



T.C.

AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ VE MOLEKÜLER BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

POTANSİYEL PROBİYOTİK *Levilactobacillus brevis* KMP1
BAKTERİSİNİN PREBİYOTİK, POSTBİYOTİK VE
PARAPROBİYOTİKLERİNİN ANTİOKSİDAN İLE
ANTİDİYABETİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Abdulkadir DİKİCİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Derya ÖNAL DARILMAZ

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. Tülden İNANAN

AKSARAY, 2023

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 202330407 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Abdulkadir DİKİCİ tarafından hazırlanan “**POTANSİYEL PROBİYOTİK *Levilactobacillus brevis* KMP1 BAKTERİSİNİN PREBİYOTİK, POSTBİYOTİK VE PARAPROBİYOTİKLERİNİN ANTİOKSİDAN İLE ANTİDİYABETİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Derya ÖNAL DARILMAZ

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Prof. Dr. Zehranur YÜKSEKDAĞ

Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Üye: Doç. Dr. Gülçin ALP AVCI

Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

.....

Tez Savunma Tarihi:

09.06.2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinalliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

Abdulkadir DİKİCİ

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve gerek deney aşamasında gerekse tez yazımı aşamasında bilgi, tecrübe ve anlayışlarıyla akademik alanda bana daima yol gösteren ve destek olan, kendimi geliştirmemde büyük katkıları olan danışmanım Prof. Dr. Derya ÖNAL DARILMAZ'a ve eş danışmanım olan Doç. Dr. TülDen İNANAN'a, tezimde DNA hasarına koruyucu aktivitenin belirlenmesi çalışmasında yardımlarından dolayı Dr. Öğr. Tuğçe KARADUMAN hocama, çalışmalarımı gerçekleştirmeme olanak sağlayan Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne (ASÜBTAM) ve yöneticilerine, teşekkür ederim.

Çalışmamın gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Burak Evren İNANAN'a, arkadaşlarım Orhan ÇETİN ve Abdulkerim KOCAOĞLU'na, Mehmet CAMBAZ, Hilal ERDEN, Hakan YÜCEDAĞ ve desteklerini benden esirgemeyen annem Ayşe DİKİCİ, babam İsmail DİKİCİ ve kardeşim Kadriye Nur DİKİCİ'ye teşekkür ederim.

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) KBAG 120Z573 kodlu proje tarafından desteklenmiştir. Ayrıca TÜBİTAK'a yüksek lisans çalışmalarım sırasında sağladığı burs desteğinden dolayı teşekkür ederim.

Abdulkadir DİKİCİ
AKSARAY, 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Probiyotik	4
2.1.1 Probiyotiklerin antioksidan etkileri	6
2.1.2 Probiyotiklerin antidiyabetik etkileri	7
2.2 Prebiyotik	9
2.2.1 Ekzopolisakkaritler	10
2.2.1.1 Ekzopolisakkaritlerin kullanım alanları ve sağlık üzerine etkileri ..	11
2.3 Postbiyotikler.....	13
2.3.1 Postbiyotiklerin antioksidan özellikleri	15
2.3.2 Postbiyotiklerin antidiyabetik özellikleri.....	16
2.4 Paraprobiyotik	17
2.5 Antioksidanlar	21
2.5.1 Doğal antioksidanlar	23
2.5.2 Sentetik antioksidanlar.....	26
2.6 Oksidatif Stres	26
2.6.1 Reaktif Oksijen Türleri	31
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	34
3.1 Materyal.....	34
3.1.1 Çalışmada kullanılan bakteri kültürleri	34
3.1.2 Bakterilerin aktiveleştirilmesi ve gelişme ortamları	34
3.1.3 Çalışmalarda kullanılan besiyerleri	35
3.1.4 Çalışmada kullanılan tamponlar	35
3.2 Yöntem	36
3.2.1 Bakteri kültürlerinin muhafazası	36
3.2.2 Prebiyotik kaynağı olarak kültür ortamından kısmi saflaştırılan ekzopolisakkaritlerin lizofilizasyonu	36
3.2.3 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in çözünürlüğünün belirlenmesi.....	36
3.3 Prebiyotik olarak L-EPS-KMP1'in Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesine Yönelik Analizler	37
3.3.1 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in antioksidan aktivite deneyleri için hazırlanması	37
3.3.2 DPPH (2,2,-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü aktivite	37
3.3.3 ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbentiazolin-6-sülfonik asit) radikal süpürücü aktivite	38
3.3.4 Hidroksil radikalleri süpürücü aktivitesi	38
3.3.5 Süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi	38
3.3.6 Demir indirgeme antioksidan gücü (Ferric reducing antioxidant power- FRAP).....	39
3.3.7 Total antioksidan kapasite analizi.....	40

3.3.8 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in DNA hasarına karşı koruyucu aktivitenin belirlenmesi	41
3.4 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in Antidiyabetik Aktivitesinin Belirlenmesi.....	41
3.5 Probiyotik <i>L. Brevis</i> KMP1 Suşunun, Postbiyotiğinin ve Paraprobiyotiğinin Antioksidan Aktivite Analizleri	42
3.5.1 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik antioksidan ve antidiyabetik aktivite deneyleri için hazırlanması.....	43
3.6 Probiyotik, Postbiyotik ve Paraprobiyotiklerin Antidiyabetik Aktivite Belirlenmesine Yönelik Analizler	44
3.7 İstatiksel Analiz.....	44
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	46
4.1 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in Antioksidan Özellikler:.....	46
4.1.1 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in DPPH (2,2,-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü aktivitesi	46
4.1.2 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbentiazolin-6-sülfonik asit) radikal süpürücü aktivitesi	47
4.1.3 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in hidroksil radikalleri süpürücü aktivitesi	49
4.1.4 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi	50
4.1.5 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in demir indirgeme antioksidan gücü (Ferric reducing antioxidant power-FRAP)	52
4.1.6 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in total antioksidan kapasite analizi	54
4.1.7 Prebiyotik L-EPS KMP1 DNA hasarına karşı koruyucu aktivitenin belirlenmesi	56
4.2 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in Antidiyabetik Aktivite Belirlenmesine Yönelik Analizler.....	57
4.3 Probiyotik <i>L. Brevis</i> KMP1 Suşunun, Postbiyotiğinin Ve Paraprobiyotiğinin Antioksidan Analizleri	59
4.3.1 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik DPPH radikal süpürücü aktiviteleri.....	59
4.3.2 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik ABTS+ radikal süpürücü aktivitesi	62
4.3.3 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik hidroksil radikal süpürücü aktivitesi	64
4.3.4 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi	65
4.3.5 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik total antioksidan kapasite analizi	67
4.3.6 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotiklerin demir indirgeme antioksidan gücü (Ferric reducing antioxidant power-FRAP)	69
4.3.7 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik DNA hasarına karşı koruyucu aktivitenin belirlenmesi	70
4.4 Probiyotik, Postbiyotik ve Paraprobiyotiklerin Antidiyabetik Aktivite Belirlenmesine Yönelik Analizler	72
4.5 Antioksidan Aktivitelerinin İstatiksel Değerlendirilmesi.....	73
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	82
KAYNAKLAR	86
ÖZGEÇMİŞ.....	109

YÜKSEK LİSANS TEZİ

POTANSİYEL PROBİYOTİK *Levilactobacillus brevis* KMP1 BAKTERİSİNİN PREBİYOTİK, POSTBİYOTİK VE PARAPROBİYOTİKLERİNİN ANTİOKSİDAN İLE ANTİDİYABETİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI ARAŞTIRILMASI

Abdulkadir DİKİCİ

Aksaray Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Derya ÖNAL DARILMAZ

İkinci Danışman: Doç.Dr. Tülden İNANAN

ÖZET

Bu çalışmada, geleneksel Türkiye peynirlerinden Balıkesir Kelle Mihaliç Peynirinden izole edilen *Levilactobacillus brevis* KMP1 suşundan elde edilen prebiyotik L-EPS-KMP1, probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'in antioksidan aktiviteleri 7 farklı yöntemle belirlenmiş ve antioksidan aktivite deneyleri için IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Ayrıca prebiyotik L-EPS-KMP1, probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'in antidiyabetik aktivitesinin belirlenmesi amacıyla, α-amilaz enzimini inhibe etme yeteneği araştırılmıştır.

Prebiyotik L-EPS-KMP1 de en yüksek antioksidan aktivite 4 mg/mL derişiminde ABTS⁺ süpürücü aktivite yöntemi %66,88±4,40 ve 10 mg/mL derişiminde süperoksit anyonu süpürücü aktivite testi ile %56,21±3,45 olarak belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in en düşük derişimi 0,05 mg/mL'de en yüksek antidiyabetik aktivite %65,19±0,65 tespit edilmiştir. En yüksek antidiyabetik aktivite postbiyotik KMP1'in 1:2 ve 1:5 oranındaki seyreltimlerinde aktivite sırayla %92,12±1,78 ve %96,80±3,49 olarak bulunmuştur. Paraprobiyotik KMP1 ve bunun 1:2 ile 1:5 oranındaki seyreltimlerindeki α-amilaz inhibisyon aktivitesi sırayla %35,44±5,76, %51,79±5,95 ve %84,70±2,50 olarak belirlenmiştir.

Çalışmada uygulanan yöntemler ile probiyotik KMP1, prebiyotik L-EPS-KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'in antioksidan özellikler sergilediği, ayrıca prebiyotik L-EPS-KMP1'in DNA hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu belirlenmiştir. *L. brevis* KMP1'den elde edilen prebiyotik, postbiyotiklerin, paraprobiyotiklerin ve probiyotiklerin gıdalarda takviye gıda olarak kullanılabileceği, doğal koruyucu olarak kullanılabileceği ve sağlık alanında doğal bir antioksidan olarak kullanılabileceği yapılan çalışmalarla öngörülmektedir. Ayrıca EPS, postbiyotik ve paraprobiyotiklerin antidiyabetik tedavilerde ilaçlara alternatif doğal bileşen olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Paraprobiyotikler, Postbiyotikler, Ekzopolisakkaritler, Probiyotikler, Serbest Radikaller, Antioksidanlar, Antidiyabetik, DNA Hasarı

Haziran, 2023; 109 sayfa

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT AND ANTIDIABETIC ACTIVITIES OF PREBIOTIC, POSTBIOTIC AND PARAPROBIOTIC OF POTENTIAL PROBIOTIC *Levilactobacillus brevis* KMP1 BACTERIA

Abdulkadir DİKİCİ

Aksaray University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology and Molecular Biology

Supervisor: Prof. Dr. Derya ÖNAL DARILMAZ

Second Advisor: Assoc. Dr Tülden İNANAN

ABSTRACT

In this study, antioxidant activities of prebiotic L-EPS-KMP1, probiotic KMP1, postbiotic KMP1 and paraprobiotic KMP1 obtained from *Levilactobacillus brevis* KMP1 strain isolated from Balıkesir Kelle Mihaliç Cheese, one of the traditional Turkish cheeses, were determined by 7 different methods and IC50 values were calculated for antioxidant activity experiments. In addition, the ability to inhibit the α -amylase enzyme was investigated in order to determine the antidiabetic activity of prebiotic L-EPS-KMP1, probiotic KMP1, postbiotic KMP1 and paraprobiotic KMP1. The highest antioxidant activity in prebiotic L-EPS-KMP1 with ABTS+ scavenging activity method at 4 mg/mL concentration $66.88 \pm 4.4\%$ and with superoxide anion scavenging activity test at 10 mg/mL concentration $56.21 \pm 3.45\%$ has been determined. The lowest concentration of prebiotic L-EPS-KMP1 was 0.05 mg/mL, and the highest antidiabetic activity was $65.19 \pm 0.65\%$. The highest antidiabetic activity was found to be $92.12\% \pm 1.78\%$ and $96.80 \pm 3.49\%$ at 1:2 and 1:5 dilutions of postbiotic KMP1, respectively. Paraprobiotic KMP1 and its α -amylase inhibition activity in 1:2 and 1:5 dilutions were determined as $35.44 \pm 5.76\%$, $51.79 \pm 5.95\%$ and $84.70 \pm 2.5\%$, respectively.

With the methods applied in the study, it was determined that probiotic KMP1 strain, prebiotic L-EPS-KMP1, postbiotic KMP1 and paraprobiotic KMP1 showed antioxidant properties, and prebiotic L-EPS-KMP1 had a protective effect against DNA damage. It is predicted by studies that prebiotic EPS, postbiotics, paraprobiotics and probiotics obtained from *L. brevis* KMP1 can be used as supplements in foods, can be used as a natural preservative in the field of food, and can be used as a natural antioxidant that makes an additional contribution to the microflora in the field of health. In addition, the results obtained from studies with postbiotics and paraprobiotics of prebiotic EPS obtained from *L. brevis* KMP1 show that it can be used as an alternative natural component to drugs in antidiabetic treatments.

Keywords: Paraprobiotics, Postbiotics, Exopolysaccharides, Probiotics, Free Radicals, Antioxidants, Antidiabetic, Lactic Acid Bacteria, DNA Damage

June, 2023; 109 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Demir indirgeme antioksidan gücü için AA kalibrasyon grafiği.	40
Şekil 3.2. Total antioksidan kapasite için AA kalibrasyon grafiği.	40
Şekil 4.1. Prebiyotik L-KMP1'in %DPPH radikal süpürücü aktivitesi.....	46
Şekil 4.2. Prebiyotik L-KMP1'in %ABTS ⁺ radikal süpürücü aktivitesi	48
Şekil 4.3. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in hidroksil radikalleri süpürücü aktivitesi.....	49
Şekil 4.4. A) Prebiyotik L-EPS-KMP1'in hidroksil radikal giderme aktivitesi B) Blank çözeltisini hidroksil radikal süpürme aktivitesi C) Çözücünün (sc) hidroksil radikal giderme aktivitesi.....	49
Şekil 4.5. Prebiyotik L-EPS KMP1'in süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi	51
Şekil 4.6. A) Prebiyotik L-EPS-KMP1'in süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi B) Blank çözeltisini süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi C) Sc'nin süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi.	51
Şekil 4.7. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için demir indirgeme antioksidan gücü (askorbik asit eşleniği, µg).	53
Şekil 4.8. A) Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve blank çözeltisinin demir indirgeme antioksidan gücü (µg askorbik asit eşleniği).	53
Şekil 4.9. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için total antioksidan kapasitesi (askorbik asit eşleniği, µg).	54
Şekil 4.10. A) Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve blank çözeltisinin total antioksidan kapasitesi (µg askorbik asit eşleniği).	55
Şekil 4.11. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in plazmit DNA kırılmaları üzerindeki koruyucu etkisi, olmadan inkübe edilen DNA (I); Fenton reaksiyonundan üretilen •OH ile birlikte (II-V-VIII; %0,01-0,1-1), Fenton reaktanı ve prebiyotik L-EPS-KMP1 ile sırasıyla 4 ve 10 mg/mL'de inkübe edilmiş DNA (III-IV, VI-VII; IX-X).	56
Şekil 4.12. A) Akarboz örneğinin antidiyabetik aktivitesi B) Kontrol, blank Prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltilerinin antidiyabetik aktivitesi.....	57
Şekil 4.13. A) Akarbozun %inhibisyonu B) Prebiyotik L-EPS KMP1'in antidiyabetik aktivitesi.	59
Şekil 4.14. Probiyotik KMP1 suşunun, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin DPPH radikal süpürücü aktivite sonuçları.	61
Şekil 4.15. Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin ABTS ⁺ radikal süpürücü aktivite sonuçları.	62
Şekil 4.16. Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin hidroksil radikal süpürme aktivitesi.	64
Şekil 4.17. Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin süperoksit radikal süpürme aktivitesi.	66
Şekil 4.18. Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin total antioksidan kapasitesi.....	68
Şekil 4.19 Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin demir indirgeme antioksidan gücü.	69

Şekil 4.20. A) %0,01'lik H ₂ O ₂ uygulama jel görüntüsü B) %0,1'lik H ₂ O ₂ uygulama jel görüntüsü.....	71
Şekil 4.21. Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin antidiyabetik aktivitesi.	73



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen türleri (RNS) ve serbest radikal olmayan türleri	32
Çizelge 3.1. Man Rogosa Sharpe (MRS) besiyerinin içeriği.....	35
Çizelge 4.1. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in IC ₅₀ değerleri.....	73
Çizelge 4.2. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in ve AA için DPPH sonuçları (ortalama±standart sapma)	75
Çizelge 4.3. Prebiyotik L-EPS'ler ve (AA) için ABTS radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama± standart sapma).....	75
Çizelge 4.4. Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve AA için hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama± standart sapma).....	76
Çizelge 4.5. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için total antioksidan aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).	76
Çizelge 4.6. Prebiyotik L-EPS'ler için ferrik indirgeyici antioksidan güç sonuçları (ortalama±standart sapma).	76
Çizelge 4.7. Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve AA için süperoksit anyon radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).....	77
Çizelge 4.8. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için antidiyabetik aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).	77
Çizelge 4.9. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'lerin ve askorbik asit (AA) için DPPH sonuçları (ortalama±standart sapma).	78
Çizelge 4.10. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'lerin ve askorbik asit (AA) için ABTS ⁺ radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).....	78
Çizelge 4.11. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'lerin ve askorbik asit (AA) için hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).....	79
Çizelge 4.12. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'lerin ve askorbik asit (AA) için süperoksit anyon radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).....	79
Çizelge 4.13. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'lerin total antioksidan aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).	80
Çizelge 4.14. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'lerin için ferrik indirgeyici antioksidan güç sonuçları (ortalama±standart sapma).	80
Çizelge 4.15. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'lerin ve akarboz için antidiyabetik aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).....	81

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	Askorbik Asit
ATCC	Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
atm	Atmosferik Basınç
c-EPS	Kapsüller Ekzopolisakkarit
CFS	Hücresiz Süpernatant
Dk	Dakika
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EPSs	Ekzopolisakkaritler
Eş.	Eşitlik
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FOS	Fruktooligosakkaritler
g	Gram
GI	Gastrointestinal
GOS	Galaktooligosakkaritler
GPx	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GRAS	Genel Olarak Güvenli
HCl	Hidroklorik Asit
HePS	Heteropolisakkaritler
HoPS	Homopolisakkaritler
kob	Koloni Oluşturan Birim
L	Litre
LAB	Laktik Asit Bakterileri
L-EPS	Liyofilize EPS
log	Logaritma
mL	Mililitre
MRS	Man Rogosa ve Sharpe
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
ng	Nanogram
nm	Nanometre
OD	Optik Dansite
pH	Asitlik Bazlık Birimi
r-EPS	Serbest Ekzopolisakkarit
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
rpm	Dakikada Devir Sayısı
SCFA	Kısa Zincirli Yağ Asitleri
SF	Serum fizyolojik
SOD	Süperoksit Dismutaz
sp.	Species (türleri)
T2D	Tip 2 Diabetes
T2DM	Tip 2 Diabetes Mellitus
TCA	Trikloroasetik Asit
K₂S₂O₈	Potasyum persülfat

H_2O_2	Hidrojen Peroksit
H_2SO_4	Sülfürik Asit
%	Yüzde
°C	Derece santigrat
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre



1. GİRİŞ

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) göreceli fazlalığı olarak tanımlanan oksidatif stres, nörodejeneratif hastalık, kardiyovasküler hastalık, Diabetes mellitus ve diğer birçok patolojiyle ilişkilendirilmektedir. Bu ilişkiler, ROS ve antioksidanların arasında bir dengenin kurulması gerektiğini göstermektedir. Hücreler, böyle bir dengeyi sürdürmek için karmaşık biyokimyasal ve genetik mekanizmalara sahiptir ve bozulmalarının derin patofizyolojik sonuçları olmaktadır (Hayes vd., 2020). Kanser, dünya çapında başlıca ölüm nedeni olarak kabul edilen bir hastalıktır. Oksidatif strese bağlı olarak ortaya çıkan serbest radikaller ise kanserin oluşmasının başlıca sebeplerindendir (Sosa vd., 2013). ROS türleri, lipitlere, nükleik asitlere ve proteinlere zarar vererek bunların fonksiyonlarını değiştirebilir. ROS üretimi ile antioksidan savunma arasındaki denge bozulduğunda oksidatif stres durumu oluşur. Oksidatif stres birçok hastalığa yol açar (Xu vd., 2018). Yetersiz veya aşırı besin tüketimi, oksidatif homeostazı bozabilen, bir dizi moleküler yolu aktive edebilen ve çeşitli dokuların metabolik durumunu değiştirebilen oksidatif strese neden olabilmektedir (Saha vd., 2017). Oksidatif stres, normal bir hücrenin tümör hücresine dönüşmesine, tümör hücresinin hayatta kalmasına, çoğalmasına, kemorezistansına, anjiyogenezine yol açan inflamatuvar yolları aktive eder ve oksidatif stresin kronik enflamasyona neden olduğu kanser, kardiyovasküler, nörolojik, pulmoner hastalıklar dahil olmak üzere çoğu kronik hastalığa aracılık ettiği belirlenmiştir (Reuter vd., 2010). Oksidatif stresin nedeni olan serbest radikaller ise bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküller olarak tanımlanmaktadır. Süperoksit anyon radikalleri, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit (H_2O_2) dahil olmak üzere ROS, oldukça aktif oksijensiz radikallerden biridir. Evrim sırasında çoğu canlı organizma enzimatik savunmalara süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), enzimatik olmayan antioksidan savunmalara (glutatyon, tiyoredoksin, C vitamini, E vitamini) sahip olarak gelişmiştir (Mishra vd., 2015). Bununla birlikte, bu doğal antioksidan sistemler genellikle canlı organizmaları oksidatif hasardan korumak için yeterli olmamaktadır. Hücresel substratların oksidasyonunu geciktiren veya önleyen maddeler kullanan antioksidan katkı maddeleri, insan vücudunu oksidatif hasara karşı koruma kapasitesini göstermiştir. Bütillenmiş hidroksianisol ve bütillenmiş hidroksitoluen dahil olmak üzere birçok sentetik antioksidan, lipid oksidasyonunu geciktirmede yaygın olarak kullanılmasına rağmen, karaciğer hasarı ve karsinogenezite

nedeniyle güvenlikleri sorgulanmıştır (Luo ve Fang, 2008). Bu nedenle, son yıllarda sentetik antioksidanların yerine biyolojik kaynaklardan daha güvenli ve doğal antioksidanlar elde etmek yoğun ilgi görmektedir (Liu vd., 2019).

Bu çalışma kapsamında; *Levilactobacillus brevis* KMP1'den izole edilip liyofilize hale getirilen EPS'nin (prebiyotik L-EPS-KMP1), *L. brevis* KMP1'in ürettiği metabolitlerin tamamı olan postbiyotiklerin (postbiyotik KMP1), *L. brevis* KMP1 suşunun (probiyotik KMP1) ve *L. brevis* KMP1'in ısı ile inaktive edilmesiyle oluşturulan hücrelerin (paraprobiyotik KMP1)'in;

- ✓ Canlıların bağırsak mikroflorasında yararlı mikroorganizmalar bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar; bağırsakta zararlı diğer mikroorganizmaların kolonizasyonunu engeller ya da durdurur. Bunun yanı sıra yaşamları boyunca bulundukları ortamda ürettikleri metabolitler ile canlı için farklı sağlık etkileri sağlarlar. Bu nedenle probiyotik bir suş olan *L. brevis* KMP1'in (probiyotik KMP1) antioksidan, DNA hasarına karşı koruma ve antidiyabetik etkilerinin belirlenmesi,
- ✓ Prebiyotiklerin bağırsak mikroflorasında yararlı mikroorganizmaların gelişimlerini sağlamaktadır ve sindirim sistemi boyunca sindirilemezler. Prebiyotiklerin mikroflora olumlu etkilerinin yanı sıra tüketiciye sağlık etkilerinin bulunması gerekmektedir. Bu nedenle yararlı mikroorganizmaların gelişimlerini sağlayan prebiyotik L-EPS-KMP1'in antioksidan, DNA hasarına karşı koruma ve antidiyabetik etkilerinin araştırılması,
- ✓ Yararlı mikroorganizmalar olarak bilinen probiyotikler, bulundukları ortam koşullarına, besin durumuna ve stres faktörüne göre çok farklı metabolitler üretmektedir. Bu ürettikleri metabolitlerin tamamı postbiyotik olarak adlandırılır ve postbiyotikler karışık olarak bulunan birçok metabolit içermektedir. Postbiyotikler yararlı mikroorganizmaların gelişimini ve kolonizasyonuna yardım ederken, konakcının sağlığına da yararlı katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle probiyotik *L. brevis* KMP1'in ürettiği postbiyotik (postbiyotik KMP1) antioksidan, DNA hasarına karşı koruma ve antidiyabetik etkilerin tespit edilmesi,
- ✓ Probiyotiklerin yararlı etkilerini gösterebilmeleri üretim, depolama ve tüketim sürecinde canlılıklarını ve aktivitelerini korumaları gibi birçok koşula bağlıdır. Probiyotiklerin üretiminde yaşanan sorunlar, stabilite sorunları ve saklama

koşullarında yaşanan sıkıntılar bulunmaktadır. Ayrıca gerçek probiyotiklerin sağlıklı bireylerde herhangi bir etkiye sahip olmaması tartışma konusudur. Bu tartışmaları ortadan kaldırmak, maliyeti düşürmek için probiyotikler inaktive edilerek ve çoğalmalarını dururularak paraprobiyotikler kullanılması düşünülmüştür. Paraprobiyotikler tüketildiklerinde probiyotiklerin gelişimini desteklerken aynı zamanda sağlığında olumlu yönde etkileyebilmektedir. Bu nedenle probiyotik *L. brevis* KMP1'in ısı ile inaktivite edilerek elde edilen paraprobiyotiğinin (paraprobiyotik KMP1) antioksidan, DNA hasarına karşı koruma ve antidiyabetik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Probiyotik

Probiyotik mikroorganizmalar genel olarak güvenli kabul edilen (GRAS) ajanlar, kolonun baskın mikroorganizmaları ya da kocanakçı için yararlı mikroorganizmalar olarak bilinirler. Ayrıca herhangi bir önemli yan etkiye neden olmadan bağırsakta kolonizasyon için uygundurlar (Fijan, 2014). Probiyotik mikroorganizmalar, bazı laktik asit bakterileri (LAB), *Bifidobacterium* türleri, mayalar ve bazı spesifik gram-negatif suşlar dahil olmak üzere farklı türleri içermektedir (Foo vd., 2019). LAB, gram-pozitif ve katalaz-negatif mikroorganizmaların çok heterojen bir grubudur. Geleneksel LAB, ağırlıklı olarak *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* olmak üzere farklı cinslerden oluşur (Zheng vd., 2020). *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. en belirgin probiyotik bakteriler olarak bilinmektedir. Probiyotik LAB suşları, özellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsinin çeşitli sağlığı geliştirici etkileri bildirilmiştir (Williams, 2010). Son zamanlarda insanlar ile hayvanlarda besleyici ve fonksiyonel faydaları nedeniyle, gıda ve yemlerde probiyotik LAB uygulaması artmıştır. Bununla birlikte, endüstriyel işleme sırasında ve gastrointestinal (GI) sistemdeki probiyotik LAB, strese neden olan yüksek veya düşük sıcaklık, düşük pH, safra tuzları, oksijen veya sınırlı beslenme gibi olumsuz ortamlara maruz kalır ve hayatta kalarak kolonize olabilirler (Mills vd., 2011; Rajoka vd., 2019; Wang ve Li, 2022). Bu stres etkenleri, işleme sırasında LAB'ın hayatta kalmasını ve depolama sırasında raf ömrünü ve ayrıca GI sistemde hayatta kalma, çoğalma ve işlevselliğini etkilemektedir. Nihai üründe yeterli sayıda canlı bakteri ve konakçıda sağlığı geliştirici etkili aktiviteyi göstermek için, yüksek canlılık, işlevsellik ve yüksek stres direnci sergileyen suşların izole edilmesi gerekmektedir (Bron ve Kleerebezem, 2011).

Probiyotik bir mikroorganizma için tercihen insan kaynaklı olmalı, GRAS statüsüne sahip olmalı ve GI sistem yolu boyunca hayatta kalabilmelidir (Fijan, 2014). Suşların insan bağırsak hücrelerine tutunması da faydalı bir özellik olarak kabul edilmektedir. Probiyotik suşlar ayrıca arzu edilen antibiyotik direncine ve duyarlılık modelleri göstermesi, potansiyel olarak patojenik mikroorganizmalara karşı antagonistik aktivite ve konağın refahı için faydalı metabolik aktivitelere sahip olması tercih edilmektedir (de Melo Pereira vd., 2018). Asit toleransı ve insan mide suyuna tolerans, safra

toleransı (ince bağırsakta hayatta kalmak için önemli bir özellik), epitelyal yüzeylere tutunma ve insan GI yolunda kalıcılık, immunostimülasyon (de Melo Pereira vd., 2018; Saarela vd., 2000), *Helicobacter pylori*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium difficile* gibi patojenlere karşı antagonistik aktivite probiyotik türlerin belirlenmesinde kullanılan seçim kriterleri olarak belirlenmiştir (Hütt vd., 2006). Ayrıca antimutajenik ve antikarsinojenik özelliklere sahip probiyotikler bildirilmiştir (Saarela vd., 2000). Diyet takviyesi olarak amaçlanan bir mikrobiyal suş, doğal olarak iyi özelliklere de sahip olmasıda probiyotik seçiminde önemli özellikler arasında yer almaktadır (Varzakas vd., 2018). Ayrıca LAB'ın insan ve hayvan sağlığı için potansiyel faydaları arasında bağışıklık sisteminin uyarılması, bağırsak florasının dengelenmesi ve serum kolesterolünün düşürülmeside bulunmaktadır (de Melo Pereira vd., 2018)

Levilactobacillus brevis lahana turşusu, ekşi hamur, silaj, inek gübresi ile insan ve sıçanların dışkı, ağız ve bağırsaklarından izole edilen heterofermentatif gram-pozitif bakteridir (Rönkä vd., 2003). *Lactobacillus* cinsinin bir üyesi olarak ve çeşitli geleneksel fermente gıda ürünlerinde uzun süreli kullanımı nedeniyle *L. brevis*, GRAS statüsüne sahiptir. *L. brevis*'in potansiyel probiyotik suşu O'sullivan vd. (1992) ve Collins vd., (1998) araştırmacıları tarafından rapor edilmiştir. *L. brevis*'in antiinflamatuvar etkileri ve antimikrobiyal etkiye sahip olduğu da yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir (Rushdy ve Gomaa, 2013; Tewari ve Sharma, 2020). Son zamanlarda *L. brevis* ile yapılan çalışmalarda antioksidan, antidiyabetik özelliklerinin bulunduğu ayrıca bu özelliklerinin ürettikleri metabolitlerden de geldiği hücresiz süpernatant ve öldürülmüş hücreler ile yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Jang vd., 2019; Kumari vd., 2023; Yang vd., 2020).

Probiyotikler, metabolitler, hücre duvarı bileşenleri ve DNA gibi ürünlerle bağışıklık sistemini etkileyebilir. Bağışıklık düzenleyici etkileri, ölü probiyotik bakterilerle (paraprobiyotik), sadece peptidoglikan fragmanları veya DNA gibi probiyotiklerden türetilen bileşenlerle bile elde edilebilir LAB'ların insan ve hayvanlarda etki mekanizmaları farklı olmaktadır. Bunun başlıca sebepleri mikroorganizmanın çeşidine göre ürettikleri metabolitlerin farklılıkları, metabolitler değişimlerinin ve konfigürasyonlarının farklılığından kaynaklandığı bildirilmiştir (Oelschlaeger, 2010).

2.1.1 Probiyotiklerin antioksidan etkileri

Antioksidanlar, oksidatif stresin etkilerini azaltarak ya da durdurarak, DNA mutasyonlarını, kanserin ve hücre hasarı sonucu oluşan hasara karşı koruma sağlayan biyolojik ajanlardır (Pisoschi ve Pop, 2015). Probiyotik türlerinin antioksidan aktivitesinin olduğu bilinmektedir (Li vd., 2017). Fakat probiyotik türlerinin antioksidan aktivitesinin altında yatan mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, LAB'ın ROS'u temizleyerek, metalleri şelatlamayla, antioksidan enzim seviyelerini artırarak ve mikrobiyotayı modüle ederek antioksidan roller oynayabildiği bildirilmiştir (Mishra vd., 2015; Wang vd., 2017). Probiyotik LAB'ların antioksidanlarının önerilen etki biçimleri; serbest radikallerin temizlenmesi, metal iyon şelasyonu, enzim regülasyonu ve bağırsak mikrobiyotasının modülasyonu yoluyla olabilmektedir.

Serbest radikal süpürme yetenekleri; ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS) esas olarak bakteriyel veya konakçı hücre metabolizmasını bozan stres koşullarına maruz kalındığında üretilir. Çoğu LAB, gıda fermantasyonu sırasında radikal birikme riskini ve bu tür serbest radikallerin konakçı organizmaya verdiği zararı azaltan O_2 serbest radikallerini temizleyen sistemlere sahiptir. Birçok probiyotik LAB suşu ve metabolitleri, *in vitro* olarak DPPH, O_2^- ve H_2O_2 'ye karşı yüksek süpürme yeteneği sergilemektedir (Li vd., 2014). Bu süpürme faaliyetlerinin genellikle artan bakteri hücre yoğunluğuna paralel olarak arttığı bildirilmiştir (Wang vd., 2009). Yapılan bir çalışmada, belirli suşların kültür süpernatantının bozulmamış hücrelere göre önemli ölçüde daha yüksek serbest radikal temizleme aktivitesi sergilediği belirlenmiştir (Shen vd., 2011). Başka bir çalışmada ise bozulmamış hücrelerin, süpernatanttan daha yüksek süpürme aktivitesi gösterdiği ve bu farkında muhtemelen probiyotik LAB türleri arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmüştür (Feng ve Wang, 2020).

Metal iyon şelasyon aktivitesi; antioksidatif enzimlerin üretimine ek olarak, mikroorganizmalar, metal iyonlarının şelatlamasına dayanan, enzimatik olmayan bir oksidatif stres savunma mekanizmasına sahiptir (Feng ve Wang, 2020). Fe^{2+} ve Cu^{2+} , serbest radikal oluşumunda üretilen en yaygın ve aktif iyonlardır. Fe^{2+} , Fenton reaksiyonu yoluyla $HO\cdot$ üretebilir ve kromatinden salınan Cu^{2+} da $HO\cdot$ oluşumunu katalize edebilir (Chen vd., 2019). Pek çok probiyotik LAB suşlarının hem Fe^{2+} hem de Cu^{2+} için güçlü şelatlama kabiliyetine sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca, LAB

suşları geniş bir demir (Fe^{2+}) ve bakır (Cu^+) şelatlama kabiliyeti sergiler, bu da şelasyon kapasitesinin suşa özgü olduğunu göstermiştir (Feng ve Wang, 2020).

Antioksidan enzim üretimleri; LAB'ın kendi antioksidan enzimatik sistemleri ile antioksidan enzim üretimi sağlamaktadır. Çoğu LAB'lar, serbest radikalleri O_2 ve H_2O_2 'ye dönüştüren antioksidan enzimler üreterek serbest radikalleri temizleyebilir (Zhang vd., 2021). LAB'lar tarafından üretilen antioksidan enzimler, konakçıda serbest radikal birikimini önlemeye yardımcı olabilir. Ayrıca, yüksek seviyelerde süperoksit dismutaz (SOD) veya katalaz (CAT) ifade eden LAB suşları, geleneksel gıda uygulamalarında ve yeni terapötik ajanlar olarak kullanılmaktadır. LAB'lar tarafından üretilen antioksidan enzimler, konakçıda serbest radikal birikimini önlemeye yardımcı olabilmektedir. (Feng ve Wang, 2020).

Bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesi; bağırsakta patojenlerin aşırı çoğalması ile birlikte bağırsak epitelyumu yüksek seviyelerde ROS üretilip salıvererek önemli oksidatif strese neden olmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının redoks sinyalini düzenleyebildiği ve konakçıda redoks homeostazını etkileyebildiği gösterilmiştir (Jones ve Neish, 2017). LAB takviyesi bağırsak mikrobiyotasını düzenleyebilir ve LAB'ın antioksidatif etkilerini kısmen konakçı bağırsak mikrobiyota bileşiminin yeniden yapılandırılması yoluyla aktivite göstermektedir. Bağırsak mikrobiyotasının diyet değişikliği, oksidatif stresle güçlü bir şekilde bağlantılıdır; lipoik asit ile tedavi edilen yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde, azalan ROS ve artan toplam antioksidan kapasite, laktobasil ile güçlü bir pozitif ilişki, *E. coli* ve enterokoklar ile negatif bir korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Wang vd., 2018). Bağırsak mikrobiyotasının LAB bakterileri tarafından modülasyonunun, konak redoks durumunu iyileştirme potansiyeline ve antioksidan aktiviteye sahip olduklarını göstermektedir (Feng ve Wang, 2020).

2.1.2 Probiyotiklerin antidiyabetik etkileri

Diyabet ciddi bir metabolik hastalık olarak kabul edilmiştir ve yetersiz insülin üretimi (tip 1) veya insülin direncinden (tip 2) kaynaklanır. Alfa-glukosidaz, karbonhidratların parçalanmasında rol oynayan bir enzimdir ve aktivitesinin inhibisyonu, glikoz emiliminde ve kan glikoz düzeylerinde azalmaya katkıda bulunduğu için Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ile ilişkilidir (Chen vd., 2014). Kişiselleştirilmiş beslenme

ve probiyotik yaklaşımlarındaki gelecekteki gelişmeler, ayrıca terapötik probiyotik bileşenlerin tanınması ve mikrobiyotadaki terapötik faktörleri ifade eden genetiği değiştirilmiş bakterilerin kullanımı, glikoz seviyelerini düşürmek için bazı potansiyel GI temelli stratejilerdir (Namai vd., 2020; Sanders vd., 2019).

T2D, esas olarak insülin direncine bağlı kronik hiperglisemi ve pankreatik beta hücre disfonksiyonunun neden olduğu yetersiz insülin sekresyonu ile karakterize edilen karmaşık, çok faktörlü bir metabolik hastalıktır (Takeda vd., 2012). T2D, insan yaşamı ve sağlığı için büyük bir risk oluşturan, dünya çapında önemli, ciddi bir hastalık haline gelmiştir. Bağırsak mikrobiyotasının T2DM patofizyolojisinde çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. İnsan vücudunun önemli bir organı olarak kabul edilen bağırsak mikrobiyotası, bağırsak, karaciğer, pankreas ve beyin konak-mikrobiyota etkileşimli metabolizma, sinyalleşme ve endokrin eksenler aracılığıyla fizyolojik olarak birbirine bağlanmıştır (Lee vd., 2018).

Hiperglisemiye azaltmak için farmasötik müdahalenin birincil ve en umut verici hedefleri, α -glukosidaz ve α -amilaz gibi enzimlerdir (Kumar vd., 2021). Kompleks oligo/disakkaritler, α -amilaz ve α -glukosidaz gibi çeşitli enzimler tarafından parçalanır ve daha sonra bağırsakta emilen monosakarite dönüştürülür (Han ve Lin, 2014). Bağırsakta bulunan LAB'nin diyabet semptomlarını önemli ölçüde etkilediği ve glikoz seviyesinin düşürülmesini sağladığı bildirilmiştir (Li vd., 2017; Ramu vd., 2022; Yadav vd., 2018).

L. plantarum ve *L. brevis* ile yapılan bir çalışmada; α -glukosidaz inhibe edici aktivite gösterdiğini ve bunun da onları potansiyel antidiyabetik probiyotikler haline getirdiği bildirilmiştir (Zeng vd., 2016). LAB'ların antidiyabetik etkileri ürettikleri metabolitlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Son vd., (2017) yaptıkları çalışmada hücre süpernatantın antidiyabetik aktivitesi olduğunu göstermişlerdir.

Diyabet, yetersiz (veya göreceli) sistemik endokrin insüline bağlı en yaygın kronik hastalıklardan biri olarak bildirilmektedir (Ogurtsova vd., 2017). LAB'lar, GRAS bakteri kategorisine girer ve yaygın olarak kullanılan bir tür probiyotik türüdür (Gibson vd., 2017). Çalışmalar, LAB'ın bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek, insülin direncini azaltarak, oksidatif stresi hafifleterek, insülin sekresyonunu iyileştirerek ve β -hücrelerini koruyarak diyabeti hafifletebileceğini göstermiştir (Niibo

vd., 2019; Yan vd., 2019; Zeng vd., 2019). Birçok LAB suşunun, α -amilaz, α -glukosidaz ve dipeptidil peptidaz 4 inhibisyonu gibi *in vitro* potansiyel hipoglisemik yeteneklere sahip olduğu kanıtlanmıştır (Obaroakpo vd., 2019; Ragul vd., 2020; Yan vd., 2020). ROS'ların glikoz metabolizması bozuklukları ile ilişkili olduğunun ve oksidatif stresin T2D'ye yol açan önemli bir faktör olduğu belirtilmiştir (Umeno vd., 2016).

LAB'ların antioksidan aktivitesi, diyabetin hafifletilmesi için önemli aktivitelerden biri olarak görülmektedir. LAB, T2D tedavisinde büyük bir potansiyele sahiptir, ancak iyi genetik stabiliteye ve mükemmel fonksiyonlara sahip suşların hala çok sınırlı olduğu belirtilmiştir (Wang ve Li, 2022). *Lactobacillus acidophilus*'un insan insülin duyarlılığını iyileştirdiği gösterilmiştir (Andreasen vd., 2010); *L. acidophilus* La5 ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* Bb12, klinik çalışmalarda açlık kan şekerini önemli ölçüde azaltmış ve antioksidan aktiviteleri artırdığı belirlenmiştir (Ejtahed vd., 2012). Çok sayıda çalışma, probiyotiklerin diyabet yönetiminde kritik rolünü doğrulamış olsa da spesifik düzenleyici mekanizmalar henüz açıklığa kavuşturulmamıştır. Arica probiyotiklerdeki düzenleyici aktivitenin türe bağlı olduğu ve farklı mekanizmalarla çalıştığı belirtilmiştir. Bu nedenle, T2DM için daha spesifik probiyotik suşları ve verimli doğrulama süreçlerine ihtiyaç duyulmaktadır (Zeng vd., 2019).

2.2 Prebiyotik

Prebiyotikler, konak mikroorganizmaları tarafından seçici olarak kullanılan ve metabolik sağlık, gastrointestinal sistem, kemik sağlığı ve ruh sağlığı için fayda sağlayan substratlar olarak tanımlanmaktadır. Bazı diyet lifleri, özellikle dirençli oligosakkaritler (inülin, fruktooligosakkaritler ve galaktooligosakkaritler), literatürde prebiyotikler olarak bildirilmektedir. Ayrıca, son zamanlarda bakterilerden elde edilen EPS'lerin de prebiyotik olarak kullanılabildikleri bildirilmiştir (Panesar vd., 2013).

Laktoz, galaktooligosakkaritler, inülin, fruktooligosakkaritler ve gıdalarda bulunan sindirilemeyen bazı oligosakkaritler prebiyotik olarak değerlendirilmektedir. Bir diyet substratının prebiyotik olarak sınıflandırılması için en az üç kriterin gerekli olduğu bildirilmiştir (Davani-Davari vd. 2019). Bu kriterler; (i) midenin asidik pH'ına dirençli olmalı, memeli enzimleri tarafından hidrolize edilemez ve ayrıca gastrointestinal

sistemde (GIT) emilmemelidir, (ii) bağırsak mikrobiyotası tarafından fermente edilebilir ve (iii) bağırsak bakterilerinin büyümesi ve / veya aktivitesi bu bileşik tarafından seçici olarak uyarılabilir ve bu işlem konakçının sağlığını iyileştirir (Davani-Davari vd. 2019).

Prebiyotikler, polisakkarit olarak da adlandırılan ve genellikle doğrusal veya dallı zincirlerdeki glikozidik bağlar yoluyla 10'dan fazla monosakarıttan oluşan, moleküler ağırlığı on binlerce hatta milyonlarca olan bir tür doğal makromoleküler polimerdir (Xie vd., 2016). Bitkilerde, mikroorganizmalarda, alglerde ve hayvanlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Prebiyotikler hücre-hücre iletişimde, hücre adezyonu ile bağışıklık sisteminde moleküler tanımda önemli roller oynamaktadır (Yu vd., 2018). Bitki, hayvan, mantar, deniz yosunu gibi doğal kaynaklardan izole edilen polisakkaritler, antitümör, immünomodülasyon, antioksidasyon ve anti-inflamatuar etkiler gibi çok çeşitli farmakolojik aktiviteleri nedeniyle ilgi çekmektedir (Cho vd., 2015; Xie vd., 2010; Yu vd., 2018).

2.2.1 Ekzopolisakkaritler

Ekzopolisakkaritler (EPS), genellikle hücre duvarı dışına salgılanan, doğal ekolojik çevrelerde normal metabolik süreçleri sırasında çok çeşitli mikroorganizmalar (bakteri, küf ve mavi-yeşil alg) tarafından üretilen yüksek moleküler ağırlıklı ekstraselüler polimerlerdir (Badel vd., 2011). EPS üreten mikroorganizmalar arasında LAB çok eski çağlardan beri insanlar tarafından tüketildiği için GRAS olarak değerlendirilmektedir. EPS'ler, süt endüstrisinde kolay uygulanabilen reolojik (koyulaştırıcı, emülsifiye edici ajan ve tekstür geliştirici) malzeme olarak ve fiziksel eşsiz özelliklerinden dolayı LAB'lardan elde edilen en önemli biyomakromoleküllerden biri olarak bildirilmiştir (Nordmark vd., 2005; Li vd., 2014). Bakteriler EPS'leri koruma, yapışma, biyofilm oluşumu dahil olmak üzere çeşitli amaçlar için besin kaynağı olarak üretmektedir. EPS'nin otoagregasyona ve hücre yüzeyi yapışmasına katkıda bulunduğu, böylece konakçıların bağırsaklarında probiyotiklerin kolonizasyonunu sağladığı bildirilmiştir (Kanmani vd., 2018). Bazı bakteriler, kapsüler polisakkaritler olarak adlandırılan mikroorganizmanın hücre duvarına bağlı bir kapsül oluştururken; bazıları ise kültür ortamına salınarak mukopolisakkaritler adı verilen mukus oluşturur. EPS salgılanan polisakkaritlerden iki tipi ifade eden genel bir terimdir. Bunlardan birincisi bakteri hücre yüzeyine bağlı olan

kapsüller ekzopolisakkarit (c-EPS), diğeri ise bulunduğı ortama salınan serbest ekzopolisakkarittir (r-EPS) (Yang vd., 2010). Bugüne kadar bildirilen EPS üreten LAB tipi r-EPS'dir, ancak bazılarının r-EPS ve c-EPS'yi birlikte üretebildikleri de görölmüştür. EPS'ler bileşimlerine göre tek tip monosakkaritlerden oluşan homopolisakkaritler (HoPS) ve farklı tip monosakkaritlerden oluşan heteropolisakkaritler (HePS) olmak üzere iki temel sınıfa ayrılmaktadır. HePS'lerin farklı oranlarda glikoz, galaktoz ve ramnoz dahil olmak üzere farklı monosakkaritlerin tekrar eden birimlerini içerdiği bildirilmiştir (Hussain vd., 2017). HePS'lerin yapısında nadiren N-asetil-D-glukozamin ve N-asetil-D-galaktozamin, üronik asit, piruvat, asetat, fosfat ve süksinat gibi bazı karbonhidrat olmayan şeker monomerleri bulunmuştur (Xu vd., 2019). LAB'ların EPS'lerinin omurgası yedi monosakkarittin (glikoz, galaktoz, ramnoz, mannoz ve şeker kalıntıları) tekrarlanan birimlerinden oluşabilmektedir. EPS moleküllerinin yapısal özellikleri onun teknolojik uygulamalarını ve biyolojik aktivitelerini belirlemektedir. Bu nedenle, yeni bir EPS'nin yapısı ve kimyasal bileşiminin aydınlatılması potansiyel uygulama alanının belirlenmesinde önemli olmaktadır (Deepak vd., 2016).

2.2.1.1 Ekzopolisakkaritlerin kullanım alanları ve sağlık üzerine etkileri

EPS'lerin en yaygın kullanım alanlarından biri fermente gıdalarda doğal olarak sentezlenen EPS'nin gıdalarda kıvam artırıcı ajan olarak kullanılmasıdır. Modern tüketicilerin, gıda katkısı olmayan sağlıklı ve güvenli gıdalara olan talebinin artması, biyopolimer olan EPS için yeni perspektiflerin geliştirilmesine yol açmıştır (Badel vd., 2011). LAB'lardan elde edilen EPS'ler, sadece gıda üretiminde fonksiyonel katkı olarak değil, aynı zamanda biyolojik aktivitelerinden dolayı farmakoloji endüstrisi için de önemli bir potansiyele sahiptir (Xu vd., 2019).

LAB'lar tarafından üretilen EPS'lerin antitümör (Wang vd., 2014), immünomodülasyon (Xu vd., 2019a), antioksidan (Xu vd. 2019b), antibiyofilm (Kanmani vd., 2013) ve antidiyabetik (Son vd., 2017) gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonlara sahip olduğu belirlenmiştir. Genel olarak, bu işlevlerin EPS'lerin kimyasal bileşimleri ve konfigürasyonları ile yakından ilgili olduğu bildirilmiştir (Xu vd., 2019a).

Bakterilerin özellikle hücre duvarındaki EPS'ler nedeniyle antioksidan etkileri olduğu; CAT, GPx, SOD gibi antioksidan enzimleri; glutatyon, tokoferol ve askorbik asit gibi çeşitli antioksidan bileşikler bulundurduğu bildirilmiştir (Yang vd., 2020). Piyasada kullanılan antioksidanların çoğunun sentetik olmasından dolayı kanserojenite ile karaciğer hasarına neden olduğundan şüphelenilmektedir (Wang vd., 2009). Bu nedenle sentetik antioksidanlara karşı mikrobiyal EPS'lerin kullanılması ve araştırılması son zamanlarda artmıştır. EPS'ler gibi toksik olmayan, biyolojik olarak parçalanabilen ve uyumlu doğal moleküllerin olması mevcut antioksidan sınırlamalarını kaldırabileceği düşünülmektedir.

Kanserin gelişimi ile hücrede önemli değişiklikler meydana gelmektedir ve bu değişikliklere ROS'lar neden olmaktadır. Serbest oksijen radikallerine; süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikali ($\bullet OH$), nitrik oksit ($NO^{\bullet}$), organik radikaller ($R^{\bullet}$), peroksil radikalleri ($ROO^{\bullet}$), alkoksil radikalleri ($RO^{\bullet}$), tiyil radikalleri ($RS^{\bullet}$), sülfonil radikalleri ($ROS^{\bullet}$) gibi örnekler sayılabilir (Sies ve Jones, 2020). Serbet oksijen radikallerinin aşırı üretimi, hücre içi ve dışı yapılara ayrıca moleküler yapılara zarar verecek şekilde değişiklikler meydana getirir. Hücrenel veya moleküler değişikliklerde ilerleyen aşamalarda kanser gibi hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır (Sardar vd., 2018).

Ekzopolisakkaritlerin serbest radikal temizlemesi hidrojen verme yeteneği, DPPH radikalini kararlı radikallere indirgemeyi içermektedir. EPS'nin etkileşimli bölgesi, antioksidan aktiviteyi etkileyen fonksiyonel gruplardan (OH , $COOH$, C_2H_3O , SO_2) oluşmaktadır. EPS'ler, metal iyonlarının oksidasyon durumunu azaltmanın yanı sıra şelatlama yeteneğine de sahiptir (Sardar vd., 2018). Bu özellik, hücrenel oksidasyonun ana nedenlerinden biri olan ağır metal iyonu aracılı hücre toksisitesinde faydalı bir şekilde kullanımını sağlamaktadır. *Streptococcus thermophilus*'dan elde edilen EPS'nin DPPH radikal temizleme deneylerinde başarılı sonuçlar gösterdiği; antioksidan aktivite ile düşük derişimlerde iyi emülsifiye etme ve floküle etme kapasitesi de belirlenmiştir (Lobo vd., 2019). Anne sütünden izole edilen *L. rhamnosus* (Wang vd., 2018; Tukenmez vd., 2019), turşu izolatu *L. fermentum* (Wang vd., 2019) ve *L. brevis* (Tukenmez vd., 2019) türlerinden elde edilen EPS'lerin karakterizasyonu ve antitümör aktivitesi üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Gamallat vd., (2016) yaptıkları çalışmada *L. rhamnosus* LGG probiyotik suşunun kolon kanserojenite

karşı potansiyel koruma etkisinin olduğunu, apoptozu indüklediği ve inflamasyonun iyileşmesini sağladığı için biyoterapötik diyet ajanı olarak kullanılabileceğini önermişlerdir. *L. fermentum* ve *L. acidophilus* suşlarının kolon kanseri üzerinde antikanser aktivitesinin (Kahouli vd., 2017), *L. rhamnosus* suşunun kolon kanserli farelere modellerinde antitümör aktivitesi gösterdikleri belirlenmiştir (Hu vd., 2015).

Ekzopolisakkaritlerin kolesterol düşürücü özelliği ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır. *L. paracasei* M7 tarafından üretilen EPS, optimum doz olan %0,1 EPS ile kolesterol düzeyinin (25°C'de 20 dakika boyunca 30 µg) *in vitro* %70,78'e düşüğünü bildirmiştir (Bhat ve Bajaj, 2019). *L. plantarum* RJF4'ten türetilen EPS'nin kolesterolü %42,24'e düşürdüğü gösterilmiştir (Dilna vd., 2015). Fermente süt ürünü kalarei'den izole edilen yeni bir probiyotik suş olan *E. faecium* F1'in EPS'si, fonksiyonel gıdalara dahil edilirse, yükseltilmiş kolesterol seviyesini düşürmede yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir (Bhat ve Bajaj, 2019).

Diabetes mellitus, çoklu organ disfonksiyonu ile sonuçlanan anormal glikoz metabolizmasına bağlı olarak artmış kan glikoz düzeyi ile karakterize edilen metabolik bir hastalıktır (Xie vd., 2008). İnsan vücudundaki en temel biyokimyasal reaksiyon karbonhidrat metabolizmasıdır, çünkü karbonhidrat metabolizmasındaki herhangi bir değişiklik T2DM gibi metabolik bozukluklarla sonuçlanacaktır. Akarboz, vogliboz ve miglitol gibi anti-diyabetik ilaçlar karın şişkinliğine, bağırsak bozulmasına ve ishale neden olduğu için gastrointestinal rahatsızlıkları olan hastalara önerilmemektedir (Wang vd., 2016). *L. plantarum* H31'den elde edilen HeP'ler, *in vitro* koşullarda insülin dirençli HepG2 hücre hattında α -amilaz'ı azalttığı ve GLUT-4 (insülinle düzenlenen glikoz taşıyıcı tip-4), AKT-2 ve AMPK'nin gen ekspresyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Bu araştırma, EPS'nin hiperglisemiye tedavi etmek için kullanılabileceğini, ancak kan glikoz seviyesindeki düşüşü değerlendirmek için *in vivo* çalışmaların gerekli olduğunu göstermiştir (Huang vd., 2020).

2.3 Postbiyotikler

Postbiyotikler; karmaşık mikrobiyolojik kültür, gıda, bağırsakta büyüme veya fermentasyon sırasında gıda sınıfı mikroorganizmalar tarafından salınan çözünür metabolitler olarak tanımlanabilir (Aguilar-Toalá vd., 2018; Homayouni Rad vd., 2021). Bu metabolitler probiyotik mikroorganizmalar tarafından fermentasyon

sürecinde; bakterilerin üreme fazlarında dış ortama salgılanan vitaminler, bakteriyosinler, organik asitler, enzimler, kısa zincirli yağ asitleri (SCFA'lar), H₂O₂, peptidler, teikoik asitler, peptidoglikan türevli nöropeptitler, endo- ekzopolisakkaritler ve hücre yüzey proteinleri gibi bakteriyel parçalanmadan sonra üretilen çözünür faktörleri (ürünler veya metabolik yan ürünler) ifade eder (De la Rosa vd., 2019; Hernández-Granados ve Franco-Robles, 2020; Nataraj vd., 2020; Neha vd., 2019; Rad vd., 2020). Fakat hala postbiyotiklerin tanımı konusunda bir fikir birliği yoktur, ancak çoğu çalışmada bunların konakçıya probiyotiklerin sağladığı etkilere benzer bir fizyolojik fayda sağlamaları gerektiğini düşünülmektedir (Malagón-Rojas vd., 2020; Teame vd., 2020; Tomasik ve Tomasik, 2020). Probiyotik kültürleri doğrudan gıda üzerinde kullanmanın temel zorluğu, bunların gıdada büyümelerini, hayatta kalmalarını engelleyen farklı matrisler ve ortamlarla uyumsuzluklarından kaynaklanmaktadır. Alternatif olarak, postbiyotik kullanımı birincil ve ikincil başlatıcılar ile gıda arasındaki olumsuz etkileşimleri önleyebilir. Bu nedenle, canlı mikroorganizma yerine bu mikroorganizmalardan elde edilen postbiyotiklerin kullanılması, geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivitelerinden, organik asitler ve diğer metabolitler arasındaki sinerjistik etkilerinden dolayı postbiyotik karışımını kullanılması avantajlı olabilmektedir (Moradi vd., 2020). Bununla birlikte, probiyotik ve probiyotik olmayan bakteriler tarafından üretilen metabolitlerin geniş biyoaktivitesi nedeniyle, postbiyotiklerin kullanılabileceği alanlar daha fazla olmaktadır. Bu metabolitlerin elde edilmesi genel olarak, probiyotik yetenekleri için gıda ürünlerine veya takviyelerine eklenen en yaygın mikroorganizmalar arasında bulunan laktik asit bakterilerinden sağlanmaktadır. Laktik asit bakterileri (LAB), fermente gıdalarla birlikte uzun süreli tüketim geçmişleri nedeniyle gıdalar için güvenli, aktif ve fonksiyonel bileşenler olarak kabul edilmektedir (Rajilić-Stojanović ve De Vos, 2014). LAB'lerin birçoğu diğer mikroorganizmaların büyümesini engelleyebilen çeşitli antimikrobiyal maddeler üretme yeteneğine sahiptir. Bu antimikrobiyal maddeler, moleküler ağırlıklarına göre, düşük moleküler ağırlığa sahip olanlar (H₂O₂, organik asitler, asetoin, asetaldehit, vb.) ve yüksek moleküler ağırlığa sahip olanlar (bakteriyosinler) olmak üzere geniş bir şekilde sınıflandırılabilir (Šuškovć vd., 2010). Ayrıca LAB'ın amino asitleri, gıda güvenliği ve kalitesi açısından öneme sahiptir, bu nedenle bakteriyosin olarak kabul edilen nisin günümüzde endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır (de Arauz vd., 2009). LAB'ın kültür/gıda bileşenleri üzerindeki etkisiyle üretilen yan ürünler veya maddeler (örneğin biyoaktif peptitler) karmaşık

mikrobiyolojik kültürlerde, gıda içerisinde, bağırsakta büyüme ve fermantasyon sırasında hücre parçalanmasından sonra salınmaktadır (Cuevas-González vd., 2020b; Wegh vd., 2019; Żółkiewicz vd., 2020). Bu yan ürünler tüketiciye çeşitli biyolojik sağlık etkileri sağlamaktadır (de la Rosa vd., 2019; Neha vd., 2019; Rad vd., 2020). Postbiyotikler, net kimyasal yapıları, güvenli doz parametreleri, uzun raf ömürleri, antiinflamatuvar, immünomodülatör, antidiyabetik, antihipertansif, hipokolesterolemik, antiproliferatif ve antioksidan aktivitelere sahip olabilecek çeşitli sinyal molekül içeriği barındırmaktadır (Aguilar-Toalá vd., 2018; Homayouni Rad vd., 2021). Postbiyotiklerin içerisinde bulunan sinyal molekülleri ve antimikrobiyal maddelerin miktar/bileşimleri LAB'ın üretimi sırasında birçok faktöre göre değişmektedir. Bunlar arasında kültür türü, kültür bileşimi ve inkübasyon koşulları kimyasal bileşimini etkileyen faktörler olarak bilinmektedir (Foo vd., 2019). LAB tarafından organik asit üretimi esas olarak cinse özgü bir olgudur ve kısmen türe özgüdür (Thierry vd., 2015). Örneğin, *Lactobacillus* türleri ve *Bifidobacterium* türleri tarafından üretilen laktik asit miktarı, asetik asit üretiminden önemli ölçüde yüksektir. Postbiyotiklerin laktik ve asetik asit içerikleri ile antimikrobiyal özellikler arasında güçlü pozitif ve negatif korelasyonlar bulunmuştur (Tejero-Sariñena vd., 2012).

Postbiyotikler sadece bakteri üremesi sırasında ortama salgılanan ürünler veya metabolik yan ürünler gibi çözünür faktörleri içermektedir (Żółkiewicz vd., 2020). Bununla birlikte, bazı çalışmalarda, üreme sonrasında, bakteri hücreleri enzimler, termal, sonikasyon ve yüksek basınç işlemleri veya bunların bir kombinasyonu ile parçalanması sonucunda postbiyotik karışımına bazı ek hücre içi metabolitleri ve hücre duvarı türevli materyallerin eklenmesiyle elde edilen postbiyotiklere yeni işlevsellik kazandırıldığını bildirmişlerdir (Cuevas-González vd., 2020a; González-González vd., 2020; Hernández-Granados ve Franco-Robles, 2020).

2.3.1 Postbiyotiklerin antioksidan özellikleri

Postbiyotikler karmaşık halde bulunan kültür ortamından elde edilen ve çeşitli metabolitlerden oluşmaktadır. Postbiyotikler, çoğu kısa zincirli yağ asitleri (SCFA), EPS'ler, enzimler ve vitaminler gibi mikroorganizmalar tarafından salgılanan çok sayıda bileşiklerin yanı sıra mikrobiyal hücre duvarlarının bileşenleri ve bakteri kültürleri gibi hücre yapılarını içeren kimyasalları da içermektedir (Inturri vd., 2017). Bu kimyasal bileşenler postbiyotiklere anti-inflamatuvar, immünomodülatör, anti-

obezite ve kolesterol düşürücü etkileri kazandırdıkları bildirilmiştir (Sanna vd., 2019). Ayrıca bağırsakta bulunan mikroorganizmalar tarafından üretilen postbiyotik metabolitler, bağırsak mikrobiyotasının düzensizliğini dengelemek ve mikrobiyota tarafından üretilenden bağımsız olarak sağlıklı bir dengeyi yeniden sağlamak için doğrudan etki ettikleri bildirilmiştir (Puccetti vd., 2020; Wegh vd., 2019). Ayrıca yapılan çalışmalar ile postbiyotiklerin antioksidan aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir (Blazheva vd., 2022; İncili vd., 2022; Kang vd., 2021; Rossoni vd., 2020). Bu nedenle yeni yapılan çalışmalarda postbiyotiklerin antioksidan etkilerini anlamaya ve probiyotiklerin yerine kullanılıp kullanılmayacağı araştırılmaktadır. Postbiyotiklerin yani; hücre dışı ekstraktlar (süpernatant), hücre içi ekstraktları, metabolitleri ve hücre duvarı bileşenlerinin hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda antioksidan aktivite gösterdikleri saptanmıştır (Mishra vd., 2015; Nowak vd., 2019). Postbiyotiklerin karmaşık bir kültür ortamında bulunmaları ve yeni bir konu olması nedeniyle literatürde hala antioksidan etkileri araştırma konusudur (İncili vd., 2022).

2.3.2 Postbiyotiklerin antidiyabetik özellikleri

Artmış oksidatif stres koşullarında, hücre hasarı, antioksidan enzimlerin bozulmuş ekspresyonu göz önüne alındığında, reaktif oksijen ve nitrojen türlerine karşı son derece duyarlı olan pankreatik β -hücre fonksiyonunu etkileyebilir (Eddouaouda vd., 2012). ROS'lar, insülin hücre içi sinyallemede yer alan substratlarla etkileşime girebilir. Esas olarak yüksek glikoz miktarlarından kaynaklanan hücreler üzerindeki yüksek enerji yüklemesi, mitokondriyal elektron taşıma zincirindeki indirgenmiş koenzimlerin (NADH ve FADH₂) akışını artırır. Mitokondriyal zar boyunca voltaj gradyanı, kompleks III'ü bloke eden kritik bir eşiğe ulaştığında, elektronlar tarafından koenzim Q indirgemesini sağlar. CoQH₂ daha sonra moleküler oksijeni azaltabilir ve sonunda süperoksit radikal anyonunu oluşturabilir. Bu, polioller ve hekzozamin yollarında artan akışı içeren komplikasyonlar sonucunda TD2M tetiklenir (Bandeira vd., 2012).

EPS'lerin ya da diğer hücre dışı metabolitlerin antidiyabetik etkilerinin olduğu bilinmektedir. Ayrıca probiyotik bir mikroorganizmanın kolesterol düşürücü etkisi olduğu da bilinmektedir. Bu nedenle postbiyotiklerin yani hücre içi ya da hücre dışı üretilen metabolitlerin antidiyabetik aktiviteleri olduğu düşünülmektedir. Postbiyotikler, çok sayıda bileşiği kapsar bunlar i) EPS'ler (Patel vd., 2012), ii)

polimer teikoik asitler (lipoteikoik ve duvar teikoik asitler), peptidoglikanlar, peptidoglikan türevli muropeptitler, pili tipi formlar ve hücre yüzey fraksiyonları (örn. S tabakası proteini, mukus bağlayıcı protein, fibronektin bağlayıcı protein) (Wegh vd., 2019; Żółkiewicz vd., 2020), iii) hücresiz özler, lizatlar, kültür süpernatantları ve biyosüpfaktanlar (hücre duvarı ile ilişkili veya hücre içi) olarak tanımlanır (Aguilar-Toalá vd., 2018; Żółkiewicz vd., 2020). Postbiyotiklerin bu karmaşık yapıları ve birden fazla metabolit içeriği probiyotiklerin ortamda gelişmesini sağlarken antidiyabetik etki ya da kolesterol metabolizmasının gelişmesini sağlayabilmektedir. Postbiyotiklerin yararlı özelliklerinin muhtemelen türe ve suşa özgü olduğunu ve formülasyonları için kullanılan mikrobiyal progenitöre bağlı olduğunu vurgulamak önemlidir (Cuevas-González vd., 2020b; Plaza-Diaz vd., 2019). Buna ek olarak, ortaya çıkan postbiyotiğin tipi ve aktivitesi, postbiyotik bileşiklerin üretildiği substrata veya matrisde de bağlı olacaktır (Cabello-olmo vd., 2021). Postbiyotiklerin antidiyabetik aktivitelerinin araştırılması ve literatüre eklenmesi gerekmektedir.

Postbiyotikler için; tümü hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak kanıtlanmış, bağışıklık sistemini güçlendirme, antiobezite, antioksidan, antiviral, antibakteriyel, antidiyabet, antihipertansif, antiproliferasyon, antimitasyon ve antikanser etkileri dahil olmak üzere antioksidan ve antidiyabetik etkileri için araştırılmıştır (Aghebat-Maleki vd., 2021; Homayouni Rad vd., 2021)

2.4 ParaprobİYotik

Probiyotik ürünler canlı eşdeğerleri kadar etkili biyolojik tepki üretebilen ölü hücreler de içerir, bu da probiyotik ürünlerin son kullanma tarihinden sonra da kullanılabileceği göstermektedir. Bu duruma “probiyotik paradoksu” (veya bazı yazarların öne sürdüğü gibi “probiyotik avantaj”) denilmekte, yani hem canlı hem de ölü hücreler biyolojik bir tepki üretebilmektedir. Ölü mikroorganizmaların tüketiminden potansiyel bir fayda olsa da probiyotik olarak sınıflandırılmazlar (Wilcox vd., 2020). Bu nedenle, çok farklı anlamlarla birlikte “paraprobİYotik” terimi türetilmiştir. En yaygın tanıma göre, canlı olmayan probiyotikler, etkisizleştirilmiş probiyotikler, tyndallized probiyotikler veya hayalet probiyotikler olarak da bilinen paraprobİYotikler, “Yeterli miktarlarda (oral veya topikal olarak) uygulandığında insan veya hayvan tüketicisine fayda sağlayan cansız mikrobiyal hücreler (bozulmamış veya kırılmış) veya ham hücre özleri” olarak tanımlanmaktadır (Wilcox vd., 2020). Yani paraprobİYotik (hayalet

probiyotikler) terimi, bozulmamış veya parçalanmış formlarda, canlı olmayan ya da inaktive edilmiş probiyotik suşları ifade etmek için kullanılmaktadır (Taverniti ve Guglielmetti, 2011; Wegh vd., 2019). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)/Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) (2001) tarafından probiyotikler için verilen tanım canlı mikroorganizmalarla sınırlandırılmıştır. Bununla birlikte, cansız (ölü), bu nedenle kültür edilemez ve muhtemelen immünolojik olarak aktif mikrobiyal hücrelerin konakçılara sağlık yararları sağladığı bildirilmiştir (Ananta ve Knorr, 2009). Probiyotikler, çeşitli koşulları önleme veya tedavi etme potansiyellerine rağmen, uygulanan canlı mikroorganizmadan kaynaklanan enfeksiyonlar, değişen uzun vadeli bağışıklık tepkileri ve antibiyotik direncinin gelişmesi ve yayılması gibi endişeler nedeniyle yaygın olarak benimsenmemiştir. Potansiyel bir çözüm, paraprobiyotikler olarak da bilinen inaktif probiyotiklerin kullanılmasıdır. Paraprobiyotiklerin avantajları; probiyotik organizmaların yaşayabilirliğini korumak, soğuk zincirin sürdürülmesine gerek olmadığından probiyotik sepsis, antibiyotik direnci riskinin azalması ve daha uzun raf ömrü gibi özellikleri bulunmaktadır (Shripada vd., 2019). Paraprobiyotik etkinin altında yatan moleküler mekanizmaların hala kapsamlı bir araştırmaya ihtiyaç duyulmasına rağmen, bilimsel kanıtlar, probiyotiklere benzer şekilde, hücre yüzeyinde bulunan moleküllerin (peptidoglikan, teikoik asit, hücre duvarı polisakkaritleri, hücre yüzeyi ile ilişkili proteinler, vb.) paraprobiyotikler ve konakçı arasındaki ilk etkileşim hattı, böylece faydalı etkilere aracılık ettiği belirtilmiştir (Teame vd., 2020).

Paraprobiyotiklerin hayvanlarda ve insanlarda anti-enflamatuvar ve pozitif bağışıklık tepkilerini modüle ettiği kanıtlanmıştır ve probiyotiklerle karşılaştırıldığında bazı avantajları vardır (Teame vd., 2020). Diğer bir büyük avantajları, antibiyotikler veya antifungal ajanlarla kombinasyon halinde uygulandığında biyoaktivite kaybı olmamasıdır (Warda vd., 2019). Öldürülmüş probiyotikler ayrıca gıda matriksinin formülasyonu ile ilişkili problemlerin üstesinden gelmek için çekici bir çözüm sunmuştur. Ayrıca, bağırsak mikrobiyotası üzerine yapılan araştırmalar, insan fizyolojisi için yararlı etkiler sağlayan GI sistemde yeni tanınan bakterileri ortaya çıkarmış ve paraprobiyotik preparatlar, bu yeni nesil probiyotiklerin ticarileştirilmesi sırasında stabilite ve güvenlik ile ilgili komplikasyonları çözmek için yararlı olabileceği belirlenmiştir (Siciliano vd., 2021). Probiyotik ve paraprobiyotik ile

yapılan bir gıda uygulama deneyinde; paraprobiyotiklerin eklenmesi, başlangıç kültürlerinin yaşayabilirliğini arttırdığı belirtilmiştir (Molae Parvarei vd., 2021).

Paraprobiyotik eldesinde; termal işlem, UV-ışınlar, ışınlama, sonikasyon, yüksek basınç, iyonlaştırıcı radyasyon, elektrik alan (PEF), omik ısıtma ve süperkritik CO₂, kurutma ve pH değişiklikleri dahil olmak üzere çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Çoğu araştırmada, ısıtma işlemi bakterileri inaktive etmek için kullanılmıştır (Molae Parvarei vd., 2021). Bu nedenle ısı, zaman ve maliyet nedeniyle paraprobiyotik üretiminde kullanılan başlıca yöntem olmuştur. Bu yöntemler, hücre zarı hasarları, hücre duvarı yırtılması, DNA hasarları, protein denatürasyonu, hücreler arası pH'n düşmesi, enzimlerin inaktivasyonu ve proteinlerin, nükleik asitlerin ve ribozomların yapısındaki değişiklikler yoluyla canlılığı inaktive etmektedir (Zendeboodi vd., 2020).

2004 yılından sonra birçok araştırmacı ölü probiyotiklerin fonksiyonel özelliklerini bildirmeye başlamıştır. Zhang vd., (2005), ısıyla öldürülmüş *L. rhamnosus* GG IgG hücrelerinin yararlı etkisini ortaya çıkarmış ve öldürülmüş hücrelerin, interlökin-8 (IL-8) üretimini azaltma yeteneklerinden dolayı bir enflamatuvar tepkinin aşağı regülasyonu üzerinde canlı hücrelerden daha etkili olduğunu göstermiştir. Lopez vd., (2008), UV ile inaktive edilmiş IgG hücrelerinin bağırsak epitelinde IL-8 üretimini azaltmada etkili olduğunu göstermiştir. Ostad vd., (2009) ısıyla öldürülmüş *Lactobacillus* türleriyle (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus agilis* ve *Lactobacillus casei*) yaptıkları çalışmada *Salmonella enterica typhi* ve *Escherichia coli*'nin Caco-2 hücrelerine yapışmasını önleme yeteneğini değerlendirmişlerdir. Canlı hücrelere benzer ısıyla öldürülmüş hücrelerin, patojenik bakteri yapışmasını engelleyebildiğini belirlemişlerdir (Rampengan vd., 2010). Laktoz malabsorpsiyonu olan çocuklar üzerinde probiyotik kullanımının (canlı veya ölü hücreler) laktoz intoleransı semptomlarını azaltmada güçlü bir etkisi olduğunu göstermiştir (Akter vd., 2020).

Teknolojik fizibiliteler açısından, inaktive probiyotik mikroorganizma kullanmanın avantajı, inaktive edilmiş mikroplar ısıl işlemde önce gıda ürünlerine eklenebildiğinden kontaminasyon riskinin olmamasıdır (Akter vd., 2020). Mikrobiyal kökenli canlı olmayan malzemeler, daha güvenli ve daha kararlı ürün geliştirme için probiyotiklere kıyasla belirgin faydalar sağlamaktadır. GI semptomlarının hafifletilmesi (Domingo, 2017), obezitenin, diyabetin, bazı kanser türlerinin ve daha

yakın zamanda psikiyatrik hastalıkların önlenmesi ve kontrolü dahil olmak üzere çeşitli bozukluklara veya hastalıklara karşı probiyotiklerin klinik etkinliğini ve profilaktik etkilerini destekleyen birçok bilimsel kanıt belirtilmiştir (Kerry vd., 2018). Bununla birlikte, paraprobiyotikler ve postbiyotikler, konakçıya immünomodülatör aktivite sağlamak ve yaşlılar, transplantasyon veya prematüre yenidoğanlar gibi immün yetmezliği bulunan bireylerde olduğu gibi canlı probiyotik bakteri kullanımının endike olmadığı durumlarda daha güvenli bir alternatif sunmaktadır. Ayrıca paraprobiyotiklerin ve postbiyotikler; (1) fırsatçı enfeksiyonların (fungemi, bakteriyemi, endokardit ve sepsis) gelişmesi (Taverniti ve Guglielmetti, 2011), (2) aşılara veya alerjenlere (ateş, artrit) karşı artan inflamatuvar yanıtlar (Deshpande vd., 2018), (3) sırasıyla mide-bağırsak bozukluklarına, kolestaz ve/veya kolorektal kansere ve D-laktik asidoza neden olabilen müsin bozunması ve dekonjuge safra tuzları ve D-laktat üretimine bağlı zararlı metabolik etkiler, (4) antibiyotik direnç genlerinin bağırsaktaki diğer komensal veya patojenik bakterilere yatay transferi (Cuevas-González vd., 2020a), (5) mikrobiyal translokasyon da kullanılmıştır. Ayrıca paraprobiyotikler ve postbiyotikler, antibakteriyel ve antifungal ajanlarla birlikte uygulandıklarında biyoaktivitelerini kaybetmezler (Aguilar-Toalá vd., 2018; Barros vd., 2020).

Oksidatif stres, ROS'un vücudun antioksidan savunmalarından daha iyi performans gösterdiği, biyolojik makromoleküllerin (örneğin; lipitler, proteinler, DNA) oksidatif modifikasyonuna, doku hasarına ve birçok hastalığın temeli olarak hızlandırılmış hücre ölümüne yol açan patolojik bir durumdur (Trevisan vd., 2001). Elde etme yöntemlerine göre farklılık gösteren paraprobiyotiklerin antioksidan aktivesini olduğu belirtilmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda; fermente gıdalardan elde edilen *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius* suşları ısı ile öldürülmüş ve antioksidan aktiviteleri belirtilmiştir (Kang vd., 2021).

İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan birçok klinik ve preklinik çalışma alkole bağlı karaciğer hastalığı, solunum yolu ve bulaşıcı hastalıklar, ishal, kolit, atopik dermatit, diş çürüğü, alerji, patojenlerin inhibisyonu, bağışıklık sistemi (Aguilar-Toalá vd., 2018) ve bağırsak mikrobiyotasının modülasyonu, kaygı ve stresin iyileştirilmesi (Nishida vd., 2017) ile diğerlerinin tedavisinde ve önlenmesinde paraprobiyotik

tüketiminden kaynaklanan sağlık yararı göstermiştir. Bununla birlikte, paraprobiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki rolünü anlamak için daha fazla klinik ve epidemiyolojik çalışmaya ihtiyaç vardır (Akter vd., 2020).

2.5 Antioksidanlar

ROS hayati fizyolojik süreçlerin yürütülmesinde önemli bir role sahiptir. Yükselen ROS seviyeleri strese ve patolojiye yol açsa da, azalan ROS seviyeleri normal fizyolojik koşullarla ilişkilidir (Banerjee vd., 2017; Bodega vd., 2019). Dokuların ve hücrelerin yakınında serbest radikallerin varlığı, bir dizi reaksiyona neden olmakta ve ROS'u ortadan kaldırmak için belirli çoklu dahili savunma hücresel işlemlerini etkinleştirmektedir (Mironczuk-Chodakowska vd., 2018). Hücreler ve organizma, kendilerini savunmak için spesifik bir anti-oksidatif koruma sistemine sahiptir. Substratın oksidasyonu, vücutta daha küçük miktarlarda bulunan ve bu nedenle savunma mekanizmasında temel bir role sahip olan antioksidanlar tarafından önlenir (Suleman vd., 2019). Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonları durdurur veya inhibe eder ve sonuçta hücresel hasarı önler ya da geciktirir. Farklı türler arasında antioksidan savunmada farklılıklar olmasına rağmen, antioksidan savunma mekanizmasının varlığı evrenseldir (Nimse ve Pal, 2015).

İnsanlarda, doğaları gereği üç savunma hattı gelişmiştir. Bu mekanizmalar; engelleme, yakalama, geri yükleme savunmasıdır ve bu hatların mekanizmaları farklı çalışmaktadır (Neha vd., 2019). ROS/RNS'yi temizleyen ilk savunma hattı, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanları içermektedir. Farklı oksidatif streslerin başlamasını doğrudan geciktirebilir veya önleyebilirler ve bunlar arasında glutatyon (GSH), ürik asit, E vitamini ve C vitamini bulunmaktadır. Transferrin, ferritin, seruloplazmin ve albümin gibi kan plazmasındaki enzimatik olmayan maddeler koruyucu antioksidanlara aittir ve geçiş metal iyonlarını bağlayarak yeni reaktif türlerin oluşumunu engellemektedir (örneğin Cu ve Fe). Diğer bir savunma hattı, oksidanları ve radikalleri etkisiz hale getirmek için bir ara savunma görevi gören enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşmaktadır. Üçüncü ve son savunma hattı, oksidatif hasardan zarar görmüş biyomoleküllerin rejenerasyonuna neden olarak onarımı ve hasarı gidermeyi içermektedir (Mironczuk-Chodakowska vd., 2018; Neha vd., 2019). Antioksidanlar, serbest radikallerle bağlanarak oksidatif zincir reaksiyonlarını sonlandırmakta ve elektronlarını onlara vererek serbest radikalleri

daha fazla saldırı için kullanılamaz hale getirmektedir. Elektronlarını verdikten sonra, serbest radikal durumu antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Bu nedenle zararlı değildir çünkü kendileri reaktif olmadan elektronlardaki değişime uyum sağlama yetenekleri bulunmaktadır (Ahmad, 2018).

Antioksidan fonksiyonlar, oksidatif stresi, DNA mutasyonlarını, kanserin oluşmasını ve ayrıca hücre hasarının diğer parametrelerini düşürmeyi ifade etmektedir. Oksidatif hasara karşı geliştirilen ilk antioksidan savunma sistemi türleri, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu önleyenler ve oluşan radikalleri bloke eden veya yakalayanlardır. Hücresel sıvılarda ve hücre zar kısmında bulunan bu sistemler enzimatik ve enzimatik olmayanlardır. Hücrenin diğer bir önemli antioksidan sistemi, hasar görmüş biyomolekülleri, agregasyonları hücre metabolizmasının değişmesini sağlamadan önce ortadan kaldıran ve onarım süreçlerini temsil eden sistemdir. Antioksidan onarım sistemlerinin müdahalesi, oksidatif olarak hasar görmüş nükleik asitlerin spesifik enzimler tarafından onarılmasından, oksitlenmiş proteinlerin proteolitik sistemler tarafından uzaklaştırılmasından ve oksitlenmiş lipidlerin tamir edilmesinden oluşmaktadır. Antioksidanların rolü, canlı organizmalar üzerinde olumsuz etkisi olan biyolojik hücrelerdeki serbest radikalleri nötralize etmektir (Poljsak vd., 2013).

Serbest radikallerin varlığına bağlı oksidatif stresin etkilerini nötralize etmede özel bir rol, örneğin SOD adı verilen enzim tarafından gerçekleştirilmektedir. Biyolojik hücrelerde oksidasyon işlemlerinin ana düzenleyicisi olan alt birim yapısal organizasyona sahip bir enzimdir. Bu enzim, oksijen radikallerinin rekombinasyon reaksiyonunu katalize eder. SOD kullanarak antioksidan tedavi uygulamak, insan vücudunun çeşitli patolojik durumlarını tedavi etmede ve bunların oluşumunu önlemede etkilidir (H_2O_2 ve üçlü oksijen oluşumunu engeller) (Poljsak vd., 2013).

Dejeneratif süreçlerin meydana gelmesi, moleküler biyolojide vücuda zararlı olan oksidatif süreçleri teşvik eden fazla serbest radikallerin varlığıyla ilişkilidir (Munteanu ve Apetrei, 2021) Antioksidanlar: enzimatik ve enzimatik olmayan, önleyici veya onarım sistemleri, endojen ve ekzojen, birincil ve ikincil, suda çözünür ve yağda çözünür, doğal veya sentetik olarak sınıflandırılmaktadır. Birincil antioksidanlar, esas olarak zincir kırıcılarıdır ve radikal türleri hidrojen atomu aktarması ile temizleyebilmektedir. İkincil antioksidanlar, reaktif oksijen indirgeyici, peroksit

ayırıştırıcılar, metal şelatörler, oksidatif enzim inhibitörleri veya UV radyasyon emicilerdir (Ajila vd., 2011).

Antioksidanlar kaynaklarına göre iki ana tipte sınıflandırılmaktadır; doğal ve sentetik antioksidanlar. Antioksidanlar, biyolojik fonksiyonlarına göre enzimatik ve enzimatik olmayan ROS temizleyiciler olarak ayrılabilir. Başlıca enzimatik antioksidanlar; CAT, SOD, GPx, GR, glutamil transpeptidazdır (GT). Enzimatik olmayan antioksidanlar, mineraller (selenyum, çinko), vitaminler (C, E) ve ayrıca ürik asit, ubikinol (CoQ10 tarafından indirgenmiş formda bulunur), tokoferol, retinol ve glutatyon içeren diyet bileşikleridir. Hem enzimatik olmayan hem de enzimatik antioksidanlar, farklı hücresel bölmelerde ve farklı oksidatif türlere karşı işlev göstermektedirler bu nedenle birbirlerinin tamamlayıcısıdır. Ayrıca ekzojen antioksidan sistemler ile sinerjistik bir şekilde fonksiyonlarını yerine getirmektedirler. Birçok taze ve çiğ gıda, mineraller veya temel vitaminler içermektedir (Ajila vd., 2011).

2.5.1 Doğal antioksidanlar

Doğal antioksidanlar ya insan vücudunda metabolik süreçlerle sentezlenmekte ya da diğer doğal kaynaklardan desteklenmektedir. Aktiviteleri büyük ölçüde fiziksel ve kimyasal özelliklerine ve etki mekanizmalarına bağlıdır. Doğal antioksidanlar; enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki katagoride incelenebilmektedir (Brar vd., 2014).

Enzimatik antioksidanlar; insan vücudunda benzersiz bir şekilde üretilmekte ve birincil (primer) ve ikincil (sekonder) antioksidan olarak alt bölümlere ayrılabilir. Primer antioksidanlar başlıca aşağıda açıklandığı gibi SOD, CAT ve GPx içerir (Brar vd., 2014).

SOD enzimi hem dermiste hem de epidermiste bulunur ve O_2^- uzaklaştırmakta ayrıca serbest radikalın zarar verdiği vücut hücrelerini onarmaktadır. SOD, süperoksit anyonlarının hidrojen peroksit indirgenmesini katalize etmektedir. SOD'nin, peroksinitrit oluşturmak için nitrik oksidi (NO) etkisiz hale getiren süperoksit anyonu (SO^-) için rekabet ettiği de bilinmektedir. Bu nedenle, süperoksit anyonlarını temizleyerek NO'nun aktivitesini arttırmaktadır (Chakraborty vd., 2009).

CAT kanda ve canlı hücrelerin çoğunda bulunmakta ve H_2O_2 'yi su ve moleküler oksijene ayıştırmaktadır. CAT, glikoz peroksidaz ile birlikte ticari olarak meyve sularının, yumurta sarısından oluşan kremaların ve salataların oksijeni uzaklaştırarak muhafazasında kullanılmaktadır (Chakraborty vd., 2009).

GPx, selenyuma bağımlı bir enzim grubudur (Chakraborty vd., 2009). GPx (hücre sel ve plazma), indirgenmiş glutatyon (GSH) ile H_2O_2 reaksiyonunu katalize etmekte ve sonuç olarak oksitlenmiş glutatyon (GSSG) üretilmektedir. GR, indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) tarafından tekrar indirgenmiş formuna dönüştürülmektedir (Chakraborty vd., 2009).

Enzimatik olmayan antioksidanlar; vücutta doğal olarak bulunmayan ancak uygun metabolizma için takviye edilmesi gereken bir antioksidan sınıfıdır. Bilinen enzimatik olmayan antioksidanlardan bazıları mineraller, vitaminler, karotenoidler, polifenoller ve diğer antioksidanlar olarak sınıflandırılmıştır (Brar vd., 2014).

Mineraller; enzimlerin düzgün çalışması için vücut hücrelerinde gereklidir. Yokluklarının birçok makromolekülün metabolizmasını etkilediği bilinmektedir. Enzimatik antioksidanlar için kofaktör görevi görürler (Brar vd., 2014).

Vitaminler; vücudun antioksidan enzim sisteminin düzgün çalışması için gerekli olan A, C, E ve B vitaminleri gibi mikro besinler sınıfını oluşturur. Vücudumuzda sentezlenemezler ve bu nedenle diyetle takviye edilmeleri gerekmektedir. A vitamini gece görüşünde, mukus zarlarında ve deride epitel hücrelerinin korunmasında yardımcı olmaktadır. Antioksidan özelliğinden dolayı bağışıklık sistemine de yardımcı olmakta ve üç ana formda bulunmaktadır. Bunlar; retinol, 3,4-didehidroretinol ve 3-hidroksiretinol'dur (Brar vd., 2014). Bunun başlıca kaynakları tatlı patates, havuç, süt, yumurta sarısı ve mozzarella peyniridir (Brar vd., 2014). C vitamini suda çözünür ve askorbik asit olarak da adlandırılmakta ve meyvelerde (esas olarak narenciye), sebzelerde, tahıllarda, sığır etinde, kümes hayvanlarında, balıkta vb. bulunmaktadır. Yaşlanma sürecine ve hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilecek serbest radikallerin neden olduğu bazı DNA hasarlarının önlenmesinde, kanser, kalp hastalığı ve artrit gibi hastalıklarda yardımcı olmaktadır (Brar vd., 2014). E vitamini yağda çözünen bir vitamindir. Bu, sekiz farklı formdan oluşur. Badem, aspir yağı, soya fasulyesi yağları, buğday tohumu yağı, yemişler, brokoli, balık yağı vb.'de bol

miktarda bulunan α -tokoferol, en yüksek biyoyararlanıma sahiptir ve lipid radikaliyle reaksiyona giren ve koruyan en önemli lipid çözüner antioksidandır (Brar vd., 2014). Lipid peroksidasyonundan kaynaklanan ve sonuç olarak, askorbat ve retinol gibi diğer antioksidanlar tarafından indirgeme yoluyla indirgenmiş forma geri dönüştürülebilen oksitlenmiş α -tokoferoksil radikalleri üretilmektedir (Brar vd., 2014). Karotenoid, β -karoten, likopen, lutein ve zeaksantinden oluşmaktadır. Meyve ve sebzelerde bulunan yağda çözünen renkli bileşiklerdir. β -Karoten çoğunlukla havuç, tatlı patates, kayısı, balkabağı, mango ve kavun gibi turp-turuncu-yeşil renkli gıda maddelerinde ve karalahana, ıspanak ve lahana gibi bazı yeşil ve yapraklı sebzelerde bulunmaktadır. Lutein, karalahana, ıspanak ve lahana gibi yeşil yapraklı sebzelerde bol miktarda bulunmaktadır. (Hamid vd., 2010). Lutein en çok serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı retinayı korumadaki rolüyle bilinmekte ve aynı zamanda ateroskleroza da önlemektedir. Likopen, lutein, kantaksantin ve zeaksantin, provitamin A aktivitesine sahip olmasa da β -karoten, A vitamini öncüsü olarak bilinmektedir. Domates iyi bir likopen kaynağıdır ve ıspanak iyi bir zeaksantin kaynağıdır (Hamid vd., 2010). Likopenin güçlü bir antioksidan olduğu ve domates, karpuz, guava, papaya, kayısı, pembe greyfurt ve diğer gıdalarda bulunan singlet oksijeni gidermede en etkili bileşik olduğu gösterilmiştir (Brar vd., 2014). Polifenoller, belirgin antioksidan aktivitelere sahip fitokimyasalların bir sınıfıdır. Antioksidan aktiviteleri, moleküler yapılarına bağlı olarak metabolizmayı düzenleyen kimyasal ve fiziksel özelliklerine bağlıdır (Ajila vd., 2011).

Flavonoid, önemli bir polifenolik bileşik sınıfıdır ve çoğunlukla sebzelerde, meyvelerde, tahıllarda, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde, kabuklarda vb. bulunmaktadır. Zencefil ve zerdeçal gibi bazı baharatlar da iyi polifenolik bileşik kaynaklarıdır (Ajila vd., 2011).

Diğer antioksidanlar ise; geçiş metali bağlayıcı proteinler olarak ve protein olmayan antioksidanlar olarak ayrılmaktadır. Geçiş metali bağlayıcı proteinler; albümin, seruloplazmin, hepatoglobin ve transferrin, insan plazmasında bulunan, geçiş metallerine bağlanan ve metal katalizli serbest radikallerin üretimini kontrol eden proteinlerdir (Brar vd., 2014). Albümin ve seruloplazmin, bakır iyonu tutucularıdır, hepatoglobin hemoglobin tutucudur ve transferrin, serbest demir tutucusu olarak işlev görmektedir. Protein olmayan antioksidanlar ise bilirubin, ürik asitler ve ubikinol,

serbest radikalleri temizleyerek oksidasyon süreçlerini engelleyen protein olmayan antioksidanlardır (Brar vd., 2014).

2.5.2 Sentetik antioksidanlar

Sentetik antioksidanlar yapay olarak üretilmekte veya çeşitli teknikler kullanılarak sentezlenmektedir. Temel olarak, radikalleri yakalayan ve zincirleme reaksiyonları durduran polifenolik bileşiklerdir. Polifenolik türevler genellikle birden fazla hidroksil veya metoksi grubu içermektedir. Sentetik fenolik antioksidanlar, katı ve sıvı yağlardaki çözünürlüklerini iyileştirmek ve toksisitelerini azaltmak için her zaman alkil grupları ile ikame edilmektedir (Caleja vd., 2017). Antioksidan aktiviteye sahip bu sentetik bileşikler, farmasötik ve kozmetik alanında koruyucu olarak, gıda alanında ise karbonhidratları, proteinleri, lipidleri ve sıvıları stabilize etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Poljsak vd., 2013).

Sentetik bir antioksidan olan ve monofenolik yağda çözünen butillenmiş hidroksiyanozil (BHA), bitkisel yağla kıyasla hayvansal yağdaki lipid oksidasyonu için kullanılmaktadır. Ter-bütıl hidrokinon (TBHQ) oldukça etkili bir difenolik antioksidandır ve gıdalarda, doymamış bitkisel yağlarla birçok yenilebilir hayvansal yağlar için koruyucu olarak kullanılmaktadır. Butillenmiş hidroksitoluen (BHT) ise BHA gibi monofenolik yağda çözünen bir antioksidandır ancak yüksek sıcaklıkta BHA'dan daha kararlıdır (Poljsak vd., 2013).

Etoksikuin; antioksidan olarak hayvan yemlerinde, sebzelerde (patates vb.) ve meyvelerde (elma ve armut) depolama sırasında karotenoid oksidasyonunu korumak için bulunmaktadır. Gallik asit ve propanolün yoğunlaşmasıyla oluşan bir esterdir ve gıda ürünlerinde ağırlıklı olarak sıvı-katı yağları korumak için gıda katkı maddesi olarak kullanılan bir antioksidan görevi yapmaktadır. EDTA; gıdalara ve kozmetik ürünlere eklenen yaygın bir antioksidandır. Gıda ürünüde bulunabilecek Cu, Fe ve Ni gibi eser minerallerle bağlanarak gıda ürünlerindeki renk ve tat bozulmaları ile dokusal bozulmayı engellemektedir (Poljsak vd., 2013).

2.6 Oksidatif Stres

Oksidatif stres, "oksidanların üretimi ve bunların eliminasyon sistemleri, yani antioksidanlar arasında, oksidanlar lehine olan, redoks sinyalinin ve kontrolün ve/veya

moleküler hasarın bozulmasına yol açan bir dengesizlik" anlamına gelmektedir. Oksidatif stres, hücrelerdeki normal metabolik süreçlerin yanı sıra çevresel faktörlerin (örneğin sigara dumanı, hava kirliliği, radyasyon) etkisiyle artabilmektedir. Bu durum, hücrelerdeki antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kaldığı veya bozulduğu durumlarda ortaya çıkmaktadır (Sies vd., 2017). Kavramsal olarak, oksidatif stres seviyesi, redoks sinyali için fizyolojik seviyeden moleküler veya organel hasarının toksik seviyesine kadar değişmektedir. Redoks sinyali, çeşitli sinyal yollarının yanı sıra konak savunması için de gereklidir (Holmström ve Finkel, 2014; Schieber ve Chandel, 2014).

Fizyolojik olmayan yüksek oksidatif stresin neden olduğu diğer hasarlar, değiştirilmiş gen ekspresyonu, hücre proliferasyonu, hücre büyümesi ve hücre yaşlanma dahil olmak üzere çok çeşitli fenotipik değişikliklere yol açmıştır (Kreuz ve Fischle, 2016). Oksidatif stres, yaşlanmanın ve otoimmün bozukluklar, inflamasyon, kanser, artrit, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere birçok dejeneratif ve kronik hastalığın gelişiminde yer alır. Oksidatif stres birçok anormalliği aktif olarak tetikleyebilir ve bu nedenle birçok rahatsızlığın başlamasına yol açar (Hussain ve Kayani, 2020; Simioni vd., 2018). Özellikle yaşlılıkta olmak üzere yaşamın çeşitli düzeylerinde oksidatif stres ve ardı sıra gelen değişiklikler nedeniyle biyo-sinyalleşmedeki bozulma nedeniyle çeşitli patofizyolojik olaylar meydana gelebilir (Szentosi vd., 2019). Oksidan-antioksidan mekanizmalar arasında ince bir denge korunmaktadır. ROS konumunun modülasyonu, inaktivasyonu ve üretimi hem patolojik hem de fizyolojik koşullarda sürekli olarak gerçekleşir ve bu süreç antioksidanlar ile dururulur ya da yavaşlatılır (Davalli vd., 2016).

Oksidatif stres, RNS ve ROS üretimi ile bu antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlikten kaynaklanır. Ayrıca ROS'lar hem endojen hem de ekzojen kaynaklardan üretildiği belirlenmiştir. Oksidatif stresdeki ROS'ların dengesizliği, sarkopeni ve kırılabilirlik da dahil olmak üzere yaşa bağlı birkaç durumda yani kardiyovasküler hastalıklar, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, kronik böbrek hastalığı, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi hastalıkların oluşmasına sebebiyet verir. Yaşlanmasında oksidatif strese ile yaşa bağlı fonksiyonel kayıpların oluşmasına sebebiyet verir. Bu durumun RNS ve ROS kaynaklı oluşan hasarların birikmesinden kaynaklandığı belirlenmiştir (Russo vd., 2018).

Potansiyel endojen kaynaklar arasında mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve inflamatuvar hücre aktivasyonu bulunur (Inoue vd., 2003). ATP, hücrenin işleyişi, sinyal iletimi ve genel faaliyetleri için gereklidir ve hücrenin enerji birimi olarak kabul edilir. Mitokondri, elektron taşıma zinciri ve oksidatif fosforilasyon yoluyla ATP üretiminden sorumludur. Ayrıca hücrede programlanmış hücre ölümü ve diğer solunum fonksiyonlarıyla birlikte oksidatif stresin üstesinden gelmek için moleküllerin üretilmesinde rol oynamaktadır. Mitokondrinin çeşitli redoks enzimleri ile zenginleştirilmesi ve mitokondriyal disfonksiyonun hücre ortamda ROS üretiminden sorumludur (Chakrabarti vd., 2011; Federico vd., 2012). Yaşlanmanın ve diğer nörodejeneratif hastalıkların oksidatif hasar biyobelirteçleri, lipitler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküllerdir. ROS'un malondialdehite (MDA), protein karbonillere lipid peroksidasyonuna ve DNA'da guanin'in 8-okso-deoksiguanozine oksidasyonuna karışarak lipitler üzerinde zararlı bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Cardiolipin (CL), mitokondri iç zarında bulunan bir fosfolipittir ve özellikle elektron taşıma zincirinin proteinleri ile ilgilidir. Bir iç zar taşıyıcısı olarak işlev gören adenin nükleotid translokaz tarafından özel olarak gereklidir. Kardiyolipinin linoleik asit gibi çoklu doymamış yağ asitlerinde zenginleştirilmesi ve mitokondriyal elektron taşıma zincirindeki ROS üretim bölgelerine bitişik konumu, onu ROS için birincil hedef haline getirir. CL oksidasyona yatkındır, mitokondriyal elektron taşıma zinciri disfonksiyonuna yol açar ve proapoptotik proteinlerin salınmasında yer aldığı tahmin edilmektedir. ROS, mitokondride biyoenerjetik işlevi engelleyen proteinler ve lipitler üzerinde doğrudan zarar verici bir etkiye sahiptir. Ayrıca mitokondriyal DNA üzerinde zararlı bir etkiye neden olur, promotör inaktivasyonu ve mitokondriyal gen ekspresyonunun aşağı regülasyonu ile doğrudan ilişkilendirilmektedir (Singh vd., 2019).

Mitokondrilerin oksidatif stres faktörleri olan ROS olan önemli miktarlarda H_2O_2 ürettiği uzun zamandır bilinmektedir. H_2O_2 molekülü eşleşmemiş bir elektron içermez ve bu nedenle radikal bir tür değildir. Fizyolojik koşullar altında, H_2O_2 üretiminin, organizma tarafından alınan toplam oksijenin yaklaşık %2'sini oluşturduğu tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, bozulmamış mitokondride süperoksit radikalının ortaya çıkışını saptamak, büyük ihtimalle yüksek SOD aktivitesinin varlığının bir sonucu olarak zordur. Mitokondri tarafından süperoksit radikalının üretimi ilk olarak Loschen ve arkadaşları tarafından belirlenmiştir (Loschen vd., 1971).

Oksidatif stres birçok immün rahatsızlığa sebebiyet vermektedir. Örneğin; diabetes mellitus (tip 1 ve 2), makro ve mikrovasküler komplikasyonlara yol açan, artan serbest radikal oluşumu ve azalmış antioksidan potansiyel ile ilişkili bir metabolik hastalıktır (Bashan vd., 2009). Oksidatif stresin diyabette komplikasyonların gelişimini hızlandırabileceği kesin mekanizma sadece kısmen bilinmektedir. T2D oksidan stres protrombotik reaksiyonları teşvik ederek kardiyovasküler komplikasyonlar yol açar (De Cristofaro vd., 2003). Diyabet hasarları, kronik hipergliseminin doku-oksidatif-hasar verici etkileri olarak kabul edilebilir (Brownlee, 2001). Artan hücre içi glikoz, hücredeki ROS'ları nötralize etmek için antioksidan kapasitesini aşan artan bir ROS ve RNS üretimine yol açar (Golbidi vd., 2011). Özellikle, gelişmiş glikasyon son ürünleri (AGE) yolunun aktivasyonu, gen transkripsiyonunun düzenlenmesini, matris ile diğer hücreler ve kan proteinleri (örn. albümin) arasındaki sinyali modifiye eden hücrelere zarar vererek bunların makrofajlar/mesangiyal üzerindeki AGE reseptörlerine (RAGE'ler) bağlanmasına neden olabilir. Hücreler ve büyüme faktörlerinin ve proinflatuar sitokinlerin üretimini arttırır (Brownlee, 2005).

Geriatric popülasyonla ilgili olarak, 61 yaşlı denek üzerinde yürütülen bir çalışma, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında bozulmuş glikoz toleransı (IGT) olan kişilerde artmış antioksidan seviyeleri (CAT ve GPx) ve IGT grubunda değil, T2D'de artmış oksidatif stres biyobelirteçleri (MDA) göstermiştir. Bu sonuçlar, yaşlı T2D hastalarında artmış bir oksidatif stres olduğunu ve IGT'li kişilerde artan antioksidan savunma sistemi ile kısmen dengelenebileceğini düşünülmektedir (Atli vd., 2004; Liguori vd., 2018).

Ayrıca oksidatif stresin oluşmasını sağlayan serbest radikaller, DNA hasarına yol açmaktadır. DNA, her biri farklı hasar biçimlerine neden olan kimyasallar, radyasyon, serbest radikaller ve topolojik değişiklikler dahil olmak üzere çeşitli ekzojen ve endojen saldırılarla hasar görmektedir (Curtin, 2012). ROS'lar DNA hasarını indükleyebilen ve DNA hasar tepkisini etkileyebilen kısa ömürlü, oldukça reaktif, oksijen içeren moleküller grubudur (Srinivas vd., 2019). ROS'lar; genom fonksiyonunu bozma, genom kararsızlığına ve mutasyona neden olma riskiyle bazıları değiştirmelerinden dolayı DNA için sürekli bir tehdittir. Bu tür riskler birincil oksidatif DNA hasarından kaynaklanır bu da onarım süreci aracılık etmiştir. Hücre için belirli bir genomik lokasyondaki hasarlı bir bazın tamir edilip edilmeyeceği veya tamir

edilmeden bırakılmasının daha iyi olup olmayacağı hassas bir karar süreç ile belirlenir (Poetsch, 2020). Kalıcı DNA hasarı, genom fonksiyonunu bozabilir, ancak diğer yandan epigenetik bir işaret görevi görerek gen regülasyonuna da katkıda bulunmuştur. Bu tür süreçler dengesiz olduğunda, patofizyolojik koşullar hızlanabilir çünkü oksidatif DNA hasarı ve bunun sonucunda ortaya çıkan mutajenik süreçler, yaşlanma, iltihaplanma, kanser ya da nörodejeneratif bozukluklar gibi yaşa bağlı birçok hastalığın gelişimi ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Poetsch, 2020).

Oksidatif DNA hasarı, ROS'lar tarafından maruz kalmaktan kaynaklanan ve genomda sürekli ortaya çıkan bir sorundur. Oksidatif DNA hasarı, hücrelerin kendi metabolizması ve enzimatik aktivitesi ile düzenlenir. (Markkanen, 2017) Oksidatif DNA hasarına, eksojen kaynaklı inflamatuvar süreçler (Reuter vd., 2010), toksinler (van Loon vd., 2010) veya iyonlaştırıcı radyasyonlar sebebiyet vermektedir (Lehnert, 2007). Oksidatif DNA hasarı kalıcı olduğunda, hücresel işlevi bozma ve mutasyona neden olma riskini taşır. Bununla başa çıkmak için, canlı organizmalar çok verimli onarım mekanizmaları geliştirmiştir (Markkanen, 2017) Oksidatif DNA hasarı, germ hattındaki ana mutajenik süreçler arasındadır ve erken gelişime eşlik eder (Sasani vd., 2019). Bu nedenle, zararlı mutasyonlar potansiyel olarak vücuttaki hücrelerin çoğuna geçebilir ve hasarlı bölgeler de embriyonik gelişimi etkileyebilir (Martincorena ve Campbell, 2015).

Yaşam boyunca, oksidatif stresin oluşturduğu DNA hasarı, yaşlanma sürecinde mutasyonlara (Finkel vd., 2007), nörodejenerasyon (Lodato vd., 2018), kanser (Tubbs ve Nussenzweig, 2017), gibi hastalıkların gelişmesine katkıda bulunmuştur (Kennedy vd., 2012). Ayrıca çoğu kanser tedavisi oksidatif DNA hasarına neden olur, tedavi sürecinden sonra kanserden kurtulan hastalarda uzun süreçlerde yan etkiler bulunmuştur. Kanser tedavisinde uygulanan yöntem sonunda; DNA zinciri kırılır ve böylece oksidatif DNA hasarı oluşur (Poetsch, 2020). Ayrıca, birçok ROS ve RNS, güçlü oksitleyici maddelerdir ve çeşitli DNA lezyonları üretebilir. ROS ve RNS'lerin, oksidatif DNA hasarının sonuçları, özellikle mutasyonlara, genom kararsızlığına nasıl yol açtığı bildirilmiştir (Poetsch, 2020).

2.6.1 Reaktif Oksijen Türleri

Oksidatif stresin oluşması, RNS ve ROS'lardan kaynaklanır. ROS türleri, hücredeki moleküler oksijenin eksik indirgenmesinin sonucu olan, yüksek oranda reaktif, oksijen içeren moleküllerdir (Santos vd., 2018). ROS, serbest radikaller veya serbest radikal üretme kapasitesine sahip moleküller olabilir. Serbest radikaller, dış kabuklarında kararsız ve yüksek oranda reaktif olmalarına neden olan veya başka bir deyişle diğer moleküllerden elektronları "çalma" eğilimli olmalarına neden olan eşleştirilmemiş bir elektrona sahip atomlardan veya moleküllerden oluşur (Pham-Huy vd., 2008). Serbest radikaller oldukça reaktiftir ve bu nedenle genellikle kısa ömürlüdürler ve ilk önce indirgenmeden üretildikleri hücre altı konumu terk edemezler.

ROS, RNS ve serbest radikal olmayan türleri Çizelge 2.1'de verilmiştir. Serbest radikaller olan ROS örnekleri O_2^- , $HO\bullet$, peroksil ($RO_2\bullet$), hidroperoksil ($HO_2\bullet$) ve alkoksil radikalleri ($RO\bullet$) bulunur (Phaniendra vd., 2015; Winterbourn, 2008). Serbest radikaller olmayan ROT'lar eşleşmemiş elektronlara sahip değildir ve genellikle daha az reaktiftir, bu nedenle zarlardan geçmelerinin yanı sıra üretildikleri hücre altı konumu terk etmelerine izin verir (Winterbourn, 2008). Serbest radikal olmayan ROS örnekleri arasında H_2O_2 , hidroksit iyonu (OH^-) ve organik peroksitler ($ROOH$) bulunur (Phaniendra vd., 2015). Daha az reaktif olmalarına rağmen, serbest radikal olmayan ROS hala tam olarak indirgenmemiştir ve dolayısıyla redoks reaksiyonlarına girerek sonuç olarak serbest radikaller üretebilir. Örneğin; H_2O_2 , demir (Fe^{2+}) veya bakır (Cu^+) gibi indirgenmiş bir geçiş metali iyonu ile karşılaşarsa, güçlü bir oksitleyici görevi gören hidroksil radikalının üretilmesiyle sonuçlanan Fenton reaksiyonu meydana gelir (Sutton ve Winterbourn, 1989).

H_2O_2 gibi serbest radikal olmayan ROS'un hücre içinde hareket etme yeteneği, çeşitli hücre altı konumlardaki hücre sinyali için redoks durumu ve ayrıca hücre içindeki antioksidan dağılımı düşünüldüğünde önemli hale gelir (Di Marzo vd., 2018; Travasso vd., 2017). ROS'a ek olarak, organizmalar ayrıca reaktif RNS üretir. Nitrik oksit (NO), L-arginin'den nitrik oksit sentaz enzimi tarafından üretilir ve bunun üç formu vardır: endotelial (eNOS), indüklenabilir (iNOS) ve nöronal (nNOS). Nitrik oksit daha sonra süperoksit ile reaksiyona girerek hücresel bileşenlere doğrudan zarar verebilen peroksinitrit ($ONOO^-$) üretir veya ayrıca başka RNS türleri oluşturmak için reaksiyona girer. ROS'ta olduğu gibi, RNS'nin hem serbest radikal formları [nitrik oksit, nitrik

dioksit ($\text{NO}_2\cdot$), nitrat radikali ($\text{NO}_3\cdot$)] hem de radikal olmayan formları [peroksinitrit, nitroz asit (HNO_2), nitrit (NO_2^-), nitrosil] vardır. Katyon (NO^+), nitroksil anyon (NO^-), peroksinitroz asit (ONOOH), dinitrojen trioksit (N_2O_3)]. Ayrıca ROS'a benzer şekilde RNS, nitrozatif hasar olarak adlandırılan hücrel hasara neden olabilir, ancak aynı zamanda hücrel sinyalleşme ve patojen savunmasında fonksiyonel rollere sahiptir. RNS'nin uzun ömür üzerindeki etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir (Shields vd., 2021). Eşlenmemiş elektronların varlığı, genellikle bir serbest radikal üzerinde önemli derecede reaktivite sağlar. Oksijenden türetilen bu radikaller, canlı sistemlerde üretilen bu türlerin en önemli sınıfını temsil eder (Valko vd., 2004).

Çizelge 2.1. Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen türleri (RNS) ve serbest radikal olmayan türleri.

Reaktif Oksijen Türleri		Serbest Radikal Olmayan Türler	
Hidroksil radikali	$\text{HO}\cdot$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Süperoksit radikali	$\text{O}_2\cdot^-$	Singlet oksijen	$^1\text{O}_2$
Hidroperoksil radikali	$\text{HOO}\cdot$	Ozon	O_3
Lipid radikali	$\text{L}\cdot$	Lipid hidroperoksit	LOOH
Lipid peroksil radikali	$\text{LOO}\cdot$	Hipoklorit	HOCl
Peroksil radikali	$\text{ROO}\cdot$	Peroksinitrit	ONOO^-
Lipid alkoksil radikali	$\text{LO}\cdot$	Dinitrojen trioksit	N_2O_3
Nitrojen dioksit radikali	$\text{NO}_2\cdot$	Azotlu asit	HNO_2
Nitrik oksit radikali	$\text{NO}\cdot$	Nitril klorür	NO_2Cl
Nitrosil katyon	NO^+	Nitroksil anyonu	NO^-
Tiyl radikali	$\text{RS}\cdot$	Peroksinitroz asit	ONOOH
Protein radikali	$\text{P}\cdot$	Nitroz oksit	N_2O

Nitrojen türleri ile reaktif oksijen türleri; (i) UV ışığı, X ışınları ve gama ışınları ile ışınlama sırasında üretilir; (ii) metal katalizli reaksiyonların ürünleridir; (iii) atmosferde kirletici olarak bulunurlar; (iv) iltihaplanma sırasında nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilir; (v) mitokondri katalizli elektron taşıma reaksiyonlarının ve diğer mekanizmaların yan ürünleridir (Gulcin, 2020).

ROS/RNS'nin biyolojik sistemlerde ikili bir rol oynadığı bilinmektedir, çünkü canlı sistemlere zararlı veya faydalı olabilirler (Poli vd., 2004). ROS'un yararlı etkileri, örneğin enfeksiyöz ajanlara karşı savunmada ve bir dizi hücrel sinyal sisteminin işlevinde olduğu gibi, hücrel tepkilerde fizyolojik rolleri içerir. Düşük konsantrasyonlarda ROS'un bir başka faydalı örneği, bir mitojenik tepkinin

indüklenmesidir. Tersine, yüksek konsantrasyonlarda ROS, lipidler ve zarlar, proteinler ve nükleik asitler (oksidatif stres olarak adlandırılır) dahil olmak üzere hücre yapılarına verilen hasarın önemli araçları olabilir (Poli vd., 2004). ROS'un zararlı etkileri, antioksidan enzimlere ek olarak enzimatik olmayan antioksidanların antioksidan etkisi ile dengelenir (Halliwell, 1996). ROS'tan kaynaklanan oksidatif hasara karşı koymak için hücrenin antioksidan savunma sisteminin varlığına rağmen, oksidatif hasar yaşam döngüsü boyunca birikir ve DNA'nın proteinlere ve lipitlere; kanser, damar sertliği, artrit, nörodejeneratif bozukluklar ve diğer durumlar gibi yaşa bağlı hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışmada kullanılan bakteri kültürleri

Çalışmada antioksidan özellikleri belirlenmek üzere probiyotik, prebiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik kaynağı olarak kullanılan Balıkesir Kelle Mihaliç peynirinden izole edilen *Levilactobacillus brevis* KMP1 suşu Gazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı kültür stoklarından temin edilmiştir. *L. brevis* KMP1 suşu, TÜBİTAK/TBAG 107T486 kodlu ve “Türkiye’nin Geleneksel Peynirlerinde Bulunan Propiyonik Asit Bakteri Türlerinin Belirlenerek, Bazı Probiyotik ve Starter Özelliklerinin Araştırılması” isimli projede kullanılan Türkiye’nin geleneksel ev yapımı peynirlerinden izole edilmiş ve Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen FEF 05/2012-57 kodlu proje kapsamında 16S rRNA dizi analizlerine göre tanımlanmıştır. Çalışmada kullanılan *L. brevis* KMP1 suşunun probiyotik bakterilerde olması gereken; asit üretimi, antimikrobiyal aktivite, antikolesterol aktivite, otoagregasyon, koagregasyon ve antibiyotiklere direnç, oksalat degradasyonu, EPS üretim aktiviteleri çalışılmış olan 38 suş arasından yüksek EPS üretici suş olarak seçilmiştir. Bakteri tarafından üretilen EPS’nin (prebiyotik), suşun (probiyotik), metabolit (postbiyotik) ve inaktif hücrelerinin (paraprobiyotik) antioksidan ve antidiyabetik aktivite özellikleri belirlenmiştir.

3.1.2 Bakterilerin aktifleştirilmesi ve gelişme ortamları

Tez çalışmasında prebiyotik, probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik kaynağı olarak *L. brevis* KMP1 bakterisi kullanılmıştır. *L. brevis* KMP’ in üremesi için Man Rogosa ve Sharpe (MRS) besiyeri (Merck) veya MRS agar besi ortamları kullanılmıştır. MRS broth besiyerine %2 oranında bakteri ekimi yapılmış ve 37°C’de 18-24 saat geliştirilen kültürler, en az iki kez aktifleştirildikten sonra çalışmaya alınmıştır. Çalışmalarda kullanılan *L. brevis* KMP1 suşunun saflığı Gram boyama yapılarak mikroskopik olarak incelenerek kontrol edilmiştir.

3.1.3 Çalışmalarda kullanılan besiyerleri

Çalışmalarda *L. brevis* KMP1 suşunun geliştirilmesinde Man Rogosa Sharpe (MRS) Çizelge 3.2’de içeriği belirtilen besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri içerisindeki bileşenler tartılarak üzerlerine 1000 mL distile suya tamamlanmıştır. Çözelti manyetik karıştırıcı yardımıyla tamamen homojen hale getirilmiştir. Besiyerlerinin pH’sı 1 M NaOH ve 1 M HCl kullanılarak $6,8 \pm 0,2$ ayarlanarak otoklavda 121°C ’de 15 dk steril edilerek çalışmalarda kullanılmıştır. MRS agar hazırlamak için %1,5 oranında agar kullanılmıştır. MRS besiyeriyeri hazırlanırken %1’lik $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinden 20 mL ve %1’lik $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinden 5 mL eklenmiştir (De Man vd., 1960).

Çizelge 3.1. Man Rogosa Sharpe (MRS) besiyerinin içeriği.

Bileşenler	Miktar (g/L)
Pepton	10
Et ekstraktı	8
Maya ekstraktı	4
Glikoz	20
Tween 80	1 mL
Di potasyum hidrojen o-fosfat (K_2HPO_4)	2
Magnezyum sülfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,2
Amonyum sitrat	2
Sodyum asetat trihidrat ($\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	5
Manganez sülfat (MnSO_4)	0,05

3.1.4 Çalışmada kullanılan tamponlar

Tez çalışmasında tampon çözelti olarak 0,1 M PBS (pH 7,2) kullanılmıştır. PBS tampon çözeltisini içeriği Na_2HPO_4 (177,99 g/L) ve NaH_2PO_4 (156,01 g/L) olacak şekilde hazırlanmıştır. PBS içerisindeki bileşenler tartılarak üzerlerine 230 mL distile suya tamamlanmıştır ve manyetik karıştırıcı yardımıyla tamamen homojen hale getirilmiştir. Homojen hale gelen PBS tamponu pH’ı 1 M NaOH ve 1 M HCl kullanılarak $\text{pH } 7,2 \pm 0,2$ ayarlanmış ve balon jojeye alınarak 250 mL’ye tamamlanmıştır. Hazırlanan PBS tamponu otoklavda 121°C 1 atm’de 15 dk. steril edilerek deneylerde kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Bakteri kültürlerinin muhafazası

Çalışmalarda kullanılan *L. brevis* KMP1, MRS sıvı besiyerlerinde iki kez aktifleştirilmiştir. Kriyo tüpler içerisine 0,4 mL gliserol eklenmiş ve otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiştir. Saflık kontrolü yapılan aktif *L. brevis* KMP1'den 0,60±0,02 mL alınarak içerisinde steril gliserol bulunan tüplere aktararak, hazırlanan stoklar -40°C'de muhafaza edilmiştir. *L. brevis* KMP1 stokları 6 ayda bir yenilenmiştir.

3.2.2 Prebiyotik kaynağı olarak kültür ortamından kısmi saflaştırılan ekzopolisakkaritlerin lizofilizasyonu

L. brevis KMP1 suşundan elde edilen ekzopolisakkarit (EPS), Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünde TÜBİTAK 120Z573 kodlu proje kapsamında liyofilize edilmiştir. *L. brevis* KMP1 suşundan elde edilen liyofilize EPS, L-EPS-KMP1 (prebiyotik) olarak adlandırılmış antioksidan ve antidiyabetik aktivite deneylerinde kullanılmıştır.

3.2.3 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in çözünürlüğünün belirlenmesi

L. brevis KMP1 suşundan elde edilen EPS'nin suda çözünürlüğü az oluğu belirlenmiştir ve farklı organik çözücüler ile çözünürlükleri denenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in çözünürlüğünün belirlenmesi için farklı çözücüler eklenmiş ve vortekslenerek karıştırılmıştır daha sonra ultrasonik su banyosu ile homojenize edilip maksimum çözünürlüğü belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in saf sudaki maksimum çözünürlük sınırı oda sıcaklığında, prebiyotik L-EPS-KMP1 için 2,5 mg/mL olarak belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1, etanol içinde maksimum 2 mg/mL olacak şekilde çözündüğü belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1, metanol içinde 4 mg/mL maksimum olacak şekilde çözündüğü belirlenmiştir. L-EPS-KMP1, %2,5 izopropil alkol ile çözündürülmüş ve maksimum çözünürlüğü 3 mg/mL olarak belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1 organik çözücü olarak Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) içerisinde maksimum 2 mg/mL şekilde çözünmüştür. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için çözücü olarak dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmış ve

maksimum 10 mg/mL olacak şekilde çözünmüştür. Çalışmalarda DMSO içinde çözdürülmüş prebiyotik L-EPS-KMP1 kullanılmıştır.

3.3 Prebiyotik olarak L-EPS-KMP1'in Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesine Yönelik Analizler

3.3.1 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in antioksidan aktivite deneyleri için hazırlanması

Prebiyotik olarak L-EPS-KMP1'in antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde; 2,2,-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü aktivite, 2,2'-azino-bis (3-etilbentiazolin-6-sülfonik asit) radikal süpürücü aktivite (ABTS⁺), hidroksil radikalleri süpürücü aktivite, süperoksit anyonu süpürücü aktivite, total antioksidan kapasite ve demir indirgeme antioksidan gücü (ferric reducing antioxidant power-FRAP) yöntemleri kullanılmıştır. Ayrıca prebiyotik L-EPS-KMP1'in oksidatif DNA hasarı, süpercoiled pBR322 plazmid kullanılarak DNA'yı H₂O₂'ye karşı koruma kabiliyeti, DNA nickleme deneyi ile belirlenmiştir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi dahil olmak üzere yedi farklı çalışma yapılmıştır. Prebiyotik L-EPS-KMP1'nin sudaki maksimum çözünürlük sınırı oda sıcaklığında 2,5 mg/mL olarak belirlenmiştir. Ancak antioksidan çalışmalarında kullanılan prebiyotik L-EPS-KMP1 derişimleri suda çözünürlüğü düşük olması nedeniyle çözücü olarak dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmıştır.

3.3.2 DPPH (2,2,-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü aktivite

Prebiyotik L-EPS-KMP1'nin antioksidan aktivitesi, DPPH serbest radikalının süpürme kabiliyetine dayanarak test edilmiştir (Wang vd., 2014). Farklı derişimlerdeki (0,50-1,00-2,00-4,00-6,00-8,00-10,00 mg/mL) 0,3 mL prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltisi 0,1 mM DPPH çözeltisi (0,6 mL mutlak etanol içerisinde) ile karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. Elde edilen çözeltinin absorbansı 517 nm'de ölçülmüş ve askorbik asit pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. DPPH• süpürme aktivitesi, Eş. 3.1'deki denklem ile aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$\text{Süpürme aktivitesi (\%)} = \frac{B - (S - S_c)}{B} \times 100\% \quad (3.1)$$

B, örnek çözeltisinin çözücüyle değiştirilmesiyle hazırlanan kör çözeltinin absorbansı (prebiyotik L-EPS-KMP1'in ve askorbik asit için farklı olarak 0,3 mL çözücü + 0,6

mL DPPH olacak şekilde hazırlanmıştır). S, örnek çözeltilerinin absorbansı. Sc, DPPH çözeltisinin etanol ile değiştirilmesi elde edilen kontrol örneğinin absorbansı (0,3 mL örnek + 0,6 mL EtOH).

3.3.3 ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbentiazolin-6-sülfonik asit) radikal süpürücü aktivite

ABTS^{•+}, 7 mM ABTS'nin distile suda 2,45 mM potasyum persülfat (K₂S₂O₈) ile reaksiyona girmesi ile elde edilmiş ve oda sıcaklığında 16 saat karanlıkta saklanmıştır (Braca vd., 2001). ABTS^{•+} çözeltisi kullanımdan önce 734 nm'de 0,700 absorbansa kadar etanol ile seyreltilmiştir (Wang vd., 2017). ABTS^{•+} çözeltisine (0,6 mL), farklı derişimlerde (0,25-0,50-0,75-1,00-1,25-1,5-2,00-4,00 mg/mL) prebiyotik L-EPS-KMP1 (0,3 mL) ilave edilmiştir. Karışım, oda sıcaklığında 5 dk karanlıkta inkübe edilmiş ve çözeltinin absorbansı 734 nm'de belirlenmiştir. Çalışmada askorbik asit pozitif kontrol olarak kullanılmış ve sonuçlar DPPH radikal süpürücü aktivite testinde Eş. 3.1 de kullanılan formül ile hesaplanmıştır.

3.3.4 Hidroksil radikalleri süpürücü aktivitesi

Hidroksil radikalleri temizleme aktivitesi daha önce gerçekleştirilen literatürdeki analizlerde bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir (Smirnoff vd., 1989; Yang vd., 2015). 6 mM FeSO₄ (2 mL), %0,3 H₂O₂ (1 mL) ile karıştırılmış ve hidroksil radikallerinin oluşması için 5 dakika bekletilmiştir. Farklı derişimlerde (0,50-1,00-2,00-4,00-6,00-8,00-10,00 mg/mL) L-EPS-KMP (2 mL) çözeltisine 6 mM salisilik asit (2 mL) eklenerek 30 dk süresince 37°C'de inkübe edilmiş ve 3000 rpm'de 5 dk santrifüj (Cytrozen model no: 184R) yapılmıştır. Süpernatantın absorbansı 510 nm'de ölçülmüştür. Çalışmada askorbik asit pozitif kontrol olarak kullanılmış ve sonuçlar DPPH radikal süpürücü aktivite testinde kullanılan formül ile hesaplanmıştır. Ancak, örnek kontrolünün (Sc) absorbansı FeSO₄'nin saf su ile değiştirilmesiyle belirlenmiştir. Kör çözelti ise örneğin çözücü ile değiştirilmesi ile yapılmıştır (Wang vd., 2017a).

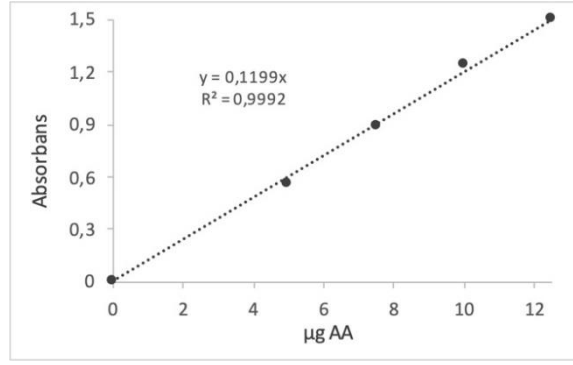
3.3.5 Süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi

Prebiyotik L-EPS-KMP1'nin süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi, alkali bir ortamda pirogallol otoksidasyon sisteminde süperoksit radikalleri üretilerek daha sonra üretilen

süperoksit radikalının süpürülmesi ile belirlenmiştir (Marklund ve Marklund, 1974; Raza vd., 2011). Farklı derişimlerde (0,50-1,00-2,00-4,00-6,00-8,00-10,00 mg/mL) prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltisi (0,5 mL), 0,05 M Tris-HCl (1,5 mL, pH 8,2) ile karıştırılmış, karışım 25°C’ de 10 dakika inkübe edilmiştir. Karışıma 25°C’de önceden ısıtılmış 30 mM pirogallol (100 µL) ilave edilmiş ve 4 dk boyunca aynı sıcaklıkta tutulmuştur. Reaksiyon, 0,5 mL derişik HCl ilave edilerek sonlandırılmış ve elde edilen çözeltinin absorbası 329 nm’de okunmuştur. Çalışmada askorbik asit pozitif kontrol olarak kullanılmış ve sonuçlar DPPH radikal süpürücü aktivite testinde kullanılan Eş. 3.1’deki formül ile hesaplanmıştır. Kontrol örneğinin (Sc) absorbansı pirogallolün saf su ile değıştirilmesiyle ölçülmüştür.

3.3.6 Demir indirgeme antioksidan gücü (Ferric reducing antioxidant power-FRAP)

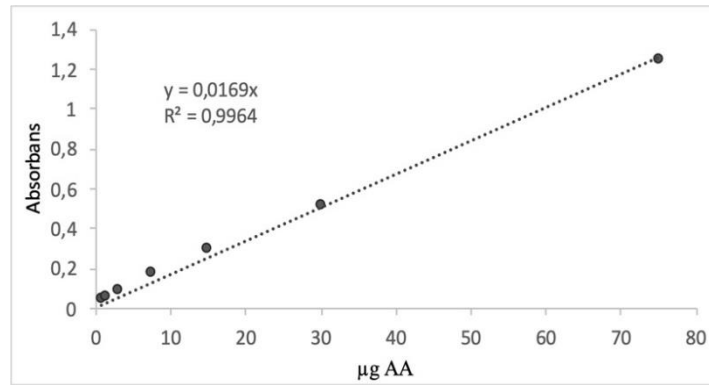
Demir indirgeme antioksidan gücü prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltisinin demir iyonlarını indirgeme gücünün belirlenmesi prensibine bağılı olarak test edilmiştir (Aktumsek vd., 2013). Öncelikle 31,2 mg tripyridyltriazine (TPTz), 50 µL derişik HCl ve 10 mL saf su karışımında çözülmüştür. Daha sonra 32 mg FeCl₃, 10 mL distile suda çözülmüştür. Son olarak 4,1 mL H₂SO₄’e (%80) 250 mL distile su ilave edilmiştir. 0,66 g NaCH₃COO bu çözelti içinde tamamen çözünönceye kadar karıştırılmıştır. Tampon, TPTz ve FeCl₃ 10:1:1 oranlarında karıştırılarak bu karışımın 2,0 mL’si 0,1 mL farklı derişimlerde (0,50-1,00-2,00-4,00-6,00-8,00-10,00 mg/mL) prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltisi ile karıştırılarak 30°C’de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda örneklerin absorbansı 593 nm’de okunmuştur. Standart olarak farklı derişimlerdeki askorbik asit çözeltileri kullanılmış ve hazırlanmış kalibrasyon grafiğı Şekil 3.1.’de verilmiştir. Kalibrasyon denklemi kullanılarak sonuçlar askorbik asit (AA) eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.1. Demir indirgeme antioksidan gücü için AA kalibrasyon grafiği.

3.3.7 Total antioksidan kapasite analizi

Prebiyotik L-EPS-KMP1'in total antioksidan kapasitesi Prieto vd. (1999) tarafından belirlenen yöntemde yapılan bazı modifikasyonlar ile belirlenmiştir. Mekanizma Mo^{6+} 'nın Mo^{5+} 'e indirgenmesi sonucunda fosfomolibdenum kompleksi oluşturarak 695 nm'de maksimum absorbans göstermesi ile test edilmiştir (Prieto vd. 1999). İlgili reaktif, 0,6 M sülfürik asit (H_2SO_4), 28 mM sodyum fosfat (Na_2HPO_4) ve 4 mM amonyum molibdat ($(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Reaktif, Na_2HPO_4 ve amonyum molibdat ($(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$) için gerekli miktarlar tartıldıktan sonra üzerine sülfürik asit (H_2SO_4) eklenerek hazırlanmıştır. Farklı derişimlerdeki (0,50-1,00-2,00-4,00-6,00-8,00-10,00 mg/mL) prebiyotik L-EPS-KMP1 ile (0,3 mL), hazırlanan reaktif (3 mL) ile karıştırılmıştır. Karışım, 95°C'de 90 dakika inkübe edildikten sonra 695 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Standart olarak farklı derişimlerdeki askorbik asit çözeltileri kullanılmış ve hazırlanmış kalibrasyon grafiği Şekil 3.2.'de verilmiştir. Şekildeki kalibrasyon denklemi kullanılarak sonuçlar askorbik asit (AA) eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.2. Total antioksidan kapasite için AA kalibrasyon grafiği.

3.3.8 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in DNA hasarına karşı koruyucu aktivitenin belirlenmesi

Bu çalışmada prebiyotik L-EPS-KMP1'in hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$) tarafından indüklenen oksidatif DNA hasarına engel olma derecesinin, plazmid formlarının değişimi ile araştırılması yapılmıştır. Prebiyotik L-EPS-KMP1 fraksiyonunun süpercoiled pBR322 plazmid DNA'yı H_2O_2 'ye karşı koruma kabiliyeti, DNA nickleme deneyi ile değerlendirilmiştir. 0,5 μL plazmid DNA (0,5 μg), 5 μL prebiyotik L-EPS-KMP1 numunesi (4,00-10 mg/mL), 1 μL 1 mM FeSO_4 ve 1 μL H_2O_2 (%0,01; %0,1; %1) içeren reaksiyon karışımları (toplam reaksiyon hacmi; 10 μL) 37°C'de 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir (H_2O_2 kontrol grubunda PBS ile ve prebiyotik L-EPS-KMP1 ise hasarlı grupta PBS ile değiştirilmiştir). Reaksiyondan sonra, 2 μL yükleme tamponu ilave edilerek vortekslenen karışımın 10 μL 'si SafeView görüntüleme ajanı içeren %1'lik agaroz jele yüklenmiş ve 1X TBE tamponunda 50 dakika (80 V) elektroforez edilmiştir. Son olarak, DNA bantlarının UV transillüminasyonu ile görselleştirilmesi yapılmıştır (Xu vd., 2019).

3.4 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in Antidiyabetik Aktivitesinin Belirlenmesi

Prebiyotik L-EPS-KMP1'in antidiyabetik aktivitesinin belirlenmesi amacıyla, prebiyotik L-EPS-KMP1'in α -amilaz enzimini inhibe etme yeteneği incelenmiştir (Dilna vd., 2015; Chen vd., 2013; Liu vd., 2019). Diyabet tedavisinde kullanılan akarboz, α -amilaz ve α -glukozidaz enzim aktivitelerini inhibe ederek yemek sonrasında kan glukoz değerlerinin artışını düşüren bir ilaçtır. Bu nedenle, akarboz genellikle antidiyabetik aktivitenin araştırılmasında pozitif kontrol olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla, farklı derişimlerde prebiyotik L-EPS-KMP1 ve standart akarbozun DMSO içerisinde çözeltilerinin α -amilaz aktivitesini inhibe etme aktivitesi araştırılmıştır.

Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve standart akarboz içermeyen ortamda α -amilaz aktivitesinin ölçümü başlangıç aktivitesi olarak kabul edildiği için önem taşımaktadır. Bu nedenle, α -amilaz aktivitesinin ölçümü tekrarlı olarak çalışılmış ve optimize edilmiştir. Alfa amilaz aktivitesi Bernfeld metodu ile ölçülmüştür (Bernfeld, 1955). Metot nişastadan salınan maltozun 3,5-dinitrosalisilik asit (DNSA) reaktifi ile indirgenmesinin spektrofotometrik ölçümünü içermektedir. DNSA reaktifi, %30 sodyum-potasyum tartarat ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) a/h, %1,6 NaOH (a/h) ve %1 DNSA

(a/h) içerecek şekilde hazırlanmıştır. %1'lik nişasta çözeltisi pH 6,9 nişasta tamponu (0,1 M fosfat) içerisinde hazırlanmıştır. 1 mg/mL derişimindeki α -amilaz çözeltisi ile nişasta çözeltisi eşit hacimlerde karıştırılarak 3 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, reaksiyon hacmine eşit hacimde DNSA çözeltisi eklenerek 5 dk kaynar su içerisinde inkübe edilmiştir. Süre sonunda ölçüm çözeltisi hızlıca soğutulmuş ve ölçüm çözeltisinin 5-katı kadar saf su eklenmiştir. Sarı-turuncu renkli kompleksin absorbansı 540 nm'de UV-spektrofotometresi ile ölçülmüştür.

Antidiyabetik aktivite belirlenmesine için farklı derişimlerdeki 0,250 μ L prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltisi (0,50-1,00-2,00-4,00-6,00-8,00-10,00 mg/mL), 0,250 μ L α -amilaz (pH 7,0) ile karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında çözelti karışımı üzerine 0,250 μ L %1'lik nişasta çözeltisi eklenip karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. 10 dakika inkübasyon sonrasında çözeltilerin üzerine 0,500 μ L DNSA reaktifi eklenip karıştırıldıktan sonra 95°C'de sıcak su banyosunda 5 dakika inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrasında hızlı soğutma yapılmıştır. Soğutma sonrasında çözelti üzerine 5 mL saf su eklenmiş ve 540 nm'de absorbası ölçülmüştür. Antidiyabetik aktivite belirlemek için Eş. 3.2'deki denklem kullanılmıştır.

$$\text{Antidiyabetik etki (\%)} = K - (S - S_c) / K \times 100\% \quad (3.2)$$

S_c , α -amilaz ve nişastanın çözeltilerinin tampon çözelti ile değiştirilmesiyle; K ise prebiyotik L-EPS-KMP1 örneklerinin çözücü ile değiştirilmesi belirlenmiştir.

3.5 Probiyotik *L. Brevis* KMP1 Suşunun, Postbiyotiğinin ve Paraprobiyotiğinin Antioksidan Aktivite Analizleri

Probiyotik *L. brevis* KMP1 suşunun, probiyotik *L. brevis* KMP1 suşundan elde edilen postbiyotik ve paraprobiyotiklerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde; Bölüm 3.3.1'de anlatılan antioksidan aktivite deneyleri uygulanmıştır. 2,2,-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü aktivite, 2,2'-azino-bis(3-etilbentiazolin-6-sülfonik asit) radikal süpürücü aktivite (ABTS⁺), hidroksil radikalleri süpürücü aktivitesi, süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi, total antioksidan ve demir indirgeme antioksidan gücü yöntemleri kullanılmıştır. Ayrıca DNA'yı H₂O₂'ye karşı koruma kabiliyeti, DNA nickleme deneyi ile belirlenmiştir. Probiyotik *L. brevis* KMP1 suşunun Bölüm 3.5.1'de hazırlanan stok çözeltisi, probiyotik *L. brevis* KMP1

suşundan elde edilen postbiyotik ve 1:2-1:5 oranlarında seyreltmeleri MRS sıvı besiyeri içinde, paraprobiyotikler ve 1:2-1:5 oranlarında seyreltmeleri PBS (pH 7,2) içinde resüspanse stokları antioksidan ve antidiyabetik aktivite analizleri için kullanılmıştır.

3.5.1 Probiyotik, postbiyotik ve parabiyoitiğin antioksidan ve antidiyabetik aktivite deneyleri için hazırlanması

Probiyotik stoğunun hazırlaması için; *L. brevis* KMP1 suşundan 5 mL MRS sıvı besiyerine %2'lik ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Birinci aktifi tamamlanan kültür, ikinci aktif için ayrı ayrı 3 tane 10 mL MRS broth besiyerine %2 ekim yapılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İkinci aktifi tamamlanan bakteri örneklerine 4000 rpm'de 4°C 10 dakika santrifüj (Cytrozen model NO: 184R) işlemi yapılmıştır. Santrifüjden sonra pellet 2 kez PBS (pH 7,2) tamponu ile yıkanmış ve 10 mL PBS (pH 7,2)'de resüspanse edilmiştir. PBS içinde resüspanse edilen 3 kültür örneğinden 10⁻¹-10⁻⁸'e kadar seri seyreltme yapılarak MRS agara ekilmiş ve canlı bakteri sayısının tespiti için 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda koloniler sayılarak canlı bakteri sayısı Eş. 3.3'te verilen formüle ile log kob/mL olarak hesaplanmıştır.

$$\text{kob/mL} = \log_{10} \left(\frac{\text{koloni sayısı} \times \text{seyreltme faktörü}}{\text{Ekilen hacim (mL)}} \right) \quad (3.3)$$

Postbiyotik hazırlamak için; *L. brevis* KMP1 suşunun MRS besiyerindeki aktif kültürlerin optik yoğunluğu UV-spektrofotometresinde (Thermo Scientific, genesys 10s UV-VIS) 600 nm'de 0,60±0,02'ye ayarlanarak, MRS sıvı besiyerlerine %2 oranında üç paralelli ekimler yapılmış ve 37°C de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kültürlerin 600 nm'de optik yoğunlukları (OD), son kültür pH değerleri ölçülmüş ve canlı bakteri sayısı Bölüm 3.5.1'te verilen formüle göre (Eş. 3.3) log kob/mL olarak hesaplanmıştır (Tang vd., 2020).

Postbiyotik eldesi için inkübasyondan alınan *L. brevis* KMP1 kültürleri 4000 rpm'de 4°C' de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında elde edilen süpernatant 0,22 µm filtrelerden geçirilerek steril falkonlara aktarılmıştır. Postbiyotik 1:2-1:5 oranında

seyreltilerek antioksidan ve antidiyabetik aktivite deneylerinde kullanılmak için 4°C’de saklanmıştır. (Chang vd., 2021; İncili vd., 2022).

L. brevis KMP1 suşundan paraprobiyotik hazırlanması için kültürün santrifüj sonrasında elde edilen yoğun pelleti, pH’sı 7,0 olan PBS tamponu (NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4) içerisinde çözülerek kullanılmıştır. Pelletteki besiyeri kalıntısını uzaklaştırmak için 2 kez 5 mL PBS tamponu ile 4°C’de 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek yıkanmıştır. Yıkama sonrasında pellet 10 mL PBS tamponu ile resüspanse edilerek OD’si 600 nm’de ölçülmüştür. Resüspanse kültürlerdeki canlı bakteri sayısı Bölüm 3.5.1’te verilen formüle göre (Eş. 3.3) log kob/mL şeklinde hesaplanmıştır.

Resüspanse edilen *L. brevis* KMP1 kültürleri paraprobiyotiklerin hazırlanması için sıcak su banyosunda 80°C’de 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra resüspanse *L. brevis* KMP1’e ani soğutulma yapılmış ve elde edilen paraprobiyotik kültürden kontrol için 100 µL olacak şekilde MRS agarlara ekilerek 24 saat 37°C de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda üreme olmayan paraprobiyotik stokları 1:2 ve 1:5 oranında seyreltilerek antioksidan ve antidiyabetik aktivite deneylerinde kullanılmak için 4°C’de saklanmıştır. Deneylerden önce, resüspanse paraprobiyotik örneklerinden MRS agara ekim yapılarak kontrol edilmiş ve kullanılmıştır.

3.6 Probiyotik, Postbiyotik ve Paraprobiyotiklerin Antidiyabetik Aktivite Belirlenmesine Yönelik Analizler

Probiyotik *L. brevis* KMP1 suşunun, postbiyotik ve paraprobiyotiklerinin antidiyabetik aktivite belirlenmesine yönelik analizler Bölüm 3.4’te verilen metota göre belirlenmiştir.

3.7 İstatiksel Analiz

Tez çalışması kapsamında yer alan DPPH, ABTS, hidroksil ve süperoksit anyonu radikallerinin süpürücü aktiviteleri için IC_{50} değerlerinin belirlenmesi için derişime karşı % inhibisyon değerleri lineer ve logaritmik olarak grafiğe geçirilmiştir. Elde edilen grafiklere ait regresyon katsayıları incelenmiştir. Buna göre, uygun denklemden %50 inhibisyon değerine karşılık gelen prebiyotik L-EPS-KMP1 derişimleri için IC_{50}

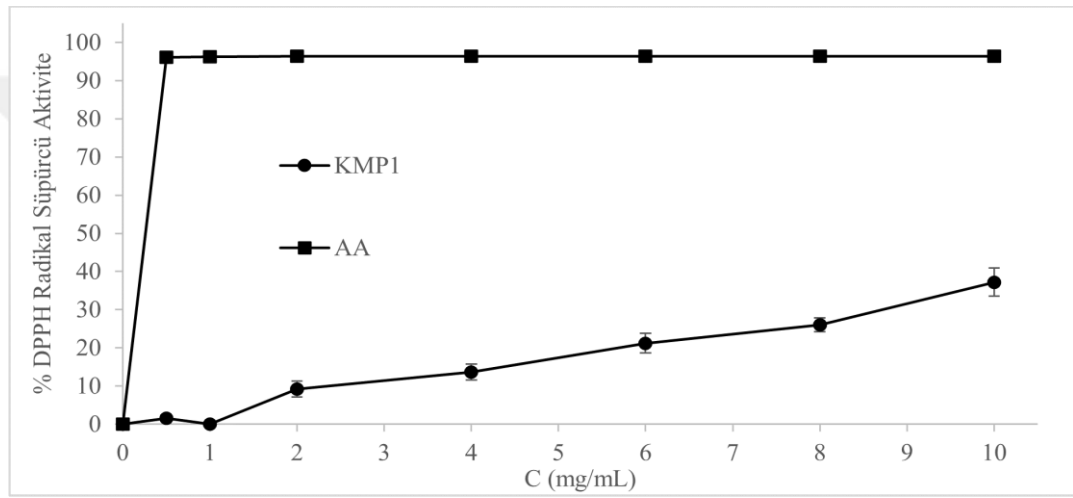
değerleri hesaplanmıştır. Prebiyotik L-EPS-KMP1, probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotiklerin antioksidan aktivitelerini değerlendirmek amacıyla referans olarak askorbik asit (AA) kullanılarak DPPH, ABTS, hidroksil ve süperoksit anyonu radikallerinin süpürücü aktivitelerin ölçülmesi; ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP), total antioksidan kapasite analizi ve DNA hasarına karşı koruyucu aktivitenin belirlenmesini içeren yedi farklı çalışma gerçekleştirilmiştir. Her bir analizden elde edilen veriler ile SPSS istatistik programı kullanılarak one-way anova ve Tukey analizleri uygulanarak farklılıklar belirlenmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak bildirilmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1, probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotiklerin, alfa-amilaz inhibe edici aktivite sonuçları SPSS istatistik programı kullanılarak one-way anova ve Tukey analizleri uygulanarak değerlendirilmiş ve farklılıklar belirlenmiştir ($P<0,05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in Antioksidan Özellikler:

4.1.1 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in DPPH (2,2,-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürücü aktivitesi

Çalışmada yaygın bir yöntem olan DPPH radikal süpürücü aktivite yöntemi uygulanmış ve prebiyotik L-EPS-KMP1 ve askorbik asidin DPPH radikal süpürücü aktivite sonuçları Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Prebiyotik L-KMP1'in %DPPH radikal süpürücü aktivitesi.

DPPH radikali, nitrojen köprüsünün bir atomunda bir proton radikal süpürücüsüne maruz kalma sırasında indirgenen eşleşmemiş bir elektrona sahip kararlı bir radikaldir. Antioksidan, DPPH radikali ile etkileşime girerken hidrojen atomlarını veya elektronları DPPH'ye aktarır, böylece serbest radikal karakterlerini nötralize eder (Liu vd. 2011). Şekil 4.1.'de görüldüğü gibi, prebiyotik L-EPS-KMP1 için artan derişimler ile DPPH radikal süpürücü aktivitenin arttığı belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit en düşük derişimi olan 0,5 mg/mL'de %96,38±0,37 inhibisyon göstermiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için en yüksek %DPPH inhibisyon aktiviteleri 10 mg/mL'de %37,19±3,66 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre prebiyotik L-EPS-KMP1'in DPPH radikalinin süpürme kabiliyeti olduğu görülmektedir.

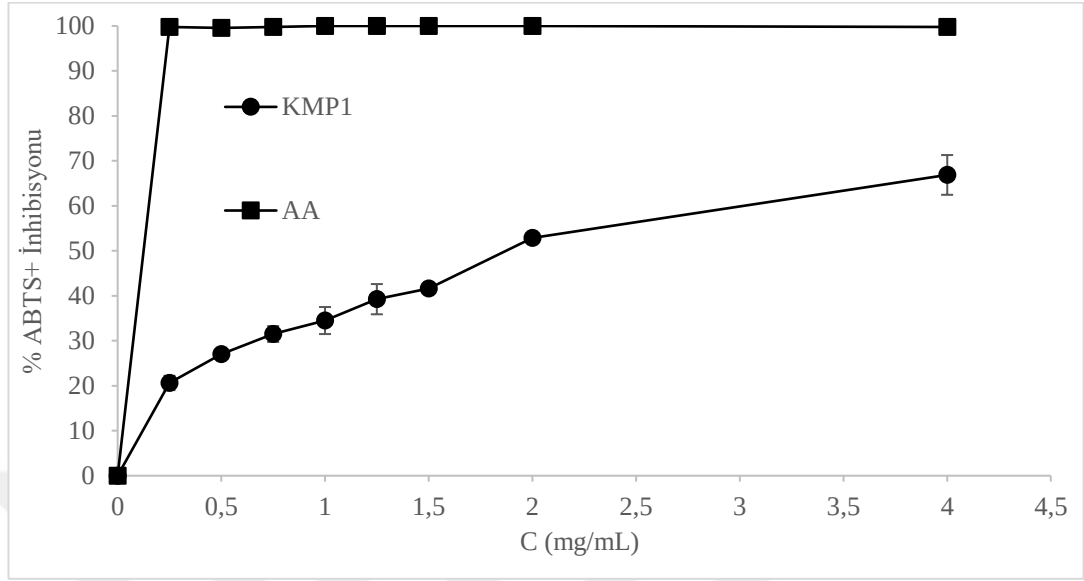
Yapılan çalışmalarla da farklı LAB'lardan elde edilen EPS'lerin DPPH aktivitesi gösterilmiştir. Riaz Rajoka vd. (2018) anne sütünden izole ettikleri *Lactocaseibacillus rhamnosus*'dan elde ettikleri EPS'ler ile yaptıkları DPPH deneyinde 0,2 ile 4,0 mg/mL

arasında değişen derişimlerde en yüksek değeri, 4 mg/mL derişimde %37,90 (EPS114) ve %63,4 (EPS111) bulmuşlardır. Bomfim vd. (2020) *Lactobacillus plantarum* CNPC003 elde edilen EPS'nin DPPH ile antioksidan aktivite belirleme çalışmasında 4 mg/mL EPS derişimde %40,72±1,20 aktivite belirlerken, 8 mg/mL EPS derişiminde aktivitenin %51,52±1,10 olduğunu belirlemişlerdir. Saleem vd. (2021) *L. brevis*'den elde edilen EPS'ler ile yapılan antioksidan çalışmalarında DPPH radikal süpürme yeteneği S123 EPS'nin numunedeki S123 EPS derişimi ile ilişkili olduğunu ve en yüksek temizleme oranının (>%65) yüksek derişimlerde olduğunu (100 µg/mL) bildirmiştir. Fuyuan turşusundan izole edilen *Limosilactobacillus fermentum* suşundan elde edilen EPS ile yapılan DPPH çalışmasında 4 mg/mL derişimde EPS1, EPS2 ve EPS3 fraksiyonlarının ve ham EPS'nin DPPH serbest radikal süpürme aktiviteleri sırasıyla %24,85±4,19; %15,55±0,96; %37,92±1,47 ve %60,50±2,86 olarak tespit edilmiştir (Wang vd. 2020). Literatürde farklı kaynaklardan elde edilen LAB'lardan elde edilen EPS'ler ile yapılan antioksidan çalışmalarında DPPH radikal süpürücü aktivitesinin yüksek olduğu belirlenmişken prebiyotik L-EPS-KMP1'in DPPH radikal süpürücü aktivitesinin literatürdeki EPS'lere göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Prebiyotikler üretildikleri ortama, stres koşullarına ve bakterilerin türüne göre değişiklik göstermektedir. Bu yüzden prebiyotik L-EPS-KMP1'in DPPH radikal aktivitesinin düşük olması elde edildiği kaynağa, bakterinin türüne ve kültür ortamındaki oluşan stres faktörlerine bağlı oluşan farklılıklardan kaynaklandığı dşnlmştir.

4.1.2 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbentiazolin-6-sülfonik asit) radikal süpürücü aktivitesi

Kromojenik bir redoks radikali olan ABTS⁺ aynı zamanda kararlı bir radikaldir. Hem suda hem organik çözücülerde çözündüğünden hem hidrofilik hem de hidrofobik antioksidan aktivite tayininde kullanılabilmektedir (Yıldız vd. 2019). Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve askorbik asidin ABTS⁺ radikal süpürücü aktivite sonuçları şekil 4.2.'de gösterilmiştir. Test edilen prebiyotik L-EPS-KMP1'in artan derişimlerine paralel olarak ABTS radikal süpürücü aktivitelerinin arttığı belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asitin en düşük derişimi olan 0,25 mg/mL'da %100±0,09 inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için en yüksek %ABTS⁺ inhibisyonu 4 mg/mL'de %66,88±4,42 olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar

prebiyotik L-EPS KMP1 oldukça yüksek ABTS⁺ inhibisyon yeteneğinin olduğunu göstermiştir.

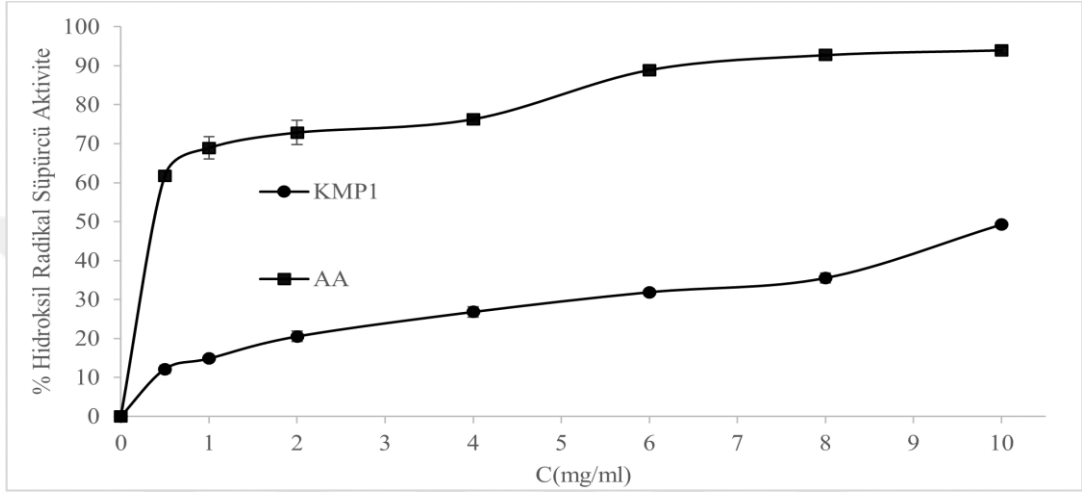


Şekil 4.2. Prebiyotik L-KMP1'in %ABTS⁺ radikal süpürücü aktivitesi.

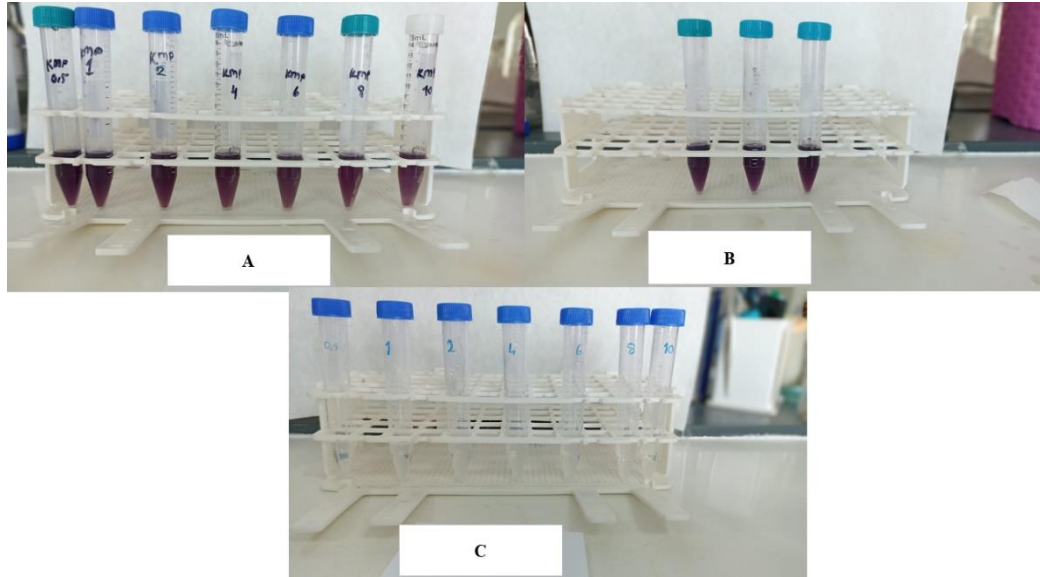
Literatürde farklı kaynaklardan izole edilen LAB'lerden elde edilen EPS'lerin ABTS aktivitesinin olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Bomfim vd., 2020; Liu vd., 2016; Min vd., 2019). Min vd. (2019) *L. plantarum* JLAU103 suşundan elde ettikleri EPS ile yaptıkları çalışmada 7,0 mg/mL'nin üzerindeki derişimlerde %50,0'den fazla ABTS⁺ radikal süpürme yüzdesi sergilediğini, 10,0 mg/mL EPS derişimde radikal süpürücü aktivitenin maksimum %65,5'e ulaştığını gözlemlemişlerdir. *Lacticaseibacillus paracasei*'den elde edilen EPS'ler ile yapılan başka bir çalışmada, EPS2 (%52,46±0,92) ve EPS1 (%52,25±1,21)'in ABTS⁺ serbest radikali süpürme aktiviteleri olduğu tespit edilmiştir (Xiao vd., 2021). *L. fermentum*'dan elde edilen CFP ve CFE den oluşan iki EPS fraksiyonu ile yapılan çalışmada ise ABTS⁺ süpürme kapasitesi sırasıyla %99,53±0,53 (CFP) ve %98,28±1,76 (CFE) olarak belirlenmiştir (Wang vd., 2019). Elde ettikleri EPS'yi postbiyotik ya da paraprobiyotikler ile kullanınca %100'e yakın ABTS⁺ radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğunu göstermişlerdir (Wang vd. 2019). Prebiyotik L-EPS-KMP1'in ABTS⁺ radikal süpürücü aktivitesi *L. plantarum* JLAU103 suşundan elde edilen 10,0 mg/mL EPS'nin aktivitesinden fazla olduğu belirlenmiştir. Literatürdeki farklı kaynaklardan ve farklı türlerden elde edilen EPS'lerin benzer aktiviteye sahip olabileceği tespit edilmiştir.

4.1.3 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in hidroksil radikalleri süpürücü aktivitesi

Hidroksil radikali, hemen hemen tüm biyolojik moleküllerle (proteinler, lipidler ve karbonhidratlar) reaksiyona girebilen güçlü bir oksidandır (Santanam, Ramachandran, ve Parthasarathy, 1998). Hidroksil radikalleri temizleme aktivitesi H_2O_2 ile oluşturulan hidroksil radikallerinin temizlenmesi ile belirlenmiş ve prebiyotik L-EPS-KMP1 ve askorbik asidin hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçları Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in hidroksil radikalleri süpürücü aktivitesi.



Şekil 4.4. A) Prebiyotik L-EPS-KMP1'in hidroksil radikal giderme aktivitesi
B) Blank çözeltisini hidroksil radikal süpürme aktivitesi
C) Çözücünün (sc) hidroksil radikal giderme aktivitesi.

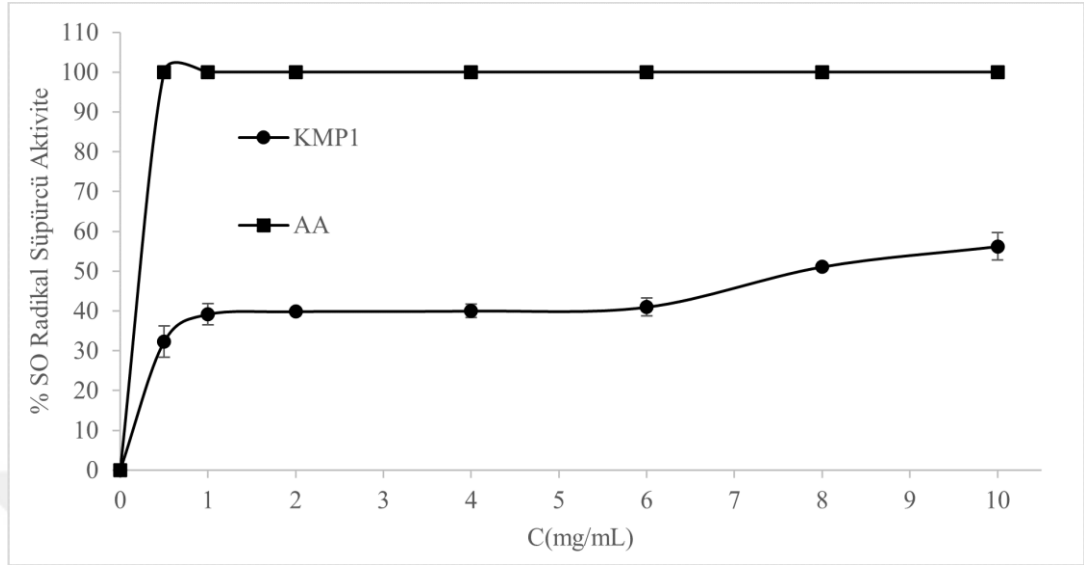
Prebiyotik L-EPS-KMP1'in artan derişimlerine paralel olarak hidroksil radikal süpürücü aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit için en düşük derişim olan 0,50 mg/mL'de hidroksil radikalleri süpürücü aktivitesinin $61,78 \pm 1,36$ olduğu tespit edilmiştir. 6 mg/mL askorbik asit derişiminde hidroksil radikal süpürme aktivitesinin $100 \pm 0,77$ olduğu, daha yüksek derişimlerde ise aktivitenin sabit kaldığı gözlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in hidroksil radikalleri süpürme aktivitesi 10 mg/mL'de derişimde $49,27 \pm 0,64$ olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, prebiyotik L-EPS-KMP1'in hidroksil radikalleri süpürücü aktivitesinin olduğunu göstermiştir.

Sütten izole edilen *L. rhamnosus* ZFM231 şusundan elde edilen EPS'ler ile yapılan çalışmada 5 mg/mL'de EPS-1, EPS-2, EPS-3 ve EPS-4'ün hidroksil radikali süpürücü aktivitelerinin sırasıyla %24,7; %33,9; %41,7 ve %49,7 olduğu belirlenmiştir (Hu vd. 2021). Wang vd. (2020) Fuyuan turşusundan izole edilen *L. fermentum* şusundan elde edilen EPS ile yapılan hidroksil radikali süpürücü aktivite için, 4 mg/mL'lik en yüksek derişimde temizleme aktiviteleri EPS3 ve ham EPS için sırasıyla $47,03 \pm 2,82$ ve $61,67 \pm 3,58$ olarak tespit etmişlerdir. Lai vd. (2014) SDR lahana turşusu örneklerinden izole ettikleri *Lactobacillus* şuşları ile yaptıkları çalışmada, izole edilen 4 şuş arasında *L. brevis* D7 %51,2 inhibisyon oranı ile en yüksek hidroksil radikal süpürücü kabiliyetine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Literatürdeki çalışmalarla karşılaştırdığımızda prebiyotik L-EPS-KMP1'in daha yüksek ve askorbik aside bezer bir aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in *L. fermentum*'dan elde edilen EPS'lere (Wang vd. 2020) ve *L. brevis* D7'den elde edilen EPS benzer bir aktivite sahip olduğu gösterilmiştir. EPS'lerdeki hidroksil radikali süpürücü aktivitenin farklı olması bakterinin türüne ya da EPS'nin çeşidine göre üzerlerinde bulundurdıkları yan grupların değişmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

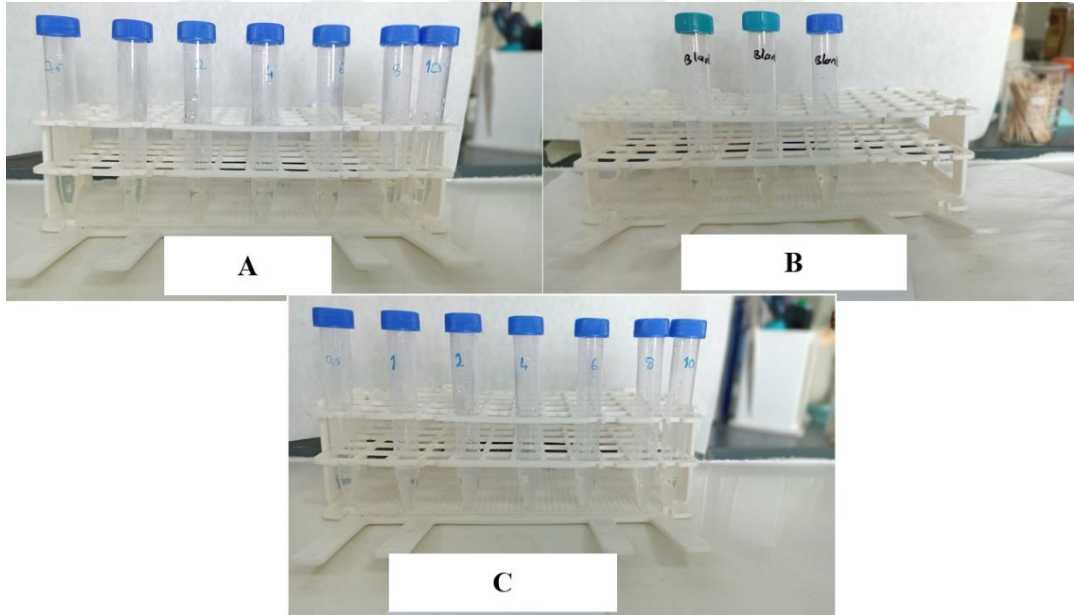
4.1.4 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi

Prebiyotik L-EPS-KMP'in ve askorbik asidin süperoksit anyonu süpürücü aktivite sonuçları Şekil 4.5.'te gösterilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asidin süperoksit anyonu süpürme aktivitesi en düşük derişim olan 0,50 mg/mL'de $100 \pm 0,70$ olarak belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in süperoksit radikalleri süpürme aktivitesi 10 mg/mL derişiminde $56,22 \pm 3,41$ olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar prebiyotik L-EPS-KMP1'in süperoksit radikal süpürme aktivitesinin

olduğunu göstermiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in süperoksit anyonu süpürücü aktivite deneyine ait görseller Şekil 4.6.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Prebiyotik L-EPS KMP1'in süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi.



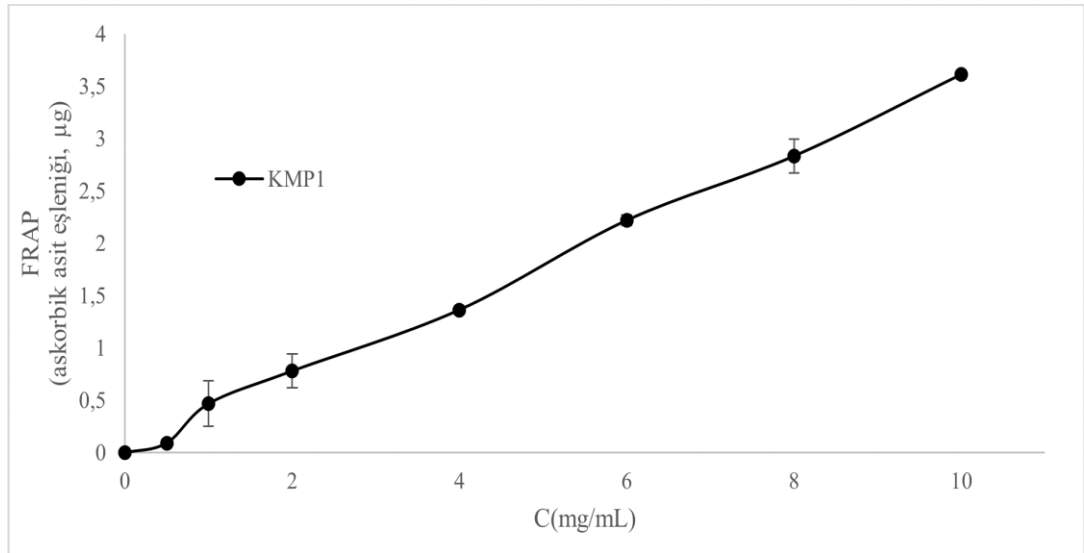
Şekil 4.6. A) Prebiyotik L-EPS-KMP1'in süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi
B) Blank çözeltisini süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi
C) Sc'nin süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi.

Yapılan çalışmalarla LAB'lardan elde edilen EPS'lerin süperoksit radikal süpürme aktivitesini olduğu bildirilmiştir (Huang vd., 2020; Sun vd., 2020). Hu vd. (2021) sütten izole edilen *L. rhamnosus* ZFM231 şusundan elde edilen EPS'nin EPS-4, EPS-3, EPS-2 ve EPS-1 fraksiyonlarının 5 mg/mL'lik bir derişimde süperoksit süpürme

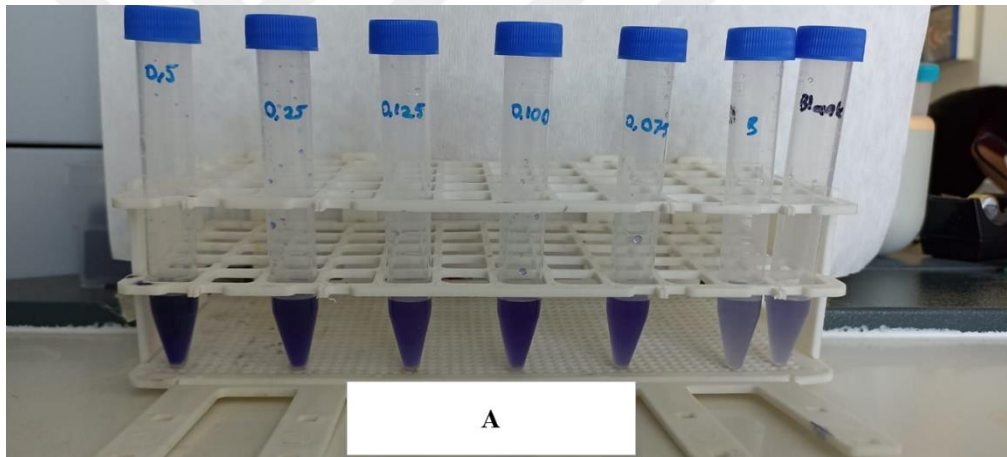
oranı sırasıyla %45,6, %40,6, %35,5 ve %18,8 olarak bildirmişlerdir. Zhang vd. (2017), *L. plantarum* YW11'den elde edilen EPS ile yaptıkları çalışmada, EPS'nin tüm derişimlerinde (0,25-0,5-1,0-2,0 ve 3,0 mg/mL) radikallere karşı derişime bağılı bir şekilde süpürme aktivitesinin olduğunu göstermişlerdir. Bu araştırmacılar süperoksit radikal süpürücü aktivitenin en düşük ve en yüksek EPS derişimlerinde %3,42 ile %62,71 arasında olduğunu bildirmişlerdir. *L. plantarum* KX041 kaynaklı EPS'nin 0-8 mg/mL aralığındaki derişimlerinde süperoksit radikal süpürücü aktivitesinin olduğunu ve süpürücü aktivitenin 8 mg/mL için %70,34 olduğu tespit edilmiştir (Wang vd., 2017). Prebiyotik L-EPS-KMP1, *L. plantarum* YW11'den elde edilen EPS ve *L. plantarum* KX041 kaynaklı EPS'nin derişimleri artarken süperoksit anyonu süpürücü aktivitenin arttığı gösterilmiştir (Zhang vd. 2017). Fakat *L. rhamnosus* ZFM231 şusundan elde edilen EPS fraksiyonlarının kendi içlerinde süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi azaldığı görülmüştür (Hu vd., 2021). Bu çalışmalarla karşılaştırdığımızda Prebiyotik L-EPS-KMP1'in süperoksit radikal süpürücü aktivitesi vardır. Bunun sebebi farklı bakteri türleri ve kültür ortamına göre EPS'lerin yapısının değişmesiyle süperoksit anyonu süpürücü aktiviteye olan etkilerinin değiştiği düşünülmektedir.

4.1.5 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in demir indirgeme antioksidan gücü (Ferric reducing antioxidant power-FRAP)

FRAP yöntemi, antioksidan gücü ifade eden hızlı, ucuz ve esnek bir yöntem olduğundan serum, plazma, lizat ve özüt gibi çeşitli biyolojik örneklerde ölçüme izin vermektedir. Metot, asidik ortamda Fe^{3+} iyonlarının antioksidanlar tarafından Fe^{2+} ya indirgenmesiyle renkli kompleks oluşumuna dayanmaktadır. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in demir indirgeme antioksidan gücü incelenmiş, sonuçlar askorbik asit eşleniği olarak Şekil 4.7.'de gösterilmiştir. Test edilen prebiyotik L-EPS-KMP1'in artan derişimlerine paralel olarak demir indirgeme antioksidan gücünün arttığı gözlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in demir indirgeme antioksidan gücü 10 mg/mL derişimde $3,61 \pm 0,04$ µg askorbik asit eşleniği olarak belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltilisinin demir indirgeme antioksidan gücü deneyine ait görseller Şekil 4.8.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için demir indirgeme antioksidan gücü (askorbik asit eşleniği, µg).



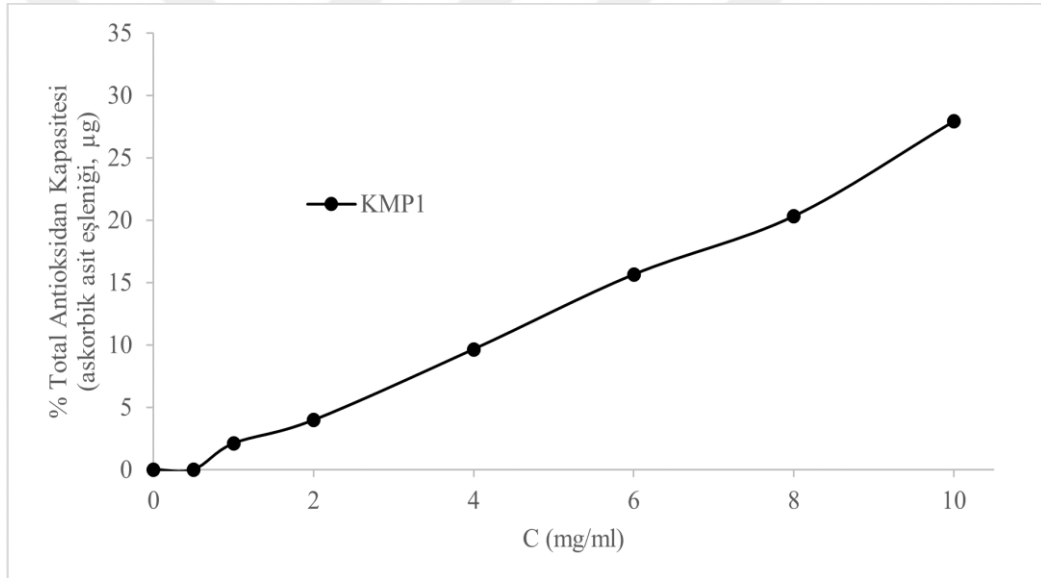
Şekil 4.8 A) Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve blank çözeltisinin demir indirgeme antioksidan gücü (µg askorbik asit eşleniği).

Bomfim vd. (2020), glukoz ve fruktooligosakkarit içeren iki farklı besiyerinde geliştirdikleri *L. plantarum* CNPC003 suşu tarafından üretilen EPS-Glu ve EPS-FOS'un 8 mg/mL derişimi ile yaptıkları FRAP çalışması sonucunda EPS-FOS'un, (1279±10,63 µmol FeSO₄/g) EPS-Glu'dan (1131±5,31 µmol FeSO₄/g) daha yüksek elektron verme kapasitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Wang vd. (2020), *L. fermentum* S1 tarafından üretilen EPS'nin 4 mg/mL derişimde 200,0 µmol FeSO₄/g olarak bildirmişlerdir. Adelekan vd. (2020) farklı laktik asit bakterilerinden elde ettikleri EPS'ler ile yaptıkları çalışmada, EPS'nin artan derişimlerinde FRAP aktivitesinin arttığını ve en yüksek aktivitenin *L. fermentum*'da (12,89 mg AAE/mL) en düşük aktivitenin ise *L. plantarum* (5,62 mg AAE/mL) türlerinde olduğunu tespit

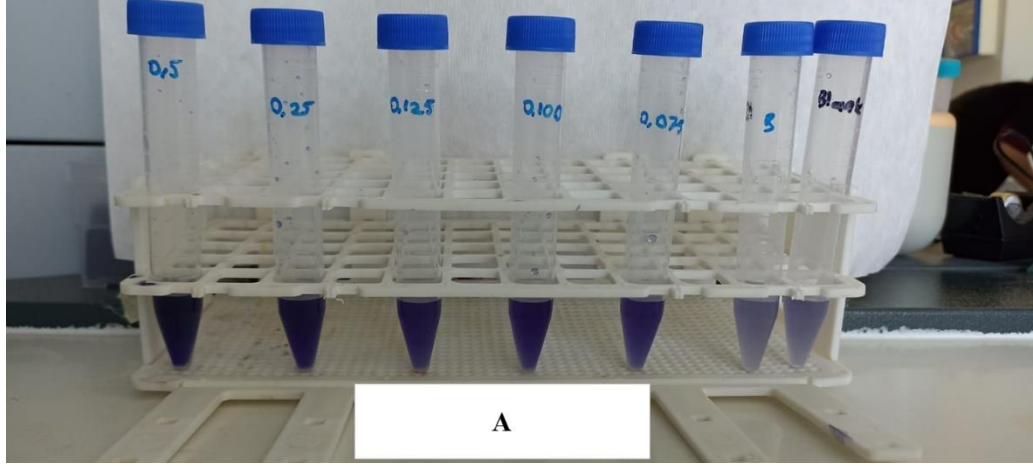
etmişlerdir. Bu çalışmalarla karşılaştırdığımızda, prebiyotik L-EPS-KMP1 in daha düşük derişiminde daha yüksek FRAP aktivitesi vardır. Ayrıca çalışmamız askorbik asit eşlenişı olarak yapılmış ilk çalışma örneğı olmuştur.

4.1.6 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in total antioksidan kapasite analizi

Prebiyotik L-EPS-KMP1'in total antioksidan kapasitesi incelenmiş, sonuçlar askorbik asit eşlenişı olarak Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Test edilen prebiyotik L-EPS-KMP1'in artan derişimlerine paralel olarak total antioksidan kapasitelerinin arttığı belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in total antioksidan kapasitesi 10 mg/mL derişimde $27,93 \pm 1,25$ µg askorbik asit eşlenişı olarak tespit edilmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltisinin total antioksidan kapasitesine ait görseller Şekil 4.10.'da gösterilmiştir.



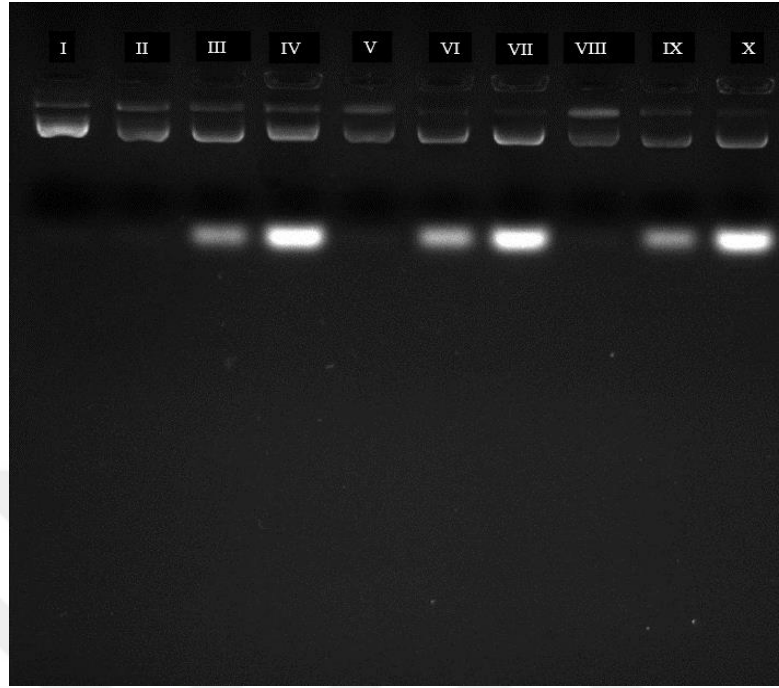
Şekil 4.9. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için total antioksidan kapasitesi (askorbik asit eşlenişı, µg).



Şekil 4.10. A) Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve blank çözeltisinin total antioksidan kapasitesi (μg askorbik asit eşleniği).

Bouallegue vd. (2020) yaptıkları çalışmada elde ettikleri levanın toplam antioksidan aktivitesinin sonuçlarını, pozitif kontrol olarak kullanılan BHA (bütillenmiş hidroksianisol) ile karşılaştırmış ve levanın düşük antioksidan aktivitesinin olduğu bildirmişlerdir. *Enterobacter cloacae*'dan izole edilen EPS ile yapılan çalışmada, 500 ile 1500 $\mu\text{g/mL}$ EPS derişimlerinde total antioksidan aktivite gallik asit aktivitesi ile karşılaştırıldığında, EPS'nin 1200 $\mu\text{g/mL}$ 'ye kadar derişime bağı antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Prakash Shyam vd. 2021). Dilna vd. (2015) *L. plantarum* RJF4'ten izole etikleri EPS ile yaptıkları çalışmada, saflaştırılmış EPS'nin güçlü antioksidan olduğunu ve askorbik aside kıyasla %31,32 toplam antioksidan kapasitesinin olduğunu belirlemişlerdir. Liu vd. (2019) ev yapımı Sichuan turşusundan izole edilen *L. plantarum* HY tarafından üretilen EPS (HY-EPS) ile askorbik asidin derişime bağı bir şekilde toplam antioksidan kapasitesini araştırdıklarında, HY-EPS'nin toplam antioksidan kapasitesinin %24,08 olduğunu bildirmişlerdir. Literatürdeki bu çalışmalarla karşılaştırdığımızda prebiyotik L-EPS-KMP1'in daha düşük bir total antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Farklı bakteri türlerinden elde edilen EPS'ler farklı olmaktadır. Bu nedenle elde edilen EPS'lerin farklı bir aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

4.1.7 Prebiyotik L-EPS KMP1 DNA hasarına karşı koruyucu aktivitenin belirlenmesi



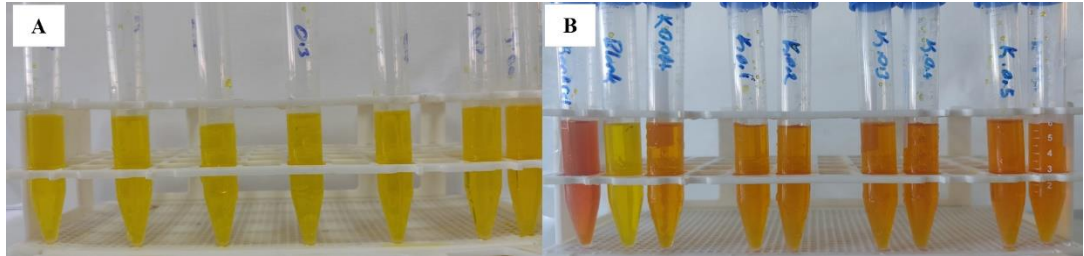
Şekil 4.11. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in plazmit DNA kırılmaları üzerindeki koruyucu etkisi, olmadan inkübe edilen DNA (I); Fenton reaksiyonundan üretilen $\bullet\text{OH}$ ile birlikte (II-V-VIII; %0,01-0,1-1), Fenton reaktanı ve prebiyotik L-EPS-KMP1 ile sırasıyla 4 ve 10 mg/mL'de inkübe edilmiş DNA (III-IV, VI-VII; IX-X).

Prebiyotik L-EPS-KMP1'in Şekil 4.11'de gösterildiği gibi DNA hasarı projektif etkileri vardır. Plazmit DNA H_2O_2 'ye maruz kalmadığında baskın olarak süpersarmal ve daha az miktarda halkasal formda bulunmuştur (I), Fe^{2+} ve H_2O_2 (II-V-VIII; %0,01-0,1-1) varlığında $\bullet\text{OH}$ radikalının plazmid DNA'ya hasar verdiği süpersarmal formun halkasal forma dönüşümü ile doğrulanmıştır. Bu çalışmada, başka çalışmaların aksine plazmidin lineer formları görülmemiş (Pohl vd. ,2018; Wei vd., 2006), Xu vd. (2019) çalışmasında yer alan şekilde iki forma rastlanmıştır. Farklı H_2O_2 maruziyetlerine karşı, prebiyotik L-EPS-KMP1 örnekleri 4,00 ve 10,00 mg/mL derişimlerinin uygulanması ile DNA'nın süper sarmal formunun artması, hidroksil radikalının neden olduğu oksidatif hasara karşı koruyuculuk olarak yorumlanmıştır (Şekil 4.11 III-IV, VI-VII; IX-X). Genel olarak %0,01'lik H_2O_2 derişiminin önemli düzeyde kırık oluşturmadığı gözlenmiştir. Ancak prebiyotik L-EPS-KMP1'in bu düzeydeki hasara karşı koruyucu etkisi olduğu, 10 mg/mL'lik prebiyotik L-EPS-KMP1 derişirimi 4 mg/mL'lik derişiminden daha etkili olduğu belirlenmiştir. %0,1'lik H_2O_2 derişimi

plazmid üzerindeki hasarının giderilmesinde de prebiyotik L-EPS-KMP1'in, derişim bağımlı olarak etkili bulunmuştur. %1'lik H₂O₂ uygulamasının oluşturduğu hasarda ise kısmen koruyucu olduğu Şekil 4.11.'de görülmüştür.

4.2 Prebiyotik L-EPS-KMP1'in Antidiyabetik Aktivite Belirlenmesine Yönelik Analizler

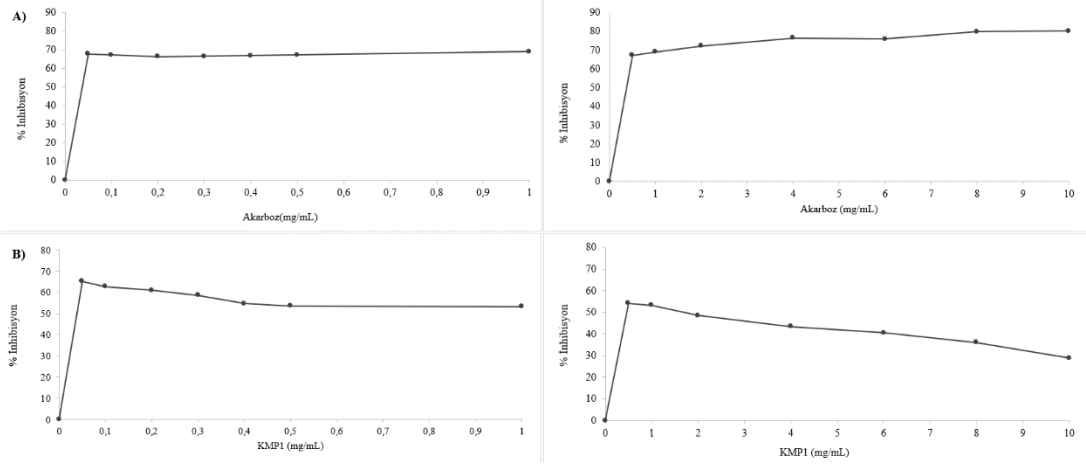
Akarboz örneğinin antidiyabetik aktivitesi kontrol, blank ve prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltilerinin antidiyabetik aktivite inhibisyonu Şekil 4.12.'de gösterilmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in 0,05 mg/mL derişiminde tespit edilen α -amilaz enzim inhibisyonunun daha yüksek olduğu (%65,19 $\pm$ 0,65) belirlenmiştir. Artan derişimlerde aktivitenin azaldığını gözlemlenmiştir. Düşük derişimlerde prebiyotik L-EPS-KMP1'in enzimin aktif bölgesine bağlanarak enzimi inhibe ettiği ve bu nedenle daha yüksek inhibisyon gözlemlendiği düşünülmektedir. Pozitif kontrol olarak kullanılan akarbozun ise derişimleri arttıkça inhibisyonun arttığı belirlenmiştir. Akarboz örneğinin antidiyabetik aktivitesi kontrol, blank ve prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltilerinin antidiyabetik aktivite sonucu oluşan renk farkı Şekil 4.13.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. A) Akarboz örneğinin antidiyabetik aktivitesi B) Kontrol, blank Prebiyotik L-EPS-KMP1 çözeltilerinin antidiyabetik aktivitesi.

İnsan vücudundaki en temel biyokimyasal reaksiyon karbonhidrat metabolizmasıdır, çünkü karbonhidrat metabolizmasındaki herhangi bir değişiklik Tip-2 Diabetes mellitus (T2DM) gibi metabolik bozukluklarla sonuçlanmaktadır (Wang vd., 2016). α -amilaz nişastadaki α -1,4-O-glikozidik bağları etkili bir şekilde hidrolize ederek glukoz açığa çıkarabildiğinden, α -amilaz aktivitesinin inhibisyonu, kan glukoz seviyesini düşürebilmektedir (Bordbar vd., 2005). *L. plantarum* RJF-4'ten elde edilen EPS ile yapılan çalışmada, 100 ve 800 μ g/mL derişimlerde EPS'nin α -amilaz inhibitör etkisinin sırasıyla %25 ve %40 olduğunu ve α -amilaz enzim aktivitesinde doza bağımlı

bir inhibisyon olduğu gösterilmiştir (Dilna vd., 2015). *Lactiplantibacillus plantarum*'dan elde edilen LS5-EPS ve LU5-EPS'lerinde α -amilaz enzim aktivitesinin doza bağlı olduğu en yüksek aktivitenin ise 400 $\mu\text{g/mL}$ derişiminde sırayla %34,43 ve %35,13 olduğu belirlenmiştir ancak daha yüksek derişimlerde çalışılmamıştır (Hashemi vd. 2022). *L. plantarum* BR2'den elde edilen EPS'nin 800 $\mu\text{g/mL}$ derişiminde ise α -amilaz enzim inhibisyon aktivitesi %21 olarak bildirilmiştir (Sasikumar vd., 2017). Al-Nabulsi vd. (2022) test ettikleri EPS-L ve EPS-S'nin 1 mg/mL derişiminde α -amilaz enzim aktivitesi sırayla %47,8 ve %53,8 olarak tespit ederken, enzim aktivitesi 5 mg/mL derişiminde %60 ve %65,7 olarak belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmalarla karşılaştırıldığında L-EPS-KMP1'nin 0,05 mg/mL derişiminde tespit edilen α -amilaz enzim inhibisyon aktivitesinin daha yüksek olduğu (%65,19) tespit edilmiştir. Ayrıca yayınlanan araştırmalardan farklı olarak alışmamızda L-EPS'lerin 0,05 ile 10 mg/mL arasındaki geniş bir aralığı çalışılarak konsantrasyon artışında enzim inhibisyon aktivitesinin azaldığı ve düşük derişimlerde aktivitenin daha yüksek olduğu belirlenerek literatüre yeni veriler kazandırılacağını düşünmekteyiz. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda EPS'lerin antidiyabetik mekanizması tam olarak anlaşılamamış ancak inhibisyon aktivitesinin EPS'nin kaynağına, şeker monomerlerine, moleküler ağırlığına ve kullanılan konsantrasyonuna bağlı olabileceği bildirilmiştir (Huang vd., 2020; Sasikumar vd.,2017). Enzim inhibisyon aktivitesi, EPS'nin hipoglisemik etkiye yol açan diyabetik enzimlerin aktif bölgelerine bağlanarak ilerlemelerini sınırlamasından kaynaklanabilir. Ayrıca EPS tarafından diyabetik enzimlerin inhibisyonu glikoz homeostazından sorumlu insülin-düzenleyici-glukoz trasnporter tip 4 (GLUT4) aktivitesini artırabilir. EPS ile yapılacak müdahalelerde Tip 2 diyabette (T2D) kullanılan insülin iğnelerinin sayısı kontrol edilebileceği bildirilmiştir (Ayyash vd., 2020). Akarboz, vogliboz ve miglitol gibi anti-diyabetik ilaçlar karın şişkinliğine, bağırsak bozulmasına ve ishale neden olmakta buyüzden gastrointestinal rahatsızlıkları olan hastalar için uygun bulunmamaktadır (Wang vd., 2016). Son zamanlarda kimyasal ilaçlar yerine alternatif olarak kullanılabilecek doğal ve toksik olmayan probiyotiklerden elde edilen bakteriyel EPS'ler ile ilgili araştırmalar artmaktadır.



Şekil 4.13. A) Akarbozun %inhibisyonu B) Prebiyotik L-EPS KMP1'in antidiyabetik aktivitesi.

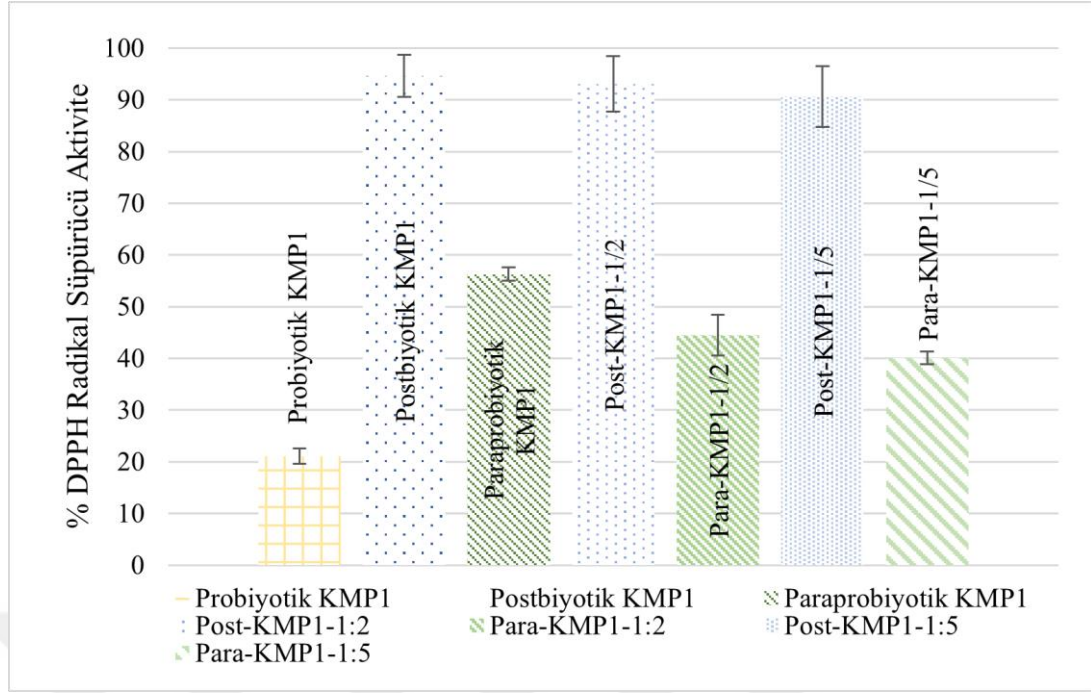
4.3 Probiyotik *L. brevis* KMP1 Suşunun, Postbiyotiğinin Ve Paraprobiyotiğinin Antioksidan Analizleri

Antioksidan çalışmalarında kullanılacak *L. brevis* KMP1 suşunun (probiyotik KMP1), *L. brevis* KMP1 suşundan elde edilen postbiyotik (Postbiyotik KMP1), paraprobiyotikler (paraprobiyotik KMP1) ve 1:2-1:5 oranında seyreltilmiş örnekleri deneylerden önce taze olarak hazırlanmıştır. Probiyotik KMP1 suşunun besiyerinden ve olası kirleticilerin antioksidan aktiviteyi etkilemesi ve bakterilerin vermiş olduğu absarbonsı önlemek için deney bekleme süresinden sonra santrifüj yapılarak ölçümleri yapılmıştır.

4.3.1 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik DPPH radikal süpürücü aktiviteleri

DPPH radikal süpürücü aktivitesi, bir antioksidan molekülün serbest radikal yakalama potansiyelinin değerlendirilmesi için rutin olarak uygulanır ve saf bileşiklerin antioksidan özelliklerinin değerlendirilmesi için standart ve kolay kolorimetrik yöntemlerden birisidir (Mishra vd., 2012). Probiyotik KMP1 suşunun, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik ve bunların 1:2 ve 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin DPPH radikal süpürücü aktivitesi Şekil 4.14.'te verilmiştir. Probiyotik KMP1 suşunun DPPH radikal süpürücü aktivitesinin postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'den farklı ve düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. Probiyotik KMP1 suşunun besiyerinden ve olası kirleticilerin DPPH aktivitesini etkilemesi ve bakterilerin vermiş olduğu

absorbansı engellemek için deney bekleme süresinden sonra santrifüj işlemi uygulanarak spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Probiyotik KMP1 suşunun DPPH radikal süpürücü aktivitenin $\%21,10 \pm 1,52$ olduğu belirlenmiştir. Postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'in DPPH radikal süpürücü aktiviteleri sırasıyla $\%94,61 \pm 4,11$ ve $\%56,27 \pm 1,28$ olarak tespit edilmiştir. Postbiyotik KMP1' in DPPH radikal süpürücü aktivitesinin yüksek olmasından dolayı örnekler 1:2 ve 1:5 oranında seyreltilerek analizler yapılmıştır. Seyreltilen postbiyotik KMP1 örneklerinde DPPH radikal süpürücü aktivite sırayla $\%93,12 \pm 5,35$ (1:2 seyreltme) ve $\%90,64 \pm 5,88$ (1:5 oranında seyreltme) olarak belirlenmiştir. Postbiyotik örnekleri birbirlerinden farklı olmasa da seyreltme oranına bağlı olarak DPPH radikal süpürücü aktivitesinin kısmi olarak azaldığı gözlemlenmiştir. Seyreltilen paraprobiyotik KMP1 örneklerinde DPPH radikal süpürücü aktivite ise $\%44,12 \pm 3,93$ (1:2 seyretim) ve $\%40,06 \pm 1,16$ (1:5 seyreltme) olarak tespit edilmiştir. Paraprobiyotik KMP1'in ana stoğunun seyrelmiş örneklere göre daha fazla DPPH radikal süpürücü aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1 ile bunların seyreltilmiş örneklerinin DPPH radikal süpürücü aktivite sonuçları karşılaştırıldığında en yüksek DPPH inhibisyonu postbiyotik KMP1 ana stoğunda $\%94,61 \pm 4,11$ olarak belirlenmiştir. *L. brevis* KMP1 suşunun ölü ya da cansız hücreleri olan ana stok paraprobiyotik KMP1 de ise $\%56,27 \pm 1,28$ ile canlı hücrelerden (probiyotik KMP1) daha fazla DPPH inhibisyonuna sahip olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.14. Probiyotik KMP1 suşunun, postbiyotik KMP1, paraprobityotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin DPPH radikal süpürücü aktivite sonuçları.

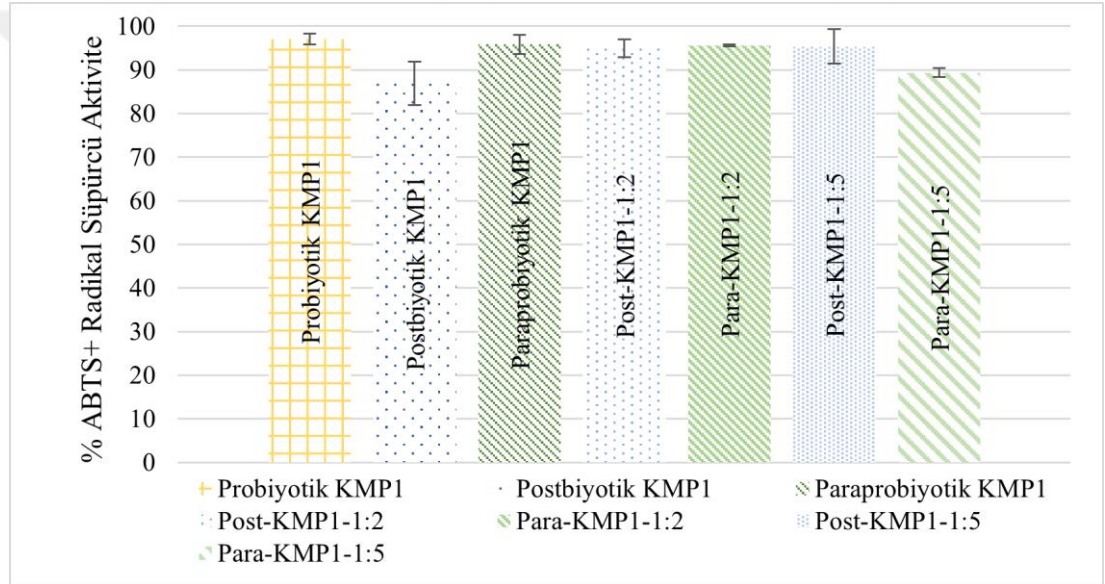
Literatürde probiyotik, postbiyotik ve paraprobityotiklerin DPPH aktivitelerinin belirlendiği farklı çalışmalar bulunmaktadır (Kang vd., 2021; de Oliveira Coelho vd., 2019). Azat vd., (2016) geleneksel olarak fermente edilmiş Xinjiang peynirinden izole edilen izole edilen *L. rhamnosus* R4 suşu ile yaptıkları çalışmada en yüksek DPPH aktivitesinin %53,78 olduğunu bildirmişlerdir. Jang vd., (2019) yaptıkları çalışmada *L. brevis* LAP2'nin (10^8 – 10^9 kob/mL'de %18,8–%68,35) DPPH radikal inhibisyon aktivitesinin canlılığa bağlı bir şekilde arttığını bildirmişler. Başka bir çalışmada ise *Liquorilactobacillus satsumensis*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *Sacharomyces cerevisiae*'nin hem hücre içi hem de hücre dışı içeriğinin DPPH inhibisyonunun sırayla %20 ve %28 olduğu gösterilmiştir (de Oliveira Coelho vd., 2019). Kang vd., (2021) fermente gıdalardan izole edilen *Bifidobacterium bifidum* MG731'ı ısıyla öldürülmesiyle elde edilen paraprobityotiklerin %90,6 DPPH süpürme aktivitesinin olduğunu belirlemişlerdir.

Probiyotik KMP1 suşunun yapılan çalışmalara göre daha düşük bir DPPH süpürme aktivitesinin olduğu gözlemlenmiştir. Fakat postbiyotik KMP1, paraprobityotik KMP1 literatürdeki çalışmalardan daha fazla aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca postbiyotik KMP1, paraprobityotik KMP1'den elde edilen seyreltilmiş örneklerin sonuçları literatür için bir ilk olmuş ve düşük derişimlerde DPPH süpürme

aktivitesinin olduğu belirlenmiştir. *L. brevis* KMP1'den elde edilen postbiyotik ve paraprobiyotik ile yapılan DPPH süpürme aktivitesi ilk defa bu çalışmada belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlarla literatüre katkı sağlayacağımızı düşünmekteyiz.

4.3.2 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik ABTS⁺ radikal süpürücü aktivitesi

ABTS⁺ radikal süpürücü aktivite tek elektron transfer reaksiyonuna bağlı test edilen bir antioksidan testidir (Rodríguez-Bonilla vd., 2017). Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ve 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin ABTS⁺ radikal süpürücü aktiviteleri Şekil 4.15.'te verilmiştir.



Şekil 4.15. Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin ABTS⁺ radikal süpürücü aktivite sonuçları.

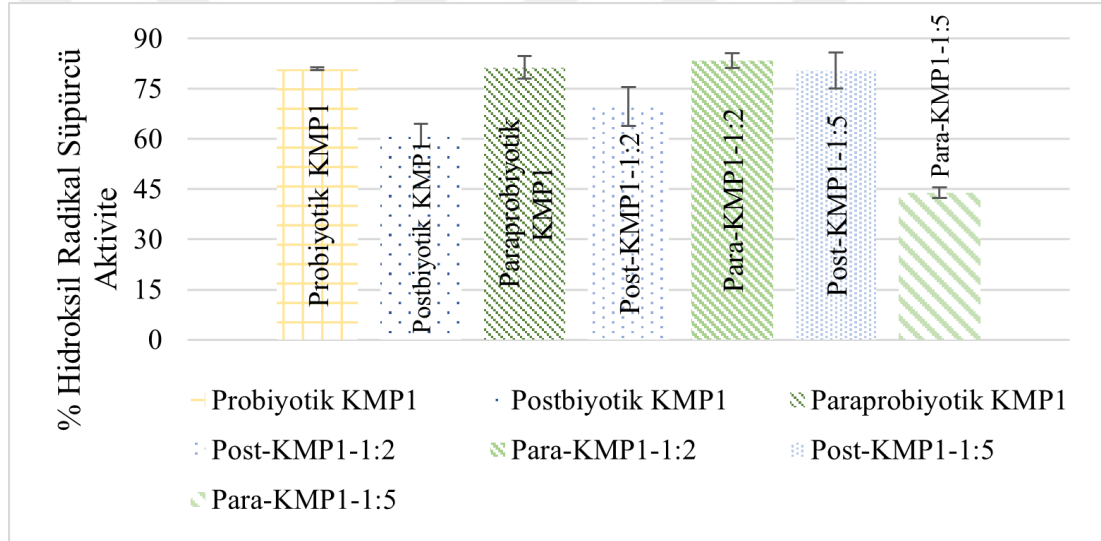
Çalışmamızda probiyotik KMP1 suşunun %97,01±1,25 ABTS radikal süpürücü aktivitesi olduğu belirlenmiştir. Elde edilen stok postbiyotik KMP1'in aktivitesinin düşük olduğu (%86,90±4,97) tespit edilmiştir. Postbiyotik KMP1'in seyreltilen örneklerinde ABTS⁺ radikal süpürücü aktiviteleri sırasıyla %94,95±2,94 (1:2 seyreltme) ve %95,37±4,20 (1:5 seyreltme) olarak belirlenmiştir. Postbiyotik KMP1'in seyreltilen örneklerinin ABTS⁺ radikal süpürücü aktivitesinin stok postbiyotiğe göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. *L. brevis* KMP1 suşundan elde edilen stok paraprobiyotik KMP1'in ABTS⁺ radikal süpürücü aktivitesi %95,85±2,21 olarak tespit edilmiştir. Paraprobiyotik KMP1'in seyreltilen örneklerinde ABTS⁺

radikal süpürücü aktivite sırasıyla $95,55 \pm 2,86$ (1:2 seyreltme) ve $89,34 \pm 6,53$ (1:5 seyreltme) olarak belirlenmiştir. Paraprobiyotik KMP1'in 1:5 seyreltilen örneğinin ABTS⁺ inhibisyonun paraprobiyotik KMP1 (ana stok) ve paraprobiyotik 1:2'ye göre düşük olduğu gözlenmiştir. Paraprobiyotik KMP1 ve postbiyotik KMP1'lerin ABTS⁺ radikal süpürücü aktivite arasında fark olmamasına rağmen postbiyotik KMP1'de seyreltme devam ettikçe radikal süpürücü aktivite artarken, paraprobiyotik KMP1'de aktivitenin kısmi olarak azaldığı belirlenmiştir. Probiyotik KMP1 suşunun ve suştan elde edilen postbiyotik KMP1 ile paraprobiyotik KMP1'in ABTS⁺ radikal süpürücü aktiviteleri olduğu belirlenmiştir.

Literatürde probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotiklerin DPPH aktivitelerinin belirlendiği farklı çalışmalar bulunmaktadır (Liu vd., 2020; Wang, vd., 2019). Yapılan çalışmalarda *L. brevis* suşu ile elde edilen sonuçlarda ABTS⁺ radikal süpürme aktivitesini düşük tespit edilmesinden dolayı aynı türün postbiyotikleri (hücresiz süpernatant) kullanılmıştır (Bomfim vd., 2020; George-Okafor vd., 2020; Kariyawasam vd., 2021). Araştırmalarda pozitif kontrol olarak kullanılan ve antioksidan aktivite tespit edilen *L. rhamnosus* suşları ile çalışmalar bulunmaktadır (Kariyawasam vd., 2021). Kang vd.,(2021), insanlardan ve fermente gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin ısı ile öldürülmesiyle elde ettikleri paraprobiyotikler ile yaptıkları çalışmada; *B. bifidum* MG731 %99,5, *L. plantarum* MG989 %98,90 ve *L. salivarius* MG242 %97,1 aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Kariyawasam vd., (2021) *L. brevis* suşlarının ve prebiyotik olarak kullanılan fruktooligosakkaritler ile hazırlanan simbiyotik yoğurt örneklerinde ABTS⁺ radikal temizleme aktivitesini $31,92 \pm 0,79$ -% $46,43 \pm 1,02$ aralığında olduğunu göstermişlerdir. Postbiyotiklerin hayvan yemlerinde katkı olarak kullanımını araştıran Izuddin vd., (2020) *L. plantarum*'dan elde ettikleri postbiyotiklerin askorbik asit eşdeğerliği olarak ABTS⁺ radikal temizleme aktivitesi olduğunu ($202,831 \mu\text{g AAEAC/mL}$ ve $151,822 \mu\text{g AAEAC/mL}$) belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışmalara göre çalışmamızda kullanılan probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin ABTS⁺ radikal süpürücü aktivite çok yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin aktivitesinin stok çözeltilere yakın bir aktiviteye sahip olması düşük derişimlerde de yüksek aktiviteye sahip olması literatürde ilk örneği olmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlarla literatüre katkı sağlayacağımızı düşünmekteyiz.

4.3.3 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik hidroksil radikal süpürücü aktivitesi

Canlı organizmalarda, oksijenin suya indirgenmesi sürecinde sürekli olarak oluşan iki ana reaktif oksijen türü, süperoksit radikali ve hidroksil radikali vardır. Haber-Weiss reaksiyonunda hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit ve demir iyonlarının varlığında üretilir (Lipinski, 2011). Hidroksil radikalleri fazla üretildiğinde veya hücresel antioksidan savunma bozulduğunda hücre hasarına neden olur. Ayrıca, serbest demir seviyelerinin, oksijen varlığında çeşitli radikal reaksiyonların başlatılmasında ve katalize edilmesinde kritik bir rol oynamaktadır Probiyotik KMP1 suşunun, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin hidroksil radikal süpürücü aktiviteleri Şekil 4.16.'da verilmiştir.



Şekil 4.16. Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin hidroksil radikal süpürme aktivitesi.

Çalışmamızda probiyotik KMP1 suşunun hidroksil radikal süpürme aktivitesi %80,94±0,41 olarak belirlenmiştir. Stok postbiyotik KMP1'in hidroksil radikal süpürme aktivitesi %61,17±3,36 olarak tespit edilmiştir. Postbiyotik KMP1'in seyreltme oranının artmasına paralel olarak aktivitesinin de arttığı gözlenmiştir. Postbiyotik KMP1'in 1:2 oranında seyreltilen örneklerinde hidroksil radikal süpürme aktivitesi %69,68±5,85 olarak belirlenirken, daha seyreltik olan postbiyotik KMP1'de (1:5 seyreltme) aktivitenin daha yüksek olduğu (%80,40± 5,41) belirlenmiştir. Stok paraprobiyotik KMP1'in hidroksil radikal süpürme aktivitesi %81,34±3,31 olarak belirlenirken, 1:2 oranında seyreltilen paraprobiyotik KMP1 inde (%83,39±2,29) stok

parabiyotiğe benzer bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak daha seyreltik olan (1:5 seyreltme) paraprobiyotik KMP1 de seyreltmeye bağlı olarak (%43,87±1,53) düştüğü gözlemlenmiştir. Stok paraprobiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'in 1:5 oranında seyreltme yapılan örneklerinin ve postbiyotik KMP1'in 1:2 oranındaki seyreltmelerinin probiyotik KMP1 ile benzer hidroksil radikali süpürücü aktivitesinin olduğu belirlenmiştir.

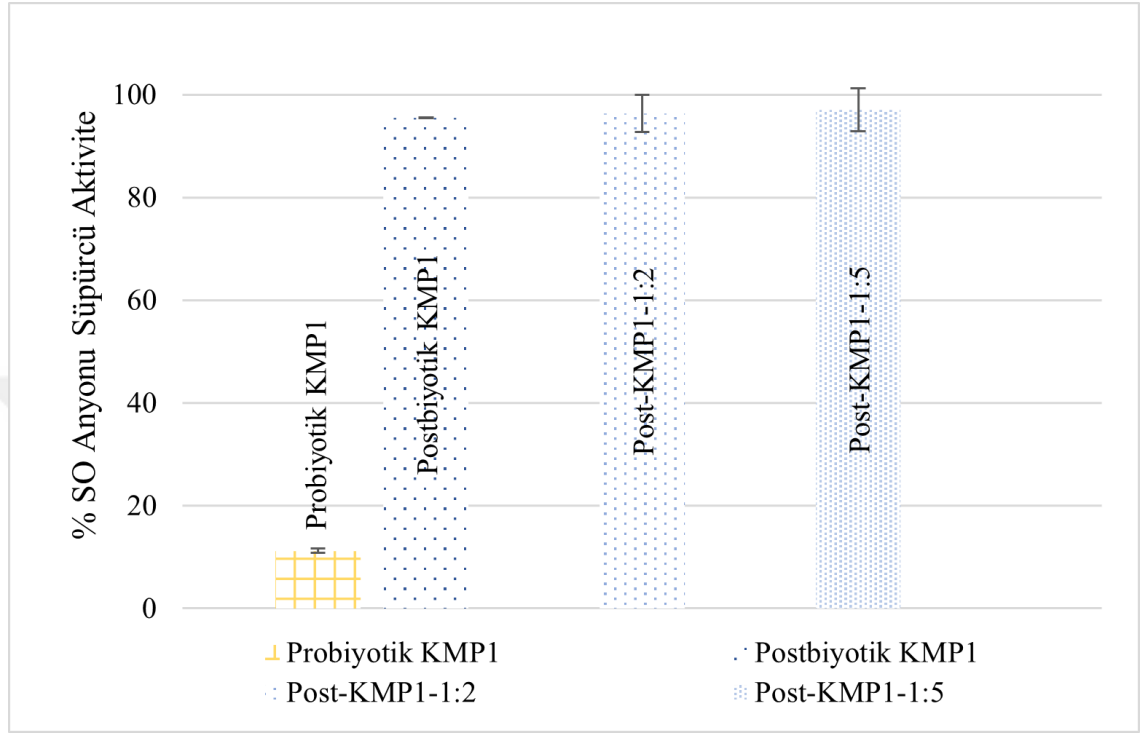
Hidroksil radikallerinin uzaklaştırılması, hem gıda sistemlerinde hem de hücrelerde fonksiyonel antioksidan savunma için hayati öneme sahip olduğu için probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotiklerin hidroksil radikal süpürücü aktiviteleri araştırılmaktadır (Huang vd., 2012; Rajoka vd., 2019; Singh vd., 2019). Çin'de Shi vd., (2019) tarafından peynirden izole edilen LAB'lar ile yapılan bir çalışmada; *L. plantarum* 27319 suşunun CFCS'si en yüksek hidroksil radikali süpürme aktivitesi gösterdiği (416.67 ± 5.92 askorbik asit eşleniği) bildirilmiştir. Rajoka vd., (2019) *L. rhamnosus* bakterisinden elde ettikleri hücresiz kültür süpernatantlarının (CFS) 45 µg/mL'lik bir derişimde, hidroksil radikal süpürme aktivitelerinin sırasıyla %80,4±0,5, %72,5±0,3 ve %66,6±0,1 olduğunu belirlemiştir.

Yan vd., (2020) *L. plantarum*, *L. acidophilus* ve *L. helveticus* 'dan bakterisinden elde ettikleri CFE ve CFS için sırasıyla %57,06±0,2, %38,80±1,7 %37,4±2,0 ve %44,0±3,0, %54,5±1,2, %57,00±2,2 hidroksil radikal süpürme aktivitelerinin olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmalara göre çalışmamızda kullanılan probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin hidroksil radikal süpürme aktivitesinin çok yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca postbiyotik ve paraprobiyotik olarak hidroksil radikal süpürme deneyinde ilk çalışma örneği olmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlarla literatüre bu konuda önemli katkı sağlayacağımızı düşünüyoruz.

4.3.4 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik süperoksit anyonu süpürücü aktivitesi

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksidin hidrojen peroksit ve oksijen moleküllerine dismutasyonunu katalize eden bir antioksidan enzimdir. Bir antioksidan enzim olan SOD, yalnızca süperoksidin hidrojen peroksit ve oksijene dönüşümünü katalize etmekle kalmayıp aynı zamanda bağışıklık tepkilerini de etkileyerek enflamatuvar

hastalıklarda önemli bir patojenik rol oynar (Nguyen vd., 2020). Probiyotik KMP1 suşunun, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin süperoksit radikal süpürme aktivitesi sonuçları Şekil 4.17.'de verilmiştir.



Şekil 4.17. Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin süperoksit radikal süpürme aktivitesi.

Çalışmamızda probiyotik KMP1 suşunun ve paraprobiyotik KMP1'in süperoksit radikal süpürücü aktivitesinin olmadığı belirlenmiştir. Süperoksit radikal süpürme aktivitelerinin olmaması probiyotik KMP1 suşunun katalaz negatif olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. *L. brevis* KMP1 suşundan elde edilen postbiyotik KMP1 ve bunun 1:2 ile 1:5 oranında seyreltmelerinde süperoksit radikal süpürme aktivitesi tespit edilmiştir. Postbiyotik KMP1'in artan derişimlerine paralel olarak aktivitesinde kısmi olarak aratarak pozitif kontrole (askorbik asit) yakın bir temizleme aktivitesinin olduğu gözlenmiştir. Stok postbiyotik KMP1, 1:2 ve 1:5 oranında seyreltmelerinde süperoksit anyonu süpürücü aktivitenin sırayla %95,50±0,06, %96,28±3,60 ve %97,03±4,19 olduğu belirlenmiştir.

Süperoksit anyonu, biyomoleküllerle reaksiyona girme ve doku hasarına neden olma yeteneğine sahip bir tür serbest radikaldır. Ayrıca süperoksit radikallerinin proteinlerde, lipitlerde ve DNA'da oksidatif hasara neden olan hidrojen peroksit,

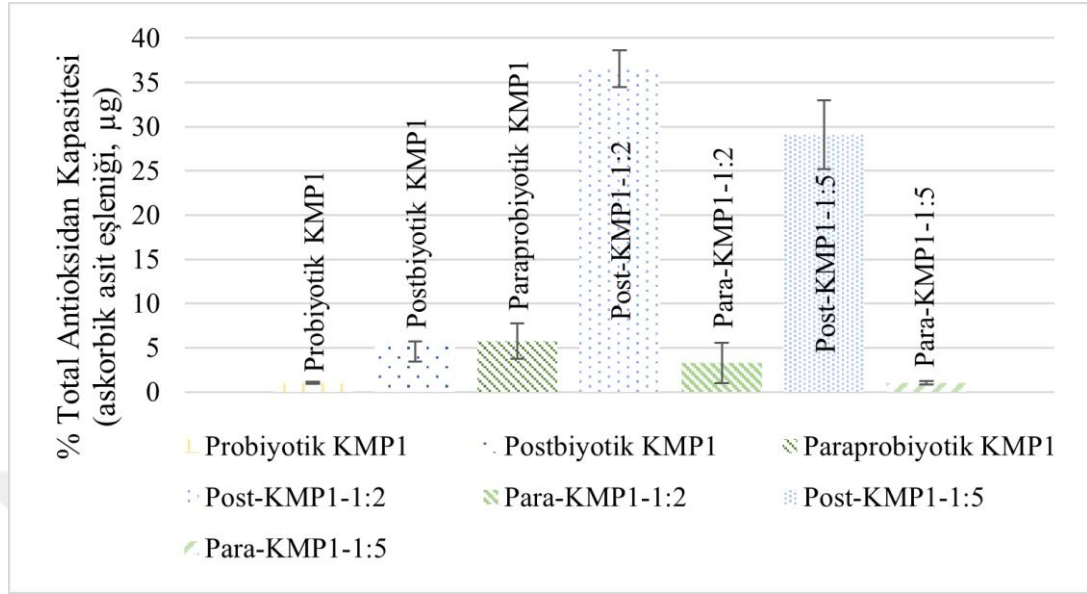
singlet oksijen ve hidroksil radikalının oluşumunu arttırdığı bildirilmiştir. Bazı laktobasil suşlarının antioksidan özellikler sergileyen çeşitli metabolitlerle kompleksler oluşturan Mn^{2+} iyonlarını biriktirerek SOD enziminin yokluğunu telafi ettiği belirtilmiştir (Serata vd., 2018). Hidrojen peroksit, katalazlar ve peroksidazlar tarafından su ve oksijene ayrıştırılır. Laktobasil suşlarının çoğu katalaz negatiftir (Zotta vd., 2017). Bu nedenle yapılan çalışmalarda probiyotiklerin ve postbiyotiklerin süperoksit radikal süpürme aktivitesinin antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır (Chooruk vd., 2017; Lin vd., 2017; Wang ve Li, 2022). Shi vd., (2019) 14 LAB suşuyla yaptıkları bir çalışmada, standart probiyotik suş olan *L. rhamnosus* GG'de tespit edilen (%76) süperoksit anyon radikali süpürme aktivitesinden daha yüksek aktiviteyi *L. plantarum* 27100 (%86,84±0,45) ve *L. plantarum* 27103 (%85,18±0,24) suşlarında belirlemişlerdir. Riaz Rajoka vd., (2019) elde ettikleri hücresiz kültür süpernatantlarının (CFCS) tümünde numunelerinin, 45 µg/mL'lik derişimde süperoksit radikal süpürme aktivitelerinin %61,0±0,3; %49,3±0,7 ve %51,4±0,1 değerlerine ulaştığı tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar CFCS örneğinin süperoksit anyonu süpürme aktivitesini, daha önce *L. plantarum* EPS'leri için bildirilenlerden (%18) daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir (Riaz Rajoka vd., 2019).

Yapılan bu çalışmalarda ve çalışmamızda kullanılan paraprobiyotik KMP1 ve 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin aktivitesinin olmadığı belirlenmiştir. Bunun nedeni olarak probiyotik KMP1'in katalaz negatif olduğu için süperoksit radikal süpürme aktiviteye sahip olmağı düşünülmüştür. Probiyotik KMP1 suşunun düşük süperoksit radikal süpürme aktivitesi bulunurken postbiyotik KMP1'in yüksek bir süperoksit radikal süpürme aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Postbiyotik KMP'in yüksek bir süperoksit radikal süpürme aktiviteye sahip olması EPS ya da diğer metabolitlerden olduğu düşünülmüştür.

4.3.5 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik total antioksidan kapasite analizi

Antioksidan kapasite deneyleri, hidrojen atomu transferine dayalı deneyler ve elektron transferine dayalı deneyler olarak bilinmektedir (Yang vd., 2021). Fosfomolibdat yöntemi, asidik pH'da Mo^{6+} 'nın Mo^{+5} 'e indirgenmesine ve antioksidan varlığında yeşil bir molibdat fosfat kompleksinin oluşmasına dayanmaktadır (Bouallegue vd. 2020). Probiyotik KMP1 suşunun, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2

ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin total antioksidan aktivite sonuçları askorbik asit eşleniği olarak Şekil 4.18.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.18. Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin total antioksidan kapasitesi.

En yüksek total antioksidan kapasite askorbik asit eşleniği postbiyotik KMP1'in 1:2'in oranında seyreltilen örneğinde $36,53 \pm 2,05 \mu\text{g}$ ve 1:5 oranında seyreltiminde ise $29,06 \pm 3,90 \mu\text{g}$ olarak belirlenmiştir. Stok postbiyotik KMP1'in ve probiyotik KMP1 suşunun total antioksidan aktiviteleri ise sırayla $5,52 \pm 0,19$ ve $1,01 \pm 0,11 \mu\text{g}$ olarak tespit edilmiştir. Paraprobiyotik KMP1 de $5,76 \pm 1,98 \mu\text{g}$ aktivite gözlenirken paraprobiyotiğin seyreltme oranı arttıkça paralel olarak total antioksidan kapasitenin azaldığı (1:2 seyreltmede $3,27 \pm 0,22 \mu\text{g}$ ve 1:5 seyreltmede $1,02 \pm 0,18 \mu\text{g}$ askorbik asit eşleniği) gözlenmiştir.

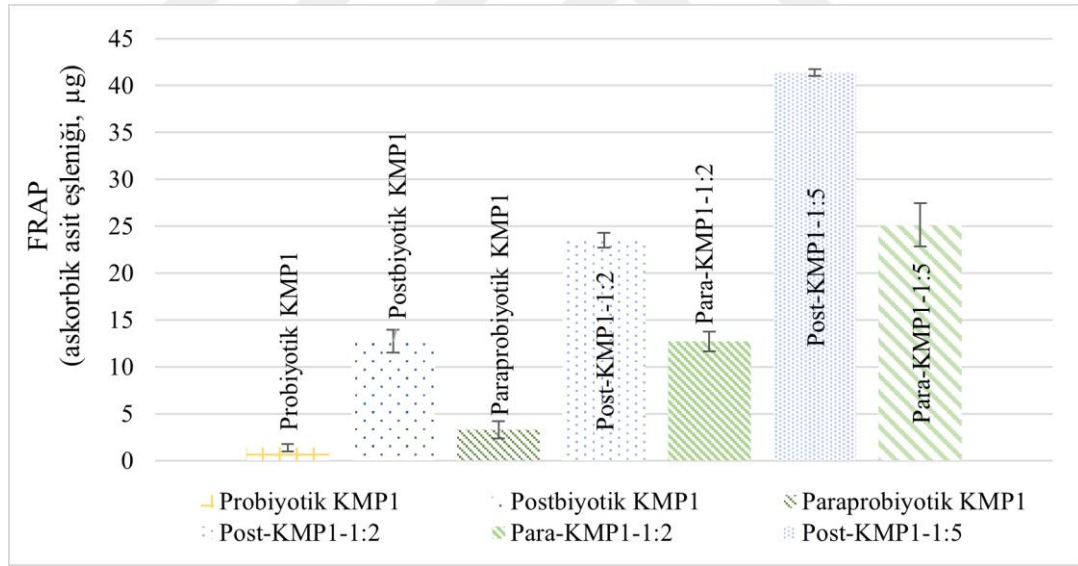
LAB'ların probiyotik özellikleri belirlemek için yapılan çalışmada hücresiz süpernatant (CFS), bozulmamış hücre (IC, probiyotik) ve hücre içi hücre serbest ekstraksiyonlar (CFE) kullanılmıştır (Wang ve Li, 2022). Bu araştırmacılar yaptıkları FRAP antioksidan çalışma sonuçlarında; LAB'ların CFE (postbiyotik) ve CFS'sinin (paraprobiyotik) toplam antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. *L. plantarum* ($1,19 \text{ FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O mmol/L}$) ve *L. acidophilus*'un ($1,21 \text{ FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O mmol/L}$) olduğu belirlenmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre CFS'si daha yüksek FRAP aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir. *L. paracasei* dışındaki suşların CFE'si önemli ölçüde daha yüksek toplam antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. *L.*

plantarum CFS (1,19 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ mmol/L) ve *L. acidophilus*'un CFS (1,21 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ mmol/L)

Literatürde asidik pH'da Mo^{6+} 'nın Mo^{5+} 'e indirgenmesin ile belirlenen total antioksidan kapasite analizi için probiyotik postbiyotik ve paraprobiyotik için çalışmamız ilk defa denenmiştir. İlk defa bizim çalışmamızda yapıldığı için literatüre bu konuda önemli katkı sağlayacağımızı düşünmekteyiz.

4.3.6 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotiklerin demir indirgeme antioksidan gücü (Ferric reducing antioxidant power-FRAP)

Asidik ortamda Fe^{3+} iyonlarının antioksidanlar tarafından Fe^{2+} 'ya indirgenmesiyle renkli kompleks oluşumuna dayanmaktadır (Parohan vd., 2019). FRAP aktivitesi; *L. brevis* KMP1 suşunun, *L. brevis* KMP1 suşundan elden edilen postbiyotik, paraprobiyotiklerin ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin demir indirgeme antioksidan güçleri askorbik asit eşleniği olarak Şekil 4.19.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.19 Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin demir indirgeme antioksidan gücü.

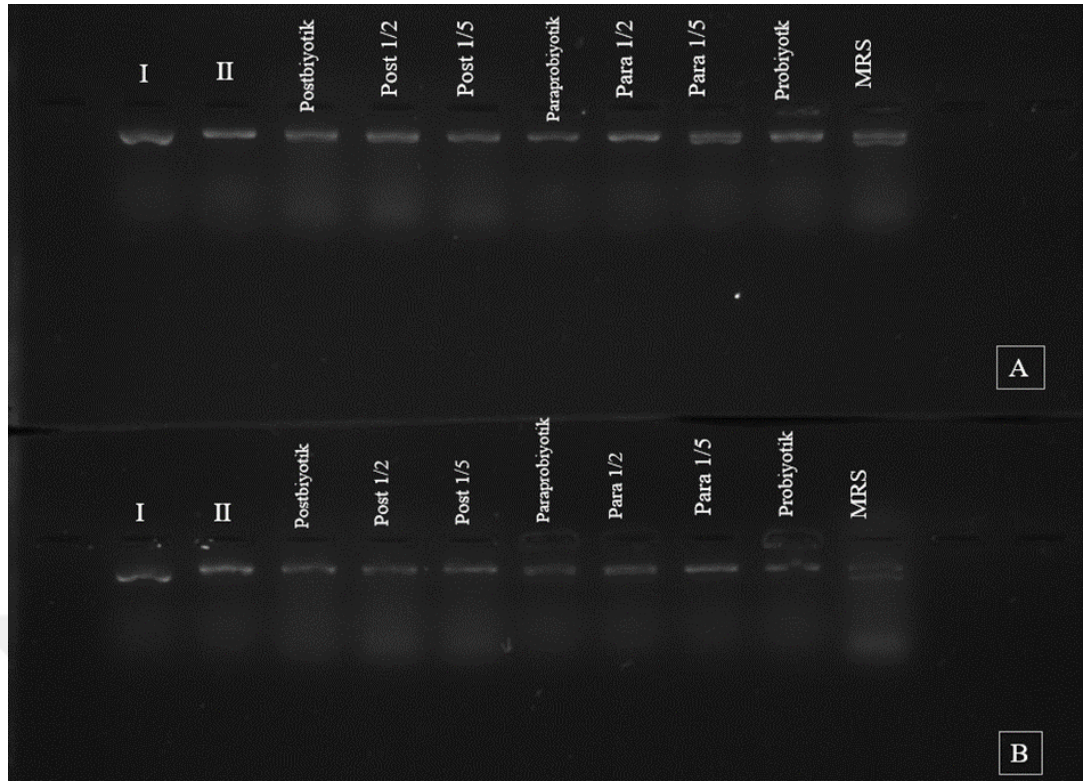
Probiyotik KMP1 suşunun demir indirgeme antioksidan gücü aktivitesi $12,70 \pm 0,40$ µg olarak belirlenmiştir. Probiyotik KMP1 suşunun, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin demir indirgeme antioksidan gücü olduğu ve artan seyreltmelerde antioksidan gücün arttığı tespit edilmiştir. Postbiyotik KMP1'in demir indirgeme antioksidan gücü aktivitesi

12,71±1,21 µg olarak belirlenirken, 1:2 ve 1:5 oranında seyreltilen postbiyotik örneklerinde aktivite sırayla 23,49±0,77 ve 41,39±0,38 µg olarak bulunmuştur. Diğer taraftan paraprobiyotik KMP1 de demir indirgeme antioksidan gücü aktivitenin 3,29±0,94 µg olduğu gözlemlenirken, seyreltilen paraprobiyotik örneklerinde aktivite sırayla 12,71±1,04 µg (1:2 seyreltme) ve 25,13±2,29 µg (1:2 seyreltme) olarak belirlenmiştir.

Fermente edilmiş pirinç asitinden elde edilen 3 *Kluyveromyces marxianus* türüne ait mayalarda demir indirgeme antioksidan gücü 82,17–540,71 µmol TE/g DW olarak belirlenirken, test edilen *Lactobacillus paracasei* H4-11, *Lactobacillus fermentum* D1-1, *Lactobacillus casei* H1-8, *Lactobacillus reuteri* H2-12 suşlarında aynı aktivite 55,91–662,61 µmol TE/g DW aralığında olduğu bildirilmiştir (Liu vd., 2020). Literatürde postbiyotik ve paraprobiyotiklerin demir indirgeme antioksidan gücü aktivite çalışmalarına rastlanılmamıştır. *L. brevis* türünün postbiyotik ve paraprobiyotiğinin demir indirgeme antioksidan gücü ilk defa bu tez çalışmasında araştırılmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bulguların literatüre önemli katkılar sağlayacağını düşünmekteyiz.

4.3.7 Probiyotik, postbiyotik ve paraprobiyotik DNA hasarına karşı koruyucu aktivitenin belirlenmesi

Farklı H₂O₂ uygulamalarına karşı, probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ile postbiyotik örneklerinin 1:2-1:5 oranında seyreltmeleri, çözücüsü MRS broth ve paraprobiyotik KMP1, paraprobiyotik örneklerinin 1:2-1:5 oranında seyreltmeleri ile DNA hasarı belirlenmiştir.



Şekil 4.20. A) %0,01’lik H₂O₂ uygulama jel görüntüsü B) %0,1’lik H₂O₂ uygulama jel görüntüsü.

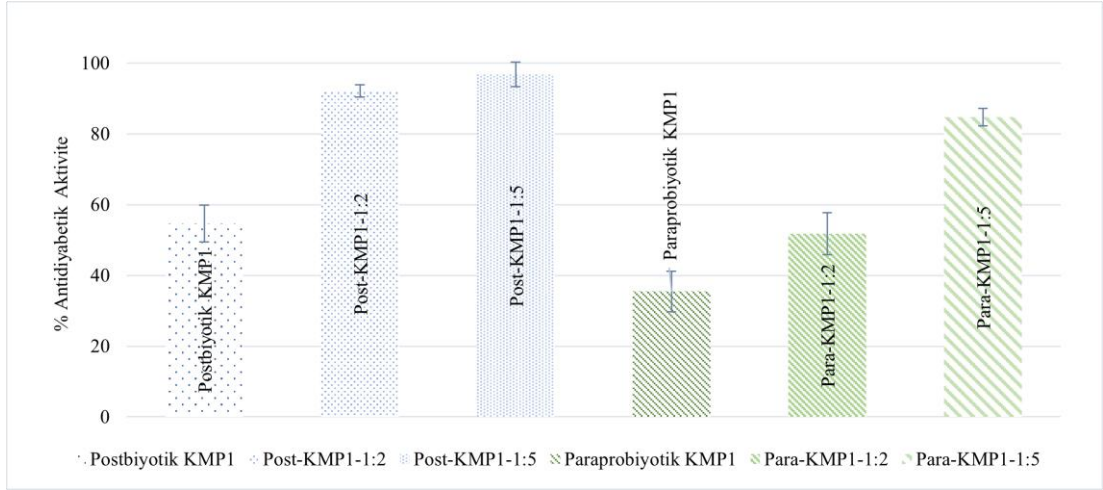
Şekil 4.20. A’da %0,01’lik H₂O₂ ve Şekil 4.20. B’de %0,1’lik H₂O₂ uygulamalarının kuyucuklardaki sırlaması I, kontrol grubu, II, uygulama grubu (plazmit DNA hariç çözeltiler), postbiyotik KMP1 ve postbiyotik örneklerinin sırayla 1:2 ile 1:5 oranında seyreltmeleri, paraprobıyotik KMP1 ve paraprobıyotik örneklerinin sırayla 1:2 ile 1:5 seyreltmeleri ve MRS sıvı besiyeri örnekleri olarak gösterilmiştir. Postbiyotik KMP1 ve paraprobıyotik KMP1’in %0,01 ve %0,1’lik H₂O₂ uygulamalarında DNA tamirinin olmadığı gözlenirken, %0,01 H₂O₂ uygulamasında sadece paraprobıyotik KMP1’in 1:5 oranındaki seyreltmesinin DNA’da kırık oluşturmadığı ve H₂O₂ hasarına karşı koruyucu olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.20. A). Postbiyotik çözücüsü olan MRS sıvı besiyeri kontrol olarak kullanılmış ve koruyucu aktivitesi tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında prebiyotik L-EPS KMP1’in DNA hasarı koruyucu etkisi olduğu belirlenirken, postbiyotik KMP1 de aynı aktivite gözlenmemiştir. Nowak vd., (2015) probiyotik bakteriler ile yaptıkları *in vitro* çalışmada *L. casei* 0919 ve *L. rhamnosus* 0908 suşlarının DNA hasarına karşı koruyucu etkileri olduğunu göstermişlerdir. Oksidatif stresin DNA, lipid ve protein yapılarına zarar verdiği bilinmektedir. de Oliveira Coelho vd., (2019) tarafından probiyotik özellikleri bulunan *Lactobacillus satsumensis* LPBF1, *L. mesenteroides* LPBF2 ve *Saccharomyes cerevisiae* üç suş ile

yapılan çalışmada suşların hidroksil radikalının neden olduğu hasara karşı DNA koruma etkisi gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan tez çalışmasında DNA hasarına karşı koruma aktivitesini belirleme deneyinde; *L. brevis* için ve *L. brevis*'den elde edilen postbiyotik ve paraprobiyotiklerin ilk çalışma örneği olmuştur.

Literatürde postbiyotik ve paraprobiyotiklerin DNA hasarına karşı koruma aktivitesini belirleme çalışmalarına rastlanılmamıştır. *L. brevis* türüne ait postbiyotik ve paraprobiyotiğinin DNA hasarına karşı koruma aktivitesi ilk defa bu tez çalışmasında araştırılmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bulguların literatüre önemli katkılar sağlayacağını düşünmekteyiz.

4.4 Probiyotik, Postbiyotik ve Paraprobiyotiklerin Antidiyabetik Aktivite Belirlenmesine Yönelik Analizler

Probiyotik KMP1 suşunun, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1 de antidiyabetik aktivitesi α -amilaz inhibisyon özelliği ile belirlenmiştir. Probiyotik KMP1 suşunun α -amilaz aktivitesini inhibe etmediği aksine α -amilaz aktivitesini $44,80 \pm 5,82$ artırdığı bulunmuştur. Probiyotik KMP1 suşunun α -amilaz inhibisyonunu belirlemek için ortama eklenen nişastayı *L. brevis* KMP1 suşunun besin olarak kullandığı için monomerlerine parçalamasından dolayı α -amilaz aktivitesinin artırdığı düşünülmektedir. Postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 seyreltmelerinin α -amilaz aktivitesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Seyreltme oranı ile doğru orantılı olarak antidiyabetik aktivitenin arttığı Şekil 4.21'de gösterilmiştir. Postbiyotik KMP1 de $54,85 \pm 5,23$ antidiyabetik aktivite tespit edilirken, 1:2 ve 1:5 oranındaki seyreltmelerinde aktivite sırayla $92,12 \pm 1,78$ ve $96,80 \pm 3,49$ olarak bulunmuştur. Diğer taraftan paraprobiyotik KMP1 ve bunun 1:2 ile 1:5 oranındaki seyreltmelerindeki α -amilaz inhibisyon aktivitesi sırayla $35,44 \pm 5,76$, $51,79 \pm 5,95$ ve $84,70 \pm 2,50$ olarak belirlenmiştir. Paraprobiyotik KMP1'in 1:5 oranında seyreltilmesi ile elde edilen örneklerin antidiyabetik aktivitesinin stok paraprobiyotik KMP1'den daha fazla olduğu gözlenmiştir. Postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'in 1:5 oranındaki seyreltmelerinde tespit edilen yüksek α -amilaz inhibisyon aktivitesinin, seyreltilmiş örneklerde bulunan metabolitler (postbiyotik) ve inaktif hücrede (paraprobiyotik) yer alan bileşenlerin enzimin aktif bölgelerine bağlanarak enzimi inhibe etmesiyle oluştuğu düşünülmektedir.



Şekil 4.21. Probiyotik KMP1 suşunun postbiyotik KMP1, paraprobityotik KMP1 ve bunların 1:2 ile 1:5 oranında seyreltilmiş örneklerinin antidiyabetik aktivitesi.

Yapılan çalışma ile *L. brevis* KMP1 suşunun probiyotik, postbiyotik ve paraprobityotiklerinin antidiyabetik etkisi α -amilaz inhibisyonu ile araştırılmıştır. Wang ve Li, (2022) yaptıkları çalışmada *L. plantarum* (%83,36), *L. delbrueckii* (%82,83), *L. paracasei* (%82,21) ve *L. casei* (%79,27) suşlarından elde edilen CFS'lerin α -amilazı inhibe ettiğini bildirilmiştir. Ayrıca bu araştırmacılar elde edilen sonuçlar ile LAB'nin α -amilaz inhibe edici aktivitenin esas olarak CFS'ye (fermentasyon ürünleri) bağlı olduğunu; bununla birlikte IC (bozulmamış hücreler) ve CFE (hücre içi maddeler) de tespit edilen α -amilaz inhibisyonunun CFS'den düşük olduğunu belirlemişlerdir. *L. brevis* suşu (probiyotik KMP1), *L. brevis* 'den elde edilen postbiyotik ve paraprobityotiklerin antidiyabetik aktivitesi ilk defa bu tez çalışmasında araştırılmıştır. Çalışmamızdan elde edilen bulguların literatüre önemli katkılar sağlayacağını düşünmekteyiz.

4.5 Antioksidan Aktivitelerinin İstatiksel Değerlendirilmesi

Prebiyotik L-EPS-KMP1'in DPPH, ABTS, hidroksil ve süperoksit anyonu radikallerinin süpürücü aktiviteleri için IC₅₀ değerleri Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in IC₅₀ değerleri.

Prebiyotik L-EPS-KMP1	IC ₅₀ değerleri (mg/mL)
DPPH süpürücü aktivite	14,15
ABTS süpürücü aktivite	1,98
OH radikal süpürücü aktivite	10,35
SO radikal süpürücü aktivite	7,43

Çalışma yer alan prebiyotik L-EPS-KMP1'in antioksidan aktivitelerini değerlendirmek amacıyla referans olarak askorbik asit (AA) kullanılarak DPPH, ABTS, hidroksil ve süperoksit anyonu radikallerinin süpürücü aktivitelerin ölçülmesi; ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP), total antioksidan kapasite analizi ve DNA hasarına karşı koruyucu aktivitelerinin belirlenmesini içeren yedi farklı çalışma gerçekleştirilmiştir. Her bir analizden elde edilen veriler ile SPSS istatistik programı kullanılarak one-way anova ve Tukey analizleri uygulanarak farklılıklar belirlenmiştir ($P<0,05$). Analizlerden elde edilen ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.2-4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 incelendiğinde, AA için grup içerisinde elde edilen sonuçların istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlenmiştir ($P\geq 0,05$). Gruplar tüm derişimler için AA sonuçlarının prebiyotik L-EPS-KMP1 sonuçlarından istatistiksel olarak farklı olduğu gözlenmektedir ($P<0,05$).

Çizelge 4.3 incelendiğinde, AA için grup içerisinde 0,25 mg/mL haricinde elde edilen sonuçların istatistiksel olarak farklı olmadığı ve %100'lük radikal sönümleyici aktivite belirlenmiştir ($P\geq 0,05$). Gruplar arasında ise 4 mg/mL haricindeki tüm derişimler için AA sonuçlarının prebiyotik L-EPS-KMP1 sonuçlarından istatistiksel olarak farklı olduğu gözlenmektedir ($P<0,05$).

Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve AA için hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir ($P<0,05$). En yüksek derişim için tüm gruplar arasında (AA ve prebiyotik L-EPS-KMP1 ve AA için hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçları) elde edilen sonuçların birbirinden farklı olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 4.5 incelendiğinde, tüm prebiyotik L-EPS-KMP1 için artan derişimler ile total antioksidan aktivelerin arttığı belirlenmiştir ($P\geq 0,05$).

Çizelge 4.7 incelendiğinde, AA için grup içerisinde elde edilen sonuçların istatistiksel olarak farklı olmadığı ve %100'lük radikal sönümleyici aktivite belirlenmiştir ($P\geq 0,05$). Derişim arttıkça radikal sönümleyici aktivitenin arttığı belirlenmiştir. Bu sonuç, IC_{50} sonuçlarıyla uyumlu bulunmuştur.

Çizelge 4.6 incelendiğinde, prebiyotik L-EPS-KMP1'in artan derişim ile ferrik indirgeyici antioksidan gücün arttığı belirlenmiştir. ($P\geq 0,05$).

Çizelge 4.2. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in ve AA için DPPH sonuçları (ortalama±standart sapma)

	0,5 mg/mL	1 mg/mL	2 mg/mL	4 mg/mL	6 mg/mL	8 mg/mL	10 mg/mL
AA	96,13±0,37 ^{aA}	96,21±0,22 ^{aA}	96,35±0,05 ^{aA}	96,44±0,05 ^{aA}	96,38±0,00 ^{aA}	96,41±0,05 ^{aA}	96,38±0,08 ^{aA}
Prebiyotik L-EPS-KMP1	1,97±0,81 ^{dB}	3,20±0,36 ^{dB}	8,40±1,10 ^{CB}	12,81±0,73 ^{CB}	21,21±1,79 ^{BB}	26,01±1,79 ^{BB}	41,34±3,66 ^{aB}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Çizelge 4.3. Prebiyotik L-EPS'ler ve (AA) için ABTS radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma)

	0,25 mg/mL	0,5 mg/mL	0,75 mg/mL	1 mg/mL	1,25 mg/mL	1,5 mg/mL	2 mg/mL	4 mg/mL
AA	99,72±0,12 ^{bA}	100,00±0,00 ^{aA}	99,93±0,12 ^{aA}	100,00±0,00 ^{aA}	99,96±0,07 ^{aA}	99,98±0,02 ^{aA}	100,00±0,00 ^{aA}	100,00±0,00 ^{aA}
Prebiyotik L-EPS-KMP1	20,63±1,13 ^{gB}	27,00±0,50 ^{fB}	31,50±1,25 ^{eB}	34,50±2,13 ^{dB}	39,25±2,38 ^{CB}	41,63±0,63 ^{CB}	52,88±0,38 ^{bB}	66,88±3,13 ^{aB}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Çizelge 4.4. Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve AA için hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).

	0,5 mg/mL	1 mg/mL	2 mg/mL	4 mg/mL	6 mg/mL	8 mg/mL	10 mg/mL
AA	61,78±0,9 ^{fA}	68,90±2,05 ^{dA}	69,87±2,02 ^{dA}	76,30±0,41 ^{cA}	88,90±0,14 ^{bA}	92,74±0,14 ^{aA}	93,97±0,55 ^{aA}
Prebiyotik L-EPS-KMP1	12,12±0,71 ^{gC}	14,85±0,09 ^{fB}	20,51±0,94 ^{eB}	26,81±0,92 ^{dB}	31,87±0,34 ^{cB}	35,52±0,92 ^{bB}	49,27±0,46 ^{aD}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Çizelge 4.5. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için total antioksidan aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).

	0,5 mg/mL	1 mg/mL	2 mg/mL	4 mg/mL	6 mg/mL	8 mg/mL	10 mg/mL
Prebiyotik L-EPS-KMP1	0,00±0,00 ^{fB}	2,09±0,21 ^{efB}	3,96±1,18 ^{eB}	9,64±1,63 ^{dB}	15,64±1,30 ^{cA}	20,32±0,90 ^{bB}	27,93±1,25 ^{aA}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Çizelge 4.6. Prebiyotik L-EPS'ler için ferrik indirgeyici antioksidan güç sonuçları (ortalama±standart sapma).

	0,5 mg/mL	1 mg/mL	2 mg/mL	4 mg/mL	6 mg/mL	8 mg/mL	10 mg/mL
Prebiyotik L-EPS-KMP1	0,09±0,03 ^f	0,47±0,22 ^e	0,78±0,16 ^e	1,36±0,04 ^d	2,22±0,05 ^c	2,83±0,16 ^b	3,61±0,04 ^a

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Çizelge 4.7. Prebiyotik L-EPS-KMP1 ve AA için süperoksit anyon radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).

	0,5 mg/mL	1 mg/mL	2 mg/mL	4 mg/mL	6 mg/mL	8 mg/mL	10 mg/mL
AA	100,00±0,00 ^{aA}	99,93±0,11 ^{aA}	100,00±0,00 ^{aA}	100,00±0,00 ^{aA}	100,00±0,00 ^{aA}	99,93±0,11 ^{aA}	100,00±0,00 ^{aA}
Prebiyotik L-EPS-KMP1	33,77±1,34 ^{dB}	40,61±1,29 ^{cC}	39,95±0,26 ^{cB}	40,00±1,22 ^{cB}	39,92±1,83 ^{cB}	51,10±0,12 ^{bB}	56,22±2,44 ^{aB}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Çizelge 4.8. Prebiyotik L-EPS-KMP1 için antidiyabetik aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).

	0,05 mg/mL	0,1 mg/mL	0,2 mg/mL	0,3 mg/mL	0,4 mg/mL	0,5 mg/mL	1 mg/mL	2 mg/mL	4 mg/mL	6 mg/mL	8 mg/mL	10 mg/mL
Akarboz	67,83±0,14 ^{cB}	67,19±1,07 ^{cA}	66,26±0,00 ^{cA}	66,48±0,14 ^{cA}	66,83±0,00 ^{cA}	67,19±0,24 ^{bcA}	68,97±0,36 ^{ba}	70,69±2,51 ^{ba}	76,42±0,48 ^{abA}	76,00±0,66 ^{abA}	79,79±1,93 ^{aA}	75,75±7,73 ^{abA}
Prebiyotik L-EPS-KMP1	65,19±0,64 ^{aC}	61,46±2,14 ^{abB}	62,36±2,39 ^{bb}	59,39±1,32 ^{bb}	54,42±0,49 ^{bc}	54,19±0,09 ^{cB}	51,00±1,15 ^{cdB}	48,52±0,62 ^{dB}	43,47±0,35 ^{eb}	40,46±0,18 ^{eb}	36,03±1,06 ^{fBC}	28,85±1,68 ^{gB}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Tez çalışma yer alan probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'lerin antioksidan aktivitelerini değerlendirmek amacıyla referans olarak askorbik asit (AA) kullanılarak DPPH, ABTS, hidroksil ve süperoksit anyonu radikallerinin süpürücü aktivitelerin ölçülmesi; ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP), total antioksidan kapasite analizi ve DNA hasarına karşı koruyucu aktivitenin belirlenmesini içeren yedi farklı çalışma gerçekleştirilmiştir. Her bir analizden elde edilen veriler ile SPSS istatistik programı kullanılarak one-way anova ve Tukey analizleri uygulanarak farklılıklar belirlenmiştir ($P<0,05$). Analizlerden elde edilen ortalama ve standart sapma değerleri Çizelge 4.9-4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.9. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'lerin ve askorbik asit (AA) için DPPH sonuçları (ortalama±standart sapma).

KMP1	Seyreltme Oranları		
	1:1	1:2	1:5
Probiyotik	21,45±0,53 ^{aC}	-	-
Postbiyotik	94,81±1,20 ^{aA}	93,12±0,68 ^{aA}	90,64±0,37 ^{aA}
Paraprobiyotik	55,84±3,15 ^{aB}	45,75±1,50 ^{bB}	43,10±0,68 ^{bB}
AA (10 mg/mL)	96,13±0,37 ^{aA}	96,38±0,03 ^{aA}	96,35±0,22 ^{aA}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

AA, probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'lerin sonuçları istatistiksel analizlerle değerlendirildiğinde (Çizelge 4.9) de Postbiyotik KMP1 ile 1:2 - 1:5 oranındaki seyreltmelerinin DPPH sonuçlarının'ın kendi içinde istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlenmiştir ($P\geq 0,05$). Paraprobiyotik KMP1'in 1:2 ve 1:5 oranındaki seyreltmelerinden elde edilen DPPH sonuçlarında da istatistiksel fark olmadığı bulunmuştur ($P\geq 0,05$).

Çizelge 4.10. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'lerin ve askorbik asit (AA) için ABTS⁺ radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).

KMP1	Seyreltme Oranları		
	1:1	1:2	1:5
Probiyotik	97,01±0,53 ^{aA}	-	-
Postbiyotik	92,29±2,99 ^{bB}	93,71±1,25 ^{aA}	90,11±2,83 ^{bB}
Paraprobiyotik	92,54±1,78 ^{bB}	96,51±2,14 ^{aA}	95,26±2,19 ^{aA}
AA (10mg/mL)	100,00±0,12 ^{aA}	100,00±0,07 ^{aA}	93,97±0,02 ^{aA}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

AA, Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'lerin ve seyreltmelerinin hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçlarının istatistiksel analizi Çizelge 4.10'de verilmiştir ($P<0,05$). Paraprobiyotik KMP1 için seyreltme arttıkça ABTS⁺ radikal süpürme aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca paraprobiyotik KMP1 1:2 ve 1:5 seyreltilmiş örneklerinin hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçları istatistiksel olarak farklı olmadığı bulunmuştur ($P>0,05$).

Çizelge 4.11. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'lerin ve askorbik asit (AA) için hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).

KMP1	Seyreltme Oranları		
	1:1	1:2	1:5
Probiyotik	77,39±1,13 ^{aB}	-	-
Postbiyotik	62,37±4,37 ^{bB}	73,31±2,20 ^{aB}	69,10±3,72 ^{bB}
Paraprobiyotik	57,74±3,53 ^{cC}	73,31±1,56 ^{bB}	77,17±2,04 ^{aB}
AA (10mg/mL)	93,97±0,55 ^{aA}	88,90±0,14 ^{aA}	69,87±2,02 ^{bB}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

AA, Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'lerin ve seyreltmelerinin hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçlarının istatistiksel analizi Çizelge 4.11'de verilmiştir ($P<0,05$). Paraprobiyotik KMP1 için seyreltme arttıkça radikal süpürme aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca postbiyotik KMP1 1:2 ve 1:5 seyreltilmiş örneklerinin hidroksil radikal süpürücü aktivite sonuçları istatistiksel olarak farklı olmadığı bulunmuştur ($P>0,05$).

Çizelge 4.12. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1'lerin ve askorbik asit (AA) için süperoksit anyon radikal süpürücü aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).

KMP1	Seyreltme Oranları		
	1:1	1:2	1:5
Probiyotik	11,20±0,15 ^{bB}	-	-
Postbiyotik	95,39±0,29 ^{aA}	96,28±0,02 ^{aA}	97,07± ^{aA}
Paraprobiyotik	-	-	-
AA (10mg/mL)	100,00±0,55 ^{aA}	100,00±0,14 ^{aA}	99,98±0,11 ^{aA}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Paraprobiyotik KMP1' de süperoksit radikal süpürücü aktivite belirlenmemiştir. AA, probiyotik, postbiyotik KMP1 ile 1:2-1:5 oranındaki seyreltmelerinin süperoksit radikal süpürücü aktivite sonuçlarının istatistiksel analizi Çizelge 4.12'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analize göre AA ve postbiyotik KMP1'lerin süperoksit radikal

süpürücü aktivite sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$).

Çizelge 4.13. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1’lerin total antioksidan aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).

KMP1	Seyreltme Oranları		
	1:1	1:2	1:5
Probiyotik	1,01±0,86 ^{aB}	-	-
Postbiyotik	5,52±0,19 ^{cA}	37,68±0,85 ^{aA}	26,56±3,07 ^{bA}
Paraprobiyotik	6,68±0,88 ^{aA}	3,27±0,27 ^{bB}	0,93±0,07 ^{cB}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1’lerin ve seyreltmelerinin KMP1’lerin total antioksidan aktivite sonuçlarının istatistiksel analizi Çizelge 4.13’te verilmiştir. Total antioksidan aktivite sonuçlarının istatistiksel olarak gruplar arasında ve grupları kendi içinde farklı olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 4.14. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1’lerin için ferrik indirgeyici antioksidan güç sonuçları (ortalama±standart sapma).

KMP1	Seyreltme Oranları		
	1:1	1:2	1:5
Probiyotik	1,37±0,30 ^{bB}	-	-
Postbiyotik	3,41±1,30 ^{bA}	3,95±0,98 ^{bA}	6,91±0,78 ^{aA}
Paraprobiyotik	0,70±0,77 ^{cB}	2,23±0,52 ^{bA}	4,26±0,98 ^{aB}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Probiyotik, postbiyotik, paraprobiyotiklerin ve 1:2-1:5 seyreltmelerinin ferrik indirgeyici antioksidan güç sonuçlarının istatistiksel analizi Çizelge 4.14’te verilmiştir. Ferrik indirgeyici antioksidan güç sonuçlarının istatistiksel olarak gruplar arasında ve grup içlerinde farklı olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 4.15. Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1’lerin ve akarboz için antidiyabetik aktivite sonuçları (ortalama±standart sapma).

KMP1	Seyreltme Oranları		
	1:1	1:2	1:5
Probiyotik	39,77±3,92 ^{aB}	-	-
Postbiyotik	81,31±1,86 ^{aA}	80,99±1,68 ^{aA}	56,46±1,01 ^{bB}
Paraprobiyotik	82,01±3,67 ^{aA}	58,15±2,23 ^{bB}	57,79±1,72 ^{bB}
Akarboz (10mg/mL)	80,21±0,36 ^{aA}	76,20±0,24 ^{aA}	70,68±0,14 ^{aA}

Aynı satırdaki küçük harfler grup içi istatistiksel farkı, aynı sütundaki büyük harfler gruplar arası istatistiksel farkı belirtmektedir ($P<0,05$).

Akarboz, Probiyotik KMP1, postbiyotik KMP1, paraprobiyotik KMP1’lerin ve seyreltmelerinin antidiyabetik aktivite sonuçlarının istatistiksel analizi Çizelge 4.15’te verilmiştir. Akarboz, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1 stok çözeltilerinde guruplar arasında fark olmağı belirlenmiştir ($P>0,05$). Postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1 ile kontrol olarak kullanılan akarbozda gözlemlenen antidiyabetik aktivitenin gibi seyreltme oranının artmasına paralel olarak aktivitenin düştüğü tespit edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Oksidatif stres, kardiyovasküler hastalık, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi bir dizi kronik hastalığın patogenezinde ana faktör olarak tanımlanan bir süreçtir. Oksidatif stresin sebebiyeti olan serbest radikaller, hücreler olarak veya doku, organ ve organizma boyutunda hasar vermektedir. Bu hasarlar sonucunda; kanser, diyabet, yaşlanma, hücreler stres, doku kaybı ya da bağışıklık sisteminin zayıflaması gibi birçok durum ortaya çıkmaktadır (Blazheva vd., 2022). Hemen hemen tüm organizmalar, onları oksidatif hasardan koruyan antioksidan koruma ve onarım sistemlerine sahip olsa da, bu sistemler tüm hasarı önlemek için yeterli değildir (Osseni vd., 2000). Oksidatif stresi azaltmak için kullanılan sentetik ilaçlar oksidatif stresi azaltırken karaciğer veya diğer organlara zarar vermektedir. Probiyotik suşlar, kontrollü koşullar altında hızlı büyüme avantajı ile antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir. Sentetik antioksidanlara kıyasla toksik ve kanserojen değildirler ve biyolojik olarak parçalanabilirler. Hızlı ve hassas bir oksidatif stres yanıtının yanı sıra, probiyotik bakteriler, konak bağırsağında önemli miktarda antioksidan aktivitesi sergilemektedir. Ayrıca ROS'ların giderilmesine yardımcı olmak ve böylece oksidatif hasarı hafifletmek için antioksidan enzimlerinin üretimini teşvik ederler (Blazheva vd., 2022). Bu yüzden oksidatif stresi azaltmak için kullanılan sentetik olmayan ve organizmanın sindirim sisteminde yaşayabilen, sinir sisteminde yarar sağlayan probiyotik *L. brevis* KMP1'in antioksidan, antidiyabetik ve DNA hasarına karşı koruyucu etkileri çalışmalar ile belirlenmiştir. Ayrıca oksidatif stresi bu şusun ürettiği bir polimer olan EPS (prebiyotik L-EPS KMP1) ya da metabolitlerin (postbiyotik KMP1) antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada prebiyotik L-EPS-KMP1 ve postbiyotik KMP1'in, probiyotik KMP1 suşunda daha fazla antioksidan ve antidiyabetik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Probiyotiklerin yararlı etkilerini gösterebilmeleri için üretim, depolama ve tüketim sürecinde canlılıklarını ve aktivitelerini korumaları gerekmektedir. Üretim sırasındaki işleme koşulları (sıcaklık, oksidasyon, kayma gerilimi vb.), depolama koşulları (nem/düşük su aktivitesi, paketlenme, oksidasyon, sıcaklık vb.) ve tüketim koşulları, canlı kalma yeteneklerini etkileyen ana faktörlerdir (Blazheva vd., 2022). Probiyotiklerin üretimde yaşanan sorunlar, stabilite sorunları ve saklama koşullarında yaşanan sıkıntılar bulunmaktadır. Ayrıca bazı canlı probiyotiklerin sağlıklı bireylerde

herhangi bir etkiye sahip olmamasıda tartışma konusudur. Bu durumlardan dolayı daha stabil ve saklama koşullarındaki olumsuzlukları kaldırmak için paraprobiyotiklerin (hayalet probiyotikler/inaktive probiyotikler) aktivitelerini belirlemek için çalışmalar sürdürülmektedir. Yapılan tez çalışmasında *L. brevis* KMP1 suşunun inaktif hücrelerinden hazırlanan paraprobiyotik KMP1'in antioksidan ve antidiyabetik etkileri araştırılmıştır.

Tez çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre;

Literatürde yer alan çalışmalar incelendiğinde; *L. brevis* KMP1'den izole edilen ve prebiyotik olarak kullanılabilen EPS'nin (prebiyotik L-EPS-KMP1), *L. brevis* KMP1 ürettiği metabolitlerin (postbiyotik KMP1) ve *L. brevis* KMP1 suşunun ısı ile inaktive edilmesiyle hazırlanan hücrelerinin (paraprobiyotik KMP1) antioksidan ve antidiyabetik aktivitelerine ait sonuçlar ilk defa bu çalışmadan elde edilmiştir. Yapılan tez çalışmasının antioksidan aktivitelerini değerlendirmek amacıyla referans olarak askorbik asit (AA) kullanılarak DPPH, ABTS, hidroksil ve süperoksit anyonu radikallerinin süpürücü aktivitelerin ölçülmesi; ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP), total antioksidan kapasite analizi ve DNA hasarına karşı koruyucu aktivitenin belirlenmesini içeren yedi farklı çalışma gerçekleştirilmiştir. Ayrıca antidiyabetik etkisi için α -amilaz aktivitesinin inhibisyonu incelenmiştir.

L. brevis KMP1 suşunun ürettiği prebiyotik L-EPS-KMP1'in belirli bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan tez çalışması sonucunda düşük derişimlerde bile prebiyotik L-EPS-KMP1'in probiyotik suşdan daha fazla antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in antidiyabetik bir etkiye sahip olduğu ve α -amilaz aktivitesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Yayınlanan araştırmalardan farklı olarak çalışmamızda prebiyotik L-EPS KMP'in 0,05 ile 10 mg/mL arasındaki geniş bir aralığı çalışılarak konsantrasyon artışında enzim inhibisyon aktivitesinin azaldığı ve düşük derişimlerde aktivitenin daha yüksek olduğu belirlenerek literatüre yeni veriler kazandırılacağını düşünmekteyiz. Bu çalışmada prebiyotik L-EPS-KMP1'in DNA hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.

L. brevis KMP1 suşunun ürettiği ve karışık bir şekilde bulunan metabolitinin (postbiyotik KMP1), yapılan çalışmalarda yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu hatta bazı metotlarda postbiyotik KMP1'den hazırlanan daha seyreltik örneklerde

aktivitenin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Elde edilen postbiyotik KMP1'in yüksek bir antidiyabetik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Postbiyotik KMP1'in bileşiminde bulunan metabolitlerin α -amilaz enziminin reseptörlerini kapatarak aktiviteyi durdurduğu düşünülmektedir. Ayrıca postbiyotiğin içinde EPS parçalarının bulunmasından dolayı antidiyabetik aktivitesinin arttığı düşünülmektedir. Bu çalışmanın devamında postbiyotik bileşenlerinin belirlenerek antidiyabetik ya da antioksidan aktivite arasındaki ilişkiler araştırılabilir. Postbiyotik KMP1'in DNA hasarına karşı koruyucu etkisi olmadığı belirlenmiştir. Süperoksit radikal temizleme aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir.

L. brevis KMP1 suşunun ısı ile inaktive edilmesi ile hazırlanan paraprobiyotik KMP1 ile yapılan çalışmalarda antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Antioksidan aktiviteleri belirlemek için uygulanan metotlarda paraprobiyotik KMP1'den hazırlanan daha seyreltik örneklerde aktivitesinin daha fazla olduğu gözlenmiştir. Ayrıca paraprobiyotik KMP1'in antidiyabetik aktiviteye de sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak paraprobiyotik KMP1 de tespit edilen antioksidan ve antidiyabetik aktivitelerin, postbiyotik KMP1 de gözlenen aktiviteler kadar etkili olmadığı görülmüştür. Paraprobiyotik KMP1'de belirlenemeyen süperoksit radikal süpürme aktivitesi katalaz negatif olmalarından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

L. brevis KMP1 suşunun ile yapılan çalışmalar sonucunda; ürettiği metabolit olan EPS'den, postbiyotiklerinden ve paraprobiyotikten düşük bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca antidiyabetik aktivite deneyinde α -glukoz aktivitesini artırdığı belirlenmiştir.

Çalışmada uygulanan yöntemler ile prebiyotik L-EPS-KMP1, postbiyotik KMP1 ve paraprobiyotik KMP1'lerin antioksidan özellikler sergilediği, ancak sadece prebiyotik L-EPS-KMP1'in DNA hasarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Tez çalışmasından elde edilen verilere göre; probiyotik bir mikroorganizmanın üretimi, stabilitesi ve saklama koşulları sorunları ayrıca antibiyotiklere karşı bir direncin kazanımı gibi sorunların ortadan kaldırmak için paraprobiyotikler kullanılabileceği gibi probiyotik suşdan elde edilen EPS ya da postbiyotiklerde kullanılabilir.

In vitro olarak yapılan çalışmalar ile *L. brevis* KMP1 suşu ve bu suştan elde edilen EPS, postbiyotik ve paraprobiyotikte antioksidan ve antidiyabetik aktivitelerin olduğu bulunmuştur. Ancak *L. brevis* KMP1 suşundan elde edilen ve üretilen metabolitlerin

karışık olarak bulunduğu postbiyotiğin aktivitesinin tam olarak anlaşılabilmesi için karakterizasyonun yapılması gerekmektedir. *L. brevis* KMP1 suşundan elde edilen EPS ya da postbiyotik sentetik antioksidanların yerine kullanılabilecek doğal bir antioksidan ve sindirim sistemindeki yararlı bakterilerin kolonizasyonunu artıracak yeni bir takviye besin olacağı düşünülmektedir. Ayrıca gıdalarda doğal bir antioksidan olarak kullanılabilir oldukları gibi gıda substratları olarak kullanılabileceği önebiliriz. Probiyotik *L. brevis* KMP1 suşunun tek başına daha düşük aktivitelere sahip olduğu bu yüzden de mide-bağırsak sisteminde bulunan probiyotiklerin sayısını artırmak için ürettiği metabolitler ya da paraprobiyotikler olarak kullanımı düşünülmektedir. Ancak *in vitro* testlerle belirlenen bu aktivitelerin çalışmanın devamında yapılacak hücre kültürü ve hayvan denemeleri ile doğrulanması gerekmektedir. Prebiyotik L-EPS-KMP1'in gıdalarda takviye gıda olarak ya da doğal koruyucu olarak kullanılabileceği ve sağlık alanında mikrofloraya ek katkı sağlayan doğal bir antioksidan olarak kullanılabileceği yapılan çalışmalarla öngörülmektedir. Bu çalışmanın devamında prebiyotik L-EPS-KMP1' in antioksidan ve yaşlanma karşıtı özelliklerinin (antiaging) *Caenorhabditis elegans*'in model organizma olarak kullanılması ile araştırılması hedeflenmiştir.

KAYNAKLAR

- Adelekan, A. O., Olurin, T. O. ve Ezeani, A. O., 2020. Antioxidant Activities of Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Commercial Yoghurt Samples, *Advances in Microbiology*, 10, 8, 359–374.
- Aghebati-Maleki, L., Hasannezhad, P., Abbasi, A. ve Khani, N., 2021. Antibacterial, antiviral, antioxidant, and anticancer activities of postbiotics: a review of mechanisms and therapeutic perspectives, *Biointerface Res. Appl. Chem*, 12, 2629–2645.
- Aguilar-Toalá, J. E., Garcia-Varela, R., Garcia, H. S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B. ve Hernández-Mendoza, A., 2018. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field, *Trends in Food Science and Technology*, 75, 105–114.
- Ahmad, R., 2018. Introductory chapter: Basics of free radicals and antioxidants, *Free Radicals, Antioxidants and Diseases*, 1, 18–21.
- Ajila, C. M., Brar, S. K. verma, M., Tyagi, R. D., Godbout, S. ve Valéro, J. R., 2011. Extraction and analysis of polyphenols: Recent trends, *Critical Reviews in Biotechnology*, 31, 3, 227–249.
- Akter, S., Park, J.-H. ve Jung, H. K., 2020. Potential health-promoting benefits of paraprobiotics, inactivated probiotic cells, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 477–481.
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y. S. ve Duran, A., 2013. Assessment of the antioxidant potential and fatty acid composition of four *Centaurea L. taxa* from Turkey, *Food Chemistry*, 141, 1, 91–97.
- Al-Nabulsi, A.A., Jaradat, Z.W., Al Qudsi, F.R., Elsalem, L., Osaili, T.M., Olaimat, A.N., Esposito, G., Liu, S.Q. ve Ayyash, M.M., 2022. Characterization and bioactive properties of exopolysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* isolated from labaneh, *Food Science and Technology* 167, 113817.
- Amiri, S., Bari, M. R., Khaledabad, M. A., Mokarram, R. R. ve Khiabani, M. S., 2021. Co-production of parabiogenic metabolites by *Lactobacillus acidophilus* LA5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 in dairy effluents, *Chemical Review and Letters*, 4, 1, 2021, 66–76.
- Ananta, E. ve Knorr, D., 2009. Comparison of inactivation pathways of thermal or high pressure inactivated *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 by flow cytometry analysis, *Food Microbiology*, 26, 5, 542–546.
- Andreasen, A. S., Larsen, N., Pedersen-Skovsgaard, T., Berg, R. M. G., Møller, K., Svendsen, K. D., Jakobsen, M. ve Pedersen, B. K., 2010. Effects of *Lactobacillus acidophilus* NCFM on insulin sensitivity and the systemic inflammatory response in human subjects, *British Journal of Nutrition*, 104, 12, 1831–1838.

- Atli, T., Keven, K., Avci, A., Kutlay, S., Turkcapar, N., Varli, M., Aras, S., Ertug, E. ve Canbolat, O., 2004. Oxidative stress and antioxidant status in elderly diabetes mellitus and glucose intolerance patients, *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 39, 3, 269–275.
- Ayyash, M., Abu-Jdayil, B., Olaimat, A., Esposito, G., Itsaranuwat, P., Osaili, T. ve Liu, S.-Q., 2020. Physicochemical, bioactive and rheological properties of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Pediococcus pentosaceus* m41, *Carbohydrate Polymers*, 115462.
- Azat, R., Liu, Y., Li, W., Kayir, A., Lin, D., Zhou, W. ve Zheng, X., 2016. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese, *Journal of Zhejiang University Science*, 17, 8, 597.
- Badel, S., Bernardi, T. ve Michaud, P., 2011. New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides, *Biotechnology Advances*, 29, 1, 54–66.
- Bandeira, S. de M., Guedes, G. da S., Fonseca, L. J. S. da, Pires, A. S., Gelain, D. P., Moreira, J. C. F., Rabelo, L. A., Vasconcelos, S. M. L. ve Goulart, M. O. F., 2012. Characterization of blood oxidative stress in type 2 diabetes mellitus patients: increase in lipid peroxidation and SOD activity, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-13.
- Banerjee, J., Khanna, S. ve Bhattacharya, A., 2017. MicroRNA regulation of oxidative stress, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, C. 2017, Hindawi Publishing Corporation.
- Barros, C. P., Guimaraes, J. T., Esmerino, E. A., Duarte, M. C. K. H., Silva, M. C., Silva, R., Ferreira, B. M., Sant’Ana, A. S., Freitas, M. Q. ve Cruz, A. G., 2020. Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products, *Current Opinion in Food Science*, 32, 1–8.
- Bashan, N., Kovsan, J., Kachko, I., Ovadia, H. ve Rudich, A., 2009. Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species, *Physiological Reviews*, 27-71.
- Bernfeld, P., 1955. *Methods in Enzymology*, 12, Academic Press, New York, p. 379
- Bhat, B. ve Bajaj, B. K., 2019. Hypocholesterolemic potential and bioactivity spectrum of an exopolysaccharide from a probiotic isolate *Lactobacillus paracasei* M7, *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 19, 100191.
- Blazheva, D., Mihaylova, D., Averina, O. V., Slavchev, A., Brazkova, M., Poluektova, E. U., Danilenko, V. N. ve Krastanov, A., 2022. Antioxidant potential of probiotics and postbiotics: A biotechnological approach to improving their stability, *Russian Journal of Genetics*, 58, 9, 1036–1050.
- Bodega, G., Alique, M., Puebla, L., Carracedo, J. ve Ramírez, R. M., 2019. Microvesicles: ROS scavengers and ROS producers, *Journal of Extracellular Vesicles*, 8, 1, 1626654.

- Bomfim, V. B., Pereira Lopes Neto, J. H., Leite, K. S., de Andrade Vieira, É., Iacomini, M., Silva, C. M., Olbrich dos Santos, K. M. ve Cardarelli, H. R., 2020. Partial characterization and antioxidant activity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* CNPC003, Food Science and Technology, 127, 1-8.
- Bordbar, A. K., Omidian, K., ve Hosseinzadeh, R., 2005. Study on interaction of α -amylase from *Bacillus subtilis* with cetyl trimethylammonium bromide, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 40, 1, 67–71.
- Bouallegue, A., Casillo, A., Chaari, F., La Gatta, A., Lanzetta, R., Corsaro, M. M., Bachoual, R. ve Ellouz-Chaabouni, S., 2020. Levan from a new isolated *Bacillus subtilis* AF17: Purification, structural analysis and antioxidant activities, International Journal of Biological Macromolecules, 144, 316–324.
- Braca, A., Tommasi, D.N., Bari, D.L., Pizza, C., Politi, M. ve Morelli, I. 2001. Antioxidant Principles from *Bauhinia tarapotensis*, Journal of Natural Products, 64, 892-895.
- Brar, S.K., Mamta, Misra, K., Dhillon, G.S., Verma, M. 2014. Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals, Antioxidants, Brar, S., Dhillon, G. ve Soccol, C. (eds) Springer, New York, USA, 978-1-4614-8004-4, 117-138.
- Bron, P. A. ve Kleerebezem, M., 2011. Engineering lactic acid bacteria for increased industrial functionality, Bioengineered Bugs, 2, 2, 80–87.
- Brownlee, M., 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications, Nature, 414, 6865, 813–820.
- Brownlee, M., 2005. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism, Diabetes, 54, 6, 1615–1625.
- Cabello-olmo, M., Araña, M., Urtasun, R., Encio, I. J. ve Barajas, M., 2021. Role of postbiotics in diabetes mellitus: Current knowledge and future perspectives, Foods, 10, 7, 1590.
- Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Oliveira, M. B. P. P. ve Ferreira, I. C. F. R., 2017. A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits, Food Chemistry, 216, 342–346.
- Chakrabarti, S., Munshi, S., Banerjee, K., Thakurta, I. G., Sinha, M. ve Bagh, M. B., 2011. Mitochondrial dysfunction during brain aging: role of oxidative stress and modulation by antioxidant supplementation, Aging and Disease, 2, 3, 242.
- Chakraborty, P., Kumar, S., Dutta, D. ve Gupta, V., 2009. Role of antioxidants in common health diseases, Research Journal of Pharmacy and Technology, 2, 2, 238–244.
- Chang, H. M., Foo, H. L., Loh, T. C., Lim, E. T. C. ve Abdul Mutalib, N. E., 2021. Comparative studies of inhibitory and antioxidant activities, and organic acids

- compositions of postbiotics produced by probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* strains isolated from malaysian foods, *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 1–14.
- Chen, P., Zhang, Q., Dang, H., Liu, X., Tian, F., Zhao, J., Chen, Y., Zhang, H. ve Chen, W., 2014. Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and α -glucosidase inhibitory activity, *Food Control*, 35, 1, 65–72.
- Chen, S., Chen, H., Tian, J., Wang, Y., Xing, L. ve Wang, J. 2013. Chemical modification, antioxidant and α -amylase inhibitory activities of corn silk polysaccharides, *Carbohydrate Polymers*, 98 ,1, 428-437.
- Chen, Y., Li, Q., Xia, C., Yang, F., Xu, N., Wu, Q., Hu, Y., Xia, L., Wang, C. ve Zhou, M., 2019. Effect of selenium supplements on the antioxidant activity and nitrite degradation of lactic acid bacteria, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35, 1–13.
- Cho, C.-W., Han, C., Rhee, Y. K., Lee, Y.-C., Shin, K.-S., Shin, J.-S., Lee, K.-T.ve Hong, H.-D., 2015. Cheonggukjang polysaccharides enhance immune activities and prevent cyclophosphamide-induced immunosuppression, *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 519–525.
- Chooruk, A., Piwat, S., ve Teanpaisan, R., 2017. Antioxidant activity of various oral *Lactobacillus* strains, *Of Journal of Applied Microbiology* , 123, 1, 271–279.
- Collins, J. K., Thornton, G. ve Sullivan, G. O., 1998. Selection of probiotic strains for human applications, *International Dairy Journal*, 8, 487–490.
- Cuevas-González, P. F., Aguilar-Toalá, J. E., García, H. S., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B. ve Hernández-Mendoza, A., 2020a. Protective effect of the intracellular content from potential probiotic bacteria against oxidative damage induced by acrylamide in human erythrocytes, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12, 1459–1470.
- Cuevas-González0, P. F., Liceaga, A. M. ve Aguilar-Toalá, J. E., 2020b. Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications, *Food Research International*, 136, 109502.
- Curtin, N. J., 2012. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target, *Nature Reviews Cancer*, 12, 801–817.
- Davalli, P., Mitic, T., Caporali, A., Lauriola, A. ve D’Arca, D., 2016. ROS, cell senescence, and novel molecular mechanisms in aging and age-related diseases, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-18.
- Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J. ve Ghasemi, Y., 2019. Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications, *Foods*, 8, 3, 92.

- De Arauz, L. J., Jozala, A. F., Mazzola, P. G. ve Penna, T. C. V., 2009. Nisin biotechnological production and application: a review, *Trends in Food Science and Technology*, 20, 146–154.
- De Cristofaro, R., Rocca, B., Vitacolonna, E., Falco, A., Marchesani, P., Ciabattoni, G., Landolfi, R., Patrono, C. ve Davi, G., 2003. Lipid and protein oxidation contribute to a prothrombotic state in patients with type 2 diabetes mellitus, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 1, 2, 250–256.
- De la Rosa, O., Flores-Gallegos, A. C., Muñiz-Marquez, D., Nobre, C., Contreras-Esquivel, J. C. ve Aguilar, C. N., 2019. Fructooligosaccharides production from agro-wastes as alternative low-cost source, *Trends in Food Science and Technology*, 91, 139–146.
- De Man, J. C., Rogosa, deM, ve Sharpe, M. E., 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli, *Journal of Applied Microbiology*, 23, 1, 130–135
- De Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Júnior, A. I. M., Thomaz-Soccol, V., ve Soccol, C. R., 2018. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria, *Biotechnology advances*, 36, 8, 2060–2076.
- De Oliveira Coelho, B., Fiorda-Mello, F., de Melo Pereira, G. V, Thomaz-Soccol, V., Rakshit, S. K., de Carvalho, J. C. ve Soccol, C. R., 2019. *In vitro* probiotic properties and DNA protection activity of yeast and lactic acid bacteria isolated from a honey-based kefir beverage, *Foods*, 8, 10, 485.
- Deepak, V., Ramachandran, S., Balahmar, R. M., Pandian, S. R. K., Sivasubramaniam, S. D., Nellaiah, H. ve Sundar, K., 2016. *In vitro* evaluation of anticancer properties of exopolysaccharides from *Lactobacillus acidophilus* in colon cancer cell lines, *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Animal*, 52, 2, 163–173.
- Deshpande, G., Athalye-Jape, G. ve Patole, S., 2018. Para-probiotics for preterm neonates-The next frontier, *Nutrients*, 10, 7, 871.
- Di Marzo, N., Chisci, E. ve Giovannoni, R., 2018. The role of hydrogen peroxide in redox-dependent signaling: homeostatic and pathological responses in mammalian cells, *Cells*, 7, 10, 156.
- Dilna, S. V., Surya, H., Aswathy, R. G., Varsha, K. K., Sakthikumar, D. N., Pandey, A. ve Nampoothiri, K. M., 2015. Characterization of an exopolysaccharide with potential health-benefit properties from a probiotic *Lactobacillus plantarum* RJF4, *Food Science and Technology*, 64, 2, 1179-1186.
- Domingo, J. J. S., 2017. Review of the role of probiotics in gastrointestinal diseases in adults, *Gastroenterología y Hepatología (English Edition)*, 40, 6, 417-429.
- Eddouaouda, K., Mnif, S., Badis, A., Younes, S. Ben, Cherif, S., Ferhat, S., Mhiri, N., Chamkha, M. ve Sayadi, S., 2012. Characterization of a novel biosurfactant produced by *Staphylococcus* sp. strain 1E with potential application on hydrocarbon bioremediation, *Journal of Basic Microbiology*, 52, 4, 408-418.

- Ejtahed, H. S., Mohtadi-Nia, J., Homayouni-Rad, A., Niafar, M., Asghari-Jafarabadi, M. ve Mofid, V., 2012. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients, *Nutrition*, 28, 5, 539–543.
- Federico, A., Cardaioli, E., Da Pozzo, P., Formichi, P., Gallus, G. N. ve Radi, E., 2012. Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration, *Journal of the Neurological Sciences*, 322, 254–262.
- Feng, T. ve Wang, J., 2020. Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review, *Gut Microbes*, 12, 1-18.
- Fijan, S., 2014. Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11, 5, 4745–4767.
- Finkel, T., Serrano, M. ve Blasco, M. A., 2007. The common biology of cancer and ageing. *Nature*, 448, 7155, 767–774.
- Foo, H. L., Loh, T. C., Abdul Mutalib, N. E. ve Rahim, R. A., 2019. The myth and therapeutic potentials of postbiotics, *Microbiome and Metabolome in Diagnosis, Therapy, and Other Strategic Applications*, 201–208.
- Gamallat, Y., Meyiah, A., Kuugbee, E. D., Hago, A. M., Chiwala, G., Awadasseid, A., Bamba, D., Zhang, X., Shang, X., Luo, F., 2016. *Lactobacillus rhamnosus* induced epithelial cell apoptosis, ameliorates inflammation and prevents colon cancer development in an animal model, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 83, 536-541.
- George-Okafor, U., Ozoani, U., Tasie, F. ve Mba-Omeje, K., 2020. The efficacy of cell-free supernatants from *Lactobacillus plantarum* Cs and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 314 for the preservation of home-processed tomato-paste, *Scientific African*, 8, 1-9.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S. ve Cani, P. D., 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics, *Nature reviews Gastroenterology and Hepatology*, 14, 8, 491–502.
- Golbidi, S., Alireza Ebadi, S. ve Laher, I., 2011. Antioxidants in the treatment of diabetes, *Current Diabetes Reviews*, 7, 2, 106–125.
- González-González, J. N., Vallejo-Cordoba, B., González-Córdova, A. F., Beltran-Barrientos, L. M., Garcia, H. S. ve Hernández-Mendoza, A., 2020. Effect of the intracellular content from *Lactobacillus casei* CRL-431 on the antioxidant properties of breast milk: Randomized double-blind controlled trial, *Food Science and Technology*, 130, 109672.
- Gulcin, İ., 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview, *Archives of Toxicology*, 94, 3, 651–715.

- Halliwell, B., 1996. Antioxidants in human health and disease, *Annual Review of Nutrition*, 16, 1, 33–50.
- Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., Usman, L. A., Ameen, O. M. ve Lawal, A., 2010. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications, *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 4, 8, 142–151.
- Han, J.-L. ve Lin, H.-L., 2014. Intestinal microbiota and type 2 diabetes: from mechanism insights to therapeutic perspective, *World Journal of Gastroenterology*, 20, 47, 17737.
- Hashemi, S.M.B, Abedi, E, Kaveh, S. ve Mousavifard, M., 2022. Hypcholesterolemic, antidiabetic and bioactive properties of ultrasound-stimulated exopolysaccharide produced by *Lactiplantibacillus plantarum* strains, *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 28, 100334.
- Hayes, J. D., Dinkova-Kostova, A. T. ve Tew, K. D., 2020. Oxidative stress in cancer, *Cancer Cell*, 38, 2, 167–197.
- Hernández-Granados, M. J. ve Franco-Robles, E., 2020. Postbiotics in human health: Possible new functional ingredients, *Food Research International*, 137, 109660.
- Holmström, K. M. ve Finkel, T., 2014. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15, 6, 411–421.
- Homayouni Rad, A., Aghebati Maleki, L., Samadi Kafil, H. ve Abbasi, A., 2021. Postbiotics: A novel strategy in food allergy treatment, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61, 3, 492–499.
- Hu, J., Wang, C., Ye, L., Yang, W., Huang, H., Meng, F., Shi, S. ve Ding, Z., 2015. Anti-tumour immune effect of oral administration of *Lactobacillus plantarum* to CT26 tumour-bearing mice, *Journal of Biosciences*, 40, 2, 269-279.
- Hu, S. M., Zhou, J. M., Zhou, Q. Q., Li, P., Xie, Y. Y., Zhou, T. ve Gu, Q., 2021. Purification, characterization and biological activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* ZFM231 isolated from milk, *Food Science and Technology*, 147, 111561.
- Huang, Z., Lin, F., Zhu, X., Zhang, C., Jiang, M. ve Lu, Z., 2020. An exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* H31 in pickled cabbage inhibits pancreas α -amylase and regulating metabolic markers in HepG2 cells by AMPK/PI3K/Akt pathway, *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 775–784.
- Hussain, A., Zia, K. M., Tabasum, S., Noreen, A., Ali, M., Iqbal, R. ve Zuber, M., 2017. Blends and composites of exopolysaccharides; properties and applications: A review, *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 10–27.

- Hussain, F. ve Kayani, H. U. R., 2020. Aging-Oxidative stress, antioxidants and computational modeling, *Heliyon*, 6, 5, 1-11.
- Hütt, P., Shchepetova, J., Loivukene, K., Kullisaar, T. ve Mikelsaar, M., 2006. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens, *Journal of Applied Microbiology*, 100, 6, 1324–1332.
- Inoue, M., Sato, E. F., Nishikawa, M., Park, A.-M., Kira, Y., Imada, I. ve Utsumi, K., 2003. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life, *Current Medicinal Chemistry*, 10, 23, 2495–2505.
- Inturri, R., Mangano, K., Santagati, M., Intrieri, M., Di Marco, R. ve Blandino, G., 2017. Immunomodulatory effects of *Bifidobacterium longum* W11 produced exopolysaccharide on cytokine production, *Current pharmaceutical Biotechnology*, 18, 11, 883–889.
- Izuddin, W. I., Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L. ve Samsudin, A. A., 2020. Dietary postbiotic *Lactobacillus plantarum* improves serum and ruminal antioxidant activity and upregulates hepatic antioxidant enzymes and ruminal barrier function in post-weaning lambs, *Antioxidants*, 9, 3, 250.
- İncili, G. K., Karatepe, P., Akgöl, M., Güngören, A., Koluman, A., İlhak, O. İ., Kanmaz, H., Kaya, B. ve Hayaloğlu, A. A., 2022. Characterization of lactic acid bacteria postbiotics, evaluation *in-vitro* antibacterial effect, microbial and chemical quality on chicken drumsticks, *Food Microbiology*, 104, 1-9.
- Jang, H. J., Lee, N. K. ve Paik, H. D., 2019. Probiotic characterization of *Lactobacillus brevis* KU15153 showing antimicrobial and antioxidant effect isolated from kimchi, *Food Science and Biotechnology*, 28, 5, 1521–1528.
- Jones, R. M. ve Neish, A. S., 2017. Redox signaling mediated by the gut microbiota, *Free Radical Biology and Medicine*, 105, 41–47.
- Kahouli, I., Malhotra, M., Westfall, S., Alaoui-Jamali, M. A., Prakash, S., 2017. Design and validation of an orally administrated active *Lactobacillus fermentum*-*Lactobacillus acidophilus* probiotic formulation using colorectal cancer Apc Min/+ mouse model, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101, 5, 1999-2019.
- Kang, C. H., Kim, J. S., Park, H. M., Kim, S. ve Paek, N. S., 2021. Antioxidant activity and short-chain fatty acid production of lactic acid bacteria isolated from Korean individuals and fermented foods, *3 Biotech*, 11, 5, 1–8.
- Kanmani, P., Albarracin, L., Kobayashi, H., Iida, H., Komatsu, R., Humayun Kober, A. K. M., Ikeda-Ohtsubo, W., Suda, Y., Aso, H., Makino, S., Kano, H., Saito, T., Villena, J. ve Kitazawa, H., 2018. Exopolysaccharides from *Lactobacillus delbrueckii* OLL1073R-1 modulate innate antiviral immune response in porcine intestinal epithelial cells, *Molecular Immunology*, 93, 253–265.

- Kanmani, P., Suganya, K., Yuvaraj, N., Pattukumar, V., Paari, K. ve Arul, V., 2013. Synthesis and functional characterization of antibiofilm exopolysaccharide produced by *Enterococcus faecium* MC13 isolated from the gut of fish, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169, 3, 1001-1015.
- Kariyawasam, K. M. G. M. M., Lee, N.-K. ve Paik, H.-D., 2021. Synbiotic yoghurt supplemented with novel probiotic *Lactobacillus brevis* KU200019 and fructooligosaccharides, *Food Bioscience*, 39, 100835.
- Kennedy, S. R., Loeb, L. A. ve Herr, A. J., 2012. Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration, *Mechanisms of Ageing and Development*, 133, 4, 118–126.
- Kerry, R. G., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.-S. ve Das, G., 2018. Benefaction of probiotics for human health: A review, *Journal of Food and Drug Analysis*, 26, 3, 927–939.
- Kreuz, S. ve Fischle, W., 2016. Oxidative stress signaling to chromatin in health and disease, *Epigenomics*, 8, 6, 843–862.
- Kumar, V., Ramu, R., Shirahatti, P. S., Kumari, V. B. C., Sushma, P., Mandal, S. P. ve Patil, S. M., 2021. α -glucosidase, α -amylase inhibition, kinetics and docking studies of novel (2-chloro-6-(trifluoromethyl) benzyloxy) arylidene) based rhodanine and rhodanine acetic acid derivatives, *Chemistry Select*, 6, 36, 9637–9644.
- Kumari V. B., C., Huligere, S. S., Alotaibi, G., Al Mouslem, A. K., Bahauddin, A. A., Shivanandappa, T. B. ve Ramu, R., 2023. Antidiabetic activity of potential probiotics *Limosilactobacillus* spp., *Levilactobacillus* spp., and *Lactocaseibacillus* spp. isolated from fermented sugarcane juice: A comprehensive In Vitro and In Silico Study, *Nutrients*, 15, 8, 1-28.
- Lai, Y. J., Tsai, S. H., ve Lee, M. Y. 2014. Isolation of exopolysaccharide producing *Lactobacillus* strains from sorghum distillery residues pickled cabbage and their antioxidant properties, *Food Science and Biotechnology*, 23, 4, 1231–1236.
- Lee, E., Jung, S.-R., Lee, S.-Y., Lee, N.-K., Paik, H.-D. ve Lim, S.-I., 2018. *Lactobacillus plantarum* strain Ln4 attenuates diet-induced obesity, insulin resistance, and changes in hepatic mRNA levels associated with glucose and lipid metabolism, *Nutrients*, 10, 5, 643-658.
- Li, W., Ji, J., Chen, X., Jiang, M., Rui, X. ve Dong, M., 2014. Structural elucidation and antioxidant activities of exopolysaccharides from *Lactobacillus helveticus* MB2-1, *Carbohydrate Polymers*, 102, 351–359.
- Li, X., Wang, E., Yin, B., Fang, D., Chen, P., Wang, G., Zhao, J., Zhang, H. ve Chen, W., 2017. Effects of *Lactobacillus casei* CCFM419 on insulin resistance and gut microbiota in type 2 diabetic mice, *Beneficial Microbes*, 8, 3, 421–432.

- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D. ve Abete, P., 2018. Oxidative stress, aging, and diseases, *Clinical Interventions in Aging*, 13, 757–772.
- Lin, L., Xie, J., Liu, S., Shen, M., Tang, W., ve Xie, M., 2017. Polysaccharide from *Mesona chinensis*: Extraction optimization, physicochemical characterizations and antioxidant activities, *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 665–673.
- Lipinski, B., 2011. Hydroxyl radical and its scavengers in health and disease, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-9.
- Liu, C. F., Tseng, K. C., Chiang, S. S., Lee, B. H., Hsu, W. H. ve Pan, T. M., 2011. Immunomodulatory and antioxidant potential of *Lactobacillus* exopolysaccharides, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 12, 2284–2291.
- Liu, N., Miao, S. ve Qin, L., 2020. Screening and application of lactic acid bacteria and yeasts with l-lactic acid-producing and antioxidant capacity in traditional fermented rice acid, *Food Science and Nutrition*, 8, 11, 6095–6111.
- Liu, T., Zhou, K., Yin, S., Liu, S., Zhu, Y., Yang, Y. ve Wang, C., 2019. Purification and characterization of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* HY isolated from home-made Sichuan Pickle. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 516–526.
- Liu, Y., Zhang, B., Ibrahim, S. A., Gao, S. S., Yang, H. ve Huang, W., 2016. Purification, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Flammulina velutipes* residue, *Carbohydrate Polymers*, 145, 71–77.
- Lobo, R. E., Gómez, M. I., Font de Valdez, G. ve Torino, M. I., 2019. Physicochemical and antioxidant properties of a gastroprotective exopolysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* CRL1190, *Food Hydrocolloids*, 96, 625–633.
- Lodato, M. A., Rodin, R. E., Bohrsen, C. L., Coulter, M. E., Barton, A. R., Kwon, M., Sherman, M. A., Vitzthum, C. M., Luquette, L. J. ve Yandava, C. N., 2018. Aging and neurodegeneration are associated with increased mutations in single human neurons, *Science*, 359, 6375, 555–559.
- Lopez, M., Li, N., Kataria, J., Russell, M. ve Neu, J., 2008. Live and ultraviolet-inactivated *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease flagellin-induced interleukin-8 production in Caco-2 cells, *The Journal of Nutrition*, 138, 11, 2264–2268.
- Loschen, G., Flohe, L. ve Chance, B., 1971. Respiratory chain linked H₂O₂ production in pigeon heart mitochondria, *FEBS Letters*, 18, 2, 261–264.
- Luo, D. ve Fang, B., 2008. Structural identification of ginseng polysaccharides and testing of their antioxidant activities, *Carbohydrate Polymers*, 72, 3, 376–381.

- Malagón-Rojas, J. N., Mantziari, A., Salminen, S. ve Szajewska, H., 2020. Postbiotics for preventing and treating common infectious diseases in children: a systematic review, *Nutrients*, 12, 2, 389.
- Markkanen, E., 2017. Not breathing is not an option: How to deal with oxidative DNA damage, *DNA Repair*, 59, 82–105.
- Marklund, S. ve Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *European Journal of Biochemistry*, 47, 469-474.
- Martincorena, I. ve Campbell, P. J., 2015. Somatic mutation in cancer and normal cells *Science*, 349, 6255, 1483–1489.
- Mills, S., Stanton, C., Fitzgerald, G. F. ve Ross, R., 2011. Enhancing the stress responses of probiotics for a lifestyle from gut to product and back again, *Microbial Cell Factories*, 10, 1–15.
- Min, W. H., Fang, X. Bin, Wu, T., Fang, L., Liu, C. L. ve Wang, J., 2019. Characterization and antioxidant activity of an acidic exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* JLAU103, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127, 6, 758–766.
- Mirończuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M. ve Zujko, M. E., 2018. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body, *Advances in Medical Sciences*, 63, 1, 68–78.
- Mishra, K., Ojha, H. ve Chaudhury, N. K., 2012. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH- assay: A critical review and results, *Food Chemistry*, 130, 4, 1036–1043.
- Mishra, V., Shah, C., Mokashe, N., Chavan, R., Yadav, H. ve Prajapati, J., 2015. Probiotics as potential antioxidants: a systematic review, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 14, 3615–3626.
- Molae Parvarei, M., Fazeli, M. R., Mortazavian, A. M., Sarem Nezhad, S., Mortazavi, S. A., Golabchifar, A. A. ve Khorshidian, N., 2021. Comparative effects of probiotic and paraprobiotic addition on microbiological, biochemical and physical properties of yogurt, *Food Research International*, 140, 110030.
- Moradi, M., Kousheh, S. A., Almasi, H., Alizadeh, A., Guimarães, J. T., Yılmaz, N. ve Lotfi, A., 2020. Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19, 6, 3390–3415.
- Munteanu, I. G. ve Apetrei, C., 2021. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 7, 1-30.

- Namai, F., Shigemori, S., Ogita, T., Sato, T. ve Shimosato, T., 2020. Microbial therapeutics for acute colitis based on genetically modified *Lactococcus lactis* hypersecreting IL-1Ra in mice, *Experimental and Molecular Medicine*, 52, 9, 1627–1636.
- Nataraj, B. H., Ali, S. A., Behare, P. V. ve Yadav, H., 2020. Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods, *Microbial Cell Factories*, 19, 1, 1–22.
- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A. ve Yar, M. S., 2019. Medicinal prospects of antioxidants: A review, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 178, 687–704.
- Nguyen, N. H., Tran, G. B. ve Nguyen, C. T., 2020. Anti-oxidative effects of superoxide dismutase 3 on inflammatory diseases, *Journal of Molecular Medicine*, 98, 1, 59–69.
- Niibo, M., Shirouchi, B., Umegatani, M., Morita, Y., Ogawa, A., Sakai, F., Kadooka, Y. ve Sato, M., 2019. Probiotic *Lactobacillus gasseri* SBT2055 improves insulin secretion in a diabetic rat model, *Journal of Dairy Science*, 102, 2, 997–1006.
- Nimse, S. B. ve Pal, D., 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms, *RSC Advances*, 5, 35, 27986–28006.
- Nishida, K., Sawada, D., Kuwano, Y., Tanaka, H., Sugawara, T., Aoki, Y., Fujiwara, S. ve Rokutan, K., 2017. Daily administration of paraprobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 ameliorates chronic stress-associated symptoms in Japanese medical students, *Journal of Functional Foods*, 36, 112–121.
- Nordmark, E. L., Yang, Z., Huttunen, E. ve Widmalm, G. 2005. Structural Studies of an Exopolysaccharide Produced by *Streptococcus thermophilus* THS, *Biomacromolecules*, 6, 105-108.
- Nowak, A., Czyżowska, A. ve Stańczyk, M., 2015. Protective activity of probiotic bacteria against 2-amino-3-methyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoline (IQ) and 2-amino-1-methyl-6-phenyl-1H-imidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) – an *in vitro* study, *Food Additives and Contaminants*, 32, 11, 1927–1938.
- O’sullivan, M. G., Thornton, G., O’sullivan, G. C. ve Collins, J. K., 1992. Probiotic bacteria: myth or reality?, *Trends in Food Science and Technology*, 3, 309–314.
- Obaroakpo, J. U., Liu, L., Zhang, S., Lu, J., Pang, X. ve Lv, J., 2019. α -Glucosidase and ACE dual inhibitory protein hydrolysates and peptide fractions of sprouted quinoa yoghurt beverages inoculated with *Lactobacillus casei*, *Food Chemistry*, 299, 124985.
- Oelschlaeger, T. A., 2010. Mechanisms of probiotic actions-A review, *International Journal of Medical Microbiology*, 300, 1, 57–62.

- Ogurtsova, K., da Rocha Fernandes, J. D., Huang, Y., Linnenkamp, U., Guariguata, L., Cho, N. H., Cavan, D., Shaw, J. E. ve Makaroff, L. E., 2017. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040, *Diabetes Research and Clinical Practice*, 128, 40–50.
- Osseni, R. A., Rat, P., Bogdan, A., Warnet, J.-M. ve Touitou, Y., 2000. Evidence of prooxidant and antioxidant action of melatonin on human liver cell line HepG2, *Life Sciences*, 68, 4, 387–399.
- Ostad, S. N., Salarian, A. A., Ghahramani, M. H., Fazeli, M. R., Samadi, N. ve Jamalifar, H., 2009. Live and heat-inactivated lactobacilli from feces inhibit *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* adherence to Caco-2 cells, *Folia Microbiologica*, 54, 157–160.
- Panesar, P. S., Kumari, S. ve Panesar, R., 2013. Biotechnological approaches for the production of prebiotics and their potential applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 33, 4, 345–364.
- Parohan, M., Sadeghi, A., Khatibi, S. R., Nasiri, M., Milajerdi, A., Khodadost, M. ve Sadeghi, O., 2019. Dietary total antioxidant capacity and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis on observational studies, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 138, 70–86.
- Patel, S., Majumder, A. ve Goyal, A., 2012. Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria, *Indian Journal of Microbiology*, 52, 3–12.
- Pham-Huy, L. A., He, H. ve Pham-Huy, C., 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health, *International Journal of Biomedical Science: IJBS*, 4, 2, 89.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. ve Periyasamy, L., 2015. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases, *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30, 11–26.
- Pisoschi, A. M. ve Pop, A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74.
- Plaza-Diaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Gil-Campos, M. ve Gil, A., 2019. Mechanisms of action of probiotics, *Advances in Nutrition*, 10, 49-66.
- Poetsch, A. R., 2020. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis, *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 207–219.
- Pohl, F., Goua, M., Bermano, G., Russell, W.R., Scobbie, L., Maciel, P. ve Kong, P. 2018. Revalorisation of rapeseed pomace extracts: An *in vitro* study into its antioxidant and DNA protective properties, *Food Chemistry*, 239, 323-332.
- Poli, G., Leonarduzzi, G., Biasi, F. ve Chiarpotto, E., 2004. Oxidative stress and cell signalling, *Current Medicinal Chemistry*, 11, 9, 1163–1182.

- Poljsak, B., Šuput, D. ve Milisav, I., 2013. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013.
- Prakash Shyam, K., Rajkumar, P., Ramya, V., Sivabalan, S., Kings, A. J. ve Miriam, L. R. M., 2021. Exopolysaccharide production by optimized medium using novel marine *Enterobacter cloacae* MBB8 isolate and its antioxidant potential, *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 1-10.
- Prieto, P., Pineda, M. ve Aguilar, M., 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a, *Analytical Biochemistry*, 269, 337–341.
- Puccetti, M., Xiroudaki, S., Ricci, M. ve Giovagnoli, S., 2020. Postbiotic-enabled targeting of the host-microbiota-pathogen interface: hints of antibiotic decline?, *Pharmaceutics*, 12, 7, 624.
- Rad, A. H., Maleki, L. A., Kafil, H. S., Zavoshti, H. F. ve Abbasi, A., 2020. Postbiotics as novel health-promoting ingredients in functional foods, *Health Promotion Perspectives*, 10, 1, 3–4.
- Ragul, K., Kandasamy, S., Devi, P. B. ve Shetty, P. H., 2020. Evaluation of functional properties of potential probiotic isolates from fermented brine pickle, *Food Chemistry*, 311, 1-7.
- Rajilić-Stojanović, M. ve De Vos, W. M., 2014. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota, *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews*, 38, 5, 996–1047.
- Rajoka, M. S. R., Mehwish, H. M., Hayat, H. F., Hussain, N., Sarwar, S., Aslam, H., Nadeem, A. ve Shi, J., 2019. Correction to: Characterization, the antioxidant and antimicrobial activity of exopolysaccharide isolated from poultry origin *Lactobacilli*, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11, 4, 1143–1144.
- Rampengan, N. H., Manoppo, J. ve Warouw, S. M., 2010. Comparison of efficacies between live and killed probiotics in children with lactose malabsorption, *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 41, 2, 474–481
- Ramu, R., Shirahatti, P. S., Deepika, T. H., Bajpe, S. N., Sreepathi, N., Patil, S. M. ve Prasad, N., 2022. Investigating *Musa paradisiaca* (Var. Nanjangud rasa bale) pseudostem in preventing hyperglycemia along with improvement of diabetic complications, *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 10, 4, 56–65.
- Raza, W., Makeen, K., Wang, Y., Xu, Y. ve Qirong, S. 2011. Optimization, purification, characterization and antioxidant activity of an extracellular polysaccharide produced by *Paenibacillus polymyxa* SQR-21, *Bioresource Technology*, 102, 6095-6103.

- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M. ve Aggarwal, B. B., 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49, 11, 1603–1616.
- Riaz Rajoka, M. S., Jin, M., Haobin, Z., Li, Q., Shao, D., Jiang, C., Huang, Q., Yang, H., Shi, J. ve Hussain, N., 2018. Functional characterization and biotechnological potential of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from human breast milk, *Food Science and Technology*, 89, 638–647.
- Riaz Rajoka, M. S., Zhao, H., Mehwish, H. M., Li, N., Lu, Y., Lian, Z., Shao, D., Jin, M., Li, Q., Zhao, L. ve Shi, J., 2019. Anti-tumor potential of cell free culture supernatant of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from human breast milk, *Food Research International*, 123, 286–297.
- Rodríguez-Bonilla, P., Gandía-Herrero, F., Matencio, A., García-Carmona, F. ve López-Nicolás, J. M., 2017. Comparative Study of the Antioxidant Capacity of Four Stilbenes Using ORAC, ABTS+, and FRAP Techniques, *Food Analytical Methods*, 10, 9, 2994–3000.
- Rossoni, R. D., de Barros, P. P., Mendonça, I. do C., Medina, R. P., Silva, D. H. S., Fuchs, B. B., Junqueira, J. C. ve Mylonakis, E., 2020. The postbiotic activity of *Lactobacillus paracasei* 28.4 against *Candida auris*, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 397.
- Rönkä, E., Malinen, E., Saarela, M., Rinta-Koski, M., Aarnikunnas, J. ve Palva, A., 2003. Probiotic and milk technological properties of *Lactobacillus brevis*, *International Journal of Food Microbiology*, 83, 1, 63–74.
- Rushdy, A. A. ve Gomaa, E. Z., 2013. Antimicrobial compounds produced by probiotic *Lactobacillus brevis* isolated from dairy products, *Annals of Microbiology*, 63, 81–90.
- Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-morte, D., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D. ve Abete, P., 2018, Oxidative stress, aging and diseases. 757–772.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J. ve Mattila-Sandholm, T., 2000. Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties, *Journal of Biotechnology*, 84, 3, 197–215.
- Saha, S. K., Lee, S. Bin, Won, J., Choi, H. Y., Kim, K., Yang, G. M., Dayem, A. A. ve Cho, S. G., 2017. Correlation between oxidative stress, nutrition, and cancer initiation, *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 7, 1-30.
- Saleem, M., Malik, S., Mehwish, H. M., Ali, M. W., Hussain, N., Khurshid, M., Rajoka, M. S. R. ve Chen, Y., 2021. Isolation and functional characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* S123 isolated from traditional Chinese cheese. *Archives of Microbiology*, 203, 6, 3061–3070.

- Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Reid, G., Gibson, G. R. ve Rastall, R. A., 2019. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic, *Nature reviews Gastroenterology and Hepatology*, 16, 10, 605–616.
- Sanna, S., van Zuydam, N. R., Mahajan, A., Kurilshikov, A., Vich Vila, A., Vösa, U., Mujagic, Z., Masclee, A. A. M., Jonkers, D. M. A. E. ve Oosting, M., 2019. Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases, *Nature Genetics*, 51, 4, 600–605.
- Santanam, N., Ramachandran, S. ve Parthasarathy, S., 1998. Oxygen radicals, antioxidants, and lipid peroxidation, *Seminars in Reproductive Endocrinology*, 16, 4, 275–280.
- Santos, A. L., Sinha, S. ve Lindner, A. B., 2018. The good, the bad, and the ugly of ROS: new insights on aging and aging-related diseases from eukaryotic and prokaryotic model organisms, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-29.
- Sardar, U. R., Bhargavi, E., Devi, I., Bhunia, B. ve Tiwari, O. N., 2018. Advances in exopolysaccharides based bioremediation of heavy metals in soil and water: a critical review, *Carbohydrate Polymers*, 199, 353–364.
- Sasani, T. A., Pedersen, B. S., Gao, Z., Baird, L., Przeworski, M., Jorde, L. B. ve Quinlan, A. R., 2019. Large, three-generation human families reveal post-zygotic mosaicism and variability in germline mutation accumulation, *Elife*, 8, 1-19.
- Sasikumar, K., Vaikkath, D. K., Devendra, L. ve Nampoothiri, K. M., 2017. An exopolysaccharide (EPS) from a *Lactobacillus plantarum* BR2 with potential benefits for making functional foods, *Bioresource Technology*, 241, 1152–1156.
- Schieber, M. ve Chandel, N. S., 2014. ROS function in redox signaling and oxidative stress, *Current biology*, 24, 10, 453–462.
- Serata, M., Yasuda, E., ve Sako, T., 2018. Effect of superoxide dismutase and manganese on superoxide tolerance in *Lactobacillus casei* strain Shirota and analysis of multiple manganese transporters, *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 37, 2, 31–38.
- Shen, Q., Shang, N. ve Li, P., 2011. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of *Bifidobacterium animalis* 01 isolated from centenarians, *Current microbiology*, 62, 4, 1097–1103.
- Shi, Y., Cui, X., Gu, S., Yan, X., Li, R., Xia, S., Chen, H. ve Ge, J., 2019. Antioxidative and Probiotic Activities of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Artisanal Milk Cheese from Northeast China, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11, 4, 1086–1099.
- Shields, H. J., Traa, A. ve Van Raamsdonk, J. M., 2021. Beneficial and Detrimental Effects of Reactive Oxygen Species on Lifespan: A Comprehensive Review of

Comparative and Experimental Studies, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 1–27.

Shripada, R., Gayatri, A. J. ve Sanjay, P., 2020. Paraprobiotics. *Precision Medicine for Investigators, Practitioners and Providers*, 39–49.

Siciliano, R. A., Reale, A., Mazzeo, M. F., Morandi, S., Silvetti, T. ve Brasca, M., 2021. Paraprobiotics: A new perspective for functional foods and nutraceuticals, *Nutrients*, 13, 4, 1–19.

Sies, H. ve Jones, D. P., 2020. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21, 7, 363–383.

Sies, H., Berndt, C. ve Jones, D. P., 2017. Oxidative stress. *Annual review of biochemistry*, 86, 715–748.

Simioni, C., Zauli, G., Martelli, A. M., Vitale, M., Sacchetti, G., Gonelli, A. ve Neri, L. M., 2018. Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging, *Oncotarget*, 9, 24, 17181.

Singh, A., Kukreti, R., Saso, L. ve Kukreti, S., 2019. Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases, *Molecules*, 24, 8, 1–20.

Smirnoff, N., Quinton, J. ve Cumbes O. J. 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes, *Phytochemistry*, 28, 1057-1060.

Son, S. H., Jeon, H. L., Yang, S. J., Lee, N. K. ve Paik, H. D., 2017. *In vitro* characterization of *Lactobacillus brevis* KU15006, an isolate from kimchi, reveals anti-adhesion activity against foodborne pathogens and antidiabetic properties, *Microbial Pathogenesis*, 112, 135-141.

Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H. ve LLeonart, M. E., 2013. Oxidative stress and cancer: An overview, *Ageing Research Reviews*, 12, 1, 376–390.

Srinivas, U. S., Tan, B. W. Q. Vellayappan, B. A. ve Jeyasekharan, A. D., 2019. ROS and the DNA damage response in cancer, *Redox Biology*, 25, 101084.

Suleman, M., Khan, A., Baqi, A., Kakar, M. S. ve Ayub, M., 2019. 2. Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body, *Pure and Applied Biology*, 8, 1, 380–388.

Sun, X., Wang, L., Fu, R., Yang, Y., Cheng, R., Li, J., Wang, S. ve Zhang, J., 2020. The chemical properties and hygroscopic activity of the exopolysaccharide lubcan from *Paenibacillus* sp. ZX1905, *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 2641–2650.

- Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., Habjanič, K. ve Matošić, S., 2010. Antimicrobial activity—the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria, *Food Technology and Biotechnology*, 48, 3, 296–307.
- Sutton, H. C. ve Winterbourn, C. C., 1989. On the participation of higher oxidation states of iron and copper in Fenton reactions, *Free Radical Biology and Medicine*, 6, 1, 53–60.
- Szentesi, P., Csernoch, L., Dux, L. ve Keller-Pintér, A., 2019. Changes in redox signaling in the skeletal muscle with aging, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-12.
- Takeda, Y., Fujita, Y., Honjo, J., Yanagimachi, T., Sakagami, H., Takiyama, Y., Makino, Y., Abiko, A., Kieffer, T. J. ve Haneda, M., 2012. Reduction of both beta cell death and alpha cell proliferation by dipeptidyl peptidase-4 inhibition in a streptozotocin-induced model of diabetes in mice, *Diabetologia*, 55, 404–412.
- Tang, W., Han, S., Zhou, J., Xu, Q., Dong, M., Fan, X. ve Jiang, M., 2020. Selective fermentation of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* SRFM-1 derived exopolysaccharide by *Lactobacillus* and *Streptococcus* strains revealed prebiotic properties, *Journal of Functional Foods*, 69, 103952.
- Taverniti, V. ve Guglielmetti, S., 2011. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept), *Genes ve Nutrition*, 6, 3, 261–274.
- Teame, T., Wang, A., Xie, M., Zhang, Z., Yang, Y., Ding, Q., Gao, C., Olsen, R. E., Ran, C. ve Zhou, Z., 2020. Paraprobiotics and postbiotics of probiotic *Lactobacilli*, their positive effects on the host and action mechanisms: A review, *Frontiers in Nutrition*, 7, 1-16.
- Tejero-Sariñena, S., Barlow, J., Costabile, A., Gibson, G. R. ve Rowland, I., 2012. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: evidence for the effects of organic acids, *Anaerobe*, 18, 5, 530–538.
- Tewari, S. ve Sharma, S., 2020. Rhizobial exopolysaccharides as supplement for enhancing nodulation and growth attributes of *Cajanus cajan* under multi-stress conditions: A study from lab to field, *Soil and Tillage Research*, 198, 1-8.
- Thierry, A., Valence, F., Deutsch, S.-M., Even, S., Falentin, H., Le Loir, Y., Jan, G. ve Gagnaire, V., 2015. Strain-to-strain differences within lactic and propionic acid bacteria species strongly impact the properties of cheese—A review, *Dairy Science and Technology*, 95, 895–918.
- Tomasik, P. ve Tomasik, P., 2020. Probiotics, non-dairy prebiotics and postbiotics in nutrition, *Applied Sciences*, 10, 4, 1470.

- Travasso, R. D. M., Dos Aidos, F. S., Bayani, A., Abranches, P. ve Salvador, A., 2017. Localized redox relays as a privileged mode of cytoplasmic hydrogen peroxide signaling, *Redox Biology*, 12, 233–245.
- Trevisan, M., Browne, R., Ram, M., Muti, P., Freudenheim, J., Carosella, A. M. ve Armstrong, D., 2001. Correlates of markers of oxidative status in the general population, *American Journal of Epidemiology*, 154, 4, 348–356.
- Tubbs, A. ve Nussenzweig, A., 2017. Endogenous DNA damage as a source of genomic instability in cancer, *Cell*, 168, 4, 644–656.
- Tukenmez, U., Aktas, B., Aslim, B., Yavuz, S., 2019. The relationship between the structural characteristics of lactobacili-EPS and its ability to induce apoptosis in colon cancer cells *in vitro*, *Scientific Reports*, 9, 1-14.
- Umeno, A., Horie, M., Murotomi, K., Nakajima, Y. ve Yoshida, Y., 2016. Antioxidative and antidiabetic effects of natural polyphenols and isoflavones, *Molecules*, 21, 6, 708.
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J. ve Telser, J., 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular Biochemistry*, 266, 37–56.
- Van Loon, B., Markkanen, E. ve Hübscher, U., 2010. Oxygen as a friend and enemy: How to combat the mutational potential of 8-oxo-guanine, *DNA Repair*, 9, 6, 604–616.
- Varzakas, T., Kandylis, P., Dimitrellou, D., Salamoura, C., Zakynthinos, G. ve Proestos, C., 2018. Innovative and fortified food: Probiotics, prebiotics, GMOs, and superfood, *Of Preparation and Processing of Religious and Cultural Foods*. Elsevier Ltd. Amsterdam, Hollanda.
- Wang, A. N., Yi, X. W., Yu, H. F., Dong, B. ve Qiao, S. Y., 2009. Free radical scavenging activity of *Lactobacillus fermentum in vitro* and its antioxidative effect on growing–finishing pigs, *Journal of Applied Microbiology*, 107, 4, 1140–1148.
- Wang, H. ve Li, L., 2022. Comprehensive Evaluation of Probiotic Property, Hypoglycemic Ability and Antioxidant Activity of Lactic Acid Bacteria, *Foods*, 11, 9, 1-14.
- Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M. ve Dong, M. 2014. Structural characterization and bioactivity of released exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* 70810, *International Journal of Biological Macromolecules*, 67, 71–78.
- Wang, K., Niu, M. Meng, Wu, Y., Zhu, R. Fang, Zhao, J., Lu, B. Xin ve Niu, G. Cai., 2019. Physicochemical characterization and antioxidant activity of cell-bound exopolysaccharides from *Lactobacillus fermentum* S1 obtained by two extraction methods, *Process Biochemistry*, 85, 195–205.

- Wang, K., Niu, M., Song, D., Song, X., Zhao, J., Wu, Y., Lu, B. ve Niu, G., 2020. Preparation, partial characterization and biological activity of exopolysaccharides produced from *Lactobacillus fermentum* S1, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 129, 2, 206–214.
- Wang, P. C., Zhao, S., Yang, B. Y., Wang, Q. H. ve Kuang, H. X., 2016. Anti-diabetic polysaccharides from natural sources: A review, *Carbohydrate Polymers*, 148, 86–97.
- Wang, X., Shao, C., Liu, L., Guo, X., Xu, Y. ve Lü, X., 2017. Optimization, partial characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* KX041, *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1173–1184.
- Wang, Y., Guo, Y., Chen, H., Wei, H. ve Wan, C., 2018. Potential of *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 and *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 in relieving colitis by gut microbiota, immune, and anti-oxidative stress, *Canadian Journal of Microbiology*, 64, 5, 327–337.
- Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., Wang, Y. ve Li, W., 2017. Antioxidant properties of probiotic bacteria, *Nutrients*, 9, 5, 521.
- Warda, A. K., Rea, K., Fitzgerald, P., Hueston, C., Gonzalez-Tortuero, E., Dinan, T. G. ve Hill, C., 2019. Heat-killed lactobacilli alter both microbiota composition and behaviour, *Behavioural Brain Research*, 362, 213–223.
- Wegh, C. A. M., Geerlings, S. Y., Knol, J., Roeselers, G. ve Belzer, C., 2019. Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond, *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 19, 4673.
- Wei, Q., Zhou, B., Cai, Y., Yang, L. ve Liu, Z. 2006. Synergistic effect of green tea polyphenols with trolox on free radical-induced oxidative DNA damage, *Food Chemistry*, 96, 90-95.
- Wilcox, H., Carr, C., Seney, S., Reid, G. ve Burton, J. P., 2020. Expired probiotics: what is really in your cabinet?, *FEMS Microbes*, 1, 1, 1-9.
- Williams, N. T., 2010. Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 67, 6, 449–458.
- Winterbourn, C. C., 2008. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species, *Nature Chemical Biology*, 4, 5, 278–286.
- Xiao, L., Xu, D., Tang, N., Rui, X., Zhang, Q., Chen, X., Dong, M. ve Li, W., 2021. Biosynthesis of exopolysaccharide and structural characterization by *Lactocaseibacillus paracasei* ZY-1 isolated from Tibetan kefir, *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 3, 1-30.
- Xie, J.-H., Jin, M.-L., Morris, G. A., Zha, X.-Q., Chen, H.-Q., Yi, Y., Li, J.-E., Wang, Z.-J., Gao, J., ve Nie, S.-P., 2016. Advances on bioactive polysaccharides from

medicinal plants, Critical Reviews In Food Science And Nutrition, 56, sup1, S60–S84.

- Xie, J.-H., Xie, M.-Y., Nie, S.-P., Shen, M.-Y., Wang, Y.-X. ve Li, C., 2010. Isolation, chemical composition and antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaj, Food Chemistry, 119, 4, 1626–1632.
- Xie, W., Zhang, Y., Wang, N., Zhou, H., Du, L., Ma, X., Shi, X. ve Cai, G., 2008. Novel effects of macrostemnoside A, a compound from *Allium macrostemon* Bung, on hyperglycemia, hyperlipidemia, and visceral obesity in high-fat diet-fed C57BL/6 mice, European Journal of Pharmacology, 599, 1, 3, 159–165.
- Xu, Xue; Li, Mengzhi; Hu, Jun; Chen, Zheng; Yu, Jinyu; Dong, Yan; Sun, Chengtao; Han, J., 2018. Somatic mitochondrial DNA D - loop mutations in meningioma discovered: A preliminary data A comprehensive overview of mitochondrial DNA 4977-bp, Journal of Cancer Research and Therapeutics, 14, 7, 1525–1534.
- Xu, Y., Cui, Y., Wang, X., Yue, F., Shan, Y., Liu, B., Zhou, Y., Yi, Y., Lü, X., 2019a. Purification, characterization and bioactivity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* KX041, International Journal of Biological Macromolecules, 128, 480-492.
- Xu, Y., Cui, Y., Yue, F., Liu, L., Shan, Y., Liu, B., Zhou, Y. ve Lü, X., 2019b. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and *Bifidobacteria*: Structures, physiochemical functions and applications in the food industry, Food Hydrocolloids, 94, 475–499.
- Yadav, R., Dey, D. K., Vij, R., Meena, S., Kapila, R. ve Kapila, S., 2018. Evaluation of anti-diabetic attributes of *Lactobacillus rhamnosus* MTCC: 5957, *Lactobacillus rhamnosus* MTCC: 5897 and *Lactobacillus fermentum* MTCC: 5898 in streptozotocin induced diabetic rats, Microbial Pathogenesis, 125, 454–462.
- Yan, F., Li, N., Shi, J., Li, H., Yue, Y., Jiao, W., Wang, N., Song, Y., Huo, G. ve Li, B., 2019. *Lactobacillus acidophilus* alleviates type 2 diabetes by regulating hepatic glucose, lipid metabolism and gut microbiota in mice, Food ve function, 10, 9, 5804–5815.
- Yan, F., Li, N., Yue, Y., Wang, C., Zhao, L., Evivie, S. E., Li, B. ve Huo, G., 2020. Screening for potential novel probiotics with dipeptidyl peptidase IV-inhibiting activity for type 2 diabetes attenuation *in vitro* and *in vivo*, Frontiers in Microbiology, 10, 2855.
- Yang, H., Deng, J., Yuan, Y., Fan, D., Zhang, Y., Zhang, R. ve Han, B. 2015. Two novel exopolysaccharides from *Bacillus amyloliquefaciens* C-1: antioxidation and effect on oxidative stress, Current Microbiology 70, 2, 298-306.

- Yang, S. J., Kim, K. T., Kim, T. Y. ve Paik, H. D., 2020. Probiotic properties and antioxidant activities of *Pediococcus pentosaceus* SC28 and *Levilactobacillus brevis* KU15151 in fermented black gamju, *Foods*, 9, 9, 1-2.
- Yang, Y., Wright, W. M. D., Hettinga, K. A. ve van Ruth, S. M., 2021. Exploration of an ultrasonic pulse echo system for comparison of milks, creams, and their dilutions, *Food Science and Technology*, 136, 1–13.
- Yang, Z., Li, S., Zhang, X., Zeng, X., Li, D., Zhao, Y. ve Zhang, J., 2010. Capsular and slime-polysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* JAAS8 isolated from Chinese sauerkraut: Potential application in fermented milk products, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110, 53–57.
- Yıldız, G., Aktürk, C., Özerkan, M. ve Yılmaz, Ö., 2020. *Linum arboreum* L. (Linaceae) Türünün Antioksidan İçeriği ve Serbest Radikal Süpürücü Aktivitesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 16–23.
- Yu, Y., Shen, M., Song, Q. ve Xie, J., 2018. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. *Carbohydrate Polymers*, 183, 235, 91–101.
- Zendeboodi, F., Khorshidian, N., Mortazavian, A. M. ve da Cruz, A. G., 2020. Probiotic: conceptualization from a new approach, *Current Opinion in Food Science*, 32, 103–123.
- Zeng, Z., Luo, J., Zuo, F., Zhang, Y., Ma, H. ve Chen, S., 2016. Screening for potential novel probiotic *Lactobacillus* strains based on high dipeptidyl peptidase IV and α -glucosidase inhibitory activity, *Journal of Functional Foods*, 20, 17, 486–495.
- Zeng, Z., Yuan, Q., Yu, R., Zhang, J., Ma, H. ve Chen, S., 2019. Ameliorative effects of probiotic *Lactobacillus paracasei* NL41 on insulin sensitivity, oxidative stress, and beta-cell function in a type 2 diabetes mellitus rat model, *Molecular Nutrition ve Food Research*, 63, 22, 1-16.
- Zhang, L., Li, N., Caicedo, R. ve Neu, J., 2005. Alive and dead *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease tumor necrosis factor- α -induced interleukin-8 production in caco-2 cells, *The Journal of Nutrition*, 135, 7, 1752–1756.
- Zhang, Y., Chen, X., Hu, P., Liao, Q., Luo, Y., Li, J., Feng, D., Zhang, J., Wu, Z. ve Xu, H., 2021. Extraction, purification, and antioxidant activity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus kimchi* SR8 from sour meat *in vitro* and *in vivo*, *CYTA-Journal of Food*, 19, 1, 228–237.
- Zhang, Y., Hu, P., Lou, L., Zhan, J., Fan, M., Li, D. ve Liao, Q., 2017. Antioxidant activities of lactic acid bacteria for quality improvement of fermented sausage, *Journal of Food Science*, 82, 12, 2960–2967.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., O'toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P. ve Walter, J., 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description

of the genus *Lactobacillus Beijerinck* 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 70, 4, 2782–2858.

Żółkiewicz, J., Marzec, A., Ruszczyński, M. ve Feleszko, W., 2020. Postbiotics—a step beyond pre-and probiotics, Nutrients, 12, 8, 1–17.

Zotta, T., Parente, E. ve Ricciardi, A., 2017. Aerobic metabolism in the genus *Lactobacillus*: impact on stress response and potential applications in the food industry, Journal of Applied Microbiology, 122, 4, 857–869.



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Abdulkadir DİKİCİ

EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

Lisans : Aksaray Üniversitesi/Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji,
2016-2020

Yüksek Lisans : Aksaray Üniversitesi/Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji,
A.B.D. 2020-2023

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

- Aksaray Üniversitesi/ Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Topluluk Başkanı, 2017-2018
- Aksaray Üniversitesi/ Mikrobiyoloji Laboratuvarı/ Araştırmacı Öğrenci, 2018-2020
- TÜBİTAK/ Türkiye'nin Geleneksel Peynirlerinden İzole edilen Bazı Laktobasiller Tarafından Üretilen Ekzopolisakkaritlerin Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması (120Z573) /Bursiyer/ Araştırmacı Öğrenci, 2020-2023

TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

Kongreler

Dikici, A. İnanan, T., Önal Darılmaz, D., 2023. Investigation of Antioxidant Activities of Exopolysaccharide Obtained from *Levilactobacillus brevis*, 2.Atlas International Conference On Research In Applied Sciences, March 9-10, Konya.

Projeler

TÜBİTAK 120Z573 kodlu 1001 projesinde bursiyer öğrenci, 2020-2023