişimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir (Gürsoy ve Kınık 2006). Probiyotik *Lactobacillus salivarius* türlerinin *Helicobacter pylori* suşunun gelişimini engellediği saptanmış ve bu engelleme mekanizması laktik asit üretimi henüz bilmediğimiz mekanizmalar ile gerçekleşmektedir. Ayrıca *Lactobacillus salivarius*'un *Listeria monocytogenes* enfeksiyonu engellediği görülmüştür (Frece ve ark. 2005).

Laktoz intolerans; Laktozun bağırsaklarda sindirilebilmesi için ince bağırsakta bulunan β -galaktosidaz enzimine gereksinim duymaktadır. Bu nedenden dolayı laktaz enzimi salgılamaması veya yetersiz salgılanması ile ilgili durumlar laktoz intoleransa neden olmaktadır. Probiyotiklerin bakteriyel laktaz enzimi ile laktozun sindirimine katkısıyla laktoz intoleransı azaltıcı etkisi olmaktadır. Yapılan araştırmalarda *Lactobacillus acidophilus*'lu süt tüketmenin laktozun sindirimini kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Swagerty ve ark. 2002).

Lactobacillus acidophilus içeren sütle beslenmenin laktozun sindirilmesinde etkili olduğu ve bununda *Lactobacillus acidophilus* ' un bağırsaktaki işlevinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Shiby ve Mishra 2013).

Kolesterol; probiyotik içeren süt ürünlerinin tüketiminin serum kolesterol seviyesini düşürdüğü tespit edilmiştir (Pan ve ark. 2011; Sirilun ve ark. 2010).

İmmün sistemin stimüle edilmesi; probiyotikler gastro intestinal sisteme düzenleyici etki göstererek bağışıklık sistemini stimüle ettiği öne sürülmektedir. Bunu ise artan bağırsak geçirgenliğini azaltması ve bağırsak mikrobiyotasını iyi yönde değiştirilmesi ile açıklanabilmektedir (Sillanpaa 2001).

Probiyotik bakterilerin GIS'teki faaliyetleri sonucu immün yanıtın olumlu etkileri şunlardır:

- Probiyotik bakteriler bağırsak yüzeyinde kolonize olmalarıyla antimikrobiyal madde üretimini (asitler ve bakteriyosinler), mukus salgısını artırır ve böylece mukozanın bariyer fonksiyonlarını güçlendir ve patojen mikroorganizmaların epitele tutunmasını engellemektedirler (Yiğit 2009).
- İnce bağırsak paneth hücreleri ve epitel dokularında bakterisidal faktörlerden olan defensin yapımını stimüle ederler (Gönülateş 2008).
- Nitrik oksit yapımını artırır (Gönülateş 2008).
- Terminatör faktöre (Rho) bağlantılı veya bağlantısız şekilde epitelin işgalini engellerler (Gönülateş 2008).
- Bütirat ve diğer kısa zincirli yağ asitleri oluşturulur (Wang ve ark. 2014).
- Bakterilerin enzimlerinin salgıladığı protein benzeri faktörler, N-formil metiyonin leucinphenylalanine (f MLP), lipopolisakkarit (LPS), peptidoglycan hücre duvarı yapımı, muramildipeptit (MDP), gamma-D-glutamil-mezo-diaminopimelic asit (İE-DAP), bakteriyel deoksiribonükleik asit (DNA) gibi faktörleri ile mukozal bağışıklık sistemini stimüle ederler. (Fedorak ve ark. 2004).
- NF-KB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) ve AP-1 (Activator protein 1) yolları (patway) düzenler (Blum 2001).
- PPAR (peroksizom proliferatör-aktive reseptör)'ü uyarırlar (Bassaganya-Riera ve ark. 2012)
- İntestinal kanalda redoks potansiyelini düşürürler (Nayir, 2008).
- Bu mekanizma tam olarak bilinmemesine rağmen probiyotik bakteriler INF- γ ve TNF- α ekspresyonunu azaltmaktadırlar, IgA, IL-10, PGE2 ve TGF- β ekspresyon ve salınımını arttırmaktadırlar, T hücre apoptozisini ve T (reg) hücrelerini uyarırlar, dendritik hücrelerin fenotip ve işlevlerini düzenlerler (Ji 2009).

- Probiyotik bakteriler bağırsakta antimikrobiyal aktiviteyi, IgA'yı, mukus salgısını artırır, epiteller arası bağlantıları güçlendirir, epitele patojenlerin tutunmasını engellerler (Ozden 2008).
- Regülatuar T hücrelerini aktive eder, IgE'yi azaltırlar. Böylece intestinal epitel doku hücrelerine etki mekanizmasında enflamasyona karşı proinflammatory sitokin üretimini azalttığı ve bunun sonucu alerjiyi engelleyici rol oynadığı belirlenmiştir (Paul ve Jakki 2008; Çakır 2004; Frece ve ark. 2005).

Yukarıda sayılan nedenlerden dolayı probiyotik bakterilerin konakçının hücresel ve humoral immün yanıtını güçlendirdiği düşünülmektedir (Yiğit 2009).

2.4 Probiyotik Bakteri Olma Kriterleri

- Normal insan intestinal sistem mikoflorasından olmalıdır.
- Düşük pH ve safra tuzları gibi olumsuz çevresel faktörlerden etkilenmeden intestinal sistemde metabolize olabilmelidir.
- İntestinal epitel hücrelerine yapışabilmeli ve kolonizasyon sağlayabilmelidir.
- Bağırsak yüzeylerinde canlı hücre sayıları büyük sayıda olmalıdır.
- Üretim ve depolamada canlılıklarını ve aktivitelerini devam ettirebilmelidirler.
- Konakta immün sistemi stimüle edici etki gösterebilmelidirler.
- Güvenli olmalı ve kullanıldığında yan etki göstermemeli,
- Karsinojenik ve patojenik bakterileri olumsuz etkilememelidir.
- Antimikrobiyal maddeler üretmelidir.
- Kesinlikle patojenik özelliğe sahip olmaması gerekmektedir (Friedman 2005; Gönülateş 2008; Timmerman ve ark. 2004).

2.4.1 Probiyotik bakterilerin asit tolerans özelliği

Bir mikroorganizmanın probiyotik özelliklerini gösterebilmesi için bağırsaklarda ve endüstriyel işlemler sırasında canlı kalması gerekmektedir. Asit tolerans özelliği; pH genellikle 2,5 ila 3,5 arasında değişen ve açlık ile 1,5'e kadar düşebilen ve her gün 3 litre kadar mide suyu salgılayan mide ortamında probiyotiklerin canlı kalabilme yeteneğidir. Bu nedenle probiyotiklerin seçiminde ilk aranması gereken seçim ölçütlerinden biri mide asitliğinden en az şekilde zarar görmeleridir (Ramirez-Chavarin ve ark. 2013, Aimutis 2001; Çakır 2003, Vernazza ve ark. 2005).

Probiyotiklerin ilk fizyolojik sorunu kolana ulaşmadan önce canlı savunma mekanizması olan (pH 1,5-3,0) mide asitliği diyebiliriz (Dianawati ve ark. 2016; Ashraf ve ark. 2016; Masco ve ark. 2007). Bundan dolayı midenin asidik ortamına dayanım gösterip canlı olarak bağırsağa ulaşmaları gerekmektedir. Böylece asit dayanımı gösteren probiyotikler midenin asidik ortamında canlılıklarını koruyabilirler ve bağırsaklara ulaşarak, burada kolonize olabilmeleri için avantaj sağlamış olurlar (Vasiljevic ve ark. 2008).

Probiyotikler midenin asidik ortamına diğer mikroorganizmalardan daha fazla tolerans gösterebilmekte ve mide asitliğinde canlı kalabilmekte, bağırsağa canlı olarak ulaşabilmekte ve burada da canlılığını koruyabilmektedir (Shah 2001).

2.4.2 Probiyotiklerin Safra Toleransı Özelliği

Mide asitliğini geçen bakteriler daha sonra safra organik (safra tuzları, kolesterol, fosfolipitler, bilirubin) ve inorganik (su, elektrolitler) bileşiklerin sulu bir karışımı ile karşılaşmaktadırlar (Pan ve ark. 2011). Safranin nicelik olarak en önemli bileşenleri fosfatidilkolin (lesitin) ve safra tuzlarıdır. Kalın bağırsağa gelen safra bileşenleri mikrobiyal aktivite sonucunda kimyasal değişimlere uğramaktadır (Tahri ve ark. 1997). Bu nedenle probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların ince bağırsakta da canlılığını koruyabilmeleri için safraya tolerans göstermeleri gerekmektedir (Maldonado ve ark. 2015).

Probiyotik bakterilerin GIS'te canlılık ve fonksiyon gösterebilmelerine katkı sağlaması nedeniyle mide asitliği toleransının yanı sıra safra tuzu toleransları bakterilerin seçiminde kullanılan önemli ölçütlerden biridir. (Vasiljevic ve ark. 2008,

FAO/WHO 2002; Champe ve ark. 1997; Demain 1999; Burns ve ark. 2008; Succi ve ark. 2005; Gürsoy ve Kınık 2006).

Karaciğerde kolesterol kullanılarak sentezlenmiş olan safra asitleri transfer edilmeden önce bir molekül glisin veya taurin aminoasitleri ile konjuge edilen; (safra asidinin karboksil grubuyla bileşiğin amino grubu arasında amid bağıyla oluşmuş) safra tuzları; safra kesesinde depolanır, gerek duyulduğu zaman safra kanalı yoluyla duodenuma salgılanırlar. Bunlar taurokolik asit, taurokenodeoksikolik asit, glikokenodeoksikolik asit ve glikokolik asitdir (Önal 2005; Begley ve ark. 2006; Mathara ve ark. 2008; Pan ve ark. 2011).

Karaciğerden ince bağırsağa (3–5 g/l safra içerir) günde 500-700 mL miktarında safra salgılanır. Safra; biyolojik bir deterjan gibi hareket ederek lipitleri emülsifiye eder ve bunların çözündürülerek bağırsaklardan emilimlerine yardımcı olur. Bunun yanında bakterilerin lipit ve yağ asidi içeren hücre membranlarına büyük oranda zarar vermesinin yanında bakteri DNA'larına zarar verir (Onal 2005; Mathara ve ark. 2008; Muñoz-Atienza ve ark. 2013; Vasiljevic ve ark. 2008; Patel ve ark. 2004; Begley ve ark. 2006; Dunne ve ark. 1999; Demain 1999).

Safra toleransı testlerinde % 0,3 - % 0,5 konsantrasyonda fizyolojik Ovgall kullanımı önerilmektedir (Mathara ve ark. 2008). Papamanoli ve ark. (2003) ise % 0,1-2,0 aralığında beş farklı Ovgall konsantrasyonu ile yaptıkları çalışmada % 0,3 konsantrasyon kültürlerinin canlılıklarının korunması diğer konsantrasyonlara göre ayırt edici bir özellik olarak gözlemlenmiş ve % 0,3 konsantrasyonun probiyotik bakteri testlerinde kullanılabilir kritik değer olduğunu belirtmiştir. Ovgall antimikrobiyal etki gösterebilecek konjuge ve dekonjuge safra bileşenlerini içermektedir (Liong ve Shah 2005; Klingberg ve ark. 2005).

2.4.3 Probiyotiklerin İntestinal Kanal Epitel Yüzeylerine Yapışma (adezyon,tutunma) Özelliği ve Hidrofobisite

Probiyotik bakterilerin intestinal sistemin epitel ve mukozal yüzeylere yapışmasıyla beraber kolonizasyonlarını ve uzun süre sistemde kalabilmeyi sağlaması, konak immün sisteminin modüle edilmesi, zarar gören mukozanın tamir edilmesi ve enteropatojenlere karşı antimikrobiyal aktivite sayesinde enteropatojenlerin kolonizasyonunu azalttığı için önemli olduğu belirtilmektedir.

Bu nedenle probiyotik bakterilerin seçiminde bağırsak mukozasına yapışma özelliği en önemli kriterlerden biridir. İntestinal sistemin epitel ve mukozal yüzeylere yapışmasıyla hidrofobisite gibi kompleks işlemler gerektirdiğinden bakteri hücrelerinin yapışması genellikle epitel hücrenin yüzey yapısı ile ilişkili bulunmuştur (Collado 2007).

Probiyotik bakteriler intestinal sistemdeki yapışma alanlarına ulaşabilmesi için midenin asitli ortamından geçebilmesi gerekmektedir. İntestinal sisteme ulaşan probiyotik bakterilerin peristaltik hareketlerle bağırsaklardan kayıp gitmemesi için bağırsak mukus yüzeyine ve epitel hücrelerine yapışması zorunludur (Alp 2008).

İntestinal sistem epitelyumunu kaplayan mukus mikroorganizmaların yapışma, tutunma ve kolonizasyonu için önemli ilk yüzeysel temas bölgesi olup, epitel bezler ve hücrelerinden salgılanan jelimsi bir yapıdan oluşmasının ötesinde; disülfid bağlarıyla birbirine bağlanan müsin; yüksek glikolizatlı protein monomerlerinin polimer şeklindeki molekülleridir. Müsinin diğer bileşenleri; epitel hücrelerin bileşimleri olan protein, lipit ve DNA' yı içerir.

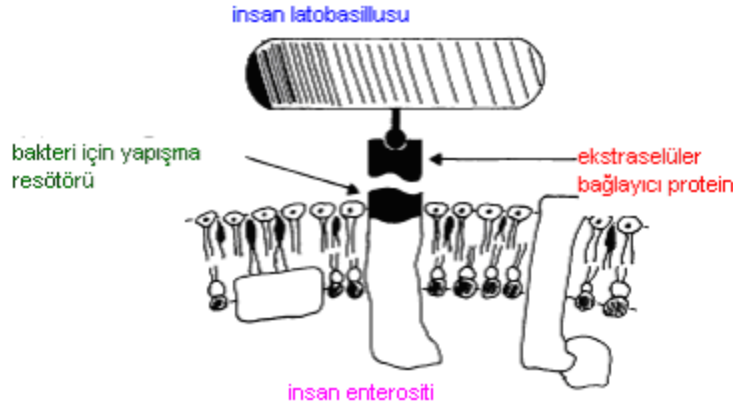
Probiyotik bakterilerin epitel yüzey ve mukuslarda koloni oluşturulabilmesi için yapışmaları gerekmekte ve böylece patojen mikroorganizmalar ürettikleri antimikrobiyal maddelerle intestinal sistem yüzeyinde patojenlere karşı bariyer oluştururlar (Turabian 1996). Özellikle insan in vivo bakteriyel yapışma araştırmaları esnasında zorluklar oluşmaktadır. Bu sebeple probiyotik bakterilerin yapışma mekanizma araştırmalarında in vitro yapışma modelleri geliştirilmiştir.

Araştırmacılar intestinal sistem epitelinde bulunan insan adenocarcinoma hücrelerini izole ederek mikrobiyolojik çalışmalarda enterositler gibi kolon adeno carcinoma (caco-2) doku kültür hücreleri çoğunlukla kullanılmaktadır. Caco-2 hücreleri normal ince bağırsak villus hücrelere birçok özelliği ile benzediğinden *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio cholerae* ve enteropatojenik ve enterotoksijenik *Escherichia coli* ile yapılan yapışma araştırmalarında kullanılmaktadır. Caco-2 hücreleri sadece mikroorganizmaların yapışma mekanizmasıyla ilgili çalışmaların yanında, bu mikroorganizmaların patojen mikroorganizmalarla aynı ekosistem için nasıl savaşım içinde olduklarını gösteren araştırmalar da kullanılmıştır. Bunun yanında kullanılan modeller; bağırsak mukusu ve ileostom glikoproteinleridir (Önal ve ark. 2005).

Yapışmayı sağlayan etkiler in vitro olarak saptanmasına rağmen bakterilerinin epitel yüzeye tutunmasının mekanizması tam olarak yine de açıklanamamıştır (Turabian 1996).

Probiyotik bakterilerin bağırsak epitel hücrelerine yapışması çalışmalarında birçok araştırmacının odak noktası bakteri hücre yüzeyindeki bileşimlerden olan bakteriyel adezinler ve reseptörler olmuş ve tutunma bakterilerin yüzey ile etkileşimleri sonucu gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. Hücre adezyonu yüzey ile hücre arasında gerçekleşen çok adımlı bir sürecin hücre membranının yapısı ve bileşimi ile yüzey etkileşimi belirlemektedir (Alp 2008).

İntestinal epitelyum yüzeylere patojen bakterilerin yapışmasıyla bağırsak enfeksiyonların yolunun açıldığı belirtilmektedir. Bu bakterilerin mukozal alıcı yapışkan materyalleri mukozal yüzeylere yapışmayı sağlamaktadır. Probiyotik bakterilerin bağırsak mukozasına yapışma yetenekleri sayesinde rekabetle dışarıda bırakılarak patojen bakterilerin yapışmasının engellenebileceği sonucuna varılabilir. Bazı laktobasil türlerinin patojenlerin yapışmasını inhibe ettiği bulunmuştur. Örneğin laktobasillerin bazı suşlarının domuz enterositlerine *Escherichia coli* 'nin yapışmasının engellediği tespit edilmiştir (Tuomola 1999). Yapılan bir çalışmada *Lactobacillus gasseri*'nin karbonhidrat ve proteinlerin yapışma için gerekli olduğu Ca^{+2} 'un yapışmada etkili olduğu saptanmıştır. Sonuçta Laktobasiller 'in insan intestinal epitel hücrelerine yapışmasının, bakteri yüzeyinde bulunan karbonhidrat ve proteinlerin farklı kombinasyonlarıyla oluşmuş mekanizmayla gerçekleştiği ileri sürülmüştür (Önal ve ark. 2005).



Şekil 2.2: İnsan intestinal epitelium hücrelerine *Lactobacillus acidophilus BG2FO4* 'ün yapışmasıyla ilgili önerilmiş olan model. Laktobisillerin ürettiği ekstraselüler bağlayıcı proteinler bakterinin bağırsak epitelium hücrelerine bağlanmasında köprü işlevi görür (Bernet ve ark. 1993; Önal ve ark. 2005).

Yapılan çalışmalarda *Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus rhamnosus GG* (ATCC 53103) türlerinin *Escherichia coli* ve *Salmonella* türleri ile yaptığı rekabet sonucu intestinal doku hücrelerine yapışma yeteneklerini azaldığı tespit edilmiştir (Tuomola 1999). İnsan doku kültürü modelleri çalışmalarında; intestinal sistemdeki epitel yüzeylere yapışmaya fizikokimyasal özellik olan hidrofobisitenin aracılık ettiği tespit edilmiştir (Del Re 1998; Gomez 2002).

Probiyotik bakteri hücrelerinin barındırdığı karbonhidratlar bakteri ile ekstraselüler yapışma artırıcı faktör arasındaki etkileşimden kısmen sorumlu olduğu ve mukus preparatları ile polisitrene yapışma arasındaki ilişki hidrofobik etkileşimlerin yapışmada da rol oynayabileceği bildirilmektedir (Önal ve ark. 2005).

Probiyotik bakterilerin dış yüzeylerinin hidrofobik oluşu bağırsaklara güçlü yapışma yeteneği ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Yüksek hidrofobisite diğer mikroorganizmalarla yarışmada probiyotiklere avantaj sağlayarak insan bağırsak mikrobiasında yaşamını sürdürmesini getirir (Melgar-Lalanne ve ark. 2015, Todorov ve ark. 2007; Vinderola ve Reinheimer 2003, Jara ve ark. 2011, Collado 2007;2008; Naidu ve ark. 1999).

Yapışmada intestinal sistemdeki epitel hücre yüzeyinin hidrofob oluşu yüzey yükleri ile ilgili olması ve bakteri hem de epitel hücre yüzeyleri negatif (-) yükünün olması bu itici gücün özel etkileşimlerle aşılmasını gerektirir (Del Re 2000). Probiyotik bakterilerin intestinal sistemin epitel hücrelere yapışmasını sağlamada n-

hegzadekana mikrobiyal yapışma geçerli bir niteleyici fenomenolojik bakış açısıdır (Vinderola ve Reinheimer 2003).

Laktobasil türlerinin epitel hücrelere yapışması ile hücre yüzey hidrofobisitesi arasında pozitif bir ilişki olduğu ve tespit edilmiştir (Tuomola ve ark. 1999; Jara ve ark. 2011). Epitel hücre yüzeylerine yapışma için hidrofobisitenin gerekli olduğu bildirilmiştir (Schachtsiek ve ark. 2004).

2.4.4 Probiyotik bakterilerin antibiyotik duyarlılık veya dirençlilik özellikleri

Probiyotik bakteri seçiminde, antibiyotiklere karşı duyarlılık veya dirençlilik önemli bir seçim kriteri olarak görülmektedir (Gismondo ve ark. 1999; Saarela ve ark. 2000; Yuksekdag ve Aslim 2010).

Antibiyotiklerin yaygın ve bilinçsiz kullanılması antibiyotiklere karşı dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkmasının yanında; özellikle patojen bakterilere farklı mikroorganizmalardan antibiyotik direnç genlerinin önemli risk faktörü olarak aktarılma olasılığı dünyamızda büyük bir sağlık problemi şekline dönüşmesine neden olmuştur. Bunun yanında artan antibiyotik kullanımı probiyotik bakterilerin insanlarda tedavi için kullanılmakta olan antibiyotiklere karşı dirençli olması sonucuyla laktobasil türlerinde çoğunlukla eritromisin ve tetrasiklin dirençliliği görülmüştür (Özteber 2013).

Probiyotik bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanmasının ve antibiyotik direnç genlerinin yayılmasının bu bakterilerin güvenilirliği açısından üzerinde önemle durulması gereken bir konu olduğu belirtilmektedir. Antibiyotik direnci bakterinin yapısından kaynaklanan kendi doğal özelliği olabilmesinin yanında mutasyonlar sonucu veya gen transferi ile oluşmaktadır. Doğal özellikle veya mutasyonlarla kazanılan antibiyotik direnç genlerin transferi çok düşük olasılıktır. Bununla birlikte sonradan kazanılmış dirençlilik genetik mutasyon ve başka bakterilerden DNA transferi ile edinilen direnç genleri aktarılma olasılığının yüksek olması ile transfer edilen bu genlerin tek başına hastalık etmeni olmamasına rağmen patojen bakterilerin antibiyotik direnç kazanmasıyla hastalık oranlarının artması, süreçlerinin uzaması ve ölüm sıklıklarının yükselmesi gibi riskleri mevcuttur (Ammor ve ark. 2007).

Birçok araştırma probiyotik ürünlerin ve geleneksel fermente gıda ürünlerin tüketilmesinin büyük oranlarda artması ile probiyotik bakterilerin patojen bakterilere antibiyotik dirençlilik genlerini aktarma riskini beraberinde getirmesi; insanda sağlık sorunlarına neden olabileceğini belirtmektedir (Saarela ve ark. 2000).

Kısacası FAO/WHO (2002) tarafından belirlenen kritere göre, antibiyotiklere karşı direnç kazanımının ve antibiyotik direnç genlerinin yayılmasının bu bakterilerin güvenilirliği açısından sorun oluşturmakta ve intestinal sistem yapısına zararlı olan bu suşlar probiyotik olarak kullanılamazlar (Muñoz-Atienza ve ark. 2013; Yuksekdağ ve Aslım 2010, Hereros ve ark. 2005).

Bu nedenle transfer edilebilir antibiyotik direnç genlerinin probiyotik bakteriler tarafından özellikle patojen bakterilere aktarılma riski nedeniyle antibiyotik dirençliliği bakımından kontrol edilmesi gerekmektedir (Ouoba ve ark. 2008; Dewan and Tamang 2007, Ammor ve ark. 2007).

Bakterilerin antibiyotiğe dirençliliği genlerle ilişkilidir ve genellikle konjugasyonla beraber plazmidler aktarma işlevini görürler (Cebeci ve Gürakan 2003). Birçok araştırmacı probiyotik bakterilerin patojen veya benzeri zararlı bakterilerin antibiyotik direnç genleri yönü ile kaynak olabileceğini belirtmekte ve bu bakterilerin patojen bakterilere antibiyotik direnç genlerini transfer etme yeteneklerinin sağlık açısından önemli bir problem oluşturduğunu bildirmektedirler (Sharma ve ark. 2014).

Ancak antibiyotiklere karşı direnç gösteren birçok probiyotik bakterinin özelliklerinin doğal özellik olduğu ve diğer mikroorganizmalara aktarılamayacağı öne sürülmektedir. Fakat mutasyon veya bakteriyel genoma gen kazanımı ile plasmidlerde kodlanarak elde edilen antibiyotik direnç özelliği mikroorganizmalar arasında paralel olarak transfer edilebilir özelliktedir (Mathur and Singh 2005; Zhou ve ark. 2005). Antibiyotiklere direnç genlerinin transfer potansiyeli ve lokalizasyonu üzerinde odaklanılmıştır. Bazı kültürlerde plasmidlerde diğer mikroorganizmalara transfer edilebilen antibiyotik direnç genleri tespit edilmiştir (van Reenen ve ark. 2011; Ouoba ve ark. 2008).

Yapılan araştırmalarda laktobasil türlerinden bağırsak florasında bulunan patojen bakterilere sınırlı oranda antibiyotik direnç genlerinin transferinin mümkün olabileceği belirtilmiştir (Temmerman ve ark. 2003; Mathur and Singh 2005).

Yapılan birçok çalışmada intestinal sistemdeki bakterilerin çoğunluğunun aynı tip antibiyotiklere karşı direnç göstermiş olmaları bakteriler arasında direnç genlerinin aktarılma ve yayılma ihtimalini kanıtlamaktadır (Ammor ve ark. 2007; Herreros ve ark. 2005; Larson ve ark. 2008; Mathur 2005).

Probiyotik bakterilerin en önemli gereksinimleri onların direnç genlerini taşıyor olan hareketli ögeleri barındırmamalarıdır. Bazı araştırmalar ise; doğası gereği vankomisine direnç genini taşıyan laktobasil türlerinin güvenilir bir şekilde probiyotik olarak kullanılabilceğini ve hiçbir kanıtın bu genin diğer türlere aktarıldığını göstermediği belirtilmiştir (Gotcheva ve ark. 2002).

Bazı araştırmalar patojenik enterokokların gıdalar aracılığıyla taşınıp taşınmadığı yönünde yoğunlaşmış ve hayvan ve insan intestinal sisteminde, toprakta ve hayvansal gıdalarda bulunabileceği belirtilmiştir. Tehlikeli insan patojeni olan diğer mikroorganizmalar için yatay transferi sağlanabilen antibiyotik direnç genlerinin kaynağı olduğu vurgulanmaktadır. Bu nedenle de gıdalardan izole edilen enterokokların kazanılmış antibiyotik dirençlilik özellikleri yönüyle de incelenmesi gerektiği aktarılmaktadır (Sharma ve ark. 2014;Semedo ve ark. 2003; Moreno ve ark. 2006, Larson ve ark. 2007).

Enterokoklar sağlığa yararlı özelliklerinden dolayı probiyotik olarak da kullanılmaktadırlar. Ancak bazı Enterokoklar antibiyotik dirençliliğinin olması sonucunda patojenik özellikler gösterebilirler. Probiyotik olarak enterokokların kullanımına bazı ülkelerde antibiyotik direnç genlerinden dolayı şüphe ile yaklaşılmaktadır (Lund ve Edlund 2001). Ama bu özellik suşa bağlı olarak ortaya çıktığından probiyotik olarak kullanılacak Enterokok suşları antibiyotik dirençlilik genleri taşımayan suşlardan seçilebilir. Modern analiz teknikleri ile Enterokok suşlarının özellikleri hakkında elde edilecek güncel bilgi ve bulgular; endüstriyel kullanım için güvenilir suşların seçiminde yararlı olacaktır (Otlés 2013; Moreno ve ark. 2006; Fortina ve ark.2008).

2.4.4.1 GSBL (Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz)

1983 yılında *Klebsiella pneumoniae* patojenine karşı yapılan antibiyotik çalışmaları sırasında ilk defa GSBL fark edilmiş daha sonrasında *Enterobacteriaceae* suşlarında tespit edilmiştir. GSBL oksimin beta laktam antibiyotiklerden sefotaksim, seftazidim, seftriakson vb.'lerine direnç gösteren enzimler olmasının yanında plazmidle genlerini diğer bakterilere transfer edebilmektedirler. Birçok GSBL üreten suşlar 1980' lerde hastane kaynaklı iken 2000'lerden sonra ve günümüzde toplum kaynaklı olmasıyla dikkat çekmektedir (Hernandez ve ark. 2003).

Beta-laktamlar üstün etki spektrumlarının olması, patojenik mikroorganizmalar için yüksek ve seçici toksisiteleri, tüm yaş gruplarında uygulanabilir olmaları, diğer grup antibiyotiklere göre düşük yan etki göstermeleri ve tüm vücut sıvılarına büyük oranda dağılım göstermeleri nedeniyle günümüzde tüm antibiyotikler içinde % 70'e oranda kullanılan antibiyotiklerdir. Beta-laktam antibiyotiklerin gereksiz, uygunsuz ve yoğun kullanımıyla mikroorganizmaların bu antibiyotiklere olan dirençleri hızla artmıştır (Roy ve ark. 1983).

Beta-laktamazlar; başlangıçta penisilin ve birinci kuşak sefalosporinleri hidrolize edebilen plazmid kaynaklı enzimlerken, sonrasında bu enzimleri kodlayan genlerdeki mutasyonlarla beraber GSBL olarak adlandırılan üçüncü kuşak sefalosporinleri ve aztreonamı hidrolize edebilen yeni beta-laktamazlar tanımlanmıştır (Sirot ve ark. 1995).

Bu enzimlerin en önemli özelliği genellikle klavulanik asit, daha az olarak da sulbaktam veya tazobaktam gibi antibiyotiklere duyarlı olmalarına karşın sefamisinler ve tüm sefalosporinlere karşı etkilidir (Jacoby 1994). Günümüzde 200'den fazla GSBL tanımlanmış olup ülkemiz ve tüm dünyada yaygın olarak bulunmaktadır. Plazmid aracılığıyla kolay yayılmaları, salgınlara yol açabilmeleri, bu suşların etken olduğu enfeksiyonlarda tedavi başarısızlığı ve mortalite artışı gibi ciddi sağlık sorunları GSBL enzimleri kaynaklıdır (Gür 1997).

2.4.4.2 GSBL'lerin Klinik Önemi

Hastalıkların birçoğunun dirençli bakterilerden kaynaklanması GSBL'lerin önemi klinik açıdan artırmaktadır. Beta-laktamaz sentezi enterik Gram (-) bakteriler için en önemli antibiyotik direnç mekanizması olması ve bu bakterilerin direnç problemlerinin çoğunlukla klinik çalışmaları halk sağlığının en önemli zincirin olduğunu göstermektedir. Ancak bunun dışında toplum hijyeni, gıda güvenliği gibi konular klinik öncesi başvurulması gereken en önemli yollardandır.

2.4.4.3 GSBL Tanı Yöntemleri

Birçok bakteri türlerinin GSBL varlığı rutin duyarlılık testleri ile tanımlanamamaktadır ve bu nedenle spesifik yöntemler geliştirilmiştir. Ayrıca GSBL üretim hızındaki artış, plazmid aracılığı ile kolay yayılmaları, salgın, tedavi başarısızlığı, mortalite artması gibi ciddi klinik sorunlarına neden olmaları tanımlanmalarını zorunlu kılmaktadır (Gülay 2004). GSBL üreten bakteriler geniş spektrumlu sefalosporinlere ve aztreonama dirençli olmalarına rağmen sıradan antibiyotik duyarlılık testlerinde duyarlı olarak belirlenebilmekte ve bu durum tedavi sırasında sorunlara yol açabilirler. Bu nedenle GSBL tarama ve doğrulama testlerinin hızlı ve güvenilir laboratuvar testleri ile yapılmalıdır (Samaha-Kfoury ve Araj 2003).

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) bu testlerin izolatlarının rutin olarak GSBL üretiminin tespiti ve doğrulanması standardına göre disk difüzyon testinde GSBL üretimi için sefotaksim, seftazidim, sefpodoksim antibiyotiklerine karşı duyarlılık saptanması gerekmekte ve duyarlılık azaldığında disk difüzyon doğrulama testi uygulanmalıdır.

CLSI (2013) standartlarına göre klavulanik asit içeren/içermeyen seftazidim ve sefotaksim diskleri kullanılır ve kombine olan disklerin etrafındaki zonlara bakıldığında klavulanik asit içerenle içermeyen eş diskler arasındaki zonlar karşılaştırıldığında ≥ 5 mm fark varsa GSBL üretiminin olduğu düşünülmektedir.

Tanımlama testlerinin temel prensibi GSBL'in beta laktamaz inhibitörü antibiyotiğe karşı gösterdiği duyarlılıktan yararlanılmasıyla yapılan 7 farklı yöntem aşağıdaki gibidir:

- Disk taraması
- Disk tarama konfirmasyonu

- Sıvı mikrodilüsyon yöntemi (MİK)
- E test
- Boronik asit
- Üç boyutlu test
- Otomatize sistemler

2.4.4.4 Disk Taraması

0,5 McFarland bulanıklık standardı bakteri yoğunluğundaki süspansiyonu Mueller Hinton besiyerine yayılarak, klavulanik asit (10 µg) içeren ve klavulanik asit içermeyen, seftazidim (30 µg) ile sefotaksim (30 µg) diskleri yerleştirilir. Sonrasında bir gün 37 °C' de inkübasyona bırakılır. İnhibisyon zonları ölçülerek klavulanatlı ve klavulanatsız farklar karşılaştırılır. Bu türdeş diskler arasındaki fark ≥ 5 mm olan suşlar, GSBL üretimi açısından pozitif olarak kabul edilir (Gülay 2004).

2.4.4.5 Disk Tarama Konfirmasyonu

McFarland 0,5 bulanıklık olarak hazırlanan bakteri süspansiyonu aynı şekilde MHA besiyerine yayılarak petrinin orta noktasına bir amoksisilin/klavulanik asit diski (AMC 20/10 µg) ile diskin merkezleri arasında 30 mm uzaklık olacak şekilde seftriakson (CRO), seftazidim (CAZ) veya aztreonam (ATM), sefotaksim (CTX), veya sefpodoksim (CPD) antibiyotik diskleri konulur. 18 saat 37°C' de inkübasyon sonunda, amoksisilin/klavulanik asit diskinin doğru sefalosporin veya aztreonam disklerinin etrafındaki inhibisyon zonunun genişlemesi veya arada bakteri üremesinin olmadığı bir etkileşim alanı bakterinin GSBL üretim varlığını belirtmektedir (Gülay 2004).

2.4.4.6 Sıvı Mikrodilüsyon Yöntemi

Seftazidim ve sefotaksim MİK değerleri, tekli ve klavulanik asitli olarak bulunur. MİK değerleri karşılaştırıldığında klavulanik asit ortamında ≥ 8 kat azalma oluyorsa sonuç GSBL (+) olarak belirlenir (Gülay 2004).

2.4.4.7 Otomatize Sistemler

Bakteriyolojide kullanılan VITEK®MS (bioMerieux, Marcy l'Etoile/Fransa) ve BD-Phoenix (Becton Dickinson, Sparks, MD/ABD), Mikro-scan panel test gibi otomatize sistemler de GSBL üretimini saptamaktadırlar. Çeşitli kuralları kullanarak GSBL üretimini saptayan bu sistemler karbapenem dirençli *K. pneumoniae* suşları dışındaki tüm penisilinleri, sefospolinleri ve aztreonamı dirençli kayıt ederler (Endimiani ve ark. 2010).

2.4.5 Probiyotiklerin EPS üretim özelliği

Bakterilerin ürettikleri polisakkaritler hücrel konumlarına göre sınıflandırılmakta olup hücre duvarının dışına salgılanan polisakkaritler EPS'dir (Ruas- Madiedo ve ark. 2006). Bakterilerin hücre duvarı dışına salgıladıkları EPS yüksek molekül ağırlıklı şeker polimerleridir (Wang ve ark. 2010). EPS'ler bakteri suşları tarafından katabolize edilemediklerinden onlar için enerji kaynağı değildir.

Ancak çevrelerine salgıladıkları EPS'ler ile fagositoz ve faj ataklarına, organizmadan sitokin salgılanmasına, antibiyotiklere ve toksik maddelere, ozmotik strese karşı, mikroorganizmayı ve/veya ortamı kurumaya karşı koruyarak ilgili bakteriyi zararlı ortamdaki uzaklaştırmış olur EPS'ler toksik maddelerden bakteriyi ortamdaki metal iyonlarının tutulmasını sağlayarak korumaktadır (Tyvaert ve ark. 2006; Şengül ve ark. 2006). EPS'ler bakterinin olumsuz çevre koşullarından korunmasını ve böylece intestinal yüzeylere tutunmasıyla beraber biyofilm oluşturmasını sağlar; bu durum EPS üreten bakteriye intestinal sistemde stabil olarak kalabilme ve baskın koloni olma yolunu açar (Ruas- Madiedo ve ark. 2006).

Probiyotik bakterilerin yapışkan polimer olan (EPS) üretimi bu bakteriler birbirine bağlanarak intestinal yüzeyde kolonize olmasını ve canlılıklarını devam ettirebilmesini sağlayan önemli bir özelliktir (Mozzi ve ark. 2006). EPS üretim özelliği probiyotik olarak kullanılacak bakteri için daha fazla avantaj sağlayarak önemini arttırmıştır (Ruas- Madiedo ve ark. 2006).

Probiyotik bakterilerin hücre duvarının dışına salgıladığı EPS bağırsak epitel doku ile kendileri arasında buldukları ortamı jelimsi (biyofilm) yapışkan bir halde bırakarak gerçek bir bağ oluşturmaktadır (Liu ve ark. 2010). EPS üretimi ile bakterilerin yapışma yeteneği arasında bir ilişkinin olduğu görülmüştür (Tieking ve

Ganzle 2005). Böylece bağırsak yüzeyine tutunmasını ve probiyotik bakterilerin birbirine bağlanarak kolonize olmasını, bakterinin olumsuz çevre koşullarından ve antibiyotiklere karşı fiziksel bir şekilde korunması ve canlılığını devam ettirebilmesini sağlayan önemli bir özelliktir (Darılmaz ve ark. 2011; Ismail ve ark. 2010; Tiekling ve Ganzle 2005; Ruas- Madiedo ve ark. 2006; Şengül ve ark. 2006).

EPS bu özellikleri ile probiyotik bakteriler olarak kullanılacak mikroorganizmaya mikroflorada GIS'te stabil olarak kalabilme ve baskın koloni olma özelliği sağlayarak daha fazla avantaj kazandırmıştır (Lin ve Chien 2007). Bu nedenlerle EPS üretimi yüksek olan mikroorganizmaların probiyotik olarak kullanılmasının doğru uygun olduğu belirtilmiştir.

2.4.6 Probiyotiklerin Metabolik ve Proteolitik Özellikleri

Metabolik aktivite temelde proteolitikdir; ancak anaerobik ve aerobik koşullarda karbohidratların transformasyonu ile kısa zincirli yağ asitleri üretimi de gerçekleşebilmektedir (Otlés 2013).

Yapılan birçok çalışmada probiyotik bakterilerin metabolik aktiviteleri için (pH değişimi, pıhtılaşma, gaz) gözlemlenerek ölçümler geliştirilmiştir. Bunlardan en önemlisi litmus süt testi olup; bakterilerin litmus ilave edilmiş sütte çoğalmaları, sütte ortaya çıkan; pıhtılaşma rengin açılması veya koyulaşması gibi değişimlerin takibi ile metabolik aktivite durumu tespit edilir (Aspri ve ark. 2017).

Sütün ihtiva ettiği protein, laktoz, mineral maddeler, vitaminler, yağ vb. maddeler bakteriler için besleyici bir ortam oluşturmaktadır. Bakteriler çoğalırken laktozu hidroliz ederek oluşturdukları organik asitlerle pH'nin azalmasını ve litmus renginin açılmasını sağlarlar. Asidik ortamsa süt proteini kazeinin pıhtı oluşturmaya neden olur. Ortaya çıkan değişimleri rahat gözlemlemek için süte katılmış litmus nötral pH'da leylak kırmızısıdır. Asidik ortamda açık pembe ve alkali ortamda mavi bir renk oluşmakta ve litmus süt içindeki oksidasyon ve redüksiyon için iyi bir belirteçtir. Sütün renginin açılmasını yani beyazlamasını redüksiyon ile gerçekleştirir (Aspri ve ark. 2017).

Proteolitik aktivite, mikroorganizmaların gelişimi için gereken aminoasitlerin proteolitik enzimler ile protein ve peptidlerin hidrolize edilerek elde edilmesidir.

Laktobasillerin proteolitik aktiviteleri zayıf bulunmuştur (Mumcu 1997, Kılıç 2001). Sarantinopoulos ve ark. (2001), yaptıkları bir araştırmada Enterokokların ekstrasellüler proteolitik aktivitelerini zayıf bulmalarına rağmen bazı araştırmacılar enterokokların aşırı proteolitik aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir (Gürsoy ve Kınık 2006; Gurses ve Erdogan 2006).

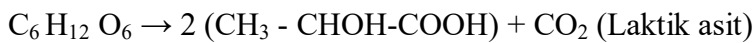
Enterokoklar çeşitli gıdaların doğal florasından izole edilebilmekte proteolitik enzim aktivitelerinden dolayı bazı enterokok suşları probiyotik olarak da kullanılabilir. Peynirlerden izole edilen *Enterococcus faecium* suşlarının proteolitik aktivitelerinin yararlı olduğu araştırmalarda belirtilmiştir (Andrighetto ve ark. 2001; Sarantinopoulos ve ark. 2001). Enterokokların kazeini parçalama yeteneklerinin çoğunlukla suşlar arası farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Durlu-Ozkaya ve ark. 2001).

2.4.7 Probiyotiklerin Laktik Asit Üretim Yetenekleri

Probiyotik bakteriler çeşitli gıdalardaki faaliyetleri sonucu karbohidratlardan kokusuz ekşi organik bir asit olan laktik asit üretim yeteneğine sahiptirler (Turhan 2012).

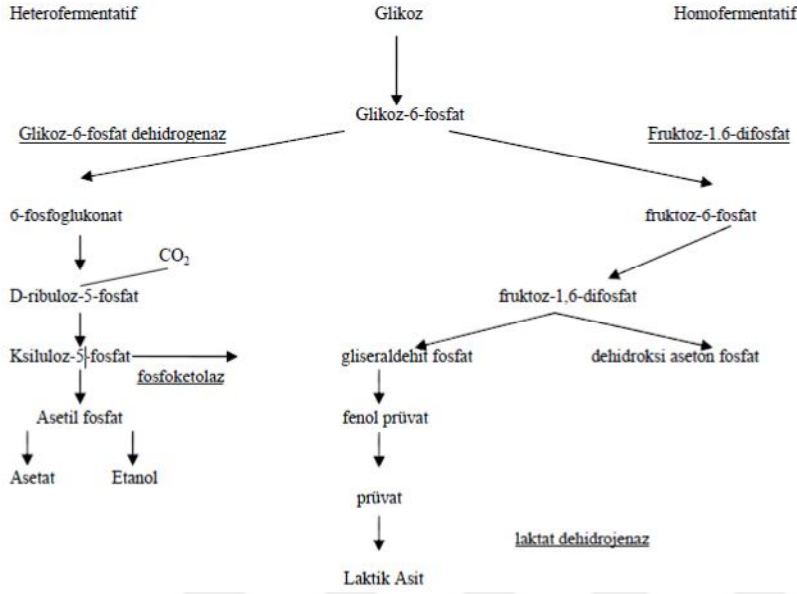
Probiyotik bakteriler laktik asit fermantasyonunda karbohidratlardan temel metabolit olarak laktik asit üretirler (Hwanhlem ve ark. 2010).

Probiyotik bakteriler oluşturdukları ürünler baz alınarak laktik asit üretimini iki farklı yol olan birincisi homofermentatif (fruktoz difosfat yolunun önemli enzimlerinden olan aldolaz enzimi olanlar) glukozu heksoz mono-fosfat yoluyla parçalayarak fermantasyon sonucu yalnız laktik asit üretirler ve ikincisi heterofermentatif (aldolaz ve triozfosfat izomeraz enzimleri olmayanlar yerine pentozfosfat yolu kullanılır) % 50 laktik asit, % 50 oranında karbondioksit, asetik asit, etanol, gliserol, mannitol ve früktoz üretimi gerçekleştirirler (Madigan 2006; Yetişmeyen 1995; Toy 2010; Tunail 2009).



Probiyotik bakteriler laktozun bir bölümünü L (+), diğer bölümünü ise D (-) formunda laktik aside dönüştürürler. Homofermentatif laktokoklar karbohidrat katabolizmasıyla temel ürün L (+) laktik asiti üretirler (Hirayama ve Rafter 2000). L

(+) laktik asit formu, D (-) laktik asit formuna göre çok daha iyi fizyolojik şekilde metabolize edilebilmektedir (Yiğit 2009).



Şekil 2.3: Bakteri için önerilen karbonhidrat mekanizması (Köseoğlu 2007)

Probiyotik bakterilerin fermantasyon sırasında ürettiği temel bir metabolitlerden olan laktik asit pH'da düşüşe neden olmakta ve böylece birçok bakteri, küf ve mayanın membran yapısını bozarak hücrelerinin substrat taşıma özelliğini yok etmesi ile antimikrobiyel etki göstermektedir (Di Cagno ve ark. 2013; Rodríguez-Couto 2006; Erdoğan ve ark. 2002; Yiğit 2009).

Probiyotik bakterilerin ürettiği laktik asit özellikle ince bağırsaklarda yaşayan Gram (-) bakterilere karşı lipopolisakkaritlerinin serbest bırakılmasına ve bunun sonucunda dış hücre membranlarının geçirgen olmasıyla beraber ölümlerine yol açtığı saptanmıştır. Bu nedenle yüksek laktik asit üretim yeteneği probiyotik bakteriler için aranan özelliklerdendir (Cui ve ark. 2011; Di Cagno ve ark. 2013).

2.4.8 Probiyotiklerin Antimikrobiyal Etkileri

Probiyotiklerin diğer mikroorganizmalara karşı gösterdikleri antimikrobiyal aktivite; laktik asit üretimi ile pH'daki düşüşle beraber gerçekleşmesinin yanında ürettikleri

asetik asit, hidrojen peroksit, bakteriyosin, diasetil, alkol ve karbondioksit gibi antimikrobiyal metabolitler üretilmesi ile sağlanmaktadır. Bunun yanı sıra probiyotikler besinler veya kolonizasyon bölgeleri için patojen bakterilerle yarışarak intestinal mukozaya yapışmalarını önlerler. Bu bakteriler baskı altında tutularak inhibasyon sağlamış olur (González 2007).

Antimikrobiyal maddelerin üretimi gıda kaynaklı olan patojenlerin engellenmesi açısından probiyotikler için önemli ölçütlerden biridir. Bu tür probiyotikler gıdalarda kullanıldıklarında antimikrobiyal maddeler üretirler. Böylece gıdaların mikrobiyolojik dengelerini koruyan “koruyucu kültür” görevini sağlarlar (Yoon ve ark. 2008).

Probiyotik bakterilerin salgıladıkları bazı kimyasallar ile patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki göstermektedirler. Örneğin *Lactobacillus acidophilus* 'un da bifidin antibakteriyeli ürettiği tespit edilmiştir (Rund ve ark. 2013; Tsai ve ark. 2016; Dave ve Shah 1997; Kılıç 2001).

Probiyotik bakterilerin birçoğunun bakteriyosin ürettiği ve birçok patojen bakteriyi inhibe ettiği hatta bazı Gram (-) bakterilere karşı etkili olduğu bilinmektedir. Özellikle *Staphylococcus aureus*, *Listeria spp.*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* gibi gıda kökenli patojen bakterilerin probiyotik bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinlerle inhibe edilebilmektir (Lewus ve ark. 1991; Messi ve ark. 2001).

Lactobacillus plantarum'un laktolin, *Lactobacillus acidophilus*'un asidofilin ve laktosidin ve *Lactococcus lactis*'in nisin gibi antibiyotik veya benzeri madde ürettiği belirlenmiştir.

Bakteriyosin üretimi ile antibakteriyel madde tipine göre özellikle *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* ve *Listeria spp.* gibi gıda kaynaklı patojen bakterilerin inhibasyonu sağlanmaktadır.

Probiyotik bakteriler laktoz fermentasyonu ile laktik asit ve asetik asit ve formik asit gibi diğer organik asitler üretmekte ve bu asitler bağırsak pH'sını azaltmakta ve bazı patojen bakterilerin gelişmesini inhibe etmektedirler. pH azalmasıyla bakteri toksinleri olan fenol ve aminlerin meydana gelmesi azaltılmış olmaktadır (Gönç ve Akalın 1995).

2.4.9 Probiyotiklerin Gıdalarda Canlılıklarını Koruma Özelliği

Probiyotik kültürlerin satışa sunulacak gıdalarda raf ömrü boyunca fizyolojik etkinliğini devam ettirebilmesi için yeterli sayıda probiyotik mikroorganizma olması ve canlılıklarını koruması önemlidir. Bu nedenle genelde probiyotik gıda olarak bakterilerin canlılıklarını kolaylıkla koruduğu süt ve süt ürünleri tercih edilmiştir. Son yıllarda ise alternatif ürün olarak meyve sularının da probiyotik ürün tasarımı için önemli bir potansiyel teşkil ettiği belirtilmektedir (Tripathi ve ark. 2014; Gürsoy ve Kınık 2006).

Fonksiyonel gıda olarak nitelenen ürün içeriklerinde yeterli sayılarda probiyotik bakteriler tüketildiklerinde temel beslenmenin ötesinde sağlığa olumlu etkilerinin gözlemlenebilir bu nedenle süt ürünlerinde en az 10^7 kob/g ve diğer ürünlerde en az 10^5 kob/g seviyesinde probiyotik bakteri içermelidir (Wildman ve ark. 2016, Kasımoğlu ve ark. 2004, Ishibashi ve Shimamura 1993).

2.5 Probiyotiklerin Özellikleri Üzerine Yapılan Bazı Araştırmalar

Çeşitli çalışmalarda farklı peynir çeşitleri ve süt ürünlerinden laktobasil ve enterokok türleri izole edilmiştir (da Cruz ve ark. 2009; Grattepanche ve ark. 2008; Fox ve ark. 2004, Morandi ve ark. 2006). Özellikle laktobasil türlerinin peynir ve süt ürünleri fermentasyon prosesi sırasında hızlı şekilde laktozu fermente ederek yüksek oranda laktik asit ürettiği bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, geleneksel peynirlerden izole edilen 122 adet *Enterococcus faecium* suşunun 86 adetinin (suşların yaklaşık % 70'i) % 0,3 safra içeren ortama yüksek düzeyde dirençlilik gösterdikleri rapor edilmiştir. *Enterococcus faecium* suşlarının diğer probiyotik bakterilere göre mide-bağırsak sisteminin zorlu şartlarına daha dayanıklı oldukları iddia edilmiştir (Bhardwaj ve ark. 2010) . Probiyotik bakteriler safra toleransı açısından farklılık göstermekte ve bunların tolerans mekanizmaları ile ilgili farklı hipotezler olmasına rağmen tam olarak belirlenememiştir (Begley ve ark. 2006).

Bazı çalışmalarda hayvansal sütler ve peynirlerden elde edilen *Enterococcus faecium* iyi asidifikasyon ve güçlü safra tuzu toleranslarının olduğu bildirilmiştir (Banwo ve ark. 2013; Kamruzzaman ve ark. 2013; Ahmadova ve ark. 2013).

Yadav (2016) 'ın yaptığı bir çalışmada; hububattan fermente edilen yöresel ürün örneklerinden izole edilen 54 adet *Lactobacillus plantarum* suşlarının mide asitliği ve safra tuzu dayanımlarına bakılmış ve tüm izolatların asitlik ve safra tuzlarına zayıf dayanım gösterdiği tespit edilmiştir.

Benzer bir çalışma Sanni (2013) tarafından hububat kaynaklı bazı yöresel gıda ürünlerinden izole edilen bakteriler için yapılmıştır. İzole edilen probiyotik bakterilerin laktik asit üretim yetenekleri, asitliğe ve safra tuzuna karşı toleransları ve bağırsağa yapışma kapasiteleri gibi parametreler araştırılmıştır. *Lactobacillus plantarum* suşunun iyi ve hızlı asit üretim kapasitesi tespit edilmiştir. Bununla birlikte *Lactobacillus fermentum* suşu düşük asit üretim kapasitesi göstermiştir. Tüm suşlar asitliğe ve safra tuzuna dayanım sağlamıştır. Seçilen strater kültürlerle inokule edilen yoğurt benzeri üründeki 24 saatlik fermentasyon sonunda suşlar $10^{5.5}$ kob/ml düzeyinde canlı kalmıştır. Ayrıca gastrointestinal sistemde tutunma kapasiteleri olduğu görülmüştür (Sanni ve ark. 2013)

Banwo (2013) tarafından yapılmış bir çalışmada; çiğ süttten izole edilen *Enterococcus faecium*'un probiyotik ve gıda güvenliği özellikleri araştırılmıştır. *Enterococcus faecium* türünün safra tuzlarına dayanımı ve antibiyotik duyarlıklarının olduğu tespit edilmiştir (Banwo ve ark. 2013).

Günel tarafından yapılan bir çalışmada kefirde izole edilen Laktobasil suşları asit ve safra tuzlarına dayanım göstermelerine rağmen hidrofositeleri düşük kalmıştır (Günel 2014).

Yapılan bir çalışmada izole edilen *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* suşlarının probiyotik özellikleri araştırılmıştır. Bu mikroorganizmaların mide pH'sında ve safra tuzu ortamlarında gelişme durumları incelenmiş hem asitliğe hem de safra tuzlarına karşı direnç gösterdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca bazı patojenlerinde aralarında bulunduğu bir grup mikroorganizmaya karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Çakır 2004).

Yapılan bir çalışmada, 7 adet laktobasilden yalnız 3 suşun (% 43) pH 2,0 veya 3,0'e dirençlilik gösterdiği rapor edilmiştir (Mishra ve ark. 2005). Farklı türlerin hatta aynı suşa ait türlerin, pH dirençlerinin farklı olmasının nedeni bakterilerin üreme fazındaki farklılıktan kaynaklandığı belirtilmektedir (Yang ve ark. 2015, Jin ve ark.2016).

Ronka (2003), Ramos (2013) ve Golowczyc (2008) 'nın yaptığı çalışmalarda *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* izolatlarının safraya iyi dayanım gösterdiklerini bildirmişlerdir (Rönkä 2003; Ramos ve ark. 2013; Golowczyc ve ark. 2008).

İran'ın geleneksel süt ürünleri ile yapılan bir çalışmada; izole edilen *Lactobacillus plantarum* ve Brezilya orijinli gıdalar da yapılan çalışmada ise; elde edilen *Lactobacillus brevis* suşlarının probiyotik özelliklerine bakılmış ve hidrofobisite yeteneklerinin yüksek olduğu saptanmıştır (Nejati ve ark. 2015; Ramos ve ark. 2013).

Yapılan bir çalışmada kefirde elde edilen Laktobasil suşları nükleik asit sentezi inhibitörlerine ve sitoplazmik membran inhibitörüne yüksek direnç göstermesine rağmen hücre duvarı inhibitörlerine ve protein sentezi inhibitörlerinin çoğuna düşük direnç göstermişlerdir (Mathur ve ark. 2005).

Zheng (2013)'in yaptığı bir çalışmada kefirde izole ettiği *Lactobacillus plantarum* 'un gentamicin, erythromycin ve chloramphenicol inhibitörlerine duyarlılık gösterirken vancomycine karşı direnç göstermiştir.

Forssten (2014) tarafından yapılan bir çalışmada hasta bireylere antibiyotik tedavisi esnasında laktobasil suşlarından oluşan probiyotik karışım takviyesi verilerek GSBL varlığına bakılmış GSBL negatif sonuç alınmıştır.

Patel (2014)'in yaptığı bir çalışmada 9 adet laktobasil suşunun EPS üretimleri 250-2960 mg/l aralığında (ort.493,3 mg/l) bulunmuştur.

Nancib (2015) 'in yaptığı bir çalışmada meyve suyuna inokule edilen *Lactobacillus rhamnosus* suşunun laktik asit üretimleri izlenmiştir. Sonuçta *Lactobacillus rhamnosus* suşunu yüksek laktik asit üretimi tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada çiğ keçi sütünden üretilmiş peynirden izole edilen enterokok suşlarının gıda patojenleri olan *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Psoni ve ark. 2006).

Kesenkaş (2016)'in yaptığı çalışmada ege bölgesi peynirlerine ilave ettikleri probiyotik bakterilerin depolama sırasında 10^6 kob/g seviyesinde canlı kaldığını tespit etmişlerdir.

3 GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Örnek hazırlama ve homojenizasyon

Çalışmamızda kullanılan 10 adet boza, 40 adet peynir, 60 adet çiğ süt ve 20 adet kefir numunesinden oluşan toplam 130 gıda örneği 2015-2016 yılları arasında Marmara, İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinden temin edilmiş ve steril kaplar içerisine alınan örnekler + 4 °C’de laboratuara getirilmiştir. Kullanılan gıda örneklerinin dağılımı özetle Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1: Örnek dağılımı

Bölge	Gıdanın Türü			
	Boza ^a	Peynir ^b	Çiğ Süt ^c	Kefir ^d
Marmara	10	10*	10*	5*
İç Anadolu	-	5*+5**	17*+13**	10*
Doğu Anadolu	-	9*+11**	10*+10**	5*

a,b,c ve d:doğal, endüstriyel olmayan ve starter kültür kullanılmamış

*İnek Sütü, ** Keçi Sütü

Selektif zenginleştirme öncesi örnekler uygun şekilde homojenize edilmiştir (ISO/TS 11133: 2014, ISO 7218:2007).

3.1.2 Mikrobiyolojik inceleme için kullanılan gereçler

3.1.2.1 Besi Ortamları

Probiyotik bakterilerinin identifikasyonu, karakterizasyonu ve saklanması işlemlerinde MRS agar, MRS broth, M17 agar ve M17 broth besiyerleri ISO/TS 11133-2: 2014 standardına göre hazırlanmış ve kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıklarının tespiti, disk difüzyon ve konfirmasyonu testi, antibiyogram

doğrulama ve MİK tayinlerinde kullanılmak üzere Mueller Hinton agar (MHA) ve Mueller Hinton Buyyon (MHB) hazırlanmış ve kullanılmıştır (ISO/TS 11133-2: 2014).

3.1.2.1.1 De Man, Rogosa and Sharpe (MRS agar)

Dehidre besiyeri 68,2 g/l olacak şekilde damıtık su içinde ısıtılıp eritildikten sonra, pH 5,7± 0,2'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilizasyon gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2: MRS Agar (Merck 1.10660) Lactobacillus Agar acc. to DE MAN, ROGOSA and SHARPE

İçerik	Miktar (g/l)
Kazein Peptonu	10 g/l
Et ekstraktı	8 g/l
Maya ekstraktı	4 g/l
D(+) Glikoz	20 g/l
Dipotasyum hidrojen fosfat; K ₂ HPO ₄	2 g/l
Tween 80	1 g/l
Diamonyum hidrojen sitrat	2 g/l
Sodyum asetat	5 g/l
Magnezyum sülfat ;MgSO ₄	0,2 g/l
Mangan sülfat; MnSO ₄	0,04 g/l
Agar -agar	14 g/l
Damıtık su	1000 ml

3.1.2.1.2 MRS Broth

Dehidre besiyeri 52,2 g/l olacak şekilde damıtık suda çözüldükten sonra, pH 5,7 ± 0,2'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Çizelge 3.3: MRS Broth (Merck 1.10661)

İçerik	Miktar (g/l)
Kazein Peptonu	10 g/l
Et ekstraktı	8 g/l
Maya ekstraktı	4 g/l
D(+) Glikoz	20 g/l
Dipotasyum hidrojen fosfat; K ₂ HPO ₄	2 g/l
Tween 80	1 g/l
Diamonyum hidrojen sitrat	2 g/l
Magnezyum sülfat; MgSO ₄	0,2 g/l
Mangan sülfat; MnSO ₄	0,04 g/l
Damıtık su	1000 ml

3.1.2.1.3 M17 Agar

Dehidre besiyeri, 55,0 g/l olacak şekilde ısıtılarak damıtık su çözüldükten sonra, pH $7,2 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Çizelge 3.4: M17 agar (1.15108 Merck)

İçerik	Miktar (g/l)
Soya peptonu	5 g/l
Et peptonu	2,5 g/l
Kazein peptonu	2,5 g/l
Maya ekstraktı	2,5 g/l
Et ekstraktı	5 g/l
Laktoz mono-hidrat	5 g/l
Askorbik asit	0,5 g/l
Sodyum β -gliserofosfat	19 g/l
Magnezyum sülfat	0,25 g/l
Agar-Agar	12,75 g/l
Damıtık su	1000 ml

3.1.2.1.4 M17 Broth

Dehidre besiyeri, 42,5 g/l olacak şekilde damıtık suda çözüldükten sonra, pH $7,2 \pm 0,2$ 'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Çizelge 3.5: M17 broth (1.15029 Merck)

İçerik	Miktar (g/l)
Soya peptonu	5 g/l
Et peptonu	2,5 g/l
Kazein peptonu	2,5 g/l
Maya ekstraktı	2,5 g/l
Et ekstraktı	5 g/l
Laktoz mono-hidrat	5 g/l
Askorbik asit	0,5 g/l
Na-B-gliserolfosfat	19 g/l
Magnezyum sülfat	0,25 g/l
Damıtık su	1000 ml

3.1.2.1.5 Litmus milk

100,0 g/l skim milk ve 0,075 g/l litmus damıtık suda çözüldükten sonra, pH 7,2 ± 0,2'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Çizelge 3.6: Litmus Milk

İçerik	Miktar (g/l)
Skim milk	100,0 g/l
Litmus	0,075 g/l
Damıtık su	1000 ml

3.1.2.1.6 Nutrient Broth

Dehidre besiyeri, 13,0 g/l olacak şekilde damıtık suda çözüldükten sonra, pH 7,2 ± 0,2'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Çizelge 3.7: Nutrient broth

İçerik	Miktar (g/l)
Lab-Lemco Powder	1,0 g/l
Maya ekstraktı	2,0 g/l
Pepton	5,0 g/l
Sodyum klorür	5,0 g/l
Damıtık su	1000 ml

3.1.2.1.7 Skim milk içeren nutrient agar

Besiyeri bileşenleri damıtık suda ısıtılarak çözülmüş çözüldükten sonra, % 10 oranında skim milk eklenerek pH 7,2 ± 0,2'ye ayarlanmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Çizelge 3.8: Nutrient agar

İçerik	Miktar (g/l)
Pepton	5,0 g/l
Et ekstraktı	5,0 g/l
Agar-agar	12,0 g/l
Damıtık su	1000 ml

3.1.2.1.8 Safra tuzu içeren MRS ve M17 broth

İçeriği belirtilen MRS ve M17 brotha % 0,3 oranında safra tuzu eklenmiş 5'er ml tüplere dağıtılmış ve 121 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

3.1.2.1.9 Mueller Hinton agar (MHA)

Prosedüre göre 34 g toz Mueller Hinton Agar (Merck-1.05437) tartılır ve 1 litre damıtık su ile karıştırılır. Çözelti otoklavda 115°C' de 10 dk sterilize edilir. Steril çözelti 45°C olana kadar soğutulup tek kullanımlık steril plastik petri kapların her birine 15-20 ml civarında boşaltılır. Mueller Hinton agar (CLSI 2015) yönergesinde kullanılan, hızlı bir şekilde bakteri izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek için öngörölmüş bir agardır.

Çizelge 3.9: MHA (Merck-1.05437)

İçerik	Miktar (g/l)
Kazein Hidrolizat	17,5 g/l
Agar-agar	13 g/l
Et İnfüzyonu	2 g/l
Nişasta	1,5 g/l
Damıtık su	1000ml

3.1.2.1.10 Mueller Hinton Buyyon (MHB)

Antibiyotik duyarlılık çalışmaları (MİK-determinasyon) için kullanılan sıvı bir besiyeri ortamıdır. Mueller Hinton buyyon (Merck-110293) minimal inhibitör konsantrasyonunu (MİK) belirlemek için kullanılır. Mueller Hinton gıda ve klinik malzemedeki en sık karşılaşılan aerobik ve fakültatif anaerobik bakteri testi için FDA ve WHO tarafından tavsiye edilmektedir (CLSI 2015). 34 g tartılarak 1 litre damıtık suda çözündürülür. Otoklavda 115 °C' de 10 dk sterilize edilir. pH, 25 °C ' de 7,4±0,2' dir.

Çizelge 3.10: MHB (Merck-110293)

İçerik	Miktar (g/l)
Kazein Hidrolizat	17,5 g/l
Et İnfüzyonu	2 g/l
Nişasta	1,5 g/l

3.1.2.2 Test bakterileri

İzolatların antimikrobiyal etkilerin tespiti için *Escherichia coli* ATCC 11229, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 7644 test bakterileri kullanılmıştır. Test bakterilerinin aktifleştirilmesi 37 °C' de 24 saat inkübe edilerek gerçekleştirilmiştir.

3.1.2.3 Antibiyotik Diskler

Çizelge 3.11: Kullanılan antibiyotik diskleri ve konsantrasyonları

Antibiyotik disk	Kısaltması
Seftazidim 30 µg	CAZ 30
Sefpodoksim 10 µg	CPD 10
Sefotaksim 30 µg	CTX 30
Seftazidim 30 µg/klavulanat 10 µg	CAZ CV
Sefpodoksim 10 µg/klavulanat 1 µg	CPD CV
Sefotaksim 30 µg/klavulanat 10 µg	CTX CV
Amoksisilin30 µg	AMC 30
Cephalothin30 µg	CEP 30
Chloramphenicol30 µg	CHL 30
Novobiocin50 µg	NOV 50

3.1.2.4 Kullanılan Boyalar

3.1.2.4.1 Kristal violet

Kristal violet etil alkol içerisinde çözdürüldükten sonra üzerine erlende 20 ml damıtık su içerisinde çözülmüş olan amonyum oksalat eklenmiştir. Karışım filtreden geçirilerek kullanılmıştır (Tamer ve ark. 1989).

Çizelge 3.12: Kristal violet

İçerik	Miktar (g/ml)
Kristal violet	2 g
Etil Alkol (% 95)	20 ml
Amonyum Oksalat	0,2 g
Damıtık su	20 ml

3.1.2.4.2 Safranin

Safranin alkol içerişinde çözdürüldükten sonra damıtık su ilave edilmiş ve 24 saat sonrasında çözelti filtreden kullanılmıştır (Tamer ve ark. 1989).

Çizelge 3.13: Safranin

İçerik	Miktar (g/ml)
Safranin	0,25 g
Etil alkol (% 95)	10 ml
Damıtık su	100 ml
Safranin	0,25 g

3.1.2.4.3 Lugol

Potasyum iyodür 25–30 ml damıtık suda çözülmüş ve üzerine iyot ilave edilmiştir. Ardından çözelti damıtık su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır (Tamer ve ark. 1989).

Çizelge 3.14: Lugol

İçerik	Miktar (g/ml)
İyot	5 g
Potasyum iyodür (KI)	10 g
Damıtık su	100 ml

3.1.2.5 Kullanılan Çözeltiler

3.1.2.5.1 Fizyolojik tuzlu su

Fizyolojik tuzlu su çözeltisi sodyum klorür damıtık su içerişinde çözümlenerek hazırlanmıştır (Tamer ve ark. 1989).

Çizelge 3.15: Fizyolojik tuzlu su

İçerik	Miktar (g/ml)
Sodyum klorür	85 g
Damıtık su	1000 ml

3.1.2.5.2 Gliserol

Gliserol ve damıtık su karıştırılıp 121 °C’de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra kullanılmıştır (Akçelik ve ark. 1999).

Çizelge 3.16: Gliserol

İçerik	Miktar (g/ml)
Gliserol	20,0 ml
Damıtık su	80,0 ml

3.2 Yöntem

3.2.1 Mikrobiyolojik inceleme

Çalışmamızda kullanılan gıda örnekleri Marmara, İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinden temin edilmiş ve steril kaplara alınarak + 4 °C'de laboratuara getirilmiştir.

3.2.1.1 İzolatların selektif zenginleştirilmesi, izolasyonu ve saklaması

Probiyotik bakterilerin doğal olarak buldukları ortamlardan izole edilerek ve saf kültürlerinin elde edilmesi, identifikasyonu ve karakterizasyonu için MRS agar, MRS broth, M17 agar ve M17 broth besiyerleri hazırlanmış ve kullanılmıştır (ISO/TS 11133: 2014).

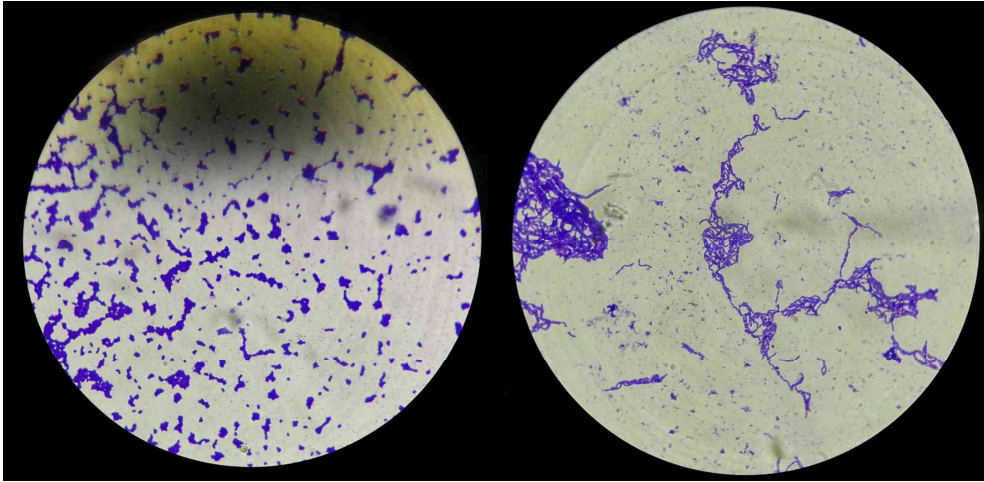
Çalışılacak gıda örneklerinden steril koşullara 10 gram örnek alınmış ve 90 ml FTS eklenerek homojenize edilmiştir. Daha sonra örnekler steril su ile 10^{-2} 'den 10^{-3} 'e kadar seyreltileri hazırlanarak steril petrilere 1 ml homojen olarak aktarılmış ve üzerine 45 °C'ye kadar soğutulmuş MRS agar ve M17 agar eklenip karıştırılmış ve besiyerler 37 °C' de ve 42 °C' deki etüvlere 24-48 saat süre ile inkubasyona (her numune için ikişer adet MRS agar ve M17 agar; toplam 1040 ekim) bırakılmış; inkubasyon tamamlandıktan sonra MRS agar ve M17 agar içeren petrilere tek düşen kolonilerden (toplam 624 adet) morfolojik özelliklerini ve saflıklarını ışık mikroskopunda incelemek için boyama yöntemleri kullanılmıştır.

Saflığı sağlanmış izolatların aktif kültürleri, steril 10 ml optimum gelişim gösterdikleri (MRS, M17) broth içeren tüplere inokule edilerek, aerobik/anaerobik koşullarda 24 saat süre ile aktive edilmiştir ve tekrar tek koloni düşürülmüştür. Daha sonra birbirinden farklı olduğu gözlemlenen ve probiyotik bakterileri olduğu tahmin edilen küçük ve mat krem renkli koloniler öze yardımıyla alınarak başka petrilere çizgi ekim yöntemi ile aktarılmıştır (toplam 720 adet) . İnkubasyon sonucu elde edilen izolatlar saflaştırılncaya kadar işleme devam edilmiştir. Saflaştırılan izolatlarda boyama yapılarak ışık mikroskopunda bakılmış ve Gram (+), kok ve çubuk şekilli ve katalaz negatif olan kolonilerin seçilmiştir.

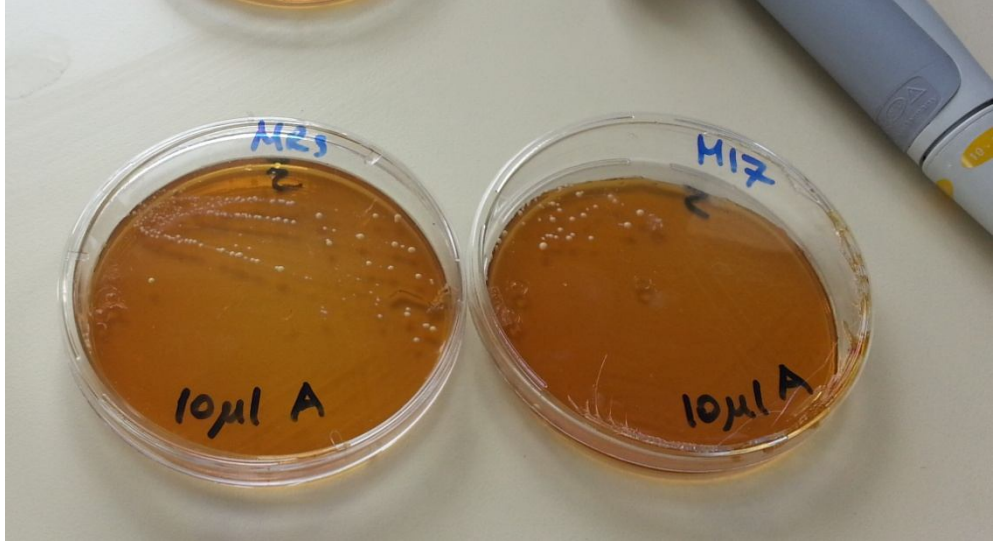
Gelecek testlerde kullanılmak üzere izolatların stokları hazırlanıp saklanmıştır. İzolasyon sırasında tek düşen koloniler tekrar brothlarda zenginleştirilmiş daha sonra % 20 gliserol içeren De-Man Rogosa Sharp (MRS, Merck, Almanya) broth ve/veya M17 broth besiyeri içerisinde – 80 °C'de saklanmıştır (toplam 430 adet) (ISO 6887-6:2013, van de Castele 2006; Halkman 2005; Holt ve ark. 2000).

3.2.1.2 Stoktaki izolatların aktifleştirilmesi ve saflıklarının kontrolü

-80 °C'de gliserol içerisinde muhafaza edilmiş olan izolatlar oda sıcaklığında 2 saat kadar bekletildikten sonra MRS ve/veya M17 broth besiyerlerinde 37 °C'de ve 42 °C' deki etüvlere 24-48 saat süre ile aerobik ve anaerobik koşullarda aktifleştirilme için inkübasyona bırakılmıştır. İlk inkübasyondan sonra brothda gelişme gösteren izolatlar tekrar MRS ve/veya M17 broth besiyerlerinde 24-48 saat süre ile aerobik ve anaerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Brothlarda oluşan aktif kültürler MRS ve/veya M17 agar besiyerlerine öze ile çizgi ekimi yapılarak uygun sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Patojen bakterilerin aktifleştirilmesinde ise Nutrient broth besiyeri kullanılmıştır. Aktifleştirilen izolatlardan preparatlar hazırlanarak basit boyama yöntemi ile mikroskopta incelenerek saflıklarından emin olunmuştur.



Şekil 3.1: İzolatların mikroskopta incelenmesi



Şekil 3.2: MRS agar ve M17 agara ekim ve saflaştırma



Şekil 3.3: Saflaştırılan izolatların – 80 °C’de % 20’lik gliserol içerisinde saklanması



Şekil 3.4: Bakteri izolasyonu

3.2.1.3 Hücre Morfolojisi

Stoklardan alınan izolatlar MRS Agar ve M17 agar besiyerlerine çizgi ekimle tek koloni düşecek şekilde aktarıldıktan sonra 37 °C 'deki etüve 24-48 saat süre ile anaerobik ortamda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen kolonilere kristal violet ile basit boyama yapılarak mikroskopta incelenmiştir (Arda 2015, Tamer ve ark. 1989; Akçelik ve ark. 1999).

3.2.1.4 Gram Boyama

Gram boyama mikrobiyoloji çalışmalarında çok sık kullanılan bir boyama tekniği olup mikroorganizmaların sınıflandırmasında ve tanımlanmasında da kullanılmaktadır. 1884'te Christian Gram'ın gelişmiş ayırıcı bir boyama yöntemi olarak ortaya koyduğu Gram boyamayla bakterilerin Gram reaksiyonları incelenmiştir. Saflığı sağlanan izolatların aktif kültürleri, optimum olarak geliştikleri steril 10 ml (MRS, M17) agar içeren petrilere çizgi ekimi yapılarak, aerobik/anaerobik koşullarda 24 saat süre ile aktive edilmiştir. Gram boyama işlemi, bu aktif kültürler ile yapılmıştır. Gram boyama yöntemi aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

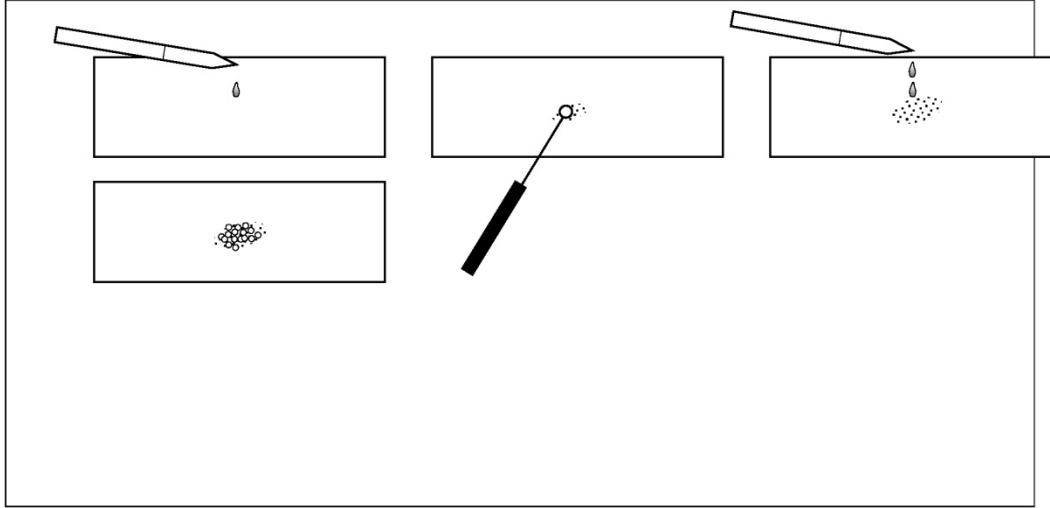
- Katı besiyerindeki kültürden öze ile yaklaşık bir toplu iğne bası büyüklüğünde bir kısım alınarak, lam üzerine konulmuş bir damla su içerisinde yüzeye öze ile yayılmıştır.

- Kurutulmuş ve fikslenmiştir.
- Kristal violet solüsyonla 2-3 dakika boyunca boyanmıştır.
- Boya dökülmüş ve preparat üzerine lugol solüsyonu konmuştur 1-2 dakika beklenmiş, lugol solüsyonu dökülmüştür.
- Saf alkolle renk giderilmiştir.
- Su ile yıkanmıştır.
- Safranin ile 5-10 saniye boyanmıştır.
- Suyla yıkanarak boya giderilmiştir.
- Havada kurutulmuştur.
- Sedir yağı konarak 100'lük objektifte incelenmiştir. Mor görülen mikroorganizmalar G (+) ve pembe görülenler de G (-)olarak saptanmıştır (Arda 2015, Tamer ve ark. 1989; Akçelik ve ark. 1999).

3.2.1.5 Katalaz Testi

Katalaz testi bir mikroorganizmanın katalaz enzimine sahip olup olmadığını anlamak için yapılır. Bu test özellikle “katalaz negatif ”olan probiyotik bakterilerinin tanımlanmasında önemlidir. Bu enzime sahip olan mikroorganizmalar “katalaz-pozitif” olarak kabul edilir. Bu enzim solunumla meydana gelen hidrojen peroksiti (H_2O_2) su ve oksijen gazına dönüştürdüğünden, “katalaz-pozitif” tepkimelerinde oluşan gazdan dolayı kabarcık görülür. “Katalaz negatif ” tepkimelerinde herhangi bir değişim meydana gelmemektedir.

Aktif bakteri kültürleri üzerine % 3 hidrojen peroksit damlatılarak gaz kabarcıklarının çıkıp çıkmadığı gözlenmiştir. Gaz kabarcığı görülen kültürler için test pozitif, gaz kabarcığı görülmeyen kültürler için ise test negatif olarak değerlendirilmiştir (Tille 2014, Aksoy 2007; Tamer ve ark. 1989).



Şekil 3.5: Katalaz testi (Aksoy 2007)

3.2.1.6 Bakterilerin hücre gelişiminin ve toplam canlı bakteri sayısı

Aktifleştirilen kültürlerden 100 µl örnek alınarak önceden 900 µl serum FTS içeren ependorflara aktarılarak 10^{-1} oranında seyreltilmiş kültür elde edilmiştir. Homojenize edilen örnekten 100 µl örnek alınarak aynı işlem gerekliliğine göre 10^{-1} den 10^{-7} 'ye kadar seri dilüsyonları hazırlanmıştır. 10^{-4} - 10^{-7} dilüsyonlarda 100 µl örnek alınarak MRS Agar (Merck) ve/veya M 17 Agar (Merck) besiyerine yayma tekniği ile ekim yapılmıştır. Petriler uygun inkübasyon sıcaklığında, 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 30-300 koloni içeren petrilerden canlı koloni sayımları yapılmıştır. İzolatların asit ve safra tuzu toleransları, gıdalarda canlılıklarının tespiti için yapılan ekimlerde ise benzer şekilde sayımlar gerçekleştirilmiştir (Tharmaraj ve Shah 2003, Phillips vd 2006).

$Kob/g = [Ortalama\ Koloni\ sayısı \times Seyreltme\ faktörü / Seyreltme\ tüpünden\ petri\ kabına\ aktarılan\ örnek\ hacmi\ (ml)]$.

Seyreltme faktörü = $[1/Seyreltme\ oranı]$

3.2.2 İzolatların MALDI-TOF MS (VITEK® MS) ile İdentifikasyonu

Mikroorganizmaların tanımlaması M17 ve MRS agarda oluşan kolonileri kullanılarak (VITEK® MS) (bioMerieux, Marcy l'Etoile/Fransa) cihazı (MALDI-TOF MS) Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry yöntemi ile identifikasyon mikroorganizmaların hücre yapılarında bulunan protein profili çıkarılarak referans bir spektrumlarla karşılaştırmasıyla oluşturulan sistem kullanılmaktadır (Dubois ve ark. 2012).

Cihazın çalışma prensibi; şekerler, peptitler, proteinler gibi biyolojik moleküllerin kütle spektrometresinin lazer ışınıyla parçalanıp dağılmaya eğilimli olan dendrimerler ve polimerler gibi organik moleküllerin kütle ile orantılı olarak absorpsiyonunun analizi temeline dayanan mikrobiyolojik tanımlama yapan, hassasiyeti yüksek bir teknolojiye dayanan bir sistemdir (Çetinkaya ve Ayhan 2012).

VITEK® MS (bioMerieux, Marcy l'Etoile/Fransa) cihazı Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry- Matriks Yardımlı Lazer İyonizasyon Kütle Spektrometresi (MALDI-TOF MS) yöntemi ile identifikasyon mikroorganizmaların hücre yapılarında bulunan protein profili çıkarılarak referans bir spektrumlarla karşılaştırmasıyla oluşturulan sistem kullanılmaktadır (Rıfaat ve ark. 2014).

VITEK® MS (bioMerieux, Marcy l'Etoile/Fransa) cihazı mikrobiyoloji laboratuvarında hızlı, doğru ve güvenilir bakteri identifikasyonu sonucu alması tercih nedenlerinin başında gelmektedir. Türlerin özellikleri kapsamlı olarak cihazın veritabanında bulunmasından dolayı 1-2 dk gibi kısa bir sürede bakterilerin tanımlanmasını gerçekleştirmektedir.

Bunun dışında VITEK® MS (bioMerieux, Marcy l'Etoile/Fransa) cihazı birçok avantajından dolayı kullanılmıştır. Bunlar;

- Optimize edilmiş örnek yükleme: Hedef slayta organizmalar yayılır, matriks eklenir ve hızlı tanımlama yapmak için VITEK® MS (bioMerieux, Marcy l'Etoile/Fransa) çalıştırılır.
- Etkinlik: Sistem tek seferde en fazla 4 slayt (her birinde 48 pozisyon) yani 192 örneği analiz edebilir.

- Güven: Tek kullanımlık slaytlar temizliği elimine etmekte ve olası kontaminasyonu engellemektedir.

- Kaliteli Sonuçlar: Sistem, yüksek kütle aralığı hassasiyeti (>10k Dalton) ile kütle sinyallerinin yüksek çözünürlüğünü bir araya getirerek sonuç kalitesini artırmaktadır. 500 kDalton üzerini görüntüleyebilmek gelecekteki uygulamalara imkan sağlamak demektir.

- Sonuçlara kolay erişim: VITEK® MS (bioMerieux, Marcy I'Etoile/Fransa) Myla™ ya bağlanabildiğinden sonuçlara ve sistem bilgisine herhangi bir ağa bağlı bilgisayar üzerinden erişilebilir.

İdentifikasyon 3 adımda gerçekleştirilmiştir.

- Doğrudan hedef slayt üzerine bakteri izolatının yayılması,

Cihaz için geliştirilmiş slaytın üzerindeki pozitif kontrol kuyucuğuna referans suş ve MRS ve MRS agarda oluşan kolonilerden 1µL'lik steril plastik öze kullanılarak diğer kuyucuklara ise pasajlanan şüpheli tipik koloniler steril öze ucuyla bir ya da iki koloni olarak inoküle edilir.

- Kullanıma hazır CHCA matrix solüsyonun eklenmesi,

Bu işleminden sonra kuyucuklara 1 µl matriks solüsyonu eklenir ve oda koşullarında 1-2 dk beklenerek kuruma sağlanır. Hazırlanan slaytların barkodları okutulur ve örneklerin olduğu kuyucuklar işaretlenir.

- Numunenin VITEK® MS (bioMerieux, Marcy I'Etoile/Fransa) 'le analiz edilmesi,

Daha sonra slayt kasete yerleştirilerek okuma işlemi yapılır ve sonuç alınır. Yazılımın menüsünden "VITEK®MS Review" fonksiyonuyla sonuçlar gözden geçirilir. İdentifikasyonu gerçekleştirilenler onaylanır ve VITEK® MS (bioMerieux, Marcy I'Etoile/Fransa) ve LIS' e gönderilir (Dubois ve ark. 2012).

3.2.3 İzolatların asit toleranslarının tespiti

Asit toleransının belirlenmesi amacıyla mide asitliği koşullarına benzer bir ortam oluşturulması için 1 N steril hidroklorik asit (HCL, Sigma Aldrich, A.B.D.) kullanılarak pH değeri 2,5'e getirilen MRS ve M17 brothlar kullanılmıştır. MRS ve M17 brothlarda iki kez aktive edilen kültürler (18 saat) 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen bakteri hücreleri pelletleri 7 mL steril serum fizyolojik kullanılarak süspansiyon edilmiş ve deney tüpleri içindeki 10 ml'lik pH değeri 2,5 olan MRS brothlara % 1 inoküle edilerek 37 °C'de 3 saat süre ile inkübe edilmiştir. Sonrasında seri seyreltmeleri yapılarak 37°C'de 48-72 saat inkübe edilerek kültürlerin canlılıkları takip edilmiştir (Klingberg ve ark. 2005, Prasad ve ark.1998).

3.2.4 İzolatların safra tuzu toleranslarının tespiti

Safra tuzu toleransı deneyi için antimikrobiyal etki gösteren konjuge ve dekonjuge safra bileşenlerini içeren % 0,3 (w/v) Oxgall (Bile bovine, Sigma- Aldrich, A.B.D.) 7 ml'lik MRS ve M17 brothlara izolatlar % 1 inoküle edilmiştir. Daha sonra 37°C'de 48-72 saat inkübasyon sonucunda canlı bakteri sayımları yapılmıştır (Liong ve Shah 2005).

3.2.5 İzolatların hidrofobisitelerinin tespiti

MRS ve M17 brothlarındaki 10000 rpm'de 15 dk aktif kültürler santrifüj edilmiş ve oluşan pellet, iki kez fosfat tamponuyla (PBS) yıkanmış ve 0,1 M KNO₃ (pH 6,2) tamponu içinde çözülerek 96'lık platelere alınarak spektrofotometrede OD'si 600'ya ayarlanmıştır (A₀). İzolat süspansiyonundan 1 mL alınmış, 0,3 mL x-silen (polar olmayan nötral çözücü), hidrokarbonlarının üzerine konulmuş ve oda ortam sıcaklığında 4 saat inkübasyon sağlanmıştır. Sonrasında sulu fazın OD'si spektrofotometrede 600 nm de tekrar ölçülmüştür (A₁). İzolatların hidrokarbonlara mikrobiyal tutunma yüzdesi $[(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır (Gusils ve ark. 2002).



Şekil 3.6: Hidrofobisite tespiti

3.2.6 İzolatların antibiyotik duyarlılıklarının tespiti

Antibiyotik duyarlılık analizi için Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI 2015)'nin önerdiği disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem çerçevesinde 15 ml MRS agar içeren petrilere 200 µl 10^6 - 10^7 kob/g aktif kültür yayılmıştır. Petriler üzerine antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Çalışmalar sırasında 3 farklı inhibisyon mekanizmasına sahip 4 antibiyotik kullanılmıştır. Bu antibiyotikler hücre duvarı sentezini engelleyicileri olarak “amoksisilin”, protein sentezini engelleyiciler olarak “Cephalothin”, “Chloramphenicol”, nükleik asit sentezini engelleyici olarak “Novobiocin”den oluşmaktadır.

Antibiyotik duyarlılıklarına bakılacak izolatlar MRS ve/veya M17 broth sıvı besiyerlerinde 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılarak aktiveleştirilmiştir. Aktif kültürlerin yoğunlukları 0,5 McFarland yoğunluğuna ayarlandıktan sonra 100 µl alınarak hazırlanan besiyerlerine yayılmıştır. Daha sonra her petriye 4 antibiyotik disk petri kenarından 10 mm ve birbirlerinden 15 mm uzaklıkta olacak şekilde konulmuştur. İnkübasyon bitiminde (37°C / 24 saat) zonlarının çapları milimetrik olarak ölçülmüştür. Disk difüzyon metodunda ölçülen zon çapları Charteris ve ark. (1998)’in bulguları ile karşılaştırılarak belirlenen antibiyotik dirençliliği veya duyarlılığı ölçülmüştür. Sonuçlar zonların çaplarına göre Çizelge 4.13’de verilen

kriterlere göre dirençli (R), orta dereceli duyarlı (MS) ve duyarlı (S) olmak üzere kategorize edilerek verilmiştir. Antibiyogram doğrulama ve MİK (Minimal İnhibitör Konsantrasyonu) tayini işlemi Micronaut-S beta-lactamase VII Plate (Merlin Diagnostika, Germany) kullanılarak fenotipik tespitine göre, MİK parametreleri ile GSBL varlığının tanımlanması şeklinde yapılmaktadır (CLSI 2015).

3.2.6.1 GSBL tespiti

İzolatların antibiyotik dirençlerini belirlemek amacıyla, Sefpodoksim, Sefoktaksim ve Seftazidim (+/- Klavulanik asit) antibiyogram disklerinden yararlanılmıştır (Bioanalyse, Türkiye). Bunu dışında antibiyotik direnç testleri için MRS agar (Merck), Müller Hilton Agar (Merck) ve Mueller Hinton Buyyon (MHB) besiyerleri kullanılmıştır.

3.2.6.2 Disk difüzyon testi

Ön zenginleştirme aşamasında sonra MRS agar besiyerinde oluşan GSBL şüpheli kolonilerin antimikrobiyal duyarlılıkları CLSI (2015) talimatına göre test edilmiştir. MRS besiyerinde oluşan tek koloniler steril tuzlu su çözeltisinde (% 0,85 NaCl₂) süspanse edilmiştir. 0,5 MacFarland standardına göre ayarlanan süspansiyondan Mueller Hinton Agar (MHA) (LiofilChem, İtalya) 90 mm hazır besiyerine steril bir eküvyon yardımıyla sürüntü ekimi yapılmıştır. Bu işlemi takiben steril forsepe ile Sefpodoksim, Sefoktaksim ve Seftazidim (+/- Klavulanik asit) içeren kullanıma hazır diskler (Bioanalyse-Türkiye) yerleştirilmiştir. Bu işlem sırasında diskler oluşabilecek zon bölgeleri birbirlerini baskılamayacak şekilde CLSI (2015) talimatına uyarak dikkatle konumlandırılmıştır. Oluşan zonların üst üste gelmemesi için, disk merkezleri arasında 25 mm, petri kenarından ise 15 mm uzaklık sağlanmıştır. Plaklar ters çevrilerek 37 ° C' lik etüvde 24 s süreyle inkübe edilmiş ve sonrasında oluşan zonlarının çapları ölçülerek kaydedilmiştir. Diskler 12 s daha inkübasyona bırakılarak, inkübasyon bitiminde klavulanik asitli ve klavulanik asitsiz zonlar arasında oluşan farklar karşılaştırılmış ve kit talimatına göre GSBL varlığı bakımından değerlendirmeleri yapılmıştır.

3.2.6.3 Disk difüzyonu konfirmasyonu testi

GSBL enzimi tespiti, CLSI (2015) talimatlarına uyularak disk difüzyonu konfirmasyonu testi ile gerçekleştirilmiştir. Antibiyotik eş diskler (klavulanik asitsiz-klavulanik asitli) aynı anda kullanıldığında disklerin etrafında oluşan zon çaplarına bakılarak, GSBL enzimi üretimi tespit edilebilmektedir. Disk difüzyonu testi sonucuna göre ayırdığımız petrilere disk difüzyonu konfirmasyonu testi uygulamak üzere Mueller Hinton Agara uygulanan işlemler aynı şekilde tekrarlanır (CLSI 2015). Mueller Hinton Agarlı petrilere, genişletilmiş spektrum beta laktamaz seti, seftazidim (CAZ), sefotaksim (CTX), sefpodoksim (CPD) ve bu disklerin 10 µg klavulanik asit içeren türdeş diskleri ile yapılmıştır. Diskler 24 s 37 °C ' de bırakılmış ve zon çapları ölçülmüştür (CLSI 2015).

3.2.6.4 Antibiyogram doğrulama ve MİK tayini

Antibiyogram doğrulama ve MİK (Minimal İnhibitör Konsantrasyonu) tayini işlemi Micronaut-S beta-lactamase VII Plate (Merlin Diagnostika, Germany) kullanılarak fenotipik tespitine göre, MİK parametreleri ile GSBL varlığının tanımlanması şeklindedir. MRS' de oluşan koloniler, steril pamuklu çubukla % 0,85' lik steril 5 ml tuzlu suda 0,5 McFarland yoğunluğu elde edilecek şekilde alınmıştır. Bu çözeltilerden 100 µl'lik 0,5 McFarland standarta sahip mikrobiyal süspansiyon otomatik pipetle çekilerek, tüpte önceden hazırlanmış 11 ml steril Mueller Hinton Buyyon (Merck, Almanya) aktarıldı ve süspansiyon vortexlenmiştir. Mueller Hinton Buyyon (Merck, Almanya) çözeltilerinden, 100 µl otomatik pipetle alınarak daha önceden antibakteriyal maddelerin hidratlanmış ve vakumla kurutulmuş olarak bulunduğu plakaların her bir gözüne (96 adet) aktarılmıştır. Plakaların üstü yapışkan ambalajla kapatılarak 37 °C' de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra, Thermo Scientific™ Multiskan™ FC Mikroplate spektrofotometresi ile (405 nm) okutma işlemi yapılmıştır. MİK verilerin analizi, otomatik olarak MCN6 yazılımı (Sifin, Germany) ile gerçekleştirilmiştir. Otomatik sistem plakaları analiz ederek, sonuçlar GSBL pozitif veya negatif olarak kaydedilmiştir. Bu bakterilerin GSBL üreten üretilmedikleri yapılan analizler sonucunda belirlenmiştir.



Şekil 3.7: Thermo Scientific™ Multiskan™ FC Mikroplate Spektrofotometresi

3.2.7 İzolatların EPS üretimlerinin tespiti

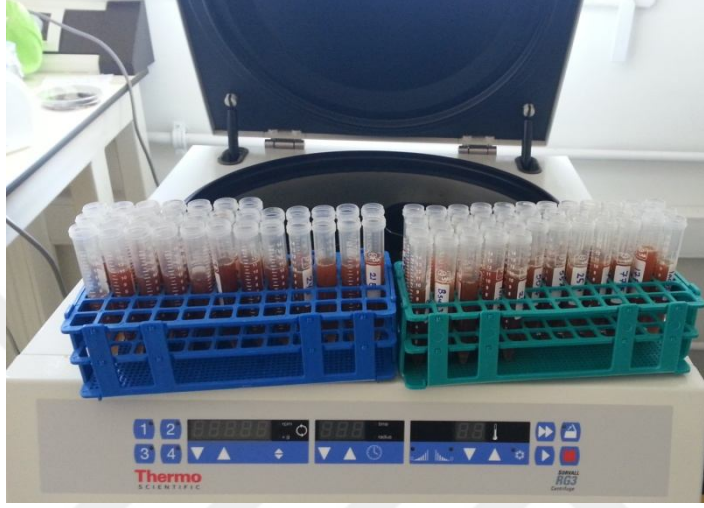
Probiyotiklerin EPS üretim miktarlarının belirlenmesinde Marshall ve ark' nın (1999) metodu kullanılmıştır. İzolatlar 37 °C'de iki defa MRS brothda aktifleştirilmiştir. Aktif kültürlerin optikçe yoğunlukları spektrofotometrede (Digilab Hitachi U-1800) 600 nm dalga boyunda 0,600'e ayarlanmıştır. Optik density değerleri ayarlanan izolatlardan 5 ml'lik MRS brothda ikiye paralelli olarak % 2 oranında inoküle edilmiş ve daha sonra 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde kültürlerden 1 ml ependorf tüplerine alınmış ve 100°C'de 15 dakika kaynatılmıştır. Örnekler oda sıcaklığına gelene kadar beklenmiş ve üzerlerine % 0,17 oranında % 85'lik Trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi eklenmiş ve 13,000 rpm'de 25 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant temiz bir ependorf tüpüne alınarak üzerine eşit hacimde (yaklaşık 1ml) etil alkol eklenmiş ve 15 dak 13,000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra EPS çöktürülmüştür. Pelletler 1 ml steril damıtık suda çözündürülmüş ve sonrasında üretilen EPS miktarının belirlenmesi için fenol sülfirik asit yöntemi kullanılmıştır (Torino ve ark. 2001).

Fenol-Sülfirik Asit Yöntemi

- Örneklerin üzerine 0,5 ml fenol ve 5 ml sülfirik asit ilave edilmiştir.
- Örnekler 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra iyice karıştırılmıştır ve 25-30 °C' de 15-20 dakika bekletilmiştir.

- Örneklerin OD değerleri 490 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

EPS üretim miktarlarını belirlemek için 5-100 mg/l arasında değişen oranlarda glikoz kullanılarak standart bir eğri çıkarılmıştır. Bu standarda göre türlerin EPS miktarları mg/l olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.8: Kültürlerin santrifüjlenerek pelletlerin elde edilmesi

3.2.8 İzolatların proteolitik aktivitelerinin tespiti

Aktifleştirilmiş kültürler 5000 rpm de 5 dakika santrifüj edilerek peptonlu su ile yıkanmıştır. Skim milk agar içeren petrilere her bir örnekten 10 µl ekim yapılmış ve 24 saat boyunca inkübe edilmiştir ve sonrasında petrilerdeki zon çapları cm cinsinden ölçülerek proteolitik aktiviteleri belirlenmiştir (Franciosi ve ark. 2009).



Şekil 3.9: Skim milk agar

3.2.9 İzolatların metabolik aktivitelerinin tespiti

Mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri litmuslu sütte üremeleri ve sonrasında oluşan değişiklikler (litmus renginin açılması veya koyulaşması, sütün pıhtılaşması vs.) incelenerek tespit edilir.

Süt içeriği olan protein, laktoz, mineraller, vitaminler, yağ ve gibi maddeler mikroorganizmalar için çok besleyici bir ortam oluşturmakta ve onlara üretici bir ortam sunar. Litmuslu süte mikroorganizma inokule edilir ve 37 °C de 1-7 gün inkübasyona bırakılır. Oluşan değişiklikler dikkate alınır. Bakteriler çoğalırken laktozu kullanarak organik asitler oluştururlar ve böylece ortam pH'nin düşmesine; nötral pH'da leylak kırmızısı renginde olan litmusun renginin açılmasına sebep olurlar. Süt proteini olan kazein asidik ortam nedeniyle pıhtılaşır ve laktozun kullanılması ile oluşan gazlar da süt pıhtısının parçalanmasını getirir. Litmuslu süt nötral pH da leylak kırmızısı renginde olup asidik ortamda açık pembe alkali ortamda mavi bir renk oluştururlar. Litmus sütteki oksidasyon ve redüksiyon için de iyi bir belirteçtir. Redüksiyon sütün renginin açılarak beyazlamasını sağlar (Cappuccino ve Sherman 2008, Aspri ve ark. 2017).

Değişikliklerin kolay gözlemlenebilmesi için,

Litmus sütlü besi yerleri

- Saf mikroorganizmalar
- Mikroorganizma ile inoküle edilmiş litmuslu süt

Litmuslu süte mikroorganizma ekildikten sonra 37 °C de 1-7 gün inkübasyona bırakılır. Günlük olarak değişiklikler takip edilir.

Sonuçların değerlendirmesi,

- Sütteki laktozun bakteri tarafından kullanılması sonucu oluşan laktik asit litmusun renginin pembeye dönmesine ve sütün pıhtılaşmasına sebep olur.
- Sütteki proteinlerin ve aminoasitlerin ayrışmasıyla amonyak pH'nın artmasına ve ortamın mavi rengine dönmesine neden olur.
- Litmusun redüksiyonu sonucu beyaz sarı renk oluşur.
- Gaz oluşumuyla pıhtı parçalanır.
- Pıhtının proteolitik enzimler ile hidrolizasyonu sonucu süt ortamının açılmasına sebep olur (Cappuccino ve Sherman 2008).

3.2.10 İzolatların laktik asit üretim yeteneklerinin tespiti

% Laktik asit MRS ve M17 brotlarda 37°C'de 24 saat inkübe edilen mikroorganizmaların laktik asit üretimleri titre edilmiş yüzde asitlik olarak hesaplanmıştır. 10 ml' lik MRS ve M17 sıvı besiyerlerine aktif suşlardan % 2 oranında inoküle edilerek 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda cam erlenlere aktarılarak 90 mL distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Üzerine 2-3 damla fenol fitaleyn indikatörü damlatılarak, 0,1 M NaOH (Merck) çözeltisi ile titre edilmiştir. Bakterilerin ürettiği asit titre edilebilir yüzde asitlik olarak hesaplanmıştır (Demirci ve Gündüz 2004).

% Asitlik= Harcanan 0,1 M NaOH (ml) x 0,9/ ml örnek

Fenol fitaleyn indikatörü; 0,1 gram fenol fitaleyn (Merck) % 60'lık etil alkolde (Merck) çözülerek hazırlanmıştır.

0,1N NaOH = 4g NaOH + 1litre saf su



Şekil 3.10: İzolatların laktik asit üretim yeteneklerinin tespiti

3.2.11 İzolatların antimikrobiyal etkilerin tespiti

İzolatların *Escherichia coli* ATCC 11229, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 7644 test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon materyal ve metoduna göre saptanmıştır. Bu yöntem çerçevesinde 15 ml MRS agar ve/veya M17 agar içeren petrilere 200 µl 10^6 - 10^7 kob/g aktif kültürler yayılmış, 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnhibisyon zonunun tespiti için test bakterileri Nutrient broth'ta 37 °C'de 24 saat aktifleştirilmiş ve hücre yoğunlukları 0,5 nolu McFarland standartına göre ayarlanmıştır. MRS agar ve/veya M17 agar içeren petrilere 1 ml'lik steril otomatik pipet uçlarıyla 9 mm çapında kuyucuklar açılarak ve 100 µl aktif test bakterileri ilave edilmiş ve inkübasyon bitiminde (37°C / 24 saat) oluşan zonların çapları milimetrik olarak ölçülmüştür (CLSI 2015; Todorov ve Dicks 2006).

3.2.12 İzolatların gıdalarda canlılıklarının korunmasının tespiti

İzolatlar, ürünlerdeki canlılıklarını ölçmek amacıyla ticari olarak satılan UHT süt ve elma suyu ürünlerine inoküle edilerek canlılıkları incelenmiştir. MRS ve M17 brothlarda iki kez aktive edilen kültürler marketlerden temin edilen UHT süt, elma suyu ürünlerine Champagne ve Gardner (2008)'in çalışmasına benzer şekilde % 1

oranında inoküle edilmiştir. Ürünler +4°C'de inkübe edilerek 72. saat sonrasında kültürlerin sayımı yapılmış ve ürünlerin pH değerleri ölçülmüştür. Kültürlerin sayımı için uygun dilüsyonlardan MRS agara ekim yapılarak 37°C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

3.2.13 İstatistiksel değerlendirme

İstatistiksel analizlerde SPSS Inc. Software (22.0 Versiyonu; SPSS Inc., Chicago, IL) kullanılmıştır. İstatistiksel analizlerinde pearson korelasyonuna göre, suşların asit toleransı, safra tuzu toleransları, hidrofobisiteleri, EPS üretimleri, proteolitik aktiviteleri, metabolik aktiviteleri, laktik asit üretim yeteneklerinin, antibiyotik duyarlılıkları, antimikrobiyal etkileri, gıdalarda canlılıklarını korunması arasında korelasyon olup olmadığı incelenmiştir.

4 BULGULAR

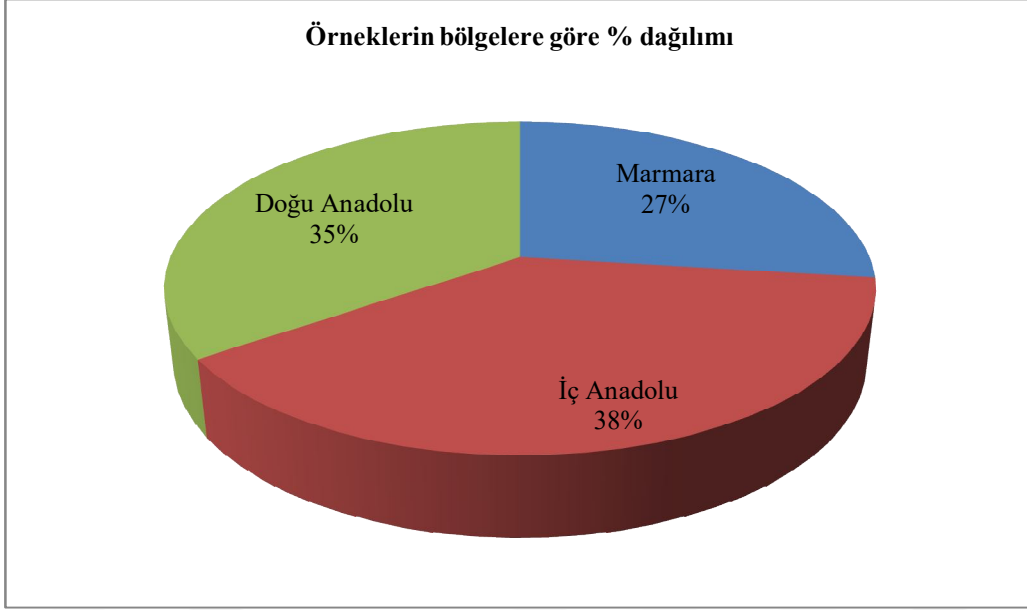
Boza, peynir, kefir ve çiğ süt'ten oluşmuş toplam 130 gıda örneğinden izolasyon sonucunda, elde edilen bakteriler MALDI-TOF MS (VITEK® MS, bioMerieux, Marcy l'Etoile/Fransa) ile tanımlanması sonucu *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Enterococcus faecium* türleri saptanmıştır. İdentifikasyonu ve karakterizasyonu gerçekleştirilen tekli bakteri suşlarının probiyotik özellikleri ve performans parametreleri incelenmiş ve bulgular ışığında parametreler arasındaki ilişki Pearson'un non parametrik istatistiksel korelasyonuna göre belirlenmiştir.

4.1 MALDI-TOF MS (VITEK® MS) ile Tanımlama

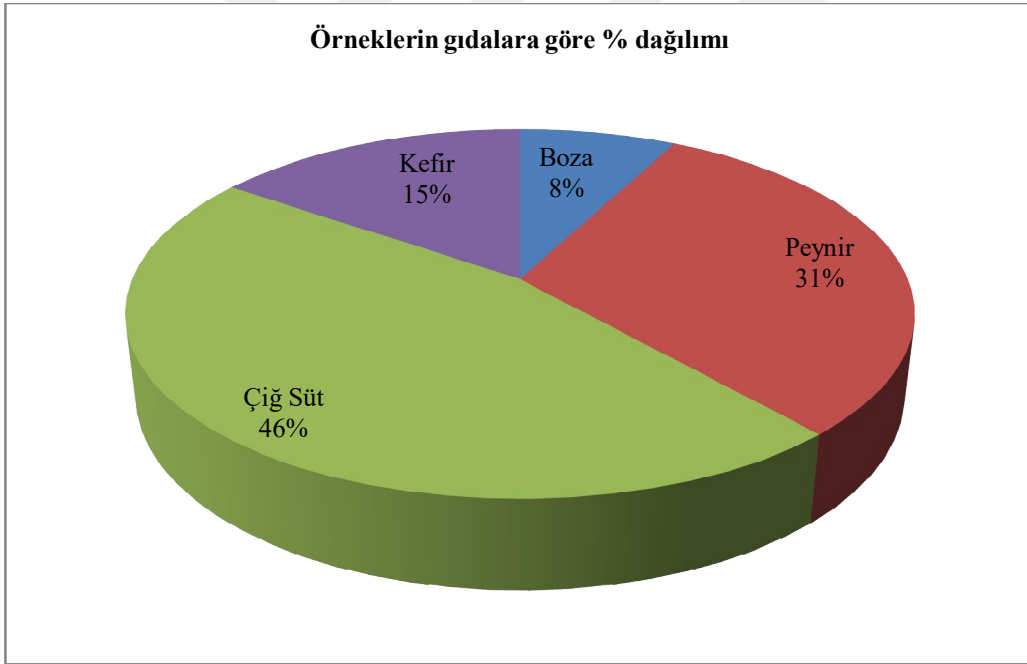
Toplam 144 adet izolat (127 adet *Enterococcus faecium*, 5 adet *Lactobacillus brevis*, 7 adet *Lactobacillus plantarum* ve 5 adet *Lactobacillus paraplantarum*) tiplendirmesi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.1: İzolatların gıda kaynağına göre dağılımı

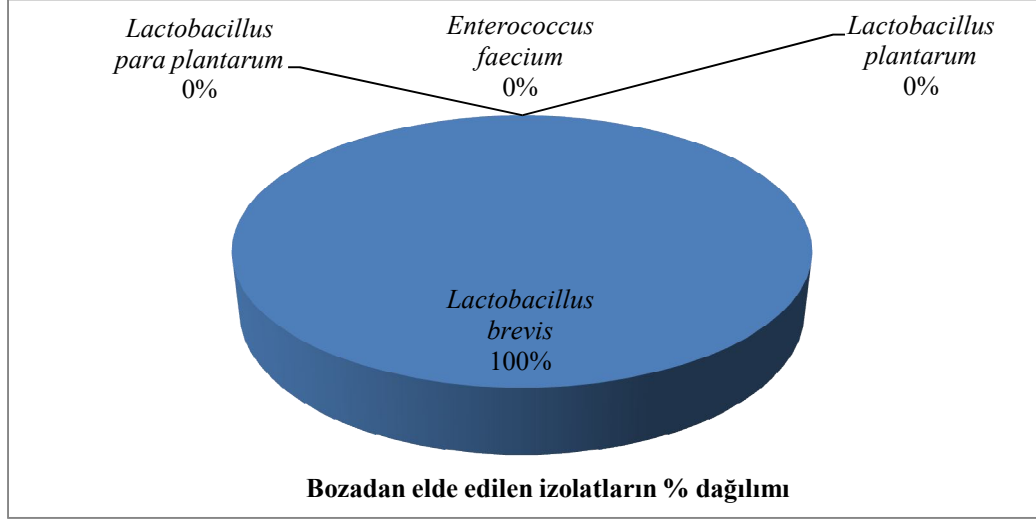
İzolat Adı	Kaynağı			
	Boza	Peynir	Çiğ Süt	Kefir
<i>Enterococcus faecium</i>	-	43	83	1
<i>Lactobacillus brevis</i>	5	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	-	3	1	3
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	-	3	-	2



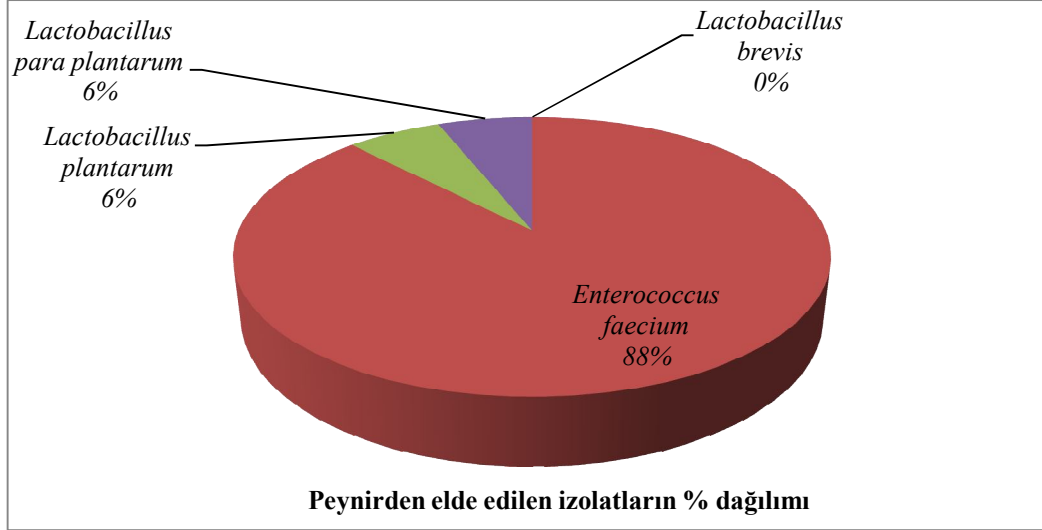
Şekil 4.1: Örneklerin bölgelere göre % dağılımı



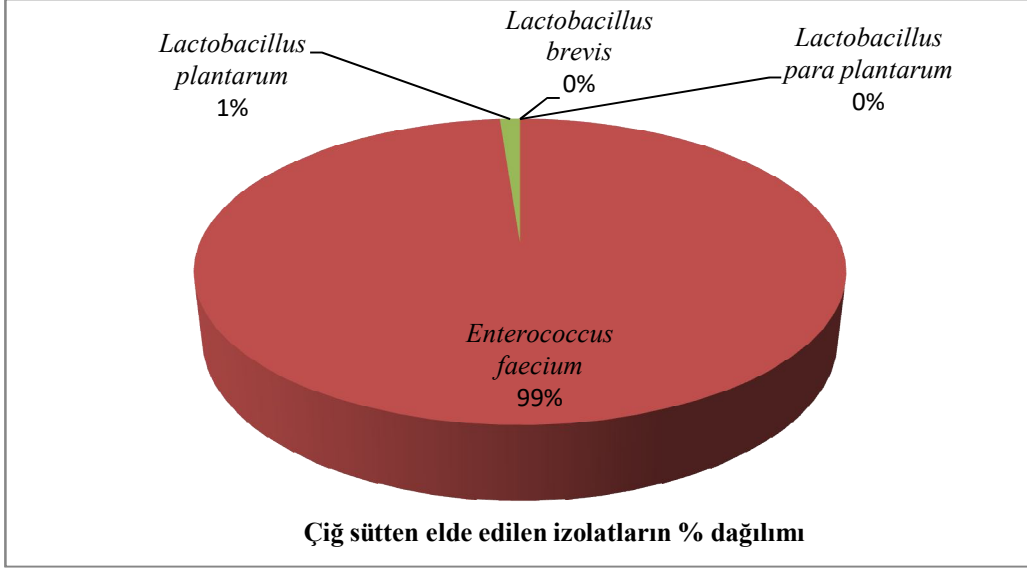
Şekil 4.2: Örneklerin gıdalara göre % dağılımı



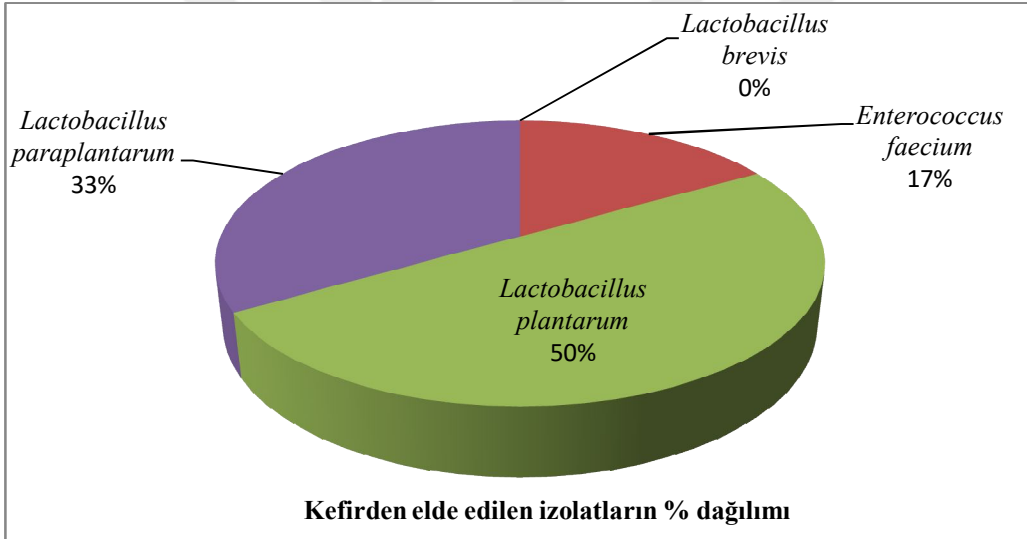
Şekil 4.3: Bozadan elde edilen izolatların % dağılımı



Şekil 4.4: Peynirden elde edilen izolatların % dağılımı



Şekil 4.5: Çiğ süttten elde edilen izolatların % dağılımı



Şekil 4.6: Kefirden elde edilen izolatların % dağılımı

4.2 Tanımlanan Bakterilerin Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

Tüm izolatların (toplam 144 adet) mide PH'sında dayanımları test edilmiş ve dayanımı sağlayan izolatlar için safra tuzu toleransları, sindirim sisteminde tutunmalarını sağlayan hidrofobisite yetenekleri olan hidrokarbonlara mikrobiyal tutunma yüzdesi, antibiyotik dirençliliği/duyarlılığı, disk difüzyon testleri, GSBL varlığı, disk difüzyonu konfirmasyonları, antibiyogram doğrulaması ve MİK tayinleri, EPS üretimleri, proteolitik aktiviteleri, metabolik aktiviteleri, laktik asit üretimleri, antimikrobiyal etkileri, gıdalarda canlılıklarını korunmaları, istatistiksel analiz bulguları aşağıda verilmiştir.

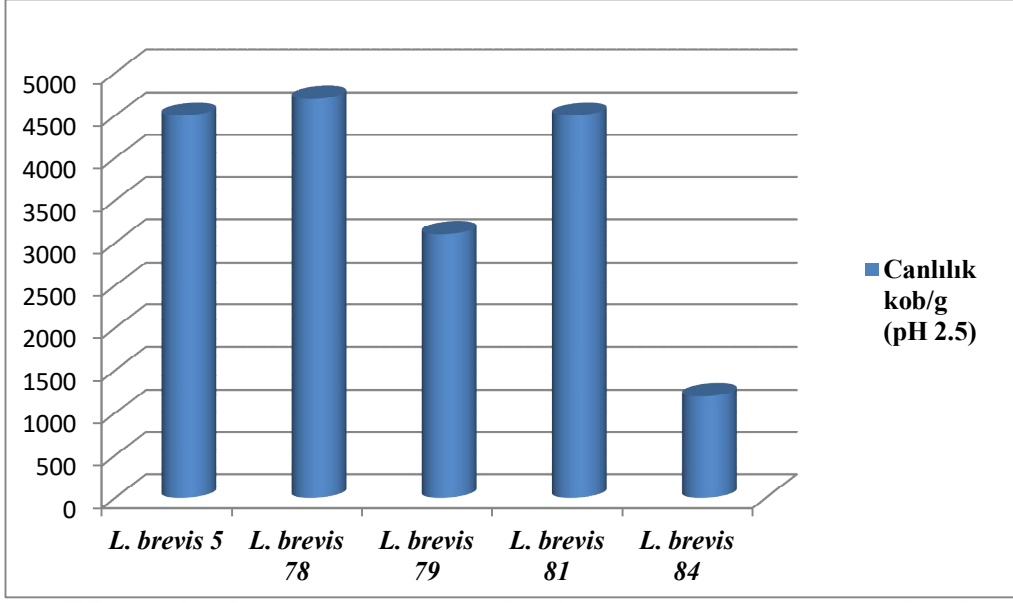
4.2.1 İzolatların asit toleransları

4.2.1.1 Bozadan izole edilmiş izolatların asit toleransları

Çizelge 4.2: Bozadan izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 saat sonrası canlılık değerleri

İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Canlılık kob/g (pH 2.5)	Mc.farland
-	<i>Şahit Numune</i>	-	1,3
5	<i>L. brevis</i>	4,50x10 ³	1,8
78	<i>L. brevis</i>	4,70x10 ³	1,9
79	<i>L. brevis</i>	3,10x10 ³	1,9
81	<i>L. brevis</i>	4,50x10 ³	1,8
84	<i>L. brevis</i>	1,20x10 ³	1,9

*Koyu renkli olan izolatlar asit tolererans testini geçmişlerdir.



Şekil 4.7: Bozadan izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 saat sonrası canlılık değerleri

4.2.1.2 Peynirden izole edilmiş izolatların asit toleransları

Çizelge 4.3: Peynirden izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth)
72 Saat sonrası canlılık değerler

İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Canlılık kob/g (pH 2.5)	Mc.farland
-	Şahit Numune	-	1,3
60B	<i>E. faecium</i>	5,1x10 ³	1,8
81B	<i>E. faecium</i>	3,3x10 ³	2,0
69B	<i>E. faecium</i>	4,2x10 ³	1,9
24B	<i>E. faecium</i>	5,2x10 ³	1,9
65B	<i>E. faecium</i>	7,8x10 ³	1,7
80B	<i>E. faecium</i>	5,2x10 ³	1,8
42B	<i>E. faecium</i>	5,6x10 ²	1,7
44B	<i>E. faecium</i>	1,1x10 ²	1,8
53B	<i>E. faecium</i>	7,6x10 ²	1,8
43C	<i>E. faecium</i>	2,0x10 ³	1,9
59B	<i>E. faecium</i>	6,5x10 ²	1,7
74B	<i>E. faecium</i>	1,1x10 ²	1,8
25B	<i>E. faecium</i>	6,9x10 ²	1,7
57B	<i>E. faecium</i>	2,5x10 ²	1,6
67B	<i>E. faecium</i>	5,6x10 ²	1,8
48B	<i>E. faecium</i>	7,0x10 ²	1,9
73B	<i>E. faecium</i>	9,8x10 ²	1,7
77C	<i>E. faecium</i>	1,5x10 ⁴	1,9
54C	<i>E. faecium</i>	5,7x10 ³	1,9
54B	<i>E. faecium</i>	1,8x10 ²	1,8
78B	<i>E. faecium</i>	5,4 x10 ²	1,7
78C	<i>E. faecium</i>	2,1x10 ³	1,9
22B	<i>E. faecium</i>	4,5x10 ²	1,7
20B	<i>E. faecium</i>	2,3x10 ²	1,8
18B	<i>E. faecium</i>	1,3x10 ²	1,7
A39	<i>E. faecium</i>	2,9x10 ²	1,9
A17	<i>E. faecium</i>	4,3x10 ²	1,8
G76	<i>E. faecium</i>	1,5x10 ⁴	2,0
G4	<i>E. faecium</i>	5,1x10 ³	2,0
G37	<i>E. faecium</i>	5,0x10 ³	2,0
G16	<i>E. faecium</i>	7,8x10 ²	1,7
G15	<i>E. faecium</i>	1,4x10 ²	1,6
G9	<i>E. faecium</i>	8,1x10 ²	1,8
A24	<i>E. faecium</i>	4,3x10 ²	1,7
A58	<i>E. faecium</i>	2,3x10 ²	1,6
A56	<i>E. faecium</i>	5,6x10 ²	1,7
A53	<i>E. faecium</i>	7,5x10 ²	1,6
E20	<i>E. faecium</i>	2,3x10 ³	1,8
F56	<i>E. faecium</i>	9,7x10 ²	1,8
E55	<i>E. faecium</i>	6,5x10 ²	1,7
G47	<i>E. faecium</i>	8,5x10 ²	1,9
A39	<i>E. faecium</i>	2,3x10 ²	1,8
F47	<i>E. faecium</i>	1,2x10 ²	1,8
E54	<i>L. paraplantarum</i>	2,5x10 ⁴	2,0
13B	<i>L. paraplantarum</i>	4,5x10 ³	1,8
8C	<i>L. paraplantarum</i>	5,6x10 ⁴	2,2
A21	<i>L. plantarum</i>	1,5x10 ³	1,9
E54a	<i>L. plantarum</i>	6,7x10 ²	1,7
8C	<i>L. plantarum</i>	2,2x10 ²	1,6

*Koyu renkli olan izolatlar asit tolererans testini geçmişlerdir.

4.2.1.3 Çiğ süttten izole edilmiş izolatların asit toleransları

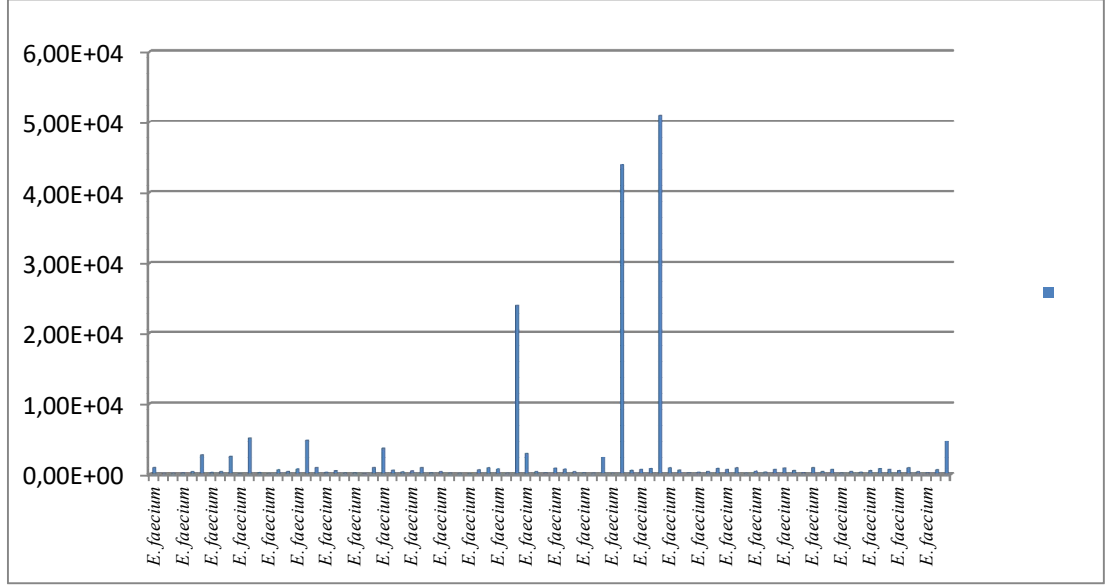
Çizelge 4.4: Çiğ süttten izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth)
72 Saat sonrası canlılık değerleri

İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Canlılık kob/g (pH 2.5)	Mc.farland
-	Şahit Numune	-	1,3
32	<i>E. faecium</i>	9,8x10 ²	1,8
39B	<i>E. faecium</i>	1,3x10 ²	1,8
52C	<i>E. faecium</i>	1,5x10 ²	1,6
23C	<i>E. faecium</i>	2,3x10 ²	1,9
71B	<i>E. faecium</i>	4,3x10 ²	1,8
21B	<i>E. faecium</i>	2,8x10³	1,9
47B	<i>E. faecium</i>	3,2x10 ²	1,8
15C	<i>E. faecium</i>	4,5 x10 ²	1,6
70B	<i>E. faecium</i>	2,6x10³	1,7
79B	<i>E. faecium</i>	1,1x10 ²	1,8
23B	<i>E. faecium</i>	5,2x10³	1,8
63B	<i>E. faecium</i>	3,0x10 ²	1,9
41B	<i>E. faecium</i>	1,2x10 ²	1,9
26B	<i>E. faecium</i>	6,7x10 ²	1,8
40B	<i>E. faecium</i>	46x10 ²	1,6
50C	<i>E. faecium</i>	78x10 ²	1,8
8B	<i>E. faecium</i>	4,9x10³	2,0
9B	<i>E. faecium</i>	9,7x10 ²	1,9
58B	<i>E. faecium</i>	3,4x10 ²	1,8
45C	<i>E. faecium</i>	5,6x10 ²	1,6
33B	<i>E. faecium</i>	2,2x10 ²	1,7
45C	<i>E. faecium</i>	2,3x10 ²	1,8
16B	<i>E. faecium</i>	9,0x10 ²	1,6
73C	<i>E. faecium</i>	9,8 x10 ²	1,9
A19	<i>E. faecium</i>	3,7x10³	1,8
G77	<i>E. faecium</i>	6,3x10 ²	1,8
A57	<i>E. faecium</i>	4,0x10 ²	1,8
G75	<i>E. faecium</i>	5,3x10 ²	1,8
A38	<i>E. faecium</i>	9,7x10 ²	1,8
G56	<i>E. faecium</i>	2,6x10 ²	1,9
G5	<i>E. faecium</i>	4,3x10 ²	1,6
G33	<i>E. faecium</i>	1,9x10 ²	1,8
G17	<i>E. faecium</i>	1,4x10 ²	1,9
G78	<i>E. faecium</i>	1,1 x10 ²	1,6
G45	<i>E. faecium</i>	6,7x10 ²	1,8
G10	<i>E. faecium</i>	9,4x10 ²	1,8
A26	<i>E. faecium</i>	7,8x10 ²	1,8
G14	<i>E. faecium</i>	1,7x10 ²	1,9
G11	<i>E. faecium</i>	2,4 x10⁴	2,0
G37	<i>E. faecium</i>	3,0 x10³	2,0
A37	<i>E. faecium</i>	4,3x10 ²	1,8
A27	<i>E. faecium</i>	2,5x10 ²	1,6
A53	<i>E. faecium</i>	8,9x10 ²	1,7
A54	<i>E. faecium</i>	7,6x10 ²	1,8
A57	<i>E. faecium</i>	4,3x10 ²	1,8
A40	<i>E. faecium</i>	2,4x10 ²	1,7
G35	<i>E. faecium</i>	1,9x10 ²	1,9
G1	<i>E. faecium</i>	2,4x10³	1,7
F80	<i>E. faecium</i>	1,5 x10 ²	1,6
E14	<i>E. faecium</i>	4,4 x10⁴	1,8
E22	<i>E. faecium</i>	6,0x10 ²	1,8

Çizelge 4.4: Çiğ süttten izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth)
72 Saat sonrası canlılık değerleri (devam)

İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Canlılık kob/g (pH 2.5)	Mc.farland
E23	<i>E. faecium</i>	7,4x10 ²	1,7
E15	<i>E. faecium</i>	8,4x10 ²	1,9
E75	<i>E. faecium</i>	5,1x10⁴	2,0
E41	<i>E. faecium</i>	9,4x10 ²	1,8
E47	<i>E. faecium</i>	6,5x10 ²	1,6
F55	<i>E. faecium</i>	2,7x10 ²	1,8
F41	<i>E. faecium</i>	3,4x10 ²	1,6
D1	<i>E. faecium</i>	4,5x10 ²	1,7
F33	<i>E. faecium</i>	8,5x10 ²	1,7
F39	<i>E. faecium</i>	7,3x10 ²	1,9
G27	<i>E. faecium</i>	9,4x10 ²	1,9
A40	<i>E. faecium</i>	1,5x10 ²	1,6
E59	<i>E. faecium</i>	4,8x10 ²	1,7
E58	<i>E. faecium</i>	3,8 x10 ²	1,7
A58	<i>E. faecium</i>	7,4x10 ²	1,6
G54	<i>E. faecium</i>	9,1x10 ²	1,7
G55	<i>E. faecium</i>	5,8x10 ²	1,6
D19	<i>E. faecium</i>	2,8x10 ²	1,7
G66	<i>E. faecium</i>	9,6x10 ²	1,7
G46	<i>E. faecium</i>	4,6x10 ²	1,8
G72	<i>E. faecium</i>	7,4x10 ²	1,6
D13	<i>E. faecium</i>	2,1x10 ²	1,7
G64	<i>E. faecium</i>	4,7x10 ²	1,9
G20	<i>E. faecium</i>	3,5x10 ²	1,8
A19	<i>E. faecium</i>	5,7x10 ²	1,6
D8	<i>E. faecium</i>	8,3x10 ²	1,6
F58	<i>E. faecium</i>	7,4x10 ²	1,9
E77	<i>E. faecium</i>	5,7x10 ²	1,7
E28	<i>E. faecium</i>	9,5x10 ²	1,6
G49	<i>E. faecium</i>	4,3x10 ²	1,8
E60	<i>E. faecium</i>	2,7x10 ²	1,8
G28	<i>E. faecium</i>	6,8x10 ²	1,8
4C	<i>L. plantarum</i>	4,7x10³	1,7

*Koyu renkli olan izolatlar asit tolererans testini geçmişlerdir.



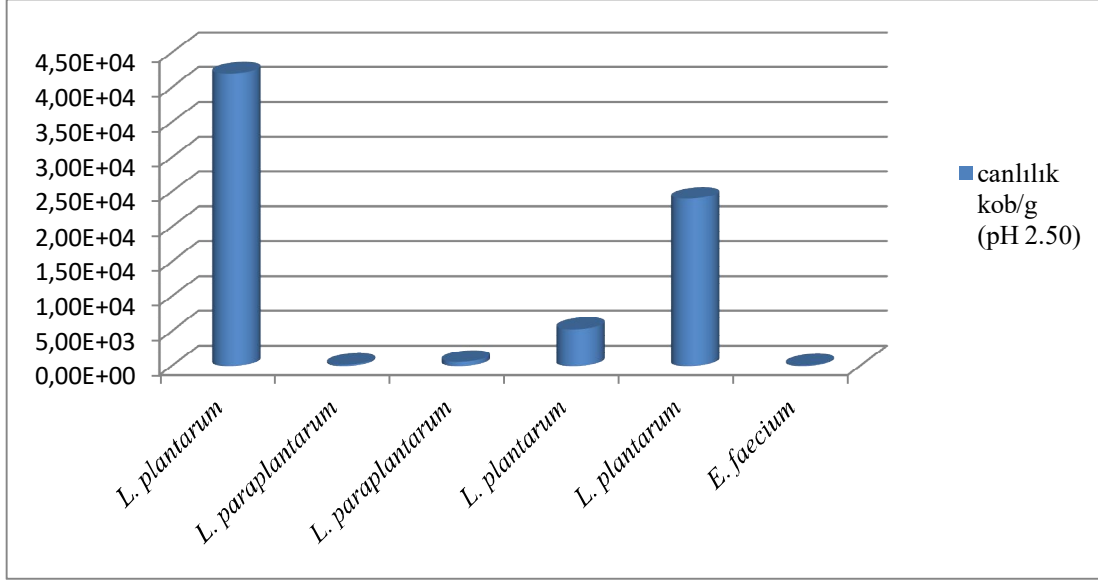
Şekil 4.9: Çiğ süttten izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 saat sonrası canlılık değerleri

4.2.1.4 Kefirden izole edilmiş izolatların asit toleransları

Çizelge 4.5: Kefirden izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 Saat sonrası canlılık değerleri

İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Canlılık kob/g (pH 2.5)	Mc.farland
44C	<i>L. plantarum</i>	$4,2 \times 10^4$	1,9
16C	<i>L. paraplantarum</i>	$2,1 \times 10^2$	1,6
16B	<i>L. paraplantarum</i>	$6,3 \times 10^2$	1,7
74C	<i>L. plantarum</i>	$5,3 \times 10^3$	1,7
12C	<i>L. plantarum</i>	$2,4 \times 10^4$	1,9
52B	<i>E. faecium</i>	$1,2 \times 10^2$	1,6

*Koyu renkli olan izolatlar asit tolererans testini geçmişlerdir.



Şekil 4.10: Kefirden izole edilmiş izolatların asit tolerans (pH 2,5 MRS Broth) 72 saat sonrası canlılık değerleri

4.2.1.5 Yüksek asit toleransı gösteren izolatların listesi

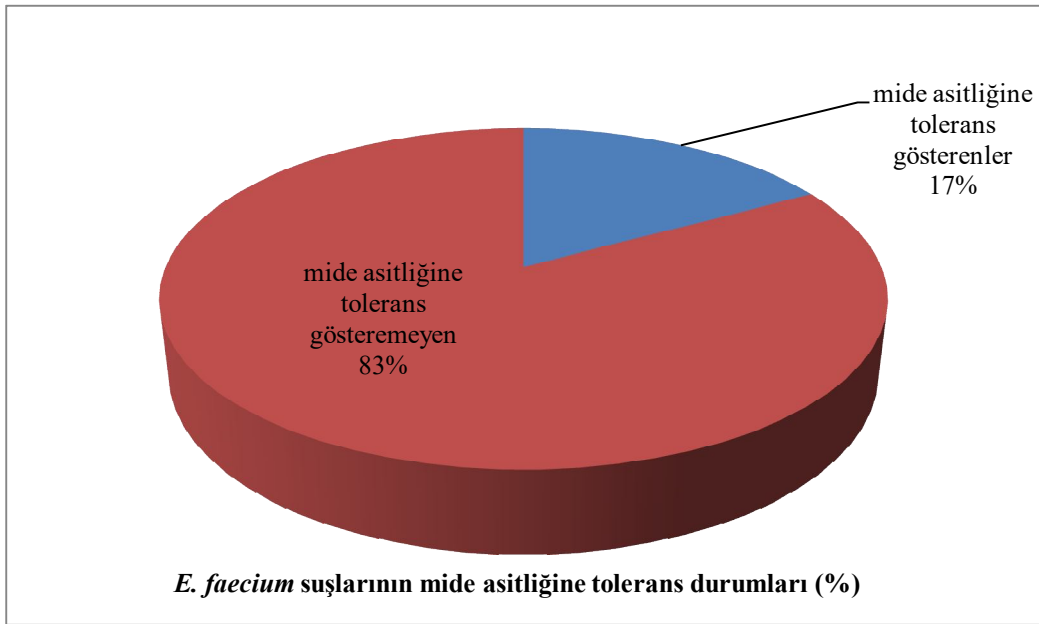
Çizelge 4.6: İzolatların asit toleranslarının tespiti

	Ürün	İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Asit toleransı	
				Canlılık kob/g (pH 2.50)	Mc. Farland
1	Boza	5	<i>L. brevis</i>	4,50x10 ³	1,8
2	Boza	78	<i>L. brevis</i>	4,70x10 ³	1,9
3	Boza	79	<i>L. brevis</i>	3,10x10 ³	1,9
4	Boza	81	<i>L. brevis</i>	4,50x10 ³	1,8
5	Boza	84	<i>L. brevis</i>	1,20x10 ³	1,9
6	Peynir	60B	<i>E. faecium</i>	5,10x10 ³	1,8
7	Peynir	81B	<i>E. faecium</i>	3,30x10 ³	2,0
8	Peynir	69B	<i>E. faecium</i>	4,20x10 ³	1,9
9	Peynir	24B	<i>E. faecium</i>	5,20x10 ³	1,9
10	Peynir	65B	<i>E. faecium</i>	7,80x10 ³	1,7
11	Peynir	80B	<i>E. faecium</i>	5,20x10 ³	1,8
12	Peynir	43C	<i>E. faecium</i>	2,00x10 ³	1,9
13	Peynir	77C	<i>E. faecium</i>	1,50x10 ⁴	1,9
14	Peynir	54C	<i>E. faecium</i>	5,70x10 ³	1,9
15	Peynir	G76	<i>E. faecium</i>	1,50x10 ⁴	2,0
16	Peynir	G4	<i>E. faecium</i>	5,10x10 ³	2,0
17	Peynir	G37	<i>E. faecium</i>	5,00x10 ³	2,0
18	Peynir	E54	<i>L. paraplantarum</i>	2,50x10 ⁴	2,0
19	Peynir	13B	<i>L. paraplantarum</i>	4,50x10 ³	1,8
20	Peynir	8C	<i>L. paraplantarum</i>	5,60x10 ⁴	2,2
21	Peynir	A21	<i>L. plantarum</i>	1,50x10 ³	1,9
22	Çiğ süt	21B	<i>E. faecium</i>	2,80x10 ³	1,9
23	Çiğ süt	70B	<i>E. faecium</i>	2,60x10 ³	1,7
24	Çiğ süt	23B	<i>E. faecium</i>	5,20x10 ³	1,8
25	Çiğ süt	8B	<i>E. faecium</i>	4,90x10 ³	2,0
26	Çiğ süt	A19	<i>E. faecium</i>	3,70x10 ³	1,8
27	Çiğ süt	G11	<i>E. faecium</i>	2,40x10 ⁴	2,0
28	Çiğ süt	G37a	<i>E. faecium</i>	3,00x10 ³	2,0
29	Çiğ süt	G1	<i>E. faecium</i>	2,40x10 ³	1,7
30	Çiğ süt	E14	<i>E. faecium</i>	4,40x10 ⁴	1,8
31	Çiğ süt	E75	<i>E. faecium</i>	5,10x10 ⁴	2,0
32	Çiğ süt	4C	<i>L. plantarum</i>	4,70x10 ³	1,7
33	Kefir	44C	<i>L. plantarum</i>	4,20x10 ⁴	1,9
34	Kefir	74C	<i>L. plantarum</i>	5,30x10 ³	1,7
35	Kefir	12C	<i>L. plantarum</i>	2,40x10 ⁴	1,9

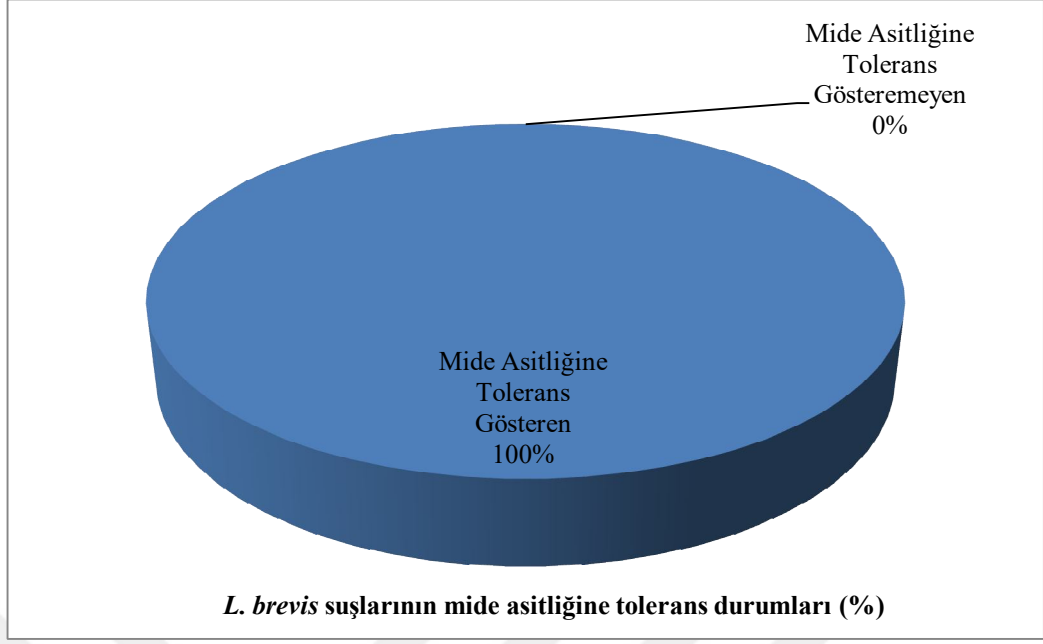
4.2.1.6 Mide dayanımını geçen izolatların ürün ve suşlara göre dağılımları

Çizelge 4.7: Mide Dayanımını Geçen İzolatların dağılımı

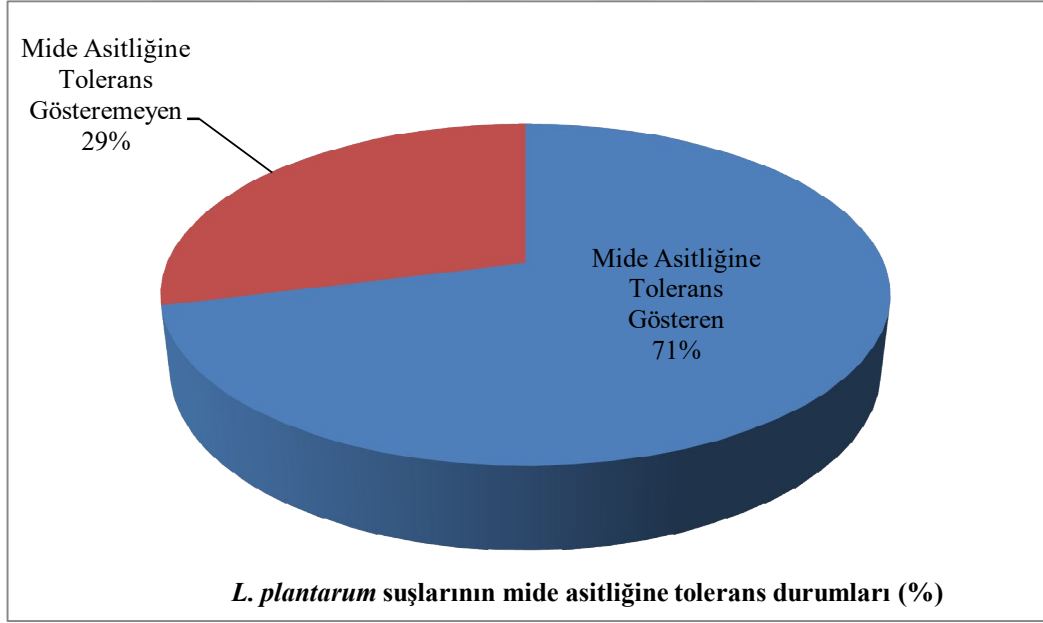
İzolat Adı	Kaynağı			
	Boza	Peynir	Çiğ Süt	Kefir
<i>E. faecium</i>	-	12	10	-
<i>L. brevis</i>	5	-	-	-
<i>L. plantarum</i>	-	1	1	3
<i>L. paraplantarum</i>	-	3	-	-



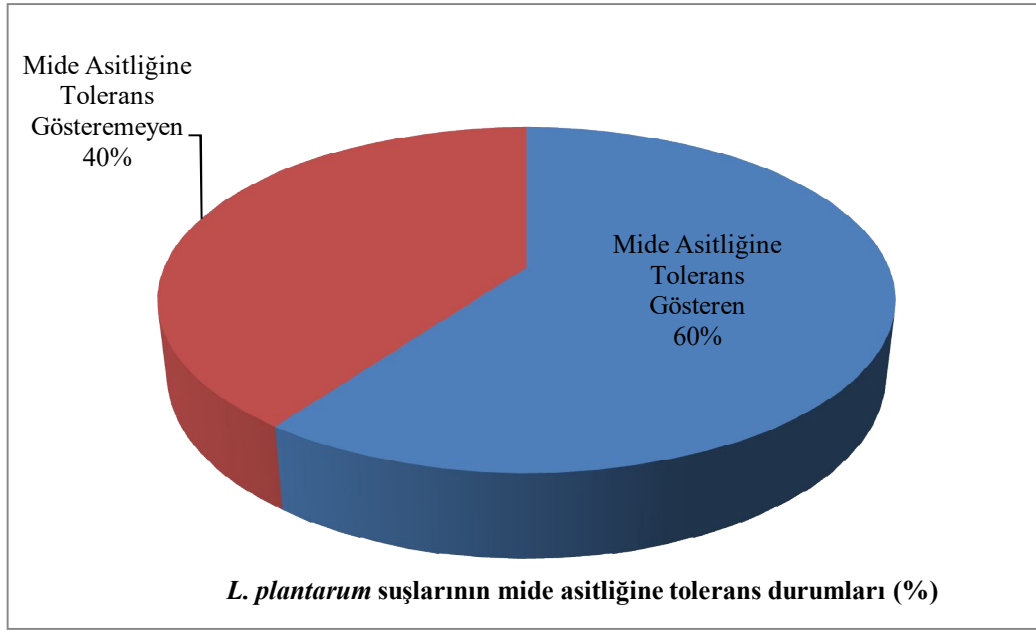
Şekil 4.11: *Enterococcus faecium* suşlarının mide asitliğine tolerans durumları (%)



Şekil 4.12: *Lactobacillus brevis* suşlarının mide asitliğine tolerans durumları (%)



Şekil 4.13: *Lactobacillus plantarum* suşlarının mide asitliğine tolerans durumları (%)



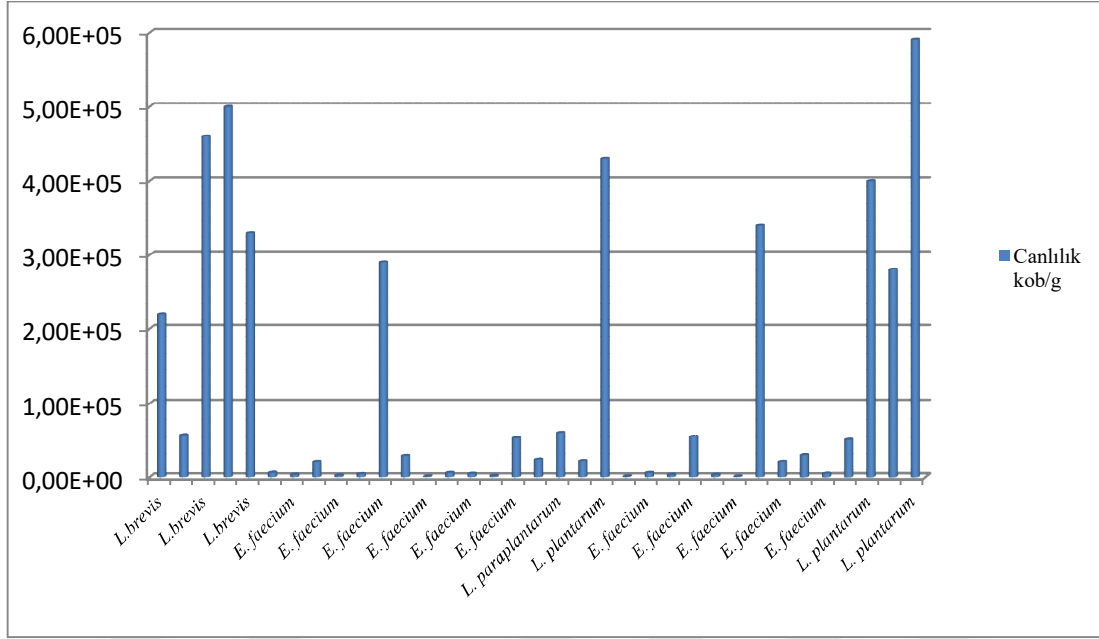
Şekil 4.14: *Lactobacillus paraplantarum* suşlarının mide asitliğine tolerans durumları (%)

4.2.2 İzolatların safra tuzu toleransları

Çizelge 4.8: İzolatların safra tuzu toleranslarının tespiti

Ürün	İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Safra tuzu toleransları		
			Canlılık kob/g	pH	
1	Boza	5	<i>L.brevis</i>	2,20x10⁵	4,96
2	Boza	78	<i>L.brevis</i>	5,70x10 ³	5,47
3	Boza	79	<i>L.brevis</i>	4,60x10⁵	5,05
4	Boza	81	<i>L.brevis</i>	5,00x10⁵	5,02
5	Boza	84	<i>L.brevis</i>	3,30x10⁵	5,14
6	Peynir	60B	<i>E. faecium</i>	5,90x10 ³	5,88
7	Peynir	81B	<i>E. faecium</i>	3,30x10 ³	5,82
8	Peynir	69B	<i>E. faecium</i>	2,10x10 ⁴	5,78
9	Peynir	24B	<i>E. faecium</i>	2,30x10 ³	5,91
10	Peynir	65B	<i>E. faecium</i>	4,10x10 ³	5,81
11	Peynir	80B	<i>E. faecium</i>	2,90x10⁵	5,85
12	Peynir	43C	<i>E. faecium</i>	2,90x10 ³	5,53
13	Peynir	77C	<i>E. faecium</i>	1,00x10 ³	5,76
14	Peynir	54C	<i>E. faecium</i>	5,70x10 ³	6,16
15	Peynir	G76	<i>E. faecium</i>	4,50x10 ³	5,71
16	Peynir	G4	<i>E. faecium</i>	1,80x10 ³	5,64
17	Peynir	G37	<i>E. faecium</i>	5,30x10 ⁴	5,48
18	Peynir	E54	<i>L. paraplantarum</i>	2,40x10 ⁴	5,15
19	Peynir	13B	<i>L. paraplantarum</i>	6,00x10 ⁴	5,84
20	Peynir	8C	<i>L. paraplantarum</i>	2,20x10 ⁴	5,11
21	Peynir	A21	<i>L. plantarum</i>	4,30x10 ⁴	5,04
22	Çiğ süt	21B	<i>E. faecium</i>	1,00x10 ³	5,76
23	Çiğ süt	70B	<i>E. faecium</i>	5,70x10 ³	5,86
24	Çiğ süt	23B	<i>E. faecium</i>	3,10x10 ³	5,96
25	Çiğ süt	8B	<i>E. faecium</i>	5,50x10 ⁴	5,79
26	Çiğ süt	A19	<i>E. faecium</i>	3,10x10 ³	5,96
27	Çiğ süt	G11	<i>E. faecium</i>	1,00x10 ³	5,71
28	Çiğ süt	G37a	<i>E. faecium</i>	3,40x10 ⁵	5,74
29	Çiğ süt	G1	<i>E. faecium</i>	2,10x10 ⁴	5,59
30	Çiğ süt	E14	<i>E. faecium</i>	3,00x10 ⁴	5,69
31	Çiğ süt	E75	<i>E. faecium</i>	4,60x10 ³	5,73
32	Çiğ süt	4C	<i>L. plantarum</i>	5,10x10 ⁴	5,03
33	Kefir	44C	<i>L. plantarum</i>	4,00x10⁵	5,36
34	Kefir	74C	<i>L. plantarum</i>	2,80x10⁵	5,47
35	Kefir	12C	<i>L. plantarum</i>	5,90x10⁵	5,58

* Koyu renkli olan izolatlar safra tuzu tolerans testini geçmişlerdir.



Şekil 4.15: İzolatların safra tuzu toleranslarının tespiti



Şekil 4.16: İzolatların laktik asit üretim yeteneklerinin tespiti

4.2.2.1 Safra toleransı gösteren izolatların ürün ve suşlara göre dağılımları

Çizelge 4.9: Safra Toleransı Gösteren İzolatların dağılımı

İzolat Adı	Kaynağı			
	Boza	Peynir	Çiğ Süt	Kefir
<i>E. faecium</i>	-	1	-	-
<i>L. brevis</i>	4	-	-	-
<i>L. plantarum</i>	-	-	-	3
<i>L. paraplantarum</i>	-	-	-	-

4.2.3 İzolatların hidrofobisiteleri

Çizelge 4.10: İzolatların hidrofobisitelerinin tespiti

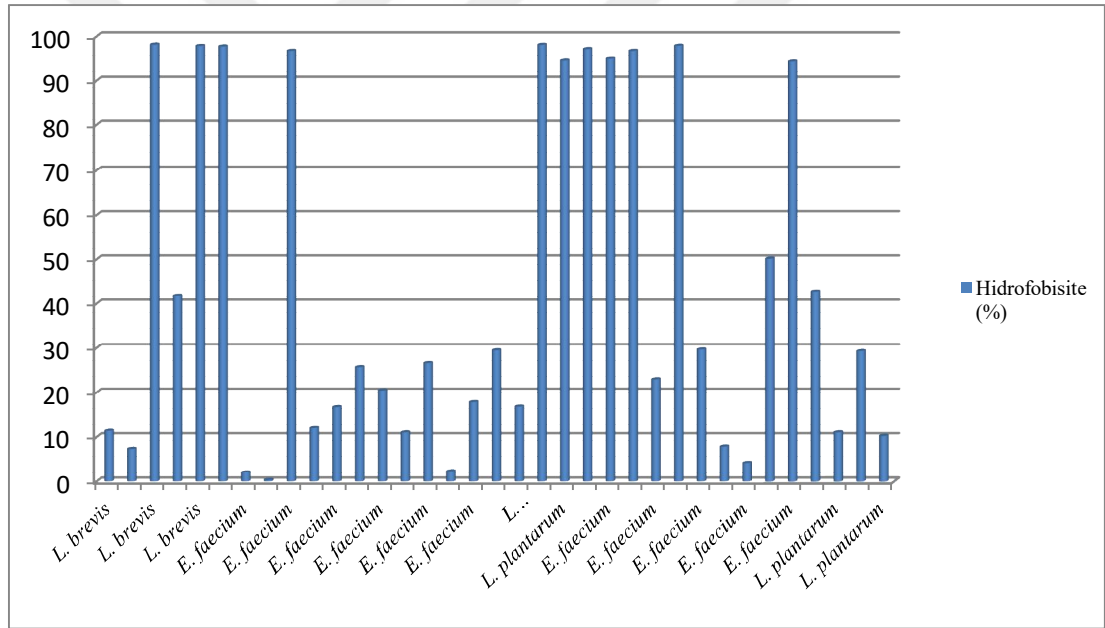
Ürün	İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Hidrofobisitelerin tespiti		
			A0	A1	Hidrofobisite (%)
Boza	5	<i>L. brevis</i>	2,909	2,578	11,38
Boza	78	<i>L. brevis</i>	3,208	2,974	7,29
Boza	79	<i>L. brevis</i>	2,937	0,056	98,09
Boza	81	<i>L. brevis</i>	3,082	1,793	41,82
Boza	84	<i>L. brevis</i>	3,025	0,067	97,79
Peynir	60B	<i>E. faecium</i>	3,146	0,073	97,68
Peynir	81B	<i>E. faecium</i>	2,967	2,907	2,02
Peynir	69B	<i>E. faecium</i>	3,046	3,036	0,33
Peynir	24B	<i>E. faecium</i>	2,694	0,088	96,73
Peynir	65B	<i>E. faecium</i>	3,11	2,738	11,96
Peynir	80B	<i>E. faecium</i>	2,826	2,351	16,81
Peynir	43C	<i>E. faecium</i>	3,109	2,31	25,7
Peynir	77C	<i>E. faecium</i>	2,954	2,349	20,48
Peynir	54C	<i>E. faecium</i>	2,904	2,583	11,05
Peynir	G76	<i>E. faecium</i>	2,965	2,177	26,58
Peynir	G4	<i>E. faecium</i>	3,313	3,238	2,26
Peynir	G37	<i>E. faecium</i>	2,888	2,371	17,9
Peynir	E54	<i>L. paraplantarum</i>	2,946	2,076	29,53
Peynir	13B	<i>L. paraplantarum</i>	2,91	2,417	16,94
Peynir	8C	<i>L. paraplantarum</i>	3,439	0,068	98,02
Peynir	A21	<i>L. plantarum</i>	2,941	0,161	94,53
Çiğ süt	21B	<i>E. faecium</i>	3,562	0,103	97,11
Çiğ süt	70B	<i>E. faecium</i>	2,988	0,152	94,91
Çiğ süt	23B	<i>E. faecium</i>	2,694	0,088	96,73
Çiğ süt	8B	<i>E. faecium</i>	3,112	2,4	22,88
Çiğ süt	A19	<i>E. faecium</i>	2,98	0,065	97,82
Çiğ süt	G11	<i>E. faecium</i>	2,786	1,958	29,72
Çiğ süt	G37a	<i>E. faecium</i>	2,964	2,733	7,79
Çiğ süt	G1	<i>E. faecium</i>	2,68	2,571	4,07
Çiğ süt	E14	<i>E. faecium</i>	2,695	1,343	50,17
Çiğ süt	E75	<i>E. faecium</i>	3,573	0,203	94,32
Çiğ süt	4C	<i>L. plantarum</i>	3,061	1,753	42,73
Kefir	44C	<i>L. plantarum</i>	2,904	2,583	11,05
Kefir	74C	<i>L. plantarum</i>	3,157	2,23	29,36
Kefir	12C	<i>L. plantarum</i>	3,072	2,756	10,29

4.2.3.1 Yüksek hidrofobisite gösteren izolatların ürün ve suşlara göre dağılımları

Çizelge 4.11: Yüksek hidrofobisite Gösteren İzolatların dağılımı

İzolat Adı	Kaynağı			
	Boza	Peynir	Çiğ Süt	Kefir
<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
<i>L. brevis</i>	3	-	-	-
<i>L. plantarum</i>	-	-	-	3
<i>L. paraplantarum</i>	-	-	-	-

* Koyu renkli olanlar safra tolerans testini geçerek hidrofobisite yeteneği yeterli bulunan izolatlar.



Şekil 4.17: İzolatların hidrofobisite testinin tespiti

4.2.4 İzolatların antibiyotik duyarlılıkları

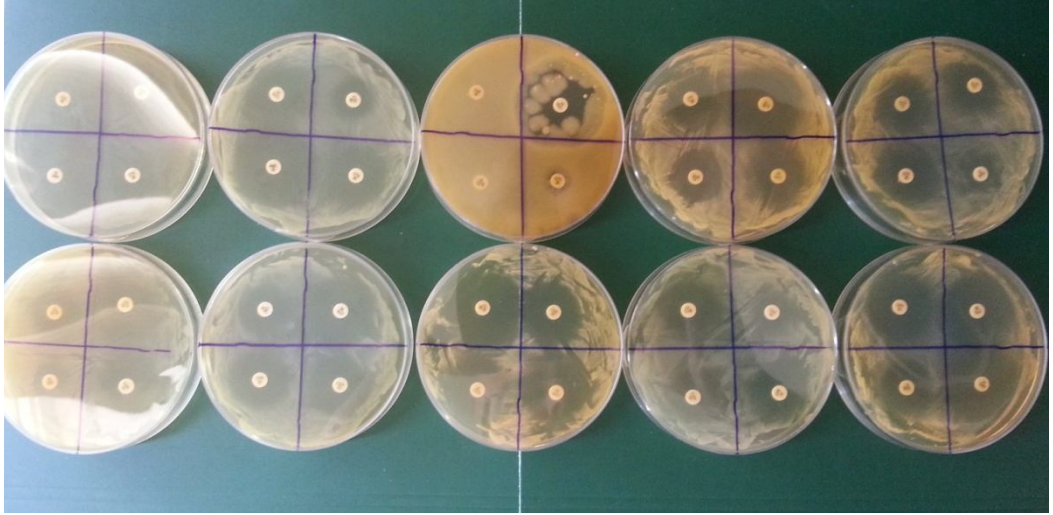
Çizelge 4.12: İzolatların antibiyotik duyarlılıkları

Ürün	İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Antibiyotik duyarlılık testi								
			CEP 30	CHL 30	NOV	AMC	CEP	CHL	NOV	AMC	
1	Boza	5	<i>L. brevis</i>	S	S	S	S	13,8	11,8	5,65	9,8
2	Boza	78	<i>L. brevis</i>	S	S	S	S	9,57	10,8	11,8	8,8
3	Boza	79	<i>L. brevis</i>	S	S	S	S	7,8	10,8	9,75	5,6
4	Boza	81	<i>L. brevis</i>	S	S	S	S	5,7	9,9	10,7	2,7
5	Boza	84	<i>L. brevis</i>	S	S	S	S	10,4	9,11	5,12	11,5
6	Peynir	60B	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	7,35	-	-	11,8
7	Peynir	81B	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	4,66	6,07	-	9,4
8	Peynir	69B	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	1,96	3,05	-	7,71
9	Peynir	24B	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	6,17	-	8,44	10,1
10	Peynir	65B	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	3,7	-	-	6,12
11	Peynir	80B	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	6,5	-	-	9,3
12	Peynir	43C	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	10,6	11,7	8,27	11,5
13	Peynir	77C	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	6,74	6,75	9,6	-
14	Peynir	54C	<i>E. faecium</i>	S	S	S	MS	9,72	-	6,25	14,6
15	Peynir	G76	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	3,16	2,72	-	7,8
16	Peynir	G4	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	4,5	-	-	8,8
17	Peynir	G37	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	5,72	8,59	-	10,1
18	Peynir	E54	<i>L. paraplantarum</i>	S	S	S	S	-	-	-	9,5
19	Peynir	13B	<i>L. paraplantarum</i>	S	S	S	S	6,55	-	-	9,23
20	Peynir	8C	<i>L. paraplantarum</i>	S	R	MS	R	11,4	18,6	14,3	21,2
21	Peynir	A21	<i>L. plantarum</i>	S	S	S	S	-	-	8,8	12,1
22	Çiğ süt	21B	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	4,09	-	-	9,22
23	Çiğ süt	70B	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	5,39	-	-	9,65
24	Çiğ süt	23B	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	3,9	-	-	-
25	Çiğ süt	8B	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	2,8	-	-	9,5
26	Çiğ süt	A19	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	5,53	-	-	7,07
27	Çiğ süt	G11	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	5,69	-	-	9,32
28	Çiğ süt	G37a	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	4,11	8,76	6,5	9,09
29	Çiğ süt	G1	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	4,7	-	1,09	7,89
30	Çiğ süt	E14	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	3,73	-	2,9	7,89
31	Çiğ süt	E75	<i>E. faecium</i>	S	S	S	S	13,1	-	8,86	9,3
32	Çiğ süt	4C	<i>L. plantarum</i>	MS	R	MS	R	15,7	17,4	13,6	16,4
33	Kefir	44C	<i>L. plantarum</i>	S	S	S	S	6,66	-	6,68	11
34	Kefir	74C	<i>L. plantarum</i>	S	S	S	S	3,12	5,12	3,65	10,3
35	Kefir	12C	<i>L. plantarum</i>	S	MS	S	R	14	14,9	13,4	16,3

Çizelge 4.13: Çalışmada kullanılan antibiyotik disklerde görülen zonların antibiyotik direnç karşılıkları (Charteris ve ark. 1998)

Antimikrobiyal Adı	Disk konsantrasyonu (µg)	Zon çaplarının (mm) direnç karşılıkları		
		S	MS	R
Amoksisilin	30	≤12	13-15	16≥
Cephalothin	30	≤14	15-17	18≥
Cephalothin	30	≤13	14-17	18≥
Novobiocin	5	≤13	14-17	18≥

Dirençli (R), orta dereceli hassas (MS) ve hassas (S)



Şekil 4.18: İzolatların antibiyotik duyarlılıkları

4.2.4.1 İzolatların antibiyotik disk confirmasyonu, antibiyogram doğrulaması, MİK tayini ve GSBL tespiti

Çizelge 4.14: Numunelerin antibiyotik disk confirmasyon zonları (mm), antibiyogram doğrulama ve MİK ($\mu\text{g/ml}$) sonuçları

No	Kaynak	İzolat kodu	Bakteri tipi	CAZ ZON	CAZ CV	CTX ZON	CTX CV	CPD ZON	CPD CV	C A Z	CAZ MİK	CAZ CV MİK	C T X	CTX MİK	CTX CV MİK	G S B L
3	Boza	79	<i>L.brevis</i>	16	18	24	25	23	23	R	32	>32/4	S	≤ 1	$\leq 0,5/4$	-
4	Boza	81	<i>L.brevis</i>	-	-	-	-	-	-	S	≤ 1	$\leq 0,2/5/4$?	-	-	-
5	Boza	84	<i>L.brevis</i>	-	-	-	-	-	-	S	≤ 1	$\leq 0,2/5/4$	S	≤ 1	$\leq 0,2/5/4$	-
33	Kefir	44 C	<i>L.plantarum</i>	-	-	-	-	-	-	?	-	-	S	≤ 1	$\leq 0,2/5/4$	-
34	Kefir	74 C	<i>L.plantarum</i>	-	-	-	-	-	-	S	≤ 1	$\leq 0,2/5/4$	S	≤ 1	$\leq 0,2/5/4$	-
35	Kefir	12C	<i>L.plantarum</i>	18	18	15	15	18	18	S	≤ 1	$\leq 0,2/5/4$	S	≤ 1	$\leq 0,2/5/4$	-

İzolatlar GSBL(-) olarak tespit edilmiştir.

4.2.4.2 Probiyotik özellikleri sağlayan izolatlar

Çizelge 4.15: Probiyotik özellikleri olan suşlar ve kaynakları

No	Kaynak	İzolat kodu	Bakteri tipi
3	Boza	79	<i>L.brevis</i>
4	Boza	81	<i>L.brevis</i>
5	Boza	84	<i>L.brevis</i>
33	Kefir	44 C	<i>L.plantarum</i>
34	Kefir	74 C	<i>L.plantarum</i>
35	Kefir	12C	<i>L.plantarum</i>

4.2.5 İzolatların EPS üretimleri

Çizelge 4.16: İzolatların EPS üretimleri

Ürün	İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	EPS üretimi (mg/lt)	
1	Boza	5	<i>L. brevis</i>	288,54
2	Boza	78	<i>L. brevis</i>	38,44
3	Boza	79	<i>L. brevis</i>	21,1
4	Boza	81	<i>L. brevis</i>	298,47
5	Boza	84	<i>L. brevis</i>	48,51
6	Peynir	60B	<i>E. faecium</i>	15,44
7	Peynir	81B	<i>E. faecium</i>	15,06
8	Peynir	69B	<i>E. faecium</i>	22,11
9	Peynir	24B	<i>E. faecium</i>	10,98
10	Peynir	65B	<i>E. faecium</i>	25,06
11	Peynir	80B	<i>E. faecium</i>	25,57
12	Peynir	43C	<i>E. faecium</i>	46,77
13	Peynir	77C	<i>E. faecium</i>	8,42
14	Peynir	54C	<i>E. faecium</i>	14,52
15	Peynir	G76	<i>E. faecium</i>	11,34
16	Peynir	G4	<i>E. faecium</i>	11,52
17	Peynir	G37	<i>E. faecium</i>	13,95
18	Peynir	E54	<i>L. paraplantarum</i>	28,11
19	Peynir	13B	<i>L. paraplantarum</i>	25,2
20	Peynir	8C	<i>L. paraplantarum</i>	30,01
21	Peynir	A21	<i>L. plantarum</i>	34,52
22	Çiğ süt	21B	<i>E. faecium</i>	25,1
23	Çiğ süt	70B	<i>E. faecium</i>	200
24	Çiğ süt	23B	<i>E. faecium</i>	18,06
25	Çiğ süt	8B	<i>E. faecium</i>	22,14
26	Çiğ süt	A19	<i>E. faecium</i>	17,44
27	Çiğ süt	G11	<i>E. faecium</i>	25,12
28	Çiğ süt	G37a	<i>E. faecium</i>	88,17
29	Çiğ süt	G1	<i>E. faecium</i>	12,2
30	Çiğ süt	E14	<i>E. faecium</i>	29,44
31	Çiğ süt	E75	<i>E. faecium</i>	28,2
32	Çiğ süt	4C	<i>L. plantarum</i>	38,41
33	Kefir	44C	<i>L. plantarum</i>	34,52
34	Kefir	74C	<i>L. plantarum</i>	123,1
35	Kefir	12C	<i>L. plantarum</i>	41,05

4.2.6 İzolatların proteolitik aktiviteleri

Çizelge 4.17: İzolatların proteolitik aktivitesi

Ürün	İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Bakteri suşlarının proteolitik aktivitesi Skim milk zon çapı (mm)	
1	Boza	5	<i>L. brevis</i>	14,2
2	Boza	78	<i>L. brevis</i>	15,95
3	Boza	79	<i>L. brevis</i>	12,94
4	Boza	81	<i>L. brevis</i>	14,93
5	Boza	84	<i>L. brevis</i>	16,97
6	Peynir	60B	<i>E. faecium</i>	8,56
7	Peynir	81B	<i>E. faecium</i>	10,62
8	Peynir	69B	<i>E. faecium</i>	11,54
9	Peynir	24B	<i>E. faecium</i>	10,98
10	Peynir	65B	<i>E. faecium</i>	11,17
11	Peynir	80B	<i>E. faecium</i>	13,18
12	Peynir	43C	<i>E. faecium</i>	18,05
13	Peynir	77C	<i>E. faecium</i>	12,38
14	Peynir	54C	<i>E. faecium</i>	14,52
15	Peynir	G76	<i>E. faecium</i>	11,34
16	Peynir	G4	<i>E. faecium</i>	11,52
17	Peynir	G37	<i>E. faecium</i>	13,95
18	Peynir	E54	<i>L. paraplantarum</i>	15,93
19	Peynir	13B	<i>L. paraplantarum</i>	11,78
20	Peynir	8C	<i>L. paraplantarum</i>	16,09
21	Peynir	A21	<i>L. plantarum</i>	14,43
22	Çiğ süt	21B	<i>E. faecium</i>	12,22
23	Çiğ süt	70B	<i>E. faecium</i>	11,54
24	Çiğ süt	23B	<i>E. faecium</i>	10,43
25	Çiğ süt	8B	<i>E. faecium</i>	10,09
26	Çiğ süt	A19	<i>E. faecium</i>	13,8
27	Çiğ süt	G11	<i>E. faecium</i>	11,34
28	Çiğ süt	G37a	<i>E. faecium</i>	12,43
29	Çiğ süt	G1	<i>E. faecium</i>	6,42
30	Çiğ süt	E14	<i>E. faecium</i>	10,63
31	Çiğ süt	E75	<i>E. faecium</i>	10,72
32	Çiğ süt	4C	<i>L. plantarum</i>	15,67
33	Kefir	44C	<i>L. plantarum</i>	16,3
34	Kefir	74C	<i>L. plantarum</i>	4,74
35	Kefir	12C	<i>L. plantarum</i>	17,65

4.2.7 İzolatların metabolik aktiviteleri

Çizelge 4.18: İzolatların metabolik aktiviteleri

Ürün	İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Bakteri suşlarının metabolik aktiviteleri (litmus milk)				
			PH	Renk	Gaz	Pıhtı	
1	Boza	5	<i>L. brevis</i>	5,71	Beyaz	-	+
2	Boza	78	<i>L. brevis</i>	4,98	A.pembe	-	-
3	Boza	79	<i>L. brevis</i>	5,07	Beyaz	-	+
4	Boza	81	<i>L. brevis</i>	4,98	Beyaz	-	+
5	Boza	84	<i>L. brevis</i>	4,85	A.pembe	-	+
6	Peynir	60B	<i>E. faecium</i>	5,92	A.pembe	+	-
7	Peynir	81B	<i>E. faecium</i>	5,93	A.pembe	+	-
8	Peynir	69B	<i>E. faecium</i>	5,93	A.pembe	+	-
9	Peynir	24B	<i>E. faecium</i>	5,88	A.pembe	+	-
10	Peynir	65B	<i>E. faecium</i>	5,87	A.pembe	+	-
11	Peynir	80B	<i>E. faecium</i>	5,79	A.pembe	+	-
12	Peynir	43C	<i>E. faecium</i>	5,4	A.pembe	+	-
13	Peynir	77C	<i>E. faecium</i>	5,81	A.pembe	-	+
14	Peynir	54C	<i>E. faecium</i>	5,76	A.pembe	+	-
15	Peynir	G76	<i>E. faecium</i>	5,9	A.pembe	-	-
16	Peynir	G4	<i>E. faecium</i>	5,59	A.pembe	+	-
17	Peynir	G37	<i>E. faecium</i>	5,45	Beyaz	+	+
18	Peynir	E54	<i>L. paraplantarum</i>	5,42	A.pembe	+	+
19	Peynir	13B	<i>L. paraplantarum</i>	5,91	A.pembe	+	-
20	Peynir	8C	<i>L. paraplantarum</i>	5,38	A.pembe	-	-
21	Peynir	A21	<i>L. plantarum</i>	5,44	A.pembe	-	-
22	Çiğ süt	21B	<i>E. faecium</i>	5,81	A.pembe	+	-
23	Çiğ süt	70B	<i>E. faecium</i>	5,89	A.pembe	+	-
24	Çiğ süt	23B	<i>E. faecium</i>	5,87	A.pembe	+	-
25	Çiğ süt	8B	<i>E. faecium</i>	5,88	A.pembe	+	-
26	Çiğ süt	A19	<i>E. faecium</i>	5,64	A.pembe	+	+
27	Çiğ süt	G11	<i>E. faecium</i>	5,94	A.pembe	+	+
28	Çiğ süt	G37a	<i>E. faecium</i>	5,86	Beyaz	+	+
29	Çiğ süt	G1	<i>E. faecium</i>	6,95	Pembe	-	-
30	Çiğ süt	E14	<i>E. faecium</i>	5,95	A.pembe	+	-
31	Çiğ süt	E75	<i>E. faecium</i>	5,53	A.pembe	-	+
32	Çiğ süt	4C	<i>L. plantarum</i>	5,7	A.pembe	-	-
33	Kefir	44C	<i>L. plantarum</i>	5,83	A.pembe	-	-
34	Kefir	74C	<i>L. plantarum</i>	5,63	A.pembe	+	-
35	Kefir	12C	<i>L. plantarum</i>	5,27	A.pembe	-	-



Şekil 4.19: İzolatların metabolik aktiviteleri (litmus milk)

4.2.8 İzolatların laktik asit üretimleri

Çizelge 4.19: İzolatların laktik asit üretim yeteneklerinin tespiti

Ürün	İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Laktik asit üretim yeteneklerinin tespiti	
			Harcanan NaOH (ml)	Laktik Asit (%)
Boza	5	<i>L. brevis</i>	2,75	2,48
Boza	78	<i>L. brevis</i>	3,00	2,70
Boza	79	<i>L. brevis</i>	2,95	2,66
Boza	81	<i>L. brevis</i>	2,80	2,52
Boza	84	<i>L. brevis</i>	3,00	2,70
Peynir	60B	<i>E. faecium</i>	2,80	2,52
Peynir	81B	<i>E. faecium</i>	2,90	2,61
Peynir	69B	<i>E. faecium</i>	2,30	2,07
Peynir	24B	<i>E. faecium</i>	2,60	2,34
Peynir	65B	<i>E. faecium</i>	2,90	2,61
Peynir	80B	<i>E. faecium</i>	2,25	2,025
Peynir	43C	<i>E. faecium</i>	3,15	2,835
Peynir	77C	<i>E. faecium</i>	2,8	2,52
Peynir	54C	<i>E. faecium</i>	3,15	2,835
Peynir	G76	<i>E. faecium</i>	2,6	2,34
Peynir	G4	<i>E. faecium</i>	2,5	2,25
Peynir	G37	<i>E. faecium</i>	3	2,7
Peynir	E54	<i>L. paraplantarum</i>	2,9	2,61
Peynir	13B	<i>L. paraplantarum</i>	2,35	2,115
Peynir	8C	<i>L. paraplantarum</i>	3	2,7
Peynir	A21	<i>L. plantarum</i>	3,1	2,79
Çiğ süt	21B	<i>E. faecium</i>	2,6	2,34
Çiğ süt	70B	<i>E. faecium</i>	2,3	2,07
Çiğ süt	23B	<i>E. faecium</i>	2,9	2,61
Çiğ süt	8B	<i>E. faecium</i>	2,6	2,34
Çiğ süt	A19	<i>E. faecium</i>	3	2,7
Çiğ süt	G11	<i>E. faecium</i>	2,9	2,61
Çiğ süt	G37a	<i>E. faecium</i>	3	2,7
Çiğ süt	G1	<i>E. faecium</i>	2,9	2,61
Çiğ süt	E14	<i>E. faecium</i>	2,24	2,016
Çiğ süt	E75	<i>E. faecium</i>	2,28	2,052
Çiğ süt	4C	<i>L. plantarum</i>	3,5	3,15
Kefir	44C	<i>L. plantarum</i>	3	2,7
Kefir	74C	<i>L. plantarum</i>	2,9	2,61
Kefir	12C	<i>L. plantarum</i>	2,9	2,61

4.2.9 İzolatların antimikrobiyal etkileri

Çizelge 4.20: İzolatların antimikrobiyal etkilerin tespiti

Ürün	İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Antimikrobiyal etkilerin tespiti				
			<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Candida albicans</i> ATCC 7644	
1	Boza	5	<i>L. brevis</i>	-	-	1,16	-
2	Boza	78	<i>L. brevis</i>	-	-	-	-
3	Boza	79	<i>L. brevis</i>	-	-	2,35	6,03
4	Boza	81	<i>L. brevis</i>	-	-	0,52	3,17
5	Boza	84	<i>L. brevis</i>	-	-	-	-
6	Peynir	60B	<i>E. faecium</i>	0,47	5,1	2,47	-
7	Peynir	81B	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
8	Peynir	69B	<i>E. faecium</i>	-	-	10,29	-
9	Peynir	24B	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
10	Peynir	65B	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
11	Peynir	80B	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
12	Peynir	43C	<i>E. faecium</i>	-	-	2,75	-
13	Peynir	77C	<i>E. faecium</i>	1,27	3,4	-	-
14	Peynir	54C	<i>E. faecium</i>	2,36	2,34	3,19	4,94
15	Peynir	G76	<i>E. faecium</i>	3,48	-	-	-
16	Peynir	G4	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
17	Peynir	G37	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
18	Peynir	E54	<i>L. paraplantarum</i>	-	-	-	-
19	Peynir	13B	<i>L. paraplantarum</i>	-	6,45	1,28	4,76
20	Peynir	8C	<i>L. paraplantarum</i>	0,46	0,85	0,52	-
21	Peynir	A21	<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
22	Çiğ süt	21B	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
23	Çiğ süt	70B	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
24	Çiğ süt	23B	<i>E. faecium</i>	0,23	0,5	0,65	1,88
25	Çiğ süt	8B	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
26	Çiğ süt	A19	<i>E. faecium</i>	4,1	-	-	-
27	Çiğ süt	G11	<i>E. faecium</i>	0,6	0,47	-	3,27
28	Çiğ süt	G37a	<i>E. faecium</i>	-	-	1,14	0,8
29	Çiğ süt	G1	<i>E. faecium</i>	6,19	-	4,76	2,33
30	Çiğ süt	E14	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
31	Çiğ süt	E75	<i>E. faecium</i>	-	-	-	-
32	Çiğ süt	4C	<i>L. plantarum</i>	-	-	0,4	-
33	Kefir	44C	<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
34	Kefir	74C	<i>L. plantarum</i>	-	-	-	-
35	Kefir	12C	<i>L. plantarum</i>	10,18	-	-	-

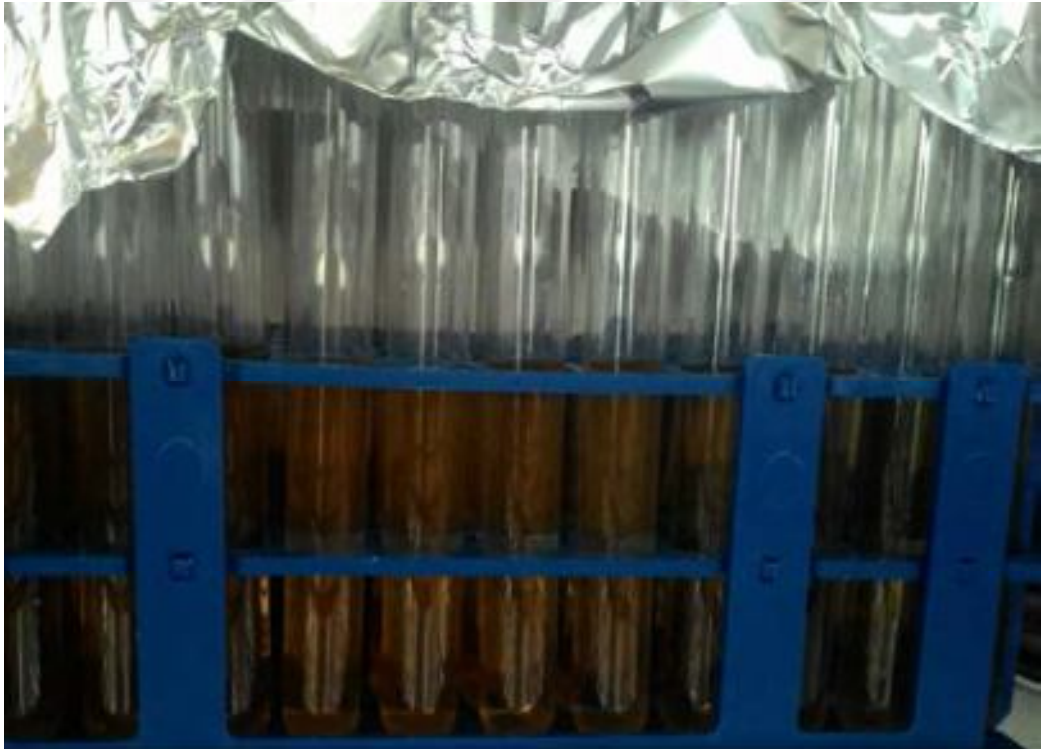
4.2.10 İzolatların gıdalarda canlılıkları

Çizelge 4.21: İzolatların gıdalarda canlılıklarının korunmasının tespiti

Ürün	İzolat Kodu	Mikroorganizma adı	Gıdalarda canlılıklarının korunmasının tespiti					
			Elma suyu Canlılık (kob/g)	Mc. farland	Süt Canlılık (kob/g)	pH	Gaz	
1	Boza	5	<i>L. brevis</i>	1,40x10 ⁴	2,8	3,20x10 ⁷	4,95	-
2	Boza	78	<i>L. brevis</i>	1,10x10 ⁴	2,1	3,20x10 ⁸	4,82	-
3	Boza	79	<i>L. brevis</i>	3,50x10⁴	2,9	4,00x10⁷	4,89	-
4	Boza	81	<i>L. brevis</i>	3,50x10⁴	2,7	2,60x10⁷	4,8	-
5	Boza	84	<i>L. brevis</i>	1,70x10⁴	1,6	2,20x10⁶	4,74	-
6	Peynir	60B	<i>E. faecium</i>	5,10x10 ⁴	1,1	3,10x10 ⁶	5,29	-
7	Peynir	81B	<i>E. faecium</i>	1,90x10 ⁴	1,2	5,40x10 ⁵	5,44	-
8	Peynir	69B	<i>E. faecium</i>	3,30x10 ⁴	1,3	1,90x10 ⁵	5,41	-
9	Peynir	24B	<i>E. faecium</i>	5,30x10 ⁴	1,3	1,50x10 ⁵	5,41	-
10	Peynir	65B	<i>E. faecium</i>	1,00x10 ⁷	5,4	3,90x10 ⁷	5,14	-
11	Peynir	80B	<i>E. faecium</i>	4,80x10 ⁴	1,3	4,20x10 ⁵	5,46	-
12	Peynir	43C	<i>E. faecium</i>	2,10x10 ⁶	2,7	4,40x10 ⁷	5,09	+
13	Peynir	77C	<i>E. faecium</i>	4,80x10 ⁴	1,1	5,70x10 ⁷	5,11	-
14	Peynir	54C	<i>E. faecium</i>	3,10x10 ³	0,9	2,00x10 ⁶	5,2	+
15	Peynir	G76	<i>E. faecium</i>	5,90x10 ³	0,8	3,10x10 ⁵	6,07	-
16	Peynir	G4	<i>E. faecium</i>	1,70x10 ³	1	4,10x10 ⁷	5,05	-
17	Peynir	G37	<i>E. faecium</i>	5,10x10 ³	0,8	4,30x10 ⁷	5,16	-
18	Peynir	E54	<i>L. paraplantarum</i>	4,00x10 ⁸	6	4,40x10 ⁷	5,01	-
19	Peynir	13B	<i>L. paraplantarum</i>	5,90x10 ⁵	2,1	1,40x10 ⁵	5,42	-
20	Peynir	8C	<i>L. paraplantarum</i>	5,20x10 ³	4,7	1,70x10 ⁶	5,21	-
21	Peynir	A21	<i>L. plantarum</i>	5,60x10 ⁷	4,7	2,50x10 ⁷	5,1	-
22	Çiğ süt	21B	<i>E. faecium</i>	5,60x10 ⁴	1	3,30x10 ⁵	5,42	-
23	Çiğ süt	70B	<i>E. faecium</i>	1,90x10 ⁴	1,6	2,60x10 ⁵	5,4	-
24	Çiğ süt	23B	<i>E. faecium</i>	5,20x10 ⁴	1,2	4,60x10 ⁵	5,46	-
25	Çiğ süt	8B	<i>E. faecium</i>	3,80x10 ⁴	1,1	4,30x10 ⁵	5,49	-
26	Çiğ süt	A19	<i>E. faecium</i>	2,10x10 ³	1	2,80x10 ⁶	5,27	-
27	Çiğ süt	G11	<i>E. faecium</i>	3,10x10 ⁴	2,7	5,60x10 ⁷	5,15	+
28	Çiğ süt	G37a	<i>E. faecium</i>	4,20x10 ⁶	3,6	1,50x10 ⁶	5,37	-
29	Çiğ süt	G1	<i>E. faecium</i>	1,30x10 ³	1,1	1,40x10 ⁷	5,16	-
30	Çiğ süt	E14	<i>E. faecium</i>	5,70x10 ⁵	1,6	4,40x10 ⁶	5,34	-
31	Çiğ süt	E75	<i>E. faecium</i>	2,00x10 ³	0,9	5,80x10 ⁶	5,35	-
32	Çiğ süt	4C	<i>L. plantarum</i>	1,80x10 ⁷	5,1	1,10x10 ⁶	5,24	-
33	Kefir	44C	<i>L. plantarum</i>	3,00x10⁷	4,2	1,70x10⁶	5,21	-
34	Kefir	74C	<i>L. plantarum</i>	5,70x10³	0,8	1,60x10⁷	5,16	-
35	Kefir	12C	<i>L. plantarum</i>	5,10x10⁶	2,3	1,60x10⁶	5,26	-



Şekil 4.21: İzolatların gıdalarda (süt) canlılıklarının korunmasının tespiti



Şekil 4.22: İzolatların gıdalarda (elma suyu) canlılıklarının korunmasının tespiti

4.2.11 İstatistiksel Bulgular

İstatistiksel analizlerinde pearson korelasyonuna göre, suşların asit toleransı, safra tuzu toleransları, hidrofobisiteleri, EPS üretimleri, proteolitik aktiviteleri, metabolik aktiviteleri, laktik asit üretim yeteneklerinin, antibiyotik duyarlılıkları, antimikrobiyal etkileri, gıdalarda canlılıklarını korunması arasında korelasyon olup olmadığı incelenmiştir.

Bulguların istatistik analizi sonucu aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır.

- Proteolitik aktivite ile EPS üretimi ($P<0,01$), Metabolik aktivite (pH) ($P<0,01$) ,Laktik asit üretimi ($P<0,01$) ve canlılık (elma suyu) ($P<0,05$) pozitif anlamlı bir ilişki vardır.
- Safra Tuzu Toleransı ile EPS üretimi ($P<0,01$), asit toleransı ($P<0,05$), Metabolik aktivite (pH) ($P<0,05$) ve *Escherichia coli ATCC 11229*'ye karşı antimikrobiyal etki($P<0,05$) arasında pozitif anlamlı ilişki vardır.
- EPS üretimi ile Metabolik aktivite (pH) ($P<0,05$) ve *Escherichia coli ATCC 11229* karşı antimikrobiyal etki arasında ($P<0,05$) pozitif anlamlı ilişki vardır.
- Laktik asit üretimi ile Metabolik aktivite (pH) ($P<0,01$) ve canlılık (Süt) ($P<0,05$) arasında pozitif anlamlı ilişki vardır.
- Metabolik aktivite (pH ve pıhtı) ile canlılık (Süt) ($P<0,01$) arasında pozitif anlamlı ilişki vardır.
- *Escherichia coli ATCC 25922* karşı antimikrobiyal etkisi ile *Escherichia coli ATCC 11229*'ye karşı antimikrobiyal etki ($P<0,01$) arasında pozitif anlamlı ilişki vardır.
- *Staphylococcus aureus ATCC 25923* karşı antimikrobiyal etkisi ile *Candida albicans ATCC 7644* 'ye karşı antimikrobiyal etki($P<0,01$) arasında pozitif anlamlı ilişki vardır.
- *Escherichia coli ATCC 25922* karşı antimikrobiyal etkisi ile *Staphylococcus aureus ATCC 25923* ' ye karşı antimikrobiyal etki($P<0,05$) arasında pozitif anlamlı ilişki vardır.
- *Escherichia coli ATCC 25922* karşı antimikrobiyal etkisi ile *Candida albicans ATCC 7644* 'ye karşı antimikrobiyal etki ($P<0,05$) arasında pozitif anlamlı ilişki vardır.

Özet olarak izolatların GIS'te safra tuzlarına dayanımlarının; asitliğe göre daha yüksek olduğu, proteolitik aktiviteleri ile EPS üretimi ($P<0,01$) , metabolik aktivite ($P<0,01$) , laktik asit üretimleri ($P<0,01$) ve gıdalarda canlılıklarını sürdürmeleri ($P<0,05$) arasında pozitif anlamlı ilişki olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca izolatların safra tuzu dayanımları ($P<0,01$) , EPS üretimlerinin ($P<0,01$) patojenleri inhibe edici özellik gösterdiği öne sürülebilir.





5 TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda ülkemizin farklı yörelerinden alınan doğal ve genetiği değiştirilmemiş gıda ürünlerinden boza, peynir, kefir, çiğ süttten izole edilmiş bakterilerin probiyotik özellikleri, endüstriyel probiyotiklere alternatif olma kapasiteleri ve uygunlukları araştırılmıştır. Bununla birlikte probiyotiklerin etkin olarak kullanımını sınırlayan bazı faktörler karşımıza çıkmaktadır. Bazı probiyotikler iyi asit ve safra toleransı gösterirken bazıları kolana iyi şekilde yapışabilmektedir. Bunu yanında probiyotiklerin bazıları farklı patojenleri inhibe ederek farklı etkiler gösterebilir. Bu nedenlerle; potansiyel bakterilerin probiyotik olarak kullanılmadan önce tanımlanması ve özelliklerinin belirlenmesinin önemi ortaya çıkmaktadır. Modern analiz teknikleri ile suşların probiyotik özellikleri hakkında elde edilecek güncel bilgi ve bulgular; kullanım için güvenilir suşların seçiminde yararlı olacaktır (Moreno ve ark.2006; Fortina ve ark. 2008).

Bakterilerin gastrointestinal sistemde; karşılarna çıkan ilk sorun mide asitliğı olup; mide ortamının düşük pH'sı onların protein yapılarını bozarak canlılıklarını sürdürmesini engellemektedir. Mide asitlik engelini aşabilen bakteriler; ince bağırsakta canlı kalabilmeleri için safra tuzlarına direnç göstermeleri gerekmektedir. Safra tuzlarına direnç gösterebilen bakteriler ise; kolonda canlılıklarını devam ettirebilmeleri için bağırsaklara iyi şekilde yapışabilme yeteneğine sahip olmak zorundadırlar. Bu nedenle gastrointestinal sistemdeki; tüm bu olumsuz koşullara direnç gösterebilmek bir bakteri için, probiyotik özellikler açısından temel kriterleri oluşturmaktadır. Yukarıda saydığımız özelliklerin yanı sıra; gıdalarla veya supplement olarak probiyotiklerin tüketilmesinden ötürü, bu tür bakterilerin gıda güvenliğı açısından kontrollerin sağlanması insan sağlığı açısından çok büyük önem arz etmektedir. Probiyotiklerin gıda güvenliğı açısından; antibiyotik dirençli olma olasılıklarının ve transfer edilebilir antibiyotik direnç genleri barındırma risklerinin araştırılması gerekmektedir. Ayrıca probiyotik özellikleri araştırılan ve bu kriterleri sağlayan bakterilerin; endüstriyel probiyotiklere alternatif olma kapasitelerinin araştırılması; kullanım potansiyellerin belirlenmesi çok önemlidir. Bu nedenle, tüm

bakteriler için sırasıyla EPS üretim kapasiteleri, proteolitik ve metabolik aktiviteleri, laktik asit üretim kapasiteleri, antimikrobiyal özellikleri ve gıdalarda canlılıkları araştırılmıştır. Yapılan testler sonucunda probiyotik özellik gösteren ve endüstriyel probiyotiklere alternatif olabilecek izolatlar saptanmıştır.

Çalışmamızda toplam 130 gıda örneği (10 boza, 40 peynir, 20 kefir ve 60 çiğ süt) mikrobiyolojik bakımdan incelenmiş, elde edilen bakteriler kütle spektrometresi ile karakterize edilmiştir. *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus para plantarum*, *Enterococcus faecium* bakteri suşlarının izolasyon, tür ve suş bazında identifikasyonları gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.1, Çizelge 4.1).

Çeşitli çalışmalarda farklı peynir çeşitleri ve süt ürünlerinden laktobasil ve enterokok türleri izole edilmiştir (da Cruz ve ark. 2009; Grattepanche ve ark. 2008; Fox ve ark. 2004, Morandi ve ark. 2006). Özellikle laktobasil türlerinin peynir ve süt ürünleri fermentasyon prosesi sırasında hızlı şekilde laktozu fermente ederek yüksek oranda laktik asit ürettiği bildirilmiştir. Bu tür laktobasillerin starter kültür olmamasına rağmen peynirin olgunlaşmasında rol oynadığı bir gerçektir. Araştırmalar laktobasiller ve *Enterococcus faecium* suşlarının non-starter laktik asit grubunda yer aldığını göstermektedir. Bu tür bakteriler peynir olgunlaşma sırasında sayıları artmaktadır.

Çalışmamız için alınan; Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden sağladığımız 40 adet peynir ve 60 adet çiğ süt örneğinden izole ettiğimiz izolatların mikrobiyolojik incelemeleri yapılmış, saflıkları sağlanmıştır. Yaptığımız çalışmada diğer çalışmalara benzer şekilde doğal peynir ve çiğ süt örneklerinden *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus paraplantarum* suşları kütle spektrofotometresi yöntemini kullanan MALDI-TOF MS ile identifikasyonu yapılmıştır (Çizelge 4.1).

Peynir ve çiğ süt örneklerinden elde ettiğimiz *Enterococcus faecium* suşları iyi probiyotik özellik gösterememiştir. Bazı çalışmalarda ise hayvansal sütler ve peynirlerden elde edilen *Enterococcus faecium* iyi asidifikasyon ve güçlü safra tuzu toleranslarının olduğu bildirilmiştir (Banwo ve ark. 2013; Kamruzzaman ve ark. 2013; Ahmadova ve ark. 2013). Ancak intestinal sistemde koloni oluşturabilmeleri ile ilgili çalışmalar eksik kaldığından probiyotik özelliklerin araştırılması açısından sorunlu çalışmalar olduğu düşünülebilir.

Karakterize edilen izolatlar içerisinde *Enterococcus faecium* suşları mevcuttur. Araştırmacılar *Enterococcus faecium* suşlarının probiyotik olarak kullanılması ile ilgili farklı görüşler öne sürmüşlerdir. Bazı araştırmacılar; bu suşların antibiyotik direnç genlerini patojen bakterilere transfer edebilme olasılığı üzerinde durmuşlardır. Bu görüş dikkate alınarak; antibiyotik direncin ve GSBL varlığının olmaması; bakterilerimiz için seçim kriteri olarak belirlenmiştir. Bunun yanında Enterokok bakterileri bağırsağın doğal mikroflorasının bir üyesi olmaları, asit ve safra tuzuna karşı dayanıklı olmaları, safra tuzlarını hidroliz edebilmeleri, antimikrobiyal ve bakteriyosin madde üretebilmeleri ve de kolonda yaşayabilme ve patojenlerle yarışmaları gibi faktörlerden dolayı insan probiyotikleri olarak kullanılabilir (Bhardwaj ve ark. 2008).

Yadav (2016) 'ın yaptığı; çalışmamıza benzer bir çalışmada; hububattan fermente edilen yöresel ürün örneklerinden izole edilen 54 adet *Lactobacillus plantarum* suşlarının mide asitliği ve safra tuzu dayanımlarına bakılmış ve tüm izolatların asitlik ve safra tuzlarına zayıf dayanım gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada izolatların ancak 24 adedi (% 44) iyi dayanım gösterebilmiştir. Canlılıklarını sürdürebilen 6 adet (% 11) tür probiyotik özellikleri açısından incelenmiş *Lactobacillus plantarum* RYPRI (% 1,9) türü çok iyi sonuç vermiştir.

Çalışmamızda gıda örneklerinden izole edilen bakterilerin probiyotik özelliklerini saptamak amacıyla öncelikli olarak izolatların asit, safra toleranslarına ve bağırsağa tutunma kapasitelerine bakılmıştır.

Benzer bir çalışma Sanni (2013) tarafından hububat kaynaklı bazı yöresel gıda ürünlerinden izole edilen bakteriler için yapılmıştır. İzole edilen probiyotik bakterilerin laktik asit üretim yetenekleri, asitliğe ve safra tuzuna karşı toleransları ve bağırsağa yapışma kapasiteleri gibi parametreler araştırılmıştır. *Lactobacillus plantarum* suşunun iyi ve hızlı asit üretim kapasitesi tespit edilmiş olup çalışmamızda da *Lactobacillus plantarum* benzer sonuçlar vermiştir. Bununla birlikte *Lactobacillus fermentum* suşu düşük asit üretim kapasitesi göstermiştir. Tüm suşlar asitliğe ve safra tuzuna dayanım sağlamıştır. Seçilen strater kültürlerle inokule edilen yoğurt benzeri ürünlerdeki 24 saatlik fermentasyon sonunda suşlar $10^{5.5}$ kob/ml düzeyinde canlı kalmıştır. Ayrıca gastrointestinal sistemde tutunma kapasiteleri olduğu görülmüştür. Bu özellikleri incelenen mikroorganizmaların sağlığa yararlı özelliklerini olduğu sonucunu ortaya çıkartılmıştır.

Çalışmamıza benzer bir çalışma ise çiğ süttten izole edilen *Enterococcus faecium* için yapılmış; türlerin teknolojik ve gıda güvenliği özellikleri araştırılmıştır. *Enterococcus faecium* türünün safra tuzlarına dayanımı ve antibiyotik duyarlıklarının olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise çiğ süttten izole ettiğimiz *Enterococcus faecium* suşlarının çoğunluğu yeterli safra dayanımını gösterememiştir (Banwo ve ark. 2013).

Yapılan bir çalışmada kefirde izole edilen laktobasil suşları hem aside hem de safra tuzlarına dayanım göstermelerine rağmen hidrofositeleri düşük kalmıştır (Gülel 2014). Çalışmamızda ise özellikle kefir ve bozadan izole edilen laktobasil suşları iyi asit ve safra tuzu dayanımların yanında iyi hidrofobisite göstermişlerdir.

Probiyotik özellik gösterebilecek bir mikroorganizma; mide asitliğine ve safra tuzlarına karşı direnç göstererek çok sayıda bağırsaklara ulaşabilmeli ve bağırsak mukozası epitel hücre yüzeylerine yapışmaları gerekmektedir. Tüm bu özellikler bir bakterinin probiyotik olması için temel ölçütlerdir (FAO/WHO 2002) . Ancak bunun yanında ilgili bakterilerin antibiyotik dirençliliği ve antibiyotik direnç genleri bakımından incelenerek insan tüketimi açısından güvenliğinin sağlanmasında gerekmektedir. Bazı araştırmacıların yaptığı çalışmalarda mikroorganizmaların antibiyotik direnç durumları incelenmediğinden; gıda güvenliği açısından eksik kaldıkları düşünülebilir (Badis ve ark. 2004; Fernandez ve ark. 2003; García-Ruiz 2014). Gıda güvenliği açısından incelenmesi gereken bu kriterlerin probiyotik özellikler arasında sayılması yararlı olacaktır. Böylece mide asidine ve safra tuzuna dayanım gösteren, bağırsağa tutunabilen, antibiyotiklere duyarlılık gösteren ve antibiyotik direnç genleri barındırmayan mikroorganizmaların probiyotik özellik gösterdiği sonucu ortaya çıkabilecektir.

Yararlı mikroorganizmalar olarak sayılabilen laktobasil türlerinin de bulunduğu karışım kültürlerin fermentasyonu sonucunda kefir ve boza üretilebilmektedir (Todorov ve ark. 2008; Leite ve ark. 2015). Özellikle kefir üzerine yapılan in vivo çalışmalar sağlığa yararlı etkilerinin olduğunu göstermiştir (Ogles ve ark. 2003; Farnworth ve ark. 2006). Yaptığımız çalışma kefir ve bozadan elde edilen bakterilerin probiyotik özellik gösterdiği sonucu çıkmaktadır. Bu ise probiyotik içeren boza ve kefirin sağlığa yararlı etkilerini açıklamaktadır.

Ancak peynir ve süt örneklerinden elde ettiğimiz bakteriler yeterli probiyotik özellik gösterememiştir. Buradan çıkacak sonuç ise kefir ve bozanın probiyotik özellik gösteren bakterilere; peynir ve süte göre daha fazla sahip olmasındır.

Yapılan bir çalışmada izole edilen *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* suşlarının probiyotik özellikleri araştırılmış; bazı patojenlerinde aralarında bulunduğu bir grup mikroorganizmaya karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Sonra bu mikroorganizmaların mide pH'sında ve safra tuzu ortamlarında gelişme durumları incelenmiş hem asitliğe hem de safra tuzlarına karşı direnç gösterdikleri tespit edilmiştir (akır 2004).

Çalışmamızda; karakterize edilen toplam 144 adet izolatın (5 adet *Lactobacillus brevis*, 7 adet *Lactobacillus plantarum*, 5 adet *Lactobacillus paraplantarum* ve 127 adet *Enterococcus faecium*) arasından 35 adeti (5 adet *Lactobacillus brevis*, 5 adet *Lactobacillus plantarum*, 3 adet *Lactobacillus paraplantarum*, 22 adet *Enterococcus faecium*) mide pH dayanımı testini geçmiştir (izelge 4.7, Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14).

Mide pH'ına dayanaklı 35 adet izolattan 8 adeti (4 adet *Lactobacillus brevis*, 3 adet *Lactobacillus plantarum*, 1 adet *Enterococcus faecium*) gastrointestinal sistemde safra tuzu koşullarında canlılıklarını srdrmuşlerdir, yalnızca 6 adetinin (3 adet *Lactobacillus brevis*, 3 adet *Lactobacillus plantarum*) hidrofobisite yeteneği göstermiştir (izelge 4.9, izelge 4.11, Şekil 4.15, Şekil 4.15).

Kalan 6 adet izolatın (3 adet *Lactobacillus brevis*, 3 adet *Lactobacillus plantarum*) Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü talimatlarına göre antimikrobiyel direnç durumları incelenmiş dirençliliğe ve GSBL varlığına rastlanmamıştır (izelge 4.14).

İncelemeler sonunda toplam 144 adet probiyotik bakterilerin yalnızca 6 adeti (% 4,1) probiyotik özellik gösterebilmiştir. Kefir ve bozadan izole edilen bakteriler *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus plantarum* probiyotik olma kriterlerini sağlayabilmiştir (izelge 4.15).

Bazı araştışıcılar tarafından yapılan çalışmalarda; kefir ve boza örneklerinden laktobasil bakterileri izole edilmiş ve çalışmamıza benzer Şekilde bu bakterilerin probiyotik özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Todorov ve ark. 2008; Leite ve ark. 2015; Otles 2013).

İstatistik analiz izolatların; safra tuzlarına dayanımlarının, asitliğe göre daha yüksek olduğunu, proteolitik aktiviteleri ile EPS, laktik asit üretimleri ve gıdalarda canlılıklarını sürdürmeleri arasında anlamlı ilişki olduğunu ($P<0,01$) ve safra tuzu dayanımları ve EPS üretiminin patojenleri inhibe edici özellikleri arasında anlamlı ilişki olduğu ($P<0,05$) ortaya koymuştur.

5.1 Asit toleransı

Probiyotiklerin en önemli seçim kriterlerinden biri asit toleranslarıdır ve ilk koşul mide asidinden en az oranda zarar görmeleridir (Dianawati ve ark. 2016; Ashraf ve ark. 2016, Onal ve ark. 2005). Probiyotik bakteriler mide asitliğine karşı diğer mikroorganizmalara göre daha dirençli olmalarının yanında kolana ulaşmadan önce genellikle 2,5 ile 3,5 arasında mide asidi ile karşılaşmaktadır. Bu asidik koşullarda hayatta kalma probiyotiklerin karşılaştığı ilk fizyolojik sorunlardan biridir (Masco ve ark. 2007; Ramirez-Chavarin ve ark. 2013; Vasiljevic ve ark. 2008).

Yaptığımız çalışmada; 16 adet laktobasilden suşundan 13 adeti (% 81) ve 127 adet *Enterococcus faecium* türünden 22 adedi (% 17) 2,5 pH değerine dirençlilik göstermiştir. Ancak mide asitliğine dayanım gösteremeyen probiyotik bakterilerin mideden zarar görmeden geçebilmeleri için önerilen teknolojik yöntemler mevcuttur. Bunlar içinde en sık kullanılan yöntem mikroenkapsülasyon yöntemidir. Prensip olarak toz forma getirilen izolatlar uygun bir malzeme ile kaplanır. Böylece bakteriler mide asitliğinden zarar görmeden geçebilmektedirler (Kailasapathy ve ark. 2002; Burgain ve ark. 2011).

Yapılan bir çalışmada, 7 adet laktobasilden yalnız 3 suşun (% 43) pH 2,0 veya 3,0'e dirençlilik gösterdiği rapor edilmiştir (Mishra ve ark. 2005). Farklı türlerin hatta aynı suşa ait türlerin, pH dirençlerinin farklı olmasının nedeni bakterilerin üreme fazındaki farklılıktan kaynaklandığı belirtilmektedir (Yang ve ark. 2015, Jin ve ark.2016).

5.2 Safra tuzu toleransı

Mide asitliğini geçen probiyotik bakteriler daha sonra safra ile karşılaşmaktadırlar (Pan ve ark. 2011). Safra tuzu toleransı probiyotik bakterilerin seçiminde kullanılan önemli ölçütlerden biridir (FAO/WHO 2002, Burns ve ark. 2008). Bu nedenle probiyotik olarak kullanılacak bakterilerin gastrointestinal sistemin bir parçası olan ince bağırsakta da canlılığını koruyabilmeleri için safraya karşı dirençli olmaları gerekmektedir (Maldonado ve ark. 2015).

Safra tuzu; probiyotik bakterilerin lipit ve yağ asidi içeren hücre zarına zarar vererek antimikrobiyal etki göstermektedir. Bunun dışında DNA'ya zarar vermesi, bazı proteinlerin denatürasyonuna yol açması ve serbest radikal oluşumuna neden olması gibi diğer antimikrobiyal etkilerini de bulunmaktadır (Onal 2005; Mathara ve ark. 2008; Muñoz-Atienza ve ark. 2013; Vasiljevic ve ark. 2008).

İnsandaki safra tuzu konsantrasyonu değerlerine yakın değer olması nedeniyle safra tuzuna dirençli probiyotik bakterileri saptamak için % 0.30 safra tuzuna dayanıklılık ayırt edici bir özellik olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Sirilun ve ark. 2010, Klingberg ve ark. 2005, Duangjitcharoen ve ark. 2008, Bhardwaj ve ark. 2008).

Yaptığımız çalışmada safra bileşenlerini içeren % 0,3 (w/v)'lük Ovgall kullanılmıştır. Çizelge 4.8 'te de görüldüğü üzere safra tuzuna dayanıklılık açısından suşlar arasında farklılıklar bulunmaktadır. Safra tuzuna karşı direnci *Lactobacillus plantarum* suşlarının (ort. $2,0 \times 10^5$ kob/g) , *Lactobacillus paraplantarum* suşlarının (ort. $1,3 \times 10^5$ kob/g) ve *Lactobacillus brevis* suşlarının (ort. $3,13 \times 10^5$ kob/g) ile yüksek bulunmuşken; *Enterococcus faecium* suşlarının (ort. $2,84 \times 10^4$ kob/g) daha düşük bulunmuştur.

Çalışmamız sonucunda bozadan elde edilen *Lactobacillus brevis* ve kefirde elde edilen *Lactobacillus plantarum* safra tuzlarına dayanım göstermiştir. Peynir ve çiğ süttten elde edilen *Enterococcus faecium* gerekli dayanımı gösterememiştir. Özellikle *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus plantarum* ile ilgili yapılan çalışmalarda bulgularımızı doğrular sonuçlar çıkmıştır. Ronka (2003), Ramos (2013) ve Golowczyc (2008) 'nın yaptığı çalışmalarda *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* izolatlarının safraya iyi dayanım gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada *Enterococcus faecium* suşları safra tuzlarına yeterli direnci gösterememiştir. Ancak yapılan bir çalışmada, geleneksel peynirlerden izole edilen 122 adet *Enterococcus faecium* suşunun 86 adetinin (suşların yaklaşık % 70'i) % 0,3 safra içeren ortama yüksek düzeyde dirençlilik gösterdikleri rapor edilmiştir. *Enterococcus faecium* suşlarının diğer probiyotik bakterilere göre mide-bağırsak sisteminin zorlu şartlarına daha dayanıklı oldukları iddia edilmiştir (Bhardwaj ve ark. 2010) . Probiyotik bakteriler safra toleransı açısından farklılık göstermekte ve bunların tolerans mekanizmaları ile ilgili farklı hipotezler olmasına rağmen tam olarak belirlenememiştir (Begley ve ark. 2006).

5.3 Hidrofobisite

Bağırsağın peristaltik hareketleri sonucu mikroorganizmaların kayıp gitmemesi için lümenin mukus tabakasına ve epitelyum yüzeylerine yapışarak kolonize olmaları gerekmektedir. Probiyotikler kolona yapışmasıyla baskın koloni oluştururlar ve böylece patojenlere karşı antagonistik aktivite gösterirler ve immün sistemin düzenlenmesine katkı sağlarlar (Fang ve ark. 2000). Bu nedenle probiyotiklerin seçiminde yapışma özelliği önemli kriterlerden biridir. Hidrofobik etkileşimlerin en büyük önemi mikroorganizmaların yüzeylere yapışmasını sağlamasıdır. Suşların hidrofobisite özelliği göstermesi yüzey yapılarının kompleks olduğunu göstermektedir. Bakteri hücrelerinin yapışmasının; hücre yüzey hidrofobisitesi arasında pozitif bir ilişkinin olduğu gözlemlenmiştir (Gusils ve ark. 2002). Böylece yüksek hidrofobisitenin probiyotik bakterilere gastrointestinal sisteme daha kuvvetli tutunma sağlamasıyla ve bakterinin insan gastrointesitinal sisteminde varlığını devam ettirebilmesi ve diğer bakterilerle yarışmada avantajlı olmalarına neden olduğu için önemlidir (Melgar-Lalanne ve ark. 2015, Todorov ve ark. 2007; Vinderola ve Reinheimer 2003, Jara ve ark. 2011, Collado 2007;2008).

Yaptığımız çalışmada kefirde elde edilen *Lactobacillus plantarum* ve bozadan elde edilen *Lactobacillus plantarum* suşları yüksek hidrofobisite göstermişlerdir. Nejati (2015) tarafından İran'ın geleneksel süt ürünlerinden izole edilen *Lactobacillus plantarum* ve Ramos (2013) tarafından Brezilya orijinli gıdalardan elde edilen *Lactobacillus brevis* suşlarının probiyotik özelliklerine bakılmış ve hidrofobisite yeteneklerinin yüksek olduğu saptanmıştır (Nejati ve ark. 2015; Ramos ve ark. 2013). Yapılan bu çalışmalar; farklı gıda örneklerinden elde edilen *Lactobacillus*

brevis ve *Lactobacillus plantarum* türlerinin hidrofobiste yeteneklerinin güçlü olması açısından çalışmamızı doğrular mahiyettedir (Kaushik ve ark. 2009).

5.4 Antibiyotik duyarlılığı

Probiyotiklerin seçiminde; antibiyotiklere karşı dirençlilikleri önemli bir seçim kriteri olarak görülmektedir. FAO/WHO (2002) tarafından belirlenen kritere göre, antibiyotiklere karşı direnç kazanmış ve antibiyotik direnç genlerini transfer edebilen bakteriler güvenli olmayıp probiyotik olarak kullanılamazlar (Muñoz-Atienza ve ark. 2013; Yuksekdag ve Aslim 2010). Bu nedenle transfer edilebilir antibiyotik direnç genlerinin probiyotikler tarafından özellikle patojen bakterilere aktarılması en önemli risk faktörlerindedir ve antibiyotik direnç genleri bakımından kontrol edilmeleri gerekmektedir (Ouoba ve ark. 2008; Dewan ve Tamang, 2007; Ammor ve ark. 2007). Yapılan araştırmalarda laktobasil türlerinden bağırsak florasında bulunan patojen bakterilere sınırlı oranda antibiyotik direnç genlerinin transferinin olduğu belirtilmiştir (Ammor ve ark. 2007; Temmerman ve ark. 2010). Ancak bazı çalışmalarda ise antibiyotiklere karşı direnç gösteren birçok probiyotik bakterinin bu özellikleri doğal özellikleri olmasından dolayı diğer mikroorganizmalara transfer edilemeyeceği ifade edilmektedir. Örneğin probiyotik laktobasiller tedavi amaçlı kullanılan antibiyotiklerin pek çoğuna doğal olarak direnç gösterebilmektedir. Ancak laktobasillerin antibiyotik dirençlilik transferinin çok yaygın bir özellik olmadığı belirtilmiştir (Nicas ve ark. 1989). Bazı araştırmalar ise; doğası gereği vankomisine direnç genini taşıyan laktobasil türlerinin güvenilir bir şekilde probiyotik olarak kullanılabilceğini ve hiçbir kanıtın bu genin diğer türlere aktarıldığını göstermediğini belirtilmiştir (Mathur ve ark. 2005).

Antibiyotik direnci mikroorganizmanın doğal özelliği olabilir veya mutasyonlar sonucu veya gen aktarımıyla kazanılabilmektedir. Kendi özelliği olan veya mutasyonlar sonucunda oluşmuş direncin transferi çok düşük olasılıktır. Ancak gen aktarımıyla edinilmiş direncin aynı şekilde aktarılması olasıdır. Enterokok türlerinin birçok ülkede probiyotik olarak kullanılması ve bu suşların antibiyotik direnç genlerini taşıma olasılığı tartışmaları beraberinde getirmiş olup; patojenik enterokokların gıdalar aracılığıyla taşınıp taşınmadığı yönünde yoğunlaşmıştır. Bu nedenle de gıdalardan izole edilen enterokokların potansiyel virülens genleri ve kazanılmış antibiyotik dirençlilik özellikleri yönüyle de incelenmesi gerekmektedir

(Sharma ve ark. 2014; Moreno ve ark. 2006; Lund ve Edlund 2001). Saydığımız nedenlerden dolayı probiyotik olarak kullanılacak Enterokok suşları muhtemel patojenlilik özelliği olmayan veya antibiyotik dirençlilik genleri taşımayan suşlardan seçilmelidir (Otlles 2013; Fortina ve ark. 2008).

Çalışmamızda izolatların virülens faktörlerinin saptanması için antibiyotiklere karşı duyarlılıkları araştırılmıştır. Çalışmalar sırasında 3 farklı inhibisyon mekanizmasına sahip 4 antibiyotik kullanılmıştır. Bu antibiyotikler hücre duvarı sentezini inhibe edici olarak amoksisilin, protein sentezini inhibe edici olarak Cephalothin, Chloramphenicol, nükleik asit sentezini inhibe edici olarak Novobiocin'den oluşmaktadır. Bu farklı antibiyotiklerin izolatlar üzerine inhibisyon etkisi disk difüzyon metoduyla saptanmıştır. Bulgular CLSI standartlarına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 4.12, Çizelge 4.14). Sonuç olarak; genel anlamda izolatlarda antibiyotik dirençlilik genine ve özellikle GSBL varlığına rastlanmamıştır.

Yapılan bir çalışmada kefirde elde izole edilen laktobasil suşları nükleik asit sentezi inhibitörlerine ve sitoplazmik membran inhibitörüne yüksek direnç göstermesine rağmen hücre duvarı inhibitörlerine ve protein sentezi inhibitörlerinin çoğuna düşük direnç göstermişlerdir (Mathur ve ark. 2005). Çalışmamızda ise izole edilen tüm laktobasil suşları nükleik asit sentezi, sitoplazmik membran, hücre duvarı ve protein sentezi inhibitörlerine antibiyotik direnç göstermemiştir. Zheng (2013)'in yaptığı bir çalışmada kefirde izole ettiği *Lactobacillus plantarum* 'un gentamicin, erythromycin ve chloramphenicol inhibitörlerine duyarlılık gösterirken vancomycine karşı direnç göstermiştir. Forssten (2014) tarafından yapılan bir çalışmada hasta bireylere antibiyotik tedavisi esnasında laktobasil suşlarından oluşan probiyotik karışım takviyesi verilerek GSBL varlığına bakılmış GSBL negatif sonuç alınmıştır. Kefir ve bozadan izole ettiğimiz *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* suşları benzer şekilde GSBL negatif sonuç vermiştir.

5.5 EPS üretimi

Sağlığı iyi yönde etkileme açısından probiyotik bakterilerin EPS üretimi önemli kriterlerdendir. Bazı araştırmalarda probiyotik bakterilerin hücre duvarlarında oluşmuş olan polisakkarit ve peptidoglikanlar; nitrozamin gibi kanser yapıcı maddelerle kimyasal bağlar oluşturduğu ve böylece onları etkisiz hale getirdiği

belirtilmiştir. Ayrıca EPS' nin kolesterol üzerinde düşürücü etkiye sahip olduğu bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülmektedir (Ruas- Madiedo ve ark. 2006).

Probiyotik bakterilerin hücre duvarının dışına salgıladığı EPS bağırsak epitel doku ile kendileri arasında buldukları ortamı jelimsi (biyofilm) yapışkan bir hale getirerek gerçek bir bağ oluşturmaktadır (Liu ve ark. 2010). Böylece bağırsak yüzeyine yapışmasını ve probiyotiklerin birbirine bağlanarak kolonize olmasını, bakterinin olumsuz çevre şartlarından korunmasını, antibiyotiklere karşı korunması ve canlılığını devam ettirebilmesini sağlayan önemli bir özelliktir (Darılmaz ve ark. 2011, Ismail ve ark. 2010; Tieking ve Ganzle 2005; Ruas- Madiedo ve ark. 2006). EPS bu özellikleri ile probiyotik bakteriler olarak kullanılacak bakteriye GIS florasında stabil olarak kalabilme ve baskın koloni oluşturma özelliği sağlayarak daha fazla avantaj kazandırmıştır (Lin ve Chien 2007). Bu nedenlerle yüksek EPS üretimine sahip olan bakterilerin probiyotik olarak uygun olacağı vurgulanmaktadır.

Çalışmamızda laktobasil suşları 21-298 mg/l aralığında (ort.80,8 mg/l) ve Entrokok suşları 8,5-200 mg/l (ort.31,2 mg/l) aralığında EPS üretmişlerdir. Patel ve ark. (2014)'ın yaptıkları bir çalışmada 9 adet laktobasil suşunun EPS üretimleri 250-2960 mg/l aralığında (ort.493,3 mg/l) olmuştur (Patel ve ark. 2014). Bulgulardan çıkarılacak sonuç EPS üretimi bakımından laktobasil suşlarının enterkok suşlarından daha üstün özellik göstermesidir (Çizelge 4.16).

Bozadan ve kefirde izole ettiğimiz probiyotik özellik gösteren 3 adet *Lactobacillus brevis* ve 3 adet *Lactobacillus plantarum* suşu sırasıyla 21,1 mg/l, 298,47 mg/l, 48,51mg/l, 34,52 mg/l ve 123,1mg/l, 41,05mg/l miktarında EPS üretimi tespit edilmiştir. Bu probiyotik izolatlardan *Lactobacillus brevis* 8 298,47 mg/l ile çok iyi EPS üretimi sağladığı görülmüştür (Çizelge 4.16).

5.6 Proteolitik ve metabolik aktivite

Proteolitik aktivite mikroorganizmaların gelişimini sağlaması için gerekli aminoasitlerin proteolitik enzimler ile protein ve peptidlerin hidrolize edilerek elde edilmesidir. Metabolik aktivite ise temelde proteolitikdir; ancak anaerobik ve aerobik şartlarda karbonhidratların transformasyonu ile kısa zincirli yağ asitleri de oluşturulabilir (Otlés 2013).

Çalışmamızda laktobasillerin proteolitik aktiviteleri (ort.14,43 mm skim milk zon çapı) enterokokların proteolitik aktivitelerinden (ort.11,70 mm skim milk zon çapı) daha fazladır. Enterokokların kazeinin proteolizasyonu sağlama özelliği çoğu zaman suştan suşa değişiklik göstermektedir (standart sapma 2,26 mm skim milk zon çapı) (Beganović ve ark. 2013; Ahmadova ve ark. 2013).

Bazı araştırmacılar peynirlerden izolasyonu sağlanmış *Enterococcus faecium* suşlarının proteolitik aktivelerinin yararlı gördüklerini ifade etmişlerdir (Santos ve ark. 2015). Enterokokların proteolitik ve asitleştirme özellikleri arasında tam bir korelasyon tespit edilemezse de proteolitik özellikleri kuvvetli olan suşların asit oluşturma yetenekleri de yüksek olduğu tespit edilmiştir (Giraffa 2003).

Probiyotik suşların üründe tat gelişimini sağlaması için; proteolitik aktivitelerinin, asit oluşturma gibi özelliklerinin geliştirilmesi gıda biyoteknolojisinin hedeflerindedir. Ülkemiz doğal kaynaklarından elde ettiğimiz endüstriyel olmayan özgün probiyotik bakterilerin belirlenmesi önemli araştırma alanıdır. Gıdaları hazırlama ve olgunlaştırma aşamasında probiyotik bakterilerin ve aminoasit metabolizması ile gerçekleşen proteolitik aktivite gıdalara karakteristik duyuşal özellikler kazandırılmanın yanında antimikrobiyal metabolitlerin sentezinde önemli yeri vardır. Aminoasit katabolizmasında transaminasyon, deaminasyon ve dekarboksilasyon gibi katabolik tepkimelerle amin, keton, aldehit, amonyak, alkol ve asit gibi aroma maddeleri oluşmakta; böylece ürüne karakteristik tat ve aromayı sağlamaktadır (Yiğit 2009).

5.7 Laktik asit üretimi

Ortam pH'sının hızlı bir şekilde düşürmesi probiyotik bakterilerin istenilen önemli özelliklerinden birini oluşturmaktadır. Probiyotik bakteriler çeşitli gıdalardaki faaliyeti olan laktik asit fermantasyonu sonucunda karbonhidratlardan temel metabolit olarak laktik asit üretimi yaparlar (Hwanhlem ve ark. 2010; Turhan ve ark. 2012). Laktik asit kokusuz, ekşi bir organik asit olup temel antimikrobiyel etkisini üretimi sırasında pH'daki düşüşle göstermektedir (Di Cagno ve ark. 2013). Bu nedenle yüksek laktik asit üretim yeteneği probiyotik bakteriler için aranan özelliklerdendir.

Çalışmamızda en düşük laktik asit üretimi % 2,02 (*Enterococcus faecium E14*) ve en yüksek % 3,15 (*Lactobacillus plantarum 4C*) olarak belirlenmiştir. *Enterococcus faecium* suşları (ort.% 2,76), *Lactobacillus paraplantarum* suşları (ort.% 2,55) , *Lactobacillus plantarum* suşları (ort.% 2,76) ve *Lactobacillus brevis* suşları (ort.% 2,07) yüksek laktik asit ürettikleri gözlenmiştir.

Nancib (2015) 'in yaptığı bir çalışmada meyve suyuna inokule edilen *Lactobacillus rhamnosus* suşunun laktik asit üretimleri izlenmiştir. Sonuçta *Lactobacillus rhamnosus* suşunu yüksek laktik asit üretimi tespit edilmiştir (Nancib ve ark. 2015).

Cui (2011) 'in yaptığı çalışmada mısır koçanından laktik asit üretimi sürecinde *Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus brevis* kültür karışımının kullanılmasıyla laktik asit üretiminin belirgin bir oranda arttığı tespit edilmiştir. Bu durum probiyotik bakterilerin gıda ürünlerinin üretim ve saklama sürecinde laktik asit üretme yeteneklerinin aktif olarak kullanılması ile teknolojik performanslarını olumlu yönde artırdığını kanıtlamaktadır (Cui ve ark. 2011).

Fermente süt ürünlerinin antimikrobiyal özellikler taşıdığı ve bu özelliklerin ortamda yer alan ve gıdaları mikrobiyal bozulmalara karşı koruyan laktik asit üretimine bağlı olarak gerçekleştiği ve özellikle ince bağırsakta yaşayan Gram (-) bakterilere karşı daha etkili olduğu ortaya konulmuştur. Laktik asit bakterileri, laktozun bir kısmını L (+), bir kısmını ise D (-) formunda laktik aside dönüştürmektedirler. Fizyolojik olarak L (+) laktik asit, D (-) laktik asit formunda çok daha iyi metabolize edilmektedir. Bu nedenle çocukların ve gençlerin beslenmesinde son derece önem kazanmaktadır.

Yapılan araştırmalarda pH'nın düşmesine bağlı antimikrobiyal özelliğe sahip laktik asidin, Gram (-) bakterilerinin yaşamını kaybetmesine yol açan lipopolisakkaritlerin serbest bırakılmasına ve bunun sonucunda dış zarının geçirgen olmasına neden olan bir madde olduğunu bildirmişlerdir. Laktobasil türleri ortamlarını ortalama pH 3,5 civarlarına kadar azatlıklarından asidik ortama da dayanım gösterebilmektedirler. Yapılmış çalışmalarda probiyotik bakterilerin laktik asit üretiminin tür ve suşlara göre farklılık gösterdiğini belirlemişlerdir (Yiğit 2009).

5.8 Antimikrobiyal etki

Probiyotiklerin seçim kriterlerinden olan antimikrobiyal etki; antimikrobiyal maddelerin üretimi ile gıda kaynaklı olan patojenlerin inhibasyonun sağlanması açısından bakteriler için önemli özelliklerden biridir. Bu tür probiyotikler aynı zamanda gıdalarda bulunarak antimikrobiyal maddeler üretir; böylece gıdaların mikrobiyolojik dengelerini koruyan “koruyucu kültür” görevini sağlarlar (Yoon ve ark. 2008).

Süt ürünlerinden izole ettiğimiz probiyotik özellik gösteremeyen *Enterococcus faecium* suşları zor koşullarda hayatta kalabilme ve gelişebilme yeteneği gösterdiklerinden gıdalarda probiyotik olarak kullanılamazsa bile; koruyucu kültür olarak kullanılması önerilebilir (Sarantinopoulos ve ark. 2002).

Probiyotikler laktik asit üretimi ile pH'daki düşüşle beraber patojenlere karşı antimikrobiyal etki göstermelerinin yanında ürettikleri diğer organik asitlerle (asetik, formik asit, propiyonik asit) , antimikrobiyal bileşiklerle (hidrojen peroksit, bakteriyosin, diasetil, alkol ve karbondioksit) ve kolonizasyon bölgeleri için yarışarak patojen bakterileri baskı altında tutmaktadırlar (Rund ve ark. 2013; Tsai ve ark. 2016; Lin ve ark.1986; Halkman ve ark. 1991). Probiyotikler tarafından üretilen bu metabolitler *Escherichia coli* ve benzeri Gram (-) bakteriler üzerinde etkili olmaktadır (Okereke ve ark. 2012).

Özellikle laktobasil türlerinin birçok patojene karşı antimikrobiyal özellikleri belirlemişlerdir (Reid ve ark. 1990). *Lactobacillus plantarum*'un ürettiği laktolin gibi antibiyotik maddeler belirlenmiştir. Bakteriyosinler özellikle gıda kökenli patojen bakteriler inhibe edilebilmektir (Messaoudi ve ark. 2013). Düşük pH değerlerinde, fazla miktarda laktik asit dissosiyeye olmamış yapıda bulunmaktadır ve bu nedenle birçok bakteri, küf ve maya için toksik etki göstermektedir (Rodríguez-Couto 2006).

Yapılan bir çalışmada çiğ keçi sütünden üretilmiş peynirden izole edilen enterokok suşlarının gıda patojenleri olan *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Psoni ve ark. 2006).

Çalışmamızda izole ettiğimiz *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus paraplantarum* suşları patojen

mikroorganizmalar olan *Escherichia coli*, , *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* suşlarına karşı genel olarak inhibisyon etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir.

Boza numunesinden izole ettiğimiz; probiyotik özellik gösteren *Lactobacillus brevis* 84 suşu ve kefir numunesinden izole ettiğimiz; probiyotik özellik gösteren *Lactobacillus plantarum* 44 C ve *Lactobacillus plantarum* 74 C suşları patojen test bakterinin tümüne (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans*) antimikrobiyal etki göstermiştir (Çizelge 4.20).

5.9 Gıdalarda canlılıkların korunması

Güvenli ve probiyotik özelliği saptanan suşların seçimi ve ürünlerin saklanması süresince canlı kalmaları insan sağlığı açısından önemlidir. Probiyotik kültürlerin satışa sunulacak gıdalarda fizyolojik etkinliğini devam ettirebilmesi için canlı probiyotik mikroorganizma sayısı ve canlılıklarını koruması önemlidir. Bu nedenle genelde probiyotik gıda olarak bakterilerin canlılıklarını kolaylıkla koruduğu süt ve süt ürünleri tercih edilmiştir. Son dönemde ise alternatif ürün olarak meyve sularının da probiyotik ürün tasarımı için önemli bir potansiyel teşkil ettiği belirtilmektedir (Tripathi ve ark. 2014).

Canlılık kaybı probiyotik üretiminde karşılaşılan en önemli problemlerden biri olup, probiyotik bakterilerin saklama koşulları ile ilişkilidir (Çakır 2003). Fonksiyonel gıda olarak nitelenen probiyotik bakteri içeren gıdalar sağlığa olumlu etkilerinin gözlenebilmesi için süt ürünlerinde en az 10^7 kob/g ve diğer ürünlerde en az 10^5 kob/g seviyesinde probiyotik bakteri içermelidir (Wildman ve ark. 2016).

Kesenkaş (2016)'ın yaptığı çalışmada ege bölgesi peynirlerine ilave ettikleri probiyotik bakterilerin depolama sırasında 10^6 kob/g seviyesinde canlı kaldığını tespit etmişlerdir. Peynirin katı yapısı, tampon kapasitesi ve yağ içeriği, bakterileri bağırsakta yararlı olacakları bölgeye varıncaya kadar canlı olarak taşıyabilme avantajına (Castro ve ark. 2015; Vinderola ve ark. 2000) rağmen kefirde izole ettiğimiz suşların probiyotik özellikleri peynirden izole edilen suşlardan daha iyi durumda bulunmuştur. Bu kefirin probiyotik özelliklerinin peynirden daha iyi olduğunu göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada peynir, süt, boza ve kefirde izole edilen bakteriler süt içerisinde yüksek canlılık (ort. $2,93 \times 10^7$ kob/g) göstermiştir. Bunun yanında elma

suyu içerisinde canlılıkları da (ort.2,49x10⁷ kob/g) yüksek bulunmuştur. Özellikle bozadan izole edilen *Lactobacillus brevis* suşları sütte (ort.8,4x10⁷ kob/g) daha fazla canlılık gösterirken elma suyunda (ort.2,24x10⁴ kob/g) daha az canlılık göstermiştir. İzole edilen tüm suşlar (*Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum* ve *Lactobacillus brevis*) süt içeriğinde daha fazla canlılık göstermiştir (Çizelge 4.21).

5.10 Sağlık Etkileri

Son yıllarda sağlıklı gıdaların tüketimine yönelik yoğun ilginin ortaya çıkışına bağlı olarak probiyotiklere ilgiyi artırmıştır. Özellikle laktobasiller kolonizasyonu aynı zamanda ulseratif kolit, rota virüs, ishal vb. gastrointestinal hastalıkların önlenmesinde yardımcı olduğu belirtilmektedir. Bu nedenlerden dolayı probiyotiklerin kullanımı koruyucu hekimlik açısından önemlidir. Probiyotik bakterilerin sağlıklı bir gelişim için hem hastalıkların tedavi sürecinde antibiyotiklerin yerine biyolojik, destekleyici ve alternatif ürün şeklinde kullanılabilir. Bununla birlikte stabil bağırsak mikroflora oluşumuna katkı sağlamanın yanında antibiyotiklerin olumsuz etkilerini azalttığı ifade edilmektedir (Arroyo ve ark. 2010).

Yapılan bazı çalışmalarda görüldüğü üzere laktobasillerin safra tuzlarını parçalaması sonucu karaciğer tarafından yeniden emilim gerçekleşmemekte; böylece karaciğer safra tuzu sentezi için fazladan serum kolesterol kullanmakta ve buna bağlı olarak serum kolestrol azalmıştır (Lin 1989; Vaughan ve ark.1999).

Sonuç olarak; kefir ve bozadan izole edilen bakteriler *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus plantarum* probiyotik olma kriterlerini sağlayabilmiştir. Böylece kefir ve boza gibi doğal fermente gıda ürünlerinden izole edilen transgenetik olmayan mikroorganizmalar içinden probiyotik bakterilerin endüstriyel probiyotiklere alternatif olarak üretilebileceği bu araştırmada saptanmıştır. Bunun yanında kefir ve boza örneklerinden izole ettiğimiz bakterilerden probiyotik özelliklere sahip Türkiye'ye ait özgünlüğü belirlenmiş probiyotiklerin tespiti yapılmıştır.

5.11 Bulguların önemi ve öneriler

Doğal ve genetiği değiştirilmemiş gıdalardan izole edilebilecek probiyotiklerin işlevlerinin belirlenmesi için daha fazla çalışma gerekmektedir. Bunun yanında en iyi özellikleri ve işlevleri gösteren probiyotiklerin belirlenmesi için gereken uluslararası standart kriterlerin oluşturulmasının önemi ortaya çıkmaktadır.

Yapılan çalışmalarda probiyotiklerin; sağlığa etkilerinin araştırılması için uygulamalı deneyler tasarlanmakta ve insan biyolojik sistem işlevlerini iyi yönde etkilediği, sağlığa yararlı etkilerinin olduğu yönünde kanıtlar öne sürülmektedir. Bu kanıtlar sayesinde; dünya pazarında, probiyotiklerin sağlığa yararlı etkileri ön plana çıkartılarak tüketiciye sunulmaktadır. Ancak; probiyotiklerin sağlığa etkilerinin olumlu yönde olduğu hipotezinin kesinleşebilmesi için daha fazla in vivo çalışma yapılması gereklidir.

Çalışmamızda probiyotik özellik gösteren *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus plantarum* suşlarının probiyotik olarak kullanımına yönelik olarak liyofilize formlarının hazırlanarak hastalık gelişme riskini azaltıcı ve koruyucu hekimlik uygulamalarında kullanılması amacıyla in vitro ve in vivo çalışmaların yapılmasını önermekteyiz.



KAYNAKLAR

- Ahmadova, A., Todorov, S. D., Choiset, Y., Rabesona, H., Zadi, T. M., Kuliye, A., ... & Haertlé, T.** (2013): Evaluation of antimicrobial activity, probiotic properties and safety of wild strain *Enterococcus faecium* AQ71 isolated from Azerbaijani Motal cheese. *Food Control*, **30(2)**, 631-641.
- Aimutis, W. R.** (2001): Challenges in developing effective probiotic functional foods, including scientific and regulatory considerations: Dairy nutrition for a healthy future. *Bulletin-International Dairy Federation*, **(363)**, 30-38.
- Akçelik, M., Ayhan, K., Gürgün, V. ve Tunail, N.** (1999): Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, Ankara.
- Aksoy, M.A.** (2007): Labartuar Uygulama Kılavuzu, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji A.B.D. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi*.
- Alp G.** (2008): Bifidobacterium Cinsi Bakterilerin Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi ,Gazi Üniversitesi*.
- Ammor, M. S., Florez, A. B., Mayo, B.** (2007): Antibiotic Resistance in Non-Enterococcal Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. *Food Microbiology*, **24**, 559-570
- Andrighetto, C., Knijff, E., Lombardi, A., Torriani, S., Vascanneyt, M., Kersters, K., Swings, J., Swings, J., Dellaglio, F.** (2001): Phenotypic and genetic diversity of enterococci isolated from Italian cheeses. *J. Dairy Research*, **68**: 303-316
- Arda, M.** (2015) : Boyalar ve Boyama Metotları, Temel Mikrobiyoloji 1, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi*.
- Arroyo, R., Martin, V., Maldonado, A., Jimenez, E., Fernandez, L.** (2010): Treatment of Infectious Mastitis during Lactation: Antibiotics versus Oral Administration of Lactobacilli Isolated from Breast Milk. *Clinical Infectious Diseases*, **50(12)**: 1551–1558
- Ashraf, R., & Smith, S. C.** (2016): Commercial lactic acid bacteria and probiotic strains-tolerance to bile, pepsin and antibiotics. *International Food Research Journal*, **23(2)**.
- Aspri, M., Bozoudi, D., Tsaltas, D., Hill, C., & Papademas, P.** (2017): Raw donkey milk as a source of *Enterococcus* diversity: Assessment of their technological properties and safety characteristics. *Food Control* **73** 81e90
- Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B. M., Henni, D. E., & Kihal, M.** (2004): Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, **21(5)**, 579-588.

- Banwo, K., Sanni, A., & Tan, H.** (2013): Technological properties and probiotic potential of *Enterococcus faecium* strains isolated from cow milk. *Journal of applied microbiology*, **114**(1), 229-241.
- Bassaganya-Riera, J., Viladomiu, M., Pedragosa, M., De Simone, C., Carbo, A., Shaykhutdinov, R., ... & Storr, M.** (2012): Probiotic bacteria produce conjugated linoleic acid locally in the gut that targets macrophage PPAR γ to suppress colitis. *PloS one*, **7**(2), e31238.
- Basu, S., Chatterjee, M., Ganguly, S., & Chandra, P. K.** (2007): Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GG in persistent diarrhea in Indian children: a randomized controlled trial. *Journal of clinical gastroenterology*, **41**(8), 756-760.
- Beganović, J., Kos, B., Pavunc, A. L., Uroić, K., Džidara, P., & Šušković, J.** (2013): Proteolytic activity of probiotic strain *Lactobacillus helveticus* M92. *Anaerobe*, **20**, 58-64.
- Begley, M., Hill, C., & Gahan, C. G.** (2006): Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Applied and environmental microbiology*, **72**(3), 1729-1738.
- Bernet, M. F., Brassart, D., Neeser, J. R., & Servin, A. L.** (1993): Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**(12), 4121-4128.
- Bhardwaj, A., Gupta, H., Kapila, S., Kaur, G., Vij, S., & Malik, R. K.** (2010): Safety assessment and evaluation of probiotic potential of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* KH 24 strain under in vitro and in vivo conditions. *International journal of food microbiology*, **141**(3), 156-164.
- Bhardwaj, A., Malik, R. K., & Chauhan, P.** (2008): Functional and safety aspects of enterococci in dairy foods. *Indian journal of microbiology*, **48**(3), 317-325.
- Blum, S., & Schiffrin, E. J.** (2001): Intestinal microflora and homeostasis of the mucosal immune response: implications for probiotic bacteria. *Probiotics and Prebiotics: Where are we going*, 311-330.
- Bozkurt, H., & Ashm, B.** (2004): İmmobilizasyonun Probiyotik Kültürlerde Kullanımı. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **2**(7), 1-14.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J.** (2011): Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, **104**(4), 467-483.
- Burns, P., Vinderola, G., Binetti, A., Quiberoni, A., de Los Reyes-Gavilan, C. G., & Reinheimer, J.** (2008): Bile-resistant derivatives obtained from non-intestinal dairy lactobacilli. *International Dairy Journal*, **18**(4), 377-385.
- Butel, M. J.** (2014): Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine et maladies infectieuses*, **44**(1), 1-8.
- Çakır, İ., & Çakmakçı, L.** (2003): Laktobasillus ve bifidobakterlerde bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi. *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara*.
- Çakır, İ.** (2004): Probiyotikler: Tanımı, Etki Mekanizması, Seçim ve Güvenilirlik kriterleri. *Gıda Dergisi*, **29**(6):427-434,
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N.** (2008): *Microbiology: a laboratory manual* (Vol. 9). Boston, MA: Pearson/Benjamin Cummings.

- Carlson, J., & Slavin, J.** (2016): Health benefits of fibre, prebiotics and probiotics: a review of intestinal health and related health claims. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 8(4), 539-554.
- Cashman, K.** (2003): Prebiotics and calcium bioavailability. *Current Issues Intestinal Microbiology*, 4: 21-32.
- Castro, J. M., Tornadijo, M. E., Fresno, J. M., & Sandoval, H.** (2015): Biocheese: A food probiotic carrier. *BioMed research international*, 2015.
- Cebeci, A. and Gürakan, C.** (2003): Properties of Potential Probiotic *Lactobacillus plantarum* Strains. *Food Microbiology*, 20: 511-518.
- Çetinkaya, E., & Ayhan, K.** (2012): Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler. *Karaelmas Fen Ve Mühendislik Dergisi*, 2(1), 53-62.
- Champagne, C. P., & Gardner, N. J.** (2008): Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. *Food Research International*, 41(5), 539-543.
- Champe, P. C., Harvey, R. A.** (1997): *Biyokimya*, Tokullugil, A., Dirican, M. and Ulukaya, E., *Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul*.
- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L., & Collins, J. K.** (1998): Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *Journal of Food Protection*®, 61(12), 1636-1643.
- Chichlowski, M.** (2006): Effect of Probiotic Consortium On Level and Mechanism of Intestine Function. *ProQuest*.
- CLSI.** 2015-2016 Catalog,2015. Erişim: <http://clsi.org/wp-content/uploads/sites/14/2013/07/CLSI-2015-Catalog.pdf>
- Collado, M. C., Meriluoto, J., & Salminen, S.** (2007): Development of new probiotics by strain combinations: is it possible to improve the adhesion to intestinal mucus?. *Journal of dairy science*, 90(6), 2710-2716.
- Collado, M. C., Meriluoto, J., & Salminen, S.** (2008): Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *European Food Research and Technology*, 226(5), 1065-1073.
- Çon, A. H., & Gökalp, H. Y.** (2000): Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. *Meat science*, 55(1), 89-96.
- Cui, F., Li, Y., & Wan, C.** (2011): Lactic acid production from corn stover using mixed cultures of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus brevis*. *Bioresource technology*, 102(2), 1831-1836.
- da Cruz, A. G., Buriti, F. C. A., de Souza, C. H. B., Faria, J. A. F., & Saad, S. M. I.** (2009): Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 20(8), 344-354.
- Darilmaz, D. O., Ashm, B., Suludere, Z., & Akca, G.** (2011): Influence of gastrointestinal system conditions on adhesion of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains to Caco-2 Cells. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(5), 917-926.
- Dave, R. I., & Shah, N. P.** (1997): Characteristics of bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* LA-1. *International dairy journal*, 7(11), 707-715.
- Del Re, B., Busetto, A., Vignola, G., Sgorbati, B., & Palenzona, D. L.** (1998): Autoaggregation and adhesion ability in a *Bifidobacterium suis* strain. *Letters in applied microbiology*, 27(5), 307-310.

- Del Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M., & Palenzona, D.** (2000): Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Letters in applied microbiology*, **31(6)**, 438-442
- Delgado, S., Suárez, A., Otero, L., & Mayo, B.** (2004): Variation of microbiological and biochemical parameters in the faeces of two healthy people over a 15 day period. *European journal of nutrition*, **43(6)**, 375-380.
- Demain, A. L.** (1999): Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms. *Applied microbiology and biotechnology*, **52(4)**, 455-463.
- Demirci, M., Gündüz, H.** (2004): Süt Teknolojisi El Kitabı. *Hasad Yayıncılık, Ankara*, 1-184
- Dewan, S., Tamang, J.P.** (2007): Dominant lactic acid bacteria and their technological properties isolated from the himalayan ethnic fermented milk products. *Antonie van Leeuwenhoek*, **92**, 343-352.
- Dhanasekaran, D., Saha, S., Thajuddin, N., Panneerselvam, A.** (2008): Probiotics effect of lactobacillus isolates against bacterial pathogens in clarias orientails. *Facta Universitatis Medicine and Biology*, **Vol.15, No 3**, pp. 97 - 102.
- Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M., & Gobbetti, M.** (2013): Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology*, **33(1)**, 1-10.
- Dianawati, D., Mishra, V., & Shah, N. P.** (2016): Viability, Acid and Bile Tolerance of Spray Dried Probiotic Bacteria and Some Commercial Probiotic Supplement Products Kept at Room Temperature. *Journal of food science*, **81(6)**, M1472-M1479.
- Doğan, M.** (2011): Probiyotik Bakterilerin Biyokimyasal Etki Mekanizması ve Alerji Üzerine etkilerinin Meta-Analiz Araştırması, *Fatih Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul*.
- Donaldson, G. P., Lee, S. M., & Mazmanian, S. K.** (2016): Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, **14(1)**, 20-32.
- Duangjitcharoen, Y., Kantachote, D., Ongsakul, M., Poosaran, N., & Chaiyasut, C.** (2008): Selection of probiotic lactic acid bacteria isolated from fermented plant beverages. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, **11(4)**, 652-655. enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*, **24(6)**, 559-570.
- Dubois, D., Grare, M., Prere, M. F., Segonds, C., Marty, N., & Oswald, E.** (2012): Performances of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry system for rapid identification of bacteria in routine clinical microbiology. *Journal of clinical microbiology*, **50(8)**, 2568-2576.
- Dugas, B., Mercenier, A., Lenoir-Wijnkoop, I., Arnaud, C., Dugas, N., & Postaire, E.** (1999): Immunity and probiotics. *Immunology today*, **20(9)**, 387-390
- Dunne, C., Murphy, L., Flynn, S., O'Mahony, L., O'Halloran, S., Feeney, M., ... & Kiely, B.** (1999): Probiotics: from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. In *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications* (pp. 279-292). *Springer Netherlands*.

- Durlu-Ozkaya, F., Xanthopoulos, V., Tunail, N., & Litopoulou-Tzanetaki, E.** (2001): Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese made from raw ewes' milk. *Journal of Applied Microbiology*, **91**(5), 861-870.
- Ebner, S., Smug, L. N., Kneifel, W., Salminen, S. J., & Sanders, M. E.** (2014): Probiotics in dietary guidelines and clinical recommendations outside the European Union. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, **20**(43), 16095.
- Ejtahed, H. S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M., & Mofid, V.** (2012): Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition*, **28**(5), 539-543.
- Endimiani, A., Perez, F., Bajaksouzian, S., Windau, A. R., Good, C. E., Choudhary, Y., ... & Jacobs, M. R.** (2010): Evaluation of updated interpretative criteria for categorizing *Klebsiella pneumoniae* with reduced carbapenem susceptibility. *Journal of clinical microbiology*, **48**(12), 4417-4425.
- Erdoğan, Ö.T., Çetin, Ö., Ergün, Ö.** (2002): Fermente Sucuklardan İzole Edilen *Pediococcus pentosaceus* Suşlarının Bazı Metabolik ve Antimikrobiyel Aktiviteleri Üzerine Çalışmalar. *İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi* **28**: 249-254.
- Fang, C. Y., Lu, J. R., Chen, B. J., Wu, C., Chen, Y. P., & Chen, M. J.** (2014): Selection of uremic toxin-reducing probiotics in vitro and in vivo. *Journal of Functional Foods*, **7**, 407-415.
- Fang, H., Ouwehand, A.C., Isolauri, E., Hosoda, M., Benno, Y., Salminen, S.** (2000): Differences in Composition and Mucosal Adhesion of Bifidobacteria Isolated from Healthy Adults and Healthy Seniors, *Curr. Microbiol. Vol.* **43**, 351-354.
- FAO/WHO.** Food and Agriculture Organization/World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in foods, Report of a Joint FAO/ WHO Working Group, London, Ontario, Canada, April 30 and May 1 2002. Erişim: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>, erişim tarihi 15 Haziran 2016.
- Farnworth, E. R.** (2006): Kefir—a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Fu*, **2**(1), 1-17.
- Fedorak, R. N., & Madsen, K. L.** (2004): Probiotics and the management of inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*, **10**(3), 286-299.
- Fernandez, M. F., Boris, S., & Barbes, C.** (2003): Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*, **94**(3), 449-455.
- Fijan, S.** (2014): Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *International journal of environmental research and public health*, **11**(5), 4745-4767.
- Fooks, L. J., & Gibson, G. R.** (2002): Probiotics as modulators of the gut flora. *British Journal of Nutrition*, **88**(S1), s39-s49.
- Forestier, C., De Champs, C., Vatoux, C., & Joly, B.** (2001): Probiotic activities of *Lactobacillus casei* rhamnosus: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Research in Microbiology*, **152**(2), 167-173.

- Forssten, S., Evans, M., Wilson, D., & Ouwehand, A. C.** (2014): Influence of a probiotic mixture on antibiotic induced microbiota disturbances. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(33), 11878.
- Fortina, M. G., Ricci, G., Borgo, F., Manachini, P. L., Arends, K., Schiwon, K., ... & Grohmann, E.** (2008): A survey on biotechnological potential and safety of the novel *Enterococcus* species of dairy origin, *E. italicus*. *International journal of food microbiology*, 123(3), 204-211.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L., Cogan, T. M., & Guinee, T. P. (Eds.)**. (2004): Cheese: chemistry, physics and microbiology: general aspects. Academic Press.
- Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A., & Poznanski, E.** (2009): Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International dairy journal*, 19(1), 3-11.
- Frece, J., Kos, B., Svetec, I. K., Zgaga, Z., Mrša, V., & Šušković, J.** (2005): Importance of S-layer proteins in probiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of Applied Microbiology*, 98(2), 285-292.
- Friedman, G.** (2005): Probiotics, prebiotics, and commensal bacteria: perspectives and clinical applications in gastroenterology. *Gastroenterology Clinics of North America*, 34(3), xiii-xvi.
- Fuller, R.** (1992): History and development of probiotics. In *Probiotics (pp. 1-8)*. Springer Netherlands.
- Gan, X. T., Ettinger, G., Huang, C. X., Burton, J. P., Haist, J. V., Rajapurohitam, V., ... & Reid, G.** (2014): Probiotic Administration Attenuates Myocardial Hypertrophy and Heart Failure After Myocardial Infarction in the Rat CLINICAL PERSPECTIVE. *Circulation: Heart Failure*, 7(3), 491-499.
- García-Ruiz, A., de Llano, D. G., Esteban-Fernández, A., Requena, T., Bartolomé, B., & Moreno-Arribas, M. V.** (2014): Assessment of probiotic properties in lactic acid bacteria isolated from wine. *Food microbiology*, 44, 220-225.
- Georgiev, K., Georgieva, M., Iliev, I., Peneva, M., & Alexandrov, G.** (2015): Antiprolifera Effect of Bulgarian Spring Water Probiotics (Laktera Nature Probiotic®) Against Human Colan Carcinoma Cell Line.
- Giraffa, G.** (2003): Functionality of enterococci in dairy products. *International journal of food microbiology*, 88(2), 215-222.
- Gismondo, M. R., Drago, L., & Lombardi, A.** (1999): Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *International journal of antimicrobial agents*, 12(4), 287-292.
- Goktepe, I., Juneja, V. K., & Ahmedna, M. (Eds.)**. (2005): Probiotics in food safety and human health. CRC Press.
- Goldenberg, J. Z., Ma, S. S., Saxton, J. D., Martzen, M. R., Vandvik, P. O., Thorlund, K., ... & Johnston, B. C.** (2013): Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *The Cochrane Library*.
- Golowcyc, M. A., Gugliada, M. J., Hollmann, A., Delfederico, L., Garrote, G. L., Abraham, A. G., ... & De Antoni, G.** (2008): Characterization of homofermentative lactobacilli isolated from kefir grains: potential use as probiotic. *Journal of Dairy Research*, 75(02), 211-217.

- Gomez Zavaglia, A., Kociubinski, G., Perez, P., Disalvo, E., & De Antoni, G.** (2002): Effect of bile on the lipid composition and surface properties of bifidobacteria. *Journal of applied microbiology*, **93(5)**, 794-799.
- Gönç, S., & Akalın, A. S.** (1995): Yoğurтта canlı olarak bulunan *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus bifidus*' un organizma ve sağlık üzerine etkisi. *Gıda/The Journal of Food*, **20(2)**.
- Gönülateş, N.** (2008): Kefirin insanlar üzerindeki immünomodülatör etkilerinin araştırılması. (*Doctoral dissertation, SDÜ Tıp Fakültesi*).
- González, L., Sandoval, H., Sacristán, N., Castro, J. M., Fresno, J. M., & Tornadijo, M. E.** (2007): Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. *Food Control*, **18(6)**, 716-722.
- Gotcheva, V., Hristozova, E., Hristozova, T., Guo, M., Roshkova, Z., & Angelov, A.** (2002): Assessment of potential probiotic properties of lactic acid bacteria and yeast strains. *Food Biotechnology*, **16(3)**, 211-225.
- Grattepanche, F., Miescher-Schwenninger, S., Meile, L., & Lacroix, C.** (2008): Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities. *Dairy Science and Technology*, **88(4-5)**, 421-444.
- Guarner, F., & Schaafsma, G. J.** (1998): Probiotics. *International journal of food microbiology*, **39(3)**, 237-238.
- Gueimonde, M., & Salminen, S.** (2006): New methods for selecting and evaluating probiotics. *Digestive and Liver Disease*, **38**, S242-S247.
- Gülay, Z.** (2004): ESBL'lerin tanı yöntemleri. Ünal S, Vahaboğlu H, Leblebioğlu H, Öztürk R, Köksal İ (eds). Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen İnfeksiyonlar: Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamazlar. *Bilimsel Tıp Yayinevi, Ankara*.
- Gülel, Ş.** (2014): Molecular Identification and Probiotic Properties Of 'Lactobacillus Acidophilus Grou Isolates From Turkish Kefir (*Doctoral dissertation, Middle East Technical University*).
- Gür, D.** (1997): Beta-laktamazlar. *Flora Dergisi*; **2:3-18**.
- Gurses, M., & Erdogan, A.** (2006): Identification of lactic acid bacteria isolated from Tulum cheese during ripening period. *International Journal of Food Properties*, **9(3)**, 551-557.
- Gürsoy, O., & Kınık, Ö.** (2006): Probiyotik Bakterilerin Klinik Uygulamalarında Yeni Gelişmeler-II. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg, **43(1)**, 189-196.
- Gusils, C., Cuozzo, S., Sesma, F., & Gonzalez, S.** (2002): Examination of adhesive determinants in three species of *Lactobacillus* isolated from chicken. *Canadian journal of microbiology*, **48(1)**, 34-42.
- Halkman, A. K.** (1991): Tarım Mikrobiyolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, **(1214)**, 82.
- Halkman, A.K.** (2005): Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, *Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti. Ankara*, **73-89**, 250.
- Hernandez, J. R., Pascual, A., Canton, R., & Martinez-Martinez, L.** (2003): Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Spanish hospitals (GEIH-BLEE Project 2002). *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*, **21(2)**, 77-82.
- Herreros, M. A., Sandoval, H., González, L., Castro, J. M., Fresno, J. M., & Tornadijo, M. E.** (2005): Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *Food microbiology*, **22(5)**, 455-459.

- Hirayama, K., & Rafter, J.** (2000): The role of probiotic bacteria in cancer prevention. *Microbes and infection*, **2(6)**, 681-686.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H., Staley, J.T. ve Williams, S.T.** (2000): Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, *Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia*, 527-567.
- Hwanhlem, N., Watthanasakphuban, N., Riebroy, S., Benjakul, S., & Maneerat, S.** (2010): Probiotic lactic acid bacteria from Kung-Som: isolation, screening, inhibition of pathogenic bacteria. *International journal of food science & technology*, **45(3)**, 594-601..
- Ishibashi, N., & Shimamura, S.** (1993): Bifidobacteria: research and development in Japan. Food Technology.
- Ismail, B., & Nampoothiri, K. M.** (2010): Production, purification and structural characterization of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510. *Archives of microbiology*, **192(12)**, 1049-1057.
- ISO 11133:2014:** Microbiology of food, animal feed and water -- Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- ISO 6887-6:2013:**Microbiology of food and animal feed -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination -- Part 6: Specific rules for the preparation of samples taken at the primary production stage.
- ISO 7218:2007:**Microbiology of food and animal feeding stuffs -- General requirements and guidance for microbiological examinations.
- Isolauri, E., Salminen, S., & Ouwehand, A. C.** (2004): Probiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, **18(2)**, 299-313.
- Jacoby, G. A.** (1994): Genetics of extended-spectrum beta-lactamases. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, **13**, S2-S11.
- Jara, S., Sánchez, M., Vera, R., Cofré, J., & Castro, E.** (2011): The inhibitory activity of *Lactobacillus* spp. isolated from breast milk on gastrointestinal pathogenic bacteria of nosocomial origin. *Anaerobe*, **17(6)**, 474-477.
- Ji, G. E.** (2009): Probiotics in primary prevention of atopic dermatitis. In Food Factors for Health Promotion (*Vol. 61*, pp. 117-128). Karger Publishers.
- Jin, J., Song, J., Ren, F., Zhang, H., Xie, Y., Ma, J., & Li, X.** (2016): Investigation of Growth Phase-Dependent Acid Tolerance in *Bifidobacterium longum* BBMN68. *Current Microbiology*, **1-8**.
- Johnson, E. M., Yang, S. H., Sahoo, M., Dash, I., Das, B., Palaniyandi, S. K., ... & Jayabalan, R.** (2016): Biotherapeutic propensity of the probiotic strains isolated from human gut microbiota against enteric infection by *Salmonella typhimurium*. *KCTC 2514*.
- Kahraman, R.** (1993): Şenel, HS: Probiyotiklerin Buzağı Büyümesi Üzerine Etkileri (Doktora tezi).İstanbul Üniv. Vet. Fak. Hayvan Besleme ve Besleme Hastalıkları Anabilim Dalı. Avcılar-İstanbul.
- Kailasapathy, K.** (2002): Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current issues in intestinal microbiology*, **3(2)**, 39-48.
- Kailasapathy, K.** (2013): Commercial sources of probiotic strains and their validated and potential health benefits-a review. *International Journal of Fermented Foods*, **2(1)**, 1.
- Kamruzzaman, M., Jahan, S., Fuadh-Al-Kabir, M., Jahan, M. S., Rahman, M., Khan, M. A. K., ... & Hossain, M. S.** (2013): The investigation of

- probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from cow milk. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 3(4), 161-167.
- Kasimoğlu, A., Göncüoğlu, M., & Akgün, S.** (2004): Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. *International Dairy Journal*, 14(12), 1067-1073.
- Kaushik, J. K., Kumar, A., Duary, R. K., Mohanty, A. K., Grover, S., & Batish, V. K.** (2009): Functional and probiotic attributes of an indigenous isolate of *Lactobacillus plantarum*. *PloS one*, 4(12), e8099.
- Kavas, G.** (1997): A study on the production of the phage resistant yoghurt culture. (*Doctoral dissertation, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*).
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., & Fakiri, E. M.** (2013): Health benefits of probiotics: a review. *ISRN nutrition*, 2013.
- Kesenkaş, H., Kınık, Ö., Seçkin, K., Ergönül, P. G., & Ecem, A. K. A. N.** (2016): Keçi Sütünden Üretilen Sinbiyotik Beyaz Peynirde *Enterococcus faecium*, *Bifidobacterium longum* ve *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* Sayılarının Değişimi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 53(1), 75-81.
- Kılıç, S.** (2001): Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:542, 451 s.
- Klaenhammer, T. R., & Kullen, M. J.** (1999): Selection and design of probiotics. *International journal of food microbiology*, 50(1), 45-57.
- Klingberg T.D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D. ve Budde, B.B.** (2005): Identification of potential probiotic cultures for Scandinavia-type fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 105, 419-431.
- Köseoğlu, V. K.** (2007): Model sistemlerde laktik asit bakterilerinin bazı patojenler üzerine antibakteriyal etkilerinin incelenmesi. *Yüksek lisans tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 59 s.
- Kumar, M., Nagpal, R., Verma, V., Kumar, A., Kaur, N., Hemalatha, R., ... & Singh, B.** (2013): Probiotic metabolites as epigenetic targets in the prevention of colon cancer. *Nutrition reviews*, 71(1), 23-34.
- Laparra, J. M., & Sanz, Y.** (2010): Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. *Pharmacological Research*, 61(3), 219-225.
- Larson, Z., Subramanyam, B., Zurek, L., & Herrman, T.** (2008): Diversity and antibiotic resistance of enterococci associated with stored-product insects collected from feed mills. *Journal of stored products research*, 44(2), 198-203.
- Lee, J., Bang, J., & Woo, H. J.** (2013): Effect of orally administered *Lactobacillus brevis* HY7401 in a food allergy mouse model. *J Microbiol Biotechnol*, 23(11), 1636-40.
- Lee, Y. K., & Salminen, S.** (2009): Handbook of probiotics and prebiotics. *John Wiley & Sons*.
- Leite, A. M. O., Miguel, M. A. L., Peixoto, R. S., Ruas-Madiedo, P., Paschoalin, V. M. F., Mayo, B., & Delgado, S.** (2015): Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains. *Journal of dairy science*, 98(6), 3622-3632.

- Lewus, C. B., Kaiser, A., & Montville, T. J.** (1991): Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology*, **57(6)**, 1683-1688.
- Lin, C. W., Shih, C. H., & Su, H. P.** (1986): Studies on the natural antimicrobial agents from lactic acid bacteria: 1-Primary screening of lactic cultures for antimicrobial activity. *J Chin Agric Chem Soc*, **24**, 384-391.
- Lin, S. Y., Ayres, J. W., Winkler, W., & Sandine, W. E.** (1989): Lactobacillus Effects on Cholesterol: In Vitro and In Vivo Results¹. *Journal of Dairy Science*, **72(11)**, 2885-2899.
- Lin, T. Y., & Chien, M. F. C.** (2007): Exopolysaccharides production as affected by lactic acid bacteria and fermentation time. *Food Chemistry*, **100(4)**, 1419-1423.
- Liong, M. T., & Shah, N. P.** (2005): Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strains. *Journal of dairy science*, **88(1)**, 55-66.
- Liu, C., Lu, J., Lu, L., Liu, Y., Wang, F., & Xiao, M.** (2010): Isolation, structural characterization and immunological activity of an exopolysaccharide produced by *Bacillus licheniformis* 8-37-0-1. *Bioresource technology*, **101(14)**, 5528-5533.
- Lund, B., & Edlund, C.** (2001): Probiotic *Enterococcus faecium* strain is a possible recipient of the *vanA* gene cluster. *Clinical Infectious Diseases*, **32(9)**, 1384-1385.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M.** (2006): Brock Biology Of Microorganisms. *Pearson Education, Inc.* **11**: 375–378,
- Maldonado, N. C., & Nader-Macias, M. E. F.** (2015): Functional Properties (Acid and Bile Tolerance) and Antibiotic Susceptibility of Lactic Acid Bacteria Isolated from Newborn Calves for the Design of a Probiotic Product. *Int J Vet Sci Res* **1 (1)**: 011, 22(011).
- Maragkoudakis, P. A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., & Tsakalidou, E.** (2006): Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, **16(3)**, 189-199.
- Marshall, V. M., & Rawson, H. L.** (1999): Effects of exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria on the texture of stirred yoghurt. *International journal of food science & technology*, **34(2)**, 137-143.
- Martin, R., Miquel, S., Ulmer, J., Kechaou, N., Langella, P., & Bermúdez-Humarán, L. G.** (2013): Role of commensal and probiotic bacteria in human health: a focus on inflammatory bowel disease. *Microbial cell factories*, **12(1)**, 1.
- Masco, L., Crockaert, C., Van Hoorde, K., Swings, J., & Huys, G.** (2007): In vitro assessment of the gastrointestinal transit tolerance of taxonomic reference strains from human origin and probiotic product isolates of *Bifidobacterium*. *Journal of dairy science*, **90(8)**, 3572-3578.
- Mathara, J. M., Schillinger, U., Guigas, C., Franz, C., Kutima, P. M., Mbugua, S. K., ... & Holzapfel, W. H.** (2008): Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. from traditional Maasai fermented milk products in Kenya. *International journal of food microbiology*, **126(1)**, 57-64.
- Mathur, S., & Singh, R.** (2005): Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. *International journal of food microbiology*, **105(3)**, 281-295.

- Melgar-Lalanne, G., Rivera-Espinoza, Y., Téllez-Medina, D. I., & Hernández-Sánchez, H.** (2015): Cell surface properties of halotolerant probiotic lactobacilli. *Journal of Advances in Biotechnology*, 4(3).
- Messaoudi, S., Manai, M., Kergourlay, G., Prévost, H., Connil, N., Chobert, J. M., & Dousset, X.** (2013): Lactobacillus salivarius: bacteriocin and probiotic activity. *Food microbiology*, 36(2), 296-304.
- Messi, P., Bondi, M., Sabia, C., Battini, R., & Manicardi, G.** (2001): Detection and preliminary characterization of a bacteriocin (plantaricin 35d) produced by a Lactobacillus plantarum strain. *International Journal of Food Microbiology*, 64(1), 193-198.
- Metchnikoff, I. I.** (2004): The prolongation of life: optimistic studies. *Springer Publishing Company*.
- Mishra, V., & Prasad, D. N.** (2005): Application of in vitro methods for selection of Lactobacillus casei strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 103(1), 109-115.
- Morandi, S., Brasca, M., Andrighetto, C., Lombardi, A., & Lodi, R.** (2006): Technological and molecular characterisation of enterococci isolated from north-west Italian dairy products. *International Dairy Journal*, 16(8), 867-875.
- Moreno, M. F., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., & De Vuyst, L.** (2006): The role and application of enterococci in food and health. *International journal of food microbiology*, 106(1), 1-24.
- Mozzi, F., Vaningelgem, F., Hébert, E. M., Van der Meulen, R., Moreno, M. R. F., de Valdez, G. F., & De Vuyst, L.** (2006): Diversity of heteropolysaccharide-producing lactic acid bacterium strains and their biopolymers. *Applied and environmental microbiology*, 72(6), 4431-4435.
- Mumcu, Z. N.** (1997): Kefirden İzole Edilen Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Metabolik, Antimikrobiyal ve Plazmit DNA'larının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Muñoz-Atienza, E., Gómez-Sala, B., Araújo, C., Campanero, C., Del Campo, R., Hernández, P. E., ... & Cintas, L. M.** (2013): Antimicrobial activity, antibiotic susceptibility and virulence factors of lactic acid bacteria of aquatic origin intended for use as probiotics in aquaculture. *BMC microbiology*, 13(1), 1.
- Nagpal, R., Kumar, A., Kumar, M., Behare, P. V., Jain, S., & Yadav, H.** (2012): Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review. *FEMS microbiology letters*, 334(1), 1-15.
- Naidu, AS, Biblack WR, and Clemens RA.** (1999): Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit. Revs. Food Sci. Nutr.*; 39: 13–126.
- Nancib, A., Nancib, N., Boubendir, A., & Boudrant, J.** (2015): The use of date waste for lactic acid production by a fed-batch culture using Lactobacillus casei subsp. rhamnosus. *Brazilian Journal of Microbiology*, (AHEAD), 00-00.
- Nayir, S. M.** (2008): Sütün yoğurda dönüşümü sırasında içerdiği feneolik antioksidan maddelere probiyotik bakteri etkisinin incelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi*.
- Nejati, F., & Oelschlaeger, T.** (2015): In vitro characterization of Lactococcus lactis strains isolated from Iranian traditional dairy products as a potential probiotic. *Applied Food Biotechnology*, 3(1), 43-51.

- Nicas, T. I., Cole, C. T., Preston, D. A., Schabel, A. A., & Nagarajan, R.** (1989): Activity of glycopeptides against vancomycin-resistant gram-positive bacteria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **33(9)**, 1477-1481.
- Novik, G. I., Samartsev, A. A., Astapovich, N. I., Kavrus, M. A., & Mikhalyuk, A. N.** (2006): Biological activity of probiotic microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*, **42(2)**, 166-172.
- Oelschlaeger, T. A.** (2010): Mechanisms of probiotic actions—a review. *International Journal of Medical Microbiology*, **300(1)**, 57-62.
- Okereke, H. C., Achi, O. K., Ekwenye, U. N., & Orji, F. A.** (2012): Antimicrobial properties of probiotic bacteria from various sources. *African Journal of Biotechnology*, **11(39)**, 9416-9421.
- Önal, D.** (2005): Bazı laktik asit bakterilerinin probiyotik özelliklerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*, 7-29
- Önal, D., Beyatlı, Y., & Aslım, B.** (2005): Probiyotik bakterilerin epitel yüzeylere yapışması. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, **3(9)**, 1-10.
- Otles, S. (Ed.).** (2013): Probiotics and prebiotics in food, nutrition and health. *CRC Press*
- Otles, S., & Cagindi, O.** (2003): Kefir: a probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*, **2(2)**, 54-59.
- Ouoba, L.I.I., Lei, V. and Jensen, L.B.** (2008): Resistance of potential probiotic lactic acid bacteria and Bifidobacteria of African and European origin to antimicrobials: Determination and transferability of the resistance genes to other bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **121**; 217–224.
- Ozden, A.** (2008): İnflamatuvar Barsak Hastalığında Probiyotiklerin Yeri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Güncel Gastroenteroloji* 12.
- Özteber, M.** (2013): Fermente süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin fenotipik ve genotipik yöntemlerle belirlenmesi (Master's thesis, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Pan, D. D., Zeng, X. Q., & Yan, Y. T.** (2011): Characterisation of *Lactobacillus fermentum* SM-7 isolated from koumiss, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **91(3)**, 512-518.
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Kotzekidou, P.** (2003): Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from a Greek Dry-Fermented Sausage in Respect of Their Technological and Probiotic Properties. *Meat Science*, **65**: 859-867.
- Patel, A., Prajapati, J. B., Holst, O., & 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.
- Patel, H. M., Pandiella, S. S., Wang, R. H., & Webb, C.** (2004): Influence of malt, wheat, and barley extracts on the bile tolerance of selected strains of lactobacilli. *Food microbiology*, **21(1)**, 83-89.
- Paul, W. O., Jakki, C. C.** (2008): Probiotic Bacteria Influence the Composition and Function of the Intestinal Microbiota. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 1-9.

- Phillips, M., Kailasapathy, K. and Tran, L.** (2006): Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 108(2): 276-280.
- Polewski, M. A., Krueger, C. G., Reed, J. D., & Leyer, G.** (2016): Ability of cranberry proanthocyanidins in combination with a probiotic formulation to inhibit in vitro invasion of gut epithelial cells by extra-intestinal pathogenic *E. coli*. *Journal of Functional Foods*, 25, 123-134.
- Prasad, J., Harsharanjit, G., Smart, J., Gopal, P.K.** (1998): Selection and characterization of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *International Dairy Journal*, 993-1002.
- Psoni, L., Kotzamanides, C., Andrighetto, C., Lombardi, A., Tzanetakis, N., & Litopoulou-Tzanetaki, E.** (2006): Genotypic and phenotypic heterogeneity in *Enterococcus* isolates from Batzos, a raw goat milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 109(1), 109-120.
- Ramirez-Chavarin, M. L., Wacher, C., Eslava-Campos, C. A., & Perez-Chabela, M. L.** (2013): Probiotic potential of thermotolerant lactic acid bacteria strains isolated from cooked meat products. *Int Food Res J*, 20(2), 991-1000.
- Ramos, C. L., Thorsen, L., Schwan, R. F., & Jespersen, L.** (2013): Strain-specific probiotics properties of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* isolates from Brazilian food products. *Food microbiology*, 36(1), 22-29.
- Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., & Baines, S. K.** (2014): Effect of dairy probiotic combinations on in vitro gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. *Journal of Functional Foods*, 8, 18-25.
- Reid, G., Bruce, A. W., McGroarty, J. A., Cheng, K. J., & Costerton, J. W.** (1990): Is there a role for lactobacilli in prevention of urogenital and intestinal infections?. *Clinical microbiology reviews*, 3(4), 335-344.
- Rifaat, E. A., Tekiner, İ. H., & Özpınar, H.** (2014): Halk Sağlığı Açısından İçme ve Kullanma Sularında Koliform ve Fekal Koliform Bakterilerin Varlıklarının Klasik ve MASS Spektrometresi Yöntemleriyle İncelenmesi. *Electronic Journal of Food Technologies*, 9(2), 20-32.
- Rodríguez-Couto, S., Sanromán, M.** (2006): Application of Solid-State Fermentation to Food Industry. *Journal of Food Engineering*, 76, 291-302.
- Rönkä, E., Malinen, E., Saarela, M., Rinta-Koski, M., Aarnikunnas, J., & Palva, A.** (2003): Probiotic and milk technological properties of *Lactobacillus brevis*. *International journal of food microbiology*, 83(1), 63-74.
- Roy, C., Foz, A., Segura, C., Tirado, M., Foster, C., & Reig, R.** (1983): Plasmid-determined β -lactamases identified in a group of 204 ampicillin-resistant *Enterobacteriaceae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 12(5), 507-510.
- Ruas-Madiedo, P., Gueimonde, M., Margolles, A., de los REYES-GAVILÁN, C. G., & Salminen, S.** (2006): Exopolysaccharides produced by probiotic strains modify the adhesion of probiotics and enteropathogens to human intestinal mucus. *Journal of food protection*, 69(8), 2011-2015.
- Rund, S. A., Rohde, H., Sonnenborn, U., & Oelschlaeger, T. A.** (2013): Antagonistic effects of probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 on EHEC

- strains of serotype O104: H4 and O157: H7. *International Journal of Medical Microbiology*, **303(1)**, 1-8.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T.** (2000): Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, **84**, 197-215.
- Salminen, S. E. P. P. O.** (1999): Probiotics: scientific support for use. *Food Technology*, **53(11)**, 66-77.
- Salminen, S., A. Ouwerhand, Y. Benno and Y.K. Lee.** (1999): Probiotics: how should they be defined? *Trends Food Sci. Technol.* **10**: 107–110.
- Samaha-Kfoury JN, Araj GF.** (2003): Recent development in β lactamases and extended spectrum β lactamases. *Br Med J*;327(7425):1209-13.
- Sanders, M. E.** (1998): Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, **8(5-6)**, 341-347.
- Sanni, A., Franz, C., Schillinger, U., Huch, M., Guigas, C., & Holzapfel, W.** (2013): Characterization and Technological Properties of Lactic Acid Bacteria in the Production of “Sorghurt,” a Cereal-Based Product. *Food biotechnology*, **27(2)**, 178-198.
- Santos, K. M. O. D., Vieira, A. D. S., Salles, H. O., Oliveira, J. D. S., Rocha, C. R. C., Borges, M. D. F., ... & Todorov, S. D.** (2015): Safety, beneficial and technological properties of *Enterococcus faecium* isolated from Brazilian cheeses. *Brazilian Journal of Microbiology*, **46(1)**, 237-249.
- Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalaki, M. D., Rea, M. C., Lombardi, A., Cogan, T. M., ... & Tsakalidou, E.** (2001): Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance. *International Dairy Journal*, **11(8)**, 621-647.
- Sarantinopoulos, P., Leroy, F., Leontopoulou, E., Georgalaki, M. D., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., & De Vuyst, L.** (2002): Bacteriocin production by *Enterococcus faecium* FAIR-E 198 in view of its application as adjunct starter in Greek Feta cheese making. *International Journal of Food Microbiology*, **72(1)**, 125-136.
- Schachtsiek, M., Hammes, W. P., & Hertel, C.** (2004): Characterization of *Lactobacillus coryniformis* DSM 20001T surface protein Cpf mediating coaggregation with and aggregation among pathogens. *Applied and environmental microbiology*, **70(12)**, 7078-7085.
- Semedo, T., Santos, M.A., Lopes, M.F.S., Figueiredo Marques, J.J., Barreto Crespo, M.T., Tenreiro, R.** (2003): Virulence factors in food, clinical and reference enterococci: a common trait in the genus? *Systematic and Applied Microbiology*, **26**, 13–22.
- Şengül, N., Aslim, B., Uçar, G., Yücel, N., Işık, S., Bozkurt, H., ... & Atalay, F.** (2006): Effects of exopolysaccharide-producing probiotic strains on experimental colitis in rats. *Diseases of the colon & rectum*, **49(2)**, 250-258.
- Shah, N. P.** (2001): Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food technology*.
- Sharma, P., Tomar, S. K., Goswami, P., Sangwan, V., & Singh, R.** (2014): Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Research International*, **57**, 176-195.
- Shiby, V. K., & Mishra, H. N.** (2013): Fermented milks and milk products as functional foods—A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, **53(5)**, 482-496.

- Sillanpää, J. (2001):** Tissue-adherence in lactic acid bacteria: Identification and characterization of the collagen-binding S-layer protein of *Lactobacillus crispatus*.
- Sirilun, S., Chaiyasut, C., Kantachote, D., & Luxananil, P. (2010):** Characterisation of non human origin probiotic *Lactobacillus plantarum* with cholesterol-lowering property. *African Journal of Microbiology Research*, **4(10)**, 994-1000.
- Sirot, D. (1995):** Extended-spectrum plasmid-mediated β -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **36(suppl A)**, 19-34.
- Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Sorrentino, E., Grazia, L., Pacifico, S., & Coppola, R. (2005):** Bile salt and acid tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *FEMS microbiology letters*, **244(1)**, 129-137.
- Swagerty, D. L., Walling, A. D., & Klein, R. M. (2002):** Lactose intolerance. *American family physician*, **65(9)**, 1845-1860.
- Tahri, K., Grill, J. P., & Schneider, F. (1997):** Involvement of trihydroxyconjugated bile salts in cholesterol assimilation by bifidobacteria. *Current microbiology*, **34(2)**, 79-84.
- Takeda, Y. (Ed.). (2011):** Probiotic Foods in Health and Disease. Science Publishers.
- Tall, B. D. (2016):** We are What We Eat: Should Food Microbiology Take the Lead on Understanding How the Homeostasis of the Gut Microbiome Influences Human Health And Disease?. In *IAFP 2016 Annual Meeting. Iafp*.
- Tamer, A.Ü., Uçar, F., Ünver, E., Karaboz, Ş., Bursalıoğlu, M. ve Oğultekin, R. (1989):** 3. ve 4. Sınıf Mikrobiyoloji Laboratuvar Kılavuzu, *Anadolu Üniversitesi, Eğitim Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı Yayınları, No. 74, Eskisehir*, 23-25, 240.
- Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., Swings, J. (2003):** Identification and antibioticsusceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *International Journal of Food Microbiology*, **81**: 1-10.
- Temmerman, R., Pot, B., Huys, G., Swings, J. (2010):** Identification and antibiotic Wang, L., "Efficient production of L-lactic acid from cassava powder by *Lactobacillus rhamnosus*. *Bioresour. Technol.* **101**: 7895–7901
- Tharmaraj, N. and Shah, N.P. (2003):** Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *Sreptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Propionibacteria*, *Journal Dairy Science*, **86**: 2288-2296.
- Thushara, R. M., Gangadaran, S., Solati, Z., & Moghadasian, M. H. (2016):** Cardiovascular benefits of probiotics: a review of experimental and clinical studies. *Food & function*, **7(2)**, 632-642.
- Tieking, M., Kaditzky, S., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2003):** Biodiversity and potential for baking applications of glycosyltransferases in lactobacilli for use in sourdough fermentation. Sourdough, from fundamentals to applications. *Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium*, 58-59.
- Tille PM (Ed.). (2014):** Overview of bacterial identification methods and strategies in Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. *13th ed., p. 193-231*
- Timmerman, H. M., Niers, L. E., Ridwan, B. U., Koning, C. J., Mulder, L., Akkermans, L. M., ... & Rijkers, G. T. (2007):** Design of a

- multispecies probiotic mixture to prevent infectious complications in critically ill patients. *Clinical Nutrition*, 26(4), 450-459.
- Timmerman, H.M., Koning, C.J.M., Mulder, L., Rombouts, F.M., Beynen, A.C.** (2004): Monostrain, multistain and multispecies probiotics- A comparison of functionality and efficacy. *International Journal of Food Microbiology*, 219– 233.
- Todorov, S. D., & Dicks, L. M. T.** (2006): Screening for bacteriocin-producing lactic acid bacteria from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria: Comparison of the bacteriocins. *Process Biochemistry*, 41(1), 11-19.
- Todorov, S. D., Botes, M., Danova, S. T., & Dicks, L. M. T.** (2007): Probiotic properties of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* HV219, isolated from human vaginal secretions. *Journal of Applied Microbiology*, 103(3), 629-639.
- Todorov, S. D., Botes, M., Guigas, C., Schillinger, U., Wiid, I., Wachsmann, M. B., ... & Dicks, L. M. T.** (2008): Boza, a natural source of probiotic lactic acid bacteria. *Journal of applied microbiology*, 104(2), 465-477.
- Torino, M. I., Taranto, M. P., Sesma, F., & De Valdez, G.** (2001): Heterofermentative pattern and exopolysaccharide production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15807 in response to environmental pH. *Journal of applied microbiology*, 91(5), 846-852.
- Toy, N.** (2010): Laktik asit bakterileri serbest hücre ekstraktlarının patojen bakterilerin gelişimine ve biyojenik amin üretimine etkisinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.*
- Tripathi, M. K., & Giri, S. K.** (2014): Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of functional foods*, 9, 225-241.
- Tsai, C. C., Chou, L. C., Tsen, H. Y., & Lin, J. S.** (2016): An in vitro Investigation of the Antagonistic Effects of Multiple Strains of Lactobacillales on *Salmonella Enterica* Serovar Choleraesuis. *Appli Micro Open Access*, 2(1000109), 2.
- Tunail, N.** (2009): Mikrobiyoloji. *Danone Enstitüsü Derneği, Ankara*, 434s.
- Tuomola, EM, Ouwehand AC, and Salminen SJ.** (1999): The effect of probiotic bacteria on the adhesion of pathogens to human intestinal mucus. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*;26: 137–142.
- Turabian, K. L.** (1996): A Manual for Writers of Term Papers, Theses, and Dissertations (*Chicago Guides to Writing, Editing, and Publishing*). University Of Chicago Press, April 1996.
- Turhan, İ.** (2012):Kaşar peyniri üretimi için Starter kültür izolasyonu ve izolatların FTIR spektroskopisi ile tanısının yapılması. (*Doctoral dissertation, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*).
- Tyvaert, G., Morel, C., Joly, J. P., Decaris, B., & Charron-Bourgoin, F.** (2006): The eps locus of *Streptococcus thermophilus* IP6756 is not involved in exopolysaccharide production. *International dairy journal*, 16(5), 467-473.
- Van de Castele, S., Vanheuverzwijn, T., Ruysen, T., Van Assche, P., Swings, J., & Huys, G.** (2006): Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yoghurt or cheese starters. *International Dairy Journal*, 16(12), 1470-1476.

- van Reenen, C. A., & Dicks, L. M.** (2011): Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities? *A review. Archives of microbiology*, **193(3)**, 157-168.
- Vasiljevic, T., & Shah, N. P.** (2008): Probiotics—from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, **18(7)**, 714-728.
- Vaughan, E. E., & Mollet, B.** (1999): Functionality of probiotics and intestinal lactobacilli: light in the intestinal tract tunnel. *Current Opinion in Biotechnology*, **10(5)**, 505-510.
- Vernazza, C. L., Gibson, G. R., & Rastall, R. A.** (2005): In vitro fermentation of chitosan derivatives by mixed cultures of human faecal bacteria. *Carbohydrate Polymers*, **60(4)**, 539-545.
- Vinderola, C. G., Prosello, W., Ghiberto, D., & Reinheimer, J. A.** (2000): Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian Fresco cheese. *Journal of Dairy Science*, **83(9)**, 1905-1911.
- Vinderola, C.G. and Reinheimer, J.A.** (2003): Lactic Acid Starter and Probiotic Bacteria: A Comparative “in vitro” Study of Probiotic Characteristics and Biological Barrier Resistance. *Food Research International*, **36**: 895-904
- Wang, L., Zhang, J., Guo, Z., Kwok, L., Ma, C., Zhang, W., ... & Zhang, H.** (2014): Effect of oral consumption of probiotic *Lactobacillus plantarum* P-8 on fecal microbiota, SIgA, SCFAs, and TBAs of adults of different ages. *Nutrition*, **30(7)**, 776-783.
- Wang, Y., Gänzle, M. G., & Schwab, C.** (2010): Exopolysaccharide synthesized by *Lactobacillus reuteri* decreases the ability of enterotoxigenic *Escherichia coli* to bind to porcine erythrocytes. *Applied and environmental microbiology*, **76(14)**, 4863-4866.
- Wang, Z. H., Gao, Q. Y., & Fang, J. Y.** (2013): Meta-analysis of the efficacy and safety of *Lactobacillus*-containing and *Bifidobacterium*-containing probiotic compound preparation in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Journal of clinical gastroenterology*, **47(1)**, 25-32.
- Wildman, R. E., Wildman, R., & Wallace, T. C. (Eds.).** (2016): Handbook of nutraceuticals and functional foods. *CRC press*.
- Wolin, M. J., Yerry, S., Miller, T. L., Zhang, Y., & Bank, S.** (1998): Changes in production of ethanol, acids and H₂ from glucose by the fecal flora of a 16-to 158-d-old breast-fed infant. *The Journal of nutrition*, **128(1)**, 85-90.
- Yadav, R., Puniya, A. K., & Shukla, P.** (2016): Probiotic Properties of *Lactobacillus plantarum* RYPR1 from an Indigenous Fermented Beverage Raabadi. *Frontiers in microbiology*, **7**.
- Yang, X., Hang, X., Zhang, M., Liu, X., & Yang, H.** (2015): Relationship between acid tolerance and cell membrane in *Bifidobacterium*, revealed by comparative analysis of acid-resistant derivatives and their parental strains grown in medium with and without Tween 80. *Applied microbiology and biotechnology*, **99(12)**, 5227-5236.
- Yaşar, B., & Kurdaş, O. Ö.** (2009): Probiyotikler ve gastrointestinal sistem. *Güncel Gastroenteroloji*, **13(1)**.
- Yetişmeyen, A.** (1995): Süt teknolojisi, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, **1420**: 1429
- Yiğit, T.** (2009): Süt ve Süt Ürünlerinden Probiyotik Bakterilerden İzolasyonu. *Anadolu Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir*.

- Yoon, M. Y., Kim, Y. J., & Hwang, H. J.** (2008): Properties and safety aspects of *Enterococcus faecium* strains isolated from Chungkukjang, a fermented soy product. *LWT-Food Science and Technology*, **41(5)**, 925-933.
- Yuksekdag, Z. N., & Aslim, B.** (2010): Assessment of potential probiotic-and starter properties of *Pediococcus* spp. isolated from Turkish-type fermented sausages (sucuk). *J Microbiol Biotechnol*, **20(1)**, 161-168.
- Zheng, Y., Lu, Y., Wang, J., Yang, L., Pan, C., & Huang, Y.** (2013): Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from Tibetan kefir grains. *PloS one*, **8(7)**, e69868.



ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı: Murat DOĞAN
İletişim Bilgileri

E-Posta : muratdogan72@gmail.com / murat.dogan@yeniuyuzyl.edu.tr

Doğum Tarihi: 11.02.1972

Ünvanı: Öğretim Görevlisi

Öğrenim Durumu:

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Gıda Mühendisliği	Gaziantep Üniversitesi	1998
Lisans	İşletme	Anadolu Üniversitesi	2006
Yüksek Lisans	Biyoloji	Fatih Üniversitesi	2011
Doktora	Gıda Mühendisliği	İstanbul Aydın Üniversitesi	2017
Doktora	Yönetim ve Strateji	İstanbul Üniversitesi	Devam

Ulusal hakemli dergilerinde yayınlanan makaleler

- DOĞAN, M. (2012). Probiyotik Bakterilerin Gastrointestinal Sistemdeki Etki Mekanizması. *Electronic Journal of Food Technologies*, 7(1), 20-27.
- DOĞAN, M. (2011). Probiyotik bakterilerin etki mekanizması. *Anadolu Bil Meslek Yüksek Okulu Dergisi*,

Projeler

- Gıdaların muhafazası amacıyla "biyokonservasyon" doğal nisin bacteriosinin endüstriyel olarak *Lactococcus lactis* bakterisinden üretilmesi,(Tübitak-Teydep, 2016)
- Fonksiyonel Gıda Destekleyici Olarak Probiyotik Bakterilerin Üretilmesi ,(Tübitak-Teydep, 2014)

- Yöresel Boza Üretimi Yapan İşletmelere ISO 22000-2005 ve HACCP Sisteminin Kurulması ,(Önder Bozacısı,2012)
- Kefirin İnsan Bağışıklık Sistemini Geliştirmesi Yönünde İn Vivo Çalışma,(Haliç Üniversitesi,2011)
- Probiyotik Bakterilerin Allerji Üzerine Etkilerin Meta-Analiz Yöntemiyle Araştırılması ,(Fatih Üniversitesi,2010)
- Gıda Firmalarında HACCP Sisteminin Kuruluşundaki Zorlukları Minimize Edilme Çalışması,(Küçükler Holding,2010)
- Catering Firmalarının Menü Listelerine Yeni ve Özgün Yemek ve Tatlı Çeşidi Kazandırma Çalışmaları,(Küçükler Holding,2009)
- Türk Tüketicisine Yönelik Beslenme İlkelerine Uygun Yemek Menülerinin Oluşturulması (Küçükler Holding,2008)
- Swoot Analiz Yönteminin Gıda Firmalarında Uygulanması,(Küçükler Holding, 2007)
- Modifiye Atmosfer Altında Gıda Paketlemede Farklı Atmosfer Kullanım Sonuçlarının Tespiti,(Uno-Due-Tre Makarna,2006)
- Gıda Koruyucusu Kullanmadan Paketlenmiş Taze Makarnanın Raf Ömrünün Artırma Çalışmaları,(Uno-Due-Tre Makarna,2005)
- Türk Tüketici Damak Tadına Uygun İtalyan Tarzı Makarnaların (tortellini, ravioli vd.) Üretimi İçin Araştırma – Geliştirme Çalışmaları (Uno-Due-Tre Makarna,2004)

Görevler

- **Öğretim Görevlisi, İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 2015-**
- **Öğretim Görevlisi, Haliç Üniversitesi,2011-2015**
- **Operasyon Bölge Müdürü, Küçükler Holding A.Ş.,2007-2011**
Operasyon Sorumluluğu, Personel Sevk ve İdaresi, Projelerin Üretim ve Hizmetinin Sağlanması, Müşteri İlişkileri, ISO 22000, ISO 9001,ISO 14001 ve OHSAS 18001 Sistem Kuruluşu, İşçi Sağlığı ve İş Güvenliği Çalışmaları
- **Üretim Müdürü Depar Pazarlama Sanayi ve Ticaret A.Ş.,2003 – 2007**
Üretim ve Personel Sorumluluğu, Fabrika Kuruluşu, Makine ve Ekipman Yerleşimi, Üretim Proseslerinin Hazırlanması, Ürünlerin Oluşturulması, Üretim İzinlerinin Alınması, Araştırma-Geliştirme Çalışmaları
- **Üretim Sorumlusu, Platin Gıda ve Pazarlama Dağ. San. Tic. A.Ş.,2000 – 2003**
Üretim Sorumluluğu, Üretim Planlaması, ISO 9001 – 2000, HACCP Belgelendirme, Uygulama ve Laboratuar Çalışması
- **İşletme Müdür Yrd., Sun Catering Gıda Turizm Org. ve Tic. Ltd. Şti,1998 – 2000**
Üretim ve Personel Sorumluluğu, Üretim Planlaması, Kalite, Hijyen

Danışmalıklar –Yarı zamanlı

- **Kalite ve Yönetim Danışmanı, Muhtelif Gıda ve Diğer Sektör Firmaları,2007-2011**
İş Sağlığı ve Güvenliği Çalışmaları,Gıda Güvenliği Çalışmaları,Sistem Belgelendirme Çalışmaları(ISO 9001,ISO 22000,ISO 14001,OHSAS 18001)
- **Üretim Danışmanı, Catering, Unlu Mamuller, Şekerleme ve Lokum, Sakız Firmaları,2003 – 2007**
Üretim Optimizasyonu, Üretim İzinlerinin Alınması, Kalite Sistem Çalışması
- **İngilizce Öğretmeni, Arnavutköy Endüstri Meslek Lisesi İstanbul,2003 – 2004**
- **Kalite Yönetim Danışmanı, Emin Pastaneleri, 2000 – 2003**
ISO 9001 ve HACCP Danışmanlığı

Verilen Seminerler

- Gastronomi , (Enka Okulları),2012
- Gıda Güvenliği,(Özel İtalyan Lisesi),2011
- Temel İş Sağlığı ve Güvenliği Eğitimi,(CarrefourSA, Medical Park Has., LCW,Coca-Cola ,Ekol Ofset ve Sinbo,Holiday Inn Otel,Grand Star Otel),2010-2013
- Gıda Teknolojisi ve Gıda Güvenliği,(Fatih Üniversitesi, Binotek Kulübü),2009

Seminer ve Sempozyum Katılımı

- Çölyakla Yaşam ve Glutensiz Beslenme, Açılış konuşması ve konuşmacı ,(İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi),2016
- Bariatrik Cerrahide Multidisipliner Yaklaşımlar, (İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi),2016
- İnovatif Girişimcilik Kursu, (İstanbul Üniversitesi) ,2016
- Gıda, Metabolizma ve Sağlık: Biyoaktif Bileşenler ve Doğal Katkılar Kongresi ,(İstanbul Teknik Üniversitesi),2016
- Klinik Beslenme Günleri I,Beslenme ve Moleküler Mekanizmalar ,(Biruni Üniversitesi),2016
- Beyazıt Yönetim Zirvesi '16, Geleceğin Finansı, (İstanbul Üniversitesi) ,2016
- Yöneticiler için Karar Alma Teknikleri Konferansı, (İstanbul Üniversitesi) ,2016
- Girişimcilik ve İnovasyon Semineri, (İstanbul Aydın Üniversitesi) ,2016
- III. Satınalma ve Tedarik Zinciri Yönetimi Konferansı,(İstanbul Üniversitesi),2015
- Kültür ve Edebiyat Sempozyumu , (Özel Amerikan Robert Lisesi) ,2015
- Bilimsel Araştırma Yöntemleri, (İstanbul Aydın Üniversitesi) ,2015
- Gıda Mühendisliği 6.Öğrenci Kongresi, (İstanbul Aydın Üniversitesi) ,2015
- İş Sağlığı ve Güvenliği Seminer Programı, (İş Sağlığı ve Güvenliği Profesyonelleri Derneği) ,2015
- Gıda Müşavirliği Sertifika Programı, (Gıda Mühendisleri Odası) ,2014
- Uygulamalı Yangın Eğitimi , (Mehmet Balbaloğlu) ,2013
- ISO 10002:2004 Müşteri Şikâyetleri Yönetim Sistemi Bilgilendirme Semineri , (TMMOB Gıda Mühendisleri Odası İstanbul Şubesi) ,2013
- Food Defense Semineri 2012, (Yıldız Holding Danışmanı, Cumhur Ertem) ,2012
- Yaşam Bilimlerinde Multidisipliner Ar-Ge ve İnovasyon Sempozyumu 2012, (İÜGEN) ,2012
- GDO 2012 Sempozyumu, (İstanbul Üniveritesi , BİYOGEM) ,2012
- ISO 22000:2005, Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi Eğitimi (Dan Stefanescu) ,2012
- ISO 14001, Çevre Yönetim Sistemi İç Denetçi Eğitimi (Fıratlı İnal) ,2011
- CRM, Müşteri İlişkileri Yönetimi ve Rekabet Gücüne Etkisi (Doç.Dr. Hüseyin Kanbir) ,2011
- ISO 9001:2008 Kalite Yönetim Sistemi İç Denetçi Eğitimi (Sistemer Bel.) ,2011
- Patent Stratejileri ve TRIZ (Prof.Dr. Ruhi Kaykayoğlu) ,2011
- AB'ye Uyum Sürecinde İş Sağlığı ve Güvenliği Esasları Eğitimi (Fıratlı İnal) ,2011
- İş Güvenliği Uzmanlığı (Çalışma Sosyal Güvenlik Bakanlığı, C Sınıfı) ,2010
- 1.Gıda Güvenliği Kongresi, 2009
- Liderlik ve Yöneticilik Eğitimi,(Onur Hınçer) ,2008
- NLP Eğitimi,(Oğuz Saygın) ,2008
- Kişisel Gelişim Eğitimi,(Fast Forward Training) ,2007
- Girişimcilik Eğitimi,(Fortune Danışmanlık) ,2004
- HACCP Eğitimi,(World Certification Service) ,2004

Son iki yılda verdiği dersler

Akademik Yıl	Dönem	Dersin Adı	Haftalık Saati		Öğrenci Sayısı
			Teorik	Uygulama	
2015-2016	Güz	Food Chemistry and Analysis	3	2	44
2015-2016	Güz	Food Service Management	3		41
2015-2016	Güz	Biostatistics and Research Tec.	3		41
2015-2016	Güz	Beslenmeye Giriş	2		70
2015-2016	Bahar	Sağlıklı Beslenme	3		25
2015-2016	Bahar	Food Micr. and Food Safety	2	2	44
2015-2016	Bahar	Quality Systems	2		41
2015-2016	Bahar	Introduction to Food Services	3		44
2015-2016	Bahar	Public Health Training		8	41
2016-2017	Güz	Food Chemistry and Analysis	3	3	12
2016-2017	Güz	Food Sanitation	3		43
2016-2017	Güz	Scientific Research Met	3		43
2016-2017	Güz	Beslenmeye Giriş	2		114
2016-2017	Bahar	Food Micr. and Food Safety	2	2	13
2016-2017	Bahar	Quality Systems	2	2	42
2016-2017	Bahar	Food Service Management	3		13
2016-2017	Bahar	Public Health Training		8	42
2016-2017	Bahar	Stratejik Yönetim	2		26