TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LACTOBACILLUS PLANTARUM SUŞLARININ İNAKTİVE EDİLMİŞ VE EDİLMEMİŞ FORMLARININ ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL VE ANTİBİYOFİLM ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

ECEM ÖZDURAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. ÖZLEM BİNGÖL ÖZAKPINAR
BESLENME VE BİYOKİMYASI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İKİNCİ DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ PERVİN RAYAMAN

İSTANBUL- 2023

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LACTOBACILLUS PLANTARUM SUŞLARININ İNAKTİVE EDİLMİŞ VE EDİLMEMİŞ FORMLARININ ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL VE ANTİBİYOFİLM ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

ECEM ÖZDURAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DOÇ. DR. ÖZLEM BİNGÖL ÖZAKPINAR
BESLENME VE BİYOKİMYASI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İKİNCİ DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ PERVİN RAYAMAN

İSTANBUL- 2023

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Ecem ÖZDURAN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim sürecimde bana ilk günden itibaren sonsuz katkı sunan, bilimsel perspektifimi genişleten, nedeni ve nasılı ayrıntılarıyla aktaran, hem mesleki hem bilimsel anlamda literatürdeki her noktaya dokunan ve bana yol gösteren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özlem Bingöl ÖZAKPINAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tüm özverisiyle bilgi ve birikimini aktaran, bana sabırla yaklaşan, her sorunuma desteğini sunan, süresiz bir şekilde yanımda olan ikinci danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pervin RAYAMAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında desteğini ve katkılarını sunan, bana vakit ayıran, bilgi ve deneyimlerini özveriyle paylaşan Sayın Prof. Dr. Gülgün TINAZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez hazırlık sürecimde deneylerime katkı sunan, çalışmalarıma yardımcı olan; bilgilerini ve tecrübelerini aktaran Sayın Doç. Dr. Turgut TAŞKIN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneylerimi yaparken yardımlarını esirgemeyen, fikirlerini ve tecrübelerini paylaşan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Erkan RAYAMAN'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim sürecimde derslerimizde destekleri, bilgi ve birikimleriyle bana sayısız katkı sağlayan, kendilerinden çok şey öğrendiğim Sayın Prof. Dr. Derya ÖZSAVCI ve Sayın Prof. Dr. Azize ŞENER'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecimde bilgi ve yardımlarıyla bana destek olan eczacılık fakültesi öğrencisi Yusuf Talha ATALAY'a ve doktora öğrencisi sayın Havva DAŞTAN'a teşekkürlerimi iletiyorum.

Sevgi dolu aileme, eğitimimi her şeyin önünde tuttukları ve hayat boyu öğrenmeme destek oldukları için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ……..……...i

ŞEKİL LİSTESİ ii

TABLO LİSTESİ iii

1. ÖZET 1

2. ABSTRACT 2

3. GİRİŞ ve AMAÇ 3

4. GENEL BİLGİLER 5

4.1. Probiyotikler 5

4.2. Probiyotik Mikroorganizmalarda Aranan Özellikler 7

4.3. Probiyotik Mikroorganizmalar 9

4.3.1. İnsan vücudunda bulunan mikroorganizmalar 10

4.3.2. Gıdalarda bulunan probiyotik mikroorganizmalar 11

4.4. Probiyotik Mikroorganizmaların Etkileri 12

4.5. Probiyotik Mikroorganizmaların Sağlığa Yararları 12

4.6. Laktik Asit Bakterileri (LAB) 20

4.7. Paraprobiyotik ve Postbiyotik Kavramı 21

4.7.1. Probiyotiklerin İnaktivasyon Yöntemleri 23

4.8. Paraprobiyotik ve Postbiyotik Bileşenler 24

4.8.1. Biyosürfaktanlar 24

4.8.2. Ekzopolisakkaritler 25

4.8.3. Hücre yüzey proteinleri 26

4.8.4. Teikoik asitler 27

4.8.5. Peptidoglikanlar 28

4.9. LAB'ın İndirekt Etkileri ve Ürettikleri Metabolik Ürünler 28

4.9.1. Laktik asit 29

4.9.2. Konjuge linoleik asit (KLA) 29

4.9.3. γ-Aminobütirik Asit (GABA) 30
4.9.4. Diğer organik asitler 30
4.9.5. Asetaldehit 32
4.9.6. Diasetil (2,3-bütandion) 32
4.9.7. Hidrojen peroksit 33
4.9.8. Karbondioksit 33
4.9.9. Reuterin 33
4.9.10. Bakteriyosinler 34
4.9.11. Vitaminler 35
4.10. *Lactobacillus plantarum*'un Genel Özellikleri 37
4.10.1. *L. plantarum'*un etkileri 38
4.10.2. *Lactobacillus plantarum'*dan üretilen bakteriyosinler 40
4.11. Patojen Mikroorganizmaların Biyofilm Oluşturma Kabiliyeti 40
4.11.1. Biyofilm oluşumuyla ilişkili gastrointestinal sistem hastalıkları 42
4.11.1.1. İnflamatuar bağırsak hastalığında biyofilm oluşumu 43
4.11.1.2. Kolorektal kanserde biyofilm oluşumu 46
4.11.1.3. Probiyotik mikroorganizmaların patojen mikroorganizmlar tarafından oluşturulan biyofilmler üzerine etkisi 46
5. GEREÇ ve YÖNTEM 48
5.1. Gereçler 48
5.1.1. Mikroorganizmalar 48
5.1.2. Kullanılan cihazlar ve kimyasal maddeler 49
5.1.3. McFarland standart bulanıklık tüpleri 50
5.1.4. Mikroorganizma suşlarının temini ve muhafaza edilmesi 51
5.1.5. Besiyerleri 51
5.2. Yöntem 51
5.2.1. Mikroorganizmaların aktifleştirilmesi 51

5.2.2. Probiyotik mikroorganizmaların sıcaklık ile inaktive edilmesi 51
5.2.3. Probiyotik mikroorganizmaların ultrasonikasyon ile inaktive edilmesi 51
5.2.4. Probiyotik mikroorganizmaların patojen mikroorganizmalarla muamelesi ve 'spot on lawn' yöntemi ile probiyotik mikroorganizmaların antimikrobiyal aktivitesinin tespit edilmesi 52
5.2.5. Farklı kaynaklardan elde edilen *Lactobacillus plantarum'* un Pa01 biyofilm oluşumu üzerine etkisinin belirlenmesi 53
5.2.6. DPPH radikal aktivite süpürme tayini 53
5.2.7. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) 54
6. BULGULAR 55
6.1. Sıcaklık Uygulaması Sonrası *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Antimikrobiyal Aktivitesi 55
6.2. Ultrasonikasyon Uygulaması Sonrası *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Antimikrobiyal Aktivitesi 55
6.3. Farklı Kaynaklardan Elde Edilen *Lactobacillus plantarum'* un Pa01 Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkisi 59
6.4. Farklı kaynaklarda izole edilen *Lactobacillus plantarum* suşlarının antioksidan etkisi 59
7. TARTIŞMA VE SONUÇ 61
8. KAYNAKLAR 71
9. ÖZGEÇMİŞ 119
10. BİLİMSEL FAALİYETLER 120

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

ATCC: Amerikan kültür koleksiyonu

CFS: Hücresiz süpernatant

CRP: c- reaktif protein

CUPRAC: Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite

DNA: Deoksiribo nükleik asit

DPPH : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil

EPS: Eksopolisakkarit

FAO: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü

GABA: γ-Aminobütirik asit

Gİ: Gastrointestinal

HMG-CoA: 3-hidroksi-metil-3-glutaril-CoA

İBH: İnflamatuar bağırsak hastalığı

Ig: İmmunoglobulin

İL: İnterlökin

KLA: Konjuge linoleik asit

KZYA: Kısa zincirli yağ asitleri

LAB: Laktik asit bakterileri

LTA: Lipoteikoik asit

MRS: De Man, Rogosa ve Sharpe

NAD: Nikotinamid adenin dinükleotit

NFκB: Nükleer faktör-κB

NK: Doğal öldürücü hücre

PPAR: Peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör

QS: Çevreyi algılama sistemi

Th: Yardımcı T hücreleri

TNF-α :Tümör nekrozis faktör-α

TSA: Tyriptik soy agar

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa Numarası

Şekil 1. Probiyotiklerin tarihçesi 7

Şekil 2. İnsan vücudunda bulunan baskın mikroorganizmalar 10

Şekil 3. Laktik asit bakterilerinin besinsel kaynakları 12

Şekil 4. Postbiyotik ve parabiyotiklerin konakçı üzerinde lokal ve sistemik etkileri 22

Şekil 5. Probiyotiklerin inaktivasyonunda kullanılan yöntemler 24

Şekil 6. Biyosürfaktanın yapısı ve davranışı 25

Şekil 7. Peptidoglikanların yapısı 28

Şekil 8. Bakteriyosinlerin sınıflandırılması 35

Şekil 9. *L. plantarum*'un antimikrobiyal metabolitleri 39

Şekil 10. Biyofilm oluşumu 42

Şekil 11. Biyofilm biyocoğrafyasının şeması 44

Şekil 12 a. *L. plantarum* eczane preparatı spot kolonisi 57

Şekil 12 b. İnaktivasyon öncesi ev yapımı peynir altı suyundan izole edilen *L. plantarum* suşunun *K. pneumoniae* patojen bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinlik 57

Şekil 13 a. Sıcaklık ile inaktivasyon sonrası eczane preparatından izole edilen *L. plantarum* suşunun *K. pneumoniae* patojen bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinlik 58

Şekil 13 b. Ev yapımı peynir altı suyundan izole edilen *L. plantarum* suşunun ultrasonikasyon ile inaktivasyon sonrası *K. pneumoniae* patojen bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinlik 58

Şekil 14. *Lactobacillus plantarum*'un PA01 biyofilm oluşumu üzerine % inhibisyon oranları 59

TABLO LİSTESİ

Sayfa Numarası

Tablo 1. Probiyotik seçimi için önemli kriterler 8

Tablo 2. Probiyotik üretiminde kullanılan mikroorganizmalar 9

Tablo 3. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen antimikrobiyal metabolitler 13

Tablo 4. Kısa zincirli yağ asitleri ve kimyasal yapıları 31

Tablo 5. Probiyotik bakteriler tarafından üretilen bileşenler 36

Tablo 6. *L. plantarum* suşlarının sıcaklık ve ultrasonikasyon uygulaması sonrası antimikrobiyal etkinliği, inhibisyon çapı/mm 56

Tablo 7. *L. plantarum* suşlarının antioksidan aktivite sonuçları 60

1. ÖZET

Tezin başlığı: *Lactobacillus plantarum* Suşlarının İnaktive Edilmiş ve Edilmemiş Formlarının Antioksidan, Antimikrobiyal ve Antibiyofilm Etkilerinin Karşılaştırılması
Öğrencinin Adı Soyadı: Ecem Özduran
Danışmanın Adı Soyadı: Doç. Dr. Özlem Bingöl ÖZAKPINAR
Program adı: Biyokimya (Ecz) Anabilim Dalı, Beslenme ve Biyokimyası

Amaç: İnsan sindirim sistemi patojen mikroorganizmaların gelişimini baskılayan ve sağlıklı bir sistemi teşvik eden yaklaşık 400 probiyotik bakteri türünü içermektedir. Çalışmamızın amacı; farklı probiyotik ürünlerden izole edilen *Lactobacillus plantarum (L. plantarum)* suşlarının ultrasonikasyon ve sıcaklık uygulaması öncesi ve sonrası göstereceği antioksidan, antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitelerinin karşılaştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Üç farklı kaynaktan izole edilen *L. plantarum* suşunun sıcaklık ve ultrasonikasyon ile inaktivasyonu sonrası antioksidan, antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitesi araştırılmıştır. Antioksidan aktivite için 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite **(**CUPRAC) yöntemleri uygulanmıştır. Probiyotik mikroorganizmaların patojen mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkisi spot on lawn yöntemiyle incelenmiştir. *L. plantarum* suşlarının *Pseudomonas aeruginosa* 01 biyofilm oluşumu üzerine etkisi kristal viyole metodu kullanılarak test edilmiştir.

Bulgular: *L. plantarum* suşlarının inaktivasyon işlemlerinden sonra antibakteriyel etkinliği genel olarak muhafaza edilmiştir. Fakat sıcaklıkla inaktivasyon işlemi sonrasında antifungal etki gözlenmemiştir. *L. plantarum*'un antibiyofilm oluşturma yeteneği inaktivasyon işlemlerinden sonra azalırken, antioksidan etkinlik, inaktivasyon sonrası artış göstermiştir.

Sonuç: Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, gıda endüstrisinde ve aktif probiyotik kullanımı uygun olmayan bireylerde inaktif probiyotiklerin kullanılmasının uygun olabileceğini göstermektedir. Fakat sonuçlarımızı destekleyecek daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Antimikrobiyal etki, *Lactobacillus plantarum*, ultrasonikasyon, probiyotik

2. ABSTRACT

Title of thesis: Comparison of the Antioxidant, Antimicrobial and Antibiofilm Effects of Inactivated and Non-inactivated Forms of *Lactobacillus plantarum* Strains
Student Name: Ecem Özduran
Name of Supervisor: Assoc. Prof. Özlem Bingöl Özakpınar
Program Name: Department of Biochemistry (Pha), Nutrition Biochemistry

Objective: The human digestive system contains about 400 species of probiotic bacteria that suppress the growth of pathogenic microorganisms and promote a healthy system. The aim of our study is to compare the antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from different products before and after ultrasonication and heat treatment.

Materials and Methods: The antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activities of t *L. plantarum* strains isolated from three different sources were investigated. For inactivation processes, ultrasonication and heat were applied to probiotic microorganism suspensions. For antioxidant activity, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and copper (II) ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) methods were applied. The antimicrobial effect of probiotic microorganisms on pathogenic microorganisms was examined by the spot on lawn method. The effect of *L. plantarum* strains on *Pseudomonas aeruginosa* 01 biofilm formation was tested using the crystal violet method.

Results: According to our study, the antibacterial activity of *L. plantarum* strains was generally preserved after inactivation processes. However, no antifungal effect was observed after heat inactivation. While the ability of *L. plantarum* to form antibiofilm decreased after inactivation processes, antioxidant activity increased.

Conclusion: The results obtained in our study show that the use of inactive probiotics may be appropriate in the food industry and in individuals for whom active probiotic use is not appropriate. However, more studies are needed to support our results.

Keywords: Antimicrobial effect, *Lactobacillus plantarum*, ultrasonication, probiotics

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Probiyotik bakteriler yüz yılı aşkın bir süreden beri gıdalarda, özellikle de süt ürünlerinde güvenli bir şekilde kullanılmaktadır (Kechagia ve ark., 2013). Son zamanlarda spesifik hastalıkları önlemek, hafifletmek veya tedavi etmek amacı ile probiyotiklerin kullanım oranı artmıştır. 2002 yılında Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) çalışma grubu uzmanları tarafından formüle edilen mevcut tanımı, probiyotiklerin "yeterli miktarlarda alındığında intestinal sistemi düzenleyerek konakçı sağlığı üzerine faydalı etkilere sahip canlı mikroorganizma suşları'' olarak belirlenmiştir (Hotel & Cordoba, 2001).

Mikrobiyotanın metabolik hastalıklar üzerindeki etkisinin ve mikrofloranın öneminin anlaşılmasından sonra sağlıklı olma halinin devamlılığını sağlamada probiyotik mikroorganizmalara olan ilgi artmaya başlamıştır. Probiyotikler, bağırsak mikrobiyal dengesini destekleyen patojenik olmayan mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalar antimikrobiyal etkileriyle patojen bakterilerin çoğalmasını inhibe eder, patojenlerin bağırsak epiteline yapışmasını engeller ve gastrointestinal (Gİ) kanal epitelinde enzimatik aktiviteyi uyarırlar (Ichim ve ark., 2016). Probiyotikler ayrıca, prokarsinojenlerin karsinojenlere dönüşmesine inhibe ederek ve besinlerin barsağa geçişini hızlandırarak konakçıya fayda sağlarlar (Pool-Zobel ve ark., 2005; Raman ve ark., 2013).

Probiyotik olarak kullanılan en yaygın bakteriler Laktik Asit Bakterileri (LAB)'dir. LAB'ın önemli görevlerinden biri ruterin, bakteriyosin, diasetil ve organik asitler başta olmak üzere antimikrobiyal özellik gösteren çeşitli maddeleri sentezleyerek gıdalarda istenmeyen mikroorganizmaların ve patojenlerin gelişimini önlemektir (Chikindas ve ark., 2018).

Probiyotik mikroorganizmalar ile yapılan çalışmalar laktobasillusların farklı ekolojik nişlerden izole edilebildiğini göstermiştir. Bu mikroorganizmalardan önemli bir tür olan *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) çeşitli peynir türlerinin olgunlaşması sırasında baskın halde bulunur (McSweeney ve ark., 1994). *L. plantarum* süt ürünleri, sebze, et, şarap gibi besinlerin yanı sıra tükürük, Gİ, vajinal ve ürogenital sistemde de bulunmaktadır (Siezen & van Hylckama Vlieg, 2011).

Gıda kaynaklı enteropatojenleri kontrol etmek için antibiyotikler, doğal antimikrobiyaller, iyonlaştırıcı radyasyon ve ısı yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar probiyotiklerin de gıda kaynaklı enfeksiyonları kontrol edebildiğini ortaya koymuştur (Lee ve

ark., 2019; Song ve ark., 2019). Literatürde LAB suşlarının çeşitli antimikrobiyal ajanlar ürettiğini ortaya koyan çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Moradi ve ark., 2019).

Patojen enfeksiyonları; biyofilm oluşumu ve büyümesiyle patojenlerin kalıcılığına ve kolonizasyonuna yol açan mekanizmalarla ilişkilidir (García-Heredia ve ark., 2016). Mikrobiyal biyofilmler biyotik veya abiyotik yüzeylere bağlanan mikrobiyal topluluklardır ve hücre dışı polimerik madde matrisinden oluşur (Jahid ve ark., 2015). Probiyotik bakteriler, farklı ekzometabolitler üreterek, patojen mikroorganizmaların gen ekspresyonunu etkileyerek ve konağın immün yanıtını düzenleyerek biyofilm oluşumunu önleme kabiliyetine sahiptir (Barzegari ve ark., 2020).

Probiyotik mikroorganizmaların antioksidan, antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitelerine rağmen takviye olarak kullanımı, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda septisemi olasılığına yol açmaktadır. Bu nedenle klinik ortamda reçete edilmeleri sırasında karışıklıklar yaşanabilmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda olumlu hücresel fonksiyonların yanı sıra antienflamatuvar ve proinflamatuar sitokinler arasındaki dengeyi olumsuz etkileyerek riskli kişilerde uzun vadeli bağışıklık tepkilerinin değişmesine neden olabilmektedir (de Simone, 2019; Shripada ve ark., 2020). Buna ek olarak, bu mikroorganizmaların probiyotik biyoaktivitesi zamanla azalmaktadır. Bu olumsuz etkilerini azaltmak için probiyotik mikroorganizmalar sıcaklık, ultrasonikasyon gibi çeşitli yöntemlerle inaktive edilerek biyolojik aktiviteleri araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalar, sıcaklıkla inaktive edilmiş probiyotiklerin antimikrobiyal ve immün modülatör fonksiyonlarla sistemik olarak patojenik enfeksiyona karşı doğal savunma mekanizmalarını geliştirdiğini göstermiştir (Hirose ve ark., 2006; Ostad ve ark., 2009; Taverniti & Guglielmetti, 2011; Shripada ve ark., 2020). Sıcaklıkla inaktive edilmiş probiyotiklerin stres kaynaklı immün sistem hasarını önlediği ve enfeksiyon şiddetini azalttığı bildirilmiştir (Landete ve ark., 2017).

Bu tez çalışmasının amacı; üç farklı kaynaktan izole edilen *L. plantarum* suşlarının *in vitro* antioksidan, antimikrobiyal ve antibiyofilm aktivitelerini belirlemek; bu etkinliklerin sıcaklık ve ultrasonikasyon uygulamaları ile değişimlerini incelemektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Probiyotikler

Taş devrinin neolitik döneminde hayvanların evcilleştirilmesiyle insanlar fermente gıda tüketmeye başlamıştır (Gasbarrini ve ark., 2016). Eski dönemlerde meyve ve tahılların kapalı kaplarda uzun süre muhafaza edilmesiyle şarap ve bira üretildiğini bilinmekteydi, fakat bu tekniğin neden işe yaradığı ise bilinmiyordu. Üretim süreci, Latince ‘’kaynatmak’’ anlamına gelen "fervere" kelimesi fermantasyon olarak adlandırılmıştır. Gözlemler sonucu ezilmiş üzüm karışımının kabarcıklar çıkarmasından böyle bir benzetme yapılmıştır. Karışım yeterince bekletilmezse son ürün alkol içermiyordu, çok uzun süre bırakılmadığında ise karışım bozulmakta ve içilemez hale gelmekteydi. Ampirik gözlem aracılığıyla insanlar sıcaklık ve havaya maruziyetin fermantasyon sürecinin anahtarı olduğunu öğrenmişlerdir (Alba-Lois & Segal-Kischinevzky, 2010).

Eski Mısır kalıntılarına bakıldığında günümüz Orta Doğu'sunda yaygın olarak kullanılan fermente süt ürünleri 'Laban Rayad' ve 'Laban Khed'in MÖ 3500 gibi erken bir tarihte kullanımda olduğu görülmüştür (Abou-Donia, 2008). Dördüncü yüzyıla ait bir Çin el kitabında gıda zehirlenmesi veya şiddetli ishal için fekal mikrobiyota nakline rastlanmıştır. Dışkı nakli, *Clostridium difficile* kaynaklı enfeksiyonları Vankomisin’den daha etkili bir şekilde tedavi edebilmiş ve yeniden oluşmasını önleyebilmiştir (Gasbarrini ve ark., 2016).

1856'da Pasteur, alkollü ve laktik asit fermentasyonun mikroorganizmalar tarafından yapıldığını bulmuştur. Pasteur, alkolik fermantasyonun maya, laktik asit fermantasyonunun ise bakterilerin etkisiyle gerçekleştiğini saptamıştır (Mazzarello, 2002).

1905 yılında, 1860'larda Pasteur ile birlikte çalışan Elie Metchnikoff, Bulgarların uzun yaşamalarını tükettikleri yoğurdun kendisine değil, yoğurdu mayalamak için kullanılan laktobasillere ve bu laktobasillerin vücuttaki mevcudiyetine atfetmiştir. Metchnikoff, laktobasilleri probiyotikler olarak değerlendirmiş; ‘’probiyotikler sağlık üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabilir ve yaşlanmayı önleyebilir’ ’demiştir (Metchnikoff, 1907).

Alman Profesör Alfred Nissle, 1917'de *Shigellla* salgını sırasında hastalıktan etkilenmemiş bir askerin dışkısından bir *Escherichia coli* türü izole etmiştir. Nissle, antibiyotiklerin mevcut

olmadığı bu dönemde akut enfeksiyöz salmonelloz ve şigellozda *E. coli* Nissle 1917 suşunu kullanmıştır (Jacobi, 2011).

1922'de yapılan en eski insan çalışmalarından birinde kronik kabızlık, ishal veya egzaması bulunan 30 hastada *L. acidophilus* kullanılmış ve 3 koşulda da iyileşme görülmüştür (Rettger & Cheplin, 1922). 10 yıl sonra 1932'de ise kabızlık ve akıl hastalığı olan hastalarda *L. acidophilus'*un etkisini gösteren bir çalışma yayınlanmıştır (Kopeloff ve ark., 1932).

1930'larda, yoğurtta başlatıcı kültür olarak kullanılan bakterilerin (*L. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) insan bağırsağında kolonize olamayacakları bulunduğunda, yoğurt tüketiminin probiyotikler için en iyi alım yolu olduğu fikri sorgulanmıştır. Farklı bir suş olan *L. acidophilus*, yüksek düzeyde asit üretmediği (kesilmeye neden olduğu) ve insan kolonunda kolonize olabileceği belirlendiği için süte eklenmiştir (Ferrer & Boyd, 1955).

Probiyotik kelimesi, 1953 yılında Alman bilim adamı Werner Kollath tarafından "hayatın sağlıklı gelişimi için gerekli olan aktif maddeler" olarak ilk kez kullanılmıştır. 1965'te Lilly ve Stillwell bu terimi "bir organizma tarafından salgılanan ve diğerinin büyümesini teşvik eden maddeler" olarak kullanmıştır. 1992'de Fuller probiyotikleri, "konakçı hayvanın bağırsak mikrobiyal dengesini iyileştirerek yararlı etkiler sunan mikrobiyal besin takviyesi" olarak tanımlamıştır (McFarland, 2015).

2001 yılında FAO'nun talebi üzerine DSÖ'nün desteğiyle probiyotik tanımını netleştirmek için bir uzman paneli oluşturulmuş ve probiyotikler "*yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar*" olarak tanımlamıştır (FAO/WHO, 2002).

2013 yılında Uluslararası Bilimsel Probiyotik ve Prebiyotik Derneği tarafından probiyotikler "*yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar*" olarak tanımlanmıştır. Bu tanım, dünya çapında probiyotiklerin yaygın olarak kabul edilen bilimsel tanımıdır (Hill ve ark., 2014) (Şekil 1).



Şekil 1. Probiyotiklerin tarihçesi (Chaudhari & Dwivedi, 2022'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

4.2. Probiyotik Mikroorganizmalarda Aranan Özellikler

Probiyotik mikroorganizma kültürleri; normal bağırsak florasından seçilmeli, patojen olmamalı, konakta kolonize olabilmeli ve yüksek konsantrasyonlara (10^7-10^9 kob/ml ürün) ulaşabilmelidir. Mikroorganizmanın probiyotik olarak belirlenmesinde mevcut suşun kökeni, tanımı ve fizyolojisi kesinleşmiş olmalı ve bu durum mutlaka göz önüne alınmalıdır (Morelli, 2007). İstenilen ve beklenen yararlı etkilerin sağlanabilmesi için en az 5 gün boyunca 5 milyar koloni oluşturan ünite/gün doz probiyotik suş önerilmektedir (Gronlund ve ark., 1999; Williams, 2010). Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak belirlenmesi için aranan kriterler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Probiyotik seçimi için önemli kriterler (Yılsay & Kurdal, 2000'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

Taksonomik olarak tanımlanmış, güvenilir ve stabil olmalıdır.
Düşük pH ve safra tuzlarına dirençli olmalıdır. Mide ve bağırsak geçişleri sırasında canlı kalabilmelidirler.
İnsan veya hayvanlarda yan etkisi olmamalıdır.
Bakteri çeperi hidrofobik yapıda olmalıdır.
Epitel yüzeylere tutunabilmelidir.
Agregasyon ve koagregasyon yeteneğine sahip olmalıdır.
Kolonize olabilmelidir.
Antimikrobiyal etki gösterebilmelidir. Patojenleri elimine edebilmelidir. Bakteriyosin, hidrojen peroksit, laktik asit ve propiyonik asit gibi organik asitler sentezleyebilmelidir.
Sindirime destek olabilmelidir.
Kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) üretebilmelidir.
Antikarsinojenik aktivite gösterebilmelidir.
Antibiyotiklere karşı dirençli olmalıdır.
Antikolesterol ve antihipertansif etki gösterebilmelidir.
Konakçıda yeterli sayıda bulunabilmelidir.
Bakterilerin üretim ve depolama aşamalarında canlılığını ve aktivitelerinin koruyabilmelidir.
Patojenik olmamalı ve toksik madde üretmemelidir.
Bakteri karışımlarıyla elde edilebilen probiyotik suşların eldesine uygun olmalıdır.

4.3. Probiyotik Mikroorganizmalar

Probiyotik olarak yaygın kullanılan mikroorganizmalar Tablo 2'de gösterilmiştir.

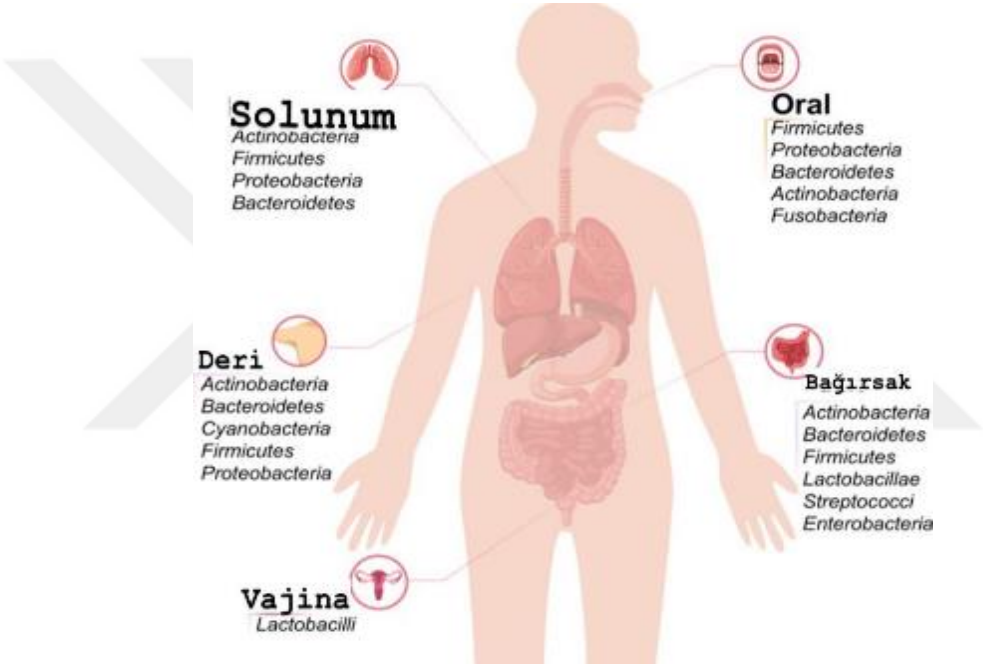
Tablo 2. Probiyotik üretiminde kullanılan mikroorganizmalar (Salminen ve ark.,1998a'dan yararlanılarak hazırlanmıştır)

Lactobacillus Türleri	*Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus Cellebiosus, Lactobacillus delbrueckii, Lactobacillus lactis, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus reuteri, Lactobacillus brevis, Lactobacillus casei, Lactobacillus curvatus, Lactobacillus Fermentum, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus johsonli, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus helveticus, Lactobacillus salivarius, Lactobacillus gasseri*
Bifidobacterium Türleri	*Bifidobacterium adolescentis, Bifidobacterium bifidum Bifidobacterium breve, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum, Bifidobacretium thermophilum*
Bacillus Türleri	*Bacillus subtilis, Bacillus pumilus, Bacillus lentus, Bacillus licheniformis, Bacillus coagulans*
Pediococcus Türleri	*Pediococcus cerevisiae, Pediococcus acidilactici, Pediococcus pentosaceus*
Streptococcus Türleri	*Streptococcus cremoris, Streptococcus thermophilus, Streptococcus intermedius, Streptococcus lactis, Streptococcus diacetilactis*
Bacteriodes Türleri	*Bacteriodes capillus, Bacteriodes suis Bacteriodes ruminicola, Bacteriodes amylophilus*
Propionibacterium ve *Leuconostoc* Türleri	*Propionibacterium shermanii, Propionibacterium freudenreichii Leuconostoc mesenteroides*
Küf ve Mayalar	*Aspergillus niger, Aspergillus oryzae Mayalar: Saccharomyces cerevisiae, Candida torulopsis*

4.3.1. İnsan vücudunda bulunan mikroorganizmalar

Probiyotik mikroorganizmalar gıdalarda ve hayvanların florasında bulunmaktadır. İnsanlarda ağız boşluğunda, ileumda, kolonda bulunurlar ve vajinadaki baskın mikroorganizmalardır (Todorov, 2009; Djadouni & Kihal, 2012).

İnsan Gİ sistemi, 100 trilyondan fazla mikroorganizmayı barındırır (Thursby & Juge, 2017). Kolondaki bakteri hücrelerinin yoğunluğunun mililitrede 10^{11} ila 10^{12} olduğu tahmin edilmektedir. Bağırsak mikrobiyomu, binlerce metabolit üreten 3 milyondan fazla geni kodlarken, insan genomu yaklaşık 23.000 genden oluşmaktadır (Valdes ve ark., 2018) (Şekil 2).



Şekil 2. İnsan vücudunda bulunan baskın mikroorganizmalar (Hou ve ark., 2022'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

Bağırsak mikrobiyotası, bakteri, maya ve virüsler gibi çeşitli mikroorganizmalardan oluşur. Bakteriler taksonomik olarak filum, sınıf, takım, familya, cins ve türlerine göre sınıflandırılır (Laterza ve ark., 2016). Baskın mikrobiyal filumlar *Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria* ve *Verrucomicrobia*'dır (Arumugam ve ark., 2011).

Firmicutes ve *Bacteroidetes* filumları bağırsak mikrobiyotasının %90'ını oluşturur. *Firmicutes* filumu, *Lactobacillus, Bacillus, Clostridium, Enterococcus* ve *Ruminicoccus* gibi 200'den fazla farklı türden oluşur. *Bacteroidetes* filumu, *Bacteroides* ve *Prevotella* gibi baskın cinslerden

oluşur. *Actinobacteria* filumu ise nispeten daha az bulunur ve *Bifidobacterium* bu filumdaki en yaygın cinstir (Arumugam ve ark., 2011).

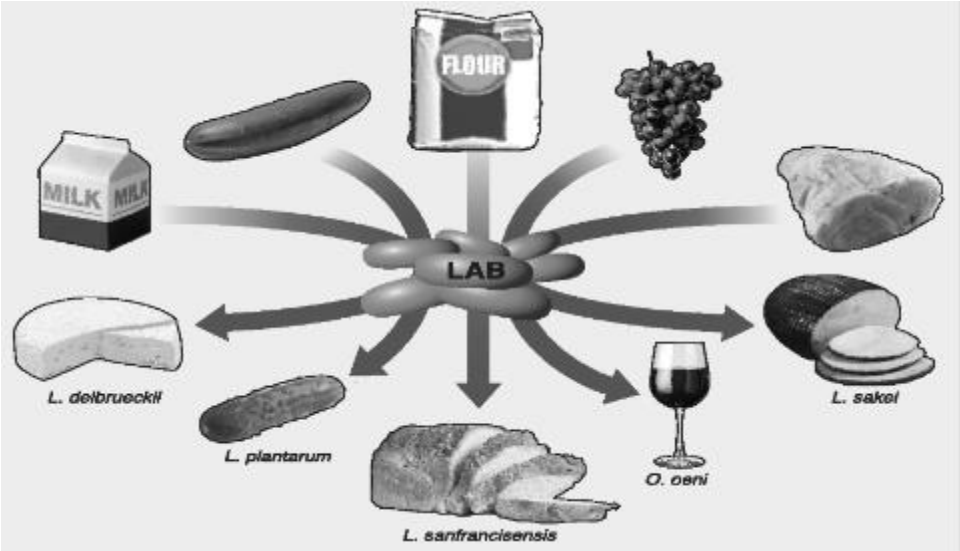
Bağırsağın mikrobiyal bileşimi, sindirim sistemi bölgelerinin yapısına ve işlevine bağlı olarak, Gİ yol boyunca değişir. Bağırsağın proksimal kısmından distal kısmına doğru mikrobiyal popülasyon yoğunluğunda ve anaerobik popülasyonda artış meydana gelir (Hillman ve ark., 2017; Kastl ve ark., 2020). Mide, pankreas ve safradan salgılanan kimüs kaynaklı asidik ortam nedeniyle proksimal bağırsağın başlangıç kısmındaki, özellikle duodenumdaki mikrobiyal bileşim mideye benzer (Vuik ve ark., 2019).

Duodenumdan ileuma doğru geldikçe pH'daki kademeli artışın bir sonucu olarak distal kısımdaki bakteriyel popülasyon sayı ve çeşitlilik bakımından artar. Distal kısım; *Bacteroidetes, Proteobacteria (E. coli), Firmicutes (Lactobacillus* ve *Clostridium* türleri) ve gram negatif fakültatif anaerob bakteriler tarafından domine edilir (Rinninella ve ark., 2019; Thursby & Juge, 2017). Kalın bağırsakta, 5,7-6,8 pH aralığında daha elverişli bir beslenme ortamı vardır ve böylece mikrobiyal popülasyonda artış meydana gelir. Düşük oksijen konsantrasyonlarında yaşayabilen zorunlu anaerobik bakterileri barındıran daha konsantre ve çeşitli bir bağırsak mikroflorası oluşur (Li ve ark., 2015).

4.3.2. Gıdalarda bulunan probiyotik mikroorganizmalar

Besinsel probiyotik kaynakları yoğurt, kefir ve peynir gibi süt ürünleridir. Bakteriyel fermantasyon yöntemiyle üretilen gıdalar ise şarap, tempeh, lahana turşusu, bira, ekşi hamur, ekmek, çikolata, kimçi, zeytin ve salatalık turşusudur (Anandharaj ve ark., 2014). Fermente et ürünleri, soya bazlı ürünler, tahıllar, baklagiller, lahana, mısır, sorgum ve tarhana gibi substratlarda da probiyotik suşlar bulunmaktadır (Anandharaj ve ark., 2014; Kechagia ve ark., 2013). LAB; bozulan bitki materyalinde ve meyvelerde, süt ürünlerinde, fermente et ve balıkta, tahıllarda, pancarda, salamura sebzelerde, patateste, ekşi mayada, silajlarda, fermente içeceklerde, meyve sularında, kanalizasyonda bulunur (Devi ve ark., 2013; König ve ark., 2009; Liu ve ark., 2014) (Şekil 3).

Lactobacillus, karbonhidratlardan zengin gıdalarda bol miktarda bulunan ve 100'den fazla türü barındıran en büyük cinstir (Walter, 2008). *Lactobacillus* türlerinin çoğu insan ve hayvanların Gİ sisteminden izole edilmiştir, ikinci büyük kaynağı sebzeler ve fermantasyon ürünleridir (Djadouni & Kihal, 2012; Todorov, 2009).



Şekil 3. Laktik asit bakterilerinin besinsel kaynakları (Marco & Golomb 2016'dan yararlanılmıştır).

4.4. Probiyotik Mikroorganizmaların Etkileri

Bir hastalık için etkili olan spesifik bir probiyotik türü veya formülasyonu, bir başka hastalık için etkili olmayabilir. Suş ve hastalık özgüllüğü, probiyotiğin sağlık açısından nasıl fayda sağlayabileceğini belirlemektedir (McFarland ve ark., 2018).

Genel olarak, probiyotiklerin sağlığa yararlı etkileri, etki bölgelerine göre üç seviyede sınıflandırılabilir (Rijkers ve ark., 2010):

i) Bağırsak mikrobiyotası ile doğrudan etkileşim veya Gİ sistem enzim aktivitesi,

ii) Bağırsak bariyer fonksiyonunu ve mukus bağışıklık sistemini etkileyen epitelyum ve bağırsak mukus tabakası ile doğrudan etkileşim,

iii) Gİ sistem dışında, bağışıklık sisteminde ve karaciğer ve beyin gibi diğer organlarda etki

4.5. Probiyotik Mikroorganizmaların Sağlığa Yararları

- **Antimikrobiyal maddelerin üretimi**

Probiyotik bakteriler organik asit, düşük moleküler ağırlıklı kimyasallar, diasetil, hidrojen peroksit, karbondioksit ve bakteriyosinler üretirler. Organik asitler, özellikle asetik ve laktik asit, Gram-negatif bakteriler üzerinde yüksek bir inhibitör etkiye sahiptir ve probiyotiklerin

inhibitör etkisinden sorumlu birincil antimikrobiyal maddeler olarak kabul edilirler (Vandenbergh, 1993) (Tablo 3).

Tablo 3. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen antimikrobiyal metabolitler (Vandenbergh, 1993'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

Bileşen	**Üreten Mikroorganizma**	**Antimikrobiyal spektrum**
Laktik asit	Tüm LAB	Maya ve bakteriler
Asetik asit	Heterofermentetif LAB	Maya ve bakteriler
Diasetil, asetaldehit, asetoin	*Lactococcus, Leuconostoc Lactobacillus, Pediococcus*	Maya ve bakteriler
Hidrojen peroksit	Tüm LAB	Maya ve bakteriler
Karbon dioksit	Heterofermentetif LAB	Taksonomik gruptaki çoğu mikroorganizma
Reuterin	*Lactobacillus reuteri*	Fungi, protozoa, bakteriler
3-hidroksi yağ asitleri	*Lactobacillus plantarum*	Fungi
Bakteriyosinler	LAB	

Hücre içindeki pH çok düşerse veya iyonize olan organik asit hücre içinde çok fazla birikirse patojen mikroorganizma inhibe edilir. Birçok LAB, bakteriyosin ve küçük antimikrobiyal peptitler üretme kabiliyetine sahiptir. Bakteriyosinler hedef hücrelerde porlar oluşturarak ve hücre duvarı üretiminin baskılanmasıyla patojen mikroorganizmaları baskılar (Hassan ve ark., 2012).

- **Antioksidan etkileri**

Probiyotik bakterilerin hidroksil radikallerini ve süperoksit anyonlarını temizlediği ve antioksidanlar ürettiği bildirilmiştir. En yaygın çalışılan suşlar *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus*'tur (Kanmani ve ark., 2013). Probiyotikler, antioksidan enzimlerin ekspresyonu ile oksidanları doğrudan nötralize edebilirler. Bu enzimlerin en iyi bilinenlerinden biri süper oksit dismutazdır (SOD) (Kullisaar ve ark., 2002). Probiyotikler; katalaz, glutatyon, bütirat ve folat gibi antioksidatif aktiviteye sahip çeşitli metabolitler üretir (Pompei ve ark., 2007). Probiyotikler bağırsak patojenlerini inhibe eder ve oksidatif hasarda potansiyel rol oynayan postprandiyal lipidleri azaltır (Kapila ve ark., 2014; Mikelsaar & Zilmer., 2009).

- **Epitelyal bariyerin geliştirilmesi**

Bağırsak bariyeri epitel bütünlüğü; organizmayı çevreden koruyan önemli bir savunma işlevine sahiptir. Mukozal tabaka, antimikrobiyal proteinler, immunoglobulin (Ig) A ve epitel bağlantı adezyon kompleksi, bağırsak bariyerinin savunmasının parçalarıdır. Bu bariyer işlevi tehlikeye girdiğinde bakteri ve gıda antijenleri submukozaya girebilir ve inflamatuar yanıt artışıyla beraber epitelyal bozukluklara yol açabilir (Sartor, 2006).

Probiyotik bakteriler, bağırsak bariyerinin korunmasına yardımcı olurlar. Yapılmış olan çalışmalarda, yakın kavşak sinyallemesinde yer alan genlerin ekspresyonunun artışının, bağırsak bariyeri bütünlüğünü destekleyebileceği gösterilmiştir. *Laktobacillus*, yapışma bağlantı proteinlerini (E-kadherin ve β-katenin) kodlayan çok sayıda genin düzenlenmesinde etkilidir (Hummel ve ark., 2012). *Lactobacillus* inkübasyonu, adezyon bağlantı proteinlerinin fosforilasyonunu değiştirerek protein kinaz C-delta gibi protein kinaz C izoformlarını modüle eder (Hummel ve ark., 2012).

Probiyotikler yüzey molekülleri ve metabolitleri aracılığıyla konağın bağırsak epitel bariyerini düzenler (Rashmi & Gayathri, 2017). Probiyotik bakteriler ve bağırsak epitel bariyeri arasındaki iletişim aracılığıyla bağırsak bariyer fonksiyonunu düzenleme kabiliyetine sahip bu metabolitler; organik asitler, salgılanan proteinler, indol, bakteriyosinler gibi maddelerdir (Kumara ve ark., 2019). Bazı *Lactobacillus* türleri insan bağırsak hücre hatlarında müsin ekspresyonunu teşvik edebilme kapasitesine de sahiptir (Gaudier ve ark., 2005).

- **Laktoz intoleransının iyileştirilmesi**

Probiyotikler laktozun tolere edilmesine ince bağırsağın total hidrolitik kapasitesini ve kolonik fermantasyonu arttırarak yardımcı olur (Dhama ve ark., 2016). LAB'ın laktaz enzimleri fermentasyon sırasında laktozu glikoz ve galaktoza ayırır. İnce bağırsakta pH 7-8 aralığında laktaz aktivitesi optimaldir, ancak pH düştükçe bakteriyel laktaz aktivitesindeki azalma gözlenebilir (Heyman, 2000; İbrahim ve ark., 2013).

- **Adezyon kabiliyetleri**

Probiyotik bakterilerin adhezyon ve yapışma sürecinde pasif kuvvetler, elektrostatik-hidrofobik etkileşimler, sterik kuvvetleri, lipoteikoik asitler ve lektinlerle kaplı dış uzantılar gibi karmaşık yapılar etkindir (Bals & Wilson, 2003). Toksin üretiminin ve patojenlerin bağlanmasının engellenmesi, müsin üretimi, reseptörlere kompetitif bağlanma gibi mekanizmalar aracılığıyla adhezyon desteklenir (Rastall ve ark., 2005). Birçok antimikrobiyal protein, hücre duvarı

yapılarını enzimatik veya enzimatik olmayan bir şekilde bozarak bakterileri öldürür. Defensinler, membran yüzeyindeki anyonik fosfolipid gruplarıyla elektrostatik etkileşimler aracılığıyla hücre zarını bozabilen peptitler ailesidir (Bals & Wilson, 2003). Bu etkileşimin bir sonucu olarak bakteri zarında defensin porları genişletilerek zar bütünlüğü bozulur ve mikroorganizma lizizi kolaylaşır. Katelisidinler (katyonik, a-sarmal peptitler), elektrostatik etkileşimler yoluyla bakteri zarlarına bağlanır (Bals & Wilson, 2003).

LAB, bağırsaktaki epitel hücreleri ve mukus ile etkileşimler gibi çeşitli yüzey özelliklerine sahiptir. Bağırsak epitel hücreleri müsin (lipidler, serbest proteinler ve immünoglobülinler) salgılayarak zararlı bakterilerin yapışmasını engeller. Bakteri hücre duvarında bulunan adezinler de bağırsaktaki bakteri adezyonu için önemlidir. Mukus bağlayıcı proteinler, C-terminali Leu-Pro-any-Thr-Gly motifi ile peptidoglikan hücre duvarı proteinine bağlanır (Popowska ve ark., 2017).

- **Patojen bakterilerin sayısını azaltma**

Greenberg'e (1969) göre, "rekabetçi dışlama" kelimesi, bir bakteri türünün diğeriyle daha agresif bir şekilde rekabet ettiği durumu ifade eder. Müsin ve diğer proteinlerle etkileşim sonucu spesifik bakterilerin yapışma kabiliyeti artarken patojenik bakteri kolonizasyonu azalabilir (Moreno Muñoz ve ark., 2011).

Probiyotik mikroorganizmaların çoğunluğu laktik, asetik ve formik asit gibi organik asitler üreterek bağırsak pH'sını düşürürler. Böylece gram negatif patojen bakterilerin üremesini engelleyen bir ortam oluştururlar (Vanbelle ve ark., 1990).

- **İmmün sistem üzerine etkileri**

İntestinal epitel hücreleri, lökositler, B ve T lenfositleri ve immün sistemin yardımcı hücrelerinin tamamı probiyotiklerden etkilenir. İmmün modülatör özelliğe sahip bakteriyel bileşenler arasında endotoksik lipopolisakkaritler, peptidoglikanlar ve lipoteikoik asitler yer almaktadır. Lipoteikoik asitler epitelyum hücre membranına yüksek afinite gösterir; aynı zamanda diğer antijenler için taşıyıcı rol oynayabilir ve immün cevabı uyarabilir. Probiyotikler, antienflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin (sinyal proteinleri) salınımında önemli bir rol oynamaktadır (Saxelin ve ark., 2005). Probiyotikler; antikor üretimini, fagositozu, doğal öldürücü hücrelerin (NK) aktivitesini arttırarak ve T hücre apoptozisini indükleyerek immün sistemin modülasyonuna katkı sağlamaktadır (Kognoff, 1993).

- **Antibiyofilm etkileri**

Biyofilmler, hücre dışı polimerik maddeler içerisinde canlı veya cansız yüzeylere yapışmış bakteri gruplarından oluşmaktadır. Bakteriyel iletişim sistemi (Quorum sensing (QS)) ile düzenlenen biyofilmler ile bakteriler, konak immün yanıtlarından kaçabilir ve antimikrobiyal tedavilere, planktonik muadillerine göre 1000 kata kadar daha fazla direnç gösterirler (Sharma ve ark., 2023; Mah, 2012).

Pseudomonas aeruginosa; toprak, bitkiler ve memeli dokusu dahil olmak üzere çoğu ortamdan izole edilebilen Gram-negatif aerobik çubuk şeklinde bir bakteridir (Stover ve ark., 2000). Bu bakteri flagella, pili ve biyofilm gibi etkili bağlanma faktörlerini kullanarak suda, farklı yüzeylerde ve tıbbi cihazlarda hayatta kalabilme yeteneğinden dolayı *P. aeruginosa* doğal ve yapay ortamlarda bol miktarda bulunmaktadır (Remold ve ark., 2011).

- **Antikarsinojenik etkileri**

Probiyotikler mikrobiyotayı düzenleyerek, kanserojenleri bağlayarak, bağırsak bariyer fonksiyonunu ve immün modülasyonu iyileştirerek paralel bir antikanser etki oluştururlar (Wan & El-Nezami, 2018). Probiyotiğin anti-kanser etkisine ilişkin olarak araştırmacılar 3 teori ileri sürmüşlerdir. Bunlar;

a) LAB'ın mutajenik bileşiklere bağlanabileceği,
b) Zararlı bakteriler, p-glukuronidaz, nitroredüktaz ve kolilglisin hidrolaz gibi enzimler aracılığıyla prokarsinojenik maddeleri kanserojen maddelere dönüştürürken; LAB suşlarının bu bileşenleri azaltma kapasitesine sahip olduğu,
c) Probiyotiklerin kanserojenleri Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) hasarına yol açarak doğrudan etkisiz hale getirebileceği. (Das ve ark., 2022; Shang ve ark., 2020).

- **Kolesterol düşürücü etkileri**

Probiyotikler, kolesterolün de nova sentezinin inhibisyonuna veya bağırsakta diyetsel kolesterol asimilasyonunun azalmasına neden olarak kolesterol seviyelerini doğrudan ve dolaylı yollarla düşürmeye katkıda bulunabilmektedir (Lye ve ark., 2010). Laktobasil ve Bifidobakteri suşlarında safra tuzu hidrolaz geni bulunur ve bu genin ürünü olan enzim, safra asidini dekonjuge eder. Safra ayrıca kolesterolün bakteriyel hücre zarlarına yapışmasını sağlayan bir sürfaktan görevi görür (Lye ve ark., 2010). Bazı probiyotik suşlar bağırsaklardaki kolesterol emilimini sınırlayarak kandaki kolesterol seviyesini düşürebilir ve 3-hidroksi-metil-

3-glutaril-CoA (HMG-CoA) redüktaz enzimini bloke ederek endojen kolesterol üretimini engelleyebilir (Cani ve ark., 2007).

Bazı probiyotik bakteriler;

(1) Safra tuzu hidrolaz enziminin etkisiyle safra tuzlarını dekonjuge edilmesine,
(2) Kolesterolün dekonjuge safra tuzları ile birlikte çökmesine,
(3) Kolesterol redüktaz enzimi tarafından kolesterolün koprostanole dönüştürülmesine,
(4) Sindirilemeyen karbonhidratların probiyotik bakteriler tarafından fermantasyonu sonucu propiyonat üretimiyle karaciğer enzimi HMG-CoA redüktazın aktivitesinin inhibe edilmesine neden olur (Reis ve ark., 2016).

- **Diyabet, karaciğer sağlığı ve obezite üzerine etkileri**

Obezitede lipotoksisite nedeniyle karaciğerde yağ depolanır ve yağ asitleri, kolesterol ve lipit metabolitleri düzeyinde artış gözlenir (Perla ve ark., 2017). Bunlar, peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptör gama (PPARγ), yağ asidi sentaz ve yağ asidi bağlayıcı protein-4 gibi lipojenik genler tarafından kontrol edilir (Moseti ve ark., 2016).

Obez bireylerin Gİ yollarında gram-negatif bakterilerin arttığı belirlenmiştir (Moseti ve ark., 2016). Bu bakteriler inflamasyona yol açabilecek boyutta lipopolisakkarit üretebilir, epitelyal bariyerden dışarı sızarak alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalıklarında hepatik PPARy seviyelerini arttırabilir. İnsülin düzeyinde görülen yükselmeler de adipositlerdeki PPARγ aktivasyonunu arttırarak karaciğerde adipogenez ve lipogeneze yol açabilirler (Yu ve ark., 2016). Probiyotikler karaciğerde PPARy üretimini azaltarak ve hormon duyarlı lipaz ekspresyonunu arttırarak karaciğer ağırlığını ve trigliseritleri düşürebilirler (Narmaki ve ark., 2022).

Probiyotik bakteriler yağ metabolizması ve glikoz modifikasyonu aracılığıyla obezite karşıtı etkinliği olan ve adipositlerin büyüklüğünü azaltabilen kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) üretebilir. KZYA yağ asitlerinin oksidasyonu sayesinde depolanmalarını önleyebilir. Çalışmaların çoğu probiyotik LAB'ın etkili dozlarının 10^9 koloni oluşturan ünite olduğunu değerlendirmiştir (Xiao ve ark., 2003).

Probiyotik mikroorganizmalar lipolitik ve lipojenik genlerin (PPARa, PPARδ ve PPARγ) ekspresyonunun kontrolüyle obezite yönetiminde önemli bir rol oynamaktadır. Probiyotikler, lipopolisakkaritler, total kolesterol ve trigliserit seviyeleri, C- reaktif protein (CRP), glikolize

hemoglobin, kan şekeri ve insülin seviyesi gibi metabolik parametreleri ve sistolik ve diyastolik kan basıncını düşürerek tip 2 diyabeti yönetebilir (Kocsis ve ark., 2020).

- **Diyare üzerine etkileri**

Antibiyotik tedavisi bağırsağın doğal mikrobiyotasını bozarak hafif ila ciddi ishal durumuna neden olur (Keeney ve ark., 2014). Probiyotikler antibiyotik tedavisinden sonra reseptör rekabeti, besin rekabeti, patojenik türlerin inhibisyonu, daha düşük kolonik pH'ın sağlanması, bağışıklığın uyarılması veya antimikrobiyal madde üretimi aracılığıyla bağırsak mikroekolojisini koruyabilir veya eski haline getirebilir (Rolfe, 2000).

Enfektif ishal durumunda fırça sınırının (brushline) kaybı ve villusların kısalması, bağırsak ozmolarite basıncını ve emilim bozukluğunu artırır. *L. rhamnosus, L. reuteri, L. casei ve S. boulardii* karışımı probiyotik suşların takviyesi bebeklerde rotaviral enfeksiyonların kontrolüne destek sağlamaktadır (Salminen ve ark., 1998b). *Lactobacillus* bakterilerinin sinyalizasyonu diyare durumunda sekresyonu ve motiliteyi düzenleyebilir (Huang ve ark., 2002).

- **İnflamatuar barsak hastalığının önlenmesinde etkileri**

İnflamatuar barsak hastalığı (İBH), Gİ sistemdeki kronik inflamasyon ile karakterizedir. İBH, distal ileum ve kolondaki mikrobiyotayı değiştirebilir (Khor ve ark., 2011). Enterik bakteriler kolondaki proinflamatuar ve antienflamatuvar sitokin düzeylerini değiştirebilir. Th1 hücreleri proinflamatuar sitokinleri, Th2 hücreleri ise antienflamatuvar sitokinleri salgılar ve bu sitokinlerin oranları bağışıklık homeostazının sürdürülmesinde önemlidir (Shi ve ark., 2016). *L. salivarius* CECT 5713'ün antienflamatuvar etki sergileyebilir ve kolit kaynaklı nekrozu önleyebilir. Histolojik verilere göre probiyotikle tedavi edilen sıçanlarda myeloperoksidaz, Tümör nekrozis faktör-α (TNF-α) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz gibi inflamatuar ve nekrotik göstergelerin önemli ölçüde azalabilir (Peran ve ark., 2005). *L. plantarum* 91; TNF- α ve siklooksijenaz 2 'yi aşağı doğru düzenlerken, interlökin (IL)-4, IL-6 ve IL-10 gibi anti-enflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu arttırma kapasitesine sahiptir (Duary ve ark., 2012).

- **Ürogenital enfeksiyonda etkileri**

Ürogenital enfeksiyonlar önemli ölçüde bulaşıcı hastalıklardandır. (Skerk & Markotić, 2010). *E. coli*, idar yolu enfeksiyonlarından sorumlu en sık rastlanan bakteridir ve tüm vakaların %80-85'inde gözlenir. *Staphylococcus saprophyticus* %5-10 oranında gözlenerek ikinci sırada yer alır. *Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Enterococcus, Enterobacter* türleri ve diğer bakteriler de idrar yolu enfeksiyonuna neden olabilir (Perrotta ve ark., 2008). Yapılan araştırmalar

sağlıklı, laktobasillerin baskın olduğu bir mikrobiyomun cinsel yolla bulaşan enfeksiyonları ve erken doğum eylemini önlemenin yanı sıra kadınların yaşam kalitesini korumadaki önemini göstermiştir (Hanson ve ark., 2016).

Lactobacillus türleri endojen olmayan mikroorganizmaların vajinal kanalda üremesini, kolonizasyonunu ve kalıcılığını düzenleyen esansiyel bir mikrobiyal faktördür. *Laktobasiller* ürogenital hücreleri kaplayan biyofilmlerin oluşumuyla ilişkilendirilmiştir. *L. rhamnosus, L. crispatus, L. gasseri, Limosilactobacillus vaginalis, L. acidophilus, L. reuteri* ve *S. thermophilus* probiyotikleri bakteriyel vajinozis nüksünü azaltmada etkilidir (Ya ve ark., 2010).

Lactobacilli türleri bağışıklık sistemini güçlendirerek, diğer mikroorganizmalarla besinler için rekabet ederek ve vajinal epitelyuma, idrar yolu ve vajinal yol hücrelerine yapışarak ürogenital sağlığı koruyabilir. Probiyotik mikroorganizmalar vajinal patojenleri inhibe edebilen antimikrobiyal maddelerin (bakteriyosinler, hidrojen peroksit vb.) üretimiyle asidik bir ortam oluşturma kapasitesine sahiptir (Shamshu ve ark., 2017). Probiyotikler, bağırsaktaki mikrobiyal dengenin düzenlenmesiyle de idrar yolu enfeksiyonlarını azaltabilir. (Ballini ve ark., 2018).

- **Mide ülserinde etkileri**

Probiyotik mikroorganizmalar antioksidatif ve antienflamatuvar etkilere ek olarak yara iyileştirme kabiliyetleriyle ikame olarak uygulanabilir. Enfeksiyöz olmayan mide ülserleri ve inflamatuar aktivite probiyotikler tarafından önlenebilmektedir (Yang ve ark., 2021).

Ülser tedavisinde maya kullanımı sonucu interlökin ve interferon seviyeleri düzenlenmektedir (Opal & DePalo, 2000). *L. plantarum* APSulloc 331261, mikrobiyal popülasyonu ve *Akkermansia* bolluğunu modüle ederek alkolün neden olduğu mide erozyonunu önlediği gösterilmiştir (Park ve ark., 2020).

- **Besin alerjisi üzerine etkileri**

Alerji, immünolojik süreçlerin neden olduğu bir aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Alerjik bozuklukları tedavi etmek için yerleşik stratejiler arasında kan dolaşımına antijen translokasyonunun önlenmesi, mukozal bariyer fonksiyonunun iyileştirilmesi ve bağırsağın antijen uyarımı artışına karşı gösterdiği aşırı duyarlılık tepkilerinin önlenmesi yer alır. Probiyotikler Th2 bağışıklık yanıtını baskılayarak sitokin üretimini modüle eder ve Th1/Th2 dengesini korurlar (Eslami ve ark., 2020).

- **Besin sentezi ve biyoyararlanım üzerine etkileri**

Bağırsak mikrobiyotasının üyeleri olan probiyotik bakteriler insanlarda K vitamini ve biyotin, kobalamin, folat, nikotinik asit, pantotenik asit, piridoksin, riboflavin ve tiamin gibi suda çözünen B vitaminlerinin çoğunu sentezleyebilmektedir (Hill, 1997).

Laktobasil türleri laktaz, proteazlar, peptidazlar, fruktanazlar, amilazlar, safra tuzu hidrolazlar, fitazlar ve esterazları üretebilme kapasitesine sahiptir. Enzim üretebilen laktobasil suşları gıda sindirilebilirliğini ve besin biyoyararlanımını arttırır, malabsorbsiyon ve intolerans sonucu oluşan yan etkileri azaltır ve insan metabolizması tarafından erişilemeyen biyoaktif molekülleri serbest bırakır (Maske ve ark., 2021).

4.6. Laktik Asit Bakterileri (LAB)

LAB, gram-pozitif, spor oluşturmayan, kok veya çubuk şekilli, katalaz negatif, zorlukla üreyen ve düşük pH'a karşı tolerasyonu yüksek bir mikroorganizma grubudur (De Vuyst ve ark., 2007; Kaban & Kaya, 2008; Van Geel-Schuttená ve ark., 1998).

LAB, gıda fermentasyon sürecinde ve fermente gıda ürünlerinde tat ve dokuyu arttırmada kullanılan en önemli mikroorganizmalar arasındadır (Hati ve ark., 2013; Van Geel-Schuttená ve ark., 1998). Glikozdan ana ürün olarak laktik asit üretirler. Bunun yanı sıra, besinlerin bozulmasından sorumlu bakteri ve patojenlerin çoğalmasını önleyen bakteriyosin, hidrojen peroksit, diasil gibi maddeleri sentezlerler (Alakomi ve ark., 2000; De Vuyst ve ark., 2007).

LAB grubu *Firmicutes* şubesinde, *Bacilli* sınıfında ve *Lactobacillales* takımında sınıflandırılmaktadır. LAB; hücresel morfolojilerine, glikoz fermantasyon modlarına, üreme sıcaklığı ve şeker kullanım modellerine göre sınıflandırılır (Quinto ve ark., 2014). *Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus, Aerococcus, Alloiococcus, Carnobacterium, Dolosigranulum, Enterococcus, Oenococcus, Tetragenococcus, Vagococcus* ve *Weissella* LAB grubu cinslerdir (Khalid, 2011). *Bifidobakteriler* gibi basiller de son ürün olarak laktik asit oluşturabilir ve *Actinomycetes* grubuna aittir. LAB'nin DNA'sı düşük bir guanin + sitozin içeriğine sahiptir (König ve ark., 2009).

4.7. Paraprobiyotik ve Postbiyotik Kavramı

FAO/WHO (2001) tarafından yapılan probiyotik tanımı canlı mikroorganizmalarla sınırlıdır. Cansız (ölü), kültüre edilemeyen ancak immünolojik açıdan aktif olan mikrobiyal hücrelerin konakçıya sağlık yararları sağladığı bildirilmiştir (Adams, 2010; Ananta ve Knorr, 2009). Bu nedenle "paraprobiyotik" terimi, "inaktive edilmiş mikrobiyal hücrelerin veya hücre fraksiyonlarının tüketiciye bir sağlık yararı sağlamak amacıyla kullanılması" olarak tanımlanmıştır (Taverniti & Guglielmetti, 2011).

Paraprobiyotiklerden geçmiş literatürde "inaktive edilmiş probiyotikler" ve "hayalet probiyotikler" olarak bahsedilmiştir (Tsilingiri & Rescigno, 2013). Paraprobiyotikler, DNA filamentlerinin kırılması, hücre zarı gibi mikrobiyal hücre yapılarını değiştiren faktörlere maruz kaldıktan sonra canlılıklarını kaybeden mikroorganizmalardır. Paraprobiyotikler, FAO/WHO'nun probiyotik tanımına benzer şekilde, ancak küçük değişikliklerle "yeterli miktarlarda uygulandığında tüketicilere fayda sağlayan inaktive (cansız) mikrobiyal hücreler" olarak tanımlanmıştır (Aguilar-Toalá ve ark., 2018).

Paraprobiyotikler; teikoik asitler, peptidoglikan türevli muropeptitler, yüzey çıkıntılı moleküller (pili, fimbriae, flagella), ekzopolisakkaritler, hücre yüzeyi ile ilişkili proteinler, hücre duvarına bağlı biyosürfaktanlar, teikoik asitler, polisakkaritler gibi probiyotik hücrelerin bileşenlerini bulundurabilen bozulmamış ancak parçalanmış probiyotikleri kapsamaktadır (Taverniti & Guglielmetti, 2011).

"Konakçıda biyolojik aktiviteye sahip olan probiyotik mikroorganizmaların canlı olmayan bakteriyel ürünlerini veya metabolik yan ürünlerini" tanımlamak içinse "postbiyotik" terimi önerilmiştir. Cansız probiyotik bakteri yapılarının konakçıda biyolojik aktiviteye sahip olabileceği durumlarda paraprobiyotikler, ''postbiyotik'' olarak adlandırılabilir (Patel & Denning, 2013).

Pique ve ark. (2019) tarafından yapılan kapsamlı bir literatür araştırması sonucu postbiyotiklerin aşağıda belirtilen özelliklerinin altı çizilmiştir:

1) Hassas ve bağışıklığı baskılanmış kişilerde bağırsak lümeninden kana bakteriyel translokasyon riski yoktur.

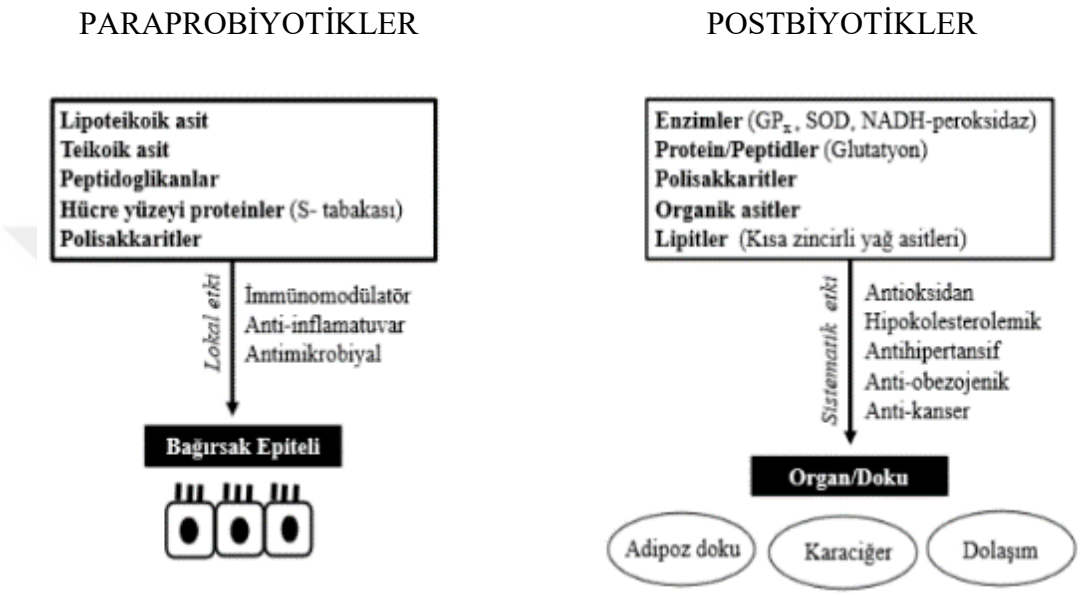
2) Antibiyotik direnç genlerinin edinilmesi ve aktarılması şansı yoktur.

3) İzolasyonu, standardizasyonu, taşınması ve depolaması daha doğaldır.

4) Hücre lizisi ile canlılığın kaybı daha fazla faydalı etki sağlayabilir.

5) Bozulmuş hücrelerden salınan moleküllerin epitel hücreleri ile etkileşimi görülür.

Postbiyotik moleküller hücresiz süpernatant, vitaminler, organik asitler, KZYA, salgılanan proteinler/peptitler, bakteriyosinler, nörotransmiterler, biyosürfaktanlar, amino asitler ve flavonoidler gibi probiyotiklerin yan ürünlerini kapsamaktadır (Cavallari ve ark., 2017; Cortés-Martín ve ark., 2020; Wang ve ark., 2019) (Şekil 4).



Şekil 4. Postbiyotik ve parabiyotiklerin konakçı üzerinde lokal ve sistemik etkileri GPx: Glutatyon Peroksidaz, SOD: Süperoksit Dismutaz, NAD: Nikotinamid Adenin Dinükleotid. (Aguilar-Toalá ve ark., 2018'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

Belirli bir hastalığı hedef alan terapötik çalışmalar için saflaştırılmış postbiyotik bileşenlerin veya bireysel hücresel bileşenlerin kullanılması, her bir molekül tarafından sergilenen spesifik moleküler mekanizmaların ekarte edilmesine yardımcı olur. Aynı etkileri probiyotiklerde incelemek, karmaşık bakteri mimarisi/morfolojisi nedeniyle belirsiz ve çoklu sonuçlara yol açabilir. Bu nedenle çeşitli postbiyotik moleküller bilinen kimyasal yapıları, uzun süreli depolamayı sağlayan stabiliteleri ve enflamasyonu, patojenlerin Gİ sisteme yapışmasını, obeziteyi, hipertansiyonu, koroner arter hastalıklarını ve kanseri kontrol etmede çeşitli mekanizmaları tetikleyebilmeleri nedeniyle dikkat çekmiştir. Postbiyotik bileşenlere "immün modülasyon" için biyoterapötikler olarak patentler vermiştir (Mohamadzadeh ve ark., 2017; Rescigno & Penna, 2019).

4.7.1. Probiyotiklerin İnaktivasyon Yöntemleri

Probiyotik hücrelerin inaktivasyonu, hücre yapısını tamamen bozmadan mikrobiyal hücre bileşenlerini (hücre zarları ve zarfları, proteinler, DNA vb.) ve fizyolojik fonksiyonlarını (enzim aktiviteleri ve zar seçiciliği) değiştirebilen fiziksel veya kimyasal işlemler aracılığıyla sağlanabilir (de Almada ve ark., 2016).

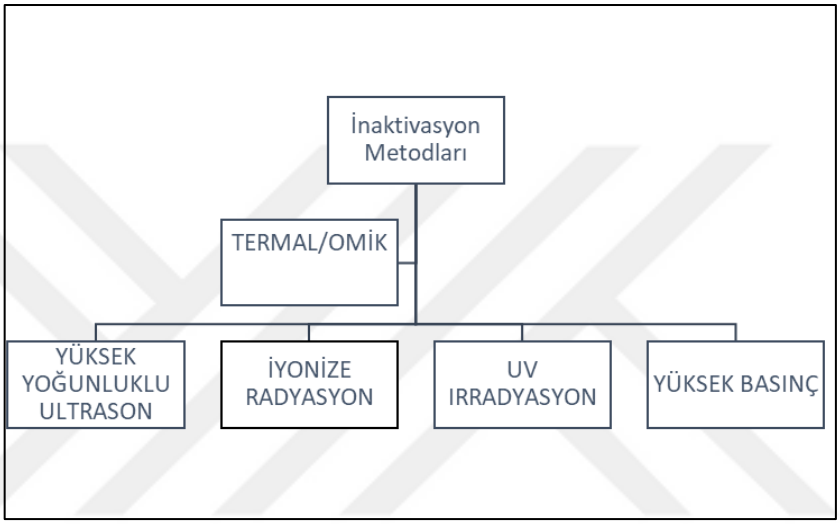
Canlı bakterilerin inaktivasyonu; ısıl işlem, kimyasallar (ör. Formalin), yüksek basınç, gama veya ultraviyole ışın ve sonikasyon gibi çeşitli yöntemlerle sağlanabilir. İnaktivasyon yöntemlerinin hücrenin yapısal bileşenleri ve biyolojik aktivitesi üzerindeki etkileri aynı değildir (Ananta ve Knor, 2009; Deshpande ve ark., 2018; Taverniti & Guglielmetti, 2011). Laboratuvar ve endüstriyel düzeylerde paraprobiyotiklerin eldesi için en yaygın kullanılan işlem olan sıcaklıkla inaktivasyon hücre zarına zarar verir; besin ve iyonların sızmasına, ribozom agregasyonuna, protein denatürasyonuna ve DNA kırılmasına neden olur (Barros ve ark., 2021; de Almada ve ark., 2016).

Sıcaklık uygulamaları süspansiyondaki bakterilerin inaktivasyonunu sağlama amaçlı çeşitli zaman-sıcaklık kombinasyonlarını içerir. İnaktivasyon, tidalizasyon ve hücre dondurma işleminin bir kombinasyonu ile de gerçekleştirilebilir (Lin ve ark., 2007). Sıcaklıkla inaktive edilmiş probiyotikler bağırsak epitel hücreleri olan Caco-2 hücre modelinde çeşitli enteropatojenlere karşı adhezyonu önleme (adhezyon bölgeleri için rekabet) yeteneği gösterebilir (Singh ve ark., 2017). *Lactobacillus*'un sıcaklıkla inaktive edilmiş probiyotik suşları, proinflamatuar (IL-6, TNF-α gibi enflamatuvar belirteçleri baskılama ve antienflamatuvar sitokinleri (IL-10) geliştirme yeteneği) ve antioksidatif yetenek göstermektedir (Jang ve ark., 2018; Chung ve ark., 2019).

Isıl işlemlerle birlikte kullanılan yüksek hidrostatik basınç ve yüksek basınçlı homojenizasyon işlemleri membran rüptürüne, geri dönüşümsüz protein denatürasyonuna, koagülasyon ile enzimlerin aracılık ettiği biyolojik fonksiyonların inaktivasyonuna, çözünen madde kaybına ve hücre içi pH'ın azalmasına yol açar (Patrignani & Lanciotti, 2016).Yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon teknolojisinde akustik kavitasyon tarafından üretilen fiziksel güç hücre duvarının kesilmesine, serbest radikallerin açığa çıkarılmasına, DNA hasarına ve nihayetinde membran bozulmasına ve hücre parçalanmasına neden olur (Guimarães ve ark., 2019; Pagnossa ve ark., 2020).Diğer inaktivasyon yöntemleri belirli hücre bileşenlerini hedefler. İyonize radyasyon ile mikrobiyal inaktivasyon oksidatif radikallerin neden olduğu nükleik asit hasarıyla sağlanmaktadır (Farkas, 2006). Ultraviyole (UV) ışıması pirimidin dimer gibi DNA foto-

ürünlerinin oluşumunu indükleyerek hem DNA transkripsiyonunu hem de translasyonunu kesintiye uğratır (Franz ve ark., 2009). İnaktivasyon metotları Şekil 5'te özetlenmiştir.

Paraprobiyotik etkilerin temel özelliklerinden biri edinilmiş ve doğuştan gelen bağışıklık sistemlerin modülasyonudur (Adams, 2010; Taverniti & Guglielmetti, 2011). Aynı türün probiyotik ve paraprobiyotik hücreleri benzer veya farklı etki mekanizmalarını tetikleyerek immünolojik cevabı indükleyebilir. Örneğin, UV ile inaktive edilmiş ve inaktive edilmemiş *L. rhamnosus* GG suşları Caco-2 hücrelerinde IL-8 üretimini eşit derecede azaltırken, etki mekanizmalarının farklı olduğu ortaya konulmuştur (Lopez ve ark., 2008).



Şekil 5. Probiyotiklerin inaktivasyonunda kullanılan yöntemler (Siciliano ve ark., 2021'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

4.8. Paraprobiyotik ve Postbiyotik Bileşenler

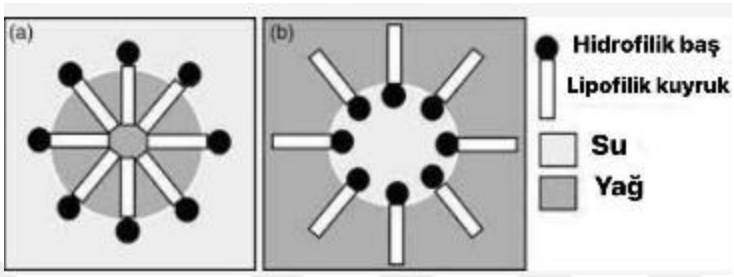
4.8.1. Biyosürfaktanlar

Biyosürfaktanlar, bir organizmanın büyüme döngüsünün geç log veya erken durağan fazı sırasında sentezlenen ve hücre dışı veya hücre duvarına bağlı olarak salgılanan çeşitli polimerik moleküllerdir. Biyosürfaktanlar, (i) yüzey alanını artırarak besin alımına (ii) hidrofobik substrat metabolizmasında (iii) hücresel savunma mekanizmasında kendi hücresine yardımcı olur (Kaczorek ve ark., 2018; Satpute ve ark., 2016).

Glikolipitler, lipopeptitler, fosfolipitler, nötr lipidler, polisakkarit-protein kompleksleri ve serbest yağ asitleri biyosürfaktanları oluşturur (Ahimou ve ark., 2001; Patowary ve ark., 2017). Biyosürfaktanlar, yüzeyde arayüz gerilimini azaltan yüzey aktif ve emülsifikasyon özellikleri

sağlamak için hidrofobik (yağ asitleri veya hidrokarbon zinciri) ve hidrofilik (polisakkarit veya peptidler veya asitler) kısımlar içeren amfifilik moleküllerdir (Şekil 6).

Biyosürfaktanların amfifilik özelliği patojenik mikroorganizmalar tarafından oluşturulan biyofilmlerin bozulmasına veya oluşumunun önlenmesine yardımcı olur. Islatma, köpürme ve emülsifikasyon özellikleri, bakterilerin biyofilmlere yapışmasını, yerleşmesini ve iletişimini engeller (Velraeds ve ark., 2000).



Şekil 6. Biyosürfaktanın yapısı ve davranışı (Ribeiro ve ark., 2020'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

Biyosürfaktanların bakteri hücrelerine karşı etkilerinin;

a) Por oluşumuyla biyosürfaktanların hidrofobik kısımlarının zar lipitleriyle etkileşimi;

b) hücre içi sitoplazmik bileşenlerin dışarı akışını sağlayan enzimin inhibisyonunun tetiklenmesiyle zar lipitleriyle doğrudan etkileşim aracılığı ile sağlandığını göstermiştir (Sharma ve ark., 2016; Elshikh ve ark., 2016).

Biyosürfaktan ekstraksiyonu solvent ekstraksiyon prensibiyle sağlanır. Kloroform ve metanol (2:1) kullanımı, bakteriyel fermentattan hem non polar hem polar moleküllerin geri kazanılmasına yardımcı olur. Bu yöntem ile hem hücre içi hem de hücre duvarına bağlı biyosürfaktan eldesi sağlanır (Luong ve ark., 2018).

4.8.2. Ekzopolisakkaritler

Ekzopolisakkaritler (EPS), mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve salgılanan hücre dışı biyopolimerlerdir. Genelde dallı moleküllere sahip olup dallanma dereceleri ve monosakkarit birimleri açısından farklılıklar gösterirler (Welman & Maddox, 2003). EPS aynı (selüloz ve dekstran) veya farklı (ksantan) monosakkarit birimlerine sahip olabilir. Bu durum ortamın bileşimi, hücrenin yaşı, pH, sıcaklık ve suşa bağlıdır (Zhou ve ark., 2019).

LAB'ın EPS'sinin anti-oksidatif, kolesterol düşürücü, immün modülatör, yaşlanma karşıtı etkileri gibi çeşitli biyofonksiyonel özellikler gösterdiği preklinik çalışmalarla bildirmiştir (Di ve ark., 2017; Ruas-Madiedo ve ark., 2010; Wang ve ark., 2019; Xu ve ark., 2019a; Yan ve ark., 2012).

4.8.3. Hücre yüzey proteinleri

Bakteri mimarisinin hücre yüzeyi proteomu, probiyotiklerin dinamik moleküler mekanizmasını sergilemede çok önemli bir rol oynar.

Bakteriyel yüzey proteinleri,

(i) hidrofobik transmembran alanlar aracılığıyla sitoplazmik membrana bağlanan proteinler,
(ii) lipoprotein (sinyal peptidinin bölünmesinin ardından membran lipidlerine kovalent olarak bağlanan) içeren proteinler,
(iii) C-terminal motif içeren ve peptidoglikanlara kovalent olarak bağlanan proteinler,
(iv) Zayıf etkileşimlerle (van der Waals kuvvetleri ve hidrojen bağları) hücre duvarı ile bağlanan proteinlerdir (Siciliano ve ark., 2019).

Hücre yüzeyi ile ilişkili proteinler arasında yüzey (S) tabakası proteini, mukus bağlayıcı protein, fibronektin bağlayıcı protein, sortaz bağımlı bağlayıcı protein ve kolajen bağlayıcı protein bulunur. Bu yüzey proteinleri probiyotik bakterinin yapışma sürecinde hayati öneme sahiptir. S-tabaka proteinlerinden yoksun olan probiyotikler bağırsak enterositlerine daha düşük düzeyde yapışma becerisi göstermektedir (Frece ve ark., 2005).

Hücre yüzeyi ile ilişkili proteinler konakçı ile etkileşim sırasında ilk temas hattını oluşturur. Nükleer faktör-κB (NFκB) ve mitojenle aktive olan protein kinazlar gibi hücresel süreçler (sinyal iletim mekanizmaları) tetiklenir. Böylece immün modülatör etkiden sorumlu olan sitokinlerin, antibakteriyel peptitlerin (defensinler) salınması, müsin salgılanması ve sıkı bağlantı faktörlerinin ifadesi düzenlenir (Li ve ark., 2011; Liu ve ark., 2011a).

Enzimler ve kimyasal ajanlar (lityum klorür, guanidinyum hidroklorür, üre ve sodyum dodesil sülfat) yüzey proteinlerinin arınmasını geniş çapta sağlayabilmektedir (Siciliano ve ark., 2019). Probiyotik bakterilerin yüzey proteinleri; anti-inflamatuar, anti-adezyon ve epitel bariyeri güçlendirme gibi özelliklere sahiptir (Kumar ve ark., 2017).

L. helveticus'un saflaştırılmış yüzey proteinlerinin *E. coli* O157:H7'nin yapışmasını önemli ölçüde engelleyebilir ve *E. coli* enfeksiyonu ile azalan transepitelyal elektrik direnci arttırır (Hagen, 2007). *L. plantarum*'un ekstrakte edilebilir yüzey proteinleri Claudin-1, Occludin ve Zonula occludens-1 gibi sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu arttırarak (epitelyal bütünlüğün kazanılması) patojen istilasını geciktirir (Liu ve ark., 2011b; Qin ve ark., 2009). Probiyotik *Enterococcus faecium* WEFA23'ün yüzey proteinleri (S-tabaka proteinleri) Caco-2 hücrelerinde *Listeria monocytogenes* tarafından indüklenen apoptozu önemli ölçüde azaltmaktadır (HE ve ark., 2018). *L. plantarum*'un mukus bağlayıcı proteinleri, *E. coli*'nin gastrik musin tabakasına ve insan kolorektal adenokarsinoma hücre hattına yapışmasını engellemektedir (Singh ve ark., 2018).

4.8.4. Teikoik asitler

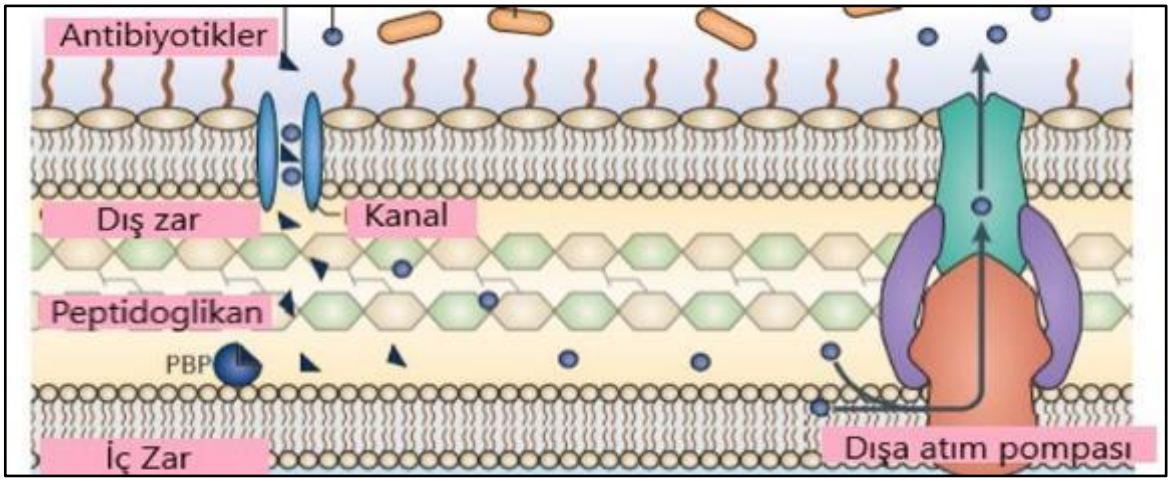
Teikoik asitler kimyasal olarak fosfodiester bağlantılı poliol tekrar birimleri içeren glikopolimerlerdir. Teikoik asitler lipoteikoik asitler (LTA) (glikolipidler aracılığıyla bakteri zarına bağlanmış) ve duvar teikoik asitleri (WTA) (peptidoglikana kovalent olarak bağlı) olarak iki türe ayrılabilir (Brown ve ark., 2013). Gram pozitif bakterilerin peptidoglikan tabakası üzerindeki yüzeyel yük WTA adı verilen anyonik glikopolimerlere çevrilir. Hücre şeklinin belirlenmesinde, hücre bölünmesinin düzenlenmesinde ve hücre fizyolojisinin temel metabolik yollarında önemli rol oynar. Teikoik asitler gram pozitif bakterilere patogenez özelliği ve antibiyotik direnci kazandırır (Kattke ve ark., 2017; Paganelli ve ark., 2017; Sumrall ve ark., 2019).

LTA, hücresel sinyal iletimiyle enflamatuvar sitokin tepkisini indükleyen bağırsak enterositlerinin yüzeyindeki tanıma reseptörü (Toll Like Receptor-2) tarafından tanınan moleküler modeldir (Shiraishi ve ark., 2016). *L. plantarum* K8'den ekstrakte edilen LTA, Thl ve Th2 bağışıklık yanıtı (pro ve anti-inflamatuar yanıt sitokinleri) arasındaki dengeyi düzenleyebileceği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. LTA'nın terapötik yeteneğinin suşa ve hastalığa özgü olabileceği görülmüştür (Ahn ve ark., 2019).

Laktobasiller'den elde edilen LTA'lar biyofilm bozucu ajanlar olarak kullanılmaktadır. *Lactobacillus* suşlarından ekstrakte edilen LTA biyofilm oluşumunu önleyerek ve oluşturulmuş biyofilmleri bozarak *S. mutans, S. aureus* ve *E. Feacalis* gibi oral ve enterik patojenlere karşı antibiyofilm etki göstermiştir (Ahn ve ark., 2018a; Jung ve ark., 2019; Kim ve ark., 2019). *L. plantarum*'dan ekstrakte edilen LTA; *S. aureus* patojeninin üremesini etkilemeden agregasyonunu ve biyofilm oluşumunu azaltmıştır (Ahn ve ark., 2018b).

4.8.5. Peptidoglikanlar

Peptidoglikanlar gram pozitif bakteriler arasında en bol bulunan yapısal hücre duvarı elementidir. Peptidoglikan, peptidlerle çapraz bağlanmış doğrusal bir glikan zinciridir. Peptidoglikan sarmalları N-asetilglukozamin (GlcNAc) ve N-asetilmuramik asit (MurNAc) kalıntılarının beta 1-4 bağlarıyla sağlanır (Vollmer ve ark., 2008). Peptidoglikanlar; ozmotik basınca karşı koyar, hücre şeklini ve bütünlüğünü korur ve fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehditlere karşı koruyucu bir bariyer görevi görür (Höltje ve ark., 1994; Vollmer ve ark., 2008). Peptidoglikanlar ayrıca proteinler ve teikoik asitler gibi hücre zarfı bileşenlerini sabitlemek için bir iskelet görevi görür (Dramsi ve ark., 2008) (Şekil 7).



Şekil 7. Peptidoglikanların yapısı (Blair ve ark., 2015'ten yararlanılarak hazırlanmıştır)

Probiyotik bakterilerden ekstrakt edilen peptidoglikanlar kanser önleyici etki ve immün modülatör aktivite göstermektedir (Aintablian ve ark., 2017; Wang ve ark., 2018a).

4.9. LAB'ın İndirekt Etkileri ve Ürettikleri Metabolik Ürünler

LAB'dan elde edilen hücresiz süpernatantın bileşimleri genel olarak ''metabolitler'' olarak bilinen, düşük moleküler ağırlıklı (hidrojen peroksit, reuterin, organik asitler, karbon dioksit ve diasetilen) ve yüksek moleküler ağırlıklı (bakteriyosinler ve bakteriyosin benzeri maddeler) bileşiklerin bir konsorsiyumudur (Kapustian ve ark., 2018; Siedler ve ark., 2019). 24 saat kültürlenmiş bakterinin santrifüjlenmesi (10 dk; 4 °C için 10,000xg) ve membran filtrasyonu sonucu hücresel süpernatant ayrıştırılır (Chuah ve ark., 2019; Saadatzadeh ve ark., 2013). LAB; biyolojik aktiviteleri aracılığıyla insan sağlığı üzerinde olumlu etkisi olan birtakım metabolitleri (biyojenik bileşikler) sentezler.

4.9.1. Laktik asit

Fermantasyon sırasında laktoz laktik aside dönüşmektedir. Laktik asit antimikrobiyal etkiye sahiptir ve gıda muhafazasında oldukça etkilidir (Pridmore ve ark., 2008). Laktik asidin antimikrobiyal özelliğinin iki sebebi olduğu düşünülmektedir. İlk olarak, laktik asit birikimi pH'ı düşürür ve diğer mikroorganizmaların büyümesini sınırlar. İkinci olarak, bu ortamda organik asitler çözünmez hale gelir ve mikrobiyal hücre zarından serbestçe geçer. Sitoplazmik pH genellikle dış ortama göre daha yüksek olduğundan zayıf asitler ayrışır ve protonlar açığa çıkar (Cotter & Hill, 2003).

Sitoplazma pH'sı asitleşir ve hücre içindeki asidik pH, deformasyona sebep olurken enzimatik aktivitelere, proteinlere, DNA yapısına ve ekstraselüler membrana zarar verir. LAB, kendi metabolizmalarından etkilenmez ve düşük pH'da canlı kalabilir (Cotter ve ark., 2013).

Laktat, pH'dan bağımsız olarak gram negatif türlerin dış zar geçirgenliğini düşürür ve fosfolipid yapısında değişikliklere neden olur (Alakomi ve ark., 2000). Laktik asidin gram pozitif bakterilere (*E. coli, Proteus mirabilis, S. enteritidis, P. aeruginosa, S. aureus, E. faecalis*) karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinliğin gram negatif bakterilere (*L. monocytogenes, B. cereus ve B. megaterium)* ve üç mayaya (*Rhodotorula sp., S. cerevisiae* ve *C. albicans*) göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Stanojevic´-Nikolic´ ve ark., 2016).

4.9.2. Konjuge linoleik asit (KLA)

Konjuge yağ asitleri genellikle konumsal ve geometrik izomerleri bulunan konjuge çift bağlara sahip çoklu doymamış yağ asitleridir. KLA antikanserojen, antidiyabetik ve obezite karşıtı aktivite gösterir (Nagao & Yanagita, 2005).

Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Propionibacterium, Bifidobacterium ve Butyrivibrio cinslerinden birçok suş, spesifik büyüme koşulları altında linoleik asitten KLA üretebilmektedir (Sieber ve ark., 2004). Bu bakteriler, linoleik asit veya risinoleik asidi KLA izomerlerine dönüştürme kapasitesine sahip özel bir enzim olan linoleik asit izomerazına sahiptir (Liavonchanka & Feussner 2008). *L. plantarum* AA1-2 ve *L. plantarum* AB20 961 suşları, baharatlı sucukta KLA üretimini arttırır (Özer ve ark., 2016). Furumoto ve arkadaşları (2016), *L. plantarum* ile yaptıkları *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda linoleik asit türevlerini kullanarak hücresel antioksidan tepkilerin arttığını gözlemlemiştir.

4.9.3. γ-Aminobütirik Asit (GABA)

Bazı bağırsak bakterileri piridoksal-5'-fosfata bağımlı glutamat dekarboksilaz enzimi aracılığı ile L-glutamatın geri dönüşümsüz olarak α-dekarboksilasyonu ve bir proton kullanımı sonucu GABA sentezleyebilmektedir (Barrett ve ark., 2012). Bu enzimin mevcudiyeti asit toleransı ile ilişkilendirilmiştir (Otaru ve ark., 2021). LAB, hız sınırlı bir şekilde GABA üretimini destekler (Shan ve ark., 2015).

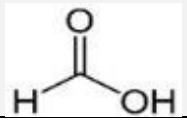
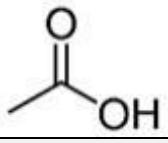
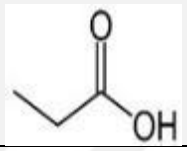
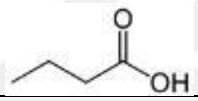
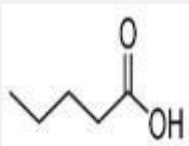
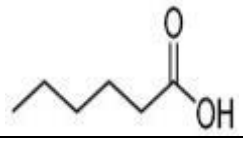
4.9.4. Diğer organik asitler

LAB; asetat, propiyonat, 3-hidroksipropiyonat, format ve süksinat üretir. LAB'ın fermantasyonu sonucu üretilen süksinik asit anaerobik metabolizmanın son fermantasyon ürünlerinden biridir (Kuley ve ark., 2020). Organik asitler genellikle aroma maddelerinin bir parçası olarak bulunur. Organik asitler; hetero-laktik fermantasyon ve amino asit metabolizmasıyla oluşur. Hetero-laktik fermantasyon sonucu laktik asit dışında diğer organik asitler de sentezlenebilir. Örneğin, pirüvik asit laktik aside; asetik asit formik aside, etanole veya karbon dioksite ayrışır (Dorau ve ark., 2019).

L. lactis, Lactiplantibacillus plantarum, L. brevis, Leuconostoc mesenteroides ve diğer bazı laktik asit suşlarında lösin, transaminasyon ile 2-ketoizokaproik asit üretebilir ve bu; 2-hidroksiizokaproik aside indirgenebilir. LAB eklenmesi, fermente gıdalardaki 2-hidroksiizokaproik asit içeriğini artırabilir (Park ve ark., 2017).

Organik asitler, özellikle KZYA, Gİ kanalda milimolar miktarlarda bulunur ve anaerobik mikroorganizmaların baskın olduğu bölgelerde yüksek miktarlarda oluşur. KZYA, düz veya dallanmış bir konformasyonda bulunan; alifatik zincirlerinde 1-6 karbon atomu bulunduran doymuş yağ asitleridir (Ríos-Covián ve ark., 2016). KZYA, kimyasal yapılarıyla beraber Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Kısa zincirli yağ asitleri ve kimyasal yapıları (National Instute of Health, PubChem, 2019'dan yararlanılarak hazırlanmıştır)

İSİM	*KİMYASAL FORMÜL*	*MOLEKÜL YAPISI*	*MOLEKÜL AĞIRLIĞI*
FORMAT	HCOOH		46,03
ASETAT	CH_3COOH		60,05
PROPİYONAT	CH_3CH_2COOH		74,08
BÜTİRAT	$CH_3(CH_2)_2COOH$		88,11
VALERİK ASİT	$CH_3(CH_2)_3COOH$		102,13
KAPROİK ASİT	$CH_3(CH_2)_4COOH$		116,16

KZYA, gıdalardan mikrobiyotaya karbon akışını sağlar (Morrison & Preston, 2016). Oluşan KZYA konsantrasyonu; mikrobiyotanın bileşimine, mikroorganizmaların sayısına, mikroorganizmalara sağlanan lif kaynaklarının türüne bağlıdır (Havenaar, 2011). KZYA'nın %90-95'ini asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit (3:1:1 mol oranında) oluşturmaktadır; küçük bir oranda da formik asit bulunur (Ríos-Covián ve ark., 2016).

Endojen KZYA oluşumu kalın bağırsakta diyetsel lif ve sindirilemeyen karbonhidratların bakteriyel fermantasyonu ile sağlanır. Sindirilemeyen karbonhidratlar dirençli nişasta, nişasta olmayan polisakkaritler, oligosakkaritler (prebiyotikler), oligofruktoz, disakkaritler (laktoz, stakioz, rafinoz) ve alkollerdir (sorbitol, mannitol) (Kuczyńska ve ark., 2011).

KZYA;

- pH'ın düzenlenmesinde, kalsiyum, demir ve magnezyum emiliminin arttırılmasında önemli rol oynar. Karaciğerin glikoz ve protein metabolizmasını destekler; bağırsakların normal yapısının, bütünlüğünün ve işlevinin korunmasını etkiler (Kuczyńska ve ark., 2011).
- Sitokinlerin ana kaynağı olan NFκB makrofajların aktivasyonunu inhibe ederek antienflamatuvar aktivite gösterirler (Kuczyńska ve ark., 2011).
- Kolonositler için birincil enerji kaynağıdır (Van der Beek ve ark., 2015). Bağırsak epitel hücrelerinin kullandığı enerjinin %70'ini *Ruminococcus* ve *Faecalibacterium* gibi kommensal bakteriler tarafından üretilen bütirik asidin sağladığı gösterilmiştir (Serpa ve ark., 2010).
- Kolonizasyon bölgeleri için rekabet eden saprofitik mikrofloranın büyümesini simüle ederek *E. coli, Salmonella* veya *Campylobacter* gibi patojenik mikroorganizmaların gelişimini engeller (Havenaar, 2011).

4.9.5. Asetaldehit

Yoğurt üretimi fermentasyonu sırasında laktoz metabolizmasında pirüvatın dekarboksilasyonu aracılığıyla direkt olarak asetaldehit üretilebilir. Doğrudan pirüvat dekarboksilaz veya pirüvat oksidaz; dolaylı olarak pirüvat dehidrogenaz veya pirüvat format liyaz enzimleri tarafından asetaldehit üretilebilir. Bazı amino asitler metabolik bir ara ürün olan pirüvatı asetaldehite dönüştürülebilirken; treonin, treonin aldolaz aktivitesi ile doğrudan asetaldehite ve glisine dönüştürülebilir (Tamime & Deeth, 1980).

4.9.6. Diasetil (2,3-bütandion)

LAB, metabolizmalarında bütandion gibi yan ürünleri oluşturabilir ve bütandion için özel taşıyıcılara gereksinimleri bulunmaz (Bandell ve ark., 1997). Bütandion; *Listeria, Salmonella, E. coli, Yersinia* ve *Aeromonas* patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Singh, 2018).

Asetaldehit, diasetil, asetoin ve bütandiol birçok fermente süt ürününün tipik aroma bileşikleridir. *Lacticaseibacillus paracasei* 4341, uzun sürede olgunlaşan İtalyan peynirlerinde aroma ve ekşi maddeler üretir (Bancalari ve ark., 2017).

Bazı *Lactiplantibacillus plantarum* suşları aspartik asitle ilgili aroma bileşiklerinin üretimini destekleyebilir. *Lacticaseibacillus paracasei* metabolizmasında aspartik asit; aminotransferaz

katalizatörlüğüyle diasetil, asetoin ve 1,3-butandiole ayrışmaktadır (Thage ve ark., 2005). *Lacticaseibacillus casei, Lacticaseibacillus rhamnosus* ve *S. thermophilus'*un bazı suşları, dallı zincirli amino asit ve aromatik amino asit türevlerinin üretimine katkıda bulunur (Bancalari ve ark., 2017). *S. thermophilus* ve *Lacticaseibacillus casei*, süt ürünlerinin fermantasyonu sırasında 2,3-bütandion ve 2,3-pentandion gibi yan ürünleri oluşturur (Chammas ve ark., 2006).

4.9.7. Hidrojen peroksit

LAB; oksijen mevcudiyetinde flavoprotein oksidaz veya NADH (Nikotinamid adenin dinükleotit indirgenmiş hali) peroksidaz enzimlerinin etkisiyle hidrojen peroksit (H_2O_2) üretebilir (Singh, 2018). H_2O_2, süperoksit anyon zincir reaksiyonuyla toksik oksidasyonu arttırarak katalaz negatif patojen bakterileri inhibe edebilir (Mitchell ve ark., 2015). İnhibisyon, proteinlerin oksidatif hasarının ve membran geçirgenliğinin artışıyla sağlanır (Singh, 2018).

H_2O_2, gram-pozitif bakteriler üzerinde bakteriyostatik, gram-negatif bakteriler üzerinde bakterisidal etki yaratır (Kroeckel, 2011). Hidrojen peroksitin bakterisidal etkisi derişim, pH ve sıcaklık gibi çevresel faktörlere bağlıdır (Nair ve ark., 2017).

4.9.8. Karbondioksit

Heterofermentatif LAB, şeker fermantasyonunun bir yan ürünü olarak karbondioksit (CO_2) üretir. CO_2 birkimi, anaerobik bir ortamın oluşturulmasıyla aerobik bakterilere karşı antagonistik etki sağlamaktadır. CO_2 oluşumu karbonik asit konsantrasyonunun artışını destekler (Singh, 2018). CO_2 eklenen büyüme ortamında pH'ın düştüğü gözlemlenir. CO_2 ilavesi *Achromobacter, Pseudomonas* ve *Bacillus* kültürleri üzerinde yüksek bir inhibitör etki göstermektedir (Coyne, 1933). Hücrelerde eşit derecede asitlenme oluşturan diğer asidik maddelerin eklenmesi CO_2 uygulamasıyla ulaşılan seviyeler kadar inhibisyon sağlamamaktadır (Becker, 1936).

CO_2'nin antifungal aktivitesi enzimatik dekarboksilasyon reaksiyonlarının inhibisyonundan ve membran tabakasında birikimden kaynaklanır ve bu da geçirgenlik işlevinde bozulmalara neden olur (Lindgren & Dobrogosz, 1990).

4.9.9. Reuterin

Reuterin, *L. reuteri* ve diğer bazı LAB tarafından gliserolün metabolize edilmesiyle üretilen düşük moleküler ağırlıklı, protein olmayan bir bileşiktir. (Axelsson ve ark., 1989) Reuterin sistemi, gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler, mayalar, mantarlar, protozoa ve virüsler gibi

patojenlere ve bozucu organizmalara karşı geniş spektrumlu bir antimikrobiyal aktivite sergiler (Stevens ve ark., 2011).

4.9.10. Bakteriyosinler

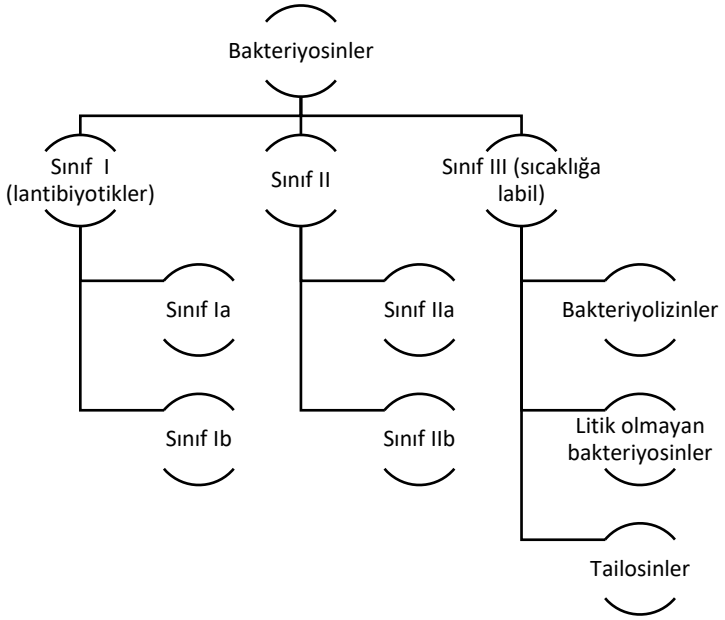
Bakteriyosinler ‘’katyonik yapıda, ribozomal olarak sentezlenmiş, gözenek oluşturarak ve hedef hücre zarı bütünlüğünü bozarak hücre ölümüne yol açan antimikrobiyal peptitler’’ olarak tanımlanır (Egan ve ark., 2016).

LAB’ın geniş antimikrobiyal aktivite spektrumları, pH ve ısı toleransları ve toksik olmayan yapıları sayesinde patojen mikroorganizmaları inhibe etme kabiliyetine sahip çeşitli bakteriyosinler ürettikleri bilinmektedir. LAB bakteriyosinleri; pankreatik kompleks, konakçı proteazlar, tripsin ve kimotripsin gibi sindirim proteazlarına duyarlıdır; bu nedenle bağırsak mikrobiyotasını olumsuz etkilemezler (Egan ve ark., 2016).

Bakteriyosinler hücre duvarı sentezinin inhibisyonu, deoksiribonükleaz ve ribonükleaz aktiviteleri aracılığıyla hedef hücre zarında gözeneklerin oluşturulması gibi farklı etki mekanizmaları sergiler (Bourdichon ve ark., 2012). Özellikle gram-pozitif bakterileri inhibe eden bakteriyosinler, bakteriyel hücre zarfını hedefleyerek antimikrobiyal etki gösterirler (Cotter ve ark., 2013).

Bakteriyosinler, amfifilik sarmallar oluşturan ve 10 dakika süreyle yapılan 100 °C sıcaklık uygulamasının ardından stabil kalabilen, yaklaşık 30-60 amino asitten oluşan küçük katyonik moleküllerdir. Bakteriyosinler; aktivite spektrumu, etki şekli, moleküler ağırlık (MA), genetik orijin ve biyokimyasal özellikler bakımından farklılık gösterirler (Parada ve ark., 2007).

Bakteriyosin üreten LAB suşları, bakteriyosin operonunda kodlanan spesifik bir bağışıklık proteininin ekspresyonu ile kendilerini kendi toksinlerinden korurlar. Endüstriyel uygulamalarda birkaç bakteriyosin izole ve karakterize edilmiştir. Bakteriyosinlerden yalnızca nisin ve pediocin FDA tarafından onaylanmıştır (Parada ve ark., 2007). LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin sınıflandırılması şekil 8’de gösterilmiştir.



Şekil 8. Bakteriyosinlerin sınıflandırılması (Pérez-Ramos ve ark., 2021'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

4.9.11. Vitaminler

Vitaminler, çeşitli biyolojik süreçleri kolaylaştırmak için diyete belirli miktarda eklenen, organik moleküllerdir. Çoğu B-kompleks grubu vitaminleri enerji metabolizması reaksiyonlarında doğrudan koenzimler olarak yer alır (de Giori ve ark., 2018). K Vitamini, yağda çözünen vitaminler arasında koenzim görevi gören tek vitamindir. İnsanlar vitaminlerin çoğunu biyosentezleme yeteneğine sahip değildir ve eksojen olarak alınması gerekir (Thakur & Tomar, 2016). Vitaminlerin önemli bir kısmının diyetle dışarıdan alınması gerekse de bazı vitaminler (folik asit, kobalamin, riboflavin) kommensal bağırsak bakterileri ve bazı probiyotik bakteriler tarafından sentezlenir (Thakur & Tomar, 2016).256 insan bağırsak bakterisinin genom incelemesi, sekiz B vitamini (biyotin, kobalamin, folat, niasin, pantotenat, piridoksin, riboflavin ve tiamin) için biyosentez yollarını belirtmiştir (Magnúsdóttir ve ark., 2015).

LAB arasında *Lactococci* ve *Lactobacillus* riboflavin sentezi için gerekli genleri barındırmaktadır (Thakur & Tomar, 2016). *L. pentosu*s ve *L. plantarum* BFP32 suşları B1 (tiamin) ve B2 (riboflavin) vitaminlerini üretebilme kapasitesine sahiptir (Wichienchot ve ark., 2016). *L. plantarum* B1, B2 ve B12 vitaminlerini ve folatı sentezleyebilmektedir (Masuda ve ark., 2012). Suş düzeyinde probiyotik bakteriler tarafından sentezlenebilen vitaminler Tablo 5'te gösterilmiştir. Paraprobiyotiklerin ve postbiyotiklerin antienflamatuvar, bağırsak bariyerini güçlendirme, antiadezyon, antibiyofilm oluşturma, antiviral, immün modülatör,

antihipertansif, hipokolesterolemik, antiproliferatif, antioksidan özellikleri bulunur (Nataraj ve ark., 2020).

Tablo 5. Probiyotik bakteriler tarafından üretilen bileşenler (Nataraj ve ark., 2020'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

Organizma	Bileşen	Referans
S.gallolyticus subsp. *Macedonicus* (*S. macedonicus*) CRL415	Folat	Laiño ve ark., 2012
P. freudenreichii DSM 20271	B12 vitamini	Xie ve ark., 2019
E. faecalis, *L. helveticus* ve *L. acidophilus*	Formik asit, asetik asit, B1 vitamini	Patil ve ark., 2019
L. brevis, *L. plantarum* ve *L. pentosus*	Asetik, propiyonik bütirik , izobütirik izovalerik	Ruiz-Moyano ve ark., 2019
P. freudenreichii	B12 vitamini	Chamlagain ve ark.,2018
L. pentosus, *L. plantarum* BFP32	Asetik, bütirik ve propiyonik asit	Wichienchot ve ark., 2016
L. pentosus L. plantarum BFP32	B1 ve B2 vitaminleri	Wichienchot ve ark., 2016
Lactobacillus türleri	B12 vitamini	Bhushan ve ark., 2016
L. sakei, L. plantarum	Folat	Masuda ve ark., 2012
L. plantarum ve *L. coryniformis*	B12 vitamini	Masuda ve ark., 2012
L.delbrueckii subsp. *Bulgaricus* CRL 863, *S. thermophilus* CRL 415, ve CRL 803	Folat	Laiño ve ark., 2012
P. freudenreichii DF15	B12 vitamini	Hugenschmidt ve ark., 2010
L. plantarum, L. reuteri, L. brevis ve L. fermentum	Folat	Hugenschmidt ve ark., 2010
B. breve M-16 V	Asetat	Wang ve ark., 2007

4.10. *Lactobacillus plantarum*'un Genel Özellikleri

Sistematik ve Moleküler Taksonomi

Lactobacillus cinsine ait türler, insan beslenmesinde ve gıda mikrobiyolojisinde, özellikle fermente gıda sistemlerinde bulunan baskın mikroorganizmalardır (Felis & Dellaglio, 2007).
Bilimsel sınıflandırma
Alem: Bakteri
Şube: *Firmicutes*
Sınıf: *Basil*
Takım: *Laktobasiller*
Aile: *Lactobacilliaceae*
Cins: *Lactobacillus*
Tür: *Lactobacillus plantarum*

L.plantarum gram pozitif bir bakteridir. 0,9–1,2 μm (mikrometre) genişliğinde ve 3–8 μm uzunluğundadır, yuvarlak uçlu ve çubuk şeklindedir (Matejčeková ve ark., 2016). "Genom indirgeme" işlemi sonucuna göre *L. plantarum* suşları, 1,8 ila 3,3 Mbp (milyonlarca baz çifti) arasında değişen nispeten büyük bir genom boyutuna sahiptir (Heinl & Grabherr, 2017).

L. plantarum, Orla-Jensen ve Holland tarafından orijinal olarak *Streptobacterium plantarum* olarak adlandırılmıştır. Pederson *L. plantarum*'u ''sebzeleri substrat olarak kullanabilen tipik bir LAB'' olarak tanımlanmıştır. *L. plantarum*, heterofermentatif, fakültatif anaerobik bir mikroorganizmadır. Heksoz şekerinin EMP metabolik yoluyla fermantasyonu sonucu D- ve L-laktik asitleri oluşur. Pentoz şekeri ise indüklenebilir fosfoasetolaz varlığında laktik ve asetik asit oluşturmak üzere fermente edilir (Kandler & Weiss, 1986).

L. plantarum, 15°C ila 45°C arasındaki sıcaklıklarda üreyebilen mezofilik bir suştur (Kandler & Weiss, 1986). %4 ila 6 oranında NaCl varlığında ve 4 ila 9 arasındaki pH değerlerinde iyi büyüme kaydedilmiştir (Somboon ve ark., 1992). Aside toleranslıdır ve genel olarak güvenli bir mikroorganizma olarak kabul edilir (Brinques ve ark., 2010).

L. plantarum, flavin içeren pirüvat oksidaz varlığında hidrojen peroksit oluşturarak pirüvatı asetil fosfat ve karbon dioksite dönüştürür (Benito-de-Cardenas ve ark., 1989). Çoğu organik asit (ör. Malik, tartarik ve asetik asitler) *L. plantarum* tarafından metabolize edilerek karbondioksit, laktik asit ve asetik asit üretilir.

L. plantarum, malik asidi karbondioksite dönüştürme kapasitesine sahiptir, bu nedenle şarap endüstrisinde malo-laktik fermantasyonu kolaylaştırmak için uygulanabilmektedir (Wibowo ve ark., 1985).*L. plantarum* farklı bitki materyalleri, süt, et ürünleri, balık, kaynak ve atık sular gibi çeşitli ekolojik nişlerden ve insan ve hayvanların mide ve bağırsaklarından izole edilmiştir. (Kandler ve ark., 1986).

Türün adı, besinsel kaynakları olan kendiliğinden fermente olmuş bitkilerde yaygın olarak bulunmasından kaynaklanmaktadır. *L. plantarum*'un tipik suşu Amerikan Kültür Koleksiyonu (ATCC) 14917'dir (Kandler & Weiss, 1986).

Todorov ve arkadaşları (2011) tarafından fermente süt, peynir, fermente salatalık, fermente zeytin, makarna, ananas, greyfurt suyu, sorgum bira ve arpa, pekmez, boza, kefir ve amasi gibi çeşitli nişlerden farklı suşlar izole edilmiştir. *L. plantarum* suşları mide transitinden sonra canlı kalabilir, insanların ve diğer memelilerin bağırsaklarında kolonize olabilir ve doğal mikrobiyotanın bir üyesi olarak kabul edilebilir (Kleerebezem ve ark., 2003; Mathara ve ark., 2008).

4.10.1. *L. plantarum*'un etkileri

- **Antioksidan aktivitesi**

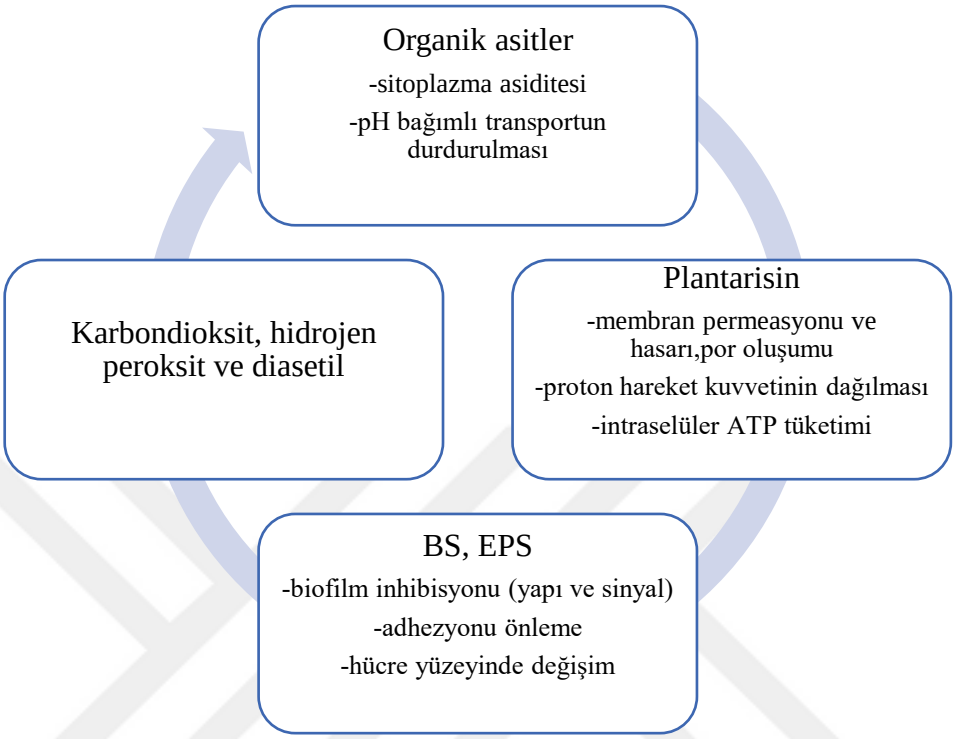
Probiyotik bakteriler metal iyonunun şelatlanması, kendi antioksidazlarının üretimi, antioksidan metabolitlerin oluşumunu, antioksidaz etkisinin yukarı regülasyonu, konakçının antioksidan metabolitlerinin arttırılması, sinyal yolunun koordinasyonu, reaktif oksijen türlerinin enzim aktivitelerinin azalması ve Gİ sistemin mikrobiyotasının düzenlenmesi sayesinde antioksidatif sürece destek olur (Wang ve ark., 2017).

Postbiyotikler; ürettikleri KZYA'nın hidroksil grupları sayesinde serbest radikal yakalama aktivitesini artıran büyük elektron vericilerdir (Wang ve ark., 2017). Oksidatif strese karşı savunmada LAB'ın enzimatik savunma sistemi, katalaz, süperoksit dismutaz, NADH-oksidaz ve NADH-peroksit gibi hücre içi antioksidan enzimlerin üretimiyle sağlanır (Li ve ark., 2012).

- ***Antimikrobiyal etkisi***

L. plantarum diğer LAB gibi değişken etki spektrumuna sahip organik asitler, hidrojen peroksit, diasetil, bakteriyosinler, biyosürfaktanlar, EPS ve antimikrobiyal peptitler gibi farklı antimikrobiyal maddeler üretir (Cortés-Zavaleta ve ark., 2014; Herreros ve ark., 2005; Tharmaraj & Shah, 2009) (Şekil 9). Mikroorganizmalardan ve hücresiz süpernatantlardan

(CFS) elde edilen antibakteriyel ajanların antagonistik aktivitesi gıda muhafazası için de değerli fırsatlar sunar (Kecerová ve ark., 2004).



Şekil 9. *L. plantarum*'un antimikrobiyal metabolitleri (Rocchetti ve ark., 2021'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

- **İmmün modülatör etkisi**

L. plantarum suşları; trofinleri sınırlandırarak, patojenik bakterilerin çoğalmasını engelleyerek, bağırsak mikroekolojisini düzenleyerek ve biyolojik bir bariyer oluşturarak immün düzenleyici etki gösterirler (de Vos ve ark., 2017).

L. plantarum spesifik olmayan immün yanıtı etkileyerek nötrofil ve makrofaj üretimini destekleyebilir (Özdemir, 2010). Serum ve mukozal yüzeydeki IgA, IgG ve IgM artışıyla bakteriye özgü immün yanıt geliştirir. Hümoral bağışıklık fonksiyonunu artırmak, B ve T lenfositlerinin olgunlaşmasını ve çoğalmasını teşvik etmek ve hücresel bağışıklık tepkisini artırmak *L. plantarum*'un immün modülasyon mekanizmalarından bazılarıdır (Liu ve ark., 2019). *L. plantarum,* antienflamatuvar IL-10 seviyelerini arttırırken proinflamatuar TNF-α, IL-6 ve IL-8 seviyesini düşürerek triatloncuların yarışma sonrası oksidatif stres düzeylerini düşürür (Huang & Tsao 2020).

4.10.2. *Lactobacillus plantarum*'dan üretilen bakteriyosinler

Gıda endüstrisinde antibiyotiğe dirençli bakterilerin artışı etkili antimikrobiyallerle kontrol edilmelidir; probiyotikler ve metabolitleri güvenli alternatifler sunar (Todorov, 2009). *L. plantarum*; çoğalmak ve hayatta kalmak için organik asitler, yağ asitleri, amonyak, hidrojen peroksit, diasetil ve bakteriyosin gibi maddeler üretir (Azizi ve ark., 2017). *L. plantarum* tarafından üretilen bakteriyosin, plantarisin olarak bilinir ve çeşitli bakterisidal/bakteriyostatik mekanizmaları olan II. Sınıf bakteriyosinler grubundadır (Ahmad ve ark., 2017). Plantarisin ürünleri kolesterolü düşürebilir ve antioksidan görevi görür (Devi & Halami, 2019). Yapısal amino asitlerdeki farklılıklar plantarisinlerin pH ve sıcaklığa direnç ve antimikrobiyal aktivite gibi özelliklerini belirler (Tenea & Pozo 2019; Wang ve ark., 2018b).

Patojenik bakterileri inhibe etmek için kullanılan mekanizmalar plantarisinin özelliklerine bağlıdır; farklı sınıfların farklı mekanizmaları vardır. Plantarisin yaygın olarak hücre duvarı bütünlüğünü bozar ve protein veya nükleik asit sentezini inhibe eder (Ahmad ve ark., 2017). Bakteriyosinlerin hedefi bakteri zarıdır (Diep ve ark., 2001). Bakteriyosinler bakteri hücre duvarının lipid bileşenlerine bağlanır ve por oluşumunu önleyerek veya doğrudan hücre parçalanmasını kolaylaştırır (Chikindas ve ark., 1993).

4.11. Patojen Mikroorganizmaların Biyofilm Oluşturma Kabiliyeti

Biyofilmler, mikroorganizmalar tarafından üretilen hücre dışı matrikse gömülü mikrobiyal topluluklardır. Mikrobiyal topluluk, filogenetik olarak ilgisiz olabilen bir veya daha fazla türden oluşabilir. Biyofilm matrislerinde bulunan çeşitli gradyanlar, metabolizmalarını ilgili ortam için optimize eden mikroorganizmalar tarafından kolonize edilen mikro nişler oluşturur. Örneğin anaerobik mikroorganizmalar biyofilmin derin katmanlarında bulunabilir, bu katmanlarda zararlı kimyasal bileşikler, pH veya fiziksel hasar gibi çevresel stres etkenlerine karşı daha duyarlı olan mikrobiyal hücreler de bulunur. Biyofilm içindeki mikroorganizmaların farklılaşması, hücreden hücreye sinyalleşme aracılığıyla desteklenir. Biyofilmler steril olmayan sıvı veya ıslak ortamlara, biyotik ve abiyotik yüzeylere yapışarak gelişebilirler (Schulze ve ark., 2021).

Bakteriyel biyofilm oluşumu, (i) bağlanma, (ii) EPS üretimi, (iii) biyofilm olgunlaşması ve (iv) biyofilmin dağılması/ayrılması aşamalarını kapsamaktadır (Stoodley ve ark., 2002). EPS, geri dönüşü olmayan bir şekilde yüzeylere bağlanarak, çevre algılama (QS) olarak bilinen hücreden hücreye iletişim mekanizması kullanılarak sentezlenir. EPS biyofilm yapısında, sinyalleşmede, besinlerin ve suyun tutulmasında ve genetik değişimde hayati bir rol oynar (Flemming ve ark.,

2016). Biyofilm olgunlaşması sırasında mikro koloniler oluşur ve gen ekspresyonu QS sinyal molekülleri aracılığıyla büyük ölçüde değiştirilir (Flemming ve ark., 2016).

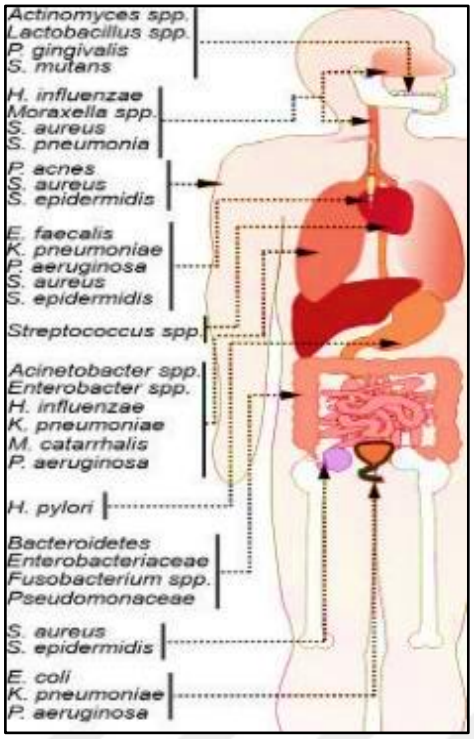
Biyofilmle ilişkili çeşitli enfeksiyon ve hastalıklar arasında kistik fibroz (*P. aeruginosa*), otitis media (*Haemophilus influenzae*), periodontit (*P. aerobicus* ve *Fusobacterium nucleatum*), enfektif endokardit (*S. aureus, Viridans streptococci* ve *Enterococcus faecalis*), kronik yaralar (*P. aeruginosa*), osteomiyelit (*P. aeruginosa*), ülseratif kolit ve Chron's hastalığı bulunmaktadır (Muhammad ve ark., 2020).

Biyofilmler vücutta çok çeşitli mikrobiyal enfeksiyonlara neden olabilir. Ulusal Sağlık Enstitüleri, tüm mikrobiyal enfeksiyonların %60-80'inin biyofilm oluşumuyla bağlantılı olduğunu ortaya koymuştur (Jamal ve ark., 2018). 1680'li yıllarda Antonie van Leeuwenhoek'un "diş kabuğunda" (yani diş plağı) mikroorganizmaların ve lifli yapıların varlığını tanımlamasıyla biyofilmler keşfedilmiştir (Leeuwenhoek, 1684).

Bazı numunelerde biyofilmler öncelikle mukus veya konakçının diğer salgılarında asılı duran agregatlar halinde oluşur. Bazılarında ise, tipik olarak mukozal bir arayüzde dokunun kendisine bağlanır. Bu iki yapı morfolojik olarak farklılıklar gösterse de işlevsel olarak oldukça benzerdir (Alhede ve ark., 2011).

Biyofilm oluşumu yalnızca tıbbi cihazlarda değil, solunum ve sindirim sistemi gibi çeşitli vücut yüzeylerinde de meydana gelir (Şekil 10). Çevrede oluşan biyofilmler konakçı dışındaki fakültatif patojenler için bir hayatta kalma ve kalıcılık aşaması olmakla beraber yeni enfeksiyonların başlatılması için bir rezervuardır. Çalışmalar biyofilmlerle ilişkili bakterilerin, antimikrobiyal bileşiklere karşı bireysel planktonik muadillerine göre daha fazla direnç sergilediğini göstermiştir (Schulze ve ark., 2021).

Biyofilm enfeksiyonlarında antibiyotik direncinin, biyofilm içindeki bakterilerdeki metabolik değişiklikler, hücre dışı matriks kaynaklı antibiyotiklerin penetrasyonunun azalması, antibiyotiğin hücre dışı matriks içindeki bileşikler tarafından inaktivasyonu gibi çeşitli faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bakteriyel biyofilmler tarafından salınan yan ürünler veya toksinler; bakterilerin bağışıklıktan kaçmasını da kolaylaştırır (Schulze ve ark., 2021).



Şekil 10. Biyofilm oluşumu (Schulze ve ark., 2021'den yararlanılarak hazırlanmıştır).

Bakteriyel biyofilmler, geleneksel olarak kullanılan antibakteriyel ajanlarla tedavisi zor olan kronik antibiyotik direnci enfeksiyonlarının çoğundan sorumludur (Costerton ve ark., 1999). Alternatif ajanların anti-biyofilm aktivitesinde QS yolunun inhibisyonu, hücre dışı matrisin bozulması, sıkı bakteriyel tepkinin inhibisyonu, biyofilmin parçalanması, membran geçirgenliğinin artışı, sinyal yolunun inhibisyonu ve lipopolisakkarit nötralizasyonu gibi çeşitli mekanizmalar yer alır (Jiang ve ark., 2020).

4.11.1. Biyofilm oluşumuyla ilişkili gastrointestinal sistem hastalıkları

- **Dişler**

Biyofilm plağı, vücutta sistematik olarak yayılabilen mikroorganizmalar ve bunların inflamatuar efektörleri için sabit bir rezervuar görevi görür. Bu nedenle, diş biyofilm bakterileri aynı zamanda kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz, enfektif endokardit, aspirasyon pnömonisi, diyabet, erken doğum ve düşük doğum ağırlıklı bebekler gibi diğer birçok sistemik hastalıkla doğrudan ve dolaylı olarak ilişkilidir (Schulze ark., 2021).

Diş eti iltihabı, dişlerde bakteriyel biyofilm oluşumuna çevre dokuların tepkisi olarak görülmektedir. Sağlıklı koşullar altında diş eti oluğu ağırlıklı olarak nispeten düşük düzeyde gram pozitif streptokoklarla kolonize edilirken, biyofilm oluşumu önlenmezse mikroflora,

anaerobik gram pozitif ve negatif bakterilerin baskın olduğu bir mikrobiyal çevre oluşabilir (Marsh ve ark., 2009).

- **Mide**

İnsan popülasyonunun yaklaşık %50'sinin mide mukozası *Helicobacter pylori* tarafından kolonize edilmiştir. *H. pylori* ile kolonizasyon; peptik ülser hastalığının, korpus ağırlıklı gastritin ve özofagus adenokarsinomlarının başlamasıyla bağlantılıdır (Brown, 2000). Peptik ülser hastalığından muzdarip hastalarda, üreaz pozitif biyopsilerde mukozal mide yüzeyinin %95'ten fazlası bakteriyel biyofilmlerle kaplanırken, üreaz negatif biyopsilerde yüzeyin %2'den azı kaplanmıştır (Coticchia ve ark., 2006).

- **Bağırsak**

Rezidüal bağırsak mukozası, genellikle sağlıklı biyofilm toplulukları içeren çeşitli bakteriyel mikrobiyota ile kolonize edilmiştir (Macfarlane, 2008). İleum ve kolonda, epitel yüzey ile yakın temas halinde olan yoğun bakteri kitlelerini içeren biyofilmler, sağlıklı insanların az bir kısmında tespit edilebilmektedir (Baumgartner ve ark., 2021; Dejea ve ark., 2014; Swidsinski ve ark., 2005).

Genel bağırsak mikrobiyotasının karmaşıklığına uygun olarak bağırsak biyofilmleri belirli taksonlar açısından zengin olma eğiliminde olmalarına rağmen neredeyse her zaman polimikrobiyaldir (Baumgartner ve ark., 2021; Dejea ve ark., 2014; Swidsinski ve ark., 2005).

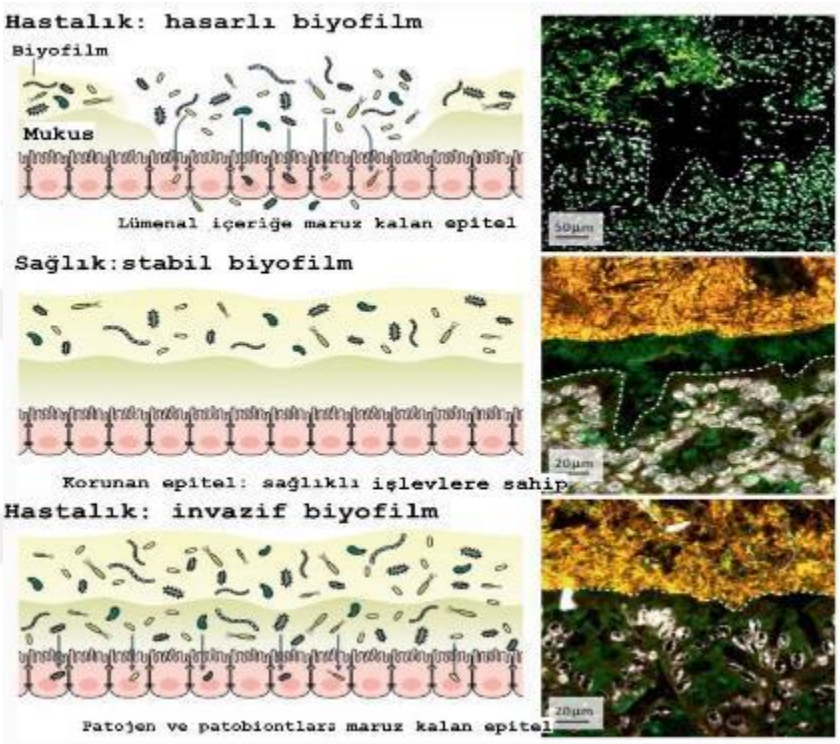
Biyofilmler bazı kanonik bağırsak patojenleri için de bir rezervuar oluşturabilir; örneğin asemptomatik insan taşıyıcılarda *Salmonella* türleri safra taşları üzerinde biyofilm oluşturma yeteneğine sahiptir (Crawford ve ark., 2010). Bağırsak biyofilmlerine ilişkin çalışmaların çoğu biyopsilerin mikroskobik incelemesiyle yapılmıştır ancak bazı biyofilmler endoskopi sırasında makroskopik olarak görülebilmektedir (Baumgartner ve ark., 2021). Bu tür biyofilmlerin, ince bağırsakta bakteriyel aşırı çoğalma tanısı alan hastaların üst jejunumunda ve ayrıca diğer bozuklukları olan hastaların ileumunda ve çekumunda, daha az oranda distal kolonda meydana geldiği rapor edilmiştir (Baumgartner ve ark., 2021).

4.11.1.1. İnflamatuar bağırsak hastalığında biyofilm oluşumu

İBH, Gİ sistemdeki kronik inflamasyon ile karakterizedir. İBH, distal ileum ve kolondaki mikrobiyotayı değiştirebilir (Khor ve ark., 2011). Bağırsaklardaki biyofilm organizasyonu Şekil 11'de gösterilmiştir. İBH'nin kronik tekrarlayan bir formu olan ülseratif kolit durumunda

adhezif invazif *E. coli*, ayrıca *Fusobacterium* ve *Shigella* türleri hastalığın başlatılma ve sürdürülmesinde etkilidir (von Rosenvinge ve ark., 2013).

İBH'de görülen adhezif invazif *E. coli*, kendi proteazlarıyla müsin bozunmasını uyararak mukus tabakasına nüfuz edebilir (Kleessen ve ark., 2002). İn vivo RNA dizilimi kullanılarak yapılan araştırmalarda adhezif invazif *E. coli*' nin tip IV salgı sisteminin Chron hastalığında önemli ölçüde yukarı regüle edildiğini ve bu durumun epitel hücrelerinin yüzeyinde biyofilm oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Elhenawy ve ark., 2021).



Şekil 11. Biyofilm biyocoğrafyasının şeması (Motta ve ark., 2021'den yararlanılarak hazırlanmıştır)

Sağlıklı koşullarda stabil bir mikrobiyal biyofilm, steril bir epitel ve mukus tabakası ile etkileşime girer. Bu simbiyotik ilişki sağlıklı bir işlevdedir (orta panel). Değişmiş biyofilm organizasyonuna ilişkin iki olası senaryo hastalıkla ilişkilendirilebilir. Mukozal biyofilm tamamen değişebilir ve çeşitli boyutlarda agregatlar oluşturabilir; bunlardan bazıları konakçıyla anormal şekilde temas edebilir (üst panel). Diğer yandan yoğun bir biyofilm görülebilir ancak bakteriler içteki steril mukus tabakasını kolonize edebilir ve dokularla temas edebilir (alt panel). Mikroskopi ekleri, sıçan ve fare sindirim sisteminden alınan temsili örneklerdir. Gri renkte konakçı çekirdekler, yeşil renkte glikoproteinler ve sarı renkte ise 16S ribozomal DNA floresansı yerinde hibridizasyonla boyanan bakteriler bulunur. Kesikli beyaz çizgiler doku yüzeyini sınırlar.

Biyofilmler, yapışma ve yayılmaya katkı sunarken virülans genlerinin ekspresyonunda da etkili olabilir (Martinez-Medina ve ark., 2009). Biyofilm oluşumu adhezif inazif *E. coli*'nin inflamasyon ortamında varlığını sürdürmesine, mukoza hasarını hızlandırmasına ve kronik enfeksiyon rezervuarı oluşturmasına olanak tanır (Wang ve ark., 2023).

R. gnavus, İBH'de biyofilm topluluklarında mukus tabakasının koşullarını değiştiren ve mukoza ile ilişkili bakterilere substrat sağlayan önemli bir unsurdur (Png ve ark., 2010). *R. gnavus*, oksidatif stres tepkileri, yapışma, demir edinimi ve mukus kullanımı için suşa özgü genleri eksprese eder, böylece mikrobiyota disbiyozunda adaptif bir avantaj sağlar (Hall ve ark., 2017). Ülseratif kolit ve irritabl bağırsak sendromu olan 1.426 birey üzerinde yapılan bir araştırma, bu hastaların ayırt edici bir biyofilm gözlem özelliğine sahip olduğunu buldu; kontrollerdeki %6'ya kıyasla IBS hastalarında %57 ve ülseratif kolit hastalarında %34 oranları vardı (Baumgartner ve ark., 2021)

Bakteriyel biyofilmler bakteri gruplarının bağırsakta kronik kolonizasyonunu teşvik edebilme kapasitesine sahip olabilir. Biyofilmlerin antimikrobiyal direnci, İBH'de gözlenen antibiyotik direncini açıklayabilir. Biyofilm bileşenleri, İBH'nin ayırt edici özelliği olan proinflamatuar yanıtı güçlendirebilir (Srivastava ve ark., 2017).

İBH'deki bakteriyel varyans genel olarak sağlıklı bireylere göre daha düşüktür ve Gİ sistemde metanojen varyansında azalma ve mantar varyansında artış gözlenir (Frank ve ark., 2007; Ott ve ark., 2008). Özellikle bütirat üreten probiyotiklerdeki ani düşüşün, bakteriyel büyüme modelini düzenlediği bilinmektedir. İn vitro çalışmalar KZYA'nın; *E.coli* ve *S. typhimurium* gibi bakterilerin biyofilm oluşumunu engelleyebildiğini göstermiştir (Amrutha ve ark., 2017; Lamas ve ark., 2019).

İBH ilerledikçe *Firmicutes* gibi aktif KZYA üreten bakterilerde düşüş gözlenmektedir. Antibiyotik tedavisinin ise GI kanaldaki KZYA derişimini düşürdüğü, biyofilmlerin büyümesini, morfogenezi ve *C. albicans*'ın GI kolonizasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir (Guinan ve ark., 2019).

İBH ile enfeksiyon arasında korelasyon görülebilir ancak spesifik bir bakterinin rolü tartışmalıdır. Probiyotiklerin İBH hastalarının günlük rutinine entegre edilmesiyle önemli bir rahatlama sağlandığını belirtilmiştir (Palandurkar & Kumar, 2023).

4.11.1.2. Kolorektal kanserde biyofilm oluşumu

Kolorektal kanser, inflamatuar barsak hastalığı veya irritabl barsak sendromu gibi disbiyotik durumlarda biyofilmler bağırsak epitelinde bazen hastaların %50'sine kadar gözlenebilir (Baumgartner ve ark., 2021; Dejea ve ark., 2014; Swidsinski ve ark., 2005).

İnsan kolorektal tümörlerinin çoğunda biyofilm oluşumu %89 olarak sağ taraftaki epitel yüzeylerde gözlenmektedir, sol taraftaki tümörlerde ise bu oranın %12 olduğu bildirilmiştir (Dejea ve ark., 2014)., Sağlıklı bireylerde mukozal biyofilmler gözlenebilmektedir. Enterotoksijenik *Bacteroides fragilis* ve kolibaktin üreten *E. coli* gibi kolorektal kanserde potansiyal etkinliği olan bakteriler, metabolomik sorgulama sonucu tüm biyofilmlerde gözlenmiştir. Bu durum bireylerde kolorektal kanser durumuna bakılmaksızın biyofilm varlığının pro-onkojenik duruma katkıda sağlayabileceğini gösterebilir (Dejea ve ark., 2014).

Sağlıklı mukozadan alınan biyofilmler, karsinojenezi tetikleme yeteneğine sahip olabilir. Biyofilm ortamı kendisini oluşturan mikroorganizmaları koruma eğilimindedir ve konakçının bağışıklık tepkisinden kaçmayı mümkün kılar; bu durum biyofilmleri, bakterilerin virülans oluşturabileceği ve patojenik saldırıya hazır hale gelebileceği ideal ortam haline getirir. Sağlıklı dokularda görülen biyofilm oluşumu, bağırsak homeostatik durumunun kaybına yol açan kritik noktaya işaret edebilir. (Tytgat ve ark., 2019).

4.11.1.3. Probiyotik mikroorganizmaların patojen mikroorganizmlar tarafından oluşturulan biyofilmler üzerine etkisi

Probiyotikler dirençli izolatlar üzerinde konvansiyonel antibiyotiklere göre güçlü bir seçici baskı oluşturamadığı ve QS'yi inhibe eden ajanlara göre daha az sitotoksik oldukları için anti-virülans ajanlar olarak düşünülebilirler. Probiyotikler farklı mekanizmalar kullanarak patojen bakterilerin aktivitesini ve yüzeylere yapışmasını engelleyebilir. Probiyotikler; QS'yi, biyofilm oluşumunu ve biyofilm oluşturan patojenlerin hayatta kalmasını önler, biyofilm bütünlüğüne/kalitesine müdahale eder ve oluşan biyofilmin yok edilmesine yol açabilir. Antagonistik maddelerin (yüzey aktif maddeler, bakteriyosinler, EPS), organik asitler, laktik asit, yağ asitleri, enzimler (amilaz, lipaz) ve hidrojen peroksit) salgılanması ve patojen mikroorganizmalar için uygun olmayan çevresel koşulların (pH değişimi, yüzey ve besinler için rekabet) oluşturulmasıyla bu etki sağlanabilir (Barzegari ve ark., 2020).

Lactobacillus türlerinin EPS'si Gram-pozitif (*Listeria monocytogenes* ve *S. aureus*) hem ve Gram-negatif (*P. aeruginosa* ve *S. typhimurium*) bakterilerde etkilidir. EPS'nin biyofilm

önleme yeteneğinin EPS konsantrasyonuyla ilişkili olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Mahdhi ve ark., 2017).

Bakteriyosinlerin bazıları bakteri hücre yüzeyinde gözenek oluşumunu tetikleyerek ATP akışına yol açarak, bazıları ise proteolitik enzimler aracılığıyla biyofilmler üzerinde biyolojik aktiviteye sahiptir (Okuda ve ark., 2013)

Lactobacillus türleri ekzometabolitleri aracılığıyla kolonizasyon ve hif oluşumunun başlangıç aşamasını inhibe ederek *Candida albicans* biyofilminini inhibe edebilir (Matsubara ve ark., 2016). Biyosürfaktanlar, bakterilerin yapışmasını ve biyofilm oluşumunu doza bağlı bir şekilde azaltabilir (Yan ve ark., 2019).

Bazı probiyotikler bakterilerin QS'ye bağlı fizyolojik davranışlarını inhibe edebilme yeteneğine sahiptir. Probiyotikler tarafından üretilen laktik asit, *P. aeruginosa*'nın kısa zincirli N-açil homoserin lakton üretimini ve biyofilm oluşumunu baskılayarak QS üzerinde inhibitör bir etki göstermiştir (Kiymaci ve ark., 2018).

5. GEREÇ ve YÖNTEM

5.1. Gereçler

5.1.1. Mikroorganizmalar

Lactobacillus plantarum ATCC 14917	Standart probiyotik suş
Lactobacillus plantarum 1-C-2.2.A	Ev peynir altı suyundan elde edilen suş
Lactobacillus plantarum 2a-2A	P2 firması eczane preparatı
Escherichia coli ATCC 11229	Standart patojen mikroorganizma
Staphylococcus aureus ATCC 25922	Standart patojen mikroorganizma
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Standart patojen mikroorganizma
Salmonella typhimurium ATCC 14028	Standart patojen mikroorganizma
Klebsiella pneumoniae ATCC 4352	Standart patojen mikroorganizma
Candida albicans ATCC 10231	Standart patojen mikroorganizma

Probiyotik mikroorganizmalar standart suş *L.plantarum* ATCC 14917, ev peynir altı suyu kaynaklı *L.plantarum* 1-C-2.2.A ve P2 firması kaynaklı eczane preperatı *L.plantarum* 2a-2A'nın in vitro koşullarda *Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae ve Candida albicans* üzerinde antimikrobiyal aktivite tespitinde kullanılmıştır. Standart mikroorganizmalar Farmasötik mikrobiyoloji anabilim dalının kültür stok koleksiyonundan alınmıştır. Probiyotik ürün ve preparatlardan izole edilen probiyotik mikroorganizmalar 2017 yılında tamamlanan Nurten Tetik'in "Probiyotik Ürün ve Preparatların *Helicobacter pylori* ve *Staphylococcus aureus* Üzerine Antimikrobiyal Aktivitesinin Araştırılması" Başlıklı Yüksek Lisans Tezinin deneysel aşamasımda izole edilen stoktan temin edilmiştir.

L.plantarum ATCC 14917, peynir altı suyundan izole edilen *L. plantarum* 1-c-2.2.A, ve eczane preperatından izole edilen *L. plantarum* 2a-2A antibiyofilm ve antioksidan aktivite tespiti için vitro koşullarda araştırılmak üzere -20℃ derecede saklanmıştır (Chevallier ve ark., 2001).

5.1.2. Kullanılan cihazlar ve kimyasal maddeler

Mueller Hinton Agar (MHA): LABM

Tryptic Soy Agar (TSA): LABM

Tryptic Soy Broth (TSB): LABM

De Man Rogosa Sharpe (MRS) Agar: LABM

De Man Rogosa SharpeBroth (MRS) Broth: Neogen

Sabouraud Dextrose Broth (S.D.B): Sigma Aldrich

Luria Bertani Broth: Sigma-Aldrich

Hassas terazi (0,0001 g): Precisa XB220A

Derin dondurucu: Beko D9459NM

İnkübatör: Binder BD 115

Otoklav: Hirayama HV-50L

Vortex: IK Minishaker

Pastör fırını: Electro-Mag

Buzdolabı: Arçelik AR 5034

Distile su cihazı: GFL 2002-1008974151

Dondurucu -80°C: Articko

UV-Visible Spektrofotometre: HELĠOS

Soğutmalı santrifüj: Beckman

Mikropipetler: Brand

Su banyosu: Nüve ST 402

Pastör pipeti: LP

McFarland standart bulanıklık tüpleri

Ultrason (Sonifikasyon) Cihazı: Bandelin Sonoplus UW 3100

Petri kutusu: Gosselin

Eküvyon çubuğu: LP Italiana

Etüv: Heraeus Thermo Scientific 40918100

96-kuyucuklu mikroplaka: Corning

590 nm mikroplaka okuyucu: Epoch

Fizyolojik tuzlu su (FTS)

Kristal viyolet: Merck

DPPH: Sigma-Aldrich

Askorbat: Sigma-Aldrich

Neokuproin: Sigma- Aldrich

Amonyum asetat (NH_4Ac): Merck

Bakır(II) klorür dihidrat: Merck

Etil alkol (%96): Labkim

Metanol: Merck

5.1.3. McFarland standart bulanıklık tüpleri

McFarland standartları belirlenmiş miktarlarda baryum klorür ve sülfürik asidin karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. İki bileşiğin karıştırılması sonucu baryum sülfat çökeltisi oluşturularak çözeltide bulanıklık sağlanmıştır. 0,05 ml %1,175 baryum klorür dihidrat (BaCl2•2H2O) ile 9,95 mL %1 sülfürik asit karıştırılarak 0,5 McFarland standardı hazırlanmıştır (Cockerill ve ark., 2012).

Maya *C. albicans* için McFarland 1 standart tüpü oluşturmak için 1 ml alınan %1,175 oranında BaCl2.2H2O; 99 ml %1'lik sülfürik aside eklenmiştir. Patojen bakteriler için McFarland 0,5 standart tüpü; 0,5 ml %1,175 oranında BaCl2.2H2O'nun 99,5 ml %1 oranında sülfirik aside eklenmesiyle hazırlanmış, ardından manyetik karıştırıcıyla karıştırılıp 10 ml'lik cam tübe aktarılmıştır. Elde edilen karışım kullanım öncesi vorteks ile karıştırılarak McFarland standartlarına eşdeğer bulanıklık elde edilmiştir (Andrews, 2001).

5.1.4. Mikroorganizma suşlarının temini ve muhafaza edilmesi

Çalışmamızda kullanılan mikroorganizmalar Marmara Üniversitesi Farmasötik Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir. Probiyotik suşlar MRS broth (LAB M, İngiltere, %20 gliserol) besiyerinde, *P. aeruginosa, S. typhimurium, E. coli, S. aureus* ve *K. pneumoniae* suşları TSB (LAB M, İngiltere, %20 gliserol) besiyerinde -20℃'de muhafaza edildi. Maya *C. albicans* %2 dekstroz içeren SDB (Sigma-Aldrich, ABD) besiyerinde -20℃'de saklanmıştır (Ammor ve ark., 2006).

5.1.5. Besiyerleri

Çalışmamızda kullandığımız *L. plantarum*'un probiyotik suşları için MRSA, patojen bakteriler için TSA, maya için SDA besiyeri hazırlanmıştır.

5.2. Yöntem

5.2.1. Mikroorganizmaların aktifleştirilmesi

Çalışmada kullanılan tüm mikroorganizmalar uygun sıvı besiyeri ve sıcaklıkta 24-48 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. Çalışmamızda bulunan patojen bakteriler TSB besiyerinde 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak aktifleştirilmiştir. *C. albicans* SDB besiyerinde 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak aktifleştirilmiştir. Probiyotik mikroorganizmalar MRS broth besiyerinde 37 ± 2°C'de 24- 72 saat süreyle aktifleştirilmiştir (Ammor ve ark., 2006).

5.2.2. Probiyotik mikroorganizmaların sıcaklık ile inaktive edilmesi

Probiyotik standart suş *L. plantarum* ATCC 14917, peynir altı suyu kaynaklı *L. plantarum* 1-C-2.2.A, ve eczane preperatı *L. plantarum* 2a-2A 80 ºC'de 5 dakika boyunca su banyosunda sıcaklığa tabi tutuldu, ardından 37 ºC sıcaklıkta MRS broth besiyerinde muhafaza edilmiştir (Martinez ve ark., 2013).

5.2.3. Probiyotik mikroorganizmaların ultrasonikasyon ile inaktive edilmesi

Standart suş *L. plantarum* ATCC 14917, peynir altı suyu kaynaklı *L. plantarum* 1-C-2.2.A ve eczane preperatı *L. plantarum* 2a-2A numuneleri 15 ml falcon tüplerine aktarılmıştır. Bandelin Sonoplus (Berlin, Almanya) cihazında ms 73 prob, %50 genişlik ayarlanarak; 0.5 saniye uygulamaya 10 saniye bekletme şeklinde 6 dk boyunca ultrasonik homojenikatör uygulanmıştır. Uygulama öncesinde ve sonrasında %70 etanol ile cihaz silinmiştir (Racioppo ve ark., 2017).

Sonikasyona ve su banyosuna tabi tutulmuş hücre süspansiyonu MRS broth içeren plakalarda 37℃'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sıcaklık ve sonikasyona tabi tutulmamış süspansiyonlar pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir (Racioppo ve ark., 2017).

L. plantarum ATCC 14917, peynir altı suyundan izole edilen *L. plantarum* 1-c-2.2.A ve eczane preperatından izole edilen *L. plantarum* 2a-2A sonikasyon ve sıcaklık uygulamaları öncesi ve sonrasındaki antibiyofilm ve antioksidan aktivite tespiti için vitro koşullarda araştırılmak üzere -20 ℃'de muhafaza edilmiştir.

5.2.4. Probiyotik mikroorganizmaların patojen mikroorganizmalarla muamelesi ve 'spot on lawn' yöntemi ile probiyotik mikroorganizmaların antimikrobiyal aktivitesinin tespit edilmesi

Çalışmamızda *L. plantarum* probiyotik bakterisinin üç ayrı suşunun *P. aeruginosa, S. typhimurium, E. coli, S. aureus, K. pneumoniae ve C. albicans* mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi Spot on lawn yöntemi ile incelenmiştir. Probiyotik bakteriler 37 ºC'de aerobik koşullarda MRS Broth besiyerinde iki kez aktifleştirilmiş; her bir aktif kültürden 5 µl (mikrolitre) alınarak 15 mL MRS Broth besiyerine nokta ekimi yapılmıştır (Fleming ve ark., 1975; Harris ve ark., 1989).

Plakalar 37 ºC'de 24 saat inkübasyona bırakılarak koloni oluşumu sağlanmıştır. İndikatör olarak patojen *P. aeruginosa, S. typhimurium, E. coli, S. aureus, K. pneumoniae* suşlarının 18-24 saatlik kültürlerinden McFarland 0,5 bulanıklık standardına eşdeğer süspansiyonları hazırlanmıştır. 18-24 saat kültürlenmiş *C. albicans* için McFarland bulanıklık standardı 1 olarak hazırlanmıştır (Donay ve ark., 2007).

İndikatör süspansiyonlardan 50 µL alınmış; bakteriler 5 mL yumuşak agar içeren TSA (% 0,7 agar) tüplerine; maya ise SDA tüpüne aktarılmış ve vorteks ile karıştırılmıştır. Daha sonra karışım üç ayrı suşa ait *L. plantarum* kolonileri üzerine dökülmüş ve katılaşması için oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra petriler 37 ºC'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sıcaklık ile muamele edilmiş, ultrasonikasyon cihazına tabi tutulmuş ve müdahale edilmemiş probiyotik suşlarının antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesi için inkübasyon sonrası oluşan inhibisyon zonlarının çapları dijital kumpas ile mm (milimetre) olarak ölçülüp kaydedilmiştir. Tüm deneyler çift tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir (ISTISAN, 2012; Tetik,2017).

5.2.5. Farklı kaynaklardan elde edilen *Lactobacillus plantarum'* un Pa01 biyofilm oluşumu üzerine etkisinin belirlenmesi

Farklı kaynaklardan izole edilen *L. plantarum*'un *P. aeruginosa* 01 (PA01) biyofilm oluşumu üzerine etkisi kristal viyole metodu kullanılarak test edilmiştir (Christensen ve ark., 1985). *L. plantarum* bakteri kültürleri OD $_{625}$: 0.1 olacak şekilde hazırlanmış ve 96-kuyucuklu mikro plakaya 100 µl eklenmiştir. Luria-Bertani broth içerisinde 37 °C de hazırlanan PA01 fresh bakteri kültürü 1:100 oranında seyreltilerek 100 µl plakaya eklenmiştir. Eklenen bakteri kültürleri 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında besiyeri uzaklaştırılarak mikro plaka üç kez distile su (dH_2O) ile yıkanmıştır. Yıkama sonrası 200 µL %0,1'lik kristal viyole eklenerek 20 dk. bekletilmiştir. Boyama işleminden sonra mikro plaka dört kez dH_2O yıkanıp, 200 µL etanol eklenerek kristal viyolenin etanolde elüsyonu için 20 dk. bekletilmiştir. Mikro plaka 590 nm' de mikro plaka okuyucuda absorbans değerleri ölçülerek, sonuçlar PA01 kontrol (içerisinde *L. plantarum* bulunmayan) grubuyla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmede kontrol suşların biyofilm oluşumu %100 olarak kabul edilip, kontrol suş üzerinden % inhibisyon oranları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. (BI: biyofilm inhibisyon, ODC: PA01 kontrol OD Değeri (içerisinde *L. plantarum* bulunmayan), ODL: örnek içeren grubun OD değeri)

$$BI\% = \frac{ODC - ODL}{ODC} \times 100$$

5.2.6. DPPH radikal aktivite süpürme tayini

Radikal temizleyici moleküller peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırarak veya peroksit radikalleri ile doğrudan etkileşerek radikalleri hızlı bir şekilde temizlerler (Soare ve ark., 1997). İnaktive edilmiş ve edilmemiş *L. plantarum* suşlarının serbest radikal temizleme potansiyeli DPPH radikalini süpürme tayini ile değerlendirilmiştir (Braca ve ark., 2001).

Bu amaçla, analizden önce metanol içerisinde DPPH radikallerinden oluşan taze bir stok çözelti hazırlanmıştır. Probiyotik süspansiyonlardan farklı konsantrasyonlarda (50-250 µg/mL) numuneler eklenmiştir. Referans numunesinden (antioksidan olarak askorbik asit belirlenmiştir) 10 µL alınarak çözelti hazırlanmıştır. 240 µL'lik 0,1 mM DPPH (metanolik) çözeltisine 10-50 µg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan referans çözeltilerden (askorbik asit ve

BHT) 10’ar µL alınarak eklenmiştir. DPPH çözeltisi, ilave edilen numuneler ve standart çözeltiler 1 dk vorteks ile karıştırılmıştır. Karışım oda koşullarında ve karanlıkta 30 dk bekletilmiştir. Absorbansları 517 nm’de mikro plaka okuyucuda metanol-dimetil sülfoksite karşı ölçülmüştür. Kontrol olarak numuneler ve standart madde yerine 10 µL metanol-dimetil sülfoksit kullanılarak aynı şartlarda hazırlanmıştır. Kontrol olarak kullanılan karışımın absorbansı günlük ölçülmüş ve deney üç kez tekrarlanarak ortalaması alınmıştır. Bu prosedürde reaksiyon ortamında herhangi bir antioksidan madde mevcut olduğunda mor renk kaybolmaktadır (Gulcin, 2020; Ozaslan ve ark., 2022). % DPPH radikali giderme kapasitesi aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır:

5.2.7. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC)

Numunelerin bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) protokolü, yükseltgen olan Cu (II)-neokuproin (Nc) kullanılarak Apak ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilen metoda göre uygulanmıştır (Apak ve ark., 2004). Cu (II)-Nc reaktifi antioksidanları ve polifenolik bileşikleri yükseltgeme kapasitesine sahiptir Fenolik hidroksiller uygun konumlandığında redoks reaksiyonu sonucu kinon yapılarına dönüşmektedir ve reaksiyon sonucunda Cu(I)-Nc kelatı oluşmaktadır. Oluşan kelatın rengi 450 nm’de maksimum absorbans vermektedir (Apak ve ark., 2004).

Bakır (II) klorür çözeltisi 10 mM olacak şekilde alınarak hazırlanmıştır. Neokuproin çözeltisi 7,5 mM olarak ayarlanmıştır. Daha sonra 1 M amonyum asetat (NH_4Ac) tampon çözeltisi (nötr pH) eklenmiştir. Bakır (II) çözeltisi, neokuproin çözeltisi ve amonyum asetat tamponundan sırayla 60’ar µL alınmıştır. İnaktive edilmiş ve edilmemiş probiyotik süspansiyonlardan 60 µL alınarak farklı derişimlerde (50-250 µg/mL) test edilmiştir. Son olarak 10 µL olarak alınan metanol-dimetil sülfoksit çözeltisi (referans çözelti olarak alınmıştır) mikro plakalara eklenmiştir. Reaksiyonun oluşması için çözeltiler mikro plaka içerisinde oda koşullarında ağzı kapalı olarak 60 dk boyunca bekletilmiştir. Reaksiyon tamamlandıktan sonra numunelerin ve referans olarak belirlenen metanol-dimetil sülfoksit çözeltisinin oluşturduğu Cu (I)-Nc kelatının dalga boyunun absorbans ölçümü 450 nm’de yapılmıştır. Deney sonucunda elde edilen veriler mM troloks eşdeğeri/mg analit olarak ifade edilmiştir.

6. BULGULAR

6.1. Sıcaklık Uygulaması Sonrası *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Antimikrobiyal Aktivitesi

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgulara göre sıcaklık uygulaması sonucu *L. plantarum* ATCC 14917 suşunun antimikrobiyal aktivitesi *E. coli, S. aureus, P. aeruginosa, S. typhimurium* patojen bakterilerine karşı artmıştır. En yüksek zon çapı 44,37 mm ile *E. coli'* ye karşı gözlenmiştir. İnhibisyon zonu başlangıç değerine göre 15,43 mm artış göstermiştir. Sıcaklık uygulamasıyla *K. pneumoniae*'ya karşı gösterilen antimikrobiyal etkinlik azalırken, antifungal etki saptanmamıştır.

Eczane preparatından izole edilen *L. plantarum* suşunun sıcaklık uygulaması sonrası *S. aureus, P. aeruginosa* ve *S. typhimurium*'a karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin arttığı tespit edilmiştir. Sıcaklık uygulaması sonucu *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ye karşı gösterilen antimikrobiyal aktivite azalmış, antifungal etki gözlenmemiştir.

Ev peynir altı suyundan izole edilen *L. plantarum* suşunun sıcaklık uygulaması sonucu gösterdiği antimikrobiyal aktivite patojen tüm bakterilere karşı artmıştır. Antifungal etki gözlenmemiştir.

6.2. Ultrasonikasyon Uygulaması Sonrası *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Antimikrobiyal Aktivitesi

Çalışmamızda *L. plantarum* ATCC 14917 suşunun antimikrobiyal etkinliği ultrasonikasyon sonrası tüm bakterilere karşı artmıştır. En yüksek etkiyi ultrasonikasyon uygulanmış *L. plantarum* ATCC 14917 suşunun *E. coli* ATCC 11229'a karşı (45,79 mm/zon) gösterdiği belirlenmiştir. İnhibisyon zon çapındaki artış 16,35 mm olarak kaydedilmiştir.

Eczane preparatından izole edilen *L. plantarum* suşunun ultrasonikasyon sonrası *S. aureus, P. aeruginosa, S. typhimurium* ve *C. albicans*'a karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinliğinin başlangıç değerlerine göre arttığı belirlenmiştir. *E. coli* ve *K. pneumoniae* bakterilerine karşı gösterilen antibakteriyel aktivitede düşüş saptanmıştır.

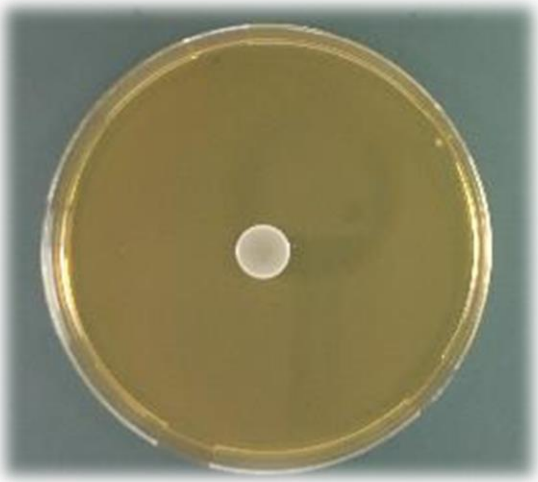
Ev peynir altı suyundan izole edilen *L. plantarum* suşunun ultrasonikasyon sonrası *E. coli, S. aureus, P. aeruginosa, K. pneumoniae* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinliğinin başlangıç değerlerine göre arttığı saptanmıştır. *S. typhimurium'*a karşı gösterilen antibakteriyel etkinlik ultrasonikasyon işleminin ardından azalmıştır.

Çalışmamızdan elde edilen bulgular, inhibisyon çapı/mm cinsinden Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. *L. plantarum* suşlarının sıcaklık ve ultrasonikasyon uygulaması sonrası antimikrobiyal etkinliği, inhibisyon çapı/mm

MİKROORGANİZMA	Patojen mikroorganizmalar	***Escherichia coli* ATCC 11229**	***Staphylococcus aureus* ATCC 25922**	***Klebsiella pneumoniae* ATCC**	***Pseudomonas aeruginosa* ATCC**	***Salmonella typhimurium* ATCC**	***Candida albicans* ATCC 10231**
Probiyotik mikroorganizmalar	İnhibisyon Çapları (mm)						
***Lactobacillus plantarum* ATCC 14917**	İnaktivasyon öncesi	28,94	19,33	21,29	3,92	11,00	15,60
	Sıcaklık uygulaması	44,37	32,78	16,55	22,90	20,42	-
	Ultrason uygulaması	45,79	24,68	29,11	9,55	16,56	13,60
***Lactobacillus plantarum* eczane prepeatı**	İnaktivasyon öncesi	32,39	19,86	29,14	14,74	24,31	10,50
	Sıcaklık uygulaması	30,00	33,65	14,65	21,40	41,01	-
	Ultrason uygulaması	27,67	25,56	26,28	15,72	26,51	15,20
***Lactobacillus plantarum* ev yapımı peynir altı suyu**	İnaktivasyon öncesi	28,55	21,97	14,66	11,95	11,29	13,10
	Sıcaklık uygulaması	38,17	32,59	16,19	19,83	32,51	-
	Ultrason uygulaması	39,24	25,45	19,91	15,63	8,81	15,40

L. plantarum probiyotik bakterisinin petri plakasında görülen spot kolonisi Şekil 12 a'da, inaktivasyon öncesi gözlenen inhibisyon Şekil 12 b'de gösterilmiştir.



Şekil 12 a. *L. plantarum* eczane preparatı spot kolonisi

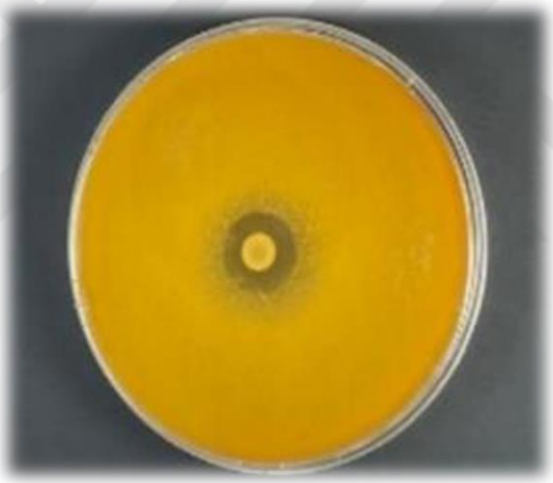


Şekil 12 b. İnaktivasyon öncesi ev yapımı peynir altı suyundan izole edilen *L. plantarum* suşunun *K. pneumoniae* patojen bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinlik

Ev yapımı peynir altı suyundan izole edilen *L. plantarum* suşunun *K. pneumoniae* patojen bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinlik ultrasonikasyon işlemi sonrası başlangıç değerine göre (5,25 mm/zon) artmıştır. Petri plakasında görülen inhibisyon Şekil 13 a ve Şekil 13 b'de gösterilmiştir.



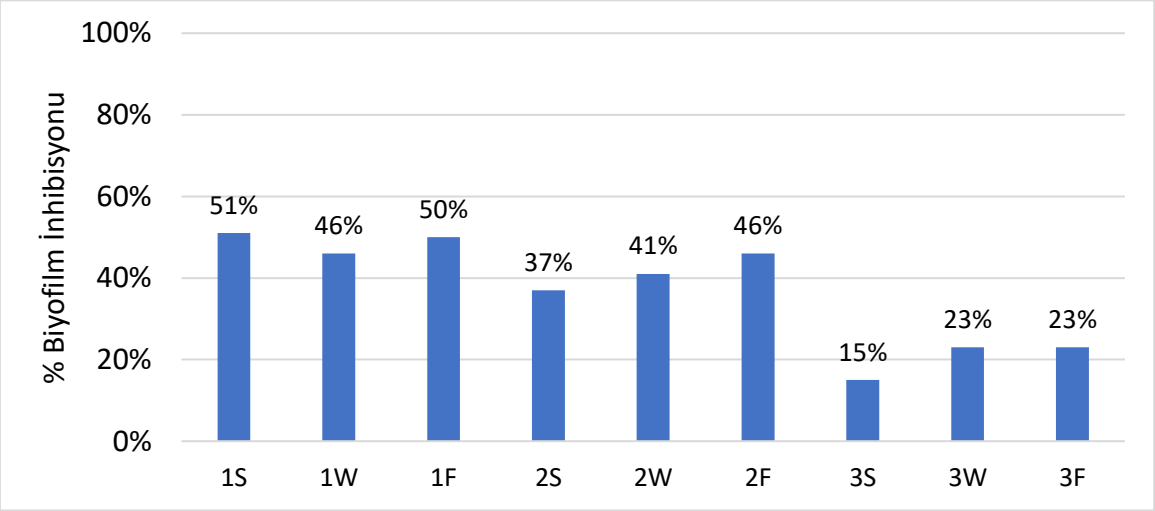
Şekil 13 a. Sıcaklık ile inaktivasyon sonrası eczane preparatından izole edilen *L. plantarum* suşunun *K. pneumoniae* patojen bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinlik



Şekil 13 b. Ev yapımı peynir altı suyundan izole edilen *L. plantarum* suşunun ultrasonikasyon ile inaktivasyon sonrası *K. pneumoniae* patojen bakterisine karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinlik

6.3. Farklı Kaynaklardan Elde Edilen *Lactobacillus plantarum'* un Pa01 Biyofilm Oluşumu Üzerine Etkisi

Bu tez çalışmasında farklı kaynaklardan izole edilen ve farklı işlemler ile inaktive edilen *L. plantarum*' un PA01 biyofilm oluşumu üzerine etkisi kristal viyole metodu kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgulara göre 1S, 1F, 1W, 2F, 2W, 2S, 3F, 3W ve 3S sırası ile 51%, 50%, 46%, 46%, 41%, 37%, 23%, 23% ve 15% oranında PA01 suşunun biyofilm oluşumu üzerine inhibe edici özellikleri olduğu belirlenmiştir (Şekil 14). Bu sonuçlar doğrultusunda herhangi bir işlemden geçirilmemiş olan başlangıç grubunun PA01 biyofilmini inhibe etme etkisi daha fazladır. İnaktive edilen gruplar arasında ise ultrasonikasyon ile inaktive edilmiş grubun sıcaklıkla inaktive edilen gruba kıyasla PA01 biyofilmini inhibe etme özelliği daha iyidir.



Şekil 14. *Lactobacillus plantarum*'un PA01 biyofilm oluşumu üzerine % inhibisyon oranları

S: Standart suş
W: Ev yapımı peynir altı suyundan izole edilen suş
F: Eczane preparatından elde edilen suş

1: Herhangi bir işlemden geçirilmemiş (başlangıç grubu)
2: Ultrasonikasyon ile inaktive edilmiş grup
3: Isı ile inaktive edilmiş grup

6.4. Farklı kaynaklarda izole edilen *Lactobacillus plantarum* suşlarının antioksidan etkisi

Çalışmamız sonucu elde ettiğimiz verilere göre ısı ile inaktivasyon işlemleri sonrası *L. plantarum* suşlarının DPPH radikal süpürücü aktivitesi artış göstermiştir. En yüksek artış *L. plantarum* eczane preperatının sıcaklıkla inaktivasyonu sonucu (başlangıç değeri 10,364±0,911 iken sıcaklık ile inaktivasyon sonrası 51,253±1,427) oluşmuştur, bunu sıcaklık ile inaktive

edilmiş ev yapımı peynir altı suyu kaynaklı *L. plantarum* suşu (başlangıç değeri 9,377±1,163 26,689±0,862) takip etmiştir. Standart *L. plantarum* ATCC 1917 suşunun DPPH radikali süpürücü etkisi ultrasonikasyon işleminden sonra azalmıştır (başlangıç 10,516±1,897 iken 9,795±0,411 olmuştur). Sıcaklık ile inaktivasyon, ultrasonikasyon işlemine göre DPPH radikali süpürme etkinliği açısından daha etkili bulunmuştur (Tablo 7). Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite *L. plantarum* ATCC 14917 için her iki inaktivasyon yöntemi sonucu azalmıştır (başlangıç değeri:0,0950±0,0021 sıcaklık uygulaması sonucu: 0,0890±0,0006 ultrasonikasyon sonucu :0,0903±0,0012). Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite açısından eczane preparatı ve ev yapımı peynir altı suyu kaynaklı *L. plantarum* için iki inaktivasyon yöntemi sonrasında da antioksidan kapasitede artış gözlenmiş, sıcaklık uygulaması daha etkili bulunmuştur.

Tablo 7. *L. plantarum* suşlarının antioksidan aktivite sonuçları

Lactobacillus plantarum suşları	**ANTİOKSİDAN AKTİVİTE**		
		DPPH radikal süpürücü aktivite (%)	**Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) (mMtroloks eşdeğeri/x analit)**
L. plantarum ATCC 14917	İnaktivasyon Öncesi	10,516±1,897	0,0950±0,0021
	Sıcaklık Uygulaması	13,819±1,740	0,0890±0,0006
	Ultrason Uygulaması	9,795±0,411	0,0903±0,0012
L. plantarum eczane preperatı	İnaktivasyon Öncesi	10,364±0,911	0,0876±0,0065
	Sıcaklık Uygulaması	51,253±1,427	0,0975±0,0011
	Ultrason Uygulaması	12,187±3,729	0,0948±0,0006
L. plantarum ev yapımı peynir altı suyu	İnaktivasyon Öncesi	9,377±1,163	0,0823±0,0017
	Sıcaklık Uygulaması	26,689±0,862	0,0955±0,0015
	Ultrason Uygulaması	10,364±0,911	0,0953±0,0012

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Probiyotikler arasından laktik asit üreten *Lactobacillus* suşları fermente gıdalarda probiyotik olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu mikroorganizmalar antimikrobiyal etkileriyle patojen bakterilerin çoğalmasını ve bağırsak epiteline yapışmasına engel olur. Ayrıca, bu patojenlerin ürettikleri toksinleri nötralize ederler (Ichim ve ark.,2016). LAB; ruterin, bakteriyosinler, diasetil ve organik asitler gibi antimikrobiyal özellik gösteren maddeler sentezleyerek zararlı mikroorganizmaların ve patojenlerin gelişimini önlemektir (Chikindas ve ark., 2018).

Gıda kaynaklı patojenler ve sebep oldukları hastalıklar, ciddi salgınlara neden olmuş ve sağlık sorunlarına yol açmıştır. Yapay koruyucuların ve antibiyotiklerin yanlış kullanımının yan etkileri ise ciddi bir artış göstermektedir (Kumar ve ark., 2016; Ren ve ark., 2018). Dolayısıyla, LAB gibi yüksek antibakteriyel özellik gösteren ve birçok sağlık yararı sunan doğal organizmalar gıdalara koruyucu olarak eklenebilir, yaygın patojenlerin adhezyonunu veya biyofilm oluşumlarını engelleyerek enfeksiyonu önleyebilir (Nes & Johnsborg, 2004).

Diğer taraftan canlı probiyotikler, bakterilerle epitel hücreleri arasındaki doğrudan teması önleyen mukoza tabakası nedeniyle bağışıklık tepkilerini modüle etmek için bağırsak epitel hücrelerine bağlanmada zorluklar yaşayabilirken, mikrobiyal ürünler mukustan geçerek epitel hücrelerini doğrudan uyarabilir (de Marco ve ark., 2018). Gıda endüstrisinde ısıl işlemin uzun bir geçmişi olduğundan, mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek için birçok durumda ısıl işlemin kullanılması muhtemeldir. Termal müdahaleler (pastörizasyon, tindalizasyon, otoklavlama), gıda sistemlerine enzimatik ve mikrobiyolojik stabilite kazandırmak ve bakterilerin inaktivasyonu için kullanılan en yaygın işlemlerdir (Yıkmış, 2016). Bu kapsamda yapılan araştırmalar sıcaklık ile inaktive edilen probiyotik mikroorganizmaların canlı mikroorganizmalara eşdeğer veya daha fazla yararlı etkiler gösterebileceğini öne sürmektedir. Farklı stratejilerle (inaktive edilmiş fraksiyonlar) benzer faydalar elde edilebilir (Galdeano & Perdigon, 2004).

Yapılan bir sistematik inceleme ve meta analizi, paraprobiyotiklerin insan ve hayvan sağlığı üzerindeki yararlı etkilerini göstermekte ve hücre canlılığının sağlık etkileri için mutlak bir ön koşul olmadığı kesin olarak değerlendirilmektedir. Modifiye mikroorganizmaların sağlık açısından yararları, tedavi çalışmalarının %69'unda canlı probiyotiklere kıyasla anlamlı bir fark göstermemiştir. Modifiye probiyotik suşları, tedavi çalışmalarının %15'inde, aktif

probiyotiklere göre önemli ölçüde daha etkili bulunmuştur. (Zorzela ve ark., 2017). Isı/ultraviyole/sonikasyon metotlarıyla inaktive edilmiş *Saccharomyces* veya *Bifidobacterium* probiyotik suşlarının uygulanmasıyla fayda sağladığı bildirilen elliden fazla paraprobiyotik içeren ticari kapsül veya tablet takviyeleri mevcuttur (Cuevas-González ve ark., 2020; de Almada ve ark., 2016).

Yapılan bu çalışmada, probiyotik olarak çok yaygın kullanılan ve 3 farklı kaynaktan elde edilen *L. plantarum* suşunun canlı hali ile sıcaklık ve ultrasonikasyon uygulaması sonrası biyolojik aktivitelerinin karşılaştırılmalı olarak incelenmesi araştırılmıştır. Yapılan literatür araştırmalarında *L. plantarum*'un farklı kaynaklardan elde edilen suşlarının sıcaklık ve ultrasonikasyon ile inaktive edilmesi sonrası antimikrobiyal, antioksidan ve antibiyofilm etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Sıcaklık uygulaması, probiyotik mikroorganizmaların inaktivasyonu amacıyla yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Literatürde bu yöntemle yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. *L. plantarum* suşları ile da yapılmış çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte çalışmaların sonuçları birbirileri ile çelişkilidir. Çalışmamızda sıcaklık ile inaktivasyon sonucu, her 3 *L. plantarum* suşunun antimikrobiyal aktivitesinin, sıcaklık uygulanmayan gruplara kıyasla arttığı gözlenmiştir. *L. plantarum* ATCC ve eczane preperatından elde edilen suşun *S. aureus, P. aeruginosa ve S. typhimurium* bakterilerine karşı etkinlği sıcaklık uygulamasıyla artarken *K. pneumoniae*'ye karşı gösterilen antimikrobiyal aktivite azalmıştır. Ev yapımı peynir altı suyundan izole edilen *L. plantarum* suşunun sıcaklık uygulaması sonucu gösterdiği antimikrobiyal aktivite ise patojen tüm bakterilere karşı artmıştır.

Hu ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, Çin'in geleneksel süt ürünlerinden izole ettikleri *L. plantarum* suşlarının 100℃ sıcaklığa 5 dk sürede maruz bırakılmasının ardından *S. aureus, E. coli* ve *S. typhimurium* gibi yaygın patojenlere karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinlikte önemli bir değişim olmadığını rapor etmişlerdir. LAB etkinliğinin araştırıldığı başka bir çalışmada *L. plantarum* dahil olmak üzere farklı *Lactobacillus* suşlarının 100 ℃ 15 dakika sıcaklığa maruz bırakılması sonucunda diyarojenik *E. coli* türlerine karşı gösterilen antimikrobiyal etkide anlamlı bir değişiklik olmamıştır (Davoodabadi ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda ise standart *L. plantarum* suşunun 80 ºC'de 5 dakika inaktivasyon sonrası özellikle *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkinliği belirgin bir şekilde artarken; eczane preparatından elde edilen *L. plantarum* suşunun bu bakteriye karşı etkinliği çok az azalmıştır.

Biradan izole edilen *L. plantarum* VTT E-78076 (E 76) suşunun antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; bu suşa 80℃ sıcaklık 10 dk süreyle ve otoklavda 120℃'de 15 dk süreyle uygulanan sıcaklık işleminin ardından *Fusarium avenaceum*'a (*Gibberella avenacea)* karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin azalmadığı bildirilmiştir (Niku-Paavola ve ark., 1999).

Diğer taraftan, ev yapımı salatalık turşusundan izole edilen *L. plantarum* NTU 102 suşunun hücresiz supernatantlarının *S. aureus* BCRC 14958, *S. mutans* BCRC 15255, *K. pneumoniae* BCRC 10692, *S. entericae* BCRC 10747, *V. parahaemolyticus* BCRC 12864, *P. aeruginosa* BCRC 11864, *Cronobacter sakazakii* BCRC 13988 ve *C. albicans* BCRC 20511 patojenlerine karşı gösterdiği antimikrobiyal etkinlik 121 °C 15 dakikaka sıcaklık uygulaması sonucu tamamen kaybolmuş; 30, 50, 70, ve 100 °C sıcaklık uygulamalarında göreceli olarak stabil kalmıştır (Lin ve ark., 2019). Sıcaklığa bağlı olarak azalan antimikrobiyal aktivitenin, sıcaklık uygulaması sonucu bakteriyosinlerin inaktivasyonundan kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Antibakteriyel etkinliğin araştırıldığı başka çalışmada farklı *L. plantarum* suşlarının *Clostridium difficile* patojeni üzerindeki inhibisyon derecesi sıcaklık uygulamasına tabi tutulmuş (100℃, 20 dk) süpernatant nötralize edildiğinde en yüksek antimikrobiyal değerler kaydedilmiştir (Ratsep ve ark., 2014).

Yapılan çalışmalar *L. plantarum* suşlarının plantarisin gibi bazı termostabil bileşiklerinin antimikrobiyal aktiviteye katkı sağladığını göstermiştir. *L. plantarum* suşlarının *L. monocytogenes* ve diğer lactobacilli türleri gibi yakından ilişkili bakteriler dışında *S. aureus, C. perfringens, B. subtilis, E. coli* ve *S. typhimurium* gibi patojen bakterileri de inhibe edebilen termostabil plantarisin üretebildiği bilinmektedir (Gong ve ark.,2010; Gupta & Tiwari, 2014; Diep ve ark.,2009). Bizim çalışmamızda da özellikle *E. coli, S. aureus*, ve *S. typhimurium* üzerine antibakteriyal etkinliğin artmasının uygulanan sıcaklık derecesinde her 3 suşun da plantarisin üretmesinden kaynaklandığını düşünüyoruz.

Polonya'nın geleneksel peynirlerinden elde edilen *L.plantarum*'un sıcaklık işlemine karşı gösterdiği antibakteriyel etkinliğin araştırıldığı bir çalışmada, 80℃ 20 dakika süreyle inaktive edilmiş hücrelerin *S.aureus*'un yapışmasını inhibe edebildiğini, ancak bu inhibisyonun canlı hücrelerin sağladığı inhibisyondan daha düşük olduğu ($P < 0.05$) bulunmuştur. (Ołdak ve ark., 2019). Bizim çalışmamızda ise sıcaklık derecesi aynı olmakla birlikte sadece 5 dakika sıcaklık

uygulaması her 3 suşun canlı suşa kıyasla daha yüksek antibakteriyel etkinlik gösterdiği belirlenmiştir.

Hossain ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada *L. curvatus* B.67 ve *L. plantarum* M.2 postbiyotikleri 60-121 ℃ arası sıcaklıklara 15 dakika maruz bırakıldıktan sonra *Listeria monocytogenes* patojenine karşı antimikrobiyal aktivitelerini kaybetmediklerini bildirmiştir.

Mısır püskülü suyundan elde edilen iki farklı *L. plantarum* 'un 100 ℃ sıcaklık uygulamasında 60 dakika süreye kadar *S. enterica* ATCC 43971, *Micrococcus luteus* ATCC 4698 ve *E. coli* ATCC 11775 patojenlerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri tespit edilmiş, ancak 121℃ 15 dakika sonrasında bu etki elimine olmuştur (Li ve ark., 2015).

Tüm bu sonuçlar dikkate alındığında *L.plantarum* suşlarının 100℃ ve daha fazla sıcaklıklarda canlı haline kıyasla antibakteriyel etkinliğinin kaybolmaya başladığı ve bunun da plantarisin üretiminin inhibisyonundan kaynaklanmış olabileceğini ortaya koymaktadır. Nitekim, Moğolistan'ın yaygın kullanılan peynirlerinden izole edilen *L. plantarum* KLDS 1.0344 bakteriyosinlerinin *L. monocytogenes, S. aureus, S. typhimurium* ve *E. coli* O157:H7 patojen bakterilerine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite 100℃ sıcaklık ve 40 dakika süre uygulamasına kadar azalmamış; 120℃ sıcaklık , 20 dakika süreden sonra kademeli bir düşüş gözlenmiştir (Muhammad ve ark., 2019).

Benzer şekilde, ev yapımı fermente gıdalardan elde edilen *L. plantarum* suşlarının yer aldığı Ren ve ark. (2018)'nın yaptığı çalışmada, LAB'a 85℃ sıcaklığın 30 dakika uygulamasının ardından probiyotik bakteriler, *S. enterica* (ATCC14028), *S. aureus* (ATCC 6538p), *E. coli* (ATCC 8739) ve *Bacillus cereus* (CICC 20551) patojenlerine karşı antimikrobiyal etkisini muhafaza etmiştir. Ancak 121℃ 20 dk uygulamanın ardından bazı suşlarda antimikrobiyal aktivitenin azaldığı gösterilmiştir (Ren ve ark., 2018).

Diğer taraftan, Pehrson ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada *L. acidophilus* ATCC 4356, *L. rhamnosus* ATCC 7469, *L. fermentum* ATCC 9338, ve *L. plantarum* ATCC 8014 süpernatanların 100 ℃ ve 121 ℃ 15 dk sıcaklık uygulamaları sonucu enteropatojenik *E. coli 0112, E. coli 0124, E. coli 0127, Shigella sonnei ATCC 25931* ve *S. enteritidis ATCC 13076* patojen bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Ekvatoral Amazon yağmur ormanlarından toplanan *Solanum stramonifolium* meyvelerinden izole edilen *L. plantarum*'un probiyotik etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada *L. plantarum* UTNCys3.4 suşunun CFS'sinin, E. coli ATCC 25922, *S. enterica* ATCC 51741, *E. coli*

O157:H7 UTNEc1, *Enterococcus aeruginosa* UTNEn1, *S. typhi* UTNSm2 ve *Shigella* UTNShg1 patojenlerine karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin 60 ila 121°C arasında 30 dakika sıcaklık uygulaması sonrasında yüksek ve stabil kaldığı gözlemlenmiştir (Tenea ve ark., 2017).

Probiyotik mikroorganizmalarla yapılan çalışmalarda LAB'dan elde edilen bakteriyosinlerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir. Literatürde bu bileşenlerin sıcaklığa dayanaklı olup olmadığı ve sıcaklık uygulaması sonrasındaki antimikrobiyal etkinliklerinin araştırıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır. *L. plantarum*'a ait özel bir bakteriyosin olan plantarisinin de sıcaklığa olan duyarlılığını araştırmalar mevcuttur.

Zhu ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, sütten elde edilen *L. plantarum ZJ008* tarafından salgılanan plantarisin ZJ008'in yüksek sıcaklığa dayanıklı (121 °C, 30 dakika) olduğunu ve pH 4 ile 5 arasında daha yüksek antimikrobiyal etki (*Micrococcus luteus, S. aureus, E. coli, Shigella flexineri, Vibrio parahaemolyticus, Listeria monocytogenes ve P. aeruginosa*) gösterdiğini gözlemlemiştir.

L. plantarum tarafından üretilen bir plantarisinin farklı sıcaklarda etkinliğinin araştırıldığı başka bir çalışmada *L. plantarum ZJ 316* suşundan saflaştırılan plantarisin ZJ 316'nın; 30 ℃- 121℃ arasında 30 dk sıcaklık uygulamaları sonucu *P. aeruginosa, Micrococcus luteus, S. aureus, E. coli ve Listeria monocytogenes*'e karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin (inhibisyon zon çapları) tamamen korunduğu saptanmıştır (Chen ve ark., 2018).

Farklı sıcaklık uygulamalarının bakteriyosinler üzerindeki etkisinin araştırıldığı çok yeni bir çalışmada, *L. plantarum* tarafından üretilen bakteriyosinin 50°C, 60°C, 70°C, 80°C, 90°C, 100°C ve 121°C'de 30 dakika sıcaklığa tabi tutulduğunda stabilitesini koruduğunu ve *Bacillus cereus, S. aureus, Bacillus subtilis, ve E. coli*'ye karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir (Akhtar, 2023).

Spot on lawn yöntemi ile bakteriyosinlerin *L. sakei, Leuconostoc mesenteroides* ve *Enterococcus faecalis* bakterilerine karşı inhibitör etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada *L. plantarum'dan* elde edilen bakteriyosin üreten KL-1 izolatı; 100°C'de 10 dakika süreye kadar termostabil kalmış, ancak 100°C'de 30 ve 60 dakika sıcaklık uygulamalarının ardından bakteriyosin aktivitesinin %50 azaldığı saptanmıştır (12,800'den 6,400 AU/mL'ye) (Pilasombut ve ark., 2015).

Çin geleneksel fermente süt ürünlerinden izole edilen *L. plantarum J23* tarafından üretilen bakteriyosin J23'ün etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, bakteriyosin J23 100°C'nin altındaki sıcaklıklarda 30 dakika boyunca sabit kaldığı, 2,0 ila 12,0 aralığında pH stabilitesi ve *L. monocytogenes'e* karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gözlenmiştir (Zhang ve ark., 2018).

Le ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada *L. plantarum*'un CFS'sinin *E. coli, S. aureus, Bacillus subtilis, Salmonella sp., ve L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etkinliği 37 °C, 60 °C, 80 °C, ve 100 °C 30 dk süreli sıcaklık uygulamalarının ardından ölçülmüştür. Bakteriyosin içeren süpernatanlarda en yüksek inhibisyon yüzdesi %60 ile *S. typhimuirum'*a karşı 80°C'de gözlenmiştir. Bu sıcaklıkta tüm patojenlere karşı oluşan inhibisyon maksimum değere ulaştı; 100°C'de ise antimikrobiyal aktivitenin azaldığı tespit edilmiştir (Le ve ark., 2019). Bizim çalışmamızdaki benzer sıcaklık değerinde de *S. typhimuirum'*a karşı antibakteriyal etkinlik saptanmıştır.

Çeşitli kaynaklardan izole edilen *L. plantarum* probiyotik bakterisinin bakteriyosinlerinden biri olan plantarisinler, farklı mekanizmalar aracılığıyla antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Bakteriyosinler por oluşumu, hücresel memran hasarı ve sitoplazmik içeriğin sızması gibi farklı etki yollarına sahip olabilir (Kim ve ark.,2020; Tenea & Pozo, 2019; Tenea& Guaña, 2019). Kim ve arkadaşları, *L. plantarum* NIBR97'den elde edilen plantarisin 3 ve 5'in *S. Enteritidis* büyümesini engellediğini ve gözenek oluşumu yoluyla zara zarar vererek hücresel parçalanmaya yol açtığını göstermişlerdir (Kim ve ark., 2020).

Farklı kaynaklardan izole edilen *L. plantarum* suşlarının sıcaklık uygulamasıyla inaktivasyon sonrası antimikrobiyal etkinliğine dair çalışmalar sıcaklık derecesinin yanında, uygulanan antibakteriyel test yöntemlerin farklılığının da önemli olduğunu ortaya koymaktadır.

Yapmış olduğumuz çalışmada probiyotik mikroorganizmaların mayalara karşı gösterdiği antifungal etkinlik yüksek sıcaklıklardan olumsuz etkilenmiştir. Elde ettiğimiz bulgulara benzer olarak Lighvan peynirinin farklı üretim aşamalarından izole edilen *L. plantarum* türlerinin farklı sıcaklıklarda *Penicillium expansum* ve *Rhodotorula mucilaginosa* üzerinde antifungal aktivitelerinin test edildiği bir çalışmada, incelenen izolatların tamamı 121 °C'de 15 dakika süreyle sıcaklık uygulandığında antifungal aktivitelerini kaybetmişlerdir. 100 °C'de 10 dakika boyunca sıcaklık uygulaması sonucu oluşan net inhibisyon bölgesi, 30 dakika süre ve 100 °C sıcaklık uygulamasından daha yüksek bulunmuştur (Nayyeri ve ark., 2017).

Çalışmamızda ayrıca, *L. plantarum* suşlarının sıcaklık ve ultrasonikasyon ile inaktivasyonu sonucu antioksidan kapasitelerini de inceledik. Sıcaklık uygulaması sonucu her 3 suşun DPPH radikal süpürücü aktivitelerinin artmış olduğunu saptadık. Özellikle eczane preparatından elde edilen suşun oldukça anlamlı bir radikal süpürücü etiye sahip olduğunu belirledik. Bu konuda yapılan çalışmalar birbiri ile uyum göstermemektedir. Probiyotiklerin antioksidan ve immün modülatör etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, Çin kuzeydoğu lahana turşusundan izole edilen *L. plantarum NA* suşunun, sıcaklıkla inaktive edildikten sonra canlı hücrelere benzer antioksidan aktivite ve bağışıklık uyarıcı etki gösterdiği bildirilmiştir. Sıcaklıkla inaktive edilmiş hücrelerin ABTS temizleme aktivitesinin (%38), canlı *L. plantarum NA*'nınkinden (%19) anlamlı ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur (Xu ve ark., 2023). Ren ve ark. (2022), Pasifik'te yaşayan beyaz karideslerin diyetine ısıyla inaktive edilmiş *L. plantarum* ekstraktı eklediklerinde, canlı suşlarla beslenen gruba göre karideslerin total antioksidan kapasite, toplam süperoksit dismutaz, peroksidaz, polifenol oksidaz seviyelerinin arttığını tespit etmişlerdir.

Bu çalışmalara zıt olarak, Jang ve ark. (2018)'nın yapmış olduğu çalışmada, kimçiden izole edilen (Ln1) ve ticari (KCTC 3108) suş olarak kullanılan *L. plantarum* suşlarının antioksidan DPPH radikal süpürücü aktivitesinin sıcaklık uygulaması sonrası azaldığı rapor edilmiştir. Kimçiden izole edilen *L. brevis B13-2*'nin antioksidan etkinliğinin değerlendirildiği bir başka çalışmada, canlı hücreler daha yüksek DPPH radikal temizleme aktivitesi gösterirken, sıcaklıkla inaktive edilmiş hücreler daha yüksek ABTS radikal temizleme aktivitesi sergilemiştir (Song ve ark., 2020). DPPH radikal süpürme aktivitesinde gözlenen bu farklılıklar, antioksidan etkinliğinin suşlara, izole edilen kaynağa ve uygulanan sıcaklık süresine bağlı olarak değişebileceğini gösterebilir.

Farklı kaynaklardan izole edilen *L. plantarum CNPC003* ve *L. plantarum KX041* suşlarından ekstrakte edilen, spesifik bir bileşen olan EPS'nin antioksidan aktivite sergilediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Bomfim ve ark., 2020; Xu ve ark., 2019b).

Sonikasyon sonrası antioksidan etkileri incelendiğinde hem DPPH hem de CUPRAC metodu verileri anlamlı bir artış olmadığını göstermekle birlikte antioksidan kapasitenin değişmemiş olması da önemli bir bulgu olarak göze çarpmaktadır.

Sonikasyon ile inaktivasyon sonrası elde edilen paraprobiyotik suşların, postbiyotik CFS ile antioksidan etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, fermente sosisten izole edilen LAB'ın antioksidan etkileri araştırılmıştır. Postbiyotiklerin DPPH radikal aktivite süpürücü antioksidan

etkisinin (%5,65 ile %76,04), paraprobiyotiklerden (%5,90 ile %18,07) daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Aydın ve ark., 2021).

Ultrason uygulamasının probiyotikler üzerinde etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada, Manyatsi ve ark. (2023) *L. plantarum* dahil olmak üzere LAB'ın nispeten düşük yoğunluklarda ultrason uygulaması sonucu log fazında çoğaldığı ve β-galaktosidaz gibi hücre dışı enzimlerinin arttığı rapor edilmiştir. Ultrason uygulaması sonucu fenolikler, flavonoidler ve antosiyaninler gibi antioksidanların ve biyoaktif bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilebildiği bildirilmiştir.

Çalışmamızda farklı kaynaklardan izole edilen *L .plantarum* suşlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerine ek olarak, antibiyofilm etkinliğini de araştırmayı amaçladık. Elde etmiş olduğumuz bulgular, *L. plantarum* probiyotik bakterisinin biyofilm önleme etkisi inaktivasyon işlemleri sonrasında azalmış, ancak yok olmamıştır. Özellikle sonikasyon sonrası bu etkinliğin daha az oranda azaldığı belirlenmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda *L. plantarum*'un canlı ve inaktive edilmiş (zayıflatılmış) formunun antibiyofilm oluşumuna etkisi karşılaştırılmamıştır. Literatürde bulunan araştırmalar CFS üzerine odaklanmıştır. Bu anlamda çalışmamızda bir ilk olma özelliği taşımaktadır.

Antibiyofilm oluşturma kapasitesinin test edildiği başka bir çalışmada *L. plantarum* Y3 kültürünün ve CFS'sinin çoklu ilaca dirençli üropatojen *E. coli* U12 patojenine karşı antibiyofilm oluşturma kapasitesi 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 70, 80, 90 ve 100 °C'de 30 dakika; otoklavda ise 121 °C sıcaklık ve 15 dakika boyunca test edilmiştir. Sonuçlara göre CFS'nin anti-biyofilm oluşturma yeteneği 100 °C'ye kadar azalmamış, ancak ısı 121 °C'ye ulaşınca *L. plantarum* Y3 kültürünün biyofilm oluşturma yeteneği tamamen kaybolmuştur (Mekky ve ark., 2022).

Antibiyofilm oluşturma potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada, *L. plantarum* ATCC 14917'nin CFS'sinin, test edilen beş oral *Lactobacilli* arasında en güçlü antibiyofilm etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Ana antibiyofilm maddesini tanımlamak için yapılan biyoanaliz izolasyonu sonucu 1-1-4-3 olarak adlandırılan son ürünün antibiyofilm etkisi en baskın bir şekilde gözlemlenmiştir (Liang ve ark., 2023). Bizim çalışmamızda da benzer sonuç elde edilmiştir.

Abou Elez ve ark. (2023) yaptıkları çalışmada *L. monocytogenes* izolatlarının *L. plantarum* CFS'si ile muamelesi sonucu, biyofilm üreten izolat sayısının 4°C, 25°C ve 37°C'de sırasıyla %15,4, %42,3 ve %53,8'e düştüğünü tespit etmişlerdir.

Kore fermente kimçisinden izole edilen *L. plantarum* KU200656'nın (KU200656) *S. aureus, Listeria monocytogenes, E. coli* ve *S. typhimurium*'a karşı anti-patojenik etkilerinin araştırıldığı çalışmada, KU200656'nın CFS'sinin tüm patojenlerin biyofilm oluşumunu inhibe ettiği görülmüştür. KU200656 CFS'nin minimum inhibitör konsantrasyonunun yarısı, kantitatif gerçek zamanlı PCR ile ölçülerek biyofilmle ilişkili genlerin ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur (Lee ve ark., 2021).

Eryılmaz ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada *Lactobacillus* türlerinin metabolitlerinin *P. aeruginosa* biyofilm hücreleri üzerine etkisi mikroplak temelli antibiyofilm yöntemi kullanılarak belirlenmiş, test edilen izolatların tamamının metabolitleri (postbiyotikler) *P. aeruginosa* üzerinde istatiksel olarak anlamlı antibiyofilm aktivite göstermiştir.

İnaktivasyon uygulamasının *in vitro* koşullarda değerlendirildiği yakın tarihli bir çalışmada ultrasonikasyon uygulaması *Lacticaseibacillus casei* ATCC 393'ün agregasyon yeteneğini olumsuz; hidrofobik özelliğini ve biyofilm oluşturma kabiliyetini olumlu yönde etkilemiştir. Yapılan çalışmalar ultrasonikasyon uygulamasının mikroorganizmada mekanik ve kimyasal hasarlara neden olduğunu göstermektedir, uygulamaya cevaben hücrede stimülasyon, inaktivasyon veya yıkım oluşabilir. İnaktivasyon uygulamaları kararlı yapıda probiyotik ürün ve antimikrobiyal özellikleriyle faydalı potansiyeller sağlayabilir. (Giordano & Mauriello, 2023). Gutiérrez Prieto (2020) yaptığı çalışmada *L. plantarum* 299v suşunun ultrasonikasyon işlemi sonrası deride patojen bir bakteri olan *Cutibacterium acnes*'a karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini bildirmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda sıcaklık ve ultrasonikasyon gibi işlemlerle probiyotik bakterilerin inaktive edilmesi; aktif bakterilere yakın verimlilikte antimikrobiyal etkinlik sağlamıştır. Ultrasonikasyon ve sıcaklık ile inaktive edilmiş *L. plantarum* suşlarının patojen *P. aeruginosa* bakterisinin biyofilm oluşumunu önleme kabiliyeti azalmıştır, ancak tamamen yok olmamıştır. Özellikle ultrasonikasyon ile inaktivasyon sonrası biyofilm inhibisyon yeteneğinde çok az bir düşüş saptanmıştır.

LAB gibi probiyotiklerin gıdaya eklenmesinin ardından pastörizasyon ve sterilizasyon durumu, işlenme ve saklama koşulları probiyotiklerin optimal büyüme sıcaklıklarının üstüne çıkabilmektedir (37°C). Kanser hastaları, yaşlılar ve immün supresif bireyler gibi popülasyonun

tamamı da aktif probiyotiklerin kullanımına uygun olmayabilir (de Simone, 2019; Shripada ve ark.,2020). Sıcaklık ve ultrasonikasyon gibi stresli koşullarda canlılığı kaybolan bakteriler metabolik ürünleri aracılığıyla sağlık yararları sunmaya devam edebilir (Landete ve ark., 2017). Bu bağlamda sıcaklık ve ultrasonikasyon uygulaması sonucunda bulduğumuz antibakteriyel aktivite, daha önce yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Beraber değerlendirildiğinde probiyotik son ürünün eldesinde inaktif bakteriler daha stabil özellikler gösterilebilir. Böylelikle işlenme, sterilizasyon ve depolamada kolaylık sağlanabilir.

İnaktive edilmiş yararlı mikroorganizmalar, sağlık yararı sunmaya devam ederken aynı zamanda daha geniş bir popülasyonda kullanılabilir. İnaktive edilmiş probiyotik mikroorganizmaların etki mekanizmalarının aydınlatılması için ileri çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

8. KAYNAKLAR

Abou-Donia, S.A., (2008). Origin, history and manufacturing process of Egyptian dairy prodcuts: an overview. *Journal of Food Science and Technology* 5(1), 51-62. https://doi.org/10.21608/ajfs.2008.20141

Abou Elez, R. M., Elsohaby, I., Al-Mohammadi, A. R., Seliem, M., Tahoun, A. B., Abousaty, A. I., ... & El-Gazzar, N. (2023). Antibacterial and anti-biofilm activities of probiotic *Lactobacillus plantarum* against *Listeria monocytogenes* isolated from milk, chicken and pregnant women. *Frontiers in Microbiology*, *14*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1201201

Adams, C. A. (2010). The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers. *Nutrition Research Reviews*, 23(1), 37-46. https://doi.org/10.1017/S0954422410000090

Aguilar-Toalá, J. E., Garcia-Varela, R., Garcia, H. S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., & Hernández-Mendoza, A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 105-114. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.009

Ahimou, F., Paquot, M., Jacques, P., Thonart, P., & Rouxhet, P. G. (2001). Influence of electrical properties on the evaluation of the surface hydrophobicity of *Bacillus subtilis*. *Journal of Microbiological Methods*, 45(2), 119-126. https://doi.org/10.1016/S0167-7012(01)00240-8

Ahmad, V., Khan, M. S., Jamal, Q. M. S., Alzohairy, M. A., Al Karaawi, M. A., & Siddiqui, M. U. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(1), 1-11. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.08.016

Ahn, J. E., Kim, H., & Chung, D. K. (2019). Lipoteichoic acid isolated from *Lactobacillus plantarum* maintains inflammatory homeostasis through regulation of Th1-and Th2-

induced cytokines. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 29(1), 151-159 https://doi.org/10.4014/jmb.1809.09001

Ahn, K. B., Baik, J. E., Park, O. J., Yun, C. H., & Han, S. H. (2018). *Lactobacillus plantarum* lipoteichoic acid inhibits biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *PLoS One*, 13(2), e0192694. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192694

Ahn, K. B., Baik, J. E., Yun, C. H., & Han, S. H. (2018). Lipoteichoic acid inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Frontiers in Microbiology*, 9, 327. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00327

Aintablian, A., Jaber, D. F., Jallad, M. A., & Abdelnoor, A. M. (2017). The effect of *Lactobacillus plantarum* and bacterial peptidoglycan on the growth of mouse tumors in vivo and in vitro. *Am J Immunol*, 13, 201-8. https://doi.org/10.3844/ajisp.2017.201.208

Akhtar, S., & Nawaz, S. K. (2023). Antimicrobial efficacy of *Lactobacillus plantarum* strain against the *B. cereus, B. subtilis, S. aureus and E. coli* strains. *Biosci. J*, 39, e39061. https://doi.org/10.14393/BJ-v39n0a2023-67616

Alakomi, H. L., Skytta, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., & Helander, I. M. (2000). Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5), 2001-2005. https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.2001-2005.2000

Alba-Lois, L. and Segal-Kischinevzky, C., (2010). Beer & wine makers. *Nature Education* 3(9),17.

Alhede, M., Kragh, K. N., Qvortrup, K., Allesen-Holm, M., van Gennip, M., Christensen, L. D., Jensen, P. Ø., Nielsen, A. K., Parsek, M., Wozniak, D., Molin, S., Tolker-Nielsen, T., Høiby, N., Givskov, M., & Bjarnsholt, T. (2011). Phenotypes of non-attached Pseudomonas aeruginosa aggregates resemble surface attached biofilm. *PloS one, 6*(11), e27943. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027943

Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., & Chevallier, I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat

small-scale facility: 1-Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control*, 17(6), 454-461. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.02.006

Amrutha, B., Sundar, K., & Shetty, P. H. (2017). Effect of organic acids on biofilm formation and quorum signaling of pathogens from fresh fruits and vegetables. *Microbial pathogenesis*, *111*, 156–162. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.042

Anandharaj, M., Sivasankari, B., & Rani, R. P. (2020). Corrigendum to "effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on hypercholesterolemia: a review". *Chinese Journal of Biology*, 2020, 1-8. https://doi.org/10.1155/2014/572754

Ananta, E., & 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. https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.01.008

Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(1), 5-16. https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins c and e, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: Cuprac Method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7970-7981.

Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., ... & Bork, P. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), 174-180. https://doi.org/10.1038/nature09944

Axelsson, L. T., Chung, T. C., Dobrogosz, W. J., & Lindgren, S. E. (1989). Production of a broad spectrum antimicrobial substance by *Lactobacillus reuteri*. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2(2), 131-136. https://doi.org/10.3109/08910608909140210

Aydın, B., Çiydem, T., Esra, K.., & Leyla, A. (2021). Evaluation of the antioxidant effects of postbiotics and paraprobiotics in lactic acid bacteria isolated from traditional fermented

sausages. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (28), 849-852. https://doi.org/10.31590/ejosat.1011409

Azizi, F., Habibi Najafi, M. B., & Edalatian Dovom, M. R. (2017). The biodiversity of Lactobacillus spp. from Iranian raw milk Motal cheese and antibacterial evaluation based on bacteriocin-encoding genes. *Amb Express*, 7(1), 176. https://doi.org/10.1186/s13568-017-0474-2

Ballini, A., Santacroce, L., Cantore, S., Bottalico, L., Dipalma, G., De Vito, D., ... & Inchingolo, F. (2018). Probiotics improve urogenital health in women. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 6(10), 1845-1850. https://doi.org/10.3889/oamjms.2018.406

Bals, R., & Wilson, J. M. (2003). Cathelicidins--a family of multifunctional antimicrobial peptides. Cellular and molecular life sciences: *CMLS*, 60(4), 711-720. https://doi.org/10.1007/s00018-003-2186-9

Bancalari, E., Sardaro, M. L. S., Levante, A., Marseglia, A., Caligiani, A., Lazzi, C., ... & Gatti, M. (2017). An integrated strategy to discover *Lactobacillus casei* group strains for their potential use as aromatic starters. *Food Research International*, 100(1), 682-690. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.066

Bandell, M., Ansanay, V., Rachidi, N., Dequin, S., & Lolkema, J. S. (1997). Membrane potential-generating malate (MleP) and citrate (CitP) transporters of lactic acid bacteria are homologous proteins: Substrate specificity of the 2-hydroxycarboxylate transporter family. *Journal of Biological Chemistry*, 272(29), 18140-18146. https://doi.org/10.1074/jbc.272.29.18140

Barrett, E., Ross, R. P., O'Toole, P. W., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2012). γ-Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *Journal of Applied Microbiology*, 113(2), 411-417. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05344.x

Barros, C. P., Pires, R. P., Guimarães, J. T., Abud, Y. K., Almada, C. N., Pimentel, T. C., ... & Cruz, A. G. (2021). Ohmic heating as a method of obtaining paraprobiotics: Impacts on

cell structure and viability by flow cytometry. *Food Research International*, 140, 110061. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110061

Barzegari, A., Kheyrolahzadeh, K., Hosseiniyan Khatibi, S. M., Sharifi, S., Memar, M. Y., & Zununi Vahed, S. (2020). The battle of probiotics and their derivatives against biofilms. *Infection and Drug Resistance*, 659-672. https://doi.org/10.2147/IDR.S232982

Baumgartner, M., Lang, M., Holley, H., Crepaz, D., Hausmann, B., Pjevac, P., Moser, D., Haller, F., Hof, F., Beer, A., Orgler, E., Frick, A., Khare, V., Evstatiev, R., Strohmaier, S., Primas, C., Dolak, W., Köcher, T., Klavins, K., Rath, T., … Gasche, C. (2021). Mucosal Biofilms Are an Endoscopic Feature of Irritable Bowel Syndrome and Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*, *161*(4), 1245–1256.e20. https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.06.024

Becker, Z. E. (1936). A comparison between the action of carbonic acid and other acids upon the living cell. *Protoplasma*, 25, 161-175. https://doi.org/10.1007/BF01839067

Benito de Cardenas, I. L., Ledesma, O. V., & Oliver, G. (1989). Effect of lactic acid on diacetyl and acetoin production by *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus* ATCC 7469. *Current microbiology*, 18, 351-354. https://doi.org/10.1007/BF01571127

Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., Piddock, L. J. V. (2015) Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 42-51 https://doi.org/10.1038/nrmicro3380

Bomfim, V. B., Neto, J. H. P. L., Leite, K. S., de Andrade Vieira, É., Iacomini, M., Silva, C. M., ... & Cardarelli, H. R. (2020). Partial characterization and antioxidant activity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* CNPC003. *Lwt*, *127*, 109349. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109349

Bourdichon, F., Boyaval, P., Casaregola, S., Dupont, J., Farrokh, C., Frisvad, J. C., ... & Bech Hansen, E. (2012). 3 The 2012 inventory of microbial species with technological beneficial role in fermented food products. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 455, 22-61.

Braca, A., De Tommasi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M., & Morelli, I. (2001). Antioxidant principles from Bauhinia tarapotensis. *Journal of natural products*, *64*(7), 892–895. https://doi.org/10.1021/np0100845

Brinques, G. B., do Carmo Peralba, M., & Ayub, M. A. Z. (2010). Optimization of probiotic and lactic acid production by *Lactobacillus plantarum* in submerged bioreactor systems. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 37(2), 205-212. https://doi.org/10.1007/s10295-009-0665-1

Brown L. M. (2000). *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiologic Reviews*, *22*(2), 283–297. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a018040

Brown, S., Santa Maria Jr, J. P., & Walker, S. (2013). Wall teichoic acids of gram-positive bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 67, 313-336. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155620

Cani, P. D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Knauf, C., Burcelin, R. G., Tuohy, K. M., Gibson, G. R., & Delzenne, N. M. (2007). Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*, *50*(11), 2374–2383. https://doi.org/10.1007/s00125-007-0791-0

Cavallari, J. F., Fullerton, M. D., Duggan, B. M., Foley, K. P., Denou, E., Smith, B. K., ... & Schertzer, J. D. (2017). Muramyl dipeptide-based postbiotics mitigate obesity-induced insulin resistance via IRF4. *Cell Metabolism*, 25(5), 1063-1074. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.03.021

Chammas, G. I., Saliba, R., Corrieu, G., & Béal, C. (2006). Characterisation of lactic acid bacteria isolated from fermented milk "laban". *International Journal of Food Microbiology*, 110(1), 52-61. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.01.043

Chaudhari, A., & Dwivedi, M. K. (2022). The concept of probiotics, prebiotics, postbiotics, synbiotics, nutribiotics, and pharmabiotics. In Probiotics in the prevention and

management of human diseases, *Academic Press* 1-11. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823733-5.00013-1

Chen, L., Gu, Q., Li, P., Li, Y., Song, D., & Yang, J. (2018). Purification and characterization of Plantaricin ZJ316, a novel bacteriocin against *Listeria monocytogenes* from *Lactobacillus plantarum* ZJ316. *Journal of Food Protection*, 81(12), 1929-1935. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-306

Chevallier, I., Talon, R., Laguet, A., Labayle, S., & Labadie, J. (2001). Application de la de'marche de'cologie microbienne dirige'e dans un atelier fermier charcutier (I). Inventaire de la flore de l'atelier et du produit. In Proceeding of the 13th agoral meeting, Dijon, France 213-218.

Chikindas, M. L., García-Garcerá, M. J., Driessen, A. J., Ledeboer, A. M., Nissen-Meyer, J., Nes, I. F., ... & Venema, G. (1993). Pediocin PA-1, a bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* PAC1. 0, forms hydrophilic pores in the cytoplasmic membrane of target cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(11), 3577-3584. https://doi.org/10.1128/aem.59.11.3577-3584.1993

Chikindas, M. L., Weeks, R., Drider, D., Chistyakov, V. A., & Dicks, L. M. (2018). Functions and emerging applications of bacteriocins. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 23-28. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.07.011

Chuah, L. O., Foo, H. L., Loh, T. C., Mohammed Alitheen, N. B., Yeap, S. K., Abdul Mutalib, N. E., ... & Yusoff, K. (2019). Postbiotic metabolites produced by Lactobacillus plantarum strains exert selective cytotoxicity effects on cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19, 1-12. https://doi.org/10.1186/s12906-019-2528-2

Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., & Beachey, E. H. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(6), 996-1006. https://doi.org/10.1128/jcm.22.6.996-1006.1985

Chung, I. C., OuYang, C. N., Yuan, S. N., Lin, H. C., Huang, K. Y., Wu, P. S., ... & Chen, L. C. (2019). Pretreatment with a heat-killed probiotic modulates the NLRP3 inflammasome and attenuates colitis-associated colorectal cancer in mice. *Nutrients*, 11(3), 516. https://doi.org/10.3390/nu11030516

Cockerill, Franklin R.; et al. (2012). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; *Approved Standard-Ninth Edition*. CLSI. ISBN 978-1-56238-784-6, 12

Cortés, G., Borrell, N., de Astorza, B., Gómez, C., Sauleda, J., & Albertí, S. (2002). Molecular analysis of the contribution of the capsular polysaccharide and the lipopolysaccharide O side chain to the virulence of *Klebsiella pneumoniae* in a murine model of pneumonia. *Infection and Immunity*, 70(5), 2583-2590. https://doi.org/10.1128/IAI.70.5.2583-2590.2002

Cortés-Martín, A., Selma, M. V., Tomás-Barberán, F. A., González-Sarrías, A., & Espín, J. C. (2020). Where to look into the puzzle of polyphenols and health? The postbiotics and gut microbiota associated with human metabotypes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 64(9), 1900952. https://doi.org/10.1002/mnfr.201900952

Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science (New York, N.Y.)*, *284*(5418), 1318–1322. https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318

Coticchia, J. M., Sugawa, C., Tran, V. R., Gurrola, J., Kowalski, E., & Carron, M. A. (2006). Presence and density of *Helicobacter pylori* biofilms in human gastric mucosa in patients with peptic ulcer disease. *Journal of Gastrointestinal Surgery : Official Journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract*, *10*(6), 883–889. https://doi.org/10.1016/j.gassur.2005.12.009

Cotter, P. D., & Hill, C. (2003). Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH. Microbiology and molecular biology reviews : *MMBR*, 67(3), 429-453. https://doi.org/10.1128/MMBR.67.3.429-453.2003

Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins-a viable alternative to antibiotics?. *Nature Reviews Microbiology*, 11(2), 95-105. https://doi.org/10.1038/nrmicro2937

Coyne, F. P. (1933). The effect of carbon dioxide on bacteria growth. Proceedings of the royal society of London. Series B, *Containing Papers of a Biological Character*, 113(782), 196-217. https://doi.org/10.1098/rspb.1933.0041

Crawford, R. W., Rosales-Reyes, R., Ramírez-Aguilar, M., de la, L., Chapa-Azuela, O., Alpuche-Aranda, C., et al. (2010). Gallstones play a significant role in *Salmonella* spp. gallbladder colonization and carriage. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107, 4353–4358. https://doi.org/10.1073/pnas.1000862107

Cuevas-González, P. F., Liceaga, A. M., & Aguilar-Toalá, J. E. (2020). Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food research international*, 136, 109502. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109502

Davoodabadi, A., Soltan Dallal, M. M., Lashani, E., & Tajabadi Ebrahimi, M. (2015). Antimicrobial Activity of Lactobacillus spp. Isolated From Fecal Flora of Healthy Breast-Fed Infants Against Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 8(12), e27852. https://doi.org/10.5812/jjm.27852

de Almada, C. N., Almada, C. N., Martinez, R. C., & Sant'Ana, A. S. (2016). Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 96-114. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.011

De Marco, S., Sichetti, M., Muradyan, D., Piccioni, M., Traina, G., Pagiotti, R., & Pietrella, D. (2018). Probiotic cell-free supernatants exhibited anti-inflammatory and antioxidant activity on human gut epithelial cells and macrophages stimulated with LPS. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine eCAM, 2018*, 1756308 https://doi.org/10.1155/2018/1756308

De Giori, G. S., & LeBlanc, J. G. (2018). Folate production by lactic acid bacteria. In Polyphenols: prevention and treatment of human disease. *Academic Press*, 15-29 https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813008-7.00002-3

De Simone, C. (2019). The unregulated probiotic market. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17(5), 809-817. https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.01.018

De Vos, P., Mujagic, Z., de Haan, B. J., Siezen, R. J., Bron, P. A., Meijerink, M., ... & Troost, F. J. (2017). *Lactobacillus plantarum* strains can enhance human mucosal and systemic immunity and prevent non-steroidal anti-inflammatory drug induced reduction in T regulatory cells. *Frontiers in Immunology*, 1000. https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01000

De Vuyst, L., & Leroy, F. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Microbial Physiology*, 13(4), 194-199. https://doi.org/10.1159/000104752

Dejea, C. M., Wick, E. C., Hechenbleikner, E. M., White, J. R., Mark Welch, J. L., Rossetti, B. J., ... & Sears, C. L. (2014). Microbiota organization is a distinct feature of proximal colorectal cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(51), 18321-18326. https://doi.org/10.1073/pnas.1406199111

Deshpande, G., Athalye-Jape, G., & Patole, S. (2018). Para-probiotics for preterm neonates-The next frontier. *Nutrients*, 10(7), 871. https://doi.org/10.3390/nu10070871

Devi, M., Rebecca, L. J., & Sumathy, S. (2013). Bactericidal activity of the lactic acid bacteria Lactobacillus delbreukii. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(2), 176-180.

Devi, S. M., & Halami, P. M. (2019). Genetic variation of pln loci among probiotic *Lactobacillus plantarum* group strains with antioxidant and cholesterol-lowering ability. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11, 11-22. https://doi.org/10.1007/s12602-017-9336-0

Dhama, K., K Latheef, S., K Munjal, A., Khandia, R., A Samad, H., MN Iqbal, H., & K Joshi, S. (2016). Probiotics in curing allergic and inflammatory conditions-research progress and futuristic vision. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*, 10(2), 105-118. https://doi.org/10.2174/1872213X10666161226162229

Di, W., Zhang, L., Wang, S., Yi, H., Han, X., Fan, R., & Zhang, Y. (2017). Physicochemical characterization and antitumour activity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus casei* SB27 from yak milk. *Carbohydrate Polymers*, 171, 307-315. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.018

Diep, D. B., Johnsborg, O., Risøen, P. A., & Nes, I. F. (2001). Evidence for dual functionality of the operon plnABCD in the regulation of bacteriocin production in *Lactobacillus plantarum. Molecular Microbiology*, 41(3), 633-644. https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02533.x

Diep, D. B., Skaugen, M., Salehian, Z., Holo, H., & Nes, I. F. (2007). Common mechanisms of target cell recognition and immunity for class II bacteriocins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(7), 2384-2389. https://doi.org/10.1073/pnas.0608775104

Diep, D. B., Straume, D., Kjos, M., Torres, C., & Nes, I. F. (2009). An overview of the mosaic bacteriocin pln loci from *Lactobacillus plantarum. Peptides*, 30(8), 1562-1574. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2009.05.014

Djadouni, F., & Kihal, M. (2012). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria and the spectrum of their biopeptides against spoiling germs in foods. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55, 435-444. https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000300015

Donay, J. L., Fernandes, P., Lagrange, P. H., & Herrmann, J. L. (2007). Evaluation of the inoculation procedure using a 0.25 McFarland standard for the BD Phoenix automated microbiology system. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(12), 4088-4089 https://doi.org/10.1128/JCM.01847-07

Dorau, R., Chen, L., Liu, J., Jensen, P. R., & Solem, C. (2019). Efficient production of α-acetolactate by whole cell catalytic transformation of fermentation-derived pyruvate. *Microbial Cell Factories*, 18(1), 1-11. https://doi.org/10.1186/s12934-019-1271-1

Dramsi, S., Magnet, S., Davison, S., & Arthur, M. (2008). Covalent attachment of proteins to peptidoglycan. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(2), 307-320. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00102.x

Duary, R. K., Bhausaheb, M. A., Batish, V. K., & Grover, S. (2012). Anti-inflammatory and immunomodulatory efficacy of indigenous probiotic *Lactobacillus plantarum* Lp91 in colitis mouse model. *Molecular Biology Reports*, 39, 4765-4775. https://doi.org/10.1007/s11033-011-1269-1

Egan, K., Field, D., Rea, M. C., Ross, R. P., Hill, C., & Cotter, P. D. (2016). Bacteriocins: novel solutions to age old spore-related problems?. *Frontiers in Microbiology*, 7, 461. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00461

Elhenawy, W., Hordienko, S., Gould, S., Oberc, A. M., Tsai, C. N., Hubbard, T. P., Waldor, M. K., & Coombes, B. K. (2021). High-throughput fitness screening and transcriptomics identify a role for a type IV secretion system in the pathogenesis of Crohn's disease-associated Escherichia coli. *Nature Communications*, *12*(1), 2032. https://doi.org/10.1038/s41467-021-22306-w

Elshikh, M., Marchant, R., & Banat, I. M. (2016). Biosurfactants: promising bioactive molecules for oral-related health applications. *FEMS Microbiology Letters*, 363(18), fnw213. https://doi.org/10.1093/femsle/fnw213

Eryılmaz, M., KarT, D., & Gürpınar, S. S. (2019). Vajinal Floradan İzole Edilen Lactobacillus sp. Metabolitlerinin Antibiyofilm Aktivitelerinin Araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, *49*(3), 169-174. https://doi:10.5222/TMCD.2019.169

Eslami, M., Bahar, A., Keikha, M., Karbalaei, M., Kobyliak, N. M., & Yousefi, B. (2020). Probiotics function and modulation of the immune system in allergic diseases. *Allergologia et Immunopathologia*, 48(6), 771-788. https://doi.org/10.1016/j.aller.2020.04.005

Farkas, J. (2006). Irradiation for better foods. *Trends in food science & technology*, 17(4), 148-152. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.003

Felis, G. E., & Dellaglio, F. (2007). Taxonomy of lactobacilli and bifidobacteria. *Current Issues in Intestinal Microbiology*, 8(2), 44.

Ferrer F.P. & Boyd L.J. (1955) Effect of yogurt with prune whip on constipation. *Am J Dig Dis*., 22,272-3. https://doi.org/10.1007/BF02886053

Fleming, H. P., Etchells, J. L., & Costilow, R. N. (1975). Microbial inhibition by an isolate of *Pediococcus* from cucumber brines. *Applied Microbiology*, 30(6), 1040-1042. https://doi.org/10.1128/am.30.6.1040-1042.1975

Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature reviews. Microbiology*, *14*(9), 563–575. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94

Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization Working Group. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/ wgreport2.pdf

Frank, D. N., St. Amand, A. L., Feldman, R. A., Boedeker, E. C., Harpaz, N., & Pace, N. R. (2007). Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(34), 13780-13785. https://doi.org/10.1073/pnas.0706625104

Franz, C. M., Specht, I., Cho, G. S., Graef, V., & Stahl, M. R. (2009). UV-C-inactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on Dean vortex technology. *Food Control*, 20(12), 1103-1107. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.02.010

Frece, J., Kos, B., Svetec, I. K., Zgaga, Z., Mrša, V., & Šušković, J. (2005). Importance of S-layer proteins in probiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of Applied Microbiology*, 98(2), 285-292. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02473.x

Furumoto, H., Nanthirudjanar, T., Kume, T., Izumi, Y., Park, S. B., Kitamura, N., ... & Sugawara, T. (2016). 10-Oxo-trans-11-octadecenoic acid generated from linoleic acid by a gut lactic acid bacterium *Lactobacillus plantarum* is cytoprotective against oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 296, 1-9. https://doi.org/10.1016/j.taap.2016.02.012

Galdeano, C. M., & Perdigon, G. (2004). Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation. *Journal of Applied Microbiology*, 97(4), 673-681. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02353.x

García-Heredia, A., García, S., Merino-Mascorro, J. Á., Feng, P., & Heredia, N. (2016). Natural plant products inhibits growth and alters the swarming motility, biofilm formation, and expression of virulence genes in enteroaggregative and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Food microbiology*, *59*, 124-132. https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.06.001

Gasbarrini, G., Bonvicini, F., & Gramenzi, A. (2016). Probiotics history. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 50, 116-119 https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000697

Gaudier, E., Michel, C., Segain, J. P., Cherbut, C., & Hoebler, C. (2005). The VSL# 3 probiotic mixture modifies microflora but does not heal chronic dextran-sodium sulfate-induced colitis or reinforce the mucus barrier in mice. *The Journal of Nutrition*, 135(12), 2753-2761. https://doi.org/10.1093/jn/135.12.2753

Giordano, I., & Mauriello, G. (2023). Ultrasound Attenuation Improves Some Surface Properties of the Probiotic Strain *Lacticaseibacillus casei* ATCC 393. *Microorganisms*, 11(1), 142. https://doi.org/10.3390/microorganisms11010142

Gong, H. S., Meng, X. C., & Wang, H. (2010). Mode of action of plantaricin MG, a bacteriocin active against *Salmonella typhimurium*. *Journal of Basic Microbiology*, 50(1), 37-45. https://doi.org/10.1002/jobm.201000130

Gronlund, M. M., Lehtonen O.P., Eerola E., Kero P. (1999). Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition*, 28(1), 19-25. https://doi.org/10.1097/00005176-199901000-00007

Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Scudino, H., Pimentel, T. C., Esmerino, E. A., Ashokkumar, M., ... & Cruz, A. G. (2019). High-intensity ultrasound: A novel technology for the development of probiotic and prebiotic dairy products. *Ultrasonics Sonochemistry*, 57, 12-21. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.004

Guinan, J., Wang, S., Hazbun, T. R., Yadav, H., & Thangamani, S. (2019). Antibiotic-induced decreases in the levels of microbial-derived short-chain fatty acids correlate with increased gastrointestinal colonization of *Candida albicans*. *Scientific Reports*, *9*(1), 8872. https://doi.org/10.1038/s41598-019-45467-7

Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715. https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3

Gülcin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86, 345-391. https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2

Gupta, A., & Tiwari, S. K. (2014). Plantaricin LD1: a bacteriocin produced by food isolate of *Lactobacillus plantarum* LD1. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(7), 3354-3362. https://doi.org/10.1007/s12010-014-0775-8

Gutiérrez Prieto, B. (2020). *Postbiotic effect evaluation of Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus plantarum 299v lysates obtained through ultrasonication against common skin pathogenic bacteria*. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey Campus MonterreySchool of Engineering and Sciences

Hagen, K. E. (2007). Surface-layer protein extracts from *Lactobacillus helveticus* inhibit enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7... Surface-layer protein extracts from *Lactobacillus helveticus* inhibit enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 adhesion to epithelial cells. *Cellular Microbiology*, 9(2), 356-367. https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2006.00791.x

Hall, A. B., Yassour, M., Sauk, J., Garner, A., Jiang, X., Arthur, T., Lagoudas, G. K., Vatanen, T., Fornelos, N., Wilson, R., Bertha, M., Cohen, M., Garber, J., Khalili, H., Gevers, D., Ananthakrishnan, A. N., Kugathasan, S., Lander, E. S., Blainey, P., Vlamakis, H., … Huttenhower, C. (2017). A novel *Ruminococcus gnavus* clade enriched in inflammatory

bowel disease patients. *Genome Medicine*, *9*(1), 103. https://doi.org/10.1186/s13073-017-0490-5

Hanson, L., VandeVusse, L., Jerme, M., Abad, C. L., & Safdar, N. (2016). Probiotics for treatment and prevention of urogenital infections in women: a systematic review. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 61(3), 339-355. https://doi.org/10.1111/jmwh.12472

Harris, L. J., Daeschel, M. A., Stiles, M. E., & Klaenhammer, T. R. (1989). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes*. *Journal of food Protection*, 52(6), 384-387. https://doi.org/10.4315/0362-028X-52.6.384

Hassan, M., Kjos, M., Nes, I. F., Diep, D. B., & Lotfipour, F. (2012). Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. *Journal of Applied Microbiology*, 113(4), 723–736. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05338.x

Hati, S., Mandal, S., & Prajapati, J. B. (2013). Novel starters for value added fermented dairy products. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 1(1), 83-91. https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.1.1.09

Havenaar, R. (2011). Intestinal health functions of colonic microbial metabolites: a review. *Beneficial Microbes*, 2(2), 103-114. https://doi.org/10.3920/BM2011.0003

He, Y., Xu, X., Zhang, F., Xu, D., Liu, Z., Tao, X., & Wei, H. (2019). Anti-adhesion of probiotic *Enterococcus faecium* WEFA23 against five pathogens and the beneficial effect of its S-layer proteins against *Listeria monocytogenes*. *Canadian Journal of Microbiology*, 65(3), 175-184. https://doi.org/10.1139/cjm-2018-0031

Heinl, S., & Grabherr, R. (2017). Systems biology of robustness and flexibility: *Lactobacillus buchneri*-A show case. *Journal of Biotechnology*, 257, 61-69. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.01.007

Herreros, M. A., Sandoval, H., González, L., Castro, J. M., Fresno, J. M., & Tornadijo, M. E. (2005). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *Food Microbiology*, 22(5), 455-459. https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.11.007

Heyman, M (2000) Effect of lactic acid bacteria on diarrheal diseases. *Journal of the American College of Nutrition* 19(2), 137-146. https://doi.org/10.1080/07315724.2000.10718084

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., ... & Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 11(8), 506-514. https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66

Hill, M. J.(1997) "Intestinal flora and endogenous vitamin synthesis." *European Journal of Cancer Prevention* 6(2), 43-45. https://doi.org/10.1097/00008469-199703001-00009

Hillman, E. T., Lu, H., Yao, T., & Nakatsu, C. H. (2017). Microbial ecology along the gastrointestinal tract. *Microbes and Environments*, 32(4), 300-313. https://doi.org/10.1264/jsme2.ME17017

Hirose, Y., Murosaki, S., Yamamoto, Y., Yoshikai, Y., & Tsuru, T. (2006). Daily intake of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 augments acquired immunity in healthy adults. *The Journal of nutrition*, 136(12), 3069-3073. https://doi.org/10.1093/jn/136.12.3069

Hossain, M. I., Mizan, M. F. R., Roy, P. K., Nahar, S., Toushik, S. H., Ashrafudoulla, M., ... & Ha, S. D. (2021). *Listeria monocytogenes* biofilm inhibition on food contact surfaces by application of postbiotics from *Lactobacillus curvatus* B. 67 and *Lactobacillus plantarum* M. 2. *Food Research International*, 148, 110595. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110595

Hotel, A. C. P., & Cordoba, A. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. *Prevention*, 5(1), 1-10.

Hou, K., Wu, Z. X., Chen, X. Y., Wang, J. Q., Zhang, D., Xiao, C., Zhu, D., Koya, J. B., Wei, L., Li, J., & Chen, Z. S. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), 135. https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4

Höltje, J. V., Kopp, U., Ursinus, A., & Wiedemann, B. (1994). The negative regulator of β-lactamase induction AmpD is a N-acetyl-anhydromuramyl-L-alanine amidase. *FEMS Microbiology Letters*, 122(1-2), 159-164. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1994.tb07159.x

Hu, C. H., Ren, L. Q., Zhou, Y., & Ye, B. C. (2019). Characterization of antimicrobial activity of three *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese traditional dairy food. *Food Science & Nutrition*, 7(6), 1997-2005. https://doi.org/10.1002/fsn3.1025

Huang, H. Y., & Tsao, S. P. (2020). Long term supplementation of *Lactobacillus plantarum* PS128 attenuated high-intensity exercise induced acute-phase inflammation in triathletes. *Current Developments in Nutrition*, 4(2), 1564-1564. https://doi.org/10.1093/cdn/nzaa062_021

Huang, J. S., Bousvaros, A., Lee, J. W., Diaz, A., & Davidson, E. J. (2002). Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. *Digestive diseases and sciences*, 47(11), 2625-2634. https://doi.org/10.1023/A:1020501202369

Hummel, S., Veltman, K., Cichon, C., Sonnenborn, U., & Schmidt, M. A. (2012). Differential targeting of the E-Cadherin/β-Catenin complex by gram-positive probiotic lactobacilli improves epithelial barrier function. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(4), 1140-1147. https://doi.org/10.1128/AEM.06983-11

Ichim, T. E., Patel, A. N., & Shafer, K. A. (2016). Experimental support for the effects of a probiotic/digestive enzyme supplement on serum cholesterol concentrations and the intestinal microbiome. *Journal of Translational Medicine*, 14(1), 184. https://doi.org/10.1186/s12967-016-0945-2

ISTISAN. (2012). *Valutazione dell'attività antibatterica delle batteriocine nei confronti di patogeni alimentari*. ISTISAN 12/54 report. Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

Jacobi, C. A., & Malfertheiner, P. (2011). *Escherichia coli* Nissle 1917 (Mutaflor): new insights into an old probiotic bacterium. *Digestive Diseases (Basel, Switzerland)*, *29*(6), 600–607. https://doi.org/10.1159/000333307

Jahid, I. K., Mizan, M. F., Ha, A. J., & Ha, S. D. (2015). Effect of salinity and incubation time of planktonic cells on biofilm formation, motility, exoprotease production, and quorum sensing of Aeromonas hydrophila. *Food Microbiology*, *49*, 142–151. https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.016

Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A., ... & Kamil, M. A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(1), 7-11. https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012

Jang, H. J., Song, M. W., Lee, N. K., & Paik, H. D. (2018). Antioxidant effects of live and heat-killed probiotic *Lactobacillus plantarum* Ln1 isolated from kimchi. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 3174-3180. https://doi.org/10.1007/s13197-018-3245-4

Jiang Y., Geng M., & Bai L. (2020). Targeting Biofilms Therapy: current research strategies and development hurdles. Microorganisms. 8(8)

Jung, S., Park, O. J., Kim, A. R., Ahn, K. B., Lee, D., Kum, K. Y., ... & Han, S. H. (2019). Lipoteichoic acids of lactobacilli inhibit *Enterococcus faecalis* biofilm formation and disrupt the preformed biofilm. *Journal of Microbiology*, 57(4), 310-315. https://doi.org/10.1007/s12275-019-8538-4

Kaban, G., & Kaya, M. (2008). Identification of lactic acid bacteria and Gram-positive catalase-positive cocci isolated from naturally fermented sausage (sucuk). *Journal of Food Science*, 73(8), 385-388. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00906.x

Kaczorek, E., Pacholak, A., Zdarta, A., & Smułek, W. (2018). The impact of biosurfactants on microbial cell properties leading to hydrocarbon bioavailability increase. *Colloids and Interfaces*, 2(3), 35. https://doi.org/10.3390/colloids2030035

Kandler, O. & Weiss, N. (1986) Regular, Non-Sporing Gram-Positive Rods. In: Sneath, H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G., Eds., *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Williams and Wilkins, Baltimore, 1208-1234.

Kapila, S., Kapila, R., Reddi, S., & Sinha, P. R. (2014). Oral administration of probiotic *Lactobacillus casei* spp. *casei* ameliorates oxidative stress in rats. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(9), 670-684.

Kapustian, A. I., Cherno, N., Kovalenko, A., Naumenko, K., & Kushnir, I. (2018). Products of metabolism and processing of lactic acid bacteria as functional ingredients. *Food Science and Applied Biotechnology*, 1(1), 47-55. https://doi.org/10.30721/fsab2018.v1.i1.13

Kastl Jr, A. J., Terry, N. A., Wu, G. D., & Albenberg, L. G. (2020). The structure and function of the human small intestinal microbiota: current understanding and future directions. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, 9(1), 33-45. https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2019.07.006

Kattke, M., Gosschalk, J., & Clubb, R. (2017). Structural, biochemical, and cellular studies of TarA, the novel wall teichoic acid glycosyltransferase, for the discovery of Gram-positive bacterial inhibitors. *The FASEB Journal*, 31, 939-18.

Kecerová, K., Pristas, P., & Javorský, P. (2004). Bacteriocin production and sensitivity. *Folia Microbiologica*, *49*(2), 172–174. https://doi.org/10.1007/BF02931395

Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., & Fakiri, E. M. (2013). Health benefits of probiotics: a review. *ISRN Nutrition*, *2013*, 481651. https://doi.org/10.5402/2013/481651

Keeney, K. M., Yurist-Doutsch, S., Arrieta, M. C., & Finlay, B. B. (2014). Effects of antibiotics on human microbiota and subsequent disease. *Annual review of microbiology*, 68, 217-235. https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091313-103456

Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *Int. J. Biosci*, 1(3), 1-13.

Khor, B., Gardet, A., & Xavier, R. J. (2011). Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*, 474(7351), 307-317. https://doi.org/10.1038/nature10209

Kim, K. H., Chun, B. H., Baek, J. H., Roh, S. W., Lee, S. H., & Jeon, C. O. (2020). Genomic and metabolic features of *Lactobacillus sakei* as revealed by its pan-genome and the metatranscriptome of kimchi fermentation. *Food Microbiology*, 86, 103341 https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103341

Kiymaci, M. E., Altanlar, N., Gumustas, M., Ozkan, S. A., & Akin, A. (2018). Quorum sensing signals and related virulence inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by a potential probiotic strain's organic acid. *Microbial Pathogenesis*, *121*, 190–197. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.05.042

Kleerebezem, M., Boekhorst, J., Van Kranenburg, R., Molenaar, D., Kuipers, O. P., Leer, R., ... & Siezen, R. J. (2003). Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), 1990-1995. https://doi.org/10.1073/pnas.0337704100

Kleessen, B., Kroesen, A. J., Buhr, H. J., & Blaut, M. (2002). Mucosal and invading bacteria in patients with inflammatory bowel disease compared with controls. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, *37*(9), 1034–1041. https://doi.org/10.1080/003655202320378220

Kocsis, T., Molnár, B., Németh, D., Hegyi, P., Szakács, Z., Bálint, A., ... & Solymar, M. (2020). Probiotics have beneficial metabolic effects in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Scientific Reports*, 10(1), 1-14. https://doi.org/10.1038/s41598-020-68440-1

Kognoff MF, (1993). Immunology of the intestinal tract. *Gastroenterol*. 105, 1275-1280. https://doi.org/10.1016/0016-5085(93)90128-Y

Kopeloff N., Blackman N., & McGinn B., (1932). The incidence *of Lactobacillus acidophilus* in adults. *J Infect Dis*, 50 (5,6) 426-429. https://doi.org/10.1093/infdis/50.5-6.426

König, H., Unden, G., & Fröhlich, J. (Eds.). (2009). *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine* 3-29. https://doi.org/10.1007/978-3-540-85463-0

Kroeckel, L. (2011). Evaluation of a novel agar medium for the detection of hydrogen peroxide producing lactic acid bacteria. *Fleischwirtschaft*, 91(10), 97-101.

Kuczyńska, B., Wasilewska, A., Biczysko, M.., Banasiewicz, T.., & Drews, M. (2011). Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe-mechanizmy działania, potencjalne zastosowania kliniczne oraz zalecenia dietetyczne. *Nowiny Lekarskie*, 80(4), 299-304.

Kuley, E., Özyurt, G., Özogul, I., Boga, M., Akyol, I., Rocha, J. M., & Özogul, F. (2020). The role of selected lactic acid bacteria on organic acid accumulation during wet and spray-dried fish-based silages. Contributions to the winning combination of microbial food safety and environmental sustainability. *Microorganisms*, 8(2), 172. https://doi.org/10.3390/microorganisms8020172

Kullisaar, T., Zilmer, M., Mikelsaar, M., Vihalemm, T., Annuk, H., Kairane, C., & Kilk, A. (2002). Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 72(3), 215-224. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00674-2

Kumar, M., Dhaka, P., Vijay, D., Vergis, J., Mohan, V., Kumar, A., ... & Rawool, D. B. (2016). Antimicrobial effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* against multidrug-resistant enteroaggregative *Escherichia coli*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 48(3), 265-270. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.05.014

Kumar, N., Kumar, V., Panwar, R., & Ram, C. (2017). Efficacy of indigenous probiotic Lactobacillus strains to reduce cadmium bioaccessibility-an in vitro digestion model. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(2), 1241-1250. https://doi.org/10.1007/s11356-016-7779-6

Kumara, S. S., Bashisht, A., Venkateswaran, G., Hariprasad, P., & Gayathri, D. (2019). Characterization of novel *Lactobacillus fermentum* from curd samples of indigenous cows from Malnad region, Karnataka, for their aflatoxin B 1 binding and probiotic

properties. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(4), 1100-1109. https://doi.org/10.1007/s12602-018-9479-7

Landete, J. M., Gaya, P., Rodríguez, E., Langa, S., Peirotén, Á., Medina, M., & Arqués, J. L. (2017). Probiotic bacteria for healthier aging: immunomodulation and metabolism of phytoestrogens. *BioMed Research International*, 2017. https://doi.org/10.1155/2017/5939818

Laterza, L., Rizzatti, G., Gaetani, E., Chiusolo, P., & Gasbarrini, A. (2016). The gut microbiota and immune system relationship in human graft-versus-host disease. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, 8(1). https://doi.org/10.4084/mjhid.2016.025

Le, N. T. T., Bach, L. G., Nguyen, D. C., Le, T. H. X., Pham, K. H., Nguyen, D. H., & Hoang Thi, T. T. (2019). Evaluation of factors affecting antimicrobial activity of bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* microencapsulated in alginate-gelatin capsules and its application on pork meat as a bio-preservative. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(6), 1017. https://doi.org/10.3390/ijerph16061017

Lee, J. E., Lee, N. K., & Paik, H. D. (2021). Antimicrobial and anti-biofilm effects of probiotic *Lactobacillus plantarum* KU200656 isolated from kimchi. *Food Science and Biotechnology*, *30*, 97-106. https://doi.org/10.1007/s10068-020-00837-0

Lee, N. K., Kim, W. S., & Paik, H. D. (2019). *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food Science and Biotechnology*, *28*(5), 1297–1305. https://doi.org/10.1007/s10068-019-00691-9

Leeuwenhoek, A. (1684). An abstract of a letter from Mr. Anthony Leevvenhoeck at Delft, dated Sep. 17. 1683. Containing some microscopical observations, about animals in the scurf of the teeth, the substance call'd worms in the nose, the cuticula consisting of scales. *Phil. Trans. R. Soc.* 14, 568–574. https://doi.org/10.1098/rstl.1684.0030

Li, D., Ni, K., Pang, H., Wang, Y., Cai, Y., & Jin, Q. (2015). Identification and antimicrobial activity detection of lactic Acid bacteria isolated from corn stover silage. *Asian-*

Australasian Journal of Animal Sciences, *28*(5), 620–631. https://doi.org/10.5713/ajas.14.0439

Li, H., Limenitakis, J. P., Fuhrer, T., Geuking, M. B., Lawson, M. A., Wyss, M., ... & Macpherson, A. J. (2015). The outer mucus layer hosts a distinct intestinal microbial niche. *Nature Communications*, 6(1), 8292. https://doi.org/10.1038/ncomms9292

Li, P., Yu, Q., Ye, X., Wang, Z., & Yang, Q. (2011). Lactobacillus S-layer protein inhibition of Salmonella-induced reorganization of the cytoskeleton and activation of MAPK signalling pathways in Caco-2 cells. *Microbiology*, 157(9), 2639-2646. https://doi.org/10.1099/mic.0.049148-0

Li, S., Zhao, Y., Zhang, L., Zhang, X., Huang, L., Li, D., ... & Wang, Q. (2012). Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food Chemistry*, 135(3), 1914-1919. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.048

Liang, J., Zhou, Y., Tang, G., Wu, R., & Lin, H. (2023). Exploration of the Main Antibiofilm Substance of *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 and Its Effect against *Streptococcus mutans*. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(3), 1986. http://doi.org/10.3390/ijms24031986

Liavonchanka, A., & Feussner, I. (2008). Biochemistry of PUFA double bond isomerases producing conjugated linoleic acid. *ChemBioChem*, 9(12), 1867-1872. https://doi.org/10.1002/cbic.200800141

Lin, T. H., & Pan, T. M. (2019). Characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus plantarum* NTU 102. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 52(3), 409-417. https://doi.org/10.1016/j.jmii.2017.08.003

Lin, W. H., Yu, B., Lin, C. K., Hwang, W. Z., & Tsen, H. Y. (2007). Immune effect of heat-killed multistrain of *Lactobacillus acidophilus* against *Salmonella typhimurium* invasion to mice. *Journal of Applied Microbiology*, 102(1), 22-31. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03073.x

Lindgren, S. E., & Dobrogosz, W. J. (1990). Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiology Reviews*, 7(1-2), 149-163. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1990.tb04885.x

Liu, S. N., Han, Y., & Zhou, Z. J. (2011b). Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. *Food Research International*, 44(3), 643-651. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.034

Liu, Y., Tian, X., He, B., Hoang, T. K., Taylor, C. M., Blanchard, E., ... & Rhoads, J. M. (2019). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 feeding of healthy newborn mice regulates immune responses while modulating gut microbiota and boosting beneficial metabolites. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 317(6), 824-838. https://doi.org/10.1152/ajpgi.00107.2019

Liu, Z., Shen, T., Zhang, P., Ma, Y., & Qin, H. (2011a). *Lactobacillus plantarum* surface layer adhesive protein protects intestinal epithelial cells against tight junction injury induced by enteropathogenic *Escherichia coli*. *Molecular Biology Reports*, 38(5), 3471-3480. https://doi.org/10.1007/s11033-010-0457-8

Lopez, M., Li, N., Kataria, J., Russell, M., & 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. https://doi.org/10.3945/jn.108.093658

Luong, T. M., Ponamoreva, O. N., Nechaeva, I. A., Petrikov, K. V., Delegan, Y. A., Surin, A. K., ... & Filonov, A. E. (2018). Characterization of biosurfactants produced by the oil-degrading bacterium *Rhodococcus erythropolis* S67 at low temperature. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 34(2), 1-10. https://doi.org/10.1007/s11274-017-2401-8

Lye, H. S., Rusul, G., & Liong, M. T. (2010). Removal of cholesterol by lactobacilli via incorporation and conversion to coprostanol. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1383-1392. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2574

Macfarlane S. (2008). Microbial biofilm communities in the gastrointestinal tract. *Journal of Clinical Gastroenterology*, *42,3(1)*, 142–143. https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31816207df

Magnúsdóttir, S., Ravcheev, D., de Crécy-Lagard, V., & Thiele, I. (2015). Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests co-operation among gut microbes. *Frontiers in Genetics*, 6, 148. https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00148

Mah, T. F. (2012). Biofilm-specific antibiotic resistance. *Future microbiology*, 7(9), 1061-1072. https://doi.org/10.2217/fmb.12.76

Mahdhi, A., Leban, N., Chakroun, I., Chaouch, M. A., Hafsa, J., Fdhila, K., Mahdouani, K., & Majdoub, H. (2017). Extracellular polysaccharide derived from potential probiotic strain with antioxidant and antibacterial activities as a prebiotic agent to control pathogenic bacterial biofilm formation. *Microbial Pathogenesis*, *109*, 214–220. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.05.046

Manyatsi, T. S., Mousavi Khaneghah, A., & Gavahian, M. (2023). The effects of ultrasound on probiotic functionality: an updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-18. https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2242490

Marco, M. L., & Golomb, B. L. (2016). Fermented foods, Lactobacillus, and health. *Microbe*, 11(8), 349-370. https://doi.org/10.1128/microbe.11.349.1

Marsh, P.D., Martin, M.V., Lewis, M.A.O, Williams, D. (2009).: Oral Microbiology 5th edition, Amsterdam. *Elsevier*

Martinez-Medina, M., Naves, P., Blanco, J., Aldeguer, X., Blanco, J. E., Blanco, M., Ponte, C., Soriano, F., Darfeuille-Michaud, A., & Garcia-Gil, L. J. (2009). Biofilm formation as a novel phenotypic feature of adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC). *BMC Microbiology*, *9*, 202. https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-202

Martinez, R. C. R., Wachsman, M., Torres, N. I., LeBlanc, J. G., Todorov, S. D., & de Melo Franco, B. D. G. (2013). Biochemical, antimicrobial and molecular characterization of

a noncytotoxic bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ST71KS. *Food Microbiology*, 34(2), 376-381. https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.01.011

Maske, B. L., de Melo Pereira, G. V., Vale, A. D. S., de Carvalho Neto, D. P., Karp, S. G., Viesser, J. A., ... & Soccol, C. R. (2021). A review on enzyme-producing lactobacilli associated with the human digestive process: From metabolism to application. *Enzyme and Microbial Technology*, 149, 109836. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109836

Matejčeková, Z., Liptáková, D., Spodniaková, S., & Valík, Ľ. (2016). Characterization of the growth of in milk in dependence on temperature. *Acta Chimica Slovaca*, 9(2), 104-108. https://doi.org/10.1515/acs-2016-0018

Mathara, J. M., Schillinger, U., Kutima, P. M., Mbugua, S. K., Guigas, C., Franz, C., & Holzapfel, W. H. (2008). Functional properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Maasai traditional fermented milk products in Kenya. *Current Microbiology*, 56(4), 315-321. https://doi.org/10.1007/s00284-007-9084-6

Matsubara, V. H., Wang, Y., Bandara, H. M. H. N., Mayer, M. P. A., & Samaranayake, L. P. (2016). Probiotic lactobacilli inhibit early stages of *Candida albicans* biofilm development by reducing their growth, cell adhesion, and filamentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *100*(14), 6415–6426. https://doi.org/10.1007/s00253-016-7527-3

Mazzarello, P. (2002). Life out of nowhere? *Nature* 417: 792-793. https://doi.org/10.1038/417792a

McFarland, L. V., Evans, C. T., & Goldstein, E. J. C. (2018). Strain-Specificity and Disease-Specificity of Probiotic Efficacy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Medicine*, 5, 124. https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00124

McFarland, L.V. (2015). From Yaks to Yogurt. *Clinical Infectious Diseases*, 60 (2), 85-90. https://doi.org/10.1093/cid/civ054

McSweeney, P. L. H., Walsh, E. M., Fox, P. F., Cogan, T. M., Drinan, F. D., & Castelo-Gonzalez, M. (1994). A procedure for the manufacture of Cheddar cheese under controlled bacteriological conditions and the effect of adjunct lactobacilli on cheese quality. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 183-192.

Mekky, A. F., Hassanein, W. A., Reda, F. M., & Elsayed, H. M. (2022). Anti-biofilm potential of *Lactobacillus plantarum* Y3 culture and its cell-free supernatant against multidrug-resistant uropathogen *Escherichia coli* U12. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 2989-2997. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.01.014

Metchnikoff, E. (1907). Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. The prolongation of life: *Optimistic studies*. W. Heinemann, London, 161-183.

Mikelsaar, M., & Zilmer, M. (2009). *Lactobacillus fermentum* ME-3-an antimicrobial and antioxidative probiotic. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 21(1), 1-27. https://doi.org/10.1080/08910600902815561

Mitchell, C., Fredricks, D., Agnew, K., & Hitti, J. (2015). Hydrogen-peroxide producing lactobacilli are associated with lower levels of vaginal IL1β, independent of bacterial vaginosis. *Sexually Transmitted Diseases*, 42(7), 358. https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000298

Mohamadzadeh M, Sahay B, Salek-Ardakani S, Tahiliani V. (2017). Lipoteichoic acid from lactobacilli as a potent immune stimulatory adjuvant for vaccine development. *University of Florida Research Foundation Inc, U.S. Patent Application* 15/303,760.

Moradi, M., Mardani, K., & Tajik, H. (2019). Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models. *LWT*, *111*, 457-464. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.072

Morelli, L. (2007). In vitro assessment of probiotic bacteria: from survival to functionality. *International Dairy Journal*, 17(11), 1278-1283. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.015

Moreno Muñoz, J. A., Chenoll, E., Casinos, B., Bataller, E., Ramón, D., Genovés, S., ... & Rivero, M. (2011). Novel probiotic *Bifidobacterium longum* subsp. infantis CECT 7210 strain active against rotavirus infections. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(24), 8775-8783. https://doi.org/10.1128/AEM.05548-11

Morrison, D. J., & Preston, T. (2016). Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*, 7(3), 189-200. https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1134082

Moseti, D., Regassa, A., & Kim, W. K. (2016). Molecular regulation of adipogenesis and potential anti-adipogenic bioactive molecules. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1), 124. https://doi.org/10.3390/ijms17010124

Motta, J.-P., Wallace, J. L., Buret, A. G., Deraison, C., & Vergnolle, N. (2021). *Gastrointestinal biofilms in health and disease. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 18(5), 314–334.* https://doi.org/:10.1038/s41575-020-00397-y

Muhammad, Z., Ramzan, R., Abdelazez, A., Amjad, A., Afzaal, M., Zhang, S., & Pan, S. (2019). Assessment of the antimicrobial potentiality and functionality of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from the conventional inner Mongolian fermented cheese against foodborne pathogens. *Pathogens*, 8(2), 71. https://doi.org/10.3390/pathogens8020071

Muhammad, M. H., Idris, A. L., Fan, X., Guo, Y., Yu, Y., Jin, X., Qiu, J., Guan, X., & Huang, T. (2020). Beyond Risk: Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 928. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00928

Nagao, K., & Yanagita, T. (2005). Conjugated fatty acids in food and their health benefits. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 100(2), 152-157. https://doi.org/10.1263/jbb.100.152

Nair, M. S., Amalaradjou, M. A., & Venkitanarayanan, K. (2017). Antivirulence properties of probiotics in combating microbial pathogenesis. *Advances in Applied Microbiology*, 98, 1-29. https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2016.12.001

Narmaki E., Borazjani M., Ataie-Jafari A., Hariri N., Doost A.H., Qorbani M. & Saidpour A. (2022) The combined effects of probiotics and restricted calorie diet on the anthropometric indices, eating behavior, and hormone levels of obese women with food addiction: a randomized clinical trial, *Nutritional Neuroscience*, 25(5), 963-975. https://doi.org/10.1080/1028415X.2020.1826763

Nataraj, B. H., Ali, S. A., Behare, P. V., & Yadav, H. (2020). Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microbial Cell Factories*, 19(1), 1-22. https://doi.org/10.1186/s12934-020-01426-w

Nayyeri, N., Edalatian Dovom, M. R., Habibi Najafi, M. B., & Bahreini, M. (2017). A preliminary study on antifungal activity of lactic acid bacteria isolated from different production stages of Lighvan cheese on *Penicillium expansum* and *Rhodotorula mucilaginosa*. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(1), 1734-1744. https://doi.org/10.1007/s11694-017-9554-x

Nes, I. F., & Johnsborg, O. (2004). Exploration of antimicrobial potential in LAB by genomics. *Current Opinion in Biotechnology*, 15(2), 100-104. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2004.02.001

Niku-Paavola, M. L., Laitila, A., Mattila-Sandholm, T., & Haikara, A. (1999). New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*, 86(1), 29-35. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00632.x

Okuda, K., Zendo, T., Sugimoto, S., Iwase, T., Tajima, A., Yamada, S., Sonomoto, K., & Mizunoe, Y. (2013). Effects of bacteriocins on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *57*(11), 5572–5579. https://doi.org/10.1128/AAC.00888-13

Ołdak, A., Zielińska, D., Łepecka, A., Długosz, E., & Kołożyn-Krajewska, D. (2020). *Lactobacillus plantarum* strains isolated from polish regional cheeses exhibit anti-staphylococcal activity and selected probiotic properties. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(3), 1025-1038. https://doi.org/10.1007/s12602-019-09587-w

Opal, S. M., & DePalo, V. A. (2000). Anti-inflammatory cytokines. *Chest*, 117(4), 1162-1172. https://doi.org/10.1378/chest.117.4.1162

Ostad, S. N., Salarian, A. A., Ghahramani, M. H., Fazeli, M. R., Samadi, N., & 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. https://doi.org/10.1007/s12223-009-0024-7

Otaru, N., Ye, K., Mujezinovic, D., Berchtold, L., Constancias, F., Cornejo, F. A., ... & Pugin, B. (2021). GABA production by human intestinal Bacteroides spp.: Prevalence, regulation, and role in acid stress tolerance. *Frontiers in Microbiology*, 12, 656895. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.656895

Ott, S. J., Kühbacher, T., Musfeldt, M., Rosenstiel, P., Hellmig, S., Rehman, A., ... & Schreiber, S. (2008). Fungi and inflammatory bowel diseases: alterations of composition and diversity. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, *43*(7), 831-841. https://doi.org/10.1080/00365520801935434

Ouwehand, A. C., & Salminen, S. J. (1998). The health effects of cultured milk products with viable and non-viable bacteria. *International Dairy Journal*, 8(9), 749-758. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(98)00114-9

Ozaslan, M., Saglamtas, R., Demir, Y., Genc, Y., Saraçoğlu, İ., & Gülçin, İ. (2022). Isolation of some phenolic compounds from Plantago subulata L. and determination of their antidiabetic, anticholinesterase, antiepileptic and antioxidant activity. *Chemistry & Biodiversity*, 19(8). https://doi.org/10.1002/cbdv.202200280

Özdemir, Ö. (2010). Various effects of different probiotic strains in allergic disorders: an update from laboratory and clinical data. *Clinical & Experimental Immunology*, 160(3), 295-304. https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2010.04109.x

Özer, C. O., Kılıç, B., & Kılıç, G. B. (2016). In-vitro microbial production of conjugated linoleic acid by probiotic *L. plantarum* strains: Utilization as a functional starter culture

in sucuk fermentation. *Meat Science*, 114, 24-31. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.12.005

Paganelli, F. L., van de Kamer, T., Brouwer, E. C., Leavis, H. L., Woodford, N., Bonten, M. J., ... & Hendrickx, A. P. (2017). Lipoteichoic acid synthesis inhibition in combination with antibiotics abrogates growth of multidrug-resistant *Enterococcus faecium*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 49(3), 355-363. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.12.002

Pagnossa, J. P., Rocchetti, G., Ribeiro, A. C., Piccoli, R. H., & Lucini, L. (2020). Ultrasound: Beneficial biotechnological aspects on microorganisms-mediated processes. *Current Opinion in Food Science*, 31, 24-30. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.10.006

Palandurkar G. S., & Kumar S. (2023) Biofilm's Impact on Inflammatory Bowel Diseases . *Cureus* 15(9): e45510. https://doi.org/:10.7759/cureus.45510

Parada, J. L., Caron, C. R., Medeiros, A. B. P., & Soccol, C. R. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. *Brazilian archives of Biology and Technology*, 50 (3), 512-542. https://doi.org/10.1590/S1516-89132007000300018

Park, B., Hwang, H., Chang, J. Y., Hong, S. W., Lee, S. H., Jung, M. Y., ... & Lee, J. H. (2017). Identification of 2-hydroxyisocaproic acid production in lactic acid bacteria and evaluation of microbial dynamics during kimchi ripening. *Scientific Reports*, 7(1), 10904. https://doi.org/10.1038/s41598-017-10948-0

Park, H., Cho, D., Huang, E., Seo, J. Y., Kim, W. G., Todorov, S. D., ... & Holzapfel, W. H. (2020). Amelioration of alcohol induced gastric ulcers through the administration of *Lactobacillus plantarum* APSulloc 331261 isolated from green tea. *Frontiers in Microbiology*, 11, 420. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00420

Patel, R. M., & Denning, P. W. (2013). Therapeutic use of prebiotics, probiotics, and postbiotics to prevent necrotizing enterocolitis: what is the current evidence?. *Clinics in Perinatology*, 40(1), 11-25. https://doi.org/10.1016/j.clp.2012.12.002

Patowary, K., Patowary, R., Kalita, M. C., & Deka, S. (2017). Characterization of biosurfactant produced during degradation of hydrocarbons using crude oil as sole source of carbon. *Frontiers in Microbiology*, 8, 279. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00279

Patrignani, F., & Lanciotti, R. (2016). Applications of high and ultra high pressure homogenization for food safety. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1132. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01132

Pehrson, M. E. S. F., Mancilha, I. M., & Pereira, C. (2015). Antimicrobial activity of probiotic Lactobacillus strains towards gram-negative enteropathogens. *European International Journal of Science and Technology*, 4, 136-149.

Peran, L., Camuesco, D., Comalada, M., Nieto, A., Concha, A., Diaz-Ropero, M. P., ... & Galvez, J. (2005). Preventative effects of a probiotic, *Lactobacillus salivarius* ssp. salivarius, in the TNBS model of rat colitis. *World Journal of Gastroenterology*: *WJG*, 11(33), 5185. https://doi.org/10.1097/01.MIB.0000160808.30988.d9

Pérez-Ramos, A., Madi-Moussa, D., Coucheney, F., & Drider, D. (2021). Current knowledge of the mode of action and immunity mechanisms of LAB-bacteriocins. *Microorganisms*, 9(10), 2107. https://doi.org/10.3390/microorganisms9102107

Perla, F., Prelati, M., Lavorato, M., Visicchio, D. & Anania, C. (2017). The role of lipid and lipoprotein metabolism in non-alcoholic fatty liver disease. *Children* 4(6), 46. https://doi.org/10.3390/children4060046

Perrotta, C., Aznar, M., Mejia, R., Albert, X., & Ng, C. W. (2008). Oestrogens for preventing recurrent urinary tract infection in postmenopausal women. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (2). https://doi.org/10.1002/14651858.CD005131.pub2

Pilasombut, K., Rumjuankiat, K., Ngamyeesoon, N., & Duy, leN. D. (2015). In vitro characterization of bacteriocin produced by lactic acid bacteria isolated from Nem Chua, a traditional Vietnamese fermented pork. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(4), 473-478. https://doi.org/10.5851/kosfa.2015.35.4.473

Piqué, N., Berlanga, M., & Miñana-Galbis, D. (2019). Health benefits of heat-killed (tyndallized) probiotics: An overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2534. https://doi.org/10.3390/ijms20102534

Png, C. W., Lindén, S. K., Gilshenan, K. S., Zoetendal, E. G., McSweeney, C. S., Sly, L. I., McGuckin, M. A., & Florin, T. H. (2010). Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment in vitro utilization of mucin by other bacteria. *The American Journal of Gastroenterology*, *105*(11), 2420–2428. https://doi.org/10.1038/ajg.2010.281

Pompei, A., Cordisco, L., Amaretti, A., Zanoni, S., Matteuzzi, D., & Rossi, M. (2007). Folate production by bifidobacteria as a potential probiotic property. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(1), 179-185. https://doi.org/10.1128/AEM.01763-06.

Pool-Zobel, B., Veeriah, S., & Böhmer, F. D. (2005). Modulation of xenobiotic metabolising enzymes by anticarcinogens-focus on glutathione S-transferases and their role as targets of dietary chemoprevention in colorectal carcinogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 591(1-2), 74-92. https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2005.04.020

Popowska, M., Krawczyk-Balska, A., Ostrowski, R., & Desvaux, M. (2017). InlL from *Listeria monocytogenes* Is Involved in Biofilm Formation and Adhesion to Mucin. *Frontiers in Microbiology*, 8, 660. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00660

Pridmore, R. D., Pittet, A. C., Praplan, F., & Cavadini, C. (2008). Hydrogen peroxide production by *Lactobacillus johnsonii* NCC 533 and its role in anti-Salmonella activity. *FEMS microbiology letters*, *283*(2), 210–215. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01176.x

National Libray of Medicine (2019, November) PubChem *Explore Chemistry*.; National Institutes of Health https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/

Qin, H., Zhang, Z., Hang, X., & Jiang, Y. (2009). *L. plantarum* prevents enteroinvasive *Escherichia coli*-induced tight junction proteins changes in intestinal epithelial cells. *BMC Microbiology*, 9 (63) , 1-9. https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-63

Quinto, E. J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., & Girbés, T. (2014). Probiotic lactic acid bacteria: a review. *Food and Nutrition Sciences*, 5(18), 1765. https://doi.org/10.4236/fns.2014.518190

Racioppo, A., Corbo, M. R., Piccoli, C., Sinigaglia, M., Speranza, B., & Bevilacqua, A. (2017). Ultrasound attenuation of lactobacilli and bifidobacteria: Effect on some technological and probiotic properties. *International Journal of Food Microbiology*, 243, 78-83. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.011

Raman, M., Ambalam, P., Kondepudi, K. K., Pithva, S., Kothari, C., Patel, A. T., Purama, R. K., Dave, J. M., & Vyas, B. R. (2013). Potential of probiotics, prebiotics and synbiotics for management of colorectal cancer. *Gut Microbes*, 4(3), 181-192. https://doi.org/10.4161/gmic.23919

Rashmi, B. S., & Gayathri, D. (2017). Molecular characterization of gluten hydrolysing Bacillus sp. and their efficacy and biotherapeutic potential as probiotics using Caco-2 cell line. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 759-772. https://doi.org/10.1111/jam.13517

Rastall, R. A., Gibson, G. R., Gill, H. S., Guarner, F., Klaenhammer, T. R., Pot, B., ... & Sanders, M. E. (2005). Gut flora in health and disease: Potential role of probiotics. *FEMS Microbiology Ecology*, *52*(2), 145.https://doi.org/10.1016/j.femsec.2005.01.003

Ratsep, M., Naaber, P., Koljalg, S., Smidt, I., Shkut, E., & Sepp, E. (2014). Effect of *Lactobacillus plantarum* strains on clinical isolates of *Clostridium difficile* in vitro. *J. Probiotics Health*, 2(1), 1-5. https://doi.org/10.4172/2329-8901.1000119

Reis, S., Conceição, L., Rosa, D., Siqueira, N., & Peluzio, M. (2016). Mechanisms responsible for the hypocholesterolaemic effect of regular consumption of probiotics. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 36-49. https://doi:10.1017/S0954422416000226

Remold, S. K., Brown, C. K., Farris, J. E., Hundley, T. C., Perpich, J. A., & Purdy, M. E. (2011). Differential habitat use and niche partitioning by *Pseudomonas* species in human homes. *Microbial Ecology*, 62(3), 505-517. https://doi.org/10.1007/s00248-011-9844-5

Ren, D., Zhu, J., Gong, S., Liu, H., & Yu, H. (2018). Antimicrobial characteristics of lactic acid bacteria isolated from homemade fermented foods. *BioMed Research International*, 2018. https://doi.org/10.1155/2018/5416725

Ren, X., Han, Y., Zeng, F., Rabbi, M. H., Li, Z., Cui, S., ... & Ren, T. (2022). Effects of dietary heat-killed Lactobacillus plantarum and compound probiotics on the growth performance, antioxidative capacity, intestinal morphology and microbiota of Pacific white shrimp Litopenaeus vannamei. Aquaculture Research, 53(9), 3516-3530. https://doi.org/10.1111/are.15857

Rescigno M & Penna G. (2019). Postbiotic-based composition for treatment of ocular inflammation. *U.S. Patent Application* 16,322-394.

Rettger L.F. & Cheplin H.A. (1922). *Bacillus acidophilus* and its therapeutic application. *Archives of Internal Medicine*. 29(3), 357-367 https://doi.org/10.1001/archinte.1922.00110030082005

Ribeiro, B. G., Guerra, J. M., & Sarubbo, L. A. (2020). Biosurfactants: Production and application prospects in the food industry. *Biotechnology Progress*, 36(5), e3030. https://doi.org/10.1002/btpr.3030

Rijkers, G. T., Bengmark, S., Enck, P., Haller, D., Herz, U., Kalliomaki, M., Kudo, S., Lenoir-Wijnkoop, I., Mercenier, A., Myllyluoma, E., Rabot, S., Rafter, J., Szajewska, H., Watzl, B., Wells, J., Wolvers, D., & Antoine, J. M. (2010). Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: current status and recommendations for future research. *The Journal of Nutrition*, 140(3), 671-676. https://doi.org/10.3945/jn.109.113779

Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). What is the healthy gut microbiota composition? A changing

ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 7(1), 14. https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014

Ríos-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Gueimonde, M., De Los Reyes-gavilán, C. G., & Salazar, N. (2016). Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Frontiers in Microbiology*, 7, 185. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00185

Rocchetti, M. T., Russo, P., Capozzi, V., Drider, D., Spano, G., & Fiocco, D. (2021). Bioprospecting antimicrobials from *Lactiplantibacillus plantarum*: Key factors underlying its probiotic action. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 12076. https://doi.org/10.3390/ijms222112076

Rolfe, R. D. (2000). The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *The Journal of Nutrition*, 130(2), 396-402. https://doi.org/10.1093/jn/130.2.396S

Ruas-Madiedo, P., Medrano, M., & Salazar, N. De Los Reyes-Gavilán, CG, Pérez, PF, Abraham, AG (2010). Exopolysaccharides produced by Lactobacillus and Bifidobacterium strains abrogate in vitro the cytotoxic effect of bacterial toxins on eukaryotic cells. *Journal of Applied Microbiology*, 109, 2079-2086. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04839.x

Saadatzadeh, A., Fazeli, M. R., Jamalifar, H., & Dinarvand, R. (2013). Probiotic properties of lyophilized cell free extract of *Lactobacillus casei*. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 8(3), 131-137. https://doi.org/10.17795/jjnpp-8564 2

Salminen, S., Bouley, C., Boutron, M. C., Cummings, J. H., Franck, A., Gibson, G. R., ... & Rowland, I. (1998b). Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition*, 80(1), 147-171. https://doi.org/10.1079/BJN19980108

Salminen, S., von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., de Vos, W. M., ... & Mattila-Sandholm, T. (1998a). Demonstration of safety of probiotics-a review. *International Journal of Food Microbiology*, 44(1-2), 93-106. https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00128-7

Sartor R.B. (2006). Mechanisms of disease: Pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*, 3 (7), 390-407 https://doi.org/10.1038/ncpgasthep0528

Satpute, S. K., Kulkarni, G. R., Banpurkar, A. G., Banat, I. M., Mone, N. S., Patil, R. H., & Cameotra, S. S. (2016). Biosurfactant/s from Lactobacilli species: Properties, challenges and potential biomedical applications. *Journal of Basic Microbiology*, 56(11), 1140-1158. https://doi.org/10.1002/jobm.201600143

Saxelin, M., Tynkkynen, S., Mattila-Sandholm, T., & de Vos, W. M. (2005). Probiotic and other functional microbes: from markets to mechanisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(2), 204-211. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.003

Schulze, A., Mitterer, F., Pombo, J. P., & Schild, S. (2021). Biofilms by bacterial human pathogens: Clinical relevance - development, composition and regulation - therapeutical strategies. *Microbial Cell* (Graz, Austria), 8(2), 28–56. https://doi.org/10.15698/mic2021.02.741

Shamshu, R., Vaman, J., & Nirmala, C. (2017). Role of probiotics in lower reproductive tract infection in women of age group 18 to 45 years. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*, 6(2), 671. https://doi.org/10.18203/2320-1770.ijrcog20170404

Shan, Y., Man, C. X., Han, X., Li, L., Guo, Y., Deng, Y., Li, T., Zhang, L. W., & Jiang, Y. J. (2015). Evaluation of improved γ-aminobutyric acid production in yogurt using *Lactobacillus plantarum* NDC75017. *Journal of Dairy Science*, 98(4), 2138-2149 https://doi.org/10.3168/jds.2014-8698

Shang, F., Jiang, X., Wang, H., Chen, S., Wang, X., Liu, Y., Guo, S., Li, D., Yu, W., Zhao, Z., & Wang, G. (2020). The inhibitory effects of probiotics on colon cancer cells: in vitro and in vivo studies. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, 11(6), 1224-1232. https://doi.org/10.21037/jgo-20-573

Sharma, D., Saharan, B. S., Kapil, S., Sharma, D., Saharan, B. S., & Kapil, S. (2016). Applications of biosurfactants. *Biosurfactants of Lactic Acid Bacteria*, 73-82. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26215-4_6

Sharma, S., Mohler, J., Mahajan, S. D., Schwartz, S. A., Bruggemann, L., & Aalinkeel, R. (2023). Microbial biofilm: A review on formation, infection, antibiotic resistance, control measures, and innovative treatment. *Microorganisms*, 11(6), 1614. https://doi.org/10.3390/microorganisms11061614

Shi, L. H., Balakrishnan, K., Thiagarajah, K., Ismail, N. I. M., & Yin, O. S. (2016). Beneficial properties of probiotics. *Tropical Life Sciences Research*, 27(2), 73. https://doi.org/10.21315/tlsr2016.27.2.6

Shiraishi, T., Yokota, S., Fukiya, S., & Yokota, A. (2016). Structural diversity and biological significance of lipoteichoic acid in gram-positive bacteria: focusing on beneficial probiotic lactic acid bacteria. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 35(4), 147-161. https://doi.org/10.12938/bmfh.2016-006

Shripada, R., Gayatri, A. J., Sanjay, P., Faintuch, J., & Faintuch, S. (2020). Precision medicine for investigators, practitioners and providers. Faintuch, J., Faintuch, S., Eds.; Cambridge, *Academic Press*, MA, 39-49. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819178-1.00005-8

Siciliano, R. A., Lippolis, R., & Mazzeo, M. F. (2019). Proteomics for the investigation of surface-exposed proteins in probiotics. *Frontiers in Nutrition*, 6, 52. https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00052

Siciliano, R. A., Reale, A., Mazzeo, M. F., Morandi, S., Silvetti, T., & Brasca, M. (2021). Paraprobiotics: A new perspective for functional foods and nutraceuticals. *Nutrients*, 13(4), 1225. https://doi.org/10.3390/nu13041225

Sieber, R., Collomb, M., Aeschlimann, A., Jelen, P., & Eyer, H. (2004). Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products-a review. *International Dairy Journal*, 14(1), 1-15. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00151-1

Siedler, S., Balti, R., & Neves, A. R. (2019). Bioprotective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 138-146. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.015

Siezen, R. J., & van Hylckama Vlieg, J. E. (2011). Genomic diversity and versatility of *Lactobacillus plantarum*, a natural metabolic engineer. *Microbial Cell Factories*, 10(1), 1-13. https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-S1-S3

Singh, K. S., Kumar, S., Mohanty, A. K., Grover, S., & Kaushik, J. K. (2018). Mechanistic insights into the host-microbe interaction and pathogen exclusion mediated by the mucus-binding protein of *Lactobacillus plantarum. Scientific Reports*, 8(1), 14198. https://doi.org/10.1038/s41598-018-32417-y

Singh, T. P., Kaur, G., Kapila, S., & Malik, R. K. (2017). Antagonistic activity of *Lactobacillus reuteri* strains on the adhesion characteristics of selected pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 8, 486. https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00486

Singh, V. P. (2018). Recent approaches in food bio-preservation-a review. *Open Veterinary Journal*, 8(1), 104-111. https://doi.org/10.4314/ovj.v8i1.16

Skerk, V., & Markotić, A. (2010). Urogenital infections--antimicrobial treatment. Medicinski Glasnik: Canton, Bosnia and Herzegovina, *Official Publication of the Medical Association of Zenica-doboj* 7(1), 1-11.

Soare, J. R., Dinis, T. C., Cunha, A. P., & Almeida, L. (1997). Antioxidant activities of some extracts of Thymus zygis. Free radical research, 26(5), 469-478.

Somboon, T.; Takayuki, E.; Ken-Ichiro, S.; Sanae, O.; Kasuo, K.; Michio, K. (1992) Characterization and identification of *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus plantarum* strains from fermented foods in Thailand. *J. Gen. Appl. Microbiol*. 38, 121-134. https://doi.org/10.2323/jgam.38.121

Song, H., Zhang, J., Qu, J., Liu, J., Yin, P., Zhang, G., & Shang, D. (2019). *Lactobacillus rhamnosus* GG microcapsules inhibit *Escherichia coli* biofilm formation in coculture. *Biotechnology Letters*, *41*(8-9), 1007–1014.

https://doi.org/10.1007/s10529-019-02694-2

Song, M. W., Chung, Y., Kim, K. T., Hong, W. S., Chang, H. J., & Paik, H. D. (2020). Probiotic characteristics of *Lactobacillus brevis* B13-2 isolated from kimchi and investigation of antioxidant and immune-modulating abilities of its heat-killed cells. *Lwt*, *128*, 109452. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109452

Soni, T., & Sao, S. (2015) Demonstration of transmission of antibiotic resistant plasmid from resistant to sensitive strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at 37°C. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4 (8), 1101-1110

Srivastava, A., Gupta, J., Kumar, S., & Kumar, A. (2017). Gut biofilm forming bacteria in inflammatory bowel disease. *Microbial Pathogenesis*, *112*, 5–14. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.09.041

Stanojević-Nikolić, S., Dimić, G., Mojović, L., Pejin, J., Djukić-Vuković, A., & Kocić-Tanackov, S. (2016). Antimicrobial activity of lactic acid against pathogen and spoilage microorganisms. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(5), 990-998. https://doi.org/10.1111/jfpp.12679

Stevens, M., Vollenweider, S., Lacroix, C., & Zurich, E. T. H. (2011). The potential of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* as a broad spectrum preservative in food. In protective cultures, antimicrobial metabolites and bacteriophages for food and beverage biopreservation (29-160). *Woodhead Publishing*. https://doi.org/10.1533/9780857090522.1.129

Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Review of Microbiology*, 56, 187–209. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160705

Stover, C. K., Pham, X. Q., Erwin, A. L., Mizoguchi, S. D., Warrener, P., Hickey, M. J., ... & Olson, M. V. (2000). Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*, 406(6799), 959-964. https://doi.org/10.1038/35023079

Sumrall, E. T., Shen, Y., Keller, A. P., Rismondo, J., Pavlou, M., Eugster, M. R., ... & Loessner, M. J. (2019). Phage resistance at the cost of virulence: *Listeria monocytogenes serovar* 4b requires galactosylated teichoic acids for InlB-mediated invasion. *PLoS Pathogens*, 15(10), e1008032. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008032

Sun, D., Li, H., Song, D., Zhang, L., Zhao, X., & Xu, X. (2019). Genome, transcriptome and fermentation analyses of *Lactobacillus plantarum* LY-78 provide new insights into the mechanism of phenyllactate biosynthesis in lactic acid bacteria. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 519(2), 351-357. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.09.011

Swidsinski, A., Weber, J., Loening-Baucke, V., Hale, L. P., & Lochs, H. (2005). Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease. *Journal of Clinical Microbiology*, *43*(7), 3380–3389. https://doi.org/10.1128/JCM.43.7.3380-3389.2005

Tamime, A. Y., & Deeth, H. C. (1980). Yogurt: technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, 43(12), 939-977. https://doi.org/10.4315/0362-028X-43.12.939

Taverniti, V., & Guglielmetti, S. (2011). The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes & Nutrition*, 6(3), 261-274. https://doi.org/10.1007/s12263-011-0218-x

Tenea, G. N., & Guaña, J. M. (2019). Inhibitory substances produced by native *Lactobacillus plantarum* UTNCys5-4 control microbial population growth in meat. *Journal of Food Quality*, 1-8. https://doi.org/10.1155/2019/9516981

Tenea, G. N., & Pozo, T. D. (2019). Antimicrobial peptides from *Lactobacillus plantarum* UTNGt2 prevent harmful bacteria growth on fresh tomatoes. *J. Microbiol. Biotechnol.* 29(10): 1553-1560 https://doi.org/10.4014/jmb.1904.04063

Tenea, G. N., Garzón, K., Barrigas, A., & Ortega, C. (2017). Antimicrobial peptides of *Lactobacillus plantarum* UTNCys3. 4 isolated from native fruits of Ecuadorian Amazonia inhibit the growth of foodborne pathogens. Conference on Molecular,

Biomed., Comput. & Network Science and Engineering, 2nd ed., 15–20 October 2022 https://doi.org/10.3390/mol2net-02-03867

Tetik, N. (2017). Probiyotik ürün ve preparatların *Helicobacter pylori ve Staphylococcus aureus üzerine antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması*. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul, (Danışman: Dr. Öğr. Üyesi. Pervin Rayaman)

Thage, B. V., Broe, M. L., Petersen, M. H., Petersen, M. A., Bennedsen, M., & Ardö, Y. (2005). Aroma development in semi-hard reduced-fat cheese inoculated with *Lactobacillus paracasei* strains with different aminotransferase profiles. *International Dairy Journal*, 15(6-9), 795-805. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.08.026

Thakur, K., & Tomar, S. K. (2016). In vitro study of riboflavin producing lactobacilli as potential probiotic. *LWT-Food Science and Technology*, 68, 570-578. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.059

Tharmaraj, N., & Shah, N. P. (2009). Antimicrobial effects of probiotics against selected pathogenic and spoilage bacteria in cheese-based dips. *International Food Research Journal*, 16(1), 261-276.

Thursby, E., & Juge, N. (2017). Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*, 474(11), 1823-1836. https://doi.org/10.1042/BCJ20160510

Todorov, S. D. (2009). Bacteriocins from *Lactobacillus plantarum* production, genetic organization and mode of action: produção, organização genética e modo de ação. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40, 209-221. https://doi.org/10.1590/S1517-83822009000200001

Todorov, S. D., Prévost, H., Lebois, M., Dousset, X., LeBlanc, J. G., & Franco, B. D. (2011). Bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* ST16Pa isolated from papaya (Carica papaya) from isolation to application: Characterization of a bacteriocin. *Food Research International*, 44(5), 1351-1363. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.027

Tsilingiri, K., & Rescigno, M. (2013). Postbiotics: what else?. *Beneficial Microbes*, 4(1), 101-107. https://doi.org/10.3920/BM2012.0046

Tytgat, H. L., Nobrega, F. L., van der Oost, J., & de Vos, W. M. (2019). Bowel biofilms: tipping points between a healthy and compromised gut?. *Trends in microbiology*, *27*(1), 17-25. https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.08.009

Valdes, A. M., Walter, J., Segal, E., & Spector, T. D. (2018). Role of the gut microbiota in nutrition and health. *Bmj*, 361. https://doi.org/10.1136/bmj.k2179

Van der Beek, C. M., Bloemen, J. G., van den Broek, M. A., Lenaerts, K., Venema, K., Buurman, W. A., & Dejong, C. H. (2015). Hepatic uptake of rectally administered butyrate prevents an increase in systemic butyrate concentrations in humans. *The Journal of Nutrition*, 145(9), 2019-2024. https://doi.org/10.3945/jn.115.211193

Van Geel-Schutten, G. H., Flesch, F., Ten Brink, B., Smith, M. R., & Dijkhuizen, L. J. A. M. (1998). Screening and characterization of *Lactobacillus* strains producing large amounts of exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50, 697-703. https://doi.org/10.1007/s002530051353

Vanbelle, M., Teller, E., & Focant, M. (1990). Probiotics in animal nutrition: a review. *Archiv fur Tierernahrung*, 40(7), 543-567. https://doi.org/10.1080/17450399009428406

Vandenbergh, P. A. (1993). Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 221-237. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00020.x

Velraeds, M. M., van de Belt-Gritter, B., Busscher, H. J., Reid, G., & van der Mei, H. C. (2000). Inhibition of uropathogenic biofilm growth on silicone rubber in human urine by lactobacilli-a teleologic approach. *World Journal of Urology*, 18, 422-426. https://doi.org/10.1007/PL00007084

Vollmer, W., Blanot, D., & De Pedro, M. A. (2008). Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(2), 149-167. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00094.x

Von Rosenvinge, E. C., O'May, G. A., Macfarlane, S., Macfarlane, G. T., & Shirtliff, M. E. (2013). Microbial biofilms and gastrointestinal diseases. *Pathogens and Disease*, *67*(1), 25–38. https://doi.org/10.1111/2049-632X.12020

Vuik, F. E. R., Dicksved, J., Lam, S. Y., Fuhler, G. M., van der Laan, L. J. W., van de Winkel, A., ... & Kuipers, E. J. (2019). Composition of the mucosa-associated microbiota along the entire gastrointestinal tract of human individuals. *United European Gastroenterology Journal*, 7(7), 897-907. https://doi.org/10.1177/2050640619852255

Walter, J. (2008). Ecological role of lactobacilli in the gastrointestinal tract: implications for fundamental and biomedical research. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(16), 4985-4996. https://doi.org/10.1128/AEM.00753-08

Wan, M. L. Y., & El-Nezami, H. (2018). Targeting gut microbiota in hepatocellular carcinoma: probiotics as a novel therapy. *Hepatobiliary Surgery and Nutrition*, 7(1), 11-20. https://doi.org/10.21037/hbsn.2017.12.07

Wang, S., Han, X., Zhang, L., Zhang, Y., Li, H., & Jiao, Y. (2018). Whole peptidoglycan extracts from the *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* M5 strain exert anticancer activity in vitro. *BioMed Research International*, 2018. https://doi.org/10.1155/2018/2871710

Wang, Y., Guo, Y., Chen, H., Wei, H., & Wan, C. (2018a). 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. https://doi.org/10.1139/cjm-2017-0716

Wang, Y., Qin, S., Jia, J., Huang, L., Li, F., Jin, F., ... & Wang, Y. (2019). Intestinal microbiota-associated metabolites: crucial factors in the effectiveness of herbal medicines and diet therapies. *Frontiers in Physiology*, 10, 1343. https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01343

Wang, Y., Qin, Y., Xie, Q., Zhang, Y., Hu, J., & Li, P. (2018b). Purification and characterization of plantaricin LPL-1, a novel class IIa bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LPL-1 isolated from fermented fish. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2276. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02276

Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., ... & Li, W. (2017). Antioxidant properties of probiotic bacteria. *Nutrients*, 9(5), 521. https://doi.org/10.3390/nu9050521

Wang, Y., Xu, S., He, Q., Sun, K., Wang, X., Zhang, X., ... & Zeng, J. (2023). Crosstalk between microbial biofilms in the gastrointestinal tract and chronic mucosa diseases. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1151552. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1151552

Welman, A. D., & Maddox, I. S. (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*, 21(6), 269-274. https://doi.org/10.1016/S0167-7799(03)00107-0

Wibowo, D., Eschenbruch, R., Davis, C. R., Fleet, G. H., & Lee, T. H. (1985). Occurrence and growth of lactic acid bacteria in wine: a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36(4), 302-313. https://doi.org/10.5344/ajev.1985.36.4.302

Williams, N. T. (2010). Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 67(6), 449-458. https://doi.org/10.2146/ajhp090168

Xiao, J. Z., Kondo, S., Takahashi, N., Miyaji, K., Oshida, K., Hiramatsu, A., ... & Hosono, A. (2003). Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. *Journal of Dairy Science*, 86(7), 2452-2461. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73839-9

Xu, R., Aruhan, Xiu, L., Sheng, S., Liang, Y., Zhang, H., ... & Wang, X. (2019a). Exopolysaccharides from *Lactobacillus buchneri* TCP016 attenuate LPS-and d-GalN-induced liver injury by modulating the gut microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(42), 11627-11637. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b04323

Xu, Y., Cui, Y., Wang, X., Yue, F., Shan, Y., Liu, B., ... & Lü, X. (2019b). Purification, characterization and bioactivity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* KX041. *International Journal of Biological Macromolecules*, *128*, 480-492. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.117

Xu, X., Qiao, Y., Peng, Q., Dia, V. P., & Shi, B. (2023). Probiotic activity of ropy *Lactiplantibacillus plantarum* NA isolated from Chinese northeast sauerkraut and comparative evaluation of its live and heat-killed cells on antioxidant activity and RAW 264.7 macrophage stimulation. *Food & Function*, 14(5), 2481-2495. https://doi.org/10.1039/D2FO03761K

Ya, W., Reifer, C., & Miller, L. E. (2010). Efficacy of vaginal probiotic capsules for recurrent bacterial vaginosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 203(2), 120-e1. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.05.023

Yan, B., Pan, D., & Zeng, X. (2012). Study on selenium modification and antioxidant activity of lactic acid bacteria exopolysaccharides. *J. Chin. Inst. Food Sci. Technol*, 12, 15-23.

Yan, X., Gu, S., Cui, X., Shi, Y., Wen, S., Chen, H., & Ge, J. (2019). Antimicrobial, anti-adhesive and anti-biofilm potential of biosurfactants isolated from *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus plantarum* against *Staphylococcus aureus* CMCC26003. *Microbial Pathogenesis*, *127*, 12–20. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.11.039

Yang, R., Zhao, X., Wu, W., & Shi, J. (2021). Potential of probiotics for use as functional foods in patients with non-infectious gastric ulcer. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 463-474.https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.070

Yıkmış, S. (2016). New approaches in non-thermal processes in the food industry. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 5(5), 344-51. https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20160505.15

Yılsay T.Ö & Kurdal E., (2000). Probiyotik süt ürünlerinin beslenme ve sağlık üzerindeki etkisi. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu (Ed. M. Demirci), Tekirdağ, 279-286.

Yu, J. H., Song, S. J., Kim, A., Choi, Y., Seok, J. W., Kim, H. J., ... & Kim, J. W. (2016). Suppression of PPARγ-mediated monoacylglycerol O-acyltransferase 1 expression ameliorates alcoholic hepatic steatosis. *Scientific Reports*, 6(1), 1-12. https://doi.org/10.1038/srep29352

Zhang, J., Yang, Y., Yang, H., Bu, Y., Yi, H., Zhang, L., ... & Ai, L. (2018). Purification and partial characterization of bacteriocin Lac-B23, a novel bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* J23, isolated from Chinese traditional fermented milk. *Frontiers in microbiology*, 9, 2165. https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02165

Zhou, Y., Cui, Y., & Qu, X. (2019). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review. *Carbohydrate Polymers*, 207, 317-332. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.11.093

Zhu, X., Zhao, Y., Sun, Y., & Gu, Q. (2014). Purification and characterisation of plantaricin ZJ008, a novel bacteriocin against *Staphylococcus* spp. from *Lactobacillus plantarum* ZJ008. *Food Chemistry*, 165, 216-223. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.034

Zorzela, L., Ardestani, S. K., McFarland, L. V., & Vohra, S. (2017). Is there a role for modified probiotics as beneficial microbes: a systematic review of the literature. *Beneficial Microbes*, 8(5), 739-754. https://doi.org/10.3920/BM2017.0032

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı		Soyadı	
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu		Tel	
E-mail			

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
-		

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1		
2		
3		

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi

***Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.*

10. BİLİMSEL FAALİYETLER

Bildiri (Poster)

Özduran E., Rayaman P., Özakpınar Bingöl Ö., *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Ultrasonikasyon Öncesi ve Sonrası Antimikrobiyal Etkinliğinin Spot on Lawn Yöntemi ile Araştırılması. P-66. 12-15 Temmuz 2023. 25. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir.