

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN İZOLASYONU,
İDENTİFİKASYONU VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MANAR İSMAİLOĞLU

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. ÜLKÜYE DUDU GÜL

BİLECİK, 2025

10732502

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN İZOLASYONU,
İDENTİFİKASYONU VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MANAR İSMAİLOĞLU

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. ÜLKÜYE DUDU GÜL

BİLECİK, 2025

10732502

BEYAN

Çeşitli Kaynaklardan Probiyotik Mikroorganizmaların İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi adlı yüksek lisans tezi hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu çalışmanın, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), TÜBİTAK veya benzeri kuruluşlarca desteklenmesi durumunda; projenin ve destekleyen kurumun adı proje numarası ile birlikte, ETİK KURUL onayı alınması durumunda ise ETİK KURUL tarih karar ve sayı bilgilerinin beyan edilmesi gerekmektedir.			
DESTEK ALINMIŞTIR		DESTEK ALINMAMIŞTIR	X
Destek alındı ise;			
Destekleyen kurum;			
Desteğin Türü		Proje Numarası	
1- BAP (Bilimsel Araştırma Projesi)			
2- TÜBİTAK			
Diğer;.....			
ETİK KURUL onayı var ise;			
ETİK KURUL karar tarih/sayı:		/.....	

Öğrenci Adı ve Soyadı

Manar İSMAİLOĞLU

Tarih

09/07/2025

İmza

.....

ÖN SÖZ

Yüksek lisans tezi çalışmam boyunca çalışmamı sahiplenerek takip eden danışmanım Sayın Prof. Dr. Ülküye Dudu Gül’e değerli katkı ve emekleri için teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Savunma sınavı sunumu sırasında çalışmamın son haline gelmesindeki değerli katkıları bulunan değerli jüri üyelerine,

Tez çalışmamda katkıda bulunan değerli hocam Dr. Gizem BAYAZIT’a ve,

Son olarak bu günlere ulaşmamdaki emekleri adına değerli aileme teşekkür ederim.

Manar İSMAİLOĞLU

2025

ÖZET

ÇEŞİTLİ KAYNAKLARDAN PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Probiyotikler sağlık üzerinde olumlu etkileri olan ve sindirim sistemini düzenleyen canlı mikroorganizmalardır. Laktik asit bakterileri, en önemli probiyotik mikroorganizmalar arasında yer almakta olup bağırsak sağlığının iyileştirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu bakteriler farklı konsantrasyonlarda asit, safra ve fenol gibi stresli koşullara direnç gösterebilmesi ve çeşitli metabolitleri üretebilmeleri nedeniyle probiyotik mikroorganizma olarak değerlendirilmektedir. Bu çalışmanın amacı; hurma, kuru incir, kayısı, yoğurt, sirke ve turşu gibi çeşitli gıda maddelerinde bulunan probiyotik mikroorganizmaların izole edilmesi, tanımlanması ve bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesidir. İzolasyon için MRS (De Man, Rogosa ve Sharpe) agar ve broth besiyerleri kullanılmıştır. Örnekler, 37 °C’de 24-48 saat inkübe edilerek farklı morfolojilere sahip koloniler seçilmiş ve saf kültürler elde edilmiştir. Toplamda 10 izolat saf kültür olarak elde edilmiş, bu izolatların probiyotik özellikleri incelenmiş ve probiyotik özelliklere sahip olanların moleküler yöntemlerle identifikasyonu yapılmıştır. Sonuç olarak, 10 izolat içinde bir tanesi gram negatif diğer dokuz tanesi gram pozitif olarak saptanmıştır. Katalaz testi sonuçlarına göre, 10 izolatın sekizinin katalaz pozitif ve iki tanesinin de katalaz negatif olduğu tespit edilmiştir. Gram pozitif ve katalaz negatif olan izolat 3 ve 6’nın moleküler yöntemlerle tanımlaması yapılmış ve bu izolatların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi için asit toleransı, safra ve fenol toleransı, hemolitik aktivite, antibiyotik duyarlılığı ile antimikrobiyal aktivite testleri yapılmıştır. Asit toleransı testi sonuçlarına göre izolatlar pH 3 koşullarında üreme göstermiştir. Safra tuzu toleransı testinde her iki izolat da yüksek konsantrasyonlara karşı güçlü bir direnç sergilemiştir. İzolat 3 artan fenol konsantrasyonlarına karşı kararlı bir üreme profili sergileyerek dirençli bir yapı ortaya koymuştur. Antibiyotik duyarlılık testlerinin sonucunda izolat 3’ün gentamisine karşı orta düzeyde duyarlılık gösterdiği, izolat 6’nın ise dirençli olduğu; her iki izolatın da vankomisine karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Her iki izolat da eritrositleri parçalama yeteneğine sahip olmayıp hemolitik aktivite göstermemiştir. Çalışmada kullanılan izolatların antimikrobiyal aktivite sergilemediği gözlemlenmiştir. Moleküler tanımlama sonucunda izolat 3 ve 6 sırasıyla *Leuconostoc mesenteroides* ve *Lactobacillus paracasei* olarak tanımlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, İzolasyon, Laktik Asit Bakterileri, Mikroorganizma

ABSTRACT

ISOLATION, IDENTIFICATION AND DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF PROBIOTIC MICROORGANISMS FROM VARIOUS SOURCES

Probiotics are live microorganisms that exert beneficial effects on health and help regulate the digestive system. Lactic acid bacteria, among the most prominent probiotic microorganisms, play a crucial role in improving gut health. Due to their ability to withstand stressful conditions such as varying concentrations of acid, bile, and phenol, and their capacity to produce various metabolites, these bacteria are considered potential probiotics. This study aimed to isolate, identify, and characterize certain probiotic properties of microorganisms found in various food sources, including dates, dried figs, apricots, yogurt, vinegar, and pickles. MRS (De Man, Rogosa, and Sharpe) agar and broth media were used for isolation. The samples were incubated at 37 °C for 24–48 hours, and colonies with different morphologies were selected to obtain pure cultures. A total of 10 isolates were purified, their probiotic characteristics were examined, and those with probiotic potential were identified by molecular methods. Among the 10 isolates, one was found to be Gram-negative, while the remaining nine were Gram-positive. According to the catalase test results, eight isolates were catalase-positive and two were catalase-negative. Isolates 3 and 6, both Gram-positive and catalase-negative, were identified by molecular methods. To assess their probiotic potential, acid tolerance, bile and phenol tolerance, hemolytic activity, antibiotic susceptibility, and antimicrobial activity tests were conducted. The acid tolerance test revealed that both isolates could grow at pH 3. In the bile salt tolerance test, both showed strong resistance to high concentrations. Isolate 3 exhibited a stable growth profile against increasing phenol concentrations, indicating high tolerance. Antibiotic susceptibility tests showed that isolate 3 was moderately sensitive to gentamicin while isolate 6 was resistant; both isolates were resistant to vancomycin. Neither isolate demonstrated hemolytic activity, indicating no ability to lyse erythrocytes. No antimicrobial activity was observed for either isolate. Based on molecular identification, isolates 3 and 6 were identified as *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus paracasei*, respectively.

Keywords: Probiotic, Isolation, Lactic Acid Bacteria, Microorganism

İÇİNDEKİLER

ÖN SÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Probiyotiklerin Tanımı	3
2.2. Probiyotiklerin Tarihçesi.....	3
2.3. Probiyotikler, Prebiyotikler, Sinbiyotikler, Postbiyotikler ve Parabiyotikler	5
2.4. Probiyotiklerin Özellikleri	9
2.5. Probiyotiklerin Önemi.....	11
2.6. Probiyotiklerin Etki Mekanizması.....	12
2.7. Probiyotik Kaynağı Olarak Tüketilen Gıdalar.....	14
2.8. Probiyotik Özellik Gösteren Lab Türleri	17
2.9. Probiyotiklerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler	18
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri	21
3.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar.....	22
3.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	23
3.4. Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Test Organizmaları	23
3.5. İzolasyon Çalışmaları	24

3.6.	Gram Boyama	24
3.7.	Katalaz Testi.....	25
3.8.	Moleküler Tanımlama	25
3.9.	Asit Toleransı.....	27
3.10.	Safra Toleransı	27
3.11.	Fenol'e Dayanıklılık	28
3.12.	Antimikrobiyal Aktivite	28
3.13.	Antimikrobiyal Duyarlılık Testi	29
3.14.	Hemolitik Aktivite.....	29
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	30
4.1.	Mikroorganizmaların İzolasyonu.....	30
4.2.	Mikroorganizmaların Tanımlanması.....	31
4.3.	İzolatların Asit Toleransı.....	36
4.4.	İzolatların Safra Toleransı	40
4.5.	İzolatların Fenol Toleransı.....	44
4.6.	Antimikrobiyal Aktivite	45
4.7.	Antimikrobiyal Duyarlılık Testi	50
4.8.	Hemolitik Aktivite.....	52
5.	TARTIŞMA ve SONUÇ	54
	KAYNAKÇA.....	60

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2. 1. Probiyotikler, Prebiyotikler, Sinbiyotikler, Postbiyotikler ve Parabiyotiklerin Karşılaştırılması	8
Tablo 2. 2. LAB'ların Taksonomik Olarak İki Farklı Filuma Ayrılması (Soemarie vd., 2021:335).	18
Tablo 3. 1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri.....	21
Tablo 3. 2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar	22
Tablo 3. 3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	23
Tablo 3. 4. Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Standart Mikroorganizmalar	24
Tablo 3. 5. Moleküler Tanımlamada Kullanılan Primerler	25
Tablo 3. 6. PZR Koşulları	26
Tablo 4. 1. Saf Kültürlerin İzolat Kodları ve Kaynakları.....	30
Tablo 4. 2. Farklı Gıda Örneklerinden İzole Edilen Mikroorganizmaların Test Sonuçları	31
Tablo 4. 3. Asit Toleransı İzolat 6'nın 1 ml İçindeki Koloni Sayımları (CFU/ml)	37
Tablo 4. 4. Asit Toleransı İzolat 3'ün 1 ml İçindeki Koloni Sayımları (CFU/ml)	37
Tablo 4. 5. Safra Toleransı İzolat 6'nın 1 ml İçindeki Koloni Sayımları (CFU/ml)	41
Tablo 4. 6. Safra Toleransı İzolat 3'ün 1 ml İçindeki Koloni Sayımları (CFU/mL)	41
Tablo 4. 7. Fenol Toleransı Spektrofotometrede Ölçülen OD Sonuçları.....	45
Tablo 4. 8. Antimikrobiyal Etki Zon Açıklıkları (mm).....	45
Tablo 4. 9. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Zon Açıklıkları (mm)	50
Tablo 4. 10. Hemolitik Aktivite Sonuçları	52

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1. Probiyotik Gelişiminde Önemli Tarihler.....	4
Şekil 2. 2. Probiyotiklerin Prebiyotik ve Sinbiyotiklerle İlişkisi	6
Şekil 2. 3. Postbiyotikler (Banakar vd. 2024'ten uyarlanmıştır).....	8
Şekil 2. 4. Probiyotiklerin Postbiyotik ve Parabiyotiklerle İlişkisi (Cuevas-Gonzalez vd., 2020'den uyarlanmıştır)	9
Şekil 2. 5. Probiyotiklerin Etkili Olabileceği Bazı Hastalıklar	12
Şekil 2. 6. Literatürde Tanımlanan Probiyotik Etki Yolları: Mikrobiyal Rekabet, Antimikrobiyal Aktivite, Bariyer Güçlendirme, Bağışıklık Düzenleme ve Nörotransmitter Üretimi (Latif vd., 2023'ten uyarlanmıştır).....	14
Şekil 2. 7. Probiyotik Mikroorganizmalar İçeren Gıda Örnekleri	17
Şekil 4. 1. Bu Çalışmada Elde Edilen 10 İzolatın Gram Boyama İle Elde Edilen Mikroskopik Görünümü (Mikroskopta x40 görüntüsü) (a: izolat 1; b: izolat 2; c: izolat 3; d: izolat 4; e: izolat 5; f: izolat 6; g: izolat 7; h: izolat 8; i: izolat 9; j: izolat 10).....	33
Şekil 4. 2. <i>Leuconostoc mesenteroides</i> 'in Moleküler Tanımlaması Sonucu Elde Edilen genom sekansı	34
Şekil 4. 3. <i>Lactobacillus paracasei</i> 'in Moleküler Tanımlaması Sonucu Elde Edilen genom sekansı	35
Şekil 4. 4. Moleküler tanımlama sonucu jel görüntüsü. a bantı izolat 3'e, b bantı ise izolat 6'ya aittir. c bantı ise DNA markeri yer almaktadır.	35
Şekil 4. 5. pH 3'te Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) MRS Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 3.....	38
Şekil 4. 6. pH 2'de Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) MRS Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 3.....	38
Şekil 4. 7. pH 7'de Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) MRS Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 3.....	38
Şekil 4. 8. pH 3'te Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) NA Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 6.....	39
Şekil 4. 9. pH 2'de Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) NA Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 6.....	39
Şekil 4. 10. pH 7'de Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) NA Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 6.....	39

Şekil 4. 11. Safra Tuzu İçermeyen MRS Agar Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 3	42
Şekil 4. 12. 0.1 g Safra Tuzu İçeren MRS Agar Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 3	42
Şekil 4. 13. 0.3 g Safra Tuzu İçeren MRS Agar Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 3	42
Şekil 4. 14. 0.5 g Safra Tuzu İçeren MRS Agar Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 3	43
Şekil 4. 15. Safra Tuzu İçermeyen NA Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 6	43
Şekil 4. 16. 0.1 g Safra Tuzu İçeren NA Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 6	43
Şekil 4. 17. 0.3 g Safra Tuzu İçeren NA Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 6	44
Şekil 4. 18. 0.5 g Safra Tuzu İçeren NA Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 6	44
Şekil 4. 19. İzolatların Süpernatantı Kullanılarak Kuyu Difüzyon Yöntemi İle Yapılan Antimikrobiyal Aktivite Deneyinin Sonuçları a. <i>S.aureus</i> , b. <i>B.subtilis</i>	46
Şekil 4. 20. İzolat 6' nın <i>C.albicans</i> 'a Karşı Gösterdiği Aktivite	47
Şekil 4. 21. İzolatların <i>S.aureus</i> 'a Karşı Gösterdiği Aktivite a: izolat 3, b: izolat 6	48
Şekil 4. 22. İzolatların <i>E. coli</i> 'ye Karşı Gösterdiği Aktivite a: izolat 3, b: izolat 6	49
Şekil 4. 23. İzolatların <i>B.subtilis</i> 'e Karşı Gösterdiği Aktivite. a: izolat3, b: izolat 6	50
Şekil 4. 24. İzolatların Disk Difüzyon Yöntemi İle Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Sonuçları a izolat 3, b izolat 6	51
Şekil 4. 25. Hemolitik Aktivite Görselleri a. izolat 6, b. izolat 3	53

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

AAB: Asetik Asit Bakterileri

CFU: Colony Forming Unit (Koloni Oluşturan Birim)

DGGE: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (Denatürant Gradyan Jel Elektroforezi)

DNA: Deoksiribonükleik Asit

FAO/WHO: Food and Agriculture Organization and World Health Organization (Gıda ve Tarım Örgütü ve Dünya Sağlık Örgütü)

FOS: Fruktooligosakkarit

GALT: Bağırsak ilişkili lenfoid doku

ISAPP: Uluslararası Probiyotik ve Prebiyotik Bilimsel Derneği

LAB: Laktik Asit Bakterileri

MHA: Mueller Hinton Agar

MHB: Mueller Hinton Broth

MRS: De Man, Rogosa ve Sharpe Agar/Broth

NA: Nutrient Agar

NB: Nutrient Broth

OD: Optic Density (Optik Yoğunluk)

PBS: Phosphate Buffer Saline fosfat tamponlu tuz çözeltisi

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RAPD-PZR: Rastgele Amplifikasyonlu Polimorfik DNA

SCFA: Kısa Zincirli Yağ Asitleri

SDA: Sabouraud Dextrose Agar

SDB: Sabouraud Dextrose Broth

TAE tamponu: Tris-Asetik Asit-EDTA tamponu

UV: Ultraviolet

16S rRNA: 16S ribosomal Ribonucleic Acid (16S ribozomal ribonükleik asit)

spp. : *Species* (Türler, cins içi tüm türleri kapsar)

α : Alfa

β : Beta

γ : Gama

$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece

g: Gram

mm: Milimetre

nm: Nanometre

μL : Mikrolitre

(w/v): Ağırlık/hacim oranı

CFU/ml: Mililitre başına koloni oluşturan birim

rpm: Dakikadaki devir sayısı

HCl : Hidroklorik asit

CN: Gentamicin

VA: Vancomycin

pH: Hidrojen iyonu derişı

1. GİRİŞ

Mikroorganizmalar, çok çeşitli biyolojik özelliklere sahip mikroskobik canlılar olarak tanımlanmakta olup; hava, su ve toprak gibi doğal ortamlarda, insan ve hayvan vücutlarında bulunmaktadır (Onen vd., 2020: 11). Bu canlılar arasında yer alan bakteriler, genellikle heterotrof beslenen organizmalardır. Bakterilerin bazı türleri ise tüberküloz ve kolera gibi hastalıklara yol açabilmektedir (Uluçay, 2023: 187). Öte yandan, bakterilerin antibiyotik üretimi, vitamin sentezi ve yoğurt, peynir, sirke gibi bazı gıda ürünlerinin üretimi gibi çeşitli yararları da bulunmaktadır (Onen vd., 2020: 18). Özellikle bazı bakteriler, konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösteren probiyotikler olarak değerlendirilmektedir (Horasan ve Çelikyürek, 2024: 346).

Probiyotikler, bağırsak mikrobiyotasını dengelemek, hastalıklara karşı direnci artırmak, genel sağlığı desteklemek amacıyla tüketilen ve çeşitli gıdalarda bulunan yararlı mikroorganizmalardır (Yıldırım ve Tuncer, 2022: 435). Probiyotik bakteriler insan bağırsaklarında özellikle patojen bakterilerin kolonizasyonunu engelleyerek, bağırsak sağlığının korunmasında önemli rol oynar. Ayrıca, patojen mikroorganizmaların büyümesini engelleyen inhibitör antimikrobiyal maddeler üreterek doğrudan antagonistik etki göstermektedirler (Kütük, 2015: 2).

Bu bakteriler yalnızca sindirim sistemi sağlığını desteklemekle kalmaz, aynı zamanda bağışıklık sistemini güçlendirir, bazı alerjik reaksiyonları hafifletir ve cilt sağlığı üzerinde olumlu etkiler sunmaktadır (Galyon ve Varlık, 2021: 277). Özellikle bu bakteriler bağışıklık sistemini iyileştirerek enfeksiyonlara karşı korunmaya katkıda bulunmaktadır (Fijan, 2023: 2). Son dönemlerde yapılan araştırmalar, probiyotiklerin ruh sağlığı üzerindeki olumlu etkilerini de vurgulamaktadır (Madabushi vd., 2023: 3).

Probiyotik olarak en yaygın kullanılan mikroorganizmalar arasında *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait türler bulunmaktadır (Keskin vd., 2023: 2684). *Lactobacillus* cinsine ait türler, genellikle Gram-pozitif ve fakültatif anaerob bakterilerdir (Dempsey ve Corr, 2022: 1). *Lactobacillus* türleri, 30-40°C aralığındaki optimal sıcaklıkta gelişmekte ve asidik ortamlara dayanıklılık göstererek pH 4.5-6.5 aralığında iyi bir büyüme göstermektedir (Ślizewska vd., 2020:2). *Bifidobacterium* cinsine ait türler ise Gram-pozitif ve anaerobik bakteriler olarak bilinmektedir (Pyclik ve ark. 2020: 334). Optimal büyüme sıcaklıkları 36-38°C olup, pH aralığı 6-7 ortamlarında gelişim göstermektedir (Kütük, 2015: 47). Probiyotik mikroorganizmaların düşük pH seviyelerine dayanıklılığı ve mide asidinde hayatta kalabilmesi,

sindirim sistemi sağlığı açısından büyük bir avantaj sunmaktadır. Asidik ortamlara adaptasyonları, bu bakterilerin bağırsaklarda rekabetçi bir şekilde yerleşmesini ve patojen mikroorganizmaların çoğalmasının engellemesini mümkün kılmaktadır (Bingöl ve şengün, 2022: 39).

Patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engelleme mekanizması probiyotiklerin bağırsaklardaki etkileşimleri ve işlevleri ile doğrudan ilişkilidir. Probiyotik mikroorganizmalar, bağırsak mikrobiyotasını dengeleyerek patojenlerin kolonizasyonunu önlemekte önemli bir rol oynamaktadır. Bu durum, probiyotiklerin patojen bakterilerin büyümesini inhibe eden antimikrobiyal bileşikler üretme yeteneği ile sağlanmaktadır. Ayrıca, probiyotikler bağırsak epiteline bağlanarak patojenlerin tutunmasını engellemekte olup, bu mikroorganizmaların bağırsaklara tutunarak, kolonizasyonu önlemektedir. Bunun yanı sıra, probiyotiklerin oluşturduğu asidik ortam, patojen mikroorganizmaların büyüme koşullarını olumsuz yönde etkileyerek çoğalmalarını zorlaştırmaktadır (Doğan, 2011: 100)

Probiyotikler, gıda endstisinde yaygın olarak fermente süt ürünleri, probiyotik yoğurtlar ve besin takviyelerinde bulunmaktadır. Bu rnler, bağırsak sağlığını desteklemek için düzenli olarak tüketilmekte ve tüketici sağlığına olumlu katkılarda bulunmaktadır. Probiyotik içeren fonksiyonel gıdalar artan tüketici bilinci ile birlikte daha fazla talep görmekte ve sağlık açısından yararları nedeniyle önem kazanmaktadır (İspirli ve Dertli, 2023: 361).

Probiyotikler bağırsakta canlı kalabilen *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* ve *Enterococcus spp.* gibi bakterilerdir. Bu bakteriler, insan sindirim sisteminde doğal olarak bulunur ve temel olarak laktik asit bakterileri (LAB) grubuna aittir (Koçak ve ark., 2016). Bu çalışmanın amacı; yoğurt, turşu, sirke ve bazı kuru meyveler gibi besin maddelerinde bulunan probiyotik mikroorganizmaların izole edilerek tanımlanması ve bazı özelliklerinin belirlenmesidir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Probiyotiklerin Tanımı

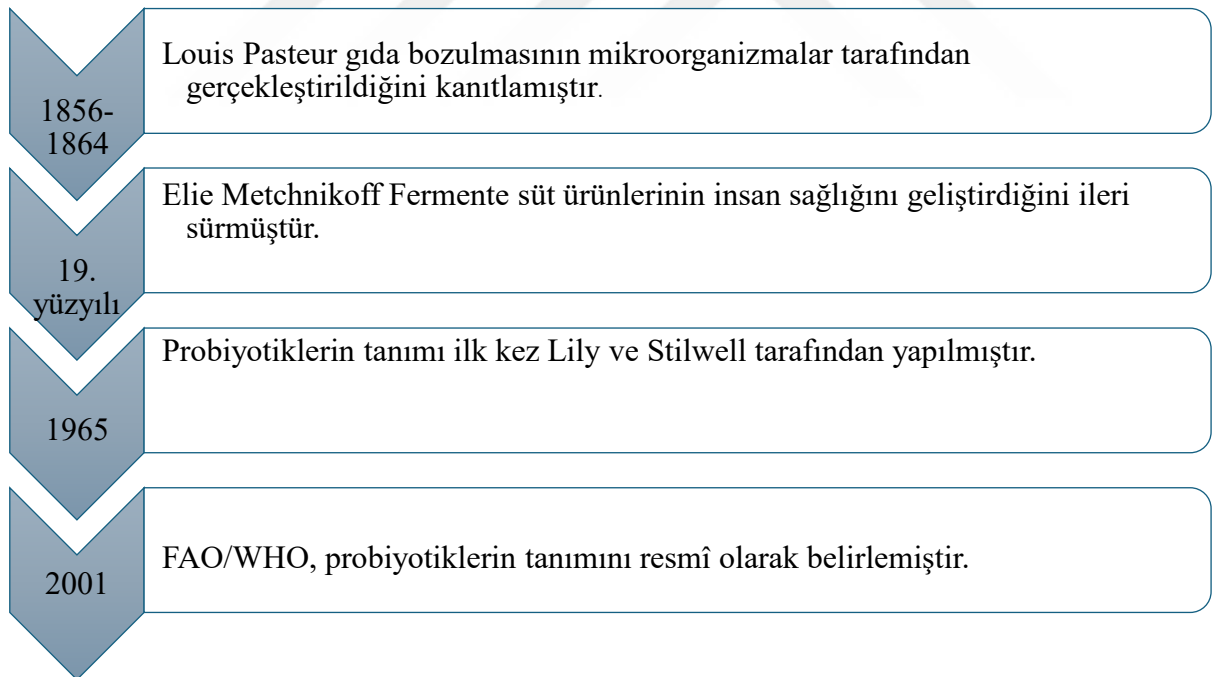
Probiyotik terimi, kökenini “yaşam için” anlamına gelen Yunanca sözcüklerden almaktadır (Kwofie vd., 2020: 493). Gıda ve Tarım Örgütü ve Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO) tarafından kabul edilen tanıma göre probiyotikler “yeterli miktarlarda alındıklarında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalardır” (Mishra ve Acharya, 2021 :1870). Dolayısıyla probiyotik suşlar patojenik olmayan, vücuda aktif olarak katkıda bulunan, belirli dozda ve formda alınabilen mikroorganizmalardır. Probiyotikler yeterli miktarda alındıklarında bağırsak mikrobiyotasının dengesini destekleyerek konakçının genel sağlık durumunu iyileştiren canlı mikroorganizmalardır (Latif vd., 2023: 2). Genellikle fermente süt ürünleri, turşular ve benzeri fermente gıdalarda doğal olarak bulunup hem beslenmeye hem de bağışıklık sistemine katkı sağlamaktadırlar (Latif vd., 2023: 2).

2.2. Probiyotiklerin Tarihçesi

Mikrobiyolojinin tarihsel gelişimi incelendiğinde 1856–1864 yılları arasında Louis Pasteur gıda bozulmasının mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirildiğini kanıtlamıştır. Bundan birkaç yıl sonra 1873’te Joseph Lister ekşi sütte *Streptococcus lactis* (günümüzde *Lactococcus lactis*) türünü izole etmiştir (Soomro vd., 2002: 20). Bununla birlikte 1889 yılında Henry Tissier anne sütüyle beslenen bebeklerin bağırsak florasında baskın olan *Bifidobacterium bifidum* türünü tanımlamıştır (Idrees vd., 2022: 2). 19. yüzyılın başlarında Nobel ödüllü bilim insanı Elie Metchnikoff bağırsak mikroflorasını zararlı bakteriler yerine yararlı mikroorganizmalarla değiştirerek sağlık ömür sağlanabileceği görüşünü öne sürmüştür (Idrees vd., 2022: 2). Ayrıca 1900’de Ernst Moro insan bağırsak florasından izole ettiği gram-pozitif bakteriyi *Bacillus acidophilus* (bugün *Lactobacillus acidophilus*) olarak tanımlamıştır (Idrees vd., 2022: 2). Bu gelişmelerin ardından 1954’te Ferdinand Vergin “probiotika” terimini sağlık için gerekli aktif maddeler olarak tanımlamış ve antibiyotiklerin faydalı bağırsak mikrobiyotasına zarar verdiğini vurgulamıştır (Yadav vd., 2022: 506). Daha sonra 1965’te Lilly ve Stillwell probiyotikleri “bir mikroorganizmanın başka bir mikrobiyal türün büyümesini teşvik eden maddeler” olarak yeniden tanımlamıştır (Shortt, 1999: 412). Bunun ardından 1974’te Parker probiyotikleri “bağırsak mikrobiyal dengesine katkı sağlayan organizmalar ve bileşikler” şeklinde ifade etmiştir (Kahraman Sarısu, 2021: 8). 1980’de Roy Fuller

probiyotikleri “Canlının bağırsak mikrobiyal dengesini iyileştirerek konağa fayda sağlayan canlı mikrobiyal besin takviyesi” olarak tanımlamıştır (Idrees vd., 2022: 2). 2001 yılında FAO/WHO probiyotikleri “yeterli miktarda verildiğinde konukçuya yarar sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlamışlardır (FAO/WHO, 2001: 5).

Günümüze gelindiğinde 2023’te Dünya Gastroenteroloji Organizasyonu probiyotik ve prebiyotiklerin irritabl bağırsak sendromu, antibiyotik ilişkili ishal ve inflamatuvar bağırsak hastalıklarındaki rolünü, dozlama rehberlerini ve güvenlik uyarılarını içeren kılavuz yayımlamıştır (WGO, 2023: 540). Bu kapsamda probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotiklerin metabolik sağlık, insülin duyarlılığı ve beyin-bağırsak eksenini yoluyla psikolojik belirtileri hafifletme potansiyelini ele alan kapsamlı bir derleme sunulmuştur (Sarita, 2025: 1). Bu alandaki güncel araştırmalar arasında inflamatuvar bağırsak hastalıklarında probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotiklerin semptom hafifletme, nüks oranlarını düşürme ve yaşam kalitesini artırma etkilerini inceleyen klinik çalışmalar yer almaktadır (Yassine, 2025: 6). Şekil 2.1.’de probiyotiklerin keşfinin tarihsel durumu ifade edilmiştir.



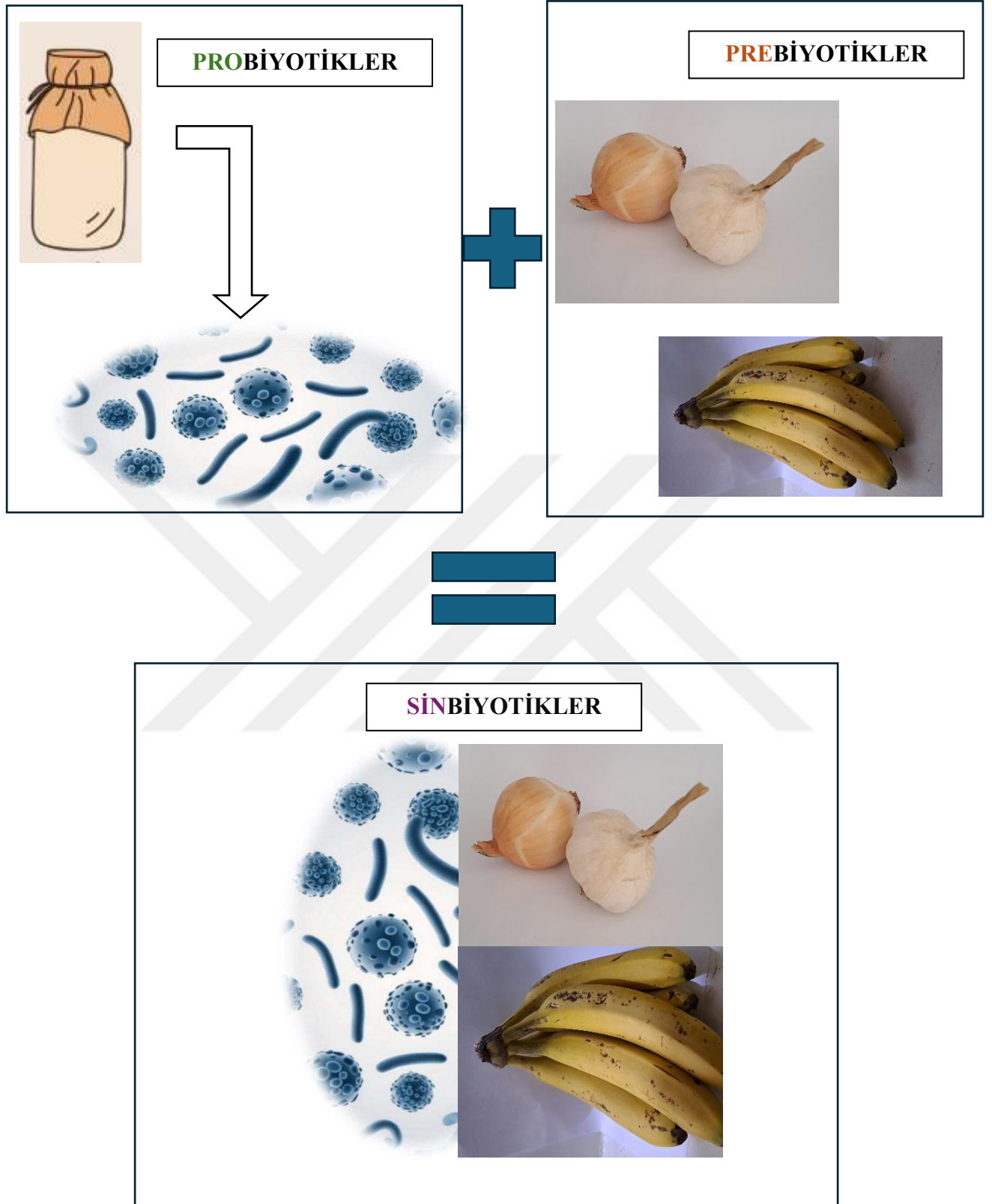
Şekil 2. 1. Probiyotik Gelişiminde Önemli Tarihler

2.3. Probiyotikler, Prebiyotikler, Sinbiyotikler, Postbiyotikler ve Parabiyotikler

Prebiyotikler sindirilemeyen gıda bileşenleri olup konak bağırsak mikrobiyotası içindeki yararlı bakteri popülasyonunu destekleyerek sağlık yararı sağlamaktadır. Prebiyotikler arasında inülin ve fruktooligosakkarit [FOS] gibi oligosakkaritler bulunmaktadır (Sarita vd., 2024: 2). Prebiyotiklerin temel özelliği midedeki asit ve ince bağırsaktaki enzimler tarafından parçalanmayıp kolonda fermente edilebilmeleridir. Örneğin inülin ve rezistan nişasta, laktozdan türemiş laktuloz ve çeşitli oligosakkaritler prebiyotik olarak kullanılmaktadır (Gul vd., 2024: 2). Bu bileşenler sindirilemedikleri halde kolon florasında *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* gibi faydalı bakterilerin sayısını artırmaktadır ve aktivitelerini seçici olarak teşvik ederek konağın sağlığına olumlu katkı sağlamaktadır (Pandey vd., 2015:7578).

Prebiyotikler bağırsak florasının dengesini ve aktivitesini olumlu yönde etkileyerek gastrointestinal sistemin sağlığını desteklemektedir. Ayrıca, kalsiyum ve magnezyum gibi temel minerallerin intestinal emilimini artırmaktadır. Kan kolesterol ve trigliserid düzeylerini olumlu yönde etkilemektedir, enfeksiyon riskini azaltmaktadır ve bağışıklık sistemini güçlendirmektedir (Taşdemir, 2017: 87).

Sinbiyotikler ise probiyotik ve prebiyotiklerin birlikte formüle edilmesidir. Uluslararası Probiyotik ve Prebiyotik Bilimsel Derneğine (ISAPP) göre sinbiyotik, “konak mikroorganizmaları tarafından seçici olarak kullanılan substrat ile bu substratı kullanan canlı mikroorganizmaları içeren konakta sağlık yararı sağlayan karışım” olarak tanımlanmıştır (Swanson vd., 2020 :687). Sinbiyotikler, probiyotik mikroorganizmalarla bunların büyümesini destekleyen prebiyotik bileşenlerin birlikte kullanıldığı ve bu sayede bağırsak florasında probiyotiklerin yaşamını ve etkisini artırarak konağa fayda sağlayan kombinasyonlardır (Pandey vd., 2015:7579). *Bifidobacterium* türleri ile fruktooligosakkarit karışımı veya *Lactobacillus* suşları ile laktitol içeren ürünler sinbiyotik örnekleridir (Gul vd., 2024: 2). Şekilde 2.2’de Probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotik ilişkileri ifade edilmiştir



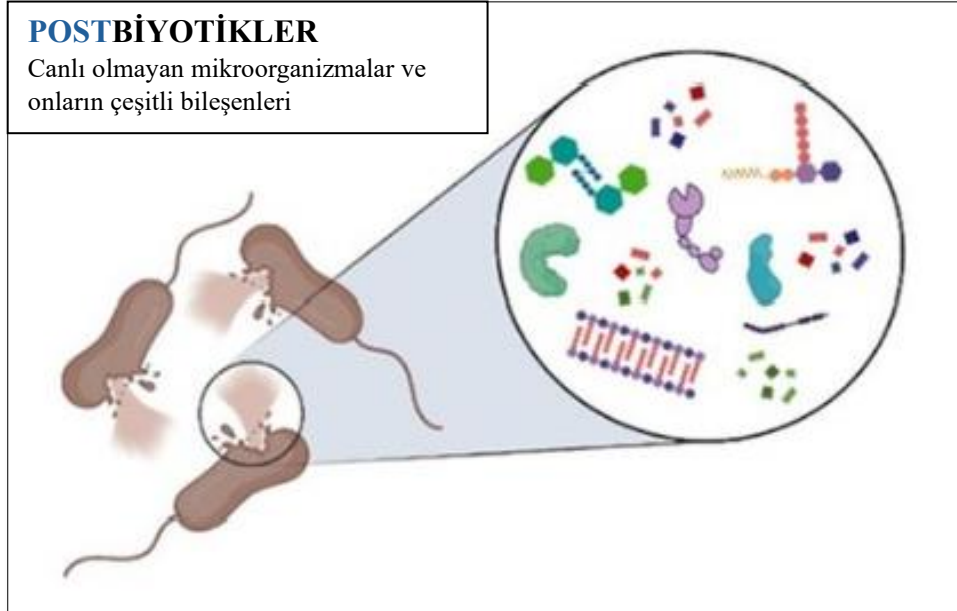
Şekil 2. 2. Probiyotiklerin Prebiyotik ve Sinbiyotiklerle ilişkisi

Postbiyotik terimi, Yunanca kökenli iki sözcüğün birleşiminden oluşmakta olup, "yaşamdan sonra" anlamını taşımaktadır (Salmin, 2021: 650). ISAPP tarafından bu kavram, "canlı mikroorganizmalarla ilişkili ya da onlardan türeyen bileşenler" şeklinde tanımlanmıştır (Salmin, 2021: 650). Postbiyotik üretim sırasında canlı mikroorganizmalar ısı, radyasyon veya yüksek basınç gibi işlemlere maruz kaldığında inaktive edilmekte ve bu inaktivasyon sonucunda cansız hücreler ile hücre bileşenleri elde edilmektedir (Özbay-Arı ve Yılmaz-Ersan, 2024: 513). Prajapati vd.'e göre postbiyotikler, probiyotik mikroorganizmaların fermantasyon süreci sırasında veya bağırsak mikrobiyotasında bulunan faydalı mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri sonucunda ortaya çıkan biyolojik olarak aktif bileşenlerdir (Prajapati vd., 2023 :2). Postbiyotikler, cansız bütün mikroorganizma hücrelerinden oluşabilir ve mikroorganizma tarafından üretilen metabolit, protein ya da peptit gibi bileşenleri de içerebilmektedir (Vinderola vd., 2022: 2). Bu bileşenlerin sağlık üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır (Vinderola vd., 2022: 2). Ayrıca, postbiyotikler, probiyotik mikroorganizmaların hücre dışına salgıladığı ya da metabolik süreçler sonucunda ürettiği; enzimler, proteinler, kısa zincirli yağ asitleri, vitaminler, amino asitler, peptitler ve organik asitler gibi çeşitli yararlı bileşenlerden oluşan hücresiz süpernatantlardaki karmaşık bir madde grubunu da ifade etmektedir (Nataraj vd., 2020: 1). Şekil 2.3'te postbiyotikleri anlatan görsel verilmiştir.

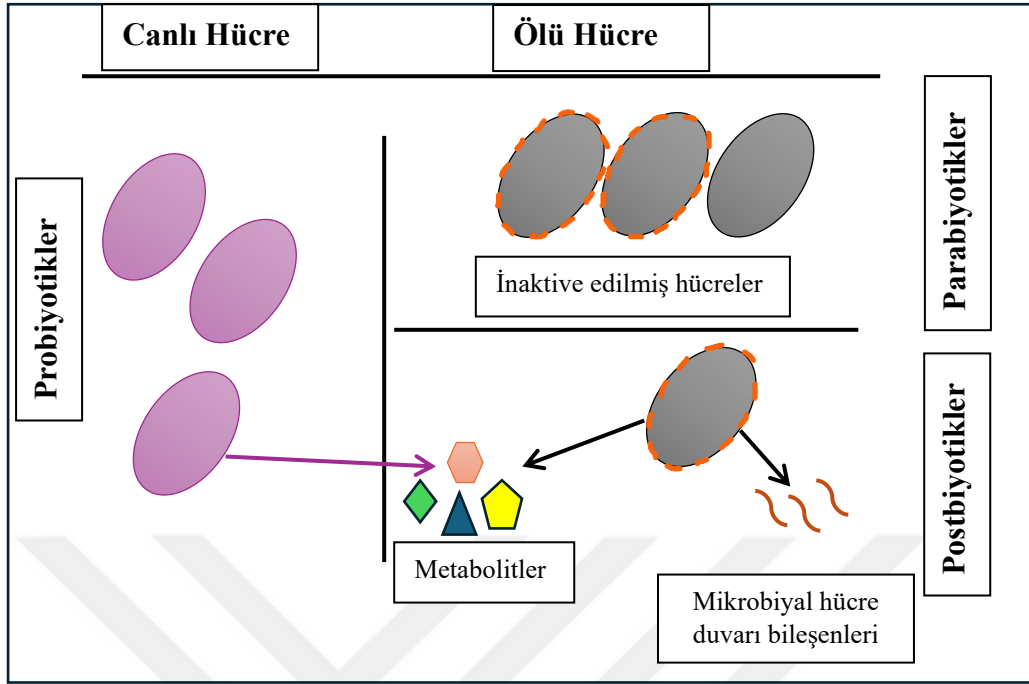
Parabiyotikler, canlı olmayan mikrobiyal hücrelerin tamamı veya parçalanmış formları ile bunlardan elde edilen ham hücre özütlerini içeren bileşenlerdir (Lee vd., 2023: 1982). Literatürde bazen "inaktive probiyotikler" veya "hayalet probiyotikler" olarak da adlandırılan parabiyotikler, probiyotiklerin metabolik aktivitesi olmadan da sağlık faydaları sağlayabilen biyolojik bileşenler olarak tanımlanmaktadır (Nataraj vd., 2020: 2). Parabiyotikler mikroorganizmaların kimyasal ya da mekanik işlemlerle inaktive edilmesi sonucunda elde edilmektedir (Lee vd., 2023: 1982). Parabiyotiklerin, hem insan hem de hayvan organizmalarında bağışıklık sistemini olumlu yönde etkilediği ve anti-inflamatuvar yanıtları düzenleyebildiği bilimsel olarak ortaya konmuştur (Siciliano vd., 2021: 3). Ayrıca parabiyotikler antibiyotik direnci riskini azaltmaya da katkı sağlayabilmektedir (Hosseini vd., 2024: 2). Parabiyotiklerin ısıya karşı dirençli olmaları, bağışıklık sistemini aktive etme yetenekleri, uzun süreli raf ömrüne sahip olmaları ve endüstriyel kullanım açısından güvenli kabul edilmeleri, onları probiyotiklere kıyasla daha avantajlı hale getirmektedir (Hosseini vd., 2024: 1). Probiyotikler, Prebiyotikler, Sinbiyotikler, Postbiyotik ve Parabiyotik karşılaştırılması Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2. 1. Probiyotikler, Prebiyotikler, Sinbiyotikler, Postbiyotikler ve Parabiyotiklerin Karşılaştırılması

Karşılaştırma Kriteri	Pro-biyotikler	Pre-biyotikler	Sin-biyotikler	Post-biyotikler	Para-biyotikler
Biyolojik durum	Canlı	Canlı değil	Hepsini canlı değil	Cansız	Cansız
Yapı	Canlı mikro-organizmalar	Sindirilemeyen karbon-hidratlar	Pro-biyotik + Prebiyotik birleşimi	Probiyotiklerin ürünleri (Metabolik ürünler)	Ölü probiyotik hücrelerin parçaları



Şekil 2. 3. Postbiyotikler (Banakar vd. 2024'ten uyarlanmıştır)



Şekil 2. 4. Probiyotiklerin Postbiyotik ve Parabiyotiklerle İlişkisi (Cuevas-Gonzalez vd., 2020’den uyarlanmıştır)

Metabolit içeren inaktive mikroorganizma yapıları postbiyotik olarak tanımlanırken, yalnızca canlılığını yitirmiş ve metabolit içermeyen hücreler paraprobiyotik olarak sınıflandırılmaktadır (Cuevas-Gonzalez vd., 2020). Probiyotik, postbiyotik ve parabiyotiklerin ilişkisi Şekil 2.4’te ifade edilmiştir.

2.4. Probiyotiklerin Özellikleri

Probiyotik bakteriler hem fenotipik (biokimyasal testler) (Zawistowska-Rojek vd., 2022: 9) hem genotipik (16S rRNA dizileme) yöntemlerle tanımlanmaktadır (Zawistowska-Rojek vd., 2022: 10). Herhangi bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için bazı biyolojik, genetik ve fizyolojik özellikleri karşılaması gerekmektedir. Probiyotiklerin asit ve safra tuzlarına tolerans (Koçak vd., 2016: 119), bağırsak epitel yüzeyine yapışma yeteneği, anti-genotoksik özellikler, laktik asit üretimi, zor koşullara dayanıklılık göstermesi gerekmektedir (Sarita vd., 2024: 2). Probiyotik bakteriler öncelikle güvenilir olmalı (Plaza-Díaz, 2019: 550) ve patolojik özellik taşımamalıdır (Horasan ve Çelikyürek, 2024: 346). Gelişmiş metabolik faaliyetler gösterebilmeli; örneğin vitamin sentezi yapabilmeli,

disakkaritleri ve laktozu parçalayabilen enzimler üretebilmeli ve kolesterol metabolizmasında rol alabilmelidir (Hayatoğlu 2021: 23).

Probiyotik mikroorganizmaların güvenliğini ve etkinliğini değerlendirmek için antibiyotik duyarlılık ve antimikrobiyal aktivite testleri kritik öneme sahiptir. Bu testler, probiyotik suşların hem insan sağlığına zarar vermeme potansiyelini hem de patojen mikroorganizmalarla rekabet edebilme yeteneklerini ortaya koymaktadır (Bilginer ve Çetin 2019: 318). Diğer testler arasında pH ve safra tuzlarına tolerans, fenol direnci ve hemolitik aktivite yer almaktadır. Asidik ve safra ortamına karşı direnç, probiyotiklerin gastrointestinal sistemde hayatta kalma yeteneklerini yansıtırken; fenol toleransı ise konak metabolizmasından kaynaklanan toksik bileşiklere karşı dayanıklılığı göstermektedir (Sökmen vd., 2024). Ayrıca hemolitik aktivite testi, probiyotik suşların potansiyel patojenik etkilerini belirlemek açısından önem arz etmektedir (Roldán-Pérez vd., 2023).

Çiftçi ve Koçak (2020) tarafından yürütülen çalışmada, izole edilen bakterilerin safra tuzlarına ve düşük pH koşullarına karşı dayanıklılıkları test edilmiştir. Ayrıca, dokuz farklı antibiyotiğe karşı duyarlılıkları Disk Difüzyon Yöntemi ile değerlendirilmiş ve izolatların antibiyotik direnç profilleri ortaya konmuştur. Bununla birlikte, patojenik *Escherichia coli*'ye karşı gerçekleştirilen antagonistik aktivite testlerinde, izolatların test edilen koşullar altında etkili olmadığı rapor edilmiştir.

Pehlivan ve Onuk (2020) çalışmasında, Antagonistik etkisi olan izolatların hidrofobik özellikleri, safra ve pH toleransları ile antibiyotik duyarlılıkları analiz edilmiştir. Antibiyotik duyarlılıkları testi disk difüzyon yöntemi ile yapılmıştır.

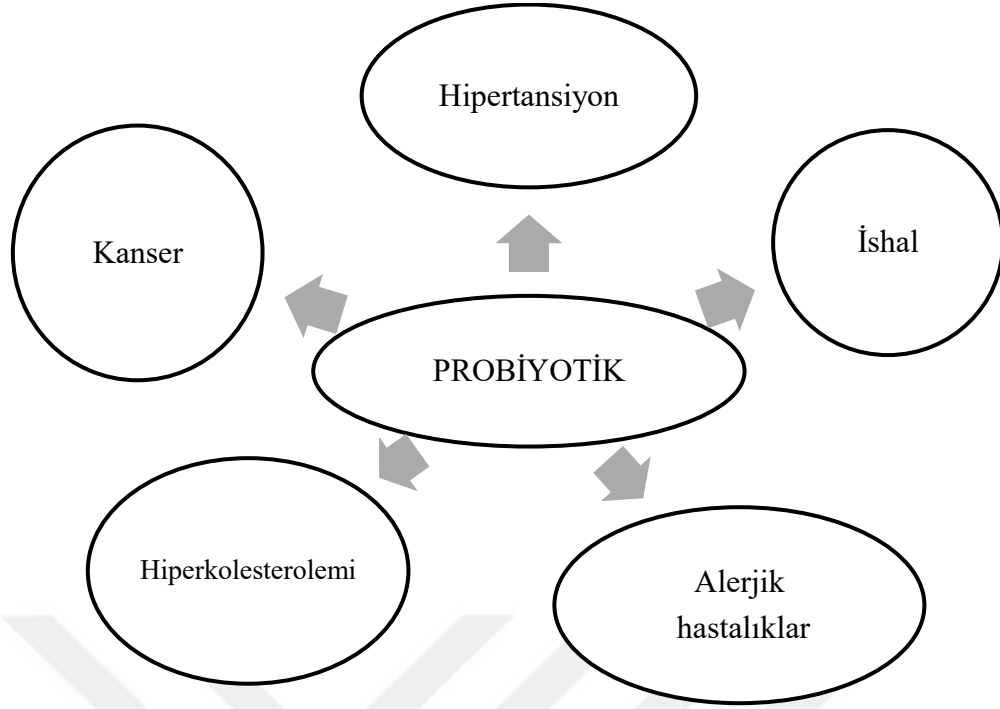
Bozdemir (2021) çalışmasında izole edilen Laktik Asit Bakterileri'nin (LAB) probiyotik özelliklerini ve antibakteriyel etkilerini değerlendirmiştir. İzolatların asit, hidrojen sülfür ve hidrojen peroksit üretme kapasiteleri, antibakteriyel aktiviteleri ve antibiyotik direnci analiz edilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek için agar diffüzyon yöntemi kullanılmıştır ve inhibisyon zonları ölçülmüştür. Ayrıca, izolatların safra tuzuna dayanıklılıkları ile hidrofobisite özellikleri belirlenmiştir.

2.5. Probiyotiklerin Önemi

Probiyotikler, bağırsak mikrobiyotasını dengeleyerek ve bağışıklık sistemini güçlendirerek konakçı sağlığını iyileştirmektedir. Probiyotiklerin hipertansiyon, hiperkolesterolemi, kanser ve çeşitli gastrointestinal hastalıklarda tedavi sürecini destekleyici potansiyele sahip olduğu bilinmektedir (Latif vd., 2023: 1).

Bu mikroorganizmalar toksinleri detoksifiye etmektedir. Ayrıca K ve B grubu vitaminler üretmektedir (Barkhidarian vd., 2021: 2). Bununla birlikte besinsel lifi fermente ederek kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) oluşturmaktadır (Latif vd., 2023: 2). Probiyotikler patojenlerin bağlanma bölgelerini işgal ederek ve besin maddeleri için rekabet ederek zararlı bakteri sayısını azaltmaktadır. Aynı zamanda bariyer fonksiyonunu iyileştirerek bağırsak geçirgenliğini düşürüp antikor üretimini arttırmaktadır (Latif vd., 2023: 2).

Probiyotiklerin antibiyotik kaynaklı ishal ve bağırsak hastalıklarında ağrı ve diğer rahatsızlıkların azalmasında etkili olduğu klinik çalışmalarla desteklenmiştir (Sarita vd., 2024: 1). Probiyotikler alerjik reaksiyonları ve laktoz intoleransını azaltabilir, serum kolesterol düzeyini düşürebilir ve bağışıklık yanıtını düzenleyebilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalar, probiyotiklerin kilo kontrolü, kan glukoz kontrolü, metabolizma düzenlenmesi gibi metabolik hastalıklarda ve bağırsak-beyin eksenini aracılığıyla anksiyete, depresyon gibi psikiyatrik durumlarda da fayda sağlayabileceğini ortaya koymuştur (Sarita vd., 2024: 1). Şekil 2.5'te probiyotiklerin etkili olabileceği bazı hastalıklar ifade edilmiştir.



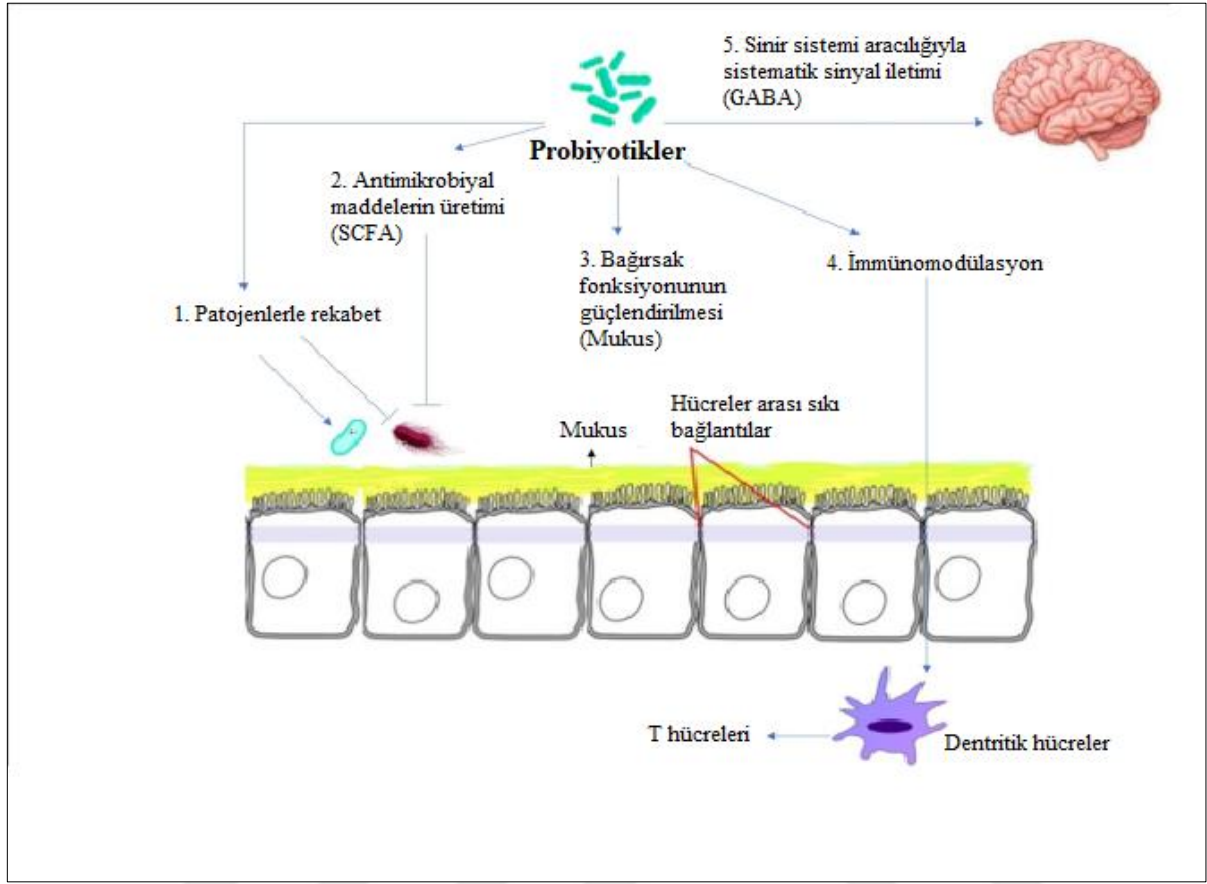
Şekil 2. 5. Probiyotiklerin Etkili Olabileceği Bazı Hastalıklar

2.6. Probiyotiklerin Etki Mekanizması

Probiyotikler, insan sağlığını destekleyen çok yönlü biyolojik etkiler göstermektedir. Bu etkiler, bağırsak mikrobiyotasıyla etkileşim, bağışıklık sistemi üzerindeki düzenleyici etkiler, patojenlere karşı savunma mekanizmaları ve sinir sistemiyle bağlantılı biyokimyasal yollar aracılığıyla ortaya çıkmaktadır (İduğ ve Hızlı Güldemir, 2024 :459).

İlk olarak, probiyotikler bağırsak ortamında yerleşik yararlı bakterilerle birlikte, zararlı mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyen bir denge oluşturur. Bu denge, öncelikle besin maddeleri ve hücre yüzeylerindeki bağlanma noktaları için patojenlerle rekabete girerek patojenlerin epitel yüzeye tutunması ve çoğalmasını engellemektedir. Ayrıca, probiyotik bakteriler tarafından sentezlenen laktik asit, bakteriyosin, hidrojen peroksit gibi antimikrobiyal bileşikler, zararlı mikroorganizmaların büyümesini doğrudan baskılamaktadır (Latif vd., 2023: 2). Bu maddeler bağırsak ortamının pH'ını düşürerek asidik bir ortam oluşturur ve patojenlerin yaşam koşullarını olumsuz hale getirmektedir (Doğan, 2011: 101). Ayrıca probiyotikler mukus yapımını ve hücreler arası sıkı bağlantı (tight junction) yapılarının bütünlüğünü destekleyerek mukozanın bariyer fonksiyonlarını artırmaktadır (Latif vd., 2023: 2). Probiyotiklerin bir diğer önemli etki mekanizması ise bağırsak ilişkili lenfoid doku etkileşiminin güçlendirilmesidir.

Bağırsak ilişkili lenfoid doku (GALT) üzerinde etkili olan mikroorganizmalar dendritik hücreler, makrofajlar, B ve T lenfositleri ile etkileşime geçerek bağışıklık yanıtlarını düzenlemektedir (Latif vd., 2023: 2). Bu sayede antikor üretimini desteklemesi ve makrofaj aktivitesinin artması sağlanmaktadır (Doğan, 2011: 101). Bununla birlikte probiyotikler tarafından üretilen kısa zincirli yağ asitleri (asetat, propiyonat ve bütirat) bağırsak bütünlüğünün korunmasına ve immun yanıtın düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır (Yeşillik, 2008: 10). Son olarak, bazı probiyotik suşların merkezi sinir sistemi üzerinde dolaylı etkileri olduğu ortaya konmuştur (Özer vd. 2019: 273). Bu etki, bağırsak-beyin eksenini üzerinden gerçekleşmektedir. Probiyotikler, serotonin, dopamin ve GABA gibi nörotransmitterlerin üretimini etkileyebilmektedir. Bu durum; ruh hali, stres yanıtı ve uyku düzeni gibi birçok fizyolojik süreç üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (Latif vd., 2023: 2). Özellikle psikobiyotik olarak adlandırılan bazı probiyotik türlerinin, anksiyete ve depresyon benzeri belirtileri azaltabileceği bildirilmiştir (Özer vd. 2019: 275). Şekil 2.6.'de Probiyotik etki yolları ifade edilmiştir.



Şekil 2. 6. Literatürde Tanımlanan Probiyotik Etki Yolları: Mikrobiyal Rekabet, Antimikrobiyal Aktivite, Bariyer Güçlendirme, Bağışıklık Düzenleme ve Nörotransmitter Üretimi (Latif vd., 2023'ten uyarlanmıştır).

2.7. Probiyotik Kaynağı Olarak Tüketilen Gıdalar

Süt, fermente gıdaların tarihsel gelişiminde öncü bir rol üstlenmiştir. Başlangıçta, pastörize edilmemiş sütlerin doğal mikrobiyotasının etkisiyle kendiliğinden gerçekleşen fermentasyonlar, zamanla insan eliyle yönlendirilen kontrollü süreçlere dönüşmüştür (Castellone vd., 2021: 5). LAB'ların laktozu parçalaması sonucunda oluşan asitler, istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyerek ürünün dayanıklılığını artırmaktadır (Soemarie vd., 2021:335). Aynı zamanda ortaya çıkan aroma bileşikler besin değerini yükseltmektedir. Günümüzde yoğurt ve kefir gibi ürünler hem geleneksel hem de endüstriyel üretimde yaygın şekilde tüketilmektedir (Castellone vd., 2021: 5).

Fermente süt ürünü olan yoğurt *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* starter kültürleri içermektedir (de Souza vd., 2024:1). Bu bakteriler bağırsakta kalıcı olarak yerleşmeyip geçici mikrobiyota oluşturmaktadır. Ancak yine de sağlık üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır (Castellone vd., 2021: 6).

Diğer süt ürünlerinde olduğu gibi, yoğurt da beslenmede sıkça tavsiye edilmektedir. Bunun sebebi, yoğurt vücudun ihtiyaç duyduğu temel amino asitlerin yanı sıra, laktik asit, eksoopolisakkaritler (EPS) ve yağda çözünen vitaminler gibi biyoaktif bileşenler içermektedir (Castellone vd., 2021: 6). Ayrıca inko, potasyum, fosfor ve kalsiyum gibi mineraller bakımından zengindir (de Souza vd., 2024:1). Yoğurt tüketimi sindirimi kolaylaştırmaktadır. Bununla birlikte bağırsak hareketlerini arttırmaktadır, immün yanıtı destekleyip diş sağlığını olumlu etkileyebilmektedir (de Souza vd., 2024:1). Özellikle probiyotik yoğurtlarda *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* suşları antibiyotik tedavisinin ardından mikrobiyota dengesinin yeniden sağlanması, ishal tedavisi ve laktaz enzimi desteği gibi ek yararlar sağladığı bilinmektedir (de Souza vd., 2024:2). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada yoğurdun bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek Alzheimer hastalığı modelinde beyin fonksiyonlarını desteklediği gösterilmiştir (Castellone vd., 2021: 6).

Sirke retim süreci farklı mikroorganizmaların ardışık olarak faaliyet gösterdiği karmaşık bir fermentasyon sistemidir. Bu süreçte, özellikle LAB asetik asit bakterilerine (AAB) kıyasla daha geniş bir çeşitlilik sergilemektedir. *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* başta olmak üzere toplam altı cinse ve 26 tre ait LAB fermentasyonun çeşitli evrelerinde aktif rol oynamaktadır. Özellikle başlangıç aşamasında organik asit üretimi, aroma maddelerinin oluşumu ve sağlık açısından faydalı bileşiklerin sentezi gibi görevleri üstlenmektedir. LAB'lerin metabolik faaliyetleri sonucunda ortaya çıkan laktik asit ve diğer organik bileşikler, sirkenin asidik yapısını ve aromatik özelliklerini belirgin şekilde zenginleştirmektedir. Ayrıca, bu bakterilerin ürettiği bakteriyosinler sayesinde zararlı mikroorganizmaların gelişimi engellenerek ürün güvenliği artırılmaktadır (Hosseini vd., 2025: 3).

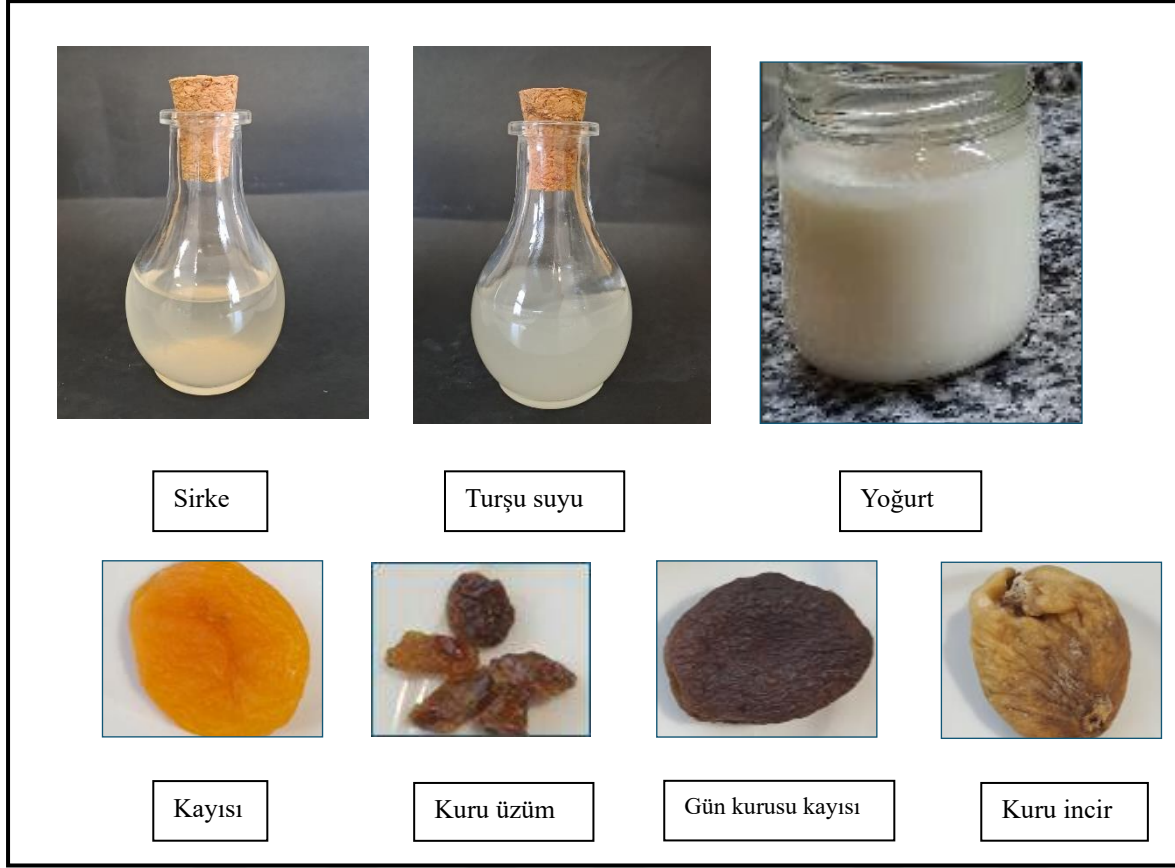
Meyve sirkeleri, fermente meyvelerden elde edilen doğal ürünler olup, kullanılan meyve türüne bağlı olarak içerik ve kalite açısından farklılık gösterebilmektedir. Özellikle elma sirkesi hem yaygın kullanımı hem de zengin kimyasal içeriğiyle dikkat çekmektedir. Elma sirkesinin diğer meyve sirkelerine kıyasla daha yüksek kuru madde ve fenolik bileşik oranlarına sahip olduğu tespit edilmiştir (Yücel şengün ve Kılıç 2019: 95). Bu tür sirkelerde malik asit ve laktik asit gibi organik asitlerin yoğunluğu hem tat profiline hem de mikrobiyal stabiliteye olumlu katkı sağlamaktadır. Ayrıca meyve sirkeleri içerdikleri fenolik bileşikler, vitaminler ve

mineraller sayesinde biyoaktif bileşenler açısından da değerli bir kaynak olarak kabul edilmektedir (Yücel Şengün ve Kılıç 2019: 95).

Salatalık, lahana ve havuç gibi sebzelerin tuzlu suda LAB ile fermente edilmesiyle elde edilen turşu zengin bir probiyotik kaynağıdır (Soemarie vd., 2021:335). *Leuconostoc* ve *Lactobacillus* türleri sebze yüzeyinde çoğalmaktadır ve laktik asit üreterek gıdaya keskin tat vermektedir. Bu fermente sebzelerin tüketimi, bağırsak pH'ını düşürüp patojen bakteri baskılayarak ve bağışıklık sistemi yanıtını uyarak sağlık faydası sağlamaktadır. Turşu ve benzeri fermente sebzelerin düzenli tüketiminin inflamasyonu azaltabileceği ve sindirim sistemini destekleyebileceği düşünülmektedir (Castellone vd., 2021: 2)

Kayısı, kuru incir ve kuru üzüm gibi kuru meyveler zengin glikoz, lif, protein, vitamin ve mineral içeriği sayesinde besleyici bir gıda olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, kuru meyvenin sahip olduğu fitokimyasallar, onu güçlü bir antioksidan ve kanserle mücadelede potansiyel bir bileşik kaynağı haline getirmektedir. Kayısı, tarihsel kökeni çok eskiye dayanan ve özellikle Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen önemli bir meyvedir. Demritaş vd. (2020) kuru kayısı üzerinde yaptıkları çalışmada patojen bakteri tespit etmemiş, izole edilen bakteriler arasında yer alan *Bacillus licheniformis* türlerinin güvenli kullanım açısından insan sağlığına risk oluşturmadığı ve gıda uygulamalarında kullanılabileceği bilimsel olarak kabul edilmiştir (Erem vd., 2013 :249). Ayrıca *Bacillus pumilus*'un antifungal etkileri ve *Bacillus amyloliquefaciens*'in probiyotik potansiyeli vurgulanmıştır. Buna ilaveten, gün kurusu kayısının yalnızca güvenli bir gıda değil, aynı zamanda probiyotik potansiyeli taşıyan fonksiyonel bir ürün olabileceğini göstermektedir (Demritaş vd., 2020: 648). Şekil 2.7'de bu çalışmada kullanılan gıda örnekleri verilmiştir.

Probiyotik mikroorganizmaların ürün raf ömrü boyunca canlı kalması büyük önem taşımaktadır. Bu durum üretim sırasındaki hijyen koşulları ve uygun depolama sıcaklıkları gibi birçok etkene bağlıdır. Ayrıca, probiyotiklerin starter kültürlerle olan etkileşimleri, oksijen ve pH gibi çevresel faktörlere duyarlılıkları da ürünün mikrobiyolojik kalitesini ve sağlık faydasını etkileyebilmektedir (de Souza vd., 2024: 12).



Şekil 2. 7. Probiyotik Mikroorganizmalar İçeren Gıda Örnekleri

2.8. Probiyotik Özellik Gösteren LAB Türleri

LAB'lar karbonhidratları fermente ederek başta laktik asit olmak üzere çeşitli metabolitler üreten Gram-pozitif, genellikle hareketsiz ve spor oluşturmeyen mikroorganizmalardır (Zhang vd., 2023: 3).

LAB'lar fermente gıdaların doğal bileşenleridir ve gıda raf ömrünü uzatan organik asitler üretmektedir (*Soemarie vd., 2021:335*). Mikrobiyolojik olarak bu gruptaki bakteri suşları genellikle katalaz-negatiftir ve enerji metabolizmaları laktat üretimine dayanmaktadır (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011: 63; Latif vd., 2023: 2). Bu bakterilerin etkileri, probiyotik fonksiyonlarla sıkı bir şekilde bağlantılıdır ve bu bakteriler bağırsak mikroflorasını dengeleme ve bağışıklık uyaran maddeler salgılama yetenekleri ile tanınmaktadır. Örneğin *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri probiyotik gıdaların vazgeçilmez üyeleridir (Latif vd., 2023: 2).

Fermentasyon özelliklerine göre LAB'lar homofermantatif ve heterofermantatif olarak iki gruba ayrılmaktadır. Homofermantatif bakteriler, bir glukoz molekülünden iki molekül laktik asit üretirken; heterofermantatif türler (örneğin *Streptococcus* ve *Lactococcus*), bir glukoz molekülünden laktik asit, etanol ve karbondioksit sentezleyebilmektedir (Zhang vd., 2023: 3). LAB'ların Taksonomik sınıflandırılması Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2. 2. LAB'ların Taksonomik Olarak İki Farklı Filuma Ayrılması (Soemarie vd., 2021:335).

Şube (Filum)	İçerdiği Cinsler (Genus)
Firmicutes	<i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Tetragenococcus</i> , <i>Aerococcus</i> , <i>Carnobacterium</i> , <i>Weissella</i> , <i>Alloiococcus</i> , <i>Symbiobacterium</i> , <i>Vagococcus</i>
Actinobacteria	<i>Atopobium</i> , <i>Bifidobacterium</i>

2.9. Probiyotiklerin Tanımlanmasında Kullanılan Yöntemler

Probiyotik mikroorganizmaların tanımlanması hem taksonomik sınıflandırma hem de fonksiyonel özelliklerin belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır (Özcan, 2022). Bu bağlamda, 16S rRNA gen dizileme analizi probiyotiklerin identifikasyonunda yaygın olarak kullanılan temel yöntemler arasında yer almaktadır (Doğan ve Cebeci, 2021; Gürsoy ve Otlı, 2017: 58).

Ayhan (2021) çalışmasında, 22 adet tulum peyniri örneğinde *Enterococcus* cinsi bakterilerin izole edilmesini ve tanımlanmasını gerçekleştirmiştir. Ayrıca bu bakterilerin antibiyotiklere olan duyarlılıkları disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, 16S rRNA dizi analizi ile yapılan tür düzeyindeki tanımlamalarda, bazı izolatlar tanımlanmıştır.

Doğan ve Cebeci (2021) çalışmasında, Van otlu peynir ve ekşi hamur örnekleri, laktik asit bakterilerini belirlemek için biyokimyasal ve PZR tabanlı moleküler biyoloji yöntemleri ile analiz edilmiştir. 16S rRNA gen bölgesinin PZR yöntemi ile çoğaltılması için 9699-ileri ve 9700-geri primerleri (10 mM) kullanılmıştır. Biyokimyasal testler sırasında örnekler, Gram boyama, katalaz aktivitesi ve pH 4.4 büyüme yetenekleri açısından değerlendirilmiştir.

Aladeboyeje (2019) çalışmasında elde ettiği izolatları morfolojik olarak tanımlanmış, Gram pozitif ve katalaz negatif özellik gösteren bakteri suşlarını 16S rRNA dizi analizi ile tanımlamıştır. İzolatların genetik tanımlanması evrensel 16S rRNA gen bölgesine özgü primerler (ileri: 5'-TGGAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'; geri: 5'-TACCGCGGCTGCTGGCAC-3') kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada antimikrobiyal aktivitesi belirlenmesi için izole edilen probiyotiklerin farklı insan patojenleri (*S. epidermidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. Aeruginosa* ve *C. albicans*) üzerine etkisi nokta damlatma ve agar kuyu difüzyon olmak üzere iki farklı yöntemle test edilmiştir.

Diker (2019) çalışmasında, 5 adet ticari bal örneğinden 20 *Lactobacillus* cinsi bakteriyi izole etmiş ve bu izolatların koloni ve morfolojik özelliklerini inceledikten sonra moleküler tanımlamalarını 16S rRNA dizileme analizi ile gerçekleştirmiştir. Bu analizler sonucunda tüm suşların *L. rhamnosus* olduğu belirlenmiştir.

Onur (2021) çalışmasında, çeşitli kaynaklardan izole edilen laktik asit bakterilerinin (LAB) bazı probiyotik özellikleri belirlemiştir. Bu çalışmada, farklı gıda ürünleri, eşek sütü ve anne sütü örneklerinden 45 LAB suşu izole edilmiştir. Morfolojik inceleme amacıyla Gram boyama, katalaz testi ve metilen mavisi boyama kullanılmıştır. Moleküler tanımlamada RAPD-PZR ile OPA-7 primeri kullanılmıştır. PZR ile 16S rRNA gen dizileme gerçekleştirilmiştir.

Oktar uzun ve Bayraktar (2023) çalışmalarında, geleneksel yöntem kullanılarak üretilmiş zeytin ve elma sirkesinden bakteri türleri izole etmiş ve DNA dizi analizleriyle tanımlamıştır. Çalışmada, elma ve zeytin sirkesi biyofilm tabakalarındaki mikrobiyal çeşitliliği analiz etmek amacıyla PZR yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem, bakteriyel DNA'nın belirli bir bölgesini çoğaltarak, DNA'nın farklı varyasyonlarını değerlendirmeye olanak tanır. Bu yöntemde PZR aşamasında 16S rRNA geninin bir bölgesi amplifiye edilir ve ardından DGGE tekniği ile bu DNA parçaları boyut farklılıklarına göre ayrılır. Bu süreç, biyofilmdeki bakteriyel çeşitliliği ve hangi türlerin baskın olduğunu belirlemek için kullanılmaktadır. Çalışma sonucunda zeytin sirke örneklerinde *Komogataeibacter rhaeticus* türü, elma sirke örneklerinde

ise *Komogataeibacter xylinus* (Gluconacetobacter) türü en fazla bulunan tür olarak tespit edilmiştir.



3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada probiyotik mikroorganizmaların izolasyonu amacıyla ticari hurma, kuru incir, gün kurusu kayısı, hazır yoğurt, hazır turşu suyu ayrıca ev yapımı yoğurt, ev sirkesi ve ev yapımı turşu gıda örnekleri kaynak olarak kullanılmıştır. Örnekler laboratuvara getirilmiş ve mikroorganizmaların izolasyonları tamamlanıncaya kadar +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri

Probiyotik mikroorganizmaların izolasyonu, gelişimi ve biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan besiyerleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3. 1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri

Besiyeri	Marka	Kullanım Amacı	Kaynak
De Man, Rogosa ve Sharpe Agar (MRS)	Biolife Italiana	LAB’ların izolasyonu	(Zawistowska-Rojek vd., 2022: 6)
De Man, Rogosa ve Sharpe Broth (MRS)	Biolife Italiana	LAB’ların sıvı ortamda gelişimi ve biyokimyasal testler için hazırlanması	(Zawistowska-Rojek vd., 2022: 6)
Nutrient Broth (NB)	Merck	Bakteri türlerinin sıvı ortamda gelişimi	(Sökmen Yılmaz., 2017)
Nutrient Agar (NA)	Merck	Bakteri türlerinin izolasyonu	(Uthayasooryan vd., 2016: 431)
Koyun Kanlı Agar	Aklab Group	Hemolitik aktivitenin belirlenmesinde kullanılmıştır	(Xu vd., 2019)

3.2. Çalışmada Kullanılan kimyasallar

İzolatların biyokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin değerlendirilmesi için kullanılan çeşitli kimyasal maddeler Tablo 3.2’te sunulmuştur.

Tablo 3. 2. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Kimyasallar	Kimyasal Formül	Kullanım amacı
Hidrojen peroksit (Merck)	H_2O_2	Probiyotiklerin katalaz aktivitesini test etme.
Fenol (Sigma–Aldrich)	C_6H_5OH	Probiyotiklerin dayanıklılıklarını ve fonksiyonel kapasitelerini test etme.
Safra tuzu (ZAG Kimya)	Sodyum-3 alfa,12alfa-dihidroksi-5 beta-kolan-24-oat	Bakterilerin safra tuzlarına karşı dayanıklılıklarını test etme.
Phosphate Buffer Saline (PBS)	$NaCl + KCl + Na_2HPO_4 + KH_2PO_4$	Bakteri süspansiyonu hazırlamak amacıyla kullanılmıştır.
Hidroklorik asit (Sigma-Aldrich)	HCL	Asit toleransı testi için kullanılmıştır.
Gentamicin (Bioanalyse)	$C_{19}H_{43}N_5O_7$	Antimikrobiyal duyarlılık testi için kullanılmıştır.
Vancomycin (Bioanalyse)	$C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$	Antimikrobiyal duyarlılık testi için kullanılmıştır.

3.3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Çalışma kapsamında gerçekleştirilen tüm analizlerde kullanılan cihazlara ilişkin bilgiler Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3. 3. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Cihaz Adı	Markası	Kullanım Amacı
İnkübatör	Nükleon NST55 Etüv	Mikroorganizmaların geliştirilmesinde kullanılmıştır.
Spektrofotometre	Spectro 22 Visible	Optik yoğunluk ölçümleri için kullanılmıştır.
Mikroskop	B-20 CR, Optica Italy, SN 574022	Mikroorganizmaların incelenmesi için kullanılmıştır.
Santrifüj	Fisher Brand	12V DC, küçük hacimli (en fazla 2 mL) mikroorganizmaların çökeltisi ve süpernatanın ayrılması için kullanılmıştır.
Vortex	DLAB MX-S	Testlerde homojen karıştırma amacıyla kullanılmıştır.
Isıticılı Manyetik Karıştırıcı	MTOPS HS12	Çözeltilerin homojen bir şekilde karıştırılması için kullanılmıştır.
Hassas Terazî	NECKLİFE	Gıda örnekleri ve kimyasalların tartımında kullanılmıştır

3.4. Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Test Organizmaları

Antimikrobiyal aktivite testlerinde kullanılan standart mikroorganizmalar Tablo 3.4'te verilmiştir.

Tablo 3. 4. Antimikrobiyal Aktivite Testlerinde Kullanılan Standart Mikroorganizmalar

Mikroorganizmalar	Özelliği
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gram (-) Bakteri
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	Gram (+) Bakteri
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Gram (+) Bakteri
<i>Candida albicans</i> ATCC 24433	Maya

3.5. İzolasyon Çalışmaları

Bu çalışmada probiyotik mikroorganizmalarının izolasyonu için hurma, kuru incir, gün kurusu kayısı, hazır yoğurt, ev yoğurdu, ev sirkesi, ev yapımı turşu ve hazır turşu suyu gıda örnekleri kaynak olarak kullanılmıştır. Öncelikle bu kaynaklardan 1 gram örnek alınıp steril ortamda steril serum fizyolojik tuzlu suda homojenize edilerek seyreltilmiştir (Akbal ve Vural, 2018: 94). Seyreltilen örneklerden 200 µL alınarak MRS (De Man, Rogosa ve Sharpe) agar ve MRS broth besiyerlerine ekim yapılmıştır. MRS besiyerine eklenen örnekler mikrobiyal gelişim için inkübatörde 37 °C’de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda petri yüzeyinde farklı morfolojilere sahip koloniler seçilerek arka arkaya ekimler yapılmıştır ve saf kültür mikroorganizmalar elde edilmiştir. Saf kültür olarak elde edilen isolatlar moleküler yöntemlerle tanımlanmış ve probiyotik özelliklerinin belirlenmesi için testlere tabi tutulmuştur.

3.6. Gram Boyama

Gram boyama, bakterilerin hücre duvarı yapısına göre sınıflandırılmasını sağlayan temel mikrobiyolojik bir tekniktir. Petri üzerinde gelişen tek koloniden öze ile alınıp, 1 damla distile su damlatılmış lam üzerine sürülmüştür. Daha sonrasında oda sıcaklığında kuruması için beklenmiştir. Kuruyan örnekler alevden geçirilerek fikse edildikten sonra gram boyama prosedürüne göre boyanmıştır (Ayhan, 2021: 22). Son olarak örnekler kurutma kağıdı ile kurulandıktan sonra üzerlerine lamel kapatılarak 4X, 10X ve 40X büyütme oranları ile

mikroskopta incelenmiştir. Mor renkli olan bakteriler Gram (+), pembe renkli olan bakteriler ise Gram (-) olarak değerlendirilmiştir (Kütük, 2015: 67).

3.7. Katalaz Testi

Katalaz testi, mikroorganizmaların hidrojen peroksidi su ve oksijene dönüştürme yeteneğini incelemek için yaygın olarak kullanılan biyokimyasal bir testtir. Katı besiyerinde gelişmiş örneklerden öze ile alınıp, lam üzerine sürüldükten sonra üzerine %3'lük hidrojen peroksit damlatılmıştır. Kabarcıkların görülmesi katalaz enziminin kimyasal olarak varlığına işaret etmektedir (Yurdakul vd., 2024).

3.8. Moleküler Tanımlama

Çalışmada gram pozitif ve katalaz negatif olarak tespit edilen iki izolatın moleküler düzeyde tanımlamaları 16S rRNA dizi analizi ile gerçekleştirilmiştir. Bu analizler hizmet alımı ile BM Yazılım Danışmanlık ve Laboratuvar Sistemleri Ltd. Şti. tarafından gerçekleştirilmiştir.

Bakteri DNA izolasyonu için EurX GeneMATRIX Bacterial & Yeast DNA izolasyon kiti (Polonya) kullanılmıştır. İzolasyon sonrası DNA'nın saflık ve konsantrasyonu, Thermo Scientific Nanodrop 2000 (USA) spektrofotometresiyle ölçülerek değerlendirilmiştir. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) çalışmasında universal primerler olarak 27F-1492R primerleriyle tür tayini için hedeflenen 16S rRNA gen bölgesi çoğaltılmıştır. Kullanılan primer dizileri Tablo 3.5'te, PZR koşulları ise Tablo 3.6'da verilmiştir.

Tablo 3. 5. Moleküler Tanımlamada Kullanılan Primerler

27F	5' AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3'
1492R	5' TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3'

Tablo 3. 6. PZR Koşulları

Bileşen	Stok Konsantrasyonu	Reaksiyon Konsantrasyonu
PZR Tamponu	10X	1X
MgCl ₂	25 Mm	1,5 Mm
DNTP Karışımı	20 mM	0,2 mM
F. Primer	10 µM	0,3 µM
R. Primer	10 µM	0,3 µM
Taq DNA Polimeraz	5U/µL	2U
Kalıp DNA	3 µL	
PCR seviyesi su ile 35 µL'ye tamamlanır		
95°C – 5 dakika - DNA zincirinin açılması		
30 döngü: — 95°C – 45 saniye - Denatürasyon — 57°C – 45 saniye - Primerlerin açılan DNA zincirlerine yapışması — 72°C – 60 saniye - İlk primer uzaması		
72°C – 5 dakika - Son primer uzaması		
Sıcaklık 4°C'ye düşürülür ve PZR tamamlanır		

PZR amplifikasyonları, Kyratrec marka termal siklus cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünler, 1x TAE tamponu içeren %1,5 oranındaki agaroz jelde, 100 volt gerilim uygulanarak 90 dakika boyunca elektroforeze tabi tutulmuş ve etidyum bromür ile boyanarak UV ışığı altında görüntülenmiştir. Yaklaşık 1470 baz çifti uzunluğundaki bölgeyi çoğaltmak amacıyla tek basamaklı bir PZR protokolü uygulanmıştır. PZR reaksiyonlarında, Estonya menşeli Solis Biodyne firmasının FIREPol® Taq DNA polimeraz enzimi kullanılmıştır. Elektroforez sonucunda jelde tek bant gözlenmiş ve böylece PZR işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiği doğrulanmıştır. Saflaştırma aşamasında ise, tek bant içeren örnekler MAGBIO firmasına ait "HighPrep™ PCR Clean-up System" (AC-60005) kiti kullanılarak, üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda saflaştırılmıştır.

Sanger dizileme işlemleri, Applied Biosystems firmasına ait ABI 3730XL model cihaz (Foster City, CA) ve BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Dizileme için 27F ve 1492R primerlerinden elde edilen veriler, ortak bir konsensus dizi oluşturmak amacıyla birleştirilmiş ve kontig haline getirilmiştir. Bu birleştirme sürecinde, BioEdit yazılımı içerisinde yer alan CAP contig assembly algoritmasından yararlanılmıştır.

3.9. Asit Toleransı

Asit toleransı, probiyotiklerin asidik ortamlarda hayatta kalabilme yeteneğini değerlendirmek için yapılan bir testtir. Bu çalışmada, izolatların düşük pH seviyelerine karşı gösterdikleri direnci belirlemek için Pérez-Sánchez vd. (2011: 501) tarafından uygulanan yöntem kullanılmıştır. Bir gün önceden NB besiyerinde aktiveleştirilen izolat 6 ve MRS besiyerinde aktiveleştirilen izolat 3'ün hücreleri santrifüj (5000 rpm, 10 dakika) ile çökeltilerek fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) ile yıkanmıştır. Daha sonra hücreler PBS içerisinde süspansiyon haline getirilmiştir. Elde edilen bakteri süspansiyonundan 125 µL alınarak 1 M HCl ile pH'sı farklı PBS solüsyonları içerisine eklenmiştir. Örnekler 28 °C'de 1,5 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından numuneler seri dilüsyon yöntemiyle seyreltilmiş ve her bir dilüsyondan 100 µL alınarak İzolat 3 MRS agara, İzolat 6 ise NA besiyerine ekim yapılmıştır. Yayma ekim yöntemi kullanılarak inokülasyon tamamlandıktan sonra 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Sonuçlar, koloni sayım yöntemi ile değerlendirilerek canlı hücre sayısı belirlenmiştir (Abo-Neima, vd. 2016).

3.10. Safra Toleransı

Safra tuzları, gastrointestinal sistemdeki probiyotiklerin hayatta kalma yeteneklerini etkileyen önemli faktörlerdendir. Bu çalışmada Sabir vd. (2010: 569) tarafından uygulanan yöntem kullanılmıştır. MRS sıvı besiyerinde 24 saat inkübe edilmiş aktif kültürden 250 µL alınarak 5 mL MRS besiyerine inoküle edilmiş ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından bakteri hücreleri santrifüj (5000 rpm, 10 dakika) ile çökeltilerek süpernatanttan ayrılmış ve üç kez PBS ile yıkanmıştır. Daha sonra hücreler 1 mL PBS içinde süspansiyon haline getirilmiştir. Elde edilen bakteri süspansiyonundan 100 µL alınarak kontrol grubu (safra tuzu içermeyen) ile birlikte %0.1, %0.3 ve %0.5 oranlarında safra tuzu (ZAG

Kimya) içeren 900 µL MRS besiyerine eklenmiş ve 37 °C’de 2 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra numuneler seri dilüsyon yöntemiyle seyreltilmiş ve her bir dilüsyondan 100 µL alınarak MRS agara ekim yapılmıştır. Yayma ekim yöntemi kullanılarak inokülasyon tamamlandıktan sonra 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Sonuçlar koloni sayım yöntemi ile değerlendirilerek canlı hücre sayısı belirlenmiştir (Abo-Neima, vd. 2016).

3.11. Fenol’e Dayanıklılık

Fenol, bakteriler üzerinde toksik etkisi olan bir bileşik olup, izolatların fenol varlığında hayatta kalma yeteneği, probiyotik özelliklerin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır (Başdoğan ve Şengün 2022). Bu çalışmada, fenol toleransı Aswathy vd. (2008: 246) tarafından bildirilen yöntem temel alınarak belirlenmiştir. İzolat 6, NB besiyerinde; izolat 3 ise MRS besiyerinde 37 °C’de 24 saat aktifleştirilmiştir. Optik yoğunluğun (OD) 1 olacak şekilde ayarlanan izolatlar, %0.2 ve %0.5 oranlarında fenol içeren ve kontrol grubu olarak fenol içermeyen MRS sıvı besiyerine ve NB besiyerine 1 mL inoküle edilmiştir. Numuneler 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından, 600 nm dalga boyunda spektrofotometre ile hücre yoğunluğu gelişim açısından değerlendirilmiştir.

3.12. Antimikrobiyal Aktivite

Antimikrobiyal aktivite testi, izolatların farklı patojen mikroorganizmalar üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek için kuyu difüzyon testi (Agar-Well Diffusion) yapılmıştır (Hossain vd. 2022: 8). Test, iki farklı yöntemle iki kez tekrarlanmıştır. İlk yöntemde, izolatların kültürlerinden elde edilen süpernatant kullanılmıştır (Khushboo vd.,2023: 3). İkinci yöntemde ise süpernatant yerine doğrudan aktif izolatlar kullanılmıştır (Sornsene ve ark., 2022). İzolatlar bir gün önceden NB besiyerinde 37 °C’de 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiş ve optik değerleri Mc Farland 0.5’e ayarlanmıştır. Patojen mikroorganizmalar olarak *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 kullanılmıştır. Aktifleşen patojen kültürlerinden 100 µL alınarak NA ortamlarına yayma ekim yöntemiyle inokülasyon yapılmıştır (Juknius vd. 2020: 4). Petriler, inokülasyonun ardından 30 dakika boyunca bekletilmiştir. İzolatlara ait hücre içermeyen süpernetantlar, 5000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilerek elde edilmiş ve 0,45µm mikro filtrelerle sterilize edilmiştir. NA plaklarının üzerinde üç kopya halinde kuyucuklar açılmış ve süpernatantlar bu kuyucuklara yerleştirilmiştir. Hazırlanan petriler 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İkinci yöntemde ise, izolatların

aktifleştirilmesi için Mueller Hinton Broth (MHB), patojen mikroorganizmaların aktifleştirilmesi için MHB ve Sabouraud Dextrose Broth (SDB) besiyerleri kullanılmıştır. İzolatlar aktifleştirildikten sonra, doğrudan 100 µL olacak şekilde Mueller Hinton Agar (MHA) ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ortamlarında açılan kuyucuklara eklenmiştir (M'hamed vd., 2022: 4). Ayrıca patojen mikroorganizma olarak *Candida albicans* ATCC 24433 kullanılmıştır (Vinayamohan vd., 2024: 16). İnkübasyon süresinin sonunda, kuyucukların etrafında oluşan İnhibisyon zon çapları milimetre (mm) cinsinden ölçülerek değerlendirilmiştir (Badawi Babeker, 2022: 25).

3.13. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi

Antimikrobiyal duyarlılık testi mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılıklarını belirlemeye yönelik önemli bir testtir. İzolatların antibiyotiklere dirençli olup olmadığını anlamak için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Hossain vd. 2022: 9). Bu çalışmada gentamicin ve vancomycin (Bioanalyse, Türkiye) antibiyotik disk olarak kullanılmıştır. Test edilecek izolatlar aktifleştirdikten sonra MHA besiyerine yayılmıştır. Petrilere antibiyotik diskler yerleştirilmiş, etüvde 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Sonuçlar disk etrafında oluşan zon çapları ölçülerek değerlendirilmiştir (İspirli ve Dertli, 2023: 365).

3.14. Hemolitik Aktivite

Hemolitik aktivite testleri, bakterilerin kırmızı kan hücrelerini parçalama yeteneklerini değerlendirmek için önemli bir yöntemdir. Hemolitik aktiviteyi belirlemek için aktifleştirilmiş izolatlar koyun kanlı agara (Aklab Group) çizgi ekim ile ekilmiştir. Ardından etüvde 37°C'de 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. Hemolitik reaksiyonlar sonuçları şu şekilde değerlendirilmiştir: Kırmızı kan hücrelerinin kısmi parçalanması durumunda yeşilimsi bir zon oluşumu α -hemoliz; hücrelerin tamamen parçalanması durumunda şeffaf bir zon oluşumu β -hemoliz; herhangi bir zon oluşmaması ise γ -hemoliz olarak kabul edilmiştir (Badawi Babeker, 2022: 29)

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Mikroorganizmaların İzolasyonu

Çalışmada farklı gıda kaynaklarından probiyotik izolasyonu için örnekler alınmış ve saf kültür elde etmek için arka arkaya ekimler yapılmıştır. İzolasyon çalışmalarında probiyotik bakterilerin iyi gelişim gösterdiği MRS agar besiyerleri kullanılmıştır. İzolasyon çalışmaları sonucunda 10 adet izolat saf kültür halinde elde edilmiştir. Saf kültürlerin izolat kodları ve kaynakları Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4. 1. Saf Kültürlerin İzolat Kodları ve Kaynakları

İzolat kodu	İzolat kaynağı
1	Hurma (Marketten alınmış)
2	Kuru incir (Marketten alınmış)
3	Gün kurusu kayısı (Marketten alınmış)
4	Hazır yoğurt
5	Ev yoğurdu
6	Ev yapımı elma sirkesi
7	Ev yapımı turşu suyu
8	Hazır biber turşusu suyu
9	Hazır salatalık turşusu suyu
10	Hazır salatalık turşusu suyu

4.2. Mikroorganizmaların Tanımlanması

Çalışmada saf kültür olarak elde edilen izolatların moleküler tanımlama öncesinde gram boyanma özellikleri ve mikroskopik şekilleri belirlenmiştir. Ayrıca LAB'ların katalaz negatif olmaları nedeni ile izolatlara katalaz testi uygulanmıştır. İzolatlara ait sonuçlar Tablo 4.2'de verilmiştir.

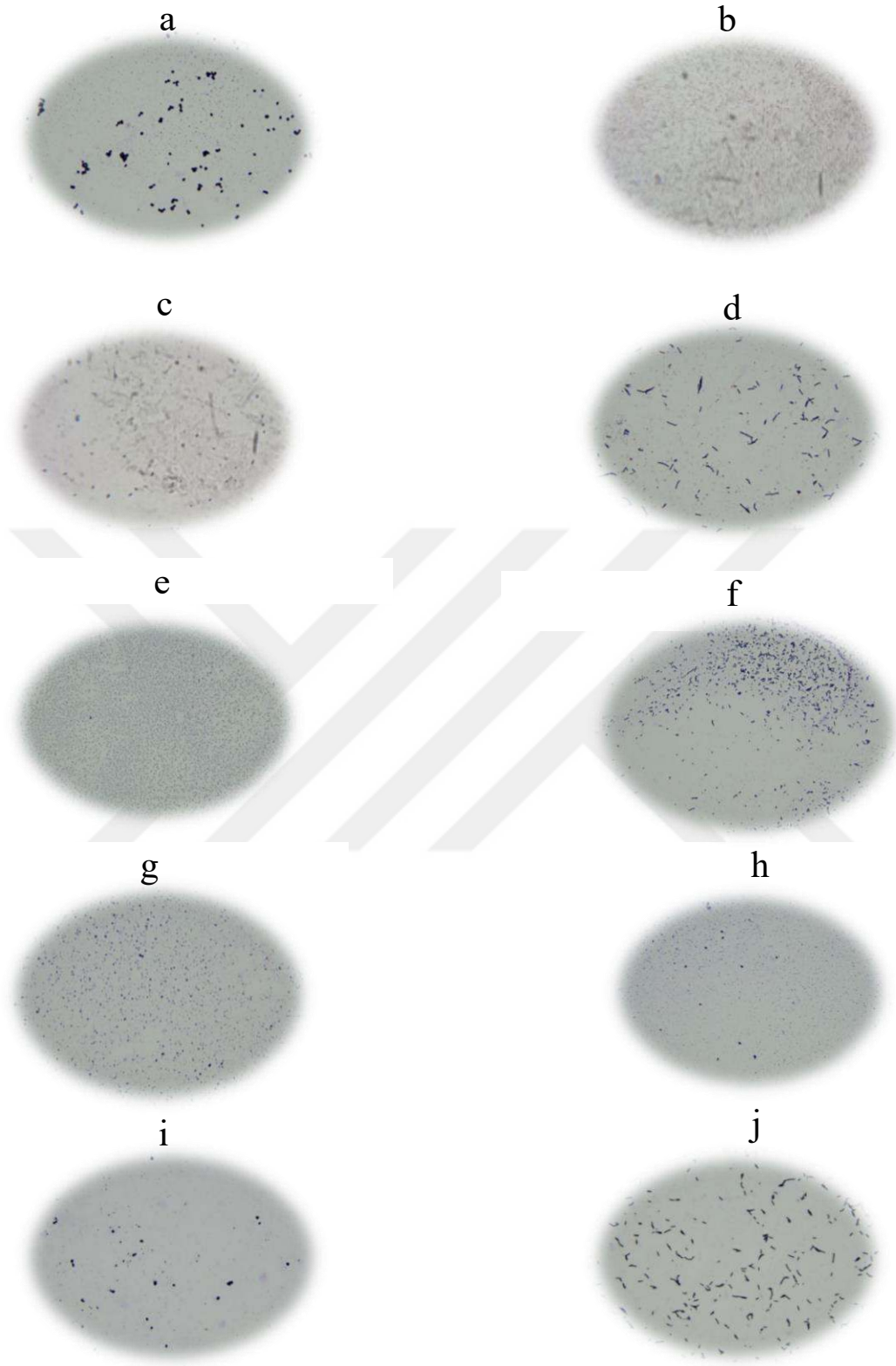
Tablo 4. 2. Farklı Gıda Örneklerinden İzole Edilen Mikroorganizmaların Test Sonuçları

Örnek No	Gram Boyama Sonucu	Mikroskop Görüntüsü (Şekil)	Katalaz Test Sonucu
İzolat 1	Pozitif	Kok	Pozitif
İzolat 2	Negatif	Kok	Pozitif
İzolat 3	Pozitif	Kok	Negatif
İzolat 4	Pozitif	Basil	Pozitif
İzolat 5	Pozitif	Kok	Pozitif
İzolat 6	Pozitif	Basil	Negatif
İzolat 7	Pozitif	Kok	Pozitif
İzolat 8	Pozitif	Kok	Pozitif
İzolat 9	Pozitif	Kok	Pozitif
İzolat 10	Pozitif	Basil	Pozitif

Saf kültür olarak elde edilen 10 izolat içinde bir tanesi gram negatif diğer dokuz tanesi gram pozitif olarak belirlenmiştir. Yapılan katalaz testi sonuçlarına göre, izolatların sekizinin katalaz pozitif olduğu görülmüştür. Diğer iki izolatın ise katalaz negatif olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada izole edilen 10 izolata ait mikroskopik görüntüler şekil 4.1'de verilmiştir. İzolatların  basil formunda, geri kalanları ise kok şeklinde gzlemellenmiştir. Yapılan testlerin sonuçları, izolatların morfolojik özellikleri açısından farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır.





Şekil 4. 1. Bu Çalışmada Elde Edilen 10 İzolatın Gram Boyama İle Elde Edilen Mikroskobik Görünümü (Mikroskopta x40 görüntüsü) (a: izolat 1; b: izolat 2; c: izolat 3; d: izolat 4; e: izolat 5; f: izolat 6; g: izolat 7; h: izolat 8; i: izolat 9; j: izola

16S rRNA gen dizilimi analizine göre elde edilen moleküler tanımlama sonuçlarına göre izolat 3'ün *Leuconostoc mesenteroides* türü ile %100 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir, izolat 6'nın ise *Lactobacillus paracasei* türü ile %99,51 oranında genetik benzerliğe sahip olduğu saptanmıştır.

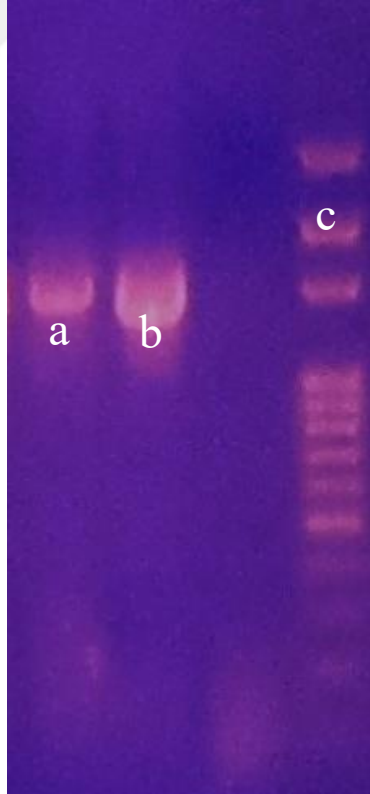
Leuconostoc mesenteroides ve *Lactobacillus paracasei*'ye ait genom sekansları sırasıyla Şekil 4.2 ve 4.3'te gösterilmiştir. Şekil 4.4'te jel görüntüsü yer almaktadır.

```
AGCGAAAGGTGCTTGCACCTTTCAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGACAACCTGC
CTCAAGGCTGGGGATAACATTTGAAACAGATGCTAATACCGAATAAACTTAGTGTCGCATGACA
CAAAGTTAAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGGTGGG
GTAAAGGCCTACCAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACT
GAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTCCACAATGGGCGAAAGC
CTGATGGAGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAGCACTGTTGTATGGGAAG
AACAGCTAGAAATAGGAAATGATTTAGTTGACGGTACCATAACAGAAAGGGACGGCTAAATACGT
GCCAGCAGCCGCGGTAAATACGTATGTCGAGCGTTATCCGGATTATTGGGCGTAAAGCGAGC
GCAGACGGTTTATTAAGTCTGATGTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAACTG
GTAACTTGAGTGCAGTAGAGGTAAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGA
AGAACACCAGTGCGCAAGGCGGCTTACTGGACTGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGT
AGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACACCGTAAACGATGAACACTAGGTGTTAGGAGGT
TTCCGCCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCATTAAGTGTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGT
GAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGACACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATCGAAGCAA
CGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGAAGCTTTAGAGATAGAAGTGTCTCTTCGGAGA
CAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGCCAGCATTAGATGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGAC
AAACCGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCCCTATGACCTGGGCTACACAC
GTGCTACAATGGCGTATACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCTTAAAGTACGTC
TCAGTTCGGATTGAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGC
ACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTGTACACACCGCCCGTCA
```

Şekil 4. 2. *Leuconostoc mesenteroides* 'in Moleküler Tanımlaması Sonucu Elde Edilen genom sekansı

GCAAGTCGAACGAGGTTTCTCGTTGATGATCGGTGCTTGCAACGAAGATTCAACATGGAACGAGTG
GCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTTAAGTGGGGGATAACATTTGAAACAGAT
GCTAATACCGCATAGATCCAAGAACCGCATGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTT
GGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGATGATACGTAG
CCGAAGTGAAGAGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGG
CAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCCCGTGAGTGAAGA
AGGCTTTCGGGTCGTAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAACTGTTGGCGGCGT
GACGGTATCCAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTACGTG
GCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTAAGTCTGATGTGAAAG
CCCTCGGCTTAACCGAGGAAGCGCATCGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGT
GGAAGTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACAGTGCGCAAGGCGGCT
GTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCATGCCGTAAACGATGAATGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAAC
GCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGG
CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGA
CATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTG
TCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTG
CCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGAC
GTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTT

Şekil 4. 3. *Lactobacillus paracasei* 'in Moleküler Tanımlaması Sonucu Elde Edilen genom sekansı



Şekil 4. 4. Moleküler tanımlama sonucu jel görüntüsü. a bantı izolat 3'e, b bantı ise izolat 6'ya aittir. c bantı ise DNA markeri yer almaktadır.

4.3. İzolatların Asit Toleransı

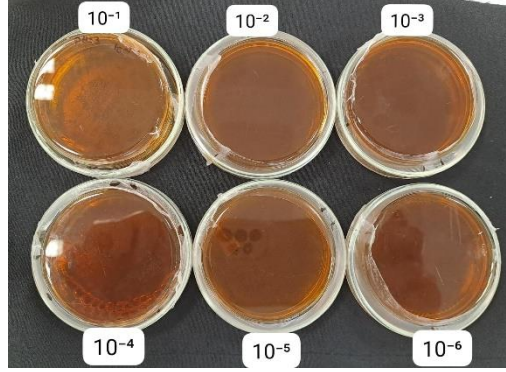
Asit tolerans testi sonuçlarına göre, her iki izolatın farklı pH seviyelerinde gösterdiği üreme farklılık göstermiştir. İzolat 6 için Kontrol grubunda (pH 7), tüm seyreltme düzeylerinde yoğun üreme gözlemlenmiştir. Düşük pH (pH 2) seviyesinde ise üreme oranlarında belirli azalma gözlemlenmiştir ve 10^{-1} seyreltmesinde 20 CFU/ml düzeyinde koloni oluşumu görülmüştür. Bu durum, izolat 6'nın düşük pH seviyelerinde üreme yeteneğinin sınırlı olduğunu göstermektedir. Ancak pH 3 ortamında üreme gözlemlenmiş; 10^{-1} seyreltmede 210 CFU/ml, 10^{-2} 'de 50 CFU/ml ve 10^{-3} 'te 20 CFU/ml değerleri kaydedilmiştir. Bu veriler, izolat 6'nın pH 3 koşullarına belirli ölçüde tolerans gösterdiğini ortaya koymaktadır. İzolat 3, Kontrol grubunda (pH 7), yoğun üreme gözlenmiştir ve 10^{-3} seyreltmede 1710 CFU/ml koloni sayısına ulaşılmıştır. Düşük pH (pH 2) seviyesinde ise hiçbir seyreltme düzeyinde koloni gelişimi gözlenmemiştir. Ancak pH 3 seviyesinde 10^{-1} seyreltmede 290 CFU/ml koloni oluşumu görülmüştür. Bu bulgu, izolat 3'ün pH 2'ye kıyasla pH 3 ortamına daha fazla tolerans gösterdiğini ifade etmektedir. Sonuç olarak, her iki izolat da nötr pH (pH 7) koşullarında yoğun üreme göstermiştir. Ancak asidik koşullarda (pH 2 ve pH 3) üreme oranları azalmıştır. pH 2 ortamı, her iki izolatın gelişimini önemli ölçüde baskılamıştır. Özellikle izolat 3, pH 2'de gelişim göstermemiştir. Öte yandan, pH 3'te her iki izolatın da sınırlı da olsa koloni oluşturabildiği gözlemlenmiştir. Bu da izolatların pH 3'e belirli bir tolerans göstermiştir. Literatürdeki sonuçlara göre Sökmen vd. (2024) tarafından yapılan çalışmada test edilen üç suş pH 2 ortamında canlılıklarını sürdürememiştir. pH 3 koşullarında izolatlarda belirgin düzeyde canlılık kaybı gözlenmiş, pH 4'te ise tüm izolatların canlılıklarını korudukları tespit edilmiştir. Khushboo vd. (2023) düşük pH'larda üreme göstermiştir. Farklı pH 3-5 ortamlarda izolatların stres koşullarına dirençli olduğu belirlenmiştir (Çiftçi ve Koçak, 2020). Asit toleransı testin sonuçları Tablo 4.3'te ve Tablo 4.4'te ifade edilmiştir. İzolat 3'ün sonuçları Şekil 4.5, 4.6, 4.7'de verilmiştir. İzolat 6'nın sonuçları ise Şekil 4.8, 4.9 ve 4.10'de gösterilmiştir.

Tablo 4. 3. Asit Toleransı İzolat 6'nın 1 ml İçindeki Koloni Sayımları (CFU/ml)

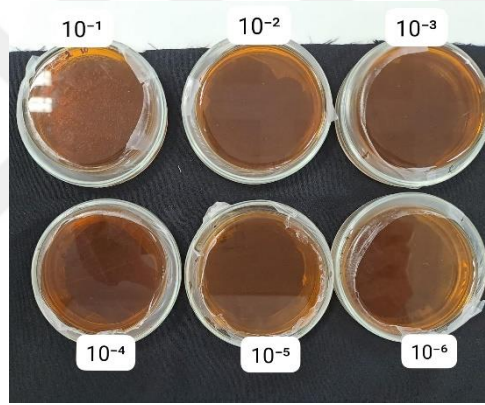
pH Seviyesi	Seyreltme oranı					
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
pH 7	Yoğun Üreme	Yoğun Üreme	3740	1170	380	210
pH 2	20	-	-	-	-	-
pH 3	210	50	20	-	-	-

Tablo 4. 4. Asit Toleransı İzolat 3'ün 1 ml İçindeki Koloni Sayımları (CFU/ml)

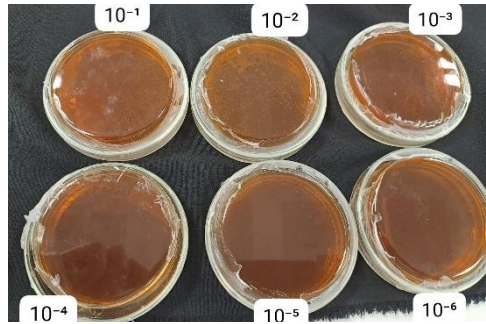
pH Seviyesi	Seyreltme oranı					
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}
pH 7	Yoğun Üreme	Yoğun Üreme	1710	-	-	-
pH 2	-	-	-	-	-	-
pH 3	290	-	-	-	-	-



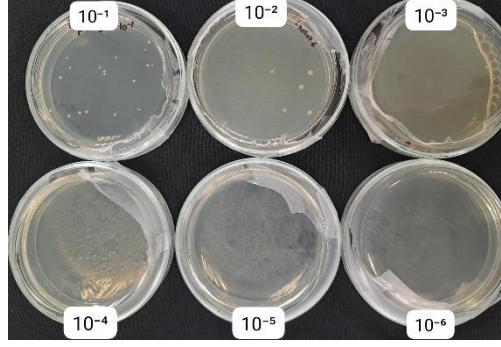
Şekil 4. 5. pH 3'te Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6})
MRS Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 3



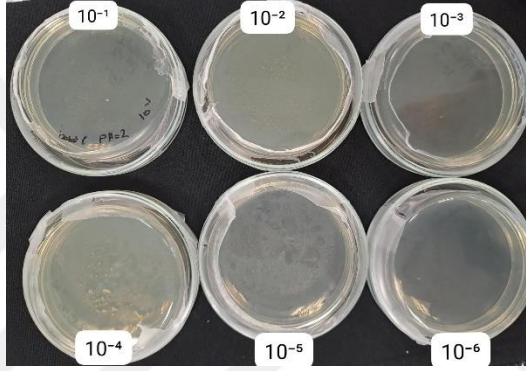
Şekil 4. 6. pH 2'de Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6})
MRS Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 3



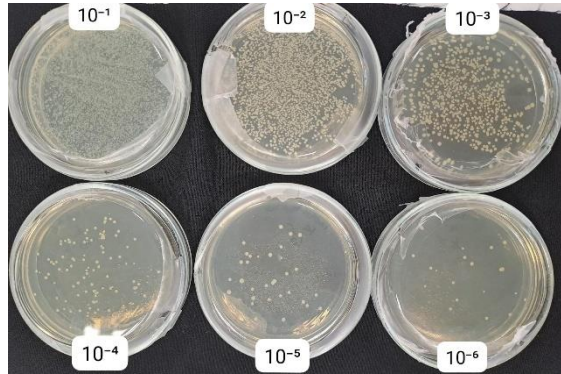
Şekil 4. 7. pH 7'de Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6})
MRS Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 3



Şekil 4. 8. pH 3'te Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) NA Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 6



Şekil 4. 9. pH 2'de Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) NA Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 6



Şekil 4. 10. pH 7'de Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) NA Besiyeri İçeren Petride Gelişim Gösteren İzolat 6

4.4. İzolatların Safra Toleransı

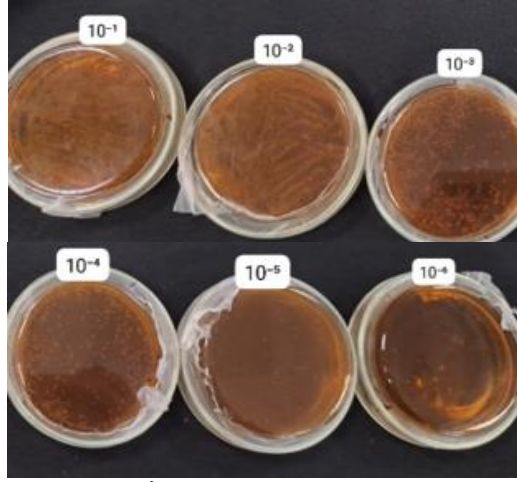
Safra toleransı test sonuçlarına göre, hem İzolat 6 hem de İzolat 3 farklı safra tuzu konsantrasyonlarında belirli düzeylerde üreme göstermiştir. İzolat 6, kontrol grubunda tüm seyreltmelerde yoğun üreme sergilemiş, 10^{-3} seyreltmede 2490 CFU/ml koloni sayısına ulaşmıştır. Safra konsantrasyonu 0.1 g'a çıkarıldığında koloni sayısı 2370 CFU/ml'ye düşmüş, 0.3 g ve 0.5 g düzeylerinde ise sırasıyla 1960 ve 1700 CFU/ml'ye kadar azalmıştır. Bu veriler, safra konsantrasyonu arttıkça İzolat 6'nın üreme yeteneğinde kademeli bir azalma olduğunu, ancak yine de 0.5 g gibi yüksek konsantrasyonda bile üremenin tamamen durmadığını ve izolatın safra varlığında canlı kalabildiğini göstermektedir. İzolat 3 ise safra tuzlarına karşı daha yüksek bir tolerans sergilemiştir. Kontrol grubunda 4000 CFU/ml gibi oldukça yüksek bir koloni sayısına ulaşan İzolat 3, safra konsantrasyonu arttıkça koloni sayısında düşüş yaşasa da, bu düşüş İzolat 6'ya göre daha sınırlı kalmıştır. 0.5 g safra ortamında bile 10^{-3} seyreltmede 2400 CFU/ml koloni oluşumu gözlemlenmiştir. İzolat 3'ün, yüksek safra konsantrasyonlarında bile üreme yeteneğini koruması, bu izolatın safra tuzlarına karşı daha yüksek direnç gösterdiğini ortaya koymaktadır. Benzer çalışmalarda %0,5-1,0 safra konsantrasyonlarına izolatların dirençli olduğu belirlenmiştir (Çiftçi ve Koçak, 2020). Ayrıca, %0,5 (w/v) safra derişimine karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir (Sökmen vd., 2024). Safra sonuçları Tablo 4.5'te ve Tablo 4.6'da ifade edilmiştir. İzolat 3'ün sonuçları Şekil 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14'te verilmiştir. İzolat 6'nın sonuçları ise Şekil 4.15, 4.16, 4.17 ve 4.18'te gösterilmiştir.

Tablo 4. 5. Safra Toleransı İzolat 6'nın 1 ml İçindeki Koloni Sayımları (CFU/ml)

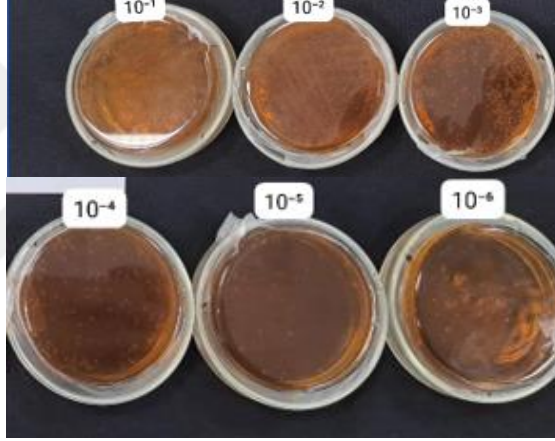
	Seyreltme oranı					
Konsantrasyon (g)	10⁻¹	10⁻²	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶
Kontrol	Yoğun Üreme	Yoğun Üreme	2490	970	120	10
0.1	Yoğun Üreme	Yoğun Üreme	2370	800	110	-
0.3	Yoğun Üreme	Yoğun Üreme	1960	560	90	-
0.5	Yoğun Üreme	Yoğun Üreme	1700	290	70	-

Tablo 4. 6. Safra Toleransı İzolat 3'ün 1 ml İçindeki Koloni Sayımları (CFU/mL)

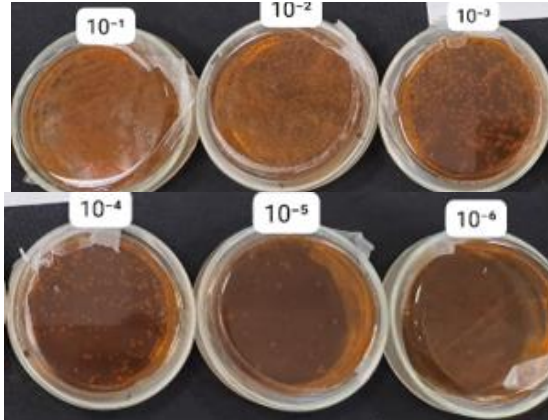
	Seyreltme oranı					
Konsantrasyon (g)	10⁻¹	10⁻²	10⁻³	10⁻⁴	10⁻⁵	10⁻⁶
Kontrol	Yoğun Üreme	Yoğun Üreme	4000	2010	400	90
0.1	Yoğun Üreme	Yoğun Üreme	3650	1670	310	-
0.3	Yoğun Üreme	Yoğun Üreme	3000	1240	250	-
0.5	Yoğun Üreme	Yoğun Üreme	2400	1030	50	-



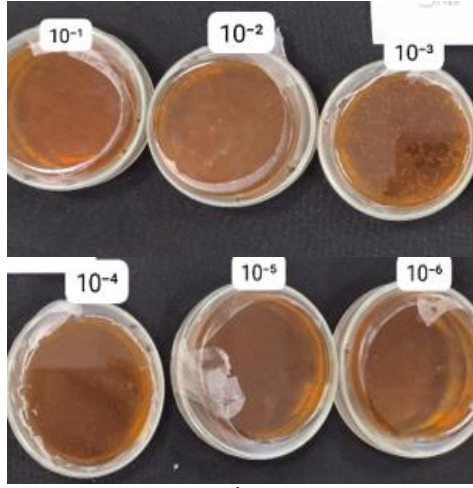
Şekil 4. 11. Safra Tuzu İçermeyen MRS Agar Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 3



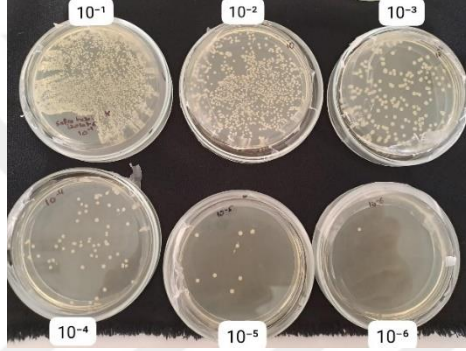
Şekil 4. 13. 0.1 g Safra Tuzu İçeren MRS Agar Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 3



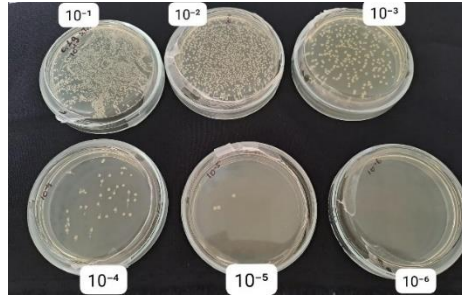
Şekil 4. 12. 0.3 g Safra Tuzu İçeren MRS Agar Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 3



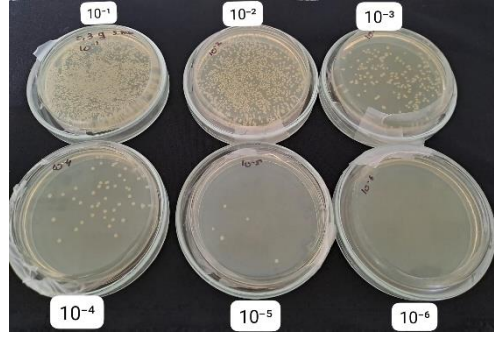
Şekil 4. 14. 0.5 g Safra Tuzu İçeren MRS Agar Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 3



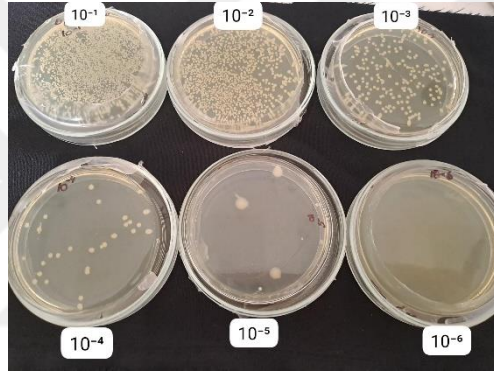
Şekil 4. 15. Safra Tuzu İçermeyen NA Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 6



Şekil 4. 16. 0.1 g Safra Tuzu İçeren NA Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 6



Şekil 4. 17. 0.3 g Safra Tuzu İçeren NA Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 6



Şekil 4. 18. 0.5 g Safra Tuzu İçeren NA Ortamında Farklı Seyreltme Oranlarında (10^{-1} - 10^{-6}) Gelişim Gösteren İzolat 6

4.5. İzolatların Fenol Toleransı

İzolat 3 için artan fenol konsantrasyonuna rağmen belirgin bir azalma görülmezken, izolat 6 ise fenol konsantrasyonu artışı ile üreme düzeyinde azalma gözlemlenmiştir. Başdoğan ve Şengün (2022) tarafından yapılan çalışmada, izolatların fenol içeren ortamda hayatta kalma yeteneklerinin değerlendirildiği bildirilmektedir. Reuben vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada ise, fenol konsantrasyonu arttıkça LAB suşlarının fenol konsantrasyonuna karşı zayıf bir tolerans gösterdiği belirtilmiştir. Deneyin sonucu Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4. 7. Fenol Toleransı Spektrofotometrede Ölçülen OD Sonuçları

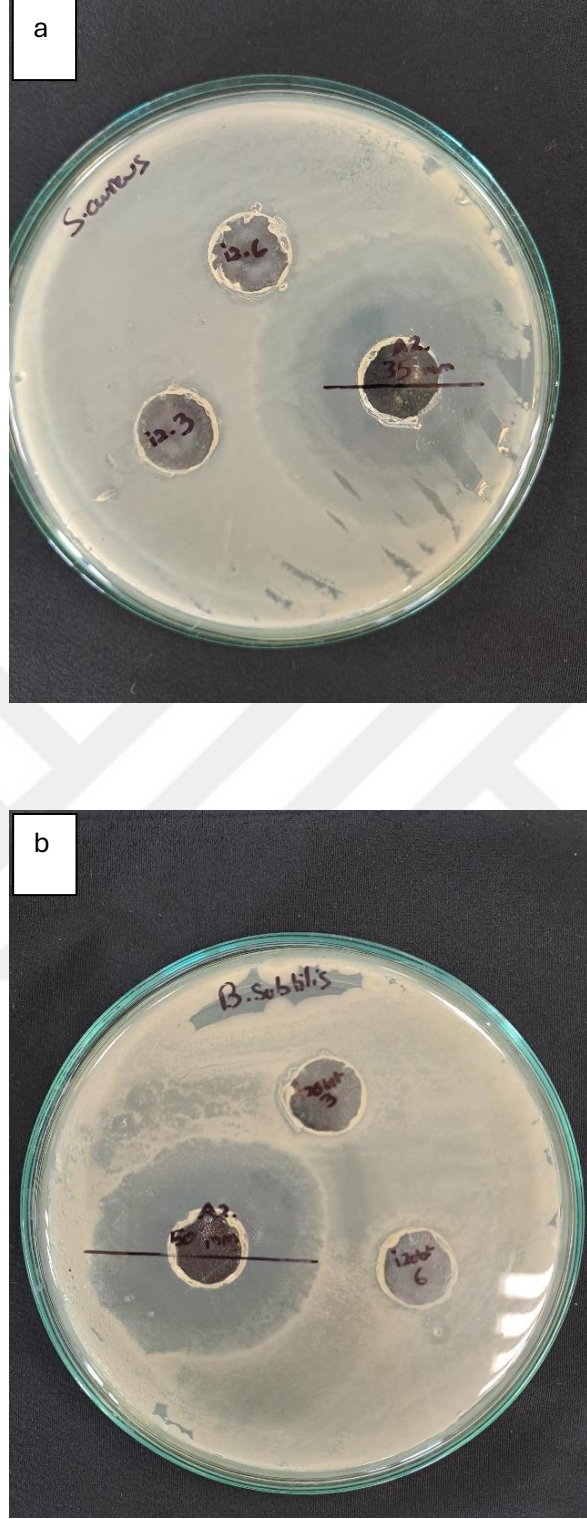
	Kontrol	%0.2	%0.5
İzolat 3	0,459	0,448	0,450
İzolat 6	0,487	0,479	0,449

4.6.Antimikrobiyal Aktivite

İzolatlarının hiçbirisi, patojen mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkinlik göstermemiştir. Literatürdeki sonuçlara göre bazı izolatlar orta düzeyde, diğerleri ise yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Aladeboyeye, 2019). M'hamed vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada izolatların farklı düzeylerde dirençlilik aktivitesi gösterdiği belirlenmiş, *Lactobacillus salivarius* suşunun ise yüksek antibakteriyel etkinlik sergilediği gösterilmiştir. Sonuçları Tablo 4.8'de verilmiştir. İzolatların süpernatantı kullanılarak kuyu difüzyon yöntemi ile yapılan antimikrobiyal aktivite deneyinin sonuçları Şekil 4.19'da verilmiştir. İzolatların doğrudan kullanıldığı antimikrobiyal aktivite deneyine ait sonuçlar Şekil 4.20, 4.21, 4.22. ve 4.23'te gösterilmiştir.

Tablo 4. 8. Antimikrobiyal Etki Zon Açıklıkları (mm)

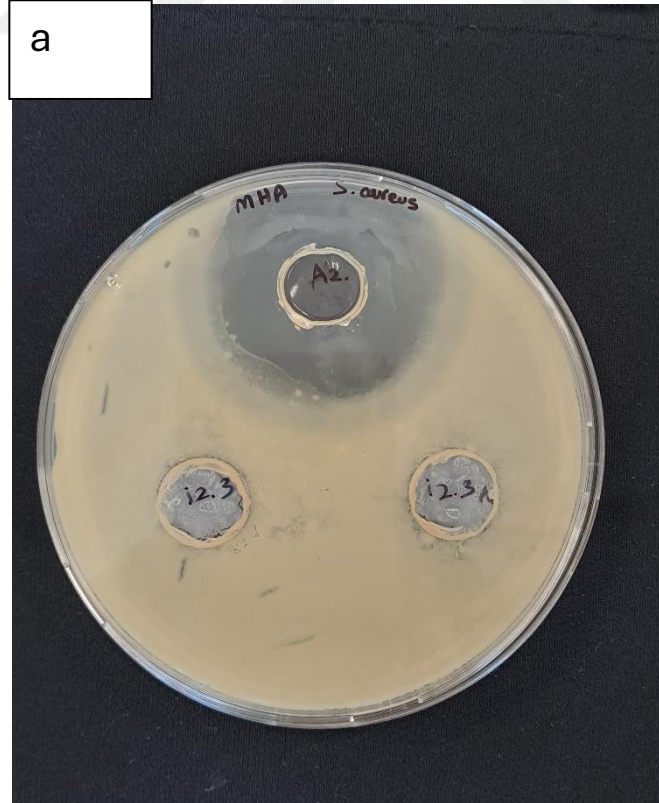
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
İzolat 3	-	-	-
İzolat 6	-	-	-

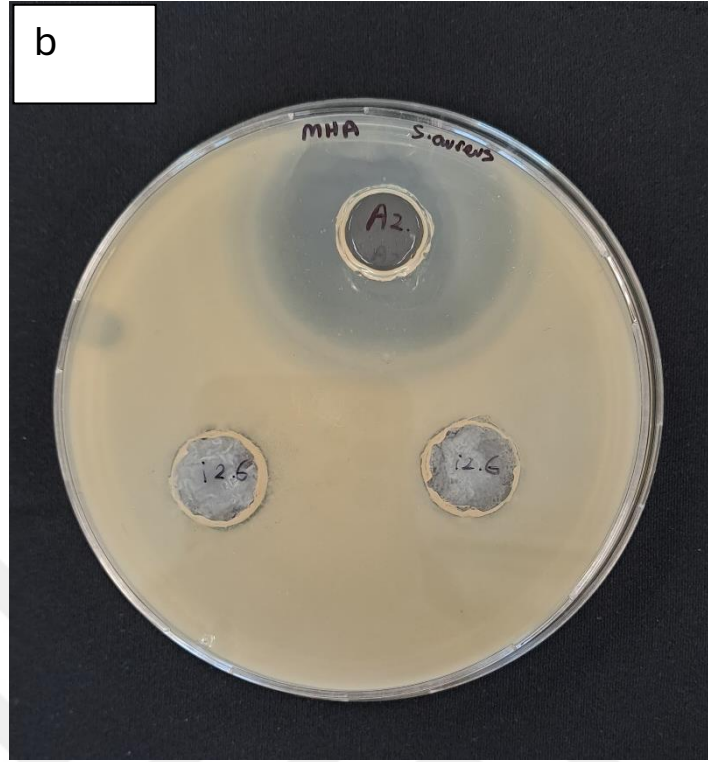


Şekil 4. 19. İzolatların Süpernatantı Kullanılarak Kuyu Difüzyon Yöntemi İle Yapılan Antimikrobiyal Aktivite Deneyinin Sonuçları a. *S. aureus*, b. *B. subtilis*.

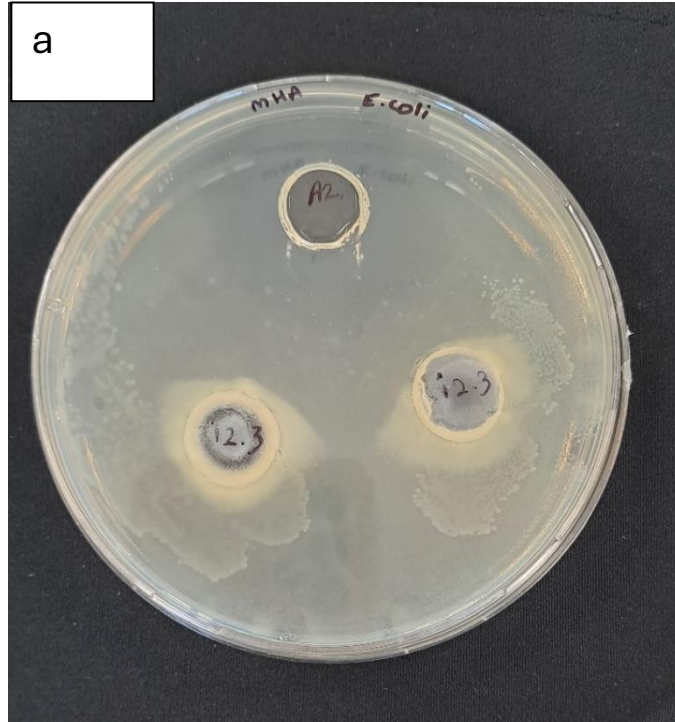


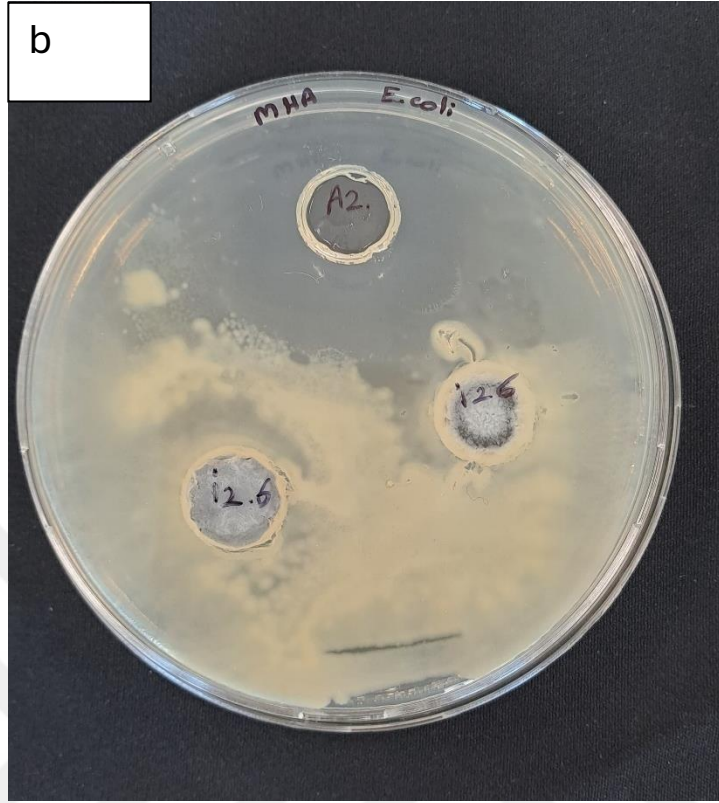
Şekil 4. 20. İzolat 6' nın *C.albicans*'a Karşı Gösterdiği Aktivite



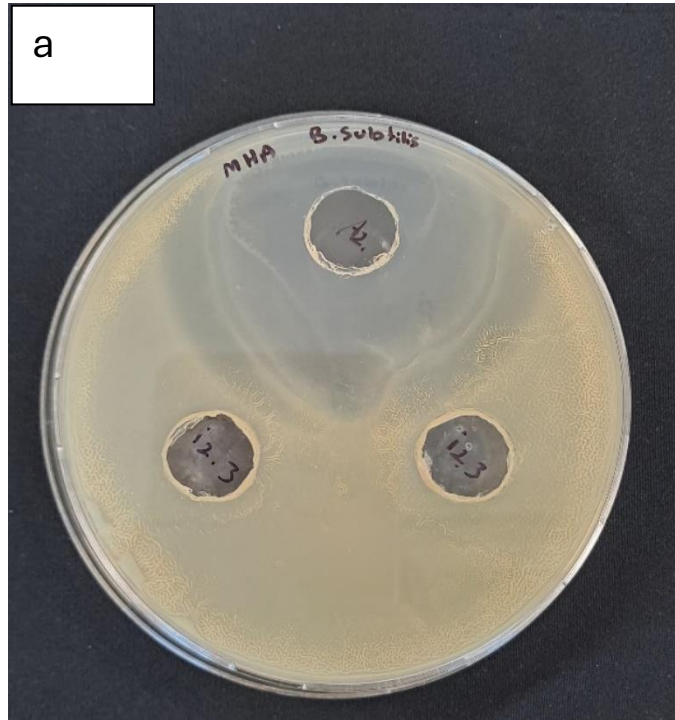


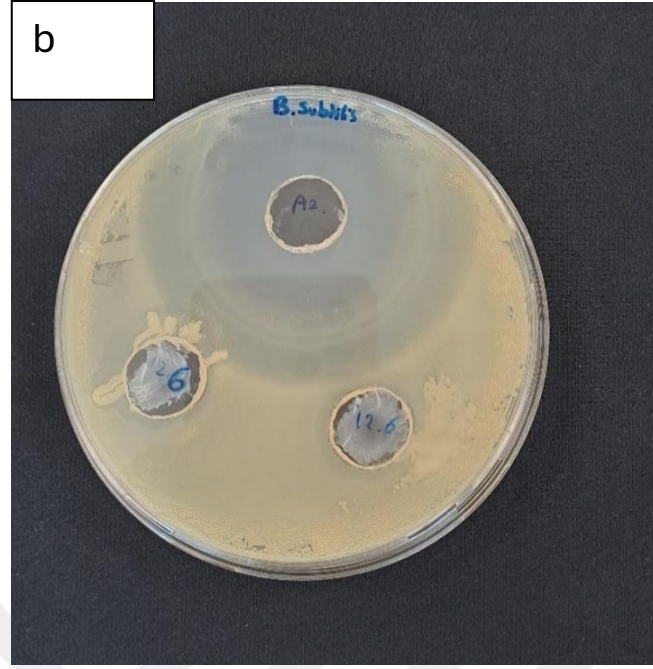
Şekil 4. 21..İzolatların *S.aureus*'a Karşı Gösterdiği
Aktivite a: izolat 3, b: izolat 6





Şekil 4. 22. İzolatların *E. coli*'ye Karşı Gösterdiği Aktivite a: izolat 3, b: izolat 6





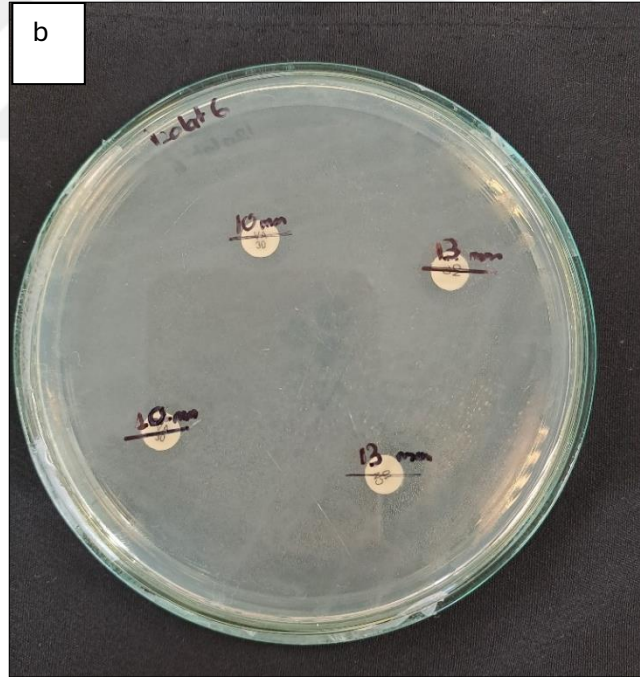
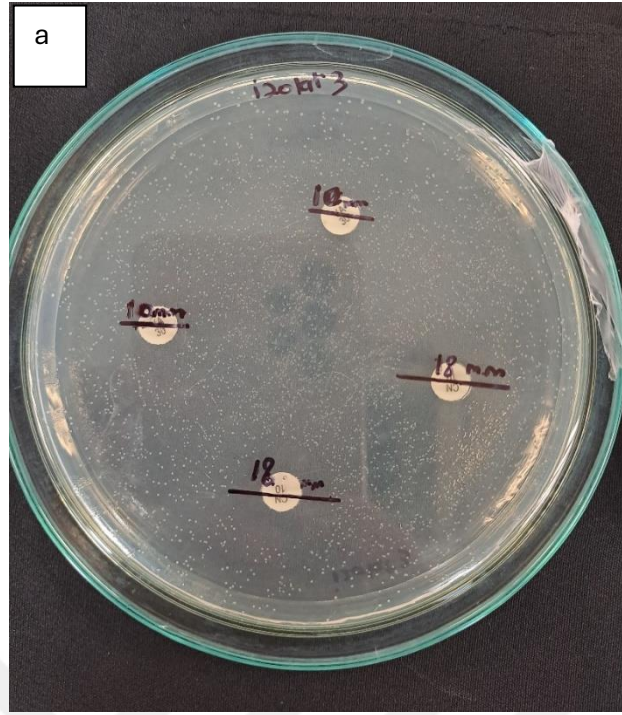
Şekil 4. 23. İzolatların *B.subtilis*'e Karşı Gösterdiği Aktivite. a: izolat3, b: izolat 6

4.7.Antimikrobiyal Duyarlılık Testi

Gentamicin (CN 10), izolat 3 ve izolat 6'da inhibisyon zonları oluşturmuştur (sırasıyla 18 mm ve 13 mm). Tablo 4.9'da gösterildiği gibi vancomycin (VA 10) ise her iki izolat üzerinde 10 mm'lik inhibisyon zonları oluşturmuştur. Şekil 4.24'te sonuçlar verilmiştir.

Tablo 4. 9. Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Zon Açıklıkları (mm)

	Gentamicin (CN 10)	Vancomycin (VA 10)
İzolat 3	18	10
İzolat 6	13	10



Şekil 4. 24. İzolatların Disk Difüzyon Yöntemi İle Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Sonuçları a izolat 3, b izolat

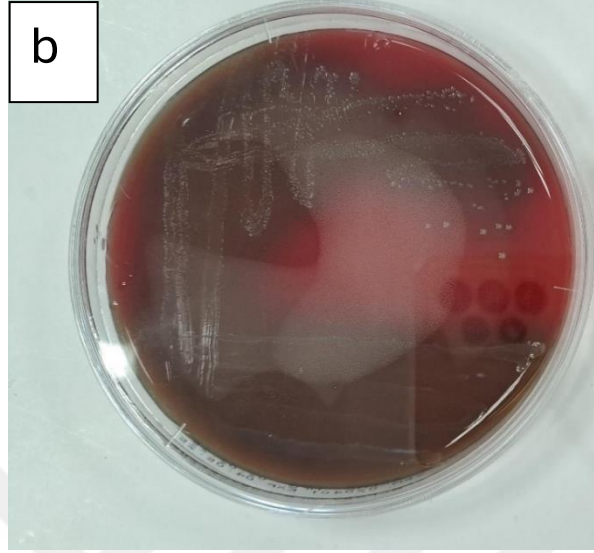
4.8.Hemolitik Aktivite

Hemolitik aktivite testi sonuçlarına göre izolat 3 ve İzolat 6 gamma hemoliz göstermiştir. Bu izolatların kırmızı kan hücrelerini yıkama yeteneği göstermediğini ve gamma hemoliz özelliği taşıdığını ortaya koymaktadır. Sonuçlar Tablo 4.10’de ve Şekil 4.25’te gösterilmiştir.

Tablo 4. 10. Hemolitik Aktivite Sonuçları

İzolatlar	Hemolitik aktiviteleri
İzolat 3	Gamma hemoliz (γ)
İzolat 6	Gamma hemoliz (γ)





Şekil 4. 25. Hemolitik Aktivite Görselleri a. izolat 6,
b. izolat 3

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada farklı gıda kaynaklarından alınan örneklerdeki probiyotik mikroorganizmalar izole edilmiştir. Onur ve Önlü (2021) yaptıkları çalışmada Muş ilinden temin edilen sucuk, inek peyniri, karışık sütlerden yapılan Muş kaşarı, inek sütünden yapılan Muş kaşarı ve manda peyniri numunelerini örnek olarak kullanılarak izolatlar saflaştırmıştır. Aynı çalışmada, gram boyama ve katalaz testi sonucunda 14 izolatın gram pozitif ve katalaz negatif olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada izole edilen 10 izolat içinde bir tanesi gram negatif diğer dokuz tanesi gram pozitif olarak belirlenmiştir. Yapılan katalaz testi sonuçlarına göre, izolatların sekizinin katalaz pozitif olduğu görülmüştür. Diğer iki izolatın ise katalaz negatif olduğu tespit edilmiştir. *Lactobacillus spp.* (Yakit, 2019), *Bifidobacterium spp.* (Pyclik ve ark. 2020) ve *Enterococcus spp.* (Çiftçi ve Koçak, 2020) cinslerine ait türlerin gram pozitif ve katalaz negatif özellikte olduğu bilinmektedir. İspirli ve Dertli (2023) tarafından yapılan çalışmada Türkiye'nin farklı illerinden toplanan 17 geleneksel turşu örneğinden 21 adet laktik asit suşu izole edilmiş ve izolatların bazı özelliklerini belirlenmiştir. Aladeboyeye (2019) çalışmasında, fermente geleneksel Türk içeceklerinden toplam 22 adet probiyotik özellikli izolat elde etmiştir. Aynı çalışmada, gram boyama ve katalaz testi sonucunda 8 izolatın gram pozitif ve katalaz negatif olduğu belirlenmiştir.

Literatürde yer alan bulgulara göre 16S rRNA gen bölgesinin dizileme sonucunda Van otlu peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin arasında en yaygın türün *L. plantarum* olduğu, ayrıca bazı örneklerde *S. hominis* gibi farklı türlerin de tespit edildiği bildirilmektedir (Doğan ve Cebeci, 2021). Aladeboyeye tarafından yapılan çalışmada farklı probiyotik içeceklerden izole edilen örneklerin 16S rRNA dizi analizine göre büyük çoğunluğunun *Lactobacillus* ve *Lactococcus* türlerine ait olduğu, bunun yanında bazı izolatlarda *Acetobacter* ve *Gluconobacter* gibi farklı cinslere ait mikroorganizmaların da bulunduğu belirlenmiştir (Aladeboyeye, 2019).

Bir mikroorganizmanın asit ve safra tuzu toleransı, gastrointestinal sistemde canlılığını sürdürebilme açısından temel bir özelliktir. Bunun sebebi probiyotik mikroorganizmaların mide geçişi sırasında düşük pH koşullara direnç göstererek alt sindirim sistemine ulaşmalarının gerekliliğidir (Xu vd. 2019). Bu çalışmada elde edilen bulgular, izolatların nötr pH (pH 7) koşullarında yüksek düzeyde üreme gösterdiğini ortaya koymuştur. Asidik ortamlarda (pH 2 ve pH 3) ise üreme oranlarında belirli bir azalma gözlemlenmiştir. pH 3 koşullarında her iki izolatın da koloni oluşturabildiği tespit edilmiştir; bu durum, izolatların düşük pH'a karşı belirli

bir tolerans geliştirebildiğini göstermektedir. pH 2 gibi daha asidik bir ortamda izolat 3'ün üreme yeteneği göstermemiştir ancak izolat 6'nın sınırlı düzeyde üreyebildiği gözlemlenmiştir. Khushboo vd. (2023) tarafından yürütülen benzer bir çalışmada, bazı izolatların pH 1 ve pH 2 gibi asidik koşullarda hayatta kalabildiği rapor edilmiştir. Bir başka çalışmada ise Sornsenee vd. (2022) *L. paracasei*'nin pH 3 ortamında, pH 2'ye kıyasla daha yüksek asit toleransı gösterdiği rapor edilmiştir. Benmechernene vd. (2013) çalışmalarında, iki *L. mesenteroides* suşunun düşük pH'a maruz kaldıktan sonraki sonuçlarına göre suş B7 tüm pH seviyelerinde canlılığını korumuştur, pH 2'de bir azalma, ancak pH 3'te artış göstermiştir. *L. mesenteroides* suşu Z8 ise pH 2'de canlılığını koruyamamış, ancak pH 3'te gelişmede artış gözlemlenmiştir. Schifano vd. (2021) çalışmalarında, pH 2.5'te *L. mesenteroides* C1, *L. mesenteroides* C7 ve *W. soli* T4 suşlarının canlılık düzeylerinde kontrol grubuna kıyasla ciddi bir azalmaya neden olduğunu göstermişler. Bu sonuç, ilgili suşların asidik ortama karşı dirençli olmadığını göstermektedir. Buna karşın, *L. mesenteroides* C2 suşu düşük pH koşullarında yüksek hayatta kalma oranı sergilemiştir. Ayrıca, M'hamed vd. (2022) çalışmalarında, *L. paracasei* L2 suşu, pH 4'te yüksek düzeyde hayatta kalması, bu suşun gastrointestinal koşullarda yaşayabilme potansiyelini desteklemektedir. Buna karşılık, pH 2 ve 2.5 gibi daha asidik ortamlarda L2 suşu hayatta kalamamış, bu da aşırı asidik koşullara karşı duyarlı olduğunu ortaya koymuştur.

Literatürde bildirilen veriler mevcut çalışmada elde edilen verilerle de uyumludur. Ancak çalışmalar arasında özellikle izolatların düşük pH seviyelerinde hayatta kalma oranları ve büyüme kapasiteleri açısından farklılıklar gözlemlenmiştir. Bu farklılıklar kullanılan izolatların türlerine, adaptasyon kapasitelerine veya çevresel kaynaklara bağlı olarak gelişen doğal direnç mekanizmalarından kaynaklanabilmektedir (Khushboo vd., 2023). Elde edilen verilere göre izolatlar mide asidine benzer ortamında canlı kalma potansiyeline sahip olduğunu ve bu özellikleriyle probiyotik tanımı açısından değerlendirmeye değer olduklarını düşündürmektedir.

Probiyotik mikroorganizmaların seçimini gerçekleştirmek amacıyla ince bağırsağın üst kısmında bulunan safra gibi gastrointestinal sistemin zorlu koşullarına karşı dirençleri değerlendirilmiştir. Safra konsantrasyonu arttıkça İzolat 6'nın üreme yeteneğinde kademeli bir azalma gözlemlenmiş, ancak yüksek konsantrasyonda izolatın canlı kalabildiği tespit edilmiştir. İzolat 3 ise yüksek safra konsantrasyonlarında üreme yeteneğini korumuştur. Sornsenee vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada *L. paracasei* hücrelerinin %0,3 safra tuzlarında hayatta kaldığını bildirilmiştir. Bu nedenle izole edilen *L. paracasei* suşunun probiyotik özelliklere

sahip olduğu gösterilmiştir. Schifano vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada bazı *L. mesenteroides* suşları, %0.3 safra varlığında büyüme göstermiştir; ancak, *L. mesenteroides* C1 suşunun safra ortamında direnç gösteremediği ve canlılık seviyesinin belirgin şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Benzer bir çalışmada ise *L. paracasei* L2 izolatının öküz safrasına maruz kaldığında hayatta kaldığı gösterilmiştir. Ancak, safra tuzu konsantrasyonlarının artmasıyla büyüme hızı azalmıştır (M'hamed vd., 2022). Literatürde bildirilen sonuçlar bu çalışmadaki gözlemlerle paralellik göstermektedir. Safra tuzlarına karşı direnç gösteren izolatların probiyotik özelliklere sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Sornsenee vd., 2022).

Hemolitik aktivitenin olmaması, probiyotik suşların güvenli seçimi için temel ön koşullar arasında yer almaktadır. Xu vd. (2019) çalışmasında, L1 suşu koyun kanlı agarda kültüre alındığında herhangi bir α - veya β -hemolitik aktivite göstermemiştir; bu da hemotoksinin üretilmediğini göstermektedir. Bu çalışmada ise izolat 3 ve izolat 6'nın gama hemoliz göstermesi, bu izolatların kırmızı kan hücrelerini parçalama yeteneğine sahip olmadığını göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçları, kanlı agarında yetiştirilen *L. mesenteroides* suşlarının etrafında herhangi bir zon bölgesi tespit edilmediğini bildiren Benmechernene vd. (2013) çalışması ile uyumludur.

M'hamed vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada ise *L. paracasei* L2 insan sağlığı için güvenli organizmalar olarak kabul edilir (α -hemoliz). Hemolitik bir aktivitenin olmaması yeni probiyotik suşların seçimi için bir ön koşul olarak kabul edilmektedir. α -hemoliz ve γ -hemoliz, virülan olmadıkları için insan sağlığı açısından güvenli organizmalar olarak kabul edilirken, β -hemoliz zararlı kabul edilmiştir (M'hamed vd., 2022). Bu bulgular doğrultusunda, çalışmada elde edilen izolatların güvenli özellikler taşıdığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada, izolatların hiçbirisi patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinlik göstermemiştir. Buna karşılık, daha önceki çalışmalarda izolatların antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Khushboo vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada CM1 izolatı, *Bacillus cereus* için 11 mm, *E. coli* için 11 mm, *E. faecalis* için 10 mm, *S. aureus* için 12 mm ve *S. typhimurium* için 10 mm'lik inhibisyon zonları ile en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi sergilemiştir. Ancak, CM2, C2, C3, C4 ve PK5 izolatları test edilen mikroorganizmalara karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. M'hamed vd. (2022) tarafından yürütülen bir diğer çalışmada ise *L. salivarius* suşunun en yüksek antibakteriyel etkilerinin *S. aureus* üzerinde olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde, Sornsenee vd. (2022) çalışmasında *L. paracasei* hücrelerinin *S. aureus* üzerinde güçlü bir inhibe edici etkisi olduğu ve en yüksek inhibisyon bölgesinin 21 mm olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *S. enteritidis*, *E. coli*, *MRSA*, *L.*

monocytogenes, *E. faecalis*, *S. typhi* ve *S. flexneri* üzerinde orta düzeyde inhibisyon gözlemlenmiş ve inhibisyon bölgeleri 11 mm ile 15 mm arasında değişmiştir. Bu bulgular, antimikrobiyal etkinin suşa özgü özelliklerden veya konsantrasyona bağlı koşullardan kaynaklanabileceğini ortaya koymaktadır (M'hamed vd., 2022).

Antibiyotik duyarlılık testleri, izolatların çeşitli antibiyotiklere karşı gösterdiği etkilerin değerlendirilmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmada gentamisin (CN 10), izolat 3 ve izolat 6'da sırasıyla 18 mm ve 13 mm'lik inhibisyon zonları oluşturmuştur. Vancomisin (VA 10) ise her iki izolat üzerinde 10 mm'lik inhibisyon zonları oluşturmuştur. İnhibisyon zonu çapları Liasi vd. (2009) tarafından tanımlandığı şekilde sırasıyla duyarlı, S (≥ 21 mm); orta düzeyde, I (16-20 mm) ve dirençli, R (≤ 15 mm) olarak ifade edilmiştir. Bu verilere göre izolat 3'ün gentamisine karşı orta düzeyde duyarlı olduğunu (16–20 mm), izolat 6'nın ise dirençli olduğunu (≤ 15 mm) göstermektedir. Vancomisine karşı ise her iki izolatın da dirençli olduğunu (≤ 15 mm) görülmüştür. M'hamed vd. (2022) çalışmasında, *L. paracasei* L2 suşunun streptomisin, siprofloksasin ve nalidiksik asit gibi antibiyotiklere dirençli olduğunu, ancak gentamisine duyarlı olduğunu göstermektedir. Benmechernene vd. (2013) tarafından yapılan benzer çalışmada iki suşun kanamisin, streptomisin, tetrasiklin ve vankomisine dirençli olduğu, ancak gentamisin ve neomisine karşı orta düzeyde direnç gösterdiği bulunmuştur. Bu veriler mevcut çalışmada elde edilen sonuçlarla örtüşmektedir. Schifano vd. (2021), *Leuconostoc mesenteroides* C2 suşunun beş farklı antibiyotiğe dirençli olduğunu ve bu antibiyotikler arasında gentamisin ile vankomisinin de bulunduğunu bildirmiştir. Buna karşılık Xu vd. (2019), *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* L1 suşunun gentamisin ve vankomisine karşı duyarlı olduğunu belirtmiştir. Başka çalışmada ise Sornsenee vd. (2022), *Lacticaseibacillus paracasei* türünün ampisilin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin ve kloramfenikole karşı yüksek düzeyde duyarlılık gösterdiğini, ancak gentamisine dirençli olduğunu ifade etmiştir.

Fenol, besinlerle alınan aromatik amino asitlerin sindirim sistemi florasında bulunan bakteriler tarafından deaminasyonu sonucu ortaya çıkan bir bileşiktir. Bu nedenle, fenole karşı dayanıklılık, probiyotik bakterilerde önemli bir özellik olarak kabul edilmektedir (Başdoğan ve Şengün, 2022). Bu çalışmada İzolat 3 fenol konsantrasyonuna karşı nispeten sabit kalarak kararlılık göstermiştir. İzolat 6 ise fenol konsantrasyonu artışı ile üreme düzeyinde azalma gözlenmiş olsa da izolatın fenole karşı tolerans gösterdiği belirlenmiştir. Reuben vd. (2019) tarafında yapılan çalışmada fenol konsantrasyonu arttıkça LAB suşlarının %0,4 fenol konsantrasyonuna karşı zayıf bir tolerans göstererek OD $< 0,3$ değeriyle sınırlı düzeyde büyüme sergilediği bildirilmiştir. Buna karşılık, Boricha vd. (2019) çalışmasında *Lactobacillus*

suşlarının %0,6 gibi daha yüksek fenol konsantrasyonlarına karşı güçlü bir tolerans gösterebildiği ifade etmiştir.

Bu çalışmada izole edilen bakteriler, probiyotik bakteri tanımlamasında dikkate alınan başlıca kriterlere göre kapsamlı şekilde değerlendirilmiştir. İzolat 3 ve 6 Gram-pozitif ve katalaz-negatif olarak belirlenmiş olup, bu özellikler LAB'ların tipik fenotipik özellikleri ile uyumludur (El Ahmadi vd., 2025: 4). Asit, safra tuzları ve fenol varlığına karşı direnç analizlerinde izolat 3 ve 6'nın koşullara karşı direnç gösterdiği belirlenmiştir ancak izolat 3'ün pH 2 ortamında koloni oluşturmaması nedeniyle asit koşullarına karşı kısmen duyarlı olduğu kabul edilmiştir. Bu durum, söz konusu bakterilerin gastrointestinal sistem koşullarına adaptasyon yeteneğine işaret etmektedir (Chelliah vd., 2024: 2). Hemolitik aktivite testlerinde, hiçbir izolatın α veya β hemoliz göstermediği ve tümünün γ -hemolitik olduğu belirlenmiştir. Bu özellik, suşların potansiyel probiyotik olarak güvenliğini desteklemektedir (Xu vd., 2019). Öte yandan, çalışmada elde edilen izolatların hiçbirinde test edilen patojen mikroorganizmalara karşı anlamlı bir antimikrobiyal aktivite gözlemlenmemiştir. Bu durum, bazı probiyotiklerin antimikrobiyal bileşik üretmemesine veya üretse bile test edilen koşullarda yeterli düzeyde sentezlememelerine bağlanabilir. Literatürde de bazı *Lactobacillus* suşlarının antimikrobiyal aktivite göstermediği durumlar rapor edilmiştir (Martino vd., 2020). Probiyotik etki yalnızca antimikrobiyal aktivite ile sınırlı olmayıp; bağışıklık sistemini modülasyon, bağırsak bariyer fonksiyonlarını destekleme ve mikrobiyota dengesini düzenleme gibi çeşitli mekanizmalarla da gerçekleşebilir (Hill vd., 2014: 507; Zheng vd., 2020: 2782). Bu bağlamda, çalışmada antimikrobiyal aktivite gözlenmemiş olsa da, izolatların asit, safra ve fenol direnci gibi stres koşullarına adaptasyonları, hemolitik aktivite göstermemeleri ve belirli antibiyotiklere duyarlılıkları, onların güvenli ve fonksiyonel probiyotik adayları olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır.

Lactobacillus'un bazı türleri, çeşitli ticari probiyotik ürünlerde ve gıda takviyelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Segers & Lebeer, 2014: 1). Ayrıca, bu türlerin aroma bileşenleri üretme yetenekleri sayesinde, gıdaların tat ve kokusuna olumlu katkılar sağladığı rapor edilmiştir (Bhutada ve ark., 2024: 6). Farklı kaynaklardan izole edilen *Lactobacillus paracasei* suşları kullanılarak geliştirilen probiyotik preparatların, artan tüketici taleplerine bağlı olarak endüstriyel gıda üretiminde kullanım alanı gün geçtikçe genişlemektedir (Uymaz, 2010: 95). *L. mesenteroides* başta süt ürünleri olmak üzere çeşitli fermantasyon süreçlerinde kullanılan ve dekstran sentezi, çeşitli kozmetik ürünlerin üretiminde önemli rol oynamaktadır (Ürkmez ve Gücükoğlu, 2019: 96).

Probiyotiklerin kullanım alanları bununla sınırlı kalmayıp, kozmetik ürünlerde deri mikrobiyotasını destekleyici bileşenler olarak ve ağız sağlığı ürünlerinde de önemli bir yer tutmaktadır (Bhutada ve ark., 2024: 4).



KAYNAKÇA

- Abo-Neima, S. vd.** (2016). Control the metabolic activities of *E.coli* and *S. aureus* bacteria by Electric Field waves at Resonance Frequency in vitro study.
- Akbal, N., & Vural, A. (2018).** Kurutulmuş Meyve Örneklerinde Mikrobiyolojik Kalite Özelliklerinin Araştırılması. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11(2), 93-97.
- Aladeboyeje, O. T. (2019).** Türkiye’deki bazı geleneksel probiyotik içeceklerin antimikrobiyal etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Aswathy, R.G. vd.** (2008). Evaluation of the Probiotic Characteristics of Newly Isolated Lactic Acid Bacteria. *Appl Biochem Biotechnol* 151, 244–255
- Ayhan, Ş. (2021).** Aksaray’da Üretilen Tulum Peynirlerinde *Enterococcus Cinsi* Bakterilerinin İzolasyonu, PZR Yöntemi İle Tanımlanması ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.
- Badawi Babeker, N. A. (2022).** Orta Toroslar Yöresinde Üretilen Tulum Peynirlerinden İzole Edilen *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* Suşlarının Probiyotik Potansiyellerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Banakar, M. vd.** (2024). The strategic role of biotics in dental caries prevention: A scoping review. *Food Science & Nutrition*, 12, 8651–8674
- Barkhidarian, B. vd.** (2021). Probiotic Supplementation and Micronutrient Status in Healthy Subjects: A Systematic Review of Clinical Trials. *Nutrients*, 13(9), 3001.
- Bhutada, S. vd.** (2025). A comprehensive review of probiotics and human health: Current prospective and applications. *Frontiers in Microbiology*, 15.
- Bozdemir, M. (2021).** Bozadan İzole Edilmiş Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Teknolojik ve Fonksiyonel Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tekirdağ.
- Bilginer, H., & Çetin, B. (2019).** Probiyotikler ve belirlenmelerinde kullanılan *in vitro* testler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(3), 312–325.
- Bingöl, M. G., & Şengün, İ. (2022).** Susuz lahana turşusundan izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik potansiyeli. *Biological Diversity and Conservation*, 15(1), 38-49.

- Benmechernene Z. vd.** (2013). Technological aptitude and applications of *Leuconostoc mesenteroides* bioactive strains isolated from Algerian raw camel milk. *Biomed Res Int.* 2013.
- Boricha, A. vd.** (2019). In vitro evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* species of food and human origin. *LWT-Food Sci. Technol.*, 106, 201-208.
- El Ahmadi K. vd.** (2025) Isolation and preliminary screening of lactic acid bacteria for antimicrobial potential from raw milk. *Front. Microbiol.* 16:1565016.
- Erem, F., Küçükçetin, A., & Certel, M.** (2013). *Bacillus* türlerinin probiyotik olarak değerlendirilmesi. *GIDA*, 38(4), 247–254.
- Castellone, V. vd.** (2021). Eating Fermented: Health Benefits of LAB-Fermented Foods. *Foods*, 10(11), 2639.
- Chelliah, R. vd.** (2024). Robust and safe: Unveiling *Bacillus clausii* OHRC1's potential as a versatile probiotic for enhanced food quality and safety. *LWT - Food Science and Technology*, 203, 116291.
- Çiftci, A. & Koçak, Y.** (2020). Tavuk Kökenli *Enterococcus faecium* ve *Lactobacillus* Türlerinin Probiyotik Özelliklerinin Araştırılması. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(3), 356-365.
- Cuevas-González, P. F., Liceaga, A. M., & Aguilar-Toalá, J. E.** (2020). Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 136, 109502.
- Demritaş, A. vd.** (2020). Malatya'da Yetiştirilen Hacıhaliloğlu Kayısının Mikroorganizma Kompozisyonunun Araştırılması ve Potansiyel Probiyotik Etkilerinin Değerlendirilmesi. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 8(3), 643-651.
- Dempsey, E., & Corr, S. C.** (2022). *Lactobacillus* spp. for Gastrointestinal Health: Current and Future Perspectives. *Frontiers in immunology*, 13, 840245.
- de Souza, M., Drunkler, D. A., & Colla, E.** (2024). Probiotic Functional Yogurt: Challenges and Opportunities. *Fermentation*, 10(1), 6.

Diker, E. (2019). Baldan izole edilen *Laktobacillus* cinsi bakterilerin bazı probiyotik özelliklerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Doğan, M. (2011). Probiyotik bakterilerin etki mekanizması. *ABMYO Dergisi*, 21, 98-102

Doğan, O., & Cebeci, A. (2021). Bazı geleneksel Türk gıdalarından laktik asit bakterilerinin izolasyonu. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 58(1), 87-95.

FAO/WHO (2001). Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria Cordoba, Argentina. 1-4 October.

Fijan, S. (2023). Probiotics and Their Antimicrobial Effect. *Microorganisms*, 11(2), 528.

Gul, S., & Durante-Mangoni, E. (2024). Unraveling the Puzzle: Health Benefits of Probiotics—A Comprehensive Review. *Journal of Clinical Medicine*, 13(5), 1436.

Galyon, F., & Varlık, C. (2021). Probiyotikler, prebiyotikler ve bunların bağırsak ve cilt sağlığı üzerindeki etkileri. *ABMYO Dergisi*, 16(64), 263–289.

Gürsoy, N. C. & Otlı, B. (2017). Mikrobiyota çalışmalarında moleküler tanı yöntemleri. *Journal of Biotechnology and Strategic Health Research*, 1, 56-67.

Hayatoğlu, F. (2021). *Probiyotik Bakteri İlavesi İle Üretilen Ayrarların Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri*. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.

Hill, C. vd. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506–514.

Horasan, B. ve Çelikyürek, N.A. (2024). Probiyotiklerin Genel Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Sağlık Akademisi Kastamonu (SAK)*, 9(2), 345-365.

Hossain, M. L. vd. (2022). A Review of Commonly Used Methodologies for Assessing the Antibacterial Activity of Honey and Honey Products. *Antibiotics*, 11(7), 975.

Hosseini, E. vd. (2025). Lactic Acid Bacteria in Vinegar Fermentation: Diversity, Functionality and Health Benefits. *Foods*, 14(4), 698.

Hosseini, S. H., Farhangfar, A., Moradi, M., & Dalir-Naghadeh, B. (2024). Beyond probiotics: Exploring the potential of postbiotics and parabiotics in veterinary medicine. *Research in Veterinary Science*, 167, 105133.

Idrees, M. vd. (2022). Probiotics, their action modality and the use of multi-omics in metamorphosis of commensal microbiota into target-based probiotics. *Frontiers in nutrition*, 9, 959941

İduğ, T., & Hızlı Güldemir, H. (2024). Probiyotiklerin Türleri, Etki Mekanizmaları ve Metabolik Etkileri: Güncel Bir Bakış. *İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 9(3), 457-462.

İspirli, H., & Dertli, E. (2023). Geleneksel yollarla üretilmiş turşu örneklerinden laktik asit bakterilerinin izolasyonu, moleküler yöntemler kullanılarak tanımlanması ve bazı fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA*, 48(2), 360-380.

Juknius, T. vd. (2020). Preclinical Study of a Multi-Layered Antimicrobial Patch Based on Thin Nanocomposite Amorphous Diamond Like Carbon Films with Embedded Silver Nanoparticles. *Materials*, 13(14), 3180.

Kahraman Sarısu, A. (2021). *Malatya kayısısından laktik asit bakterilerinin izolasyonu, moleküler identifikasyonu, bazı probiyotik ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi, Lisans Eğitim Enstitüsü, İstanbul.

Keskin, P., Kılıç Kanak, E. & Öztürk Yılmaz, S. (2023). Zeytin Ve Zeytinyağında Bulunan Mayalar, Faydaları, Probiyotik Aktiviteleri Ve Etki Mekanizmaları. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13(4), 2683-2691.

Kıran, F., & Osmanağaoğlu, Ö. (2011). Laktik asit bakterilerinin (LAB) identifikasyonunda/tipelendirilmesinde kullanılan moleküler yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 27(1), 62–74.

Koçak, Y., Fındık, A., & Çiftçi, A. (2016). Probiyotikler: Genel Özellikleri ve Güvenilirlikleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 27(2), 118-122.

Kütük, A. G. (2015). *Probiyotik Olarak Kullanılabilecek Bifidobakterilerin İzolasyonu ve Tanımlanması*. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elâzığ.

Khushboo, Karnwal, A., & Malik T. (2023). Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods. *Front Microbiol*, 14:1170725.

Kwofie, M. , Bukari, N. & Adeboye, O. (2020) Probiotics Potential of Yeast and Lactic Acid Bacteria Fermented Foods and the Impact of Processing: A Review of Indigenous and Continental Food Products. *Advances in Microbiology*, 10, 492-507.

Latif, A. vd. (2023) Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Front. Microbiol.* 14:1216674.

Lee, N. K., Park, Y. S., Kang, D. K., & Paik, H. D. (2023). Paraprobiotics: definition, manufacturing methods, and functionality. *Food science and biotechnology*, 32(14), 1981–1991.

Liasi, S.A. vd. (2009). Antimicrobial activity and anti-biotic sensitivity of three isolates of lactic acid bacteria from fermented fish product. *Malaysian Journal of Microbiology*, 5(1):33–37.

Madabushi, J. S. vd. (2023). Gut Biome and Mental Health: Do Probiotics Work?. *Cureus*, 15(6), e40293.

Martino, M. E. vd. (2016). Nomadic lifestyle of *Lactobacillus plantarum* revealed by comparative genomics of 54 strains isolated from different habitats. *Environmental Microbiology*, 18(12), 4974–4989.

M'hamed, A.C. vd. (2022). Characterization of Probiotic Properties of *Lacticaseibacillus paracasei* L2 Isolated from a Traditional Fermented Food "Lben". *Life*, 13(1), 21.

Mishra, S. & Acharya, S. (2021) Probiyotiklere Kısa Bir Bakış: Sağlıklı Mikroplar. *Biomed Pharmacol J.* 14(4).

Nataraj, B.H. vd. (2020). Postbiotics-parabiotics: the new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microb Cell Fact* 19, 168

Reuben, R.C. vd. (2019). Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC Microbiology*, 19: 253.

Roldán-Pérez, S. vd. (2023). Assessment of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from an artisanal Colombian cheese. *Heliyon*, 9(11), e21558.

Oktar Uzun, B. ve Bayraktar, A. (2023). Geleneksel yöntemle üretilen zeytin ve elma sirkesi biyofilm formlarındaki bakteriyel floranın pzd gje yöntemi ile belirlenmesi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 11(11): 2051-2058.

Onen, O. I. vd. (2020). Microbial diversity: Values and roles in ecosystems. *Asian Journal of Biology*, 9(1), 10–22.

Onur, M. (2021). Farklı kaynaklardan izole edilen laktik asit bakterilerinin bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Muş Alparslan Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Muş

Onur, M., & Önlü, H. (2021). Farklı Gıda Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*(32), 562-572.

Özbay-Arı, M. ve Yılmaz-Ersan, L. (2024). Yeni Nesil Fonksiyonel Bileşenler Olarak Postbiyotikler ve Biyoaktif Özellikleri. *Bursa Uludag Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 38(2), 509-533.

Özcan, H. (2022). *Meralarda beslenen ineklerin sütlerinden probiyotik mikroorganizmanın izolasyonu ve tanımlanması*. Yüksek lisans tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Anadolu Üniversitesi.

Özer, M., Özyurt, G., & Harsa, Ş.T. (2019). Probiyotik ve Prebiyotiklerin Bağırsak-Beyin Aksına Etkisi. *Akademik Gıda* 17(2). 269-280

Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *Journal of food science and technology*, 52(12), 7577–7587.

Pérez-Sánchez, T. vd. (2011), Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), with inhibitory activity against *Lactococcus garvieae*. *Journal of Fish Diseases*, 34: 499-507.

Pehlivan, D., & Onuk, E. E. (2020). Gökkuşığı alabalığı bağırsaklarından izole edilen laktik asit bakterilerinin *Lactococcus garvieae*'ye karşı probiyotik potansiyelinin in vitro olarak belirlenmesi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Dergisi*, 5(4), 647-654.

Plaza-Díaz, J. vd. (2019). Mechanisms of action of probiotics. *Advances in Nutrition*, 10(Suppl. 1), 49–66.

Prajapati N. vd. (2023) Postbiotic production: harnessing the power of microbial metabolites for health applications. *Front. Microbiol.* 14:1306192.

Pyclik, M. vd. (2020). Bifidobacteria cell wall-derived exo-polysaccharides, lipoteichoic acids, peptidoglycans, polar lipids and proteins- their chemical structure and biological attributes. *International journal of biological macromolecules*, 147, 333–349.

Sabir, F. vd. (2010). Assessment of Potential Probiotic Properties of *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., and *Pediococcus* spp. Strains Isolated from Kefir. *Journal of Food Science*, 75: 568-573.

Salminen, S. vd. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 18, 649–667

Sarita, B. vd. (2025) A comprehensive review of probiotics and human health-current prospective and applications. *Frontiers in microbiology*, 15:1487641.

Segers, M. E., & Lebeer, S. (2014). Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus* GG–host interactions. *Microbial Cell Factories*, 13(1), S7.

Ślizewska, K., & Chlebicz-Wójcik, A. (2020). Growth Kinetics of Probiotic *Lactobacillus* Strains in the Alternative, Cost-Efficient Semi-Solid Fermentation Medium. *Biology*, 9(12), 423.

Soemarie, Y. B., Milanda , T., & Barliana, M. I. (2021) Fermented foods as probiotics: A review. *J Adv Pharm Technol Res.* 12:335-9

Soomro A.H., T. Masud & Kiran Anwaar (2002). Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health – A Review. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1: 20-24.

Swanson, K.S. vd. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **17**, 687–701 (2020).

Schifano, E. vd. (2021) *Leuconostoc mesenteroides* Strains Isolated from Carrots Show Probiotic Features. *Microorganisms*. **9**, 2290.

Siciliano, R. A. vd. (2021). Paraprobiotics: A New Perspective for Functional Foods and Nutraceuticals. *Nutrients*, **13**(4), 1225.

Sornsenee, P. vd. (2022). Characterization of probiotic properties and development of banana powder enriched with freeze-dried *Lactobacillus paracasei* probiotics. *Heliyon*, **8**(10), e11063.

Sökmen Yılmaz, E. (2017). *Balçova yüzeysel termal su kaynaklarından arsenik metabolize eden bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu* Doktora tezi, Ege Üniversitesi.

Sökmen, Ö., Düven, G., Ay, M., & Özmen Toğay, S. (2024). Bursa Bölgesinden Toplanan Ekşi Mayalardan Elde Edilen Enterokok İzolatlarının Gıda Güvenliği ve Fonksiyonel Karakterizasyonu. *Bursa Uludag Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, **38**(2), 341-355.

Shortt, C. (1999). The probiotic century: Historical and current perspectives, *Trends in Food Science & Technology*, **10**(12), 411-417.

Taşdemir, A. (2017). Probiyotikler, Prebiyotikler ve Sinbiyotikler. *Kastamonu sağlık Akademisi*. **2**(1). 72-88.

World Gastroenterology Organisation (WGO) (2023). Global Guidelines: Probiotics and prebiotics.

Vinayamohan, P. vd. (2024). Efficacy of Probiotics in Reducing Pathogenic Potential of Infectious Agents. *Fermentation*, **10**(12), 599.

Yadav, M. K. vd. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics. *Appl Microbiol Biotechnol* **106**, 505–521. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11646-8>

Yassine, F., Najm, A., & Bilen, M. (2025) The role of probiotics, prebiotics, and synbiotics in the treatment of inflammatory bowel diseases: an overview of recent clinical trials. *Front. Syst. Biol.* **5**:1561047.

Yeşillik S. (2008). *Bazı Probiyotik Bakterilerin Gıda Kaynaklı Patojenlere Karşı Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Bir İn-Vitro Çalışma*. Yüksek Lisans Tezi. Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Yıldırım, N., & Özden Tuncer, B. (2022). Antimikrobiyel aktiviteye sahip *Pediococcus acidilactici* ve *Pediococcus pentosaceus* suşlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA*, 47(3), 434-446.

Yurdakul, İ., & Ark., A. (2023). Tüketilen bazı probiyotik preparatların içerdiği bakteri seviyelerinin belirlenerek PZR ile doğrulanması. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 12(1), 59-65.

Yücel Şengün, İ. ve Kılıç, G. (2019). Farklı Sirke Çeşitlerinin Mikroflorası, Biyoaktif Bileşenleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Akademik Gıda* 17(1) 89-101

Xu, Y. vd. (2019). Probiotic Properties of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* L1 and Its Growth Performance-Promotion in Chicken by Improving the Intestinal Microflora. *Front Physiol.* 25; 10:937.

Uluçay, O. (2023). Mikroorganizmalar ve Bakteri Çeşitliliği. In: Akpınar, A. (ed.), *Matematik ve Fen Bilimleri Üzerine Araştırmalar*. Özgür Yayınları.

Uthayasooryan, M. vd. (2016). Formulation of alternative culture media for bacterial and fungal growth. *Der Pharmacia Lettre*, 8(1), 431–436.

Uymaz, B. (2010). Probiyotikler ve kullanım alanları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(1), 95–104.

Ürkmez, Ş. D., & Gücükoğlu, A. (2019). Probiyotik olarak tanımlanan yeni mikroorganizmalar. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 30(1), 95–99

Vinderola, G., Sanders, M.E., & Salminen, S. (2022). The Concept of Postbiotics. *Foods*, 11, 1077.

Zhang, J. vd. (2023). Lactic acid bacteria-derived exopolysaccharide: Formation, immunomodulatory ability, health effects, and structure-function relationship. *Microbiological Research*, 274, 127432.

Zawistowska-Rojek, A. vd. (2022). New Potentially Probiotic Strains Isolated from Humans- Comparison of Properties with Strains from Probiotic Products and ATCC Collection. *Polish journal of microbiology*, 71(3), 395–409.

Zheng, J. vd. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(5), 2782–2858.

