OTANSİYEL PROBİYOTİK *Lactiplantibacillus plantarum* İZOLATLARININ GIDA GÜVENLİĞİNİN ve TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Şeymanur GÜVEN

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

2025

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

POTANSİYEL PROBİYOTİK *Lactiplantibacillus plantarum* İZOLATLARININ GIDA GÜVENLİĞİNİN ve TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

(Determination of Food Safety and Technological Properties of Potential Probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* Isolates**)**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şeymanur GÜVEN

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Erzurum

Temmuz, 2025

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Natural and Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü
TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

POTANSİYEL PROBİYOTİK *Lactiplantibacillus plantarum* İZOLATLARININ GIDA GÜVENLİĞİNİN ve TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL danışmanlığında, Şeymanur GÜVEN tarafından hazırlanan bu çalışma, 27/06/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji ve Genetik Bilim Dalı'nda Yüksek lisans tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Hayrunnisa NADAROĞLU *Atatürk Üniversitesi*	Aslı ıslak imzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL *Atatürk Üniversitesi*	Aslı ıslak imzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Burak ALAYLAR *Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi*	Aslı ıslak imzalıdır

Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve …… sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Aslı ıslak imzalıdır

Prof.Dr. Alper NUHOĞLU

Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Graduate School of Natural and Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak *Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL* danışmanlığında sunulan "POTANSİYEL PROBİYOTİK Lactiplantibacillus plantarum İZOLATLARININ GIDA GÜVENLİĞİNİN ve TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ" başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	**Tezin Benzerlik Oranı (%)**	**Maksimum Oran (%)**
Giriş	*2*	**30**
Kuramsal Temeller	*1*	**30**
Materyal ve Metot	*28*	**35**
Araştırma Bulguları ve Tartışma	*0*	**20**
Sonuçlar ve Öneriler	*0*	**20**
Tezin Geneli	*11*	**25**

Not: *Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının* ***%5'den*** *büyük olmaması gerekir.*

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	**Tez Danışmanı**
Şeymanur GÜVEN	Prof. Ahmet ADIGÜZEL
27.6.2025	**27.6.2025**
İmza: Aslı ıslak imzalıdır	İmza: Aslı ıslak imzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

Not: Bu form, Tezin son şekline uygun olarak bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tezin sonuna eklenmelidir.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi, deneyim ve akademik birikimiyle bana yol gösteren, sadece bilimsel yönümün değil aynı zamanda düşünsel gelişimimin de şekillenmesinde büyük katkı sağlayan çok kıymetli danışmanım Sayın Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, desteklerini hiç esirgemeyen, kıymetli eşi Sayın Prof. Dr. Gülşah ÇANAKÇI ADIGÜZEL'e de teşekkürlerimi iletmek isterim.

Tezimin her aşamasında, özellikle laboratuvar çalışmaları ve yazım sürecinde bilgi, destek ve teşvikleriyle süreci benim için daha verimli ve anlamlı hale getiren değerli hocam Arş. Gör. Dr. Sümeyye AKBULUT'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Kendisiyle yaptığım her görüşme hem bilimsel hem de kişisel olarak gelişimime katkı sağlamış, bu süreci daha az stresli ve çok daha öğretici kılmıştır.

Çalışmam boyunca farklı zamanlarda bilgi ve fikirlerini benimle cömertçe paylaşarak katkıda bulunan, yönlendirici yaklaşımları ve yapıcı geri bildirimleri ile yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Mustafa Özkan BALTACI'ya, Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Akif ÖMEROĞLU'na ve Arş. Gör. Dr. Şeyda ALBAYRAK'a da ayrı ayrı teşekkür ederim.

Bu yolculukta yalnızca akademik değil, duygusal ve insani anlamda da yanımda olan, desteğini ve dostluğunu hiçbir zaman esirgemeyen bu süreci daha katlanılır kılan sevgili arkadaşlarım Bircan SUS ve Narmin KARİMOVA'ya gönülden teşekkür ederim

Evlatları olmaktan gurur duyduğum, varlıkları ve dualarıyla beni desteklemekten bir an olsun vazgeçmeyen, hayattaki duruşları ile beni bugünlere kadar taşıyan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans tezi olarak sunulan bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından FYL-2024-13369 nolu Yüksek Lisans Tez Projesi kapsamında alınan destek ile Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalına da yapılmıştır teşekkürlerimi sunarım.

Şeymanur GÜVEN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POTANSİYEL PROBİYOTİK *Lactiplantibacillus plantarum* İZOLATLARININ GIDA GÜVENLİĞİNİN ve TEKNOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Şeymanur GÜVEN

Danışman: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Amaç: Tez çalışmasında, Erzurum çevre ilçe ve köylerinden temin edilen çiğ süt örneklerinden *Lactiplantibacillus plantarum* suşlarının izolasyonu, probiyotik, gıda güvenliği ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi, potansiyel probiyotik suşların eldesi amaçlanmaktadır.

Yöntem: Planlanan tez çalışması kapsamında; izole edilen *Lpb. plantarum* izolatlarının ilk olarak fenotipik ve morfolojik karakterizasyonu gerçekleştirildi. *Lpb. plantarum* izolatlarının; hücre yüzey hidrofobisitesi, düşük pH, simüle edilmiş gastrik ve bağırsak suyuna, antibiyotik duyarlılığına, jelatinaz, hemolitik ve antimikrobiyal aktivitesine, biyofilm oluşumu gibi faktörlere bakılarak, gıda güvenliği parametrelerine uygun suşlar ile çalışmaya devam edildi. Katalaz, lipolitik, proteolitik, antioksidant ve enzimatik aktivite, asitleştirme yeteneği incelendi ve teknolojik özellik bakımından umut vaat eden suşlar seçildi. Tüm bu metotların uygulanması sonucunda, elde edilecek verilerle, en etkin probiyotik potansiyele sahip *Lpb. plantarum* türüne ait seçimi gerçekleştirildi.

Bulgular: Çiğ süt örneklerinden 163 bakteri izole edilerek, katalaz, oksidaz negatif ve Gram pozitif olan 43 izolat seçildi. Seçilen 43 izolat spesifik PCR uygulaması sonucunda, 21 tanesinin *Lpb. plantarum* olduğu tespit edildi. Elde 21 adet *Lpb. plantarum* suşundan 8 tanesinin, düşük pH koşullarına, gastrointestinsal sisteme (GIS) direnç gösterdiği, hücre yüzey hidrofobisine sahip olduğu; gıda güvenliği deneylerinde ise 8 izolatın pozitif sonuç verdiği ve bunlardan tanesinin de en iyi teknolojik özelliğe sahip olduğu gözlemlendi.

Sonuçlar: Yapılan deneyler sonucunda, probiyotik potansiyeli en yüksek olan izolatlar SG2, SG3, SG4 ve SG9 olarak belirlendi. Elde edilen veriler, ileride gerçekleştirilecek probiyotik karakterizasyon, fonksiyonel ürün geliştirme ve uygulama çalışmalar için bilimsel bir temel oluşturacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: LAB, Probiyotik, Gıda Güvenliği, Teknoloji, *Lactiplantibacillus plantarum*

Temmuz 2025, 67 sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

DETERMINATION OF FOOD SAFETY AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF POTENTIAL PROBIOTIC *Lactiplantibacillus plantarum* ISOLATES

Şeymanur GÜVEN

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet ADIGÜZEL

Objective: The aim of this thesis is to isolate *Lactiplantibacillus plantarum* strains from raw milk samples obtained from the surrounding districts and villages of Erzurum, to determine their probiotic, food safety and technological properties, and to obtain potential probiotic strains.

Method: As part of the planned thesis study, the initial phenotypic and morphological characterization of the isolated *Lpb. plantarum* strains was performed. Factors such as cell surface hydrophobicity, low pH, simulated gastric and intestinal juice, antibiotic susceptibility, gelatinase, hemolytic and antimicrobial activity, and biofilm formation were examined, and the study continued with strains that met food safety parameters. Catalase, lipolytic, proteolytic, antioxidant, and enzymatic activity, as well as acidification capacity, were examined, and promising strains were selected in terms of technological properties. Based on the data obtained from the application of all these methods, the *Lpb. plantarum* strain with the most effective probiotic potential was selected.

Results: A total of 163 bacteria were isolated from raw milk samples, and 43 were selected that were catalase-negative, oxidase-negative, and Gram-positive. Specific PCR assays were performed on these 43 isolates, identifying 21 as *Lpb. plantarum*. Eight of the 21 *Lpb. plantarum* strains were observed to be resistant to low pH conditions and the gastrointestinal tract (GIS), exhibited cell surface hydrophobicity, and eight isolates tested positive in food safety experiments, with one of these having the best technological properties.

Conclusion: As a result of the experiments, the isolates with the highest probiotic potential were identified as SG2, SG3, SG4, and SG9. The data obtained are expected to provide a scientific basis for future probiotic characterization, functional product development, and application studies.

Keywords: LAB, Probiotic, Food Safety, Technology, *Lactiplantibacillus plantarum*

June 2025, 67 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU ii
TEŞEKKÜR iii
ÖZET iv
ABSTRACT v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR DİZİNİ ix
ŞEKİLLER DİZİNİ x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xi
GİRİŞ 1
KURAMSAL TEMELLER 3
Laktik Asit Bakterileri 3
Lactiplantibacillus plantarum 4
Probiyotik 4
Gıda Güvenliği 5
Teknolojik Özellikler 6
Gastrointestinal Sistem Koşullarına Direnç 7
Hücre Yüzey Hidrofobisi 7
Antibiyotik Duyarlılığı 8
Hemolitik Aktivite 9
Antibakteriyel Aktivite 10
Biyofilm Oluşumu 11
Jelatinaz Aktivitesi 12
Lipolitik ve Proteolitik Aktivite 13
Asitleştirme Yeteneği 14
Antioksidan Aktivite 15
β-Galaktozidaz ve Enzimatik Aktivitesi 16
Düşük pH Direnci 17
MATERYAL VE METOT 18
Materyal 18
Kullanılan kimyasallar 18

Kullanılan materyaller ve cihazlar 19
Metot 20
Örneklerin toplanması 20
Laktik asit bakterilerinin izolasyonu 20
Laktik asit bakteri izolatlarının fenotipik karakterizasyonu 21
Test izolatlarının genomik DNA'larının izolasyonu 21
Spesifik ve 16S rRNA PCR analizi 21
PCR ürünlerinin jel elektroforezi 22
DNA dizi analiz sonuçlarının işlenmesi 23
Sonuçların Değerlendirilmesi 23
Lactiplantibacillus plantarum Suşlarının Probiyotik Analizi 23
Düşük pH direnci 23
Simüle edilmiş gastrointestinal sistem koşullarına direnç 23
Hücre yüzey hidrofobisitesi 24
Lactiplantibacillus plantarum Suşlarının Gıda Güvenliği 24
Antibiyotik duyarlılığı 24
Hemolitik aktivitelerinin değerlendirilmesi 25
Antibakteriyel aktivite değerlendirilmesi 25
Biofilm oluşumunun değerlendirilmesi 25
Jelatinaz aktivitesinin değerlendirilmesi 26
Lactiplantibacillus plantarum 'un Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi 26
msa ve *bsh* Gen Varlığının PCR metodu ile belirlenmesi 26
Lipolitik aktivitenin değerlendirilmesi 27
Proteolitik aktivitenin değerlendirilmesi 27
Asitleştirme yeteneğinin değerlendirilmesi 28
Antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi 28
ß-Galaktosidaz ve enzimatik aktivitelerin değerlendirilmesi 28
ARAŞTIRMA BULGULARI 29
Örnek Toplanması ve Bakteri İzolasyonu 29
Bakterilerin Fenotipik Karakterizasyonu 29
Seçilen İzolatların Moleküler Yöntemlerle Tanılarının Yapılması 29
Lactiplantibacillus plantarum Suşlarının Probiyotik Analizi 29
Düşük pH direnci 29
Simüle edilmiş gastrik ve bağırsak suyuna direnç 30
Hücre yüzeyi hidrofobiklik deneyi 31

Lactiplantibacillus plantarum'un Gıda Güvenliği 31
Antibiyotik duyarlılığı 31
Antibakteriyel aktivite 32
Hemolitik aktivite 34
Biyofilm oluşumu 34
Jelatinaz aktivitesi 35
Lactiplantibacillus plantarum Suşlarının Teknolojik Özellikleri 35
Asitleştirme yeteneği 35
Proteolitik ve lipolitik aktivite 36
msa ve *bsh* gen varlığının belirlenmesi 37
Antioksidan aktivite 37
ß-galaktozidaz enzim aktivitesi 38
SONUÇ VE TARTIŞMA 39
Sonuçlar ve Öneriler 44
KAYNAKLAR 46
ÖZGEÇMİŞ 54

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Tez Dahilinde Kullanılan Kimyasallar, Besiyerleri ve Kitler 18
Tablo 2. Tez Dahilinde Kullanılan Materyal ve Cihazlar 19
Tablo 3. 16S rRNA PCR İşleminde Kullanılan Reaktifler, Yoğunluk ve Miktarları 22
Tablo 4. msa ve bsh PCR İşleminde Kullanılan Reaktiflerin Yoğunluk ve Miktarları 27
Tablo 5. Elde Edilen Suşların pH 3'e Karşı Gösterdikleri Direnç CFU/ml Cinsinden Değerleri 29
Tablo 6. Elde Edilen Suşların pH 2'ye Karşı Gösterdikleri Direnç CFU/ml Cinsinden Değerleri 30
Tablo 7. Simüle Edilmiş Gastrik ve Bağırsak Suyuna İzolatlarının Direnci 30
Tablo 8. *Lpb. plantarum* Suşlarının Hücre Yüzey Hidrofobi Yüzdesi 31
Tablo 9. *Lpb. plantarum* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları 32
Tablo 10. *Lpb. plantarum* Suşlarının Gıda Patojenleri Üzerindeki Antibakteriyel Aktivitesi 33

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Biyofilm oluşum mekanizması 12
Şekil 2. Laktik asit oluşum reaksiyonu 14
Şekil 3. Laktik asit bakterileri antioksidan mekanizması 16
Şekil 4. A) *Lpb.plantarum* SG9 suşunun pepsin direnci; B) *Lpb.plantarum* SG3 suşunun pankreatin ve safra direnci 30
Şekil 5. *Lpb. plantarum* suşlarının hücre yüzey hidrofobisite yüzde gösterimi 31
Şekil 6. *Lpb. plantarum* SG3'ün kullanılan antibiyotiklere karşı meydana getirdiği inhibisyon zon bölgeleri 32
Şekil 7. *Y. enterocolitica* ATCC 27729 standart suşuna karşı *Lpb. plantarum* SG4, SG5 ve SG6 suşlarının etki ettiği inhibisyon zon bölgeleri 33
Şekil 8. A) *Lpb. plantarum* SG2, SG3, SG4 ve negatif kontrol *Lpb. plantarum* ATCC 8014 suşları gama hemolitik aktivite; B) Pozitif kontrol *S. aureus* ATCC 25923 34
Şekil 9. A) *Lpb.plantarum* biyofilm negatif suşları; B) biyofilm pozitif olan *S.aureus* ATCC 25923 standart suşu 35
Şekil 10. *Lpb. plantarum* suşlarının asitleştirme yeteneği 36
Şekil 11. *Lpb. plantarum* suşlarının asitleştirme yeteneği deneyinde 0, 6 ve 24. saatte meydana getirdikleri pH farkları 36
Şekil 12. A) *Lpb.plantarum* SG2, SG3. SG4, *Lpb. plantarum* ATCC 8014 ve SG9 suşlarının *msa* gen varlığının jel elektroforez görüntüsü; B) *Lpb.plantarum* SG2, SG3. SG4, *Lpb. plantarum* ATCC 8014 ve SG9 suşlarının *bsh* gen varlığının jel elektroforez görüntüsü 37
Şekil 13. *Lpb. plantarum* suşlarının antioksidan aktivite deney sonuçları 38
Şekil 14. *Lpb. plantarum* SG2 ve SG9 suşlarının ß-galaktozidaz aktivitesinin değerlendirilmesi 38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

BSH : Safra tuzu hidrolazı
CRA : Congo Red Agar
DNA : Deoksirioboz nükleik asit
DPPH : 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikalİ
EPS : Ekzopolisakkarit
GIS : Gastrointestinal sitem
GRAS : Generally Recognized As Safe
LAB : Laktik Asit Bakterileri
MSA : Mannoz spesifik adhezi
NA : Nutrient agar
NaCl : Sodyum klorür
QPS : Qualified Presumption of Safety
RNA : Riboz nükleik asit
TSA : Tripton soy agar

Simgeler

% : Yüzde
µL : Mikrolitre
^{0}C : Santigrat derece
bç : Baz çifti
dk : Dakika
g : Gram
mg : Miligram
mL : Mililitre
ng : Nanogram
s : Saniye

GİRİŞ

Laktik asit bakterileri (LAB), öncelikle gıda endüstrisi olmak üzere; sağlık, ilaç ve tarım gibi birçok alanda sıklıkla kullanılmaktadırlar. LAB, Gram pozitif, fakültatif anaerob, katalaz negatif ve basil/kok morfolojisine sahip mikroorganizmalardır. LAB'lar karbonhidratları kullanarak laktik asit sentezi yapmaktadırlar. Ayrıca bu özellikleri sayesinde fermente ürünlerin üretiminde büyük rol oynamaktadırlar. Fermente gıdalar içerisinde bulunan *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus* ve *Levilactobacillus* gibi çeşitli probiyotik mikroorganizmalar, konak canlının sağlığı üzerinde birçok etkisi vardır. Bu etkilerini sentezledikleri; peptitler, vitaminler, mineraller, laktik asit, kısa zincirli yağ asitleri, konjuge linoleik asitler, bakteriyosinler ve ekzopolisakkaritler gibi metabolitler tarafından sağlanmaktadır (Wang *et al.* 2025). Probiyotik, konak canlı tarafından belirli bir miktarda alındığı zaman sağlığı üzerinde pozitif etkisi olan mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Latince pro ve Yunan bios kelimelerinden üretilen bu kelime ilk olarak 1954 yılında kullanılmıştır. Probiyotik mikroorganizmaların keşfinden sonra, sindirim ve metabolik bozukluklar gibi hastalıkları tedavi etmek veya önlemek için kullanılabileceği anlaşılmıştır (Palestino *et al.* 2025).

LAB'lar, endüstriyel süreçlerde faydalı, asit ve safraya toleranslı, antimikrobiyal metabolitler üretebildikleri için genel olarak güvenli (GRAS) olarak tanımlanmaktadırlar. Bu nedenle, LAB cinslerinin probiyotik potansiyellerini belirlemek için bireysel değerlendirme ve incelemeye tabii tutulmalıdır. LAB, laktik asit sentezi, safra toleransı, asitleştirme yeteneği, antioksidan, antibakteriyel, lipolitik ve proteolitik aktivite gibi birçok hayati metabolik özelliğe sahiptir. LAB'lar bu spesifik metabolik yolakları ve yetenekleri açısından tür düzeyinde hatta aynı türün farklı suşları arasında bile farklılık göstermektedir. Diğer yandan LAB'lar fermente gıda ürünlerinin, organoleptik özelliklerini artıran, raf ömrünü uzatan ve patojen mikroorganizmalara karşı koruyan potansiyel bir bakteri grubudur. Bu özellikleri sayesinde gıda endüstrisinde önemli bir yer tutmaktadırlar. Fermente gıdalarda doğal olarak bulunan bu mikroorganizmalar, konak canlı tarafından vücuda alındıkları zaman, bağışıklık sistemini düzenleyerek bağırsak mikroflorasını denge de tutar (Hakim *et al.* 2023).

Son yıllarda yapılan çalışmaların sonuçları değerlendirilmesi ile probiyotikler; hiperkolesterolemi, kanser, hiperlipidemi, hiperglisemi, hipertansiyon gastrointestinal ve kardiyovasküler rahatsızlıkların klinik durumlarını hafiflettiği belirlenmiştir (Tabias *et al.* 2025). *Lactiplantibacilus*, LAB grubunun potansiyel probiyotik adayı olarak kabul

edilmektedir ayrıca bu cins içerisinde *Lactiplantibacillus plantarum* türü, insanlar için yararlı bir mikroorganizma olduğu yapılan çalışmalarla kabul edilmektedir. Örneğin *Lpb.plantarum* Y8''in kanseri önleyici etkilere sahip olduğu ve ağız kanserinin tedavisinde iyi bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir (Zhang *et al.* 2024).

Lpb. plantarum, probiyotik ve başlatıcı kültür olarak kullanımı nedeniyle gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan umut vadeden LAB türlerinden birisidir. İnsan gıdalarında güvenli uygulama geçmişi nedeniyle, *Lpb. plantarum,* Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi'nin (QPS) önerilerine dahil edilmiştir. *Lpb. plantarum,* insan ve diğer memeli sindirim sisteminde, insan sütünde, tükürüğünde ve çok sayıda gıda ürününde bulunan çubuk şeklinde en önemli Gram pozitif laktik asit bakterilerinden birisidir. Katalaz negatif, spor oluşturmayan ve genellikle mikroaerofilik bakterilerdir. Asidik koşullara da dirençlidirler, heterofermentatif laktobasiller grubuna aittirler ve gıda endüstrisinde yaygın olarak başlatıcı kültür ve koruyucu olarak kullanılırlar. Düşük tampon kapasitesine, safra tuzlarının varlığına ve gastrointestinal sistemde düşük pH'a rağmen, *Lpb. plantarum* direnç ve gelişim göstermektedirler. Diğer özellikleri arasında fermente gıdaların lezzetini ve dokusunu 15 ile 45 ℃ arasındaki sıcaklıklarda koruması yer alır.

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için çeşitli temel kriterleri karşılaması gerekmektedir. Öncelikle, mide asidi ve safra tuzları gibi gastrointestinal sistemin olumsuz çevresel koşullarına karşı direnç gösterebilmeli, bu sayede canlılığını sürdürebilmelidir. Ayrıca, konakçının intestinal epitel hücrelerine adezyon yeteneğine sahip olması, geçici de olsa bağırsak mikroflorasında kolonize olmasını sağlayarak etkinliğini artırmaktadır. Probiyotik suşlar, patojen mikroorganizmalarla rekabet ederek onların bağırsak mikroflorasında bağlanmasını ve çoğalmasını engelleyebilmeli, antibakteriyel bileşikler sentezleyerek mikrobiyal dengeyi koruyabilmelidir ve bunun yanında, konakçının bağışıklık sistemini modüle edebilme kapasitesi de önemli bir fonksiyonel özelliktir. Toksin üretmeyen, genetik açıdan stabil olan ve GRAS (Generally Recognized As Safe) ve QPS (Qualified Presumption of Safety) güvenlik statülerine sahip mikroorganizmalar, probiyotik olarak kullanım açısından uygun kabul edilmektedir. Tüm bu özellikler, probiyotik suşların hem etkinliğini hem de güvenliğini belirlemede temel alınan bilimsel kriterlerdir.

KURAMSAL TEMELLER

Laktik Asit Bakterileri

LAB morfolojik ve fizyolojik olarak; gram pozitif, katalaz, jelatinaz ve oksidaz negatif, asit toleransı bulunan, spor oluşturmayan (*Sporolactobacillus inulinus* hariç), fakültatif anaerobik, niratı nitrite indirgeyemeyen, sitokromları bulunmayan ve karbonhidrat fermentasyonun da son ürün olarak laktik asit üreten bir bakteri grubudur (Carboni *et al.* 2023). LAB, ayrıca peptitler, organik asitler, bakteriyosinler, aromatik bileşikler, ekzopolisakkaritler ve B vitaminleri gibi metabolitler üretirler (Valenzuela *et al.* 2015).

LAB, morfolojik olarak kok veya basil şeklinde mikroskop altında görüntülenebilirler. Kok şekilli LAB beş farklı gruba ayrılırken, basil olanlar ise 4 gruba ayrılır. Bunlar; *Lactococcus, Vagococcus, Streptococcus, Leunoconostoc, Pediococcus, Caronobacterium, Lactobacillus, Bifidobacterium ve Sporolactobacillus*'dur (Deng *et al.* 2021). LAB'ın genom büyüklükleri 1.8-3.4 bç arasında değişim göstermektedir ve düşük düzeyde guanin + sitozin (G+C) oranına sahiplerdir (Akbulut. 2023).

LAB, karbonhidratları kullanarak ekzopolisakkaritler, organik asitler ve konak sağlığı üzerinde faydalı etkilere sahip olan olabilecek diğer metabolitleri üretme potansiyeli olan probiyotik bakteri grubudur. LAB'lar bitki temelli maddelerde bulunan şekerleri, vitaminleri, proteinleri ve diğer maddeleri parçalamaya olanak sağlayan güçlü bir metabolik ve enzimatik yapıya sahiptirler (Yang *et al.* 2024). LAB, biyokimyasal olarak hem heterofermenterleri hem de homofermenterleri bünyesinde barındırır. Öncelik olarak laktik asit üretimi gerçekleştirseler de diğer yandan; asetik asit, etanol, karbondioksit ve formik asit gibi çeşitli yan ürünleri de üretmektedirler. LAB'ların avantajları arasında bulunan hızlı asit üretimi ve gıda ürünleri üzerindeki asitleştirme yeteneğinin yanı sıra lezzete, dokuya ve besinlerdeki değerleri artırmaya da katkı da bulunmaktadırlar. LAB, fermentasyonun meydana geldiği; süt, et, sebze, tahıl ve bitki ortamları dahil olmak üzere çeşitli ortamlarda doğal olarak kendiliğinden bulunmaktadır. Tarih boyunca LAB, gıda ve süt fermentasyonlarını yönlendirmek için başlangıç kültürü olarak kullanılmaktadırlar bunun yanı sıra insan tüketimine ve genel olarak güvenli (GRAS) statüsüne sahiptirler (Klaenhammer *et al.* 2005).

LAB'ların önemli bir grubu olan laktobasiller genel olarak etkili probiyotik organizmalar olarak kabul edilmektedirler. Probiyotik organizma olabilmeleri için önemli bir grup özelliğe sahip olmaları gerekmektedir. Bunlar; konak canlının hücrelerine yapışma,

patojenik organizmaları ortamdan uzaklaştırma ve büyümelerini engellemek için antagonistik asitler, hidrojen peroksit, bakteriyosinler gibi metabolitler üretme, GIS koşullarına karşı direnç gösterme, vajinal mikrobisitlere karşı koyma, antikanser etkisi bulunma, bağırsak mikroflorasını düzenleme gibi özelliklere sahip olmaları gerekmektedirler. Bu ve bunun gibi özelliklere sahip olan laktobasil bakteri türlerine; *Lpb. plantarum, L. acidophilus, Lactobacillus crispatus* ve *Lactobacillus casei* örnek verilebilir (G. Reid 1999).

LAB, hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde oldukça hayati önem taşımaktadırlar. LAB'lar temel vitaminler olan B1, B2, B6, B12, niasin, pantotenik ve folik asit üretimi gerçekleştirirler ayrıca konak canlı tarafında alınan proteinlerin sindirimini kolaylaştırıcı enzimleri sentezler. Folik asit, insan diyetinin temel bileşenidir. DNA ve RNA'nın yapı taşına katılarak birçok nükleotidlerin biyosentezi dahil olmak üzere metabolik reaksiyonda kofaktör olarak yer alırlar (Aswathy *et al.* 2008).

Lactiplantibacillus plantarum

Potansiyel probiyotik olarak değerli bir tür olan *Lpb. plantarum*'un suşlarının antimikrobiyal bileşik üretimi, antioksidan aktivite, kolesterol düşürücü etkiye sahip olma, gastrointestinal sistem koşullarına direnç gösterme, obeziteye, depresyon ve anksiyete gibi psikolojik hastalılar üzerinde etkili olma, kolit ve bağırsak hastalıkların önlenmesi gibi faydalı etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte bu etkiler suş düzeyinde farklılık gösterebilmektedir (Coelho- Rocha *et al.* 2022). *Lpb. plantarum*, LAB'lar arasında en çok özelliği bulunan türlerden biridir. Bu türün suşları çoğunlukla sebzeler, et, süt ürünleri ve gastrointestinal dahil olmak üzere birçok çeşitli ortamlarda bulunmaktadır (McLeod *et al.* 2019).

Lpb. plantarum, Avrupa Gıda Güvenliği Otoriterleri'den (EFSA) nitelikli güvenlikli varsayımı (QPS) statüsüne ve ABD Gıda ve İlaç Dairesi'den (US FDA) genel olarak GRAS statüsüne sahiptir (Seddik *et al.* 2017). *Lpb. plantarum* çeşitli gıda ürünlerin fermentasyonu sırasında önemli rol oynar ve ayrıca belirli patojenlere karşı plantarisin gibi metobolitler sentezleyerek antimikrobiyal etki göstermektedir (Cebeci and Gürakan 2007).

Probiyotik

Probiyotik terimi, Latince kökenli olup, yaşam anlamına gelmektedir. İlk kez Lilley ve Stillwel tarafından 1965 yılında bir mikroorganizmayı gelişimini teşvik etmek için antibiyotik kelimesinin zıttı olarak kullanılmıştır. 1974 yılına gelindiğinde Parker tarafından probiyotik, bağırsak mikroflorasının mikrobiyal dengesini düzenleyen mikroorganizmalar olarak tanımlanmıştır. LAB, gıda ve sağlık sektöründe sıklıkla probiyotik olarak tercih edilir. Gıda

sektöründe sıklıkla fermentasyon için tercih edilirken sağlık sektöründe probiyotik olarak tercih edilirler. Probiyotikler sadece bağırsak florasını düzenlemekte kalmaz aynı zamanda immünoljik parametreleri ve bağırsak geçirgenliğini düzenler. Bunların yanı sıra biyoaktif veya düzenleyici metabolitler sentezleyerek diğer organları da etkiler (Park and Lim 2015).

LAB'ın potansiyel olarak probiyotik olarak kabul edilebilmesi için bazı parametrelere sahip olması gerekmektedir. Konak canlı için faydalı özelliklerini sunabilmesi için asit ve safra tuzlarına karşı dirençli olmaları gerekir çünkü gastrointestinal sistemden koşullarından geçerken farklı koşullara maruz kalırlar. Örneğin mide ve bağırsak florasının pH değerleri farklıdır. Bu yüzden bu değişimlere karşı bakteri canlılığını koruyabilmelidir. Bunların yanı sıra potansiyel probiyotik suşların antibiyotiklere karşı dirençli olması, antibakteriyel üretim, patojenlerin olumsuz etkilerini azaltmak için antagonistik aktivite ve koagregasyon yeteneği gibi etkilere sahip olması gerekmektedir (Cebeci and Gürakan 2007; Chaudhary and Saharan 2019).

Potansiyel probiyotik bir suşun konak canlı üzerinde yararlı etkilerini gösterebilmesi için aranan özellikler GRAS statüsüne sahip,

1. Düşük pH ve safra tuzlarına dirençli,
2. Gastrointestinal sistem koşullarına dirençli,
3. Konak canlının bağırsak epiteline yapışabilmeli,
4. Enterik patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterebilmeli,
5. İşleme ve depolama sırasında uzun yıllar canlılıklarını koruyabilmelidir (Feng *et al.* 2017).

Gıda Güvenliği

LAB, genellikle GRAS kabul edilir ve birçok gıda ürününün fermantasyonunda starter kültür olarak kullanılmaktadır. Bu bakteri grubundan *Lpb. plantarum*, EFSA ve QPS tarafından belgelendirilmiş bakteri türüdür. Bu belgelendirmeler sayesinde gıda ve sağlık alanlarında sıklıkla kullanılan bir mikroorganizma grubudur. Güvenlik özelliklerini daha iyi anlamak ve çeşitlendirmek için çeşitli deneyler halen daha yapılmaya devam etmektedir. Başlıca uygulamalardan biri fırsatçı patojen enfeksiyonlarına maruz kalan bağışıklık sistemi baskılanmış hastalar üzerinde olumlu etkilerini kanıtlamaktır (Seddik *et al.* 2017). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda bağırsak mikrobiyatası, beslenme şekli ve insan metabolizması arasındaki yakın ilişki farklı yaş grupları arasında sağlığın iyileştirilmesi için fonksiyonel gıda uygulamalarına olan ilgi giderek artmaktadır. Dünya'nın farklı yerlerinde bulunan çeşitli fonksiyonel özelliklere sahip probiyotik özelliklere sahip süt ve süt ürünleri bulunmaktadır. Bu

probiyotik özelliklere sahip gıdalar insanlar tarafından kullanıldığı zaman konak canlıya yarar sağlamaktadır. Gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanılan LAB'ların; antibiyotik duyarlılığı, hemolitik, antimikrobiyal, jelatinaz aktivitesi ve biofilm oluşumu gibi parametreler tarafından incelenmesi gerekmektedir çünkü organizma tarafından alınan bakterilerin kimlikleri, güvenilirlikleri ve sağlık açısından yarar veya zararları bilinmelidir (Songisepp *et al.* 2012).

LAB'lar doğada yaygın olan ve gıda endüstrisi için önemli bir bakteri grubudur. Laktik asit fermentasyonu, organik asitler, bakteriyosinler ve uçucu bileşikler sentezleyerek üretimin de kullanılan gıdanın tadını ve besin içeriğini olumlu yönde etkilemektedir. Ayrıca bunların yanı sıra gıdaların organoleptik, raf ömrü, gıda muhafazası ve gıda güvenliğini geliştirmede yardımcı olurlar. LAB içerisinde *Lpb. plantarum* türü insan gastrointestinal sistemi dışında süt ürünleri, sebzeler, şarap ve et gibi birçok gıdanın fermentasyonunda rol almaktadır. Gıda endüstrisindeki potansiyel işlevi geniş bir yelpazeye sahiptir çünkü zararsız yapısı ve fermente ürünler üzerinde olumlu etkileri sayesinde uzun yıllardır tercih edilmektedir. Özellikle antimikrobiyal aktiviteye sahip metabolitler üreterek gıda koruyucu olarak sıkça tercih edilmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalar sayesinde gıdalarda potansiyel antioksidan olarak kullanılabileceği ve ek olarak gıda endüstrisinde büyük bir probleme yol açan aflatoksin B1 toksisitesinin *Lpb. plantarum* C88 suşu tarafından toksisitenin azaltıldığı belirtilmiştir (Yılmaz *et al.* 2022; Rollan *et al.* 2019).

Teknolojik Özellikler

LAB'ın daha çok probiyotik olarak kullanımının yanı sıra gıdaları fermente etmek için sıklıkla tercih edilen bir bakteri grubudur. Bu özellikleri sayesinde oldukça fazla endüstriyel öneme sahiptir. Son yıllarda yapılan çalışmalar da LAB'ın probiyotik ve fermentasyon özelliklerinin yanı sıra yaşlanma karşıtı potansiyeline sahip olması yeni çalışma alanlarına ışık tutmaktadır. Fermente ürünler birçok ülkede özellikle Balkanlar, Doğu Avrupa ve Orta Doğu ülkelerinde sağlık geliştirici özellikleri, gıda ve yerel mikroorganizma ile ilişkilendirilir fakat çoğu zaman mikrobiyal bileşimlerinin özellikleri bilinmez. LAB, fermentasyon süresi boyunca ürünün probiyotik özellikleri sayesinde; kalitesi, tadı, mikrobiyoljik güvenliği, raf ömrü, duyusal özellikleri ve dokusunu geliştirmektedir (Bozdemir *et al.* 2022; Kakabadze *et al.* 2019).

LAB'lar birçok teknolojik özelliğe sahiptir ve bu özellikler sayesinde gıda endüstrisinin birçok alanında faydalanılır. Bunlardan başlıcaları; asitleştirme yeteneği, antioksidan, proteolitik, lipolitik ve enzimatik aktiviteler gibi önemli parametreler gıdayı birçok açıdan etkilerler.

Gastrointestinal Sistem Koşullarına Direnç

İnsanların gastrointestnal sistemi (GIS), bağışıklık yanıtı, sindirim ve mikrobiyota ilişkileri gibi karmaşık birden fazla biyolojik süreçlerin merkezinde yer alır. Biyolojik süreçleri anlayabilmek için probiyotiklerin etkilerini değerlendirmek ve beslenme ile sağlık arasındaki ilişkiyi ayrıntılı bir şekilde tanımlamak gerekiyor fakat *in vivo* çalışmaların etik ve pratik sınırlamaları nedeniyle her zaman uygulamayı mümkün kılmamaktadır. Bu sorunları ortadan kaldırabilmek için GİS'e benzer sistem modelleri geliştirilmiştir ve çalışmalar sırasında maliyeti ve zamandan tasarruf ettirdiği için çok avantajlıdır. Bu modeller insan sindirim sisteminin karmaşık yapısını laboratuvar ortamında taklit etmesi amacıyla geliştirilmiştirler. Bu modeller sayesinde LAB'ların, moleküler biyolji ve genetik alanlarında probiyotiklerin etkilerini, bağırsak mikrobiyatasını ve besin bileşimlerinin sindirimi gibi konak canlının hücreleri ile probiyotik mikroorganizmalar arasındaki ilişkiyi anlayabilmeyi mümkün kılmaktadır (Singh 2024; Qi *et al* 2023; Cordonnier *et al*. 2015).

LAB, uzun yıllardır kullanım geçmişine sahip bir bakteri grubu olduğu bilinmektedir. Birçok yararlı özelliğinin yanı sıra laktoz şekerini laktik asite dönüştürme, bağışıklık sistemini uyarma, diyareyi önleme gibi faydaları sayesinde oldukça ilgi çekmektedir. Bu özellikleri sayesinde konak canlı tarafından kullanıldığı zaman fayda sağlamaktadır. Avrupa Birliği, 2006 yılından beri patojen mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnç geliştirdiği belirtilmiştir. İnsanlar tarafından tüketilen hayvanlar aracılığıyla bu patojenlerin bulaşma potansiyeli nedeniyle hayvan beslenmesinde antibiyotiklerin, antimikrobiyal büyümeyi engellemesi için kullanımı yasaklanmıştır. Son yapılan çalışmalarda ise daha çok antibiyotiklere alternatif olacak doğal çözümler aranmaktadır. Bu alternatif kaynakların başında ise probiyotik potansiyeli olan LAB'lar tercih edilmektedir (Dumutri *et al*. 2023).

LAB'ların tercih edilmesinin en önemli noktası gastrointestinal sistem koşullarına karşı direnç göstermesidir çünkü potansiyel probiyotik suşların bağırsak ortamında hayatta kalabilmeleri için mide öz suyunun pH'na (pH 2,0-2,3) ve safra salgılarına tolerans göstermesi istenir fakat çoğu mikroorganizma konak canlı tarafından vücuda alındıkları zaman bu koşullar karşısında hayatta kalamazlar. Potansiyel probiyotik suşların mide ve ince bağırsaktan başarılı bir şekilde geçebilmeleri için asidik ortamlara ve safra salgılarına tolerans göstermeleri gerekir (Zommara *et al*. 2023).

Hücre Yüzey Hidrofobisi

Hücre yüzey hidrofobisi, LAB'ların probiyotik olarak değerlendirilmesi için önemli parametrelerden biridir çünkü probiyotik bakteriler bağırsak hücre yüzeyine yapışma oranı ne

kadar yüksek ise bağışıklık sistemine etkisi o kadar yüksektir. Konak canlı ve bakteri arasında meydana gelen bu etkileşim, zayıf bir yapışmadır fakat hücre yüzeyi proteinleri ve lipoteikoik asitler aracılığıyla güçlenir (Chaudhary and Saharan 2019).

Konak canlı tarafından alınan LAB'lar, gastrointestinal sistem koşullarından geçtikten sonra mukus yüzeylerine veya epitel hücrelerine yapışarak yüzeye tutunmalıdır çünkü bu durum probiyotik bir bakterinin yararlı özelliklerini gösterebilmesi için önemli bir ön koşuldur. Örneğin LAB, epitel hücre yüzeylerine yapıştıktan sonra patojenlere karşı antibakteriyel etki, duyarlı canlılarda alerjilerin önlenmesi veya yaygınlığının azaltılması, kan kolesterolünün azaltılması, bağışıklık sistemini desteklemesi, sindirimi kolaylaştırması, bağırsak mikrobiyotasını dengelemesi, laktoz intoleransını azaltma ve enfeksiyon seviyesini düşürme gibi sağlık üzerinde birçok etkisi vardır. LAB'ların yapışma potansiyeli birçok faktöre bağlıdır. Bunlar; msa gen varlığı, zeta potansiyeli, hareketlilik ve polisakkaritler, proteinler ve biyosürfaktanlar gibi hücre dışı yapışkan maddeler üretme yeteneğine bağlı olarak değişir. Bu maddelerin sayesinde bağırsak yüzeyine yapışarak akışla beraber ortamdan uzaklaştırılmaz. LAB'ların hücre yüzey hidrofobitesini, laboratuvar ortamında belirlemek için güçlü apolar çözücüler kullanılmaktadır. Bunlar; n-hekzadekan, ksilen, kloroform ve etil asetat'tır. Bu çözücüler sayesinde LAB'ların hücre yüzeyine yapışma potansiyelleri yüzde cinsinden belirleyebiliriz (Wu *et al.* 2023; Palachum *et al.* 2017).

Antibiyotik Duyarlılığı

Bağırsak mikrobiyotası, konak canlının fizyolojik dengesi ve sağlığını sürdürülebilmesi için önemli bir rol oynar. Bu bağlamda LAB'lar sağlık üzerinde destekleyici özellikleri nedeniyle yoğun ilgi görmektedirler. İnsan ve hayvan mikrobiyotası, temel ve karmaşık bir mikroorganizma grubuna ev sahipliği yapar. Firmicutes %60-65, bacteroidetes %20-25, proteobacteria %5-15 ve acinobacteria %3 oranlarında mikroorganizmalar hakimdir ve bu hakimiyet bir kez yerleştikten sonra yetişkin hayatı boyunca nispeten sabit kalır. Yerleşim gösteren bu bakteri grupları bağırsakta birçok faktör üzerinde etkilidir. Bunlardan birisi de konağın patojen istilasına karşı korunmasıdır.

Sağlıklı konak bir canlıda yararlı ve patojenik metabolitler arasında bir denge bulunmaktadır ve bu dengede meydana gelen herhangi bir değişiklik, mikrobiyal dengenin bozulması, patogenezde rol oynayan ve morbidite oranlarını artıran disbiyotik bir duruma zemin hazırlayabilir. Günümüzde probiyotikler, küresel olarak gıda, diyet takviyeleri veya yasal olan bir ilacın aktif bileşenleri olarak tüketilmekte ve çeşitli türlerde ticari olarak satılmaktadır. Fakat özellikle antibiyotik direncinin yayılması açısından güvenlik değerlendirilmeleri gerekmektedir. Antibiyotik direnci, günümüzün önemli konularından birisi

olmasına rağmen, LAB'ların kontrolsüz bir şekilde tüketilmesi sorun teşkil etmektedir çünkü mikroorganizmaların sahip olduğu bir yatay gen transfer mekanizması vardır. Yatay gen transfer mekanizması, aracılığıyla antibiyotik direnç genlerinin popülasyonlar arasında kolayca yayılmasına sebebiyet vermektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar da LAB türlerinin, antibiyotik direncini belgeleyen sonuçların sayısında gözle görülür bir artış görülmektedir. LAB genel olarak güvenli mikroorganizmalar olarak kabul edilmekle birlikte, antibiyotik direnç genlerinin konakçı organizmadaki patojenik veya firsatçı mikroorganizmalarla yatay gen transferi yoluyla aktarılma potansiyeli endişe kaynağı oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda LAB, kanamisn ve streptomisine karşı çok hızlı bir şekilde mutasyon geçirerek direnç göstermektedir. Bu nedenle, antibiyotik direncinin probiyotik suşlardan diğer bakterilere (patojen veya firsatçı patojen) geçme olasılığı çok yüksektir (Sharma *et al.* 2017).

Hemolitik Aktivite

Probiyotik LAB'ların güvenli kullanımı açısından hemolitik aktivite göstermemeleri büyük önem arz etmektedir. Hemolitik olmayan aktivite, probiyotik suşların seçiminde temel bir güvenlik kriteri olarak değerlendirilmektedir. Bakterilerin GRAS veya QPS statüsünde olmalarına rağmen, EFSA, bu mikroorganizmaların hemolitik aktivitelerinin değerlendirilmesini önemini vurgulamaktadır. Bu amaçla, izole edilen suşların hemolitik potansiyeli, kanlı agar petrilerine yapılan ekimlerden sonra belirlenir. Ekimi yapılan bakterilerin inkübasyonu sonunda gözlem yapılarak belirlenmektedir. Hemoliz tipleri, kolonilerin çevresindeki eritrosit lizisine bağlı olarak sınıflandırılmaktadır. Koloni çevresinde yeşil renk değişimi gözlenen suşlar α-hemolitik (kısmi hemoliz), şeffaf zon oluşturanlar β-hemolitik (tam hemoliz) ve herhangi bir renk değişimi göstermeyenler γ-hemolitik (hemolitik olmayan) olarak tanımlanmaktadır. Bu değerlendirme sonucunda yalnızca γ-hemoliz sergileyen suşlar güvenli kabul edilmekte ve probiyotik kullanım için uygun görülmektedir (Icer *et al.* 2023).

Hemolitik aktiviteye sahip olan bakteriler, konak canlı da bulunan eritrositleri (alyuvarları) parçalayarak hemoglobinin açığa çıkmasına neden olurlar. Bu parçalama işlemini bakteri tarafından salgılanan hemolizin adı verilen bir metabolit sayesinde gerçekleştirirler. Hemolizinler, hücre zarlarını hedef alan pore-forming protein grubunda yer alırlar ve bu sayede hücre zarında oluşturduğu gözenekler ile hemoglobini açığa çıkarırlar. Dahası bu porlar yüzünden hücre zarından kontrolsüz bir şekilde madde girişi ve çıkışı olacağından hücre parçalanmasına yol açılır. Hemolize uğrayan konak canlı da bazı tehlikeli sonuçların meydana gelmesine neden olur bunlar; doku hasarı ve enfeksiyonun yayılması, demir emiliminin

azalması, bağışıklık sisteminin zayıflaması ve potansiyel bir toksisitenin meydana gelmesi gibi durumlara yol açar (Ramarao and Sanchis 2013; Skals *et al.* 2010).

Antibakteriyel Aktivite

LAB, gıda güvenliği ve sağlık alanında birçok özelliğinden yararlanılmaktadır. Bunlardan en dikkat çeken özelliklerden birisi de antibakteriyel aktiviteye sahip mikroorganizma olmalarıdır. LAB'lar, özellikle fermantasyon süreçlerinde hem gıda bozulmasını önlemek hem de ortamda bulunan patojen mikroorganizmaları baskılamak için kullanılır. Bu mikroorganizmalar antibakteriyel aktivitelerini ortaya koyarken birden fazla yol kullanarak yaparlar (Wiernasz *et al.* 2017).

Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda gıda kaynaklı enfeksiyonların giderek arttığı bildirilmektedir. Günümüzde gıda kaynaklı enfeksiyonları azaltmak için kimyasal koruyucular ve ısıl işlemler gibi geleneksel mikrobiyal yöntemler kullanılmaktadır fakat bu tür uygulanan geleneksel yöntemler, gıdaların duyusal özelliklerine etki ederek istenmeyen organoleptik özelliklere sebebiyet vermektedir. Bunlara ek olarak, güvenli ve sağlıklı ürünlere olan talep giderek artmaktadır ve bunun sonucunda doğal ve etkili antimikrobiyal alternatiflere olan ilgi giderek artmaktadır. Özellikle LAB tarafından üretilen doğal antibakteriyel elementler genellikle patojenlere karşı inhibitördür ve gıda bozulmasına sebebiyet veren organizmaların popülasyonunun azalmasına etki etmektedir. Avrupa Birliği, verilerine göre gıda kaynaklı enfeksiyonlara sebebiyet veren bakteriler; *Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes, Salmonella enterica, Escherichia coli, Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* örnek olarak verilebilir. (Ibrahim *et al.* 2021; Ye *et al.* 2021).

Çok sayıda fermente gıda doğal olarak LAB'ları içerdiği için özellikle biyokoruyucu olarak işlev görürler. Ürettikleri reuterin, bakteriyosinler, diasetil, reuterisiklin, organik asitler, astoin ve hidrojen peroksit gibi oldukça kıymetli metabolitler sentezlerler. Bakteriyosinler, ribozomal olarak üretilen ve mikroorganizmaların büyümesini engelleyen çeşitli antibakteriyel peptit grupları oluştururlar. Örneğin *Lacticaseibacillus paracasei* ZFM54 tarafından sentezlenen bakteriyosin, *L. monocytogenes, Micrococcus luteus* ve *Salmonella typhimurium* gibi gıda patojenleri üzerinde inhibe edici özelliği bildirilmiştir. Antibakteriyel özelliğe sahip olan LAB'lar, patojenler üzerinde çeşitli etkilere sahiptir bunlar; hücre zarı geçirgenliğini artırma ve zar yüzeyinde gözenek oluşumuna neden olma, transmembran pH'ında değişiklik, sitoplazmik zar potansiyelinin bozulması ve bunların sonucunda hücre ölümü ile durum sonuçlanır (Zimmerman *et al.* 2021).

LAB'lar, bağırsak mikroflorasında bulunan patojenlere karşın antagonistik aktivite gösterebilmesi probiyotik potansiyeli için çok değerlidir. LAB'lar, Gram negatif ve pozitif bakterileri hedef alan birçok antibakteriyel özelliğe sahiptir (Awaisheh and Ibrahim 2009).

Biyofilm Oluşumu

Biyofilmler doğal bir hayatta kalma stratejisinin sonucu oluşur ve mikroorganizmaya stabilite sağlarlar. Bunun sonucunda mikroorganizmanın stres direncini artıran bir EPS içinde gömülü bakteri hücreleri oluşmaktadır ve bu sayede doğada, mikrobiyal hücreler bir yüzeye tutunarak, önce mikro, sonra makro koloni oluştururlar (Olaimat *et al.* 2024).

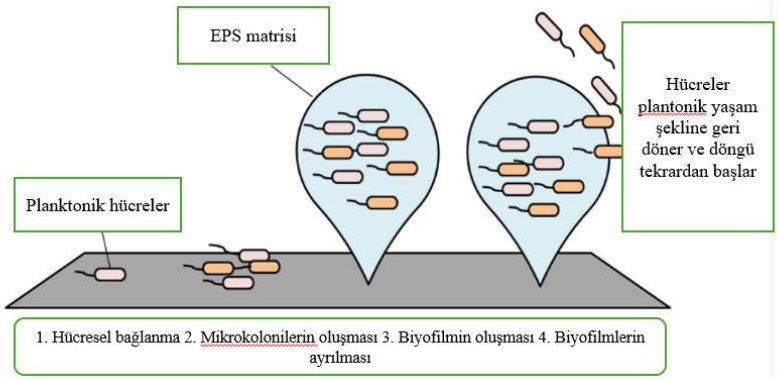
Biofilm**,** ekstraselüler polimerik maddeler (EPS) üretebilme potansiyeline sahip bir mikroorganizma özelliğidir. Biyofimler iki ana gruba ayrılmaktadır. Bunlar; yalnızca tek bir şeker formundan meydana gelen homopolisakkaritler, birden fazla form da şeker monomeri içerenler ise heteropolisakkaritler olarak adlandırılmaktadır ve içerdiği %96,8 oranındaki su miktarı ile de besinlerin hareket etmesine kolaylık sağlar. Biofilmlerin sentezi birçok yüzeyde meydana gelebilir. Bunlar; metal plastik, cam, toprak parçaları, paslanmaz çelik, ahşap ve biyotik yüzeyler gibi pek çok yüzeyde sentezlenebilirler ve sentezlendikleri yüzeye yapışırlar (Mgomi *et al.* 2023) Bakteriyel biyofilm oluşumu, çoğunlukla quorum sensing (QS), second messenger signaling system ve cyclic adenosine phosphate-receptor protein (cAMP-CRP) sinyal sistemi gibi sinyal iletim mekanizmalarının düzenlenmesi ile sentezlenir. Yapılan çalışmalarda LAB'lar için QS sinyal sistemi biyofilm oluşumu ve düzenlenmesinde yer alır. QS, otoindüksüyon olarak da bilinir ve bakteriler arasında grup davranışları, iletişim kurmak ve ortamı koordine etmek için uyaran maddelerin fenomenini ifade eder. Bakteriler gelişimlerini tamamladıkça çevreyi algılamak için ortama bir dizi sinyal molekülü salgılarlar (Yao *et al*. 2025).

LAB biyofilmleri, fermente gıda ve içecek, süt, toprak, ekmek, et ve et ürünleri gibi birçok ortamda bulunmaktadır. Bu gıda ortamlara ek olarak gastrointestinal sistem, hayvan mukoza içeriğinde, üreme sistemi, evsel ve endüstriyel ortamlarda bulunabilirler. LAB ve patojenik biyofilmler arasındaki farklar halen daha tam olarak tanımlanmamıştır. LAB biyofilmlerinin içeriğine baktığımızda; uzun zincirli şekerler, lipitler, proteinler, nükleik asitler, fosfolipitler ve diğer biyomoleküllere sahip olduğu bilinmektedir. Sentezlenen biyofilm, LAB'ların gıda yüzeyine oldukça kuvvetli bir şekilde yapışma özelliği gösterir ve bu sayede gıdaları dış ortamdan korurlar. LAB'ların biyofilm sentezi, tek bir parametreye bağlı kalarak sentezlenmez, ortam da bulunan su, oksijen miktarı, sıcaklık, pH ve besin gibi parametrelere bağlı üretimi gerçekleşmektedir (Drame *et al.* 2021).

Tarih boyunca LAB'lar, gıda endüstrisinde oldukça sıklıkla kullanılmaktadır. Probiyotikler tarafından oluşturulan biyofilmler gıda kaplamada ve sağlık alanında sıklıkla tercih edilmektedir. Patojen mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklarda LAB'ların ürettiği biyofilm sayesinde bakteriyostatik metabolitler ve immünomodülatör rol gibi yolaklar ile biyofilme tutunan patojen mikroorganizmalar arasında bir rekabet ortamı oluşturmaktadırlar. Bu sayede, enfeksiyonu kontrol etme ve enfeksiyon hastalıklarına umut verici bir alternatif tedavi sunmaktadır (Yao *et al.* 2025).

Biyofilmlerin yukarıda sayılan avantajları dışında dezavantajları da bulunmaktadır. LAB'lar tarafından oluşturulan biyofilm, tüm gıda patojenleri üzerinde pozitif etkisi yoktur. Gıda kaynaklı patojenler, yıllardır çok çeşitli küresel halk sağlığı sorunlarına yol açmaktadır ve her yıl 600 milyondan fazla insan gıda kaynaklı hastalıklardan etkilenmektedir. Çünkü bakteriyel biyofilm karmaşık bir popülasyon içerir ve bu yüzden diğer mikroorganizma gruplarının tutunmasına neden olur. Gıda yüzeyine tutunan mikroorganizmalar, bozulmaya sebebiyet verir. Diğer yandan biyofilmler fiziksel ve kimyasal direnç oluşturarak ortamdan uzaklaştırılma zorluğu meydana getirmektedir. Bu nedenle biyofilmler, işleme sonrası kontaminasyona neden olarak gıda kalitesini ve güvenliğini etkiler, bunun sonucunda gıda ürününün raf ömrü kısalır ve gıda kaynaklı patojenler yayılır (Olaimat *et al.* 2024).

Biyofilm oluşum mekanizması Şekil 1'de şematize edilmiştir (Samrot *et al.* 2021).



Şekil 1. Biyofilm oluşum mekanizması (Samrot *et al.* 2021).

Jelatinaz Aktivitesi

Jelatinaz aktivitesi, probiyotik mikroorganizmaların, güvenlik değerlendirmelerinde dikkate değer bir faktördür. Çünkü jelatinaz pozitif suşlar, potansiyel bir virülans faktörü taşıyabileceğinden, genellikle gıda ve sağlık sektöründe risk taşıyacağından probiyotik olarak kullanılmazlar. Bu nedenle, probiyotik olarak kullanılacak LAB'ların jelatinaz aktivitesi göstermemesi tercih edilir. Jelatinaz, kolajen türevi olan jelatini parçalayan bir proteaz

enzimidir. Bu enzim, bakterilerin çevresel proteinleri sindirmesine ve potansiyel olarak doku invazyonuna katkıda bulunabilir (Martin *et al.* 2023& Megur *et al.* 2023).

Gıda güvenliği, insan nüfusunun küresel ölçekte artması ile büyük ölçekli zorluklar meydana getirmektedir. Bunlardan biri de gıda bozulmasıdır. Gıda bozulması, yapım aşamasında ya da tedarik süreci boyunca tüketiciye ulaşana kadar kontaminasyona uğrayabilir. Gıda bozulmaları 3 farklı şekilde meydana gelebilir. Bunlar; mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasaldır. Mikrobiyolojik bozulmada, mikroorganizmanın sahip olduğu bir dizi enzim grubu rol oynar (Odeyemi *et al.* 2020). Bu enzim gruplarından biri olan jelatinaz enzimi; insülin, hemoglobin, fibrinojen, kolajen ve jelatini hidrolize edebilen metaloendopeptidazdır (Kanemitsu *et al.* 2021).

Lipolitik ve Proteolitik Aktivite

Süt ve süt ürünlerinin karakteristik özellikleri olan; lezzet, tat, doku, protein, karbonhidrat ve yağların yapısı LAB'ların bünyesinde bulundurdukları enzimler tarafından meydan gelmektedir. Başlıca iki önemli aktivite vardır. Bunlar; lipolitik ve proteolitik aktivitedir (Torres *et al.* 2014).

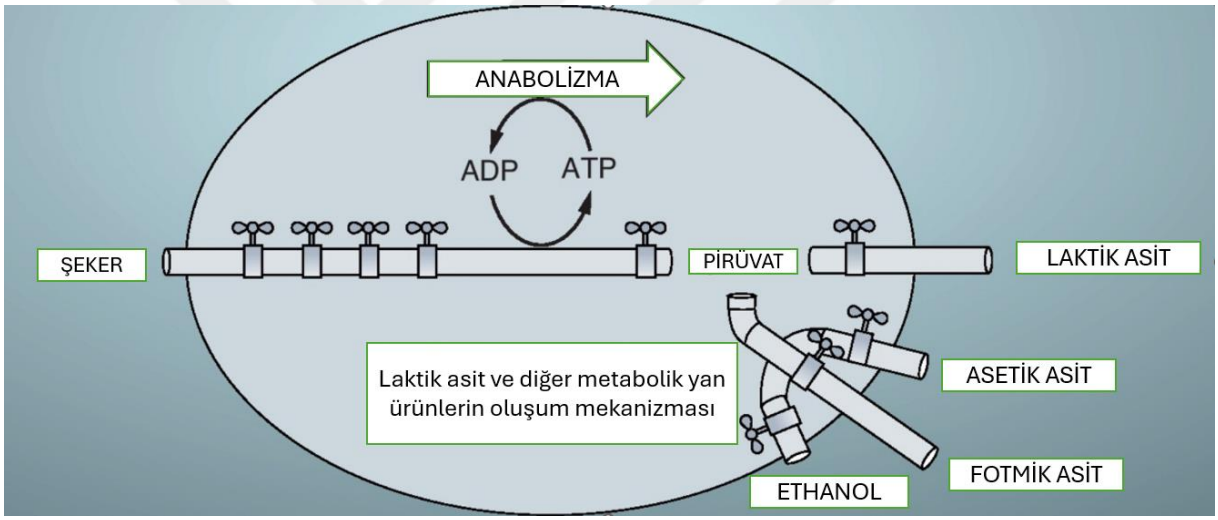
Lipolitik enzimler, suda çözünmeyen uzun zincirli trigliserölün hidrolizini katalizleyen enzim grubudur. Lipolitik aktivite, gliserol, serbest yağ asitleri, monogliseridler ve digliseridler gibi ara ürünleri sentezlemek için trigiliseritlerin hidrolize edilme olayıdır. Elde edilen ara ürünler, son ürünün doku gelişimine yardımcı olmak için gıda bileşenlerini emülsifiye eder. LAB sahip olduğu lipolitik aktivite, starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmaların seçimine hardımcı olur. Bu aktivite sayesinde; bitkisel fermentasyon, fırınlanmış gıda uygulamaları ve fermente süt ürünlerinin lezzet, doku, koku, aroma gibi özelliklerinin gelişimi için son derece çok önemli bir parametredir. LAB'lar genellikle zayıf lipolitik aktiviteye sahiptirler fakat süt ve süt ürünlerinin uzun süreli olgunlaşma süreçlerinde, lipolitik aktivitenin gerçekleştirilmesi ile lezzet gelişimine katkıda bulunur ve katabolik nihai ürünler sentezleyen daha ileri reaksiyon basamakları için substrat görevi görmektedir (Cano *et al.* 2019).

Proteoliz, serbest aminoasitleri ve peptitleri oluşturmak için proteinlerinin yapısında bulunan peptit bağlarının hidroliz olma reaksiyonunu katalizleyen enzime denilmektedir. Bu enzime sahip olan LAB'lar proteolitik aktiviteyi gerçekleştirmektedirler. Serbest amino asitlerin oluşumunun ardından meydana gelen dekarboksilasyon, deaminasyon, tranaminasyon ve kükürt giderme reaksiyonlarına katılma olayı ile gıda lezzetini iyileştirme de önemli rol oynamaktadırlar. Proteolitik aktivite, fermente ürünlerin geliştirilmesinde; istenilen aroma, doku modifikasyonu ve su aktivitesinin azaltılması doğrudan bu aktivite ile ilişkilidir. Özellikle

gıda endüstrisinde bebek mamalarında süt proteini hidrolizi, bebeklerin sindirim sistemlerini olumlu anlamda etkilemektedir. Proteolitik aktivitesinin gıda endüstrisinde sağladığı faydaların yanı sıra sağlık sektöründe birçok olumlu etkiye sahiptir. Bunlar; insan da bağışıklık sistemini baskıladığı düşünülen peynir altı suyu içeriğinde bulunan proteinlerin antijenitesini ve süt proteinin hidrolizinden elde edilen biyoaktif peptitler ile mikrobiyal enfeksiyonları azaltmaktadır (Cano *et al.* 2019).

Asitleştirme Yeteneği

LAB'lar, çeşitli formlarda bulunan şekerleri kullanarak laktik asit üretme yeteneğine sahiptirler ve gıda endüstrisinde oldukça önemli bir role sahiptirler. Laktik asit, glikolizin son ürünü olan pirüvattan sentezlenmektedirler. Laktik asit üretiminin hızı oldukça önemlidir çünkü ne kader hızlı bir sentez meydana gelirse fermantasyon da kısa sürede gerçekleşerek zaman ve maliyetten açısından kazanç sağlanır. Laktik asit fermantasyon oluşumu ve diğer yan ürünlerin oluşum basamakları Şekil 2'de basitçe şematize edilmiştir.



Şekil 2. Laktik asit oluşum reaksiyonu (Martinussen *et al.* 2013)

Glikoliz' in LAB'lardaki merkezi rolü, sadece gıda fermentasyon sürecini optizmize etmek değil, aynı zamanda mikroorganizmaların yenilenebilir yakıt ve kimyasal üretimi gibi uygulamalar içinde önem arz etmektedir (Martinussen *et al.* 2013).

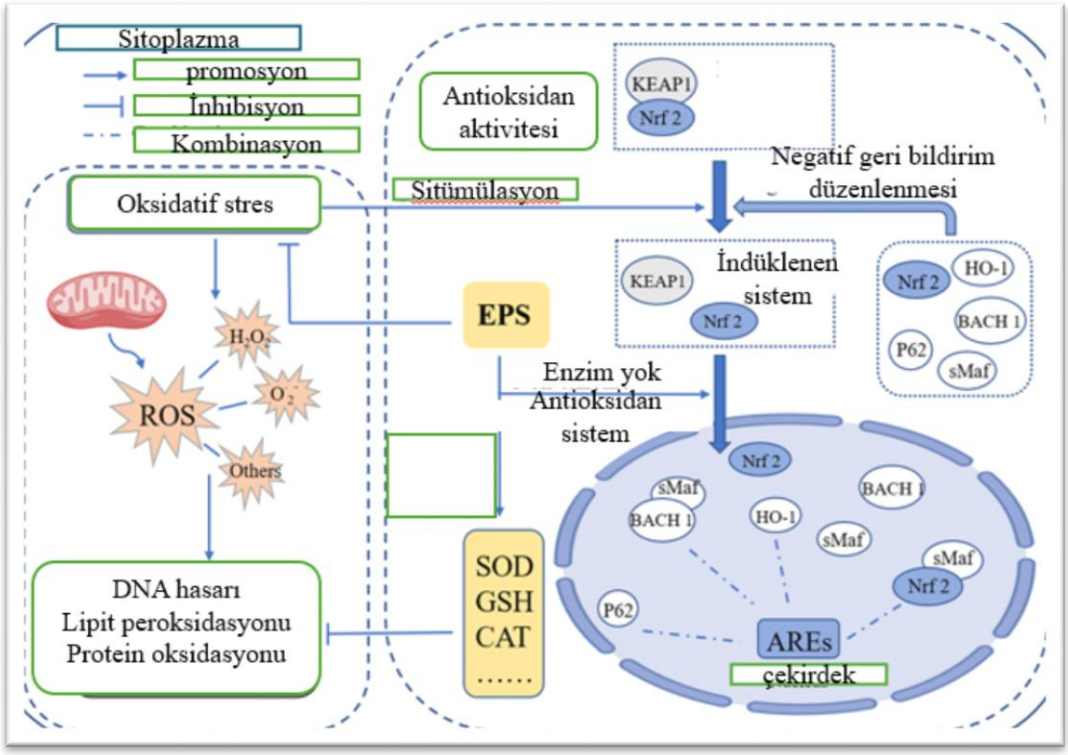
Fermente gıda ürünlerinin biyokimyasal reaksiyonları karmaşıktır ve bir dizi enzimatik olay içermektedir. Fermantasyon işlemi sırasında bazı değişikler meydana gelir ve bunlar diğer mikroorganizmalar üzerinde inhibisyonuna neden olurlar. Bunlar; pH değerinin azalması, laktik asit miktarının artması, hidrojen peroksit, diasetil, asetaldehit, reuterin ve peptitler gibi metabolitlerdir (Cano *et al.* 2019).

LAB'ların asitleştirme yeteneği, fermente süt ürünlerinin kalitesini doğrudan etkilemektedir. Asitleştirme yeteneği, fermente süt ürünlerinde başlangıç kültürü olarak değerlendirebilmek için önemli bir kriterdir. Asitleştirme yeteneğine sahip olan mikroorganizmalar kullandıkları şeker çeşidine göre gıdanın; viskozitesini, dokusunu, lezzetini ve aroması gibi özelliklerine etki ederek kalitesini artırmaktadır. Ayrıca asitleştirme yeteneği ve prolteolitik aktivitesi arasında pozitif bağlantı vardır (Cui *et al.* 2016).

Antioksidan Aktivite

Vücutta bulunan oksijenin tek elektronlu indirgenmesiyle oluşan süperoksit anyonu, hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve nitrik oksit gibi moleküller, genel olarak reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species, ROS) olarak tanımlanmaktadır. Bu reaktifler, organizmaların vücutlarında yaygındır ve normal hücre metabolizmasının kaçınılmaz ürünleridir. Vücutta eşik değerde bulunan ROS miktarları, normal yaşam aktivitelerini sürdürmek için çok önemlidir. Eğer ROS miktarı eşik değerin üzerinde olursa lipit ve protein gibi biyolojik moleküllere zarar vererek, diyabet, kanser, ateroskleroz, karaciğer hastalığı ve kronik dejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere bir dizi hastalığa neden olmaktadırlar. Yapılan son çalışmalar da biyolojik kaynaklı antioksidanların, kronik hastalık riskini azaltmaya yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Liang *et al.* 2024).

LAB türevi EPS'nin antioksidan yeteneği, vücutta oksidatif strese karşı bir savunma mekanizması olarak kullanımım oldukça yaygındır. *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* ve *Lpb. plantarum* dahil olmak üzere bir dizi LAB suşu mükemmel düzeyde antioksidan aktivite yeteneği sergilemektedir. ROS ve serbest radikaller vücutta endojen veya ekzojen olarak üretilir. Oksidatif stres koşulları altında, hidrojen peroksit (H_2O_2), Fenton reaksiyonu yoluyla feröz demir (Fe^{2+}) tuzlarıyla reaksiyona girerek toksik bir hidroksil radikal ($HO\cdot$) üretimine neden olur. Üretilen HO^- iyonu, hücre içi enerji ve ATP seviyelerinde bir azalmaya neden olabilir ve DNA moleküllerindeki fosfodiester bağlarını kırabilir. LAB'ların sahip olduğu antioksidan aktivite, SOD ve CAT gibi antioksidan enzimlerinin aktivitesini artırarak ortamda bulunan serbest radikalleri temizleyerek MDA sentezi engellendiği için yüksek düzeyde antioksidan aktivite özelliği göstermektedirler. Oksidatif stresin neden olduğu hasar ve LAB'ların antioksidan mekanizması şekil 3'te şematize edilmiştir (Zhou *et al.* 2023).



Şekil 3. Laktik asit bakterileri antioksidan mekanizması

β-Galaktozidaz ve Enzimatik Aktivitesi

Mikrobiyal enzimler, gıda işleme endüstride çok çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır. Mikroorganizmalar tarafından sentezlenen enzimler, temel bilimlerde, organik bileşiklerin sentezinde, ilaç üretimi ve çeşitli kimyasalların üretimi için çeşitli biyotransformasyon süreçlerinde kullanılmaktadır. Glikozit hidrolazlar, karbonhidratlar arasında bulunan glikolizit bağı hidrolize edebilen enzim grubudur. β-Galaktosidaz (EC3.2.1.23), gelişmiş bitkilerde, hayvanlarda ve mikroorganizmalar da yaygın olarak bulunan ve laktaz olarak adlandırılan hidrolitik bir enzimdir. Dünya çapında oldukça fazla üretimi vardır ve en fazla süt ürünlerinde laktozun uzaklaştırılması işleminde kullanılmaktadır. Hayvanların ince bağırsak hücrelerinde bulunan mirovilluslar tarafından sentezlenen β-galaktosidaz, çocuklukta tamamen yokluğu veya yetersiz sentezlenmesinde birincil laktaz eksikliği, yetişkinlerde ise bu duruma hipolaktazi veya laktaz eksikliği denir. Hipolaktaziye sahip olan bireylerde, süt ve süt ürünlerini tükettikten sonra karın ağrısı, ishal, mide bulantısı, şişkinlik ve gaz oluşumu gibi semptomları gösterenler laktoz intoleransı adlı bağırsak sorununa yol açmaktadır. Bu durum dünya nüfusunun %70'inde bulunmaktadır. Fakat süt ve süt ürünlerini tüketemeyen bireyler de kalsiyum eksikliği meydan gelir ve iler ki yaşlarda osteoporoza riskini artırmaktadır. β-galaktosidaz enzimi, süt ve süt ürünlerindeki laktoz hidrolizi ile monosakkarit bileşenleri meydana getirerek emilimini arttıracağı düşünülmektedir. Laktozun hidrolizi sağlık, gıda endüstrisi, çevresel ve teknolojik açılardan büyük önem arz etmektedir. Bu enzim

sayesinde laktoz intoleransı olan bireylerde rahatlama, disakkaritlerin hidrolizi ile açığa çıkan glikoz ve galaktozun çözünürlüğüyle ürünün aromasının geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Yenilenebilir bir karbonhidrat kaynağı olan laktoz, gıda ve yem katkı maddelerinin üretimi için bir başlatıcı olarak kabul edilmektedir (Xavier *et al.* 2018).

Düşük pH Direnci

LAB, sağlık ve gıda alanlarında işlevlerini yerine getirebilmesi için gastrointestinal sistemin düşük pH ortamlarında hayatta kalabilmelidir. Ayrıca LAB'ların sadece gelişimleri için değil ayrıca probiyotik ürünlerin fermentasyonu ve hazırlanması için büyük önem taşır. LAB'ların düşük pH ortamına karşı gösterdikleri direnç birçok alanda çok önemlidir çünkü bakterilerin; nötralizasyon süreçleri, proton pompası, ortama adaptasyonları, biofilm oluşumu, makromoleküllerin korunması gibi aşamalarda düşük pH seviyelerine karşı direnç göstermelidir. Bu durumlar eşliğinde LAB'ların kullanıldığı sentetik biyoloji, yüksek basınçlı homojenisayon ve adaptif laboratuvar evrimi gibi biyoteknolojik stratejiler de sürekli değişen düşük pH ortamına pozitif yönde yanıt vermelidir (Lee *et al.* 2025).

Lpb. plantarum, düşük pH direnci çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir ve bu mekanizmalar sayesinde düşük pH koşulları tolere edebilir. Bunlar; hücre içi pH dengelemesi, amino asit metabolizması, stres proteinleri üretimi ve hücre zarı kompozisyonun değiştirilmesidir. *Lpb. plantarum*'un geliştirdiği bu adaptasyon koşulları sayesinde hem gıda hem de probiyotik uygulamalarda büyük ölçüde önem taşımaktadır (Lee *et al.* 2025; Zommara *et al.* 2023).

MATERYAL VE METOT

Materyal

Kullanılan kimyasallar

Tablo 1. Tez Dahilinde Kullanılan Kimyasallar, Besiyerleri ve Kitler

KİMYASAL ADI	FİRMA
Distile Su	Sigma-Aldrich
DNA Marker	Sigma-Aldrich
Dimethyl Sulfoxide (DMSO)	Sigma-Aldrich
Etidyum Bromür (EtBr)	Sigma-Aldrich
dNTP	Sigma-Aldrich
6X Yükleme Tamponu	Sigma-Aldrich
Phosphate Buffered Saline (PBS)	Sigma-Aldrich
Sodyum Klorür (NaCI)	Sigma-Aldrich
İmmersiyon Yağı	Sigma-Aldrich
Kristal Violet	Sigma-Aldrich
Lügol	Sigma-Aldrich
Safranin	Sigma-Aldrich
Etanol	Sigma-Aldrich
Malaşit Yeşili	Sigma-Aldrich
Potasyum Hidroksit (KOH)	Sigma-Aldrich
Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	Sigma-Aldrich
Glikoz	Sigma-Aldrich
Agaroz	Sigma-Aldrich
Blank disk	Liofilchem
Amoxicillin (AML) disk	Liofilchem
Chloramphenicol (C30) disk	Liofilchem
Sulfamethoxazole (SMX) disk	Liofilchem
Ciprofloxacin (CIP) disk	Liofilchem
Kanamycin (K) disk	Liofilchem
Ofloxacin (OFX) disk	Liofilchem
Ampicillin (AMP) disk	Liofilchem
Lizozim	Sigma-Aldrich
TAE Buffer	Sigma-Aldrich
Lactobacilli MRS Broth	NEOGEN

Tablo 1. (devamı)

MRS Agar	CONDOLAB
M17 Broth	LIOFILCHEM
M17 Agar	CONDOLAB
Nutrient Agar	Sigma-Aldrich
Nutrient Broth	Sigma-Aldrich
LB Agar	Sigma-Aldrich
LB Broth	Sigma-Aldrich
TSA (Tryptic Soy Agar)	Sigma-Aldrich
TSB (Tryptic Soy Broth)	Sigma-Aldrich
Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)	Sigma-Aldrich
Wizard R Genomic DNA Purification Kit	Promega
Ecotaq 2x Pcr Master Mix	ECOTECH
Pepsin	ACROS
Pancreatin from porcine pancreas	SIGMA
Bile salts	Sigma-Aldrich
Congo Red; Acs Reagent	AFG
2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH)	AFG
Ascorbic Acid	Sigma-Aldrich
Primer Sentezi, 50 nmol	Bioligo
Anaero-anaero pack 2,5 lt	Mitsubishi
Calcium caseinate agar	Condolab

Kullanılan materyaller ve cihazlar

Tablo 2. Tez Dahilinde Kullanılan Materyal ve Cihazlar

MATERYAL VE CİHAZ	**FİRMA**
İnkübatör	Thermo
Çalkalamalı inkübatör	Zhicheng- ZHWY2102C
Santrifüj	Hettich Mikro 220 R
Çalkalamalı Su Banyosu	Memmert WNB14
Mikroskobik Görüntüleme Sistemi	Lecia – Samsung
Otoklav	Hirayama
Saf Su Cihazı	mpMiniPure DestUp
UV-Spektrofotometre	Beckman Coulter DU-730
Nanodrop	Thermo – MultiscanGo
PCR Cihazı	Senso Quest-Labcycler
Jel Görüntüleme Sistemi	VILBER LOURMAT-Quantum
pH Metre	Mettler Toledo- SevenCompact

Tablo 2. (devamı)

Hassas Terazi	Shimadzu– ATX224
Kar Makinası	Scotsman – AF80
Mikropipet Takımı	Eppendorf
Steril kabin	Telstar Bio-II-A
Vorteks	Wisemix VM-10
Çoklu Blok Isıtıcısı	Lab-Line
Çeker Ocak	Tolkim
Derin Dondurucu (-20°C)	Vestel FT 280, Siemens Derin
Dondurucu (-86°C) New	Brunwick Premium U410
Tüp - mikrosantrifüj - p.p - 1,5 ml	ISOLAB
Tüp - santrifüj - 15 ml-non steril	ISOLAB

Metot

Örneklerin toplanması

LAB'ın bulundukları mikrofloralar göz önüne alındığında izolasyon yapılacak kaynakların çeşitliliği göze çarpmaktadır. LAB'lar genel de süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, fermente sebzeler ve hayvan dışkısı olmak üzere geniş çaplı bir habitata sahiptir. Tez çalışmasında zengin bir mikrobiyal floraya sahip olan çiğ süt örneklerinin kullanılmasına karar verilerek, Erzurum merkez olmak üzere çevre ilçe ve köylerden toplam 50 adet çiğ süt örneği temin edildi aseptik koşullar altında laboratuvar ortamına getirilerek, kullanılıncaya kadar +4°C'de muhafaza edildi.

Laktik asit bakterilerinin izolasyonu

Elde edilen her bir süt örneğinden aseptik koşullar altında 10 ml deney numunesi alınarak ve 90 ml steril fizyolojik su (%0,9 NaCl) ilave edildi ve tüm karışımlar için bir seri dilüsyon hazırlandı. Bakteri izolasyonu için hazırlanan uygun dilüsyonlardan M17 ve MRS agara drigalski öze yardımı ile yayma ekim yapıldı. MRS agara ekimi yapılan örnekler anaerobik kit yardımı ile oksijensiz bir ortam oluşturularak jar içerisinde ve M17'ye ekimi yapılan örnekler oksijenli ortamda 30-37°C'de 48 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda petrilerde bulunan kolonilerden hücre ve koloni morfolojisi bakımından farklı olduğu düşünülen örnekler seçildi. Seçilen kolonilerden öze yardımı ile örnek alınarak M17 ve MRS broth içerisinde 48 saat boyunca 37°C ve 42°C'de shaker'da inkübe edildi ve inkübasyon süresi sonunda hazırlan 2 ml'lik steril cryo tüplerinde bulunan %30'luk gliserol ve MRS broth veya M17 broth'dan oluşan çözelti içerisine ependorf tüplerinde bulunan örneklerden 1 ml

alınarak tüplere aktarıldı ve uzun süreli muhafaza için -86 derecede saklandı (Adıgüzel *et al.* 2008).

Laktik asit bakteri izolatlarının fenotipik karakterizasyonu

İzolasyon aşamasında elde edilen izolatların LAB olup olmadığını anlamak amacıyla çeşitli konvensiyonel testlere tabi tutuldu. Bu amaçla öncelikle tüm izolatların petri görüntüleri incelendi ve tipik görünümlü koloniler, LAB olabileceği düşünülerek seçildi. Bu kapsamda seçilen izolatların daha sonra Gram özelliklerine, endospor varlığına, oksidaz ve katalaz enzimi varlığına, bakılarak LAB olabilme ihtimalleri değerlendirildi.

Test izolatlarının genomik DNA'larının izolasyonu

Fenotipik karakter açısından LAB özelliği taşıyan izolatlar içerisinden *Lpb. plantarum* suşlarının belirlenmesi için MRS broth içerisine inoküle edilen örnekler, 24-48 saat boyunca shaker içerisinde gelişime bırakıldı ve inkübasyon süresi sonunda, Promega Wizard Genomic Purification kiti (A2360) kullanılarak, test izolatlarının genomik DNA'ları izole edildi.

Spesifik ve 16S rRNA PCR analizi

L. casei, Latilactobacillus sakei, Lpb. plantarum ve *Lactobacillus acidophilus* gruplarının 16S rRNA gen benzerliği %98'den fazla olduğu için, hedef türün tespiti için öncelikli olarak türe spesifik primerler (147 bp içeren Plantarum F-GCTGGCAATGCCATCGTGCT ve Plantarum R-TCTCAACGGTTGCTGTATCG) kullanılarak, strainler seçildi (Kim et al 2020). İzolatlar seçildikten sonra 16S rRNA (27F 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG -3' ve 1492R 5'- GGT TAC CTT GTT ACG ACT T -3') sekans analizi ile doğrulama yapıldı. Reaksiyon hazırlanması öncelikle PCR'ı yapılacak her bir örnek için 30 µl'lik reaksiyon hazırlandı. Bu amaçla;

- 3 µl 10 x PCR tamponu
- 0,6 µl dNTP
- 0,3'er µl 5 µM primer
- 1,2 µl DMSO
- 1,8 µl MgCl2
- 0,3 µl 5 unit/µl Taq DNA polimeraz
- 14,1 µl steril saf su kullanıldı.

Hazırlanan karışıma son olarak 5 µl kalıp DNA (100 ng) eklenerek son hacim 30 µl' ye tamamlandı. Tablo 3' de 16S rRNA PCR işleminde kullanılan kimyasallar ve miktarları verildi. (Adıgüzel, 2016; A'inurrofiqin et al 2022).

Tablo 3. 16S rRNA PCR İşleminde Kullanılan Reaktifler, Yoğunluk ve Miktarları

Reaktif	Konsantrasyon	Miktar (µl)
PCR buffer	10X	3
dNTP	25 mM	0,6
$MgCl_2$	25 mM	1,8
149R	5 pmol	3
27F	5 pmol	3
DMSO	%99	1,2
ddH_2O	-	12,1
Kalıp DNA	100 ng	5
Taq DNA polimeraz	-	0,3

PCR programı: Örnekler PCR cihazına yerleştirildikten sonra cihaz aşağıdaki gibi programlandı (Adıgüzel 2006);

- 94°C'de 2 dk (Denatürasyon)
- 94°C'de 1 dk (Denatürasyon)
- 49°C'de 1 dk (Bağlanma)
- 72°C'de 2 dk (Uzama)
- 72°C'de 5 dk (Uzama)

36 DÖNGÜ

PCR ürünlerinin jel elektroforezi

Jel elektroforezi için öncelikle 0,8 gram agaroz üzerine 80 ml 1X TAE (%1'lik agaroz jel) tamponu ilave edilerek karışım mikrodalga fırında iyice çözününceye kadar kaynatıldı. Daha sonra jel 50°'ye kadar soğutularak üzerine 4 µg/ml miktarında etidyum bromür eklenerek içerisine tarak yerleştirilmiş olan elektroforez jel küvetine döküldü ve sonra 30-35 dakika jelin katılaşması beklenildi. Katılaşma gerçekleştirildikten sonra jelden taraklar dikkatlice çıkarıldı ve ardından elektoroforez içerisine 1X TAE tamponu eklendi. Jeldeki ilk çukura, 10kb DNA markerından [50-100-200-300 400-500-750-1000-1400- 1500-2000-3000-4000-6000-8000-10000] (Sigma D-7058) 10 µl ve diğer çukurlara ise her bir örnek için 2,5 µl 6X yükleme tamponu, 5 µl PCR ürünü ile karıştırılarak yükleme yapıldı. Jel elektroforezi 90 volta ayarlanarak örnekler 120 dakika boyunca yürütme işlemine tabi tutuldu ve jel içerisinde bulunan etidyum bromür ile boyanan DNA bantları jel dökümantasyon sistemi ile görüntülenerek bilgisayar ortamında (Quantum Vilber Gel Documentation System) ile analiz edildi.

DNA dizi analiz sonuçlarının işlenmesi

Gelen sekans sonuçları BioEdit ile analiz edildi ve FASTA formatına çevirildi. Primer içeren bölgeler ve tekrar dizileri tespit edilerek sekanslar anlamlı hale getirildi.

Sonuçların Değerlendirilmesi

Anlamlı hale getirilen sekans verilerinin blast çalışması http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch &LINK_LOC=blasthome ve http://www.ezbiocloud.net/eztaxon/identify internet adresleri kullanılarak blastlandı ve %benzerlik oranları belirlendi. Daha sonra bu veriler genbank‟a girilerek her bir örnek için ***GenBank*** ®numarası alındı.

Lactiplantibacillus plantarum Suşlarının Probiyotik Analizi

Düşük pH direnci

Elde edilen izolatlar, ilk olarak anaerobik koşullar altında 37°C de MRS agar ile aktivite edildi. Aktivite edilen izolatlar MRS broth içerisinde 24 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonunda örnekler 6000x g'de 10 dakika 4°C'de santrifüjlendi. Elde edilen peletler 2 kez PBS tamponu ile yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işleminden sonra PBS tamponunda yeniden süspanse edildi ve süspanse işleminden sonra pH 2 ile 3'e ayarlanarak 37° C'de 1, 2 ve 3 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda izolatlar drilgaski öze yardımı ile MRS agar üzerinde seri dilüsyon (10^{-1}ve 10^{-4}) yöntemi ile ekimi yapıldı. Ekimi yapılan izolatlar anaerobik koşullar altında 48 saat boyunca 37°'de inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda hayatta kalan *Lpb. plantarum* koloni sayımı yapıldı. Düşük pH'a direnç gösteren izolatların canlılık düzeyleri aşağıdaki formüle göre yüzde (%) olarak hesaplandı (Barzegar et al 2021).

Canlılık düzeyi (%) = [Değiştirilmiş koşullarda hayatta kalan hücre sayısı (log kob/mL) / Başlangıçta inoküle edilen hücre sayısı (log kob/mL)] x 100

Simüle edilmiş gastrointestinal sistem koşullarına direnç

Elde edilen *Lpb. plantarum* suşları, 30 mL MRS broth besiyerinde bir gece boyunca 37°C'de kültüre edildikten sonra 4°C'de 8.000 × g'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırıldı ve hücre peleti 10 ml 50 mM PBS (pH=6.5) ile iki kez yıkandı. Yıkanan hücreler, 3 ml PBS tamponunda yeniden süspanse edildi ve her bir suşun 9 log CFU/ml bakteri içeren bir mililitresi, 9 ml simüle mide sıvısına (NaCl 125 mM, KCl 7 mM, $NaHCO_3$ 45 mM, pepsin (3 g/L, pH=2.5) eklendi. Daha sonra hazırlanan simüle mide sıvısı 37°C'de 3 saat inkübe edildi ve süspansiyon 3.800 × g'de 10 dakika santrifüj edildi, süpernatant ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra pelletler PBS ile tekrar yıkandı. Son olarak pelet, pankreatin %0,1 w/v

(Sigma-Aldrich), safra tuzu %0,15 w/v, pH=8.0 içeren simüle bağırsak sıvısında yeniden süspanse edilerek 37°Cde 3 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda MRS agar üzerinde gastrointestinal sistem koşullarına direnç gösteren koloni sayımı yapıldı. Sayım yapıldıktan sonra izolatların canlılık düzeyleri aşağıdaki formüle göre hesaplaması yapıldı.

Canlılık düzeyi (%) = [Değiştirilmiş koşullarda hayatta kalan hücre sayısı (log kob/mL) / Başlangıçta inoküle edilen hücre sayısı (log kob/mL)] x 100

Hücre yüzey hidrofobisitesi

Elde edilen *Lpb. plantarum* suşlarının hidrofobisitelerinin bir ölçüsü olan apolar bir çözücüye yapışma potansiyelidir. MRS broth içeresine inoküle edilen *Lpb. plantarum* suşları 37°C'de 18 saat boyunca anaerobik olarak inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda elde edilen örnekler 15 dakika boyunca 6000 x g'de santrifüjlendi. Santrifüj sonunda süpernatant ortamdan uzaklaştırılarak örnekler 2 kez PBS tamponu (pH 7) ile yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işleminden sonra peletler PBS tamponu ile optik yoğunluğu 0,6-0,8 olana kadar seyreltildi. Yeniden süspanse edilen suşlardan 3 ml alınarak üzerine apolar bir çözücü olan kloroform'dan 1 ml eklendi her bir örnek oda sıcaklığında 15 dakika boyunca inkübe edildi ve inkübasyon süresi biten her bir örnek 3 dakika boyunca vorteks işlemine tabii tutuldu. Vorteks işleminden sonra örnekler tekrardan oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda örnekler OD600 de absorbans değeri ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanarak suşların hücre yüzey hidrofobisitesi yüzde olarak değerlendirildi (Barzegar *et al.* 2021).

%Hidrofobiklik= [(OD0-OD) / OD0] x 100

***Lactiplantibacillus plantarum* Suşlarının Gıda Güvenliği**

Antibiyotik duyarlılığı

Lpb. plantarum, Gram pozitif ve LAB grubuna dahil olan bir bakteri türü olduğu için yapılan literatür taramasında elde edilen bilgiler ile uygun antibiyotik diskleri tercih edildi. Öncelikle MRS agar'da 24 boyunca 37°C'de anaerobik olarak aktivite edilen suşlar inkübasyon süresi sonunda elde dilen kolonilerden seçilerek MRS broth içerisine inoküle edildi ve 18 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda her bir örnek için MRS broth'dan alınan örnekler MRS agar içerisine eküvyon çubuğu ile ekimi yapıldı. Ekim sonrasında dörderli ve üçerli gruplara ayrılan petrilere 30 µg Amoxicillin (AML), 30 µg Chloramphenicol (C), 5 µg Ofloxacin (OFX), 50 µg Sulfamethoxazole (SMX), 5 µg Ciprofloxacin (CIP), 10 µg Ampicillin (AMP) ve 30 µg Kanamycin (K) antibiyotik diskleri yerleştirildi. Hazırlanan petriler 18 saat

boyunca 37°C'de anaerobik olarak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda petrilerde meydana gelen zon çapları ölçülerek değerlendirilme yapıldı (Barzegar *et al.* 2021).

Hemolitik aktivitelerinin değerlendirilmesi

LAB'ın hemolitik aktivitesini değerlendirmek, özellikle probiyotik güvenlik analizlerinde önemli bir adımdır. Bu test, bakterilerin kan hücrelerine parçalayıp parçalamadığını belirlemek için kullanılır. *Lpb. plantarum* suşlarının hemolitik aktivitelerini değerlendirmek için öncelikle örnekleri aktivite etmek için MRS agar üzerine ekim yapılarak 48 saat boyunca 37°C'de anaerobik olarak inkübe edildi. İnkübasyon sonrası seçilen koloniler %7'lik koyun kanı içeren Tryptic Soy Agar (TSA) üzerine ekimi yapılarak 48 saat boyunca 37°Cde anaerobik olarak inkübe edildi. İnkübasyon sonunda besiyerinde meydana gelen değişiklikler kaydedildi. Elde edilen değişiklikler 3 kategoride değerlendirildi. Bunlar; alfa, beta ve gama hemolizlerdir (Lee *et al.* 2022).

Antibakteriyel aktivite değerlendirilmesi

Antibakteriyel aktivite için disk difüzyon yöntemi kullanıldı. Bu amaçla *Salmonella typhimurium* ATCC (700408), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43894) ve *Yersinia enterocolitica* (ATCC 27729) gibi gıda patojenleri kullanıldı. Öncelikle kullanılacak olan bakteriler Nutrient Agar besiyerine ekimleri yapılıp ardından sıvı besiyerine aktarıldı ve 1 gece inkübe edilen bakteriler, OD 600'de ölçümü yapıldı. Ölçüm sonucu OD600 nm ≈ 0,4 olacak şekilde fizyolojik suyla süspanse edilen solüsyondan 100µL alınarak petrilere eküvyon çubuğu yardımı ile ekim yapıldı. Pozitif kontrol olarak kloramfenikol kullanılırken negatif kontrol olarak ise Nutrient broth (NB) kullanıldı ve test edilecek olan *Lpb. plantarum* suşlarının kültür örnekleri, fizyolojik su ile süspanse edilip her bir örnekten 20-25 µL alınarak boş disklere emdirildi. Son olarak hazırlanan petriler, 37°C'de 18 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrası elde edilen zonların çapları ölçüldü.

Biofilm oluşumunun değerlendirilmesi

Elde edilen *Lpb. plantarum* suşlarının biofilm aktivitesini değerlendirmek için Congo Red Agar (CRA) yöntemi kullanılarak belirlendi. CRA'a besiyerine ekim yapılmadan önce besiyeri ortamı geliştirildi. Bunun için; 37 g/L MRS broth, 0,8 g/L glikoz ve 10 g/L bakteriyel agar 1000 mL saf su içerisinde homojen hale gelinceye kadar karıştırma işlemi yapıldı ve 121°C'de 15 dakika boyunca sterilizasyon işlemine tabii tutuldu. Otoklavdan çıkan besiyerinin sıcaklığı 50°C'e olana kadar soğuması beklenildi ve daha sonra ortama 0,8 g/L Congo Red eklenerek karıştırma işlemi yapıldı. Petri içerisine dökülen CRA besiyerlerinin bir gecelik

inkübasyonundan sonra MRS agar da geliştirilen suşların ekimi yapıldı. Ekim yapılan örnekler 37°C'de 24 saat boyunca anaerobik olarak inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda kolonilerde meydana gelen renk değişimi değerlendirilerek sonuçlar kaydedildi (Landeta *et al.* 2013).

Jelatinaz aktivitesinin değerlendirilmesi

LAB'ların güvenli tür olarak kabul edilebilmesi için ön koşullardan bir olan jelatinaz aktivitesini bakımından negatif olmasıdır (Icer *et al.* 2023). Bu yüzden suşların jelatinaz aktivitesi bakımından değerlendirmek için öncelikle MRS agar besiyerinde mikroorganizmalar 48 saat boyunca 37°C'de anaerobik olarak geliştirildi. Daha sonra jelatinaz aktivitesi için %5'lik jelatin içeren MRS agar besiyeri hazırlandı. Hazırlanan besiyerine suşların ekimi yapıldı ve 72 saat boyunca 37°C'de anaerobik olarak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda petriler 4 saat botunca 4°C'de bekletildi. İnkübasyon süresi sonunda koloniler etrafında zon meydana gelmemesi negatif olarak kabul edildi ve pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 25923 kullanıldı (Rastogi *et al.* 2020).

***Lactiplantibacillus plantarum* 'un Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi**

***msa* ve *bsh* Gen Varlığının PCR metodu ile belirlenmesi**

Lpb. plantarum suşları, safra tuzu hidrolazını (BSH) ve mannoz-spesifik adhesini (MSA) kodlayan *bsh* ve *msa* genlerinin varlığını araştırmak için PCR yöntemi kullanılarak belirlendi. PCR primerleri, *Lpb. plantarum WCFS1'in bsh* ve *msa* gen dizileri kullanılarak yapıldı. Primerlerin sahip olduğu diziler aşağıda verilmiştir.

- 5′–CGTATCCAAGTGCTCATGGTTTAA–3′ (bsh için, *bsh* geninin 150568 ila 150593 nükleotid pozisyonu),
- *5′–ATGTGTACTGCCATAACTTATCAATCTT–3′ (bsh rev, 151487 ila* 151460 nükleotid pozisyonu),
- *5′–GCTATTATGGGGATTACGTTG–3′ (*msa için, *msa* geninin 133061 ila 133081 nükleotid pozisyonu),
- 5′–CTGTCTTGACAATAGCCATATA–3′ (msa rev, 134801 ila 134781 nükleotid pozisyonu).

Tablo 4. msa ve bsh PCR İşleminde Kullanılan Reaktiflerin Yoğunluk ve Miktarları

Reaktif	Konsantrasyon	Miktar (µl)
PCR buffer	10X	3
dNTP	25 mM	0,6
$MgCl_2$	25 mM	1,8
msa P1	5 pmol	3
msa P2	5 pmol	3
bsh P1	5 pmol	3
bsh P2	5 pmol	3
DMSO	%99	1,2
ddH_2O	-	12,1
Kalıp DNA	100 ng	5
Taq DNA polimeraz	-	0,3

PCR programı: Örnekler PCR cihazına konuldu ve PCR programı için cihaz şu şekilde programlandı.

- 94 °C 4 dakika (Denatürasyon)
- 94°C 30 saniye (Denatürasyon)
- 57°C 30 saniye (Bağlanma)
- 72°C 1 dakika (Uzama)
- 72°C 7 dakika (Uzama)

30 DÖNGÜ

Lipolitik aktivitenin değerlendirilmesi

Elde edilen suşların lipolitik aktivitesini değerlendirmek için Tributirin agar besiyeri kullanılarak değerlendirme yapıldı. Öncelikle MRS agar besiyerinde geliştirilen suşlar 15 ml'lik MRS broth içerisinde 37°C'de 18 boyunca anaerobik olarak geliştirildi. İnkübasyon süresi sonunda örneklerden 10 µL alınarak daha önceden hazırlanmış Tributirin agar besiyeri üzerine yerleştirilmiş boş disklere emdirildi ve örnekler 72 saat boyunca 37°C'de anaerobik olarak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda agar yüzeyinde meydana gelen zon çapları ile değerlendirme yapıldı (Sonar and Halami 2014).

Proteolitik aktivitenin değerlendirilmesi

Proteolitik aktivitenin varlığını tespit etmek için Kalsiyum Kazeinat Agar besiyeri kullanıldı. Öncelikle *Lpb. plantarum* suşları, MRS broth içerisinde 37°C'de 18 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda önceden hazırlanan Kalsiyum Kazeinat Agar besiyerine örnekten 10 µL alınarak drilgaski öze yardımı ile ekim yapıldı ve 37°C'de anaerobik

olarak 3 gün boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda proteolitik aktivite bakımından pozitif olan suşların zon çapları mm cinsinden ölçümü yapılarak değerlendirildi (Landeta *et al.* 2013).

Asitleştirme yeteneğinin değerlendirilmesi

Asitleştirme yeteneği, LAB'lar için çok değerli bir parametredir çünkü fermentasyon işlemi için gereklidir. Elde edilen *Lpb. plantarum* suşları, öncelikle MRS agar besiyerinde anaerobik olarak 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda gelişen bakteriler MRS broth içerisine inoküle edilerek çalkalamalı inkübatörde 18 saat boyunca 37°C'de anaerobik olarak inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda örnekler, 6000x g'de 15 dakika boyunca santrifüj işlemine tabi tutuldu ve süpernatant ortamdan uzaklaştırıldı. Elde edilen peletler steril ve soğuk PBS ile yıkanarak önceden hazırlanmış 10 mL skim milk powder ile süspanse edildi. Elde edilen yeni süspansiyonlar, 37°C'de 6 ile 24 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon süreleri sonunda örneklerin pH değerleri ölçüldü ve son olarak pH değerleri hesaplanarak değerlendirilme yapıldı. Kontrol olarak da *Lpb. plantarum* ATCC 8014 standart suşu kullandı (Barzegar *et al.* 2021).

Antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi

Elde edilen suşların antioksidan aktivitesinin tayini için 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) tercih edildi. Suşlar öncelikle MRS agar besiyeri üzerinde 48 saat boyunca 37°C'de anaerobik olarak inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda örnekler, MRS broth içerisine inoküle edilerek 24 saat boyunca 37°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda örnekler 6000 xg'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi ve elde edilen süpernatanttan 0,2 ml alınarak yeni tüplere aktarıldı. Önceden hazırlanmış olan DPPH solüsyonundan her bir örneğe 2,8 mL eklendi. Daha sonra elde edilen karışım, karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda örnekler 6000 xg'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Santrifüj sonunda örneklerden 200 µl alınarak 96'lık well microplates'e aktarıldı ve 517 nm'de ELISA okuyucu da okuması yapıldı ve standart olarak da askorbik asit kullanıldı (Barzegar *et al.* 2021).

%DPPH+ = [1- (Asample / A control)] x 100

ß-Galaktosidaz ve enzimatik aktivitelerin değerlendirilmesi

Enzimatik aktivitelerin tayini için API-ZYM kiti kullanıldı ve sonuçlar üretici endikasyonlarına göre yapıldı (bioMérieux).

ARAŞTIRMA BULGULARI

Örnek Toplanması ve Bakteri İzolasyonu

Erzurum merkez olmak üzere çevre ilçe ve köylerden 50 adet çiğ süt örneği toplandı ve deney sürecine kadar +4 derecede muhafaza edildi. Elde edilen süt örnekleri fizyolojik su ile seyreltilerek MRS ve M17 agar üzerine ekimi yapıldı ve ekim sonucunda 163 bakteri elde edildi.

Bakterilerin Fenotipik Karakterizasyonu

Seçilen bakterilerin katalaz oksidaz ve Gram özellikleri açısından incelenerek Gram pozitif, katalaz ve oksidaz negatif olan 43 izolat seçildi.

Seçilen İzolatların Moleküler Yöntemlerle Tanılarının Yapılması

Seçilen 43 izolata yapılan spesifik PCR sonucunda elde edilen sekans dizi sonuçları BioEdit programı kullanılarak anlamlı hale getirildi. Sekans sonuçlarından 21 tanesi *Lpb. plantarum* olarak değerlendirildi (Adıgüzel, 2016; A'inurrofiqin *et al.* 2022).

Lactiplantibacillus plantarum Suşlarının Probiyotik Analizi

Düşük pH direnci

Düşük pH koşullarına direnç, probiyotik seçimi için önemli kriterlerden biridir çünkü ince bağırsağa geçmeden önce mide ortamının düşük pH' a maruz kalacaktır. Elde edilen 21 suşun sadece 8 tanesi düşük pH koşullarına direnç gösterdiği belirlendi. *Lpb. plantarum* suşlarının pH 2 ve 3'e karşı gösterdikleri direnç tablo 5 ve 6'da gösterildi.

Tablo 5. Elde Edilen Suşların pH 3'e Karşı Gösterdikleri Direnç CFU/ml Cinsinden Değerleri

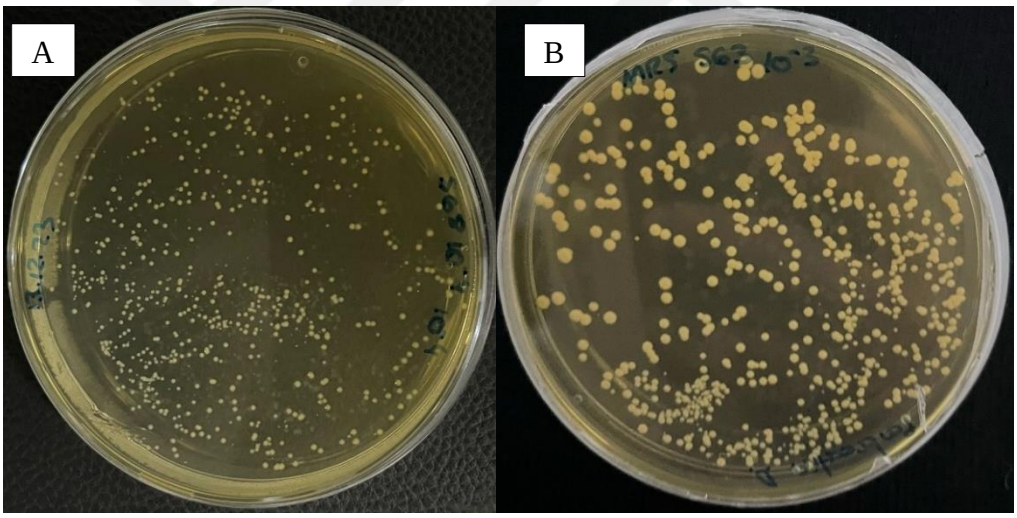
İzolatlar	**0**	**1**	**2**	**3**
SG1	7,44	7,38	7,32	7,16
SG2	7,48	7,44	7,37	7,30
SG3	7,46	7,42	7,41	7,39
SG4	7,48	7,45	7,38	7,30
SG5	7,43	7,37	7,18	6,43
SG6	7,48	7,45	7,14	6,68
SG7	7,48	7,39	7,18	6,81
***Lpb. plantarum* ATCC 8014**	7,68	7,60	7,51	7,43
SG9	7,42	7,37	7,31	7,26

Tablo 6. Elde Edilen Suşların pH 2'ye Karşı Gösterdikleri Direnç CFU/ml Cinsinden Değerleri

İzolatlar	0	1	2	3
SG1	7,39	7,37	7,06	6,58
SG2	7,45	7,40	7,31	7,24
SG3	7,44	7,42	7,35	7,26
SG4	7,46	7,42	7,37	7,30
SG5	7,41	7,35	7,09	6,71
SG6	7,38	7,31	7,10	6,82
SG7	7,36	7,27	7,12	6,70
***Lpb. plantarum* ATCC 8014**	7,46	7,39	7,32	7,27
SG9	7,45	7,41	7,30	7,22

Simüle edilmiş gastrik ve bağırsak suyuna direnç

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için değişen mide ve bağırsak ortamlarına karşı dirençli olması gerekmektedir. Laboratuvar ortamında hazırlan mide ve bağırsak ortamların da yapılan deney sonucunda 8 izolatın ortam koşullarına direnç gösterdiği belirlendi. Hayatta kalan koloni sayısı CFU/mL olarak ifade edilerek sonuçlar tablo 7'de gösterildi. Yapılan deney sonucunda elde edilen petri görüntüleri şekil 4'te gösterildi.



Şekil 4. A) *Lpb.plantarum* SG9 suşunun pepsin direnci; B) *Lpb.plantarum* SG3 suşunun pankreatin ve safra direnci

Tablo 7. Simüle Edilmiş Gastrik ve Bağırsak Suyuna İzolatlarının Direnci

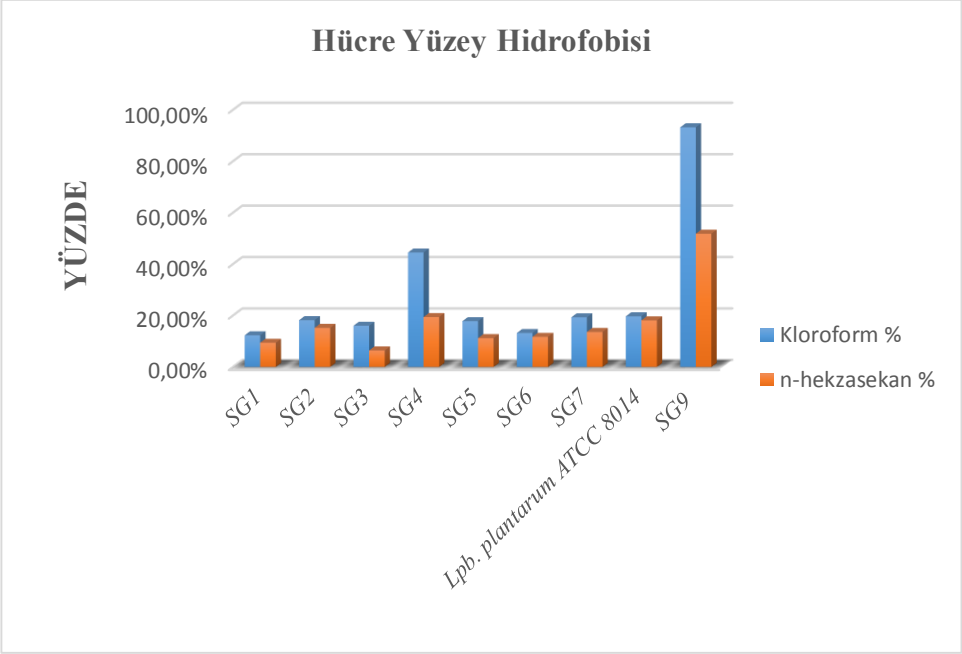
İzolatlar	Pepsin direnci	Pankreatin ve safra direnci
SG1	6,40	6,22
SG2	6,38	6,10
SG3	6,43	6,07
SG4	6,47	6,16
SG5	6,20	5,79
SG6	6,16	5,48
SG7	6,17	5,62
***Lpb. plantarum* ATCC 8014**	6,40	6,09
SG9	6,43	6,03

Hücre yüzeyi hidrofobiklik deneyi

Suşların hidrofobisitesinin bir ölçüsü olan polar olmayan bir çözücüye yapışma potansiyelidir. Deney sürecinde iki farklı polar çözücü kullanılarak OD600'da spektrofotometrik ölçüm alındı ve yüzde hesaplaması (şekil 5'te) yapılarak sonuçlar tablo 8'de gösterildi. Hücre yüzey hidrofobikliği tek bir sebebe tabii değildir. Hücre yüzeyi, hücre duvarı ve sitoplazma içeriğine veya gen durumuna göre değişiklik göstermektedir.

Tablo 8. *Lpb. plantarum* Suşlarının Hücre Yüzey Hidrofobi Yüzdesi

İzolatlar	Kloroform %	n-hekzadekan %
SG1	12,3	9,4
SG2	18.2	15,2
SG3	16	6,4
SG4	44.5	19,4
SG5	17,8	11,2
SG6	13,2	11,7
SG7	19,3	13,6
***Lpb. plantarum* ATCC 8014**	19,7	18,1
SG9	93,2	51,8



Şekil 5. *Lpb. plantarum* suşlarının hücre yüzey hidrofobisite yüzde gösterimi

Lactiplantibacillus plantarum'un Gıda Güvenliği

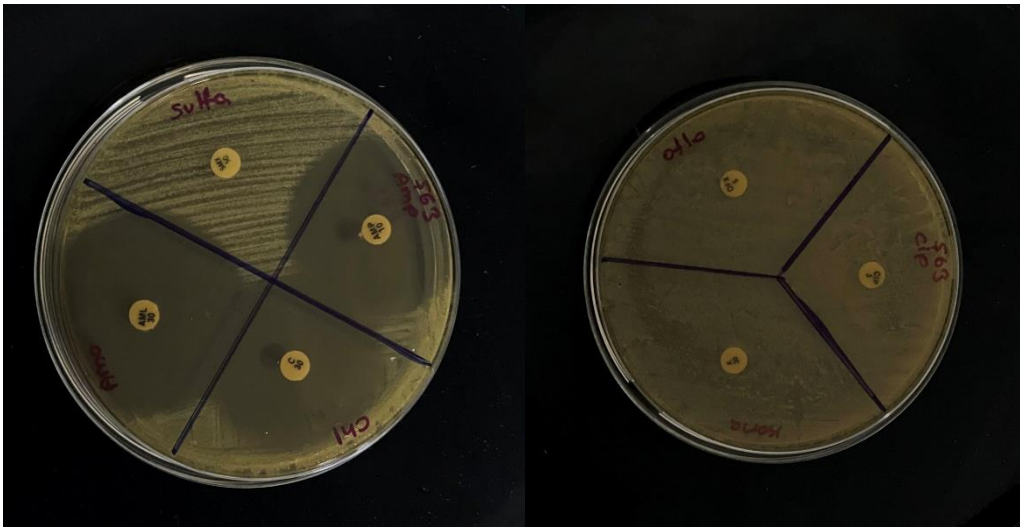
Antibiyotik duyarlılığı

Bağırsak mikrobiyotasında bulunan bakteriler dışarıdan alınan antibiyotiklerden olumlu veya olumsuz şekilde etkilenebilir. Patojen bakteriler ortamdan elemine olabilmesi için

kullanılan antibiyotikler bağırsak mikrobiyotası için elzem olan bakteriler üzerinde de olumsuz etkiye sahip olabilir. Bu yüzden probiyotik potansiyeli açısından gerekli olan bakteriler antibiyotik kullanımı sırasında duyarlı olmalıdırlar. Yapılan deney sonuçlarında elde edilen veriler mm cinsinden hesaplanarak tablo 9'da ifade edildi. Elde edilen inhibisyon zon bölgeleri şekil 6'te gösterildi.

Tablo 9. *Lpb. plantarum* Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları

İnhibisyon Bölgesi (mm cinsinden)							
Antibiyotikler / İzolatlar	**AMP (10 µg)**	**C (30 µg)**	**AML (30 µg)**	**SMX (50 µg)**	**CIP (5 µg)**	**K (30 µg)**	**OFX (5 µg)**
SG1	50.00	52.00	51.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SG2	45.00	41.00	53.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SG3	50.00	47.00	53.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SG4	47.00	50.00	54.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SG5	47.00	53.00	53.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SG6	52.00	55.00	52.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SG7	52.00	50.00	55.00	0.00	0.00	0.00	0.00
***Lpb. plantarum* ATCC 8014**	49.00	50.00	53.00	0.00	0.00	0.00	0.00
SG9	47.00	52.00	53.00	0.00	0.00	0.00	0.00

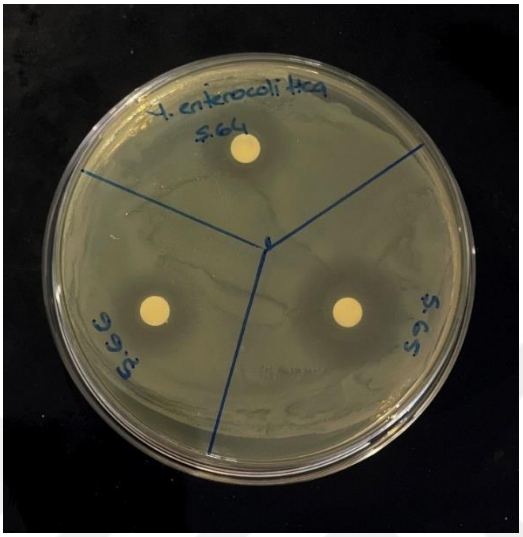


Şekil 6. *Lpb. plantarum* SG3'ün kullanılan antibiyotiklere karşı meydana getirdiği inhibisyon zon bölgeleri

Antibakteriyel aktivite

Gıda kaynaklı ya da gastrointestinal sistemde yer alan patojen bakterilerin kontrol altına alınmasında, antibiyotiklere alternatif olarak doğal antibakteriyel stratejilerin kullanımı hem direnç gelişiminin sınırlandırılması hem de konak mikrobiyotasının stabilitesinin sağlanması

açısından oldukça önem arz etmektedir. *Lpb. plantarum* suşlarının ürettiği bir metabolit olan bakteriyosinler; bakteriyosidal, bakteriyostatik ve bakteriyolitik etkiye sahiptirler. Bu özellikten dolayı hayati risk taşıyan gıda patojenleri üzerinde, elde ettiğimiz 8 izolatın antimikrobiyal etkisine test edildi ve deney sonuçları tablo 10'da mm cinsinden ifade edildi. Suşların gıda patojenleri üzerinde meydana getirdiği inhibisyon zon bölgeleri şekil 7'de gösterildi.



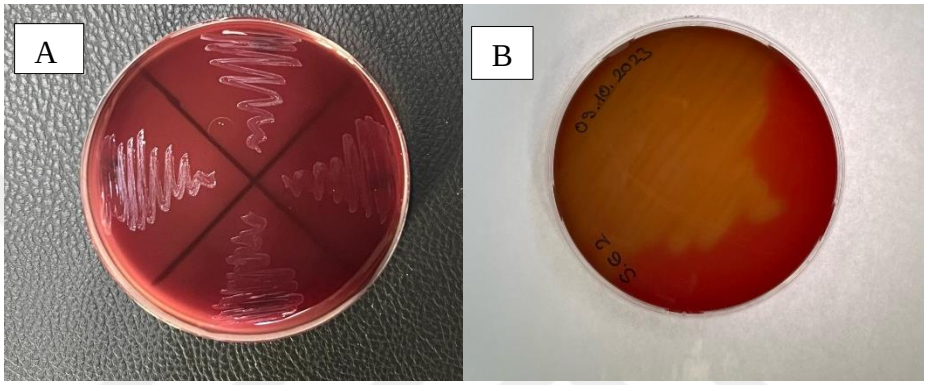
Şekil 7. *Y. enterocolitica* ATCC 27729 standart suşuna karşı *Lpb. plantarum* SG4, SG5 ve SG6 suşlarının etki ettiği inhibisyon zon bölgeleri

Tablo 10. *Lpb. plantarum* Suşlarının Gıda Patojenleri Üzerindeki Antibakteriyel Aktivitesi

	İnhibisyon Bölgesi (mm cinsinden)							
İzolatlar	***E. coli* O157 :H7**	***Y. enterocolitica* (ATCC 27729)**	***Y. pseudotuberculosis* (ATCC 911)**	***B. cereus* (ATCC 11778)**	***S. typhimurium* (ATCC 14028)**	***K. pneumoniae* (ATCC 13883)**	***L. monocytogenes* (RSKK 474)**	***S. aureus* (ATCC 25923)**
SG1	8.00	14.00	10.00	7.00	7.00	14.00	5.00	10.00
SG2	8.00	9.00	10.00	13.00	8.00	18.00	7.00	11.0
SG3	8.00	10.00	13.00	10.00	6.00	14.00	5.00	9.00
SG4	13.00	13.00	13.00	10.00	9.00	15.00	7.00	10.00
SG5	7.00	15.00	10.00	10.00	8.00	18.00	6.00	10.00
SG6	9.00	14.00	12.00	7.00	9.00	18.00	7.00	8.00
SG7	7.00	14.00	9.00	11.00	8.00	13.00	5.00	9.00
***Lpb. plantarum* ATCC 8014**	5.00	13.00	8.00	10.00	9.00	15.00	6.00	11.00
SG9	11.00	12.00	8.00	12.00	10.00	0.00	6.00	10.00

Hemolitik aktivite

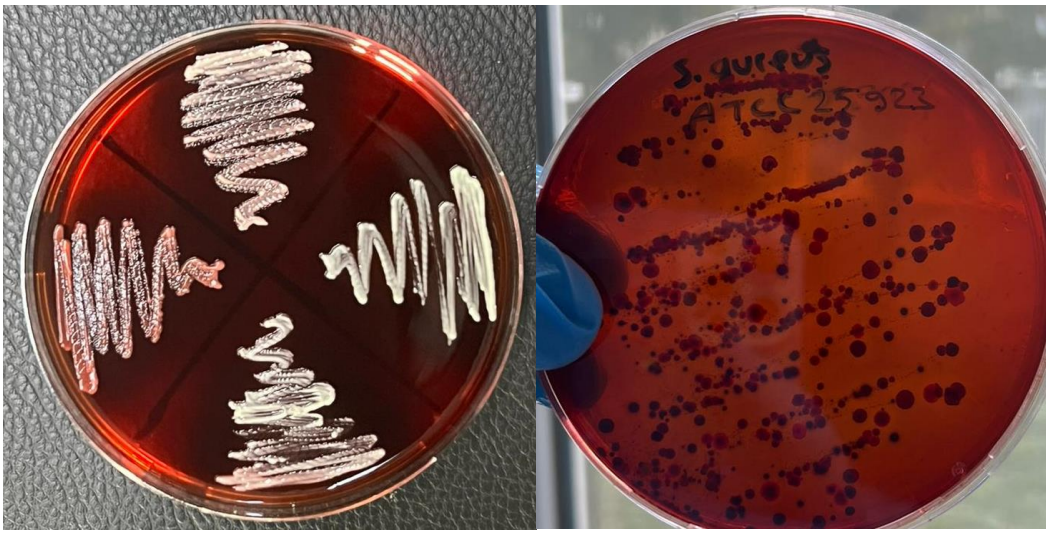
Lpb. plantarum suşlarının hemolitik aktivitesi %7'lik kanlı TSA üzerinde kültüre edilmesi ile incelendi. Mikroorganizmaların sahip olduğu 3 farklı hemolitik aktivite çeşidi bulunmaktadır. Bunlar; Alfa, beta ve gama hemolizdir. Alfa hemolizde; koloniler etrafında tam zon gözlenmez ve koloni etrafında yeşil renkli bir görüntü olur. Beta hemoliz, alyuvarlar parçalanır ve büyük zonlar meydana gelir. Gama hemoliz, zon meydana gelmez ve hemoliz aktivitesinin yokluğunu gösterir. Deney sonucunda 8 izolatında gama hemoliz olduğu belirlendi ve pozitif kontrol olarak *S. aureus* ATCC 25923 kullanıldı. Deney sonuçları şekil 8'de gösterildi.



Şekil 8. A) *Lpb. plantarum* SG2, SG3, SG4 ve negatif kontrol *Lpb. plantarum* ATCC 8014 suşları gama hemolitik aktivite; B) Pozitif kontrol *S. aureus* ATCC 25923

Biyofilm oluşumu

Gıda yüzeylerinde biyofilm oluşumu, patojenler başta olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar için uygun bir yaşam alanı oluşturarak, gıda kaynaklı bozulmaların ve kontaminasyonların artmasına neden olmaktadır. Bu çalışmada biyofilm üretiminin değerlendirilmesi amacıyla Congo Red Agar (CRA) yöntemi kullanıldı. CRA yönteminde, biyofilm oluşturan mikroorganizmalar, ekzo-polisakkarit üretimine bağlı olarak siyah renkte koloni oluştururken; biyofilm üretmeyen izolatlar beyaz ya da pembe renkte koloniler meydana getirir. Deney sonuçlarına göre, incelenen izolatların tamamı beyaz veya pembe renkte koloni oluşturmuş olup, bu sonuçlar test edilen suşların biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olmadığını göstermektedir ve sonuçlar Şekil 9'da gösterildi.



Şekil 9. A) *Lpb.plantarum* biyofilm negatif suşları; B) biyofilm pozitif olan *S.aureus* ATCC 25923 standart suşu

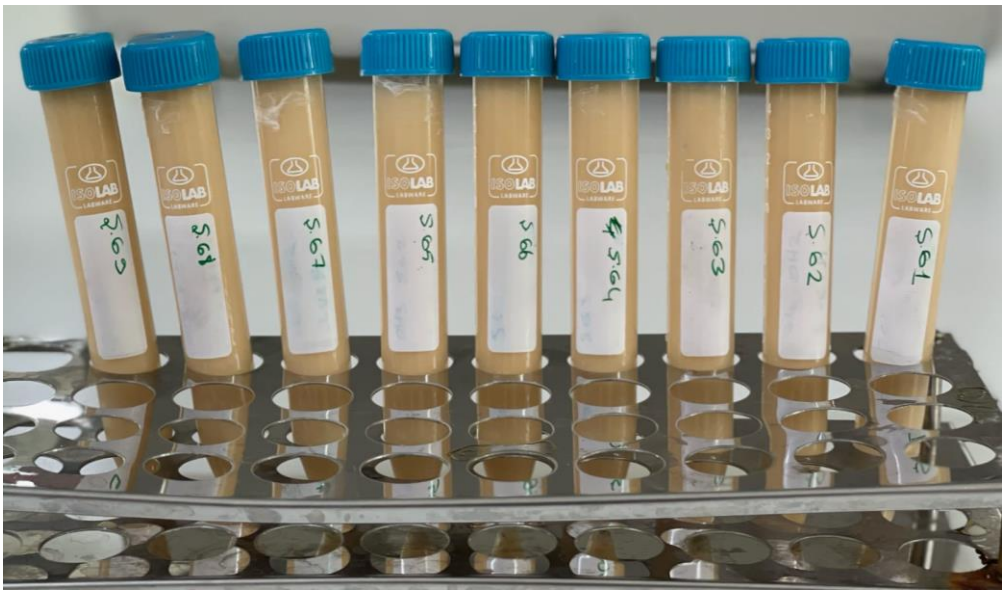
Jelatinaz aktivitesi

Jelatinaz aktivitesi bazı *Lpb. plantarum* suşlarında varlığı ifade edilmiştir fakat bu durum oldukça azdır. Jelatinaz aktivitesi sonucunda bakteri protein ürünlerini hidroliz eder. Jelatinaz aktivitesinin artması, fermente gıdaların doku ve aroma kalitesini değiştirebilir, gıda güvenliği açısından risk oluşturabilir ve mikroorganizma rekabet dinamiklerini etkileyebilir. Ancak, kontrollü ve bilinçli kullanıldığında, biyoteknolojik ve endüstriyel uygulamalarda avantaj sağlayabilir. Elde edilen izolatların jelatinaz negatif olduğu belirlendi.

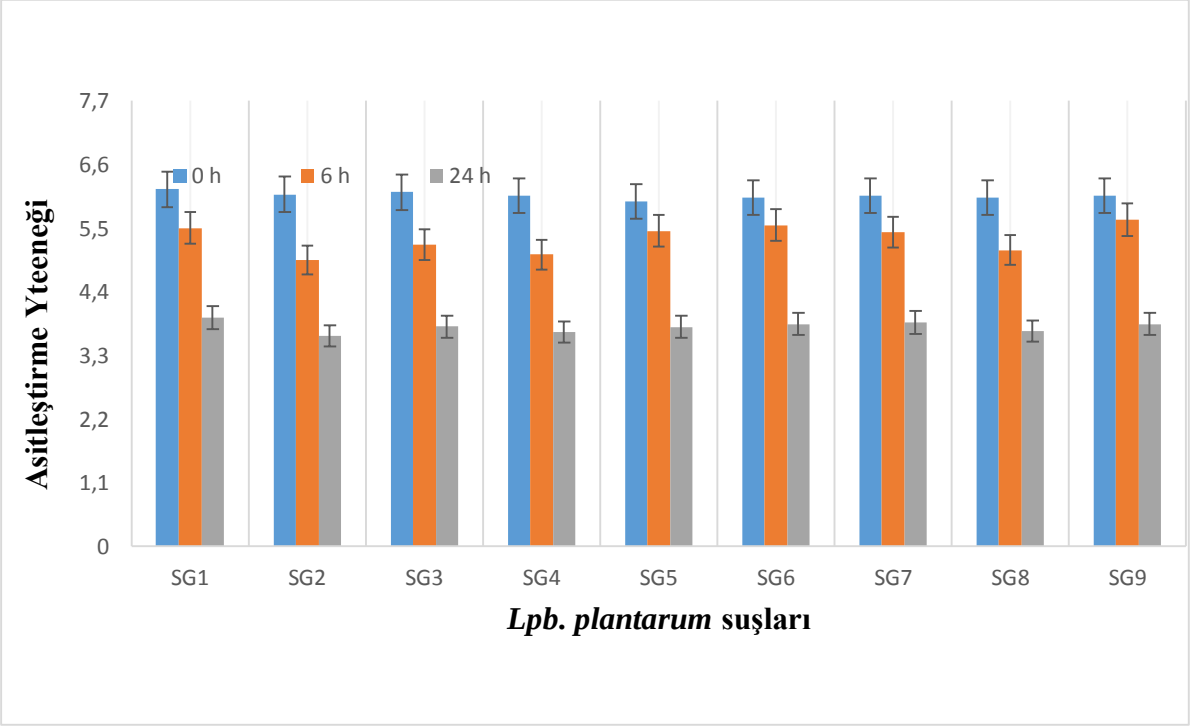
Lactiplantibacillus plantarum Suşlarının Teknolojik Özellikleri

Asitleştirme yeteneği

LAB'larda bulunan asitleştirme yeteneği sağlık, gıda güvenliği ve teknolojik özellikler açısından çok değerlidir. LAB'ların asitleştirme yeteneği gıdanın raf ömrünü uzatır, fermente gıdaların tat, doku ile aromasını geliştirir, bağırsak sağlığını destekleyerek probiyotik etki gösterir ve son olarak endüstriyel biyoteknolojide koruyucu ve fonksiyonel bileşiklerin üretimini artırır. Bu bilgiler ışığında skim milk powder kullanılarak izolatların asitleştirme yeteneğinde meydana gelen pH değerleri kullanılarak hesaplama yapıldı ve sonuçlar Tablo 11'da gösterildi. Deney sürecinde meydana gelen fermentasyon işlemi Şekil 10'da gösterildi.



Şekil 10. *Lpb. plantarum* suşlarının asitleştirme yeteneği



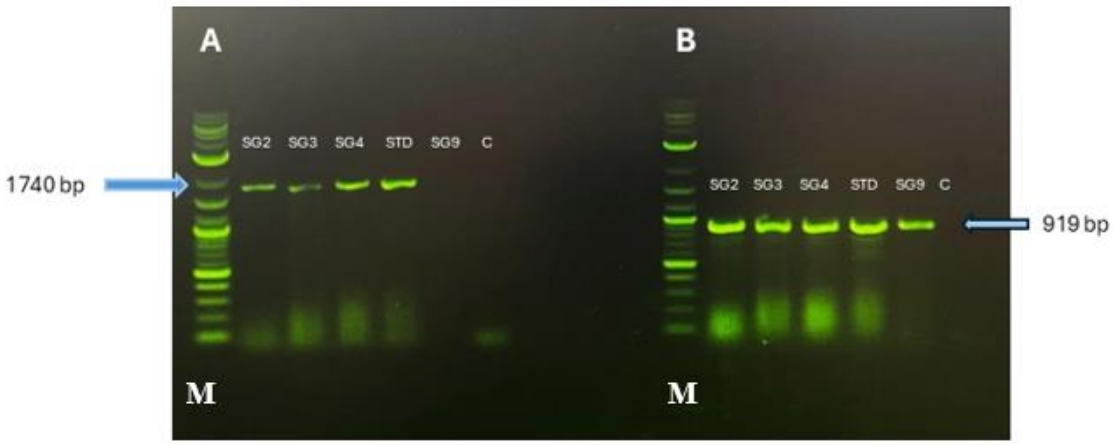
Şekil 11. *Lpb. plantarum* suşlarının asitleştirme yeteneği deneyinde 0, 6 ve 24. saatte meydana getirdikleri pH farkları

Proteolitik ve lipolitik aktivite

Asitleştirme yeteneğinde seçilen en iyi 5 suş ile devam edildi. Proteolitik aktivite için kullanılan kalsiyum kazeinat agar ve lipolitik aktivite için kullanılan Tributyrin Agar besiyerlerinde herhangi bir zon veya açılma meydana gelmemiştir.

msa ve *bsh* gen varlığının belirlenmesi

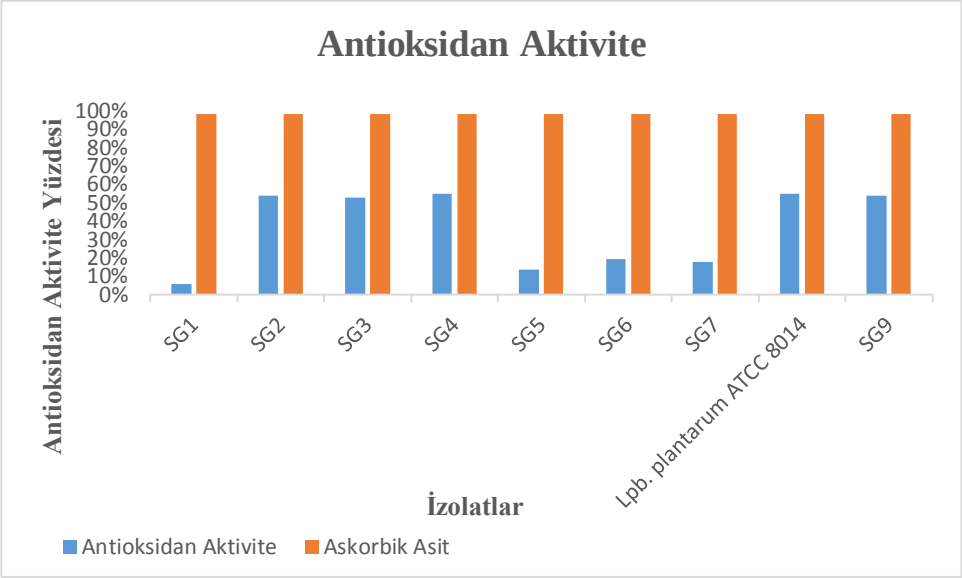
Lpb. plantarum suşlarının, Safra tuzu hidrolazı (BSH) ve mannoza özgü adhezin (MSA) genlerin varlığını belirlemek için spesifik PCR metodu kullanıldı. PCR sonucunda msa gen varlığı SG2, SG3 ve SG4 izolatlarında, bsh gen varlığı ise SG2, SG3, SG4 ve SG9 izolatlarında pozitif olduğu belirlendi ve kontrol olarak standart suş olan *Lpb. plantarum* ATCC 8014 suşu kullanıldı. Elde edilen jel görüntüsü Şekil 12'de gösterildi.



Şekil 12. A) *Lpb.plantarum* SG2, SG3. SG4, *Lpb. plantarum* ATCC 8014 ve SG9 suşlarının *msa* gen varlığının jel elektroforez görüntüsü; B) *Lpb.plantarum* SG2, SG3. SG4, *Lpb. plantarum* ATCC 8014 ve SG9 suşlarının *bsh* gen varlığının jel elektroforez görüntüsü.

Antioksidan aktivite

Genellikle GRASS olarak kabul edilen LAB'lar, çeşitli substratlar, fermente gıdalar ve içeceklerde oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Özellikle; yoğurt, süt, peynir, sebze, et ve et ürünleri gibi maddeler de bulunur ve mükemmel probiyotik kaynağı olarak kabul edilmektedir. LAB'ların antioksidan aktivitesi sayesinde bağışıklık aktivitesini artırma, tümör riskini azaltma ve ROS'ları ortamdan uzaklaştırma gibi özelliklere sahiptir. Bu nedenle biyolojik tedavi yöntemi olarak tercih edilmektedirler (Shi *et al.* 2019; Jung *et al.* 2019). Bunun sonucunda elde edilen izolatlara antioksidan aktivite deneyi yapıldı ve elde edilen izolatlardan sadece 4 tanesi pozitif sonuç verdi. OD değerleri [1-(Asample/Acontol)]x100 denklemi kullanılarak hesaplama yapıldı. Kontrol olarak *Lpb. plantarum* ATCC 8014 standart suşu kullanıldı. Sonuçlar Şekil 13'de yüzde olarak gösterildi.



Şekil 13. *Lpb. plantarum* suşlarının antioksidan aktivite deney sonuçları

ß-galaktozidaz enzim aktivitesi

API ZYM kiti kullanılarak ß-galaktozidaz enzim varlığı belirlendi. Elde edilen renk değişimleri kit tarafından değerlendirilmesi yapıldı ve sonuçlar Şekil 14'de gösterildi. API ZYM deney kitinde bulunan 14. kuyucukta meydana gelen mavi veya mor menekşe rengi ß-galatozidaz enzimi bakımından pozitif olarak değerlendirilme yapıldı.



Şekil 14. *Lpb. plantarum* SG2 ve SG9 suşlarının ß-galaktozidaz aktivitesinin değerlendirilmesi

SONUÇ VE TARTIŞMA

Düşük pH direnci, *Lpb. plantarum* suşlarının temel özelliklerinden birisidir. Çünkü bakterilerin potansiyel probiyotik bir tür olarak kabul edilebilmesi için özellikle midenin düşük pH (2,0-3,0) koşullarında hücre bütünlüğü koruması gerekmektedir. Elde edilen deney sonuçları log CFU/mL cinsinden hesaplaması yapılarak değerlendirilir ve düşük pH'da 2 veya 3 saatlik inkübasyondan sonra hayatta kalma potansiyeli en az 6,0 log CFU/mL'lik değere sahip olmalıdır.

Ou ve arkadaşların yaptığı çalışmada elde edilen sonuçlarda *Lpb. plantarum* suşlarını üzerinde düşük pH koşullarının canlılık üzerinde etkisinin az olduğu bildirilmiştir. Diğer bir çalışma olan Tian ve arkadaşları yaptığı çalışmada pH seviyesi düştükçe *Lpb. plantarum*'un canlılık seviyesinde azalma meydana geldiği görülmüştür. Bu tez kapsamında yapılan çalışmada elde edilen veriler 7,48 ile 6,43 log CFU/mL olarak hesaplandı ve *Lpb. plantarum* suşların yüksek canlılık düzeyine sahip olduğu belirlendi (Ou *et al.* 2021; Tian *et al.* 2024).

Gastrointestinal sistemde bulunan organların pH seviyeleri sabit değildir. Açlık sırasında midenin pH'ı 1,5 iken yemek yedikten sonra pH 4,5'e kadar değişim göstermektedir. Mikroorganizmaların mide ortamının pH'ına, sindirim enzimlerine, safra tuzlarına, ince bağırsakta bulunan diğer metabolitlere ve pankreas sıvılarına karşı toleranslı olmalıdır. Çünkü bakterilerin hücre duvarı ve hücre zarına etki ederek bütünlüğün bozulmasına neden olmaktadır. Elde edilen izolatların simüle edilmiş gastrointestinal sistem koşullarında canlılık sdüzeyinde önemli bir azalma meydana gelmemelidir. Bir LAB'ın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için 3 ile 4 saatlik inkübasyon sonrasından hayatta kalan bakteri sayısının 6 log CFU/mL altında olmaması gerekmektedir. Barzegar ve arkadaşların yaptığı çalışma sonucunda simüle edilmiş mide ve bağırsak sayına maruz bırakıldığında *Lpb. plantarum B20* suşu dirençli olarak kabul edilmemiştir (Barzegar *et al.* 2021). Dehghani ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma da elde edilen izolatların simüle edilmiş gastrointestinal sitem koşullarına karşı direnç gösterdiğini bildirmişlerdir (Dehghani *et al.* 2023). Bu tez çalışmasında izole edilen *Lpb. plantarum* suşlarının gastrointestinal sistem koşullarına karşı gösterdiği direnç, 6,47 ile 5,79 log CFU/mL arasında değişen değerlerle belirlenmiş olup, elde edilen bu sonuçlar izolatların potansiyel probiyotik özellik taşıyabileceğini göstermektedir.

Hidrofobisite, probiyotik bakteriler için önemli bir parametredir. Bu özellikleri sayesinde, ince bağırsak yüzeyini kolonize etme yeteneğidir. Kolonizasyon bağırsak epiteline

yapışma potansiyelini yorumlamak için çok kritiktir. Hidrofobisite, tek bir parametreye bağlı değildir. Bunların bazıları; hücre yüzey proteinleri ve lipoteikoik asitler tarafından bakterilerin hücre yüzeyine yapışma potansiyeli artmaktadır. Ruiz ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada *Lpb. plantarum* LP48 suşunun %17,17 oranında hidrofobiste özelliği bildirilmiş ve yapışma özelliğinin olduğu kabul edilmiştir (Ruiz *et al.* 2024). Dehghani ve arkadaşları tarafından n-hekzadekan apolar çözücüsü ile yapılan çalışma da *Lpb. plantarum* 8014 suşu %25,1 oranında hidrofobisite özelliği göstermiştir (Dehghani *et al.* 2022). Lee ve arkadaşları tarafından n-hekzadekan ile yapılan hidrofobisite deneyinde *Lpb. plantarum* LM1001 suşunun %12 civarında yapışma potansiyelinin olduğu bildirilmiştir (Lee *et al.* 2024). Aziz ve arkadaşları tarafından yapılan hidrofobisite deneyinde ksilen apolar çözücüsü kullanılmıştır. *Lpb. plantarum* YW11 %65,4, *Lpb. plantarum* K25 %62,8 ve *Lpb. plantarum* 12-3 %68,1 yüzdelerinde yapışma özelliği gösterdiği bildirilmiştir (Aziz *et al.* 2023). Bu tez çalışmasında iki farklı apolar çözücü kullanıldı. Bunlar; n-hekzadekan ve kloroform'dur. *Lpb. plantarum* SG9 suşu, standart suş olan *Lpb. plantarum* ATCC 8014'e göre kloroform 'da %91 oranında hidrofobisite özelliği gösterirken n-hekzadekan çözücüsü ile yapılan deneyde %51,8 oranında hidrofobisite özelliği gösterdi. Elde edilen diğer suşların normal düzeyde ve *Lpb. plantarum* SG9 suşu yüksek düzeyde hidrofobisite özelliğine sahip olduğu belirlendi.

Antibiyotik direnci, sağlık alanında birçok probleme neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda potansiyel probiyotik aday suşların, antibiyotiklere karşı farklı oranlarda direnç gösterdiği bildirilmiştir. Bulgular, suşların güvenli ve etkili probiyotik seçiminde antibiyotiğe karşı duyarlı olması beklenmektedir. Çünkü antibiyotik direncine sahip olan probiyotik bakteriler, bağırsak mikrobiyotasında bulunan fırsatçı veya patojen bakterilere yatay gen transferlerinden bir olan konjugasyon yolu ile gen aktarımı yapabilir. Bunun sonucunda istenmeyen mikroorganizmalar, antibiyotiklere karşı direnç kazanmış olacaktır. Rodriguez ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *Lpb. plantarum* B1 ve B10 suşları; florokinonlar, enfrofloksin, siprofloksasin ve penisilin gibi beta- laktam antibiyotikler de dahil olmak üzere dirençli olduğu bildirilmiştir (Rodriguez *et al.* 2025). Zhang ve arkadaşları tarafından *Lpb. plantarum* suşları ile yapılan başka bir çalışmada; amoksisilin ve kloramfenikole duyarlı ve streptomisine karşı dirençli olduğu bildirilmiştir (Zhang *et al.* 2024). Bu tez çalışmasında *Lpb. plantarum* ATCC 8014 standart suşu ve diğer tüm suşlar ampisilin, kloramfenikol ve amoksisiline karşı duyarlı, Siprofloksasin, Sülfonamid, Kanamisin ve Oflaksasin antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu belirlendi.

Patojen mikroorganizmalar, sağlık açısından büyük tehdit oluşturmaktadırlar. Bu patojenler ile mücadele ederken çeşitli kimyasal ilaçlar kullanılmakta ve bunlara karşı patojen

mikroorganizmalar direnç geliştirmektedirler. İlaç direncinin önüne geçilebilmesi için biyolojik mücadele yöntemleri kullanılmaktadır. Gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalara karşı probiyotik bakteriler tarafından sentezlenen bakteriyosinler ve organik asitlerin üzerlerinde inhibisyon etkisi vardır. Parvin ve Sadras tarafından yapılan antibakteriyel aktivite çalışma da kullanılan *Lpb. plantarum* suşları, Gram pozitif gıda patojenleri, üzerindeki etki Gram negatif bakterilere nazaran daha etkili olduğu bildirilmiştir (Parvin and Sadras 2025). Xu ve arkadaşları tarafından *Lpb. plantarum*'un 3 suşu ile yapılan çalışmada hem Gram negatif hem de pozitif patojenlere karşı yapılan antibakteriyel aktivite deneyinde yüksek düzeyde inhibisyon bölgesi verdiği bildirilmiştir. Yaptığımız bu tez çalışması kapsamında kullanılan *Lpb. plantarum* suşları, kullanılan 8 adet gıda patojenine (5 adet Gram negatif, 3 adet Gram pozitif) karşı en yükseği 18.00 mm en düşüğü de 5.00 mm olan inhibisyon zon bölgeleri oluşturdu.

Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların GRASS statüsüne sahip olması gerekmektedir. Çünkü bazı mikroorganizmalar, eritrositleri parçalayan hemolizin enzimini sentezlerler. Hemolizin enzimi, antijen-antikor reaksiyonlarına, anemiye ve diğer hayati sağlık sorunlarına sebebiyet vermektedirler. Bu nedenle bazı güvenlik değerlendirmeleri yapılmaktadır. Güvenlik değerlendirmelerinin başında hemolitik aktivite vardır. Hou ve arkadaşları tarafından kanlı agar kullanılarak yapılan hemolitik aktivite deneyinde *Lpb. plantarum* LR5-2 suşunun hemoliz negatif olduğu bildirilmiştir (Hou *et al.* 2025). Yapılan bu tez çalışmasında pozitif kontrol olarak kullanılan *S. aureus*, beta hemoliz meydana getirirken *Lpb. plantarum* suşlarının tamamı gama hemoliz özellik gösterdi.

Bir diğer güvelik değerlendirilmesi olan jelatinaz aktivitesi, bakteriler tarafından salgılanan, proteolitik bir enzimdir. Bu enzim, özellikle jelatin, kolajen ve benzeri proteinleri hidroliz ederek daha küçük peptit ve amino asitlere ayrıştırır. Jelatinaz, özellikle bazı bakteri türlerinde virülans faktörü olarak kabul edilmektedir. Jelatinaz, patojenik bakteriler tarafından salgılanan Zn metalloproteinazdır. Bu enzim sayesinde bağ dokularında bulunan proteinleri parçalayarak konak canlıya saldırabilir ve böylece bakterilerin kolay bir şekilde yayılmasına neden olur. Örneğin jelatinaz sentezleyen bakteri; bağırsaktan, karaciğere, dalağa, kalbe ve mezenterik lenf düğümlerine taşınma şansları oldukça yüksektir. Bu yüzden kullanılan probiyotik mikroorganizmalar jelatinaz aktivitesi tarafından negatif olmalıdır (Icer *et al.* 2023; Megur *et al.* 2023). Megur ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada elde edilen *Lpb. plantarum* 40C suşu jelatinaz aktivitesi bakımından negatif olduğu bildirilmiştir. Yaptığımız bu tez çalışmasında elde edilen tüm suşların jelatinaz aktivitesi, tarafından negatif özellik gösterdi.

Yeryüzünde bakteriler, çevresel streslere karşı çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmektedirler. Bu direnç mekanizmalarından birisi de biyofilm oluşumudur. Gıda endüstrisinde biyofilmlerin oluşması, ürünün bozulması, patojenik mikroorganizmaların gıdaya veya yüzeyine yapışma potansiyelleri olduğu için hijyen ve güvenlik nedenleri istenmeyen bir durumdur. Son yapılan çalışmalarda LAB türlerinin biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir. Landeta ve arkadaşları tarafından yapılan Congo Red Agar yönteminde *Lpb. plantarum* suşunun çalışmasında biyofilm oluşturduğu bildirilmiştir (Landeta *et al.* 2013). Yaptığımız tez çalışmasında *Lpb. plantarum* suşlarının biyofilm özelliğinin belirlenmesi için Congo Red Agar yöntemi kullanıldı. Bu yöntem de biyofilm oluşturan bakteriler, ortamda bulunan sakkarozu kullanarak hücre dışına polisakkarit (özellikle selüloz, süksinoglikan, amiloid benzeri maddeler) sentezler. CRA besiyerine katılan Congo red boyası, bu ekzopolisakkarit yapılarıyla hidrojen bağları veya elektrostatik etkileşimler yoluyla kompleksler oluşturur. Bu kompleksler, koloni çevresinde yoğun pigment birikimi meydana getirerek koloni renkleri zamanla siyah renk meydana gelir (Atshan and Shamsudin 2011). Elde ettiğimiz izolatların biyofilm oluşumu bakımından negatif olduğu belirlendi ve gıda güvenliği açısından suşlar güvenli olarak kabul edilebilir.

Asitleştirme yeteneğine sahip olan mikroorganizmalar süt ürünleri için fermente ve gıda katkı maddesi olarak kullanılabilir. Bakterilerin bu özellikleri sayesinde gıda ürünlerinin fiziksel özellikleri dışında tadını ve aromasını da iyileştirebilir. Ledina ve arkadaşları tarafından yapılan asitleştirme yeteneği deneyinde *Lpb. plantarum* suşu, belirli saatler arasında alına pH ölçümünde, elde edilen fark 0.268 olarak bildirilmiştir (Ledina *et al.* 2024). Yaptığımız tez çalışmasında 0,6 ve 24 saatlerde alınan pH ölçümlerinde elde edilen farklar; en düşük 0,41 en yüksekte 2,45 olarak belirlendi ve tüm suşların asitleştirme yeteneğine sahip olduğu belirlendi.

LAB'ların diğer bir özelliği olan proteolitik aktivite hem gıda endüstrisi hem de sağlık açısından birçok önemi vardır. Bu özellik sayesinde mikroorganizmalar, proteinleri daha küçük alt birimlere parçalayarak süt ürünlerinde tat ve aroma oluşumunu desteklerken ayrıca biyolojik olarak aktif peptitlerin açığa çıkmasına neden olur. Bu avantajlarının yanı sıra aşırı miktarda proteolitik aktivite gıdalarda istenmeyen sorunlara yol açabilir. Örneğin; acı tat oluşumu ve ürün içeriğinde bulunan proteinleri parçalayarak bozulmaya neden olurlar (Ledina *et al.* 2024). Ledina ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada elde edilen *Lpb. plantarum* izolatlarının %36 oranında proteolitik aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Yaptığımız tez çalışmasında elde edilen tüm izolatların proteolitik aktivite özelliği bakımından negatif olduğu belirlendi.

Lipolitik aktiviteye sahip olan mikroorganizmalar lipoliz sırasında ortama bir miktar metabolit bırakırlar. Bu metabolitler az da olsa gıdalarda lezzete katkı da bulunurlar. Diğer

yandan metabolitler, katabolik süreçler için substrat görevi görmesi nedeniyle süt ürünlerinde arama gelişimine destek olurlar. Olumlu etkilerinin yanı sıra ortamda fazla oranda lipolitik aktivitenin olması gıdalarda duyusal sorunlara neden olacağından başlatıcı kültürlerde istenmeyen bir durumdur (Ledin *et al.* 2024). Ledina ve arkadaşları rafından yapılan çalışmada elde edilen *Lpb. plantarum* suşların da pozitif sonuca rastlanmadığı bildirilmiştir. Yapılan bu tez çalışmasında çiğ süt örneklerinden elde ettiğimiz *Lpb. plantarum* suşları lipolitik aktivite açısından negatiftir ve veriler literatür taraması ile uyumludur.

Son dönemlerde yapılan çalışmalarda, ince bağırsakta çeşitli hastalıklara ve iltihaplanmaya yol açabilen ROS ve bunların sebep olduğu oksidatif stres büyük ilgi görmektedir. Tüketilen besinlerin hem içerdiği gıda bileşenleri hem de mikrobiyal içerikleri sayesinde bağırsak ortamında ROS'ların ve pro-oksidan moleküllerin oluşumuna katkıda bulunabilir. Son yıllarda probiyotik suşların doğal antioksidan özellik taşıdığı keşfedilmiştir. Hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve süperoksit anyonu gibi ROS metabolitleri, hücresel metabolizma sürecinde ortaya çıkar ve bunlar hücre sinyalizasyonu, iyon taşınması veya gen ifadesi gibi önemli süreçlerde anahtar moleküllerdir. Fakat hücrelerdeki ROS birikimi lipitlere ve proteinler de dahil olmak üzere biyomoleküllerin oksidatif hasarına yol açabilmektedir. Bu birikim vücutta birçok hastalığa neden olmaktadır. Probiyotik *Lpb. plantarum* suşları da çeşitli antioksidan mekanizmalarına sahiptir (Gonzalez *et al.* 2021). Dbeibia ve arkadaşları tarafından DPPH kullanılarak yapılan antioksidan aktivitesinde *Lpb. plantarum* ZPana suşunun %84,5 oranında güçlü antioksidan aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir. Aziz ve arkadaşları tarafından DPPH kullanılarak yapılan deney de ise *Lpb. plantarum* YW11 ve K25 suşlarının %52,3 ile %43,9 oranında radikalleri temizleme yüzdesi gösterdiği bildirilmiştir (Aziz *et al.* 2023). Yaptığımız deneyde ise tüm *Lpb. plantarum* suşları %52,92 ile 54,59 oranları arasında DPPH radikallerini temizleme özelliği gösterdiği belirlendi ve bu sonuçlar literatür ile uyumludur.

Laktoz intoleransı, dünya genelinde oldukça yaygın bir durumdur ve yetişkin nüfusun yaklaşık %65-70'i yaşamlarının bir noktasında laktozu sindirmede zorluk yaşamaktadır. İnsanlarda laktoz sindirimi, β-galaktozidaz enziminin hidrolitik etkisiyle gerçekleşir, bu nedenle eksikliğinde, karın ağrısı, ishal, şişkinlik, mide bulantısı vb. gibi mide rahatsızlıklarına neden olmaktadır. Fermente gıda ürünlerinde bulunan LAB'lar, belirgin sağlık avantajları ile ß-galaktozidaz enzim aktivitesi sayesinde laktozun sindirilmesine yardımcı olmaktadırlar. Ayrıca β-galaktozidaz tarafından sindirilen sütteki laktozun, enterositler tarafından emildiği ve enerji kaynağı olarak kullanıldığı bildirilmiştir. LAB suşlarında bulunan β-galaktozidaz aktivitesi sayesinde laktoz intoleransının hafifletilmesine yardımcı olabileceği düşünülmektedir (Vasudha *et al.* 2023; Ramirez *et al.* 2023; Gökmen *et al.* 2024). Vasudha ve arkadaşları

tarafından yapılan çalışma da *Lpb. plantarum* MWLp-4 suşunun ß-galaktozidaz aktivitesinin olduğu bildirilmiştir. Miled ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada elde edilen *Lpb. plantarum* $BGIT_E$ suşu da ß-galaktozidaz aktivitesi bakımından pozitif olduğu bildirilmiştir (Miled *et al.* 2023). Yaptığımız bu tez çalışmasında API ZYM kiti kullanılarak belirlenen ß- galaktozidaz aktivitesi bakımından elde edilen suşlardan 4 tanesi pozitif sonuç verdi ve elde edilen veriler literatür ile uyumludur.

Sonuçlar ve Öneriler

Bilim insanları tarafından yapılan mikrobiyal temelli karakterizasyon ve identifikasyon çalışmaları, literatürde var olan son taksonomik verilere önemli katkılar sunmaya devam etmektedir. Çiğ süt örneklerinden *Lpb. plantarum* türüne ait yeni suş/suşları keşfetmek, bunların biyoteknolojik ve halk sağlığı açısından önemini ortaya koyarak, mevcut literatür verilerine yeni bilgiler kazandırılması akademik açıdan büyük önem arz etmektedir. Bu hedeflerimizi gerçekleştirdikten sonra, sistematiğe katkıda bulunmuş, yeni çalışma alanlarına ışık tutmuş ve ülkemiz adına bilime katkı sağlamış olacağız

Yaptığımız tez çalışması kapsamında çiğ süt örneklerinden elde edilen *Lpb. plantarum* suşlarının potansiyel bir probiyotik aday olduğuna dair yapılan deneylerde güçlü sonuçlar elde edildi.

Yapılan güvenlik değerlendirmesi kapsamında gerçekleştirilen antibakteriyel aktivite testinde, en yüksek inhibisyon bölgesi 23 mm ile *Lpb. plantarum* SG5 suşunda gözlemlendi.

Antibiyotik duyarlılığı deneyinde tüm suşlar kullanılan antibiyotiklere hem duyarlı hem de dirençli olduğu belirlendi.

Düşük pH deneyi ve gastrointestinal sistem koşullarına direnç deneylerinde kullanılan tüm suşların dirençli olduğu belirlendi.

Asitleştirme yeteneği deneyinde kullanılan *Lpb. plantarum* SG2 suşu 24 saatlik inkübasyon sonrası 2,45 fark ile en iyi aktiviteye sahip olan suş olarak değerlendirildi.

Hücre yüzey hidrofobisi deneyinde elde edilen suşlar arasından en iyi yapışma potansiyeli gösteren *Lpb. plantarum* SG9 belirlendi.

Yapılan jelatinaz, proteolitik, lipolitik aktive ve biyofilm oluşumu deneylerinde tüm suşlar negatif özellik gösterdikleri belirlendi.

Antioksidan aktivite deneyi sonucunda seçilen en başarılı beş suş arasında, en yüksek antioksidan kapasiteye *Lpb. plantarum* SG4 suşunun sahip olduğu belirlendi.

API ZYM ile yapılan enzimatik aktivite deneyinde seçilen SG2, SG3, SG4 ve SG9 beta-galaktosidaz enzimi açısından pozitif olarak değerlendirildi.

Elde edilen veriler ışığında elde edilen *Lpb. plantarum* SG2, SG3, SG4 ve SG9 suşlarının potansiyel probiyotik olarak gıda ve sağlık sektöründe çeşitli alanlarda kullanılabileceği ön görülmektedir.

KAYNAKLAR

A'inurrofiqin, M., Rahayu, E. S., Suroto, D. A., Utami, T., & Mayangsari, Y. (2022). Safety assessment of the indigenous probiotic strain *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. plantarum Kita-3 using Sprague–Dawley rats as a model. *AIMS Microbiology*, *8*(4), 403-421. https://doi.org/10.3934/microbiol.2022028

Abdul Hakim, B. N., Xuan, N. J., & Oslan, S. N. H. (2023). A comprehensive review of bioactive compounds from lactic acid bacteria: Potential functions as functional food in dietetics and the food industry. *Foods*, *12*(15), 2850. https://doi.org/10.3390/foods12152850

Adıguzel, G. 2008. Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Turkish dry fermente sausage. Ph. D. Thesis, Ataturk University, Graduate School of Health Sciences, Erzurum, Turkey

Adiguzel, G., & Atasever, M. (2009). Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Turkish dry fermented sausage. *Romanian Biotechnological Letters*, *14*(1).

Akbulut, S.,2023. Lokal olarak izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik olarak kullanılabilme potansiyellerinin araştırılması. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi.

Aswathy, R. G., Ismail, B., John, R. P., & Nampoothiri, K. M. (2008). Evaluation of the probiotic characteristics of newly isolated lactic acid bacteria. *Applied biochemistry and biotechnology*, *151*, 244-255. DOI 10.1007/s12010-008-8183-6

Atshan, S. S., & Shamsudin, M. N. (2011). Evaluation of phenotypic and genotypic detection methods for biofilm-forming methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Annals of microbiology*, *61*, 825-831.

Awaisheh, S. S., & Ibrahim, S. A. (2009). Screening of antibacterial activity of lactic acid bacteria against different pathogens found in vacuum-packaged meat products. *Foodborne pathogens and disease*, *6*(9), 1125-1132. https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0272

Aziz, T., Xingyu, H., Sarwar, A., Naveed, M., Shabbir, M. A., Khan, A. A., ... & Jalal, R. S. (2023). Assessing the probiotic potential, antioxidant, and antibacterial activities of oat and soy milk fermented with *Lactiplantibacillus plantarum* strains isolated from Tibetan Kefir. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1265188. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1265188

Ben-Miled, H., Benoit-Biancamano, M. O., Ben-Mahrez, K., & Réjiba, S. (2023). Alpha-amylase and alphaglucosidase inhibitory properties, beta-galactosidase activity, and probiotic potential of lactic acid bacteria and bifidobacteria from Apis mellifera intermissa and its products. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *39*(8), 205. https://doi.org/10.1007/s11274-023-03648-7

Bozdemir, M., Gümüş, T., & Altan Kamer, D. D. (2022). Technological and beneficial features of lactic acid bacteria isolated from Boza A cereal-based fermented beverage. *Food Biotechnology*, *36*(3), 209-233. https://doi.org/10.1080/08905436.2022.2092128

Carboni, A., Martins, G., Gómez-Zavaglia, A., & Castilho, P. (2023). *Lactic acid bacteria in the production of traditional fermented foods and beverages of Latin America*. *Fermentation, 9 (4), 315*.

Cebeci, A., & Gürakan, C. (2003). Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food microbiology*, *20*(5), 511-518. https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00174-0

Chaudhary, A., & Saharan, B. S. (2019). Probiotic Properties of *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Pure & Applied Microbiology*, *13*(2). https://dx.doi.org/10.22207/JPAM.13.2.30

Coelho-Rocha, N. D., de Jesus, L. C. L., Barroso, F. A. L., da Silva, T. F., Ferreira, E., Gonçalves, J. E., ... & Azevedo, V. A. D. C. (2023). Evaluation of probiotic properties of novel Brazilian *Lactiplantibacillus plantarum* strains. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *15*(1), 160-174. https://doi.org/10.1007/s12602-022-09978-6

Cordonnier, C., Thévenot, J., Etienne-Mesmin, L., Denis, S., Alric, M., Livrelli, V., & Blanquet-Diot, S. (2015). Dynamic in vitro models of the human gastrointestinal tract as relevant tools to assess the survival of probiotic strains and their interactions with gut microbiota. *Microorganisms*, *3*(4), 725-745. https://doi.org/10.3390/microorganisms3040725

Cui, Y., Xu, T., Qu, X., Hu, T., Jiang, X., & Zhao, C. (2016). New insights into various production characteristics of *Streptococcus thermophilus* strains. *In ternational journal of molecular sciences*, *17*(10), 1701. https://doi.org/10.3390/ijms17101701

Dbeibia, A., Mahdhi, A., Jdidi, S., A. Altammar, K., Zmanter, T., Mzoughi, R., & Jabeur, C. (2023). Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from colostrum of 3 different mammals. *Food Biotechnology*, *37*(2), 166-190. https://doi.org/10.1080/08905436.2023.2202751

Dehghani, S. E. P. E. H. R. D. A. D., Edalatian Dovom, M. R., Yavarmanesh, M., & Sankian, M. (2022). In vitro evaluation of potential probiotic characteristics and survival of human and foodborne lactic acid bacteria (*Lacticaseibacillus rhamnosus* and *Lactiplantibacillus plantarum*) in mice gastrointestinal tract. *Applied Biochemistry and Microbiology*, *58*(Suppl 1), S91-S101. 10.1134/S0003683822100052

Deng, Z., Hou, K., Zhao, J., & Wang, H. (2022). The probiotic properties of lactic acid bacteria and their applications in animal husbandry. *Current microbiology*, *79*, 1-11.

Drame, I., Lafforgue, C., Formosa-Dague, C., Chapot-Chartier, M. P., Piard, J. C., Castelain, M., & Dague, E. (2021). Pili and other surface proteins influence the structure and the nanomechanical properties of *Lactococcus lactis* biofilms. *Scientific reports*, *11*(1), 4846. https://doi.org/10.1038/s41598-021-84030-1

Dumitru, M., Lefter, N. A., Habeanu, M., Ciurescu, G., Vodnar, D. C., Elemer, S., ... & Dudu, A. (2023). Evaluation of lactic acid bacteria isolated from piglets tract and encapsulation of selected probiotic cells. *Agriculture*, *13*(5), 1098. https://doi.org/10.3390/agriculture13051098

Esteban-Torres, M., Mancheño, J. M., De Las Rivas, B., & Muñoz, R. (2014). Production and characterization of a tributyrin esterase from *Lactobacillus plantarum* suitable for cheese lipolysis. *Journal of Dairy Science*, *97*(11), 6737-6744. https://doi.org/10.3168/jds.2014-8234

Feng, Y., Qiao, L., Liu, R., Yao, H., & Gao, C. (2017). Potential probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from the intestinal mucosa of healthy piglets. *Annals of Microbiology*, *67*(3), 239-253. DOI 10.1007/s13213-017-1254-6

Ferrer Valenzuela, J., Pinuer, L. A., Garcia Cancino, A., & Borquez Yanez, R. (2015). Metabolic fluxes in Lactic acid bacteria—A review. *Food Biotechnology*, *29*(2), 185-217.

García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E., & Jiménez-Flores, R. (2019). Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied microbiology and biotechnology*, *103*, 5243-5257. https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6

García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E., & Jiménez-Flores, R. (2019). Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied microbiology and biotechnology*, *103*, 5243-5257. https://doi.org/10.3390/foods12152850

Garcia-Gonzalez, N., Battista, N., Prete, R., & Corsetti, A. (2021). Health-promoting role of *Lactiplantibacillus plantarum* isolated from fermented foods. *Microorganisms*, *9*(2), 349. https://doi.org/10.3390/microorganisms9020349

Gökmen, G. G., Sarıyıldız, S., Cholakov, R., Nalbantsoy, A., Baler, B., Aslan, E., ... & Kışla, D. (2024). A novel *Lactiplantibacillus plantarum* strain: probiotic properties and optimization of the growth conditions by response surface methodology. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *40*(2), 66. https://doi.org/10.1007/s11274-023-03862-3

Hou, Y., Duan, Y., Wu, G., Zhang, J., Luo, X., Zhang, M., ... & Tan, Z. (2025). Antibacterial Activity, Probiotic Potential, and Biocontrol Efficacy of Two Lactic Acid Bacteria Against Penicillium expansum on Fresh Grapes. *Foods*, *14*(3), 493. https://doi.org/10.3390/foods14030493

Ibrahim, S. A., Ayivi, R. D., Zimmerman, T., Siddiqui, S. A., Altemimi, A. B., Fidan, H., ... & Bakhshayesh, R. V. (2021). Lactic acid bacteria as antimicrobial agents: Food safety and microbial food spoilage prevention. *Foods*, *10*(12), 3131. https://doi.org/10.3390/foods10123131

Icer, M. A., Özbay, S., Ağagündüz, D., Kelle, B., Bartkiene, E., Rocha, J. M. F., & Ozogul, F. (2023). The impacts of acidophilic lactic acid bacteria on food and human health: A review of the current knowledge. *Foods*, *12*(15), 2965. https://doi.org/10.3390/foods12152965

Kakabadze, E., Zago, M., Rossetti, L., Bonvini, B., Tidona, F., Carminati, D., ... & Giraffa, G. (2019). Characterisation of lactic acid bacteria isolated from the Georgian, yoghurt-like Matsoni. *International Journal of Dairy Technology*, *72*(3), 373-380. https://doi.org/10.1111/1471-0307.12589

Kanemitsu, K., Nishino, T., Kunishima, H., Okamura, N., Takemura, H., Yamamoto, H., & Kaku, M. (2001). Quantitative determination of gelatinase activity among enterococci. *Journal of microbiological methods*, *47*(1), 11-16. https://doi.org/10.1016/S0167-7012(01)00283-4

Klaenhammer, T. R., Barrangou, R., Buck, B. L., Azcarate-Peril, M. A., & Altermann, E. (2005). Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiology Reviews*, *29*(3), 393-409. https://doi.org/10.1016/j.fmrre.2005.04.007

Landeta, G., Curiel, J. A., Carrascosa, A. V., Muñoz, R., & De Las Rivas, B. (2013). Technological and safety properties of lactic acid bacteria isolated from Spanish dry-cured sausages. *Meat Science*, *95*(2), 272-280 https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.019

Landeta, G., Curiel, J. A., Carrascosa, A. V., Muñoz, R., & De Las Rivas, B. (2013). Technological and safety properties of lactic acid bacteria isolated from Spanish dry-cured sausages. *Meat Science*, *95*(2), 272-280. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.019

Ledina, T., Đorđević, J., Glišić, M., Čobanović, N., Kovandžić, M., & Bulajić, S. (2024). Technological and functional characteristics of lactic acid bacteria from traditional Serbian cheeses. *Foods*, *14*(1), 38. https://doi.org/10.3390/foods14010038

Ledina, T., Đorđević, J., Glišić, M., Čobanović, N., Kovandžić, M., & Bulajić, S. (2024). Technological and functional characteristics of lactic acid bacteria from traditional Serbian cheeses. *Foods*, *14*(1), 38. https://doi.org/10.3390/foods14010038

Lee, J., Kim, S., & Kang, C. H. (2022). Screening and probiotic properties of lactic acid bacteria with potential immunostimulatory activity isolated from kimchi. *Fermentation*, *9*(1), 4. https://doi.org/10.3390/fermentation9010004

Lee, M. G., Kang, M. J., Cha, S., Kim, T. R., & Park, Y. S. (2024). Acid tolerance responses and their mechanisms in *Lactiplantibacillus plantarum* LM1001. *Food Science and Biotechnology*, *33*(9), 2213-2222. https://doi.org/10.1007/s10068-024-01582-4

Lee, M. G., Kang, M. J., Cha, S., Kim, T. R., & Park, Y. S. (2024). Acid tolerance responses and their mechanisms in *Lactiplantibacillus plantarum* LM1001. *Food Science and Biotechnology*, *33*(9), 2213-2222. https://doi.org/10.1007/s10068-024-01582-4

Liang, S., Wang, X., Li, C., & Liu, L. (2024). Biological activity of lactic acid bacteria exopolysaccharides and their applications in the food and pharmaceutical industries. *Foods*, *13*(11), 1621. https://doi.org/10.3390/foods13111621

López-Palestino, A., Gómez-Vargas, R., Suárez-Quiroz, M., González-Ríos, O., Hernández-Estrada, Z. J., Castellanos-Onorio, O. P., ... & Figueroa-Hernández, C. Y. (2025). Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria and Yeast Isolated from Cocoa and Coffee Bean Fermentation: A Review. *Fermentation*, *11*(2), 95. https://doi.org/10.3390/fermentation11020095

Martín, I., Barbosa, J., Pereira, S. I., Rodríguez, A., Córdoba, J. J., & Teixeira, P. (2023). Study of lactic acid bacteria isolated from traditional ripened foods and partial characterization of their bacteriocins. *Lwt*, *173*, 114300. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114300

Martinussen, J., Solem, C., Holm, A. K., & Jensen, P. R. (2013). Engineering strategies aimed at control of acidification rate of lactic acid bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, *24*(2), 124-129. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.11.009

McLeod, A., Fagerlund, A., Rud, I., & Axelsson, L. (2019). Large plasmid complement resolved: complete genome sequencing of Lactobacillus plantarum MF1298, a candidate probiotic strain associated with unfavorable effect. *Microorganisms*, *7*(8), 262. http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms7080262

Megur, A., Daliri, E. B. M., Balnionytė, T., Stankevičiūtė, J., Lastauskienė, E., & Burokas, A. (2023). In vitro screening and characterization of lactic acid bacteria from Lithuanian fermented food with potential probiotic properties. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1213370. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1213370

Megur, A., Daliri, E. B. M., Balnionytė, T., Stankevičiūtė, J., Lastauskienė, E., & Burokas, A. (2023). In vitro screening and characterization of lactic acid bacteria from Lithuanian fermented food with potential probiotic properties. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1213370. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1213370

Mehmet, A., Sena, Ö., Duygu, A., Bayram, K., João, M., & Fatih, O. (2023). *The Impacts of Acidophilic Lactic Acid Bacteria on Food and Human Health: A Review of the Current Knowledge*. *Foods, 12 (15), 2965*. https://doi.org/10.3390/foods12152965

Mgomi, F. C., Yang, Y. R., Cheng, G., & Yang, Z. Q. (2023). Lactic acid bacteria biofilms and their antimicrobial potential against pathogenic microorganisms. *Biofilm*, *5*, 100118. https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2023.100118

Odeyemi, O. A., Alegbeleye, O. O., Strateva, M., & Stratev, D. (2020). Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, *19*(2), 311-331. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12526

Olaimat, A. N., Ababneh, A. M., Al-Holy, M., Al-Nabulsi, A., Osaili, T., Abughoush, M., ... & Holley, R. A. (2024). A Review of Bacterial Biofilm Components and Formation, Detection Methods, and Their Prevention and Control on Food Contact Surfaces. *Microbiology Research*, *15*(4), 1973-1992. https://doi.org/10.3390/microbiolres15040132

Ou, D., Ling, N., Wang, X., Zou, Y., Dong, J., Zhang, D., ... & Ye, Y. (2022). Safety assessment of one *Lactiplantibacillus plantarum* isolated from the traditional Chinese fermented vegetables—Jiangshui. *Foods*, *11*(15), 2177. https://doi.org/10.3390/foods11152177

Pabón-Rodríguez, O. V., Ramirez-Nieto, G. C., Casas-Bedoya, G. A., Rengifo-Guerrero, C. A., Tirado, D. F., & Serna-Cock, L. (2025). Probiotic candidate strains from sow's milk show antimicrobial activity against multidrug-resistant *Escherichia coli*. *International Dairy Journal*, *163*, 106170. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.106170

Palachum, W., Chisti, Y., & Choorit, W. (2018). In-vitro assessment of probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* WU-P19 isolated from a traditional fermented herb. *Annals of Microbiology*, *68*, 79-91. https://doi.org/10.1007/s13213-017-1318-7

Park, S. Y., & Lim, S. D. (2015). Probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* FH185 isolated from human feces. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, *35*(5), 615. DOI http://dx.doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.5.615

Parvin, T., & Sadras, S. R. (2025). *Lactiplantibacillus plantarum* and Lactiplantibacillus pentosus species isolated from fermented beet root and dragon fruit exhibit potent antibacterial and antibiofilm activity. *Biologia*, 1-15. https://doi.org/10.1007/s11756-025-01955-y

Qi, Y., Yu, L., Tian, F., Zhao, J., & Zhai, Q. (2023). In vitro models to study human gut-microbiota interactions: Applications, advances, and limitations. *Microbiological Research*, *270*, 127336. https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127336

Ramarao, N., & Sanchis, V. (2013). The pore-forming haemolysins of *Bacillus cereus*: a review. *Toxins*, *5*(6), 1119-1139. https://doi.org/10.3390/toxins5061119

Rastogi, S., Mittal, V., & Singh, A. (2020). In vitro evaluation of probiotic potential and safety assessment of Lactobacillus mucosae strains isolated from donkey's lactation. *Probiotics and antimicrobial proteins*, *12*, 1045-1056. https://doi.org/10.1007/s12602-019-09610-0

Reid, G. (1999). The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. *Applied and environmental microbiology*, *65*(9), 3763-3766. https://doi.org/10.1128/AEM.65.9.3763-3766.1999

Rollán, G. C., Gerez, C. L., & LeBlanc, J. G. (2019). Lactic fermentation as a strategy to improve the nutritional and functional values of pseudocereals. *Frontiers in Nutrition*, *6*, 98. https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00098

Ruiz, M. J., Medina, L. M., Palacio, M. I., Vega, M. F., Etcheverría, S., Frizzo, L. S., & Etcheverría, A. I. (2024). Investigation of some probiotic and technological properties of lactic acid bacteria strains isolated from artisanal sheep milk cheese and their growth in goat milk. *Small Ruminant Research*, *238*, 107329. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2024.107329

Ruiz-Ramírez, Y., Valadez-Blanco, R., Calderón-García, C., Chikindas, M. L., & Ponce-Alquicira, E. (2023). Probiotic and functional potential of lactic acid bacteria isolated from pulque and evaluation of their safety for food applications. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1241581. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1241581

Samrot, A. V., Abubakar Mohamed, A., Faradjeva, E., Si Jie, L., Hooi Sze, C., Arif, A., ... & Kumar, S. S. (2021). Mechanisms and impact of biofilms and targeting of biofilms using bioactive compounds—A review. *Medicina*, *57*(8), 839. https://doi.org/10.3390/medicina57080839

Seddik, H. A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G., & Drider, D. (2017). *Lactobacillus plantarum* and its probiotic and food potentialities. *Probiotics and antimicrobial proteins*, *9*, 111-122. DOI 10.1007/s12602-017-9264-z

Seddik, H. A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G., & Drider, D. (2017). *Lactobacillus plantarum and its probiotic and food potentialities. Probiotics Antimicrob Proteins 9: 111–122*. DOI 10.1007/s12602-017-9264-z

Sharma, C., Gulati, S., Thakur, N., Singh, B. P., Gupta, S., Kaur, S., ... & Panwar, H. (2017). Antibiotic sensitivity pattern of indigenous lactobacilli isolated from curd and human milk samples. *3 Biotech*, *7*, 1-14. DOI 10.1007/s13205-017-0682-0

Singh, R. P. (2024). Progress and challenges in designing dynamic in vitro gastric models to study food digestion. *Frontiers in Nutrition*, *11*, 1399534. https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1399534

Skals, M., Jensen, U. B., Ousingsawat, J., Kunzelmann, K., Leipziger, J., & Praetorius, H. A. (2010). *Escherichia coli* α-hemolysin triggers shrinkage of erythrocytes via KCa3. 1 and TMEM16A channels with subsequent phosphatidylserine exposure. *Journal of Biological Chemistry*, *285*(20), 15557-15565. DOI 10.1074/jbc.M109.082578

Sonar, N. R., & Halami, P. M. (2014). Phenotypic identification and technological attributes of native lactic acid bacteria present in fermented bamboo shoot products from North-East India. *Journal of food science and technology*, *51*, 4143-4148. https://doi.org/10.1007/s13197-014-1456-x

Songisepp, E., Hütt, P., Rätsep, M., Shkut, E., Kõljalg, S., Truusalu, K., ... & Mikelsaar, M. (2012). Safety of a probiotic cheese containing *Lactobacillus plantarum* Tensia according to a variety of health indices in different age groups. *Journal of Dairy Science*, *95*(10), 5495-5509. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4756

Tian, C., Wang, L., Liu, M., Liu, J., Qiu, M., & Chen, Y. (2024). Isolation and identification of chicken-derived lactic acid bacteria: in vitro probiotic properties and antagonistic effects against *Salmonella pullorum*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. *Microorganisms*, *12*(4), 795. https://doi.org/10.3390/microorganisms12040795

Tobias, J., Heinl, S., Dendinovic, K., Ramić, A., Schmid, A., Daniel, C., & Wiedermann, U. (2025). The benefits of *Lactiplantibacillus plantarum*: from immunomodulator to vaccine vector. *Immunology Letters*, 106971. https://doi.org/10.1016/j.imlet.2025.106971

Vasudha, M., Prashantkumar, C. S., Bellurkar, M., Kaveeshwar, V., & Gayathri, D. (2023). Probiotic potential of β-galactosidase-producing lactic acid bacteria from fermented milk and their molecular characterization. *Biomedical reports*, *18*(3), 23. DOI: 10.3892/br.2023.1605

Wang, H. M., Tsai, S. J., & Lin, J. Y. (2025). Fermentation characteristics of lactofermented cucumbers using an isolated *Lactiplantibacillus plantarum* NCHU–FC1 strain. *Applied Food Research*, 100742. https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.100742

Wiernasz, N., Cornet, J., Cardinal, M., Pilet, M. F., Passerini, D., & Leroi, F. (2017). Lactic acid bacteria selection for biopreservation as a part of hurdle technology approach applied on seafood. *Frontiers in marine science*, *4*, 119. doi: https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00119

Wu, S., Chen, Y., Chen, Z., Zhou, Q., Wei, F., Li, P., & Gu, Q. (2023). Antioxidant properties and molecular mechanisms of *Lactiplantibacillus plantarum* ZJ316: A potential probiotic resource. *LWT*, *187*, 115269. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115269

Xavier, J. R., Ramana, K. V., & Sharma, R. K. (2018). β- galactosidase: Biotechnological applications in food processing. *Journal of Food Biochemistry*, *42*(5), e12564. https://doi.org/10.1111/jfbc.12564

Xu, X., Xiong, S., Du, T., Li, J., Zhao, X., Zhao, M., ... & Xie, M. (2024). In vitro screening of *Lactiplantibacillus plantarum* with probiotic properties and anti-colon cancer potential. *Food Bioscience*, *62*, 105569. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105569

Yang, X., Hong, J., Wang, L., Cai, C., Mo, H., Wang, J., ... & Liao, Z. (2024). Effect of lactic acid bacteria fermentation on plant-based products. *Fermentation*, *10*(1), 48. https://doi.org/10.3390/fermentation10010048

Yao, P., Mohd Esah, E., & Zhao, C. (2025). Regulatory mechanisms and applications of *Lactobacillus* biofilms in the food industry. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1465373. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1465373

Ye, P., Wang, J., Liu, M., Li, P., & Gu, Q. (2021). Purification and characterization of a novel bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* ZFM54. *Lwt*, *143*, 111125. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111125

Yilmaz, B., Bangar, S. P., Echegaray, N., Suri, S., Tomasevic, I., Manuel Lorenzo, J., ... & Ozogul, F. (2022). The impacts of *Lactiplantibacillus plantarum* on the functional properties of fermented foods: A review of current knowledge. *Microorganisms*, *10*(4), 826. https://doi.org/10.3390/microorganisms10040826

Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suàrez, V., Vinderola, G., ... & Giraffa, G. (2011). Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, *28*(5), 1033-1040. https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.009

Zhang, Y., Zhou, Q., Chen, Z., Ye, Z., Jin, Y., Li, P., & Gu, Q. (2024). Probiotic characteristics and whole genome sequence analysis of *Lactiplantibacillus plantarum* ZFM518 isolated from infant feces. *Food Frontiers*, *5*(5), 2235-2248. https://doi.org/10.1002/fft2.444

Zhang, Z., Xiong, J., Chen, L., Wang, G., Dong, R., Wang, F., ... & Li, P. (2024). Potential probiotic characteristics and genomic analysis of a new folate- producing lactic acid bacteria Lactiplantibacillus plantarum ZFM55. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *104*(12), 7315-7325. https://doi.org/10.1002/jsfa.13552

Zhou, Z., Zeng, X., Wu, Z., Guo, Y., & Pan, D. (2023). Relationship of gene-structure–antioxidant ability of exopolysaccharides derived from lactic acid bacteria: A Review. *Journal of agricultural and food chemistry*, *71*(24), 9187-9200. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c00532

Zimmerman, T., Siddiqui, S. A., Bischoff, W., & Ibrahim, S. A. (2021). Tackling airborne virus threats in the food industry: A proactive approach. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(8), 4335. https://doi.org/10.3390/ijerph18084335

Zommara, M., El-Ghaish, S., Haertle, T., Chobert, J. M., & Ghanimah, M. (2023). Probiotic and technological characterization of selected Lactobacillus strains isolated from different Egyptian cheeses. *BMC microbiology*, *23*(1), 160.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Şeymanur GÜVEN
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
Eğitim	
Lise:	
Lisans:	
Yüksek lisans:	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	