



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ENZİMATİK OLARAK SENTEZLENEN α -
GLUKANLARIN KALIN BAĞIRSAK
MİKROBİYOTASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Arife YAŞAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Eylül-2023
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 120N890 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Arife YAŞAR
Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ENZİMATİK OLARAK SENTEZLENEN α -GLUKANLARIN KALIN BAĞIRSAK MİKROBİYOTASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Arife YAŞAR

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Yunus Emre TUNÇİL

2023, 104 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Yunus Emre TUNÇİL

Doç. Dr. Ahmet ÜNVER

Dr. Öğr. Üyesi Talha DEMİRCİ

Son zamanlarda, dirençli nişasta ve nişasta benzeri yapılar, kalın bağırsakta bütirat üretimini ve faydalı mikroorganizmaları teşvik etme yeteneklerinden dolayı gıda, beslenme ve sağlık alanında büyük ilgi görmektedirler. Nişasta benzeri yapıların bütirat üreten bakterileri destekleme yetenekleri, esas olarak benzersiz bağlantı bileşimlerine, özellikle sahip oldukları α -1,4 ve α -1,6 glikoz bağlantılarına atfedilmektedir. Ancak α -1,4 ve α -1,6 glikoz bağlantılarının oranındaki değişikliklerin kolon mikrobiyotası üzerine etkileri hala tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı, farklı oranlarda α -1,4 ve α -1,6 glikozidik bağlara sahip, biyokatalitik yöntemler ile sentezlenmiş sindirilmeyen α -glukanların kolonik mikrobiyota ve mikrobiyal metabolitler üzerindeki etkilerini belirlemektir. Bu çalışmada, *Neisseria polysaccharea*'dan elde edilmiş amilosükraz ve *Rhodothermus obamensis*'ten elde edilmiş olan glikojen dallanma enzimleri kullanılarak sentezlenmiş yapısal olarak farklı (farklı dallanma noktalarına sahip) toplam dört farklı α -glukan kullanılmıştır. Örnekler üst sindirim sistemi enzimleri ile muamele edilmiş ve akabinde dallanma yoğunlukları ve moleküler boyutları sırasıyla gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi (GC/MS) ve yüksek performanslı boyut dışlama kromatografisi kullanılarak belirlenmiştir. α -Glukanların kolonik mikrobiyota bileşimi ve fonksiyonu üzerindeki etkileri, sekiz farklı bireyden elde edilen fekal mikrobiyota kullanılarak, *in vitro* fekal fermentasyon metodu ile araştırılmış ve kolon mikrobiyota kompozisyonlarındaki ve mikrobiyal metabolitlerdeki (kısa zincirli yağ asitleri - KZYA' lar) değişiklikler, sırasıyla 16S rRNA dizileme teknolojisi ve GC ile belirlenmiştir. Sonuçlarımız, üst sindirim enzimleri ile muamele edilmiş olan enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların dallanma yoğunluklarının %0,10 ila 2,80 arasında değiştiğini ortaya koymuştur. KZYA analizi, bütirat oluşumunun yapısal özelliklerine göre değişkenlik gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. Genel olarak, daha az dallanma oranına sahip olan α -glukanlar, daha yüksek mikrobiyal bütirat üretimini sağlamaktadır. İlginç bir şekilde, KZYA analizi, bu çalışmada test edilen tüm α -glukanların, dirençli nişasta kontrollerine kıyasla, daha yavaş bir hızda fermente edildiği önerisinde bulunmaktadır. Amplikon dizilimi, kolonik mikrobiyota kompozisyonu açısından bireyler arası farklılıklar olsa da, α -glukanların genellikle kolonda faydalı mikrobiyal gruplar olduğu bilinen *Lachnospiraceae* ve *Ruminococcus bromii* ile ilişkili OTU' ların gelişiminin teşvik ettiğini ortaya koymuştur. Buna karşılık, dirençli nişasta kontrollerinin (α -1,4 ve α -1,6 glikoz bağlantılarından oluşan) *Blautia* ile ilişkili OTU' ların gelişimini teşvik ettiği tespit edilmiştir. Bu sonuç, glikozidik bağlantı tipine (kimyasal yapıya) ek olarak, diğer yapısal özelliklerin de (örn. morfolojik ve fiziksel), diyet liflerinin kolondaki spesifik bakteri gruplarını teşvik etme yeteneklerinin belirlenmesinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen sonuçlar, sindirilemeyen α -glukanların kolondaki faydalı mikroorganizmaları ve mikrobiyal metabolitleri teşvik edebildiğini, ancak teşvik etme derecesinin yapıya bağlı olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: α -glukanlar, bütirat, bütirojenik bakteri, kısa zincirli yağ asitleri, mikrobiyota, prebiyotik etki, 16S rRNA dizilimi, diyet lifi

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ENZYMATICALLY SYNTHESIZED α -GLUCANS ON LARGE INTESTINE MICROBIOTA

Arife YAŞAR

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE OF FOOD
ENGINEERING

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Yunus Emre TUNÇİL

2023, 104 Pages

Jury

Assoc. Prof. Dr. Yunus Emre TUNÇİL
Assoc. Prof. Dr. Ahmet ÜNVER
Asst. Prof. Dr. Talha DEMİRCİ

In recent years, resistant starch and starch-like structures have been of great interest in food, nutrition and health due to their ability to promote butyrate production and beneficial microorganisms in the colon. The ability of starch-like structures to promote butyrate-producing bacteria is mainly attributed to their unique linkage composition, particularly their α -1,4 and α -1,6 glucose linkages. However, the effects of changes in the ratio of α -1,4 and α -1,6 glucose linkages on colonic microbiota are still unknown. The aim of this study was to determine the effects of non-digestible α -glucans synthesized by biocatalytic methods with different ratios of α -1,4 and α -1,6 glycosidic linkages on colonic microbiota and microbial metabolites. In this study, a total of four structurally different α -glucans (with different branching points) synthesized using amylosucrase from *Neisseria polysaccharea* and glycogen branching enzymes from *Rhodothermus obamensis* were used. The samples were treated with upper gastrointestinal tract digestion enzymes and subsequently their branching densities and molecular sizes were determined using gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) and high-performance size exclusion chromatography, respectively. The effects of α -glucans on colonic microbiota composition and function were investigated by *in vitro* fecal fermentation using fecal microbiota from eight different individuals and changes in colonic microbiota composition and microbial metabolites (short-chain fatty acids - SCFAs) were determined by 16S rRNA sequencing technology and GC, respectively. Our results revealed that the branching densities of enzymatically synthesized α -glucans treated with upper gastrointestinal digestive enzymes ranged from 0.10 to 2.80%. SCFA analysis revealed that butyrate formation varied according to their structural features. In general, α -glucans with lower branching ratios resulted in formations of higher microbial butyrate. Interestingly, the SCFA analysis suggests that all α -glucans tested in this study fermented at a slower rate compared to the resistant starch controls. Amplicon sequencing revealed that although there were inter-individual differences in colonic microbiota composition, α -glucans generally promoted the development of *Lachnospiraceae* and *Ruminococcus bromii* related OTUs, which are known to be beneficial microbial groups in the colon. In contrast, resistant starch controls (consisting of α -1,4 and α -1,6 glucose linkages) were found to promote the growth of *Blautia* related OTUs. This suggests that in addition to the type of glycosidic linkage (chemical structure), other structural characteristics (e.g. morphological and physical) also play important roles in determining the ability of dietary fibers to promote specific bacterial groups in the colon. In conclusion, the results obtained in this study reveal that non-digestible α -glucans can promote beneficial microorganisms and microbial metabolites in the colon, but the degree of promotion depends on the structure.

Keywords: α -glucans, butyrate, butyrogenic bacteria, short-chain fatty acids, microbiota, prebiotic effect, 16S rRNA sequencing, dietary fiber

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimi boyunca bilgi birikimini aktaran, tezimin analizlerinin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan, bir projede çalışabilme fırsatı tanıyan sayın danışman hocam Doç. Dr. Yunus Emre TUNÇİL' e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Tez çalışmalarım için gerekli glukon örneklerinin sentezlenmesi ve tarafıma iletilmesini sağlayan Byung-Hoo Lee ve Hye-Jung Ryu hocalarıma ve te çalışmalarım esnasında analizlerimi gerçekleştirebilmemde katkısı olan sayın Doç. Dr. Ahmet ÜNVER ve Doç. Dr. Aytekin UZUNOĞLU hocalarıma, Illumina MiSeq sekanslama sürecindeki yardımlarından dolayı Purdue Üniversitesi Gıda Bilimleri Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Stephen R. LINDEMANN ve Dane DEEMER' a teşekkür ederim. Analizlerin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan İhsan SARIOĞLAN ve Emine ESEN' e teşekkür ederim.

Yüksek Lisans eğitimim sürecinde, maddi manevi her zaman arkamda duran ve desteklerini eksik etmeyen annem Ayşe YAŞAR' a, tez çalışmam esnasında yardımı dokunan ve destekleyen Necmettin Erbakan Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Lisansüstü öğrenimi gören arkadaşlarıma ve saygıdeğer bölüm hocalarıma teşekkürlerimi borç bilirim.

Bu tez çalışması, TÜBİTAK [Araştırma Destek Programları Başkanlığı (ARDEB)] tarafından 120N890 No' lu proje ile desteklenerek gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmamı destekleyen TÜBİTAK' a teşekkürlerimi sunarım.

Arife YAŞAR
KONYA-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	6
2.1. Diyet Lifi, Türleri ve Fizikokimyasal Özellikleri	6
2.2. Diyet Liflerinin Sağlık Üzerine Etkileri	11
2.2.1. KZYA biyosentezi, absorpsiyonu, dağılımı ve fonksiyonel mekanizması... 14	
2.2.2. Diyet liflerinin ve KZYA' ların konak üzerindeki etkisi..... 17	
2.3. Diyet Liflerinin Kalın Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Etkileri..... 20	
2.3.1. Diyet lifleri kimyasal yapılarının kalın bağırsak mikrobiyota bileşimi ve metabolitler üzerindeki etkileri..... 25	
2.4. Enzimatik Olarak Sentezlenmiş Glukanların Kalın Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Etkileri..... 34	
2.4.1. α -glukanlar ve fonksiyonel özellikleri	36
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	38
3.1. Materyal	38
3.1.1. Dallanma yoğunlukları ve moleküler ağırlıkları farklı olan α -glukanların temini	38
3.2. Yöntem.....	38
3.2.1. α -glukanların <i>in vitro</i> Gİ sindirim enzimleriyle muamele edilmesi	38
3.2.2. α -glukanların enzimatik sentezinin kimyasal karakterizasyonları..... 39	
3.2.3. Dışkı toplama ve enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların kolonik mikrobiyotada <i>in vitro</i> fermantasyonu..... 40	
3.2.4. Fermantasyon süreci sonucunda oluşan mikrobiyal kısa zincirli yağ asitlerinin kalitatif ve kantitatif tayinleri	42
3.2.5. Kolonik mikrobiyota bileşimindeki değişikliklerin belirlenmesi	43
3.2.6. İstatistiksel analizler	48
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	49
4.1. Enzimatik Olarak Sentezlenmiş α -glukanların Kimyasal Karakterizasyon Özellikleri	49
4.1.1. Enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların α -(1,6) / α -(1,4) bağ (dallanma) oranları	49

4.1.2. Çözünmeyen dallanmış α -glukanların moleküler boyutları	51
4.2. Enzimatik Olarak Sentezlenen α -glukanların Mikrobiyal Kısa Zincirli Yağ Asidi Oluşumları Üzerindeki Etkileri.....	51
4.3. Enzimatik Olarak Sentezlenen α -glukanların Mikrobiyal Dallı Zincirli Yağ Asidi Oluşumları Üzerindeki Etkileri.....	58
4.4. Enzimatik Olarak Sentezlenen α -glukanların Fekal Mikrobiyota Üzerindeki Etkileri	61
4.4.1. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fekal mikrobiyota toplulukları üzerindeki etkileri (β -çeşitlilik)	61
4.4.2. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fekal mikrobiyota topluluklarının α -çeşitliliği üzerindeki etkileri	62
4.4.3. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların mikrobiyal bileşimler üzerindeki etkileri	69
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	84
5.1 Sonuçlar	84
5.2 Öneriler	86
6. KAYNAKLAR	87

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. a) Arabinoksilan, b) inülin ve c) β -glukanın kimyasal yapıları	2
Şekil 2. Dirençli nişastanın kimyasal yapısı	3
Şekil 3. Çok dallı α -glukanların üretimi için eş zamanlı tek kap reaksiyonu	4
Şekil 4. Polimer uzunluğuna göre diyet lifi alt tipleri	7
Şekil 5. Diyet lifinin çözünürlük, viskozite ve fermentasyon ile örtüşen özellikleri	7
Şekil 6. Diyet lifinin fizikokimyasal özellikleri ve bitki hücresi içindeki yerleri.....	8
Şekil 7. Viskoz ve jel oluşturan lineer polimerler.....	9
Şekil 8. (A-C) 3 ana KZYA kimyasal yapısı.....	14
Şekil 9. Diyet liflerinin bağırsakta mikrobiyal fermentasyonu ve üç ana KZYA' nın, asetat, propiyonat ve bütiratın sentezinde yer alan enzimatik yollar	16
Şekil 10. A) Kayın ağacından elde edilen ksilan, B) buğdaydan elde edilen arabinoksilan ve C) Yeni Zelanda keteninden elde edilen ksilan	29
Şekil 11. Farklı Bifidobakteriyel suşlar tarafından fermentasyon işlemi sırasında <i>NpAS</i> ve <i>RoGBE</i> 'nin kombine etkisiyle sentezlenen çözünmeyen α -glukanların kullanım oranı	37
Şekil 12. Önerilen araştırmayı gerçekleştirmek için izlenecek adımların özeti	38
Şekil 13. α -glukanlara uygulanacak üst gastrointestinal sistem sindirim yönteminin detaylı akış diyagramı	39
Şekil 14. İnsan kolonu gibi tam anaerobik ortam sağlamak için kullanılan anaerobik kabin	41
Şekil 15. Anaerobik odaya fekal mikrobiyota aşılandıktan sonra numuneler a) alüminyum contalarla (Chemglass Life Sciences) hava geçirmez şekilde kapatılmış ve b) 37 °C' de çalkalamalı bir inkübatörde (150 rpm) inkübe edilmiştir.....	41
Şekil 16. Harici standartlar için elde ettiğimiz tipik GC kromatogramı.....	43
Şekil 17. a) Santrifüjlemeden sonra faz ayrımı b) FastPrep 24 homojenizatör	44
Şekil 18. Amplifikasyon için uygulanan PCR reaksiyon koşulları	46
Şekil 19. Bazı çoğaltılmış PCR ürünlerinin jel elektroforez resmi	46
Şekil 20. Bazı barkodlanmış PCR ürünlerinin jel elektroforez resmi.....	47
Şekil 21. GC-MS ile belirlenen, <i>Neisseria polysaccharea</i> ' dan 1 U/mL amilosükraz reaktanı ile <i>Rhodothermus obamensis</i> ' ten (<i>RoGBE</i>) glikojen dallanma enziminin değişen	

konsantrasyonlarına bağı olarak <i>in vitro</i> sindirilen, çözünmeyen dallanmış α -glukanların dallanma oranları.....	50
Şekil 22. Üst Gİ kanalında <i>in vitro</i> olarak sindirilen çözünmeyen dallı α -glukanların moleküler boyutları	51
Şekil 23. Fekal mikrobiyota tarafından enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyon süreci boyunca kısa zincirli yağ asitleri	54
Şekil 24. Fermantasyon sonunda kısa zincirli yağ asitleri ölçümü.	56
Şekil 25. Fekal mikrobiyota tarafından enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyon süreci boyunca dallı zincirli yağ asitleri.	60
Şekil 26. Boş, kontroller (mısır ve patates nişastaları) ve enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanlar (RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X) ile 0, 24 ve 48 saat <i>in vitro</i> fermantasyondan sonra %97 benzerlik seviyesinde OTU'ların göreceli bolluklarına dayanan fekal mikrobiyal toplulukların Bray-Curtis farklılığı.....	61
Şekil 27. Fermantasyon boyunca fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitlilik değerlerinde Shannon indeksi hesaplayıcısı ile ölçülen değişimler.	63
Şekil 28. Fermantasyon boyunca fekal mikrobiyal toplulukların gözlenen tür sayısı değerlerindeki değişimler	65
Şekil 29. Chao' nun indeks hesaplayıcısı ile ölçüldüğü üzere fermantasyon boyunca fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitlilik değerlerindeki değişimler.	66
Şekil 30. Simpsons even indeks hesaplayıcısı ile ölçülen fermantasyon boyunca fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitlilik değerlerindeki değişimler.....	67
Şekil 31. Simpsons even indeks hesaplayıcısı ile ölçülen fermantasyon boyunca fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitlilik değerlerindeki değişimler.	68
Şekil 32. Fermantasyonun 48. saatinde enzimatik olarak sentezlenen α -glukanları ve dirençli nişasta kontrollerini ayırt eden taksonların doğrusal diskriminant analizi (LEfSe).	70
Şekil 33. Taksonların 24 saatlik fermantasyondan sonra gözlemlenen nispi bollukları (%). Şekil bir sonraki sayfada devam etmektedir	71-72
Şekil 34. Taksonların 48 saatlik fermantasyondan sonra gözlenen nispi bollukları (%). Şekil bir sonraki sayfada devam etmektedir.....	75-76
Şekil 35. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların ve dirençli nişasta kontrollerinin 48 saatlik fekal fermantasyonundan sonra en duyarlı mikrobiyal taksonların göreceli bolluklarındaki kat değişikliklerini (0 zamanına göre) temsil eden ısı haritaları.....	80-81

Şekil 36. Enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların ve dirençli nişasta kontrollerinin 48 saatlik fekal fermantasyonundan sonra en duyarlı mikrobiyal taksonların göreceli bolluklarındaki ortalama (8 donörün ortalaması) kat değişikliklerini (0 zamanına göre) temsil eden ısı haritası.....83



TABLÖLAR DİZİNİ

Çizelge 1. Kolon mikrobiyotası tarafından KZYA' ların üretilimi.....	15
Çizelge 2. Bağırsak mikrobiyota lokasyonu, bileşimi ve işlevi.....	22
Çizelge 3. Amplifikasyon adımında kullanılacak primerler	45
Çizelge 4. Reaksiyona dahil edilen GBE miktarını değiştirerek enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma oranları.....	50



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
Na ⁺	: Sodyum
g	: Gram
kg	: Kilogram
mm	: Milimetre
μ M	: Mikro Molar
Da	: Dalton
μ L	: Mikrolitre
mL	: Mililitre
mg	: Miligram
w/v	: Hacimde Ağırlıkça Yüzde
v/v	: Hacimce Yüzde
U	: Bir Birim

Kısaltmalar

DL	: Diyet Lifi
MD	: Maltodekstrin
AX	: Arabinoksilan
DSS	: Dekstran Sülfat Sodyum
ÜK	: Ülseratif Kolit
BSDF	: Bambu Sürgün Diyet Lifi
KZYA	: Kısa Zincirli Yağ Asitleri
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
NF- κ B	: Nükleer Faktör Kappa B
NpAS	: <i>Neisseria polysacchare</i> ' den izole Amilosükraz
GBE	: Glikojen Dallanma Enzimi
AACC	: American Association of Cereal Chemists
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
CAC	: Codex Alimentarius Komisyonu
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
MB	: Monomerik Birim
ÇDL	: Çözünür Diyet Lifi
N-ÇDL	: Çözünmeyen Diyet Lifi
GLP	: Glukagon Benzeri Peptit
PYY	: Peptit YY
KVH	: Kardiyovasküler Hastalıklar
TDL	: Toplam Diyet Lifi
T2D	: Tip 2 Diyabet
KKH	: Koroner Kalp Hastalığı
STK	: Su Tutma Kapasitesi
SŞK	: Su Şişme Kapasitesi

YTK	: Yağ Tutma Kapasitesi
GAK	: Glikoz Adsorpsiyon Kapasitesi
KAK	: Kolesterol Adsorpsiyon Kapasitesi
ÇL	: Çözünür Lif
KU	: Konjak Un
MNG	: Guar sakızı ilaveli Mumsu Mısır Nişastası
MNK	: Ksantan sakızı ilaveli Mumsu Mısır Nişastası
BEH	: Bağırsak Epitel Hücreleri
PL	: Plasebo Kontrollü
SBL	: Sarı Bezelye Lifi
OGTT	: Oral Glikoz Tolerans Testi
KK	: Kolorektal Kanser
İBH	: İnflamatuar Bağırsak Hastalığı
CH	: Crohn Hastalığı
IL	: İnterlökin
PEP	: Fosfoenol Pirüvat
EMP	: Epden-Meyerhof-Parnas Glikolitik Yolu
PUL	: Polisakkarit Kullanım Lokusları
DHAP	: Dihidroksi Aseton Fosfat
MCT	: Mono Karboksilat Taşıyıcı
OAT	: Organik Anyon Taşıyıcı
SMCT	: Sodyuma Bağlı Monokarboksilat Taşıyıcı
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
HDAC	: Histon deasetilaz
GPCR	: G-Protein Bağlı Reseptörler
IFN	: İnterferon
FFAR	: Serbest Yağ Asidi Reseptörleri
DH	: Dendritik Hücreler
Gİ	: Gastrointestinal
NOD	: Obez Olmayan Diyabetik
LPS	: Lipopolisakkarit
NLR	: NOD Benzeri Reseptörler
İEB	: İntestinal Epitel Bariyer
TJ	: Tight Junction
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
MCP	: Monosit Kemoatraktan Protein
VCAM	: Vasküler Hücre Adesyon Molekülü
KKA	: Kolajen Kaynaklı Artrit
FOS	: Fruktu-Oligosakkarit
OF	: Oligofruktoz
İcIN	: Uzun Zincirli İnülin
GH	: Glikozid Hidrolazlar
PL	: Polisakkarit Liyazlar
CE	: Karbonhidrat Esterazlar
GT	: Glikozil Transferazlar
CBM	: Karbonhidrat Bağlayıcı Modüller
AA	: Yardımcı Aktiviteler
DN	: Dirençli Nişasta
YYD	: Yüksek Yağlı Diyet
ZO	: Zonula Okludens
CN	: Selüloz Nanofiber

CEL	: Selüloz
XOS	: Ksilo-Oligosakkaritl
XG	: Ksiloglukan
MOS	: Mannan-Oligosakkarit
GalOS	: Galakto-Oligosakkarit
GOS	: Gluko-Oligosakkarit
AXOS	: Arabinoksilo-Oligosakkarit
DP	: Polimerizasyon Derecesi
MA	: Moleküler Ağırlık
KGM	: Konjak Glukomannan
YG	: Yulaf β -Glukan
YDN	: Yulaf Dirençli Nişasta
TY	: Tam Yulaf
IDM	: İzomaltodekstrin
GBP	: Glikojen Benzeri Partiküller
DE	: Dallanma Enzimi
ESG	: Enzimatik Olarak Sentezlenmiş Glikojenler
TNBS	: Trinitrobenzen Sülfonik Asit
DG	: Dirençli Glikojen
RoGBE	: <i>Rhodothermus obamensis</i> ' ten izole Glikojen Dallanma Enzimi
MMN	: Mumsu Mısır Nişastası
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
RI	: Kırılma İndisi
PMAA	: Polimetil Metakrilat
AİD	: Alev İyonizasyon Dedektörü
GC	: Gaz Kromatografisi
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
PCI	: Phenol:Chloroform:Isoamyl alcohol
CI	: Chloroform:Isoamyl alcohol
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
DZYA	: Dallı Zincirli Yağ Asitleri
OTU	: Operasyonel Taksonomik Birimler
HSF	: Hızlı Sindirilebilir Fraksiyon
YSF	: Yavaş Sindirilebilir Fraksiyon
DF	: Dirençli Fraksiyon

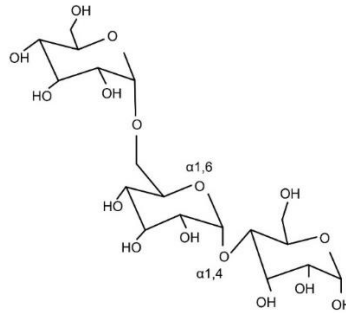
1. GİRİŞ

İnsan kalın bağırsağı, insan sağlığında önemli bir rol oynayan metabolik, immünolojik ve koruyucu işlevler sağlayan çok çeşitli mikroorganizmaları bünyesinde barındırmaktadır (Holscher, 2017). Bu mikrobiyal toplulukların bileşimi ve dengesi, insan sağlığı ve hastalıkları için önemli bir belirleyici faktördür (Rauf vd., 2022). Kalın bağırsak mikroflorasının simbiyoz durumu söz konusu olduğunda (diğer bir ifade ile mikrobiyal topluluğun bir dengede olması durumunda), bağışıklık sisteminin gelişimini sağlayabilmekte, bireyleri obeziteye, diyabete ve kansere karşı koruyabilmektedir. Diğer taraftan disbiyoz durumunda (*Proteobacteria* türleri gibi zararlı mikroorganizmaların sayısı yüksek olduğunda) ise bu topluluk patojen duyarlılığını artırabilir ve inflamasyon, kolon kanseri ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimini tetikleyebilir (Davis, 2018; Flint vd., 2012a; Scott vd., 2008; Zhao, 2013).

Bağırsak mikrobiyotasının sağlık üzerindeki önemli etkilerinden dolayı, son zamanlarda, kolon mikrobiyotasında zararlı mikroorganizma gelişimini baskılayarak faydalı mikroorganizma sayısını artıracak yöntemlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar giderek artmaktadır (Porter ve Martens, 2017). Son yıllarda yapılan çalışmalar, diyet liflerinin insan kalın bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu etkileyen en önemli faktörlerden birisi olduğunu koymuştur, çünkü kalın bağırsakta bulunan mikroorganizmalar çoğalabilmek ve faaliyet gösterebilmek için enerjiye ihtiyaç duyarlar ve bu enerji ihtiyaçlarının büyük kısmını sindirilmeden kalın bağırsağa ulaşan diyet bileşenlerinden (genellikle diyet liflerinden) karşılarlar (Hamaker ve Tuncil, 2014). (Porter ve Martens, 2017; Rezende vd., 2021; Scott vd., 2008) Ayrıca, diyet liflerinin seçici tüketiminin kolonda hangi mikroorganizmaların veya mikrobiyal grupların tercih edildiğini belirlediği ve kolondaki türlerin dengesini etkilediği artık iyi bilinmektedir. Bunun nedeni, diyet liflerinin kimyasal yapılarında farklılık göstermesi ve bağırsak mikroorganizmalarının lif kullanım kabiliyetinin, belirli lif türleri için karbonhidratları kodlayan gen içeriğine bağlı olmasıdır (Koropatkin vd., 2012). Örneğin, β -(1,4) ksiloz bağları ile ve arabinoz dallanma noktalarına sahip olan arabinoksilanın (**Şekil 1a**), insanlaştırılmış farelerin kolonunda bütirojenik bakterilerin (*Roseburia intestinalis*, *Eubacterium rectale* ve *Anaerostipes caccae*) gelişimini arttırdığı tespit edilmiştir (Van den Abbeele vd., 2011). Benzer şekilde aynı etki, inülin (β -(2,1) bağlantılı fruktoz ünitelerinden oluşan yapı) (**Şekil 1b**) takviyeli diyetle beslenen insanların kolonunda da gözlenmiştir (Barcenilla vd., 2000). *Bacteroides-Prevotella* bakteri grubunun ise, β -(1,3) glikoz molekülü ile dönüşümlü olarak iki β -(1,4) glikoz ünitesinden oluşan tekrarlayan

aktivitesinin bir inhibitörü olarak, obezite ve metabolik sendrom dahil olmak üzere farklı hastalıklarda gen ekspresyonunu epigenetik olarak düzenlemesi (Daly ve Shirazi-Beechey, 2006; Mollica vd., 2017), tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) üretimini baskılayarak ve nükleer faktör kappa B' nin (NF- κ B) aktivitesini inhibe ederek anti-inflamatuar etki göstermesi (Lührs vd., 2001), bağışıklık sisteminin düzenlenmesi (Furusawa vd., 2013), epitel bariyerinin korunması (Peng vd., 2009; Ruemmele vd., 2018) ve fare modellerinde bağırsak hormonlarına aracılık etmesi, gıda alımını azaltması ve diyetle bağlı obeziteye karşı koruması (Lin vd., 2012) gibi birçok yararlı sağlık etkisinden dolayı son zamanlarda büyük ilgi görmüştür.

Bütiratın bu yararlı sağlık etkilerinden dolayı, kolonik ortamda bütirat miktarını artıracak bütirojenik bakterileri teşvik etmenin yollarını bulma konusunda artan bir talep olmuştur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, diyet lifleri içinde, dirençli nişasta ve/veya insanların üst gastrointestinal sisteminde sindirilemeyen dirençli nişasta türevlerinin en yüksek bütirojenik etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Baxter vd., 2019; Yu vd., 2019). Dirençli nişasta ve türevlerinin kolonda, spesifik olarak, *Ruminococcus bromii*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Lachnospiraceae* dahil olmak üzere bütirojenik bakterileri teşvik ettiği hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalarla gösterilmiştir, bu da daha yüksek bütirat oluşumuna neden olduğu ve konakçı sağlığını iyileştirmeye önemli bir katkıda bulunduğunu göstermektedir (Appert vd., 2020; Maier vd., 2017; Ze vd., 2012).

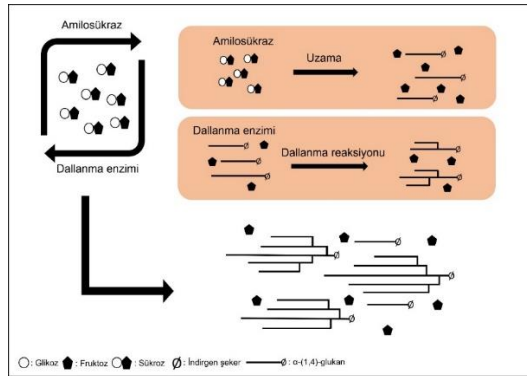


Şekil 2. Dirençli nişastanın kimyasal yapısı (Rezende vd., 2021).

Dirençli nişasta ve dirençli nişasta türevlerinin bütirojenik etkileri, esas olarak, α -(1,6) glikozları ile dallanmış lineer α -(1,4) glikoz birimlerinden oluşan kimyasal yapılarına (Şekil 2) atfedilmektedir (Laurentin & Edwards, 2004; Louis vd., 2021; Mahadevamma vd., 2003; Ze vd., 2012). Nişasta, gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen, gıda ürünlerinin tat ve dokusunu değiştirebilen istenmeyen yapıştırma ve jelleşme özelliklerinin yanı sıra kararsızlığı, birçok gıda uygulamasında prebiyotik (veya bütirat üreten) bir bileşen olarak uygulanmasını kısıtlamaktadır. Bu

nedenle, kimyasal olarak nişastaya benzeyen ve dirençli nişasta kadar yüksek bütirojenik etki gösterebilen, ancak nişastanın istenmeyen teknolojik özelliklerine sahip olmayan fonksiyonel bileşenlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Son yıllarda, nişasta/glikojen benzeri yapılara sahip farklı polisakkarit türleri biyokatalitik olarak sentezlenmiş ve bunlar genellikle enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanlar olarak adlandırılmaktadır (Lee vd., 2013; Sorndech vd., 2016; Tsusaki vd., 2009). Yakın zamanda sükrozun amilosükraz enzimi (E.C. 2.4.1.4) ile işlenmesiyle lineer α -(1,4) glukanlar üretilmiştir (Hong vd., 2019). İlâveten, Dr. Lee ve grubu bu lineer α -(1,4) glukanı bir adım daha ileri götürerek, ikili bir tedavi yöntemi kullanarak α -(1,6) dallı α -glukanları enzimatik olarak sentezlemiştir. Bu yöntemde, lineer α -(1,4) glukanları elde etmek ve glikoz zincirini uzatmak için önce sükroz, amilosükraz (rekombinant *Neisseria polysaccharea*’ dan elde edilen bir enzim- burada NpAS olarak anılacaktır) ile muamele edilmiş, ardından dallanma noktaları eklemek için glikojen dallanma enzimleri (*Rhodothermus obamensis*’ ten elde edilen bir enzim - burada GBE olarak anılacaktır) ile dallanma reaksiyonlarına tabi tutulmuştur (Şekil 3). Ayrıca, bu enzimatik olarak sentezlenmiş dallı glukanların dallanma yoğunluklarının ve moleküler ağırlıklarının, NpAS ve GBE arasındaki farklı oranlarla işleme koşullarını değiştirerek düzenlenebileceğini göstermiştir (Ryu vd., 2022).



Şekil 3. Çok dallı α -glukanların üretimi için eş zamanlı tek kap reaksiyonu (Dr. Byung-Hoo Lee tarafından örneklendirilmiştir).

Ek olarak, bu tür glukanların büyük bir kısmının insan sindirim enzimlerine karşı dirençli olduğu bulunmuştur (Hong vd., 2022; Ryu vd., 2022; Sorndech vd., 2018); bu, tüketilmeleri durumunda üst gastrointestinal sistem geçişi sırasında sindirilemeyeceklerini ve emilemeyeceklerini ve burada yerleşik mikroorganizmalar tarafından kullanılacakları kolona gideceklerini göstermektedir. α -glukanlar, O-6 konumlarında dallanmış α -(1,4) ile bağlanan doğrusal glikoz zincirlerinden oluşan nişasta benzeri kimyasal yapılara sahip olmalarından dolayı, potansiyel olarak yararlı sağlık etkileri sağlayabilecek bütirojenik etkiler (nişasta gibi) göstermeleri beklenmektedir.

Bununla birlikte, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların bütirojenik (prebiyotik) potansiyellerini test etmek için yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Ek olarak, α -glukanların ince yapılarındaki (dallanma oranı, zincir uzunluğu, moleküler ağırlığı vb.) farklılıkların kolonik mikrobiyota bileşimini ne yönde etkilediği henüz açıklığa kavuşturulmamıştır. Bu çalışmada, sabit miktarda *NpAS* ve farklı miktarlarda *RoGBE* sukroz ile reaksiyona sokularak farklı dallanma yapılarına sahip 4 farklı α -glukan sentezlenmiş ve akabinde *in vitro* fekal fermentasyon metodu ile bu yapıların kalın bağırsak mikrobiyota kompozisyonu ve mikrobiyal metabolit oluşumlarına etkileri sırasıyla yeni nesil dizileme teknikleri ve gaz kromatografisi ile belirlenmiştir.



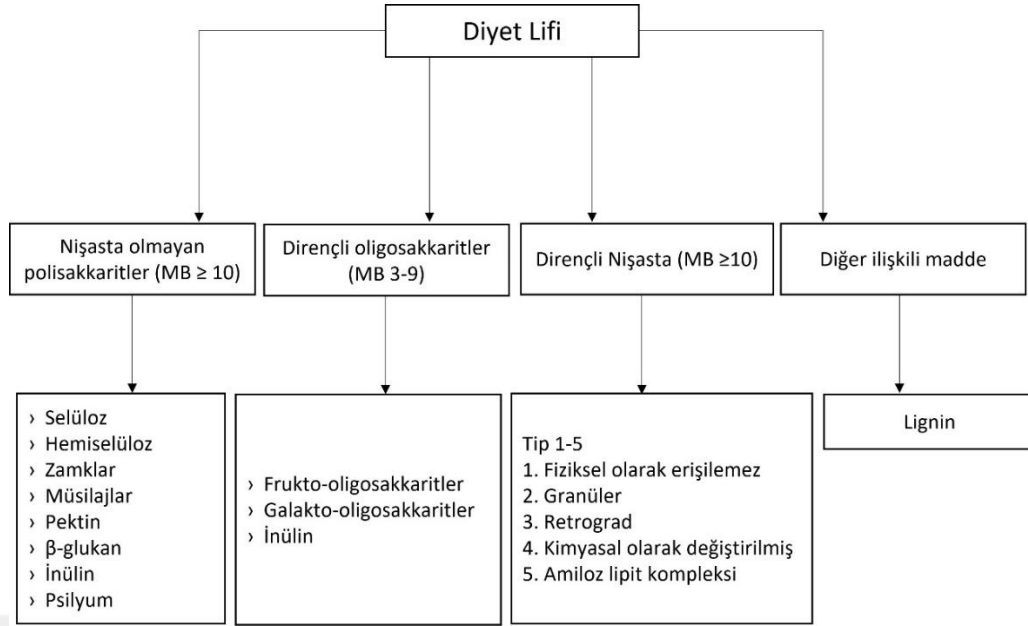
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Diyet Lifi, Türleri ve Fizikokimyasal Özellikleri

"Diyet lifi" (DL) teriminin ilk olarak 1953' te Hipsley tarafından ortaya atılmasının ardından, 1970' lerden itibaren, bununla ilişkili sağlık yararlarına dair artan kanıtlar ışığında resmi tanımlar sağlamaya yönelik girişimler devam etmiştir (Gill vd., 2021; Maćkowiak vd., 2016). 1999' da Seattle, WA, ABD' de düzenlenen AACC (American Association of Cereal Chemists) Yıllık Uluslararası Toplantısında, düzenlenen son çalıştayda, AACC komitesi tarafından diyet lifi "kalın bağırsakta tam veya kısmi fermentasyon ile insan ince bağırsağında sindirime ve emilime dirençli, bitkilerin veya benzer karbonhidratların yenilebilir kısımlarıdır. Diyet lifi terimi sindirilemeyen polisakkaritler, oligosakkaritler, lignin ve ilgili bitki maddelerini içine almaktadır.

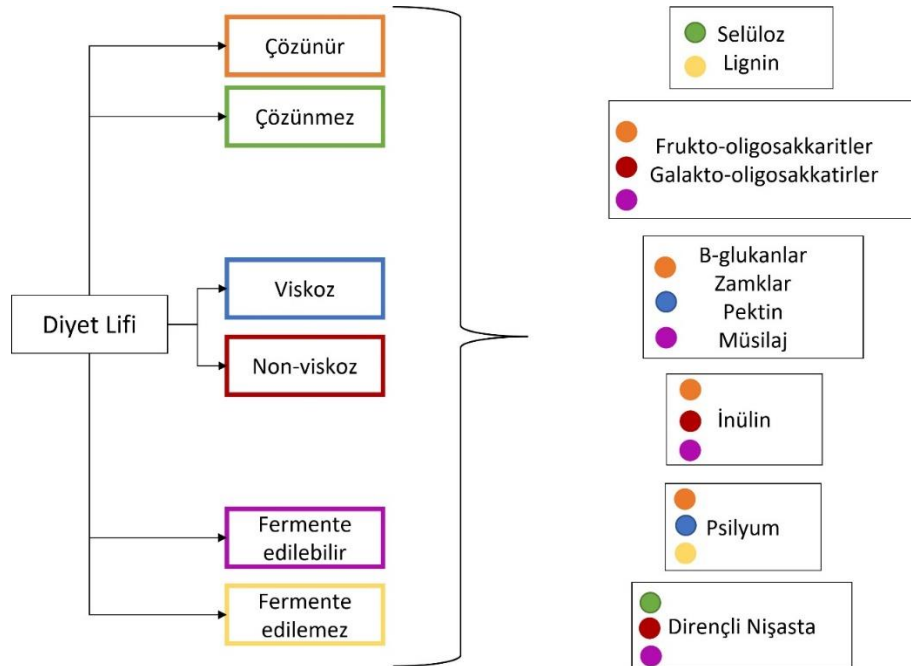
Diyet lifleri, laksasyon (dışkılama, bağırsak temizliği) ve/veya kan kolesterolünün zayıflamasını ve/veya kan glikozunun zayıflamasını içeren faydalı fizyolojik etkileri teşvik eder" şeklinde tanımlanmış ve kabul edilmiştir (McCleary, 2007). Yıllarca süren diyet lifi tanımı tartışmalarının ardından Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ve Codex Alimentarius Komisyonu (CAC) tarafından 2009 yılında küresel olarak yaygınlaştırılmış ve güncellenmiş bir tanım sağlanmıştır (Ferjančić vd., 2022; Gill vd., 2021; McCleary vd., 2015). Bu yeni tanıma göre diyet lifi "insanların ince bağırsağında endojen enzimler tarafından hidrolize edilmeyen ve aşağıdaki kategorilere ait on veya daha fazla monomerik birim (MB) içeren karbonhidrat polimerleri olarak tanımlanmıştır (FAO, 2021):

- Tüketilen gıdalarda doğal olarak bulunan yenilebilir karbonhidrat polimerleri,
- gıda hammaddesinden fiziksel, enzimatik veya kimyasal yollarla elde edilen ve genel kabul görmüş bilimsel kanıtlarla yetkili makamlar nezdinde sağlığa yararlı fizyolojik bir etkiye sahip olduğu kanıtlanmış karbonhidrat polimerleri,
- yetkili makamlara genel kabul görmüş bilimsel kanıtlarla gösterildiği gibi, sağlığa yararlı fizyolojik bir etkiye sahip olduğu gösterilen sentetik karbonhidrat polimerleri (FAO, 2021; Gill vd., 2021).



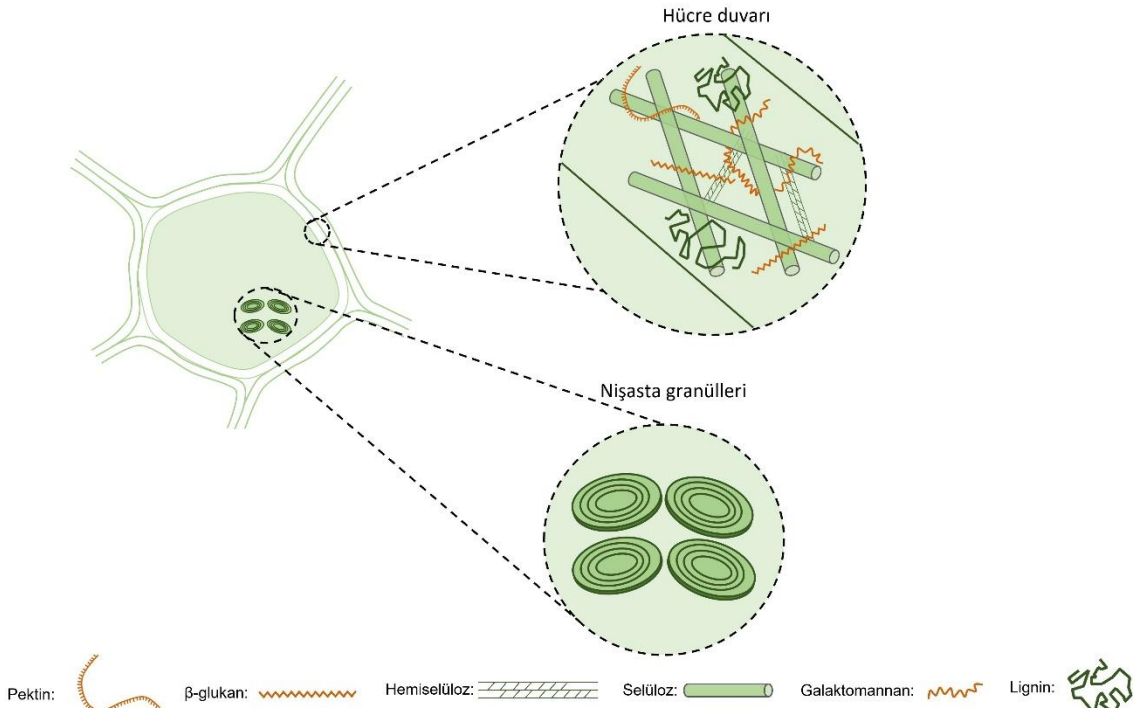
Şekil 4. Polimer uzunluğuna göre diyet lifi alt tipleri. Bu, diyet lifi örneklerinin kapsamlı bir listesi değildir. O'Grady vd. (2019) tarafından verilen veriler doğrultusunda tekrar çizilmiştir.

3-9 monomerik birim sayımlarının dahil edilip edilmeyeceği kararı her ne kadar ulusal makamlara bırakılmış olsa da Avrupa' da minimum 3 monomerik birim sayısı kabul edilmekte ve dirençli (sindirilemeyen) oligosakkaritleri, niştasta olmayan polisakkaritleri ve dirençli niştastayı içermektedir. Ayrıca lignin ve bitki hücre duvarlarındaki polisakkaritler ile ilişkili diğer bileşikler, oligosakkarit veya polisakkarit fraksiyonu ile ilişkili kaldıkları sürece tanıma dahil edilmektedirler (Şekil 4) (O'Grady vd., 2019). Diyet lifi tanımındaki değişiklik, diyet lifi tayini için yeni analitik yöntemlerin geliştirilmesine de yol açmıştır (McCleary vd., 2015).



Şekil 5. Diyet lifinin çözünürlük, viskozite ve fermentasyon ile örtüşen özellikleri. O'Grady vd. (2019) tarafından verilen veriler doğrultusunda yeniden çizilmiştir.

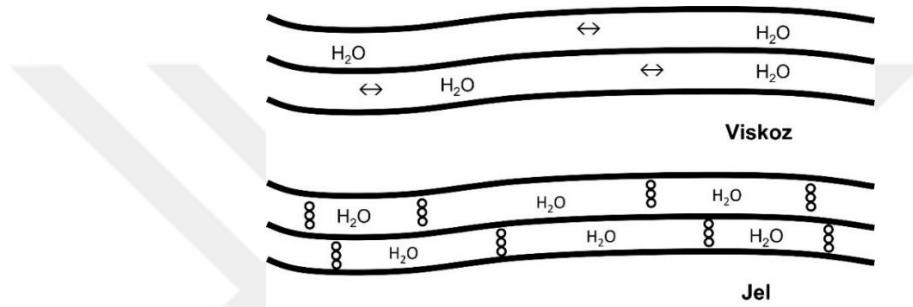
Diyet liflerinin farklı fizikokimyasal özelliklerine (viskozite ve fermente edilebilirlik) göre sınıflandırılması da yapılabiliyorken (Gill vd., 2021; O’Grady vd., 2019), genel olarak suda çözünürlüklerine göre çözünür diyet lifleri (ÇDL) ve çözünmeyen diyet lifleri (N-ÇDL) olarak sınıflandırılabilirler (Şekil 5) (Hu vd., 2023). Diyet liflerinin çoğu, bitki hücre duvarlarının ana yapısal polisakkarit bileşenleridir (Şekil 6) (George vd., 2020). Bu bileşenlerin işlevlerinin açıklanmasındaki karmaşıklık, çeşitli kaynaklardan ve bunların hücre içindeki işlevlerinden (örn. yapısal ve fonksiyonel özelliklerinden) kaynaklanmaktadır (Fuller vd., 2016; Gill vd., 2021). Bu durum, en çok polimer alt birimlerinin bileşimini içeren moleküler yapılarındaki varyasyonda belirgindir, ancak aynı zamanda polimer bağlantılarına ve yan zincirlerine (esterleşme) kadar uzanmaktadır. Diyet lifleri fraksiyonlarının, moleküler yapısındaki bu farklılıklar, fizikokimyasal özelliklerini ve gastrointestinal sistemdeki davranışlarını önemli ölçüde değiştirebilir. Örneğin, bağırsak sindirimine karşı dirençleri, polimer alt birimlerinin uzamsal yöneliminden, dallanmasından veya yan zincirlerin varlığından kaynaklanabilmektedir (Gill vd., 2021).



Şekil 6. Diyet lifinin fizikokimyasal özellikleri ve bitki hücresi içindeki yerleri. Gill vd. (2021) referans alınarak tekrar çizilmiştir.

Liflerin, çözünürlük, fermentasyon derecesi/hızı, viskozite ve jel oluşumu gibi klinik etkinliği sağlayan 4 ana özelliği bulunmaktadır (McRorie, 2015; McRorie ve Fahey, 2013). Çözünürlük, bir diyet lifinin suda çözünüp çözünmeyeceğini veya gizli çözünmeyen parçacıklar olarak kalıp kalmayacağını tanımlamaktadır (McRorie, 2015;

O'Grady vd., 2019). Bir diğer özellik viskozite, bazı çözünür liflerin hidratasyona uğradığında konsantrasyona bağlı bir şekilde "yoğunlaşma" kabiliyetini ifade eder. Jel oluşumu ise, çözünür viskoz liflerin bir alt kümesinin, hidratasyona uğradığında viskoelastik bir jel ile sonuçlanan çapraz bağlar oluşturma yeteneğini ifade etmektedir (Şekil 7) (Dikeman ve Fahey, 2006; McRorie, 2015). Son olarak fermentasyon, ince bağırsakta enzimatik sindirime dirençli olan diyet liflerinin, kalın bağırsak mikrobiyotası tarafından substrat olarak kullanılarak parçalanması sonucu kısa zincirli yağ asitleri ve gaz gibi fermentasyon yan ürünleri üretme hızı ve derecesi anlamına gelmektedir (Dikeman ve Fahey, 2006; Makki vd., 2018).



Şekil 7. Viskoz ve jel oluşturan lineer polimerler. Viskoz lineer polimerleri (üstte) ve jel oluşturan lineer polimerleri (altta) temsil eden çizimlerdir. Uzun zincirli doğrusal polimerler, bitişik liflere paralel yönelir ve konsantrasyona bağlı bir şekilde viskoziteyi artırır. Bazı uzun zincirli doğrusal polimerler ayrıca konsantrasyona bağlı bir şekilde (viskoelastik bir katı gibi davranan) bir jel oluşturan çapraz bağlar oluşturabilir. McRorie (2015) referans alınarak tekrar çizilmiştir.

Buna göre diyet lifleri, yukarıda açıklanan 4 diyet lifi özelliği göz önünde bulundurularak, klinik olarak anlamlı 4 kategoride düşünülebilir:

1. **Çözünmeyen, zayıf fermente edilen lifler (buğday kepeği, selüloz, lignin):** Diyet lifi partikülleri yeterince büyük ve kaba ise sekresyon (salgılama) ve peristaltizmi (kasların kasılma ve gevşemesi) artırmak için bağırsak mukozasını uyararak ve tahriş ederek müshil etki gösterirler. Küçük pürüzsüz parçacıkların önemli bir müshil etkisi yoktur (McRorie, 2015; O'Grady vd., 2019). Suda çözünmedikleri için jel oluşturmaz veya viskoziteyi değiştirmezler ve fermentasyon sınırlıdır. Bu nedenle jelleşmeye bağlı olan sağlık yararlarını sağlamazlar (Kang vd., 2022; McRorie, 2015). Çözünmeyen formların çoğu (büyük ve kaba diyet lifi partikülleri), kolona ulaştıklarında, bağırsak mikrobiyotası tarafından sindirilmedikleri veya çok yavaş sindirildikleri için dışkı hacminin artması ve geçiş süresinin uzaması üzerinde daha büyük bir etkiye sahiptir (Makki vd., 2018; O'Grady vd., 2019).

2. **Çözünür, viskoz olmayan, kolaylıkla fermente edilebilen lifler (inülin, oligosakkaritler, buğday dekstrin, dirençli nişastalar):** Suda çözünür ve hızlı bir şekilde ve tamamen fermente olurlar (O'Grady vd., 2019). Viskozitede önemli bir artış olmamaktadır. Hızlı fermente olmalarına bağlı olarak hızlı gaz oluşumu ve fermentasyon yan ürünlerinden (özellikle KZYA'lerinden) enerji hasadı (kalori alımı) gerçekleşmektedir. Jelleşmediği veya viskozitede bir değişikliğe neden olmadığı için buna bağlı yararlı sağlık etkilerini (kolesterol düşürme veya glisemik kontrolde iyileşme) sağlamazlar (Makki vd., 2018; McRorie ve Fahey, 2013). Prebiyotik etki göstererek kolondaki spesifik bakteri sayısını etkileyebilir (Gill vd., 2021; McRorie, 2015).
3. **Çözünür, viskoz/jel oluşturan, kolaylıkla fermente edilebilen lifler (β -glukan [yulaf, arpa], zamklar, pektin):** Suda çözünerek jel benzeri bir kıvam oluşturmaktadır. Artan kimus (mideden ince bağırsağa geçen yarı sindirilmiş haldeki besin maddeleri) viskozitesi, karbonhidrat yıkımını ve glikoz emilimini yavaşlatarak glisemik kontrolü iyileştirir ve metabolik olarak aktif peptitleri (GLP-1 [kan şekeri düşürücü etkili], PYY₃₋₃₆ [iştah azaltıcı], GLP-2 [bağırsak fonksiyonunu artırıcı], inkretin [kan şekeri seviyesini düşürmek için uyarıcı] ve oksintomodulin [iştah bastırıcı]) serbest bırakmak için mukozal L-hücrelerini (aktif peptit hormonlarını salgılayan enteroendokrin hücreleri) uyarmak üzere besinleri distal ileuma (ince bağırsağın, kalın bağırsağa bağlandığı son kısmı) iletir (McRorie ve Fahey, 2013; O'Grady vd., 2019). Ayrıca viskoz kimus safrayı yakalayıp ortadan kaldırarak, safra üretimini uyarak, yükselmiş serum kolesterolünü düşürücü etki göstermektedir. Kolonik bakteriler tarafından kolayca fermente edilir (gaz oluşumu, fermentasyon yan ürünlerinden [KZYA] enerji hasadı [kalori alımı]) ve fermentasyon sonrasında viskoz/jel özelliklerinin kaybolması nedeniyle önemli bir müshil etki göstermemektedir (McRorie, 2015; McRorie ve Fahey, 2013; O'Grady vd., 2019).
4. **Çözünür, viskoz/jel oluşturan, yavaş fermente edilen lifler (psilyum):** Suda çözünerek viskoz jel oluştururlar ve artan kimus viskozitesi, yukarıdaki gibi besin emilimini yavaşlatarak glisemik kontrol sağlar ve serum kolesterolünü düşürücü etki gösterirler. Fermentasyon sınırlı

(yavaş) olduğu için su ile etkileşime girme kapasitesi kolon boyunca korunmaktadır. Bu sebeple sert dışkıyı yumuşatarak kabızlığı önlemekte ve ishalde gevşek/sıvı dışkıyı sıkılaştırarak ishal önleyici etki göstermektedir (McRorie, 2015; McRorie ve Fahey, 2013; O’Grady vd., 2019).

2.2. Diyet Liflerinin Sağlık Üzerine Etkileri

Günümüzde diyetten veya takviye yoluyla düzenli ve yeterli toplam diyet lifi (TDL) alımının birçok sağlık yararı iyi bilinmektedir (Goff vd., 2018). Diyet lifi açısından zengin gıdaların tüketimi; obezite, tip 2 diyabet (T2D), kardiyovasküler hastalıklar (KVH), koroner kalp hastalığı (KKH), hipertansiyon, yağlı karaciğer hastalığı ve ülseratif kolit (ÜK) gibi hastalıkların oluşma riskini azaltırken veya önlerken; aynı zamanda bağırsak geçişinin/hareketlerinin düzenlenmesi, serum lipid konsantrasyonlarının iyileştirilmesi, glisemik kontrolün (kan şekeri düzeyi) iyileştirilmesi ve bağışıklık kontrolünün geliştirilmesinde de önemli bir rol oynamaktadır (Buttriss ve Stokes, 2008; Jayachandran vd., 2023; Katagiri vd., 2020; Moreno-Chamba vd., 2022; Reynolds vd., 2022; Timm ve Slavin, 2022). Wei vd. (2018), günlük 10 g ve üzeri (10,20,30,40 g diyet lifi/gün) toplam diyet lifi alımının, metabolik sendroma yakalanma olasılığını %12 oranında azalttığını göstermiştir.

Farklı yapılara sahip diyet lifleri, insan vücudunun sağlık mekanizmasının düzenlenmesinde hayati bir rol oynayan farklı fizikokimyasal özelliklere sahiptir. Yapılan çalışmalar, diyet liflerinin su tutma kapasitesi (STK), su şişme kapasitesi (SŞK), yağ tutma kapasitesi (YTK), glikoz adsorpsiyon kapasitesi (GAK) ve kolesterol adsorpsiyon kapasitesi (KAK) vb. gibi fizikokimyasal özelliklerinin fizyolojik fonksiyonlarla yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (He vd., 2022; Tan vd., 2017). Diyet lifleri, su tutma kapasitesi ve su şişme kapasitesi özellikleri ile suyu absorbe ederek; bağırsak peristaltizmini ve bağırsak hareketliliğini artırmakta ve bu sayede kabızlığı gidermektedir (Chao vd., 2008). Aynı zamanda dışkı hacmini artırarak kanserojenleri uzaklaştırırken dışkılamayı teşvik edebilir (Kudou vd., 2022). Yüksek su tutma kapasitesi ve su şişme kapasitesi’ ya sahip çözünür lifin (ÇL) gıda alımını azaltıp azaltmadığını ve bunu tokluk veya doyumluğu veya her ikisini birden teşvik ederek yapıp yapmadığını anlamak için bu özelliklere sahip farklı çözünür liflerin, sıçanlarda gıda alımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. 4 eşit gruba ayrılan otuz iki erkek Sprague-Dawley sıçanı; kontrol diyeti veya %2 konjac unu (KU) içeren diyet, önceden jelatinize edilmiş mumsu mısır nişastası + guar sakızı (MNG) ve önceden jelatinize edilmiş mumsu mısır nişastası + ksantan

sakızı (MNK) içeren diyetlerle 3 hafta beslenmiştir. KU ve MNG grupları, öğün sayısındaki azalma ve öğünler arası aralıkların artmasıyla belirtildiği gibi, esas olarak beslenme davranışındaki azalma ve tokluğun artması nedeniyle gıda alımını azalttığı ve dolayısıyla bireyleri obeziteye karşı koruduğu sonucuna varılmıştır. (Tan vd., 2016). Yağ tutma kapasitesi sayesinde ise yağı adsorbe ederek vücutta aşırı kalori alımını azaltabilir, bu da obezite oluşumunu önleyebilmektedir (Li vd., 2023a). Diyet liflerinin glikoz adsorpsiyon kapasitesi, glikoz metabolizması işleviyle ilgilidir. Diyet liflerinin şekerleri adsorbe etmesi ve bu sayede vücutta fermantasyon sonucunda KZYA' ları üretmesi ile diyabeti önleyebileceği yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Kovatcheva-Datchary vd, 2015; Ylönen vd., 2003). Son olarak kolesterol adsorpsiyon kapasitesi ise diyet lifi yükü ve hidrofobik grup ile ilgilidir. Diyet lifi, safra asitlerini ve kolesterolü bağlayarak veya adsorbe ederek kolesterolü düşürücü etki göstermektedir (Luo vd., 2017). Liu vd. (2016)' nin yaptığı çalışmada; soya kabuklarından ekstrakte edilen çözünür lifin, uygun viskoziteye ve yağ tutma kapasitesine sahip olduğu bulunmuş ve bunun da kolesterol adsorpsiyon kapasitesini artırabildiğini ve böylece kan kolesterol seviyelerini düşürdüğünü göstermiştir. İyi bir kolesterol adsorpsiyon kapasitesine sahip diyet lifleri, kolesterolü adsorbe ederek ve fermantasyon sonucu KZYA' lar üreterek dislipidemi iyileştirmektedir (Mandimika vd., 2012).

İnsan vücudunun sağlık mekanizmasının düzenlenmesinde diğer bir önemli faktör ise kolon mikroflora dengesidir. Kolon mikroflorasında bulunan mikroorganizma türleri arasından bazıları konakçı sağlığı için faydalı olarak hareket etmekte ve besin emilimi, metabolizma, doku gelişimi, bağışıklık homeostazı ve genel sağlığın korunması gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır (Ali vd., 2022). Bu süreçleri; diyet liflerinin, bağırsakta mikrobiyal fermantasyona uğrayarak sağlık üzerinde önemli etkileri olan KZYA' lar [özellikle asetat (%60), propiyonat (%25) ve bütirat (%15)] gibi farklı mikrobiyal metabolitlerin oluşumunu teşvik ederek düzenlemektedir (Koh vd., 2016; Kumar vd., 2020). Bağırsak mikrobiyotasının disbiyoz durumunun obezite, tip 2 diyabet, koroner kalp hastalığı, kanser gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu bulunmuştur (Jia vd., 2023a). Diyet lifi açısından düşük bir diyetle beslenme, kolonik mikrobiyal çeşitlilikte ve KZYA üretiminde azalmaya yol açarken, diğer yandan bağırsak mikrobiyal metabolizmasını, konakçı için zararlı olabilecek daha az uygun olan substratların (özellikle diyet veya endojen olarak tedarik edilen proteinler, lipidler ve konakçı münserleri gibi) kullanılmasına yönlendirmektedir (Makki vd., 2018). Bu nedenle diyet lifi takviyesi, faydalı mikroorganizma seviyelerini teşvik etmekte, toksik mikrobiyal

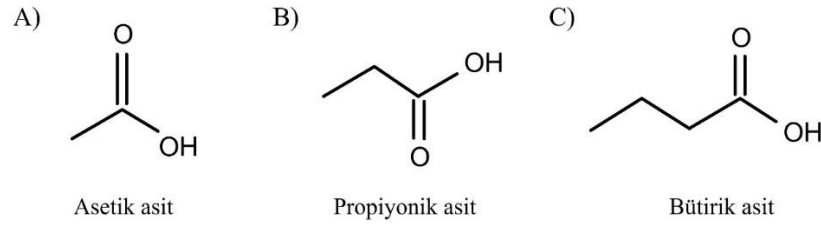
metabolitlerin seviyelerini düşürmekte ve KZYA' ların üretimini artırmaktadır (Koh vd., 2016). Bu yüzden son yıllarda ilgi, değiştirilmiş bağırsak mikrobiyotası ve KZYA' ların üretiminin artırılması uygulamaları üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu uygulamalar konakçının beslenme durumunu iyileştirebilir, insülin direncini azaltabilir ve inflamasyonu hafifletebilir, böylece diyabet ve komplikasyon oluşma riskini azaltabilmektedir (Fu vd., 2022). Örneğin, KZYA' lar, bağırsak epitel hücreleri (BEH) için önemli yakıtlardır ve enteroendokrin hücreler (peptid hormon üretici hücreler) gibi alt popülasyonların poliferasyonunu (çoğalmasını), farklılaşmasını ve fonksiyonlarını modüle etmek, bağırsak hareketliliğini ve bağırsak bariyer fonksiyonlarını düzenlemek ve ayrıca konakçı metabolizmasını güçlendirmek için farklı mekanizmalar aracılığıyla BEH fonksiyonlarını düzenlemektedir (Martin-Gallausiaux vd., 2021). Çalışmalar yüksek lifli diyetlerin tip 2 diyabetli hastalarda glisemik kontroldeki faydalarını kanıtlamıştır (Ojo vd., 2020; Silva vd., 2013). Zhao vd. (2018)' nin yaptığı çalışmada, yüksek lifli diyet tüketiminin, KZYA üreten mikroorganizmaların çeşitliliğini ve bolluğunu arttırmış ve glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) üretimi yoluyla hemogloblin A1c (HbA1c) seviyelerinde daha iyi bir iyileşmeyi teşvik etmiştir. Bu KZYA üreten bakterilerin hedeflenen restorasyonu, T2D' yi hafiflettiği sonucunu göstermektedir.

Diyet lifleri ve kolonda fermentasyonu sonucu oluşan KZYA' lar, anormal bağışıklık tepkilerine bağlı olarak gastrointestinal sistemin kronik iltihaplanması ile karakterize edilen İnflamatuvar Bağırsak Hastalıkları [(İBH); Ülseratif Kolit (ÜK) ve Crohn Hastalığı (CH)] ve bağırsak mikrobiyotasının disbiyoz durumu ile ilişkili olan Kardiyovasküler Hastalıklar (KVH)' ın önlenmesi veya tedavi edilmesinde önemli rol oynamaktadır (Suwannaporn vd., 2013; Tang vd., 2019). Dekstran sülfat sodyum (DSS) ile indüklenen kolitli farelerle yapılan bir çalışmada, alıçtan izole edilen polisakkaritin (HAW1-2) ülseratif kolit üzerindeki olumlu etkileri araştırılmış ve çalışma sonucunda HAW1-2' nin, kolondaki patolojik lezyonları restore ettiğini ve IL-1 β , IL-6 ve TNF- α dahil olmak üzere inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, bağırsak mikrobiyota bileşiminin değiştirildiği ve *Alistipes* ve *Odoribacter* dahil *Bacteriodes*'in önemli ölçüde arttığı bulunmuş; *Alistipes* ve *Odoribacter*' in asetik asit ve propiyonik asit ile pozitif, inflamatuvar sitokinlerle negatif korelasyon gösterdiği gözlemlenmiştir. HAW1-2' nin anti-inflamasyon aktivitesinin asetik asit tarafından indüklenebileceğini kanıtlanmıştır. Mevcut veriler, HAW1-2' nin bağırsak mikrobiyotasını, özellikle *Bacteroides* için, doğrudan değiştirebileceğini ve koliti inhibe etmek için KZYA' lar üretebileceğini ortaya koymuştur (Guo vd., 2021). Epidemiyolojik

çalışmalar, diyet lifi alımının kardiyovasküler hastalık oluşma riskini ve buna bağlı ölüm riskini azalttığını; KZYA' ların, hipertansiyon, miyokard enfarktüsü (kalp krizi), ateroskleroz (damar sertliği), kalp yetmezliği ve iskemik reperfüzyon (kanlanma sonucu doku veya organlarda oluşan hasar) gibi hastalıkları düzenlemede veya oluşma riskini azaltmada etkili olduğunu ortaya koymuştur (Hu vd., 2022; Kwon vd., 2022).

2.2.1. KZYA biyosentezi, absorpsiyonu, dağılımı ve fonksiyonel mekanizması

Diyet liflerinin potansiyel sağlık yararlarının önemli bir kısmı, bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilen mikrobiyal metabolitlerle, özellikle KZYA' larla, ilgilidir (Cai vd., 2020). Kalın bağırsakta mikroorganizmalar tarafından oluşturulan en önemli kısa zincirli yağ asitleri asetat (C2) (**Şekil 8A**), propiyonat (C3) (**Şekil 8B**) ve bütirat (C4) (**Şekil 8C**)'tır(Pan ve Liu, 2023). KZYA' lar, konak immün olgunlaşmasını, enerji metabolizmasını, immün homeostazı ve mukozal bütünlüğü olumlu yönde etkilemesinin yanı sıra (Ali vd., 2022), konakçı üzerinde anti-inflamatuvar, anti-obezite, anti-diyabet, anti-kanser, kardiyovasküler koruyucu, hepatoprotektif ve nöroprotektif etkiler gibi çeşitli biyolojik etkiler de göstermektedir (Xiong vd., 2022).



Şekil 8. (A-C) 3 ana KZYA kimyasal yapısı (Xiong vd., 2022).

Diyet liflerinin bağırsakta monosakkaritlere mikrobiyal dönüşümü ve KZYA' ların üretimi, bağırsak mikrobiyotasının belirli üyelerinin enzimatik repertuarının aracılık ettiği bir dizi reaksiyonu içermektedir (**Şekil 9**) (Ali vd., 2022). KZYA' ların üretimi için başlıca yollar, monosakkaritleri fosfoenol pirüvata (PEP) dönüştüren ve Bifidobakteriler tarafından yürütülen glikolitik yol (EMP) ve pentoz fosfat yoludur (**Çizelge 1**). PEP daha sonra alkollere veya organik asitlere dönüştürülür (Ali vd., 2022; Zhang vd., 2021a). Başlıca KZYA' lardan biri olan asetat, pek çok bağırsak bakterisi tarafından pirüvattan ya Asetil-CoA yoluyla ya da asetatın iki dal yoluyla sentezlendiği Wood-Ljungdahl yolu ile üretilmektedir; 1) C₁-gövde dalı (Doğu şubesi olarak da bilinir); CO₂' nin formata indirgenmesi yoluyla, 2) karbon monoksit dalı (Batı şubesi), CO₂' nin asetil-CoA üretmek için bir metil grubuyla birleştirilerek CO' ya indirgenmesi yoluyla (Koh vd., 2016). Diğer bir ana KZYA olan propiyonat, süksinat yolu aracılığı ile süksinatın metilmalonil-CoA' ya dönüştürülmesinden üretilir. Ayrıca, akrilat yolundan ve deoksiheksoz şekerlerinin

(fukoz ve ramnoz gibi) substrat olarak kullanıldığı propandiol yolundan bir öncü olarak laktat ile akrilattan sentezlenebilmektedir (Koh vd., 2016; Scott vd., 2006). Son olarak bütirat ise, iki asetil-CoA molekülünün yoğunlaştırılmasından ve ardından fosfotransbütirilaz ve bütirat kinaz tarafından klasik yol denilen yolla bütirata dönüştürülebilen bütiril-CoA' ya indirgenmesinden oluşmaktadır. Bütiril-CoA ayrıca bütiril-CoA:asetil-CoA transferaz yoluyla da bütirata dönüştürülebilmektedir (Koh vd., 2016).

Çizelge 1. Kolon mikrobiyotası tarafından KZYA' ların üretimi.

KZYA	Reaksiyonlar	Üretici Mikroorganizmalar	Referans
Asetat	Asetil-CoA yoluyla piritvattan	Enterik bakterilerin çoğu; örn., <i>Akkermansia muciniphila</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>Prevotella spp.</i> , <i>Ruminococcus spp.</i>	Louis vd., 2014; Rey vd., 2010
	Wood-Ljungdahl yolu	<i>Blautia hydrogenotrophica</i> , <i>Clostridium spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i>	
Propiyonat	Süksinat yolu	<i>Bacteroides spp.</i> , <i>Phascolarctobacterium succinatutens</i> , <i>Dialister spp.</i> , <i>Veillonella spp.</i>	Louis vd., 2014; Scott vd., 2006
	Akrilat yolu	<i>Megasphaera elsdenii</i> , <i>Coprococcus catus</i>	
	Propandiol yolu	<i>Salmonella spp.</i> , <i>Roseburia inulinivorans</i> , <i>Ruminococcus obeum</i>	
Bütirat	Fosfotransbütirilaz/bütirat kinaz yolu	<i>Coprococcus comes</i> , <i>Coprococcus eutactus</i>	Duncan vd., 2002; Louis vd., 2014
	Bütiril-CoA:asetat CoA transferaz yolu	<i>Anaerostipes spp.</i> (A, L), <i>Coprococcus catus</i> (A), <i>Eubacterium rectale</i> (A), <i>Eubacterium hallii</i> (A, L), <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> (A), <i>Roseburia spp.</i> (A)	

A: Asetat, bütirat üretimi için substrattır; L: Laktat, bütirat üretimi için substrattır.

Bakteriler, KZYA üretme kapasitelerinde oldukça heterojendir. Yüksek oranda diyet lifi tüketimi ve iyi sağlık tarafından teşvik edilen kommensal bakterilerin optimal çeşitliliği, KZYA üreticilerinin zenginleşmesine yol açar (Kim, 2021). Bu bakteriler, karmaşık karbonhidratları tanıyan ve parçalayan enzimleri (karbonhidrat aktif enzimleri [CAZymes]) kodlayan polisakkarit kullanım lokuslarına (PUL' ler) sahiptir. PUL gen kümeleri, bakterilerin diyet lifleri ve diğer karbonhidratlardan mono- ve disakkaritler oluşturmalarına izin verir. Bu sakkaritler, KZYA' ları üretmek için bakteriler tarafından kullanılmaktadır (Feng vd., 2022; Gálvez vd., 2020; Kappelmann vd., 2019). Diyet lifleri kullanan bakteri türleri, diyet lifi-parçalayan CAZymes' i ifade eder ve DL açısından zengin diyetler, bakterilere bağlı olarak farklı substrat özgüllüğüne sahip mikrobiyom kodlu CAZymes' in ekspresyon seviyesini artırır. Bu nedenle, kolondaki KZYA üretim düzeyi büyük ölçüde mikrobiyal bileşim ve diyetteki DL türleri ve miktarı tarafından belirlenir (Kim, 2023).

mekanizmasında KZYA anyonları, sodyuma bağlı monokarboksilat taşıyıcı-1 (SMCT-1; SLC5A8 olarak da bilinir) tarafından taşınır (Ali vd., 2022; Dalile vd., 2019).

Kolonositler tarafından emildikten sonra KZYA' lar, hücreler için ATP ve enerji üretmek üzere mitokondride sitrik asit döngüsüne girmektedir. Kolonositlerde metabolize olmayan KZYA' lar, portal ven aracılığı ile dolaşıma taşınmaktadır. Karaciğerde, üç KZYA' nın tümü, hepatositler için enerji substratları olarak kullanılmaktadır (Dalile vd., 2019). Üç ana KZYA' dan bütirat, öncelikle kolonositler için doğrudan bir enerji kaynağı olarak hareket ederek kolonik sağlığın korunmasında en önemli KZYA olarak kabul edilmektedir. Bütirat neredeyse tamamen kolonositler tarafından metabolize edilir ve bu nedenle periferik kanda sadece küçük miktarlarda bulunmaktadır (van der Beek vd., 2017). Bütirik asit iştahı azaltabilmekte ve kolit gelişimini iyileştirmek için kolonik düzenleyici T hücrelerinin farklılaşmasını indükleyen bağırsak-beyin nöral devresi yoluyla kahverengi yağ dokusunu aktif etmektedir (Luu vd., 2018; van der Beek vd., 2017). KZYA' lardan en yüksek miktarda bulunan asetatin çoğu proksimal kolonda hızla emilir ve portal vene taşınarak kan-beyin bariyerini geçerek iştahı kontrol edebilmektedir. Asetat tarafından sağlanan enerji, insan vücudunun toplam enerji harcamasının yaklaşık %10' unu oluşturmaktadır (Zhang vd., 2021a). Ayrıca asetat, kolesterol ve yağ asidi sentezi için bir substrattır (Dalile vd., 2019). Propiyonat esas olarak bağırsak epitel hücreleri tarafından karaciğer metabolizması için bir enerji kaynağı olarak emilir ve yağ asidi üretiminin bir inhibitörü ve glukoneogenez için bir öncü olarak görev yapar (Dalile vd., 2019; Zhang vd., 2021a). Ayrıca hafifletilmiş sistemik inflamasyonu, önemli ölçüde zayıflatılmış kardiyak hipertrofiyi, işlev bozukluğunu ve hipertansiyonu ve kan-beyin bariyerinin korunmasını içeren yararlı etkileri de bulunmaktadır (Bartolomaeus vd., 2019; Liu vd., 2021; Yang vd., 2022).

2.2.2. Diyet liflerinin ve KZYA' ların konak üzerindeki etkisi

2.2.2.1. Mukus tabakası ve intestinal bariyer fonksiyonu

Bağırsak bütünlüğü, mukozal homeostazın korunmasında önemli bir faktördür. Bağırsak bütünlüğü, bağırsak luminal içeriği ile konakçı arasında kısmen etkili bir epitelyal bariyerden kaynaklanan etkili bir ayırım ile sağlanmaktadır (Tan vd., 2014). Gastrointestinal (Gİ) yolunun mukozal yüzeyi, bağırsak epitelinin korunmasında kritik bir rol oynayan bir mukus tabakası ile kaplıdır. Mukus, kolonda zirve yapan bağırsağın proksimal-distal eksenini boyunca sayıları artan goblet hücreleri tarafından salgılanmaktadır (Branca vd., 2019). Konak tarafından mikroorganizma istilasını ve enfeksiyonlara yatkınlığı önlemek için kullanılan mekanizmalardan biri, iyi

yapılandırılmış ve bozulmamış mukus tabakasını korumaktır. Aksi takdirde mukus tabakasının zarar görmesi bağırsak epitel bütünlüğünün bozulmasına sebebiyet verecek ve bunun sonucunda kronik düşük dereceli inflamasyona neden olabilen sistemik endotoksemi, İBH, irritabl bağırsak sendromu, kolorektal kanser (KK) gibi çeşitli hastalıkların gelişmesine neden olacaktır (Makki vd., 2018; Tan vd., 2014; Tan vd., 2023b). Van der Sluis vd., (2006)' nin yaptığı bir çalışmada, kolonik mukus tabakasının yapısal bileşeni olan müsin Muc2 eksikliğinin (Muc2^{-/-}) farelerde, kolonda inflamasyona yol açtığı ve 5. haftadan itibaren şiddetli kolitin başlamasına sebep olduğu ve ilerleyen süreçte artarak devam ettiği gözlemlenmiştir. Yine prediyabetik Obez Olmayan Diyabetik (NOD) fareler ve sağlıklı C57BL/6 fareleri ile yapılan bir çalışmada, prediyabetik NOD farelerin bağırsak mukus tabakasında ve plazmasında bulunan ve hücre bölünmesi ve büyümesini destekleyen fosfatidilkolin seviyelerinin azalması ve bunun yanında çekal içerikte KZYA üreten bakteri oranlarının azalmasının bağırsak bariyer disfonksiyonuna ve T1D' ye katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır (Mønsted vd., 2023).

Bağırsak mikrobiyotası ve diyet, bağırsak mukusunun normal yapısını ve üretimini sürdürmek için iki önemli bileşendir. Düşük lifli bir diyetten kaynaklanan değişmiş bir bağırsak mikrobiyotası, mukus tabakasında ciddi bir bozulmaya yol açarak enfeksiyonlara duyarlılığı ve kronik inflamatuvar hastalıkların gelişimini artırabilmektedir (Desai vd., 2016; Johansson vd., 2008; Zou vd., 2018). Diyet lifleri ve KZYA' lar, mukus üretimini ve salgılanmasını uyarır, epitel bariyer fonksiyonunu iyileştirir ve mukozal bağışıklığı modüle eder. Örneğin bütirat, ana enerji kaynağı olarak vücudun yabancı enfeksiyonlara karşı ilk savunma hattı olan bağırsak epitel hücreleri tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Bağırsak epitelyal kriptleri, kök hücre deposudur ve bütirat, bunların dönüşümünü sürdürmede rol oynamaktadır (Liu vd., 2016). Asetat ve bütirat, mukus üretimi ve salgılanması için bir denge sağlar. Asetat üreticisi olan *Bacteroides thetaiotaomicron*, goblet hücresi farklılaşmasını ve müsin ile ilgili genlerin ekspresyonunu desteklemektedir. Aksine, asetat tüketicisi ve bütirat üreten *Feacalibacterium prausnitzii* ise asetatin mukus üzerindeki etkisini azaltarak mukusun aşırı üretimini önler, böylece bağırsak epitelyumun uygun yapı ve bileşimini korumaktadır (Wrzosek vd., 2013).

2.2.2.2. İmmün sistem

Sağlıklı bir bağırsak mikrobiyotası, esas olarak KZYA metabolitleri üreterek bağışıklık sisteminin olgunlaşmasına ve gelişmesine katkıda bulunmaktadır (Rescigno, 2014). Konak bağışıklık sistemi, inflamatuvar sitokinler üreterek bağışıklık sistemini

olumsuz etkileyen patojenleri engellemekte ve bu şekilde bağışıklık sistemini düzenlemektedir. Ancak sitokinlerin gereksiz salgılanması sistemik inflamasyona neden olmaktadır. Burada KZYA' lar immün hücre sitonkinleri, reaktif oksijen türlerini (ROT) ve kemotaksis salınımını modüle ederek sistemik inflamasyonu düzenlemektedir (Ali vd., 2022). KZYA' lar kolon ve ileum hücrelerinin ana enerji kaynağıdır ve ilgili gen ekspresyonunu düzenleyerek bağırsak epitel bariyerini ve savunma fonksiyonlarını etkilemektedir. Makrofajlar, monositler, nötrofiller ve dendritik hücreler gibi doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinin aktivasyonunu ve bağışıklık sistemine katılma işlevini düzenlemektedir. Ayrıca bağışıklık hücreleri olan T ve B hücrelerinin farklılaşmasını ve aracılık ettikleri antijene özgü adaptif bağışıklığı da düzenleyebilmektedir (Corrêa-Oliveira vd., 2016; Yao vd., 2022).

Nötrofiller kemik iliğinden kaynaklanır ve doğuştan gelen bağışıklık sisteminin önemli bir parçasını oluşturan en bol granülosit (akyuvar) türüdür (Rodrigues vd., 2016). İnflamasyon bölgesine ilk ulaşan hücrelerdir ve burada enfeksiyöz ajanlara karşı bir yanıt oluştururlar ve makrofajlar ve hatta daha fazla nötrofil dahil olmak üzere diğer hücrelerin toplanmasını ve aktivasyonunu düzenleyen sitokinleri üretirler (Corrêa-Oliveira vd., 2016). KZYA' lar HDAC inhibisyonu yoluyla TNF gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini düzenleyerek nötrofilleri doğrudan etkiler ve CXCL1 ve CXCL8 gibi kemokinlerin üretimini düzenleyerek nötrofil kemoatraktanları olarak hareket ederler. Ek olarak, KZYA' ların nötrofillerde FFAR2 aktivasyonunun kemotaksisi indüklediği gösterilmiştir (Corrêa-Oliveira vd., 2016; Dalile vd., 2019). Nötrofillerde, KZYA' ların (bütirat) varlığı, hücre modelinde kemotaktik reseptörler C5AR ve CXCR2' nin ekspresyonunu azaltır. Bu nedenle, KZYA' lar (bütirat), nötrofillerin bağırsağa alınmasını azaltmaktadır (Maslowski vd., 2009).

Monositler ise doku homeostazı ve bağışıklıkta çok önemli rol oynayan mononükleer fagositik beyaz kan hücreleridir ve özellikle inflamasyon ve patojen meydana okumalarında önemlidirler (Dalile vd., 2019; van de Wouw vd., 2019). Bir doku veya organın enfeksiyonu üzerine, monositler kan dolaşımını terkederek etkilenen bölgeye yönelir ve makrofajlara ve dendritik hücrelere farklılaşır (van de Wouw vd., 2019). KZYA' lar monositlerin, makrofajların ve dendritik hücrelerin olgunlaşmasını engelleyerek antijenleri yakalama yeteneklerini değiştirir ve IL-12 ve TNF gibi pro-inflamatuvar sitokinleri üretme yeteneklerini azaltırlar (Dalile vd., 2019). KZYA' lar (bütirat), monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1)' in ekspresyonunu ve vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1)' in salınımını azaltabilir, böylece makrofajların

bağırsağa alınmasını ve göçünü düzenlemeye katılabilmektedir. Ayrıca bütirat, insan monositlerinde türetilen dendritik hücrelerde kemokinlerin ekspresyonunu azaltarak elde edilen makrofajların ve DH' lerin alımını inhibi ederek lökosit trafiğini de düzenleyebilmektedir (Yao vd., 2022). Nastasi vd., (2015)' nin yaptığı çalışmada, bütirat ve propiyonat hem olgunlaşmamış hem de olgun insan monosit türevli dendritik hücrelerde gen ifadesini güçlü bir şekilde modüle etmiştir. KZYA' ların (propiyonat ve bütirat); CCL3, CCL4, CCL5, CXCL9, CXCL10 ve CXCL11 dahil olmak üzere çeşitli pro-inflamatuar kemokinlerin salınımını güçlü bir şekilde azalttığı ve bu şekilde lökosit trafiğini modüle ettiği gözlemlenmiştir. Ayrıca bütirat ve propiyonat, üçlü bir anti-inflamatuar etki göstererek IL-6 ve IL-12p40 gibi lipopolisakkarit ile indüklenen sitokinlerin ekspresyonunu inhibe etmiştir.

Son olarak, KZYA' lar T ve B hücresi farklılaşması ve proliferasyonunun doğrudan veya dolaylı modülasyonu yoluyla adaptif immün yanıtları modüle etmektedir. T düzenleyici hücreler (T_{reg}), anti-mikrobiyal bağışıklık ve doku iltihabının düzenlenmesinde merkezi roller oynamaktadır (Kim vd., 2014). Moleküler seviyedeki bu hücreler (T_{reg})' ler, T_{reg} farklılaşmasının ve gelişiminin düzenlenmesinde vazgeçilmez bir rol oynayan ana düzenleyici transkripsiyon faktörü Forkhead box protein P3' ün (FoxP3) ifadesi ile karakterize edilen $CD4^+$ T hücrelerinin immünosupresif alt kümeleridir (Saleh ve Elkord, 2020). Kolon hücrelerinin iltihaplanmasının inhibisyonunda merkezi bir rol sergileyen interlökin-10 (IL-10) üretebilen veya üretemeyen hem FoxP3⁺ T hücrelerini hem de FoxP3⁻ T hücrelerini içeren heterojen bir yapıya sahiptir (Kim, 2021). IL-10, T_{reg} hücrelerinin uyarılması ve korunmasında hayati öneme sahiptir (Bhatt ve Gupta, 2023). Diyet lifleri ve KZYA' lar IL-10 üreten T_{reg} hücrelerin aktivitesini teşvik ederek IL-10 üretimini artırmaktadır (Kim, 2023). Kolajen kaynaklı artrit (KKA) fare modelinde, farelere 5 hafta boyunca oral bütirat (100 mM) uygulaması yapılmış ve bütiratın artrit üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bütirat, IL-1 β , IL-6 ve IL-17A gibi pro-inflamatuar sitokinlerin ifadelerini önemli ölçüde inhibe ederken, IL-10 ifadesini teşvik etmiştir. Ayrıca sistematik T_{reg} hücrelerinin oluşumunu artırmış ve T yardımcı hücresi 17 (T_H17) hücrelerini azaltmış olduğu tespit edilmiştir. Bu veriler bütiratın, kolajen kaynaklı artrit fare modelinde artriti inhibe ettiği ve inflamatuar sitokinlerin ekspresyonunu baskıladığını göstermiştir (Hui vd., 2019).

2.3. Diyet Liflerinin Kalın Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Etkileri

Kalın bağırsak (kolon); insan genomundakinden 150 kat daha fazla gen içeren, yaklaşık 1000' e kadar farklı tür ve toplamda içerik gramı başına $\sim 10^{14}$ bakteri

hücrelerinden oluşan karmaşık ve dinamik bir mikrobiyal ekosistemdir (Kristek vd., 2018; Payling vd., 2020). Sağlıklı yetişkinlerin bağırsak mikrobiyotası, iki baskın filum olan *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* (%90) ve bunun yanında *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Fusobacteria* ve *Proteobacteria*' dan oluşmaktadır (**Çizelge 2**) (Kristek vd., 2018; Wang vd., 2021). *Firmicutes* filumu *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Ruminococcus* gibi 200' den fazla cinse sahiptir. *Bacteroidetes* filumu baskın olarak *Bacteriodes* ve *Prevotella* cinslerine sahipken *Bifidobacterium* cinsi ise *Actinobacteria* filumunu temsil etmektedir (Leung vd., 2016; Ranganathan ve Anteyi, 2022). Bu mikrobiyal popülasyonlar arasında insan sağlığı için faydalı olanlar kadar zararlı (patojenik) olabilecek bakteriler de beraberinde bulunmaktadır. Kolon mikrobiyotasında bulunan bu mikrobiyal popülasyonlardaki denge, yani konakçı ile sağlıklı mikrobiyota arasındaki simbiyotik ilişki, insan biyolojik süreçlerinde ve sağlığın korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Davis, 2018; Makki vd., 2018). Konakçının bağışıklık homeostazının korunması, sindirilemeyen diyet bileşenlerinin fermentasyonu yoluyla bağırsakta enerji üretimi verimliliğinin artırılması, B12 ve K gibi vitaminlerin sentezlenmesi, bağırsak epitel hücre poliferasyonunun kontrol edilmesi, immünolojik savunmanın uyarılması, koruyucu bir bariyer oluşturulması ve potansiyel patojenlerin gelişiminin engellenmesi gibi sağlık üzerindeki faydalı etkiler, dengeli bir bağırsak mikrobiyotası sayesinde sağlanmaktadır (Cai vd., 2020; Kristek vd., 2018). Bağırsak mikrobiyota bileşiminde patojenik bakteri popülasyonundaki artış sonucu dengesizlik (disbiyozis) oluşması durumunda, patojenik bakteriler bağırsak mukus tabakasının spesifik glikanlarını parçalayarak ve metabolize ederek enerji kaynağı olarak kullanılmaktadırlar ve bu şekilde bağırsak epitel bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır (Schroeder vd., 2018). Ayrıca koruyucu mukus tabakası ve epitel dokudaki hasar sonucu kolonda bulunan patojenik bakteriler ve ürettikleri toksik metabolitlerin dolaşıma girmesi ile inflamatuvar hastalıklar, kolorektal kanser, obezite, kolon kanseri, diyabet, alerji, astım ve nörogelişimsel bozukluklar dahil olmak üzere birçok hastalığın gelişmesine de yol açabilmektedir (Cai vd., 2020; Sharma vd., 2022). Bu nedenle dengeli bir mikrobiyotanın sağlanması önem arz etmektedir.

Kolon mikrobiyota bileşimi, çeşitliliği ve işlevi; genetik, konak fizyolojisi (yaş, cinsiyet, stres, hastalık vb.), yaşam tarzı, ilaç kullanımı ve özellikle diyet gibi çevresel faktörlerden etkilenmektedir ve buna bağlı olarak her bireyde farklılık göstermektedir (Ranganathan ve Anteyi, 2022; Yang vd., 2018). Mikrobiyal topluluk bileşimindeki

bireyler arası önemli farklılıklara rağmen; diyet bileşiminin, özellikle diyet liflerinin, mikrobiyota bileşimine ve metabolik işlevine aracılık eden önemli bir çevresel faktör

Çizelge 2. Bağırsak mikrobiyota lokasyonu, bileşimi ve işlevi (Sharma vd., 2022).

Gİ Bölgesi	Baskın Mikrobiyota	Referans
Mide	<i>Firmicutes</i> ² : <i>Lactobacillus</i> , <i>Veillonella</i> <i>Proteobacteria</i> ⁴ : <i>Helicobacter</i>	Buffie ve Pamer (2013); Frank vd. (2007); Lopetuso vd. (2013); Nava vd. (2011); Navab-Moghadam vd. (2017); Picard vd. (2005); Sekirov vd. (2010); N. R. Shin vd. (2015); P. M. Smith vd. (2013); Thomas vd. (2011); Walter ve Ley (2011)
Duodenum	<i>Firmicutes</i> : <i>Bacilli</i> , <i>Streptococcaceae</i> <i>Actinobacteria</i> ³ : <i>Actinomycinaeae</i> , <i>Corynebacteriaceae</i>	
Jejunum	<i>Firmicutes</i> : <i>Bacilli</i> , <i>Streptococcaceae</i> <i>Actinobacteria</i> : <i>Actinomycinaeae</i> , <i>Corynebacteriaceae</i>	
İleum	<i>Firmicutes</i> : <i>Bacilli</i> , <i>Streptococcaceae</i> <i>Actinobacteria</i> : <i>Actinomycinaeae</i> , <i>Corynebacteriaceae</i>	
Kolon	<i>Firmicutes</i> : <i>Lachnospiraceae</i> <i>Bacteroidetes</i> ¹ : <i>Bacteroides</i>	
Epitelyal yüzey	<i>Firmicutes</i> : <i>Clostridium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus</i>	
Mukus tabakası	<i>Firmicutes</i> : <i>Clostridium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus</i>	
Bağırsak lümeni	<i>Bacteroidetes</i> : <i>Bacteroides</i> <i>Actinobacteria</i> : <i>Bifidobacterium</i> <i>Firmicutes</i> : <i>Streptococcus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Ruminococcus</i> <i>Proteobacteria</i> : <i>Enterobacteriaceae</i>	

¹**Bacteroidetes**: Kompleks polisakkaritleri sindirir, kompleks O-glikanları parçalayarak konakçı için enerji kaynağı olan uçucu Kısa Zincirli Yağ Asitleri (KZYA' lar) verir, bağırsak epitel hücre büyümesini ve farklılaşmasını düzenler, bağışıklık sistemini uyarır.

²**Firmicutes**: Son ürün olarak bütirat salgılar, bağırsak epitel sağlığını ve konakçı bağışıklık homeostazını destekler.

³**Actinobacteria**: Bazıları probiyotik etkilere sahiptir, rekabetçi dışlama, bağışıklık modülasyonu, safra tuzu hidrolaz aktivitesi yoluyla patojenlere karşı koruma sağlar, ayrıca bağırsak epitelinin yanı sıra mukusa yapışma kabiliyetine sahiptir.

⁴**Proteobacteria**: Daha az sağlık yararı ile ilişkilidir, disbiyoz ve hastalık riskinin potansiyel bir teşhis imzası olarak hizmet eder.

olduğu yapılan çalışmalar ile kanıtlanmış ve son zamanlarda gittikçe bu konu üzerinde yapılan araştırmalar yoğunlaşmıştır (Louis vd., 2014). Diyet lifi müdahalesi, mikrobiyal gelişme için substratlar sağlayarak ve farklı lif kaynaklarını kullanan çeşitli bakteri türlerinin (probiyotik/patojenik) gelişimini teşvik ederek veya sınırlandırarak bağırsak mikrobiyal ekosistemini değiştirmektedir (Ranganathan ve Anteyi, 2022). Örneğin; 30 C57BL/6 faresi ile yapılan bir çalışmada; fareler rastgele 3 gruba ayrılarak 8 hafta boyunca kontrol (normal diyet), yüksek yağlı (kalorinin %60' ı yağdan gelen diyet) ve yüksek yağlı mısır unu (%20 oranında tam yağlı siyah mısır unu eklenmiş yüksek yağlı diyet) diyetleriyle beslenmiştir. 16s rRNA dizilimi analizi sonucunda siyah mısır unu

[(Black corn (*Zea mays* L.)] ilavesinin *Ruminococcus*, *Roseburia* ve *Prevotellaceae*_UCG-001' nin nispi bolluklarını artırdığını ve *Bacteroides* ve *Faecalibaculum*' u azalttığını göstermiştir. Ayrıca siyah mısır unu tüketimi, goblet hücrelerinin sayısını artırarak çekal morfolojiyi iyileştirdiği gözlemlenmiştir (Verediano vd., 2022). Yine Alves-Santos vd. (2023) tarafından, Baru (*Dipteryx alata* Vog.) meyvesinin işlenmesi sonucunda oluşan bir yan ürün olan ve yüksek oranda çözünmeyen diyet lifi içeren baru posası (%20), frukto-oligosakkarit (FOS, %20) ve substrat içermeyen bir ortam (negatif kontrol) ile yapılan *in vitro* insan kolonik fermantasyon çalışmasında, sonuçlar baru posasının FOS' a kıyasla *Bifidobacterium animalis* ve *Lactobacillus acidophilus*' un gelişimini daha çok artırdığını ortaya koymuştur. Ayrıca fermantasyon sonunda baru posası içeren ortamda, *Lactobacillus-Enterococcus*, *Bifidobacterium* ve *Bacteroides-Prevotella*' nın nispi bolluklarında artış, *Eubacterium rectale*, *Clostridium coccoides* ve *Clostridium histolyticum*' da ise azalma gözlemlenmiştir.

Diyet lifleri, kolonda bakteriyal fermantasyona tabi tutularak bakteri topluluklarının bileşimini değiştirmenin yanında, ayrıca mikrobiyal metabolitlerin (özellikle KZYA' lar) üretimini de gerçekleştirerek ve dolayısıyla her bir metabolit üretimi üzerinde farklı etkiler göstererek mikrobiyal metabolik aktiviteleri de etkilemektedirler (Holscher, 2017). Bu metabolitler arasında sağlık açısından yararlı olan KZYA' lar, özellikle bütirat, kalın bağırsak homeostazının korumasında ve hastalıkların önlenmesinde oldukça önemlidirler (Cai vd., 2020; Xu vd., 2022b). Kleessen vd. (2001)' nin yaptığı bir çalışmada; fermente edilebilir, sindirilemeyen fruktanların (oligofruktoz ve inülin) diyetle dahil edilmesinin, KZYA' lar ve mikrobiyota bileşimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. 5 haftalık 24 erkek mikropsuz Wistar sıçan rastgele dört gruba (n=6) ayrılmış ve her biri sağlıklı bir erkek denekten (30 yaş) alınan taze insan dışkısı ile (3 ml, 1:10 oranında seyreltme) inoküle edilmiştir. İnokülasyonun ardından (10 gün + 7 günlük adaptasyon dönemi) insan dışkı florası ile ilişkili mikropsuz sıçanlar; kontrol olarak ticari standart diyet (Con), Con+50 g kısa zincirli oligofruktoz/kg (OF), Con+50 g uzun zincirli inülin/kg (lcIN) ve Con+50 g OF-lcIN/kg (Mix OF-lcIN) içeren diyetlerle beslenmiştir. Sonuçlara göre kolondaki bütirat miktarı; OF (18,6 µmol/g yaş ağırlık), lcIN (18,1 µmol/g yaş ağırlık) ve Mix OF-lcIN (22,3 µmol/g yaş ağırlık) içeren diyetlerde Con (9,3 µmol/g yaş ağırlık) grubuna kıyasla artış göstermiştir. Bütirattan farklı olarak propiyonat miktarı; Con (18,2 µmol/g yaş ağırlık) grubuna göre, OF (17,8 µmol/g yaş ağırlık) ve Mix OF-lcIN (16,8 µmol/g yaş ağırlık) içeren diyetlerde miktarın azaldığı, lcIN (21,3 µmol/g yaş

ağırlık) grubunda ise arttığı gözlemlenmiştir. Son olarak toplam KZYA miktarında, Con (68,6 $\mu\text{mol/g}$ yaş ağırlık) grubuna kıyasla diğer gruplarda değişen oranlarda artış gözlemlenmiştir.

Diyet liflerinin kolon mikrobiyotası tarafından kullanımı lifin kaynağına, molekül tipine ve bileşimine, anomerik konfigürasyonlara, bağlantı türlerine, doğrusal zincir uzunluklarına, dallı yapı bileşimi ve indirgeyici terminal eklerine bağlıdır. Diyet lifleri bileşim ve yapı bakımında oldukça heterojen ve karmaşık molekül gruplarından biridir. Dolayısıyla mikrobiyal bakteriler basit şekerler elde etmek için bu karmaşık molekülün yapısındaki bağları parçalama konusunda farklı yeteneklere sahiptir (Hamaker ve Tuncil, 2014; Louis vd., 2021). Mikrobiyotanın bu yeteneği, kompleks diyet liflerinin parçalanması için gerekli olan, karbonhidrat aktif enzimleri (CAZymes) kodlayan gen içeriğine bağlıdır (Aakko vd., 2020). Kolon bakterileri, oldukça rekabetçi bir ortamda karbonhidrat bazlı substratları kullanmaktadırlar, dolayısıyla spesifik bir substratı parçalama yeteneğine sahip olanlar; enzim aktivitelerindeki farklılıklar, karbonhidrat bağlayıcı kısımların bağlanma etkinliği, lif partiküllerine ulaşılabilirlik ve hiyerarşik tercih farklılıkları ve/veya öncelikleri gibi faktörlerle ilgili olarak rekabet etme yollarına sahiptirler (Hamaker ve Tuncil, 2014).

İnsan genomunda kodlanan ve karbonhidratların sindiriminde yer alan CAZymes'lerin çok sınırlı olmasına karşın kalın bağırsak mikrobiyota genomları, diyet liflerini kullanmalarını sağlayan oldukça geniş bir CAZymes' repertuarını kodlamaktadır (Hamaker ve Tuncil, 2014). Bazı bakteri türleri substrat olarak çok çeşitli farklı karbonhidratları kullanabilirken (genelciler), bazıları nispeten daha az karbonhidrat kullanmaktadırlar (uzmanlar) (Louis vd., 2021). Buna örnek olarak *Bacteroidetes* filumuna ait *Bacteroides* türleri çok sayıda (>100) genetik polisakkarit kullanım lokusları (PULs) içermektedir. PUL'lar belirli karbonhidratların parçalanması için gereken CAZymes'leri kodlayan gen kümeleridir (Ndeh ve Gilbert, 2018). Bu, bakterilerin birçok farklı karbonhidrat türünün varlığını algılamasını ve bunların parçalanması ve alınması için karşılık gelen işlevleri indüklemesini sağlamaktadır. Bu nedenle *Bacteroides* türleri, birçok farklı substrata erişebilen "genelciler" olarak kabul edilmektedirler (Briggs vd., 2021; Cockburn ve Koropatkin, 2016). Örtüşen substrat spektrumlarına sahip *Bacteroides* türlerinin, bir substrat karışımı üzerinde birlikte büyüdülerinde farklı karbonhidratlara öncelik vererek birbirleriyle rekabeti sınırladığı görülmektedir (Patnode vd., 2019). *Bacteroides ovatus* ve *Bacteroides thetaiotaomicron*'un her ikisinin de bozunabileceği altı farklı glikan içeren bir ortamda her biri ayrı ayrı inkübasyona tabi tutulduğunda, her

bir ayrı tür bazı glikanları öncelik sırasına göre diğerlerinden önce kullanmıştır, ancak her tür için farklı öncelikler söz konusudur ve bu da türe özgü hiyerarşik tercihler hakkında fikir vermektedir. Genel olarak, yüksek öncelikli glikanların varlığı, daha düşük öncelikli besinlerin kullanımında yer alan genlerin transkripsiyonunu baskılamıştır. Bununla birlikte, bazı glikanlara karşı transkripsiyonel duyarlılık ortamdaki kalıntı konsantrasyonuna göre değişiklik göstermiş, yüksek öncelikli substratları hedef alan bazı PUL' lar, hedef glikanları çoğunlukla tükendikten sonra bile yüksek oranda ifade edilmeye devam etmiştir (Tuncil vd., 2017). Liu vd. (2020b)' nin yaptığı benzer bir çalışmada ise insan bağırsak mikrobiyota üyeleri olan beş bakteri türünden (*Bacteroides ovatus*, *Bifidobacterium longum* subspecies *longum*, *Megasphaera elsdenii*, *Ruminococcus gnavus* ve *Veillonella parvula*) oluşan bir kokültür tarafından 4 farklı bitki polisakkarit (arabinoksilan, ksiloglukan, β -glukan ve pektin) karışımının ne ölçüde ve hangi tercih sırasına göre kullanıldığı incelenmiştir. *B. ovatus* glikanları; β -glukan, pektin, ksiloglukan ve arabinoksilan sırasına göre kullanırken; *B. longum* subsp. *longum* ise öncelikli olarak arabinoksilani ve ardından sırasıyla arabinan, pektin ve β -glukan' ı kullanmıştır. Sonuç olarak bu çalışmalar, insan homeostazını korumak ve insan fizyolojisini faydalı bir şekilde etkilemek amacıyla farklı yapılarda diyet lifi müdahalesi ile bağırsak ekosisteminin ortaya çıkan özelliklerindeki değişiklikleri tahmin etme fırsatı tanımaktadır.

2.3.1. Diyet lifleri kimyasal yapılarının kalın bağırsak mikrobiyota bileşimi ve metabolitler üzerindeki etkileri

Birçok faktör, karbonhidratların yapısını ve dolayısıyla bağırsak mikrobiyotası ve sonrasındaki çapraz besleme ağları tarafından metabolizmasını etkilemektedir. Yapısal hiyerarşi, makro yapı, mezo yapı ve moleküler yapı olmak üzere üç kategoriye ayrılabilir. Makro yapı, epidermis parçaları, kepek tabakası, vasküler doku ve diğer tanımlanabilir bitki dokuları gibi çıplak gözle görülebilen yaklaşık 0,2 mm' den daha büyük yapıları açıklamaktadır. Genellikle bu yapılara erişim için uyarlanmış uzman bakteriler tarafından parçalanmaktadırlar (Payling vd., 2020). Örneğin; *R. bromii*, saf kültürde büyüme için malto-oligosakkaritleri kullanabilirken, maltozu kullanma yeteneği sınırlıdır ve glikozu kullanamamaktadır. Aynı zamanda birincil ayrıştırıcı ve kilit taşı türü olarak bilinen *R. bromii* dirençli nişastaya üstün erişim sağlayan benzersiz amilaz kompleksleri üretebilmekte ve diğer bazı bakteri türleri (*Eubacterium rectale*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bifidobacterium adolescentis*) tarafından dirençli nişasta kullanımını teşvik etmektedir (Kim vd., 2017; Ze vd., 2012).

Makro yapılar, insan beslenmesinde bitkisel gıdalardan elde edilen dirençli nişasta, selüloz ve bazı hemiselülozları içeren gıda bileşenlerinden alınmaktadır. Bu bileşenler mezo ve moleküler ölçekte yapılara ayrılabilir; ancak diyet, makro yapı olarak alınmayan oligosakkaritler ve şekerler gibi mezo yapılar da sağlayabilir (Flint vd., 2012a). Gıda işlemenin yapısı üzerinde etkili olduğu mezo yapı ise nişasta granülleri ve bitki hücreleri gibi ışık mikroskobu altında görülebilen mikrometre boyut aralığındaki yapısal özelliklerle ilgilidir (Payling vd., 2020). Moleküler yapı ise, atomların ve tekrar eden polimer birimlerin nasıl düzenlendiğini tanımlamaktadır. Fermantasyon, substrat özgüllüğünün kimyasal bir bağ veya amino, fosfat veya metil grupları gibi fonksiyonel bir grupla ilişkili olduğu enzimatik hidroliz tarafından yönlendirildiğinden dolayı, moleküler yapı tüm bakterilerin metabolizmasını etkilemektedir (Zhang vd., 2016).

Bir substratın makro yapısı, çözünürlük, yapısal düzen, viskozite, suyun bağlanması, iyonlar, organik moleküller, mikroorganizmalar ve fermantasyon özellikleri dahil olmak üzere fiziksel özelliklerle ilgilidir (Payling vd., 2020). Karbonhidratların çözünürlüğü bakteriyel enzimatik bozulmayı ve dolayısıyla fermantasyon hızını ve kapsamını etkilemektedir. Yüksek çözünürlüğe sahip ve yapısal olarak düzensiz karbonhidratlar proksimal kolonda hızlı bir şekilde fermente edilebilirken, daha az çözünürlüğe sahip ve daha düzenli karbonhidratların parçalanması daha uzun sürebilmektedir. Bu nedenle kolonun distal bölgelerinde bakteri popülasyonu tarafından kullanılabilir (Koropatkin vd., 2012). Buna örnek olarak; *Bacteroides* bolluğu, genellikle, çözünmeyen substratların çözünür substratlara kıyasla daha fazla fermantasyonunun olduğu distal kolonda daha yüksektir, ancak nişleri, bu tür substratlar için rekabet edecek gelişmiş sistemlere sahip olduğundan, çözünür substratların kullanımına daha fazla yönelik görünmektedir (Lopez-Siles vd., 2012).

Viskozitenin mikrobiyota bileşimi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise farklı agar konsantrasyonları (%0, %0,30 %, .45 ve %0,60) ile fekal mikrobiyota aşılansın ve 48 saat inkübasyon sonrasında, viskozitenin *Clostridium* spp.'nin gelişimini desteklediği gözlemlenmiştir. Aksine, *Enterococcus* cinsi üyeleri ise viskozite artışı ile negatif korelasyon göstermiştir. Bu sonuçlar viskozite farklılıklarının mikrobiyota modülasyonunda etkili olabileceğini göstermektedir (Tamargo vd., 2018).

Mezo yapı, polimerlerin mikrometre boyutundaki yapılar halinde üç boyutlu olarak düzenlenmesini ifade etmektedir. Selüloz, insan beslenmesinde yaygın olan bir polimerdir ve bağırsak mikrobiyotası tarafından kullanımını etkileyen belirli mezo yapılarda düzenlenmiştir. Selülozun bireysel polimerleri hidrojen bağı yoluyla

mikrofibriller halinde bir araya getirilir (Flint vd., 2012a). Mikrofibril yapısı yarı kristaldir, yani makro yapılarda tartışıldığı gibi düzenlilik açısından değişen hem amorf hem de kristal fazlar içerir. Kristalin bölgelerde polimerler tekrar eden homojen bir düzende sıkıca paketlenirken, amorf bölgelerde polimerler rastgele dağılır ve bu da kristalin bölgelere göre daha az mekanik güç ve dirençle sonuçlanmaktadır (Zhang, 2014). Mikrofibrillerin bu organizasyonu mikrobiyal çapraz beslenmeyi etkiler çünkü yüksek kristalli selüloz, amorf selüloza kıyasla enzimatik hidroliz için çok daha az erişilebilirdir. Amorf selüloz daha hızlı fermente edilir ve yüksek kristalli selüloza kıyasla substrat ve metabolik çapraz besleme için daha yüksek konsantrasyonda son ürün üretir (Flint vd., 2012a).

Nişasta, mezo yapının mikrobiyotaya çapraz besleme zincirini nasıl etkilediğinin bir başka örneğidir. Nişasta, doğal granül nişastanın ısıtıldığı jelatinleştirilmiş nişasta da dahil olmak üzere çeşitli formlarda (DN₁, DN₂, DN₃, DN₄, DN₅) bulunabilir, granüller suyu emer, şişer ve polimerleri süzerek nişasta polimerlerini sindirime oldukça erişilebilir hale getirir. Bu yapısal farklılıklar nişastanın bakteriyel fermentasyon için kullanılabilirliğini etkiler; ancak yine de her dirençli nişasta türü içinde yapısal çeşitlilik vardır (Granfeldt vd., 1995). Mezo yapıdaki farklılıklar, farklı bakteri gruplarının, işlevselliklerine bağlı olarak dirençli nişasta formasyonlarıyla ilişki kurmalarına neden olur. Kristalite bakımından farklılık gösteren ili farklı DN₃ polimorfu ile yapılan *in vitro* kesikli fermentasyon çalışmasında, iki substratın farklı bakteri gruplarının bol miktarda arttığı gözlemlenmiştir. Polimorf A *Atopobium* bolluğunu artırırken, polimorf B ise *Bifidobacteria* bolluğunu artırmıştır. Bu durum mezo yapıdaki farklılıkların tek bir DN türünde bile mikrobiyal fermentasyon ve ekolojiyi nasıl etkileyebileceğini açıklamaktadır (Lesmes vd., 2008).

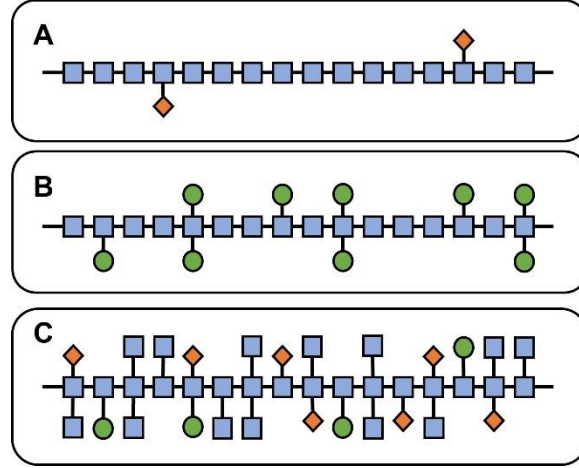
Makro ve mezo yapıların yanında karbonhidratların mikrobiyotaya tarafından spesifik kullanımını etkileyen önemli diğer bir faktör ise karbonhidratların moleküler (ince yapı) yapısıdır. Karbonhidratların dallanma oranı, polimerizasyon derecesi ve moleküler ağırlığı, glikozidik bağlantılar, şeker kompozisyonu ve esterleşme derecesi mikrobiyotaya tarafından kullanılma önceliğini ve oranını etkilemektedir (Payling vd., 2020). Bu etki, bakterilerin karbonhidrat kullanım lokusları (PUL) ile karbonhidratların nasıl eşleştiğine bağlıdır.

2.3.1.1. Dallanma yapısı

Dallanma, doğrusal bir formun aksine dallanma noktaları içeren polimerlerin organizasyonunu ifade etmektedir. Bu hem moleküler yapıyı hem de makro yapıyı

etkilemektedir. Dallanma yapısı, bir polimerin fermente edilebilirliğini artırabilir ya da azaltabilir. Örneğin arabinoksilanlar (AX), arabinoz dalları olan bir ksiloz omurgadan oluşmaktadırlar. Taze insan dışkı materyali kullanılarak yapılan in vitro fermentasyon modeline göre, yüksek derece dallanma oranına sahip AX' lerin, daha düşük derece dallanma oranına sahip AX' lerden daha az fermente edilebilirliğe sahip olduğu ortaya koyulmuştur (Amrein vd., 2003). Diğer taraftan, dallanmalar substrat mezo yapısı ile etkileşime girerek kristal oluşumuna müdahale edebilir ve kristallliği azaltabilir. Yukarıda da bahsedildiği üzere, nişastanın amorf bölgeleri, kristalin bölgelere kıyasla daha az düzenli ve daha fazla dallanmış bölgelerden oluşmaktadır. Bu durum, daha fazla dallanmaya sahip moleküllerin daha düşük kristallliğe sahip olduğu ve dolayısıyla daha fermente edilebilir olduğu beklentisini doğurmaktadır (**bkz. 2.3.1**) (Lesmes vd., 2008).

Polimer dallanmasının fermente edilebilirlik üzerindeki etkisi, söz konusu spesifik polimere; dallar arasındaki bağlantılara ve kristallik duyarlılığının yanı sıra mevcut bakteri popülasyonuna ve dallanma noktalarını hidrolize etmek için sahip oldukları enzimatik repertuara bağlıdır (Payling vd., 2020). Centanni vd. (2017)' nin yaptığı bir çalışmada Yeni Zelanda keteni (YZ keteni) tarafından üretilen yüksek oranda dallanmış bir ksilan kullanılarak bir kommensal bakteri koleksiyonu kültürde büyüme açısından taranmış ve kayın ağacından elde edilen ksilan ve buğdaydan elde edilen arabinoksilan ile karşılaştırılmıştır (**Şekil 10**). Yapılan analizler sonucunda bazal ortam (karbonhidrat kaynağı içermeyen)' a kıyasla YZ keten ksilanı *B. ovatus* ATCC 8483 ve *B. xylanisolvens* DSM 18836' nın gelişimini önemli ölçüde teşvik etmiştir. Fakat buğday arabinoksilanı suş düzeyinde keten ksilanına kıyasla *B. ovatus* ATCC 8483' u daha fazla teşvik ederken, *B. xylanisolvens* DSM 18836' yı birbirine yakın oranlarda teşvik etmişlerdir. Aynı zamanda aralarında önemli farklar olsa bile buğday arabinoksilanı ve kayın ağacı ksilanının *B. cellulosilyticus* DSM 14838' un gelişimini önemli oranlarda teşvik ettiği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, bakteri türlerinin, dallanma oranları ve yapılarına bağlı olarak farklı özellikteki karbonhidratları kullanma yeteneği; bu karbonhidratları parçalayan enzimleri kodlayan farklı PUL gen kümelerine bağlı olduğu kanıtlanmıştır.



Şekil 10. A) Kayın ağacından elde edilen ksilan, **B)** buğdaydan elde edilen arabinoksilan ve **C)** Yeni Zelanda keteninden elde edilen ksilan. Semboller: ksiloz (mavi kare), glukuronik asit (kırmızı elmas), arabinoz (yeşil daire). Centanni vd. (2017) referans alınarak tekrar çizilmiştir.

2.3.1.2. Polimerizasyon derecesi ve moleküler ağırlık

Polimerizasyon derecesi (DP) bir polimer zincirindeki şeker sayısını ifade eder, bu nedenle doğrudan moleküler ağırlıkla (MA) ilişkilidir. Dolayısıyla yüksek polimerizasyon derecesine sahip moleküller aynı zamanda daha yüksek moleküler ağırlığa sahiptir. Bakteriyel kullanım için önemli bir faktördür ve daha düşük bir DP, bakteriyel tüketim ve büyüme için genellikle daha uygundur (Payling vd., 2020).

Bu strateji, özellikle *Bifidobacterium*' un bağırsak popülasyonlarını teşvik etmek için prebiyotik konseptinde kullanılmaktadır. Daha kısa frukto-oligosakkarit zincirleri (FOS) (çoğunlukla DP < 20) *Bifidobacterium* tarafından daha büyük ölçüde fermente edilir ve daha uzun zincirli FOS' a (DP > 20) göre daha fazla laktat ve asetat üretir, bu nedenle daha yüksek bir polimerizasyon derecesi fermente edilebilirliği azaltabilmektedir (Perrin vd., 2002).

Düşük polimerizasyon derecesine sahip (SI, DP < 10) ve polimerizasyon derecesi > 10 olan yüksek polimerizasyon derecesine sahip inülinin (HI, DP > 10) yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenen tip 2 diyabetik farelerde miyokard hasarı üzerindeki etkileri ve bunun altında yatan mekanizma araştırılmıştır. Tip 2 diyabetik farelere altı haftalık HI takviyesi, SI ile karşılaştırıldığında kan glikozu, insülin ve trigliserit seviyelerini önemli ölçüde iyileştirmiştir. HI, TNF- α , IL-1 β ve CK-MB' yi baskılayarak ve SDF-1 β ' yi teşvik ederek miyokardiyal hasarı iyileştirmede SI' ya göre daha avantajlı etkilere sahip olduğu bildirilmiştir. SI ile karşılaştırıldığında, HI, YYD ile beslenen tip 2 diyabetik farelerde *Firmicutes* bolluğunu %60,5' ten %36,3' e düşürmüştü ve cins düzeyinde *Muribaculum*, *Blautia* ve *Ruminococcaceae*_UCG-011 bolluğunu artırmıştır. Metabolomikler hem düşük performanslı inülin hem de yüksek performanslı inülin takviyesinin triptofan

metabolizmasını, safra asidi metabolizmasını, sfingolipid metabolizmasını ve araşidonik asit metabolizmasını düzenlediğini, HI takviyesinin ise SI ile karşılaştırıldığında prostaglandin h2' yi artırdığını ortaya koymuştur. Özetle, yüksek polimerizasyon derecesine sahip inülin, düşük polimerizasyon derecesine sahip inülin ile karşılaştırıldığında miyokardiyal hasar ve bağırsak mikrobiyota disfonksiyonunun üstün pozitif düzenlemesini sergilemiştir (Jia vd., 2023b).

Tahıl tanelerinden elde edilen önemli bir diyet lifi olan arabinoksilan (AX), esas olarak kalın bağırsakta bağırsak bakterileri, özellikle de bifidobakteriler tarafından metabolize edilmektedir. Buna istinaden, tek karbon kaynağı olarak AX ile iyi büyüeyebilen bir *Bifidobacterium longum* suşu tarafından buğday AX' inin alımı ve metabolizması araştırılmıştır. Farklı sürelerde (10, 30 ve 60 dk) hidrolizasyon sonucu elde edilen AX hidrolizatların (AX-10, AX-30, AX-60) moleküler ağırlıkları (MA) ile bakteriyel büyüme oranları önemli bir korelasyon göstermiştir. Genel olarak, AX (MA ~ 359,829 Da), AX-10 (MA ~ 39,499 Da) ve AX-30 (MA ~ 8,650 Da) dahil olmak üzere nispeten yüksek MA' a sahip orta derecede hidrolize edilmiş ürünleri, *B. longum* gelişimi için düşük MA' lı AX-60 ve AX' in bileşen monosakkaritlerinden çok daha elverişli olduğu gözlemlenmiştir. Tek sübstitüsyonlu ve yeterince yüksek moleküler ağırlıklı doğal veya kısmen hidrolize AX' in tercih edilmesi, bakteri hücreleri tarafından yapıya bağlı alım olduğunu göstermiştir (Song vd., 2020).

Konjak glukomannan (KGM), çok çeşitli moleküler ağırlıklara sahip hipoglisemik bir polisakkarittir. Farklı moleküler ağırlıklara sahip konjak glukomannanlar ile yapılan çalışmalarda hipoglisemik etkisi olduğu kanıtlanmıştır (Deng vd., 2020). Bunun üzerine yapılan bir çalışmada, tip 2 diyabetik (T2D) sıçanların hipoglisemik etkileri üzerindeki olası mekanizmayı araştırmak için orta moleküler ağırlıklı (KGM-M; 757,1 kDa) ve düşük moleküler ağırlıklı (KGM-L; 87,3 kDa) KGM' ler kullanılmıştır. Sonuçlar, KGM-M' nin açlık kan şekerini düşürme, insülin direncini azaltma ve inflamasyonu iyileştirme konusunda KGM-L'den daha iyi etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Daha ileri mekanizma analizi, KGM-M' nin bağırsak florası çeşitliliğini ve *Ruminococcus* ve *Lachnoclostridium* bolluğunu daha iyi zenginleştirdiğini, buna artan kısa zincirli yağ asitleri (KZYA' lar) üretimi ve G-proteinine bağlı reseptörlerin (GPCR' ler) ekspresyonunun eşlik ettiğini ve safra asidi sentezi üzerinde iyileştirilmiş düzenlemenin eşlik ettiğini göstermiştir. Ayrıca, KGM-M, *Actinobacteriota*' yı aşağı regüle edip *Bacteroidota*' yı artırırken, KGM-L ise *Bacteroidota* üzerinde çok az etkisi olmuş ancak *Actinobacteriota*' yı artırmıştır. KGM-

M, muhtemelen bağırsak mikrobiyotası, KZYA üretimi, GPCR ekspresyonu ve safra asidi sentezi inhibisyonu üzerindeki daha iyi etkileri nedeniyle KGM-L' den daha yüksek hipoglisemik aktivite göstermiştir (Deng vd., 2023).

2.3.1.3. Glikozidik bağlantılar

Glikozidik bağlantılar, monosakkaritler arasındaki bağlantı bağının doğasını tanımlar. Monosakkaritler birden fazla hidroksil grubuna sahiptir, bu da çeşitli glikozidik bağlantıların mümkün olduğu anlamına gelmektedir (Berg vd., 2002). Bağlantı yapısı, anomerik karbon ve glikozidik bağlantının yapıldığı oksijen tarafından belirlenmektedir. Bağlantılar anomerik merkezler arasında da olabilir (Sinnot, 2007). Bu faktörler bakteriyel enzimlerin özgüllüğünü etkilemektedir. Tüm bakteriler tüm enzimleri üretme yeteneğine sahip olmadıkları için spesifik glikozidik bağlantı, tamamlayıcı enzimi üretebilen bakteriler tarafından hedeflenmektedir (Payling vd., 2020).

Glikozidik bağ özgüllüğü, *Bifidobacterium*' un prebiyotik büyümesini teşvik etmek için kullanılan kilit faktörlerden biridir. Fruktoligosakkaritlerdeki β -(2,1) bağı, *Bifidobacterium* tarafından üretilen β -fruktofuranosidaz enzimleri tarafından parçalanır. Ancak araştırmalar, *Bacteroides*, *Lactobacillus* ve *Clostridium* türleri de dahil olmak üzere diğer türlerin de bu bağı bozabildiğini ortaya koymuştur (Casci vd., 2005).

Farklı glikozidik bağlantılar içeren yulaf β -glukan (YG), yulaf dirençli nişasta (YDN) ve tam yulaf gıdalarının (TY) faydalı etkilerini karşılaştırmak ve yüksek yağlı diyetle T2D oluşturulan sıçanlarda bağırsak mikrobiyotasının temel filotipleri ile tip 2 diyabet (T2D) indeksleri ve inflamasyon indeksleri arasındaki ilişkilerin araştırılmıştır. YG, YDN ve TY bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu değiştirerek *Clostridium* ve *Butyricoccus* cinslerini artırırken *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Oscillospira* ve *Ruminococcus* cinslerini azaltmıştır (Yingying vd., 2020).

İzomaltodextrin (IMD), nişastanın moleküler zincir yapısının glikoziltransferazlar kullanılarak yeniden yapılandırılmasıyla enzimatik olarak üretilen yeni bir diyet lifidir. Farklı glikozidik bağlara ve moleküler ağırlığına sahip IMD' lerin 24 saatlik in vitro fermentasyonundan sonra mikrobiyal kompozisyondaki değişiklikler 16S rRNA gen dizilimi ile filum ve cins seviyelerinde araştırılmıştır. IMD' nin, yapısında α -(1,2) bağları içermesi *Bacteroidetes*' in nispi bolluğunu artırmıştır. α -(1,6) doğrusal ve α -(1,3) dallı IMD' ler *B. longum*, *B. breve*, *B. adolensentis* ve *B. animalis* subsp. *lactis* üzerinde α -(1,2) ve α -(1,2/3) dallı IMD' lerden daha güçlü büyümeyi teşvik edici etkiler sergilemiştir. Ayrıca, *E. faecalis*' in IMD' ler üzerindeki büyümesi yavaşken, *E. coli*' 'nin büyümesinin

6 saatte durduğu görülmüş, bu da IMD' leri bir enerji kaynağı olarak kullanamadığını göstermiştir (Wei vd., 2022).

2.3.1.4. Şeker kompozisyonu

Şeker bileşimi, bir polimerin monosakkarit ve disakkarit bileşimini ifade etmektedir. Homopolimerler, sadece glikozdan oluşan nişasta veya selüloz gibi tek bir monosakkarit türünden oluşurken, heteropolimerler ise birkaç farklı monosakkaritten oluşmaktadır. Arabinoksilanlar ve galaktomannanlar iki tür monosakkaritten oluşurken, pektin çok daha karmaşıktır ve galaktoz, arabinoz, ramnoz ve ksiloz içeren yan zincirlerle birlikte galakturonik asit veya ramnogalakturonan omurgasına sahiptir (Flint vd., 2012a; Onumpai vd., 2011).

Bazı mikroorganizmalar hiyerarşik yapıda farklı şekerleri tercih etmektedir. Örneğin, *Escherichia coli* tercihen laktoz yerine glikozu kullanacaktır, ancak bu tercihlili hiyerarşi çok büyük fenotipik varyasyona sahiptir. Bir *E. coli* suşu içinde bile, çalışmalar tek hücreli tepkileri ve şeker kullanım tercihiyle ilgili alt popülasyonların farklılığını fark etmiş, bu da karbonhidrat kullanımının alt suşa özgü olabileceğini düşündürmüştür. Bu nedenle, şeker bileşiminin çapraz besleme üzerindeki etkisi, farklı şekerlerin mevcudiyetinden ve bunların söz konusu suşun bir kullanım hiyerarşisi ile ilgili olup olmadıklarından etkilenmektedir (Beisel ve Afroz, 2016).

2.3.1.5. Esterleşme

Birçok bitki hücre duvarı polimeri O-asetillidir, burada polimer omurgası ve/veya yan zincirlerdeki bir oksijen atomuna bir asetil grubu eklenir. Bu ikameler selüloz, glikoproteinler ve bazı çim glukanları hariç tüm hücre duvarı polimerlerinde bulunabilir ve asetilasyonun derecesi türe, doku tipine ve gelişim durumuna bağlıdır. Asetilasyon polisakkaritin yapısal karmaşıklığını artırmakta ve bakteriyel enzimlerin özgülüğünü etkilemektedir (Gille ve Pauly, 2012).

İnsan bağırsak kommensal *B. thetaiotaomicron*' da bulunanlar gibi esterazlar asetil gruplarını parçalayarak polisakkaritin daha sonra parçalanmasına izin verebilmektedirler (Flint vd., 2012a). Asetillenmiş sialik asitlerde, *Bacteroides* spp' den esterazlar yan zincir karbon pozisyonu 9' da bulunan asetil grubu üzerinde aktiftir, ancak pozisyon 7' de aktif değildir. Bu durum, substrata erişilebilirliğin asetil grubunun varlığıyla sınırlandırılmasından dolayı mikrobiyotanın çapraz besleme zincirini etkilemektedir. Karbonhidrat parçalanmasını başlatmak için asetilesteraz aktivitesine sahip bir bakterinin gerekliliği ve diğer bakterilerin substrat kullanma kabiliyetindeki gecikme, bakterilerin substrat için rekabet ortamını değiştirebilir ve asetillenmiş bir

substrata kıyasla farklı bakteriler tarafından metabolizmayı teşvik edebilir (Payling vd., 2020). Aynı zamanda asetil grubu parçalandığında asetik asit salınımı bakteri metabolizmasını etkileyebilmektedir. Örneğin, *Firmicutes* metabolizma sırasında substrat olarak asetatı kullanabilirken, diğer bazı bakteriler pH' daki düşüş nedeniyle inhibe edilebilirler (Helle vd., 2003). Yani bu durum, düşük pH' ı tercih ederek asetatı bir substrat olarak kullanabilen bakterilerin metabolizmasını seçerek çapraz besleme zincirini etkileyebilmektedir. Hemiselülozların NaOH kullanılarak ekstraksiyonu asetil gruplarının tamamen kaybına neden olduğu için asetilasyonun bu etkileri polisakkaritlerin kullanıldığı çalışmalarda nadiren göz önünde bulundurulmaktadır (Fu vd., 2018). Ekstrakte edilmiş ve doğal diyet lifleri arasındaki bu fark, ekstrakte edilmiş diyet liflerinin mikrobiyota çapraz beslenme zinciri üzerinde tüm bitkilerden elde edilen doğal liflere kıyasla önemli ölçüde farklı etkilere sahip olabileceğini ve diyet lifinin mikrobiyota üzerindeki yapısal etkilerini değerlendirirken bunun dikkate alınması gerektiğini göstermektedir.

Farelerdeki kolite karşı farklı esterleşme derecelerine (H121, L13 ve L102) sahip pektinlerin önleyici etkileri ile bağırsak mikrobiyomu üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; H121, L13 ve L102' nin esterleşme dereceleri sırasıyla %68,01, %41,61 ve %38,09' dur. *Prevotella* ve *Bacteroides* türleri, özellikle yüksek dozaj altında L13 pektine (L13-H) aktif olarak yanıt vermiştir. Buna ek olarak, kolitle ilişkili anormal *Akkermansia* bolluğu, dekstran sülfat sodyum (DSS) tedavisinden önce üç pektinden herhangi birinin verildiği farelerde görülmemiştir. Özellikle, L102 pektin dozu *Bifidobacterium*' un zenginleşmesiyle pozitif yönde ilişkiliyken *Lactobacillus*' un zenginleşmesiyle negatif yönde ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. *Prevotella*, düşük doz H121L grubu hariç tüm pektin gruplarında aşağı regüle edilmiştir. Kolitli farelerde azalan *Ruminococcus*, sırasıyla orta ve yüksek dozda H121 ve L102 pektinleri ve orta dozda L13 pektini ile ön muamele edilenlerde hafifçe iyileşmiştir. Ayrıca, özellikle H121 ve L13 pektin ön müdahalesi, kolit oluşumu sırasında *Turicibacter*' in uyarılması ile pozitif bir dozaj korelasyonu göstermiştir. Bu sonuçlar asetillenme derecesinin ve asetillenmiş pektinlerin dozunun bakteriler üzerindeki etkilerini ortaya koymuştur (Wu vd., 2022). Diğer bir çalışmada; propiyonik asit (PA) ve prebiyotik frukto-oligosakkaritleri (FOS) bağlamak için ester bağlarını kullanarak PA' yı kolona iletebilen propiyonil-FOS grupları (P-FOS, AP-FOS) oluşturulmuştur. Sonuçlar, kimyasal olarak sentezlenen propiyonil-FOS' un (AP-FOS) enzimatik olarak sentezlenenlerden (P-FOS) daha yüksek derecede propiyonil esterleştiğini göstermiştir. Elde edilen esterlerin bağırsak mikrobiyota modülasyonu ve

metabolit üretimi üzerindeki etkisini incelemek için *in vitro* simüle bağırsak fermantasyonu kullanılmıştır. Kontrol (CON) grubu ile karşılaştırıldığında, enzimatik olarak elde edilen propiyonil-FOS (P-FOS) grubu *Bacteroidetes*, *Firmicutes* ve *Actinobacteria*' da önemli artışlar gösterirken, *Proteobacteria* ve *Fusobacteria* önemli ölçüde azalmıştır. Ayrıca; P-FOS grubu, FOS grubundan daha yüksek, sindirilemeyen prebiyotiklerin parçalanmasına yardımcı olabilecek, müsin sentezini teşvik edebilecek ve bağırsak mukozasının geçirgenliğini azaltabilecek *Prevotella_9* içeriği göstermiştir. *Bifidobacterium* AP-FOS grubunda yavaş gelişme göstermiştir ve bu durum bozulan AP-FOS miktarının düşük olduğunu doğrulamıştır. Genel olarak, bağırsak mikrobiyota modülasyonundaki yetenek açısından, P-FOS, pozitif kontrol FOS ve diğer ester AP-FOS' tan daha iyi performans göstermiştir (Tan vd., 2023a).

2.4. Enzimatik Olarak Sentezlenmiş Glukanların Kalın Bağırsak Mikrobiyotası Üzerine Etkileri

Glikojen benzeri partiküller (GBP' ler) *in vitro* enzimatik reaksiyonlar yoluyla süktroz, dekstrin ve nişastadan, dallanma enzimleri (DE) kullanılarak üretilmektedir. Dallanma enzimi, glikojen benzeri partikülleri enzimatik olarak sentezleyebilmek için glikojen benzeri partikül yapısında α -(1,6)-bağlı dallanma noktaları oluşturan önemli bir biyokatalizördür (Jin vd., 2023). Dallanma enzimi, α -(1,4)-bağlı maltooligomerleri başka bir glukan zincirine aktarır ve α -(1,4)-bağları hidrolize ederek yeni bir α -(1,6)-glikozidik bağ aracılığıyla bölünmüş glukoz kalıntısını terminusa bağlar. Dallanma enzimi için bir substrat olarak kullanılan lineer α -(1,4)-glukan, çeşitli yöntemler kullanılarak üretilmektedir. α -(1,4)-glukan; glikojen benzeri partikül üretiminde süktroz fosforilaz- α -glukan fosforilaz-dallanma enzimi (SF-GF-DE) yönteminde, süktroz fosforilaz ve α -glukan fosforilaz-kullanılarak (Ryoyama vd., 2004), izomaltaz-dallanma enzimi-amilomaltaz (İM-DE-AM) yönteminde ise tüm α -(1,6)-glikozidik bağlantılar nişastanın izoamilaz işlemi yoluyla çıkartılarak üretilmektedir (Kajiura vd., 2008). Ancak bu yöntemlerin çok adımlı ve enzimatik süreçlerin karmaşıklığından dolayı endüstriyel uygulamalar için uygun olmamaktadır. Bu nedenle bu sorun amilosükraz kullanılarak çözülebilmektedir. Amilosükraz, tek substrat olarak süktroz kullanarak lineer α -(1,4)-glukan sentezini katalize eder ve süktrozun glukoz kısmını yeni bir α -(1,4)-glikozidik bağ oluşturacak şekilde ardışık olarak bir alıcı moleküle aktarır. Doğrusal α -(1,4)-glukan üretmek için amilosükraz kullanmanın avantajı, herhangi bir girişim olmaksızın dallanma enzimi ile eşzamanlı reaksiyonlara izin vermesi ve diğer yöntemlere göre daha fazla

glikojen benzeri partikül ürünü verimi üretmesidir (Albenne vd., 2007; Jung vd., 2009; Jung vd., 2019; Ryu vd., 2022).

Enzimatik olarak sentezlenmiş glikojenler (ESG), bağışıklık sistemini uyarma ve diyet lifi benzeri bir etki de dahil olmak üzere çeşitli sağlık yararları göstermektedir. Bunun üzerine yapılan bir çalışmada, enzimatik olarak sentezlenmiş glikojenlerin antiobezite etkileri diyetle indüklenen obezite modelinde araştırılmıştır. Erkek Sprague-Dawley sıçanları 4 gruba ayrılmış ve 4 hafta boyunca %20 enzimatik olarak sentezlenmiş glikojen içeren veya içermeyen normal veya yüksek yağlı diyetle beslenmiştir. Sonuçlar, Enzimatik olarak sentezlenmiş glikojenin yüksek yağlı diyetin neden olduğu lipid birikimini önemli ölçüde baskıladığını göstermiştir. Ayrıca, enzimatik olarak sentezlenmiş glikojen karaciğerdeki lipid birikimini önemli ölçüde baskılamış, ancak fekal lipid atılımını artırmıştır. Bu sonuçlar, fekal lipid atılımının artması, enzimatik olarak sentezlenmiş glikojenin lipid birikimi üzerindeki inhibitör etkisine aracılık ettiğini göstermektedir (Furuyashiki vd., 2013).

Mitani vd. (2017)'nin yaptığı çalışmada; nişastadan üretilen enzimatik olarak sentezlenmiş glikojenin C57BL/6 farelerde dekstran sülfat sodyum (DSS) ve 2,4,6-trinitrobenzensülfonik asit (TNBS) ile indüklenen kolit üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Oral enzimatik olarak sentezlenmiş glikojen uygulamasının dişi farelerde DSS ve TNBS ile indüklenen kalın bağırsak kısılmasını baskılamış ve kalın bağırsakta DSS ile indüklenen oksidatif stres ve TNBS ile indüklenen pro-inflamatuar sitokin ekspresyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Sonuçlar, α -amilaz ile dirençli glikojene (DG)'ye sindirilen enzimatik olarak sentezlenmiş glikojenin, farelerin kalın bağırsağında HO-1 ekspresyonunu artırarak DSS ve TNBS ile indüklenen koliti baskıladığını göstermiştir.

Enzimatik olarak sentezlenmiş glikojenlerin sağlık üzerindeki etkileri, aslında mikrobiyota bileşimini etkilemesi sonucu gerçekleşmektedir. Enzimatik olarak sentezlenmiş dirençli glukanın T2DM farelerde oral gavaj yolu ile alınması, lipid metabolizmasını iyileştirerek kolesterol düşürücü etki göstermiştir. Lipit seviyelerindeki düşüşten sonra mikrobiyotada *Firmicutes* ve *Bacteroides*'in oranlarının bolluğunun azalmasıyla spesifik bağırsak mikrobiyotasının (*Phascolarctobacterium*, *Prevotella*, *Butyrivibrio*, *Weissella* ve *Anaerostipes* dahil) çoğalmasına daha elverişli hale gelmiştir. Bu durum yüksek yoğunluklu lipoprotein sentezini, kolesterolün koprostanole dönüşümünü ve kısa zincirli yağ asitleri ile safra asitlerinin üretimini kolaylaştırmıştır (Li vd., 2023b).

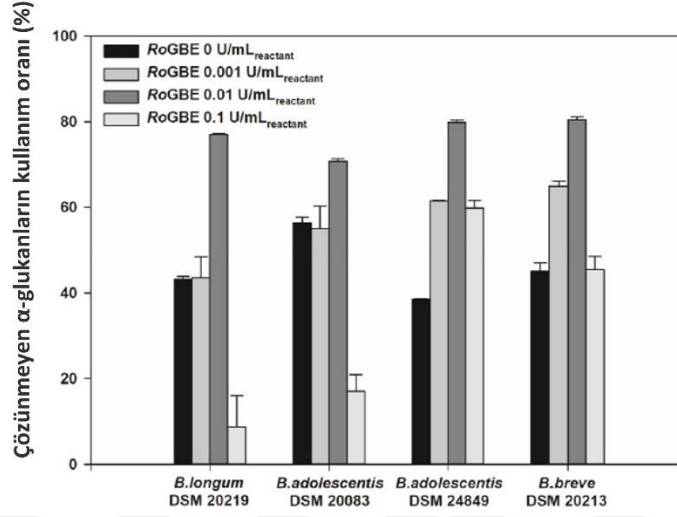
2.4.1. α -glukanlar ve fonksiyonel özellikleri

Bitkiler için karbonhidrat deposu ve insan beslenmesinde önemli bir enerji kaynağı olan nişasta, gastrointestinal sistemde tükürük ve pankreatik α -amilazlar tarafından doğrusal malto-oligosakkaritlere (esas olarak maltoz ve maltotrioz) ve dallanmış α -sınırlı dekstrinlere (α -LDx) hidrolize edilmektedirler (Hong vd., 2022). Nişasta gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen, sahip olduğu fizikokimyasal özellikleri (jelleşme, yapıştırma vb.) ve kararsızlığı (sinerezis ve yüksek retrogradasyon eğilimi) gibi özelliklerinden dolayı gıda üretimindeki uygulamalarını kısıtlamaktadır (Hong vd., 2019). Bu nedenle, kimyasal olarak nişastaya benzeyen ve dirençli nişasta kadar yüksek bütirojenik etki gösterebilen, ancak nişastanın istenmeyen teknolojik özelliklerine sahip olmayan fonksiyonel bileşenlerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Birçok araştırmacı, nişasta moleküllerini fizikokimyasal özelliklerini değiştirmek ve işlevselliğini artırmak (yani, retrogradasyonu azaltmak, depolama stabilitesini iyileştirmek ve termostabiliteyi artırmak) için fiziksel, kimyasal veya enzimatik işlemlerle modifiye etmiştir (Pashkuleva vd., 2005, 2010; Rashid vd., 2019).

Son on yıldan beri, nişasta/glikojen benzeri yapılara sahip farklı polisakkarit türleri biyokatalitik olarak sentezlenmiştir ve bunlar genellikle enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanlar olarak adlandırılmaktadır (Lee vd., 2013; Ryu vd., 2022; Sorndech vd., 2016). Son yıllarda, laktik asit bakterilerinin sükrozdan büyük miktarlarda α -D-glukan ekzopolisakkarit üretme kabiliyeti endüstriyel uygulamalar için büyük ilgi görmüştür (Li vd., 2020). Dirençli α -glukanlar, sağlıklı bireylerin üst bağırsağında amilolitik sindirimden kaçarak kolonda çeşitli ve dengeli bir mikrobiyal türler topluluğu olan mikrobiyota tarafından fermente edilen nişasta veya nişasta türevi α -glukanları ifade etmektedir. Dirençli α -glukanların diyet lifinin bir alt grubunu oluşturduğu artık yaygın olarak kabul edilmektedir (Sorndech vd., 2018). Sakkarozdan elde edilen bu α -D-glukan polisakkaritler gıda, ilaç ve kozmetikte geniş uygulama alanları bulabilen oldukça değerli ürünlerdir. Laktik asit bakterilerinin glikozit hidrolaz ailesi 70 (GH70) glukansükraz enzimleri, düşük maliyetli sükrozu tek substrat olarak kullanarak bu α -D-glukanların sentezini katalize eder (Li vd., 2020).

Bifidobakteriler, çözünmeyen dirençli nişasta (DS) fraksiyonlarını kolonda prebiyotik olarak kullanır ve sonuç olarak insan bağırsak sağlığını iyileştirir. Yakın zamanda, amilosükraz (*Neisseria polysaccharea*’ dan) ve glikojen dallanma enzimi (*Rhodothermus obamensis*’ ten) ile çözünmeyen α -glukanların çeşitli α -(1,6) bağlantı oranları (%0, %4) sentezlenmiş ve dallanma modellerinin çeşitli Bifidobakteriler (*B.*

longum DSM 20219, *B. adolescentis* DSM 20083, *B. adolescentis* DSM 24849, *B. breve* DSM 20213) kullanılarak Bifidojenik özellik üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Farklı miktarlarda α -1,6 dallanma oranına sahip enzimatik olarak sentezlenen çözünmez α -glukanlar, fermantasyon sürecinde her bir *Bifidobacterium* türü tarafından farklı şekilde kullanılmıştır (örneğin, %4,0 dallanma oranına sahip α -glukanın %8,8' i ve %59,8' i sırasıyla *B. longum* ve *B. stercoris* tarafından kullanılmıştır) (Şekil 11).



Şekil 11. Farklı Bifidobakteriyel suşlar tarafından fermantasyon işlemi sırasında *NpAS* ve *RoGBE*'nin kombine etkisiyle sentezlenen çözünmeyen α -glukanların kullanım oranı (Ryu vd., 2022).

Özellikle, yapılarında %2,5' lik α -1,6 bağ oranına sahip olan *NpAS* ile 0,01 U/mL *RoGBE* reaktifi tarafından üretilen dallanmış α -glukan, test edilen tüm suşlar arasında %70' in üzerinde en yüksek tüketim oranına sahip olmuştur (Şekil 11). Bununla birlikte, suda çözünmeyen α -glukanların Bifidobakteriyel suşlar tarafından kullanımı, suda çözünmeyen α -glukanlardaki α -1,6 bağlarının %4,0' ünde önemli ölçüde azalmıştır, bu da α -1,6 dallı yapıların uygun oranının kullanım kapasitesini artırdığını düşündürmektedir.

Ryu vd. (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışma sonucunda farklı dallanma derecelerine sahip enzimatik olarak sentezlenmiş olan α -glukanların farklı *Bifidobacterium* suşları tarafından kullanılabilirdiği, ancak kullanım oranlarının α -glukanların kimyasal yapısına göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer taraftan, bu yapıların kalın bağırsakta hangi mikroorganizmaların gelişimini teşvik ettiği ve hangi mikrobiyal metabolitlerin oluşumunu sağladığı, diğer bir ifade ile kalın bağırsak mikrobiyotası ile α -glukanların kimyasal yapısı arasında herhangi bir ilişki olup olmadığı açığa çıkarılmamıştır. Bu çalışma ile literatürdeki bu boşluğun doldurulması amaçlanmıştır (Ryu vd., 2022).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Dallanma yoğunlukları ve moleküler ağırlıkları farklı olan α -glukanların temini

Amilosükraz ve glikojen dallanma enzimleri kullanılarak çeşitli dallanma yoğunluklarına ve moleküler ağırlıklara sahip enzimatik olarak sentezlenmiş 4 farklı α -glukan Gachon Üniversitesi Gıda Bilimleri Bölümü Öğretim Üyesi Dr. Byung-Hoo Lee' den temin edilmiştir. Temin edilmiş olan 4 farklı α -glukan' ın öngörülen kimyasal bileşimi sonuç ve tartışmalar kısmında (bkz. 4.1.1) özetlenmiştir. Amilosükraz ve glikojen dallanma enzimlerinin eldesi ve α -glukanların enzimatik olarak sentezlendirilmelerini içeren metotların detayları daha önce yapılan çalışmada verilmiştir (Ryu et al., 2022).

3.2. Yöntem

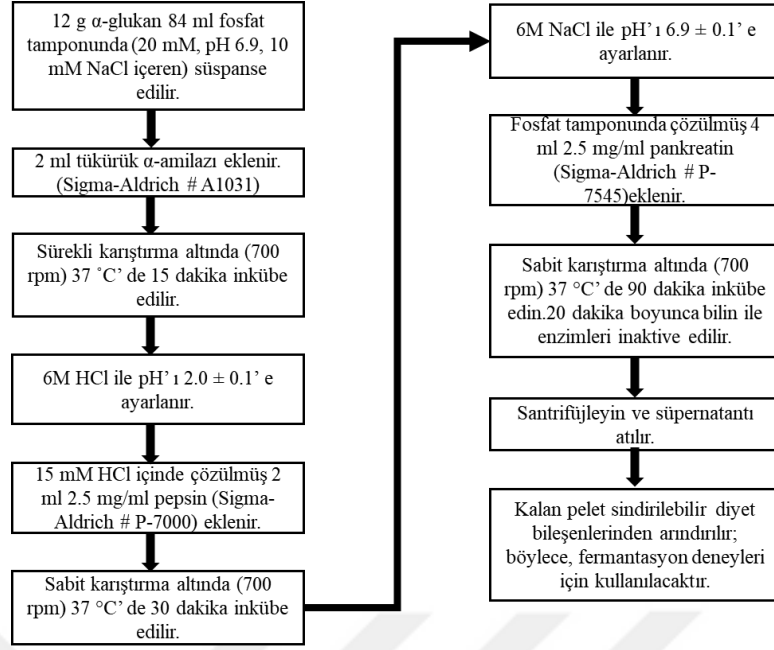
Önerilen araştırmayı başarılı bir şekilde yürütmek için Şekil 12' de özetlenen adımlar izlenmiştir.



Şekil 12. Önerilen araştırmayı gerçekleştirmek için izlenecek adımların özeti.

3.2.1. α -glukanların *in vitro* Gİ sindirim enzimleriyle muamele edilmesi

Enzimatik olarak sentezlenen glukanların bazı kısımlarının kolona ulaşmadan önce insan sindirim enzimleri tarafından sindirilmesi muhtemeldir. Bu kısımları uzaklaştırmak için, daha önce Lebet vd., (1998) tarafından tarif edildiği ve Tuncil vd., (2018) tarafından modifiye edildiği gibi sindirim enzimlerini kullanarak *in vitro* üst gastrointestinal sistem sindirim prosedürü uygulanmıştır. *In vitro* üst gastrointestinal sistem sindirim prosedürünün ayrıntılı akış şeması Şekil 13' te verilmiştir.



Şekil 13. α -glukanlara uygulanacak üst gastrointestinal sistem sindirim yönteminin detaylı akış diyagramı (Tuncil vd., 2018).

3.2.2. α -glukanların enzimatik sentezinin kimyasal karakterizasyonları

In vitro sindirim enzimleri ile muamele sonrasında, enzimatik olarak sentezlenmiş yüksek düzeyde dallanmış α -glukanlar moleküler ağırlıkları ve dallanma oranları aşağıdaki yöntemler dahilinde analiz edilmiştir.

3.2.2.1. Yüksek performanslı boyut dışlama kromatografisi ile moleküler boyutların belirlenmesi

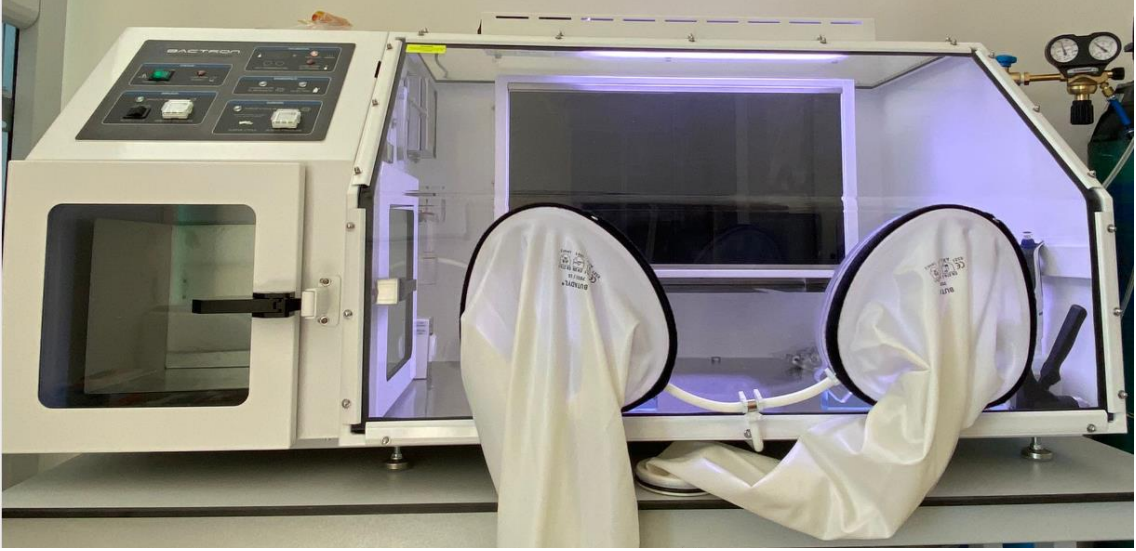
Çözünmeyen dallanmış α -glukan numunesi, %90 DMSO (v/v) (dimetil sülfoksit) içinde çözölmüş, 6 hacim EtOH (%99,9) ilave edilerek karıştırılmış ve 20 dakika santrifüj edildikten sonra çökelti toplanmıştır ($4.500 \times g$, 4 °C). Pelet 5 mM NaOH (1 mL) ile karıştırılmış ve karıştırılarak 30 dakika kaynatılmıştır. Çözünmeyen dallı α -glukanın moleküler boyutunu ölçmek için, enzimatik olarak sentezlenen ürünler kırılma indisi (RI) dedektörü (Shodex RI-101, Showa Denko, Tokyo, Japonya) ile bağlantılı yüksek performanslı boyut dışlama kromatografisine (HPSEC, ThermoFisher Scientific, San Jose, CA) enjekte edilmiştir. Kromatografik ayırma Sephacryl™ S-500 HR (GE Healthcare, Chicago, IL) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve mobil faz 1,3 mL/dak akış hızında 5 mM NaOH olmuştur (Kittisuban vd., 2014). Moleküler boyut belirteçleri olarak farklı boyutlarda pullulan standartları (Shodex P-82, Showa Denko) uygulanmıştır.

3.2.2.2. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ile α -glukanların glikozidik bağ tiplerinin belirlenmesi

α -glukanların glikozidik bağ tiplerinin belirlenmesi için, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların kısmen metillenmiş alditol asetatları (PMAA' lar) önceki araştırmalara göre hazırlanmış (Pettolino vd., 2012) ve taşıyıcı gaz olarak helyum ile TraceGOLD TG-5MS GC kolonuna (Thermo ScientificTM; 0,25 μ m kalınlık; 0,25 mm ID; 30 m uzunluk) bağlı gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS, Thermo ScientificTM ISQ 7000, Waltham, MA) ile analiz edilmiştir. PMAA' lar aşağıdaki gradyan modu kullanılarak kromatografik olarak ayrılmıştır: 3 dakika boyunca 50 °C, dakikada 10 °C' de 50 °C ila 300 °C ve 300 °C' de 3 dakika bekletme (Tuncil vd., 2018b). PMAA pikleri tam tarama modunda (m/z 35-550) analiz edilmiş ve parçalanmış iyonlar PMAA' nın Complex Carbohydrate Research Center (Athens, GA) Kütle Spektral Veritabanı ile karşılaştırılmıştır.

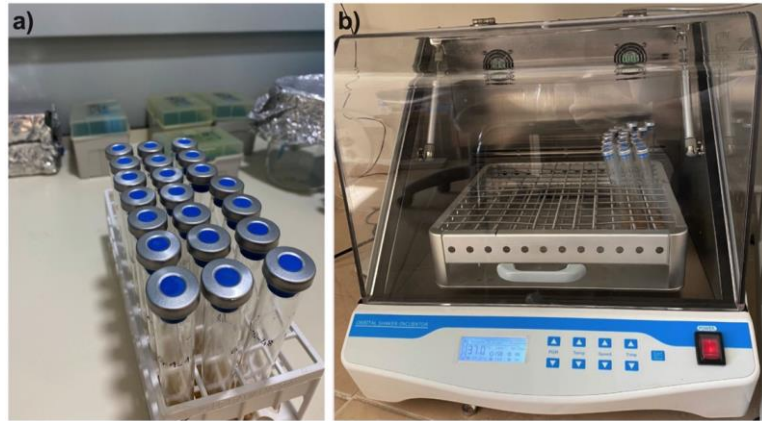
3.2.3. Dışkı toplama ve enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların kolonik mikrobiyotada *in vitro* fermentasyonu

Kolonik mikrobiyotanın insan dışkı örneklerinden elde edildiği *in vitro* fermentasyon deneyleri, diyet maddelerinin prebiyotik potansiyellerini test etmek ve diyet liflerinin kolonik mikrobiyota bileşimi üzerindeki etkilerini ölçmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Bussolo de Souza vd., 2019; Tuncil vd., 2017; 2018a; 2018b). *In vitro* fermentasyon deneyleri %90 N₂, %5 CO₂ ve %5 H₂ atmosferi altında anaerobik bir kabinde (Şekil 14) gerçekleştirilmiştir (Tuncil vd., 2017; 2018a; 2018b). Kısaca, bir karbonat-fosfat tamponu hazırlanmış ve 121 °C' de 20 dakika boyunca otoklavlanarak sterilize edilmiş, ardından oda sıcaklığına soğutulmuş ve sistein hidroklorür (indirgeyici ajan olarak - 0,25 g/L tampon) eklenmiştir. Tampon daha sonra hemen anaerobik kabine aktarılmış ve muhtemelen kalan oksijeni uzaklaştırmak için gece boyunca anaerobik tutulmuştur. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlar her bir zaman noktası için (0, 2, 4, 6, 12, 24, 36 ve 48 saat) 25 mL Balch tüplerine (Chemglass Life Sciences, Vineland, NJ) tartılmıştır (25 $\pm$ 1 mg). Kontrol olarak, α -glukanlar gibi üst gastrointestinal kanal sindirim enzimleriyle sindirilen iki farklı dirençli nişasta (çiğ patates [toz patates nişastası, Sigma-Aldrich #S4251] ve çiğ mısır nişastası [toz mısır nişastası, Roguette, Inc.]) aynı yöntemlerle hazırlanmıştır. Substratları içeren tüpler 121 °C' de 20 dakika boyunca otoklavlanmış ve ardından anaerobik kabine aktarılmış, burada her Balch tüpüne 2 ml karbonat-fosfat tamponu eklenmiştir.



Şekil 14. İnsan kolonu gibi tam anaerobik ortam sağlamak için kullanılan anaerobik kabin.

Ertesi gün, rutin diyetlerini tüketen ve bağıştan önceki en az 3 ay boyunca antibiyotik almamış olan sağlıklı donörlerden dışkı örnekleri toplanmıştır. Dışkı örnekleri dışkı örneği toplama kaplarına sıkıca kapatılmış, buz üzerinde tutulmuş ve hızla anaerobik kabine aktarılmıştır (toplanan tüm dışkı örnekleri toplandıktan sonra 2 saat içinde kullanılmıştır). Toplanan dışkı örnekleri karbonat-fosfat tamponu [dışkı:tampon 1:3 (w/v)] ile homojenize edilmiş, ardından dört kat peynir bezinden süzölmüştür. Her bir tüpe 0,5 ml süzölmüş dışkı bulamacı aşılanmıştır. Tüpler hemen butil kauçuk tıpalarla kapatılmış, alüminyum contalarla (Chemglass Life Sciences) hava geçirmez şekilde mühürlenmiş ve 37 °C’ de çalkalamalı bir inkübatörde (150 rpm) inkübasyona bırakılmıştır (**Şekil 15**). Her bir zaman noktasında (0, 2, 4, 6, 12, 24, 36 ve 48 saat), dirençli nişasta (25 ± 1 mg) içeren ve karbon kaynağı içermeyen test tüpleri sırasıyla pozitif (hızlı fermente olan, bütirat üreten) ve boş kontrol olarak kullanılmıştır. Tüm analizler her bir donör için üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.



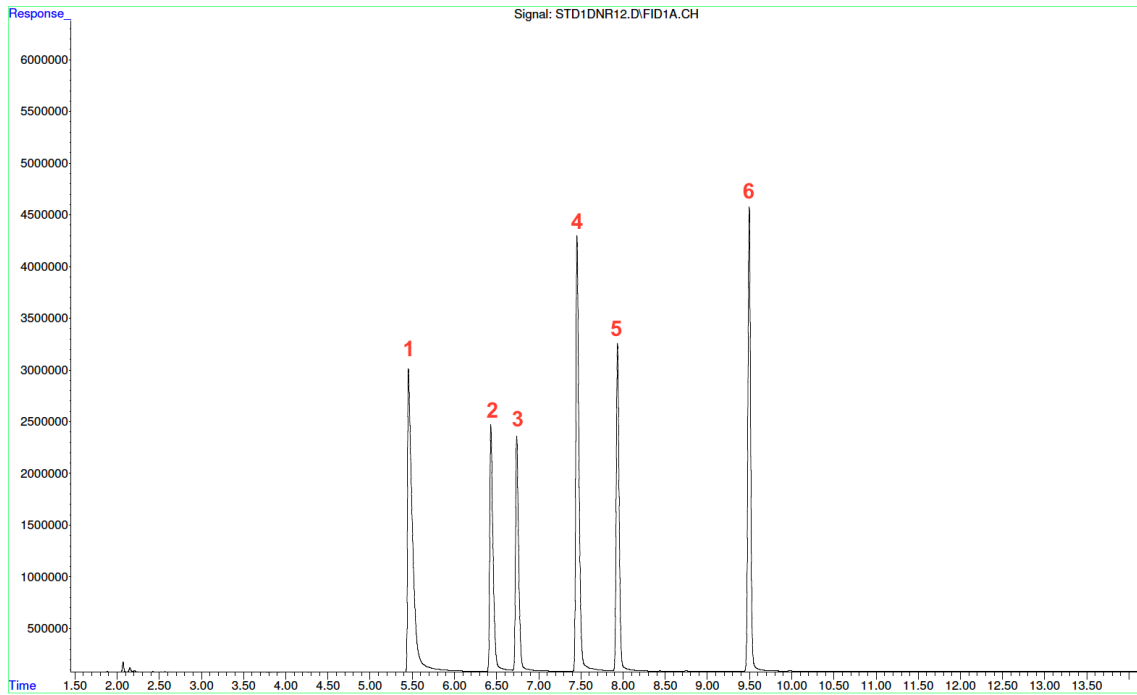
Şekil 15. Anaerobik odaya fekal mikrobiyota aşılandıktan sonra numuneler **a)** alüminyum contalarla (Chemglass Life Sciences) hava geçirmez şekilde kapatılmış ve **b)** 37 °C’ de çalkalamalı bir inkübatörde (150 rpm) inkübe edilmiştir.

Çalışma boyunca sekiz (8) farklı sağlıklı donörden (4 erkek + 4 kadın) dışkı örnekleri toplanmış ve her bir dışkı mikrobiyotası aynı fermantasyon prosedürüne tabi tutulmuştur. Dışkı materyallerinin 8 farklı kişiden (hem erkek hem de kadın) alınması, kolonik mikrobiyota kompozisyonundaki bireyler arası farklılıkları ortadan kaldırmamızı (veya en aza indirmemizi) sağlamıştır. Tuncil vd., (2017)

Her bir zaman noktasının (0, 2, 4, 6, 12, 24, 36 ve 48 saat) sonunda tüplerin tıpaları açılmış ve kısa ve dallı zincirli yağ asidi analizi için her bir tüpten 0,8 ml alikot toplanmıştır. Bu örnekler hemen 200 µL iç standartla (157,5 µL 4-metilvalerik asit, 1,47 mL %85 fosforik asit ve 39 mg bakır sülfat pentahidratın 25 mL son hacimde ultra saf suda birleştirilmesiyle hazırlanmıştır) karıştırılmış ve aşağıda açıklanan analize kadar -20 °C' de saklanmıştır. Ayrıca, fermantasyonun 0, 24 ve 48. saatlerinde, DNA ekstraksiyonu için (daha sonra mikrobiyota bileşimindeki değişiklikleri izlemek için) her tüpten ilave 1,5 ml alikot toplanmış ve bir sonraki kullanıma kadar hemen -20 °C' de saklanmıştır.

3.2.4. Fermantasyon süreci sonucunda oluşan mikrobiyal kısa zincirli yağ asitlerinin kalitatif ve kantitatif tayinleri

α -glukan fermantasyonu sonucunda fekal mikrobiyota tarafından oluşturulan mikrobiyal kısa ve dallı zincirli yağ asitleri daha önce açıklandığı gibi gaz kromatografisi kullanılarak kalitatif ve kantitatif olarak analiz edilmiştir. Kısaca, kısa zincirli yağ asidi analizleri için toplanan numuneler (**bkz. 3.2.3**) oda sıcaklığında çözdürülmüş ve 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar (4 µl) gaz kromatografisine enjekte edilmiştir. Kısa zincirli yağ asitleri (asetat, bütirat, propiyonat) ve dallı zincirli yağ asitleri (izo-bütirat ve izo-valerat), alev iyonizasyon dedektörüne (AİD) (Agilent GC6890) bağlı bir GC' deki erimiş silika kapiler kolonda (Restek® Stabilwax Colum) kantitatif ve kalitatif olarak belirlenmiştir. GC koşulları aşağıdaki gibidir: Enjektör sıcaklığı 230 °C; başlangıç fırın sıcaklığı 100 °C; sıcaklık 10 °C/dakika artışla 200 °C' ye yükseltilmiş ve son sıcaklıkta 6 dakika bekletilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak 1,1 ml/dak hızında helyum kullanılmıştır. Sigma Aldrich' ten satın alınan asetat, propiyonat, bütirat, izo-valerat ve izo-bütirat harici standartlar olarak ve 4-metilvalerik asit miktar belirleme amacıyla dahili standart olarak kullanılmıştır.



Şekil 16. Harici standartlar için elde ettiğimiz tipik GC kromatogramı. 1) Asetat, 2) Propiyonat, 3) İzobütirat, 4) Bütirat, 5) İzovalerat, 6) 4-Metil Valerik Asit (dahili standart).

3.2.5. Kolonik mikrobiyota bileşimindeki değişikliklerin belirlenmesi

Kolonik/dışkı mikrobiyota bileşiminin analizi için en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri, aynı anda binlerce mikrobiyotayı karakterize etme fırsatı veren Illumina Miseq Teknolojisidir (Bussolo de Souza vd., 2019; Tuncil vd., 2017; 2018a; 2018b), ilgilenilen bir ortamda bulunan binlerce mikroorganizmayı aynı anda karakterize etme fırsatı verir (Quail vd., 2012). Böylece, burada enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların kolonik mikrobiyota üzerindeki etkileri, Illumina Miseq Teknolojisi kullanılarak 0, 24 ve 48 saatlik fermentasyonda toplanan numuneler analiz edilerek belirlenmiştir.

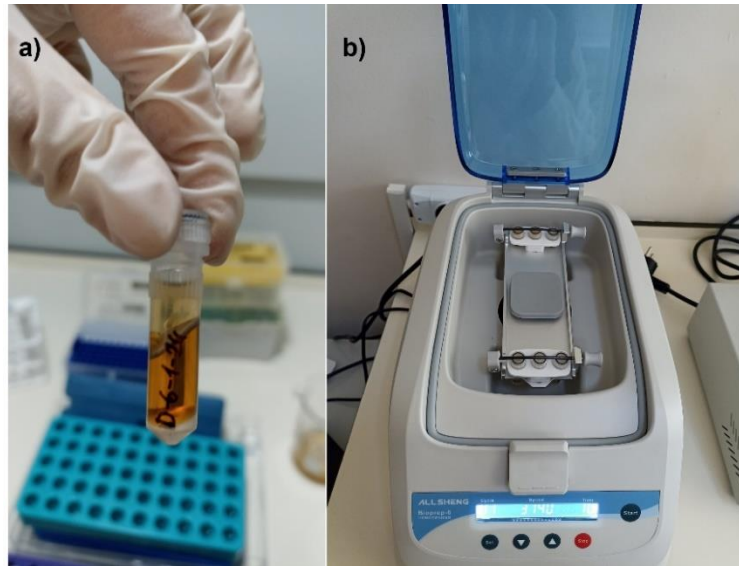
Illumina Miseq Teknolojisi kullanılarak kolon/dışkı mikrobiyota bileşiminin belirlenmesi aşağıda ayrıntılı olarak açıklandığı gibi 5 adımda gerçekleştirilir: a) DNA ekstraksiyonu, b) amplifikasyon, c) barkodlama, d) dizileme ve e) biyoinformatik (Tuncil vd., 2017; 2018a; 2018b).

3.2.5.1. *In vitro* fermentasyon sırasında farklı aralıklarla toplanan örneklerden DNA ekstraksiyonu

Fermentasyonun 0., 24. ve 48. saatlerinde toplanmış olan örneklerden, Ferrera vd. (2010), Lindemann vd. (2013) ve Mackenzie vd. (2015) tarafından tarif edilen "Fenol-Kloroform Yöntemi" kullanılarak mikrobiyal DNA ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilmiş

olan DNA' ların saflığı ve miktarı spektrofotometrik yöntemle NanoDrop 1000 cihazı (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, A.B.D.) ile kontrol edilmiştir.

Özetle, fermantasyon işleminin ardından DNA ekstraksiyonu için toplanan numuneler 13000 rpm' de (+4 °C) 10 dk santrifüjlenmiş ve süpernatant uzaklaştırılarak kalan pelet 1 ml 1X PBS (fosfat tampon tuzlu su) çözeltisi ile yeniden süspanse edilerek yıkanmıştır. Ardından tekrar 13000 rpm' de (+4 °C) 5 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatant uzaklaştırılarak peletler 85 °C' de 5 dk ısıtılmış ve süre sonunda oda sıcaklığına gelene kadar bekletilmiştir. Her bir numunenin üzerine 500 µl Lysozyme solüsyonu (2 mg/ml PBS) ilave edilerek pipetle karıştırılmış ve çalkamalı inkübatörde 37 °C' de 45 dk inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonunda her bir numuneye 100 µl Proteinase K solüsyonu (2 mg/ml %10 SDS içinde) ilave edilerek tekrar 56 °C' de 1 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda numuneler, her biri 0,3 g silika (0,1 mm silica-zirconia beads) içeren steril lizis tüpüne (vida kapaklı mikrofüj tüpü) aktarılmış ve üzerlerine 500 µl PCI [phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1)] ilave edilmiştir. FastPrep 24 homojenizatörde (**Şekil 17b**) (3740 rpm, 10 sn) homojenize edilmiş ve 5 dk buz üzerinde bekletilmiştir. Sonrasında 500 µl CI [chloroform:isoamyl alcohol (24:1)] ilave edilmiş ve her biri 15 saniye düşük hızda vortekslenmiştir. Oda sıcaklığında 3 dk bekletildikten sonra 13000 rpm' de (+4 °C) 10 dk santrifüjlenmiştir. En üstteki faz (**Şekil 17a**) dikkatli bir şekilde başka bir mikrofüj tüpüne (2 ml) aktarılmış ve üzerine 500 µl CI ilave edilerek tekrar her biri 15 saniye düşük hızda vortekslenmiştir, ardından 13000 rpm' de (+4 °C) 10 dk santrifüjlenmiştir. Üstteki faz dikkatli bir şekilde başka bir steril mikrofüj tüpüne aktararak DNA çöktürme aşamasından devam edilmiştir.



Şekil 17. a) Santrifüjlemeden sonra faz ayrımı **b)** FastPrep 24 homojenizatör.

Her bir numuneye 100 µl 3M sodyum asetat solüsyonu (2,46 g/10 ml, pH 5,5) ilave edilmiş ve düşük hızda vorteklenmiştir. Üzerlerine 1 ml %100 isopropanol ilave edilerek düşük hızda vortekslenmiş ve numuneler oda sıcaklığında 20 dk bekletilmiştir. Ardından 13000 rpm' de (+4 °C) 30 dk santrifüjlenmiş ve süre sonunda süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pelet üzerine 500 µl %70 soğuk etanol (-20 °C) ilave edilerek vorteklenmiş ve 13000 rpm' de 5 dk santrifüjlenmiştir (etanol, polisakkarit birlikte çökelme ve tuz tutma riskini azaltır). Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra bu işlem tekrarlanmış ve ardından süpernatant uzaklaştırılarak mikrofüj tüpleri ağzı açık bir şekilde kurumaya bırakılmıştır. Kuruma sonrasında 50 µl TE Buffer (Tris-EDTA Buffer, pH 8) ilave edilip DNA çözündürülmüş ve -20 derecede muhafaza edilmiştir.

Ekstraksiyondan sonra, DNA NanoDrop kullanılarak ölçülmüş ve örneklerin DNA konsantrasyonunun 53,8 ile 3812,9 ng/µL arasında olduğu bulunmuştur. Bu bulgular iyi miktarda DNA elde ettiğimizi göstermektedir.

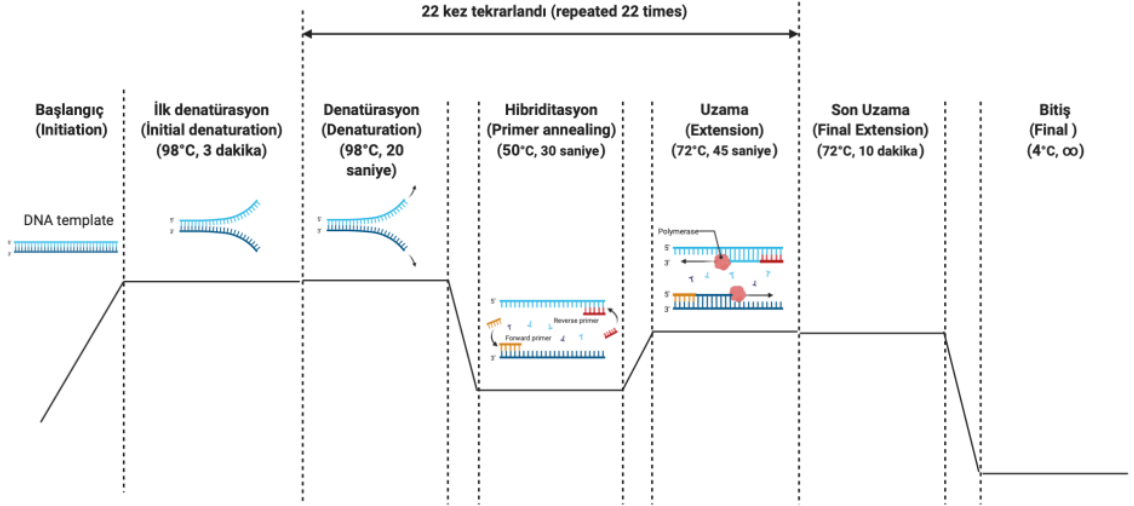
3.2.5.2. 16S rRNA geninin amplifiye edilmesi

Ekstrakte edilen mikrobiyotanın genomik DNA' sı, yakın zamanda tarif edildiği gibi, 16S rRNA genlerinin kısımlarını hedefleyen alan seviyesinde primerler kullanılarak PCR ile amplifiye edilmiştir (Kozich vd., 2013; Tuncil vd., 2018a; 2018b). Kısaca, 16S rRNA geninin V4-V5 bölgesi, evrensel bakteri primerleri (515FB ve 926R - primerlerin dizileri **Çizelge 3'** de verilmiştir) kullanılarak PCR ile amplifiye edilmiştir.

Çizelge 3. Amplifikasyon adımıyla kullanılacak primerler.

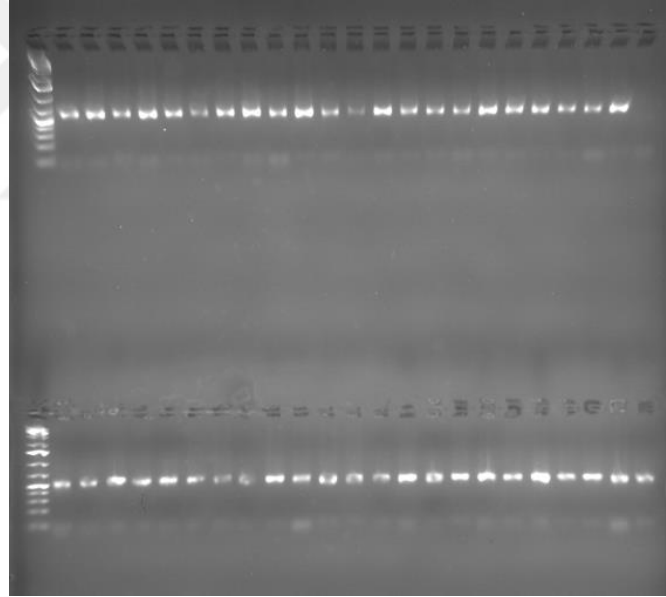
Primers	Sequence	Length
515FB (forwar d)	ACACTCTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTGTGYCAGCMGCCGCG GTAA	52 bp
926R (reverse)	GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTCCGYCAATTYMTT RAGTTT	54 bp

Amplifikasyon işlemi için PCR çözeltisi (25 µL' lik bir son reaksiyon hacmi), reaksiyonda sırasıyla 0,8 mM, 4 mM, 4 µM ve %1,6 (wb) son konsantrasyonda Tris-HCl, KCl, EDTA ve gliserol içeren bir tamponda 2 µl genomik DNA (> 5 ng/ µL DNA içerir), her bir primerden 0,625 µmol (515FB ve 926R), 12,5 µL Kapa HiFi hot start hazır karışımı (Kapa Biosystems, Wilmington, MA) ve 0,016 µg BSA içermektedir. PCR reaksiyonu aşağıdaki döngü parametreleriyle yapılmıştır (Tuncil vd., 2018a; 2018b): 98 °C' de 3 dakika boyunca bir ilk denatürasyon, ardından 98 °C' de 10 saniye boyunca 22 döngü denatürasyon, 50 °C ' de 30 saniye tavlama ve 72 °C' de 30 saniye uzatma. Nihai uzatma 72 °C' de 10 dakika gerçekleştirilmiş, ardından 4 °C' de tutulmuştur.



Şekil 18. Amplifikasyon için uygulanan PCR reaksiyon koşulları.

Amplifikasyon işleminin başarıyla tamamlandığından emin olmak için, reaksiyondan sonra PCR ürünleri, daha önce açıklandığı gibi jel elektroforezi üzerinde uzunlukları için analiz edilmiştir (Tuncil vd., 2018a; 2018b).

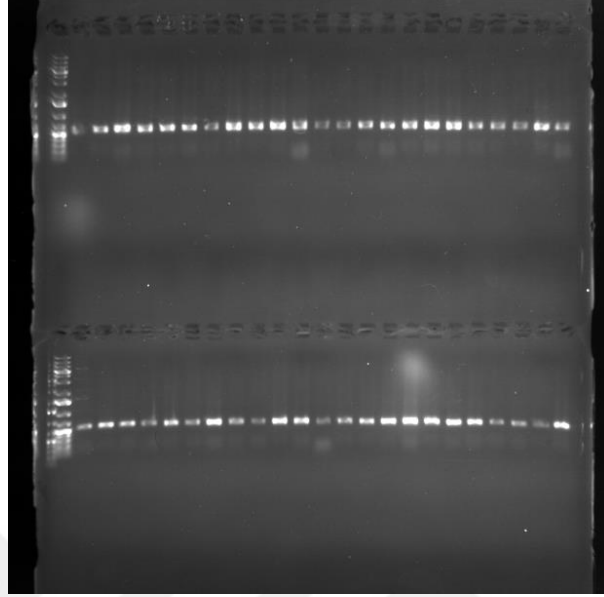


Şekil 19. Bazı çoğaltılmış PCR ürünlerinin jel elektroforez resmi. Bu, amplifikasyon işlemimizin başarıyla tamamlandığını göstermektedir (aynı sonuçlar diğer örnekler için de elde edilmiştir; bu nedenle burada yer almamaktadır).

3.2.5.3. Amplifiye PCR ürünlerinin barkodlanması

Amplifiye PCR ürünleri, Tuncil, vd., (2018a; 2018b) tarafından açıklandığı gibi TruSeq çift indeks yaklaşımı kullanılarak barkodlanmıştır. Kısaca, PCR solüsyonu (25 µL' lik bir nihai reaksiyon hacmi) reaksiyonda sırasıyla 0,8 mM, 4 mM, 4 µM ve %1,6 (wb) nihai konsantrasyonda Tris-HCl, KCl, EDTA ve gliserol içeren bir tampon içinde 2 µl amplifiye PCR ürünü, her primerden 0,625 µmol, 12,5 µL Kapa HiFi hot start ready mix ve 0,016 µg BSA içermektedir. PCR reaksiyonu, Şekil 18' de verilen döngü

parametreleri ile yapılmıştır. Barkodlama işleminin başarıyla tamamlandığından emin olmak için, reaksiyondan sonra PCR ürünleri, daha önce anlatıldığı gibi jel elektroforezi üzerinde uzunlukları açısından analiz edilmiştir (Tuncil vd., 2018a; 2018b).



Şekil 20. Bazı barkodlanmış PCR ürünlerinin jel elektroforez resmi. Bu, barkodlama adımımızın başarıyla tamamlandığını göstermektedir (aynı sonuçlar örneklerin geri kalanı için de elde edilmiştir; bu nedenle burada yer almamaktadır).

3.2.5.4. Illumina Miseq Teknolojisinde Dizileme

Amplifiye edilmiş ve barkodlanmış PCR ürünlerinin dizilemesi, daha önce açıklandığı gibi Purdue Üniversitesi Genomik Tesisi Merkezi, West Lafayette, IN, ABD' de yürütülen bir Illumina MiSeq üzerinde yapılmıştır (Tuncil, vd., 2018a; 2018b). . Kısaca, temizlenen PCR ürünleri Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) aracılığıyla nicelendirilmiş ve havuzlandırılmıştır. Havuzlar için kalite kontrolü, Yüksek Hassasiyetli Çipli (Agilent, Santa Clara, CA) bir Agilent Bioanalyzer üzerinde her havuzun 1 µL' si analiz edilerek yapılmıştır. Daha sonra, Illumina Platformları için KAPA Kitaplık Sayım Kiti kullanılarak havuzların miktar tayini yapılmıştır. Kantitatif havuzlar, Minnesota Genomics Core Facility' de 2 x 250 döngü ve V2 kimyası (Illumina, Inc., San Diego, CA) ile bir Illumina MiSeq çalışmasında sekanslandırılmıştır.

3.2.5.5. Mikrobiyolojik topluluk analizi için biyoinformatik analiz (dizi işleme)

Bir önceki adımdaki sekanslanan örnekler, mikrobiyal topluluk bileşimlerini belirlemek için için mothur (<https://mothur.org>) tarafından yayınlanan standart işletim prosedürüne (SOP) göre "Mothur" yazılım paketi içinde işlenmiştir (Schloss vd., 2009). Dizileri sınıflandırmak için referans 16S rRNA gen veritabanı olarak en güncel SILVA sürümü kullanılmıştır (Tuncil vd., 2017). Ekolojik α -çeşitlilik indeksleri Invsimpson,

Simpson even, Chao ve Shannon hesaplayıcıları kullanılarak değerlendirilmiştir. β -çeşitlilik indeksleri, mothur yazılımına gömülü Bray-Curtis ve Thetayc hesaplayıcıları kullanılarak belirlenmiştir. Moleküler varyans analizi (AMOVA) testleri, sentroidlerin önemli ölçüde farklı olup olmadığını belirlemek için Mothur yazılım paketinde çalıştırılmıştır.

Tüm bu işlemlerden sonra elde edilen sonuçlara dayanarak, en yüksek bütirojenik aktiviteyi ortaya çıkaran optimum α -glukan yapısı (faydalı mikrobiyotayı teşvik etmede ve bütirat oluşumunu teşvik etmede üstün) belirlenmiştir.

3.2.6. İstatistiksel analizler

Sonuçların değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) kullanılmıştır. Gruplar arasında önemli farklılıkların analizinde Tukey karşılaştırma testi kullanılmış ve alfa değeri 0,05 alınmıştır. Hesaplamalarda ve grafik çizimlerinde GraphPad Prism® (Version 10, GraphPad Software Inc., La Jolla, CA 92037 USA) istatistik paket programı kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Enzimatik Olarak Sentezlenmiş α -glukanların Kimyasal Karakterizasyon Özellikleri

Enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların yapısında bulunması muhtemel sindirilebilen fraksiyonların uzaklaştırılması (bir diğer ifade ile enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların kalın bağırsağa ulaşan fraksiyonlarının elde edilmesi) maksadıyla, örnekler üst gastrointestinal sindirim sistemi (ağız, mide ve ince bağırsak) enzimler ile (tükürük amilazı, pepsin ve pankreatin) *in vitro* şartlar altında muamele edilmiş ve akabinde örneklerin dallanma oranları ve moleküler büyüklükleri tespit edilmek suretiyle kimyasal yapıları açığa çıkarılmıştır. Örneklerin dallanma oranları ve moleküler büyüklükleri sırasıyla bölüm 4.1.1 ve bölüm 4.1.2’de tartışılmıştır.

4.1.1. Enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların α -(1,6) / α -(1,4) bağ (dallanma) oranları

Üst gastrointestinal sindirimi taklit edildikten sonra, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma oranlarını belirlemek için örneklerin içermiş oldukları α -(1,4) ve α -(1,6) glikozidik bağlarının nispi bollukları gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi (GC/MS) ile belirlenmiştir (Tablo numarayı sonra yaz). Beklendiği gibi, enzimatik sürecine dahil edilen RoGBE miktarı arttıkça örneklerde bulunan α -(1,6) glikozidik bağ nispi bolluğunun arttığı, bununla birlikte α -(1,4) glikozidik bağ nispi bolluğunun ise azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuç, Ryu vd. (2022) tarafından yapılan çalışmaya benzerlik göstermektedir. Ryu vd. (2022) yapmış oldukları çalışmada RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinin içermiş oldukları α -(1,6) glikozidik bağ nispi bolluklarının sırasıyla %0, %0,7, %2,5 ve %4,0 olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada ise bu değerler sırasıyla %0, %0,97, %1,51 ve %3,42 olarak belirlenmiştir. Ryu vd. (2022) tarafından rapor edilen değerler ile kıyaslandığında bu tez çalışmasında özellikle RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örnekleri için rapor edilen değerlerin, Ryu vd. (2022) tarafında rapor edilen değerlerden düşük olduğu görülmektedir. Bu tez çalışmasında glikozidik bağ analizleri için üst sindirim sistemi enzimleri ile muamele edilmiş olan örnekler kullanılmışken, Ryu vd. (2022) yaptıkları çalışmada glikozidik bağ analizleri için üst sindirim sistemi enzimleri ile muamele edilmemiş örnekleri kullanmışlardır. Dolayısıyla, bu durum çalışmalar arası gözlemlenen farklı sonuçların ortaya çıkmasına sebebiyet vermiştir. Ryu vd. (2022)’nin rapor etmiş olduğu sonuçlar ile bu tez çalışması sonucu elde edilmiş olan veriler birlikte incelendiğinde, üst sindirim sistemi enzimlerinin, α -(1,4) glikozidik bağlara kıyasla, α -

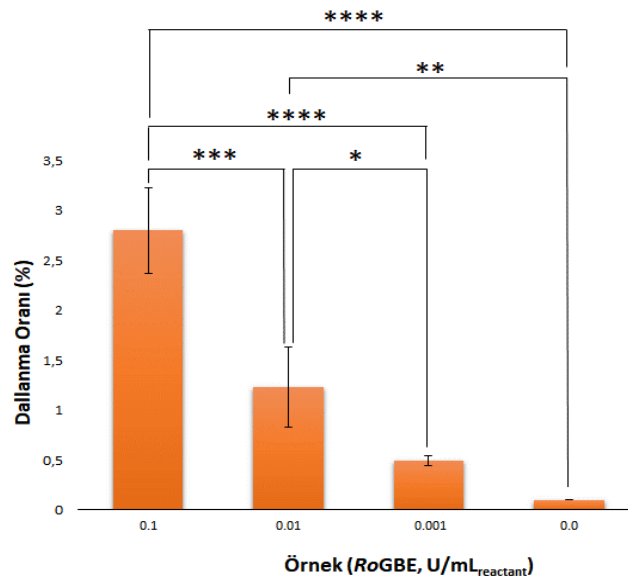
(1,6) glikozidik bağların parçalanmasını daha fazla indüklediği sonucuna varılabilmektedir, çünkü üst sindirim sistemi muamelesi sonucu örneklerde, Ryu vd. (2022) tarafından rapor edilen verilere kıyasla, daha az nispi bollukta α -(1,6) glikozidik bağ tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Reaksiyona dahil edilen GBE miktarını değiştirerek enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma oranları.

RoGBE (U/mL _{reaktant})	α -1,4 bağlantı (%)	α -1,6 bağlantı (%)	Kategori
0 U	99,90 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,01	Dallanmamış
0,001 U	99,51 $\pm$ 0,05	0,49 $\pm$ 0,05	Hafif Dallanmış
0,01 U	98,77 $\pm$ 0,40	1,23 $\pm$ 0,40	Orta Düzeyde Dallanmış
0,1 U	97,20 $\pm$ 0,43	2,80 $\pm$ 0,43	Yüksek Düzeyde Dallanmış

Bir birim (U) RoGBE aktivitesi , GBE: Glikojen dallanma enzimi

Üst gastrointestinal sindirimi taklit edildikten sonra, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma oranlarını belirlemek için örneklerde bulunan α -(1,6)/ α -(1,4) glikozidik bağ oranları belirlenmiş ve sonuçlar **Şekil 21'** da verilmiştir. RoGBE 0,1X, RoGBE 0,01X, RoGBE 0,001X ve RoGBE 0X örneklerinin dallanma oranları sırasıyla %2,80 $\pm$ 0,43; %1,23 $\pm$ 0,40; %0,49 $\pm$ 0,05 ve %0,10 $\pm$ 0,00 olarak hesaplanmıştır (**Şekil 21**). İkili karşılaştırma testi, RoGBE 0,001X ve RoGBE 0X hariç tüm örneklerin istatistiksel olarak birbirinden farklı olduğunu ortaya koymuştur (p < 0,05). Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma oranlarında gözlemlediğimiz istatistiksel farklılıklar, dallanma oranı ile kolonik mikrobiyota bileşimleri ve mikrobiyal metabolitler arasındaki ilişkiyi anlamamızı sağlayabilecektir.

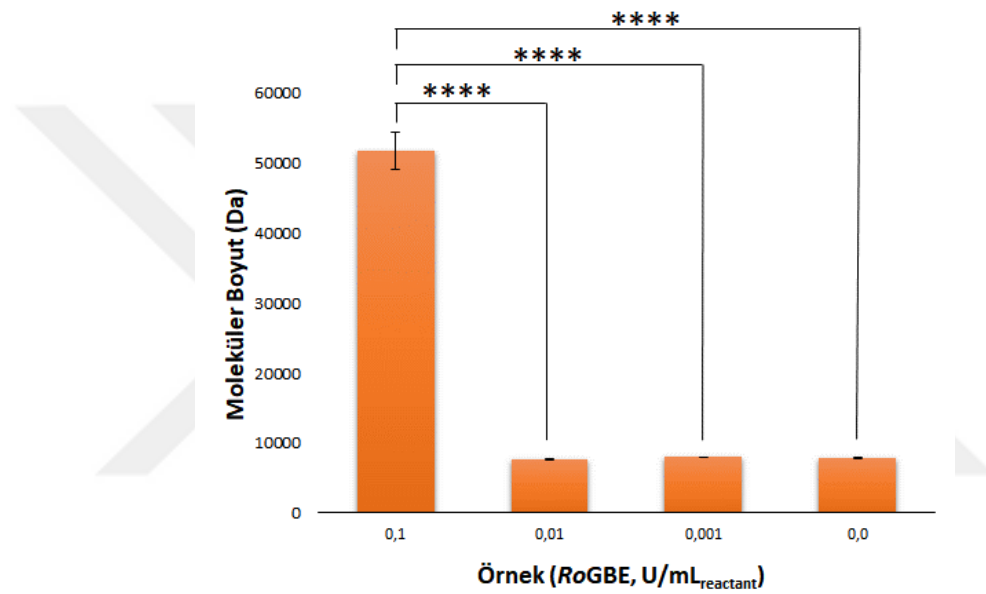


Şekil 21. GC-MS ile belirlenen, *Neisseria polysaccharea*' dan 1 U/mL amilosükraz reaktanı ile *Rhodothermus obamensis*' ten (RoGBE) glikojen dallanma enziminin değişen konsantrasyonlarına bağlı olarak *in vitro* sindirilen, çözünmeyen dallanmış α -glukanların dallanma oranları (α -1,6/ α -1,4 bağlantı oranları, %). Değerler üç ayrı replikanın ortalamasını $\pm$ standart sapmayı temsil etmektedir. *p = 0,0154;

p = 0,0016; *p = 0,0002; ****p < 0,0001.

4.1.2. Çözünmeyen dallanmış α -glukanların moleküler boyutları

Üst gastrointestinal sindirimi taklit edildikten sonra, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların moleküler boyutları HPSEC-MALS-RI sistemi kullanılarak tespit edilmiş olup, bu değerler RoGBE 0,1X, RoGBE 0,01X, RoGBE 0,001X ve RoGBE 0X örnekleri için sırasıyla 51.738 ± 2712 Da, 7658 ± 47 Da, 7964 ± 0 Da ve 7884 ± 16 Da olarak tespit edilmiştir (Şekil 22). İkili karşılaştırma testi, RoGBE 0,1X' in moleküler boyutunun diğer örneklerden daha büyük olduğunu ($p < 0,05$), ancak RoGBE 0,01X, RoGBE 0,001X ve RoGBE 0X örneklerinin moleküler boyutları açısından, istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığını ortaya koymuştur ($p > 0,05$).



Şekil 22. Üst Gİ kanalında *in vitro* olarak sindirilen çözünmeyen dallı α -glukanların moleküler boyutları. Değerler üç ayrı replikanın ortalamasını $\pm$ standart sapmayı temsil etmektedir. **** $p < 0,0001$. Moleküler boyut açısından RoGBE 0,01, RoGBE 0,001 ve RoGBE 0,0 arasında önemli bir fark gözlenmemiştir.

4.2. Enzimatik Olarak Sentezlenen α -glukanların Mikrobiyal Kısa Zincirli Yağ Asidi Oluşumları Üzerindeki Etkileri

Diyet bileşiklerinin fermentasyonu sonucunda, kolonda yaşayan mikroorganizmalar, toplu olarak mikrobiyal metabolitler olarak bilinen bazı metabolitler üretmektedir. Son yıllarda, mikrobiyal metabolitler arasında kısa zincirli yağ asitleri, özellikle asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit, (1) sağlığı geliştirici etkileri (Bishehsari vd., 2018; Ríos-Covián vd., 2016; Sonnenburg ve Bäckhed, 2016) ve (2) kolonda bulunan toplam mikrobiyal kısa zincirli yağ asitlerinin %90-95' ini oluşturmaları nedeniyle daha fazla dikkat çekmiştir (Ríos-Covián vd., 2016). Klinik ve klinik öncesi çalışmalar, asetatin glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) ve peptit YY (PYY) gibi bağırsak hormonlarının salgılanması yoluyla bireylerin enerji ve substrat metabolizmasını olumlu

yönde etkilediğini göstermiştir. Bunlar, tüm vücut lipolizini, sistemik proinflamatuvar sitokin seviyelerini azaltarak, enerji harcamasını ve lipid oksidasyonunu artırarak bireylerin iştahını etkilemekte ve böylece obezite kontrolüne katkıda bulunmaktadır (Hernández vd., 2019). Öte yandan propiyonatın lipogenezi, serum kolesterol seviyelerini ve farklı vücut dokularında karsinogenezi azalttığı düşünülmektedir (Hosseini vd., 2011). Bir diğer önemli mikrobiyal kısa zincirli yağ asidi, kolon epitel hücrelerinin ana enerji kaynağı olan bütirattır (Flint vd., 2012b). Ayrıca bütirat, tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) üretimini baskılayarak (Bailón vd., 2010) ve nükleer faktör kappa B (NF- κ B) aktivitesini inhibe ederek anti-inflamatuvar etki göstermektedir (Lührs vd., 2002). Ayrıca gen ifadesini düzenleyerek (histon deasetilazı inhibe ederek) antikarsinojenik aktivite gösterdiği düşünülmektedir (Daly ve Shirazi-Beechey, 2006).

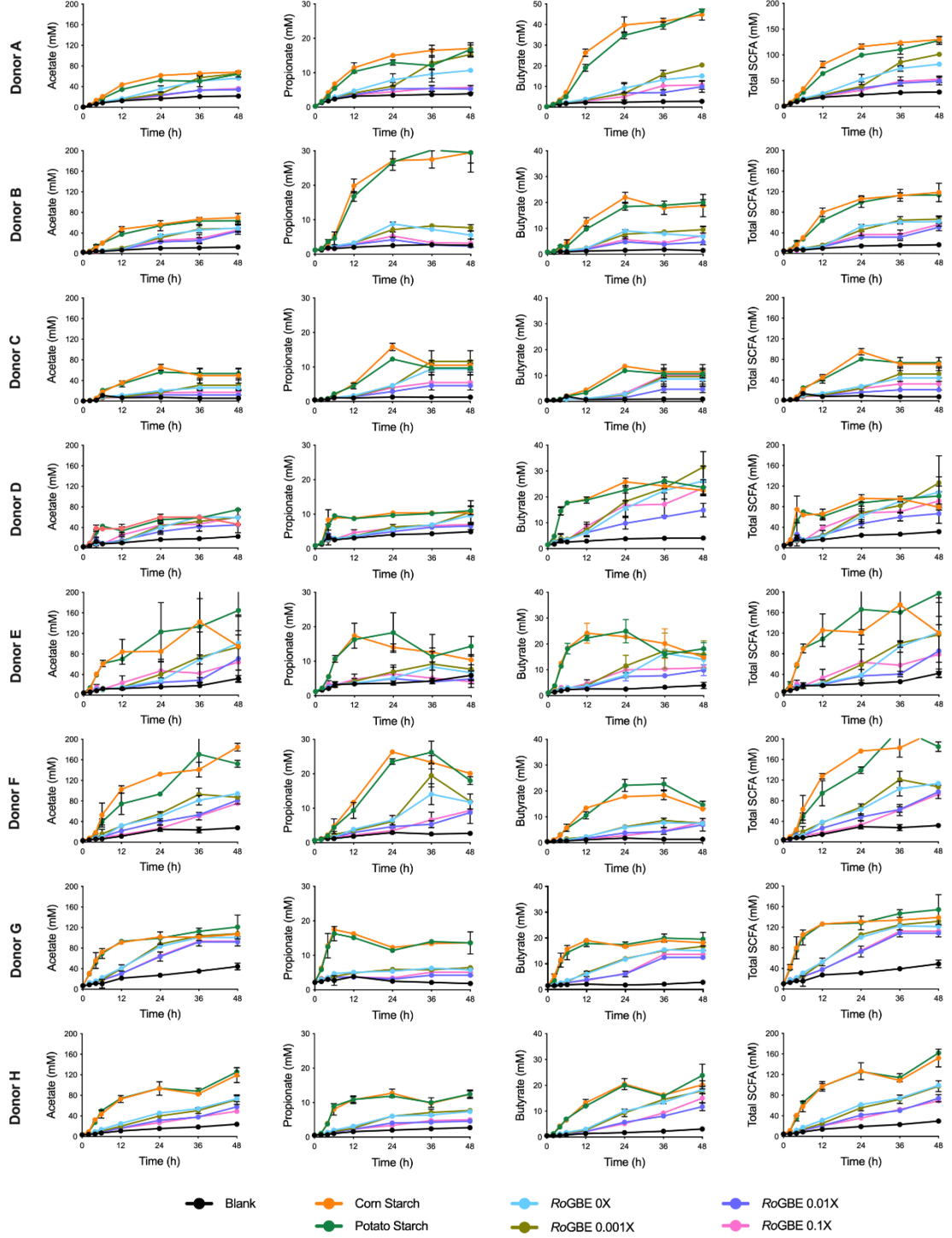
Bu çalışmada, farklı yapısal özelliklere sahip enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların kalın bağırsakta oluşan mikrobiyal metabolitlere etkilerinin belirlenmesi için, üst sindirim sistemi enzimleri ile muamele edilmiş olan α -glukanlar, 8 farklı sağlıklı donörden elde edilmiş fekal mikroorganizmalar ile fermantasyona bırakılmış ve fermantasyonun 0., 2., 4., 6., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde örnekler toplanarak, kısa zincirli yağ asitleri (asetat, propiyonat ve bütirat) gaz kromatografisi ile kantifiye edilmiştir. Ayrıca asetat, propiyonat ve bütiratin molar miktarlarını toplayarak oluşan toplam kısa zincirli yağ asitleri de hesaplanmıştır (**Şekil 23**). Çalışmada negatif kontrol olarak hiçbir karbon kaynağı içermeyen ortam kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak ise patates ve mısır nişastaları kullanılmıştır.

Daha önce yapılan çalışmalar, kolonik mikrobiyota bileşiminin ve mikrobiyal metabolitlerin bireyler arası değişiklik gösterebildiğini, dolayısıyla belirli bir diyet lifinin (prebiyotiğin) farklı insanlardan elde edilen fekal mikroorganizmalar ile fermente edilmesi sonucunda farklı fonksiyonel etkileri (farklı kısa zincirli yağ asitleri oluşumuna sebebiyet verebileceğini ortaya koymuştur (Liu vd., 2020a; Teichmann ve Cockburn, 2021). Bu sebepten dolayı, bu çalışma sonucu elde edilen sonuçlar her bir donör için ayrı ayrı incelenmiştir.

İlk olarak, sonuçlarımız enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların, fekal mikrobiyota tarafından, dirençli nişasta kontrollerine kıyasla, daha yavaş bir hızda fermente edildiğini ortaya koymuştur. Örneğin, kısa zincirli yağ asidi (asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit) oluşum sonuçları incelendiğinde, dirençli nişasta kontrolleri fermantasyonun ilk yarısında (neredeyse pletau durumuna ulaştıkları) yüksek miktarda kısa zincirli yağ asidi oluşumuyla sonuçlanırken, enzimatik olarak sentezlenen

α -glukan örneklerinde kısa zincirli yağ asidi oluşumu daha yavaş bir hızda ve genellikle fermantasyon sürecinin ikinci yarısında gerçekleşmiştir (**Şekil 23**). Bunlar, dirençli nişasta kontrollerine kıyasla, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların kolonda daha yavaş fermente edildiğini göstermektedir. Bu, sağlıklı bir diyet lifinden istenen bir özelliktir, çünkü hızlı fermente olma özelliğine sahip diyet lifleri genellikle proksimal kolonda fermente olurken, yavaş fermente olma özelliğine sahip diyet lifleri tüm kolon boyunca sakkarolitik aktiviteyi teşvik edebilir ve özellikle kolon hastalıklarının (kolon kanseri, inflamasyon gibi) çoğunun meydana geldiği kolonun distal kısmında yaşayan mikroorganizmaları besleyebilir (Hamaker ve Tuncil, 2014; Rose vd., 2007; Tuncil vd., 2017).

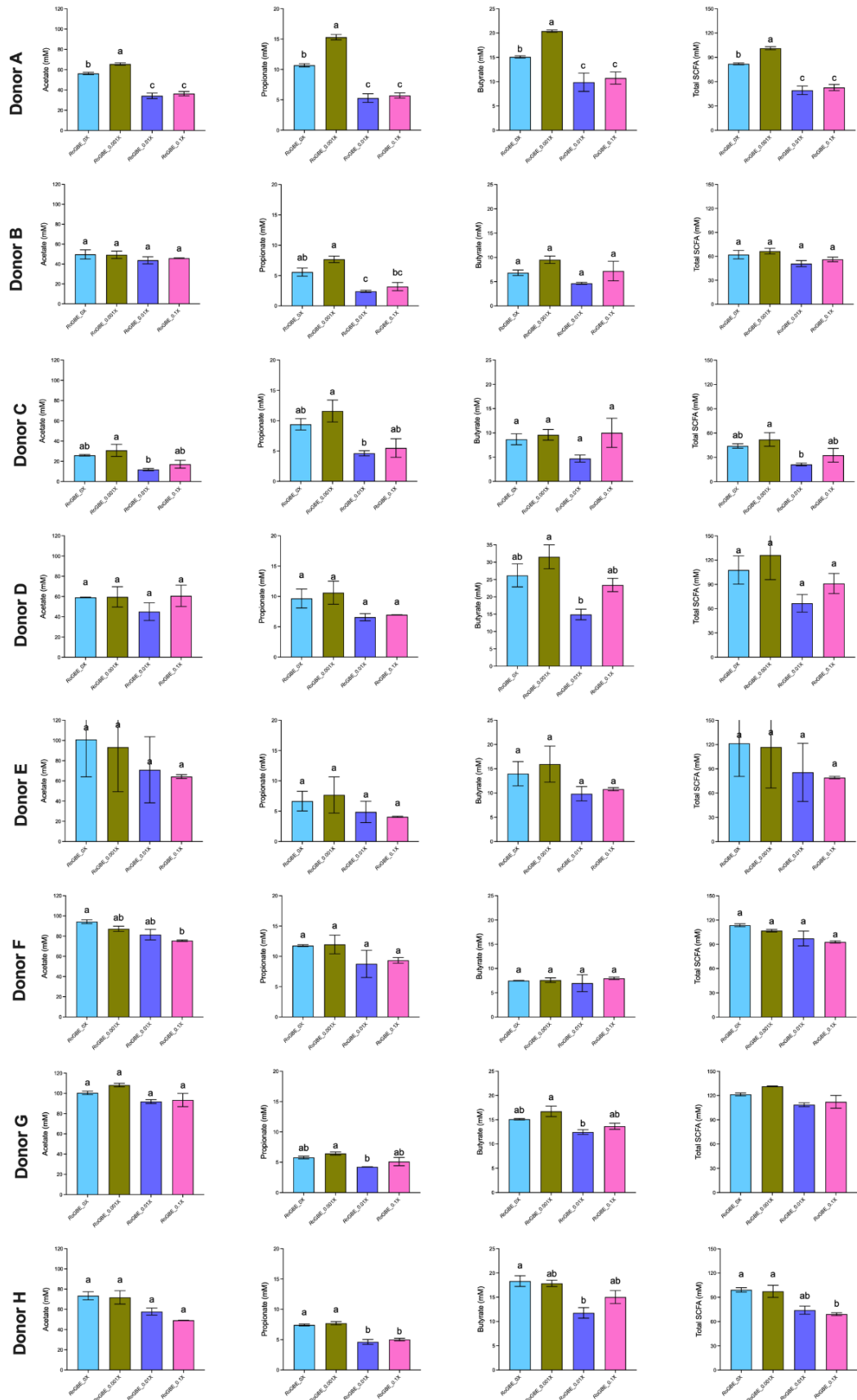




Şekil 23. Fekal mikrobiyota tarafından enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermentasyon süreci boyunca kısa zincirli yağ asitleri. Daha iyi görselleştirme sağlamak amacıyla, her bir donöre ait sonuçlar ayrı ayrı gösterilmiştir. Her satır farklı donörü temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmektedir. SCFA: Kısa zincirli yağ asidi. Toplam SCFA=Asetat + Propiyonat + Bütirat.

Kontrollerle (dirençli nişastalar) karşılaştırıldığında, kontrol örneklerinin daha yüksek asetat, propiyonat ve bütirat oluşumuyla sonuçlandığı görülse de bu etki donöre bağlıdır; örneğin, Donör D' de, RoGBE 0,001X, dirençli nişasta kontrollerine kıyasla daha yüksek bütirat oluşumuyla sonuçlanmıştır, benzer şekilde, Donör E' de, RoGBE 0,001X,

dirençli nişasta kontrollerine neredeyse benzer miktarda bütirat ortaya çıkarmıştır. Diğer donörlerde, dirençli nişasta kontrollerinin daha yüksek miktarda bütirat ürettiği bulunmuştur (**Şekil 23**). Bu bulgular, bir diyet lifinin KZYA (özellikle bütirat) üretim kapasitesinin sadece glikozidik bağlantı türüne bağlı olmadığı, çünkü hem enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların hem de dirençli nişasta kontrollerinin α -(1,4) ve α -(1,6) glikozidik bağlantılardan oluştuğu, ancak bütirat üretim potansiyellerinin tamamen farklı olduğu gibi önemli bir sonucu ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, diyet liflerinin morfolojik özellikleri, kolonik mikrobiyota tarafından fermente edilebilirliği üzerinde önemli bir rol oynayabilir. Ayrıca, tüm donörlerde, daha fazla dallanmış enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukan örneklerinin (*RoGBE* 0,01X ve *RoGBE* 0,1X), daha az dallanmış muadillerine (*RoGBE* 0,001X ve *RoGBE* 0X) kıyasla daha yavaş fermente edildiğini tespit ettik. Bu durum, diyet liflerinin yapısal özelliklerinin kolon mikrobiyotası tarafından fermentasyon hızını etkilediğini göstermekte ve diğerleriyle (Xu vd., 2022a) uyumludur.



Şekil 24. Fermantasyon sonunda kısa zincirli yağ asitleri ölçümü. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. Aynı harfe sahip ortalamalar önemli ölçüde farklı değildir ($p > 0.05$). SCFA: Kısa zincirli yağ asidi. Toplam SCFA=Asetat + Propiyonat + Bütirat.

Dallanma yoğunluğundaki varyasyonların mikrobiyal kısa zincirli yağ asitlerini nasıl etkilediğini anlamak için, fermentasyonun sonunda (48 saatlik fermentasyon) enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermentasyonları sonucunda fekal mikrobiyota tarafından oluşturulan asetat, propiyonat, bütirat ve toplam KZYA' ları istatistiksel olarak karşılaştırdık (dallanma yoğunluğundaki varyasyonların kısa zincirli yağ asidi oluşumları üzerindeki etkilerini görmek için istatistiksel analizin sadece enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların sonuçlarına uygulanmıştır). Sonuçlar, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların yapısal özelliklerinin fekal mikrobiyota tarafından oluşturulan kısa zincirli yağ asidini etkilediğini ortaya koymuş ve enzimatik olarak α -glukanların işlevsel özelliklerinin yapıya bağlı olduğunu düşündürmüştür. Ayrıntılı olarak, daha düşük dallanma yoğunluğuna sahip enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanlar genellikle fermentasyonun sonunda daha yüksek miktarlarda propiyonat ve bütirat oluşumuyla sonuçlanmıştır (**Şekil 24**). Örneğin, hafif dallanmış olan RoGBE 0,001X ve dallanmamış olan RoGBE 0X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X' e kıyasla tüm donörlerde daha yüksek miktarlarda propiyonat oluşumuyla sonuçlanmıştır. Burada, enzimatik olarak sentezlenen α -glukan örnekleri arasında propiyonat oluşumu açısından istatistiksel farklılıkların ($p < 0,05$) sekiz donörden beşinde (A, B, C, G ve H donörleri) gözlendiğini belirtmek gerekir (**Şekil 24**). Benzer şekilde, RoGBE 0,001X ve RoGBE 0X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X' e kıyasla tüm donörlerde (donör F hariç) daha yüksek miktarlarda bütirat oluşumuyla sonuçlanmıştır. Burada, enzimatik olarak sentezlenen α -glukan örnekleri arasında bütirat oluşumu açısından istatistiksel farklılıkların ($p < 0,05$) sekiz donörden dördünde (A, D, E ve F donörleri) gözlendiğini belirtmek gerekir (**Şekil 24**). Fermentasyon sonunda asetat ve toplam KZYA oluşumları açısından aynı eğilim gözlenmemiştir. Asetat oluşumu açısından donörlerin sadece üçünde (A, C ve F donörleri) anlamlı farklılıklar ($p < 0,05$) gözlenirken, toplam KZYA oluşumları açısından sekiz donörden sadece ikisinde (C ve H donörleri) anlamlı farklılıklar ($p < 0,05$) gözlenmiştir (**Şekil 24**). Bu sonuçlar toplu olarak hem donör (başlangıç mikrobiyota kompozisyonu) hem de glukan (diyet lifi) yapısının kolon mikrobiyotası tarafından oluşturulan metabolitleri (kısa zincirli yağ asitleri) etkilediğini göstermektedir.

Klostermann vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada, zincir uzunluğu, moleküler ağırlık dağılımı ve kristal tipi (A/B) bakımından farklılık gösteren, enzimatik olarak sentezlenmiş α -(1,4) glukunların kristalleştirilmesi ya da enzimatik modifikasyon (amilopektinlerin ayrıştırılması) yoluyla elde edilmiş 6 yüksek dirençli DN₃ substratı (DN₃, %80-95 DN), yetişkin dışkı inokulumu ile *in vitro* fermentasyona tabi tutulmuştur. Sonuçlar; tüm içsel DN₃ substratları arasında özellikle polidispers α -(1,4) glukunlardan hazırlanan A tipi kristal yapıya sahip DN₃' ün (N16 A) fermentasyonunun, üretilen en yüksek bütirat miktarı ile sonuçlandığını bildirmiştir. Tüm DN₃ substratları esas olarak bütirat oranına ($\pm 2,5$) fermente edilirken, eser miktarda propiyonat ve laktat oluşumu gözlemlenmiştir. Ayrıca, hiç süksinat tespit edilmemiştir. Genel olarak dar dağılımlı moleküler ağırlığa sahip içsel DN₃ substratları benzer miktarlarda KZYA (48 saatte ± 7 μ mol/mg substrat) ve asetat bütirat oranına fermente edilirken, polidispers moleküler ağırlık dağılımına sahip DN₃ substratları daha düşük miktarlarda KZYA' ya (± 5 -5,5 μ mol/mg substrat) fermente edilmişlerdir. Bir başka çalışmada ise polimorf B DN₃' ün 0,79 mM seviyelerine kadar daha yüksek bütirat üretimini indüklediği bildirilmiştir (Lesmes vd., 2008). Bu çalışmalar, diyet liflerindeki (dirençli nişasta) ince yapı farklılıklarının mikrobiyal metabolitler üzerindeki etkilerinin farklı olabileceğini ve bu etkilerin de her bireyde farklılık gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

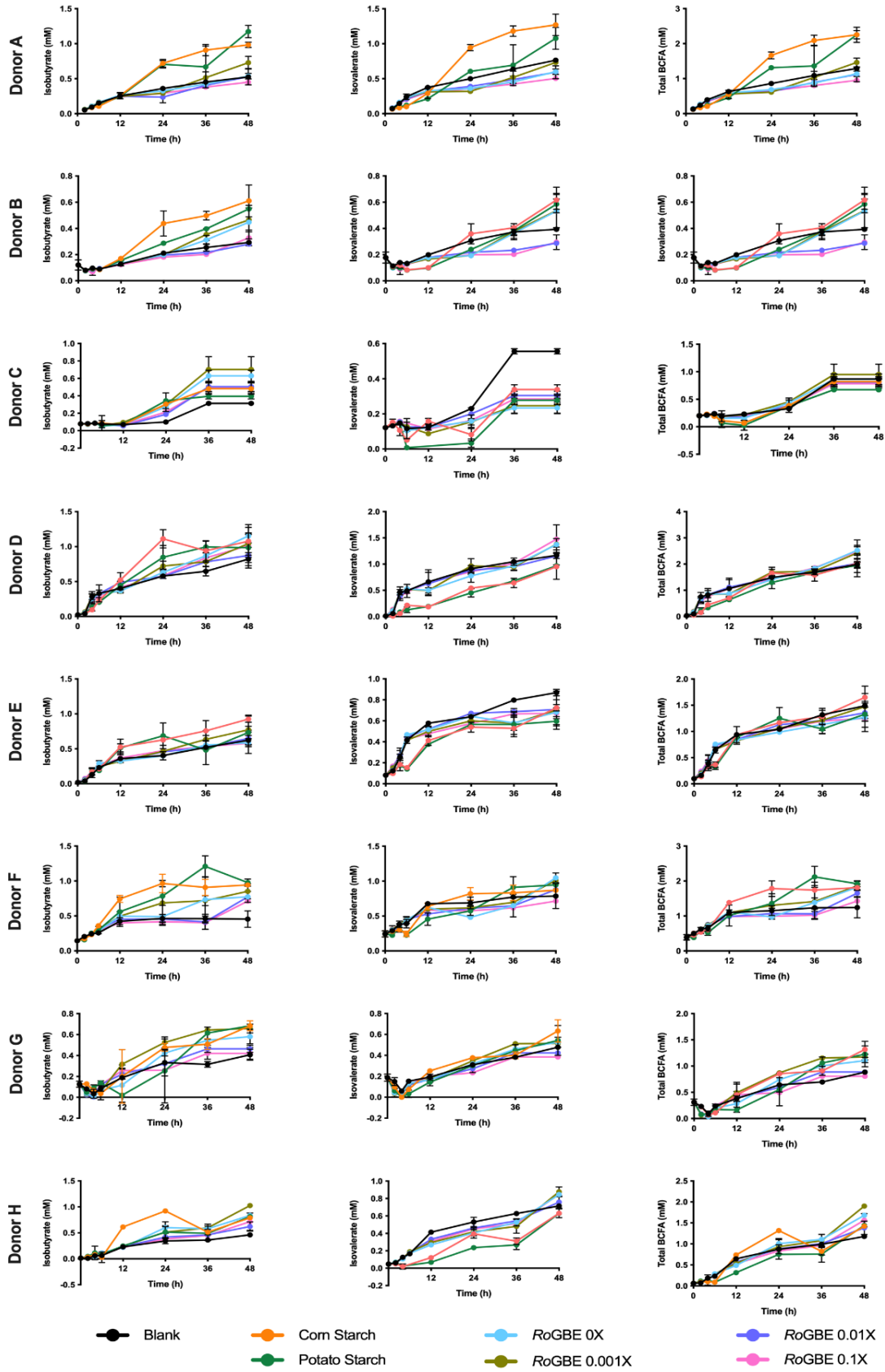
4.3. Enzimatik Olarak Sentezlenen α -glukunların Mikrobiyal Dallı Zincirli Yağ Asidi Oluşumları Üzerindeki Etkileri

Kısa zincirli yağ asitlerine ek olarak, kolonik mikrobiyota izobütirat ve izovalerat gibi dallı zincirli yağ asitleri de üretebilmektedir. Bu mikrobiyal metabolitler genellikle zararlı mikrobiyal metabolitler olarak kabul edilir çünkü bu metabolitlerin yüksek miktarları inflamasyon ve kolon kanseri gibi bazı kolon hastalıklarıyla ilişkilendirilmişlerdir (Rose vd., 2007). Bu nedenle, ideal diyet lifleri bu mikrobiyal dallı zincirli yağ asitlerinin miktarını azaltmalıdır.

Bu çalışmada, farklı yapısal özelliklere sahip enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukunların 0., 2., 4., 6., 12., 24., 36. ve 48. saatlik fermentasyonlarından sonra fekal mikrobiyota tarafından oluşturulan dallı zincirli yağ asitleri (izobütirat ve izovalerat) gaz kromatografisi ile kantifiye edilmiş olup, sonuçlar **Şekil 25'** de verilmiştir. Ayrıca izobütirat ve izovaleratın molar miktarlarını toplayarak oluşan toplam dallı zincirli yağ asitleri hesaplanmıştır. Şekilde görüldüğü gibi, dallı zincirli yağ asitlerinin herhangi biri açısından örnekler arasında çok fazla farklılık görülmemiştir. İlaveten, fermentasyon boyunca örneklerde ölçülmüş olan dallanmış zincirli yağ asitlerinin miktarlarının negatif

kontrolde ölçülmüş olan miktarlara benzer olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, test edilen enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların dallı zincirli yağ asitlerinin (zararlı mikrobiyal metabolitler) oluşumunu desteklemediği (genel olarak fekal inokülasyon sırasında ortama geçmiş olan fekal maddelerin dallanmış zincirli yağ asitleri oluşumunu desteklediği) önerisinde bulunmaktadır. Burada, bazı bilim insanlarının dallı zincirli yağ asitlerinin kolondaki protein fermantasyonunun (özellikle dallı aminoasitlerden oluşanların) göstergesi olduğuna inandıklarını belirtmek gerekir (Rios-Covian vd., 2020). Bu nedenle, fermantasyon ortamımızda protein bulunmaması, örnekler arasında farklılık görmememizin bir başka nedeni olabilir.



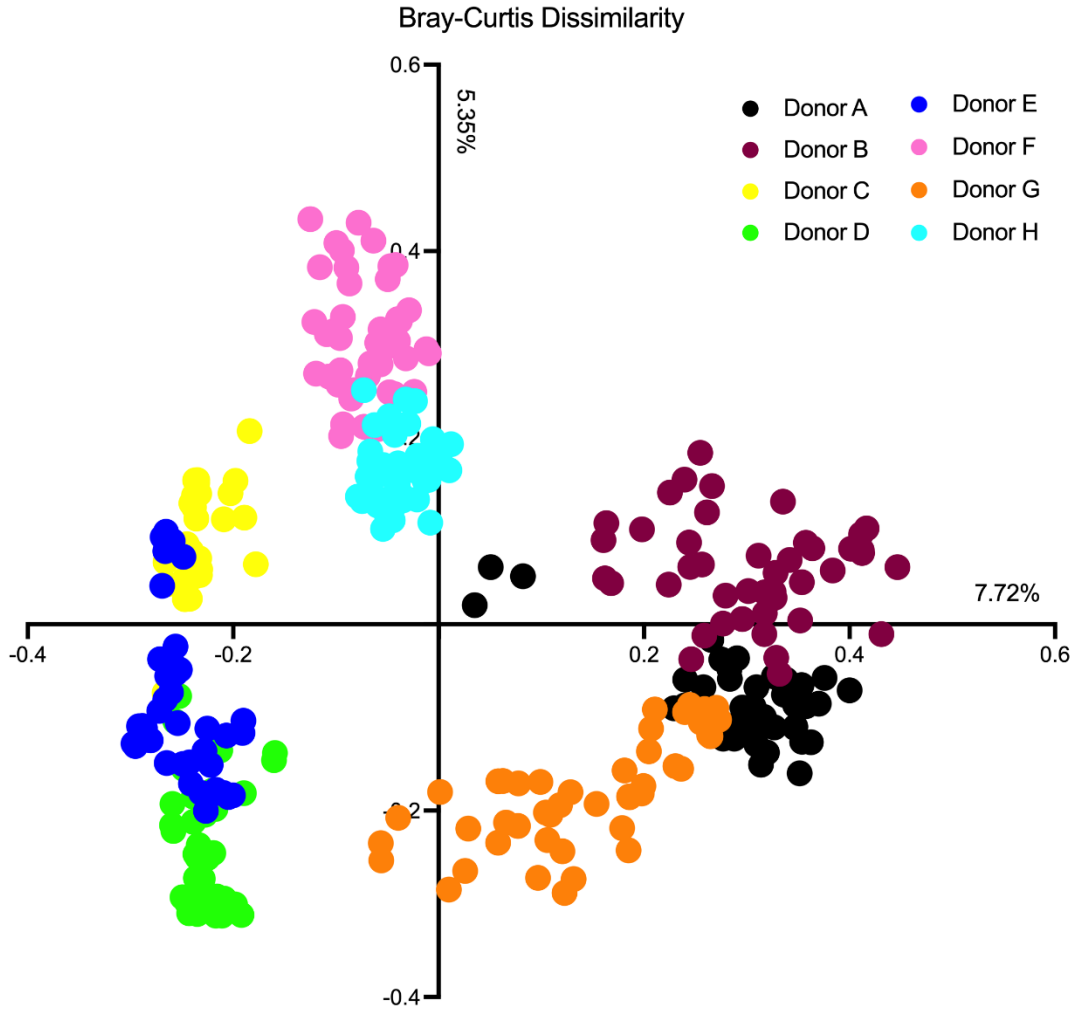


Şekil 25. Fekal mikrobiyota tarafından enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermentasyon süreci boyunca dallı zincirli yağ asitleri. Daha iyi görselleştirme sağlamak amacıyla, her bir donöre ait sonuçlar ayrı ayrı gösterilmiştir. Her satır ayrı bir donöre aittir. BCFA: Dallı zincirli yağ asidi. Toplam BCFA=İzobütirat + İzovalerat.

4.4. Enzimatik Olarak Sentezlenen α -glukanların Fekal Mikrobiyota Üzerindeki Etkileri

4.4.1. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fekal mikrobiyota toplulukları üzerindeki etkileri (β -çeşitlilik)

Fekal mikrobiyota topluluklarının genel yapıları, %97 benzerlik seviyesinde OTU' ların nispi bolluklarına dayanan Bray-Curtis farklılık testi kullanılarak karşılaştırılmıştır (Şekil 26). Sonuçlar, her bir örneğin mikrobiyal toplulukları buna göre kümelandığından ve toplam varyasyonun %13' ünü oluşturduğundan, donörün mikrobiyal topluluk kompozisyonları üzerinde kesin bir etkisi olduğunu ortaya koymuştur.



Şekil 26. Boş, kontroller (mısır ve patates nişastaları) ve enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanlar (RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X) ile 0, 24 ve 48 saat in vitro fermentasyondan sonra %97 benzerlik seviyesinde OTU' ların göreceli bolluklarına dayanan fekal mikrobiyal toplulukların Bray-Curtis farklılığı.

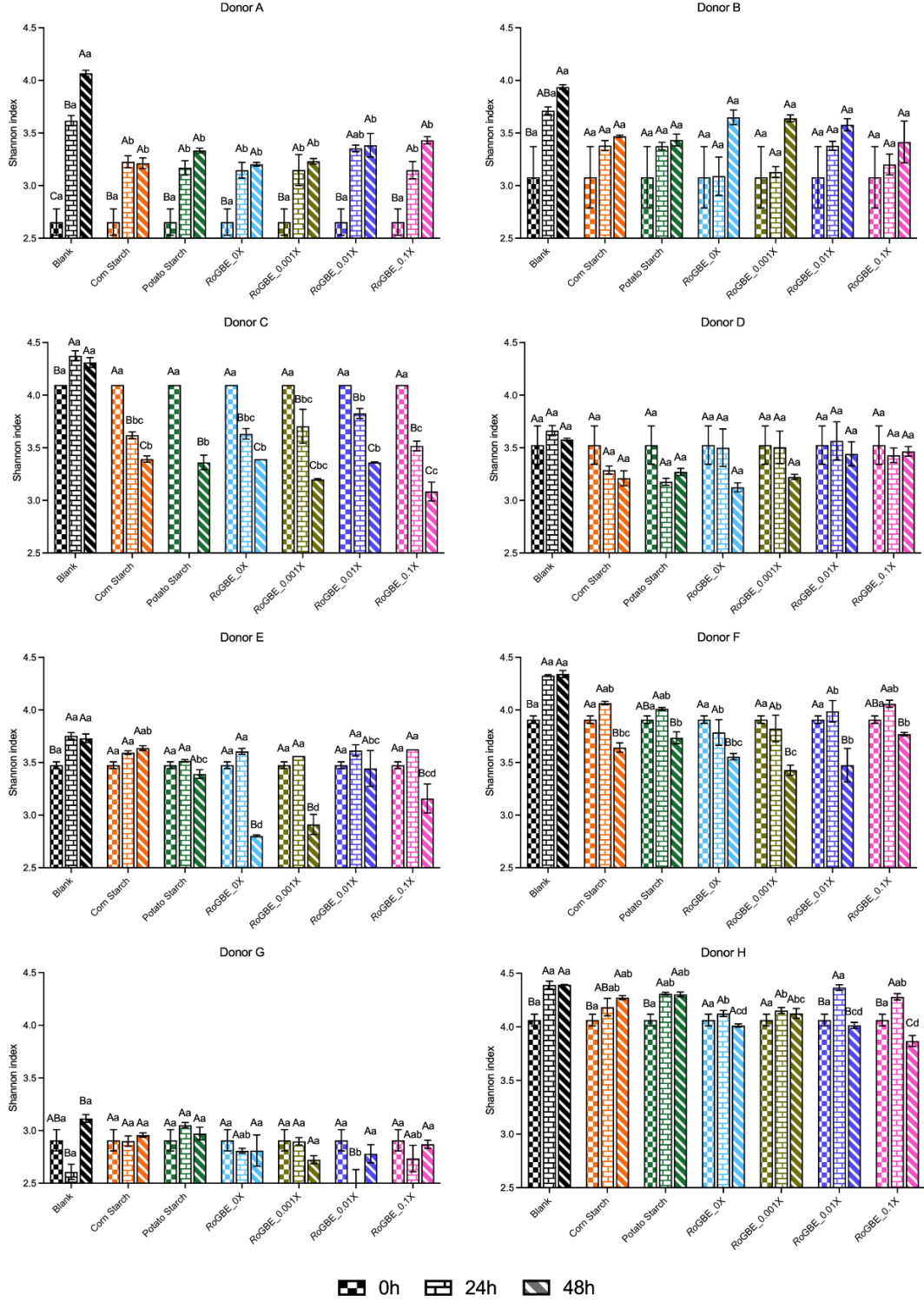
Buna ek olarak, istatistiksel analiz (AMOVA - Analysis of MOlecular VAriance) hem lif türünün (nişasta ve glukan) hem de zamanın (0, 24 ve 48 saat) mikrobiyal topluluk

yapıları üzerinde önemli etkileri ($p < 0,001$) olduğunu ortaya koyarak diyet liflerinin topluluk yapıları üzerindeki önemini daha da doğrulamıştır. Öte yandan, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlar arasında yapılan çoklu karşılaştırmalar, mikrobiyal topluluklar arasındaki farklılıkların önemsiz ($p > 0,05$) olduğunu ortaya koymuştur; bu da yapısal özelliklerden bağımsız olarak, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların genellikle yapısal olarak benzer mikrobiyal topluluklar ortaya çıkardığını göstermektedir.

4.4.2. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fekal mikrobiyota topluluklarının α -çeşitliliği üzerindeki etkileri

α -çeşitlilik, mikrobiyal toplulukların zenginliğinin ve/veya eşitliğinin bir ölçümüdür. Shannon indeksi hem tür zenginliğini hem de eşitliği hesaba kattığı için, burada ilk olarak Shannon indeksi kullanarak fermentasyonun 0, 24 ve 48. saatlerinde fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitlilikleri ölçülmüştür (**Şekil 27**). Daha yüksek bir Shannon indeks değeri, bir topluluğun daha fazla türe sahip olduğunu ve bolluklarının benzer olduğunu göstermektedir (Tuncil vd., 2017a).

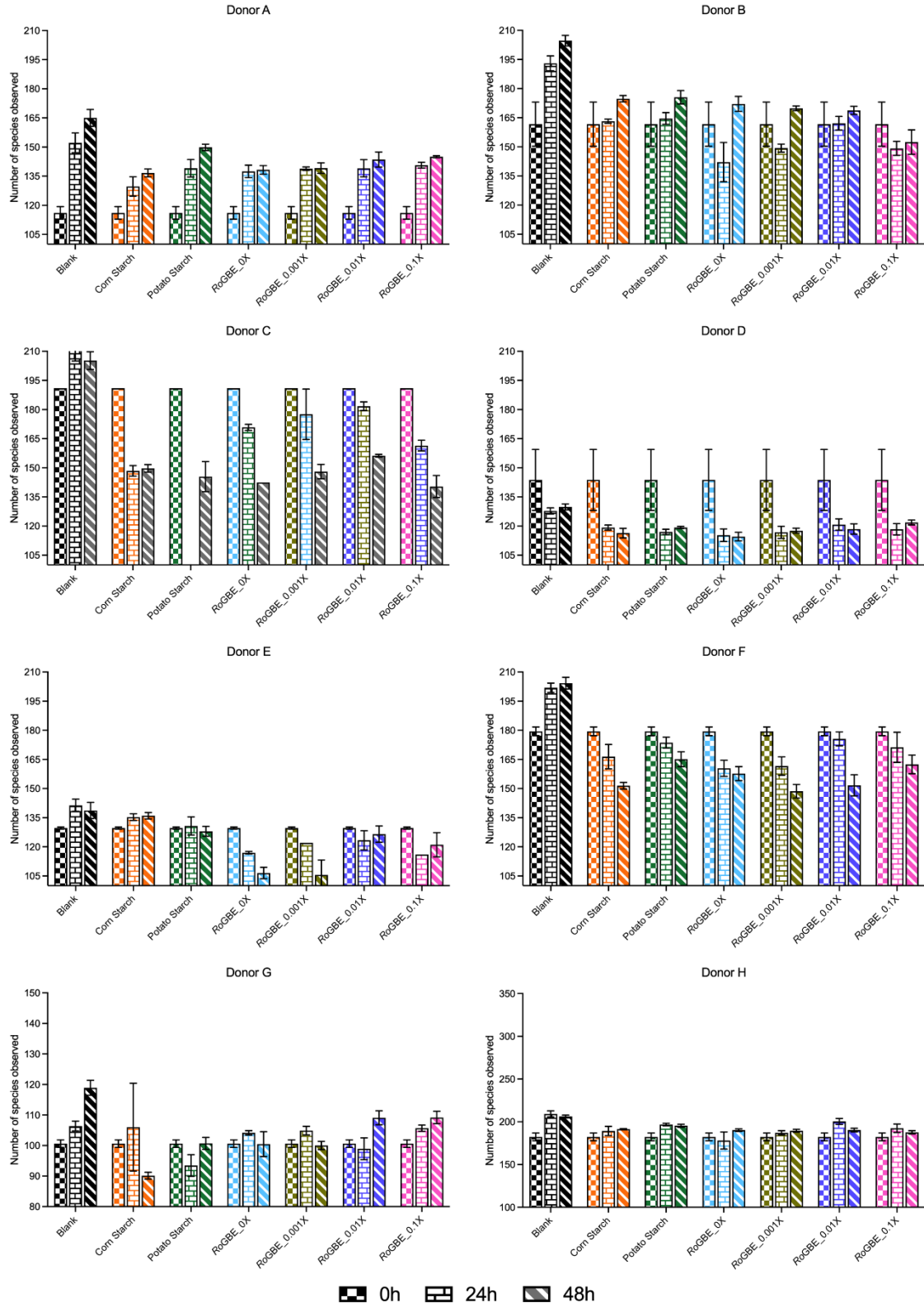
Sonuçlarımız, örneklerin Shannon indeks değerlerinin donöre özgü olduğunu ortaya koymuştur (başka bir deyişle, farklı donörlerden elde edilen dışkı toplulukları farklı Shannon indeks değerleri ortaya koymuştur). Örneğin, tüm örnekler arasında, fekal mikrobiyal toplulukların Shannon indeks değerleri A ve H donörlerinde önemli ölçüde artmıştır ($p < 0,05$) ; bu da A ve H donörlerinden elde edilen fekal mikrobiyal toplulukların diyet liflerine (α -glukanlar ve dirençli nişasta kontrolleri) daha iyi uyum sağlama yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. Benzer eğilim donör B' de de gözlenmiştir, ancak fermentasyon süresi boyunca α -çeşitlilik değerlerindeki artışlar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0,05$). Öte yandan, 0 ve 48 saatlik fermentasyon süreleri karşılaştırıldığında, fekal mikrobiyal toplulukların Shannon indeks değerleri C, E ve F donörlerinde önemli ölçüde azalmıştır ($p < 0,05$) (E donöründe, 0 ve 48 saatlik fermentasyonlar arasındaki önemli farklar sadece RoGBE 0X, RoGBE 0,001X ve RoGBE 0,1X' te gözlenmiştir). Buna karşılık, D ve G donörlerinde lif uygulamalarının hiçbirisi için (α -glukanlar ve dirençli nişasta kontrolleri), fermentasyon süreleri arasında önemli bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$) (**Şekil 27**), bu da mikrobiyal toplulukların zenginliğinin ve eşitliğinin lif türünden bağımsız olarak değişmediğini göstermektedir. Bu, D ve G donörlerinin verilen diyet liflerine kolayca adapte olabilen fazla mikrobiyal topluluklara sahip olduğu anlamına gelmektedir. Böyle bir sonuç, diyet değişiklikleri altında, stabil bir α -çeşitliliğine sahip bir mikrobiyal topluluğun, mikrobiyal fonksiyonları koruyabilmesi nedeniyle arzu edilmektedir.



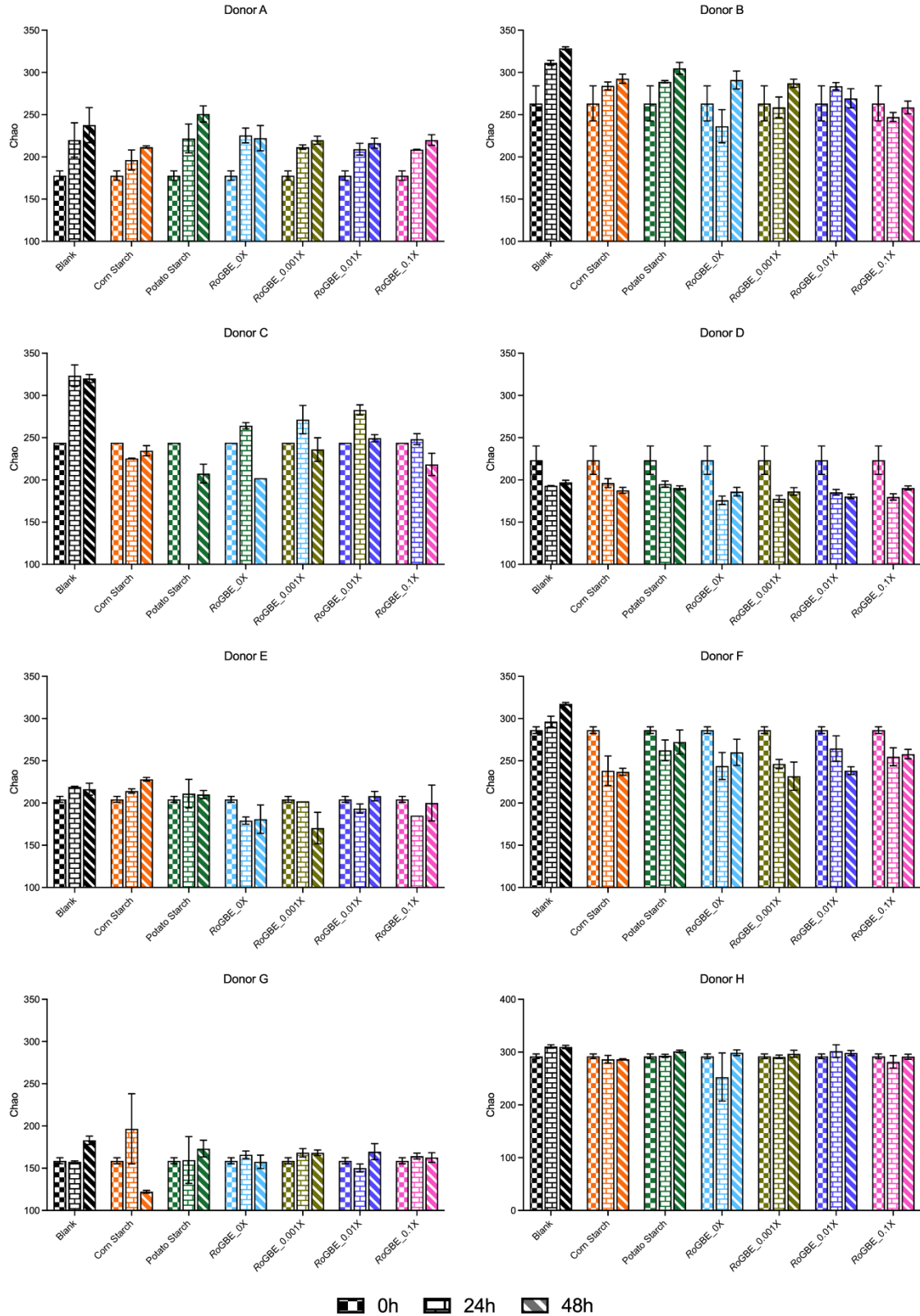
Şekil 27. Fermentasyon boyunca fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitlilik değerlerinde Shannon indeksi hesaplayıcısı ile ölçülen değişimler. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analizler $\alpha=0,05$ ' te iki yönlü ANOVA kullanılarak yapılmıştır. Çubuklardaki farklı büyük harfler bir diyet lifi içindeki fermentasyon süresi arasındaki önemli farklılıkları, farklı küçük harfler ise bir fermentasyon süresi içindeki diyet lifleri arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Fermentasyon sonunda (48 saat) fekal mikrobiyal topluluklarının α -çeşitlilik değerleri karşılaştırıldığında, A, B, D, G ve H donörlerinde önemli bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Fermentasyon sonunda, C donöründe, RoGBE 0,1X' in α -

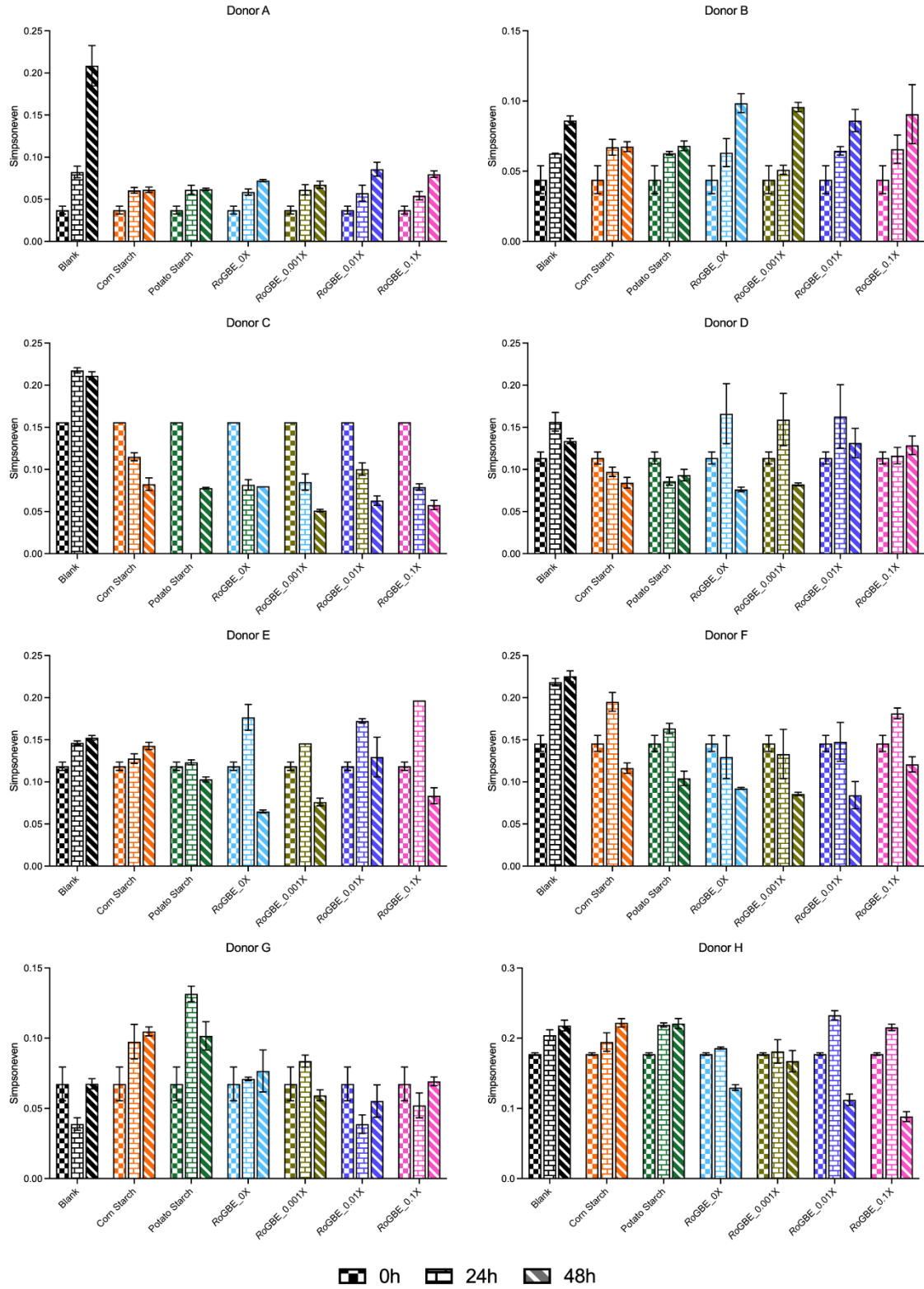
çeşitlilik değerinin dirençli nişastalar ve *RoGBE* 0X ve *RoGBE* 0,001X' ten önemli ölçüde düşük olduğu ($p < 0,05$), ancak *RoGBE* 0,01X' ten istatistiksel olarak farksız ($p > 0,05$) olduğu bulunmuştur. Bu durum, yüksek oranda dallanmış α -glukanın (*RoGBE* 0,1X) fermantasyonun sonunda donör C fekal mikrobiyal topluluğunda yalnızca sınırlı sayıda mikrobiyal türü teşvik ettiğini göstermektedir. Ancak, E ve F donörlerinde benzer bir eğilim gözlenmemiştir. E donöründe, fermantasyonun sonunda (48 saat) *RoGBE* 0,01X' in α -çeşitlilik değeri *RoGBE* 0X ve *RoGBE* 0,001X' inkinden önemli ölçüde yüksektir ($p < 0,05$), ancak *RoGBE* 0,1X' in α -çeşitlilik değerinden istatistiksel olarak farksızdır ($p > 0,05$). F donöründe, fermantasyon süresinin sonunda *RoGBE* 0,001X' in α -çeşitlilik değeri diğer numunelerinkinden önemli ölçüde ($p < 0,05$) düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar toplu olarak, sentezlenen α -glukanların fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitliliğini farklı şekilde etkileme kabiliyetine sahip olduğunu, ancak bu etkinin büyük ölçüde donörlere bağlı olduğunu göstermektedir. Shannon indeksine ek olarak, fermantasyon boyunca α -çeşitlilik değerleri; gözlenen tür sayısı (number of species observed), Chao, Simpsoneven ve Inverse Simpson indeksleri kullanılarak da ölçülmüştür. Gözlenen tür sayısı, Chao, Simpsoneven ve Inverse Simpson indekslerine ait sonuçlar sırasıyla **Şekil 28**, **Şekil 29**, **Şekil 30** ve **Şekil 31**' de verilmiştir.



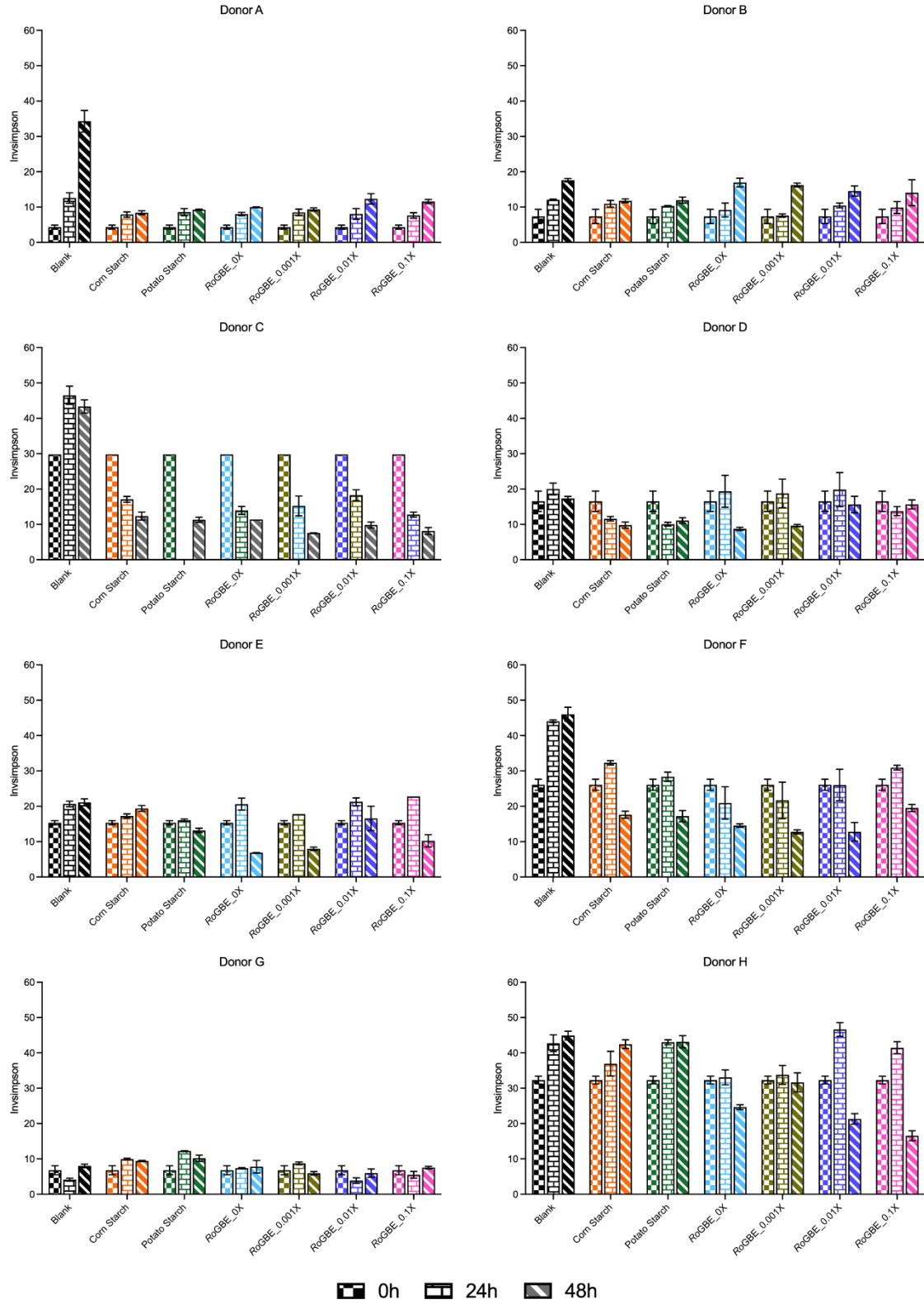
Şekil 28. Fermentasyon boyunca fekal mikrobiyal toplulukların gözlenen tür sayısı değerlerindeki değişimler. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir.



Şekil 29. Chao' nun indeks hesaplayıcısı ile ölçüldüğü üzere fermentasyon boyunca fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitlilik değerlerindeki değişimler. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir.



Şekil 30. Simpson's evenness indeksi hesaplayıcısı ile ölçülen fermentasyon boyunca fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitlilik değerlerindeki değişimler. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir.

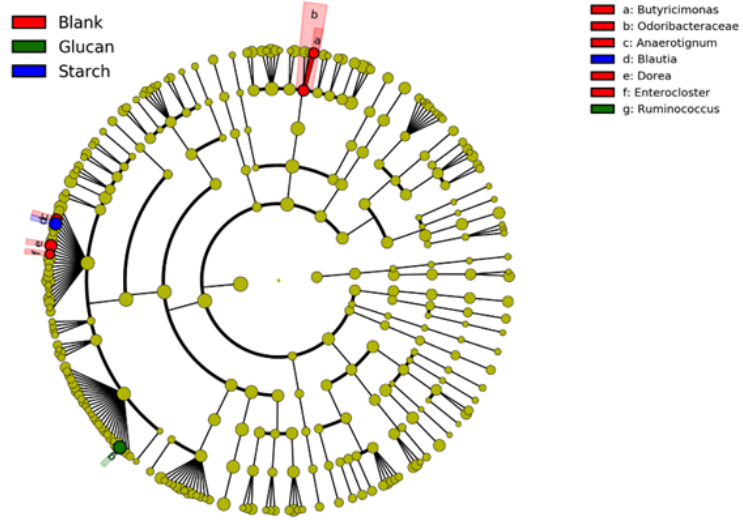


Şekil 31. Simpstoneven indeks hesaplayıcısı ile ölçülen fermentasyon boyunca fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitlilik değerlerindeki değişimler. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir.

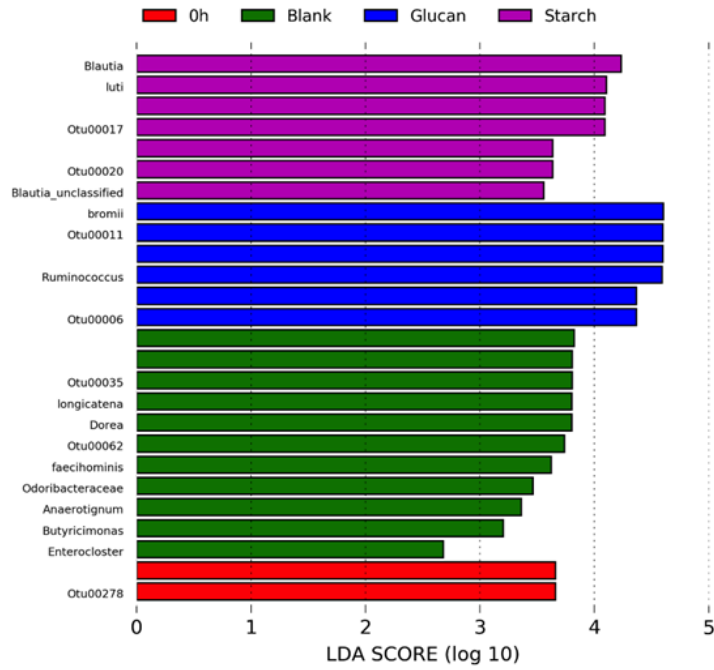
4.4.3. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların mikrobiyal bileşimler üzerindeki etkileri

Enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların fermentasyonu sonucu kalın bağırsak mikrobiyota kompozisyonu üzerindeki etkileri hakkında genel bilgi sağlamak ve dirençli nişasta kontrolleri ve sentezlenmiş α -glukanların genel mikrobiyal kompozisyonu nasıl etkilediğini araştırmak için, öncelikle fermentasyon sonunda (48 saat) elde edilen sonuçlar üzerinde doğrusal diskriminant analizi (LEfSe – Linear discriminant analysis Effect Size) etki büyüklüğü analizi gerçekleştirilmiştir (**Şekil 32**). LEfSe analizi, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlar ve dirençli nişasta kontrollerindeki aşırı uçları temsil eden spesifik mikrobiyal taksonları belirlememizi sağladı. **Şekil 32** incelendiğinde, *Ruminococcus* cinsine ait OTU'ların enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanlar için, *Blautia* cinsine ait OTU'ların ise nişasta (pozitif kontrol örnekleri) için diskriminant mikroorganizmalar (aşırı temsil edilen taksonlar) olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç, enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların genel olarak kalın bağırsakta *Ruminococcus* cinsine ait mikroorganizmaların gelişimini teşvik ettiği diğer taraftan benzer glikozidik bağ kompozisyonuna sahip olan nişasta örneklerinin ise *Blautia* cinsine ait olan mikroorganizmaların gelişimini daha fazla desteklediği şeklinde yorumlanabilir. Hem *Ruminococcus* hem de *Blautia* üyelerinin bütirat üreticisi olduğu bilinmektedir (Fu vd., 2019). Dolayısıyla, dirençli nişasta kontrol örneklerinde (**Şekil 23 ve 24**) gözlenen yüksek bütirat oluşumu, bütirat üreten *Blautia* üyelerini teşvik etme yeteneklerine bağlanabilirken, enzimatik olarak sentezlenen α -glukan örneklerinde (**Şekil 23 ve 24**) gözlenen nispeten yüksek bütirat oluşumu, bütirat üreten *Ruminococcus*'u teşvik etme yeteneklerine bağlanabilir. Hem dirençli nişasta kontrolleri hem de enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlar kimyasal olarak α -1,4 ve α -1,6 glukoz bağlarından oluşmasına rağmen, her ikisinin de fermentasyonu sonucunda farklı mikrobiyal taksonları teşvik etmiş olması ilginç bir bulgudur. Bu durum, diyet liflerinin glikozil bağlantılarının (kimyasal yapı yoluyla) toplulukta hangi mikrobiyal taksonların teşvik edileceğini tek başına belirlemediğini, ancak diyet liflerinin diğer yapısal özelliklerinin (belki de fiziksel ve morfolojik karakteristiklerin) bağırsakta hangi mikrobiyal taksonların teşvik edileceğini belirlemede önemli rol oynadığını göstermektedir.

a)



b)

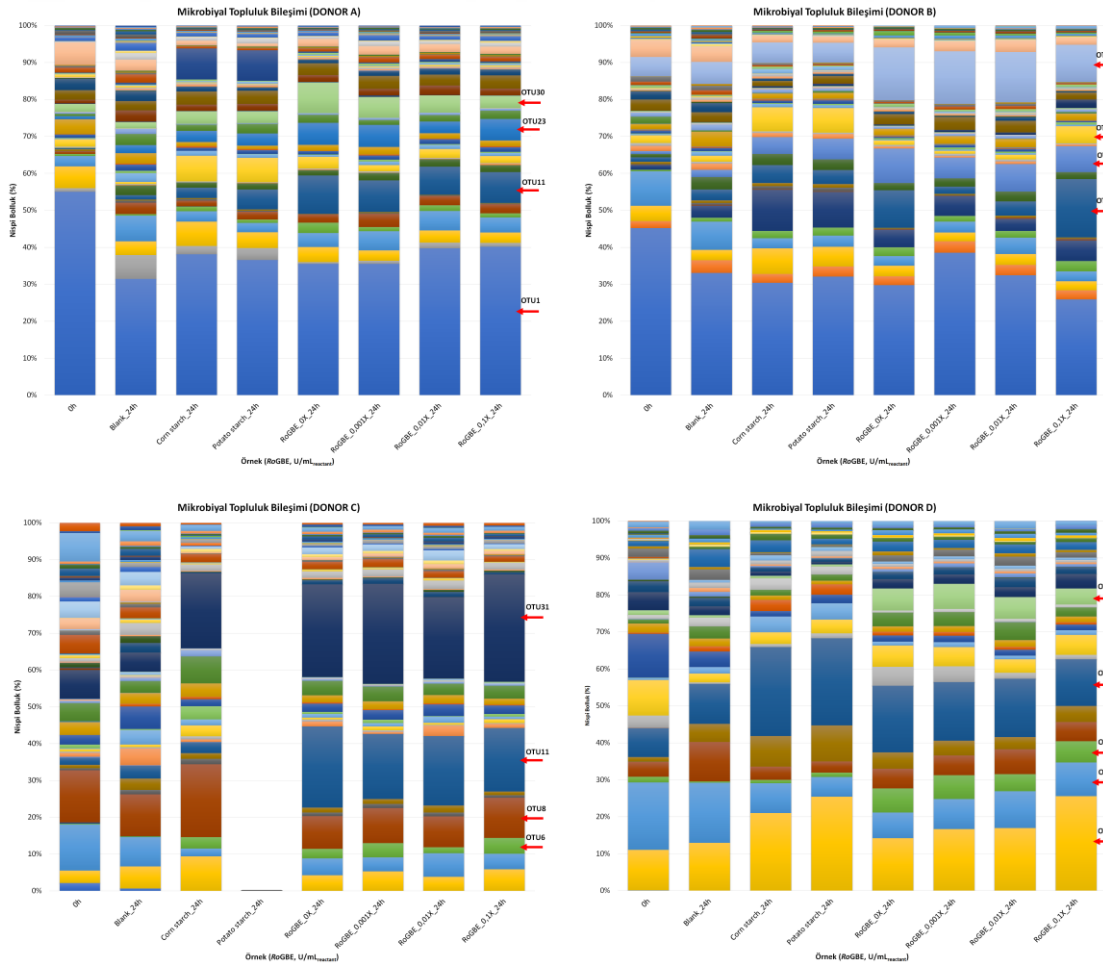


Şekil 32. Fermantasyonun 48. saatinde enzimatik olarak sentezlenen α -glukanları ve dirençli nişasta kontrollerini ayırt eden taksonların doğrusal diskriminant analizi (LEfSe). Taksonların yanlış atfedilmesini önlemek için ilk topluluklar da analize dahil edilmiştir. (a) Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlarda, dirençli nişasta kontrollerinde ve başlangıçta aşırı temsil edilen taksonları gösteren kladogram. (b) LDA skorları > 2.0 olan taksonlar.

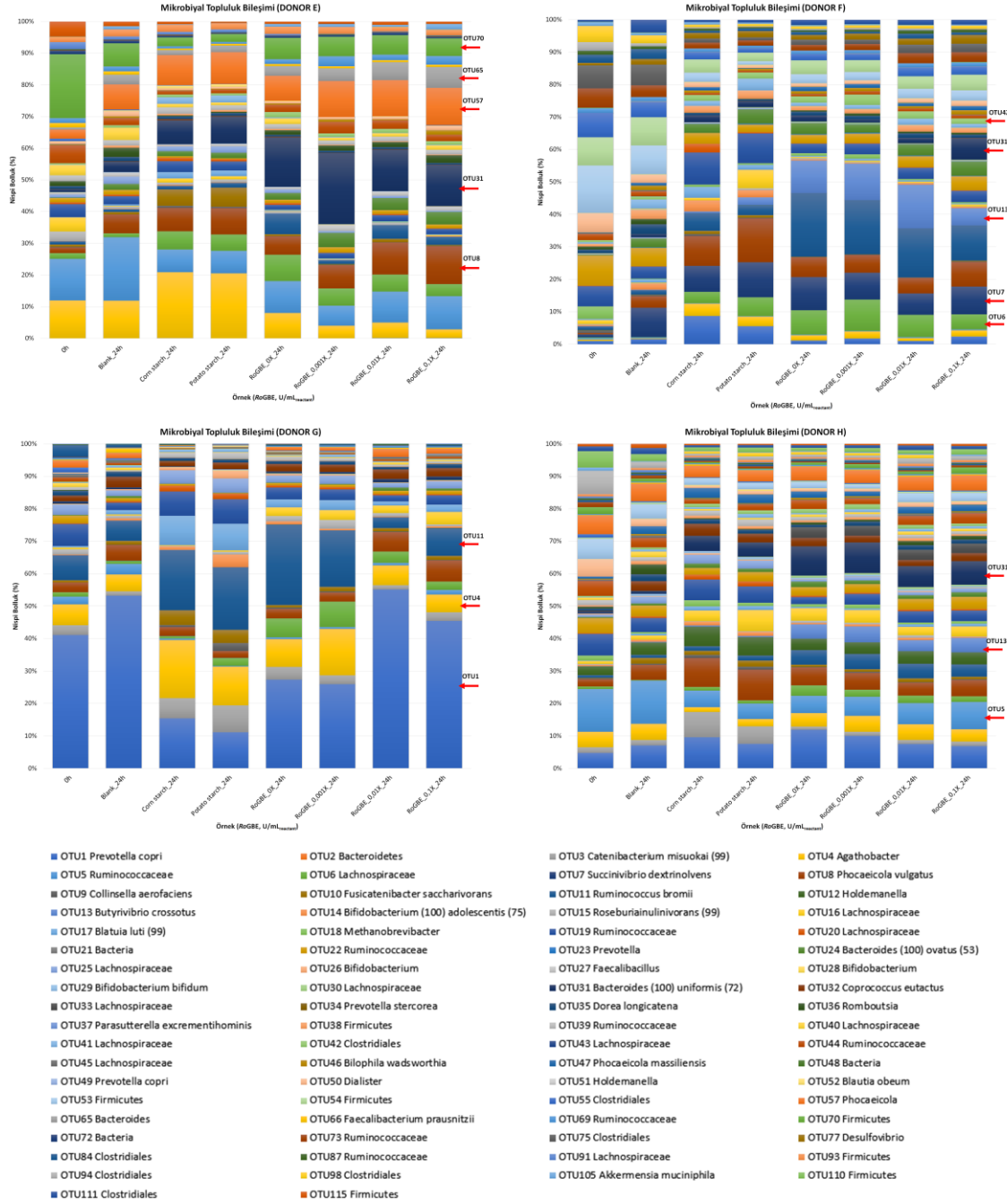
Ayrıca, farklı dallanma derecelerine sahip enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanlarda temsil edilen aşırı mikrobiyal taksonları belirlemek için (başka bir deyişle, farklı dallanma noktalarının farklı mikrobiyal takson ayırıcılarının oluşumuyla sonuçlanıp sonuçlanmadığını belirlemek için) yalnızca enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukan örnekleri kullanılarak LEfSe analizi de gerçekleştirilmiştir. Ancak, LEfSe analizi sonucunda herhangi bir taksonun herhangi bir örnek için diskriminant olmadığı tespit

edilmiştir. Bu durum, çalışmaya dahil edilen farklı mikrobiyal topluluk yapılarına sahip yüksek donör sayısına (n=8) bağlanabilir ve belirli bir α -glukanın farklı fekal mikrobiyal topluluk (donör) tarafından fermentasyonu muhtemelen farklı donörlerde farklı mikrobiyal taksonların uyarılmasına neden olabilir. Bu sebepten dolayı, mikrobiyota kompozisyonları her bir donör için ayrı ayrı incelenmiştir.

Farklı yapısal özelliklere sahip α -glukanların fekal mikrobiyota kompozisyonları üzerindeki etkilerini araştırmak için, fermentasyon deneyleri boyunca (0, 24 ve 48 saatlik örnekler) OTU düzeyinde taksonomi tabanlı karşılaştırmalar yapılmıştır. Çeşitlilik değerlerinde gözlenen donöre özgü etkiler nedeniyle, donörler önce ayrı ayrı incelenmiştir. Mikrobiyal taksonların nispi bollukları yığılmış çubuk grafiğe işlenmiş ve 24. ve 48. saatlere ait sonuçlar sırasıyla **Şekil 33** ve **Şekil 34'** te verilmiştir.



Şekil 33. Taksonların 24 saatlik fermentasyondan sonra gözlemlenen nispi bollukları (%). Şekil bir sonraki sayfada devam etmektedir (E, F, G ve H donörleri için elde edilen sonuçlar bir sonraki sayfada verilmiştir).



Şekil 33' ün devamı. Fermantasyonun 24. saatinden sonra gözlemlenen taksonların göreceli bollukları (%).

Şekil 33' te görüldüğü gibi, bu çalışmada kullanılan substratlar farklı mikrobiyal taksonların hem donöre özgü hem de yapıya özgü bir şekilde uyarılmasına neden olmuştur. Örneğin, donör A' da enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlar *Lachnospiraceae* (OTU6, OTU16 ve OTU30), *Ruminococcus bromii* (OTU11) ve *Prevotella* (OTU23) ile ilişkili OTU' ları teşvik etmiştir. Özellikle, OTU6 *Lachnospiraceae*' nin nispi bolluğu başlangıçta (fermantasyondan önce) %0,51 iken, 48 saatlik fermentasyondan sonra bu bakteriyel taksonun nispi bolluğu RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %7,02, %5,93, %5,26 ve

%2,78' e yükselmiştir, bu da nispi bolluğunda sırasıyla 13,76; 11,63; 10,29 ve 5,45 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir. Şaşırtıcı bir şekilde, OTU6 *Lachnospiraceae* nispi bolluğu, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma yoğunluğu ile negatif korelasyon göstermiştir, bu da bir diyet lifinin yapısının bakteri teşvik kabiliyetini belirlemede önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Benzer şekilde, OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin nispi bolluğu başlangıçta (fermantasyondan önce) %0,16 iken, 48 saatlik fermentasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %8,56, %6,11, %9,98 ve %10,34' e yükselmiştir. Bu da göreceli bolluğunda sırasıyla 53,50; 38,19; 62,38 ve 64,63 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir. Hem *Lachnospiraceae* üyeleri hem de *Ruminococcus bromii*, anti-kanserojen ve anti-inflamatuvar etkileri olduğu gösterilen bütirat üretme yetenekleri nedeniyle insan kolonunda yaşayan faydalı mikroplar olarak kabul edilmektedir (Fu vd., 2019). Bir diğer ilginç bulgu ise, OTU11 *Ruminococcus bromii* nispi bolluğunun, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma yoğunluğu ile pozitif korelasyon gösterdiğidir. Bu da, yine, diyet lifi yapısının, bakteri teşvik kabiliyetini belirlemede önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

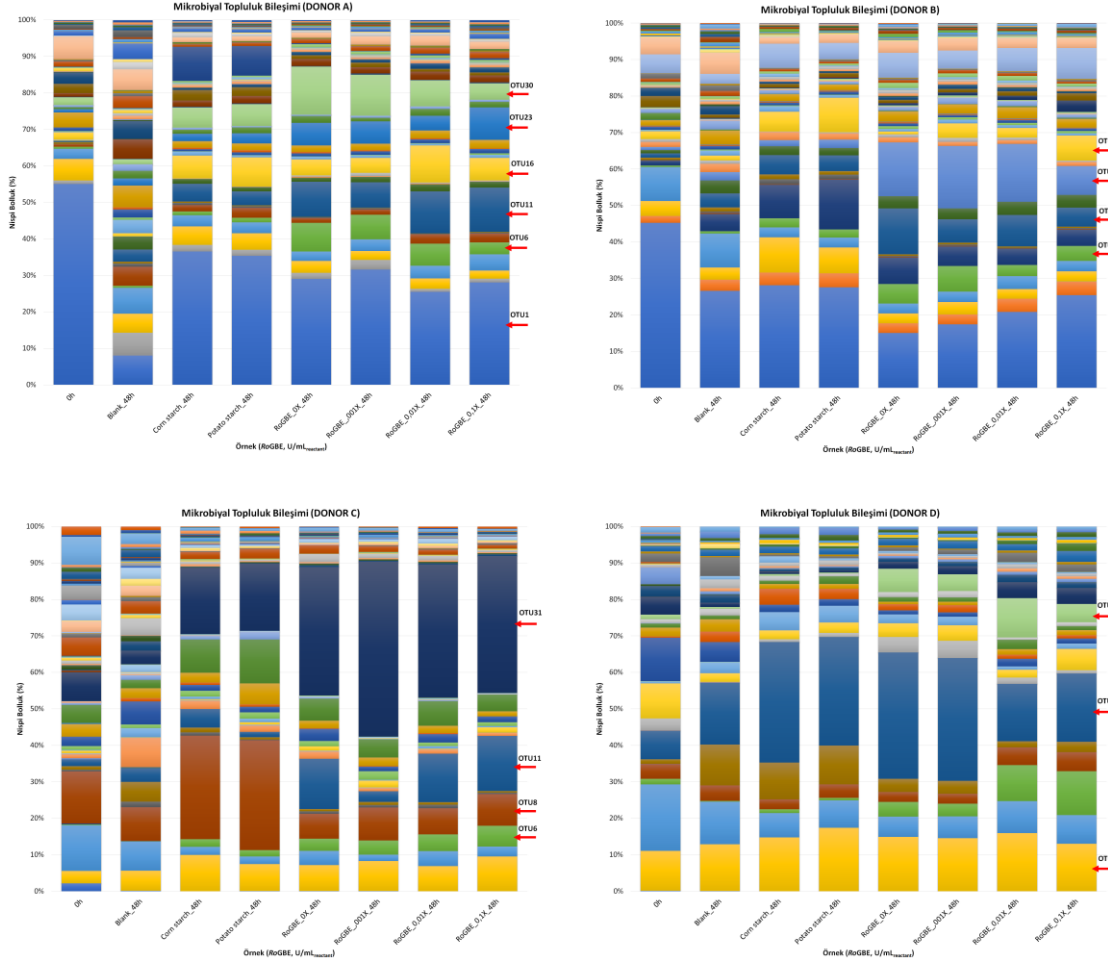
Donör B' de, Donör A' da olduğu gibi, OTU6 *Lachnospiraceae* ve OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin nispi bolluklarında artışlar gözlenmiştir, ancak artış derecesi yapıya bağlı olmuştur. Örneğin, 0. saat zaman noktasında Donör B' de OTU6 *Lachnospiraceae*' nin nispi bolluğu %0,31 iken, 48 saatlik fermentasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %4,45, %5,87, %2,60 ve %3,49' a yükselmiştir, bu da nispi bollukta sırasıyla 14,41; 19,00; 8,41 ve 11,26 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir. Benzer şekilde, OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin Donör B' deki nispi bolluğu 0. saat zaman noktasında %0,96 iken, 48 saatlik fermentasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %10,43, %5,38, %7,20 ve %4,43' e yükselmiştir, bu da nispi bolluğunda sırasıyla 10,86, 5,60, 7,50 ve 4,60 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermentasyonu sonucunda Donör B' de teşvik edilen bir diğer önemli mikrobiyal takson, insan kolonunda bulunan önemli bir bütirat üretici bakteri olan OTU13 *Butyrivibrio crossotus*' tur (Fu vd., 2019). OTU13 *Butyrivibrio crossotus*' un 0. saat zaman noktasında Donör B' deki nispi bolluğu %0,65 iken, 48 saatlik fermentasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %12,18, %14,25, %13,27 ve %6,67' ye yükselmiştir; nispi bollukta sırasıyla 18,74; 21,92; 20,42 ve 10,26 kat artış (0.

saate kıyasla) meydana gelmiştir. Ayrıca, Donör B' de OTU31 *Bacteroides* (100) *uniformis* (72)' in nispi bolluğu, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonu sonucunda başlangıca kıyasla yüksek oranda artış göstermiştir. OTU31 *Bacteroides* (100) *uniformis* (72)' in 0. Saat zaman noktasında Donör B' deki nispi bolluğu %0,05 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %0,49, %0,71, %0,96 ve %2,64' e yükselmiştir; bu da nispi bollukta 0. saate kıyasla sırasıyla 9,80; 14,20; 19,20 ve 52,80 kat artışa karşılık gelmektedir. *Bacteroides* cinsi üyelerinin çeşitli karbonhidrat yapılarının parçalanmasından sorumlu olan geniş bir CAZymes repertuarına sahip olduğu bilinmektedir; bu nedenle, *Bacteroides* cinsi üyelerinin kolondaki çeşitli diyet liflerinin ana parçalayıcıları olduğuna inanılmaktadır (Koropatkin vd., 2012).

Donör A ve B' ye benzer şekilde, OTU6 *Lachnospiraceae*, OTU11 *Ruminococcus bromii* ve OTU31 *Bacteroides* (100) *uniformis* (72)' in nispi bolluklarının, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonları sonucunda Donör C' de aşırı derecede arttığını gözlemledik. OTU6 *Lachnospiraceae*' nin Donör C' deki başlangıçtaki nispi bolluğu %0,16 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %2,29, %2,84, %3,41 ve %4,54' e yükselmiştir. Nispi bolluktaki bu artışlar, başlangıca kıyasla, sırasıyla 14,31; 17,75; 21,31 ve 28,40 oranlarında kat artışına karşılık gelmektedir. OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin Donör C' deki başlangıçtaki nispi bolluğu %1,31 iken; 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %9,54, %2,13, %9,95 ve %12,12 oranlarına yükselmiştir. Bu oranlar göz önünde bulundurulduğunda nispi bolluğunda, başlangıca kıyasla, sırasıyla 7,28; 1,63; 7,60 ve 9,25 kat artış göstermiştir. OTU31 *Bacteroides* (100) *uniformis* (72)' in ise Donör C' deki başlangıçtaki nispi bolluğu %5,62 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %24,48, %34,98, %27,51 ve %30,15' e yükselmiştir, bu da nispi bollukta sırasıyla 4,36; 6,22; 4,90 ve 5,36 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir.

Donör D' de; A,B ve C donörlerine benzer şekilde, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonu sonucunda OTU6 *Lachnospiraceae* ve OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin nispi bolluklarının artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Donör D' de OTU6 *Lachnospiraceae*' nin başlangıçtaki nispi bolluğu %1,16 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %3,42, %2,87, %7,89 ve %9,71 oranlarına yükselmiştir. Nispi

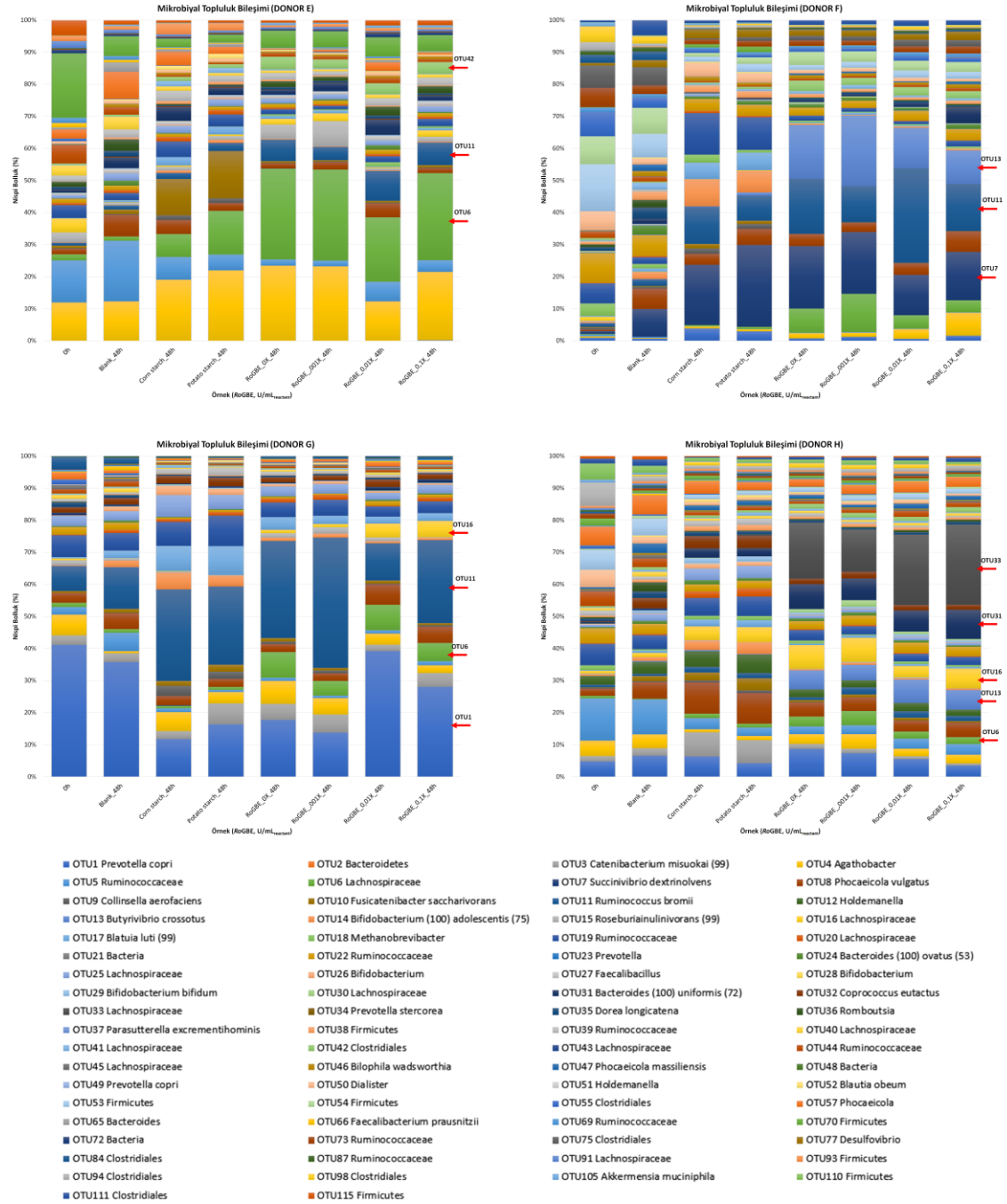
bolluğunun gözlemlenen kat artışında ise başlangıca kıyasla sırasıyla 2,95; 2,47; 6,80 ve 8,37 kat artışı karşılık gelmektedir.



Şekil 34. Taksonların 48 saatlik fermantasyondan sonra gözlenen nispi bollukları (%). Şekil bir sonraki sayfada devam etmektedir (E, F, G ve H donörleri için elde edilen sonuçlar bir sonraki sayfada verilmiştir).

Ayrıca, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonu sonucunda *Lachnospiraceae* ile ilişkili başka bir OTU (OTU30) da teşvik edilmiştir. OTU30 *Lachnospiraceae*'nin Donör D'deki başlangıçtaki bağıl bolluğu %0,96 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %5,45, %3,85, %8,62 ve %4,07' e yükselmiştir; bu da nispi bollukta sırasıyla 5,68; 4,01; 8,98 ve 4,24 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir. OTU11 *Ruminococcus bromii*'nin ise Donör D' deki başlangıçtaki nispi bolluğu %5,98 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %29,35, %27,99, %12,54 ve %15,12' ye yükselmiştir. Nispi bolluktaki kat artışı ise başlangıca kıyasla (0. saat) sırasıyla 4,91; 4,68; 2,10 ve 2,53 kat artışa karşılık gelmektedir.

Donör E' de, yukarıda tartışılan diğer donörlere benzer şekilde, OTU6 *Lachnospiraceae* ve OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin göreceli bolluklarının, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermentasyonları sonucunda aşırı derecede artış gösterdiğini gözlemledik. Donör E' de OTU6 *Lachnospiraceae*' nin başlangıçtaki nispi bolluğu %1,60 iken, 48 saatlik fermentasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %25,61, %25,79, %17,21 ve %23,79 oranlarına yükselmiştir. Bu da nispi bollukta sırasıyla 16,00; 16,12; 10,76 ve 14,96 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir. OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin



Şekil 34' ün devamı. Fermentasyonun 48. saatinden sonra gözlemlenen taksonların nispi bollukları (%).

Donör E' deki başlangıç nispi bolluğu %0,82 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %6,00, %3,80, %8,02 ve %6,20' ye yükselmiştir. Nispi bolluklardaki kat artışı göz önünde bulundurulduğunda ise sırasıyla 7,32; 4,63; 9,78 ve 7,56 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir. Bunlara ek olarak, *Clostridiales* ile ilişkili OTU' ların (OTU42) göreceli bolluğunun da arttığını gözlemledik. Donör E' deki OTU42 *Clostridiales*' in başlangıçtaki nispi bolluğu %0,33 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %3,62, %2,54, %2,98 ve %3,24 oranlarına yükselmiştir; bu da göreceli bollukta sırasıyla 10,97; 7,70; 9,03 ve 9,82 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir. *Clostridiales* üyelerinin bütirat üretme kabiliyetine sahip olduğu bilinmektedir (X. Fu vd., 2019); dolayısıyla, *Clostridiales*, Donör E' de enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların bir sonucu olarak nispeten daha yüksek bütirat üretimi gözlemlememize katkıda bulunan bir faktör olabilir.

Donör F incelendiğinde, OTU6 *Lachnospiraceae* ve OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin nispi bolluklarının enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonu sonucunda arttığı bir kez daha gözlemlenmiştir. Donör F' de OTU6 *Lachnospiraceae*' nin başlangıçtaki bağıl bolluğu %0,16 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %5,96, %9,25, %3,24 ve %2,87' ye yükselmiştir. Nispi bolluk kat artışında ise sırasıyla 37,25; 60,31; 20,25 ve 17,94 oranlarında kat artışına karşılık gelmektedir. OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin Donör F' deki başlangıçtaki nispi bolluğu %0,85 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %13,52, %9,16, %22,88 ve %11,14 oranlarına yükselmiştir; yani nispi bollukta (0. saate kıyasla) 15,91; 10,78; 26,92 ve 13,11 kat artışa karşılık gelmektedir. OTU6 ve OTU11' e ek olarak, F donöründe, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonu sonucunda OTU13 *Butyrivibrio crossotus*' un nispi bolluğunda yüksek oranda artışlar gözlenmiştir. Donör F' de OTU13 *Butyrivibrio crossotus*' un başlangıçtaki nispi bolluğu %0,04 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %13,34, %17,85, %9,76 ve %7,98' e yükselmiştir. Bu sonuçlara göre nispi bollukta (0. saate kıyasla) sırasıyla 333,50; 446,25; 244,00 ve 199,50 oranlarında yüksek bir kat artışı meydana gelmiştir. *Butyrivibrio crossotus* insan kolonunda bütirat üretme kabiliyetine sahiptir (Fu vd., 2019); dolayısıyla *Butyrivibrio crossotus*, Donör F' de enzimatik olarak sentezlenen α -

glukanların sonucu olarak nispeten daha yüksek bütirat üretimi gözlemlememize katkıda bulunan bir faktör olabilir.

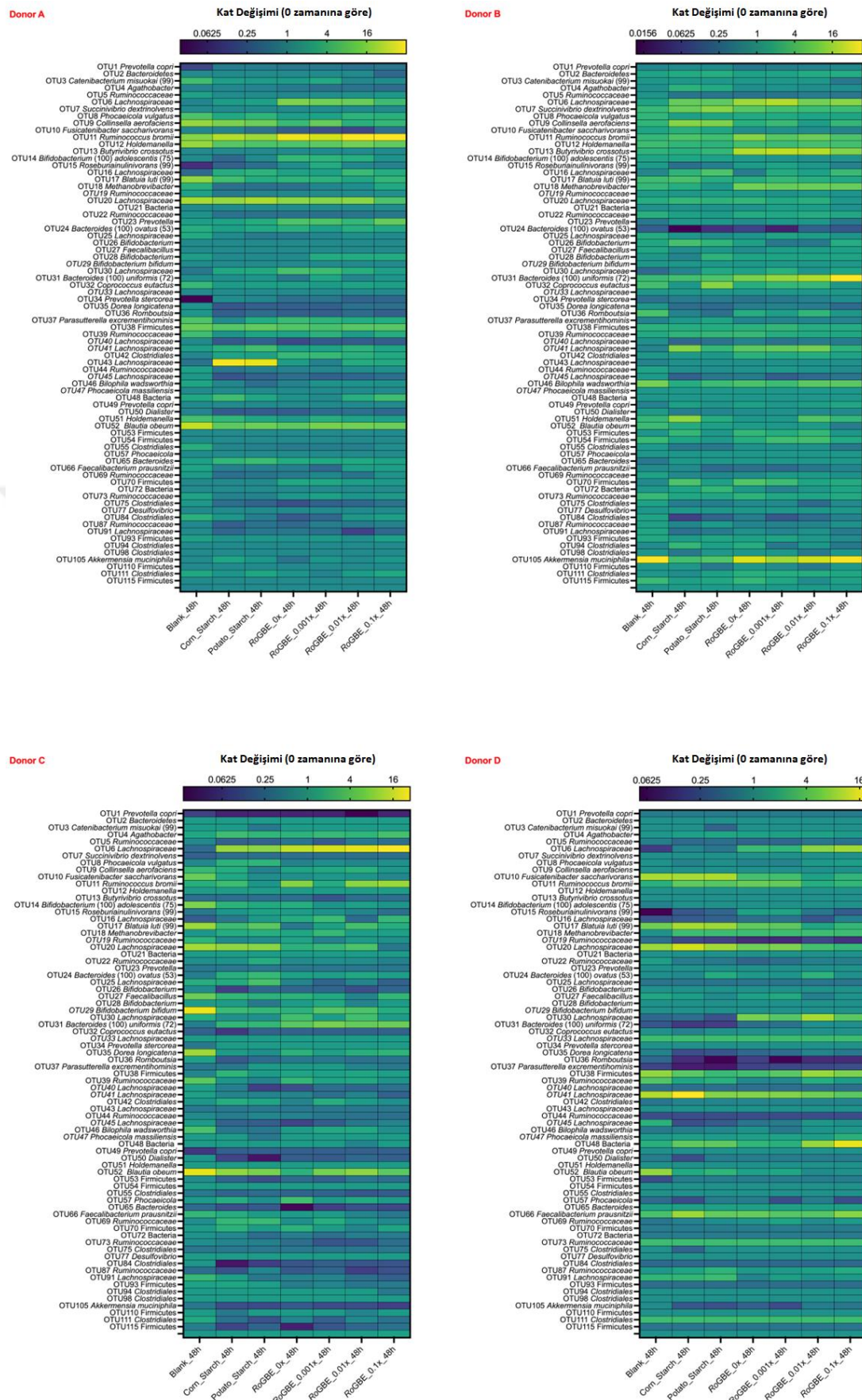
Donör G' de, yukarıda tartışılan diğer donörlere benzer şekilde, OTU6 *Lachnospiraceae* ve OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin nispi bolluklarının, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonları sonucunda arttığını, ancak OTU11 *Ruminococcus bromii*' de gözlenen artışların diğer donörlerde gözlenen kadar aşırı olmadığını gözlemledik. OTU6 *Lachnospiraceae*' nin 0. saat zaman noktasında Donör G' deki nispi bolluğu %1,16 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında bu bakteriyel taksonun nispi bolluğu RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %7,45, %4,29, %7,23 ve %5,18 oranlarına yükselmiştir, bu da nispi bollukta sırasıyla 6,42; 3,70; 6,23 ve 4,47 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir. Diğer taraftan, OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin Donör G' deki nispi bolluğu 0. saat zaman noktasında %6,89 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında bu bakteriyel taksonun nispi bolluğu RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %28,15, %37,62, %10,52 ve %23,70' e yükselmiştir. Nispi bolluktaki bu artış sırasıyla 4,08; 5,46; 1,53 ve 3,44 kat artışa karşılık gelmektedir.

Son olarak, yukarıda tartışılan diğer donörlerde olduğu gibi, OTU6 *Lachnospiraceae* ve OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin nispi bolluklarının, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonları sonucunda Donör H' da arttığını gözlemledik. Donör H' da OTU6 *Lachnospiraceae*' nin başlangıçtaki nispi bolluğu %0,58 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında bu bakteriyel taksonun nispi bolluğu RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %2,42, %3,53, %1,82 ve %1,71' e yükselmiştir ve bu da nispi bollukta, başlangıca kıyasla, sırasıyla 4,17; 6,09; 3,14 ve 2,95 kat artışa karşılık gelmektedir. Ayrıca, *Lachnospiraceae* ile ilişkili diğer OTU' lar (OTU16 ve OTU33) da enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonu sonucunda teşvik edilmiştir. OTU11 *Ruminococcus bromii*' nin Donör H' daki başlangıçtaki nispi bolluğu %0,58 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında bu bakteriyel taksonun nispi bolluğu RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %0,69, %1,76, %1,64 ve %1,27 oranlarına yükselmiştir, bu da nispi bollukta sırasıyla 1,19; 3,03; 2,83 ve 2,19 kat artışa (0. saate kıyasla) karşılık gelmektedir. Bunlara ek olarak, H donöründe, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonu sonucunda OTU13 *Butyrivibrio crossotus*' un nispi bolluğunun da aşırı derecede arttığını gözlemledik. OTU13 *Butyrivibrio crossotus*' un Donör H' daki başlangıçtaki nispi bolluğu %0,04 iken, 48 saatlik fermantasyon

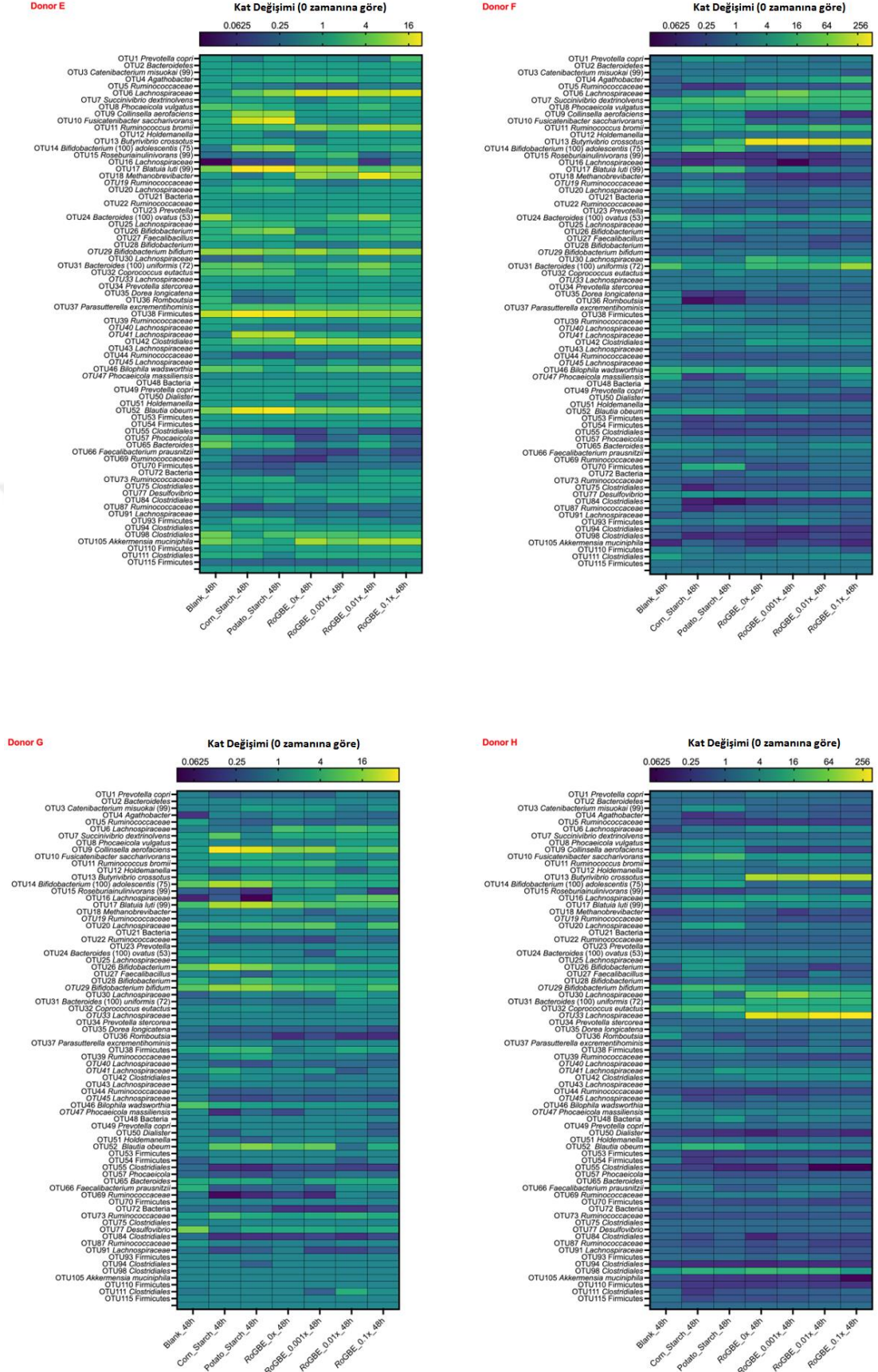
sonrasında bu bakteriyel taksonun nispi bolluğu RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %4,69, %3,82, %5,89 ve %4,94' e yükselmiştir. Burada nispi bollukta, başlangıca kıyasla, sırasıyla 117,25; 95,50; 147,25 ve 123,50 kat artış meydana gelmiştir. Donör C' de gözlemlendiği gibi, Donör H' da da yukarıda belirtilen bakteri taksonlarına ek olarak, OTU31 *Bacteroides (100) uniformis* (72)' in göreceli bolluğunun enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fermantasyonu sonucunda arttığı tespit edilmiştir. OTU31 *Bacteroides (100) uniformis* (72)' in Donör H' daki başlangıçtaki nispi bolluğu %0,44 iken, 48 saatlik fermantasyon sonrasında bu bakteriyel taksonun nispi bolluğu RoGBE 0X, RoGBE 0,001X, RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X örneklerinde sırasıyla %6,25, %5,33, %5,33 ve %7,32 oranlarına yükselmiştir. Başlangıca kıyasla nispi bollukta sırasıyla 14,20; 12,11; 12,11 ve 45,82 kat artış meydana gelmiştir.

Yukarıda detaylandırıldığı üzere, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlar genel mikrobiyota kompozisyonlarını donöre bağlı bir şekilde etkilemiştir. Şaşırtıcı bir şekilde, tüm donörlerde, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların *Ruminococcus bromii* ve *Lachnospiraceae* ile ilgili OTU' ları teşvik ettiği, ancak teşvik derecesinin yapıya bağlı olduğu bulunmuştur. Hem *Ruminococcus bromii* hem de *Lachnospiraceae* üyeleri, bütirat üretme yetenekleri nedeniyle kolonda bulunan faydalı bakteriler olarak kabul edilmektedir. Sonuçlarımızdan ortaya çıkan bir diğer ilginç bulgu ise hem dirençli nişasta kontrollerinin hem de enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların α -(1,4) ve α -(1,6) glukoz bağlarından oluştuğu, ancak fermantasyonun sonunda farklı bakteri taksonlarını teşvik ettikleri bulunmuştur. Bu durum, glikozil bağlarına (kimyasal yapı yoluyla) ek olarak, diyet liflerinin diğer yapısal özelliklerinin (belki de morfolojik ve fiziksel yapı özellikleri) kolondaki belirli bakteri gruplarını teşvik etme yeteneklerini belirlemede önemli rol oynadığını göstermektedir.

Ayrıca, daha iyi görselleştirme sağlamak amacıyla, 48 saatlik fermantasyondan sonra her bir mikrobiyal taksonun nispi bolluğunda meydana gelen kat değişiklikleri (0 zamanına göre) de hesaplanmış ve ısı haritalarında gösterilmiştir (**Şekil 35**). **Şekil 35'** de görülebileceği gibi, donöre özgü enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlar, her bir mikrobiyal taksonun kat değişimlerini hem donöre hem de yapıya özgü şekillerde etkilemiştir.



Şekil 35. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların ve dirençli nişasta kontrollerinin 48 saatlik fekal fermantasyonundan sonra en duyarlı mikrobiyal taksonların göreceli bolluklarındaki kat değişikliklerini (0 zamanına göre) temsil eden ısı haritaları. Sonuçlar her donör için ayrı ayrı gösterilmiştir.

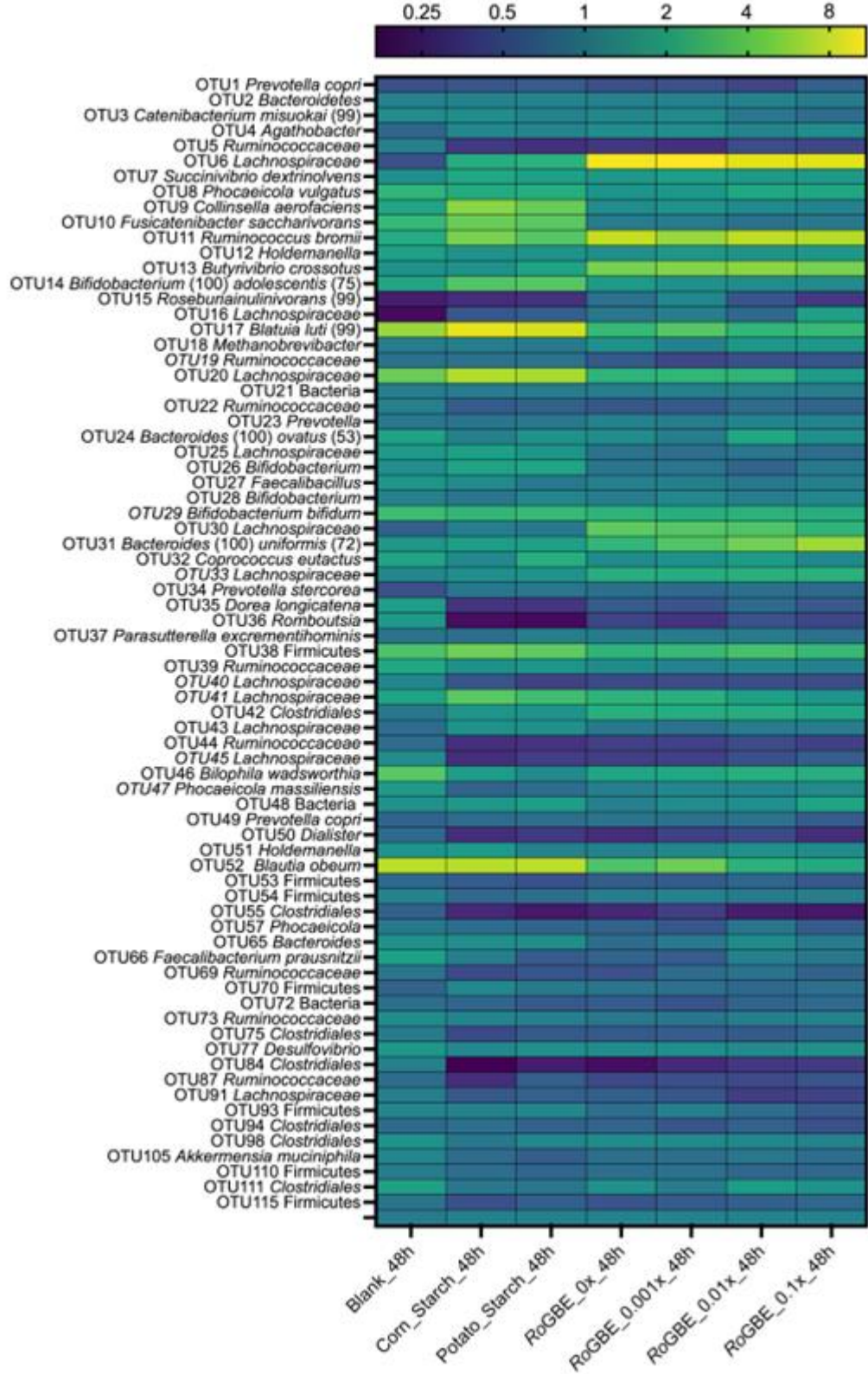


Şekil 35' in devamı. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların ve dirençli nişasta kontrollerinin 48 saatlik fekal fermentasyonundan sonra en duyarlı mikrobiyal taksonların göreceli bolluklarındaki kat değişikliklerini (0 zamanına göre) temsil eden ısı haritaları. Sonuçlar her donör için ayrı ayrı gösterilmiştir.

Ayrıca, tüm donörler için hesaplanan her bir mikrobiyal taksonun kat değişim değerlerinin ortalamasını alınmış ve substratlarımızın kolon mikrobiyota kompozisyonu üzerindeki etkilerine ilişkin genel bir görünüm sağlamak için bir ısı haritasında (**Şekil 36**) grafiklendirilmiştir. **Şekil 36'** de daha açık bir şekilde görüldüğü üzere hem dirençli nişasta kontrolleri hem de enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlar α -(1,4) ve α -(1,6) glukoz bağlarından oluşmasına rağmen, fermantasyonun sonunda farklı bakteri taksonlarını teşvik ettikleri bulunmuştur. Ayrıntılı olarak, dirençli nişasta kontrollerinin *Blautia luti* (OTU17) ve *Lachnospiraceae* (OTU20) ve *Blautia obeum* (OTU52) ile ilgili OTU' ları teşvik ettiği bulunmuştur (**Şekil 36**). Öte yandan, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların *Lachnospiraceae* (OTU6 ve OTU30), *Ruminococcus bromii* (OTU11), *Butyrivibrio crossotus* (OTU13) ve *Bacteroides* (OTU31) ile ilgili OTU' ları teşvik ettiği bulunmuştur. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların yukarıda belirtilen taksonları teşvik derecelerinin α -glukanların yapısına bağlı olduğu bulunmuştur; ancak, mikrobiyal taksonların hiçbirinde α -glukanların yapıları (dallanma oranı) ile kat değişimleri arasında belirli bir eğilim gözlenmemiştir. Burada, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma oranı ile OTU31 *Bacteroides* (100) *uniformis* (72)' in nispi bolluğundaki kat değişimleri arasında doğrudan bir ilişki var gibi görünse de (**Şekil 36**), bunun yalnızca 3 donör için geçerli olması dikkat çekicidir (B, D ve F donörlerinde), enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma oranı arttıkça OTU31 *Bacteroides* (100) *uniformis* (72)' in nispi bolluklarında daha yüksek kat değişiklikleri gözlenmiştir (**Şekil 35**, donör B, donör D ve donör F için paneller). Aksine, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma oranı ile OTU30 *Lachnospiraceae*' nin nispi bolluğundaki kat değişimleri arasında ters bir ilişki var gibi görünse de (**Şekil 36**), bu sadece 3 donör için geçerliydi (A, F ve H donörlerinde), enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma oranı azaldığında OTU30 *Lachnospiraceae*' nin nispi bolluklarında daha yüksek kat değişiklikleri gözlenmiştir (**Şekil 35**, donör A, donör F ve donör H için paneller). Yine, donörler arasında gözlemlenen bu farklılıklar, mikrobiyal toplulukların belirli bir diyet lifine farklı tepki vermesine neden olan donörler arasında gözlemlenen bireyler arası farklılıklara bağlanabilir.

Tüm Donörlerin Ortalaması

Kat Değişimi (0 zamanına göre)



Şekil 36. Enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların ve dirençli nişasta kontrollerinin 48 saatlik fekal fermentasyonundan sonra en duyarlı mikrobiyal taksonların göreceli bolluklarındaki ortalama (8 donörün ortalaması) kat değişikliklerini (0 zamanına göre) temsil eden ısı haritası.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu çalışmada , sabit miktarda *NpAS* ve değişen miktarda *RoGBE* kullanarak, farklı dallanma yoğunluğuna (farklı α -1,4 ve α -1,6 oranına) sahip dört farklı α -glukan (*RoGBE* 0X, *RoGBE* 0,001X, *RoGBE* 0,01X, *RoGBE* 0,1X) enzimatik olarak sentezlenmiş ve akabinde üst gastrointestinal sindirim sistemi enzimleri ile muamele edilmiştir. Üst gastrointestinal sindirim sistemi enzimleri ile muamele sonucunda enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların dallanma yoğunlukları %0,10 ila %2,80 arasında değişmekteği tespit edilmiştir. Daha sonra, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların kolondaki mikrobiyota kompozisyonunu ve mikrobiyal metabolitleri modüle etme yeteneklerini test etmek için, 8 farklı sağlıklı donörden elde edilen dışkı mikrobiyotası kullanılarak anaerobik olarak *in vitro* fekal fermentasyon deneyleri uygulanmış ve fermentasyon boyunca (0, 2, 4, 6, 12, 24 ve 48 saatlik fermentasyon) oluşan kısa zincirli yağ asitleri izlenmiş ve 0, 24 ve 48 saatlik fermentasyondaki mikrobiyal kompozisyon değişiklikleri değerlendirilmiştir. Kısa zincirli yağ asitleri analizi, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların bütirat oluşturma yeteneklerinin yapısal özelliklerine sıkı sıkıya bağlı olduğunu ortaya koymuştur. Genel olarak, daha az dallanma birimine sahip α -glukanlar (daha yüksek α -1,4 ve α -1,6 bağlantı oranı) daha yüksek mikrobiyal bütirat üretimiyle sonuçlanmıştır. Daha sonra, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların kolondaki mikrobiyota kompozisyonunu ve mikrobiyal metabolitleri modüle etme yeteneklerini test etmek için, 8 farklı sağlıklı donörden elde edilen dışkı mikrobiyotası kullanılarak anaerobik olarak *in vitro* fekal fermentasyon deneyleri uygulanmış ve fermentasyon boyunca (0, 2, 4, 6, 12, 24 ve 48 saatlik fermentasyon) oluşan kısa zincirli yağ asitleri izlenmiş ve 0, 24 ve 48 saatlik fermentasyondaki mikrobiyal kompozisyon değişiklikleri değerlendirilmiştir.

Kısa zincirli yağ asitleri analizi, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların bütirat oluşturma yeteneklerinin yapısal özelliklerine göre değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Genel olarak, daha az dallanma birimine sahip α -glukanlar (daha yüksek α -1,4 ve α -1,6 bağlantı oranı) daha yüksek mikrobiyal bütirat üretimiyle sonuçlanmıştır.

Yapılan analizler sonucunda, α -glukanların, farklı dallanma oranları ve moleküler ağırlıklarının kolonik mikrobiyota bileşimi ve kısa zincirli yağ asitleri oluşumu üzerinde farklı etkileri olduğu ortaya konmuştur. Dallanma oranındaki azalmanın bütirat üretimi üzerindeki olumlu etkisi gözlemlenmiş, fakat bunun yanı sıra bütirat üretimi artışının tek sebebinin glikozidik bağ oranı olmadığı tespit edilmiştir. Örneğin Donör D' de daha az

dallanma oranına sahip olan RoGBE 0,001X, dirençli nişasta kontrollerine kıyasla daha fazla bütirat oluşumuyla sonuçlanırken, Donör E’ de bu durum kontrollerle neredeyse aynı oranlarda bütirat oluşumunu teşvik etmiştir. Diğer donörlerde ise bu durum tam tersine dirençli nişasta kontrollerinde daha fazla bütirat oluşumuyla sonuçlanmıştır. Yani bu durumda, bütirat oluşumunu teşvik eden tek faktörün daha az dallanma yapısı olduğu düşünülmemelidir. Bu durum, her donörün mikrobiyota bileşimi farklılığı, tüketim alışkanlığı ve mikrobiyotadaki çapraz besleme ile açıklanabilir.

Diğer bir bulgu ise, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların fekal mikrobiyota tarafından dirençli nişasta kontrollerine kıyasla daha yavaş fermente edildiğidir. Böyle bir durumda diyet lifleri, tüm kolon boyunca bulunan yerleşik mikrobiyota tarafından verimli bir şekilde kullanılabilmekte ve kolonun distal kısımlarından fermentasyon sonucu oluşan mikrobiyal KZYA’ ların emilimi gerçekleşmektedir. Bu sayede distal kolonda oluşabilecek hastalıklar önlenilmekte ve bağırsak epitel hücrelerinin ihtiyacı olan enerji karşılanabilmektedir. Ayrıca α -glukanlar kendi arasında karşılaştırıldığında, dallanma yapılarındaki farklılıklardan dolayı hızlı ya da yavaş sindirilebilirliğinin değiştiği gözlemlenmiştir. Tüm donörlerde, daha fazla dallanma yapısına sahip olan α -glukanların (RoGBE 0,01X ve RoGBE 0,1X), daha az dallanma yapısında olanlara (RoGBE 0,001X ve RoGBE 0X) kıyasla daha yavaş fermente edildiği tespit edilmiştir.

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, daha düşük dallanma yoğunluğuna sahip enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanlar genellikle fermentasyonun sonunda daha yüksek miktarlarda propiyonat ve bütirat oluşumuyla sonuçlanmıştır. Fakat, hem donör (başlangıç mikrobiyota topluluğu) hem de glukan (diyet lifi) yapısı kolon mikrobiyotası tarafından oluşturulan metabolitleri etkilemiştir.

β -çeşitlilik sonuçlarımız, donörün mikrobiyal topluluk kompozisyonları üzerinde kesin bir etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların ise genellikle yapısal olarak benzer mikrobiyal topluluklar ortaya çıkardığını göstermiştir. α -çeşitlilik sonuçlarında ise; sentezlenen α -glukanların fekal mikrobiyal toplulukların α -çeşitliliğini farklı şekilde etkileme kabiliyetine sahip olduğunu, ancak bu etkinin büyük ölçüde donörlere bağlı olduğunu göstermiştir.

Enzimatik olarak sentezlenmiş α -glukanların fermentasyonu sonucu kalın bağırsakta hangi mikroorganizma gruplarının gelişimini aşırı derecede teşvik ettiğinin belirlenmesi amacıyla fermentasyonun 0. ve 48. saatlerinde elde edilmiş olan verilere doğrusal diskriminant analizi (LEfSe – Linear discriminant analysis Effect Size) uygulanmış ve *Ruminococcus* cinsine ait OTU’ ların enzimatik olarak sentezlenmiş α -

glukanlar için, *Blautia* cinsine ait OTU' ların ise nişasta (pozitif kontrol örnekleri) için diskriminant mikroorganizmalar (aşırı temsil edilen taksonlar) olduğu tespit edilmiştir. LEfSe analizi sonucunda herhangi bir taksonun herhangi bir örnek için diskriminant olmadığı tespit edilmiştir.

Mikrobiyal taksonomik ortalamalar incelendiğinde, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Bacteroides* ve *Lachnospiraceae* ile ilişkili OTU' ların substratlarımıza önemli yanıt verenler olduğunu ortaya koymuştur. α -Glukanların kalın bağırsak mikrobiyota bileşimi üzerindeki etkileri, her bir donörün mikrobiyota bileşim farklılığından dolayı, farklı gözlemlenmiştir. Buna örnek olarak, bu çalışmada kullanılan substratlar farklı mikrobiyal taksonların hem donöre özgü hem de yapıya özgü bir şekilde uyarılmasına neden olmuştur. Şaşırtıcı bir şekilde, tüm donörlerde, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların *Ruminococcus bromii* ve *Lachnospiraceae* ile ilgili OTU' ları teşvik ettiği, ancak teşvik derecesinin yapıya bağlı olduğu bulunmuştur. 48 saatlik fermentasyondan sonra her bir mikrobiyal taksonun nispi bolluğunda meydana gelen kat değişiklikleri (0 zamanına göre) de hesaplanmış ve ısı haritalarında, donöre özgü enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlar, her bir mikrobiyal taksonun kat değişimlerini hem donöre hem de yapıya özgü şekillerde etkilemiştir. Hem dirençli nişasta kontrolleri hem de enzimatik olarak sentezlenen α -glukanlar α -(1,4) ve α -(1,6) glukoz bağlarından oluşmasına rağmen, fermentasyonun sonunda farklı bakteri taksonlarını teşvik ettikleri bulunmuştur.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen sonuçlar, sindirilemeyen α -glukanların kolondaki faydalı mikropları ve mikrobiyal metabolitleri teşvik edebileceğini, ancak teşvik derecesinin yapıya bağlı olduğunu ortaya koymaktadır. Genel olarak bu çalışma, biyokatalitik reaksiyonların, istenen kolonik fonksiyona sahip sindirilmeyen karbonhidratları sentezleme fırsatı verdiğini göstermektedir.

5.2 Öneriler

Bu projede, enzimatik olarak sentezlenen α -glukanların kolonik mikrobiyota bileşimleri ve mikrobiyal metabolitler üzerindeki etkileri *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle, gelecekteki çalışmalar, bu projenin sonuçlarını doğrulamak için *in vivo* çalışmalar (öncelikle hayvan modelleri üzerinde) yapmaya odaklanmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Albenne, C., Skov, L. K., Tran, V., Gajhede, M., Monsan, P., Remaud-Siméon, M., & André-Leroux, G. (2007). Towards the molecular understanding of glycogen elongation by amylosucrase. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 66(1), 118-126. <https://doi.org/10.1002/PROT.21083>
- Ali, Q., Ma, S., La, S., Guo, Z., Liu, B., Gao, Z., Farooq, U., Wang, Z., Zhu, X., Cui, Y., Li, D., & Shi, Y. (2022). Microbial short-chain fatty acids: a bridge between dietary fibers and poultry gut health — A review. *Animal Bioscience*, 35(10), 1461-1478. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0562>
- Alves-Santos, A. M., Sampaio, K. B., Lima, M. dos S., Coelho, A. S. G., Souza, E. L. de, & Naves, M. M. V. (2023). Chemical composition and prebiotic activity of baru (*Dipteryx alata* Vog.) pulp on probiotic strains and human colonic microbiota. *Food Research International*, 164. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112366>
- Amrein, T. M., Gränicer, P., Arrigoni, E., & Amadò, R. (2003). In vitro digestibility and colonic fermentability of aleurone isolated from wheat bran. *LWT*, 36(4), 451-460. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00036-7](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00036-7)
- Appert, O., Garcia, A. R., Frei, R., Roduit, C., Constancias, F., Neuzil-Bunesova, V., Ferstl, R., Zhang, J., Akdis, C., Lauener, R., Lacroix, C., & Schwab, C. (2020). Initial butyrate producers during infant gut microbiota development are endospore formers. *Environmental Microbiology*, 22(9), 3909-3921. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15167>
- Azcarate-Peril, M. A., Ritter, A. J., Savaiano, D., Monteagudo-Mera, A., Anderson, C., Magness, S. T., & Klaenhammer, T. R. (2017). Impact of Short-Chain Galactooligosaccharides on the Gut Microbiome of Lactose-Intolerant Individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(3), E367-E375. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606722113>
- Bailón, E., Cueto-Sola, M., Utrilla, P., Rodríguez-Cabezas, M. E., Garrido-Mesa, N., Zarzuelo, A., Xaus, J., Gálvez, J., & Comalada, M. (2010). Butyrate in vitro immune-modulatory effects might be mediated through a proliferation-related induction of apoptosis. *Immunobiology*, 215(11), 863-873. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2010.01.001>
- Barcenilla, A., Pryde, S. E., Martin, J. C., Duncan, S. H., Stewart, C. S., Henderson, C., & Flint, H. J. (2000). Phylogenetic Relationships of Butyrate-Producing Bacteria from the Human Gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4), 1654-1661. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.4.1654-1661.2000>
- Bartolomaeus, H., Balogh, A., Yakoub, M., Homann, S., Markó, L., Höges, S., Tsvetkov, D., Krannich, A., Wundersitz, S., Avery, E. G., Haase, N., Kräker, K., Hering, L., Maase, M., Kusche-Vihrog, K., Grandoch, M., Fielitz, J., Kempa, S., Gollasch, M., ... Wilck, N. (2019). Short-Chain Fatty Acid Propionate Protects from Hypertensive Cardiovascular Damage. *Circulation*, 139(11), 1407-1421. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.036652>
- Baxter, N. T., Schmidt, A. W., Venkataraman, A., Kim, K. S., Waldron, C., & Schmidt, T. M. (2019). Dynamics of human gut microbiota and short-chain fatty acids in response to dietary interventions with three fermentable fibers. *mBio*, 10(1). <https://doi.org/10.1128/mBio.02566-18>
- Beisel, C. L., & Afroz, T. (2016). Rethinking the Hierarchy of Sugar Utilization in Bacteria. *Journal of Bacteriology*, 198(3), 374-376. <https://doi.org/10.1128/JB.00709-15>

- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2002). Carbohydrates. İçinde *Biochemistry* (5. bs). WH Freeman and Company.
- Bhatt, S., & Gupta, M. (2023). Dietary fiber from fruit waste as a potential source of metabolites in maintenance of gut milieu during ulcerative colitis: A comprehensive review. *Food Research International*, 164. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112329>
- Bishehsari, F., Engen, P. A., Preite, N. Z., Tuncil, Y. E., Naqib, A., Shaikh, M., Rossi, M., Wilber, S., Green, S. J., Hamaker, B. R., Khazaie, K., Voigt, R. M., Forsyth, C. B., & Keshavarzian, A. (2018). Dietary Fiber Treatment Corrects the Composition of Gut Microbiota, Promotes SCFA Production, and Suppresses Colon Carcinogenesis. *Genes*, 9(2), 102. <https://doi.org/10.3390/genes9020102>
- Branca, J. J. V., Gulisano, M., & Nicoletti, C. (2019). Intestinal epithelial barrier functions in ageing. *Ageing Research Reviews*, 54. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100938>
- Briggs, J. A., Grondin, J. M., & Brumer, H. (2021). Communal living: glycan utilization by the human gut microbiota. *Environmental Microbiology*, 23(1), 15-35. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15317>
- Buffie, C. G., & Pamer, E. G. (2013). Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nature Reviews Immunology*, 13(11), 790-801. <https://doi.org/10.1038/nri3535>
- Bussolo de Souza, C., Jonathan, M., Isay Saad, S. M., Schols, H. A., & Venema, K. (2019). Degradation of Fibres from Fruit by-Products Allows Selective Modulation of the Gut Bacteria in an In Vitro Model of the Proximal Colon. *Journal of Functional Foods*, 57(April), 275-285. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.026>
- Buttriss, J. L., & Stokes, C. S. (2008). Dietary fibre and health: An overview. İçinde *Nutrition Bulletin* (C. 33, Sayı 3, ss. 186-200). <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2008.00705.x>
- Cai, Y., Folkerts, J., Folkerts, G., Maurer, M., & Saskia Braber. (2020). Microbiota-dependent and -independent effects of dietary fibre on human health. *British Journal of Pharmacology*, 177(6), 1363-1381. <https://doi.org/10.1111/bph.v177.6/issuetoc>
- Canfora, E. E., Jocken, J. W., & Blaak, E. E. (2015). Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity. İçinde *Nature Reviews Endocrinology* (C. 11, Sayı 10, ss. 577-591). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.128>
- Casci, T., Rastall, R. A., & Gibson, G. R. (2005). Human Gut Microflora in Health and Diseases: Focus on Prebiotics. İçinde K. Shetty, G. Paliyath, A. L. Pometto, & R. E. Levin (Ed.), *Functional Foods and Biotechnology* (2. bs, ss. 401-434). CRC Press. https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=89XLBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ots=yHFgDD6SsG&sig=GE0eURacCoZmdVIAXsONMSaJuhw&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Centanni, M., Hutchison, J. C., Carnachan, S. M., Daines, A. M., Kelly, W. J., Tannock, G. W., & Sims, I. M. (2017). Differential growth of bowel commensal *Bacteroides* species on plant xylans of differing structural complexity. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1374-1382. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.017>
- Chao, H. C., Lai, M. W., Kong, M. S., Chen, S. Y., Chen, C. C., & Chiu, C. H. (2008). Cutoff Volume of Dietary Fiber to Ameliorate Constipation in Children. *The Journal of Pediatrics*, 153(1), 45-49. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2007.12.044>
- Chen, D., Chen, C., Qu, H., Ren, C., Yan, X., Huang, Y., Guan, C., Zhang, C., Li, Q., & Gu, R. (2021). Screening of *Lactobacillus* strains that enhance SCFA uptake in

- intestinal epithelial cells. *European Food Research and Technology*, 247(5), 1049-1060. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03686-1>
- Cockburn, D. W., & Koropatkin, N. M. (2016). Polysaccharide Degradation by the Intestinal Microbiota and Its Influence on Human Health and Disease. *Journal of Molecular Biology*, 428(16), 3230-3252. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.06.021>
- Corrêa-Oliveira, R., Fachi, J. L., Vieira, A., Sato, F. T., & Vinolo, M. A. R. (2016). Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clinical and Translational Immunology*, 5(4). <https://doi.org/10.1038/cti.2016.17>
- Dalile, B., Van Oudenhove, L., Vervliet, B., & Verbeke, K. (2019). The role of short-chain fatty acids in microbiota–gut–brain communication. İçinde *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* (C. 16, Sayı 8, ss. 461-478). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0157-3>
- Daly, K., & Shirazi-Beechey, S. P. (2006). Microarray Analysis of Butyrate Regulated Genes in Colonic Epithelial Cells. *DNA and Cell Biology*, 25(1), 49-62. <https://doi.org/10.1089/dna.2006.25.49>
- Davis, H. C. (2018). Can the gastrointestinal microbiota be modulated by dietary fibre to treat obesity? *Irish Journal of Medical Science*, 187(2), 393-402. <https://doi.org/10.1007/s11845-017-1686-9>
- Deng, J., Zhong, J., Long, J., Zou, X., Wang, D., Song, Y., Zhou, K., Liang, Y., Huang, R., Wei, X., Li, M., & Sun, Y. (2020). Hypoglycemic effects and mechanism of different molecular weights of konjac glucomannans in type 2 diabetic rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, 2231-2243. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.021>
- Deng, J., Zou, X., Liang, Y., Zhong, J., Zhou, K., Zhang, J., Zhang, M., Wang, Z., Sun, Y., & Li, M. (2023). Hypoglycemic effects of different molecular weight konjac glucomannans via intestinal microbiota and SCFAs mediated mechanism. *International Journal of Biological Macromolecules*, 234. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.160>
- Desai, M. S., Seekatz, A. M., Koropatkin, N. M., Kamada, N., Hickey, C. A., Wolter, M., Pudlo, N. A., Kitamoto, S., Terrapon, N., Muller, A., Young, V. B., Henrissat, B., Wilmes, P., Stappenbeck, T. S., Núñez, G., & Martens, E. C. (2016). A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell*, 167(5), 1339-1353. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.043>
- Dikeman, C. L., & Fahey, G. C. (2006). Viscosity as Related to Dietary Fiber: A Review. İçinde *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (C. 46, Sayı 8, ss. 649-663). <https://doi.org/10.1080/10408390500511862>
- FAO. (2021). Guidelines on Nutrition Labelling. *Food and Agriculture Organization/World Health Organization Codex Alimentarius Commission: Codex Alimentarius*, CXG 2-1985. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/thematic-areas/nutrition-labelling/en/>
- Feng, J., Qian, Y., Zhou, Z., Ertmer, S., Vivas, E. I., Lan, F., Hamilton, J. J., Rey, F. E., Anantharaman, K., & Venturelli, O. S. (2022). Polysaccharide utilization loci in *Bacteroides* determine population fitness and community-level interactions. *Cell Host and Microbe*, 30(2), 200-215. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2021.12.006>
- Ferjančič, B., Skrt, M., Korošec, M., & Bertoncelj, J. (2022). Comparative analysis of dietary fibre determination by AOAC 991.43 and AOAC 2011.25 for frequently consumed foods in Slovenia. *Food Chemistry*, 397, 133742. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133753>

- Ferrera, I., Massana, R., Balagué, V., Pedrós-Alió, C., Sánchez, O., & Mas, J. (2010). Evaluation of DNA extraction methods from complex phototrophic biofilms. *Biofouling*, 26(3), 349-357. <https://doi.org/10.1080/08927011003605870>
- Flint, H. J., Scott, K. P., Duncan, S. H., Louis, P., & Forano, E. (2012). Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes*, 3(4), 289-306. <https://doi.org/10.4161/gmic.19897>
- Flint, H. J., Scott, K. P., Louis, P., & Duncan, S. H. (2012). The Role of the Gut Microbiota in Nutrition and Health. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 9(10), 577-589. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.156>
- 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. *PNAS*, 104(34), 13780-13785. www.pnas.org/cgi/content/full/
- Fu, G., Yue, P., Hu, Y., Li, N., Shi, Z., & Peng, F. (2018). Fractionation of DMSO-Extracted and NaOH-Extracted Hemicelluloses by Gradient Ethanol Precipitation from *Neosinocalamus affinis*. *International Journal of Polymer Science*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9587042>
- Fu, J., Xu, K., Ni, X., Li, X., Zhu, X., & Xu, W. (2022). Habitual Dietary Fiber Intake, Fecal Microbiota, and Hemoglobin A1c Level in Chinese Patients with Type 2 Diabetes. *Nutrients*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/nu14051003>
- Fu, X., Liu, Z., Zhu, C., Mou, H., & Kong, Q. (2019). Nondigestible Carbohydrates, Butyrate, and Butyrate-Producing Bacteria. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(S1), S130-S152. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1542587>
- Fuller, S., Beck, E., Salman, H., & Tapsell, L. (2016). New Horizons for the Study of Dietary Fiber and Health: A Review. *İçinde Plant Foods for Human Nutrition* (C. 71, Sayı 1, ss. 1-12). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11130-016-0529-6>
- Furusawa, Y., Obata, Y., Fukuda, S., Endo, T. A., Nakato, G., Takahashi, D., Nakanishi, Y., Uetake, C., Kato, K., Kato, T., Takahashi, M., Fukuda, N. N., Murakami, S., Miyauchi, E., Hino, S., Atarashi, K., Onawa, S., Fujimura, Y., Lockett, T., ... Ohno, H. (2013). Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*, 504(7480), 446-450. <https://doi.org/10.1038/nature12721>
- Furuyashiki, T., Ogawa, R., Nakayama, Y., Honda, K., Kamisoyama, H., Takata, H., Yasuda, M., Kuriki, T., & Ashida, H. (2013). Enzymatically synthesized glycogen reduces lipid accumulation in diet-induced obese rats. *Nutrition Research*, 33(9), 743-752. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2013.06.006>
- Gálvez, E. J. C., Iljazovic, A., Amend, L., Lesker, T. R., Renault, T., Thiemann, S., Hao, L., Roy, U., Gronow, A., Charpentier, E., & Strowig, T. (2020). Distinct Polysaccharide Utilization Determines Interspecies Competition between Intestinal *Prevotella* spp. *Cell Host and Microbe*, 28(6), 838-852. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.09.012>
- George, N., Andersson, A. A. M., Andersson, R., & Kamal-Eldin, A. (2020). Lignin is the main determinant of total dietary fiber differences between date fruit (*Phoenix dactylifera* L.) varieties. *NFS Journal*, 21, 16-21. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2020.08.002>
- Gill, S. K., Rossi, M., Bajka, B., & Whelan, K. (2021). Dietary fibre in gastrointestinal health and disease. *İçinde Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* (C. 18, Sayı 2, ss. 101-116). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-00375-4>

- Gille, S., & Pauly, M. (2012). O-acetylation of plant cell wall polysaccharides. *Frontiers in Plant Science*, 3. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00012>
- Goff, H. D., Repin, N., Fabek, H., El Khoury, D., & Gidley, M. J. (2018). Dietary fibre for glycaemia control: Towards a mechanistic understanding. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 14, 39-53. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2017.07.005>
- Granfeldt, Y., Hagander, B., & Bjorck, I. (1995). Metabolic responses to starch in oat and wheat products. On the importance of food structure, incomplete gelatinization or presence of viscous dietary fibre. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49(3), 189-199. <https://europepmc.org/article/med/7774535>
- Guo, C., Wang, Y., Zhang, S., Zhang, X., Du, Z., Li, M., & Ding, K. (2021). Crataegus pinnatifida polysaccharide alleviates colitis via modulation of gut microbiota and SCFAs metabolism. *International Journal of Biological Macromolecules*, 181, 357-368. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.137>
- Hamaker, B. R., & Tuncil, Y. E. (2014). A Perspective on the Complexity of Dietary Fiber Structures and Their Potential Effect on the Gut Microbiota. *Journal of Molecular Biology*, 426(23), 3838-3850. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2014.07.028>
- He, Y., Wang, B., Wen, L., Wang, F., Yu, H., Chen, D., Su, X., & Chi, Z. (2022). Effects of dietary fibre on human health. *Food Science and Human Wellness*, 11(1), 1-10.
- Helle, S., Cameron, D., Lam, J., White, B., & Duff, S. (2003). Effect of inhibitory compounds found in biomass hydrolysates on growth and xylose fermentation by a genetically engineered strain of *S. cerevisiae*. *Enzyme and Microbial Technology*, 33(6), 786-792. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(03\)00214-X](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(03)00214-X)
- Hernández, M. A. G., Canfora, E. E., Jocken, J. W. E., & Blaak, E. E. (2019). The short-chain fatty acid acetate in body weight control and insulin sensitivity. *Nutrients*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/nu11081943>
- Holscher, H. D. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes*, 8(2), 172-184. <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1290756>
- Hong, M. G., Seo, D. H., Park, C. S., Baik, M. Y., Kim, H. S., Kum, J. S., Choi, H. D., Yoo, S. H., & Lee, B. H. (2019). Physicochemical Properties of Partially α -glucan-Coated Normal Corn Starch Formed by Amylosucrase from *Neisseria Polysaccharea*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 1102-1106. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.133>
- Hong, M. G., Yoo, S. H., & Lee, B. H. (2022). Effect of highly branched α -glucans synthesized by dual glycosyltransferases on the glucose release rate. *Carbohydrate Polymers*, 278, 119016. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.119016>
- Hosseini, E., Grootaert, C., Verstraete, W., & Van de Wiele, T. (2011). Propionate as a health-promoting microbial metabolite in the human gut. *Nutrition Reviews*, 69(5), 245-258. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2011.00388.x>
- Hu, T., Wu, Q., Yao, Q., Jiang, K., Yu, J., & Tang, Q. (2022). Short-chain fatty acid metabolism and multiple effects on cardiovascular diseases. *Içinde Ageing Research Reviews* (C. 81). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101706>
- Hu, Y.-C., Hu, J.-L., Li, J., Wang, J., Zhang, X.-Y., Wu, X.-Y., Li, X., Guo, Z.-B., Zou, L., & Wu, D.-T. (2023). Physicochemical characteristics and biological activities of soluble dietary fibers isolated from the leaves of different quinoa cultivars. *Food Research International*, 163, 112166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112166>
- Hughes, S. A., Shewry, P. R., Gibson, G. R., McCleary, B. V., & Rastall, R. A. (2008). In Vitro Fermentation of Oat and Barley Derived β -glucans by Human Faecal

- Microbiota. *FEMS Microbiology Ecology*, 64(3), 482-493.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2008.00478.x>
- Hui, W., Yu, D., Cao, Z., & Zhao, X. (2019). Butyrate inhibit collagen-induced arthritis via Treg/IL-10/Th17 axis. *International Immunopharmacology*, 68, 226-233.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.01.018>
- Jayachandran, M., Christudas, S., Zheng, X., & Xu, B. (2023). Dietary fiber konjac glucomannan exerts an antidiabetic effect via inhibiting lipid absorption and regulation of PPAR- γ and gut microbiome. *Food Chemistry*, 403.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134336>
- Jia, J., Zheng, W., Zhang, C., Zhang, P., Guo, X., Song, S., & Ai, C. (2023). Fucoidan from *Scytosiphon lomentaria* protects against destruction of intestinal barrier, inflammation and lipid abnormality by modulating the gut microbiota in dietary fibers-deficient mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 224, 556-567. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.144>
- Jia, S., Li, J., Yu, B., Li, M., & Cui, B. (2023). Improvement of myocardial injury and gut microbiota disturbance in type 2 diabetic mice by inulin with various degrees of polymerization. *Food Bioscience*, 51. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102318>
- Jin, S. H., Kwon, T. E., Kang, J. U., Yoo, S. H., Chang, P. S., & Yoo, S. H. (2023). Production of branched glucan polymer by a novel thermostable branching enzyme of *Bifidobacterium thermophilum* via one-pot biosynthesis containing a dual enzyme system. *Carbohydrate Polymers*, 309.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120646>
- Johansson, M. E. V., Phillipson, M., Petersson, J., Velcich, A., Holm, L., Hansson, G. C., & Greenberg, E. P. (2008). The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *PNAS*, 105(39), 15064-15069.
www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0803124105
- Jung, J. H., Seo, D. H., Ha, S. J., Song, M. C., Cha, J., Yoo, S. H., Kim, T. J., Baek, N. I., Baik, M. Y., & Park, C. S. (2009). Enzymatic synthesis of salicin glycosides through transglycosylation catalyzed by amylosucrases from *Deinococcus geothermalis* and *Neisseria polysaccharea*. *Carbohydrate Research*, 344(13), 1612-1619. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.04.019>
- Jung, Y. S., Hong, M. G., Park, S. H., Lee, B. H., & Yoo, S. H. (2019). Biocatalytic Fabrication of α -Glucan-Coated Porous Starch Granules by Amylolytic and Glucan-Synthesizing Enzymes as a Target-Specific Delivery Carrier. *Biomacromolecules*, 20(11), 4143-4149.
https://doi.org/10.1021/ACS.BIOMAC.9B00978/SUPPL_FILE/BM9B00978_SI_001.PDF
- Kajiura, H., Kakutani, R., Akiyama, T., Takata, H., & Kuriki, T. (2008). A novel enzymatic process for glycogen production. *Biocatalysis and Biotransformation*, 26(1-2), 133-140. <https://doi.org/10.1080/10242420701789411>
- Kang, J., Yin, S., Liu, J., Li, C., Wang, N., Sun, J., Li, W., He, J., Guo, Q., & Cui, S. W. (2022). Fermentation Models of Dietary Fibre in vitro and in vivo - A Review. *İçinde Food Hydrocolloids* (C. 131, Sayı 6, s. 107685). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107685>
- Kappelmann, L., Krüger, K., Hehemann, J.-H., Harder, J., Markert, S., Unfried, F., Becher, D., Shapiro, N., Schweder, T., Amann, R. I., & Teeling, H. (2019). Polysaccharide utilization loci of North Sea Flavobacteriia as basis for using SusC/D-protein expression for predicting major phytoplankton glycans. *ISME Journal*, 13(1), 76-91. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0242-6>
- Katagiri, R., Goto, A., Sawada, N., Yamaji, T., Iwasaki, M., Noda, M., Iso, H., & Tsugane, S. (2020). Dietary fiber intake and total and cause-specific mortality: The

- Japan Public Health Center-based prospective study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 111(5), 1027-1035. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa002>
- Kim, C. C., Kelly, W. J., Patchett, M. L., Tannock, G. W., Jordens, Z., Stoklosinski, H. M., Taylor, J. W., Sims, I. M., Bell, T. J., & Rosendale, D. I. (2017). *Monoglobus pectinilyticus* gen. Nov., sp. nov., a pectinolytic bacterium isolated from human faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(12), 4992-4998. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002395>
- Kim, C. H. (2021). Control of lymphocyte functions by gut microbiota-derived short-chain fatty acids. İçinde *Cellular and Molecular Immunology* (C. 18, Sayı 5, ss. 1161-1171). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00625-0>
- Kim, C. H. (2023). Complex regulatory effects of gut microbial short-chain fatty acids on immune tolerance and autoimmunity. *Cellular and Molecular Immunology*. <https://doi.org/10.1038/s41423-023-00987-1>
- Kim, C. H., Park, J., & Kim, M. (2014). Gut Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids, T Cells, and Inflammation. *Immune Network*, 14(6), 277-288.
- Kittisuban, P., Lee, B. H., Supphantharika, M., & Hamaker, B. R. (2014). Slow glucose release property of enzyme-synthesized highly branched maltodextrins differs among starch sources. *Carbohydrate polymers*, 107(1), 182-191. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2014.02.033>
- Kleessen, B., Hartmann, L., & Blaut, M. (2001). Oligofructose and long-chain inulin: influence on the gut microbial ecology of rats associated with a human faecal flora. *British Journal of Nutrition*, 86(2), 291-300. <https://doi.org/10.1079/bjn2001403>
- Klostermann, C. E., Endika, M. F., ten Cate, E., Buwalda, P. L., de Vos, P., Bitter, J. H., Zoetendal, E. G., & Schols, H. A. (2023). Type of intrinsic resistant starch type 3 determines in vitro fermentation by pooled adult faecal inoculum. *Carbohydrate Polymers*, 319. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121187>
- Koh, A., De Vadder, F., Kovatcheva-Datchary, P., & Bäckhed, F. (2016). From dietary fiber to host physiology: Short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. İçinde *Cell* (C. 165, Sayı 6, ss. 1332-1345). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.041>
- Koropatkin, N. M., Cameron, E. A., & Martens, E. C. (2012). How Glycan Metabolism Shapes the Human Gut Microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, 10(5), 323-335. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2746>
- Kovatcheva-Datchary, P., Nilsson, A., Akrami, R., Lee, Y. S., De Vadder, F., Arora, T., Hallen, A., Martens, E., Björck, I., & Bäckhed, F. (2015). Dietary Fiber-Induced Improvement in Glucose Metabolism Is Associated with Increased Abundance of *Prevotella*. *Cell Metabolism*, 22(6), 971-982. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.10.001>
- Kozich, J. J., Westcott, S. L., Baxter, N. T., Highlander, S. K., & Schloss, P. D. (2013). Development of a Dual-Index Sequencing Strategy and Curation Pipeline for Analyzing Amplicon Sequence Data on the Miseq Illumina Sequencing Platform. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(17), 5112-5120. <https://doi.org/10.1128/AEM.01043-13>
- Kristek, A., Schär, M. Y., Soykan, G., Alsharif, S., Kuhnle, G. G. C., Walton, G., & Spencer, J. P. E. (2018). The gut microbiota and cardiovascular health benefits: A focus on wholegrain oats. *Nutrition Bulletin*, 43(4), 358-373. <https://doi.org/10.1111/nbu.12354>
- Kudou, K., Kimura, K., Tsutsumi, R., Hashimoto, N., Wada, H., & Ikeda, T. (2022). Use of Insoluble Dietary Fiber and Probiotics for Bowel Preparation Before Colonoscopy: A Prospective Study. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*, 32(2), 153-158. www.surgical-laparoscopy.com

- Kumar, J., Rani, K., & Datt, C. (2020). Molecular link between dietary fibre, gut microbiota and health. *Içinde Molecular Biology Reports* (C. 47, Sayı 8, ss. 6229-6237). Springer. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05611-3>
- Kwon, Y.-J., Lee, H.-S., Park, G., Kim, H.-M., & Lee, J.-W. (2022). Association of Dietary Fiber Intake with All-Cause Mortality and Cardiovascular Disease Mortality: A 10-Year Prospective Cohort Study. *Nutrients*, 14(15). <https://doi.org/10.3390/nu14153089>
- Laurentin, A., & Edwards, C. A. (2004). Differential fermentation of glucose-based carbohydrates in vitro by human faecal bacteria: A study of pyrodextrinised starches from different sources. *European Journal of Nutrition*, 43(3), 183-189. <https://doi.org/10.1007/s00394-004-0457-3>
- Lebet, V., Arrigoni, E., & Amado, R. (1998). Digestion Procedure Using Mammalian Enzymes to Obtain Substrates for In Vitro Fermentation Studies. *LWT - Food Science and Technology*, 31(6), 509-515. <https://doi.org/10.1006/fstl.1998.0402>
- Lee, B. H., Yan, L., Phillips, R. J., Reuhs, B. L., Jones, K., Rose, D. R., Nichols, B. L., Quezada-Calvillo, R., Yoo, S. H., & Hamaker, B. R. (2013). Enzyme-Synthesized Highly Branched Maltodextrins Have Slow Glucose Generation at the Mucosal α -Glucosidase Level and Are Slowly Digestible In Vivo. *PLoS ONE*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059745>
- Lesmes, U., Beards, E. J., Gibson, G. R., Tuohy, K. M., & Shimoni, E. (2008). Effects of Resistant Starch Type III Polymorphs on Human Colon Microbiota and Short Chain Fatty Acids in Human Gut Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 5415-5421. <https://doi.org/10.1021/JF800284D>
- Leung, C., Rivera, L., Furness, J. B., & Angus, P. W. (2016). The role of the gut microbiota in NAFLD. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 13(7), 412-425. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.85>
- Li, P., Li, C., Fu, X., Huang, Q., & Chen, Q. (2023). Physicochemical, functional and biological properties of soluble dietary fibers obtained from *Rosa roxburghii* Tratt pomace using different extraction methods. *Process Biochemistry*, 128, 40-48. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.02.021>
- Li, X., Wang, X., Meng, X., Dijkhuizen, L., & Liu, W. (2020). Structures, physico-chemical properties, production and (potential) applications of sucrose-derived α -D-glucans synthesized by glucansucrases. *Carbohydrate Polymers*, 249. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116818>
- Li, Z., Liu, Y., Huang, Y., Liu, J., Tian, Y., Wang, S., Sun, P., Nie, Y., Gan, S., & Xu, H. (2023). Interactions between structure and function of resistant glucans for alleviating type 2 diabetes mellitus (T2DM) and its complications in mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 231. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123405>
- Lin, H. V., Frassetto, A., Kowalik, E. J., Nawrocki, A. R., Lu, M. M., Kosinski, J. R., Hubert, J. A., Szeto, D., Yao, X., Forrest, G., & Marsh, D. J. (2012). Butyrate and Ppropionate Protect Against Diet-Induced Obesity and Regulate Gut Hormones Via free Fatty Acid Receptor 3-independent Mechanisms. *PLoS One*, 7(4), 1-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035240>
- Lindemann, S. R., Moran, J. J., Stegen, J. C., Renslow, R. S., Hutchison, J. R., Cole, J. K., Dohnalkova, A. C., Tremblay, J., Singh, K., Malfatti, S. A., Chen, F., Tringe, S. G., Beyenal, H., & Fredrickson, J. K. (2013). The epsomitic phototrophic microbial mat of Hot Lake, Washington: Community structural responses to seasonal cycling. *Frontiers in Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00323>

- Liu, C., Lin, X. L., Wan, Z., Zou, Y., Cheng, F. F., & Yang, X. Q. (2016). The physicochemical properties, in vitro binding capacities and in vivo hypocholesterolemic activity of soluble dietary fiber extracted from soy hulls. *Food & Function*, 7(12), 4830-4840. <https://doi.org/10.1039/C6FO01340F>
- Liu, C., Vervoort, J., Beekmann, K., Baccaro, M., Kamelia, L., Wesseling, S., & Rietjens, I. M. C. M. (2020). Interindividual Differences in Human Intestinal Microbial Conversion of (-)-Epicatechin to Bioactive Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(48), 14168-14181. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05890>
- Liu, P., Wang, Y., Yang, G., Zhang, Q., Meng, L., Xin, Y., & Jiang, X. (2021). The role of short-chain fatty acids in intestinal barrier function, inflammation, oxidative stress, and colonic carcinogenesis. *Pharmacological Research*, 165. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105420>
- Liu, Y., Heath, A.-L., Galland, B., Rehrer, N., Drummond, L., Wu, X.-Y., Bell, T. J., Lawley, B., Sims, I. M., & Tannock, G. W. (2020). Substrate Use Prioritization by a Coculture of Five Species of Gut Bacteria Fed Mixtures of Arabinoxylan, Xyloglucan, β -Glucan, and Pectin. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(2), e01905-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.06858-11>
- Lopetuso, L. R., Scaldaferri, F., Petito, V., & Gasbarrini, A. (2013). Commensal Clostridia: Leading players in the maintenance of gut homeostasis. *Gut Pathogens*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/1757-4749-5-23>
- Lopez-Siles, M., Khan, T. M., Duncan, S. H., Harmsen, H. J. M., Garcia-Gil, L. J., & Flint, H. J. (2012). Cultured representatives of two major phylogroups of human colonic *Faecalibacterium prausnitzii* can utilize pectin, uronic acids, and host-derived substrates for growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(2), 420-428. <https://doi.org/10.1128/AEM.06858-11>
- Louis, P., Hold, G. L., & Flint, H. J. (2014). The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nature Reviews Microbiology*, 12(10), 661-672. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3344>
- Louis, P., Solvang, M., Duncan, S. H., Walker, A. W., & Mukhopadhyay, I. (2021). Dietary fibre complexity and its influence on functional groups of the human gut microbiota. *Proceedings of the Nutrition Society*, 80(4), 386-397. <https://doi.org/10.1017/S0029665121003694>
- Luo, X., Wang, Q., Zheng, B., Lin, L., Chen, B., Zheng, Y., & Xiao, J. (2017). Hydration properties and binding capacities of dietary fibers from bamboo shoot shell and its hypolipidemic effects in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 1003-1009. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.02.029>
- Luu, M., Weigand, K., Wedi, F., Breidenbend, C., Leister, H., Pautz, S., Adhikary, T., & Visekruna, A. (2018). Regulation of the effector function of CD8⁺ T cells by gut microbiota-derived metabolite butyrate. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32860-x>
- Lührs, H., Gerke, T., Müller, J. G., Melcher, R., Schaubert, J., Boxberger, F., Scheppach, W., & Menzel, T. (2002). Butyrate inhibits NF- κ B activation in lamina propria macrophages of patients with ulcerative colitis. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 37(4), 458-466. <https://doi.org/10.1080/003655202317316105>
- Lührs, H., Gerke, T., Schaubert, J., Dusel, G., Melcher, R., Scheppach, W., & Menzel, T. (2001). Cytokine-Activated Degradation of Inhibitory κ B Protein α is Inhibited by the Short-Chain Fatty Acid Butyrate. *International Journal of Colorectal Disease*, 16(4), 195-201. <https://doi.org/10.1007/s003840100295>
- Mackenzie, B. W., Waite, D. W., & Taylor, M. W. (2015). Evaluating variation in human gut microbiota profiles due to DNA extraction method and inter-subject

- differences. *Frontiers in Microbiology*, 6.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00130>
- Maćkowiak, K., Torlińska-Walkowiak, N., & Torlińska, B. (2016). Dietary fibre as an important constituent of the diet. *Postepy Hig Med Dosw (online)*, 70, 104-109.
www.phmd.pl
- Mahadevamma, S., Harish Prashanth, K. V., & Tharanathan, R. N. (2003). Resistant starch derived from processed legumes - Purification and structural characterization. *Carbohydrate Polymers*, 54(2), 215-219.
[https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00165-6](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00165-6)
- Maier, T. V., Lucio, M., Lee, L. H., Verberkmoes, N. C., Brislawn, C. J., Bernhardt, J., Lamendella, R., McDermott, J. E., Bergeron, N., Heinzmann, S. S., Morton, J. T., González, A., Ackermann, G., Knight, R., Riedel, K., Krauss, R. M., Schmitt-Kopplin, P., & Jansson, J. K. (2017). Impact of Dietary Resistant Starch on the Human Gut Microbiome, Metaproteome, and Metabolome. *mBio*, 8(5), 1-16.
<https://doi.org/10.1128/mBio.01343-17>
- Makki, K., Deehan, E. C., Walter, J., & Bäckhed, F. (2018). The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. *Inside Cell Host and Microbe* (C. 23, Sayı 6, ss. 705-715). Cell Press.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.05.012>
- Mandimika, T., Paturi, G., De Guzman, C. E., Butts, C. A., Nones, K., Monroe, J. A., Butler, R. C., Joyce, N. I., Mishra, S., & Ansell, J. (2012). Effects of dietary broccoli fibre and corn oil on serum lipids, faecal bile acid excretion and hepatic gene expression in rats. *Food Chemistry*, 131(4), 1272-1278.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.117>
- Martin-Gallausiaux, C., Marinelli, L., Blottiere, H. H., Larraufie, P., & Lapaque, N. (2021). Short Chain Fatty Acids-mechanisms and functional importance in the gut. *Proceedings of the Nutrition Society*, 80(1), 37-49.
<https://doi.org/10.1017/S0029665120006916>
- Maslowski, K. M., Vieira, A. T., Ng, A., Kranich, J., Sierro, F., Di Yu, Schilter, H. C., Rolph, M. S., MacKay, F., Artis, D., Xavier, R. J., Teixeira, M. M., & MacKay, C. R. (2009). Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. *Nature*, 461(7268), 1282-1286.
<https://doi.org/10.1038/nature08530>
- McCleary, B. V. (2007). An integrated procedure for the measurement of total dietary fibre (including resistant starch), non-digestible oligosaccharides and available carbohydrates. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(1), 291-308.
<https://doi.org/10.1007/s00216-007-1389-6>
- McCleary, B. V., Sloane, N., & Draga, A. (2015). Determination of total dietary fibre and available carbohydrates: A rapid integrated procedure that simulates in vivo digestion. *Starch/Staerke*, 67(9-10), 860-883.
<https://doi.org/10.1002/star.201500017>
- McRorie, J. W. (2015). Evidence-Based Approach to Fiber Supplements and Clinically Meaningful Health Benefits, Part 1: What to Look for and How to Recommend an Effective Fiber Therapy. *Nutrition Today*, 50(2), 82-89.
<https://doi.org/10.1097/NT.0000000000000082>
- McRorie, J. W., & Fahey, G. C. (2013). A Review of Gastrointestinal Physiology and the Mechanisms Underlying the Health Benefits of Dietary Fiber: Matching an effective fiber with specific patient needs. *Clinical Nursing Studies*, 1(4), 82-92.
<https://doi.org/10.5430/cns.v1n4p82>
- Mitani, T., Yoshioka, Y., Furuyashiki, T., Yamashita, Y., Shirai, Y., & Ashida, H. (2017). Enzymatically synthesized glycogen inhibits colitis through decreasing

- oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 106, 355-367.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.02.048>
- Mollica, M. P., Raso, G. M., Cavaliere, G., Trinchese, G., Filippo, C. De, Aceto, S., Prisco, M., Pirozzi, C., Guida, F. Di, Lama, A., Crispino, M., Tronino, D., Vaio, P. Di, Canani, R. B., Calignano, A., & Meli, R. (2017). Butyrate Regulates Liver Mitochondrial Function , Efficiency, and Dynamics in Insulin-Resistant Obese Mice. *Diabetes*, 66(5), 1405-1418. <https://doi.org/10.2337/db16-0924>
- Mønsted, M. Ø., Bilgin, M., Kuzma, M., Pelantová, H., Pedersen, K., Tomášová, P., Nazmutdinova, A., Šedivá, B., Funda, D., Castro-Mejía, J. L., Holm, L. J., Nielsen, D. S., & Haupt-Jorgensen, M. (2023). Reduced phosphatidylcholine level in the intestinal mucus layer of pre-diabetic NOD mice. *APMIS*.
<https://doi.org/10.1111/apm.13302>
- Moreno-Chamba, B., Salazar-Bermeo, J., Martínez-Madrid, M. C., Lizama, V., Martín-Bermudo, F., Berná, G., Neacsu, M., Saura, D., Martí, N., & Valero, M. (2022). Bound galloylated compounds in persimmon upcycled dietary fiber modulate microbial strains associated to human health after in vitro digestion. *LWT*, 156.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113011>
- Nastasi, C., Candela, M., Bonefeld, C. M., Geisler, C., Hansen, M., Krejsgaard, T., Biagi, E., Andersen, M. H., Brigidi, P., Ødum, N., Litman, T., & Woetmann, A. (2015). The effect of short-chain fatty acids on human monocyte-derived dendritic cells. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/srep16148>
- Nava, G. M., Friedrichsen, H. J., & Stappenbeck, T. S. (2011). Spatial organization of intestinal microbiota in the mouse ascending colon. *ISME Journal*, 5(4), 627-638.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2010.161>
- Navab-Moghadam, F., Sedighi, M., Khamseh, M. E., Alaei-Shahmiri, F., Talebi, M., Razavi, S., & Amirmozafari, N. (2017). The association of type II diabetes with gut microbiota composition. *Microbial Pathogenesis*, 110, 630-636.
<https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2017.07.034>
- Ndeh, D., & Gilbert, H. J. (2018). Biochemistry of complex glycan depolymerisation by the human gut microbiota. *FEMS Microbiology Reviews*, 42(2), 146-164.
<https://doi.org/10.1093/femsre/fuy002>
- Neyrinck, A. M., Possemiers, S., Druart, C., van de Wiele, T., de Backer, F., Cani, P. D., Larondelle, Y., & Delzenne, N. M. (2011). Prebiotic Effects of Wheat Arabinoxylan Related to the Increase in Bifidobacteria, Roseburia and Bacteroides/Prevotella in Diet-Induced Obese Mice. *PLoS ONE*, 6(6).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020944>
- O'Grady, J., O'Connor, E. M., & Shanahan, F. (2019). Review article: dietary fibre in the era of microbiome science. *Içinde Alimentary Pharmacology and Therapeutics* (C. 49, Sayı 5, ss. 506-515). Blackwell Publishing Ltd.
<https://doi.org/10.1111/apt.15129>
- Ojo, O., Feng, Q. Q., Ojo, O. O., & Wang, X. H. (2020). The role of dietary fibre in modulating gut microbiota dysbiosis in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Nutrients*, 12(11), 1-21.
<https://doi.org/10.3390/nu12113239>
- Onumpai, C., Kolida, S., Bonnin, E., & Rastall, R. A. (2011). Microbial utilization and selectivity of pectin fractions with various structures. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(16), 5747-5754. <https://doi.org/10.1128/AEM.00179-11>
- Pan, H., & Liu, Z. (2023). Roles of dietary fiber and gut microbial metabolites short-chain fatty acids in regulating mitochondrial function in central nervous system. *Içinde Molecular Nutrition and Mitochondria* (ss. 243-251). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-323-90256-4.00024-2>

- Pashkuleva, I., Marques, A. P., Vaz, F., & Reis, R. L. (2005). Surface modification of starch based blends using potassium permanganate-nitric acid system and its effect on the adhesion and proliferation of osteoblast-like cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16(1), 81-92. <https://doi.org/10.1007/S10856-005-6450-4/METRICS>
- Pashkuleva, I., Marques, A. P., Vaz, F., & Reis, R. L. (2010). Surface modification of starch based biomaterials by oxygen plasma or UV-irradiation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21(1), 21-32. <https://doi.org/10.1007/S10856-009-3831-0/FIGURES/8>
- Patnode, M. L., Beller, Z. W., Han, N. D., Cheng, J., Peters, S. L., Terrapon, N., Henrissat, B., Le Gall, S., Saulnier, L., Hayashi, D. K., Meynier, A., Vinoy, S., Giannone, R. J., Hettich, R. L., & Gordon, J. I. (2019). Interspecies Competition Impacts Targeted Manipulation of Human Gut Bacteria by Fiber-Derived Glycans. *Cell*, 179(1), 59-73.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.08.011>
- Payling, L., Fraser, K., Loveday, S. M., Sims, I., Roy, N., & McNabb, W. (2020). The effects of carbohydrate structure on the composition and functionality of the human gut microbiota. *Trends in Food Science and Technology*, 97, 233-248. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.009>
- Peng, L., Li, Z. R., Green, R. S., Holzman, I. R., & Lin, J. (2009). Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *Journal of Nutrition*, 139(9), 1619-1625. <https://doi.org/10.3945/jn.109.104638>
- Perrin, S., Fougny, C., Grill, J. P., Jacobs, H., & Schneider, F. (2002). Fermentation of chicory fructo-oligosaccharides in mixtures of different degrees of polymerization by three strains of bifidobacteria. *Canadian journal of microbiology*, 48(8), 759-763. <https://doi.org/10.1139/W02-065>
- Pettolino, F. A., Walsh, C., Fincher, G. B., & Bacic, A. (2012). Determining the polysaccharide composition of plant cell walls. *Nature protocols*, 7(9), 1590-1607. <https://doi.org/10.1038/NPROT.2012.081>
- Picard, C., Fioramonti, J., Francois, A., Robinson, T., Neant, F., & Matuchansky, C. (2005). Review article: Bifidobacteria as probiotic agents - Physiological effects and clinical benefits. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 22(6), 495-512. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2005.02615.x>
- Porter, N. T., & Martens, E. C. (2017). The Critical Roles of Polysaccharides in Gut Microbial Ecology and Physiology. *Annual Review of Microbiology*, 71, 349-369. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095316>
- Quail, M. A., Smith, M., Coupland, P., Otto, T. D., Harris, S. R., Connor, T. R., Bertoni, A., Swerdlow, H. P., & Gu, Y. (2012). A Tale of Three Next Generation Sequencing Platforms : Comparison of Ion Torrent , Pacific Biosciences and Illumina MiSeq Sequencers. *BMC Genomics*, 13, 341.
- Ranganathan, N., & Anteyi, E. (2022). The Role of Dietary Fiber and Gut Microbiome Modulation in Progression of Chronic Kidney Disease. *Toxins*, 14(3). <https://doi.org/10.3390/toxins>
- Rashid, Z. M., Mormann, M., Steckhan, K., Peters, A., Esch, S., & Hensel, A. (2019). Polysaccharides from lichen Xanthoria parietina: 1,4/1,6- α -D-glucans and a highly branched galactomannan with macrophage stimulating activity via Dectin-2 activation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 921-935. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.056>
- Rauf, A., Khalil, A. A., Rahman, U. ur, Khalid, A., Naz, S., Shariati, M. A., Rebezov, M., Urtecho, E. Z., de Albuquerque, R. D. D. G., Anwar, S., Alamri, A., Saini, R. K., & Rengasamy, K. R. R. (2022). Recent advances in the therapeutic application

- of short-chain fatty acids (SCFAs): An updated review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(22), 6034-6054.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1895064>
- Rescigno, M. (2014). Intestinal microbiota and its effects on the immune system. *Cellular Microbiology*, 16(7), 1004-1013. <https://doi.org/10.1111/cmi.12301>
- Reynolds, A. N., Akerman, A., Kumar, S., Diep Pham, H. T., Coffey, S., & Mann, J. (2022). Dietary fibre in hypertension and cardiovascular disease management: systematic review and meta-analyses. *BMC Medicine*, 20(1).
<https://doi.org/10.1186/s12916-022-02328-x>
- Rezende, E. S. V., Lima, G. C., & Naves, M. M. V. (2021). Dietary fibers as beneficial microbiota modulators: A proposal classification by prebiotic categories. *Nutrition*, 89, 111217. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111217>
- Rios-Covian, D., González, S., Nogacka, A. M., Arboleya, S., Salazar, N., Gueimonde, M., & de los Reyes-Gavilán, C. G. (2020). An Overview on Fecal Branched Short-Chain Fatty Acids Along Human Life and as Related With Body Mass Index: Associated Dietary and Anthropometric Factors. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00973>
- 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. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00185>
- Rodrigues, H. G., Takeo Sato, F., Curi, R., & Vinolo, M. A. R. (2016). Fatty acids as modulators of neutrophil recruitment, function and survival. *European Journal of Pharmacology*, 785, 50-58. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2015.03.098>
- Rose, D. J., Demeo, M. T., Keshavarzian, A., & Hamaker, B. R. (2007). Influence of Dietary Fiber on Inflammatory Bowel Disease and Colon Cancer: Importance of Fermentation Pattern. *Nutrition Reviews*, 65(2), 51-62.
<https://doi.org/10.1301/nr.2007.feb.51-62>
- Ruemmele, F. M., Schwartz, S., Seidman, E. G., Dionne, S., Levy, E., & Lentze, M. J. (2018). Butyrate induced Caco-2 cell apoptosis is mediated via the mitochondrial pathway. *Gut*, 52(1), 2510-2517. <https://doi.org/10.1136/gut.52.1.94>
- Ryoyama, K., Kidachi, Y., Yamaguchi, H., Kajiura, H., & Takata, H. (2004). Anti-Tumor Activity of an Enzymatically Synthesized-1,6 Branched-1,4-Glucan, Glycogen. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68(11), 2332-2340. <https://academic.oup.com/bbb/article/68/11/2332/5952912>
- Ryu, H.-J., Jung, D.-H., Yoo, S.-H., Tuncil, Y. E., & Lee, B.-H. (2022). Bifidogenic property of enzymatically synthesized water-insoluble α -glucans with different α -1,6 branching ratio. *Food Hydrocolloids*, 133, 107987. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107987>
- Saleh, R., & Elkord, E. (2020). FoxP3+ T regulatory cells in cancer: Prognostic biomarkers and therapeutic targets. *Cancer Letters*, 490, 174-185. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2020.07.022>
- Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R., Hartmann, M., Hollister, E. B., Lesniewski, R. A., Oakley, B. B., Parks, D. H., Robinson, C. J., Sahl, J. W., Stres, B., Thallinger, G. G., Van Horn, D. J., & Weber, C. F. (2009). Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7537-7541. <https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09>
- Schroeder, B. O., Birchenough, G. M. H., Ståhlman, M., Arike, L., Johansson, M. E. V., Hansson, G. C., & Bäckhed, F. (2018). Bifidobacteria or Fiber Protects against

- Diet-Induced Microbiota-Mediated Colonic Mucus Deterioration. *Cell Host and Microbe*, 23(1), 27-40. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.11.004>
- Scott, K. P., Duncan, S. H., & Flint, H. J. (2008). Dietary fibre and the gut microbiota. *Nutrition Bulletin*, 33(3), 201-211. <https://doi.org/10.1111/j.1467-3010.2008.00706.x>
- Scott, K. P., Martin, J. C., Campbell, G., Mayer, C. D., & Flint, H. J. (2006). Whole-genome transcription profiling reveals genes up-regulated by growth on fucose in the human gut bacterium "Roseburia inulinivorans". *Journal of Bacteriology*, 188(12), 4340-4349. <https://doi.org/10.1128/JB.00137-06>
- Sekirov, I., Russell, S. L., Caetano, L., Antunes, M., & Finlay, B. B. (2010). Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiological Reviews*, 90(3), 859-904. <https://doi.org/10.1152/physrev.00045.2009>-Gut
- Sharma, B. R., Jaiswal, S., & Ravindra, P. V. (2022). Modulation of gut microbiota by bioactive compounds for prevention and management of type 2 diabetes. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 152. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113148>
- Shin, N. R., Whon, T. W., & Bae, J. W. (2015). Proteobacteria: Microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends in Biotechnology*, 33(9), 496-503. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.06.011>
- Silva, F. M., Kramer, C. K., de Almeida, J. C., Steemburgo, T., Gross, J. L., & Azevedo, M. J. (2013). Fiber intake and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review with meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition Reviews*, 71(12), 790-801. <https://doi.org/10.1111/nure.12076>
- Sinnot, M. L. (2007). Nucleophilic Addition to Carbonyl Groups of Sugars. İçinde *Carbohydrate Chemistry and Biochemistry: Structure and Mechanism* (ss. 7-10). The Royal Society of Chemistry. https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=FnqVFTvSbQoC&oi=fnd&pg=PA1&ots=6OsRIWVkg8&sig=j1uYcdqtL7-At_StOePIIPVNH8M&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Smith, P. M., Howitt, M. R., Panikov, N., Michaud, M., Gallini, C. A., Bohlooly-Y, M., Glickman, J. N., & Garrett, W. S. (2013). The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic T reg cell homeostasis. *Science*, 341(6145), 569-573. <https://doi.org/10.1126/science.1241165>
- Song, A. X., Li, L. Q., Yin, J. Y., Chiou, J. C., & Wu, J. Y. (2020). Mechanistic insights into the structure-dependant and strain-specific utilization of wheat arabinoxylan by *Bifidobacterium longum*. *Carbohydrate Polymers*, 249. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116886>
- Sonnenburg, J. L., & Bäckhed, F. (2016). Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*, 535(7610), 56-64. <https://doi.org/10.1038/nature18846>
- Sorndech, W., Sagnelli, D., Meier, S., Jansson, A. M., Lee, B. H., Hamaker, B. R., Rolland-Sabaté, A., Hebelstrup, K. H., Tongta, S., & Blennow, A. (2016). Structure of branching enzyme- and amylomaltase modified starch produced from well-defined amylose to amylopectin substrates. *Carbohydrate Polymers*, 152, 51-61. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.097>
- Sorndech, W., Tongta, S., & Blennow, A. (2018). Slowly Digestible- and Non-Digestible α -Glucans: An Enzymatic Approach to Starch Modification and Nutritional Effects. *Starch/Stärke*, 70(9-10), 1-11. <https://doi.org/10.1002/star.201700145>
- Suwannaporn, P., Thepwong, K., Tester, R., Al-Ghazzewi, F., Piggott, J., Shen, N., Chen, Z., Chen, F., Yang, J., Zhang, D., & Tang, M. (2013). Tolerance and

- nutritional therapy of dietary fibre from konjac glucomannan hydrolysates for patients with inflammatory bowel disease (IBD). *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2(2), 93-98. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2013.09.005>
- Tamargo, A., Cueva, C., Álvarez, M. D., Herranz, B., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M. V., & Laguna, L. (2018). Influence of viscosity on the growth of human gut microbiota. *Food Hydrocolloids*, 77, 163-167. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.031>
- Tan, C., Wei, H., Zhao, X., Xu, C., & Peng, J. (2017). Effects of dietary fibers with high water-binding capacity and swelling capacity on gastrointestinal functions, food intake and body weight in male rats. *Food and Nutrition Research*, 61(1). <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1308118>
- Tan, C., Wei, H., Zhao, X., Xu, C., Zhou, Y., & Peng, J. (2016). Soluble fiber with high water-binding capacity, swelling capacity, and fermentability reduces food intake by promoting satiety rather than satiation in rats. *Nutrients*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/nu8100615>
- Tan, D., Chen, W., Yang, Z., Rong, M., Huang, R., Wu, X., Bai, W., & Tian, L. (2023). Enzymatic synthesis of propionyl-fructooligosaccharides and their evaluation as a gut microbiota modulator. *Food Hydrocolloids*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108782>
- Tan, J. K., Macia, L., & Mackay, C. R. (2023). Dietary fiber and SCFAs in the regulation of mucosal immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 151(2), 361-370. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2022.11.007>
- Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A. N., Mackay, C. R., & Macia, L. (2014). The Role of Short-Chain Fatty Acids in Health and Disease. İçinde *Advances in Immunology* (C. 121, ss. 91-119). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9>
- Tang, W. H. W., Bäckhed, F., Landmesser, U., & Hazen, S. L. (2019). Intestinal Microbiota in Cardiovascular Health and Disease: JACC State-of-the-Art Review. İçinde *Journal of the American College of Cardiology* (C. 73, Sayı 16, ss. 2089-2105). Elsevier USA. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.03.024>
- Teichmann, J., & Cockburn, D. W. (2021). In vitro Fermentation Reveals Changes in Butyrate Production Dependent on Resistant Starch Source and Microbiome Composition. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.640253>
- Thomas, F., Hehemann, J. H., Rebuffet, E., Czjzek, M., & Michel, G. (2011). Environmental and gut Bacteroidetes: The food connection. *Frontiers in Microbiology*, 2. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00093>
- Timm, M., & Slavin, J. (2022). Dietary Fiber: Classification and Physiological Role. İçinde *Reference Module in Food Science*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821848-8.00097-4>
- Tsusaki, K., Watanabe, H., Nishimoto, T., Yamamoto, T., Kubota, M., Chaen, H., & Fukuda, S. (2009). Structure of a Novel Highly Branched α -glucan Enzymatically Produced from Maltodextrin. *Carbohydrate Research*, 344(16), 2151-2156. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.08.016>
- Tuncil, Y. E., Nakatsu, C. H., Kazem, A. E., Arioglu-Tuncil, S., Reuhs, B., Martens, E. C., & Hamaker, B. R. (2017). Delayed Utilization of Some Fast-Fermenting Soluble Dietary Fibers by Human Gut Microbiota When Presented in a Mixture. *Journal of Functional Foods*, 32, 347-357. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.03.001>
- Tuncil, Y. E., Thakkar, R. D., Arioglu-Tuncil, S., Hamaker, B. R., & Lindemann, S. R. (2018). Fecal Microbiota Responses to Bran Particles Are Specific to Cereal Type

- and in Vitro Digestion Methods That Mimic Upper Gastrointestinal Tract Passage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(47), 12580-12593.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b03469>
- Tuncil, Y. E., Thakkar, R. D., Arioglu-Tuncil, S., Hamaker, B. R., & Lindemann, S. R. (2020). Subtle Variations in Dietary-Fiber Fine Structure Differentially Influence the Composition and Metabolic Function of Gut Microbiota. *mSphere*, 5(3), 1-6.
<https://doi.org/10.1128/msphere.00180-20>
- Tuncil, Y. E., Thakkar, R. D., Marcia, A. D. R., Hamaker, B. R., & Lindemann, S. R. (2018). Divergent Short-Chain Fatty Acid Production and Succession of Colonic Microbiota Arise in Fermentation of Various-Sized Wheat Bran Fractions. *Scientific Reports*, 8(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34912-8>
- Tuncil, Y. E., Xiao, Y., Porter, N. T., Reuhs, B. L., Martens, E. C., & Hamaker, B. R. (2017). Reciprocal Prioritization to Dietary Glycans by Gut Bacteria in a Competitive Environment Promotes Stable Coexistence. *mBio*, 8(5).
<https://doi.org/10.1128/mBio.01068-17>
- van de Wouw, M., Boehme, M., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2019). Monocyte mobilisation, microbiota & mental illness. *Brain, Behavior, and Immunity*, 81, 74-91. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.07.019>
- Van den Abbeele, P., Gérard, P., Rabot, S., Bruneau, A., El Aidy, S., Derrien, M., Kleerebezem, M., Zoetendal, E. G., Smidt, H., Verstraete, W., van de Wiele, T., & Possemiers, S. (2011). Arabinoxylans and Inulin Differentially Modulate the Mucosal and Luminal Gut Microbiota and Mucin-Degradation in Humanized Rats. *Environmental Microbiology*, 13(10), 2667-2680. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02533.x>
- van der Beek, C. M., Dejong, C. H. C., Troost, F. J., Masclee, A. A. M., & Lenaerts, K. (2017). Role of short-chain fatty acids in colonic inflammation, carcinogenesis, and mucosal protection and healing. *Nutrition Reviews*, 75(4), 286-305.
<https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw067>
- Van der Sluis, M., De Koning, B. A. E., De Bruijn, A. C. J. M., Velcich, A., Meijerink, J. P. P., Van Goudoever, J. B., Büller, H. A., Dekker, J., Van Seuningen, I., Renes, I. B., & Einerhand, A. W. C. (2006). Muc2-Deficient Mice Spontaneously Develop Colitis, Indicating That MUC2 Is Critical for Colonic Protection. *Gastroenterology*, 131(1), 117-129. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.04.020>
- Verediano, T. A., Sant'Ana, C., Grancieri, M., Tako, E., Paes, M. C. D., & Martino, H. S. D. (2022). Black corn (*Zea mays* L.) flour has the potential to improve the gut microbiota composition and goblet cell proliferation in mice fed a high-fat diet. *Nutrition Research*, 108, 60-72. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2022.10.005>
- Walter, J., & Ley, R. (2011). The human gut microbiome: Ecology and recent evolutionary changes. *Annual Review of Microbiology*, 65, 411-429.
<https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090110-102830>
- Wang, Y., Liu, Y., Ivusic Polic, I., Chandran Matheyambath, A., & LaPointe, G. (2021). Modulation of human gut microbiota composition and metabolites by arabinogalactan and *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BB536 in the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME®). *Journal of Functional Foods*, 87. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104820>
- Wei, B., Liu, Y., Lin, X., Fang, Y., Cui, J., & Wan, J. (2018). Dietary fiber intake and risk of metabolic syndrome: A meta-analysis of observational studies. *Clinical Nutrition*, 37(6), 1935-1942. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2017.10.019>
- Wei, B., Xia, W., Wang, L., Jin, X., Yang, W., Rao, D., Chen, S., & Wu, J. (2022). Diverse prebiotic effects of isomaltodextrins with different glycosidic linkages and

- molecular weights on human gut bacteria in vitro. *Carbohydrate Polymers*, 279. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118986>
- Wrzosek, L., Miquel, S., Noordine, M. L., Bouet, S., Chevalier-Curt, M. J., Robert, V., Philippe, C., Bridonneau, C., Cherbuy, C., Robbe-Masselot, C., Langella, P., & Thomas, M. (2013). *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Faecalibacterium prausnitzii* influence the production of mucus glycans and the development of goblet cells in the colonic epithelium of a gnotobiotic model rodent. *BMC Biology*, 11. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-11-61>
- Wu, Q., Fan, L., Tan, H., Zhang, Y., Fang, Q., Yang, J., Cui, S. W., & Nie, S. (2022). Impact of pectin with various esterification degrees on the profiles of gut microbiota and serum metabolites. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(9-10), 3707-3720. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11926-x>
- Wu, W., Li, Q., Chen, H., Fang, X., Niu, B., Liu, R., Mu, H., & Gao, H. (2023). In vitro fermentation characteristics of the dietary fiber in bamboo (*Phyllostachys edulis*) shoots and its regulatory effects on the intestinal microbiota and metabolites. *Food Chemistry*, 404, 134707. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134707>
- Xiong, R.-G., Zhou, D.-D., Wu, S.-X., Huang, S.-Y., Saimaiti, A., Yang, Z.-J., Shang, A., Zhao, C.-N., Gan, R.-Y., & Li, H.-B. (2022). Health Benefits and Side Effects of Short-Chain Fatty Acids. *Foods*, 11(18). <https://doi.org/10.3390/foods11182863>
- Xu, H., Reuhs, B. L., Cantu-Jungles, T. M., Tuncil, Y. E., Kaur, A., Terekhov, A., Martens, E. C., & Hamaker, B. R. (2022). Corn arabinoxylan has a repeating structure of subunits of high branch complexity with slow gut microbiota fermentation. *Carbohydrate Polymers*, 289. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119435>
- Xu, T., Wu, X., Liu, J., Sun, J., Wang, X., Fan, G., Meng, X., Zhang, J., & Zhang, Y. (2022). The regulatory roles of dietary fibers on host health via gut microbiota-derived short chain fatty acids. *Current Opinion in Pharmacology*, 62, 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2021.11.001>
- Yang, F., Xia, N., Guo, S., Zhang, J., Liao, Y., Tang, T., Nie, S., Zhang, M., Lv, B., Lu, Y., Jiao, J., Li, J., Wang, W., Hu, D., & Cheng, X. (2022). Propionate Alleviates Abdominal Aortic Aneurysm by Modulating Colonic Regulatory T-Cell Expansion and Recirculation. *JACC: Basic to Translational Science*, 7(9), 934-947. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2022.05.001>
- Yang, T., Richards, E. M., Pepine, C. J., & Raizada, M. K. (2018). The gut microbiota and the brain-gut-kidney axis in hypertension and chronic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*, 14(7), 442-456. <https://doi.org/10.1038/s41581-018-0018-2>
- Yao, Y., Cai, X., Fei, W., Ye, Y., Zhao, M., & Zheng, C. (2022). The role of short-chain fatty acids in immunity, inflammation and metabolism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(1), 1-12. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1854675>
- Yingying, Z., Liange, D., Lu, H., Zhenxing, S., Jilin, D., Yang, Y., & Ruiling, S. (2020). Effects of oat β -glucan, oat resistant starch, and the whole oat flour on insulin resistance, inflammation, and gut microbiota in high-fat-diet-induced type 2 diabetic rats. *Journal of Functional Foods*, 69. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103939>
- Ylönen, K., Saloranta, C., Groop, L., Aro, A., Virtanen, S. M., & Kronberg-Kippila, C. (2003). Associations of Dietary Fiber With Glucose Metabolism in Nondiabetic Relatives of Subjects With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 26(7), 1979-1985. <http://diabetesjournals.org/care/article-pdf/26/7/1979/655890/dc0703001979.pdf>
- Yu, M., Li, Z., Chen, W., Rong, T., Wang, G., & Ma, X. (2019). Microbiome-Metabolomics Analysis Investigating the Impacts of Dietary Starch Types on the

- Composition and Metabolism of Colonic Microbiota in Finishing Pigs. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01143>
- Ze, X., Duncan, S. H., Louis, P., & Flint, H. J. (2012). *Ruminococcus bromii* is a Keystone Species for the Degradation of Resistant Starch in the Human Colon. *ISME Journal*, 6(8), 1535-1543. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.4>
- Zhang, S., Zhao, J., Xie, F., He, H., Johnston, L. J., Dai, X., Wu, C., & Ma, X. (2021). Dietary fiber-derived short-chain fatty acids: A potential therapeutic target to alleviate obesity-related nonalcoholic fatty liver disease. İçinde *Obesity Reviews* (C. 22, Sayı 11). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/obr.13316>
- Zhang, T., Zheng, Y., & Cosgrove, D. J. (2016). Spatial organization of cellulose microfibrils and matrix polysaccharides in primary plant cell walls as imaged by multichannel atomic force microscopy. *Plant Journal*, 85(2), 179-192. <https://doi.org/10.1111/tpj.13102>
- Zhang, X. (2014). Chemical Structure of Naturel Polymer Fibers. İçinde *Fundamentals of Fiber Science* (ss. 53-56). DEStech Publications. https://books.google.com.tr/books?hl=tr&lr=&id=-36gAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR13&ots=p1Fy6sblYL&sig=qWi66UV1TWUw_W2nKoQZohdcq9Y&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Zhang, X., Xie, J., Chen, T., Ma, D., Yao, T., Gu, F., Lim, J., Tuinstra, M. R., & Hamaker, B. R. (2021). High arabinoxylan fine structure specificity to gut bacteria driven by corn genotypes but not environment. *Carbohydrate Polymers*, 257, 117667. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117667>
- Zhao, L. (2013). The Gut Microbiota and Obesity: From Correlation to Causality. *Nature Reviews Microbiology*, 11(9), 639-647. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3089>
- Zhao, L., Zhang, F., Ding, X., Wu, G., Lam, Y. Y., Wang, X., Fu, H., Xue, X., Lu, C., Ma, J., Yu, L., Xu, C., Ren, Z., Xu, Y., Xu, S., Shen, H., Zhu, X., Shi, Y., Shen, Q., ... Zhang, † Chenhong. (2018). Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science*, 359(6380), 1151-1156. www.hmpdacc.org/reference_genomes/finishing.
- Zou, J., Chassaing, B., Singh, V., Pellizzon, M., Ricci, M., Fythe, M., Kumar, M. V., & Gewirtz, A. T. (2018). Fiber-mediated Nourishment of Gut Microbiota Protects Against Diet-Induced Obesity by Restoring IL-22-mediated Colonic Health. *Physiology & behavior*, 23(1), 41-53. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.11.003>.Fiber-mediated