

## Sindirim Sistemi Modellerinde Probiyotik Mikroorganizmaların Canlılığı

Emine Mine Çomak Göçer ✉, Firuze Ergin, Ahmet Küçükçetin

Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 16.04.2016, Kabul Tarihi (Accepted): 22.06.2016

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): [minecomak@akdeniz.edu.tr](mailto:minecomak@akdeniz.edu.tr) (E.M. Çomak Göçer)

☎ 0 242 227 44 00/4317 📠 0 242 310 63 06

### ÖZ

Probiyotik mikroorganizmaların sağlığa faydalı etki gösterebilmeleri için, canlı olarak ve yeterli sayıda bağırsağa ulaşmaları gerekmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların insan sindirim sisteminde canlılığını incelemek üzere *in vivo* ve *in vitro* birçok model geliştirilmiştir. Gıda ve ilaçların sindirimini simüle eden *in vitro* çalışmalar; nispeten kolay, hızlı, güvenilir olduğu ve özellikle *in vivo* çalışmalarda karşılaşılan etik kısıtlamalar bulunmadığı için günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Gastrointestinal sindirim sistemini simüle eden *in vitro* gastrointestinal modeller; statik modeller ve dinamik modeller olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Statik modellerde, sindirim sistemindeki işlemlere maruz bırakılan gıda hareketsizdir ve gıdanın sindirimi sırasında gastrointestinal sistemde zamana bağlı olarak değişen pH, enzim konsantrasyonu, akış hızı, örnek hacmi gibi parametreler dikkate alınmamaktadır. Dinamik modellerde ise biyokimyasal, fiziksel ve mekaniksel işlemler bir arada ve zamana bağlı olarak ele alınmaktadır. Bu derlemede insan sindirim sistemi ile dinamik sindirim sistemi modelleri hakkında bilgi verilmesi amaçlanmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Probiyotik mikroorganizma, Sindirim sistemi, Dinamik sindirim sistemi modelleri

### Viability of Probiotic Microorganisms in Digestive System Models

#### ABSTRACT

An adequate number of viable probiotic microorganisms must reach intestines to provide a beneficial health effects in human. To investigate the viability of probiotic microorganisms in human gastrointestinal system, many *in vivo* and *in vitro* models have been developed in the literature. *In vitro* studies simulating digestion of food and medicine are now widely used because they are relatively easy, quick and safe and have no ethical restrictions encountered *in vivo* studies. *In vitro* gastrointestinal models simulating the gastrointestinal system are divided into two groups as static and dynamic models. In static models, food subjected to processes in the digestive system is stationary, and time-dependent parameters such as pH, enzyme concentration, flow rate and sample volume during food digestion in the gastrointestinal system are ignored. In dynamic ones, biochemical, physical and mechanical processes are taken together and handled with respect to time. In this study, human digestive system and dynamic digestive system models are reviewed.

**Keywords:** Probiotic microorganism, Digestive system, Dynamic gastrointestinal models

#### GİRİŞ

Günümüz insanı, gastrointestinal kanal aracılığı ile dış dünyada bulunan kimyasal ajanlara ve ilaçlara maruz kalmaktadır. Kimyasal ajanların ve ilaçların gastrointestinal kanal mikroflorası üzerine etkili

olabileceği de açıktır [1]. Özellikle 1990'lı yıllardan itibaren intestinal mikroflora ile sağlıklı yaşam arasındaki ilişki üzerine çalışmalar yoğunlaşmış ve bu çalışmalar sonucunda sindirim sistemimizin mikrobiyal dengesi ile sağlıklı beslenme ve sağlıklı yaşam arasında doğrudan bir ilişki olduğu konusu netlik kazanmaya başlamıştır [2].

Günümüzde bilim insanları tarafından yeni gıda teknolojileri, beslenme alışkanlıklarındaki değişiklikler, çevrenin kimyasallarla kirlenmesi ve antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle sindirim kanalı mikrofloramız için gerekli olan yararlı mikroorganizmalardan mahrum kaldığımız ileri sürülmekte ve mevcut mikrofloramızın ideal bir yapıya sahip olup olmadığı sorgulanmaktadır. Bağırsak mikrofloramızdaki olası değişikliklerin, özellikle son 50 yıl içinde görülmeye sıklığı artan hastalıkların (iltihabi bağırsak hastalıkları, otoimmün hastalıklar, allerjik hastalıklar, şeker hastalığı vb.) nedeni olabileceği tartışılmaktadır. Birçok bilim insanı yaptıkları çalışmalarda, gastrointestinal kanalın yararlı mikroorganizmalar ile kolonize edilerek hastalıklara karşı riskin azaltılabileceğini göstermişlerdir [3]. Sağlık üzerine yararlı etkileri olan ve bağırsaklarda canlılığını koruyabilen mikroorganizmalar olarak tanımlanan probiyotiklere olan ilgi 20. yüzyılın başlarında Rus bilim adamı Metchnikoff'un daha uzun süreli bir yaşam için laktobasilleri içeren fermente süt ürünlerinin tüketimini tavsiye etmesiyle başlamıştır [4].

## PROBİYOTİKLER

Günümüzde Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından üzerinde uzlaşılmış tanıma göre probiyotikler; yeterli miktarda alındığı zaman konakçı üzerinde sağlığa yararlı etkiler sağlayan canlı mikroorganizmalardır [5].

Probiyotik suşların her şeyden önce toksin üretmeyen ve vücuda alındıklarında sağlığa zarar vermeyen GRAS "Generally Regarded As Safe" statüsündeki mikroorganizmalardan seçilmeleri gerekmektedir. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmaların insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinin klinik çalışmalarla gösterilmiş olması gerekmektedir [6]. Probiyotik mikroorganizmaların bulunduğu konakçıdaki diğer mikroorganizmalara karşı güçlü etkileri olduğu ve konakçıya yararları bulunduğu kesin olarak kabul edilmiştir. Ancak probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmalarda bazı özelliklerin bulunması gerekmektedir. Bu özellikler;

- Güvenilir olmalı, insan ve hayvanda yan etki oluşturamamalıdır.
- Kanserojenik maddelere ve patojenik mikroorganizmalara karşı antagonistik etki göstermelidir.
- Antimikrobiyal maddeler üretmelidir.
- Konakçıda hastalıklara direnç gibi yararlı etkiler oluşturabilmelidir.
- Antibiyotiklere dirençli olmalıdır. Bazı hastalıklarda bağırsak mikroflorasını düzenlemek amacı ile antibiyotik kullanılabileceğinden, bağırsaktaki antibiyotiklerden etkilenmemelidir.
- Üretiminde kullanılan gıdanın üretim ve depolama süresince canlılığını ve aktivitesini koruyabilmelidir.
- Probiyotik mikroorganizmalar patojenik olmamalı ve toksin üretmemelidir. Çok şumlu preparatların hazırlanmasına uygun olmalıdır.
- Probiyotik üretiminde kullanılan suşlar aktarılabılır antibiyotik direnç genleri içermemelidir.

- Stabil olmalıdır. Düşük pH ve safra tuzları gibi olumsuz çevre koşullarından etkilenmeden bağırsakta metabolize olabilmelidir.
- Bağırsak hücrelerine tutunabilmeli ve ince bağırsakta kolonize olabilmelidir [7,8].

Mide asidine ve safra tuzlarına karşı direnç göstererek ince bağırsağa ulaşan probiyotik mikroorganizmaların ilk temas yüzeyi mukus tabakasıdır. Probiyotik mikroorganizmaların peristaltik hareketler ile ince bağırsaktan kayıp gitmemesi için bağırsak lümenini örten mukus tabakasına ve epitel hücrelerine tutunması gerekmektedir. Probiyotik mikroorganizmalar reseptörlere tutunmak için patojen mikroorganizmalar ile yarışmaktadırlar (rekabetçi dışlama). Bu tutunmanın patojenlere karşı antogonistik aktivite, geçici kolonizasyon, immün sistemin aktive edilmesi ve zarar gören mukozanın tamir edilmesi için önemli olduğu düşünülmektedir. Tutunmadan sonra bağırsak yüzeyine kolonize olan probiyotik mikroorganizmalar, patojen mikroorganizmalara karşı bariyer oluşturmada ve ürettikleri antimikrobiyal maddelerle bağırsak yüzeyini patojenlerin zararlı etkilerinden koruyabilmektedir [9]. Ayrıca bağırsak lümeninde bulunan besinler için de rekabet oluşmakta, patojen bakteriler için elverişli besinler probiyotik mikroorganizmalar tarafından tüketilerek patojenlerin çoğalması önlenmektedir [10].

Gastrointestinal floranın probiyotik mikroorganizma tüketimiyle desteklenmesinin, sağlık üzerindeki olumlu etkileri uzun yıllardır bilinmektedir. Bu doğrultuda yapılan çalışmalarda daha sağlıklı bir yaşam sürmek, vücut direncini arttırmak, intestinal düzensizliklerle ve hastalıklarla mücadele etmek için probiyotik tüketiminin gerekli olduğu klinik deneylerle ispatlanmıştır [11]. Probiyotik ürünlerin tüketim sonrası insan sağlığına faydaları; laktöz toleransını artırması, sindirim sistemi enfeksiyonlarını engellemesi, kanser riskini azaltması, kolesterolü düşürerek kalp damar hastalıklarını engellemesi, sindirim zorluklarını gidermesi ve bağırsaklık sistemini kuvvetlendirmesi olarak özetlenebilmektedir [12, 38]. Ayrıca yapılan çeşitli araştırmalar probiyotik ürünlerin tüketiminin, çocuklarda allerjik reaksiyonların ortaya çıkışını geciktirmede, ürogenital enfeksiyonların önlenmesinde ve *Helicobacter pylori* kaynaklı mide rahatsızlıklarının iyileştirilmesinde etkili olduğunu ortaya koymuştur [13].

Probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahip olduğunun anlaşılmasından bu yana söz konusu yararlı mikroorganizmaların gıdalar aracılığı ile vücuda alınmasına yönelik çok sayıda araştırma yürütülmektedir. Probiyotik olarak kullanılacak bir mikroorganizmanın sindirim sisteminden geçişi sırasında canlı kalabilmesi zorunludur [39]. Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla, probiyotik ürünlerdeki canlılık düzeyinin yanı sıra, probiyotik ürün tüketimi sonrasında probiyotik mikroorganizmaların insan sindirim sisteminden geçişi sırasındaki canlılık düzeyi de araştırılmaktadır.

## SİNDİRİM SİSTEMİ

İnsan sindirimi; mideye giren gıdaların besine dönüşerek vücut tarafından büyüme, hücrelerin yenilenmesi ve enerji gereksinimi için kullanılmasını sağlayan ve sağlık için gerekli karmaşık bir süreçtir. İnsan sindirimi esnasında iki ana işlem; (i) gıdaların boyutunu küçülten mekanik dönüşüm ve (ii) makromoleküllerin daha küçük bileşenlere hidrolize olarak kan dolaşımına absorbe edildiği enzimatik dönüşüm aynı anda gerçekleşmektedir [14].

Sindirim sistemi, ağızla başlayıp anüsle sona eren yaklaşık 8-10 m uzunluğunda içi boşluklu bir sindirim kanalından oluşmakta ve bu kanal "gastrointestinal kanal" olarak adlandırılmaktadır [15]. Ağız, dil, dişler, yutak, tükürük bezleri, yemek borusu, mide, ince bağırsak, kalın bağırsak, düz bağırsak (rektum) ve anüs sindirim sisteminin başlıca kısımlarını meydana getirmektedir [16]. Sindirim sistemi sıvıları; tükürük bezleri, mide, pankreas, karaciğer ve bağırsaklar gibi spesifik bez ve organlar tarafından salgılanmakta, gıda maddelerinin sindirimine ve emilimine katkıda bulunmaktadır. Farklı elektrolit kompozisyonuna ve pH'ya sahip olan söz konusu sıvılar, pek çok proenzim ve enzim içermektedir [17]. Makromoleküller ağızda dişler yardımı ile daha küçük parçalara ayrılmaktadır. Ağızdaki salgılar bolusun (yumuşak, çiğnenmiş durumdaki yiyecek kütlesi) oluşumunu sağlamakta ve kısmen sindirime yardımcı olmaktadır. Mekanik sindirim olarak adlandırılan bu olaylardan sonra besinler yapı taşlarına ayrılarak kana karışıp emilmek için sindirim yolunda ilerlemektedir [15].

Çiğneme; gıdaların sindirim işleminin büyük bir kısmının gerçekleştiği mideye geçişe hazır olması için tükürük salgısıyla karışarak uygun büyüklüğe öğütülmesi ve yaklaşık olarak vücut sıcaklığına getirilmesi işlemidir. Ağız içerisinde gıda maddelerinin bulunması tükürük salgılanması için çok kuvvetli uyarıcı etki göstermektedir [18]. Tükürük bezleri, salgılarını bir kanal aracılığıyla ağız boşluğuna akıtmaktadır. Yetişkin bir insanda günde yaklaşık 1.0-1.5 L tükürük salgılanmaktadır. İnsanlarda tükürük salgısının pH'sı istirahat halinde 5.8-7.1 (ortalama 6.7), uyarı yapılmışsa pH 7.2-7.6 arasında değişmektedir [17]. Tükürük salgısı; nişastayı sindiren bir enzim olan "pityalin ( $\alpha$ -amilaz)" içeren seröz salgısı ve kayganlaştırma ile yüzey koruma işlevine sahip "müsin" içeren mukus salgısı olmak üzere iki ana protein salgısı içermektedir [19]. Tükürük salgısının bileşimi %99.50 su, %0.17 inorganik maddeler ve %0.33 organik maddelerden oluşmaktadır. Tükürük salgısında bulunan organik maddeleri müsin, enzimler, immünoglobülinler, glukoz, üre, laktat ve vitaminler oluşturmaktadır. Ayrıca tükürük salgısında en çok bulunan inorganik iyonlar  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarıdır [17]. Tükürük salgısındaki pityalin enziminin çalışabilmesi için ortamda  $\text{Cl}^-$  iyonları bulunması gerekmektedir. Söz konusu enzimin optimum çalışma pH'sı nötre yakındır. Dolayısıyla pityalinin işleyişi midenin asidik ortamında son bulmaktadır [20]. Tükürük salgısı içerisindeki fosfat ve bikarbonat gibi elektrolitler, tükürük salgısı pH'sını ve tampon kapasitesini düzenlemektedir [18].

Sağlıklı, ilaç kullanmayan yetişkin bireylerde uyarılmamış durumda tükürük salgısı akış hızı ortalama 0.3 mL/dakika iken, uyarılmış durumda ortalama 1.5 mL/dakika'dır. Tükürüğün salgılandığı bezin türü ve büyüklüğü, hidrasyon (su alma) durumu, alınan gıdanın fiziksel ve kimyasal niteliği ile miktarı, salgılanma süresi, uyarılma hali ve bireyin psikolojik durumu tükürüğün bileşimini ve akış hızını etkilemektedir [18].

Mide; karın boşluğunun sol üst bölgesinde, diyaframın altında yer almakta ve "J" şekline benzemektedir. Yeni doğanda mide hacmi yaklaşık 30 mL iken, yetişkinlerde yaklaşık 1.5 L olmaktadır. Bu hacim aşırı gıda alımı sonucu kaslı yapı sayesinde daha da artabilmekte ve bu artış kalıcı olabilmektedir. Midenin üç temel fonksiyonu bulunmaktadır:

- Alınan gıdaları depolamaktadır.
- Alınan gıdaları daha küçük parçalara ayırmakta ve mide özsuyu ile karıştırarak çorba gibi yarı sıvı yarı katı bir şekle dönüştürüp kimüs oluşturmaktadır.
- Hidroklorik asit ve proteinlerin sindirimini başlatan enzimleri salgılamaktadır [15].

Mide sıvısı, gastrik mukozada meydana gelen salgıların bir karışımıdır. Yetişkin bir insanda normal yemek ve açlık periyotlarını içeren 24 saatte 2-3 L mide sıvısı salgılanmakta olup, mide sıvısının pH'sı 1.1-1.8 arasında değişmektedir. Mide sıvısının bileşiminde %97-98 oranında su bulunmakta, geri kalanı ise inorganik maddeler ve organik maddelerden oluşmaktadır. Mide sıvısında bulunan başlıca inorganik maddeler anyon olarak  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  ve  $\text{SO}_4^{2-}$ ; katyon olarak ise  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  ve  $\text{Mg}^{+2}$ dur. Ayrıca mukus, pepsin, intrinsik faktör, gastrik lipaz, nükleazlar, rennin (kimozin), lizozim, LDH, üreaz ve karbonik anhidraz mide sıvısında bulunan organik maddeleri oluşturmaktadır [17].

Gastrik salgıların oranı, bileşimi ve reolojik özellikleri; gıda bileşiminden etkilenmekte ve kompleks hormonal sinyaller tarafından düzenlenmektedir. Mide sıvısı; mideyi kaplayan bezler tarafından salgılanmakta, gastrik asit (HCl) ve sindirim enzimleri içermektedir. HCl; sindirilmiş gıdaların asit denatürasyonuna yardım etmekte, ayrıca pepsin enzimini aktive etmektedir. Sağlıklı bireylerde açlık durumunda intragastric (mide içi) pH 1.3-2.5 arasında değişmekte iken, yemek yeme esnasında pH 7.5'a kadar çıkabilmektedir. Mideye gıda girişi ile mide pH'sının yükselmesi mide sıvısının salgılanmasını tetiklemektedir. Mide pH'sı gıdanın mideye girişinden sonra 20 dakika içinde yükselmeye başlamakta ve gıda tüketiminden yaklaşık 2 saat sonra normal değerine geri dönmektedir. Mide sıvısı 0.8-1.0 mg/mL pepsin içermekte, söz konusu enzim gıdalarda bulunan proteinleri peptidlere indirgemektedir [21].

Kimüs; sindirim esnasında mide ve bağırsaklardan salgılanan sindirim salgıları ile kısmen sindirilerek bulamaç haline gelmiş yoğun gıda kütlesidir [22]. Gıda maddelerinin mideden geçişi gıdanın bileşim ve niteliklerine bağlı olarak genellikle 1-4 saatte tamamlanmaktadır. Farklı yönlerde üç kas tabakası taşıyan midenin peristaltik hareketleri ve salgıları yardımıyla midede kalan maddeler kimüs haline

gelmektedir. Kimüs, ufak parçalar halinde midenin peristaltik hareketleriyle ince bağırsağın ilk 20-25 cm'lik bölümü olan duodenuma (onikiparmak bağırsağı) geçmektedir [23]. Midenin boşalma hızı, gıdanın fiziksel ve kimyasal bileşimine bağlı olarak değişmektedir. Sıvılar katılara göre, karbonhidratlar proteinlere göre, proteinler de yağlara göre midneyi daha hızlı terk etmektedir [22].

Hem sindirimin hem de emilimin gerçekleştiği ince bağırsaklar, sindirim sisteminin en uzun ve en önemli bölümüdür. Bağırsak iç yüzeyinde villus olarak adlandırılan milyonlarca çıkıntı bulunmakta ve emilim bu çıkıntılarda gerçekleşmektedir. İnsanda ince bağırsağın emme yüzeyi 550 m<sup>2</sup>'ye kadar ulaşmaktadır. İnce bağırsak; duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır [15].

Yetişkin bir insanda günde ortalama 2-3 L kadar ince bağırsak salgısı salgılanmaktadır. Bu salgının yapısında bağırsak duvarlarının sindirilip zarara uğramasını önleyen ve sindirimi tamamlayan enzimler mevcuttur. İnce bağırsak salgısının pH'sı 7.8-8.0 civarındadır. Gıdalar; ince bağırsak kaslarının peristaltik hareketleri yardımıyla ağır fakat düzenli olarak anal yönde ilerlerken, bir yandan da enzimlerle karşılaşmaktadır. Gıdaların sindirilmesi ile oluşan posa maddelerinin kalın bağırsağa ulaşması için geçen süre ortalama 8 saattir [23].

Sindirim kanalının ileumdan başlayıp anüsle sonlanan yaklaşık 1.5-2.0 m uzunluğunda ve 7.5 cm genişliğinde olan son bölümünü kalın bağırsak oluşturmaktadır. Kalın bağırsak; çekum (kör bağırsak), kolonlar ve rektum (düz bağırsak) olmak üzere üç bölüme ayrılmakta ve kolonlar, kalın bağırsağın en geniş fakat en ince duvarlı bölümünü oluşturmaktadır. Pratikte kalın bağırsak denildiği zaman kolonlar anlaşılmalıdır [15]. Kalın bağırsak ile ince bağırsağın birleştiği yerde bulunan bir kapak, kalın bağırsağın içindeki mikroorganizmaların ve atık maddelerin ince bağırsağa geri dönüşünü engellemektedir. Kalın bağırsakta villus şeklinde katlanmalar yoktur ve kimyasal sindirim olmamaktadır [16].

Gıda maddeleri boyut ve bileşen olarak yeteri kadar küçüldükleri zaman ince bağırsaktan emilerek kana karışmaktadır. Tükettiğimiz gıdaların yaklaşık %20'si atık materyal olarak kolona geçmektedir. Bunlar, üst gastrointestinal sistemde tam olarak sindirilemediği için ince bağırsakta absorbe edilemeyen proteinler, nişasta ve lifli gıda atıklarından oluşmaktadır [22]. Kolona ulaşan proteinler ve karbonhidratlar (polisakkarit yapıdaki selüloz, hemiselüloz, pektin, zamlar, nişasta, oligosakkarit, tatlandırıcılar) kalın bağırsaktaki mikrobiyal flora tarafından fermente edilmektedir. Kompleks karbonhidratların kolonda intestinal mikroorganizmalar tarafından fermente edilmesi sonucunda kısa zincirli yağ asitleri ile H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ve metan gazları oluşmaktadır. Proteinlerin mikroorganizmalar tarafından metabolize edilmesiyle ortaya çıkan diğer yan ürünler ise toksik özelliklere sahip NH<sub>3</sub>, fenoller, indoller ve aminlerdir [1, 24]. Kimüs içerisindeki tüm gıda maddeleri absorbe edildiğinde, geriye kalan atık madde

kalın bağırsağın sonuna doğru ilerlemekte ve vücuttan atılmaya hazır olana kadar dışkı olarak rektumda depolanmaktadır. Bağırsaklar içerisindeki gazın hareketi, gurultu olarak tabir edilen sesi üretmektedir. Gastrointestinal bölgede dinlenme anında yaklaşık 200 mL gaz bulunmaktadır. Söz konusu gazın bileşimi; %20-90 azot, en fazla %10 oksijen, en fazla %50 hidrojen, en fazla %10 metan ve %10-30 karbondioksit olacak şekilde değişkenlik göstermektedir [22].

Sindirim kanalı dışında bulunmakla birlikte, sindirim işlemine ve sindirim kanalındaki organların çalışmasına yardımcı olan organlar arasında pankreas ve karaciğer de bulunmaktadır. Söz konusu organlar sindirime yardımcı olan salgılar salgılamaktadır. Örneğin lipitlerin sindirimi için önemli bir salgı olan safra, karaciğer tarafından salgılanmakta ve safra kesesinde depolanmaktadır [25].

Karaciğer kanalı; karaciğerden çıktıktan sonra iki kola ayrılmakta, bir kol fazla safrayı depolamak üzere safra kesesine götürürken, diğer kol ise koledok kanalının genişleyen son kısmı olan ampulla vateriden safrayı onikiparmak bağırsağına boşaltmaktadır. Safra sıvısı içinde; safra tuzları, kolesterol, yağ asitleri ve safraya özel rengini veren safra pigmentleri (bilirubin vb.) ile su bulunmakta buna karşın sindirim enzimleri bulunmamaktadır [26]. Safra tuzları; yağları parçalayarak yüzey alanının büyümesini ve lipaz enziminin etkinliğinin artmasını sağlamakta, ayrıca yağda çözünen vitaminlerin (A, D, E, K) emilmesinde gerekli olmaktadır [16].

Pankreas, mide ile onikiparmak bağırsağı arasında karın boşluğunda yer alan 75-80 g ağırlığında pembe renkli yaprak şeklinde bir organdır. Pankreasın asiner hücreleri sindirim enzimlerinin yapımından ve salgılanmasından sorumludur. Pankreas, sindirimle ilgili salgılarını virsung kanalı aracılığı ile onikiparmak bağırsağında bulunan ampulla vateriye salgılamaktadır. Pankreasın dış salgısında tripsinojen, kimotripsinojen, amilaz ve lipaz gibi enzimler bulunmaktadır. Pankreas salgısının pH değeri yaklaşık 8.5 olup, söz konusu salgı bağırsağa dökülünceye kadar aktifleşmemekte, ayrıca mideden bağırsaklara gelen asit özellikteki kimüsün nötrleşmesini sağlamaktadır [27].

Sindirim kanalındaki boşluğu saran epitel doku, gıdanın geçişini kolaylaştıracak veya sindirimine yardımcı olacak çeşitli maddeler salgılamaktadır. Epitel doku, sindirim sisteminin bazı bölgelerinde belirli enzimlerle birlikte mukus salgılamakta, bazı bölgelerinde ise sadece mukus salgılamaktadır [25].

Gastrointestinal kanala her gün sıvı ve katı gıdalarla 2.0 L, tükürük salgısı ile 1.5 L, mide salgısı ile 1.5-2.0 L, safra salgısı ile 500 mL, pankreas dış salgısı ile 1.5 L, intestinal salgı ile 1.0-1.5 L olmak üzere toplam yaklaşık 9 L sıvı girmekte ve bunun %90'ı ince bağırsaklardan emilmektedir. Kolona gelen sıvı içeriğinin 750 mL'si absorbe olmakta ve geriye kalan 150 mL kadar içerik gaita olarak atılmaktadır. Gaitanın katı kısmı esas olarak başta mikroorganizmalardan ve sindirilmeyen lifli materyalden oluşmaktadır. Normal bir yaşam süresinde

insanın gastrointestinal kanalından 60 ton kadar gıda geçmektedir. Alınan bu katı ve sıvı gıdalar ile organizma için yararlı maddelerin yanı sıra zararlı kimyasal ajanlar, bakteriler, virüsler, mantarlar ve mayalar da vücuda girmektedir. Gastrointestinal kanal, dış dünyadan katı ve sıvı gıdalarla gelen patojen mikroorganizma ve kimyasal ajanlara karşı devamlı mücadele halindedir [1].

## SİNDİRİM SİSTEMİ MODELLERİ

Mide asidine ve safra tuzuna karşı dirençlilik, probiyotik mikroorganizmaların insan gastrointestinal sisteminde canlılığını devam ettirebilmesi için gerekli iki temel özelliktir. Gastrointestinal koşullarda mikroorganizma canlılığının belirlenebilmesi için *in vivo* ve *in vitro* koşullarda çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Gıdaların üretiminde kullanılan probiyotik mikroorganizmaların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi ve probiyotik mikroorganizmaların insan sindirim sisteminden geçişi sırasında canlılığını etkileyen faktörlerin saptanması ile ilgili *in vivo* çalışmaların yapılması oldukça zordur [28]. Gıda ve ilaçların sindirimini simüle eden *in vitro* çalışmalar; nispeten kolay, hızlı, güvenilir olduğu ve özellikle *in vivo* çalışmalarda karşılaşılan etik kısıtlamalar bulunmadığı için günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Gastrointestinal sindirim sistemini simüle eden *in vitro* gastrointestinal modeller; sindirim sistemindeki işlemlere maruz kalması istenen örneğin çoğunlukla hareketsiz olduğu ve hidrasyon, karıştırma ve kayma kuvveti gibi çeşitli fiziksel işlemlerin göz ardı edildiği statik modeller ve *in vivo* koşullarda gerçekleşen fiziksel ve mekanik işlemler ile zamana bağlı değişikliklerin de simüle edildiği dinamik modeller olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır [21].

Probiyotik mikroorganizmaların *in vitro* ortamda canlılık düzeyini saptamak üzere birçok statik model tasarlanmış olmakla birlikte, söz konusu modeller gastrointestinal sistemdeki ardışık ve farklı özelliklerdeki koşulları simüle edememekte; daha güvenilir sonuçların elde edilebilmesi için insan gastrointestinal sisteminin farklı kısımlarını bir arada simüle edebilen dinamik *in vitro* gastrointestinal modeller geliştirilmektedir [28].

Probiyotik mikroorganizmaların simüle edilmiş üst gastrointestinal bölge koşullarındaki canlılığının araştırıldığı çok sayıda çalışmada kullanılan modeller, oldukça basit oldukları için *in vivo* koşulları yeterli düzeyde temsil edememektedir. En çok kullanılan modeller, mikroorganizma hücrelerinin geliştirildikten sonra santrifüjleme, yıkama yapılarak ya da yapılmadan pH değeri 1.0-3.0 arasında değişen ortamlara ilave edilmesi veya sığır safrası, domuz safrası ya da safra tuzu içeren ortamlarda inkübe edilmesi işlemlerini içermektedir [29].

Gıdaların sindirimini simüle edebilmek için sadece sindirim sisteminin biyokimyasını göz önünde bulundurmak yeterli olmamakta, sindirim sırasındaki diğer işlemlerin de eşit düzeyde dikkate alınması gerekmektedir. Dolayısıyla çeşitli sindirim işlemlerini göz ardı eden statik sindirim modellerinden, biyokimyasal, fiziksel ve mekanik işlemleri bir arada ele alan dinamik modellere doğru yönelme olmaktadır [30].

Sindirim modellerinin işleyişleri, aşağıdaki özellikler bakımından farklılık göstermektedir:

- Modelin içerdiği basamak sayısı ve çeşidi (örneğin; ağız, mide, ince bağırsak, kalın bağırsak).
- Modelin her bir basamağında kullanılan sindirim sıvılarının bileşimi (örneğin; enzimler, tuzlar, tamponlar, biyolojik polimerler ve yüzey aktif bileşenler).
- Modelin her bir basamağındaki mekanik uygulamalar ile sıvı akış tipi ve hızı (örneğin; uygulanan mekanik hareketin büyüklüğü ve yönü, akış geometrisi ve akış profili) [30].

Sindirim modellerinde en çok sindirim enzimleri (pankreatin, pepsin, tripsin, kimotripsin, peptidaz, amilaz, lipaz), safra tuzu ve müsin kullanılmaktadır. Farklı tip ve konsantrasyonda enzim kullanılmasına rağmen, sindirim modellerinin tümünde işlem sıcaklığı 37°C'ye ayarlanmaktadır. Sindirim süresi olarak mide, ince bağırsak ve kalın bağırsak bölümlerinin her biri için çoğunlukla ikişer saat kullanılmaktadır [31].

Probiyotik mikroorganizmaların canlılığını araştırmak üzere ilk çok aşamalı simülatör olan insan intestinal mikrobiyal ekosistem simülatörünün (Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem, SHIME) Belçika'da 1993 yılında geliştirildiği bildirilmiştir. Başlangıçta bilgisayar kontrollü beş reaktör; duodenum/jejunum, ileum, kör bağırsak/çıkan kolon, transvers kolon ve inen kolon bölgelerinin koşullarını simüle etmek ve aynı zamanda kolon bölgesindeki mikrobiyal yükün etkileşimlerini belirleyebilmek üzere geliştirilmiş bu modele 1996 yılında mide ortamını simüle etmek için altıncı reaktör eklenmiştir [32]. Mevcut haliyle SHIME'de kullanılan yöntem, farklı sindirim sıvılarının aynı reaktöre eklendiği statik gastrointestinal sistemi temsil etmektedir [33]. SHIME'de mide enzimleri, safra ve ince bağırsak enzimlerinin konsantrasyonu, pH, sıcaklık, gastrointestinal sistemden geçiş süresi ve oksijensiz ortam gereksinimi kontrol altında tutularak kimüsün gastrointestinal sistemden geçişi simüle edilmektedir. Bu modelde mikroorganizmaların reaktör bölmelerine ve borsal sisteme adezyonu, mikrofloranın kolonizasyonu, bağırsıklık sistemine etkileri, geri besleme mekanizması, tükürük salgısı benzeri sıvılar yardımıyla gıdanın uygun şekilde mideye ulaşması göz ardı edilmektedir. SHIME'nin insan fekal bakterileri ile inokülasyonu, kolonun farklı kısımlarındaki mikrobiyal topluluğun bileşimini temsil etmemektedir. Bu nedenle probiyotik mikroorganizmaların konakçı ile etkileşimleri, konakçının spesifik absorpsiyon ve/veya adsorpsiyon mekanizması ile spesifik salgıları simüle edilememekte dolayısıyla modelin öngörü değerleri sınırlanmaktadır [32]. Bu model, probiyotik mikroorganizmalar ile insan intestinal mikroflorasının etkileşimini ve probiyotik mikroorganizmalar ile sinbiyotik ürünlerin insan gastrointestinal mikroflorasına etkisini incelemek için kullanılmaktadır. Modelin farklı bölümlerinde probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotik ile muamele sonrasında mikrobiyal popülasyon, bakteriyel enzimler, uçucu yağ asitleri ve gaz üretimi ölçülmektedir [29].

En çok bilinen bir diğer gastrointestinal model ise 1996 yılında Hollanda'da geliştirilen TNO gastrointestinal modeldir (TIM). Bilgisayar kontrollü dört bölme; TIM-1 mide, onikiparmak bağırsağı ve ince bağırsak, TIM-2 ise kalın bağırsak koşullarını simüle ederek insan ve tek bölmeli mideye sahip (monogastrik) hayvanların gastrointestinal sistemleri ile ilgili çalışma yapabilmek üzere tasarlanmıştır. TIM; doğrulanmış, nispeten ucuz, yoğun iş gücü ve etik kısıtlamalar gerektirmeyen bir gastrointestinal modeldir. TIM; peristaltik hareket, kontrollü kasılma, ince bağırsak bölümlerinde gıda ve su emilimi, mide boşaltım hızı ve intestinal geçiş zamanı simülasyonu özelliklerine sahiptir. Fizyolojik öneme sahip pH, vücut sıcaklığı ile elektrolit, enzim ve safra konsantrasyonlarının kontrol etmek amacıyla bölmelerin içine mide, safra ve pankreas salgıları eklenmektedir. Mide ve bağırsak hareketliliği ile salgılarının kontrolü için merkezi sinir sistemi ve spesifik hormonal salınımının geri besleme mekanizmasının yokluğundan dolayı TIM'de bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. Hormonal kontrol ile ilgili *in vivo* veriler daha gerçekçi sonuçlar sağlayabilmektedir [32].

Mainville ve ark. (2005) gıdaların üretiminde kullanılan probiyotik mikroorganizmaların üst gastrointestinal sistemden geçişini araştırmak amacıyla gıdaların ağız yoluyla alınmasını ve üst gastrointestinal sistemde (mide ve onikiparmak bağırsağı) sindirimini simüle eden bir dinamik model geliştirmişlerdir. Söz konusu dinamik model, biri mideyi diğeri onikiparmak bağırsağı temsil etmek üzere iki adet sıcaklık kontrollü cam reaktörden oluşmaktadır. Cam reaktörlerin içindeki çözeltilerin sıcaklık (37°C) ve pH (midede pH 3.0, onikiparmak bağırsağında pH 6.5) değerlerinin sindirim işlemi süresince sabit kalması sağlanmaktadır. Mide bölümünde model gıdanın ve 1M HCl çözeltisinin girişine izin veren, onikiparmak bağırsağı bölümünde ise midede sindirimi gerçekleştirmiş örneğin, 1M NaOH çözeltisinin ve safra tuzu çözeltisinin girişine izin veren giriş portları bulunmaktadır. İçlerindeki çözeltiler reaktörlerin ikisinde de manyetik karıştırıcı yardımıyla sürekli karıştırılmakta, ayrıca sindirilecek örneğin ve diğeri çözeltilerin sisteme giriş ve çıkışlarının kontrolünde peristaltik pompa kullanılmaktadır [29].

Sumeri ve ark. [28] gastrointestinal sistemin üst bölümünden gıda geçişini simüle eden bir biyoreaktör model geliştirmişlerdir. Söz konusu model; gıdaların probiyotik potansiyellerini ölçmeye imkan sağlamakta, kontrol ünitesi ve kontrol ünitesine bağlı fermentör ve teraziden oluşmaktadır. Model pO<sub>2</sub>, pH ve sıcaklık sensörleri ile HCl, NaHCO<sub>3</sub>, safra asidi ve sıvı besiyeri ortamında geliştirilmiş mikroorganizmaların akışını kontrol eden çeşitli sabit hız pompaları ile donatılmıştır. İç sıcaklığı 37.0±0.1°C'de tutulmakta olan biyoreaktöre anaerobik koşulların sağlanması amacıyla azot gazı verilmektedir. Tek reaktörlü gastrointestinal model, konuyla ilgili daha önce yapılan çalışmalarda kullanılan çok bölmeli modellere göre proses simülasyonu açısından daha basit olmasından dolayı tercih edilmektedir.

Dinamik sindirim sistemi modeline örnek bir başka çalışmada Wickham ve ark. [30] insan midesinin

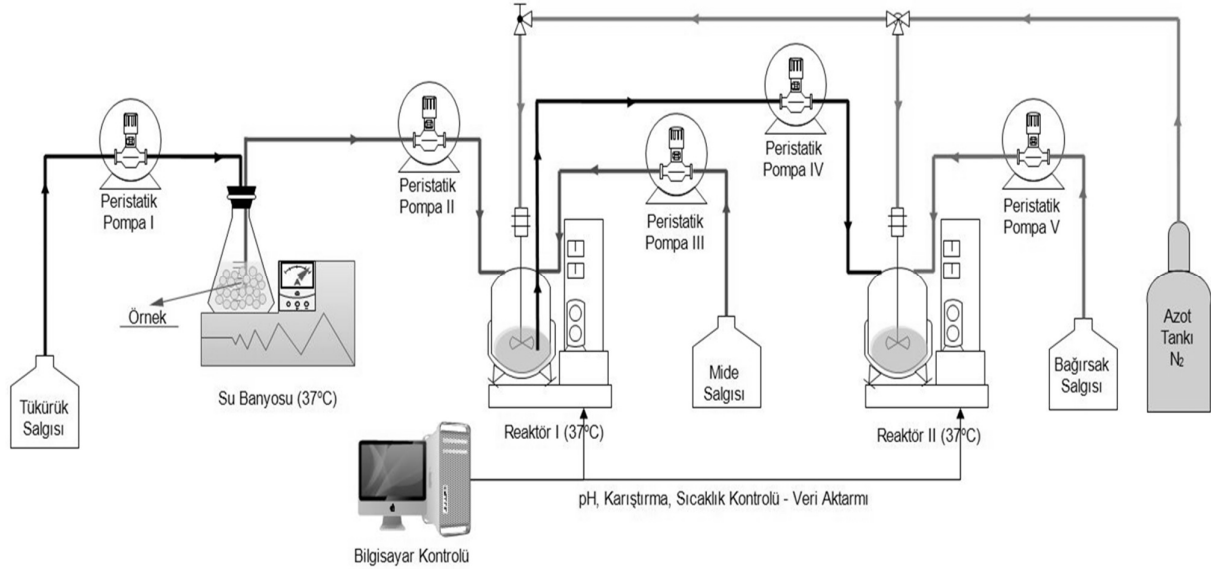
kimyasal, biyokimyasal, fiziksel çevre ve proses koşullarını simüle eden dinamik mide modelini (Dynamic gastric model, DGM) geliştirmişlerdir. DGM; homojen olmayan mide karışımı, mideden onikiparmak bağırsağına kayarak geçiş, normal fizyolojik düzeyde asitlendirme ve gastrik enzim ilavesi ile onikiparmak bağırsağına ulaşma hızını kapsamaktadır. Mide salgılarının ilavesi, bilgisayara kontrollü olarak gerçek zamanlı mide ortamı değişikliklerine (pH ve mide hacmi) bağlı olarak akış hızının modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmektedir. pH, sıcaklık, karıştırma, sindirime uğraması istenen örneğin kayarak yer değiştirmesi, örneğin midede kalma süresi ve mide boşalma hızı da kontrol altında tutulmakta ve normal fizyolojik düzeylere uygun olacak şekilde değiştirilmektedir. DGM, antrumdan onikiparmak bağırsağına doğru boşalan mide içeriğini simüle etmeye yönelik çeşitli çalışmalarda kullanılmaktadır [34]. DGM, midenin bölümleri olan korpus ve antrumu simüle eden iki kısımdan oluşmaktadır. Antrum bölümünde gıdaların parçalanması ve karışması ile ilgili mekanik işlemleri taklit etmeye yönelik piston ve burğu hareketleri gerçekleşirken, korpus midede sıvıların dinamik ilavesi gerçekleşmektedir. Korpus ve antrum arasında, materyallerin ters yönde akışı ve aynı zamanda kimüsün onikiparmak bağırsağına geçişi bir valf ile kontrol edilmektedir [35].

Kong ve Singh [36] *in vivo* araştırmalardakine benzer şekilde mide duvarının sürekli peristaltik hareketini üretebilmek amacıyla insan mide simülörünü (Human Gastric Simulator, HGS) geliştirmişlerdir. Araştırmacıların gerçek peristaltik dalgalar ile kombine ettikleri bu simülörde, sindirim simülasyonunun daha iyi sağlanması amacıyla gıdalar üzerine etki eden mekanik kuvvetler üretilmektedir. Ayrıca midede dinamik sindirim prosesini simüle etmek için mide salgılarını, boşaltım sistemlerini ve sıcaklık kontrol sistemini de modele dahil etmişlerdir. Mideyi taklit eden lateks kaplı bölme, mide duvarlarına itme kuvveti uygulamak amacıyla bir motor yardımıyla hareket ettirilen kayışlar üzerine yerleştirilmiş on iki adet silindirden oluşan mekanik sürücü sistemi, mide salgısı, boşaltım sistemleri ve sıcaklık kontrolü HGS'nin ana kısımlarını oluşturmaktadır [36].

Çomak Göçer [37] üretimlerinde aynı probiyotik bakterinin kullanıldığı farklı süt ürünlerinin sindirim sisteminden geçişi sırasındaki canlılık düzeyini tespit etmek üzere dinamik gastrointestinal modeli (Şekil 1) geliştirmiştir. Söz konusu dinamik gastrointestinal model; ağız, mide ve ince bağırsak bölgelerini temsil etmek üzere 3 ardışık bölümden oluşmaktadır. Ağız bölgesini temsilen sıcaklık kontrollü su banyosu, mideyi ve onikiparmak bağırsağı temsilen iki adet sıcaklık kontrollü cam biyoreaktör kullanılmıştır. Su banyosu ve biyoreaktörlerin sıcaklığı 37.0±0.1°C'de tutulmuş, pH ve karıştırma kontrolü yapılmakta ve anaerobik şartları sağlamak için bölümlerden azot gazı geçirilmiştir. Gastrointestinal sistemden geçiş süresi; ağız bölgesinde 2 dakika, mide bölgesinde 2 saat, ince bağırsak bölgesinde 2 saat olmak üzere kontrol altında tutulmuştur. Ayrıca modelde, sindirim sistemi salgılarının akışını kontrol etmek ve sindirim sistemindeki işlemlere

maruz kalması istenen örneğin ağızdan mideye, mideden ince bağırsağa geçişini sağlamak için hızları ayarlanabilir 5 adet peristaltik pompa bulunmaktadır. Tükürük salgısını simüle etmek için müsin,  $\alpha$ -amilaz

enzimi ve NaOH çözeltisi; mide salgısını simüle etmek için pepsin enzimi, müsin ve HCl çözeltisi; ince bağırsak salgısını simüle etmek için pankreatin enzimleri, safra ve  $\text{NaHCO}_3$  çözeltisi kullanılmıştır [37].



Şekil 1. Çomak Göçer [37] tarafından geliştirilen dinamik gastrointestinal modelin şematik gösterimi

## SONUÇ

Probiyotik mikroorganizmaların fonksiyonel özellikler bakımından istenilen niteliklere sahip olması, söz konusu mikroorganizmaların gıdalarda kullanılabilirliği açısından değerlendirildiğinde her zaman yeterli olmamakta, probiyotik mikroorganizmaların tüketimi sonrası sindirim sisteminde canlı kalması gerekmektedir. Sindirim sisteminin ağız, mide, ince bağırsak bölümlerinde probiyotik mikroorganizmaların canlılığını incelemek üzere geliştirilen *in vitro* sindirim modellerinde çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Bununla birlikte güvenilirliğini arttırmak için *in vitro* model kullanılarak yapılan araştırmanın *in vivo* çalışmalarla karşılaştırılması gerekmektedir. Böylelikle *in vitro* model kullanılarak yapılan çalışmaların kabul edilebilirliği artacaktır. Ayrıca *in vitro* sindirim modellerinin avantaj ve dezavantajlarının daha net ortaya konulabilmesi için konu ile ilgili daha çok araştırma yapılması gerektiği değerlendirilmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Özden, A., 2005. Gastro-intestinal sistem ve probiyotik-prebiyotik synbiyotik. *Güncel Gastroenteroloji* 9(3): 124-133.
- [2] Özer, B., 2006. Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi. Sidas Medya Ltd., İzmir.
- [3] Özden, A., 2013. Probiyotik "Sağlıklı yaşam için yararlı dost bakteriler". *Güncel Gastroenteroloji* 17(1): 22-38.
- [4] Bakırcı, İ., Kavaz, A. 2006. Probiyotikler ve prebiyotiklerin beslenme ve sağlık üzerindeki

etkileri. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs, 2006, Bolu, 893 s.

- [5] Çetin, A.R., Karabekiroğlu, S., Ünlü, N., 2011. Probiyotikler ve ağız sağlığına etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 3(1): 19-29.
- [6] Tunail, N., 2009. Mikrobiyoloji. Palme Yayıncılık, Ankara.
- [7] Başyigit, G., 2004. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Olarak Kullanılma Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 96 s, Isparta.
- [8] Ceyhan, N., Alıç, H., 2012. Bağırsak mikroflorası ve probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 5(1): 107-113.
- [9] Önal, D., Beyatlı, Y., Aslım, B., 2005. Probiyotik bakterilerin epitel yüzeylere yapışması. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi* 3(9): 1-10.
- [10] Coşkun, T., 2006. Pro-, pre- ve sinbiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 49: 128-148.
- [11] Uymaz, B., 2010. Probiyotikler ve kullanım alanları. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 16(1): 95-104.
- [12] Akman, E., 2009. Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 48 s, İstanbul.
- [13] Alp, G., Aslım, B., 2009. İnsan bağırsak sisteminde probiyotik olarak bifidobakterilerin önemi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknolojileri Dergisi* 10(2): 343-354.
- [14] Guerra, A., Etienne-Mesmin, L., Livrelli, V., Denis, S., Blanquet-Diot, S., Alric, M., 2012. Relevance and challenges in modeling human gastric and

- small intestinal digestion. *Trends in Biotechnology* 30(11): 591-600.
- [15] Aktümsek, A., 2001. Anatomi ve Fizyoloji. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
- [16] Keshaw, S. 2004. The Gastrointestinal System at a Glance. Blackwell Science, Oxford OX4 2DQ, United Kingdom, 117 p.
- [17] Anonim. 2012. Sindirim sistemi sıvıları. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-2-08.pdf>
- [18] Tharani, T., 2012. Evaluation of viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 during simulated digestion process using a dynamic *in vitro* model stomach. M. Sc. Thesis. Faculty of California Polytechnic State University, 122 p, San Luis Obispo.
- [19] Hall, J.E., 2010. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, 12<sup>th</sup> ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, USA, 1091 p.
- [20] Gürken, V.S., 2005. Tükürüğün Biyokimyası, İşlevleri ve Ağız Sağlığı Açısından Önemi. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Bitirme Tezi, 35 p, İzmir.
- [21] Chen, J., Gaikwad, V., Holmes, M., Murray, B., Povey, M., Wang, Y., Zhang, Y., 2011. Development of a simple model device for *in vitro* gastric digestion investigation. *Food and Function* 2: 174-182.
- [22] Rogers, K., 2011. The Digestive System. Britannica Educational Publishing, New York.
- [23] Başaran, A., 2010. Tıbbi Biyoloji Ders Kitabı. Pelikan Yayıncılık, Ankara.
- [24] Gürsoy, O., Kınık, Ö., Gönen, İ., 2005. Probiyotikler ve gastrointestinal sağlığa etkileri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 35: 136-148.
- [25] Arıcıoğlu, F., 2008. Sindirim Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi. Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayınları, Ankara.
- [26] Anonim, 2009. Sindirim sistemleri. <http://www.biyolojisesitesi.net/tum%20uniteler/sindirim/index.html> (Erişim Tarihi:10.06.2016)
- [27] Rumsey, R.D.E., 1998. Gastrointestinal Tract, Structure and Function of the Small Intestine. In Encyclopedia of Human Nutrition, Edited by M Sadler, J. J. Strain, B Caballero. Academic Press, 938-945p.
- [28] Sumeri, I., Arike, L. Adamberg, K. Paalme, T., 2008. Single bioreactor gastrointestinal tract simulator for study of survival of probiotic bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* 80: 317-324.
- [29] Mainville, I. Arcand, Y., Farnworth, E.R., 2005. A dynamic model that simulates the human upper gastrointestinal tract for the study of probiotics. *International Journal of Food Microbiology* 99: 287-296.
- [30] Wickham, M., Faulks, R., Mills, C., 2009. *In vitro* digestion methods for assessing the effect of food structure on allergen breakdown. *Molecular Nutrition and Food Research* 53: 952-958.
- [31] Hur, S.J., Lim, B.O., Decker, E.A., McClements, D.J., 2011. *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chemistry* 125: 1-12.
- [32] Yoo, M.J.Y., Chen, X.D., 2006. GIT Physicochemical modeling – A Critical review. *International Journal of Food Engineering* 2(4): 1-10.
- [33] Oomen, A.G., Hack, A., Minekus, M., Zeijdner, E., Cornelis, C., Schoeters, G., Verstraete, W., Van De Wiele, T., Wragg, J., Rempelberg, C.J.M., Sips, A.J.A.M., Van Wijnen, J.H., 2002. Comparison of five *in vitro* digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. *Environmental Science Technology* 36: 3326-3334.
- [34] Pitino, I., Randazzo, C.L., Mandalari, G., Curto, A.L., Faulks, R.M., Marc, Y.L., Bisignano, C., Caggia, C., Wickham, M.S.J., 2010. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* strains in the upper gastrointestinal tract. *Food Microbiology* 27: 1121-1127.
- [35] Garbacz, G., Klein S., 2012. Dissolution testing of oral modified-release dosage forms. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 64: 944-968.
- [36] Kong, F., Singh, R.P., 2010. A human gastric simülator (HGS) to study food digestion in human stomach. *Journal of Food Science* 75(9):627-635.
- [37] Çomak-Göçer, E.M., 2016. Farklı süt ürünleri üretiminde kullanılan *Lactobacillus acidophilus*'un dinamik *in vitro* gastrointestinal modelde canlılığı ve bazı probiyotik özelliklerinin belirlenmesi. Doktora Tezi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 161 s, Antalya.
- [38] Gürsoy, O., Özel, S., Özbaş, H., Çon, A.H., 2011. Kolesterol seviyesinin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda düşürülmesinde probiyotik mikroorganizmaların etkisi. *Akademik Gıda* 9(3): 37-45.
- [39] Mine Çomak, E., Aşçı, A., Küçükçetin, A., 2011. Probiyotik süt ürünlerinde inulin kullanımı. *Akademik Gıda* 9(2): 51-56.