



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ**

**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ISIL İŞLEM VE ULTRASES KULLANIMI İLE *BIFIDOBACTERIUM
ANIMALIS* SUBSP. *LACTIS*'TEN POSTBİYOTİK ELDESİ**

**NİMET MARSAK
YÜKSEK LİSANS TEZİ**



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ**

**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ISIL İŞLEM VE ULTRASES KULLANIMI İLE *BIFIDOBACTERIUM
ANIMALIS* SUBSP. *LACTIS*'TEN POSTBİYOTİK ELDESİ**

**NİMET MARSAK
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
PROF. DR. ZAFER ERBAY**

**II. DANIŞMAN
DOÇ. DR. ECEM AKAN**

ADANA, 2025

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak, bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın hazırladığım bu tez çalışmasında;

Bu tezin özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışa uygun olarak elde edilerek sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, tez kapsamında bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde bu çalışmaya özgün olmayan tüm veri ve bilgiler için bilimsel etik ve gelenek çerçevesinde kaynak gösterdiğimi; bu kaynakları da kaynakçada belirttiğimi beyan ederim. Çalışmam ile ilgili yaptığım beyana aykırı bir durum saptanması halinde tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.../.../20..

[İmza]

Nimet MARSAK

ÖZET

ISIL İŞLEM VE ULTRASES KULLANIMI İLE *BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS* SUBSP. *LACTIS*'TEN POSTBİYOTİK ELDESİ

Nimet MARSAK

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zafer ERBAY

II. Danışman: Doç. Dr. Ecem AKAN

Ağustos 2025, 91 sayfa

Bu çalışmada, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 suşuna uygulanan ultrases ve ısıl işlemler sonrasında elde edilen postbiyotiklerin canlılık durumu ile fonksiyonel özellikleri ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir. Isıl işlem (5-90 dakika, 65-95 °C) ve ultrases (15-60 dakika, 98-320 µm) için her biri 16 farklı işleme koşulunda test edilmiştir. Tüm ısıl işlem koşulları altında tam inaktivasyon sağlanırken, ultrases yöntemiyle değerlendirilen 16 işlem koşulunun 11'inde inaktivasyon sağlanabilmiştir. Ultrasesle işlemede genlik arttıkça inaktivasyon süresinin kısaldığı, düşük genliklerde inaktivasyonun sağlanabilmesi için daha uzun işlem sürelerinin gerektiği gözlenmiştir. Sonuçlar daha düşük genlikte ve kısa süreli ultrases maruziyetlerinde daha fazla mikrobiyal direncin olduğunu göstermiştir.

Üretilmiş olan postbiyotikler, antimikrobiyal aktivite, *Lactocaseibacillus casei* 431 ve *Bifidobacterium* kültürleri üzerindeki probiyotik geliştirici aktivitesi ve kısa zincirli yağ asidi (KZYA) üretimini artırma kapasiteleri açısından değerlendirilmiştir. Isıl işlemle elde edilen postbiyotikler, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında *Lactobacillus casei* 431 için yaklaşık 2,9 kat, *Bifidobacterium* türleri için ise 37,7 kata varan büyüme artışı ile anlamlı düzeyde daha güçlü probiyotik geliştirici aktivite göstermiştir. Ayrıca, ısıl işlemle üretilen postbiyotikler *Enterococcus faecalis* üzerinde belirgin şekilde daha yüksek antimikrobiyal etki ortaya koymuştur. Ultrases yöntemiyle 320 µm'de 45 dk'da üretilen postbiyotik *Lactocaseibacillus casei* 431 için en yüksek probiyotik geliştirici aktiviteyi sağlarken (1,07 katlık artış), *Bifidobacterium* için 172 µm'de 60 dk'da üretilen postbiyotik (11,7 katlık artış) ile sağlanmıştır. Her iki inaktivasyon yöntemi de KYZA düzeylerinde anlamlı artışlara neden olmuştur ($p<0,05$). Uygulanan temel bileşen analizi (PCA), işleme yöntemlerine göre

örneklerin belirgin şekilde kümелendiğini göstermiş; bu da, kullanılan inaktivasyon tekniğine bağlı olarak postbiyotiklerin fonksiyonel profillerinde farklılaşma meydana geldiğini desteklemiştir.

Genel olarak, ısıl işlem yöntemi, *B. lactis* BB-12 kaynaklı biyolojik olarak aktif postbiyotiklerin üretiminde ultrases uygulamaya kıyasla daha etkili bir yaklaşım olarak öne çıkmıştır. Isıl işlem yöntemiyle inaktive edilen örneklerde gözlenen artmış biyolojik aktivite, termal işlemenin postbiyotik üretimi için uygun ve güçlü bir teknoloji olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar, ısı temelli postbiyotiklerin, özellikle mikrobiyotayı hedef alan fonksiyonel gıdalar ve diyet takviyelerinde etkili biyolojik bileşenler olarak değerlendirilme potansiyelini vurgulamaktadır. Ancak bu potansiyelin tam anlamıyla ortaya konulabilmesi ve düzenleyici süreçlerin desteklenebilmesi için ileri düzey *in vivo* doğrulama çalışmalarına ve üretim süreçlerinin standardizasyonuna yönelik araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: postbiyotik, paraprobiyotik, ısıl işlem, ultrases, kısa zincirli yağ asidi

ABSTRACT

POSTBIOTIC PRODUCTION FROM *BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS* SUBSP. *LACTIS* BY HEAT TREATMENT AND ULTRASOUND METHODS

Nimet MARSAK

M.Sc., Food Engineering Department

Supervisor: Prof. Dr. Zafer ERBAY

Co-Supervisor: : Assoc. Prof. Dr. Ecem AKAN

August 2025, 91 pages

In this study, the viability and functional properties of postbiotics obtained after ultrasound and heat treatments applied to *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 strain were evaluated in detail. Sixteen different processing conditions were tested for both heat treatment (5–90 min, 65–95 °C) and ultrasound treatment (15–60 min, 98–320 µm). Complete inactivation was achieved under all heat treatment conditions, while inactivation was observed in 11 out of the 16 ultrasound conditions. As ultrasound amplitude increased, the time required for inactivation decreased, whereas lower amplitudes necessitated longer processing times. These results indicate that microbial resistance is higher at lower amplitudes and shorter ultrasound durations.

Postbiotics were assessed for their antimicrobial activity, their probiotic-enhancing effect on *Lacticaseibacillus casei* 431 and *Bifidobacterium* cultures, and their ability to promote short-chain fatty acid (SCFA) production. Heat-treated postbiotics demonstrated significantly greater probiotic-enhancing activity, with growth increases of approximately 2.9-fold for *L. casei* 431 and 37.7-fold for *Bifidobacterium* cultures compared to control groups. Additionally, heat-treated postbiotics exhibited significantly higher antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis*.

Using ultrasound, the postbiotic produced at 320µm for 45 minutes provided the highest probiotic-enhancing activity for *Lacticaseibacillus casei* 431 (1.07-fold increase), while the postbiotic produced at 172µm for 60 minutes (11.7-fold increase) achieved the highest probiotic-enhancing activity for *Bifidobacterium*. Both inactivation methods resulted in

significant increases in SCFA levels ($p < 0.05$). Principal component analysis (PCA) showed significant clustering of samples according to processing methods, supporting the differentiation in the functional profiles of postbiotics depending on the inactivation technique used.

Overall, heat treatment proved to be a more effective approach than ultrasound for producing biologically active postbiotics from *B. lactis* BB-12. The enhanced biological activity observed in heat-inactivated samples indicates that thermal processing is a suitable and robust method for postbiotic production. These findings highlight the potential of heat-derived postbiotics as effective bioactive ingredients in functional foods and dietary supplements, particularly those targeting the gut microbiota. However, to fully realize this potential and support regulatory approval, further *in vivo* validation studies and standardization of production processes are necessary.

Keywords: postbiotic, paraprobiotic, heat treatment, ultrasound, short-chain fatty acid



İthaf

Koşulsuz sevgi ve desteklerini üzerimden bir an eksik etmeyen anne ve babama...

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca bilgi, deneyim ve desteğiyle her aşamada yanımda olan, rehberliğiyle akademik gelişimime büyük katkı sağlayan değerli danışman hocam Prof. Dr. Zafer Erbay'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Sabırla yönlendirdiği, yapıcı geri bildirimleri ve teşvik edici tutumuyla bu sürecin verimli ve anlamlı geçmesini sağladığı için minnettarım. Tez çalışmam süresince ve çalışmanın yayıma hazırlanma aşamasında verdiği kıymetli destek için sevgili ikinci danışmanım Doç. Dr. Ecem Akan'a içten teşekkürlerimi sunarım. Tezimi değerlendirme sürecinde göstermiş oldukları katkılarından dolayı jüri üyeleri Doç. Dr. Oktay Yerlikaya ve Dr. Öğr. Üyesi Mithat Kurban'a teşekkür ederim.

Ayrıca, laboratuvar ortamına uyum sağlamamda verdikleri destek ve çalışmam süresince sundukları yardımlar için kıymetli hocalarım Dr. Sevgin Dıblan, Dr. Ceren Ilgaz ve özellikle tecrübesi, sabrı ve her zaman motive edici yaklaşımıyla bana yol gösteren Dr. Pelin Salum'a teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca bilgi paylaşımı, iş birliği ve samimi desteğiyle yanımda olan değerli ekip arkadaşım Doğukan Yıltan Müldür'e gönülden teşekkür ederim. Birlikte çalışmak, fikir alışverişinde bulunmak ve bu süreci paylaşmak benim için hem verimli hem de değerli bir deneyim oldu.

Bu günlere gelmemde büyük emekleri olan her adımda sabırları, sevgileri ve verdikleri destekle yanımda olan canım annem Züleyha Soylu'ya, babam Recep Soylu'ya ve kardeşim Cem Soylu'ya teşekkür ederim. Varlıkları, bu süreci daha güçlü ve anlamlı kıldı.

Hayatımda olan dostlarıma ve bu çalışma sürecinde büyük-küçük demeden destek veren tüm bölüme, yardımını esirgemeyen herkese teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim süresince BİDEB 2210-A Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında sağladığı maddi destek için TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Son olarak, hayatımın her anında olduğu gibi bu zorlu süreçte de tüm endişelerimi unutmamı sağlayan, her zaman yanımda olup her anımda cesaret ve güç veren, bana hep daha iyisini yapabileceğimi hissettiren ve maddi-manevi desteğini hiç eksik etmeyen sevgili eşim Ahmet Furkan Marsak'a, sonsuz minnettarım.

Bu tez 122Z351 proje numarası ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir. Destekleri ve katkıları için TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANNAMESİ	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
<i>İthaf</i>	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ	xii
KISALTMALAR	xiv
SEMBOLLER	xv
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	6
2.1. Probiyotikler ve İlişkili Bazı Terimler	6
2.1.1. Probiyotiklerin Tanımı	6
2.1.2. Prebiyotikler	8
2.1.3. Sinbiyotikler	9
2.1.4. Paraprobiyotikler	10
2.2. Postbiyotiklerin Tanımı Ve Postbiyotik Bileşenler	10
2.2.1. Postbiyotikler	10
2.2.2. Hücresiz Süpernatantlar	12
2.2.3. Ekzopolisakkaritler	12
2.2.4. Enzimler	13
2.2.5. Hücre Duvarı Bileşenleri	14
2.2.6. Kısa Zincirli Yağ Asitleri	15
2.2.7. Vitaminler	16
2.3. Analizlerde Kullanılan Probiyotik Mikroorganizmalar ve <i>B. lactis</i> BB-12	16
2.3.1. <i>Lactocaseibacillus casei</i>	16
2.3.2. <i>Bifidobacterium</i> Cinsi Mikroorganizmalar	17
2.3.3. <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12	18

2.3.3.1.	<i>B. lactis</i> BB-12'nin Asit ve Safra Toleransı	18
2.3.3.2.	Yapışma Yeteneği ve <i>B. lactis</i> BB-12	19
2.3.3.3.	Patojenlerle Mücadele ve <i>B. lactis</i> BB-12	20
2.3.3.4.	Bağırsak Epitel Bariyerinin İyileştirilmesi ve <i>B. lactis</i> BB-12	20
2.4.	İnaktivasyon Yöntemleri	21
2.4.1.	Isıl İşlem Yöntemi ile İnaktivasyon	21
2.4.2.	Ultrases Yöntemi ile İnaktivasyon	23
2.5.	Tez Kapsamında Kullanılan Patojen Mikroorganizmalar ve Postbiyotiklerin Antimikrobiyal Aktiviteleri	25
2.5.1.	<i>Escherichia coli</i>	26
2.5.2.	<i>Enterococcus faecalis</i>	27
2.6.	Postbiyotikler Üzerine Yapılmış Çalışmalar	28
3.	MATERYAL VE METOT	33
3.1.	Materyal	33
3.2.	Metot	34
3.2.1.	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12'nin Aktifleştirilmesi	34
3.2.1.1.	Yarım Anaerocult A Kullanımı	34
3.2.2.	Postbiyotik Üretimi	35
3.2.2.1.	Isıl İşlem Yöntemi ile İnaktivasyon	35
3.2.2.2.	Ultrases Yöntemi ile İnaktivasyon	37
3.2.3.	Probiyotik Geliştirici Aktivite	39
3.2.4.	Antimikrobiyal Aktivite	40
3.2.5.	Kısa Zincirli Yağ Asidi	41
3.2.6.	İstatiksel Analiz	42
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	44
4.1.	İnaktivasyon Yöntemlerinin <i>B. lactis</i> BB-12 Üzerine Etkileri	44
4.1.1.	Isıl İşlem ile İnaktivasyon Yönteminin <i>B. lactis</i> BB-12 Üzerine Etkisi	44
4.1.2.	Ultrases ile İnaktivasyon Yönteminin <i>B. lactis</i> BB-12 Üzerine Etkisi	46
4.2.	Üretilen Postbiyotiklerin Probiyotik Geliştirici Aktiviteleri	48
4.2.1.	Isıl İşlem Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin Probiyotikler Üzerine Etkileri	48
4.2.1.1.	<i>Lactocaseibacillus casei</i> 431'ye Yönelik Probiyotik Geliştirici Aktivite	48
4.2.1.2.	<i>Bifidobacterium</i> Kültürüne Yönelik Probiyotik Geliştirici Aktivite	50

4.2.2.	Ultrases Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin Probiyotikler Üzerine Etkileri	52
4.2.2.1.	<i>Lactocaseibacillus casei</i> 431'ye Yönelik Probiyotik Geliştirici Aktivite	52
4.2.2.2.	<i>Bifidobacterium</i> 'a Yönelik Probiyotik Geliştirici Aktivite	53
4.3.	Postbiyotiklerin KZYA'ne Etkileri	55
4.3.1.	Isıl İşlem Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin <i>L. casei</i> Ortamındaki KZYA Etkileri	55
4.3.2.	Isıl İşlem Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin <i>Bifidobacterium</i> Kültürü Ortamındaki KZYA Etkileri	58
4.3.3.	Ultrases Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin <i>L. casei</i> Ortamındaki KZYA Etkileri	61
4.3.4.	Ultrases Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin <i>Bifidobacterium</i> Kültürü Ortamındaki KZYA Etkileri	64
4.3.5.	KZYA Bulgularına Genel Bakış ve Yorumlar	67
4.4.	Postbiyotiklerin Patojen Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi	69
4.4.1.	Isıl İşlem Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin Patojenler Üzerine Etkileri	69
4.4.2.	Ultrases Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin Patojenler Üzerine Etkileri	72
4.5.	Bulguların Genel Değerlendirmesi	75
4.5.1.	Isıl İşlem ile <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12'ten Üretilmiş Postbiyotiklerin Değerlendirilmesi	75
4.5.2.	Ultrases ile <i>B. lactis</i> BB-12'ten Üretilmiş Postbiyotiklerin Değerlendirilmesi	76
5.	SONUÇLAR	78
	KAYNAKÇA	80
	EKLER	92

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Isıl işlem yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin analiz edilen özellikleri için PCA biplot grafiği.	76
Şekil 2. Ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin analiz edilen özellikleri için PCA biplot grafiği.	77



TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Temel Probiyotik Suşlar.....	7
Tablo 3.1 Isıl İşlem Yöntemi ile İnaktivasyon Parametreleri.....	36
Tablo 4.2 Ultrases Yöntemi ile İnaktivasyon Parametreleri.....	38
Tablo 4.1 Farklı sıcaklık ve sürelerde ısıtılmış <i>B. lactis</i> BB-12'lerin canlılık durumları.*	45
Tablo 4.2 <i>B. lactis</i> BB-12'nin farklı seyreltme düzeylerinde aktifleştirilmesi.*	46
Tablo 4.3 Farklı genlik ve işlem sürelerinde ultrases ile işlenen <i>B. lactis</i> BB-12'lerin canlılık durumları.*	47
Tablo 4.4 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ısıtılmış işlem yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin <i>Lactocaseibacillus casei</i> 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizlerinin sayısal sonuçları.*	49
Tablo 4.5 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak kullanılarak ısıtılmış işlemle üretilen postbiyotiklerin <i>Bifidobacterium</i> kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizlerinin sayısal sonuçları.*	51
Tablo 4.6 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin <i>Lactocaseibacillus casei</i> 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizlerinin sayısal sonuçları.*	52
Tablo 4.7 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin <i>Bifidobacterium</i> kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizlerinin sayısal sonuçları.*	54
Tablo 4.8 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ısıtılmış işlem ile üretilen postbiyotiklerin, <i>Lactocaseibacillus casei</i> 431 ortamında oluşan asetik, propiyonik ve izobütirik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*	55
Tablo 4.9 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ısıtılmış işlem ile üretilen postbiyotiklerin, <i>Lactocaseibacillus casei</i> 431 ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*	57
Tablo 4.10 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ısıtılmış işlem ile üretilen postbiyotiklerin, <i>Bifidobacterium</i> kültürü ortamında oluşan asetik, propiyonik ve izobütirik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*	59
Tablo 4.11 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ısıtılmış işlem ile üretilen postbiyotiklerin, <i>Bifidobacterium</i> kültürü ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*	61
Tablo 4.12 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ultrases işleme ile üretilen postbiyotiklerin, <i>Lactocaseibacillus casei</i> 431 ortamında oluşan asetik, propiyonik ve izobütirik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*	62
Tablo 4.13 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ultrases işleme ile üretilen postbiyotiklerin, <i>Lactocaseibacillus casei</i> 431 ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*	63

Tablo 4.14 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ultrases işleme ile üretilen postbiyotiklerin, <i>Bifidobacterium</i> kültürü ortamında oluşan asetik, propiyonik ve izobütirik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*	65
Tablo 4.15 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ultrases işleme ile üretilen postbiyotiklerin, <i>Bifidobacterium</i> kültürü ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*	66
Tablo 4.16 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak kullanılarak ısıt işleml yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin <i>Escherichia coli</i> 'ye karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin sayısal sonuçları.*	70
Tablo 4.17 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak kullanılarak ısıt işleml yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin <i>Enterococcus faecalis</i> 'e karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin sayısal sonuçları.*	71
Tablo 4.18 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin <i>Escherichia coli</i> 'e karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin sayısal sonuçları.*	72
Tablo 4.19 <i>B. lactis</i> BB-12 kullanılarak kullanılarak ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin <i>Enterococcus faecalis</i> 'e karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin sayısal sonuçları.*	73

KISALTMALAR

ISAPP	: Uluslararası Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği
FOS	: Fruktooligosakkaritler
XOS	: Ksilooligosakkaritler
GOS	: Galaktooligosakkaritler
HMO	: İnsan Sütü Oligosakkaritleri
MOS	: Mannanoligosakkaritler
KZYA	: Kısa Zincirli Yağ Asitleri
CFS	: Hücresiz Süpernatant
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör- α
IL-10	: İnterlökin-10
EPS	: Ekzopolisakkaritler
GLP-1	: Glukagon Benzeri Peptit-1
MRS	: De Man, Rogosa ve Sharpe
EPEC	: Enteropatojenik <i>E. coli</i>
EIEC	: Enteroinvazif <i>E. coli</i>
EAEC	: Enteroaggregatif <i>E. coli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
DAEC	: Diffüz adeziv <i>E. coli</i>
EHEC	: Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EPSa	: Nötr EPS Fraksiyonu
EPSb	: Asidik EPS Fraksiyonu
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
MDA	: Malondialdehit
TAOC	: Toplam Antioksidan Kapasitesi

SEMBOLER

°C

: Celcius



1. GİRİŞ

Fonksiyonel gıdalar, "temel beslenme gereksinimlerini karşılamamanın ötesinde, sağlık üzerinde olumlu etkiler sağlayan gıda veya gıda bileşenleri" olarak tanımlanmaktadır (Scrinis, 2008). Son yıllarda bireylerin beslenme ve sağlık arasındaki ilişkiye yönelik farkındalıklarının artması, fonksiyonel gıdalara olan talepte belirgin bir artışa neden olmuştur. Bu bağlamda, doğal, ekonomik ve sürdürülebilir bir beslenme yaklaşımını benimseyerek yaşam kalitesini ve genel sağlığı iyileştiren fonksiyonel gıda çeşitliliğinin artırılması, hem bilimsel araştırmalar ve araştırmacıların hem de gıda endüstrisinin öncelikli hedefleri arasında yer almaktadır.

Son yıllarda yapılan araştırmalar, insan mikrobiyotasının hem kısa hem de uzun vadede insan sağlığı üzerinde hayati bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Mikrobiyota, bağışıklık sisteminin gelişimiyle güçlü bir ilişki içerisindedir ve yetişkinlik dönemindeki bağışıklık fonksiyonlarını, mikrobiyal dengeyi ve genel sağlık durumunu şekillendiren önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir. Doğum şekli ve anne sütüyle birlikte şekillenmeye başlayan bağırsak mikrobiyotasının genel sağlığa olan etkilerinin de anlaşılmasıyla birlikte probiyotik mikroorganizmalar da ciddi bir pazar potansiyeline ulaşmıştır (Liang ve Xing, 2023).

Probiyotikler, 2014 yılında Uluslararası Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği (ISAPP) tarafından gerçekleştirilen panelde, “yeterli miktarda tüketildiğinde konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkiler sağlayan canlı mikroorganizmalar” şeklinde tanımlanmıştır. Bu tanım, probiyotiklerin üç temel özelliği karşılaması gerektiğini vurgulamaktadır: mikrobiyal kaynaklı olması, canlılığını koruması ve sağlığa fayda sağlaması (Hill, Guarner, Reid, Gibson, Merenstein, Pot, Morelli, Canani, Flint, ve Salminen, 2014). Bu kapsamda, probiyotik ürünlerin, bilimsel olarak kanıtlanmış en az bir sağlık yararına sahip olması, yeterli sayıda mikroorganizma içermesi ve bu mikroorganizmaların ürünün raf ömrü boyunca canlı kalabilmesi gerekliliği ön plana çıkmaktadır (Binda ve diğerleri, 2020).

Probiyotikler gastrointestinal sistemde gaz, şişkinlik gibi çeşitli semptomlara, sistemik enfeksiyona, antibiyotik direnç geninin probiyotik mikroorganizmadan patojen mikroorganizmalara aktarılabilmesi gibi beklenmedik yan etkilere sebep olabilmektedir.

Probiyotikler; bebekler, yaşlılar ve bağışıklığı baskılanmış riske açık bireyler için tam olarak güvenli görülmemiştir (Sotoudegan, Daniali, Hassani, Nikfar, ve Abdollahi, 2019).

Yukarıdaki probiyotik tanımına göre mikroorganizmanın çeşitli sağlık yararı gösterebilmesi için canlı olması gerektiği vurgulansa da yapılmış son çalışmalar ne insan bedeninde indüklenen mekanizmaların ne de klinik iyileşmelerin doğrudan probiyotik mikroorganizmanın canlılığıyla bağlantısının olmadığını söylemektedir (Barros ve diğerleri, 2020; de Almada, de Almada, ve de Souza Sant'Ana, 2018). Mikroorganizmaların canlı olmasalar bile sağlık üzerinde olumlu etkiler gösterebileceğinin ortaya koyulmasıyla bu doğrultuda paraprobiyotik ve postbiyotik terimleri literatüre kazandırılmıştır. Paraprobiyotikler, inaktive edilmiş mikrobiyal hücreler veya bunların hücresel fraksiyonları olarak tanımlanırken, postbiyotikler daha genel bir ifadeyle, cansız mikroorganizma preparatları ve/veya bu mikroorganizmaların sağlık açısından fayda sağlayan bileşenleri olarak tanımlanmaktadır (Pimentel, Cruz, Pereira, da Costa, ve diğerleri, 2023). Kısaca postbiyotikler için canlılık temel bir kriter olarak değerlendirilmemektedir. Postbiyotikler cansızdır, cansız olduklarından çoğalamazlar, çoğalamadıkları için de kullanımları probiyotiklere göre daha güvenlidir. Bakteriyemi benzeri probiyotiklerle ilişkili olabilecek sağlık sorunlarına sebep olamazlar (Yelin ve diğerleri, 2019).

Postbiyotik bileşenler arasında hücresiz süpernatantlar, ekzopolisakkaritler, enzimler, bakteriyosinler, kısa zincirli yağ asitleri, hücre duvarı bileşenleri ve vitaminler gibi çeşitli biyolojik moleküller yer almaktadır (Aguilar-Toalá ve diğerleri, 2018). ISAPP, son fikir birliğiyle paraprobiyotiklerin postbiyotiklerin bir alt sınıfı olarak değerlendirilmesi gerektiğini belirtmiştir (Salminen ve diğerleri, 2021). Etkinlikleri, inaktive edilmiş hücrelerde bulunan mikrobiyal metabolitlere veya kompleks biyomoleküllere dayanmaktadır. Güncel çalışmalarda, bu postbiyotik bileşenlerin bağırsak bariyer fonksiyonunu ve mukozal bağışıklığı güçlendirebildiği (Bedford ve Gong, 2018; Wu ve diğerleri, 2018), kalın bağırsak epitel dokusunda anti-tümör ve anti-inflamatuvar etkiler gösterebildiği, bağışıklık sistemi yanıtının regülasyonunu sağlayabileceği (Gill, Van Zelm, Muir, ve Gibson, 2018; Morrison ve Preston, 2016), bağırsak mikrobiyotasının üyelerinin dengesini ve aktivitelerini düzenleyebileceği (Wegh, Geerlings, Knol, Roeselers, ve Belzer, 2019), patojenlerin

baskılanmasına, obezite kontrolüne ve glikoz homeostazının sağlanmasına yönelik çok yönlü fizyolojik faydalar sunduğu öne sürülmektedir (Kareem, Hooi Ling, Teck Chwen, May Foong, ve Anjas Asmara, 2014).

Probiyotik hücrelerin inaktivasyonu, mikroorganizmanın hücre yapısını ve/veya fizyolojik işlevlerini değiştirebilen çeşitli teknolojik yöntemler kullanılarak gerçekleştirilebilir (Ramkrishna, Chellamboli, ve Anupama, 2019). Ancak, postbiyotik üretimi için uygulanan inaktivasyon yönteminin, probiyotiklerin sağladığı sağlık yararlarını koruyabilecek ya da geliştirebilecek şekilde tasarlanması gerektiği önemle vurgulanmaktadır (de Almada, C. N. Almada, Martinez, ve Sant'Ana, 2016). Postbiyotikler hem termal hem de termal olmayan işlemlerle üretilir. Isıtma, ohmik ısıtma, dondurarak kurutma ve püskürtmeli kurutma gibi yöntemler ısı işlemler arasında yer alırken; darbeli elektrik alan, ultrasonik uygulamalar ve radyasyon gibi yöntemler ısı olmayan işlemlere örnek olarak gösterilebilir (Pimentel, Cruz, Pereira, da Costa, ve diğerleri, 2023). Ek olarak, postbiyotik ekstraktların ayrıştırılmasında santrifüjleme ve ultrafiltrasyon gibi tekniklerden yararlanılmaktadır (Hernández-Granados ve Franco-Robles, 2020).

Günümüzde probiyotik mikroorganizmalar içeren bir dizi gıda ürünü bulunmaktadır. Ancak, bu mikroorganizmaların çeşitli gıda matrislerinde hayatta kalmasını sağlamak veya gıda işleme süreçlerinde eklenmelerini kolaylaştırmak ciddi teknolojik zorluklar oluşturmaktadır. Bu zorluklar başlıca iki temel faktörle ilişkilidir; ilki probiyotik mikroorganizmaların gıdalarda raf ömrü boyunca canlılığını sürdürme gerekliliği, ikincisi ise düşük termal dayanıklılıkları nedeniyle probiyotiklerin gıda formülasyonlarına ısı işlem sonrasında eklenmesi gerekliliğidir (de Almada ve diğerleri 2016). Probiyotiklerin minimum etkin konsantrasyonda bulunması gerekliliği, bazı probiyotik gıdaların raf ömrünü kısıtlamaktadır. Örneğin, yoğurt probiyotik taşıyıcısı olarak etkili bir matris olarak görülse de (Ranadheera, Baines, ve Adams, 2010), probiyotik mikroorganizmaların oksidatif strese maruz kalması nedeniyle probiyotik yoğurdun raf ömrünü arttırmakta güçlük çekilmektedir (Cruz ve diğerleri, 2013). Buna ek olarak, meyve suları ve kurutulmuş gıdalar gibi düşük pH ve düşük su aktivitesine sahip gıda matrisleri, probiyotik mikroorganizmalar için stresli ortamlar oluşturmaktadır (Anekella ve Orsat, 2013; Krasaekoopt ve Watcharapoka, 2014;

Marhamatizadeh, Rezazadeh, Kazemeini, ve Kazemi, 2012). Ayrıca, ısıt işlemler sonrasında probiyotiklerin formülasyona eklenmesi, mikrobiyolojik kontaminasyon riskini artırmakta ve probiyotik gıda üretimini daha karmaşık hale getirmektedir (Rokka ve Rantamäki, 2010). Bu tür teknolojik zorluklar, probiyotiklerin geniş bir yelpazede gıda ürünlerinde kullanımını kısıtlayan temel faktörler arasında yer almaktadır.

Postbiyotiklerin gıda ürünlerine uygulanması, probiyotiklere kıyasla bazı önemli avantajlar sunabilir. Örneğin, postbiyotikler gıda bileşenleriyle daha az veya hiç etkileşim göstermemeleri nedeniyle ürünlerin raf ömrünün uzamasına katkıda bulunabilir. İşleme süreçlerinde daha fazla esneklik sağlayabilirler, çünkü postbiyotikler ısıt işlemlerden önce eklenebilirler ve bu sayede aktiviteleri hedeflenen sağlık yararlarını sağlayacak düzeyde korunabilir. Depolama ve lojistik süreçlerde kolaylık sunacaklardır, bu durum daha uzun raf ömrüne sahip olmalarını sağlayacaktır (de Almada ve diğerleri, 2016). Postbiyotiklerin çeşitli gıda ve içeceklerde bileşen olarak geliştirilmesi, probiyotiklerin canlılıklarını koruyamadığı veya işleme süreçlerinden zarar gördüğü noktalarda önemli bir alternatif oluşturur.

Uzun raf ömrüne sahip olmaları, doz parametrelerinin kolayca ayarlanabilmesi sayesinde ve içerdiği farklı sinyal molekülleri vasıtasıyla postbiyotiklerin, anti-inflamatuar, immünmodülatör, anti-proliferatif, anti-hipertansif, anti-obezite ve antioksidan özellikler sergileyebileceği, böylelikle organizma üzerinde çeşitli metabolik ve sinyal yolları üzerinde olumlu etkiler oluşturabileceği de belirtilmiştir (Aguilar-Toalá ve diğerleri, 2018; Sharma ve Shukla, 2016). Dolayısıyla postbiyotikler, probiyotiklerin eklenmesinin teknik zorluklar oluşturduğu uygulamalarda etkili bir çözüm sunarak gıda endüstrisinde probiyotiklerin sağlayacağı sağlık yararlarının yerini doldurarak geniş bir kullanım alanına hitap edebilir.

Bu tezde, ısıt işlemler ve ultrases yöntemiyle *B. lactis* BB-12'den postbiyotik elde etmek üzere çeşitli inaktivasyon koşulları çalışılmıştır. Tasarlanıp seçilen inaktivasyon işlemleri ile koşullarının en temelde canlılık üzerine etkileri kontrol edilmiştir. Sonuçta elde edilen postbiyotiklerin, halihazırda kolon mikrobiyotasında bulunan probiyotik mikroorganizmalardan olan *Lactocaseibacillus casei* ve *Bifidobacterium* cinsi kültürlerin karışımı üzerinde çoğalmalarını arttıran bir aktivitelerinin olup olmadığını kıyaslayan

probiyotik geliştirici aktivite analizleri yapılmıştır. Aynı zamanda, *Lacticaseibacillus casei* ve *Bifidobacterium* cinsi kültürlerin karışımını içeren postbiyotiklerin kısa zincirli yağ asitlerini üretme potansiyelleri üzerine üretilen postbiyotiklerin etkileri incelenmiştir. Ayrıca, elde edilen postbiyotiklerin patojen mikroorganizmalardan *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis*'in çoğalmaları üzerinde inhibisyon sağlayıp sağlayamadıkları, bir başka ifadeyle bu patojenler üzerine olan antimikrobiyal aktiviteleri de analiz edilmiştir.



2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Probiyotikler ve İlişkili Bazı Terimler

2.1.1. Probiyotiklerin Tanımı

Probiyotikler; yeterli miktarlarda vücuda alındıklarında insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösteren canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (WHO/FAO, 2001). Bu tanıma bakarak bir mikroorganizmanın probiyotik olarak tanımlanabilmesi için bir dizi özelliğe sahip olması gerekmektedir. Bunları özetleyecek olursak;

- Yutulma anında canlı olmalı.
- Patojen özellik göstermemeli.
- Sağlığa olumlu etkileri olmalı.
- Mide asiditesine ve safra tuzlarına karşı dirençli olmalı.
- Bağırsak epiteline tutunabilmeli ve kolonize olmalı.
- Antibiyotik direnci olmamalıdır.

Fermente gıdaların içerisinde probiyotik olarak isimlendirilen doğal mikroorganizmalar da bulunabilmektedir, ancak canlı bakteri içeren her fermente gıda aynı zamanda probiyotik özellikte değildir. Fermente gıdalar farklı sayı ve türde mikroorganizma içerdiklerinden bunların mikrobiyolojik kompozisyonu tamamen bilinmemekte veya üretim sürecinde kontrol edilememektedir. ISAPP (Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği) fermente gıdalara “canlı ve aktif bakteriyel kültürler içeren” tanımını önermektedir. ISAPP bir besinin probiyotik özellik taşıması içinse en az 10^9 CFU/g probiyotik mikroorganizma içermesi gerektiğini bildirmektedir (Hill, Guarner, Reid, Gibson, Merenstein, Pot, Morelli, Canani, Flint, Salminen, ve diğerleri, 2014). Bunun yanında probiyotik mikroorganizmaların genellikle insan kaynaklı olması tercih edilmeli, söz konusu probiyotik, organizma için güvenli olmalıdır (Williams, 2010).

Özetle günümüzde probiyotikler, mide asidi, safra tuzları ve pankreas salgıları gibi zorlu gastrointestinal koşullara direnç gösteren, bağırsak epitel hücrelerine tutunabilen ve insan bağırsağında kolonize olabilen canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Bu özellikleri sayesinde, probiyotikler yalnızca sağlığı desteklemekle kalmayıp, aynı zamanda

klirik olarak da fayda sağlayan yararlı bakteriler olarak kabul edilmektedir (Quin ve diğerleri, 2018).

Yeterince alındığında organizma üzerinde çeşitli sağlık yararları sağlayabilen probiyotiklerin en yaygın türleri arasında *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* vardır (Alok ve diğerleri, 2017). Sıklıkla kullanılan probiyotik türleri ise *Lactobacillaceae* ailesinden *Bifidobacteria* türleri ve mayalar arasından *Saccharomyces boulardii*'dir (Ballini ve diğerleri, 2023).

Tablo 2.1 Temel Probiyotik Suşlar (Ballini ve diğerleri, 2023)

Probiyotik Mikroorganizmalar		
Lactobacillaceae	Bifidobacteriaceae	Diğerleri
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Clostridium butyricum</i>
<i>Lactocaseibacillus casei</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	
<i>Lactiplantibacillus</i>		
<i>plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>		
<i>Limosilactobacillus reuteri</i>		
<i>Ligilactobacillus salivarius</i>		
<i>Enterococcus faecium</i>		
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>		

2.1.2. Prebiyotikler

Prebiyotik terimi ilk kez 1995 yılında Gibson ve Roberfroid tarafından, kolonda bir veya daha fazla faydalı mikroorganizmanın büyümesini, çoğalmasını ve aktivitesini seçici olarak teşvik ederek organizmaya pozitif etkileri olan sindirime uğramayan gıda bileşenleri olarak tanımlanmıştır (Gibson, Probert, Van Loo, Rastall, ve Roberfroid, 2004). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) prebiyotikleri, mikrobiyota modülasyonunu sağlayarak çeşitli sağlık faydaları sunan, canlı olmayan gıda bileşenleri olarak tanımlamıştır. Ancak, Kasım 2016'da ISAAP, prebiyotikleri, faydalı mikroorganizmalar tarafından seçici olarak kullanılan ve konakçıya çeşitli yararlar sağlayan substratlar olarak tanımlamıştır. Bu yeni tanımla birlikte, aslında prebiyotiklerin yalnızca gıda bileşenleriyle sınırlı olmadığı, gıda dışındaki bileşenlerin de prebiyotik olabileceği anlaşılmaktadır. Ayrıca, önceki tanımlamalar ağırlıklı olarak kolona yönelik faydalı etkilere odaklanırken, yeni tanım prebiyotiklerin vücudun genel mikrobiyotasını olumlu yönde etkileyebileceğini vurgulamaktadır (Ballini ve diğerleri, 2023; Glenn R Gibson ve diğerleri, 2017; Quigley, 2019).

Başlıca prebiyotik bileşenler arasında inülin, fruktooligosakkaritler (FOS), ksilooligosakkaritler (XOS), galaktooligosakkaritler (GOS), insan sütü oligosakkaritleri (HMO) ve mannanoligosakkaritler (MOS) yer almaktadır. Polifenoller ve çoklu doymamış yağ asitleri ise prebiyotik özelliklere sahip olabilecek diğer aday bileşiklerdir (Glenn R Gibson ve diğerleri, 2017). Prebiyotikler, bitkisel kökenli gıdalarda halihazırda doğal olarak bulunabilir veya şekerlerin enzimatik reaksiyonlarıyla sentetik olarak da elde edilebilirler (Williams, 2010). Laktozdan türetilen GOS, insan sütü ve formül mamalarda yer alırken, tahıllar ve süt ürünleri gibi çeşitli gıdalara da üretim sırasında eklenmektedir (Laparra ve Sanz, 2010). GOS, *Lactobacillaceae* ve *Bifidobacteriaceae* familyalarına ait faydalı mikroorganizmaların çoğalmasını desteklemekte ve bağlanma noktalarını taklit ederek patojen mikroorganizmaların epitel doku hücrelerine tutunmalarına engel olarak enfeksiyonları önleyebilmektedir (Isacco ve diğerleri, 2021; Zhurakivska ve diğerleri, 2019). FOS, inülinin az sayıda fruktoz birimi içeren hidrolitik türevlerinden oluşmakta ve soğan, kuşkonmaz, buğday ve enginar gibi bitkisel kaynaklarda bolca bulunmaktadır (Slavin, 2013). Selüloz, lignin ve oligosakkaritler gibi prebiyotikler ise çiğ yulaf, soya fasulyesi ve hindiba kökü gibi besinlerde yer almaktadır. Prebiyotiklerin mide asitlerine dayanıklı olması ve

bağırsak mikrobiyotası tarafından fermente edilmek üzere kalın bağırsağa ulaşabilmesi, bağırsaktaki faydalı mikroorganizmaların gelişimini desteklemesi açısından kritik öneme sahiptir (Gomaa, 2020).

Prebiyotiklerin kullanımı, obezite tedavisinde etkili bir rol oynayabilir. Bağırsakta prebiyotiklerin bulunması; koruyucu mukus tabakasının oluşumu, kısa zincirli yağ asitlerinin (KZYA) üretimi ve anti-inflamatuvar sitokinlerin salgılanmasıyla ilişkilidir. Ayrıca, tokluk hormonlarının salgılanmasını teşvik ederek aşırı yeme davranışını azaltabilir. Fruktoz içeren oligosakkaritler, prebiyotik özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu bileşikler, probiyotik bakterilerin büyümesini destekleyerek *Escherichia coli* gibi patojen mikroorganizmaların bağırsak yüzeylerine tutunabileceği alanı sınırlar ve koruyucu bir etki gösterir, böylelikle faydalı mikroorganizmaların çoğalmasını destekler (Islam ve diğerleri, 2022).

2.1.3. Sinbiyotikler

Sinbiyotikler, probiyotik mikroorganizmalar ile prebiyotik kaynakların bir arada kullanılmasıyla oluşan uyumlu ve güçlendirici etki sonucu, organizma üzerinde olumlu etkiler sağlayan kombinasyonlar olarak tanımlanmaktadır (Wasilewski, Zielińska, Storr, ve Fichna, 2015). En etkili sinbiyotiklere yani probiyotik ve prebiyotik birlikteliklerine *Lactobacillus* suşları ve laktitol, *Bifidobacterium* suşları ve fruktooligosakkaritler, *Bifidobacterium* suşları ve galaktooligosakkaritler örnek olarak verilebilir (Gülmez ve Güven, 2002).

Sinbiyotikler probiyotik mikroorganizmalar vasıtasıyla bağırsak mikrobiyotasını desteklerken prebiyotikler patojen mikroorganizmaların çoğalmasını engellemektedir. Sinbiyotikler nitrozamin gibi istenmeyen zararlı metabolitlerin seviyesinin baskılanmasında, karsinojen bileşiklerin etkisizleştirilmesinde ve çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişen kabızlık ve ishalin önlenmesinde önemli bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Bengmark, 2005; Bengmark ve Martindale, 2005).

2.1.4. Paraprobiyotikler

Paraprobiyotik terimi, hücre membran bütünlüğünün bozulması, hücre membranındaki mekanik hasarlar, DNA filamentlerinde kırılmalar gibi mikroorganizmanın hücresel yapılarını değiştiren etmenlere maruz kalmaları sonucu canlılıklarını tamamen yitirmiş mikroorganizmaları anlatmaktadır. Ayrıca, bu süreç mikroorganizmanın fizyolojik işlevlerindeki değişiklikler nedeniyle meydana gelen canlılık kayıplarını da kapsamaktadır. Örneğin, temel enzimlerin denatürasyon gibi sebeplerle inaktivasyonu veya hücre zarının seçicilik özelliğinin kaybolması bu değişikliklere dahildir. Paraprobiyotiklerin *in vitro* olarak çoğalma yeteneği bulunmamaktadır ve bu durum, mikroorganizmaya uygun bir kültür ortamında yapılan ekim denemeleri ile doğrulanabilir (Raz ve Rachmilewitz, 2005).

Kültürlenmesi mümkün olmayan bu cansız ancak immünolojik olarak aktif mikrobiyal hücrelerin organizmaya sağlık faydaları sağlayabileceği literatürde bildirilmiştir (Adams, 2010; Ananta ve Knorr, 2009). Bu bağlamda, paraprobiyotik terimi, "sağlık faydaları sunmak amacıyla inaktive edilmiş mikrobiyal hücreler (cansız) veya bunların hücresel fraksiyonları" şeklinde tanımlanmıştır (Taverniti ve Guglielmetti, 2011). Paraprobiyotikler, literatürde daha önce "inaktif probiyotikler" veya "hayalet probiyotikler" gibi terimlerle de ifade edilmiştir (Tsilingiri ve diğerleri, 2012; Tsilingiri ve Rescigno, 2013).

2.2. Postbiyotiklerin Tanımı Ve Postbiyotik Bileşenler

2.2.1. Postbiyotikler

Kelime olarak "postbiyotik" terimini oluşturan "biyo" ifadesi canlılığı, "post" ifadesi ise sonrasında ifade ettiğinden, "postbiyotik" terimi, yaşamdan sonrasında, yani cansız mikroorganizmaları çağrıştırmaktadır. Cansız mikroorganizmaları ve/veya onlarla ilgili metabolitleri anlatmak üzere paraprobiyotikler, hayalet probiyotikler, metabiyotikler, bakteriyel lizatlar gibi ifadeler literatürde kullanılmış olsa da son fikir birliğiyle postbiyotik teriminin kullanılması uygun görülmüştür. Postbiyotik kavramı probiyotiklere ilave biyoaktiviteler sunarak konakçıya fayda sağlayabilecek canlı olmayan mikroorganizmaları veya hücresiz özütleri tanımlamak için kullanılmaktadır. ISAPP postbiyotik terimini "konağa sağlık yararı sağlayan cansız mikroorganizmalar ve/veya bileşenleri" olarak tanımlamıştır (Salminen ve diğerleri, 2021).

Postbiyotikler çoğunlukla canlı probiyotik mikroorganizma tarafından salgılanan veya bakteriyel hücre bozunumu sonucu salınan, hedef organizmaya fayda sağlayabilen metabolik yan bileşenleri, mikrobiyal ürünleri ayrıca hücre zarı veya duvarının bütünlüğünün bozulması sonucu açığa çıkan çözünür bileşenleri kapsamaktadır. Bu çözünür maddeler çoğalmayla birlikte üretilebileceği gibi, çoğalma sonrasında uygulanabilecek ısı işlemler, yüksek basınç, sonikasyon, enzimle muamele gibi yöntemlerin tek başına veya kombinasyonlarının uygulanmasıyla hücre bütünlüğü bozularak da bu bileşenler elde edilebilmektedir. Probiyotiklerin ölümü ve/veya inaktivasyonu sürecinde ortaya çıkan hücre içi bileşenler ve hücre duvarı bileşenleri, fonksiyonel özellik gösterme potansiyeli taşımaktadır (Cuevas-González, Liceaga, ve Aguilar-Toalá, 2020; Moradi, Molaei, ve Guimarães, 2021). Bununla birlikte, elde edilecek postbiyotiğin etkisi, niteliği ve miktarı, başlangıç probiyotik mikroorganizmanın seçimi, inaktivasyon metodu veya tekniğinin seçimi ile şekillenmektedir (Zhu ve diğerleri, 2025). Bunun yanı sıra, iç ve dış etkenlerin postbiyotiklerin verimliliğini etkileyebileceği bir dizi çalışma ile ortaya konulmuştur. Örneğin, yoğurt, ayran, peynir gibi süt ürünleri, fermente turşular, keten tohumu, yulaf, sarımsak gibi yüksek lifli gıdalar postbiyotiklerin etkisini arttırabilmektedir (Mishra ve diğerleri, 2024). Ayrıca yoğurt, kombu çayı, lahana turşusu, salamura sebzeler gibi bazı gıdalar doğal olarak postbiyotik içermektedir, ancak üretim sırasında postbiyotik miktarı kontrol edilememekte ve içerdiği miktar fizyolojik bir tepkinin oluşması için yeterli olmayabilmektedir. Postbiyotiklerin etkin metabolitleri ile varolan mikrobiyotanın bileşimi, enzimler ve farklı gıda bileşenleri gibi iç etkenler arasındaki karşılıklı etkileşimler ise metabolitlerin etkilerini azaltabilmektedir (Rad, Abbasi, Kafıl, ve Ganbarov, 2020). Postbiyotik bileşenlerin aktivitesine etkide bulunabilen tripsin, kimotripsin, pepsin gibi proteolitik enzimler en önemlilerindendir. Dış etken olarak gıdanın özellikleri; örneğin gıdanın hidrojen iyon konsantrasyonu, postbiyotiklerin antimikrobiyal etkisini değiştirebilmektedir. Antimikrobiyal etkisini değiştirebilen bir diğer faktör ise sıcaklıktır. 121 °C’de 15 dakika ısıtmanın postbiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir. (Moradi ve diğerleri, 2020) Dolayısıyla, sıcaklık ve pH değerlerinin kontrolü postbiyotik eldesi için önemlidir. Postbiyotiklerin en ideal aktivitesinin pH 4-9 aralığında olduğu bildirilmiştir (Moradi ve diğerleri, 2020).

2.2.2. Hücresiz Süpernatantlar

Hücresiz süpernatant (CFS, Cell Free Supernatant) bakteri ve maya kültürlerinin inkübasyon adımı tamamlandıktan sonra kültürün santrifüj edilip çökmüş pellet kısmının ortamdan uzaklaştırılmasından sonra geriye kalan sıvının filtreden geçirilip sterilize edilmesiyle elde edilmektedir (Żółkiewicz, Marzec, Ruszczyński, ve Feleszko, 2020). Mikroorganizmaların fermentasyonu ile oluşan, biyomoleküller ve aktif metabolitler içeren CFS'ler enflamasyonu azaltıcı, tümör oluşumunu engelleyici, antimikrobiyal ve antioksidan özellikler göstermektedir (Lee ve diğerleri, 2022).

Farklı mikroorganizma kültürlerinin farklı etkileri vardır. *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactocaseibacillus casei*'den elde edilen süpernatantlar enflamasyonu uyarıcı tümör nekroz faktör α (TNF- α) sitokininin salgısını baskılayarak ve enflamasyonu azaltan interleukin-10 (IL-10) sitokin salgısını da artırarak bağırsak epitel hücreleri, makrofajlar ve nötrofil hücreleri üzerinde antienflamatuar ve antioksidan etkilere sahiptir. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerinin kültürlerinden elde edilen CFS'lerin enteroinvaziv *E. coli* suşlarının enterositlere yerleşmesini önleyerek antibakteriyel aktivite gösterdikleri bildirilmiştir. Bu antimikrobiyal etki patojen mikroorganizmaların bağırsak duvarına yapışmasının engellenmesinin bir sonucu olabileceği gibi bağırsak ortamı, hücre bariyeri ve koruyucu genlerin üzerinde belirli bir bölgede etkiye de sahip olabilmektedir. Dolayısıyla, CFS'ler diyare tedavisi için gelecek vaat etmektedir (Khodaii, Ghaderian, ve Natanzi, 2017). *Bifidobacterium adolescentis* SPM0212 kültüründen elde edilen CFS'lerin kolon kanseri hücrelerinin çoğalmasını, TNF- α üretimini ve hücre yapısındaki değişiklikleri inhibe ederek antikanser özellik gösterdiği bildirilmiştir (Kim ve diğerleri, 2008).

2.2.3. Ekzopolisakkaritler

Mikroorganizmaların çoğalma ve gelişim aşamalarında hücre dışına salgıladığı çeşitli kimyasal niteliklere sahip polimerik biyomoleküllerdir. Ekzopolisakkaritler (EPS) gıda endüstrisinde stabilizatör, emülsifiye edici ve su bağlayıcı ajanlar olarak kullanılmaktadır (Żółkiewicz ve diğerleri, 2020). EPS'ler genellikle laktik asit bakterileri tarafından

sentezlenen, uzun zincirli ve moleköl ağırlığı yüksek, karbonhidrat yapısında biyopolimerlerdir (Korc ve Varga, 2021). İçerdikleri basit şekerlere göre ikiye ayrılmaktadır:

1. Homopolisakkaritler
2. Heteropolisakkaritler

Tek tip monosakkarit birimlerinden oluşan polisakkaritler homopolisakkaritlerdir. Homopolisakkaritlere fruktan, glukan, selüloz, pullulan, inülin, dekstran örnek verilebilir. Farklı birkaç monosakkarit birimlerinin tekrarıyla oluşan polisakkaritler ise heteropolisakkaritlerdir. Jellan, ksantan, galaktan heteropolisakkaritlere örnek verilebilir (Chaisuwan ve diğerleri, 2020). EPS'lerin yapısal çeşitlilik skalası geniş olmakla beraber hücrelerin korunması ve birbirine tutunmasında büyük bir öneme sahiptir. Bu özellikleri aracılığıyla antienflamatuar, antimikrobiyal, antioksidan, antihipertansif, antihiperkolesterolemik ve gastrointestinal sistemdeki faydalı etkiler gösterirler ve böylece eczacılık ile biyomedikal alanlarında kullanılabilmektedir (Gezginç ve diğerleri, 2022).

2.2.4. Enzimler

Mikroorganizmalar; karbonhidrat, protein, yağ ve nükleik asitlere olumsuz etkileri olan reaktif oksijen türlerine karşı savunma sistemi geliştirmiştir. Laktik asit bakterilerinin ürettiği katalaz, NADH-oksidad, glutatyon peroksidaz, peroksidaz dismutaz gibi antioksidan enzimler aracılığıyla organizmadaki reaktif oksijen türlerine karşı mücadele edilmekte ve organizmanın oksidatif stresi azaltılmaktadır (Bourebaba, Marycz, Mularczyk, ve Bourebaba, 2022).

B. longum subsp. *infantis* ve *Bifidobacterium pseudocatenulatum*'dan elde edilmiş fitaz enzimi ile tahıl karışımına yapılan definitizasyon işlemi sonucu fitat içeriğinin azaldığı ve sindirim modeliyle test edilen çinkonun çözünürlüğünün ve miyoinositol trifosfat düzeylerinin artışı sağladığı bildirilmiştir (Sanz-Penella ve diğerleri, 2012).

Probiyotik mikroorganizmalar laktozu parçalayarak glikoz ve galaktoza dönüştüren laktazı sentezlemekte ve şekerleri fermente ederek kısa zincirli yağ asitlerine dönüştürmektedir. Laktaz enziminde eksikliği olan bireylerde laktoz intoleransı görülmektedir. Bazı laktik asit bakterileri, β -galaktosidaz enzimi ile laktozu parçalamakta ve intolerans olasılığını

düşürmektedir. *L. plantarum*'dan elde edilmiş postbiyotiklerin antioksidan aktivitelerinin, serumdaki artmış glutasyon peroksidaz enzimiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Izuddin, Humam, Loh, Foo, ve Samsudin, 2020).

2.2.5. Hücre Duvarı Bileşenleri

Bakteriyel hücre duvarının çeşitli bileşenleri, organizmada bağışıklık yanıtı oluşturmaktadır. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının ağırlıkça yaklaşık %60'ını teikoik ve lipoteikoik asit oluşturmaktadır. Lipoteikoik asit hücre dışına kendi kendine salınabilen, sitokin üretimini aktive eden bileşenlerdendir (Żółkiewicz ve diğerleri, 2020).

Hücre duvarının temel bileşenlerinden diğeri de mukokompleks, mukopeptit veya murein olarak da bilinen peptidoglikanlardır. Probiyotik bakterilerden ekstrakte edilmiş peptidoglikonların antikanser, antiproliferatif, antienflamatuar ve bağışıklık sistemini indükleyici etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Bourebaba ve diğerleri, 2022). Bir *Lactobacillus* suşundan üretilen peptidoglikanın proenflamatuar belirteçlerden interlökin-12 üretimini inhibe edebildiği bildirilmiştir (Shida, Kiyoshima-Shibata, Kaji, Nagaoka, ve Nanno, 2009).

Bakteri hücre duvarı kökenli peptidoglikan içeren muramil dipeptidin obez farelere enjekte edilmesiyle kilo ve mikrobiyota bileşiminde bir değişiklik olmadan glukoz intoleransında ve adipoz doku iltihabında azalma sağlanmıştır. Bu çalışma, muramil dipeptidinin klinik olarak anlamlı bir insülin duyarlılığını arttırıcı olduğunu bildirmiştir (Cavallari ve diğerleri, 2017).

B. lactis BB-12'den elde edilen lipoteikoik asidin insülin benzeri büyüme faktörü-1 aracılığıyla yağ yakımını arttırıcı etki gösterdiği, diyabetle ve metabolik sendromla bağlantılı patolojik rahatsızlıkların tedavi edilmesinde ya da önlenmesinde kullanılabilecek gelecek vaat eden bir postbiyotik olduğu bildirilmiştir (Balaguer ve diğerleri, 2022).

2.2.6. Kısa Zincirli Yağ Asitleri

Diyetle alınan karbonhidratların bir bölümü sindirilip ince bağırsakta emilebilirken bir bölümü sindirilemez. Sindirime uğramayan bu karbonhidratlar prebiyotik olarak adlandırılmaktadır. Sindirilemeyen bu diyet lifleri kolondaki faydalı mikroorganizmalar için iyi bir substrattır (Gibson ve diğerleri, 2017). Selüloz, inülin, dirençli nişasta, ksilanlar gibi sindirime uğramayan karbonhidratların (prebiyotikler), anaerobik mikroorganizmalar tarafından kalın bağırsakta fermentasyonu ile kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) üretilmektedir (Tremaroli ve Bäckhed, 2012).

İnsan kolon mikrobiyotasında üretilen asetat, propiyonat ve bütirat; glukoz, lipit ve kolesterol metabolizmalarının yolaklarında substrat olarak görev almaktadır. Kolon epitel hücrelerinin enerji substratı bütirat, periferik doku hücrelerinin ise asetat ve propiyonattır (Den Besten ve diğerleri, 2013).

Potansiyel etki mekanizması açısından, KZYA'lar, G-proteinine bağlı reseptörleri uyararak ve glukagon benzeri peptit-1'in (GLP-1) salgılanmasını tetikleyerek enerji metabolizmasını etkileyebilmektedir. Serum ve gaitadaki asetat miktarındaki artış, artmış GLP-1 düzeyi aracılığıyla, insülin duyarlılığındaki artış ve vücut yağında bir azalma ile ilişkilendirilmiştir (Aoki ve diğerleri, 2017). Prebiyotikten zengin bir diyetin beden ağırlığındaki azalmayla ilişkili olduğu bildirilmektedir. Yapılan bir çalışma kolon asetatının kan beyin bariyerini geçebilmekle merkezi iştah kontrolünde doğrudan rolünün olabileceğini göstermektedir (Frost ve diğerleri, 2014). Propiyonat, karaciğerde gerçekleşen glukoneogenezin ana substratlarından biridir. Propiyonat aynı zamanda kolesterol sentez yolunu inhibe eden statin (HMG-CoA redüktaz inhibitörü) benzeri etki göstermektedir (Żółkiewicz ve diğerleri, 2020). Ülseratif kolitli hastalara rektal bütiratın uygulandığı bir çalışmada plasebo verilen hastalara kıyasla kolondaki inflamatuvar süreçlerde önemli bir gerileme gözlemlenmiştir (Lührs ve diğerleri, 2002).

2.2.7. Vitaminler

Vitaminler bir dizi biyokimyasal döngüde görev alan organik yapıdaki bileşiklerdir. Vücutta yeterli miktarda sentezlenemediğinden dışarıdan alınması elzem olan bileşiklerdir. Laktik asit bakterilerinin tiamin, riboflavin, folik asit, kobalamin gibi B grubu vitaminlerini ve K₂ vitaminini üretebildiği bilinmektedir. Fermente edilmiş süt ürünlerinde fermentasyon esnasında laktik asit bakterilerinin aktivitesine bağlı olarak yoğurttaki folik asit içeriği süte kıyasla daha yüksektir. Yoğurt, kombu çayı, salamura sebzeler, lahana turşusu gibi postbiyotik içeriği yüksek olan fermente gıdalar; vitamin, polifenol ve organik asitlerce zengindir. Örneğin *L. rhamnosus* GG; tiamin, riboflavin ve folik asit vitaminlerini üretebilmektedir (Tamime, Thomas, ve Wiley, 2005). Folik asit, DNA onarım ve sentezi, metilasyon süreci gibi olaylarda önemli bir işleve sahiptir ve aynı zamanda antioksidan bir ajandır. Bu bağlamda kolonda üretilen folik asit sistemik bir fonksiyona sahip olabilmektedir. Zorunlu folik asit takviyesi alan ülkelerin popülasyonlarındaki inme riskinin, kontrol popülasyonuna göre anlamlı olarak düşük olduğu bildirilmiştir (Hsu ve diğerleri, 2018).

B. lactis BB-12 takviyesi verilen gebelerde benzer B₆ ve B₁₂ vitamin alımına sahip olmalarına rağmen ikinci ve üçüncü trimesterde B₆, üçüncü trimesterde B₁₂ plazma konsantrasyonları anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Perikonsepsiyonel dönemde prebiyotik ve probiyotik alımının mikrobesein öğelerinden olan B grubu vitaminlerinin eksikliğinin önlenmesinde etkili olabileceğine dikkat çekilmiştir (Bardosono ve diğerleri, 2019).

2.3. Analizlerde Kullanılan Probiyotik Mikroorganizmalar ve *B. lactis* BB-12

2.3.1. *Lacticaseibacillus casei*

Lacticaseibacillus casei gram-pozitif, fakültatif anaerobik bir probiyotik mikroorganizmadır. Formu çubuk şeklindedir. Homofermentatif bir laktik asit bakterisidir, genellikle glikozu fermente ederek son ürün olarak laktik asit üretmektedir. Çoğalması için gerekli optimum sıcaklık değişkendir ve bu sıcaklık değeri 10 °C'nin altına inmemekteyken, 45 °C'nin de üzerine çıkmamaktadır. Optimum çoğalma pH değeri ise 5.5-6.5 aralığındadır. Kefir ve yoğurt gibi fermente süt ürünlerinde doğal olarak bulunmaktadır (Zheng ve diğerleri, 2020).

L. casei diğer laktobasil mikroorganizmalardan katalaz aktivitesiyle ayrılmaktadır (Wuyts ve diğerleri, 2017).

L. casei sağlık üzerinde çeşitli olumlu etkilere sahiptir. Yapılan araştırmalar bağışıklık sistemi, bağırsak sağlığı gibi metabolik süreçler üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Bir çalışmada, *L. casei* bazlı probiyotiklerin tüketilmesinin *Clostridioides difficile* ile ilişkili ishal vakalarını azalttığı bildirilmiştir (McFarland, 2015). Başka bir çalışmada, eşek sütüne *L. acidophilus* ve *L. casei* eklenerek yapılan probiyotik yoğurt 30 gün depolanmıştır. Depolama sonunda probiyotik yoğurt ve klasik yoğurdun laktoz içerikleri kıyaslanmıştır. Her iki yoğurttaki da laktoz miktarında azalma olmuş ancak probiyotik yoğurttaki bulunan laktoz miktarı klasik yoğurda göre daha düşük bulunmuştur (Perna, Intaglietta, Simonetti, ve Gambacorta, 2015). Laktoz intoleransına sahip bireylerde *L. casei* laktozun sindirimine laktaz enzimi üreterek yardımcı olur ve intoleransın yol açtığı olumsuz semptomların hafifletilmesinde etkilidir (Sanders, Merenstein, Reid, Gibson, ve Rastall, 2019).

2.3.2. *Bifidobacterium* Cinsi Mikroorganizmalar

Bifidobacterium 1899'da ilk kez emzikli bir bebeğin gaitasından keşfedilip izole edilmiştir. *Bifidobacterium* cinsi mikroorganizmalar, gram-pozitif, anaerobik, spor oluşturmeyen bir cins olup gastrointestinal floranın önemli üyelerindendir. Taze kültürleri mikroskop altında V ve Y gibi çubuk formunda, çoğunlukla dallanmış görünüşte olan mikroorganizmalardır. Optimum çoğalma sıcaklığı 37-41 °C aralığındadır. Optimum çoğalma pH ise 6,5-7 aralığındadır. *Bifidobacterium* türleri insan bağırsak mikrobiyotasının temel bakterilerindendir. Doğum sonrası ilk haftalarda bebeğin bağırsaklarına yerleşerek kolonize olurlar ve hayat boyu gastrointestinal sistemde varlıklarını sürdürebilirler (O'Callaghan ve Van Sinderen, 2016). *Bifidobacterium* cinsi mikroorganizmaların yaygın türleri *B. longum*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. thermophilum*, *B. catenulatum* şeklinde sıralanabilir (Alp Avcı ve Aslım, 2009).

2.3.3. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12

B. lactis BB-12 olarak da literatürde yaygın olarak ifade edilen *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12; katalaz testi negatif, çubuk şekline sahip bir bakteridir (Reuter, 2001). İlk izolasyonu sırasında *Bifidobacterium bifidum* türüne ait olduğu düşünülüyordu. Bir dizi sınıflamadan sonra *Bifidobacterium animalis*'e bir alt tür olarak katıldı. Bugün BB-12, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* olarak sınıflandırılmaktadır (Jungersen ve diğerleri, 2014). *B. lactis* BB-12, asiditeye ve oksidatif strese karşı dayanıklılık göstermektedir, bağırsak mukozasına kolayca tutunmaktadır ve süt bazlı besiyerlerinde gelişme gösterebilmektedir (Matsumoto, Ohishi, ve Benno, 2004; Matsumoto, Tani, Ono, Ohishi, ve Benno, 2002). Yoğurt formülasyonlarına eklenebilmesi ve kolondan geçişe dayanıklı olması sebebiyle önemli ve karakteristik bir mikroorganizmadır. Bu mikroorganizmanın bir endopeptidaz salgıladığı ayrıntılı çalışmalarla belirlenmiş ve enzim karakterize edilmiştir. Bu enzim sayesinde mikroorganizmanın süt proteinlerini ve türevlerini kullanma yeteneğine sahip olduğu anlaşılmıştır. (Janer, Arigoni, Lee, Peláez, ve Requena, 2005).

2.3.3.1. *B. lactis* BB-12'nin Asit ve Safra Toleransı

Mide asidi ve safra salgısı mikroorganizmaları öldürerek gastrointestinal sistemin patojenlere maruziyetini engeller. Benzer şekilde, aynı savunma sistemi faydalı olabilecek bakterileri de etkisizleştirebilir. Bu nedenle probiyotik bakterinin gastrik asit ve safra salgısı karşısında hayatta kalabilmesi kritik önem taşımaktadır. Bağırsağa ne kadar çok canlı probiyotik bakteri ulaşırsa, potansiyel sağlık yararları da o kadar artacaktır (Bezkorovainy, 2001).

Beş farklı *Bifidobacterium* suşunun sindirilemeyen karbonhidrat (prebiyotik) tercihlerini ve asit-safra toleransını kıyaslayan bir *in vitro* çalışmada probiyotiklerin canlılıklarını koruma ve gelişimleri kıyaslanmıştır. %1 öküz safrası ve pH 2, 3 ve 4'te toleransları test edilmiştir. Çalışma en düşük pH 2'de on dakikalık maruziyetin *B. lactis* BB-12 dışındaki bütün türler için öldürücü olduğunu göstermiştir. pH'yı 3'e veya 4'e yükseltmek hayatta kalma oranını yükseltmiştir. *B. lactis* BB-12 tüm koşullarda en yüksek hayatta kalma oranına sahip olmuştur ve bu durum mideden canlı geçme şansının diğer türlere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (Vernazza, Gibson, ve Rastall, 2006).

Lactobacillus acidophilus LA-5 ve *B. lactis* BB-12'nin, HCl ile ayarlanmış ayrı ayrı pH 1-4 ve %0,5-2 öküz safrası içeren ortamlarda asit ve safra toleransı test edilmiştir. Her iki tür de pH 3 ve 4'te canlılıklarını koruyabilmiştir, ancak daha düşük pH'da *B. lactis* BB-12, LA-5'ten daha yüksek bir asit toleransı göstermiştir. İki tür de gastrointestinal sistemde bulunmayacak kadar yüksek konsantrasyon haricinde safra tarafından inhibe edilmemiştir (Hoier, 1992).

Dokuz farklı *Bifidobacterium* türünün 17 suşunun pH 2-5 aralığında asidik ortama maruz bırakılarak toleranslarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, *Bifidobacterium lactis* ve *Bifidobacterium animalis* dışındaki türlerin asit toleransı zayıf bulunmuştur (Matsumoto ve diğerleri, 2004). Gastrik asit ve duodenuma gelen safra salgısından geçişi taklit eden bir yapay bağırsak modeli kullanılarak yapılan bir çalışmada, kapsül formundaki *B. lactis* BB-12'nin sindirim sonrası canlılığına bakılmış ve %60-80'inin canlı kalabildiği gösterilmiştir (Jungersen ve diğerleri, 2014).

Gastrointestinal sistemden canlı bir şekilde geçebilmek, probiyotik mikroorganizmalar için büyük bir zorluktur. Bu zorluklardan birisi yüksek asidik bir mideden geçişken, diğeri de bu geçiş sonrasında ince bağırsaktaki safra tuzlarına karşı gösterilmesi gereken dirençtir. *B. lactis* BB-12 ince bağırsaktaki güçlü safra tuzu konsantrasyonu ile mücadele etmek için mühim bir enzim olan safra tuzu hidrolazını kodlayan gene sahiptir. Bu enzim, *B. lactis* BB-12'de daima bulunmakta ve aktiftir. Bu bilgi protein mikrodizisi ve iki boyutlu jel elektroforezi ile yapılan çalışmalarla ispatlanmıştır (Garrigues, Stuer-Lauridsen, ve Johansen, 2005).

2.3.3.2. Yapışma Yeteneği ve *B. lactis* BB-12

Probiyotik mikroorganizmaların bağırsak mukozasına yapışma yeteneği, sağlık üzerinde gözlenebilecek faydalı etkilerin temel nedenlerinden biri olarak görülmektedir. Yapışma, bağırsakta kolonize olma, patojenlerin azaltılması, bağışıklık sistemi ile etkileşim ve bağırsak duvarının güçlendirilmesi gibi etkiler için bir ön koşuldur. Bu nedenden ötürü, probiyotiklerin seçimi için yapışma yeteneği kapasitesi önemli bir kriterdir. Yirmidört farklı *Bifidobacterium* suşunun insan ve sığır bağırsak mukus glikoproteinlerine bağlanma kapasiteleri yönünden kıyaslandığı bir çalışmada *B. lactis* BB-12 ve başka bir *Bifidobacterium* suşunun en yüksek

yapışma oranlarına sahip olduğu bulunmuştur. *B. lactis* BB-12'nin insan mukusuna yapışma kapasitesinin de %7,1 olduğu belirtilmiştir (He ve diğerleri, 2001).

2.3.3.3. Patojenlerle Mücadele ve *B. lactis* BB-12

Patojenler sağlığı olumsuz etkileyen mikroorganizmalardır. Patojenleri inhibe edip baskılama kapasiteleri probiyotiklerin önemli özelliklerindendir. Patojen belirteci 12 suşa karşı rekabetçi etkiye bakan bir *in vitro* çalışmada *B. lactis* BB-12 ve *L. casei*'nin bu suşlara karşı antimikrobiyal etki alanı (inhibisyon zonu) üretebildiği gösterilmiştir. *B. lactis* BB-12 on iki patojen suşun sekizine karşı antimikrobiyal metabolit üretmiştir ve *B. lactis* BB-12 tarafından üretilen antimikrobiyal etki alanının çapı $28,6 \pm 6,57$ mm olarak bulunmuştur (Martins ve diğerleri, 2009).

Ticari probiyotik mikroorganizmaların *B. lactis* BB-12 ve *Lactobacillus rhamnosus* LGG' nin tek başlarına ve kombine şekilde kullanımlarının *Escherichia coli*, *Salmonella* ve *Clostridium* gibi patojenlerin domuz bağırsak mukozasına yapışma kapasitelerini azaltarak koruyucu etki gösterebileceğini araştıran bir *in vitro* çalışmada, değerlendirilen patojen mikroorganizmaların bağırsağa yapışmalarını anlamlı olarak azalttığı bulunmuştur. Kombine kullanımın yapışmayı önlemede daha etkili olduğu bildirilmiştir (Collado, Grześkowiak, ve Salminen, 2007).

B. lactis BB-12 içeren yoğurdun antibiyotik kullanımının sebep olduğu fekal KZYA ve mikrobiyota bozuluma olumlu etkilerinin olup olmayacağını araştıran bir klinik çalışmadan elde edilmiş veriler, *B. lactis* BB-12 takviyesinin mikrobiyotadaki antibiyotiklerin sebep olduğu olumsuz değişiklikleri azaltabileceği ve kontrole kıyasla takviye alan grubun mikrobiyotasının, antibiyotik kullanım öncesi bazal bileşimine daha kısa sürede dönebildiğini göstermiştir (Merenstein ve diğerleri, 2021).

2.3.3.4. Bağırsak Epitel Bariyerinin İyileştirilmesi ve *B. lactis* BB-12

Gastrointestinal sistemde sağlıklı ve etkin bir mukus dokusunun olması, epitel bariyerin korunması, bağırsak sağlığı ve genel sağlık için temel ön koşullardandır. Bağırsak

mikroflorası bağırsak epitel bariyeri ile etkileşime girer ve bağırsakta kilit bir görev üstlenir (Yu ve diğerleri, 2022).

Yapılan araştırmalar kandaki zonulin seviyesinin ve dışkıda kalprotektin testinin bağırsak epitel bariyerinin fonksiyon sağlığını ve geçirgenliğini test etmek için gösterge olarak kullanılabileceğini söylemektedir (Wegh ve diğerleri, 2019). Prematüre bebeklerde hızlı enteral *B. lactis* BB-12 takviyesinin bağırsak mikroflorası ve bağırsak epitel bariyeri üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmada, *B. lactis* BB-12 takviyesi alan bebeklerde serum zonulin ve dışkı kalprotektin seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Sonuçlar probiyotik (*B. lactis* BB-12) ile zamanında müdahale etmenin bağırsak mikroflorasının kompozisyonunu iyileştirebileceğini, serum zonulin ve dışkıda kalprotektin değerlerini düzenleyebileceğini ve bağırsak epitel bariyerinin yapı ve fonksiyonunu iyileştirebileceğini bildirmiştir (Xu ve diğerleri, 2024).

2.4. İnaktivasyon Yöntemleri

Postbiyotikler, mikroorganizmaların fermentasyonu sonucu doğal olarak fermente gıdalarda bulunmaktadır ancak *in vivo* şekilde üretilen bu postbiyotiklerin miktarı kontrol edilememektedir. Bunun yanında, istenen fizyolojik yanıtın oluşması için bu miktar yetersiz kalabilmektedir. Bu sebeple, postbiyotiklerin gıda, ilaç ve diyet takviyesi sektöründe araştırılması, etkili bir şekilde üretilmesi ve faydalanılması amacıyla çeşitli üretim yöntemleri geliştirilmiştir (Thorakkattu ve diğerleri, 2022).

Postbiyotik eldesinde sıklıkla tercih edilen ısıtma işlemleri klasik ısıtma ve ohmik ısıtma iken, ısıtılmayan işlemler ise ultrases, ışınlama, süperkritik karbondioksit ve darbeli elektrik alandır (Pimentel, Cruz, Pereira, Almeida da Costa, ve diğerleri, 2023). Bu çalışmada klasik ısıtmanın kullanıldığı ısıtma işlemi ile ultrases yöntemi *B. lactis* BB-12'den postbiyotik elde edilmesi hedeflenmiştir.

2.4.1. Isıl İşlem Yöntemi ile İnaktivasyon

Postbiyotik eldesinde kullanılan esas yöntem ısıtma işlemidir (Pimentel, Cruz, Pereira, Almeida da Costa, ve diğerleri, 2023). Isıtma işleminin verimliliği mikroorganizmanın türü, sıcaklık değeri,

maruziyet süresi ve ısıtma için kullanılan yöntemden etkilenmektedir (Piqué, Berlanga, ve Miñana-Galbis, 2019). Süre ve sıcaklık parametreleri, mikroorganizmaların ısıl direnci ve spesifik termal dayanıklılığına bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bu koşullar, mikroorganizmanın vejetatif hücre veya spor formunda olması, büyüme ortamının özellikleri, gelişim aşaması ve su aktivitesi gibi faktörlere bağlı olarak şekillenmektedir (Ramkrishna ve diğerleri, 2019). Isıl işlem hücre membranının bütünlüğünü bozarak, enzimleri denatüre ederek veya ribozomların, DNA ve RNA'nın yapısal formunu değiştirerek (DNA filamentlerinin kırılması gibi) mikroorganizmanın inaktivasyonunu sağlayabilmektedir (de Almada ve diğerleri, 2016; Müller, Marczak, ve Sarkis, 2020).

Postbiyotiklerde ısıl işlemlerin hücre yüzeyi pürüzlülüğünü artırdığı ve bu değişikliğin bağışıklık düzenleyici özellikleri etkilediği bildirilmiştir. Daha yüksek sıcaklıklar, hücre yüzeyindeki pürüzlülüğü belirgin şekilde artırırken, bu durum postbiyotiklerin sağlık üzerindeki olumlu etkilerinde azalmaya yol açabilmektedir. De Man, Rogosa ve Sharpe (MRS) brothda yetiştirilen probiyotik laktik asit bakterileri, farklı sıcaklık/zaman kombinasyonlarına (30 dakika boyunca 60 °C, 20 dakika boyunca 80 °C, 5 dakika boyunca 95 °C ve 5 dakika boyunca 100 °C) maruz bırakıldığında, bağışıklık düzenleyici özelliklerinin suşa bağlı olarak değişkenlik gösterdiği saptanmıştır (Ou, Lin, Tsai, ve Lin, 2011). Ayrıca, yüksek sıcaklıkların suşların yapışma kapasitesini azalttığı, bunun da konakçı sağlığını destekleme, bağışıklığı modüle etme ve patojenlere karşı etki gösterme açısından kritik olduğu vurgulanmıştır (Bermudez-Brito, Plaza-Díaz, Muñoz-Quezada, Gómez-Llrente, ve Gil, 2012). Bu bulgular, her suşun inaktivasyon sürecine özel parametreler gerektirdiğini ve üretim sürecinde dikkatle optimize edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (Granato ve de Araújo Calado, 2014).

Mikroorganizmaların inaktivasyonu için ısıl işlem yönteminde çeşitli parametreler kullanılmaktadır. Probiyotiklerin inaktivasyonu için ısıl işlem parametreleri suşa özgü şekilde değişiklik göstermektedir. Örneğin 80 °C'de *L. acidophilus*'un inaktivasyonu 15 dakika sonra, *Lactocaseibacillus casei* ve *B. lactis* BB-12'nin inaktivasyonu ise 10 dakika sonra gerçekleşmiştir. *L. acidophilus* ısıya daha yüksek direnç göstermiştir (Almada, Almada-Érix, Bonatto, ve diğerleri, 2021). Ohmik ısıtma yönteminin kullanıldığı bir çalışmada 95 °C'de *L.*

acidophilus'un inaktivasyonu 5 dakika, *L. casei* ve *B. lactis* BB-12'nin inaktivasyonu 7 dakika sonra gerçekleşmiştir (Barros ve diğerleri, 2021).

Bir çalışmada, *Bacillus amyloliquefaciens* FPTB16 ve *Bacillus subtilis* FPTB13 türleri, catla catla balıklarında *in vitro* immünostimülatör etkilerini değerlendirmek amacıyla 60 °C'de 2 saat boyunca ısıyla inaktive edilmiştir. Elde edilen bulgular, inaktive edilmiş preparatın, hücresel bağışıklık parametrelerini uyarmada canlı uygulamaya kıyasla daha yüksek etkinlik gösterdiğini ortaya koymuştur (Kamilya, Baruah, Sangma, Chowdhury, ve Pal, 2015). Chen ve arkadaşları (2013), iki farklı ısıtma işlemi (100 °C'de 30 dakika ve 121 °C'de 15 dakika) maruz bırakılarak öldürülmüş farklı laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum* ve *Enterococcus faecium*) kombinasyonunun, aynı kombinasyonda canlı suşların kullanıldığı durumla karşılaştırıldığında fare makrofajlarındaki immünomodülatör aktiviteyi daha fazla artırdığını göstermiştir (Chen ve diğerleri, 2013).

Bir başka çalışmada ısıyla inaktive edilmiş *Saccharomyces boulardii* (10⁹ kob/mL) ile oral tedavinin etkisi, faredeki bağırsak tıkanıklığı modelinde değerlendirilmiştir. Sonuçlar, ısıyla öldürülmüş *S. boulardii* ile yapılan ön tedavinin, bağırsak geçirgenliğini fizyolojik seviyelerde tutarak bakteriyel translokasyonu (*E. coli*) ve mukozadaki hasarları anlamlı düzeyde azaltabildiğini (p<0,05) ortaya koymuştur (Generoso ve diğerleri, 2011).

2.4.2. Ultrases Yöntemi ile İnaktivasyon

Ultrases 20.000 Hz frekanstan yüksek yani insanın işitme sınırının üzerinde kalan ses dalgalarıdır. Ultrases dalgaları, mikroorganizmanın hücre membranı üzerinde mikro kesecikler (kavitasyon) meydana getirerek membran yüzeyinde geçici açıklıklar oluşturmasıyla açıklanan sonoporasyona sebep olabilmektedir (Körzendörfer, Schäfer, Hinrichs, ve Nöbel, 2019). Ultrases mikroorganizmaların moleküler arası etkileşimini kırmak üzere kullanılan ısıtma olmayan fiziksel bir yöntemdir (Ramkrishna ve diğerleri, 2019). Ultrases sıvı içerisinde sabit frekansta, ortalama hızda, dik veya enine hız gradyanında ve yüksek ivmede bir probun sinüzoidal hareketinden faydalanmaktadır. Güç miktarı yeteri kadar yüksek ise, sıvı içerisinde mikrogaz kabarcıklar üretilmektedir. Bu mikrokürecikler çökerken,

basınç oluşturan şok dalgaları mekanik kuvvete dönüşmektedir (Joyce, Al-Hashimi, ve Mason, 2011; Ramkrishna ve diğerleri, 2019). Bu sayede hücre duvarı parçalanabilmekte, hücre zarı bütünlüğünü kaybedebilmekte ya da incelmekte ve DNA'nın hasar almasıyla birlikte serbest radikaller açığa çıkmakta, böylelikle bakteriyel inaktivasyon gerçekleşmektedir (de Almada ve diğerleri, 2016; Joyce ve diğerleri, 2011).

Ultrasesin fermente sütteki farklı probiyotik suşların çoğalmasına etkisini incelemek üzere 40 kHz'de 5, 10, 15, 20 dakika ultrases uygulanmıştır. 10 dakika ultrasesin *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. casei* örneklerinde toplam canlı bakteri sayısını ve asiditeyi arttırırken *Bifidobacterium lounge* ve *B. bifidum*'da ise azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, ultrasesin hücre bütünlüğünü bozarak β -galaktosidaz enziminin hücre dışı matriksteki salımında artışını sağlamıştır (Niamah, 2019).

Lactobacillus acidophilus, *B. lactis* BB-12 ve *Lacticaseibacillus casei* subsp. *paracasei* kültürlerini içeren 100 mL'lik süspansiyonlara düşük frekansta (20 KHz), 792 W/cm² ses gücünde ve 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120 dakikalık sürelerde ultrases işlemi uygulanmıştır. *B. lactis* BB-12 30 dakika sonra, *L. acidophilus* ve *L. casei* ise 40 dakika sonra inaktive olmuştur (Almada, Almada-Érix, Bonatto, ve diğerleri, 2021).

Lacticaseibacillus casei 01 suşunu 9 log kob/mL düzeyinde içeren süspansiyona 20 kHz, 40 dakika, 792 W koşullarında ultrases işlemi uygulanarak postbiyotik elde edilmiştir. Elde edilen postbiyotikler ratlarda kardiyovasküler sağlık parametrelerini ve mikrobiyota üzerindeki etkilerini araştırmak üzere 4 °C'de depolanmışlardır. Yirmi dört fare, eşit 4 gruba ayrılarak; gruplara standart diyet, yağdan zengin diyet, yağdan zengin diyet ve canlı *L. casei*, yağdan zengin diyet ve inaktive edilmiş *L. casei* uygulanmıştır. Canlı ve inaktive edilmiş olan *L. casei* yağdan zengin beslenen farelerde toplam kolesterol ve LDL gibi lipid profillerindeki artışı anlamlı olarak önlemiştir (p<0,05). Ayrıca mikrobiyotadaki faydalı mikroorganizmaları (*Lachnospiraceae* ve *Ruminococcaceae*) arttırarak ve zararlı mikroorganizmaları (*Clostridaceae*, *Enterobacteriaceae* ve *Helicobacteriaceae*) azaltarak bağırsaktaki mikroorganizma bileşimini modüle etmiştir (p<0,05). Yalnızca canlı *L. casei* iyi kolesterol

olarak bildiğimiz HDL değerini arttırmış ve yalnızca inaktive edilmiş *L. casei* kan basıncında düşmeye neden olmuştur ($p<0,05$) (Brandão ve diğerleri, 2021).

Shin ve arkadaşları (2010), ultrases yöntemiyle inaktive edilmiş *Bifidobacterium longum* SPM1207 suşunun oral yolla uygulanmasının sıçanlarda serum kolesterol seviyeleri üzerindeki etkisini araştırmıştır. Araştırmacılar, inaktive edilmiş *B. longum* SPM1207'nin kolesterol düşürücü bir ajan olarak önemli bir potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, bu inaktive edilmiş mikroorganizmanın vücut ağırlığındaki artışı önleyebileceği ve kabızlığı hafifletebileceği veya tamamen ortadan kaldırabileceği gözlemlenmiştir (Shin ve diğerleri, 2010).

2.5. Tez Kapsamında Kullanılan Patojen Mikroorganizmalar ve Postbiyotiklerin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Probiyotiklerin sağladığı faydalar arasında, patojen kaynaklı enfeksiyonlara karşı organizmanın korunması önemli bir yere sahiptir. Probiyotik mikroorganizmaların patojenleri engelleme mekanizmaları; laktik asit ve/veya bakteriyosin üretimi yoluyla patojenlerin doğrudan inaktivasyonu, bağırsak duvarındaki hücrelere yapışmalarını engelleyen antagonistik etkiler ve mukoza yüzeyinde IgA sentezinin uyarılması gibi süreçleri kapsamaktadır (Bermudez-Brito ve diğerleri, 2012; Medici, Vinderola, Weill, ve Perdigon, 2005). Postbiyotikler bunun yanında organizmayı enfeksiyonlara karşı koruma kapasitesine de sahiptir (de Almada ve diğerleri, 2016). Postbiyotiklerin, bağırsak homeostazını desteklemenin yanı sıra, gastrointestinal enfeksiyonlar ile ilişkili hastalıkların oluşma riskini de kayda değer ölçüde azalttığı belirtilmektedir. Postbiyotik bileşenlerin, bakteriyel reseptörlere bağlanarak toksin üreten *Clostridium* türleri ve *Escherichia coli* gibi patojenik mikroorganizmaların bağırsak lümeninden uzaklaştırılmasına katkı sağladığı bilinmektedir (Liang ve Xing, 2023). Antimikrobiyal aktiviteleri sayesinde bu bileşenler, patojen bakterilerin etkisini baskılayarak enfeksiyonların ve bu enfeksiyonlara bağlı gelişebilecek hastalıkların önlenmesinde faydalı bir rol üstlenmektedir (Liang ve Xing, 2023; Ozma, Fadaee, Hosseini, Ataee, ve Mirhosseini, 2025; Soltani ve diğerleri, 2021).

Meyve ve sebzelerden elde edilen taze içecek sularında postbiyotiklerin tek başına kullanımı, yeterli antimikrobiyal etki sağlayabilmektedir. Postbiyotik bileşiklerden üretilen çeşitli antimikrobiyal ajanlar, yapay koruyuculara alternatif olarak daha doğal koruma yöntemleri sunabilir. Bu durum, ürünlerin tüketiciler için daha ilgi çekici hale gelmesine ve tercih edilmesine katkı sağlayabilir (İcier, Güzelcan, Hıdır, ve Türköz, 2022).

Mayalarla yapılan bir çalışmada, potansiyel probiyotik *S. cerevisiae* IFST 062013 lizatının, mayanın kendisine kıyasla daha güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir (Fakruddin, Hossain, ve Ahmed, 2017).

Bağırsak mukozasının *in vitro* modelleri (HT29-MTX hücreleri) üzerinde yapılan çalışmalar, ısıyla inaktive edilmiş probiyotik suşların kombinasyonunun (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus* ve *Saccharomyces boulardii*) bağırsak hücrelerini *E. coli* enfeksiyonundan koruyabileceğini göstermiştir. Bu koruyucu etkiler, bakterilerin hücrelere tutunup yapışmasını ve internalizasyonunu engelleyerek, hücreler arası geçirgenlik artışını önleme, sıkı bağlantı proteinleriyle (klaudin) birbirine tutunmuş hücrelerin işlevini ve membran bütünlüğünü geri kazandırma ile sitokin gen ekspresyonunu düzenleme mekanizmaları yoluyla gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Servi ve Ranzini, 2017).

2.5.1. *Escherichia coli*

Alman çocuk hekimi Theodor Escherich'ten adını alan *Escherichia* cinsi, Enterobacteriaceae ailesine mensup fakültatif anaerobik, gram-negatif, çomak şeklinde ve spor oluşturma yeteneği olmayan bir mikroorganizmadır (Ewing, 1986). Bu cinse ait bir tür olan *Escherichia coli*, insan ve sıcakkanlı hayvanların kolonunda yaygın olarak bulunan başlıca mikroorganizmalardandır (Conway, 1995). *E. coli*'nin büyük bir kısmı bağırsakta zararsız bir şekilde doğal olarak bulunmakta ve sağlıklı bireylerde genellikle hastalığa yol açmamaktadır. Ancak, bazı patojenik suşlar hem sağlıklı bireylerde hem de bağışıklık sistemi düşük olanlarda bağırsakla sınırlı veya bağırsak dışı enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Kaper, Nataro, ve Mobley, 2004). *E. coli*, fekal kontaminasyon ve hijyen göstergesi olarak değerlendirilebilmektedir. Gıda işletmelerinde, üretim süreçlerinin güvenilirliğinin, personel

hijyeninin ve personel kaynaklı bulaşı riskinin değerlendirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Hem insanlarda hem de hayvanlarda *E. coli* enfeksiyonları, ciddi klinik belirtilerle seyreden hastalıklara yol açabilmektedir. İnsanlara genellikle fekal kontaminasyon veya gıdalar aracılığıyla bulaşarak sağlık üzerinde ciddi tehditler oluşturabilmektedir. *E. coli*'nin başlıca bulaşı kaynakları, sığır, geyik, koyun, keçi, domuz, kedi, köpek ve kuş gibi hayvanların dışkılarıdır. İnsanlara geçişi; hayvanlarla doğrudan temas, hayvan dışkısıyla kontamine olmuş gıda ve su tüketimi veya enfekte bireylerle temas yoluyla gerçekleşebilmektedir (Gündüz, Karabıyıklı Çiçek, ve Bekteş, 2024).

E. coli suşlarının çoğu, doğal bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olarak patojenik özellik göstermez ve bağırsak mikrobiyotasının sağlıklı işleyişi için gerekli mikroorganizmalardandır. Ancak bu suşlar, bağışıklık sistemi zayıflamış organizmada veya bakterinin bağırsak epitelindeki koruyucu bariyeri geçmesiyle beraber enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Gündüz ve diğerleri, 2024). *E. coli*'nin insanlarda gastrointestinal sistem hastalıklarına yol açan türleri klinik bulgular, patojenik mekanizmalar, O:H serotipleri ve virülans faktörlerine göre altı grupta sınıflandırılmaktadır. Bu gruplar; Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enteroinvazif *E. coli* (EIEC), Enteroaggregatif *E. coli* (EAEC veya EAggEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), Diffüz adeziv *E. coli* (DAEC)'dir (Gündüz ve diğerleri, 2024). Patojenik *E. coli* gruplarından EPEC, ETEC ve EIEC'in kaynağı insanlardır. Bu gruptaki patojenler, kanalizasyon sistemleri veya gıda işleme süreçleri vasıtasıyla gıdalara bulaşabilmektedir. EHEC'in bulaşı kaynağı ise süt sığırlarıdır ve bu gruptakiler, hayvan dışkısıyla kontamine olmuş gıdalara, et ve süt ürünlerinin işlenmesi sırasında geçebilmektedir (Karapınar ve Aktuğ Gönül, 2015).

2.5.2. *Enterococcus faecalis*

Enterococcus cinsi, tek kok veya zincirler halinde bulunabilen, gram-pozitif, katalaz testi negatif, spor oluşturma yeteneği bulunmayan ve fakültatif anaerobik özellik taşıyan bakterilerden oluşmaktadır. Enterokoklar, bakteriyosin sentezleme kapasitesine sahip laktik asit bakterileri grubuna dahil organizmalardır. *E. faecalis*, çevresel etkilere karşı yüksek tolerans gösteren bir türdür ve geniş bir sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonu aralığında yaşamını sürdürebilmektedir (Fisher ve Phillips, 2009). *E. faecalis*, 60 °C'de 30 dakika

boyunca ısıl işleme dayanıklılık gösterebilmekte olup, bu özellik *Enterococcus* türlerinin *Streptococcus* gibi ilgili yakın cinslerden ayrılmasını sağlayan bir kriterdir (Moreno, Sarantinopoulos, Tsakalidou, ve De Vuyst, 2006).

Günümüzde 40'tan fazla *Enterococcus* türü tanımlanmıştır. *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* türleri, insan bağırsak mikrobiyotasının doğal birer üyesi olarak yaygın şekilde bulunmaktadır (Klein, 2003). *E. faecalis*, hem sağlıklı hem de patolojik durumlarda çeşitli roller üstlenmektedir. Normal bağırsak mikrobiyotasının bir üyesi olarak, sağlıklı bireylerde genellikle zararsızdır ve bağırsak mikrobiyal dengesinin sürdürülmesine katkıda bulunur. Ancak, bağışıklık sisteminin zayıfladığı durumlarda veya antibiyotik kullanımı sonrası bağırsak mikrobiyotasının bozulmasıyla birlikte, fırsatçı bir patojen olarak enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Gilmore, Clewell, Ike, ve Shankar, 2014). Enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar arasında bakteriyemi, idrar yolu enfeksiyonları, endokardit, hepatobiliyer sepsis, cerrahi yaraların enfeksiyonları ve neonatal sepsis gibi çeşitli klinik tablolar yer almaktadır (Poh, Oh, ve Tan, 2006). Son on yılda yapılan çalışmalar, enterokokların yara ve idrar yolu enfeksiyonlarında ikinci, bakteriyemi vakalarında ise üçüncü en sık etken olarak rapor edildiğini göstermektedir (Lopes ve diğerleri, 2005). Klinik enfeksiyonlarla en sık ilişkilendirilen tür *E. faecalis* iken, *E. faecium* de ciddi bir antibiyotik direnç riski teşkil etmektedir (Giraffa, 2002).

2.6. Postbiyotikler Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Sugawara ve arkadaşları (2016), 10^{10} kob/g düzeyinde ısı ile inaktive edilmiş *Lactobacillus gasseri* CP2305 hücrelerini bir içeceğe eklemiş ve bu içecek, 3 hafta boyunca her gün 118 gönüllü tarafından bu içecek tüketilmiştir. CP2305 eklenmiş içeceği tüketen grubun, plasebo grubuna kıyasla dışkılama sıklığında ve dışkı kokusu skorlarında istatistiksel olarak anlamlı iyileşmeler gösterdiği belirlenmiştir. Mikrobiyal metabolitlerin fekal içeriği incelendiğinde, CP2305 grubunun fekal p-kresol seviyesinin plasebo grubuna kıyasla belirgin bir şekilde düştüğü gözlenmiştir. CP2305 grubunun bağırsak mikrobiyotasında *Bifidobacterium* içeriği önemli düzeyde artış gösterirken, *Clostridium* küme IV içeriği önemli düzeyde azalmıştır. Bunun yanı sıra, CP2305 grubunda otonom sinir sisteminde parasempatik aktivitenin baskın

hale geldiği ve toplam otonom aktivitenin de önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Sugawara ve diğerleri, 2016).

Berni Canani ve arkadaşları (2017), *L. paracasei* CBA L74 ile fermente edilmiş süte 85 °C'de 20 saniye süreyle ısıtılmış ve ardından bu karışımı püskürtürerek kurutmuştur. Hazırlanan bu karışım, 12-48 aylık sağlıklı çocuklara 3 ay boyunca tüketirilmiş. Üç aylık sürenin sonunda, inaktive edilmiş *L. paracasei* hücreleri içeren sütü tüketen çocukların kolon mikrobiyota bileşeninde, plasebo grubuna kıyasla Laktobasillerin miktarının arttığı ve bütirat üretiminin desteklendiği bildirilmiştir (Berni Canani ve diğerleri, 2017).

Sugawara ve arkadaşları (2020), insan fekal örneklerinden izole ettikleri *Lactobacillus amylovorus* CP1563'ü gıda ortamında çoğaltmış, santrifüj yöntemiyle hücreleri ayırmış, ardından bu hücrelere bir ısıtılmış işlem uygulamış (ısıtılmış işlem detayları belirtilmemiş) ve liyofilizasyon yöntemiyle kurutmuştur. Elde edilen toz form, içecek üretiminde kullanılmış ve bu içeceklerin obeziteyi önlemedeki etkisi randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir klinik çalışma ile değerlendirilmiştir. Çalışmada, paraprobiyotik pre-obez bireylerde kolon mikrobiyotasını (*Roseburia* ve *Lachnospiraceae* cinslerinin artışıyla) modifiye ederek obezitenin önlenmesine yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır (Sugawara ve diğerleri, 2020).

Almada ve arkadaşları (2021), probiyotik mikroorganizmaların (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactocaseibacillus casei* subsp. *paracasei* ve *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 12) altı farklı yöntemle (ısıtılmış, ultrases, yüksek pH, düşük pH, ışınlama ve süperkritik CO₂) inaktive ederek, elde edilen inaktive probiyotiklerinin Wistar sıçanlarının bağırsak mikrobiyotası ve biyokimyasal parametreleri üzerindeki etkilerini incelemiştir. Günlük paraprobiyotik alımının kontrol grubuna kıyasla gıda tüketimi, beden ağırlığı, glukoz ve trigliserit düzeyleri, antioksidan enzimlerin ekspresyonu veya ısıtılmış şok proteinleri üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamıştır (p>0,05). Bununla birlikte, ışınlama ve süperkritik CO₂ ile inaktive edilen *B. lactis* BB-12, serumdaki toplam kolesterol düzeylerini düşürmüştür (p<0,05). Süperkritik CO₂ ile inaktive edilen *B. lactis* BB-12 ise albümin ve kreatinin seviyelerini artırırken, HDL-kolesterol düzeylerini düşürmüştür (p<0,05). Paraprobiyotik gruplarda *Clostridia* (%45,6-56),

Bacteroides (%31,9-44,2) ve Laktobasiller (%3,9-7,8) ana mikrobiyota üyeleri olarak tespit edilmiştir. Çalışma, postbiyotiklerin etkilerinin, inaktivasyon yöntemi, kullanılan yöntemin şiddeti ve bakteriyel suşun özelliklerine bağlı olduğunu ortaya koymuştur (Almada, Almada-Erix, ve diğerleri, 2021).

Almada ve arkadaşları (2021b), *B. lactis* BB-12 probiyotik bakterisini MRS broth ortamında çoğaltmış, santrifüj yöntemi ile 10^7 kob/mL yoğunluğunda bakteri hücrelerini toplamış ve bu hücreleri gama ışını (2,5 kiloGray) yöntemiyle inaktive etmiştir. Araştırmacılar, ışınlanmış probiyotik bakteri hücrelerini makarna üretiminde kullanarak bu makarnanın sıçanlarda çeşitli biyokimyasal parametreler (total kolesterol, kan glukoz seviyeleri) ve kolon mikrobiyotası üzerindeki etkilerini incelemiştir. İnaktive probiyotik bakteri hücrelerini içeren makarnanın, kontrol grubuna (standart diyetle beslenen sıçanlar) göre total kolesterol ve kan glukoz seviyelerini anlamlı derecede azalttığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Kolon mikrobiyotasına etkileri açısından, inaktive probiyotik bakteri hücrelerini içeren makarnayı tüketen grupta *Firmicutes* ve *Actinobacteria*'ların sayısının yalnızca makarna tüketen gruba göre daha fazla, *Bacteroides*'in sayısının ise daha düşük olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir (Almada, Almada-Erix, Costa, ve diğerleri, 2021).

Molae Parvarei ve arkadaşları (2021a), *Lactobacillus acidophilus* ATCC SD 5221 ve *B. lactis* BB-12 bakterilerini suya ekleyip otoklavda 121 °C'de 15 dakika ısı uygulayarak inaktive etmiş ve bu inaktive edilmiş mikroorganizmaları yoğurt üretiminde kullanmıştır. İnaktive bakterilerle hazırlanan yoğurt, paraprobiyotik yoğurt olarak adlandırılmış ve fizikokimyasal ile teknolojik özellikleri, probiyotik yoğurtla karşılaştırılmıştır. Paraprobiyotik içeren yoğurdun, starter kültürlerin canlılığını artırdığı, probiyotik yoğurda göre daha düşük sinerez ve daha yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda, paraprobiyotiklerin yoğurda eklenmesinin daha az teknolojik zorluk oluşturduğu ve fonksiyonel yoğurt üretiminde probiyotikler için uygun bir alternatif olabileceği değerlendirilmiştir (Parvarei, Fazeli, ve diğerleri, 2021).

Molae Parvarei ve arkadaşları (2021b), inaktive edilmiş *Lactobacillus acidophilus* ATCC SD 5221 ve *B. lactis* BB-12 bakterilerini yoğurda fermentasyon öncesinde ve sonrasında

ekleyerek paraprobiyotik ilavesinin mikroyapı üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir. Fermantasyon öncesinde paraprobiyotik eklenen yoğurtlar, daha açık renkli ve büyük gözenek boyutlarına sahip bir yapı sergilemiş ve probiyotik yoğurtlara kıyasla farklı bir mikroyapı göstermiştir. Fermantasyondan sonra paraprobiyotik eklenen yoğurtlar ise kompakt bir yapıyla birlikte açık ve gevşek bir yapı ortaya koymuştur. Probiyotik ve paraprobiyotik eklenmeyen yoğurt örneklerinde ise süngerimsi ve açık bir yapı gözlemlenmiştir. Fermantasyon öncesinde inaktive edilmiş *L. acidophilus* ATCC SD 5221 ve *B. lactis* BB-12 hücreleri ilave edilen örnek, ekzopolisakkaritler ve hücre bileşenlerinin varlığı sayesinde en düşük sinerez, en yüksek su tutma kapasitesi ve en yüksek görünür viskozite değerlerine ulaşmıştır (Parvarei, Khorshidian, ve diğerleri, 2021).

Xu ve arkadaşları, *B. lactis* BB-12 RH'den izole edilen saflaştırılmış ekzopolisakkaritlerin (EPS) *in vivo* ve *in vitro* antioksidan özelliklerini araştırmıştır. Çalışmada, iki tür EPS fraksiyonu incelenmiştir: nötr EPS fraksiyonu (EPSa) ve asidik EPS fraksiyonu (EPSb). *B. animalis* RH'nin büyüme ortamından elde edilen ham EPS, anyon değişim kromatografisi yöntemiyle analiz edilmiş ve önceki çalışmalarda belirtildiği gibi elüsyon eğrisinde iki farklı pik gözlemlenmiştir. İlk pik, yüksüz nötr polisakkariti (EPSa), ikinci pik ise negatif yüklü asidik polisakkariti (EPSb) temsil etmiştir. *In vitro* analizler, hem EPSa'nın hem de EPSb'nin lipid peroksidasyonunu engellemede etkili olduğunu, ancak EPSb'nin bu konuda EPSa'ya göre daha güçlü bir etki gösterdiğini ortaya koymuştur ($p<0,01$). DPPH radikali temizleme kapasitesinde de EPSb, EPSa'dan daha üstün bir aktivite göstermiştir ($p<0,05$). Benzer şekilde, hidroksil radikali temizleme aktivitesinde de EPSb, EPSa'dan daha etkili bulunmuştur ($p<0,01$). Süperoksit anyon radikali, oldukça zararlı bir serbest radikal olarak kabul edilmektedir. Süperoksit anyon radikali temizleme aktivitesine ilişkin ölçümler, EPSa için $25,63 \pm 1,33$, EPSb için $31,65 \pm 0,95$ olarak kaydedilmiştir. Bununla birlikte, süperoksit anyon radikali temizleme kapasitesi açısından her iki EPS fraksiyonunun benzer etkiler gösterdiği belirlenmiştir ($p>0,05$). Aynı çalışmada, fareler üzerinde *in vivo* testler de gerçekleştirilmiştir. Toplam 60 fare rastgele seçilerek eşit sayıda 5 gruba ayrılmıştır: Normal grup salin çözeltisiyle, model grup salin çözeltisi ve D-galaktoz ile, pozitif kontrol grubu C vitamini ve D-galaktoz ile, EPSa grubu EPSa ve D-galaktoz ile, EPSb grubu ise EPSb ve D-galaktoz ile 30 gün süresince günde bir kez beslenmiştir. Deney sonunda, farelerden alınan

kan serumları analiz edilerek süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri, malondialdehit (MDA) seviyeleri ve toplam antioksidan kapasitesi (TAOC) ölçülmüştür. Sonuçlar, EPSa ve EPSb'nin farelerde yaşlanma sürecini etkili bir şekilde engelleyip inhibe edebileceğini ortaya koymuştur. Ancak, EPSb'nin antioksidan etkisinin EPSa'ya kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Özellikle, SOD ($p<0,05$) ve TAOC ($p<0,05$) değerleri EPSb grubunda daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgular, elde edilen EPS'lerin doğal antioksidanlar olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur (Xu, Shang, ve Li, 2011).

Isıyla inaktive edilmiş *B. lactis* BB-12'den ve canlı *B. lactis* BB-12'den elde edilen biyofilmlerin *Streptococcus mutans*'a karşı karyojenik etkisini araştıran bir çalışmada, ısıyla inaktive edilmiş olan *B. lactis* BB-12'nin dentin boşluklarındaki *S. mutans*'ın karyojenikliğini canlı forma kıyasla anlamlı düzeyde ($p<0,01$) azalttığı sonucuna ulaşılmıştır. Postbiyotiklerin diş çürüklerinin önlenmesi veya kontrolünde kullanılabilmek potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Schwendicke, Horb, Kneist, Dörfer, ve Paris, 2014).

Ostad ve arkadaşları (2009), ısıyla inaktive edilmiş bazı Laktobasil türlerinin (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus agilis* ve *Lactobacillus casei*) Caco-2 hücreleri üzerindeki *Salmonella typhi* ve *Escherichia coli*'nin yapışma yeteneği üzerine etkilerini incelemiştir. Isıyla inaktive edilmiş mikroorganizmanın canlılığını koruyan mikroorganizmalara benzer şekilde patojenik mikroorganizmaların yapışmasını engellediği saptanmıştır (Ostad ve diğerleri, 2009).

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu tez çalışmasının temel probiyotik mikroorganizması olan *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, Chr. Hansen firmasından (Kopenhag, Danimarka) temin edilmiştir. Probiyotik mikroorganizma için uygun gelişme ortamı MRS broth (Millipore, Merck, Darmstadt, Almanya) ile sağlanmıştır. Gelişme sonrası sayım için gereken seyreltme işlemleri için peptonlu su (Biokar, 1 g/L) kullanılmıştır. Her seyreltme adımında vorteks (622.01.001, Isolab, Eschau, Almanya) kullanılmıştır. Seyreltme sonrası ısıtıcılı manyetik karıştırıcılı (C-MAG HS10, IKA®-Werke GmbH ve Co. KG, Staufen Almanya) yardımıyla hazırlanan MRS agar'a (Millipore, Merck, Darmstadt, Almanya) ekim yapılarak probiyotik mikroorganizmalar petride geliştirilmiş daha sonra da sayımları yapılmıştır. Tüm bu adımlarda mikroorganizmanın gelişmesi için gerekli uygun sıcaklık inkübatörle (MSI 55, Mikrotest, Ankara, Türkiye) sağlanmıştır. İnkübasyon işlemleri için gerekli oksijensiz ortam ise anaerobik jar (Millipore, Merck) ve Anaerocult A (Millipore, Merck) kullanılarak sağlanmıştır. Analiz süreçlerindeki gerekli malzemelerin sterilizasyonu için otoklav (GI54 TW, Zealway, Fujian, Çin) kullanılmıştır.

Hedeflenen sayıda çoğaltılmış olan probiyotik bakteri postbiyotik eldesi için ısıl işlem ve ultrases olmak üzere iki farklı teknikle işlenmiştir. Isıl işlemle probiyotiklerin inaktive edilmesinde su banyosu (602.01.001, Isolab, Eschau, Almanya) kullanılmıştır. İkinci yöntem olan ultrases yöntemi için de ultrases homojenizatöründen (Sonopuls HD4200, Bandelin, Berlin, Almanya) yararlanılmıştır. Ultrases cihazında düşük hacimlerde çalışma imkanı veren ve en yüksek genlik değerine ulaşabilmeyi sağlayan prob ile (TS 103, Bandelin, Berlin, Almanya) çalışılmıştır. Ultrases işlemi sürerken sıcaklık ölçümü için sıvı besiyerine daldırılabilen esnek tipte ve metal kaplama bir prob (Testo, Kod: 0602 0593) ve buna uygun bir sıcaklık ölçer (Testo 922, Kod: 0563 0922) kullanılmıştır.

Probiyotik Geliştirici Aktivite (PGA) analizleri için *Lacticaseibacillus casei* 431 (nu-trish® *L.casei* 431®, Kopenhag, Danimarka) ve *Bifidobacterium* kültürü (Freeze dried cultures, Direct Bifi, CSL) kullanılmıştır. Faz ayrımları santrifüj cihazı (NF800, Nüve, Ankara,

Türkiye) ile yapılmıştır. Örnekler naylon polyamid materyalde 0,22 µm şırınga filtreler (Isolab, Eschau, Almanya) yardımı ile filtre edilmiştir. Eppendorftaki örnekler ise çalkalayıcı (Multi Bio RS-24, Biosan, Letonya) ile karıştırılmıştır. Kısa zincirli yağ asidi (KZYA) analizleri için alev iyonizasyon dedektörlü (FID) gaz kromatografisi (GC-FID) cihazı (7890A, Agilent Technologies, SantaClara, ABD) kullanılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite analizleri için *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433) ve *Escherichia coli* (ATCC 25922) kullanılmıştır. Örneklerin dalga boyu ölçümü spektrofotometre (UV1600 PC, VWR, Radnor, PA, ABD) ile yapılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12'nin Aktifleştirilmesi

MRS broth 52,2 g/L olacak şekilde saf su içerisinde eritilmiş, amaca uygun kaplara dağıtılmış ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. 0,01 g/mL *B. lactis* BB-12, %0,05 (hacimce) oranında sistein içeren steril 10 mL MRS broth'a aktarılmıştır. Tartım öncesi tartım kabı, spatül, hassas terazinin kendisi alkolle silinmiş ve aseptik bir çalışma ortamı sağlanmaya çalışılmıştır. Besiyerinde 37 °C'de 24 saatlik inkübasyon sonrası, sayım için örnek broth'tan peptonlu suya seyreltme dizileri MRS agara dökme plak yöntemiyle petrilere ekim yapılmıştır. Petriler anaerobik jarda, Anaerocult A kullanılarak inkübasyona bırakılmıştır. 37 °C'de 48 saat inkübasyon sonrasında petrilere bakteri kolonileri gözlemlenmiştir. Koloni oluşumu daha sonra Terzaghi ve Sandine (1975) tarafından açıklanan yöntem izlenerek LED aydınlatma altında değerlendirildi. Sonuçta, petrilere gözlenen koloni gelişiminin hedeflenen 10⁹ kob/mL canlılık düzeyine ulaştığı belirlenmiştir.

3.2.1.1. Yarım Anaerocult A Kullanımı

Çalışma boyunca analizler için çok yüksek miktarlarda Anaerocult A kitine ihtiyaç duyulacağı ve maliyetlerin çok yüksek olacağı öngörülmüştür. Bundan dolayı, maliyeti de azaltabilecek bir deneme olarak, inkübasyonda Anaerocult A kitinin ortadan kesilerek yarım olarak kullanılması denenmiştir. Son denemedeki gibi *B. lactis* BB-12'nin hazırlanması, aktifleştirilmesi ve inkübasyonu sürecinde başka herhangi bir değişikliğe gitmeden, sadece

anaerobik jara Anaerocult A kitinin tamamının ve ortadan makasla kesilmiş yarısının konulduğu ayrı gruplar halinde işlemler yenilenmiş, 3 paralel 10^7 , 10^8 , 10^9 düzeylerindeki seyreltmelerle ekimler yapılarak petriler inkübasyona bırakılmıştır. 37 °C’de, 48 saat inkübasyon sonrası petrilerdeki gelişim düzeyi incelendiğinde, Anaerocult A kitinin tam olarak kullanımı ile ortadan ikiye kesilerek yarım olarak kullanımı arasında *B. lactis* BB-12 gelişimi açısından bir fark olmadığı belirlenmiştir. Bundan dolayı, bundan sonraki işlemlerde Anaerocult A kitinin ortadan ikiye kesilerek kullanılmasına karar verilmiştir. Probiyotik bakteri hedeflenen düzeyde (10^9 kob/mL) aktiveleştirildikten sonra postbiyotik elde etme aşamasına geçilmiştir.

3.2.2. Postbiyotik Üretimi

Bu çalışmada, gıda endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanılan ve farklı bakteri inaktivasyon mekanizmalarına sahip olan ultrases ve ısıt işlem yöntemleri tercih edilmiştir. Her bir işlem koşuluna uygun olarak hazırlanan numuneler, inaktivasyon düzeylerini değerlendirmek amacıyla geleneksel mikroorganizma sayım yöntemleriyle incelenmiş ve ilgili deneysel analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1. Isıt İşlem Yöntemi ile İnaktivasyon

Isıt işlem uygulaması su banyosunda (Isolab, 602.01.001) farklı sıcaklık (65-95 °C) ve ısıt işlem süresi (5-90 dakika) aralıklarında probiyotik inaktivasyonu gerçekleştirilmiştir. 10^9 kob/mL düzeyinde *B. lactis* BB-12 içeren MRS broth (her örnek grubu için kontrol ekimi yapılarak inkübasyon sonrası sayımlarla canlılık düzeyi kontrol edilmiştir) ısıt işlem için kararlaştırılmış işlem sıcaklığına ulaştıktan sonra işlem süresinin başlatılmasına karar verilmiştir.

Her koşul için MRS broth hazırlanmıştır. Brothlar otoklavlandıktan ve yöntemde belirlenen miktarda *B. lactis* BB-12 ilave edildikten sonra 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiş ve probiyotik mikroorganizmaların gelişimi sağlanmıştır. Su banyosuna bırakılan örneklerin işlem sıcaklığına ulaşması için gerekli süreler farklı sıcaklık parametreleri için ayrı ayrı belirlenmiştir. Örnekler su banyosuna bırakılıp hedeflenen sıcaklığa ulaştıktan sonra işlem

süresi başlatılmıştır. Örnekler su banyosuna su seviyesi en az tüpteki broth seviyesinde olacak şekilde metal tüplüklere dizilerek işlem gerçekleştirilmiştir. *B. lactis* BB-12 içeren broth'lar Tablo 3.1'de sunulan deneme planına göre farklı sıcaklık ve sürelerde su banyosunda (602.01.001, Isolab, Eschau, Almanya) bekletilerek ısıya maruz bırakılmış, böylece probiyotik mikroorganizmanın inaktivasyonu sağlanmıştır. İnaktive edilen brotlardaki canlı probiyotik sayısının belirlenmesi için MRS agara ekimler gerçekleştirilmiş ve inkübasyon sonrası sayımları yapılmıştır.

Tablo 3.1. Isıl İşlem Yöntemi ile İnaktivasyon Parametreleri

Üretim No	Isıl İşlem	
	Sıcaklık (°C)	Süre (dak)
1	65	30
2	65	45
3	65	60
4	65	90
5	75	15
6	75	30
7	75	45
8	75	60
9	85	10
10	85	15
11	85	30
12	85	45
13	95	5
14	95	10
15	95	15
16	95	30

3.2.2.2. Ultrases Yöntemi ile İnaktivasyon

Bu çalışmada ultrases ile probiyotiklerin ölümlerinin gerçekleştirilerek, elde edilecek postbiyotiklerin aktivite özelliklerinin ortaya konulması ve bu şekilde ısıl işlemle ultrases işleminin kullanılmasından kaynaklanabilecek farklılıkların ortaya konulması planlanmıştır. Bu doğrultuda, Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında bulunan ultrases homojenizatörü (Sonopuls HD 4200, Bandelin, Berlin, Almanya) cihazından yararlanılarak ultrases işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bu cihazla 20 kHz sabit frekansta ultrases dalgaları üretilirken, dalgaların genlik değerleri ayarlanabilmekte ve bu şekilde akışkana aktarılan ultrases şiddeti değiştirilebilmektedir. Bu cihaz ile uyumlu olan problar içerisinde, düşük hacimde çalışılabilme olanağı sunan ve en yüksek genlik değerlerinin elde edilmesine olanak tanıyan prob (TS 103, Bandelin, Berlin, Almanya) kullanılarak denemeler gerçekleştirilmiştir. Bu prob ile 5-90 mL arası hacimlerde çalışılabilir. Ayrıca, bu prob ile yüzde değerlerle ifade edilen farklı değerlerde genlik ayarlanmakta (%20-65 aralığında ayar yapılabilme) ve bu genlik değerleri 98-320 μm aralığına denk gelmektedir. Firma ile yapılan yazışmalarda, ilgili prob ile çalışırken cihazdaki minimum ayar değeri olan %20 genlik ayarlaması ile 98 μm , %35 genlik ayarlaması ile 172 μm , %50 genlik ayarlaması ile 246 μm ve cihazdaki maksimum ayar değeri olan %65 genlik ile ise 320 μm genlik değerleri elde edilebildiği bilgisi edinilmiştir.

Ultrases işlemi kullanılarak mikroorganizma ölümlerinin çalışıldığı literatürde çeşitli çalışmalar vardır. Bu kapsamda, az sayıda olmakla beraber postbiyotik eldesi ile probiyotik ölümü üzerine de ultrases uygulamasının kullanıldığı çalışmalar vardır. Ancak, literatür çalışmalarında sıklıkla uygulanan ultrases etkisi aktarılan enerjinin bir ifadesi olan “güç” gibi parametrelerle ifade edilmekte ve bu durum ultrases şiddetinin tam karşılığını oluşturmamakta, literatürde çalışılan koşulların başka cihazlarla tekrarlanabilirliğinin önüne geçmektedir. Ultrases işleminin probiyotik ölümü için uygulanmasında ifade edilen bu zorluklardan ötürü, öncelikle elimizdeki cihaz ve prob koşulları ile probiyotik ölümlerinin sağlanabileceği işlem koşullarının belirlenmesi ve deneme planının hazırlanması gerekmiştir. Bu amaçla ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Yapılan ön denemeler sonucu bu yöntem için de ısıl işlemde olduğu gibi 16 farklı inaktivasyon koşulları belirlenmiş ve bu koşullar Tablo 3.2’de paylaşılmıştır.

B. lactis BB-12, 1×10^{-12} g/mL düzeyine karşılık gelecek seyreltmelerle üretildiğinde, 10^5 - 10^6 kob/mL düzeylerinde canlılığın elde edilebileceği belirlenmiştir. Ultrases işlemi ile probiyotik inaktivasyonu amacıyla yapılan denemeler süreci; işlem süresince sıcaklığı sabit tutmaya çalışmak, düşük hacimde çalışma kısıtlılığı gibi zorluklarından, cihazda yaşanan sorunlardan ve süreçte yöntemde yapmamız gereken modifikasyonlardan ötürü uzun sürmüştür. Bu süreçte örnek kararlılığını sağlamak için 1×10^{-8} ve 1×10^{-10} örnekleri sonraki işlemlerde kullanılmak üzere stoklanmıştır. Ultrases işlemi boyunca stoklardan seyreltilen örneklerin sıcaklıkları 60-65 °C aralığında tutulmuş ve bunu sağlayabilmek için karlı-soğuk su kullanılmıştır.

Tablo 3.2. Ultrases Yöntemi ile İnaktivasyon Parametreleri

Üretim No	Ultrases İşleme	
	Genlik (μ m)	Süre (dak)
1	98	15
2	98	30
3	98	45
4	98	60
5	172	15
6	172	30
7	172	45
8	172	60
9	246	15
10	246	30
11	246	45
12	246	60
13	320	15
14	320	30
15	320	45
16	320	60

3.2.3. Probiyotik Geliştirici Aktivite

Probiyotik gelişimini arttırıcı aktivite analizindeki temel amaç, postbiyotiklerin probiyotik niteliği halihazırda bilinen mikroorganizmaların bulunduğu ortama ilave edilmesi durumunda, probiyotiklerin gelişimini arttırıp arttırmadığını, arttırıyorsa bu artışın düzeyini belirlemektir.

Probiyotik geliştirici aktivite testi, postbiyotiklerin bu mikroorganizmalarla birlikte bulunduğu bir ortamda probiyotik hücrelerin çoğalma kapasitesi üzerindeki etkisini incelemek amacıyla tasarlanmıştır. Bu testin temel amacı, postbiyotiklerin probiyotik suşların canlılık ve çoğalma oranlarını artırma potansiyelini ortaya koymaktır. Çalışmada, postbiyotiklerin olası prebiyotik benzeri etkilerini değerlendirmek üzere Huebner ve arkadaşları (2007) tarafından tanımlanan yöntem esas alınmış, bu yöntem probiyotik-postbiyotik etkileşimini değerlendirecek şekilde modifiye edilmiştir (Huebner, Wehling, ve Hutkins, 2007). Bu sayede, postbiyotiklerin doğrudan probiyotik büyümeyi teşvik etme kapasitesi nicel olarak analiz edilmiştir.

Bu organizmalar 10^5 - 10^6 kob/mL düzeyinde canlılığa ulaşılacak miktarda tartılmış (*Lactocaseibacillus casei* 431 için $0,1 \times 10^{-10}$ g/mL ve *Bifidobacterium* kültürü için $0,1 \times 10^{-4}$ g/mL), kontrole %5 hacimce sadece broth, karşılaştırılmak istenen örneklerle ise %5 postbiyotik ilave edilmiş ve sterilize edilmiş MRS broth besiyerinde 37 °C’de 24 saat süreyle soğutmalı bir inkübatörde (MSI 55, Mikrotest, Ankara, Türkiye) inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında broth’dan örnekler petrilere dökme yöntemi kullanılarak MRS agara ekilmiş ve 37 °C’de 48 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. MRS broth 52,2 g/L olacak şekilde peptonlu su (Biokar, 1 g/L) içinde eritilmiş, amaca uygun kaplara dağıtılmış, otoklavda 121 °C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Agar hazırlanmasında ise MRS agar (Millipore, 68,2 g/L) kullanılmıştır. Agar, ısıtıcılı manyetik karıştırıcı (C-MAG HS10, IKA®-Werke GmbH ve Co. KG, Staufen Almanya) yardımıyla karıştırılmış ve daha sonrasında herhangi bir nedenle gerçekleşebilecek bulaşı riskini ortadan kaldırılmak için otoklavlanmıştır (GI54 TW, Zealway, Fujian, Çin). Otoklavlanan agar 55 °C’de muhafaza edilmiştir. Ayrıca, *Lactocaseibacillus casei* 431 ile çalışılırken, ekim sonrasında inkübasyon sürecinde oksijensiz ortamı sağlamak için, ekim yapılan petriler bir kavanoza yerleştirilmiş, kavanoz içerisinde mum yakılarak havanın tüketilmesi sağlanmış ve ek olarak kavanozun ağzı streçlenerek

inkübasyon bu koşullarda gerçekleştirilmiştir. *Bifidobacterium* kültürü için ise anaerobic jar ve anaerocult A kullanılarak ortamın tamamen oksijensiz olması sağlanmıştır.

Sonuçta ön denemelerde *Lactocaseibacillus casei* 431, $0,1 \times 10^{-10}$ g/mL düzeyinde kültürlenmiş ve farklı oranlarda (%1, %3, %5 ve %10) postbiyotik ilavesiyle gelişimi incelenmiştir. Koloni sayımı sonuçlarına göre, %5 postbiyotik ilavesi kontrol grubuna kıyasla probiyotik canlılığını anlamlı düzeyde artırmıştır ($p<0,05$). Bu nedenle, ilerleyen analizlerde %5 postbiyotik oranı tercih edilmiştir. Ekim sonuçlarının petri görüntüleri Ek B1'de verilmiştir.

Bifidobacterium kültürü (CSL, Direct Bifi, İtalya) için uygun başlangıç canlılık düzeyini belirlemek amacıyla yapılan ön denemelerde, $0,1 \times 10^{-4}$ g/mL konsantrasyonunda yapılan seyreltmelerin 10^5 – 10^6 kob/mL düzeyinde canlılık sağladığı tespit edilmiştir. Petri görüntüleri Ek B2'de verilmiştir. Bu nedenle tez çalışmasında bu konsantrasyonun kullanılması uygun bulunmuştur. Önceki bulgular doğrultusunda, %5 postbiyotik ilavesinin probiyotik büyümeyi en etkili şekilde desteklediği belirlenmiş olup, bu oran *Bifidobacterium* kültürü denemelerinde de standart olarak uygulanmıştır.

3.2.4. Antimikrobiyal Aktivite

Postbiyotiklerin potansiyel antimikrobiyal aktiviteleri ile kolon mikrobiyotası üzerinde etkili olabileceği düşünülmüş ve tez çalışması kapsamında elde edilen postbiyotiklerin çeşitli patojen mikroorganizmalar üzerindeki potansiyel antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi planlanmıştır. Antimikrobiyal aktivite analizleri için patojen mikroorganizmalardan *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis* seçilmiştir.

Öncelikle pasajda kullanmak için tüplere 8 mL olacak şekilde Tryptic Soy Broth (TSB) hazırlanıp otoklavlanmıştır. TSB içerisindeki önceden elimize ulaşmış patojen bakterilerden (*Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis*) 1 mL alıp hazırlanmış ve yeni TSB içerisine ilave edilmiştir. Yeni örnek 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu döngü taze kültürler elde etmek adına en az 2 kez tekrarlanmıştır (bulanıklığa göre ortalama 3 pasaj). Hazırlanan örnekler, cam tüpten önceden otoklavlanmış falkon tüpe aktarıldıktan sonra 8.000 rpm'de, 5 dakika

santrifüj edilmiştir (NF800, Nüve, Ankara, Türkiye). Santrifüj sonrası süpernatant uzaklaştırılmış ardından çöken kısım %0,85'lik steril tuzlu suda spektrofotometrede (UV1600 PC, VWR, Radnor, PA, ABD) 600 nm'de 0,5 absorbans değeri elde edilene kadar seyreltilmiştir. McFarland 0,5'e (10^8 mikroorganizma/mL) göre ayarlanarak standart bir bulanıklık oluşturulmuştur (Yerlikaya, 2019). Belirlenen düzeydeki bulanıklığı ayarladıktan sonra patojen bakteri örneklerinden 80 µL alınıp 8 mL'lik TSB'lere ilave edilmiştir. Kontrol grubuna sadece spektrofotometrede bulanıklığı ayarlanmış bakteri ilave edilirken, postbiyotik etkisini gözlemlemek üzere hazırlanan örnekler %5 düzeyinde postbiyotik ilave edilmiştir. MRS broth'ta hazırlanan örnekler 37 °C'de, 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası örnekler 8.000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir (NF800, Nüve, Ankara, Türkiye). Santrifüj sonrasında, örneklerin süpernatantı dökülmüş ve dipte kalan kısma %0,85'lik 30 mL tuzlu su ilave edilerek çökmüş katı kısım çözündürülmüştür. Tuzlu suda çözündürülmüş bu çözelti spektrofotometrede (UV1600 PC, VWR, Radnor, PA, ABD) 600 nm'de okunmuştur ($A_{\text{örnek}}$). Tüplere ilave edilen postbiyotiğin kendisinden kaynaklanan bulanıklığı saptamak için, MRS broth'a ilave edilen postbiyotik hacmi olan 400 µL bir eppendorf'a alınmış, 8.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatantı dökülüp, üzerine %0,85'lik 30 mL tuzlu su eklenerek çözündürülüp, 600 nm'de absorbansı okunmuştur ($A_{\text{postbiyotik}}$). Antimikrobiyal aktivitenin saptanmasında aşağıdaki formülden yararlanılmıştır:

$$AA (\%) = \frac{(A_{\text{kontrol}} - (A_{\text{örnek}} - A_{\text{postbiyotik}}))}{A_{\text{kontrol}}} \times 100$$

3.2.5. Kısa Zincirli Yağ Asidi

Probiyotik mikroorganizmalar 10^5 - 10^6 kob/mL düzeyinde canlılığa ulaşılacak miktarda tartılmış (*Lactocaseibacillus casei* 431 için $0,1 \times 10^{-10}$ g/mL ve *Bifidobacterium* kültürü için $0,1 \times 10^{-4}$ g/mL), kontrole %5 hacimce sadece broth, karşılaştırılmak istenen örnekler ise %5 postbiyotik ilave edilmiş ve sterilize edilmiş MRS broth besiyerinde 37 °C'de 24 saat süreyle soğutmalı bir inkübatörde (MSI 55, Mikrotest, Ankara, Türkiye) inkübe edilmiştir. KZYA ekstraksiyonu, Nakkarach ve arkadaşları (2020) tarafından tanımlanan yöntem bazı çalışmamızın amacına uygun modifikasyonlar uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Nakkarach, Foo, Song, Nitisinprasert, ve Withayagiat, 2020). 24 saat sonrasında, örnekler 10.000 rpm 5 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Ardından gözenekliliği 0,22 µm olan, naylon polyamidten

yapılmış şırınga filtreler (Isolab, Eschau, Almanya) yardımı ile, santrifüj edilen örneğin süpernatantı filtre edilmiştir. Her işlem koşulundan 250 µL alınarak eppendorflara aktarılmış ve 200 µL HCl ile tamamlanmıştır. Eppendorflar 1 dakika süre ile vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra her birine 10 µL iç standart ve 1 mL dietil eter eklenmiştir. Eppendorfların kapakları parafilm ile iyice kapatıldıktan sonra yarım saat boyunca karışmaları için çalkalayıcıya (Multi Bio RS-24, Biosan, Letonya) bırakılmışlardır. Karıştırma işlemi tamamlandıktan sonra ise karışımlar 10.000 rpm’de 5 dakika süre ile santrifüj edilmişler ve santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlardan birer mL alınarak kromatografik analizde kullanılmak üzere viallere aktarılmışlardır.

KZYA belirlenmesinde alev iyonizasyon dedektörlü (FID) gaz kromatografi (GC-FID) cihazından (7890A, Agilent Technologies, Santa Clara, ABD) faydalanılmıştır. GC’de ayırım için DB-FFAP (30 m x 0.25 µm x 0.25 mm, Agilent) kolon kullanılmıştır. GC analizindeki kolon sıcaklık programı Salum vd. (2019)’da belirtilen yöntemin modifiye edilmesi ile oluşturulmuştur. GC fırın sıcaklığı başlangıçta 90 °C’ye ayarlanmış, bu sıcaklıkta 1 dakika tutulmuş, ardından 7 °C/dk artışla 160 °C’ye getirilmiş ve 1 dakika tutulmuş, sonrasında 40 °C/dk artış ile 240 °C’ye getirilmiş ve bu sıcaklıkta da 2 dk tutulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak helyumdan yararlanılmıştır. Helyum akışı (septum purge flow) 3 mL/dk olup her bir ekstraktan 2 µL enjekte edilmiş ve split kullanılmadan analizler yapılmıştır. Enjeksiyon bloğu sıcaklığı 250 °C, FID sıcaklığı 260 °C’ye ayarlanmıştır. Analizlerde miktar hesaplamasında iç standart yönteminden yararlanılmıştır. İç standart olarak, 4-metilvalerik asit (her biri için 0,5 mg/mL) kullanılmıştır. Analiz sonucu KZYA bileşimlerinin miktarı ng/mL olarak ifade edilmiştir.

3.2.6. İstatiksel Analiz

Üretilen postbiyotik örneklerinin analizleri sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizi ve değerlendirilmesinde SPSS İstatistik Paket Programı (IBM SPSS Statistics Ver. 22, SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılmıştır. İncelenen postbiyotiklerin üretim koşullarıyla özelliklerindeki değişimin anlamlı farklılıklar yaratıp yaratmadığının incelenmesinde ve örneklerin gruplandırılmasında ANOVA ve Duncan Post Hoc testlerinden yararlanılmıştır.

İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak alınmıştır. Üretilmiş olan tüm postbiyotiklerin ve özelliklerinin toplu olarak değerlendirilmesinde ise Temel Bileşen Analizi'nden (Principal component analysis, PCA) yararlanılmış, bu analiz için XLSTAT 2023.1.6 (Addinsoft, New York, NY, ABD) kullanılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. İnaktivasyon Yöntemlerinin *B. lactis* BB-12 Üzerine Etkileri

4.1.1. Isıl İşlem ile İnaktivasyon Yönteminin *B. lactis* BB-12 Üzerine Etkisi

Sayım sonuçlarına göre *B. lactis* BB-12'nin belirlenmiş 16 işlem koşulunda tamamen inaktive edildiği görülmüştür. MRS agarlara yapılmış ekim ve inkübasyon sonrası ısıtma işlemi görmemiş kontrol örneklerinin ve ısıtma işlemi görmüş örneklerden elde edilen sayım sonuçları Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Kontrol örnekleri yani herhangi bir ısıtma işlemine tabi tutulmayan başlangıç örneklerinin petrilerinden alınan örnek görüntüleri Ek A1'de, ısıtma işlemine tabii tutulmuş örneklerin ekim sonuçlarını gösteren petrilerden alınan görüntüler ise her bir sıcaklık değeri için örnek olarak Ek A2-5'te sunulmuştur.

Elde ettiğimiz veriler, *B. lactis* BB-12'nin uygulanan ısıtma işlemiyle inaktivasyon protokollerine karşı düşük ısıtma direnç gösterdiğini, dolayısıyla belirli sıcaklık ve süre kombinasyonlarında hızlı bir şekilde inaktive olduğunu ortaya koymaktadır. *B. lactis* BB-12'nin inaktivasyonu ile postbiyotik eldesi amacıyla ohmik ısıtma yönteminin kullanıldığı bir çalışmada, 95 °C'de *L. acidophilus*'un inaktivasyonu 5 dakikada, *L. casei* ve *B. lactis* BB-12'nin inaktivasyonları ise 7 dakikada gerçekleşmiştir (Barros ve diğerleri, 2021). Bu bulgular, 95 °C'lik işlem sıcaklığında 5 dakikalık işlem süresiyle sağladığımız inaktivasyon sonucuyla tutarlıdır.

Farklı bir çalışmada ise 80 °C'de *L. acidophilus*'un inaktivasyonu 15 dakikada, *L. casei* ve *B. lactis* BB-12'nin inaktivasyonları ise 10 dakika sonunda gerçekleşmiştir (Almada, Almada-Érix, Bonatto, ve diğerleri, 2021). Bu sonuç da 75 °C'de 15 dk, 85 °C'de 10 dk işlem koşullarında elde ettiğimiz inaktivasyon sonucuyla örtüşmektedir. Yukarıda bahsi geçen iki çalışmanın sonuçlarına göre *L. acidophilus* ısıya daha yüksek direnç göstermektedir.

Tablo 4.1 Farklı sıcaklık ve sürelerde ısıtıl işlem görmüş *B. lactis* BB-12'lerin canlılık durumları.*

Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (kob/mL)
65 °C	Kontrol	92,00 ± 13,03 x 10 ⁸
	30	TE
	45	TE
	60	TE
	90	TE
75 °C	Kontrol	67,25 ± 24,62 x 10 ⁸
	15	TE
	30	TE
	45	TE
	60	TE
85 °C	Kontrol	115,00 ± 20,11 x 10 ⁸
	10	TE
	15	TE
	30	TE
	45	TE
95 °C	Kontrol	98,75 ± 15,65 x 10 ⁸
	5	TE
	10	TE
	15	TE
	30	TE

* Kontrol grubunda verilmiş olan sayım sonuçları ısıtıl işlem görmemiş örneklerin agara ekimi ile inkübe edilen petrideki sayım sonuçlarıdır. Sayılabilir koloni gözlenmeyen petrilerdeki sonuçlar “TE” olarak verilmiştir.

Bir başka çalışmada, *Bacillus amyloliquefaciens* FPTB16 ve *Bacillus subtilis* FPTB13 türleri 60 °C’de 2 saat boyunca ısıyla inaktive edilmiştir. Literatüre verilerine göre ısıtıl işlemin mikroorganizmalar üzerinde etkisi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörler arasında uygulanan ısıtıl yöntemi ve işlem koşullarının yanı sıra, mikroorganizmanın türü de önemlidir (Piqué ve diğerleri, 2019). Sonuçta elde edilmiş bulgular, her suşun inaktivasyon sürecine özel parametreler gerektirdiğini ve üretim sürecinde dikkatle optimize edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (Granato ve de Araújo Calado, 2014).

4.1.2. Ultrases ile İnaktivasyon Yönteminin *B. lactis* BB-12 Üzerine Etkisi

Ön denemeler sonucunda, ultrases işlemiyle *B. Lactis* BB-12 istenen düzeyde (tam ölüm veya yüksek logaritmik düzeyde ölümün gerçekleşmesi) inaktivasyon sağlanamadığı gözlemlenmiştir. Özellikle yüksek başlangıç konsantrasyonlarında (10^7 - 10^8 kob/mL) ultrasesin etkinliği sınırlı kalmıştır. Bu nedenle, mikroorganizma konsantrasyonunun 10^5 kob/mL seviyelerine düşürülmesi planlanmıştır. Bu aralık, ultrases işleminin daha etkili olduğu ve hedeflenen logaritmik azalmaların daha kontrollü şekilde gözlemlenebileceği optimum bir başlangıç seviyesi olarak belirlenmiştir. *B. lactis* BB-12'nin başlangıç canlılık düzeyinin 10^5 kob/mL aralığına çekilebilmesi için gerekli konsantrasyonun belirlenmesi ve böylelikle kullanılması gereken seyreltme düzeyinin saptanması için bakteriler farklı seyreltme oranlarında hazırlanarak ekimleri yapılmıştır (Ek A10). Buna göre, *B. lactis* BB-12'nin, 1×10^{-12} g/mL düzeyinde yapılacak seyreltmelerle probiyotik organizma aktifleştirilip üretildiğinde, 10^5 kob/mL düzeylerinde canlılığın elde edilebileceği belirlenmiş (Tablo 4.2) ve tez çalışmasının devamında bu konsantrasyonun kullanılmasına karar verilmiştir.

Tablo 4.2 *B. lactis* BB-12 'nin farklı seyreltme düzeylerinde aktifleştirilmesi.*

	Probiyotik <i>B. lactis</i> BB-12 Sayısı (kob/mL)		
	10^3	10^5	10^7
$0,1 \times 10^{-6}$ g/mL	SD	SD	$90 \pm 8,5$
$0,1 \times 10^{-8}$ g/mL	SD	SD	$74 \pm 4,2$
$0,1 \times 10^{-10}$ g/mL	SD	$258 \pm 14,1$	$2 \pm 1,4$
$0,1 \times 10^{-12}$ g/mL	SD	$12 \pm 1,4$	TE
$0,1 \times 10^{-16}$ g/mL	TE	TE	TE

* Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Kullanılan kısaltmalar: TE, tespit edilemedi; SD, sayılamayacak düzeyde.

Belirlenen deneme planı doğrultusunda, işlem koşulları karışık olarak denenmiş ve toplam 7 farklı sette analizler gerçekleştirilmiştir. Her bir setteki başlangıç organizma sayılarını göstermek üzere ultrases işleme tabi tutulmayan kontrol örnekleri ile ultrases işlemeye tabi tutulan örneklerin petrilerinden alınan örnek görüntüleri Ek A11-A17'da sunulmuştur. Sayım sonuçlarına göre *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases işleme ile çalışılan 16 işlem koşulunun

11’inde probiyotiklerin tam inaktivasyonunun sağlandığı görülmüştür. MRS agarlara yapılmış ekim ve inkübasyon sonrası petrilerdeki sayım sonuçları ise Tablo 4.3’te verilmiştir.

Tablo 4.3 Farklı genlik ve işlem sürelerinde ultrases ile işlenen *B. lactis* BB-12’lerin canlılık durumları.*

Genlik (µm)	İşlem Süresi (dk)	<i>B. lactis</i> BB-12 (kob/mL)
98	15	$32,2 \pm 14,1 \times 10$
	30	$23,0 \pm 7,0 \times 10^2$
	45	TE
	60	TE
172	15	$41,0 \pm 42,4 \times 10$
	30	$23,5 \pm 0,7$
	45	TE
	60	TE
246	15	$17,3 \pm 4,2 \times 10$
	30	TE
	45	TE
	60	TE
320	15	TE
	30	TE
	45	TE
	60	TE

* Tabloda verilmiş sayım değerleri ultrases yöntemiyle işlenen örneklerin ekim sonrası 48 saatlik inkübasyon sonucunda petrilerde gözlenen kolonilerin sayım sonuçlarıdır ve ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Sayılabilir koloni gözlenmeyen petrilerdeki sonuçlar “TE” olarak verilmiştir.

98 ve 172 µm genlikte 45 dakikalık işlemden sonra (45, 60 dk) inaktivasyon gerçekleştiği gözlemlenirken 246 µm genlikte 30 dakikadan sonra (30, 45, 60 dk) ve 320 µm genlikte ise belirlenmiş (15, 30, 45, 60 dk) tüm koşullarda inaktivasyon sağlanmıştır. Elde edilen deneysel veriler, *B. lactis* BB-12’nin inaktivasyonunda uygulanan genliğin ve buna bağlı olarak ultrases şiddetinin artış göstermesiyle birlikte, hedeflenen mikrobiyal ölüm düzeyine daha kısa sürelerde ulaşılabildiğini, dolayısıyla yüksek genlik seviyelerinin mikroorganizmanın yapısını daha hızlı bozarak inaktivasyonu daha kısa sürede gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır.

Benzer bir çalışmada, *B. lactis* BB-12 ve *Lactocaseibacillus casei* subsp. *paracasei* kültürlerini içeren 100 mL'lik süspansiyonlara düşük frekansta (20 KHz), 792 W/cm² ses gücünde ve 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120 dakikalık sürelerde ultrases işlemi uygulanmıştır. *B. lactis* BB-12 30 dakika sonra, *L. acidophilus* ve *L. casei* ise 40 dakika sonra inaktive olmuştur (Almada, Almada-Érix, Bonatto, ve diğerleri, 2021). *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. bulgaricus* suşlarının 45 kHz frekansta ve yüksek güç seviyelerinde kısa süreli (15 dakika) ultrases işleminin uygulandığı başka bir çalışma, uygulanan işlem koşulları altında probiyotiklerin kültürlenebilirliklerinde belirgin bir azalış olduğunu göstermiştir (Lye, Rusul, ve Liong, 2010). Ultrasesin fermente sütteki farklı probiyotik suşların çoğalmasına etkisini incelemek üzere yapılan bir diğer çalışmada, fermente süt örneklerine 40 kHz'de 5, 10, 15 ve 20 dakika ultrases uygulanmıştır. 10 dakika ultrasesin *L. acidophilus*, *L. reuteri* ve *L. casei* örneklerinde toplam canlı bakteri sayısını ve asiditeyi arttırdığı *Bifidobacterium longum* ve *B. bifidum*'da ise azalttığı gözlemlenmiştir (Niamah, 2019). Bu sonuçlar, ultrases işleminin daha yüksek genlik değerlerinde uygulanmasıyla hedef mikroorganizmaların inaktivasyonu için gerekli işlem süresini önemli ölçüde azaltılabileceğini düşündürmekle birlikte, etkinin mikroorganizmanın türüne ve matrikse göre değiştiğini de göstermektedir.

4.2. Üretilen Postbiyotiklerin Probiyotik Geliştirici Aktiviteleri

4.2.1. Isıl İşlem Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin Probiyotikler Üzerine Etkileri

4.2.1.1. *Lactocaseibacillus casei* 431'ye Yönelik Probiyotik Geliştirici Aktivite

Çalışma kapsamında probiyotik geliştirici aktivite analizleri için yapılan kontrol ekimleri Ek B3'te verilirken, postbiyotik kullanılarak yapılan analizler sonucunda elde edilen petri görüntüleri farklı ısı işlem sıcaklıklarında *B. lactis* BB-12 kullanılarak üretilen postbiyotikler için ayrı ayrı tablolar halinde sunulmuştur. Buna göre, 65 °C ısı işlem sıcaklığında elde edilmiş postbiyotikler için Ek B4, 75 °C ısı işlem sıcaklığında elde edilmiş postbiyotikler için Ek B5, 85 °C ısı işlem sıcaklığında elde edilmiş postbiyotikler için Ek B6 ve 95 °C ısı işlem sıcaklığında elde edilmiş postbiyotikler için Ek B7 verilmiştir. Ayrıca, elde edilen probiyotik

geliştirici aktivite analizlerinin sayısal sonuçları ve istatistiksel değerlendirmesi Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ısıtıl işlem yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin *Lactocaseibacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizlerinin sayısal sonuçları.*

Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Örnekler	Probiyotik Sayısı (kob/mL, 10 ⁵)	Artış Oranı
		Kontrol	120,5 ± 24,7 ^a	-
65	30	1	178,0 ± 28,0 ^{ab}	0,48 ± 0,23 ^{a,x,A}
	45	2	343,0 ± 29,7 ^{cd}	1,85 ± 0,25 ^{bc,y,A}
	60	3	192,5 ± 17,7 ^{ab}	0,60 ± 0,15 ^{a,x}
	90	4	178,5 ± 17,7 ^{ab}	0,48 ± 0,15 ^{a,x}
75	15	5	167,5 ± 21,9 ^{ab}	0,39 ± 0,18 ^{a,x,A}
	30	6	184,0 ± 17,0 ^{ab}	0,53 ± 0,14 ^{a,x,A}
	45	7	348,0 ± 22,6 ^{cd}	1,89 ± 0,19 ^{bc,y,A}
	60	8	469,5 ± 74,2 ^e	2,90 ± 0,62 ^{d,z}
85	10	9	228,5 ± 23,3 ^b	0,90 ± 0,19 ^{a,x}
	15	10	344,0 ± 56,6 ^{cd}	1,85 ± 0,47 ^{bc,xy,B}
	30	11	400,5 ± 40,3 ^{cde}	2,32 ± 0,33 ^{bcd,y,B}
	45	12	430,0 ± 59,4 ^{de}	2,57 ± 0,49 ^{cd,y,A}
95	5	13	363,5 ± 43,1 ^{cd}	2,02 ± 0,36 ^{bc,x}
	10	14	324,0 ± 48,1 ^c	1,69 ± 0,40 ^{b,x}
	15	15	320,0 ± 31,1 ^c	1,66 ± 0,26 ^{b,x,B}
	30	16	330,0 ± 53,7 ^c	1,74 ± 0,45 ^{b,x,B}

* Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-e) aynı ise farklı örnekler arasında fark olmadığı, (x-z) aynı ise aynı sıcaklıktaki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı, (A-D) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı sıcaklıklar arasında fark olmadığı anlaşılmalıdır (p>0.05).

B. lactis BB-12'nin ısıtıl işlem yöntemiyle işlenmesi yoluyla üretilen postbiyotiklerin probiyotik geliştirici aktivitesinin, *L. casei* 431 kültürüne yönelik değerlendirildiği Tablo 4.4'te 60 dakika boyunca 75 °C'de üretilen postbiyotik, kontrole kıyasla 2,90 kat artışla *L. casei* 431 üzerinde en yüksek probiyotik güçlendirici aktiviteyi göstermiştir (p<0,05). 65 °C'de, *L. casei* 431'de en yüksek aktivite 45 dakikalık maruziyette gözlemlendi (p<0,05). Farklı işlem sürelerinde 95 °C'de üretilen postbiyotikler arasında *L. casei* 431 üzerinde kullanılan

probiyotik güçlendirici etki açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Benzer şekilde, 45 dakikalık sabit işlem süresinde farklı sıcaklıklarda üretilen postbiyotiklerin probiyotik güçlendirici aktivitelerinde de anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0,05$).

4.2.1.2. *Bifidobacterium* Kültürüne Yönelik Probiyotik Geliştirici Aktivite

Isıl işlemle üretilmiş olan postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki geliştirici aktivitesi tayininde, hazırlanan petri ler anaerobik koşullarda inkübe edilmiş ve bundan dolayı inkübasyonunda anaerobik jar kullanılmıştır. Proje kapsamında ısıl işlemle *B. lactis* BB-12 kullanılarak üretilmiş 16 farklı postbiyotik vardır ve tüm bu postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi tek sette gerçekleştirilebilmiş, dolayısıyla her bir paralel üretim için tek bir kontrol kullanılabilmektedir. Ancak, *Bifidobacterium* kültürünün geliştirilebilmesi için Anaerocult A kullanarak anaerobik jarda inkübasyonun gerçekleştirilmesi zorunlu olduğundan ve proje ekibinde 3 adet anaerobik jar olduğundan (ve bu jarlarda da en fazla 12 petri inkübe edilebildiğinden), bu deneme planı ile çok fazla sayıda sette ekimin gerçekleştirilmesi gerekmiştir. Buna göre, postbiyotik üretiminde kullanılan her bir sıcaklık için (dörder örnek için) ayrı setler inkübe edilmiş, her set için de ayrı kontroller gerekmiştir. Kontrol gruplarında belirli sapmalarla probiyotik sayıları elde edilebildiğinden (10^5 ile 10^6 kob/mL aralığında), paralel setler arasında kob/mL cinsinden bakteri sayılarda önemli standart sapmalar ortaya çıkmış ve sonuçların bu şekilde verilmesi anlamlı bulunmamış, bunun yerine esas değerlendirme parametresi olan ve her bir ekimdeki kontrole oranla gerçekleşen probiyotik artış oranları ortalama ve standart sapma olarak verilmiş, istatistikler de bu artış oranları üzerinden yapılmıştır.

Tez çalışmasında probiyotik geliştirici aktivite analizleri sonucunda elde edilen petri görüntüleri farklı ısıl işlem sıcaklıklarında üretilen postbiyotikler için ayrı ayrı tablolarda sunulmuştur. Çalışma kapsamında 65 °C ısıl işlem sıcaklığında elde edilmiş postbiyotikler için petri görüntüleri Ek B8’de, 75 °C ısıl işlem sıcaklığında elde edilmiş postbiyotikler için petri görüntüleri Ek B9’da, 85 °C ısıl işlem sıcaklığında elde edilmiş postbiyotikler için petri görüntüleri Ek B10’da ve 95 °C ısıl işlem sıcaklığında elde edilmiş postbiyotikler için petri

görüntüleri Ek B11'de verilmiştir. Ayrıca, elde edilen probiyotik geliştirici aktivite analizlerinin sayısal sonuçları ve istatistiksel değerlendirmesi Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5 *B. lactis* BB-12 kullanılarak kullanılarak ısıtılma işlemle üretilen postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizlerinin sayısal sonuçları.*

Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Örnekler	Artış Oranı
65	30	1	$0,96 \pm 0,37^{a,x,A}$
	45	2	$0,67 \pm 0,58^{a,x,A}$
	60	3	$0,59 \pm 0,05^{a,x}$
	90	4	$0,30 \pm 0,26^{a,x}$
75	15	5	$1,95 \pm 0,78^{a,x,A}$
	30	6	$1,55 \pm 0,35^{a,x,A}$
	45	7	$1,65 \pm 0,35^{a,x,AB}$
	60	8	$0,95 \pm 0,35^{a,x}$
85	10	9	$3,74 \pm 0,99^{a,x}$
	15	10	$7,95 \pm 1,24^{b,y,B}$
	30	11	$3,30 \pm 1,36^{a,x,A}$
	45	12	$4,26 \pm 1,74^{a,xy,B}$
95	5	13	$26,85 \pm 4,19^{c,y}$
	10	14	$8,90 \pm 1,98^{b,x}$
	15	15	$25,96 \pm 2,51^{c,y,C}$
	30	16	$37,74 \pm 2,62^{d,z,B}$

* Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-d) aynı ise farklı örnekler arasında fark olmadığı, (x-z) aynı ise aynı sıcaklıktaki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı, (A-B) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı sıcaklıklar arasında fark olmadığı anlaşılmaktadır ($p>0.05$).

B. lactis BB-12'nin ısıtılma işlem yöntemiyle işlenmesi yoluyla üretilen postbiyotiklerin probiyotik güçlendirici aktivitesinin, *Bifidobacterium* kültürüne yönelik değerlendirildiği Tablo 4.5'te 30 dakika boyunca 95 °C'de üretilen postbiyotik en yüksek probiyotik geliştirici aktiviteyi gösterdi ($p<0,05$). Ancak, 65 °C ve 75 °C'de uygulanan farklı işlem süresi değişimleri istatistiksel olarak anlamlı bir farkla sonuçlanmadı ($p>0,05$). İlginç bir şekilde, 15 dakikalık sabit bir işlem süresinde, sıcaklık değişiminin önemli bir etkisi oldu ve 95 °C'de

gerçekleştirilen uygulamayla üretilen postbiyotik en yüksek probiyotik geliştirici aktiviteyi gösterdi ($p<0,05$).

4.2.2. Ultrases Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin Probiyotikler Üzerine Etkileri

4.2.2.1. *Lactocaseibacillus casei* 431'ye Yönelik Probiyotik Geliştirici Aktivite

Tablo 4.6'da, ultrases uygulamasının süre (dakika) ve genlik (μm) parametrelerine göre *Lactocaseibacillus casei* 431 üzerindeki etkilerinin sayısal verileri ve istatistiksel sonuçları incelenmiştir.

Kontrol grubunda herhangi bir ultrases işlemi uygulanmamış olup, bu grup referans değer olarak kullanılmıştır. Bu grupta herhangi bir artış gözlemlenmemiştir ve bu değer artış oranı için sıfır olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.6 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin *Lactocaseibacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizlerinin sayısal sonuçları.*

Genlik (μm)	Süre (dk)	Örnek	Artış Oranı
-	-	Kontrol	-
98	45	3	$0,46 \pm 0,05^{ab,A}$
	60	4	$0,59 \pm 0,01^{abc,A}$
172	45	7	$0,58 \pm 0,18^{abc,A}$
	60	8	$0,68 \pm 0,03^{abcd,AB}$
246	30	10	$0,45 \pm 0,14^{a,x}$
	45	11	$0,68 \pm 0,03^{abcd,xy,A}$
	60	12	$0,79 \pm 0,03^{cd,y,BC}$
320	15	13	$0,74 \pm 0,11^{bcd,xy}$
	30	14	$0,48 \pm 0,18^{ab,x}$
	45	15	$1,07 \pm 0,14^{e,y,B}$
	60	16	$0,89 \pm 0,11^{de,y,C}$

* Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Artış oranı kat olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-e) aynı ise farklı örnekler arasında fark olmadığı, (x-y) aynı ise aynı genlikteki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı, (A-C) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı genlikler arasında fark olmadığı anlaşılmaktadır ($p>0,05$).

Tablo 4.6 incelendiğinde 320 μm 'de *Lactocaseibacillus casei* 431 için en yüksek probiyotik geliştirici aktivite 45 dakikalık işlem süresinde gözlenmiştir ve 60 dakika ile aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p>0,05$).

246 μm 'de işlem süresi arttıkça ultrases yöntemiyle üretilmiş postbiyotiklerin *Lactocaseibacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivitesi artmıştır. Örnekler arasındaki bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Bunun yanında 60 dakikalık sabit işlem süresinde farklı genliklerde üretilmiş postbiyotiklerin *Lactocaseibacillus casei* 431 kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktiviteleri arasındaki farklılık da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). 45 dakikalık sabit işlem süresinde farklı genlik uygulamalarının *Lactocaseibacillus casei* 431 kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivitesinde ise anlamlı bir etki gözlenmedi ($p>0,05$).

4.2.2.2. *Bifidobacterium*'a Yönelik Probiyotik Geliştirici Aktivite

Tablo 4.7'de, ultrases uygulamasının süre (dakika) ve genlik (μm) parametrelerine göre *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki etkilerinin sayısal verileri ve istatistiksel sonuçları incelenmiştir.

Kontrol grubunda herhangi bir ultrases işlemi uygulanmamış olup, bu grup referans değer olarak kullanılmıştır. Bu grupta herhangi bir artış gözlemlenmemiştir ve bu değer artış oranı için sıfır olarak belirlenmiştir.

Bifidobacterium kültürü için en yüksek probiyotik geliştirici aktivite 172 μm 'de 45 dakikalık işlem süresinde gözlemlendi onu aynı genlikteki 60 dakikalık işlem süresi izledi ($p<0,05$). 246 μm 'de işlem süresi arttıkça ultrases yöntemiyle üretilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerinde probiyotik geliştirici aktivitesi artmıştır. Örnekler arasındaki bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$).

Tablo 4.7 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizlerinin sayısal sonuçları.*

Genlik (μm)	Süre (dk)	Örnek	Artış Oranı
-	-	Kontrol	-
98	45	3	1,52 ± 0,60 ^{b,AB}
	60	4	0,31 ± 0,04 ^{a,A}
172	45	7	11,74 ± 1,17 ^{c,C}
	60	8	8,27 ± 0,93 ^{d,C}
246	30	10	0,10 ± 0,07 ^{a,x}
	45	11	0,24 ± 0,05 ^{a,xy,A}
	60	12	0,31 ± 0,03 ^{a,y,A}
320	15	13	2,26 ± 0,10 ^{bc,x}
	30	14	2,39 ± 0,28 ^{bc,x}
	45	15	2,45 ± 0,30 ^{bc,x,B}
	60	16	2,78 ± 0,10 ^{c,x,B}

* Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Artış oranı kat olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-e) aynı ise farklı örnekler arasında fark olmadığı, (x-y) aynı ise aynı genlikteki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı, (A-C) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı genlikler arasında fark olmadığı anlaşılmaktadır (p>0,05).

320 μm’de *Bifidobacterium* kültürü için farklı işlem sürelerinin postbiyotiklerin probiyotik geliştirici aktiviteleri üzerinde istatistiksel olarak bir anlamlılık gözlenmedi (p>0,05). 60 dakikalık sabit işlem süresinde farklı genlik düzeylerinde üretilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktiviteleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05). Benzer şekilde, 45 dakikalık işlem süresinde, değişen genlik değerleri *Bifidobacterium* kültüründeki aktiviteyi önemli ölçüde etkilediği görülmektedir (p<0,05).

İlgili bir klinik çalışmada, prematüre bebeklerde *B. lactis* BB-12 takviyesi, zararlı *Enterobacteriaceae* ve *Clostridium* türlerinde azalmayla birlikte *Bifidobacterium* popülasyonlarında önemli bir artışa neden olmuştur (Mohan ve diğerleri, 2006). Bu bulgular, *B. lactis* BB-12’nin diğer yararlı mikroorganizmaların çoğalması için daha elverişli bir bağırsak ortamı yaratmaya yardımcı olabileceğini düşündürmektedir (Liu ve diğerleri, 2024a, 2024b). Her ne kadar *B. lactis* BB-12 türevi postbiyotiklerin probiyotik destekleyici etkilerine ilişkin doğrudan kanıtlar sınırlı olsa da, elde ettiğimiz bulgular bu tür postbiyotiklerin birlikte kültürlenmiş probiyotiklerin çoğalma kapasitesini ve işlevsel özelliklerini artırabileceğini

göstermektedir. Bu potansiyel etki, dolaylı olarak mikrobiyota modülasyonuna ve bağışıklık yanıtının dolaylı yollardan güçlendirilmesine katkıda bulunabilir.

4.3. Postbiyotiklerin KZYA'ne Etkileri

4.3.1. Isıl İşlem Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin *L. casei* Ortamındaki KZYA Etkileri

Isıl işlem görmüş *B. lactis* BB-12 postbiyotiklerinin *L. casei* 431 kültür ortamına eklenmesi sonrası asetik, propiyonik ve izobütirik asitlerin değişimleri Tablo 4.8'de verilmiştir.

Tablo 4.8 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ısıtıl işlem ile üretilen postbiyotiklerin, *Lactocaseibacillus casei* 431 ortamında oluşan asetik, propiyonik ve izobütirik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*

T (°C)	t (dk)	Asetik Asit		Propiyonik Asit		İzobütirik Asit	
		Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran
		6083,6 ± 370,5 ^a	-	42,15 ± 2 ^a	-	17,7 ± 2,0 ^a	-
65	30	6435,2 ± 119,2 ^{ab,x,A}	5,8	44,6 ± 4,3 ^{ab,x,A}	5,9	21,5 ± 0,8 ^{ab,x,A}	21,4
	45	6565,0 ± 202,8 ^{ab,xy,A}	7,9	56,1 ± 5,3 ^{cde,x,B}	33,3	30,6 ± 0,1 ^{bcdef,y,A}	72,5
	60	7587,7 ± 662,1 ^{cd,y}	24,7	52,6 ± 7,0 ^{bcd,x}	25,0	35,0 ± 5,1 ^{def,y}	97,6
	90	6324,8 ± 284,1 ^{a,x}	4,0	48,5 ± 0,5 ^{abc,x}	15,1	22,8 ± 1,8 ^{abc,x}	28,9
75	15	6236,9 ± 495,6 ^{a,x,A}	2,5	46,3 ± 4,6 ^{ab,x,A}	10,0	29,5 ± 2,5 ^{bcdef,x,A}	66,8
	30	6955,5 ± 297,7 ^{bc,xy,B}	14,3	57,8 ± 3,2 ^{de,y,B}	37,2	37,8 ± 2,0 ^{efg,y,C}	113,2
	45	7298,2 ± 136,2 ^{cd,y,B}	20,0	52,9 ± 2,1 ^{bcd,xy,AB}	25,6	39,3 ± 1,4 ^{fg,y,B}	122,0
	60	7460,4 ± 150,9 ^{cd,y}	22,6	52,8 ± 0,1 ^{bcd,xy}	25,3	72,0 ± 3,0 ^{h,z}	305,8
85	10	7646,0 ± 124,5 ^{d,x}	25,7	56,7 ± 3,0 ^{cde,z}	34,5	29,1 ± 14,2 ^{bcde,x}	64,3
	15	7547,3 ± 170,8 ^{cd,x,A}	24,1	52,9 ± 2,1 ^{bcd,yz,A}	25,6	33,4 ± 2,0 ^{def,x,A}	88,7
	30	7284,0 ± 90,0 ^{cd,x,B}	19,7	48,0 ± 3,0 ^{abc,xy,A}	14,1	31,9 ± 1,5 ^{cdef,x,B}	79,8
	45	7246,0 ± 172,4 ^{cd,x,B}	19,1	44,8 ± 0,7 ^{ab,x,A}	6,4	33,4 ± 0,9 ^{def,x,A}	88,6
95	5	7552,9 ± 90,1 ^{cd,y}	24,2	49,9 ± 3,1 ^{abcd,x}	18,4	46,6 ± 2,7 ^{g,z}	162,9
	10	7601,2 ± 121,0 ^{cd,y}	24,9	62,9 ± 4,8 ^{e,y}	49,3	35,1 ± 0,7 ^{def,y}	97,9
	15	7546,0 ± 172,4 ^{cd,y,A}	24,0	49,1 ± 5,4 ^{abcd,x,A}	16,5	30,4 ± 2,4 ^{bcdef,xy,A}	71,6
	30	7013,5 ± 74,5 ^{bcd,x,B}	15,3	43,3 ± 1,6 ^{a,x,A}	2,9	27,2 ± 2,1 ^{bce,x,B}	53,4

* Konsantrasyon değerleri ng/mL cinsinden ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Artış oranı yüzde olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-h) aynı ise örnekler arasında fark olmadığı; (x-z) aynı ise aynı sıcaklıktaki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı; (A-D) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı sıcaklıklar arasında fark olmadığı anlaşılmalıdır (p>0,05). Kısaltmalar: T, sıcaklık; t, işlem süresi.

Kontrolde $6083,6 \pm 370,5$ ng/mL olan asetik asit konsantrasyonu, ısıtılma işlemi görmüş tüm postbiyotiklerin eklenmesiyle önemli ölçüde artmıştır ($p<0,05$). Asetik asit konsantrasyonundaki artış oranı %2,5 ile %25,7 arasında değişirken, genel olarak 65 °C'de üretilen postbiyotiklerde artış oranları düşük kalmışken, en büyük artış 85 °C'de 10 dakika üretilen örneklerle sağlanmıştır. Bu örnek dışında 65 °C'de 60 dakikada, 75 °C'de 60 dakikada ve 85 °C'de 10 ve 15 dakikada, 95 °C'de 5, 10 ve 15 dakikada ısıtılma işlemleriyle üretilen postbiyotiklerle de %20'nin üzerinde asetik asit artışları elde edilmiştir. Özetle, en yüksek artışlar yüksek sıcaklıklarda üretilen postbiyotiklerde gözlenmiştir ($p<0,05$).

Propiyonik asit, kontrolde $42,2 \pm 2,0$ ng/mL konsantrasyonda saptanırken, postbiyotik ilavesi sonucu konsantrasyonlarda %2,9 ile %49,3 arasında artışlar saptanmıştır (Tablo 4.8). En büyük konsantrasyon artışı 95 °C'de 10 dakikada üretilen postbiyotik ile sağlanırken, onu 75 °C'de 30 dakika ve 85 °C'de 10 dakikada üretilen postbiyotikler izlemiştir ($p<0,05$).

İzobütirik asit ise kontrol örneğinde $17,7 \pm 2,0$ ng/mL konsantrasyonda saptanırken, postbiyotik ilavesi ile %21,4 ile %305,8 arasında artışlar sağlanmıştır (Tablo 4.8). En yüksek artış 75 °C'de 60 dakikada üretilmiş postbiyotikle %305,8 düzeyinde saptanırken onu 95 °C'de 5 dakika onu da 75 °C'de 45 ve 30 dakikalar izlemiştir.

Lactocaseibacillus casei 431 ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin postbiyotik ilavesi ile değişimleri ise Tablo 4.9'da verilmiştir. Kontrol örneğindeki bütirik asit konsantrasyonu $56,1 \pm 5,4$ ng/mL iken, postbiyotiklerin ilavesi ile %0,6 ile %21,2 arasında artışlar belirlenmiştir. En büyük artış 75 °C'de 30 dakikada üretilen postbiyotikle sağlanırken, onu 95 °C'de 5 dakikada üretilen postbiyotik izlemiştir.

Tablo 4.9 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ısıtıl işlem ile üretilen postbiyotiklerin, *Lactocaseibacillus casei* 431 ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*

T (°C)	t (dk)	Bütirik Asit		İzovalerik Asit		Valerik Asit	
		Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran
		56,1 ± 5,4 ^{abcd}	-	23,3 ± 2,9 ^{ab}	-	96,6 ± 5,0 ^a	-
65	30	55,3 ± 3,8 ^{abc,x,A}	-1,3	21,4 ± 2,0 ^{a,x,A}	-8,0	96,3 ± 9,6 ^{a,x,A}	-0,4
	45	63,7 ± 0,3 ^{def,y,B}	13,7	24,5 ± 1,7 ^{ab,x,A}	5,2	128,1 ± 18,9 ^{bcd,y,A}	32,6
	60	63,3 ± 3,1 ^{cdef,y}	13,0	25,8 ± 1,8 ^{ab,x}	10,9	142,6 ± 6,3 ^{de,y}	47,6
	90	57,3 ± 1,6 ^{bcd,xy}	2,3	27,0 ± 2,3 ^{abc,x}	16,2	140,0 ± 1,5 ^{cde,y}	44,9
75	15	57,6 ± 4,8 ^{bcd,xy,A}	2,7	24,4 ± 0,5 ^{ab,x,A}	5,0	112,5 ± 2,8 ^{abc,x,A}	16,4
	30	68,0 ± 2,6 ^{f,y,B}	21,2	25,8 ± 8,5 ^{ab,x,A}	10,8	120,4 ± 5,8 ^{abcd,xy,AB}	24,6
	45	60,2 ± 2,3 ^{bcd,xy,B}	7,5	25,8 ± 2,3 ^{ab,x,A}	10,9	127,1 ± 5,4 ^{bcd,xy,A}	31,5
	60	60,6 ± 1,5 ^{bcd,xy}	8,1	30,6 ± 3,8 ^{bc,x}	31,7	136,4 ± 9,4 ^{cd,y}	41,1
85	10	64,1 ± 4,5 ^{def,y}	14,3	27,7 ± 1,2 ^{abc,x}	18,8	182,8 ± 17,1 ^{fg,z}	89,1
	15	57,1 ± 1,3 ^{bcd,xy,A}	1,9	30,6 ± 2,2 ^{bc,x,AB}	31,3	163,6 ± 15,2 ^{ef,yz,B}	69,3
	30	56,4 ± 0,8 ^{abcd,xy,A}	0,6	28,9 ± 1,6 ^{abc,x,A}	24,3	141,0 ± 8,5 ^{de,xy,B}	45,9
	45	48,9 ± 3,4 ^{a,x,A}	-12,8	27,4 ± 3,4 ^{abc,x,A}	17,7	125,2 ± 10,6 ^{bcd,x,A}	29,6
95	5	67,9 ± 2,8 ^{f,y}	21,1	35,0 ± 2,7 ^{c,xy}	50,2	134,9 ± 5,0 ^{cd,x}	39,5
	10	64,8 ± 4,7 ^{ef,xy}	15,6	45,1 ± 5,4 ^{d,y}	93,7	194,8 ± 17,7 ^{g,y}	101,6
	15	62,9 ± 5,2 ^{cdef,xy,A}	12,2	34,7 ± 4,2 ^{c,xy,B}	49,1	133,9 ± 19,3 ^{bcd,x,AB}	38,5
	30	53,6 ± 3,2 ^{ab,x,A}	-4,4	31,2 ± 3,3 ^{bc,x,A}	33,9	106,4 ± 13,4 ^{ab,x,A}	10,1

* Konsantrasyon değerleri ng/mL cinsinden ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Artış oranı yüzde olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-h) aynı ise örnekler arasında fark olmadığı; (x-z) aynı ise aynı sıcaklıktaki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı; (A-D) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı sıcaklıklar arasında fark olmadığı anlaşılmalıdır (p>0,05). Kısaltmalar: T, sıcaklık; t, işlem süresi.

İzovalerik asit konsantrasyonu ise kontrol grubunda 23,3 ± 2,9 ng/mL iken, postbiyotik ilavesi ile izovalerik asit konsantrasyonları %93,7'ye kadar artmıştır (Tablo 4.9). Özellikle 95 °C'de üretilen örneklerdeki izovalerik asit artışları kontrole göre oldukça belirgin (p<0,05), 65 °C 30 dakikada ise izovalerik asit konsantrasyonunda %8,8'lik bir düşüş saptanmıştır ve 65 °C'deki postbiyotiklerle üretilmiş örnekler kontrol örneğiyle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (p>0,05). Üretim süresi ve sıcaklığın genel olarak valerik asit konsantrasyonları üzerinde sınırlı veya tutarsız etkileri oldu (p>0,05).

Valerik asit konsantrasyonu kontrol grubunda $96,6 \pm 5,0$ ng/mL iken, postbiyotik ilavesi ile valerik asit konsantrasyonları %101,6'ya kadar artmıştır (Tablo 4.9), bu en yüksek valerik asit konsantrasyonuna ise ($194,8 \pm 17,7$) 95 °C'de 10 dakikada işlenmiş olan postbiyotik ilavesi ile ulaşılmıştır. Onu %89,1'lik belirgin bir artışla 85 °C'de 10 dakikada üretilmiş postbiyotik izlemektedir.

4.3.2. Isıl İşlem Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin *Bifidobacterium* Kültürü Ortamındaki KZYA Etkileri

Isıl işlem ile üretilen postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü ortamına ilavesi sonrasında, ortamdaki KZYA konsantrasyonlarındaki değişim Tablo 4.10 ve 4.11'de gösterilmiştir.

Asetik asit, propiyonik asit ve izobütirik asitlerin değişimlerine Tablo 4.10'da yer verilmiştir. Buna göre, kontroldeki asetik asit konsantrasyonu $5153,3 \pm 117,3$ ng/mL olarak belirlenmiştir ve ısıtma işlemi ile üretilen postbiyotiklerin ilavesi ile 65 °C'de 30 dakika ve 85 °C'de 10 dakikalarda üretilen postbiyotikler dışındaki tüm postbiyotiklerle asetik asit konsantrasyonunun belirgin şekilde arttığı görülmüştür ($p < 0,05$). En yüksek artış %78,6'lık artış oranıyla 75 °C'de 60 dakikada üretilen postbiyotikle sağlanırken onu %41'lik belirgin bir artışla 85 °C 45 dakikada üretilen postbiyotik, onu da %35,9'luk artışla 95 °C'de 30 dakikada üretilen postbiyotik izlemiştir. 95 °C'de üretilen postbiyotiklerde işlem süresinin asetik asit konsantrasyonu değişimi üzerine etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). 65 °C'de, 75 °C'de ve 95 °C'de üretilen postbiyotiklerin kullanıldığı örneklerde, postbiyotiklerin ısıtma işlem süresinin artışı ile asetik asit konsantrasyonunda anlamlı artışlar belirlenmiştir ($p < 0,05$).

Tablo 4.10 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ısıt işlemler ile üretilen postbiyotiklerin, *Bifidobacterium* kültürü ortamında oluşan asetik, propiyonik ve izobütirik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*

T (°C)	t (dk)	Asetik Asit		Propiyonik Asit		İzobütirik Asit	
		Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran
		5153,3 ± 117,3 ^b	-	29,6 ± 3,6 ^a	-	21,3 ± 0,7 ^a	-
65	30	4613,4 ± 280,2 ^{a,x,A}	-10,5	32,8 ± 3,3 ^{abc,x,A}	11,0	24,5 ± 0,3 ^{abc,x,A}	15,1
	45	5624,2 ± 48,1 ^{cd,y,A}	9,1	47,9 ± 1,8 ^{fg,y,A}	61,8	25,8 ± 2,0 ^{abc,x,A}	21,0
	60	6427,2 ± 118,1 ^{gh,z}	24,7	63,7 ± 2,1 ^{h,z}	115,5	28,6 ± 1,4 ^{abcd,xy}	34,0
	90	6716,0 ± 133,8 ^{hi,z}	30,3	35,2 ± 0,7 ^{bc,x}	19,0	31,9 ± 1,7 ^{cde,y}	49,7
75	15	5319,0 ± 7,8 ^{bc,x,A}	3,2	37,1 ± 3,5 ^{cd,x,A}	25,5	22,9 ± 0,8 ^{ab,x,A}	7,6
	30	5616,1 ± 100,8 ^{cd,xy,B}	9,0	43,8 ± 2,3 ^{ef,xy,B}	48,1	24,9 ± 0,6 ^{abc,x,A}	16,9
	45	5965,4 ± 275,4 ^{ef,y,A}	15,8	50,7 ± 1,6 ^{g,y,A}	71,4	25,6 ± 3,7 ^{abc,x,A}	20,1
	60	9205,9 ± 138,6 ^{k,z}	78,6	111,4 ± 2,8 ^{j,z}	276,5	30,1 ± 5,6 ^{bcd,x}	41,1
85	10	5100,4 ± 145,8 ^{b,x}	-1,0	31,7 ± 1,9 ^{ab,x}	7,3	26,1 ± 0,1 ^{ab,x}	22,3
	15	5534,6 ± 122,7 ^{cd,xy,A}	7,4	40,5 ± 1,2 ^{de,y,A}	36,9	34,6 ± 1,9 ^{de,x,B}	62,3
	30	5821,0 ± 292,5 ^{def,y,B}	13,0	59,3 ± 1,4 ^{h,t,C}	100,5	37,2 ± 3,4 ^{e,x,B}	74,4
	45	7268,6 ± 125,9 ^{j,z,B}	41,0	49,2 ± 1,4 ^{g,z,A}	66,3	26,8 ± 7,7 ^{abc,x,A}	25,7
95	5	5489,0 ± 9,8 ^{cd,x}	6,5	31,9 ± 1,5 ^{abc,x}	8,0	28,5 ± 1,2 ^{abcd,x}	33,6
	10	5639,8 ± 53,6 ^{cde,y}	9,4	35,9 ± 0,7 ^{bcd,x}	21,4	30,1 ± 1,0 ^{bcd,xy}	40,9
	15	6149,7 ± 65,3 ^{fg,z,B}	19,3	92,6 ± 2,9 ^{h,y,B}	212,9	37,0 ± 4,4 ^{e,y,B}	73,5
	30	7003,9 ± 47,3 ^{ij,t,C}	35,9	114,2 ± 1,5 ^{j,z,D}	285,9	47,8 ± 2,6 ^{f,z,C}	123,8

* Konsantrasyon değerleri ng/mL cinsinden ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Artış oranı yüzde olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-h) aynı ise örnekler arasında fark olmadığı; (x-z) aynı ise aynı sıcaklıktaki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı; (A-D) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı sıcaklıklar arasında fark olmadığı anlaşılmaktadır (p>0,05). Kısaltmalar: T, sıcaklık; t, işlem süresi.

Propiyonik asit ise kontrolde 29,6 ± 3,6 ng/mL konsantrasyonunda saptanırken, postbiyotik ilavesi sonucu konsantrasyonlarda %7,3 ile %285,9 arasında artışlar saptanmıştır (Tablo 4.10). En yüksek artış oranına sahip postbiyotik 95 °C'de 30 dakika, ardından 75 °C'de 60 dakika, onun ardından 95 °C'de 15 dakika izlemektedir. 85 °C'de farklı işlem sürelerinde elde edilmiş postbiyotiklerin asetik asit konsantrasyonuna etkisindeki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (p<0,05).

İzobütirik asit ise kontrol örneğinde $21,3 \pm 0,7$ ng/mL konsantrasyonda saptanırken, postbiyotik ilavesi ile %7,6 ile %123,8 arasında artışlar sağlanmıştır (Tablo 4.10). 45 dakika sabit işlem süresinde ısıl işlem sıcaklıklarının değişiminin izobütirik asit üzerinde anlamlı bir etkisi saptanamamıştır ($p>0,05$). En yüksek izobütirik asit konsantrasyonuna (kontrole göre %123,8 artışla, $47,8 \pm 2,6$ ng/mL) 95 °C'de 30 dakikadaki ısıl işlemle üretilen postbiyotiğin ilavesi sonucu ulaşılmıştır.

Bifidobacterium kültürü ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin postbiyotik ilavesi ile değişimleri ise Tablo 4.11'de verilmiştir. Kontrol örneğindeki bütirik asit konsantrasyonu $37,4 \pm 0,7$ ng/mL iken, postbiyotiklerin ilavesi ile %1,0 ile %79,6 arasında artışlar belirlenmiştir. En yüksek artış 95 °C'de 15 dakikada üretilen postbiyotikle sağlanırken, onu 85 °C'de 30 dakikada üretilen postbiyotik izlemiştir. 65 °C'de sabit sıcaklıktaki farklı işlem sürelerindeki sonuçlar incelendiğinde 45 dakikadan sonraki işlem süresi artışı ile gerçekleşen konsantrasyon artışı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). 85 °C'de sabit sıcaklıktaki sonuçlar incelendiğinde, işlem süresi ile bütirik asit konsantrasyonunda anlamlı bir değişiklik saptanamamıştır ($p>0,05$).

İzovalerik asit konsantrasyonu ise kontrol grubunda $27,4 \pm 1,8$ iken, postbiyotik ilavesi ile izovalerik asit konsantrasyonlarının %71,1'e kadar artmıştır (Tablo 4.11). Sabit 65 °C sıcaklıkta farklı işlem sürelerinin izovalerik konsantrasyonu üzerinde anlamlı bir etkisi bulunamamıştır ($p>0,05$).

Valerik asit konsantrasyonu ise kontrol grubunda $82,0 \pm 1,9$ iken, postbiyotik ilavesi ile izovalerik asit konsantrasyonlarının %82,5'e kadar artmıştır (Tablo 4.11), bu yüksek valerik asit konsantrasyonuna ($149,7 \pm 2,7$ ng/mL) 75 °C'de 60 dakikada işlenmiş olan postbiyotik ilavesi ile ulaşılmıştır. Valerik asit konsantrasyonunda artışlarla birlikte azalmalar da gözlenmiştir. 95 °C'de 5, 10, 15 dakikada üretilen postbiyotiklerin ilavesiyle valerik asit konsantrasyonunda azalış gözlenirken 30 dakikada üretilen postbiyotikte ise kontrole kıyasla anlamlı belirgin bir yükseliş (%38,4) gözlenmiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.11 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ısıt işlem ile üretilen postbiyotiklerin, *Bifidobacterium* kültürü ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*

T (°C)	t (dk)	Bütirik Asit		İzovalerik Asit		Valerik Asit	
		Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran
		37,4 ± 0,7 ^a	-	27,4 ± 1,8 ^a	-	82,0 ± 1,9 ^b	-
65	30	37,8 ± 0,7 ^{a,x,A}	1,0	27,7 ± 1,2 ^{a,x,A}	1,2	62,6 ± 3,7 ^{a,x,A}	-23,6
	45	39,9 ± 1,1 ^{ab,x,A}	6,7	33,8 ± 17,2 ^{abc,x,A}	23,2	111,4 ± 0,3 ^{ef,z,B}	35,9
	60	47,1 ± 1,8 ^{bc,y}	25,7	31,0 ± 2,6 ^{ab,x}	12,9	114,2 ± 5,8 ^{ef,z}	39,3
	90	54,0 ± 1,1 ^{cde,z}	44,2	31,2 ± 1,3 ^{ab,x}	13,6	85,4 ± 1,7 ^{bc,y}	4,1
75	15	41,3 ± 1,2 ^{ab,x,A}	10,2	34,3 ± 0,7 ^{abc,x,A}	25,1	65,8 ± 9,0 ^{a,x,A}	-19,7
	30	53,6 ± 0,2 ^{cde,y,AB}	43,2	38,7 ± 1,0 ^{abcd,xy,B}	41,0	120,0 ± 4,9 ^{fg,y,C}	46,4
	45	57,9 ± 0,1 ^{e,z,B}	54,7	46,9 ± 3,3 ^{d,z,A}	71,1	128,3 ± 6,7 ^{g,y,C}	56,4
	60	53,3 ± 0,2 ^{cde,y}	42,2	43,5 ± 4,1 ^{cd,yz}	58,4	149,7 ± 2,7 ^{h,z}	82,5
85	10	40,9 ± 0,2 ^{ab,x}	9,3	28,6 ± 2,6 ^{ab,x}	4,5	104,0 ± 12,1 ^{de,y}	26,9
	15	52,6 ± 5,6 ^{cde,x,B}	40,5	33,3 ± 1,7 ^{abc,xy,A}	21,4	94,1 ± 1,7 ^{cd,y,B}	14,8
	30	60,1 ± 11,8 ^{ef,x,B}	60,4	36,4 ± 0,8 ^{abcd,y,B}	32,7	94,1 ± 6,0 ^{cd,y,B}	14,8
	45	55,2 ± 2,7 ^{cde,x,B}	47,4	29,5 ± 3,6 ^{ab,xy,A}	7,5	68,9 ± 1,8 ^{a,x,A}	-16
95	5	49,1 ± 1,8 ^{cd,x}	31,2	29,3 ± 2,3 ^{ab,x}	6,8	57,7 ± 2,7 ^{a,x}	-29,6
	10	54,4 ± 3,2 ^{cde,xy}	45,3	32,4 ± 0,5 ^{abc,xy}	18,1	57,1 ± 2,2 ^{a,x}	-30,4
	15	67,3 ± 0,8 ^{f,z,C}	79,6	36,7 ± 2,7 ^{abcd,yz,A}	33,9	80,0 ± 3,6 ^{b,y,AB}	-2,5
	30	57,2 ± 1,0 ^{de,y,B}	52,7	40,1 ± 2,4 ^{bcd,z,B}	46,2	113,5 ± 2,7 ^{ef,z,C}	38,4

* Konsantrasyon değerleri ng/mL cinsinden ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Artış oranı yüzde olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-h) aynı ise örnekler arasında fark olmadığı; (x-z) aynı ise aynı sıcaklıktaki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı; (A-D) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı sıcaklıklar arasında fark olmadığı anlaşılmalıdır (p>0,05). Kısaltmalar: T, sıcaklık; t, işlem süresi; S, saptanamadı.

4.3.3. Ultrases Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin *L. casei* Ortamındaki KZYA Etkileri

Ultrases yöntemiyle üretilmiş postbiyotiklerin *L. casei* 431 kültür ortamına eklenmesinden sonra asetik asit, propiyonik asit ve izobütirik asitlerin değişimleri Tablo 4.12’de verilmiştir.

Buna göre, kontroldeki asetik asit konsantrasyonu 6106,4 ± 28,1 ng/mL olarak belirlenmiştir. Ultrases işlemi ile üretilen postbiyotiklerden yalnız 320 µm’de 15 dakika üretilen postbiyotiğin ilavesi durumunda, asetik asit konsantrasyonunda %4,9 oranında bir artış

olmuştur ve bu artış kontrolden istatistiksel olarak anlamlı bir artış değildir ($p>0,05$). Geriye kalan postbiyotiklerin ilavesiyle asetik asit konsantrasyonunun tamamında azalmalar gözlenmiştir.

Tablo 4.12 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases işleme ile üretilen postbiyotiklerin, *Lactocaseibacillus casei* 431 ortamında oluşan asetik, propiyonik ve izobütirik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*

Genlik (μm)	Süre (dk)	Asetik Asit		Propiyonik Asit		İzobütirik Asit	
		Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran
Kontrol		6106,4 $\pm$ 28,1 ^f	-	38,3 $\pm$ 0,5 ^a	-	17,4 $\pm$ 0,7 ^a	-
98	45	5360,4 $\pm$ 141,3 ^{e,A}	-12,2	44,3 $\pm$ 3,3 ^{abc,A}	15,7	20,4 $\pm$ 1,3 ^{ab,A}	17,3
	60	5075,3 $\pm$ 221,6 ^{cde,C}	-16,9	47,5 $\pm$ 4,8 ^{bcd,A}	24,0	30,5 $\pm$ 0,3 ^{cd,A}	75,0
172	45	5148,6 $\pm$ 84,7 ^{de,A}	-15,7	46,4 $\pm$ 0,8 ^{abcd,A}	21,1	26,6 $\pm$ 1,8 ^{bc,B}	52,7
	60	4723,1 $\pm$ 52,3 ^{bcd,BC}	-22,7	50,3 $\pm$ 2,4 ^{cd,A}	31,2	35,9 $\pm$ 3,5 ^{def,A}	105,8
246	30	5420,3 $\pm$ 163,8 ^{e,x}	-11,2	41,4 $\pm$ 2,0 ^{ab,x}	8,1	30,5 $\pm$ 7,7 ^{cd,x}	74,7
	45	5058,0 $\pm$ 637,0 ^{cde,x,A}	-17,2	48,8 $\pm$ 3,7 ^{bcd,xy,A}	27,3	32,8 $\pm$ 1,4 ^{cde,x,C}	88,0
	60	4312,9 $\pm$ 416,6 ^{ab,x,AB}	-29,4	53,6 $\pm$ 4,6 ^{d,y,A}	39,9	39,1 $\pm$ 5,4 ^{efg,x,AB}	123,9
320	15	6408,0 $\pm$ 99,5 ^{f,t}	4,9	44,4 $\pm$ 2,8 ^{abc,x}	15,8	31,0 $\pm$ 2,0 ^{cd,x}	77,6
	30	5545,3 $\pm$ 18,3 ^{e,z}	-9,2	47,0 $\pm$ 5,6 ^{bcd,x}	22,7	33,2 $\pm$ 1,4 ^{cde,x}	90,3
	45	4570,8 $\pm$ 51,6 ^{bc,y,A}	-25,1	61,6 $\pm$ 2,5 ^{e,y,B}	60,8	42,1 $\pm$ 3,5 ^{fg,y,D}	141,1
	60	4001,3 $\pm$ 76,3 ^{a,x,A}	-34,5	66,0 $\pm$ 4,4 ^{e,y,B}	72,2	46,4 $\pm$ 2,7 ^{g,y,B}	165,7

* Konsantrasyon değerleri ng/mL cinsinden ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Artış oranı yüzde olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-h) aynı ise örnekler arasında fark olmadığı; (x-z) aynı ise aynı genlikteki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı; (A-D) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı genlikler arasında fark olmadığı anlaşılmalıdır ($p>0,05$).

Propiyonik asit, kontrolde 38,3 $\pm$ 0,5 ng/mL konsantrasyonda saptanırken, postbiyotik ilavesi sonucu konsantrasyonlarda %8,1 ile %72,2 arasında artışlar saptanmıştır (Tablo 4.12). Sabit işlem süresi 45 ve 60 dakikada 98, 172 ve 246 μm 'ler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmamakla ($p>0,05$) beraber yine aynı işlem sürelerindeki 320 μm diğer örneklerden anlamlı bir farklılık göstermiştir ($p<0,05$). En yüksek propiyonik asit artışı (%72,2), 320 μm 'de 60 dakikada üretilen postbiyotikte gözlemlendi; bu ultrases parametrelerinin en yüksek genlik ve süre kombinasyonudur ($p<0,05$).

İzobütirik asit ise kontrol örneğinde 17,4 $\pm$ 0,7 ng/mL konsantrasyonda saptanırken, postbiyotik ilavesi ile %17,3 ile %165,7 arasında artışlar sağlanmış ve genel olarak

postbiyotik ilavesiyle kontrolden anlamlı düzeylerde yüksek izobütirik asit değerleri belirlenmiştir ($p<0,05$) (Tablo 4.12). En büyük artış %165,7'lik artışla 320 μm 'de 60 dakikalık işlemle üretilen postbiyotikle sağlanırken ($p<0,05$), en düşük artış ise %17,3 ile en düşük şiddetteki ultrases işlemi ile 98 μm , 45 dakikada üretilen postbiyotiğin ilavesi ile sağlanmıştır.

L. casei 431 ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin postbiyotik ilavesi ile değişimleri ise Tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases işleme ile üretilen postbiyotiklerin, *Lacticaseibacillus casei* 431 ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*

Genlik (μm)	Süre (dk)	Bütirik Asit		İzovalerik Asit		Valerik Asit	
		Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran
Kontrol		$54,8 \pm 3,4^{ab}$	-	$22,6 \pm 2,2^a$	-	$112,7 \pm 5,1^a$	-
98	45	$52,0 \pm 2,1^{ab,A}$	-5,2	$25,0 \pm 2,7^{a,A}$	10,9	$138,2 \pm 8,6^{bcd,A}$	22,6
	60	$65,8 \pm 7,1^{cd,A}$	20,0	$28,7 \pm 2,6^{abc,A}$	27,3	$187,4 \pm 3,6^{e,B}$	66,3
172	45	$54,2 \pm 4,1^{ab,A}$	-1,2	$27,5 \pm 2,6^{ab,A}$	21,9	$142,0 \pm 8,7^{cd,A}$	26,0
	60	$68,4 \pm 0,5^{d,A}$	24,8	$29,7 \pm 8,1^{abc,A}$	31,7	$125,3 \pm 0,7^{abc,A}$	11,2
246	30	$45,9 \pm 0,8^{a,x}$	-16,3	$22,9 \pm 0,7^{a,x}$	1,3	$136,1 \pm 11,7^{bcd,xy}$	20,8
	45	$58,5 \pm 7,3^{bc,xy,AB}$	6,7	$29,6 \pm 1,6^{abc,y,AB}$	31,4	$149,2 \pm 6,5^{d,y,A}$	32,4
	60	$71,0 \pm 3,1^{d,y,A}$	29,6	$33,3 \pm 1,6^{bc,y,A}$	47,5	$117,7 \pm 2,1^{ab,x,A}$	4,4
320	15	$53,4 \pm 0,3^{ab,x}$	-2,6	$24,8 \pm 0,5^{a,x}$	9,8	$113,3 \pm 2,3^{a,x}$	0,5
	30	$56,2 \pm 2,8^{abc,x}$	2,6	$27,6 \pm 2,0^{ab,x}$	22,5	$158,0 \pm 20,7^{d,y}$	40,2
	45	$72,1 \pm 4,4^{d,y,B}$	31,5	$34,9 \pm 1,1^{bc,y,B}$	54,5	$157,5 \pm 8,7^{d,y,A}$	39,8
	60	$76,1 \pm 6,8^{d,y,A}$	38,7	$35,3 \pm 2,6^{c,y,A}$	56,4	$113,1 \pm 12,0^{a,x,A}$	0,4

* Konsantrasyon değerleri ng/mL cinsinden ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Artış oranı yüzde olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-h) aynı ise örnekler arasında fark olmadığı; (x-z) aynı ise aynı genlikteki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı; (A-D) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı genlikler arasında fark olmadığı anlaşılmaktadır ($p>0,05$). Kısaltmalar: S, saptanamadı.

Kontrol örneğindeki bütirik asit konsantrasyonu $54,8 \pm 3,4$ ng/mL iken, postbiyotiklerin ilavesi ile %2,6 ile %38,7 arasında artışlar belirlenmiştir. En büyük artış (%38,7) en yüksek genlikte en yüksek işlem süresi kombinasyonunda yani 320 μm 'de 60 dakikalık ultrases işlemi ile üretilen postbiyotikle sağlanırken, bu artış kontrolden istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Onu %31,5'luk artışla 320 μm 'de 45 dakikalık ultrases işlemiyle üretilen

postbiyotik izlemektedir ($p<0,05$). Bütirik asit konsantrasyonun da artışların yanında 4 postbiyotik örneğinde azalmalar da gözlenmiştir ancak bu azalışlar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$).

Kontrol örneğindeki izovalerik asit konsantrasyonu $22,6 \pm 2,2$ ng/mL iken, postbiyotiklerin ilavesi ile %1,3 ile %56,4 arasında artışlar belirlenmiştir. En büyük artış (%56,4) en yüksek genlik değerinde en yüksek işlem süresi kombinasyonunda 320 μ m'de 60 dakikalık ultrases işlemi ile üretilen postbiyotikle sağlanırken, bu artış kontrolden istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Onu %54,5'luk artışla 320 μ m'de 45 dakikalık ultrases işlemiyle üretilen postbiyotik izlemektedir ($p<0,05$). Sabit genlik farklı işlem sürelerinin veya sabit işlem süresi farklı genlik değerlerinin konsantrasyon değişimine anlamlı bir etkisi gözlenmedi (Tablo 4.13).

Kontrol örneğindeki valerik asit konsantrasyonu $112,7 \pm 5,1$ ng/mL iken, postbiyotiklerin ilavesi ile %0,4 ile %66,3 arasında artışlar belirlenmiştir (Tablo 4.13). En büyük artış (%66,3) 98 μ m'de 60 dakikalık ultrases işlemi ile üretilen postbiyotikle sağlanırken, bu artış kontrolden istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). 45 ve 60 dakikalık sabit işlem süresi farklı genlikteki örnekler kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($p>0,05$).

4.3.4. Ultrases Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin Bifidobacterium Kültürü Ortamındaki KZYA Etkileri

Ultrases yöntemiyle üretilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültür ortamına eklenmesinden sonra asetik asit, propiyonik asit ve izobütirik asitlerin değişimlerine Tablo 4.14'te yer verilmiştir. Buna göre, kontroldeki asetik asit konsantrasyonu $6168,6 \pm 48,3$ ng/mL olarak belirlenmiştir ve ultrases işleme ile üretilen postbiyotiklerin ilavesi ile yalnızca en yüksek genlik süre kombinasyonu olan 320 μ m'de 60 dakikada üretilen postbiyotik ilavesiyle asetik asit konsantrasyonunda artış (%19,8) sağlanmıştır ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir artış olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Geriye kalan postbiyotik örneklerin ilavesiyle asetik asit konsantrasyonunda azalışlar gözlenmiştir.

Propiyonik asit ise kontrolde $48,2 \pm 0,4$ ng/mL konsantrasyonunda saptanırken, postbiyotik ilavesi sonucu konsantrasyonlarda %22,5 ile %83,9 arasında artışlar saptanmıştır (Tablo 4.14). En yüksek artış (%83,9) en büyük genlikte 320 μm 'de 45 dakikada üretilen postbiyotiğin ilavesiyle sağlanmıştır ve bu artış kontrolden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p < 0,05$). 320 μm 'de 15, 30, 45 dakikalık kombinasyonlar kıyaslanırsa işlem süresi arttıkça propiyonik asit konsantrasyonu da artmıştır ($p < 0,05$).

Tablo 4.14 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases işleme ile üretilen postbiyotiklerin, *Bifidobacterium* kültürü ortamında oluşan asetik, propiyonik ve izobütirik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*

Genlik (μm)	Süre (dk)	Asetik Asit		Propiyonik Asit		İzobütirik Asit	
		Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran
Kontrol		$6168,6 \pm 48,3^c$	-	$48,2 \pm 0,4^{ab}$	-	$21,0 \pm 1,9^a$	-
98	45	$5074,5 \pm 88,9^{bc,B}$	-17,7	$59,1 \pm 4,4^{bc,A}$	22,5	$34,9 \pm 0,2^{c,B}$	66,1
	60	$4438,1 \pm 115,7^{a,A}$	-28,1	$74,4 \pm 4,6^{d,A}$	54,3	$35,6 \pm 4,5^{c,B}$	69,2
172	45	$4491,0 \pm 225,3^{a,A}$	-27,2	$60,7 \pm 0,3^{c,A}$	26,0	$28,3 \pm 0,05^{b,A}$	34,7
	60	$5433,0 \pm 300,2^{cd,B}$	-11,9	$67,5 \pm 0,4^{cd,A}$	40,0	$23,2 \pm 0,7^{a,A}$	10,7
246	30	$4825,5 \pm 92,6^{ab,y}$	-21,8	$61,2 \pm 8,6^{c,x}$	27,0	$26,0 \pm 0,4^{ab,x}$	23,7
	45	$4238,4 \pm 46,5^{cd,x,A}$	-31,3	$63,8 \pm 4,1^{cd,x,A}$	32,4	$26,0 \pm 0,9^{ab,x,A}$	23,5
	60	$5443,7 \pm 95,7^{a,z,B}$	-11,8	$66,5 \pm 3,6^{cd,x,A}$	37,9	$35,0 \pm 2,2^{c,y,B}$	66,6
320	15	$4234,4 \pm 94,5^{a,x}$	-31,4	$42,7 \pm 1,6^{a,x}$	-11,3	$34,5 \pm 1,0^{c,x}$	64,3
	30	$5545,2 \pm 557,5^{cd,y}$	-10,1	$66,4 \pm 10,3^{cd,y}$	37,7	$36,2 \pm 1,8^{c,x}$	72,3
	45	$5763,6 \pm 247,0^{de,y,C}$	-6,6	$88,6 \pm 0,2^{e,z,B}$	83,9	$36,6 \pm 3,4^{c,x,B}$	74,3
	60	$7387,9 \pm 422,5^{f,z,C}$	19,8	$64,0 \pm 7,3^{cd,y,A}$	32,7	$38,7 \pm 2,6^{c,x,B}$	84,3

* Konsantrasyon değerleri ng/mL cinsinden ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Artış oranı yüzde olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-h) aynı ise örnekler arasında fark olmadığı; (x-z) aynı ise aynı genlikteki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı; (A-D) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı genlikler arasında fark olmadığı anlaşılmalıdır ($p > 0,05$).

İzobütirik asit ise kontrol örneğinde $21,0 \pm 1,9$ ng/mL konsantrasyonda saptanırken, postbiyotik ilavesi ile %10,7 ile %84,3 arasında artışlar sağlanmıştır (Tablo 4.14). Sabit 320 μm ultrases genliğinde farklı işlem süresiyle elde edilmiş postbiyotiklerin ortama ilavesiyle izobütirik asit konsantrasyonunda farklı işlem süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanamamıştır ($p > 0,05$) ancak 320 μm genlikte üretilmiş postbiyotiklerin ilavesiyle sağlanan artış kontrol örneğine göre istatistiksel olarak anlamlı bir artıştır ($p < 0,05$). En yüksek artış (%84,3) en yüksek genlik en uzun işlem süresi kombinasyonunda 320 μm 'de 60

dakikada üretilen postbiyotik ilavesiyle sağlanmıştır bu artışı %74,3'le 320 µm'de 45 dakikada üretilen postbiyotik izlerken onu da %72,3 ile 320 µm'de 30 dakikada üretilen postbiyotik izlemiştir.

Bifidobacterium kültürü ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin postbiyotik ilavesi ile değişimleri ise Tablo 4.15'te verilmiştir. Kontrol örneğindeki bütirik asit konsantrasyonu $50,4 \pm 4,0$ ng/mL iken, postbiyotiklerin ilavesi ile %4,4 ile %58,7 arasında artışlar belirlenmiştir. En büyük artış (%58,7) en yüksek genlik 320 µm'de en yüksek işlem süresi olan 60 dakikalık ultrases işlemi ile üretilen postbiyotikle sağlanırken, onu 320 µm'de 45 dakikalık ultrases işlemi ile üretilen postbiyotik izlemiştir ve bu artışlar kontrol örneğiyle ve kendi aralarında kıyaslandığında bu artışın istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Sabit 45 dakikalık işlem süresinde genlik düzeyi arttıkça bütirik asit konsantrasyonundaki artış da yükselmiştir ve bu yükseliş istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

Tablo 4.15 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases işleme ile üretilen postbiyotiklerin, *Bifidobacterium* kültürü ortamında oluşan bütirik, izovalerik ve valerik asitlerin değişimleri üzerine etkisi.*

Genlik (µm)	Süre (dk)	Bütirik Asit		İzovalerik Asit		Valerik Asit	
		Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran	Konsantrasyon	Oran
Kontrol		$50,4 \pm 4,0^a$	-	$23,7 \pm 4,9^a$	-	$118,2 \pm 3,6^a$	-
98	45	$53,2 \pm 0,0^{ab,A}$	5,6	$25,2 \pm 1,2^{ab,A}$	6,2	$119,6 \pm 1,7^{a,A}$	1,2
	60	$58,3 \pm 7,0^{abc,A}$	15,7	$27,9 \pm 0,6^{abc,A}$	17,7	$163,8 \pm 7,6^{bcd,A}$	38,5
172	45	$58,3 \pm 1,7^{abc,B}$	15,7	$28,8 \pm 2,2^{abc,A}$	21,2	$174,0 \pm 8,5^{def,B}$	47,1
	60	$66,3 \pm 5,0^{cde,AB}$	31,7	$35,2 \pm 2,5^{def,B}$	48,3	$193,9 \pm 5,3^{gh,B}$	64,0
246	30	$59,5 \pm 0,5^{abcd,x}$	18,1	$25,3 \pm 1,4^{ab,x}$	6,7	$152,8 \pm 1,3^{bc,x}$	29,1
	45	$65,5 \pm 2,0^{cde,xy,C}$	30,0	$30,1 \pm 1,1^{bcd,x,A}$	26,7	$168,0 \pm 12,4^{cde,xy,B}$	42,1
	60	$68,7 \pm 3,7^{de,y,AB}$	36,4	$38,9 \pm 3,0^{f,y,B}$	63,6	$190,8 \pm 5,6^{fgh,y,B}$	61,3
320	15	$52,6 \pm 5,1^{a,x}$	4,4	$26,2 \pm 2,0^{abc,x}$	10,5	$148,7 \pm 11,0^{b,x}$	25,8
	30	$62,4 \pm 5,2^{bcde,xy}$	23,9	$31,5 \pm 0,5^{cde,xy}$	32,7	$183,0 \pm 1,3^{efg,y}$	54,7
	45	$69,2 \pm 0,8^{e,yz,C}$	37,4	$39,2 \pm 2,2^{f,z,B}$	65,0	$200,9 \pm 7,3^{hi,yz,C}$	69,9
	60	$80,0 \pm 4,4^{f,z,B}$	58,7	$36,7 \pm 2,7^{ef,yz,B}$	54,7	$211,9 \pm 11,1^{i,z,B}$	79,2

* Konsantrasyon değerleri ng/mL cinsinden ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Artış oranı yüzde olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-h) aynı ise örnekler arasında fark olmadığı; (x-z) aynı ise aynı genlikteki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı; (A-D) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı genlikler arasında fark olmadığı anlaşılmaktadır ($p > 0,05$). Kısaltmalar: S, saptanamadı.

İzovalerik asit konsantrasyonu ise kontrol grubunda $23,7 \pm 4,9$ ng/mL iken, postbiyotik ilavesi ile izovalerik asit konsantrasyonu %65,0'e kadar artmıştır (Tablo 4.15). 320 μ m'de 45 dakikalık ultrases işlemi ile 246 μ m'de 60 dakikada üretilen postbiyotiklerin ilavesi ile izovalerik asit konsantrasyonunda %60'ın üzerinde artışlar sağlanabilmektedir ve bu artışlar kontrol örneğine göre kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). İzovalerik asit konsantrasyonunda sabit işlem süresinde farklı genlik düzeylerinin anlamlı bir etkisi gözlenmedi ($p > 0,05$).

Valerik asit konsantrasyonu ise kontrol grubunda $118,2 \pm 3,6$ ng/mL iken, postbiyotik ilavesi ile valerik asit konsantrasyonlarının %79,2'ye kadar artmıştır (Tablo 4.15) ve bu %79,2'lik en büyük artış en yüksek genlikteki 320 μ m'de 60 dakikalık ultrases işlemi ile üretilmiş postbiyotiğin ortama ilavesiyle sağlanmıştır. Bu artış kontrol örneğine kıyasla istatistiksel olarak da anlamlıdır ($p < 0,05$). Bu artışı %69,9'la 320 μ m'de 45 dakikada üretilen postbiyotik izlerken onu da %64,0'lük artışla 172 μ m'de 60 dakikada üretilen postbiyotik izlemiştir ($p < 0,05$). Sabit 320 μ m genlikte işlem süresi arttıkça (15, 30, 45 dakika) valerik asit konsantrasyonu da artmıştır ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$).

4.3.5. KZYA Bulgularına Genel Bakış ve Yorumlar

Bu çalışmada, ısıl işlem uygulanmış *B. lactis* BB-12 suşundan elde edilen postbiyotiklerin, kısa zincirli yağ asidi (KZYA) üretimini artırma potansiyelinin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Asetat, propiyonat ve bütirat gibi KZYA'lar, insan kolonik mikrobiyotası tarafından fermente edilebilir substratların metabolizması sonucu oluşan temel son ürünlerdir. Bu metabolitler, konak sağlığı üzerinde çok yönlü biyoeş etkiler sergileyerek bağırsak epitel bütünlüğünün sürdürülmesi, inflamatuvar yanıtların modülasyonu ve enerji homeostazının desteklenmesi gibi kritik işlevlerde rol almaktadır (Koh, De Vadder, Kovatcheva-Datchary, ve Bäckhed, 2016).

KZYA üretim potansiyelini daha da artırmak amacıyla, postbiyotik üretim süreçlerinin optimize edilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu kapsamda; fermantasyon parametreleri, inaktivasyon teknikleri (örneğin ısıl işlem, yüksek hidrostatik basınç ya da ultrases uygulamaları) ve kullanılan mikrobiyal suşun fizyolojik özellikleri, KZYA oluşumunu

belirleyen başlıca faktörler arasında yer almaktadır (Aguilar-Toalá ve diğerleri, 2018). Ayrıca, üretim ortamında kullanılan substratın kompozisyonu da belirleyici bir etkidir; özellikle prebiyotik lifler gibi fonksiyonel bileşenlerin eklenmesi, mikrobiyal metabolizma yoluyla KZYA sentezini anlamlı düzeyde artırabilmektedir (Wegh ve diğerleri, 2019). Tüm bu bulgular, postbiyotiklerin KZYA üretimini artırma kapasitesine sahip olduğunu ve üretim parametrelerinde yapılacak hedefe yönelik iyileştirmelerin, mikrobiyotaya bağlı faydalı etkilerin güçlendirilmesine katkı sağlayabileceğini göstermektedir.

Canlı *B. lactis* BB-12 suşunun KZYA üretimini artırmadaki etkinliği, mevcut literatürde güçlü bir şekilde desteklenmektedir (Merenstein ve diğerleri, 2021). Nitekim dört dönemli çapraz bir tasarıma sahip bir çalışmada sağlıklı genç yetişkinlere yoğurt formunda canlı veya ısıl işlemle inaktive edilmiş *B. lactis* BB-12 içeren ürünler verilmiştir. Fermantasyon öncesinde yoğurda canlı *B. lactis* BB-12 eklenmesi, dışkı asetat düzeylerinde yaklaşık %52 artış sağlamıştır. Buna karşılık, fermantasyon sonrası ısıl inaktive *B. lactis* BB-12 (postbiyotik) eklenmesiyle asetat artışı %24,5 ile sınırlı kalmıştır. Bu bulgular, canlı formun KZYA üretimini artırmada postbiyotik forma göre daha etkili olduğunu göstermektedir (Lee ve diğerleri, 2017). Bu fark, büyük ölçüde, canlı hücrelerin karbonhidratları doğrudan KZYA'ları fermente etme kapasitelerine bağlanmaktadır (Markowiak-Kopeć ve Śliżewska, 2020). Öte yandan, canlılıklarını yitirmiş olmalarına rağmen, *B. lactis* BB-12'nin postbiyotik türevleri de benzer fizyolojik etkileri dolaylı yollarla tetikleyebilme potansiyeline sahiptir. Hücre duvarı komponentleri, organik asitler ve çeşitli biyoaktif metabolitler gibi postbiyotik bileşenler, bağırsak mikrobiyotasının kompozisyonunu modüle ederek KZYA üreten bakterilerin çoğalmasını destekleyebilir. Ayrıca bazı postbiyotik fraksiyonların, KZYA'larla ilişkili reseptörleri aktive ederek benzer metabolik ve immünolojik yanıtları indükleyebildiği de gösterilmiştir (Aguilar-Toalá ve diğerleri, 2018).

Elde edilen veriler, inaktive edilmiş *B. lactis* BB-12'nin kolonda KZYA üretimini destekleme kapasitesine sahip olduğunu ortaya koymakta ve bu etkinin, konakçıda metabolik denge ile bağırsak sağlığının korunmasına katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular doğrultusunda, gelecekte yürütülecek kapsamlı çalışmalar; postbiyotiklerin, geleneksel

probiyotiklere kıyasla potansiyel tamamlayıcı ya da işlevsel alternatifler olarak değerlendirilmesine yönelik daha güçlü bilimsel kanıtlar sunacaktır.

4.4. Postbiyotiklerin Patojen Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi

Postbiyotiklerin kolon mikrobiyotası üzerindeki etkilerinden biri de antimikrobiyal özellikler sergileyebilme potansiyelleridir. Postbiyotiklerin en dikkat çeken yönlerinden biri, canlı mikroorganizma içermeseler bile antimikrobiyal özelliklerini sürdürebilmeleridir. Bazı bakterilerin sentezlediği antimikrobiyal bileşikler, postbiyotik ürünlerde hücre duvarı bileşenleri, lizatlar veya salgılanmış metabolitler şeklinde aktif kalmayı başarır. Güncel bilimsel veriler, bu biyomoleküllerin yeterli düzeyde bulunmaları halinde belirgin antimikrobiyal etki gösterebildiğini ortaya koymaktadır (Zhao ve diğerleri, 2024). Bu biyolojik etkiler, özellikle laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinler, biyoaktif peptitler, organik asitler ve uçucu metabolitler gibi çeşitli sekonder metabolitlerin varlığı ile ilişkilidir (Alameri ve diğerleri, 2022; Chang, Foo, Loh, Lim, ve Abdul Mutalib, 2021; Sun ve diğerleri, 2015; Yasmin ve diğerleri, 2020).

B. lactis BB-12 suşunun, *Escherichia coli* türlerine karşı muhtemel antogonistik etkisi, hem besin kaynakları ve tutunma bölgeleri için rekabet mekanizmalarına hem de antimikrobiyal bileşik üretimine dayandırılmaktadır (Fijan, Šulc, ve Steyer, 2018). Bu doğrultuda, üretilmiş postbiyotiklerin çeşitli patojen bakterilere karşı gösterebileceği olası antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Antimikrobiyal aktivite analizleri içinse patojen mikroorganizmalardan *Escherichia coli* ve *Enterococcus faecalis* seçilmiştir.

Isıl işlem yöntemiyle üretilmiş postbiyotiklerin (16 farklı koşulda *B. lactis* BB-12 kullanılarak üretilmiş postbiyotikler) ve ultrases yöntemiyle üretilmiş postbiyotiklerin (11 farklı koşulda *B. lactis* BB-12 kullanılarak üretilmiş postbiyotikler) analizleri gerçekleştirilmiştir.

4.4.1. Isıl İşlem Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin Patojenler Üzerine Etkileri

B. lactis BB-12 kullanılarak 16 farklı ısı işlem koşulunda postbiyotik üretimi gerçekleştirilmiş ve her bir koşulda mikroorganizmanın tam inaktivasyonu sağlanmıştır. Elde

edilen postbiyotiklerin antimikrobiyal özelliklerini incelemek için iki farklı patojen mikroorganizma kullanılmıştır. *Escherichia coli* üzerindeki antimikrobiyal etkiler Tablo 4.16’da, *Enterococcus faecalis* üzerindeki etkiler ise Tablo 4.17’de detaylandırılmıştır.

Tablo 4.16 *B. lactis* BB-12 kullanılarak kullanılarak ısıtıl işlem yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin *Escherichia coli*’ye karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin sayısal sonuçları.*

Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Örnekler	Azalma Oranı (%)
65	30	1	28,47 ± 0,63 ^{c,x,B}
	45	2	28,41 ± 1,05 ^{c,x,A}
	60	3	29,12 ± 0,87 ^{cd,x}
	90	4	28,11 ± 1,14 ^{c,x}
75	15	5	30,65 ± 0,67 ^{d,y,C}
	30	6	28,59 ± 0,80 ^{c,x,B}
	45	7	29,42 ± 0,11 ^{cd,xy,A}
	60	8	29,18 ± 0,62 ^{cd,xy}
85	10	9	27,42 ± 0,34 ^{c,x}
	15	10	27,59 ± 0,24 ^{c,x,B}
	30	11	29,24 ± 0,70 ^{cd,y,B}
	45	12	28,12 ± 0,64 ^{c,xy,A}
95	5	13	24,16 ± 0,98 ^{ab,x}
	10	14	23,40 ± 1,08 ^{ab,x}
	15	15	24,69 ± 1,38 ^{b,x,A}
	30	16	22,57 ± 1,43 ^{a,x,A}

* Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-d) aynı ise farklı örnekler arasında fark olmadığı, (x-z) aynı ise aynı sıcaklıktaki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı, (A-B) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı sıcaklıklar arasında fark olmadığı anlaşılmaktadır (p>0.05).

Isıl işleme üretilmiş postbiyotikler içerisinde *E. coli* üzerinde en büyük antimikrobiyal aktivitenin, 75 °C’de 15 dakikada üretilen postbiyotikle sağlandığı görülmüştür (-%30,65). Sabit 15 dakikalık işlem süresinde farklı sıcaklık işlem parametrelerinin, üretilen postbiyotiklerin *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal etkileri farklıdır (p<0,05). 30 (95 °C hariç) ve 45 dakikalık sabit işlem sürelerinde ise farklı sıcaklık parametrelerinin anlamlı bir etkisi

saptanmamıştır ($p>0,05$). Sabit sıcaklıkta farklı işlem sürelerinin de anlamlı bir etkisi gözlenmedi ($p>0,05$).

Tablo 4.17’de görüldüğü üzere ısıtma işlemiyle üretilmiş postbiyotikler içerisinde *E. faecalis* üzerinde en yüksek antimikrobiyal aktivitenin, 75 °C’de 30 dakikada üretilen postbiyotikle sağlandı (-%36,92). Onu -%36,32 ile 85 °C’de 15 dakikada üretilen postbiyotik izlerken onu da -%36,12 ile 85 °C’de 10 dakikada üretilen postbiyotik izledi. Sabit sıcaklıkta farklı işlem sürelerinin antimikrobiyal etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 4.17 *B. lactis* BB-12 kullanılarak kullanılarak ısıtma işlem yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin *Enterococcus faecalis*’e karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin sayısal sonuçları.*

Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Örnekler	Azalma Oranı (%)
65	30	1	$32,14 \pm 0,88^{abcd,xy,AB}$
	45	2	$31,28 \pm 0,04^{abc,x,A}$
	60	3	$33,05 \pm 1,12^{bcde,xy}$
	90	4	$34,16 \pm 1,26^{bcdef,y}$
75	15	5	$34,66 \pm 0,30^{cdef,x,B}$
	30	6	$36,92 \pm 3,22^{f,x,B}$
	45	7	$35,87 \pm 1,13^{ef,x,B}$
	60	8	$33,30 \pm 0,90^{bcde,x}$
85	10	9	$36,12 \pm 0,48^{ef,x}$
	15	10	$36,32 \pm 0,20^{ef,x,B}$
	30	11	$33,96 \pm 1,55^{bcdef,x,AB}$
	45	12	$35,01 \pm 1,94^{def,x,AB}$
95	5	13	$31,73 \pm 1,74^{abcd,x}$
	10	14	$29,57 \pm 1,03^{a,x}$
	15	15	$31,08 \pm 1,53^{ab,x,A}$
	30	16	$29,62 \pm 2,03^{a,x,A}$

* Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-f) aynı ise farklı örnekler arasında fark olmadığı, (x-z) aynı ise aynı sıcaklıktaki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı, (A-B) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı sıcaklıklar arasında fark olmadığı anlaşılmalıdır ($p>0,05$).

4.4.2. Ultrases Yöntemiyle Üretilmiş Postbiyotiklerin Patojenler Üzerine Etkileri

Tablo 4.18, *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin *Escherichia coli* üzerindeki antimikrobiyal etkilerini göstermektedir. Bu tabloda, farklı genlik (μm) ve işlem süresi (dk) kombinasyonlarına bağlı olarak postbiyotiklerin *E. coli* popülasyonunda meydana getirdiği azalma oranları (%) detaylı olarak sunulmuştur.

Tablo 4.18 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin *Escherichia coli*’e karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin sayısal sonuçları.*

Genlik (μm)	Süre (dk)	Örnekler	Azalma Oranı (%)
98	45	3	$4,16 \pm 0,20^{\text{cd},\text{C}}$
	60	4	$2,16 \pm 0,01^{\text{ab},\text{A}}$
172	45	7	$3,83 \pm 0,26^{\text{c},\text{C}}$
	60	8	$4,16 \pm 0,43^{\text{cd},\text{B}}$
246	30	10	$5,08 \pm 0,31^{\text{d},\text{y}}$
	45	11	$2,33 \pm 0,21^{\text{b},\text{x},\text{B}}$
	60	12	$2,16 \pm 0,45^{\text{ab},\text{x},\text{A}}$
320	15	13	$4,00 \pm 0,03^{\text{cd},\text{y}}$
	30	14	$2,74 \pm 1,27^{\text{b},\text{xy}}$
	45	15	$1,16 \pm 0,00^{\text{a},\text{x},\text{A}}$
	60	16	$2,33 \pm 0,49^{\text{b},\text{xy},\text{A}}$

* Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Azalma oranı yüzde olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-d) aynı ise farklı örnekler arasında fark olmadığı, (x-y) aynı ise aynı genlikteki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı, (A-C) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı genlikler arasında fark olmadığı anlaşılmalıdır ($p>0,05$).

Çalışılan postbiyotiklerin *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesine bakıldığında en yüksek değerin 246 μm ’de 30 dakikada üretilmiş postbiyotikle sağlandığı, onu ise 98 μm ’de 45 dakikada, 172 μm ’de 60 dakikada ve 320 μm ’de 15 dakikada üretilmiş postbiyotiklerin izlediği belirlenmiştir (Tablo 4.18). *E. coli* için 45 dakikalık uygulamalarda 98 μm ’de ve 172 μm ’de üretilen postbiyotikler benzer şekilde gruplandırılmış ve diğer genliklerde üretilen postbiyotiklerden anlamlı şekilde farklılaşmıştır ($p<0,05$).

Tablo 4.19, *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin *Enterococcus faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkilerini göstermektedir. Bu tabloda, farklı genlik (μm) ve işlem süresi (dk) kombinasyonlarına bağlı olarak postbiyotiklerin *Enterococcus faecalis* popülasyonunda meydana getirdiği azalma oranları (%) detaylı olarak sunulmuştur.

Tablo 4.19 *B. lactis* BB-12 kullanılarak kullanılarak ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin *Enterococcus faecalis*'e karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivitenin sayısal sonuçları.*

Genlik (μm)	Süre (dk)	Örnekler	Azalma Oranı (%)
98	45	3	7,65 ± 0,02 ^{g,C}
	60	4	6,45 ± 0,19 ^{e,C}
172	45	7	5,85 ± 0,01 ^{d,B}
	60	8	4,20 ± 0,01 ^{c,B}
246	30	10	3,60 ± 0,01 ^{b,xy}
	45	11	3,75 ± 0,01 ^{b,y,A}
	60	12	3,30 ± 0,22 ^{a,x,A}
320	15	13	4,05 ± 0,01 ^{c,x}
	30	14	4,20 ± 0,22 ^{c,x}
	45	15	8,85 ± 0,24 ^{h,z,D}
	60	16	6,82 ± 0,08 ^{f,y,C}

* Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Azalma oranı yüzde olarak verilmiştir. Üst indis olarak kullanılan harfler (a-h) aynı ise farklı örnekler arasında fark olmadığı, (x-z) aynı ise aynı genlikteki farklı işlem süreleri arasında fark olmadığı, (A-D) aynı ise aynı işlem sürelerinde farklı genlikler arasında fark olmadığı anlaşılmalıdır (p>0,05).

Verilere göre, ultrases yöntemiyle üretilmiş postbiyotiklerin *E. faecalis* üzerindeki etkisi, *E. coli* üzerindeki etkisinden daha büyüktür. Tüm incelenen postbiyotikler içerisinde *E. faecalis* üzerinde en büyük antimikrobiyal aktivitenin, 320 μm'de 45 dakikada üretilen postbiyotikle sağlandığı görülmüştür (-%8,85). Onu 98 μm'de 45 dakikada üretilen postbiyotik izlemektedir (-%7,65).

Sabit sürelerde uygulanan farklı genlik düzeyilerindeki ultrases işleminin, üretilen postbiyotiklerin antimikrobiyal etkileri üzerine yer yer etkili olabildiği görülmüştür (p<0,05). Örneğin; 45 dakikada farklı genliklerde yapılan işlemlerle üretilen postbiyotiklerin *E. faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkileri farklıdır. Benzer bir durum 60 dakikalık işlemlerde de *E. faecalis* açısından görülmektedir ve genliğin anlamlı etkisi saptanmıştır (p<0,05).

İki inaktivasyon yöntemi için genel bir karşılaştırma yapıldığında, ısıyla inaktive edilen postbiyotiklerin, ultrases yöntemiyle elde edilenlere kıyasla daha güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu farklılık, muhtemelen belirli patojen mikroorganizmalar ile postbiyotik bileşenler arasındaki özgül etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Nitekim, ohmik

ısıtma ile inaktive edilen *B. lactis* BB-12 hücrelerinin *Salmonella enterica* üzerinde anlamlı biyofilm inhibitör etkiler sergilediği ve konak hücrelere tutunma kapasitesini azalttığı daha önce gösterilmiştir. Bu biyolojik etkiler, özellikle gliserol, asetat ve laktat gibi metabolitlerin artan seviyeleri ile ilişkili bulunmuştur (Yolmeh, Sforça, ve Sant'Ana, 2025).

Isı ile inaktive edilen *Bifidobacterium* suşlarının postbiyotik kapasitesi, büyük ölçüde hücre yapısının ve metabolitlerin korunmasına bağlıdır. Bu bakteriler, hücre dışı polisakkaritler (EPS), organik asitler, bakteriyosinler ve lipoteikoik asitler gibi çeşitli antimikrobiyal bileşikler üretebilmektedir (Sarkar ve Mandal, 2016). Özellikle bakteriyosinler, *Bifidobacterium* türlerinin hücre dışı sıvılarında gözlenen antimikrobiyal aktivitenin başlıca kaynaklarından biri olarak kabul edilmektedir. Bu bakteriyosinlerden biri olan bifidosin, farklı *Bifidobacterium* suşlarından izole edildiğinde hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere ve bazı maya türlerine karşı hücre lizisi yoluyla geniş spektrumlu bakterisidal etki göstermektedir (Martinez, Balciunas, Converti, Cotter, ve de Souza Oliveira, 2013; Piqué ve diğerleri, 2019). Söz konusu antimikrobiyal bileşiklerin pek çoğu 100 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda yapısal stabilitelerini koruyabildiğinden, termal inaktivasyon sonrasında da biyolojik aktivitelerini sürdürebilmektedirler (Juturu ve Wu, 2018). Ayrıca, ısıtma sırasında hücre zar bütünlüğünün bozulması, DNA, peptidoglikan ve diğer hücre duvarı bileşenlerinin ortama salınmasına neden olur. Bu moleküllerin hem patojen mikroorganizmaların baskılanmasında hem de konak bağışıklık yanıtının uyarılmasında önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Piqué ve diğerleri, 2019). Örneğin, *B. lactis* BB-12'nin *Escherichia coli* suşlarına karşı gösterdiği antagonistik etki, hem besin kaynakları ve adezyon bölgeleri için rekabet mekanizmalarına hem de salgıladığı antimikrobiyal bileşiklere atfedilmektedir (Fijan ve diğerleri, 2018).

Tüm bu bulgular, ısıyla inaktive edilmiş postbiyotiklerin, canlı probiyotiklere kıyasla daha yüksek stabilite ve güvenlik düzeyiyle birlikte etkili antimikrobiyal aktivite sunabileceğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, bu etkilerin tür spesifikliği, uygulanan inaktivasyon yöntemi ve bileşenlerin fizikokimyasal özellikleri gibi faktörlerden etkilendiği; özellikle saflaştırılmış bileşenlerin ve formülasyon kombinasyonlarının değerlendirilmesine yönelik daha kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulduğu açıktır. Bu bağlamda, ısıtma işlemiyle elde edilen

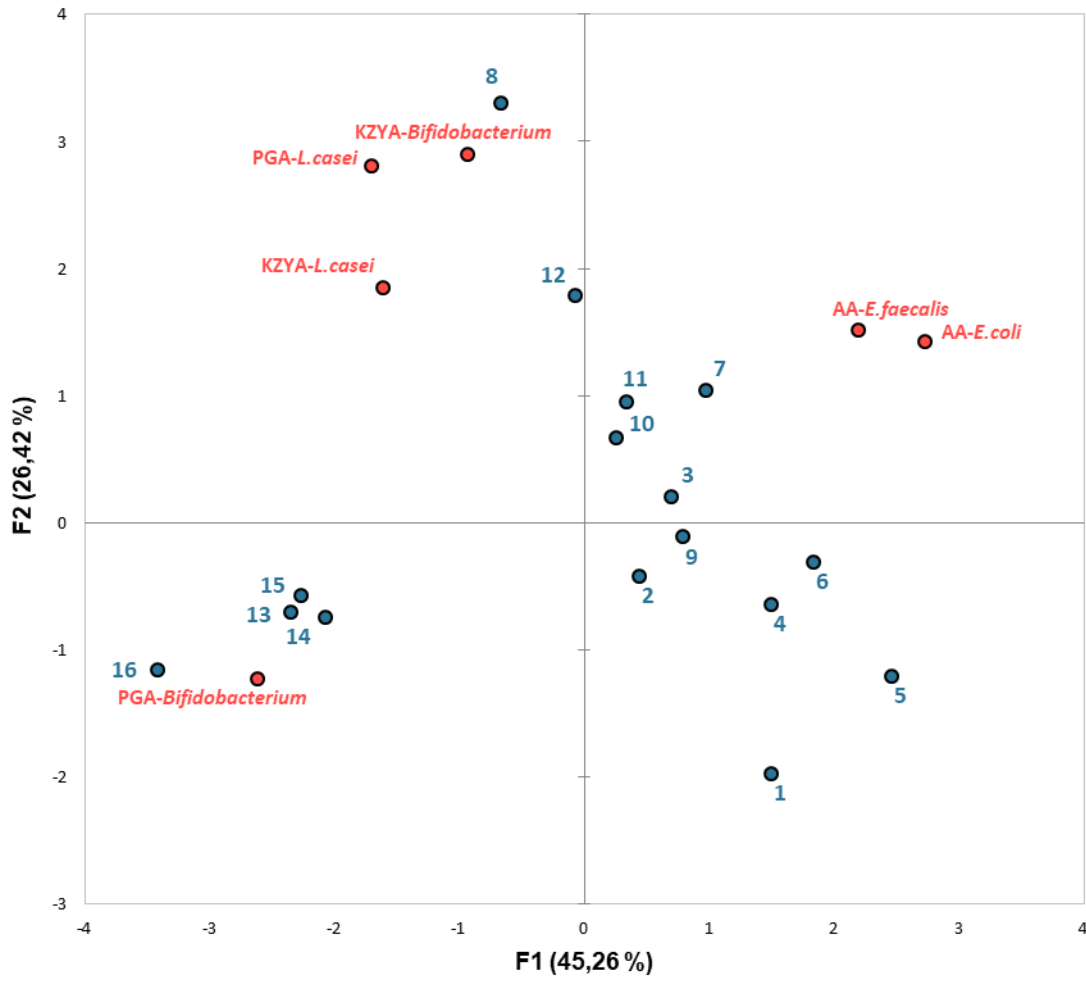
B. lactis BB-12 postbiyotiklerinin, özellikle *Enterococcus faecalis* gibi patojenlerle mücadelede umut vaat eden biyolojik ajanlar olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir. Ancak bu etkinin altında yatan mekanizmaların aydınlatılması ve klinik geçerliliğinin ortaya konulması için ileri düzey araştırmalara ihtiyaç vardır.

4.5. Bulguların Genel Değerlendirmesi

Farklı koşullarda ve çeşitli işleme teknikleriyle elde edilen postbiyotiklerin analizinde Temel Bileşen Analizi'nden (PCA) faydalanılmıştır. Isıl işleme üretilen postbiyotikler ile ultrases yöntemiyle elde edilen postbiyotikler, kendi içlerinde ayrı ayrı PCA yöntemiyle değerlendirilmiş ve bu sayede her bir uygulamanın oluşturduğu farklılıklar detaylı biçimde ortaya konmuştur.

4.5.1. Isıl İşlem ile *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12'ten Üretilmiş Postbiyotiklerin Değerlendirilmesi

Isıl işleme *B. lactis* BB-12'ten üretilen postbiyotiklerin değerlendirilmesi için yapılan PCA sonucunda, çalışmada kullanılan değişkenler tarafından oluşan ve en yüksek varyasyona sahip iki faktörden birisinin toplam değişimi %45,3 değerinin ise %26,4 oranında açıkladığı belirlenmiştir. Bu iki faktörün kullanımı ile elde edilen ve toplam değişimin %71,7'sini açıklayan dağılım grafiği Şekil 1.'de verilmiştir. Buna göre, her bir sıcaklık için üretilen postbiyotiklerin birbirine görece yakın yerlerde konumlandıkları, özellikle 95 °C'de üretilen postbiyotiklerin PCA grafiğinin x ve y eksenleri açısından negatif çeyreğinde toplandığı ve özellikle *Bifidobacterium* kültürü ortamındaki probiyotik geliştirici aktivite ile uyumlu olduğu görülmüştür. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarının çalışılan her iki patojen için de x ve y eksenlerinin pozitif olduğu çeyrek dilimde bulunduğu, *L. casei* açısından ise probiyotik geliştirici aktivite ile KZYA oluşumunun birbirine yakın bölgelerde konumlandığı görülmüştür.

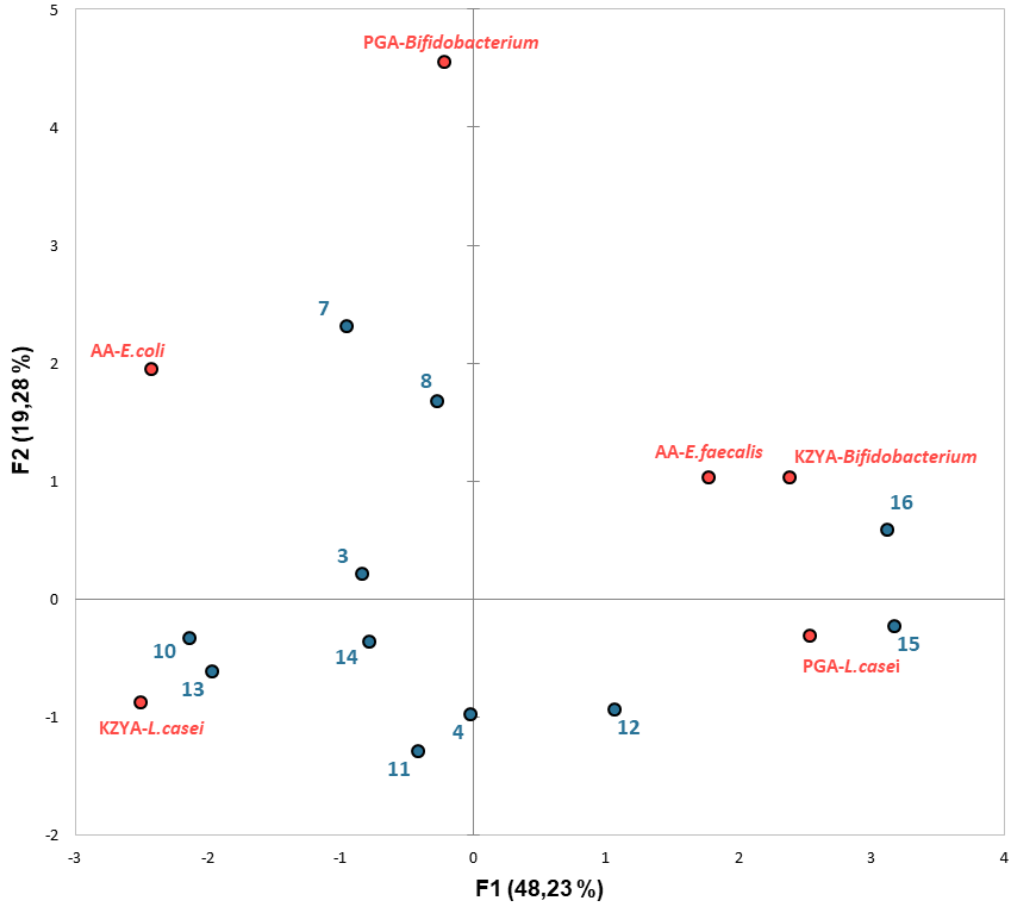


Şekil 1. Isıl işlem yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin analiz edilen özellikleri için PCA biplot grafiği (AA: antimikrobiyal aktivite; KZYA: kısa zincirli yağ asidi; PGA: probiyotik geliştirici aktivite).

4.5.2. Ultrases ile *B. lactis* BB-12'ten Üretilmiş Postbiyotiklerin Değerlendirilmesi

Ultrases işleme ile *B. lactis* BB-12'ten üretilen postbiyotiklerin değerlendirilmesi için yapılan PCA sonucunda ise, çalışmada kullanılan değişkenler tarafından oluşan ve en yüksek varyasyona sahip iki faktörden birisinin toplam değişimi %48,2 diğerinin ise %19,3 oranında açıkladığı belirlenmiştir. Bu iki faktörün kullanımı ile elde edilen ve toplam değişimin %67,5'ini açıklayan dağılım grafiği Şekil 2.'de verilmiştir. Buna göre, sabit genlikte üretilen postbiyotiklerin konumları, ultrases işlem süresinin artışı ile x ekseninin pozitif yönüne doğru ilerlediği belirlenmiştir. Bu da x eksenini ile ultrases işlem süresinin ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. PCA grafiğinin pozitif x eksenindeki yarısında, sadece 3 postbiyotikğin

konumlandığı ve bu postbiyotiklerin en şiddetli ultrases işlemleri ile üretilen postbiyotikler (246 μm 'de 60 dakika, 320 μm 'de 45 ve 60 dakika) olduğu görülmektedir.



Şekil 2. Ultrases yöntemiyle üretilen postbiyotiklerin analiz edilen özellikleri için PCA biplot grafiği (AA: antimikrobiyal aktivite; KZYA: kısa zincirli yağ asidi; PGA: probiyotik geliştirici aktivite).

5. SONUÇLAR

Postbiyotik elde etmek amacıyla, *B. lactis* BB-12 suşuna ultrases ve ısıtma işlemi uygulanmış ve her iki yöntemle elde edilen postbiyotiklerin antimikrobiyal aktiviteleri, probiyotik geliştirici etkileri ve KZYA üretim potansiyelleri karşılaştırılarak en etkili postbiyotik belirlenmiştir. Isıtma işlemi yöntemi için belirlenen her bir işlem koşulunda probiyotiğin inaktivasyonu sağlanmıştır. Ultrases yöntemi için belirlenmiş işlem koşullarında ise toplamda 11 koşulda inaktivasyon sağlanabilmiştir. Elde ettiğimiz veriler *B. lactis* BB-12'nin sabit frekansta düşük genlikte daha dirençli olduğunu, genlik büyüklüğü arttıkça inaktivasyon için gerekli işlem süresinin kısaldığını göstermektedir. 320 μm 'de 15 dakikalık işlem süresinden sonra inaktivasyon gerçekleştirilebilirken 98 μm 'de ise 45 dakikalık işlem süresinden sonra inaktivasyon gerçekleştirilebilmiştir.

Inaktivasyonu sağlanmış örneklerin probiyotik üretimini geliştirici aktiviteleri *Lactocaseibacillus casei* 431 ve *Bifidobacterium* kültürü ortamında değerlendirilmiştir. Isıtma işlemi yöntemiyle 75 °C, 60 dk üretim koşullarında elde edilmiş postbiyotik 2,90'luk artış oranı ile *Lactocaseibacillus casei* 431 kültürü üzerinde en yüksek probiyotik geliştirici aktiviteyi göstermiştir ($p<0,05$), *Bifidobacterium* kültürü üzerinde ise en yüksek probiyotik geliştirici aktiviteyi 95 °C, 30 dk üretim koşullarında elde edilmiş postbiyotik ise göstermiştir ($p<0,05$). *Lactocaseibacillus casei* 431 için en yüksek probiyotik geliştirici aktivite ultrases yöntemiyle üretilen 320 μm 'de 45 dakikalık işlem koşulunda *Bifidobacterium* içinse 172 μm 'de 60 dakikalık işlem süresinde gözlenmiştir.

Ultrases yöntemiyle üretilmiş postbiyotikler içerisinde *E. faecalis* üzerinde en büyük antimikrobiyal aktivitenin 320 μm 'de 45 dakikada üretilen postbiyotikle, *E. coli* üzerinde ise 246 μm 'de 30 dakikada üretilmiş postbiyotikle sağlandığı gözlenmiştir. Isıtma işlemi yöntemiyle üretilmiş postbiyotiklerin *E. faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkisi, *E. coli* üzerindeki etkisinden daha fazla bulunmuştur.

KZYA analiz sonuçlarından elde edilen bulgular ısıl işlemle elde edilmiş postbiyotiklerde artışlarda oran %305'in üzerine çıkarken ultrases yöntemiyle elde edilmiş postbiyotiklerde ise oran % 165'in üzerine çıkmıştır ayrıca ısıl işlemle üretilmiş postbiyotiklerin ilavesiyle tüm ortamlardaki asetik asit konsantrasyonu belirgin şekilde artmıştır ($p<0,05$). Sonuçta elde edilen veriler kolonda KZYA üretiminin teşviki için postbiyotik formundaki *B. lactis* BB-12'nin önemini göstermektedir.

Bu çalışmadan elde edilen bulgular, inaktivasyon tekniğinin *B. lactis* BB-12'den türetilen postbiyotiklerin işlevsel nitelikleri üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Isıl işlem uygulanarak elde edilen postbiyotiklerin, probiyotik geliştirici aktivite potansiyelleri, antimikrobiyal aktiviteleri ve KZYA üretimini teşvik etme kapasiteleri bakımından, ultrases yöntemine kıyasla daha üstün performans sergilediği gözlemlenmiştir. İnaktivasyonun değerlendirilmesinde geleneksel kültürlenme yöntemlerinin yanında tamamlayıcı yöntemlerin birlikte kullanımı inaktivasyon yönteminin sonuçları hakkında daha detaylı bilgi verecektir.

Elde edilen veriler, ısıl inaktivasyonla üretilen postbiyotiklerin, mikrobiyotanın dengelenmesi, patojenlerin inhibisyonu ve genel bağırsak sağlığının desteklenmesi gibi biyoaktif etkileri sayesinde, fonksiyonel gıda formülasyonlarında kullanılmasına yönelik güçlü bir temel sunmaktadır. Bu bağlamda, gelecekte yapılacak araştırmaların, ticari üretimi destekleyecek şekilde postbiyotiklerin formülasyon stabilitesi, duyuşal özellikleri ve diğer biyoaktif bileşenlerle olası sinerjik etkileşimlerine odaklanması önem arz etmektedir. Ayrıca, postbiyotik kavramının gıda ve sağlık alanlarında daha etkin şekilde benimsenebilmesi için terminolojinin standartlaştırılması, üretim süreçlerinde sıkı kalite kontrol uygulamaları ve açık düzenleyici rehberlerin oluşturulması büyük önem taşımaktadır. Son olarak, laboratuvar bulgularının uygulamaya aktarılabilmesi için *in vivo* deneyler ve pilot ölçekli üretim çalışmaları kritik bir adım olacaktır.

KAYNAKÇA

- Adams, C. A. (2010). The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers. *Nutrition research reviews*, 23(1), 37-46.
- Aguilar-Toalá, J., Garcia-Varela, R., Garcia, H., Mata-Haro, V., González-Córdova, A., Vallejo-Cordoba, B., & Hernández-Mendoza, A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends in food science & technology*, 75, 105-114.
- Aguilar-Toalá, J. E., Garcia-Varela, R., Garcia, H. S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., & Hernández-Mendoza, A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 105-114. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.009>
- Alameri, F., Tarique, M., Osaili, T., Obaid, R., Abdalla, A., Masad, R., . . . Al-Ramadi, B. (2022). Lactic acid bacteria isolated from fresh vegetable products: potential probiotic and postbiotic characteristics including immunomodulatory effects. *Microorganisms*, 10(2), 389.
- Almada, C. N., Almada-Érix, C. N., Bonatto, M. S., Pradella, F., dos Santos, P., Abud, Y. K., . . . Lollo, P. C. (2021). Obtaining paraprobiotics from *Lactobacillus acidophilus*, *Lactocaseibacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* using six inactivation methods: Impacts on the cultivability, integrity, physiology, and morphology. *Journal of Functional Foods*, 87, 104826.
- Almada, C. N., Almada-Érix, C. N., Costa, W. K., Graça, J. S., Cabral, L., Noronha, M. F., . . . Magnani, M. (2021). Wheat-durum pasta added of inactivated *Bifidobacterium animalis* decreases glucose and total cholesterol levels and modulates gut microbiota in healthy rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 72(6), 781-793.
- Almada, C. N., Almada-Erix, C. N., Roquette, A. R., Santos-Junior, V. A., Cabral, L., Noronha, M. F., . . . Martinez, J. (2021). Paraprobiotics obtained by six different inactivation processes: impacts on the biochemical parameters and intestinal microbiota of Wistar male rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 72(8), 1057-1070.
- Alok, A., Singh, I. D., Singh, S., Kishore, M., Jha, P. C., & Iqbal, M. A. (2017). Probiotics: A new era of biotherapy. *Advanced biomedical research*, 6(1), 31.
- Alp Avcı, G., & Aslım, B. (2009). İnsan bağırsak sisteminde probiyotik olarak bifidobakterilerin önemi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 10(2).
- Ananta, E., & Knorr, D. (2009). Comparison of inactivation pathways of thermal or high pressure inactivated *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 by flow cytometry analysis. *Food microbiology*, 26(5), 542-546.
- Anekella, K., & Orsat, V. (2013). Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 17-24. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.003>
- Aoki, R., Kamikado, K., Suda, W., Takii, H., Mikami, Y., Suganuma, N., . . . Koga, Y. (2017). A proliferative probiotic *Bifidobacterium* strain in the gut ameliorates progression of metabolic disorders via microbiota modulation and acetate elevation. *Scientific reports*, 7(1), 43522.
- Balaguer, F., Enrique, M., Llopis, S., Barrena, M., Navarro, V., Álvarez, B., . . . Martorell, P. (2022). Lipoteichoic acid from *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BPL1: a novel

- postbiotic that reduces fat deposition via IGF-1 pathway. *Microbial biotechnology*, 15(3), 805-816.
- Ballini, A., Charitos, I. A., Cantore, S., Topi, S., Bottalico, L., & Santacroce, L. (2023). About functional foods: The probiotics and prebiotics state of art. *Antibiotics*, 12(4), 635.
- Bardosono, S., Wibowo, N., Sutanto, L. B., Irwinda, R., Cannan, R., Rowan, A., & Dekker, J. (2019). Plasma folate, vitamin B6 and B12 in their relationship to the presence of probiotic strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* HNO19 (DR10TM) among Indonesian pregnant women in their third semester. *World Nutrition Journal*, 2(2), 56-62.
- Barros, C. P., Guimarães, J. T., Esmerino, E. A., Duarte, M. C. K., Silva, M. C., Silva, R., . . . Cruz, A. G. (2020). Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products. *Current opinion in food science*, 32, 1-8.
- Barros, C. P., Pires, R. P., Guimarães, J. T., Abud, Y. K., Almada, C. N., Pimentel, T. C., . . . Silva, M. C. (2021). Ohmic heating as a method of obtaining paraprobiotics: Impacts on cell structure and viability by flow cytometry. *Food Research International*, 140, 110061.
- Bedford, A., & Gong, J. (2018). Implications of butyrate and its derivatives for gut health and animal production. *Animal Nutrition*, 4(2), 151-159.
- Bengmark, S. (2005). Bioecologic control of the gastrointestinal tract: the role of flora and supplemented probiotics and synbiotics. *Gastroenterology Clinics*, 34(3), 413-436.
- Bengmark, S., & Martindale, R. (2005). Prebiotics and synbiotics in clinical medicine. *Nutrition in clinical practice*, 20(2), 244-261.
- Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llrente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160-174.
- Berni Canani, R., De Filippis, F., Nocerino, R., Laiola, M., Paparo, L., Calignano, A., . . . Ercolini, D. (2017). Specific Signatures of the Gut Microbiota and Increased Levels of Butyrate in Children Treated with Fermented Cow's Milk Containing Heat-Killed *Lactobacillus paracasei* CBA L74. *Appl Environ Microbiol*, 83(19). doi:10.1128/aem.01206-17
- Bezkorovainy, A. (2001). Probiotics: determinants of survival and growth in the gut123. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 399s-405s. doi:<https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.399s>
- Binda, S., Hill, C., Johansen, E., Obis, D., Pot, B., Sanders, M. E., . . . Ouwehand, A. C. (2020). Criteria to qualify microorganisms as “probiotic” in foods and dietary supplements. *Frontiers in microbiology*, 11, 1662.
- Bourebaba, Y., Marycz, K., Mularczyk, M., & Bourebaba, L. (2022). Postbiotics as potential new therapeutic agents for metabolic disorders management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113138. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113138>
- Brandão, L. R., de Brito Alves, J. L., da Costa, W. K. A., Ferreira, G. d. A. H., de Oliveira, M. P., Gomes da Cruz, A., . . . Magnani, M. (2021). Live and ultrasound-inactivated *Lactobacillus casei* modulate the intestinal microbiota and improve biochemical and cardiovascular parameters in male rats fed a high-fat diet. *Food & Function*, 12(12), 5287-5300. doi:10.1039/D1FO01064F
- Cavallari, J. F., Fullerton, M. D., Duggan, B. M., Foley, K. P., Denou, E., Smith, B. K., . . . Tuinema, B. R. (2017). Muramyl dipeptide-based postbiotics mitigate obesity-induced insulin resistance via IRF4. *Cell metabolism*, 25(5), 1063-1074. e1063.

- Chaisuwan, W., Jantanasakulwong, K., Wangtueai, S., Phimolsiripol, Y., Chaiyas, T., Techapun, C., . . . Seesuriyachan, P. (2020). Microbial exopolysaccharides for immune enhancement: Fermentation, modifications and bioactivities. *Food Bioscience*, 35, 100564. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100564>
- Chang, H. M., Foo, H. L., Loh, T. C., Lim, E. T. C., & Abdul Mutalib, N. E. (2021). Comparative studies of inhibitory and antioxidant activities, and organic acids compositions of postbiotics produced by probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* strains isolated from Malaysian foods. *Frontiers in veterinary science*, 7, 602280.
- Chen, C.-Y., Tsen, H.-Y., Lin, C.-L., Lin, C.-K., Chuang, L.-T., Chen, C.-S., & Chiang, Y.-C. (2013). Enhancement of the immune response against *Salmonella* infection of mice by heat-killed multispecies combinations of lactic acid bacteria. *Journal of medical microbiology*, 62(11), 1657-1664.
- Collado, M., Grześkowiak, Ł., & Salminen, S. (2007). Probiotic strains and their combination inhibit in vitro adhesion of pathogens to pig intestinal mucosa. *Current microbiology*, 55, 260-265.
- Conway, P. (1995). Microbial ecology of the human large intestine. *Human colonic bacteria*.
- Cruz, A. G., Castro, W. F., Faria, J. A. F., Bolini, H. M. A., Celeghini, R. M. S., Raices, R. S. L., . . . Mársico, E. T. (2013). Stability of probiotic yogurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage. *Food Research International*, 51(2), 723-728. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.028>
- Cuevas-González, P. F., Liceaga, A. M., & Aguilar-Toalá, J. E. (2020). Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food Research International*, 136, 109502. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109502>
- de Almada, C. N., Almada, C. N., Martinez, R. C., & Sant'Ana, A. S. (2016). Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends in food science & technology*, 58, 96-114.
- de Almada, C. N., Almada, C. N., Martinez, R. C. R., & Sant'Ana, A. S. (2016). Paraprobiotics: Evidences on their ability to modify biological responses, inactivation methods and perspectives on their application in foods. *Trends in Food Science & Technology*, 58, 96-114. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.011>
- de Almada, C. N., de Almada, C. N., & de Souza Sant'Ana, A. (2018). Paraprobiotics as potential agents for improving animal health. *Probiotics and prebiotics in animal health and food safety*, 247-268.
- Den Besten, G., Van Eunen, K., Groen, A. K., Venema, K., Reijngoud, D.-J., & Bakker, B. M. (2013). The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of lipid research*, 54(9), 2325-2340.
- Ewing, W. (1986). Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. *Science Publish Co. Inc.*
- Fakruddin, M., Hossain, M. N., & Ahmed, M. M. (2017). Antimicrobial and antioxidant activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a potential probiotic. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 1-11.
- Fijan, S., Šulc, D., & Steyer, A. (2018). Study of the In Vitro Antagonistic Activity of Various Single-Strain and Multi-Strain Probiotics against *Escherichia coli*. *Int J Environ Res Public Health*, 15(7). doi:10.3390/ijerph15071539

- Fisher, K., & Phillips, C. (2009). The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 155(6), 1749-1757.
- Frost, G., Sleeth, M. L., Sahuri-Arisoylu, M., Lizarbe, B., Cerdan, S., Brody, L., . . . Zhang, S. (2014). The short-chain fatty acid acetate reduces appetite via a central homeostatic mechanism. *Nature communications*, 5(1), 3611.
- Garrigues, C., Stuer-Lauridsen, B., & Johansen, E. (2005). Characterisation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 and other probiotic bacteria using genomics, transcriptomics and proteomics. *Australian journal of dairy technology*, 60(2), 84.
- Generoso, S. V., Viana, M. L., Santos, R. G., Arantes, R. M., Martins, F. S., Nicoli, J. R., . . . Cardoso, V. N. (2011). Protection against increased intestinal permeability and bacterial translocation induced by intestinal obstruction in mice treated with viable and heat-killed *Saccharomyces boulardii*. *European journal of nutrition*, 50, 261-269.
- Gezginç, Y., Karabekmez-erdem, T., Tatar, H. D., Ayman, S., Ganiyusufoğlu, E., & Dayısoylu, K. S. (2022). Health promoting benefits of postbiotics produced by lactic acid bacteria: Exopolysaccharide. *Biotech Studies*, 31(2), 61-70. doi:10.38042/biotechstudies.1159166
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., . . . Cani, P. D. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 14(8), 491-502.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., . . . Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491-502. doi:10.1038/nrgastro.2017.75
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Van Loo, J., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition research reviews*, 17(2), 259-275.
- Gill, P., Van Zelm, M., Muir, J., & Gibson, P. (2018). Short chain fatty acids as potential therapeutic agents in human gastrointestinal and inflammatory disorders. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 48(1), 15-34.
- Gilmore, M. S., Clewell, D. B., Ike, Y., & Shankar, N. (2014). Enterococci: from commensals to leading causes of drug resistant infection [internet].
- Giraffa, G. (2002). Enterococci from foods. *FEMS microbiology reviews*, 26(2), 163-171.
- Gomaa, E. Z. (2020). Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 113(12), 2019-2040.
- Granato, D., & de Araújo Calado, V. M. (2014). The use and importance of design of experiments (DOE) in process modelling in food science and technology. *Mathematical and statistical methods in food science and technology*, 1, 1-18.
- Gülmez, M., & Güven, A. (2002). Probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotikler. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 8(1), 83-89.
- Gündüz, M., Karabıyıklı Çiçek, Ş., & Bekteş, A. (2024). Escherichia coli Kaynaklı Gıda Enfeksiyonları. [Food Infections Caused by Escherichia coli]. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 38(2), 487-508. doi:10.20479/bursauludagziraat.1518397

- He, F., Ouwehand, A. C., Hashimoto, H., Isolauri, E., Benno, Y., & Salminen, S. (2001). Adhesion of *Bifidobacterium* spp. to human intestinal mucus. *Microbiology and immunology*, 45(3), 259-262.
- Hernández-Granados, M. J., & Franco-Robles, E. (2020). Postbiotics in human health: Possible new functional ingredients? *Food Research International*, 137, 109660.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., . . . Salminen, S. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., . . . Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506-514. doi:10.1038/nrgastro.2014.66
- Hoier, E. (1992). Acid and bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* and *bifidobacteria*. [Säure- und Gallentoleranz von *Lactobacillus acidophilus* und *Bifidobakterien*.] *DMZ, Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft*, 113(26), 769-772.
- Hsu, C.-Y., Chiu, S.-W., Hong, K.-S., Saver, J. L., Wu, Y.-L., Lee, J.-D., . . . Ovbiagele, B. (2018). Folic acid in stroke prevention in countries without mandatory folic acid food fortification: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of stroke*, 20(1), 99.
- Huebner, J., Wehling, R., & Hutkins, R. (2007). Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 17(7), 770-775.
- İçier, S., Güzelcan, C., Hıdır, Ş., & Türköz, B. K. (2022). POSTBİYOTİKLER VE GIDA ENDÜSTRİSİNDE KULLANIM ALANLARI. *Gıda*, 47(2), 252-265.
- Isacco, C. G., Ballini, A., De Vito, D., Nguyen, K. C., Cantore, S., Bottalico, L., . . . Santacroce, L. (2021). Rebalancing the oral microbiota as an efficient tool in endocrine, metabolic and immune disorders. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 21(5), 777-784.
- Islam, M. R., Arthur, S., Haynes, J., Butts, M. R., Nepal, N., & Sundaram, U. (2022). The role of gut microbiota and metabolites in obesity-associated chronic gastrointestinal disorders. *Nutrients*, 14(3), 624.
- Izuddin, W. I., Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., & Samsudin, A. A. (2020). Dietary Postbiotic *Lactobacillus plantarum* Improves Serum and Ruminal Antioxidant Activity and Upregulates Hepatic Antioxidant Enzymes and Ruminal Barrier Function in Post-Weaning Lambs. *Antioxidants (Basel)*, 9(3). doi:10.3390/antiox9030250
- Janer, C., Arigoni, F., Lee, B. H., Peláez, C., & Requena, T. (2005). Enzymatic ability of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* to hydrolyze milk proteins: identification and characterization of endopeptidase O. *Appl Environ Microbiol*, 71(12), 8460-8465. doi:10.1128/aem.71.12.8460-8465.2005
- Joyce, E., Al-Hashimi, A., & Mason, T. J. (2011). Assessing the effect of different ultrasonic frequencies on bacterial viability using flow cytometry. *Journal of applied microbiology*, 110(4), 862-870.
- Jungersen, M., Wind, A., Johansen, E., Christensen, J. E., Stuer-Lauridsen, B., & Eskesen, D. (2014). The Science behind the Probiotic Strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*

- BB-12®. *Microorganisms*, 2(2), 92-110. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2076-2607/2/2/92>
- Juturu, V., & Wu, J. C. (2018). Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications. *Biotechnol Adv*, 36(8), 2187-2200. doi:10.1016/j.biotechadv.2018.10.007
- Kamilya, D., Baruah, A., Sangma, T., Chowdhury, S., & Pal, P. (2015). Inactivated probiotic bacteria stimulate cellular immune responses of catla, *Catla catla* (Hamilton) in vitro. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 7, 101-106.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic escherichia coli. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123-140.
- Karapınar, M., & Aktuğ Gönül, Ş. (2015). Gıda kaynaklı mikrobiyal hastalıklar. *Gıda Mikrobiyolojisi*, 107-162.
- Kareem, K. Y., Hooi Ling, F., Teck Chwen, L., May Foong, O., & Anjas Asmara, S. (2014). Inhibitory activity of postbiotic produced by strains of *Lactobacillus plantarum* using reconstituted media supplemented with inulin. *Gut pathogens*, 6, 1-7.
- Khodaii, Z., Ghaderian, S. M. H., & Natanzi, M. M. (2017). Probiotic bacteria and their supernatants protect enterocyte cell lines from enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) invasion. *International journal of molecular and cellular medicine*, 6(3), 183.
- Kim, Y., Lee, D., Kim, D., Cho, J., Yang, J., Chung, M., . . . Ha, N. (2008). Inhibition of proliferation in colon cancer cell lines and harmful enzyme activity of colon bacteria by *Bifidobacterium adolescentis* SPM0212. *Arch Pharm Res*, 31(4), 468-473. doi:10.1007/s12272-001-1180-y
- Klein, G. (2003). Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *International journal of food microbiology*, 88(2-3), 123-131.
- 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. *Cell*, 165(6), 1332-1345.
- Korcz, E., & Varga, L. (2021). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 375-384. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.014>
- Körzendörfer, A., Schäfer, J., Hinrichs, J., & Nöbel, S. (2019). Power ultrasound as a tool to improve the processability of protein-enriched fermented milk gels for Greek yogurt manufacture. *Journal of Dairy Science*, 102(9), 7826-7837.
- Krasaekoopt, W., & Watcharapoka, S. (2014). Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. *LWT-Food Science and Technology*, 57(2), 761-766.
- Laparra, J. M., & Sanz, Y. (2010). *Bifidobacteria* inhibit the inflammatory response induced by gliadins in intestinal epithelial cells via modifications of toxic peptide generation during digestion. *Journal of cellular biochemistry*, 109(4), 801-807.
- Lee, J. Y., Kim, Y., Kim, J.-I., Lee, H.-Y., Moon, G.-S., & Kang, C.-H. (2022). Improvements in Human Keratinocytes and Antimicrobial Effect Mediated by Cell-Free Supernatants Derived from Probiotics. *Fermentation*, 8(7), 332. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2311-5637/8/7/332>
- Lee, Y., Ba, Z., Roberts, R. F., Rogers, C. J., Fleming, J. A., Meng, H., . . . Kris-Etherton, P. M. (2017). Effects of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12® on the

- lipid/lipoprotein profile and short chain fatty acids in healthy young adults: a randomized controlled trial. *Nutrition Journal*, 16, 1-9.
- Liang, B., & Xing, D. (2023). The Current and Future Perspectives of Postbiotics. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 15(6), 1626-1643. doi:10.1007/s12602-023-10045-x
- Lopes, M. d. F. S., Ribeiro, T., Abrantes, M., Marques, J. J. F., Tenreiro, R., & Crespo, M. T. B. (2005). Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of enterococci. *International journal of food microbiology*, 103(2), 191-198.
- Lührs, H., Gerke, T., Müller, J., Melcher, R., Schaubert, J., Boxberger, F., . . . 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.
- Lye, H.-S., Rusul, G., & Liong, M.-T. (2010). Removal of cholesterol by lactobacilli via incorporation and conversion to coprostanol. *Journal of dairy science*, 93(4), 1383-1392.
- Marhamatizadeh, M. H., Rezazadeh, S., Kazemeini, F., & Kazemi, M. R. (2012). The study of probiotic juice product conditions supplemented by culture of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum*. *Mid. East J. Sci. Res*, 11, 287-295.
- Markowiak-Kopeć, P., & Śliżewska, K. (2020). The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome. *Nutrients*, 12(4), 1107.
- Martinez, F. A. C., Balciunas, E. M., Converti, A., Cotter, P. D., & de Souza Oliveira, R. P. (2013). Bacteriocin production by *Bifidobacterium* spp. A review. *Biotechnology advances*, 31(4), 482-488.
- Martins, F. S., Silva, A. A., Vieira, A. T., Barbosa, F. H., Arantes, R. M., Teixeira, M. M., & Nicoli, J. R. (2009). Comparative study of *Bifidobacterium animalis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei* and *Saccharomyces boulardii* probiotic properties. *Archives of microbiology*, 191, 623-630.
- Matsumoto, M., Ohishi, H., & Benno, Y. (2004). H⁺-ATPase activity in *Bifidobacterium* with special reference to acid tolerance. *International Journal of Food Microbiology*, 93(1), 109-113. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.10.009>
- Matsumoto, M., Tani, H., Ono, H., Ohishi, H., & Benno, Y. (2002). Adhesive property of *Bifidobacterium lactis* LKM512 and predominant bacteria of intestinal microflora to human intestinal mucin. *Curr Microbiol*, 44(3), 212-215. doi:10.1007/s00284-001-0087-4
- McFarland, L. V. (2015). Probiotics for the primary and secondary prevention of *C. difficile* infections: a meta-analysis and systematic review. *Antibiotics*, 4(2), 160-178.
- Medici, M., Vinderola, C. G., Weill, R., & Perdigon, G. (2005). Effect of fermented milk containing probiotic bacteria in the prevention of an enteroinvasive *Escherichia coli* infection in mice. *Journal of dairy research*, 72(2), 243-249.
- Merenstein, D., Fraser, C. M., Roberts, R. F., Liu, T., Grant-Beurmann, S., Tan, T. P., . . . Kane, M. A. (2021). *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 Protects against Antibiotic-Induced Functional and Compositional Changes in Human Fecal Microbiome. *Nutrients*, 13(8). doi:10.3390/nu13082814
- Merenstein, D., Fraser, C. M., Roberts, R. F., Liu, T., Grant-Beurmann, S., Tan, T. P., . . . Kane, M. A. (2021). *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 Protects against Antibiotic-Induced Functional and Compositional Changes in Human Fecal Microbiome. *Nutrients*, 13(8), 2814. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/8/2814>

- Mishra, B., Mishra, A. K., Mohanta, Y. K., Yadavalli, R., Agrawal, D. C., Reddy, H. P., . . . Shamim, M. Z. (2024). Postbiotics: the new horizons of microbial functional bioactive compounds in food preservation and security. *Food Production, Processing and Nutrition*, 6(1), 28.
- Mohan, R., Koebnick, C., Schildt, J., Schmidt, S., Mueller, M., Possner, M., . . . Blaut, M. (2006). Effects of *Bifidobacterium lactis* Bb12 supplementation on intestinal microbiota of preterm infants: a double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Clin Microbiol*, 44(11), 4025-4031. doi:10.1128/jcm.00767-06
- Moradi, M., Kousheh, S. A., Almasi, H., Alizadeh, A., Guimarães, J. T., Yilmaz, N., & Lotfi, A. (2020). Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 19(6), 3390-3415.
- Moradi, M., Molaei, R., & Guimarães, J. T. (2021). A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. *Enzyme Microb Technol*, 143, 109722. doi:10.1016/j.enzmictec.2020.109722
- Moreno, M. F., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., & De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International journal of food microbiology*, 106(1), 1-24.
- Morrison, D. J., & Preston, T. (2016). Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut microbes*, 7(3), 189-200.
- Müller, W. A., Marczak, L. D. F., & Sarkis, J. R. (2020). Microbial inactivation by ohmic heating: Literature review and influence of different process variables. *Trends in food science & technology*, 99, 650-659.
- Nakkarach, A., Foo, H. L., Song, A. A.-L., Nitisinprasert, S., & Withayagiat, U. (2020). Promising discovery of beneficial *Escherichia coli* in the human gut. *3 Biotech*, 10(7), 296.
- Niamah, A. K. (2019). Ultrasound treatment (low frequency) effects on probiotic bacteria growth in fermented milk.
- O'Callaghan, A., & Van Sinderen, D. (2016). *Bifidobacteria* and their role as members of the human gut microbiota. *Frontiers in microbiology*, 7, 925.
- Ostad, S. N., Salarian, A. A., Ghahramani, M. H., Fazeli, M. R., Samadi, N., & Jamalifar, H. (2009). Live and heat-inactivated lactobacilli from feces inhibit *Salmonella typhi* and *Escherichia coli* adherence to caco-2 cells. *Folia Microbiologica*, 54(2), 157-160. doi:10.1007/s12223-009-0024-7
- Ou, C. C., Lin, S. L., Tsai, J. J., & Lin, M. Y. (2011). Heat-killed lactic acid bacteria enhance immunomodulatory potential by skewing the immune response toward Th1 polarization. *Journal of food science*, 76(5), M260-M267.
- Ozma, M. A., Fadaee, M., Hosseini, H. M., Ataee, M. H., & Mirhosseini, S. A. (2025). A critical review of postbiotics as promising novel therapeutic agents for clostridial infections. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 17(2), 656-667.
- Parvare, M. M., Fazeli, M. R., Mortazavian, A. M., Nezhad, S. S., Mortazavi, S. A., Golabchifar, A. A., & Khorshidian, N. (2021). Comparative effects of probiotic and paraprobiotic addition on microbiological, biochemical and physical properties of yogurt. *Food research international*, 140, 110030.
- Parvare, M. M., Khorshidian, N., Fazeli, M. R., Mortazavian, A. M., Nezhad, S. S., & Mortazavi, S. A. (2021). Comparative effect of probiotic and paraprobiotic addition on physicochemical, chemometric and microstructural properties of yogurt. *Lwt*, 144, 111177.

- Perna, A., Intaglietta, I., Simonetti, A., & Gambacorta, E. (2015). Donkey milk for manufacture of novel functional fermented beverages. *Journal of food science*, 80(6), S1352-S1359.
- Pimentel, T. C., Cruz, A. G., Pereira, E., Almeida da Costa, W. K., da Silva Rocha, R., Targino de Souza Pedrosa, G., . . . Magnani, M. (2023). Postbiotics: An overview of concepts, inactivation technologies, health effects, and driver trends. *Trends in Food Science & Technology*, 138, 199-214. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.06.009>
- Pimentel, T. C., Cruz, A. G., Pereira, E., da Costa, W. K. A., da Silva Rocha, R., de Souza Pedrosa, G. T., . . . Sant'Ana, A. S. (2023). Postbiotics: An overview of concepts, inactivation technologies, health effects, and driver trends. *Trends in food science & technology*, 138, 199-214.
- Piqué, N., Berlanga, M., & Miñana-Galbis, D. (2019). Health benefits of heat-killed (Tyndallized) probiotics: an overview. *International journal of molecular sciences*, 20(10), 2534.
- Poh, C., Oh, H., & Tan, A. (2006). Epidemiology and clinical outcome of enterococcal bacteraemia in an acute care hospital. *Journal of Infection*, 52(5), 383-386.
- Quigley, E. M. (2019). Prebiotics and probiotics in digestive health. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17(2), 333-344.
- Quin, C., Estaki, M., Vollman, D., Barnett, J., Gill, S., & Gibson, D. (2018). Probiotic supplementation and associated infant gut microbiome and health: a cautionary retrospective clinical comparison. *Scientific reports*, 8(1), 8283.
- Rad, A. H., Abbasi, A., Kafil, H. S., & Ganbarov, K. (2020). Potential pharmaceutical and food applications of postbiotics: a review. *Current pharmaceutical biotechnology*, 21(15), 1576-1587.
- Ramkrishna, S., Chellamboli, C., & Anupama, D. (2019). A revolution by probiotic and paraprobiotic in food industry: review. *Res Rev Int J Multidiscip*, 4(9), 72-81.
- Ranadheera, R. D. C. S., Baines, S. K., & Adams, M. C. (2010). Importance of food in probiotic efficacy. *Food Research International*, 43(1), 1-7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.009>
- Raz, E., & Rachmilewitz, D. (2005). Inactivated probiotic bacteria and methods of use thereof. In: Google Patents.
- Reuter, G. (2001). The Lactobacillus and Bifidobacterium microflora of the human intestine: composition and succession. *Current issues in intestinal microbiology*, 2(2), 43-53.
- Rokka, S., & Rantamäki, P. (2010). Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*, 231, 1-12.
- Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M., . . . Szajewska, H. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 18(9), 649-667.
- Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M. M., . . . Vinderola, G. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 18(9), 649-667. doi:10.1038/s41575-021-00440-6
- Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Reid, G., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2019). Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 16(10), 605-616.

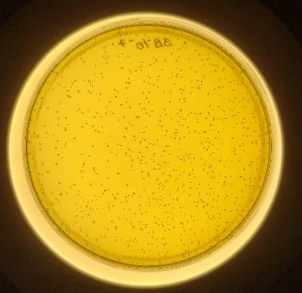
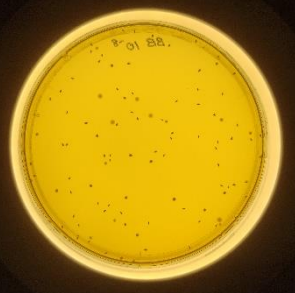
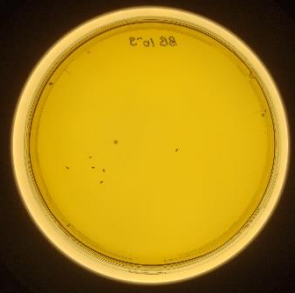
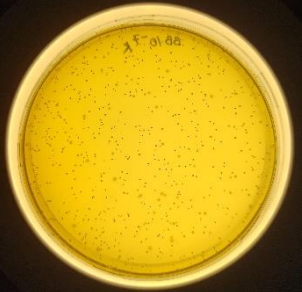
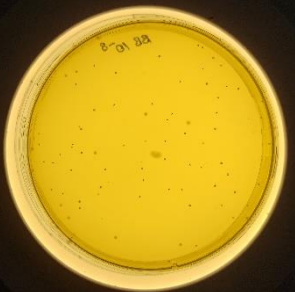
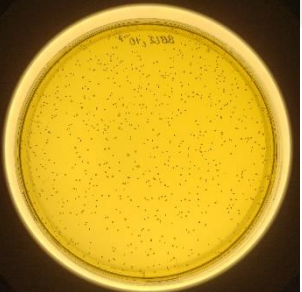
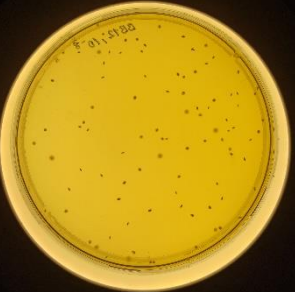
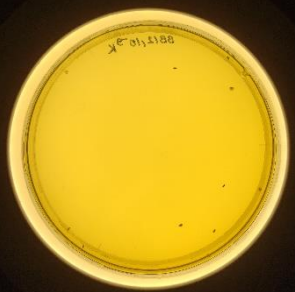
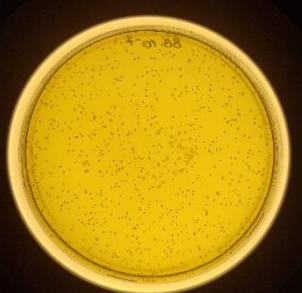
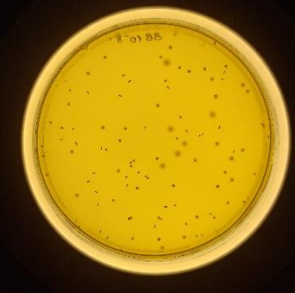
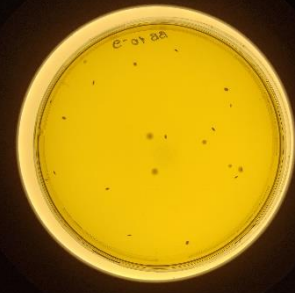
- Sanz-Penella, J. M., Frontela, C., Ros, G., Martinez, C., Monedero, V., & Haros, M. (2012). Application of bifidobacterial phytases in infant cereals: effect on phytate contents and mineral dialyzability. *J Agric Food Chem*, 60(47), 11787-11792. doi:10.1021/jf3034013
- Sarkar, A., & Mandal, S. (2016). Bifidobacteria-Insight into clinical outcomes and mechanisms of its probiotic action. *Microbiol Res*, 192, 159-171. doi:10.1016/j.micres.2016.07.001
- Schwendicke, F., Horb, K., Kneist, S., Dörfer, C., & Paris, S. (2014). Effects of heat-inactivated Bifidobacterium BB12 on cariogenicity of Streptococcus mutans in vitro. *Archives of oral biology*, 59(12), 1384-1390.
- Scrinis, G. (2008). Functional foods or functionally marketed foods? A critique of, and alternatives to, the category of 'functional foods'. *Public health nutrition*, 11(5), 541-545.
- Servi, B. d., & Ranzini, F. (2017). Protective efficacy of antidiarrheal agents in a permeability model of Escherichia coli-infected CacoGoblet® cells. *Future Microbiology*, 12(16), 1449-1455.
- Sharma, M., & Shukla, G. (2016). Metabiotics: one step ahead of probiotics; an insight into mechanisms involved in anticancerous effect in colorectal cancer. *Frontiers in microbiology*, 7, 1940.
- Shida, K., Kiyoshima-Shibata, J., Kaji, R., Nagaoka, M., & Nanno, M. (2009). Peptidoglycan from lactobacilli inhibits interleukin-12 production by macrophages induced by Lactobacillus casei through Toll-like receptor 2-dependent and independent mechanisms. *Immunology*, 128(1pt2), e858-e869.
- Shin, H. S., Park, S. Y., Lee, D. K., Kim, S. A., An, H. M., Kim, J. R., . . . Kim, K. J. (2010). Hypocholesterolemic effect of sonication-killed Bifidobacterium longum isolated from healthy adult Koreans in high cholesterol fed rats. *Archives of pharmacol research*, 33, 1425-1431.
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417-1435.
- Soltani, S., Hammami, R., Cotter, P. D., Rebuffat, S., Said, L. B., Gaudreau, H., . . . Fliss, I. (2021). Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations. *FEMS microbiology reviews*, 45(1), fuaa039.
- Sotoudegan, F., Daniali, M., Hassani, S., Nikfar, S., & Abdollahi, M. (2019). Reappraisal of probiotics' safety in human. *Food and Chemical Toxicology*, 129, 22-29.
- Sugawara, T., Sawada, D., Ishida, Y., Aihara, K., Aoki, Y., Takehara, I., . . . Fujiwara, S. (2016). Regulatory effect of paraprobiotic Lactobacillus gasseri CP2305 on gut environment and function. *Microb Ecol Health Dis*, 27, 30259. doi:10.3402/mehd.v27.30259
- Sugawara, T., Sawada, D., Yanagihara, S., Aoki, Y., Takehara, I., Sugahara, H., . . . Ishikawa, S. (2020). Daily Intake of Paraprobiotic Lactobacillus amylovorus CP1563 Improves Pre-Obese Conditions and Affects the Gut Microbial Community in Healthy Pre-Obese Subjects: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Study. *Microorganisms*, 8(2). doi:10.3390/microorganisms8020304
- Sun, Z., Harris, H. M., McCann, A., Guo, C., Argimón, S., Zhang, W., . . . Kagawa, T. F. (2015). Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera. *Nature communications*, 6(1), 8322.

- Tamime, A. Y., Thomas, L. V., & Wiley, J. (2005). *Probiotic dairy products*: Wiley Online Library.
- Taverniti, V., & Guglielmetti, S. (2011). The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes & nutrition*, 6(3), 261-274.
- Terzaghi, B.E. and W. Sandine, *Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages*. Applied microbiology, 1975. 29(6): p. 807-813.
- Thorakkattu, P., Khanashyam, A. C., Shah, K., Babu, K. S., Mundanat, A. S., Deliephan, A., . . . Nirmal, N. P. (2022). Postbiotics: current trends in food and pharmaceutical industry. *Foods*, 11(19), 3094.
- Tremaroli, V., & Bäckhed, F. (2012). Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*, 489(7415), 242-249.
- Tsilingiri, K., Barbosa, T., Penna, G., Caprioli, F., Sonzogni, A., Viale, G., & Rescigno, M. (2012). Probiotic and postbiotic activity in health and disease: comparison on a novel polarised ex-vivo organ culture model. *Gut*, 61(7), 1007-1015.
- Tsilingiri, K., & Rescigno, M. (2013). Postbiotics: what else? *Beneficial microbes*, 4(1), 101-107.
- Vernazza, C. L., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2006). Carbohydrate preference, acid tolerance and bile tolerance in five strains of Bifidobacterium. *Journal of Applied Microbiology*, 100(4), 846-853. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.02832.x
- Wasilewski, A., Zielińska, M., Storr, M., & Fichna, J. (2015). Beneficial effects of probiotics, prebiotics, synbiotics, and psychobiotics in inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*, 21(7), 1674-1682.
- Wegh, C. A., Geerlings, S. Y., Knol, J., Roeselers, G., & Belzer, C. (2019). Postbiotics and their potential applications in early life nutrition and beyond. *International journal of molecular sciences*, 20(19), 4673.
- Wegh, C. A. M., de Roos, N. M., Hovenier, R., Meijerink, J., Besseling-van der Vaart, I., van Hemert, S., & Witteman, B. J. M. (2019). Intestinal Permeability Measured by Urinary Sucrose Excretion Correlates with Serum Zonulin and Faecal Calprotectin Concentrations in UC Patients in Remission. *J Nutr Metab*, 2019, 2472754. doi:10.1155/2019/2472754
- Williams, N. T. (2010). Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 67(6), 449-458.
- Wu, X., Wu, Y., He, L., Wu, L., Wang, X., & Liu, Z. (2018). Effects of the intestinal microbial metabolite butyrate on the development of colorectal cancer. *Journal of Cancer*, 9(14), 2510.
- Wuyts, S., Wittouck, S., De Boeck, I., Allonsius, C., Pasolli, E., Segata, N., & Lebeer, S. (2017). Large-scale phylogenomics of the Lactobacillus casei group highlights taxonomic inconsistencies and reveals novel clade-associated features. *mSystems* 2 (4) e00061–17. In.
- Xu, J., Li, H., Fu, C., Wang, H., Liu, Z., Lin, W., & Chen, D. (2024). Enteral supplementation with Bifidobacterium animalis Bb-12 modulates gut microbiome and improves intestinal barrier in very preterm infants: a randomized, controlled trial.
- Xu, R., Shang, N., & Li, P. (2011). In vitro and in vivo antioxidant activity of exopolysaccharide fractions from Bifidobacterium animalis RH. *Anaerobe*, 17(5), 226-231. doi:<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.07.010>

- Yasmin, I., Saeed, M., Khan, W. A., Khaliq, A., Chughtai, M. F. J., Iqbal, R., . . . Mehmood, T. (2020). In vitro probiotic potential and safety evaluation (hemolytic, cytotoxic activity) of Bifidobacterium strains isolated from raw camel milk. *Microorganisms*, 8(3), 354.
- Yelin, I., Flett, K. B., Merakou, C., Mehrotra, P., Stam, J., Snesrud, E., . . . McAdam, A. J. (2019). Genomic and epidemiological evidence of bacterial transmission from probiotic capsule to blood in ICU patients. *Nature medicine*, 25(11), 1728-1732.
- Yerlikaya, O. (2019). Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains. *Journal of dairy science*, 102(1), 124-134.
- Yolmeh, M., Sforça, M. L., & Sant'Ana, A. S. (2025). Antimicrobial properties of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 paraprobiotic obtained using ohmic heating against *Salmonella enterica*: A metabolomic approach. *Int J Food Microbiol*, 429, 111016. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2024.111016
- Yu, S., Sun, Y., Shao, X., Zhou, Y., Yu, Y., Kuai, X., & Zhou, C. (2022). Leaky Gut in IBD: Intestinal Barrier-Gut Microbiota Interaction. *J Microbiol Biotechnol*, 32(7), 825-834. doi:10.4014/jmb.2203.03022
- Zhao, X., Liu, S., Li, S., Jiang, W., Wang, J., Xiao, J., . . . Cao, Z. (2024). Unlocking the power of postbiotics: A revolutionary approach to nutrition for humans and animals. *Cell Metabolism*, 36(4), 725-744. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2024.03.004>
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., . . . Walter, J. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(4), 2782-2858.
- Zhu, Y., Xiao, M., Kang, T., He, Y., Zhang, J., Zhao, Y., & Xiao, X. (2025). The Role of Inactivation Methods in Shaping Postbiotic Composition and Modulating Bioactivity: A Review. *Foods*, 14(13), 2358.
- Zhurakivska, K., Troiano, G., Caponio, V. C. A., Dioguardi, M., Laino, L., Maffione, A. B., & Lo Muzio, L. (2019). Do changes in oral microbiota correlate with plasma nitrite response? A systematic review. *Frontiers in Physiology*, 10, 1029.
- Żółkiewicz, J., Marzec, A., Ruszczyński, M., & Feleszko, W. (2020). Postbiotics-A Step Beyond Pre- and Probiotics. *Nutrients*, 12(8). doi:10.3390/nu12082189

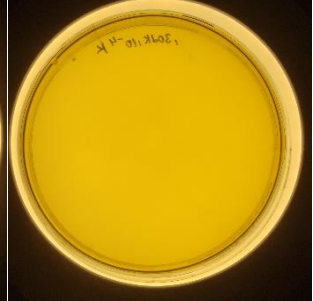
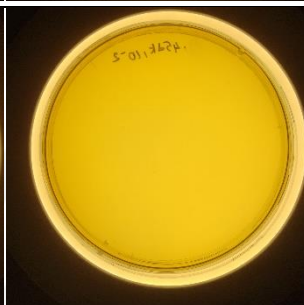
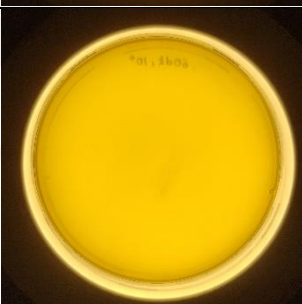
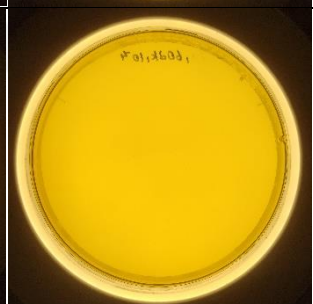
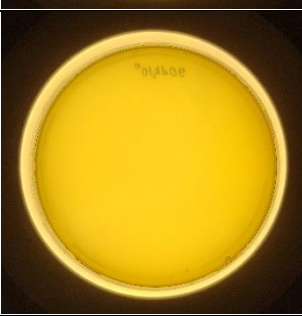
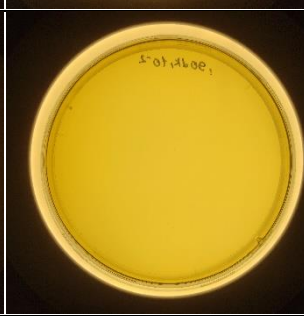
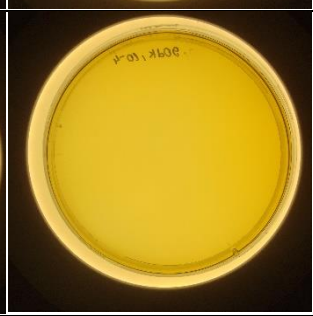
EKLER

Ek A1 Isıl işleme maruz bırakılmadan ekim yapılan *B. lactis* BB-12 içeren kontrol örneklerinin ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

İşlem Sıcaklığı	a	b	c
65 °C			
75 °C			
85 °C			
95 °C			

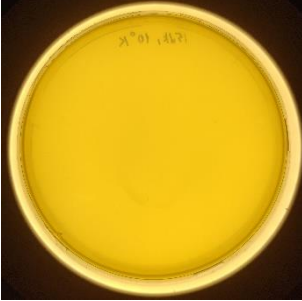
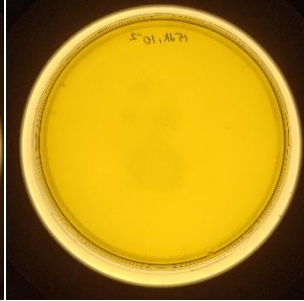
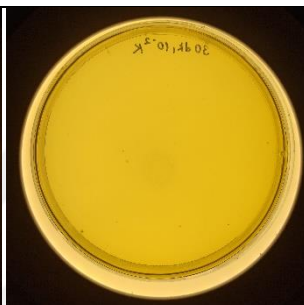
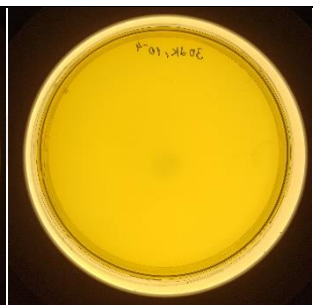
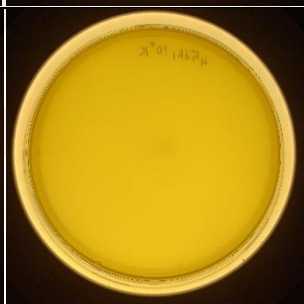
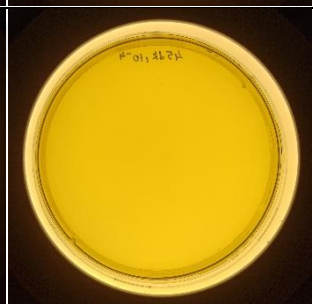
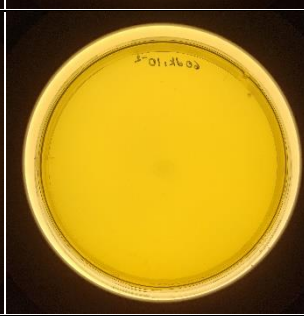
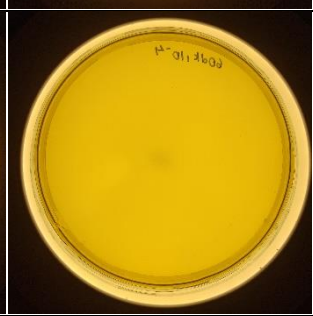
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş olan kontrol örneklerine; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-8} düzeyinde seyreltilmiş olan kontrol örneklerine; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-9} düzeyinde seyreltilmiş olan kontrol örneklerine aittir.

Ek A2 65°C ısıt ışlem sıcaklığında deneme planındaki sürelerle göre ışlenen *B. lactis* BB-12'nin, ışlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
65 °C	30 dk			
	45 dk			
	60 dk			
	90 dk			

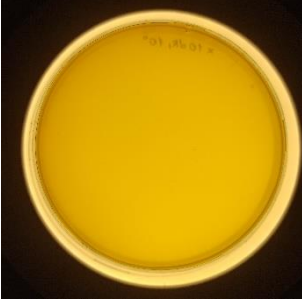
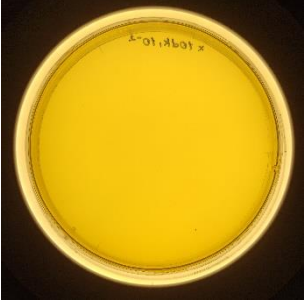
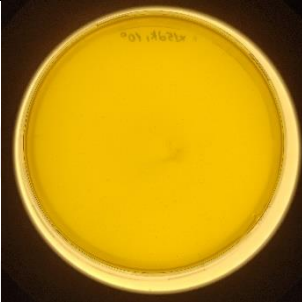
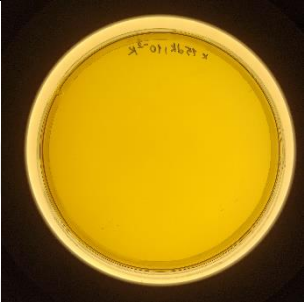
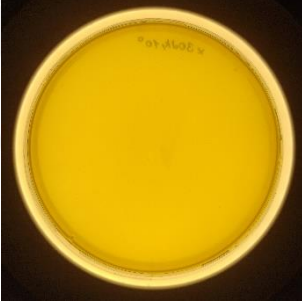
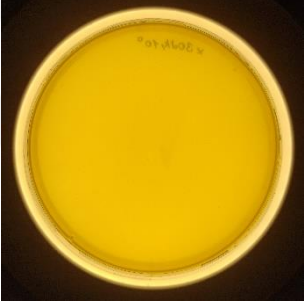
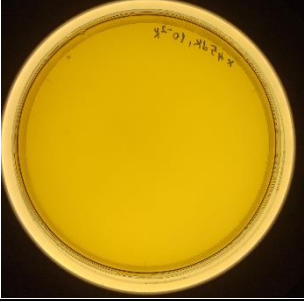
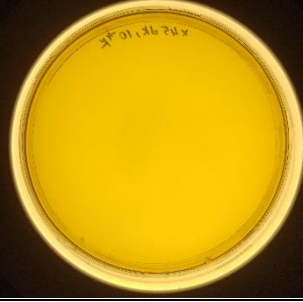
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler herhangi bir seyreltilme yapılmamış olan örneklere; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere aittir.

Ek A3 75 °C ısıtılma sıcaklığında deneme planındaki sürelerle işlenen *B. lactis* BB-12'nin, işlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
75 °C	15 dk			
	30 dk			
	45 dk			
	60 dk			

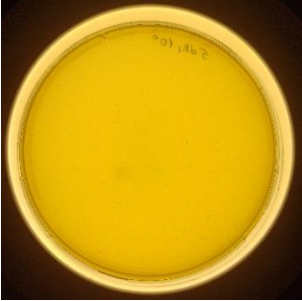
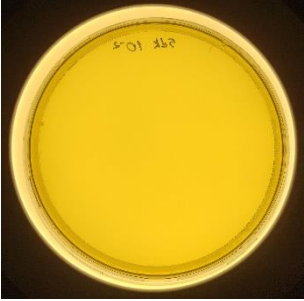
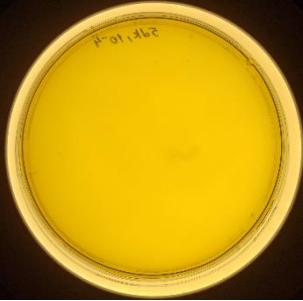
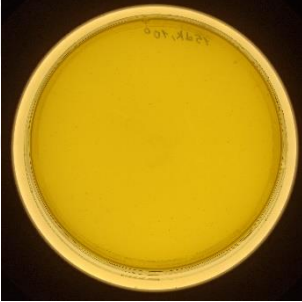
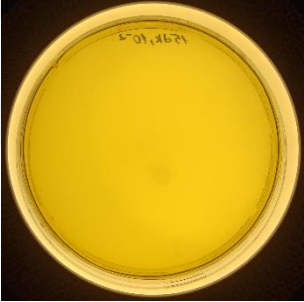
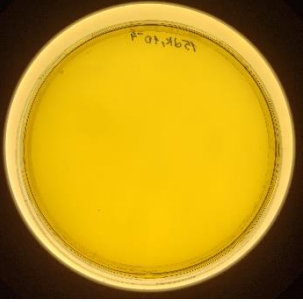
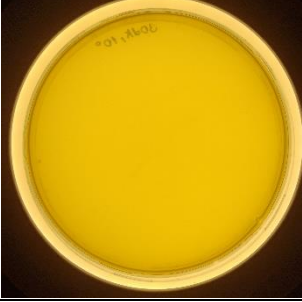
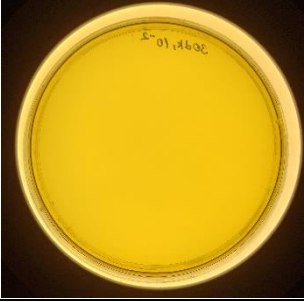
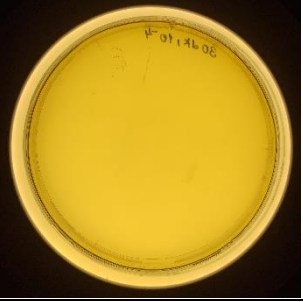
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler herhangi bir seyreltilme yapılmamış olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek A4 85 °C ısıtıl işlem sıcaklığında deneme planındaki sürelerle işlenen *B. lactis* BB-12'nin, işlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

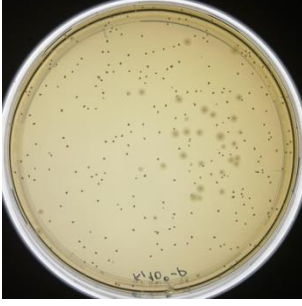
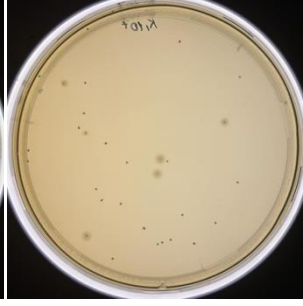
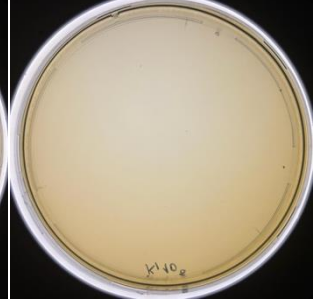
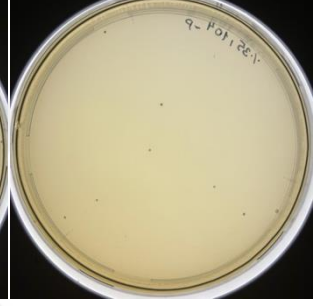
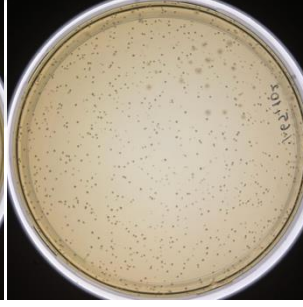
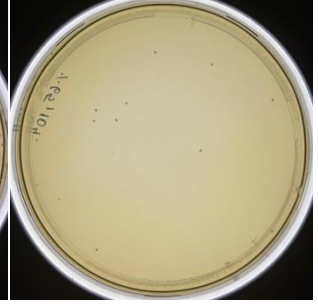
İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
85 °C	10 dk			
	15 dk			
	30 dk			
	45 dk			

* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler herhangi bir seyreltilme yapılmamış olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek A5 95 °C ısıtıl işlem sıcaklığında deneme planındaki sürelerle işlenen *B. lactis* BB-12'nin, işlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

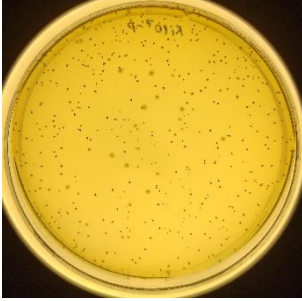
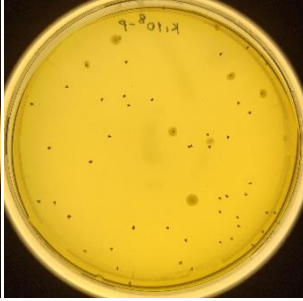
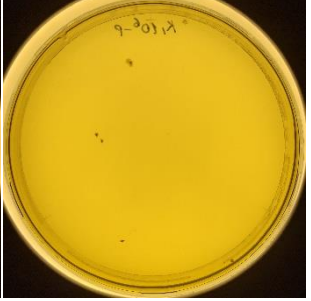
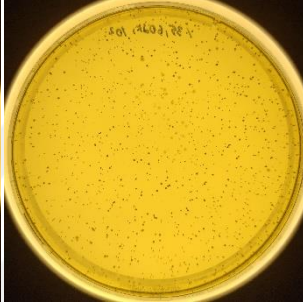
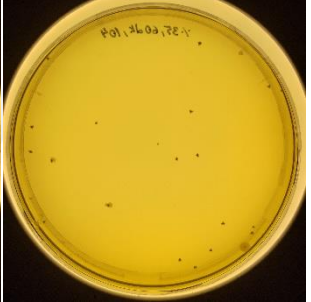
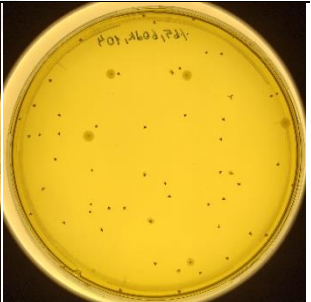
İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
95 °C	5 dk			
	10 dk			
	15 dk			
	30 dk			

Ek A6 Ultrases işlemi için yapılan ön deneme sonuçları.*

Genlik (μm)	İşlem Süresi	a	b	c
Kontrol				
172	45 dk			
320	45 dk			

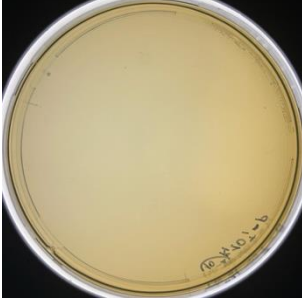
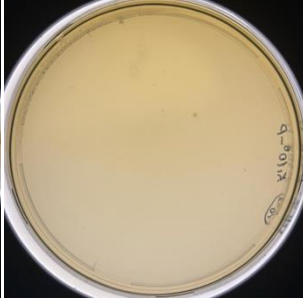
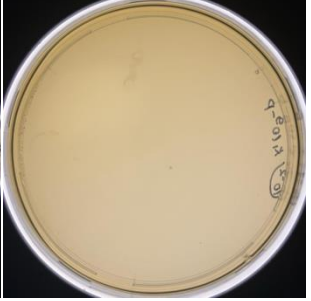
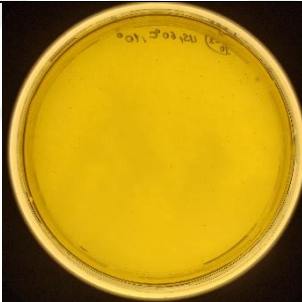
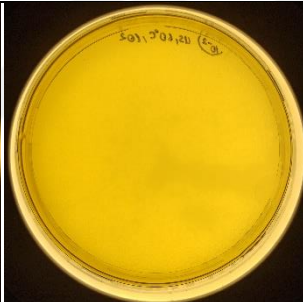
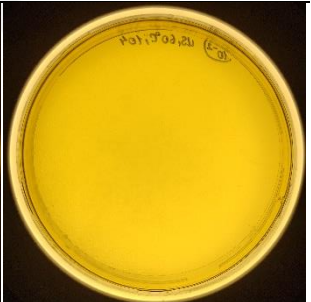
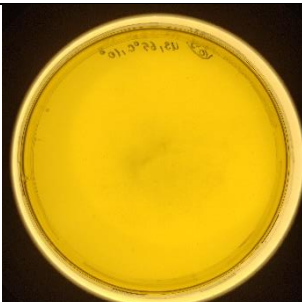
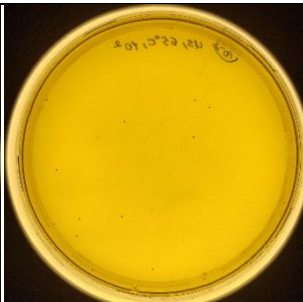
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise seyreltilmemiş olan örnekler; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-8} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-9} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler aittir.

Ek A7 Ultrases işleme için yapılan bir diğer ön deneme sonuçları.*

Genlik (μm)	İşlem Süresi	a	b	c
Kontrol				
172	60 dk			
320	60 dk			

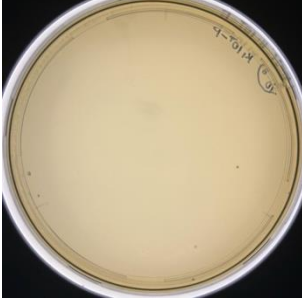
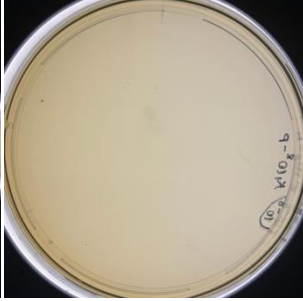
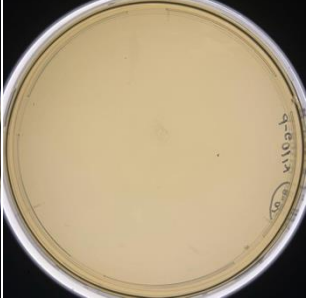
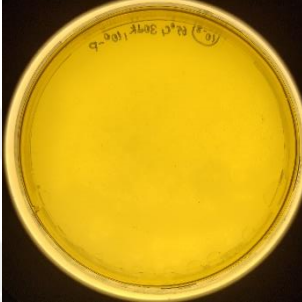
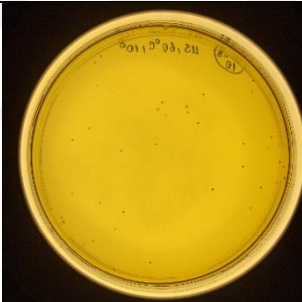
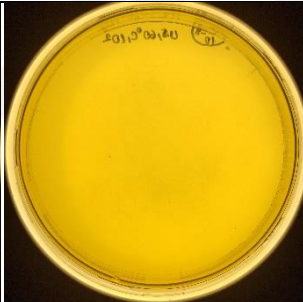
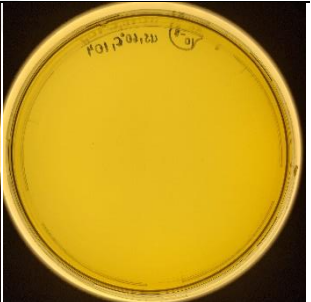
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise seyreltilmemiş olan örnekler; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-8} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-9} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler aittir.

Ek A8 Ultrases işleme için yapılan ön denemenin ilk setinin sonuçları.*

Genlik (μm)	İşlem Süresi	a	b	c
Kontrol-1				
Isıl İşlem				
320	60 dk (60 °C)			
320	60 dk (65 °C)			

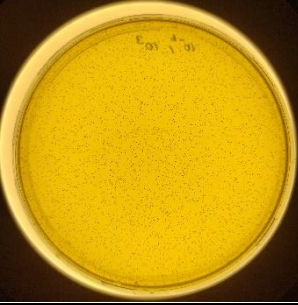
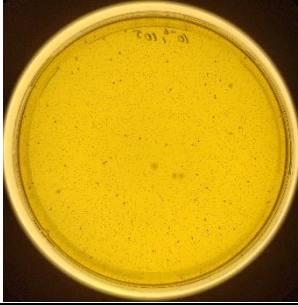
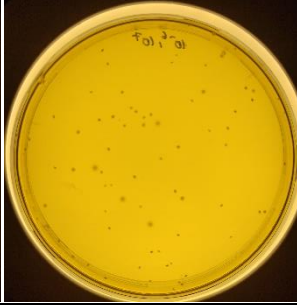
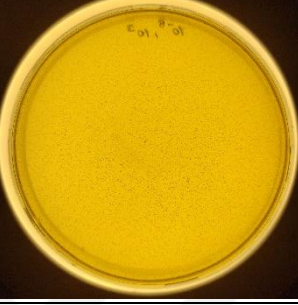
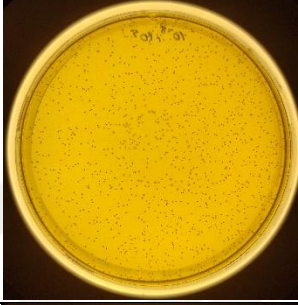
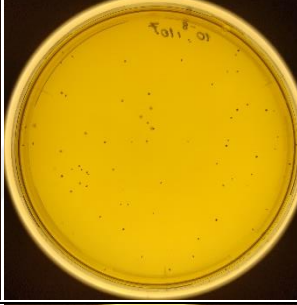
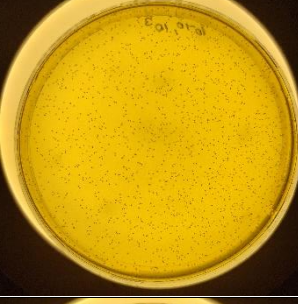
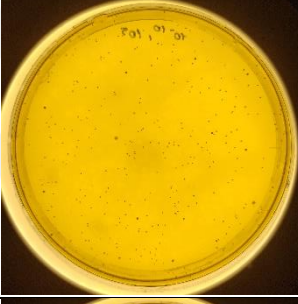
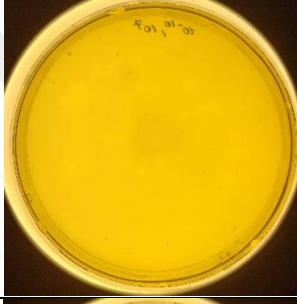
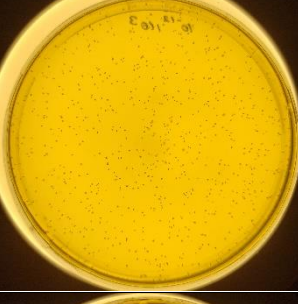
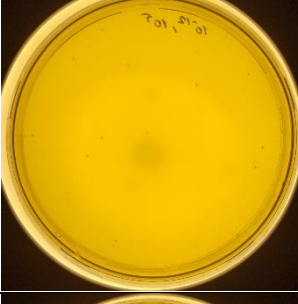
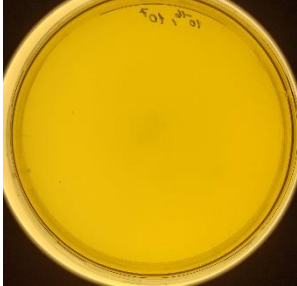
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise seyreltilmemiş olan örnekler; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-8} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-9} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler aittir.

Ek A9 Ultrases işleme için yapılan ön denemenin ikinci setinin sonuçları.*

Genlik (μm)	İşlem Süresi	a	b	c
Kontrol-2				
Isıl İşlem				
320	60 dk (60 °C)			

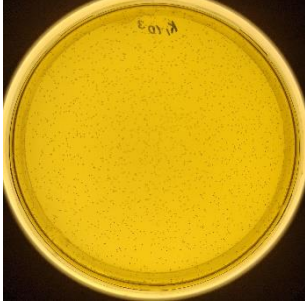
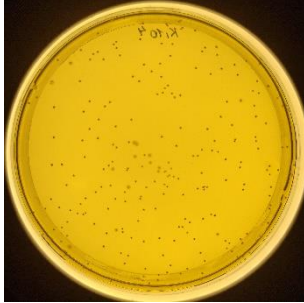
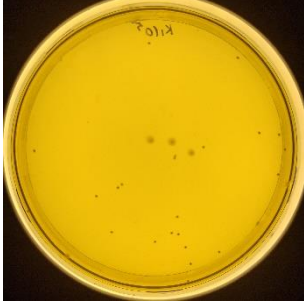
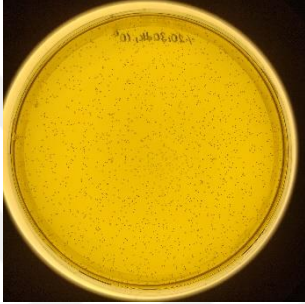
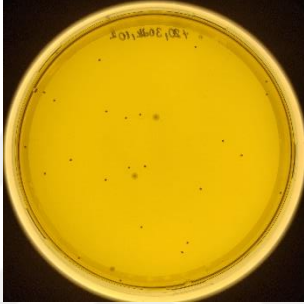
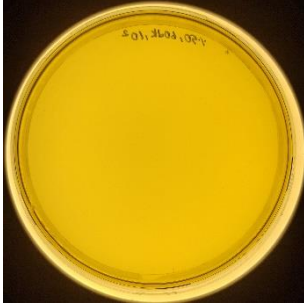
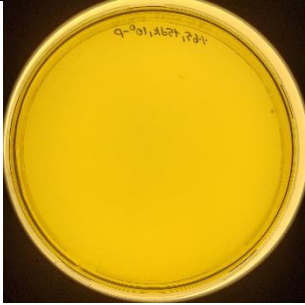
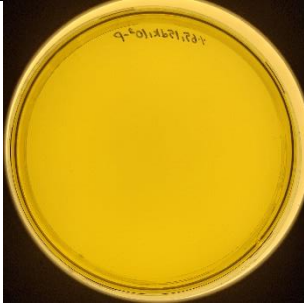
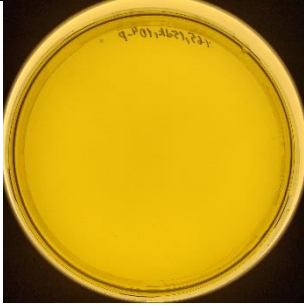
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise seyreltilmemiş olan örnekler; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-8} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-9} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnekler için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler aittir.

Ek A10 Ultrases işlemi için 10^5 - 10^6 kob/mL düzeylerinde canlılığın eldesi için yapılan farklı seyreltme düzeylerindeki ön denemelerin petri görüntüleri.*

Probiyotik Konsantrasyonu (g/mL)	a	b	c
$0,1 \times 10^{-6}$			
$0,1 \times 10^{-8}$			
$0,1 \times 10^{-10}$			
$0,1 \times 10^{-12}$			
$0,1 \times 10^{-16}$			

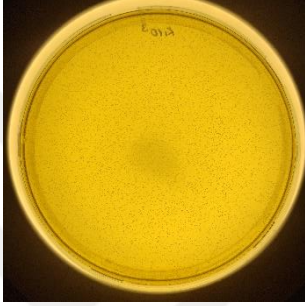
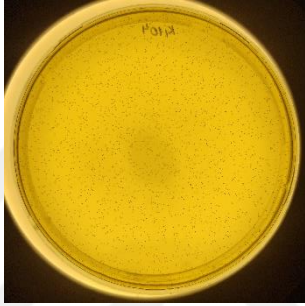
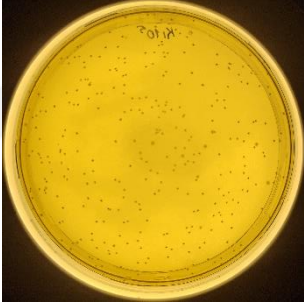
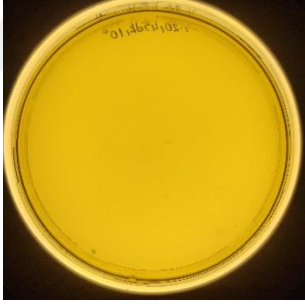
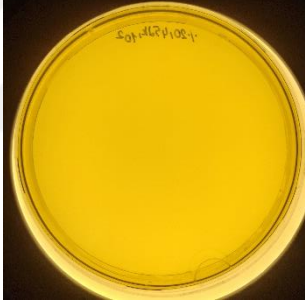
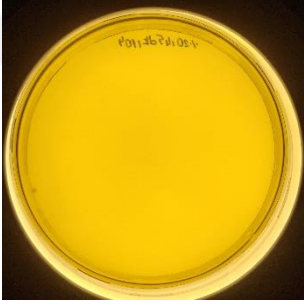
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek A11 Ultrases yöntemiyle işlem görmüş 1.set *B. lactis* BB-12 probiyotiğinin, işlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

Örnek Kodu	İşlem Koşulları	a	b	c
Kontrol				
2	98 μ m 30 dk			
4	98 μ m 60 dk			
12	246 μ m 60 dk			
13	320 μ m 15 dk			

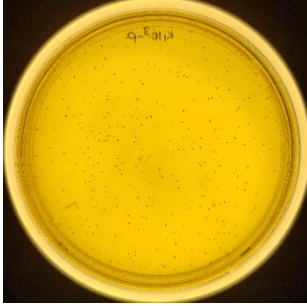
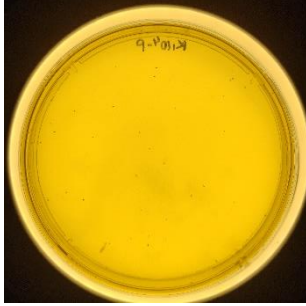
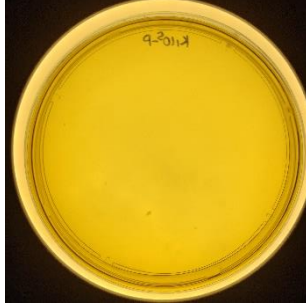
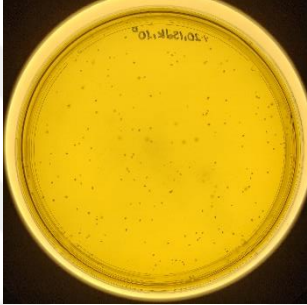
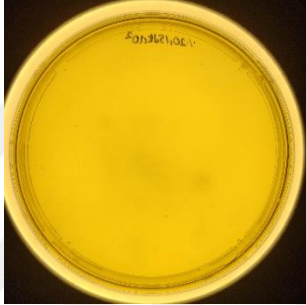
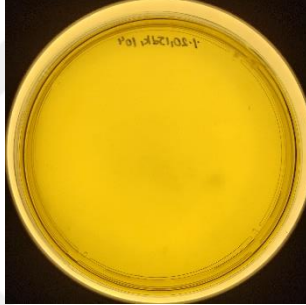
*Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise seyreltilmemiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek A12 Ultrases yöntemiyle işlem görmüş 2. set *B. lactis* BB-12 probiyotiğinin, işlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

Örnek Kodu	İşlem Koşulları	a	b	c
Kontrol				
3	98 μ m 45 dk			

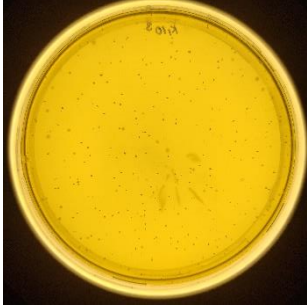
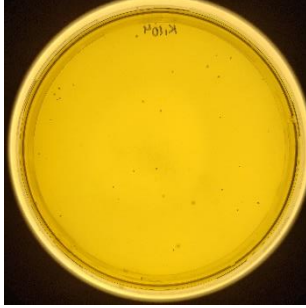
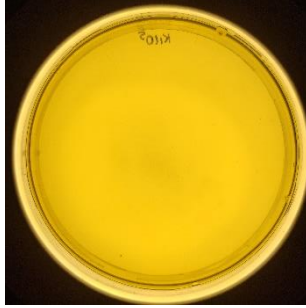
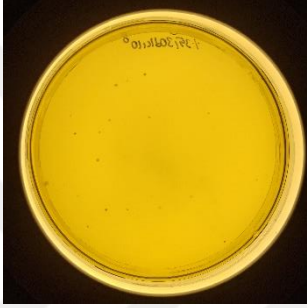
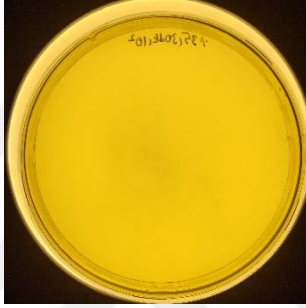
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise seyreltilmemiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek A13 Ultrases yöntemiyle işlem görmüş 3. set *B. lactis* BB-12 probiyotiğinin, işlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

Örnek Kodu	İşlem Koşulları	a	b	c
Kontrol				
1	98 µm 15 dk			

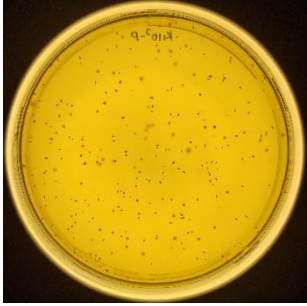
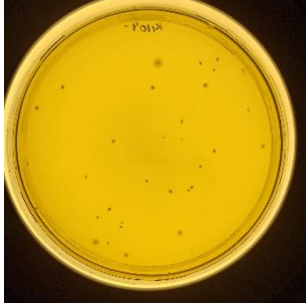
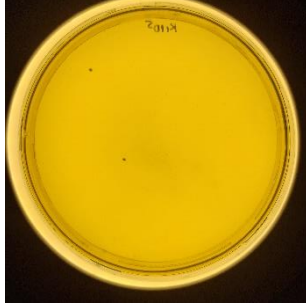
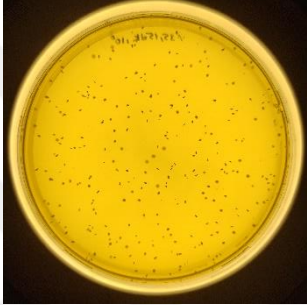
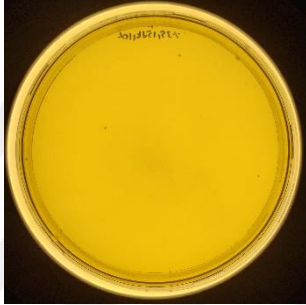
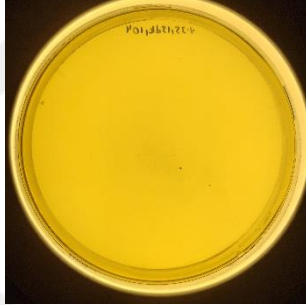
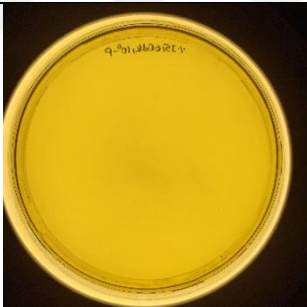
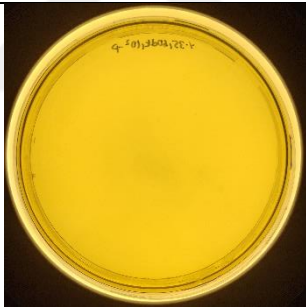
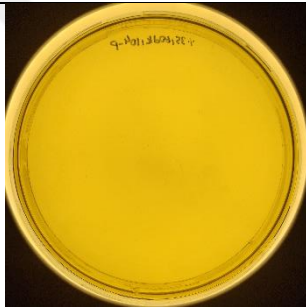
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise seyreltilmemiş olan örnekler; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler aittir.

Ek A14 Ultrases yöntemiyle işlem görmüş 4. set *B. lactis* BB-12 probiyotiğinin, işlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

Örnek Kodu	İşlem Koşulları	a	b	c
Kontrol				
6	172 µm 30 dk			

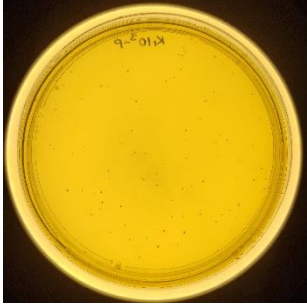
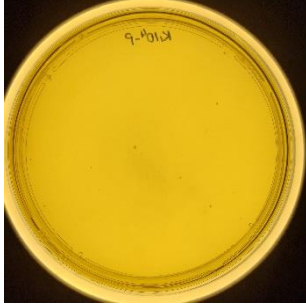
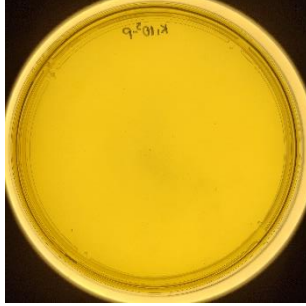
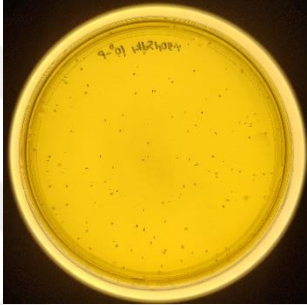
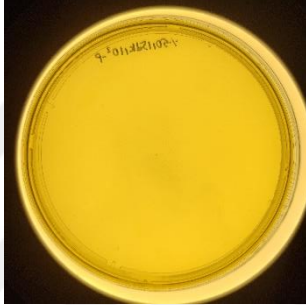
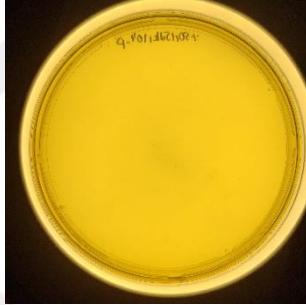
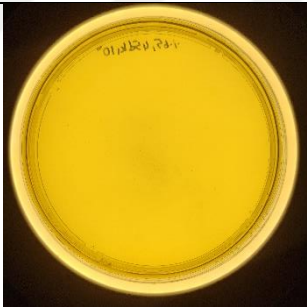
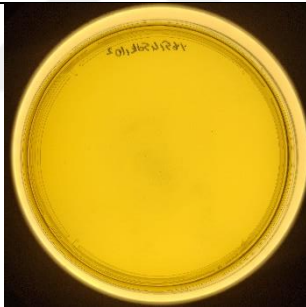
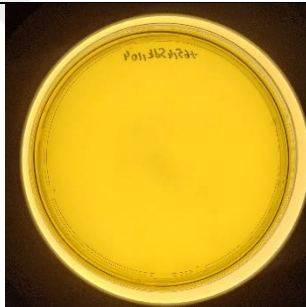
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise seyreltilmemiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek A15 Ultrases yöntemiyle işlem görmüş 5. Set *B. lactis* BB-12 probiyotiğinin, işlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

Örnek Kodu	İşlem Koşulları	a	b	c
Kontrol				
5	172 μ m 15 dk			
8	172 μ m 60 dk			

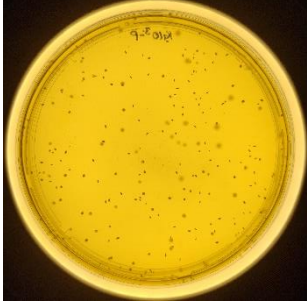
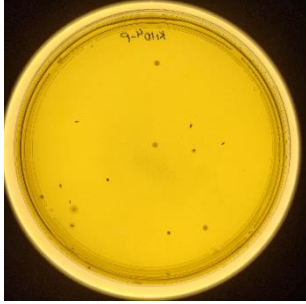
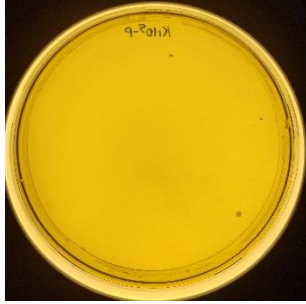
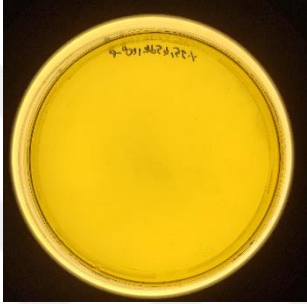
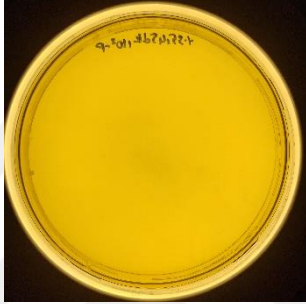
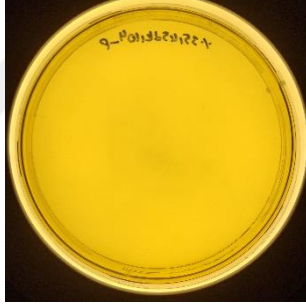
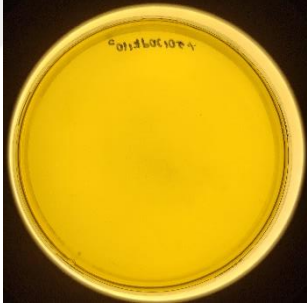
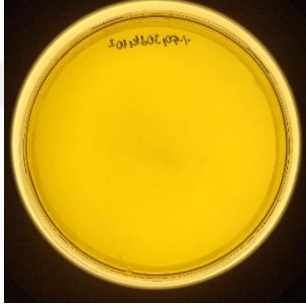
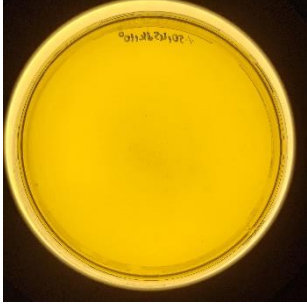
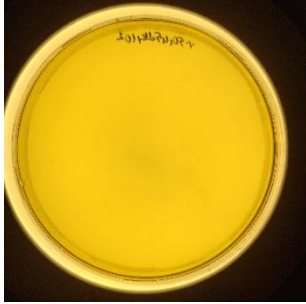
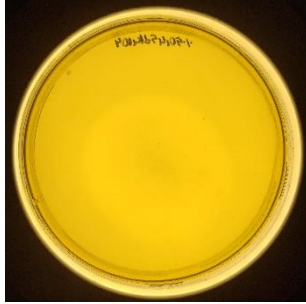
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise seyreltilmemiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

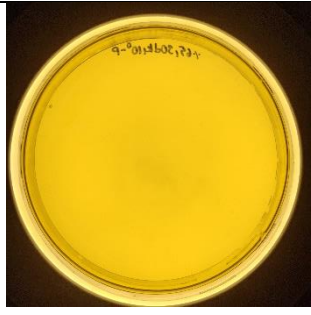
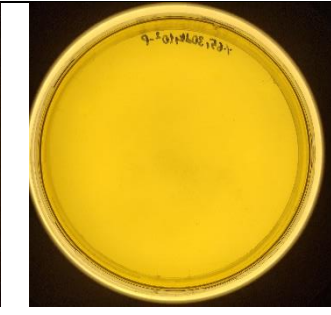
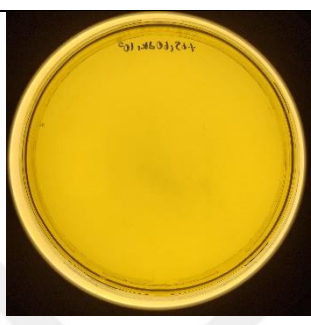
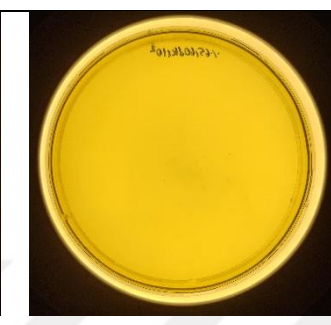
Ek A16 Ultrases yöntemiyle işlem görmüş 6. set *B. lactis* BB-12 probiyotiğinin, işlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

Örnek Kodu	İşlem Koşulları	a	b	c
Kontrol				
9	246 µm 15 dk			
15	320 µm 45 dk			

* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise seyreltilmemiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek A17 Ultrases yöntemiyle işlem görmüş 7. set *B. lactis* BB-12 probiyotiğinin, işlem sonrası ekimden 48 saat sonraki petri görüntüleri.*

Örnek Kodu	İşlem Koşulları	a	b	c
Kontrol				
7	172 μ m 45 dk			
10	246 μ m 30 dk			
11	246 μ m 45 dk			

14 320 µm 30 dk			
16 320 µm 60 dk			

* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise seyreltilmemiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-2} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler kontrol grubu için 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş, işlem görmüş örnek için ise 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B1 Probiyotik gelişimini arttırıcı aktivite analizi için yapılan ön deneme setinin petri görüntüleri.*

Postbiyotik

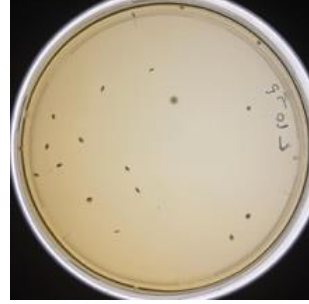
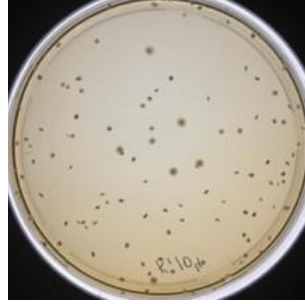
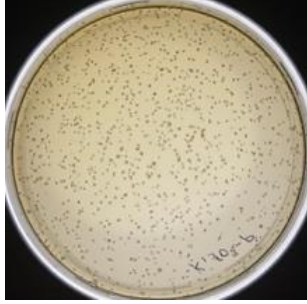
Düzeyi

a

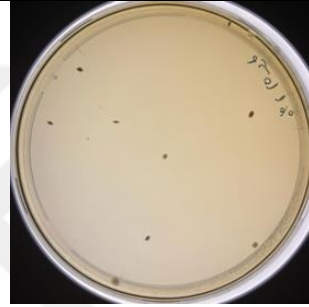
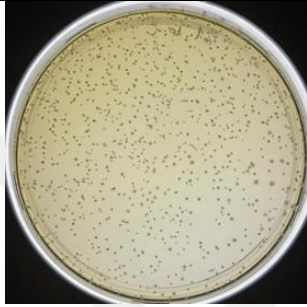
b

c

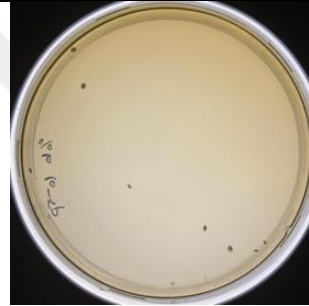
Kontrol



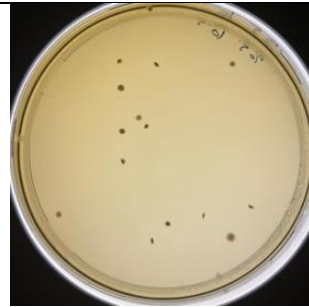
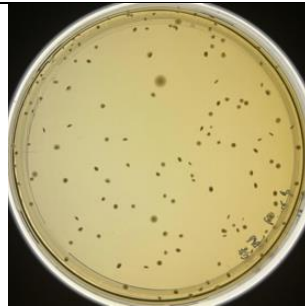
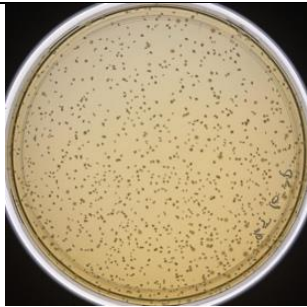
%1



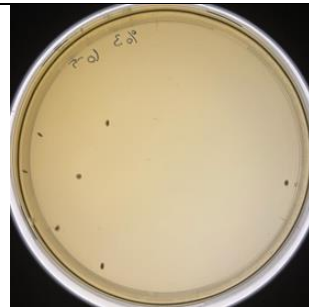
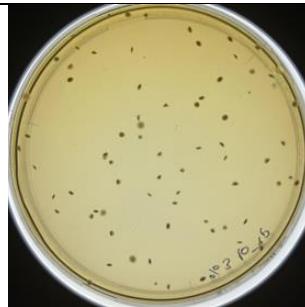
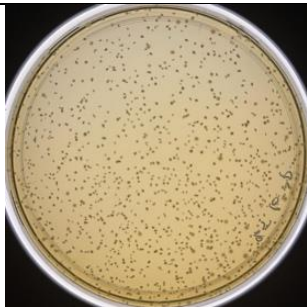
%3



%5

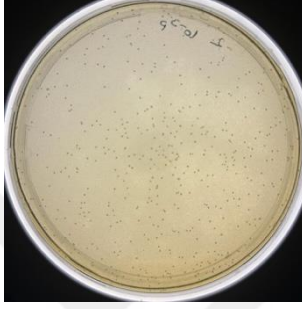
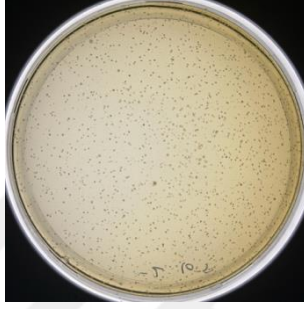
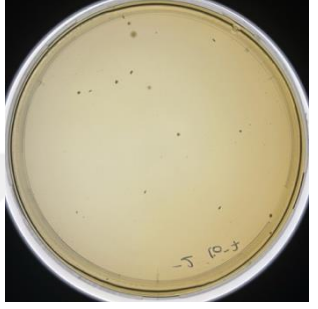
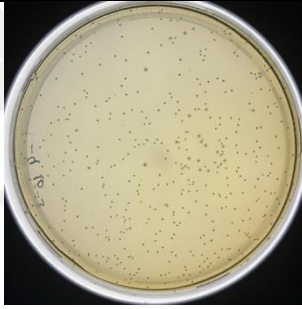
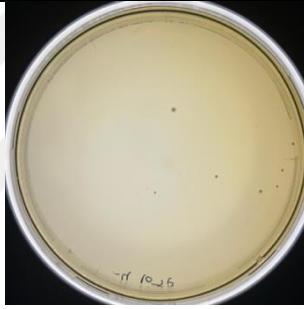
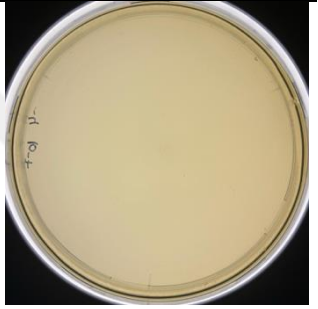


%10



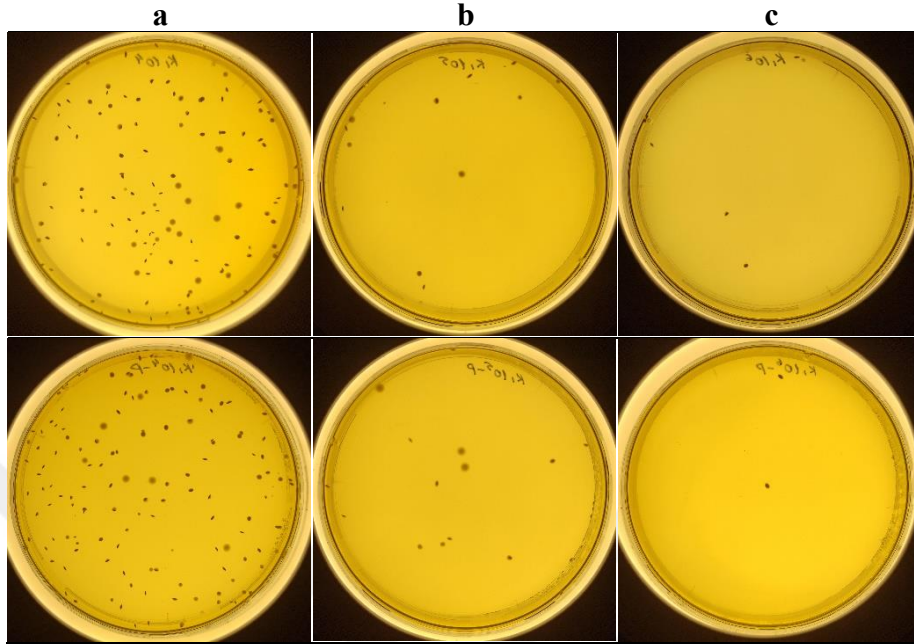
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B2 Probiyotik gelişimini arttırıcı aktivite analizi için yapılan ön deneme setinin petri görüntüleri.*

Probiyotik			
Konsantrasyonu (g/mL)	a	b	c
$0,1 \times 10^{-2}$			
$0,1 \times 10^{-4}$			

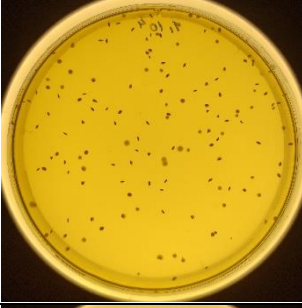
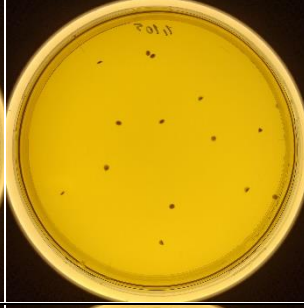
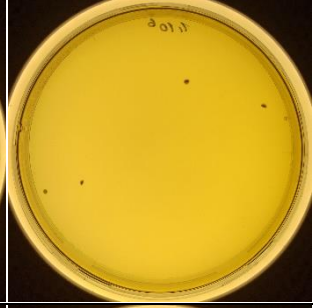
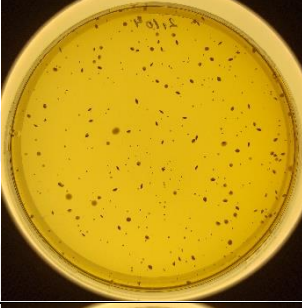
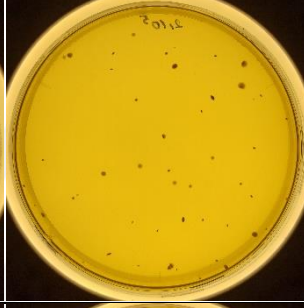
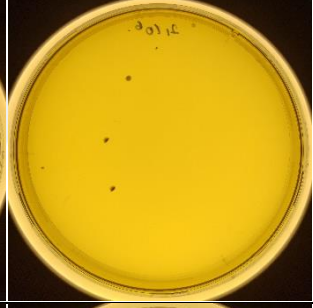
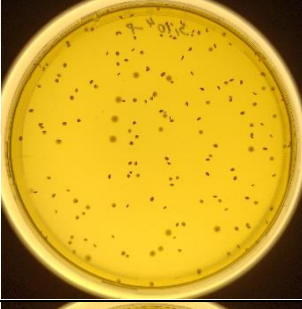
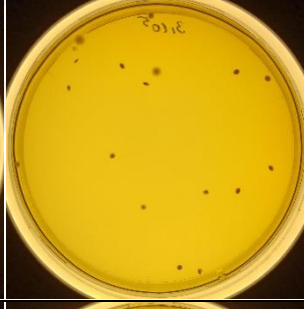
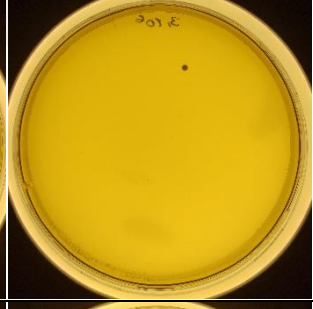
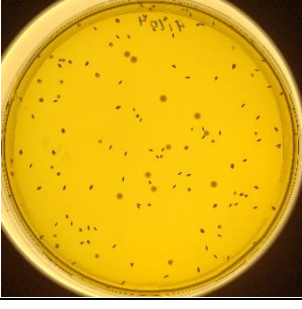
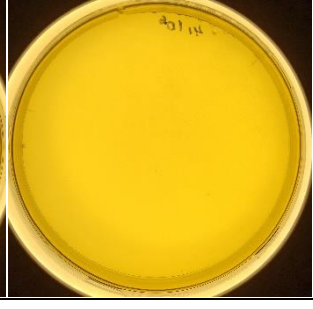
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B3 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ısıtıl işlem ile elde edilmiş postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi için yapılmış kontrol ekimleri petri görüntüleri.*



* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-6} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere aittir.

Ek B4 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 65 °C ısıl işlem sıcaklığında elde edilmiş postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
65 °C	30 dk			
	45 dk			
	60 dk			
	90 dk			

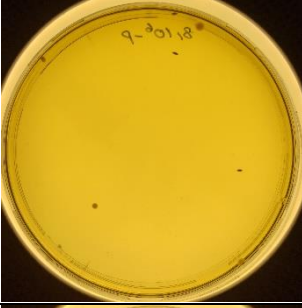
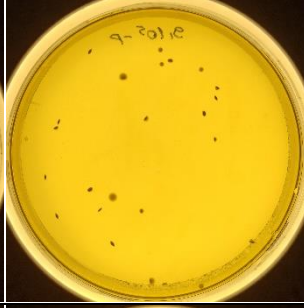
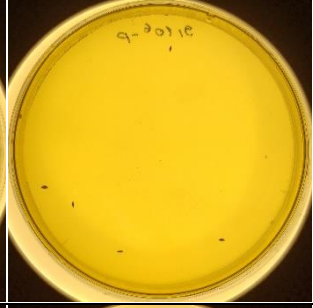
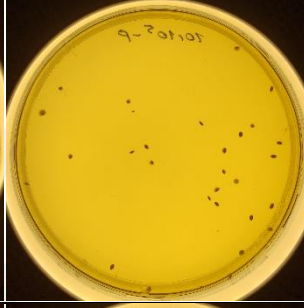
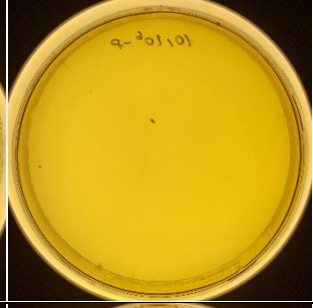
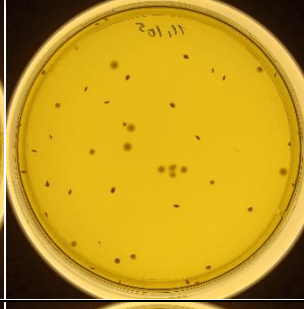
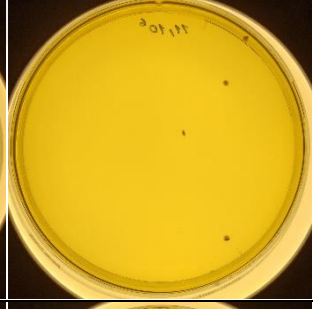
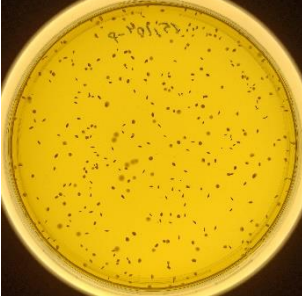
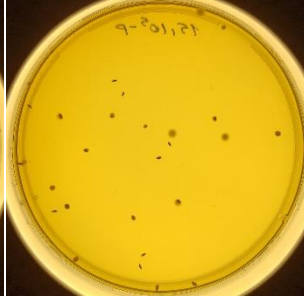
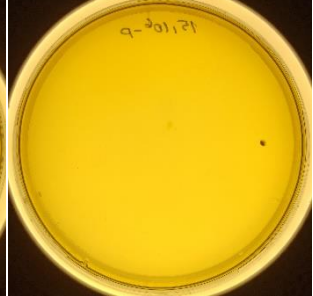
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-6} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B5 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 75 °C ısıtılma sıcaklığında elde edilmiş postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
75 °C	15 dk			
	30 dk			
	45 dk			
	60 dk			

* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-6} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B6 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 85 °C ısıtılma sıcaklığında elde edilmiş postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
85 °C	10 dk			
	15 dk			
	30 dk			
	45 dk			

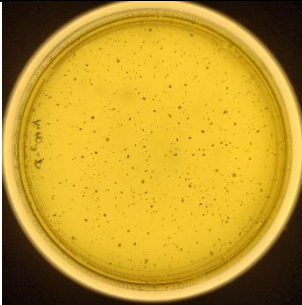
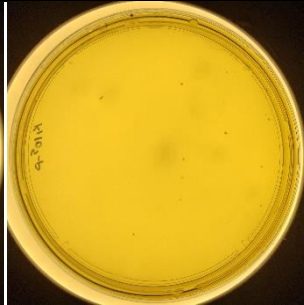
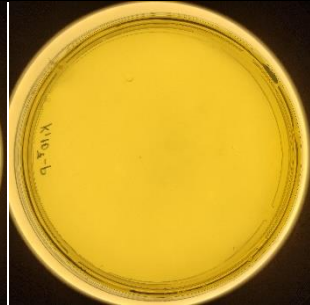
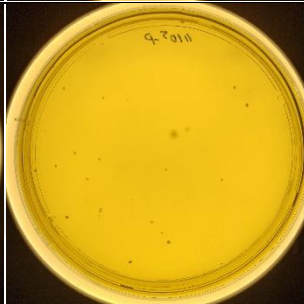
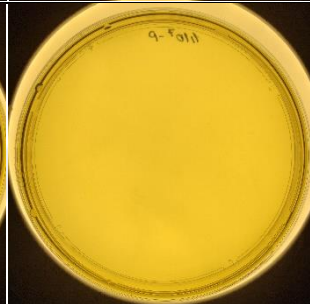
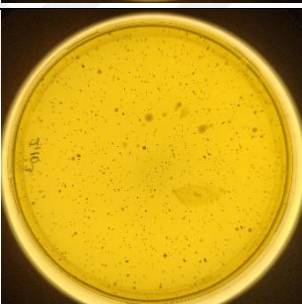
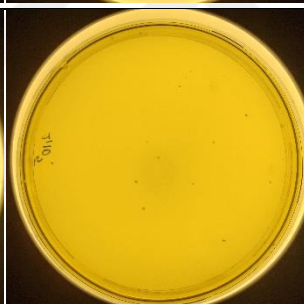
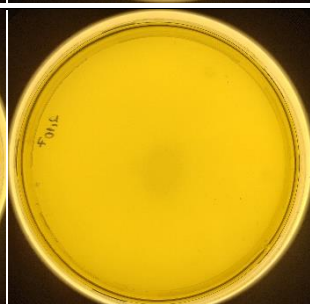
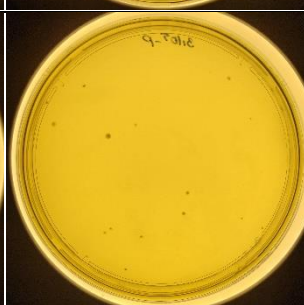
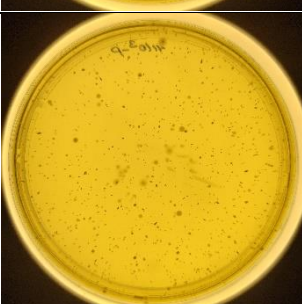
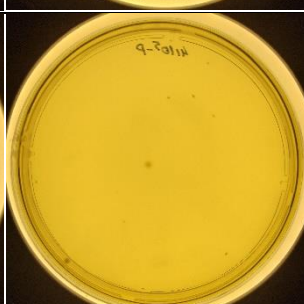
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örnekler; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-6} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerdir.

Ek B7 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 95 °C ısıtılma sıcaklığında elde edilmiş postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
95 °C	5 dk			
	10 dk			
	15 dk			
	20 dk			

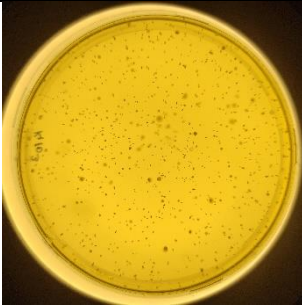
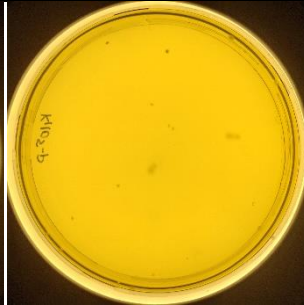
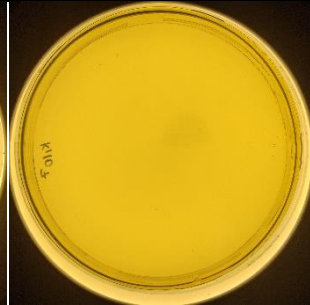
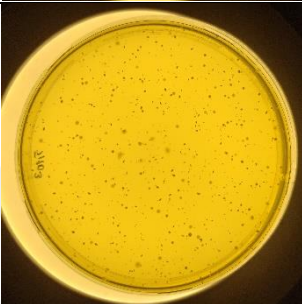
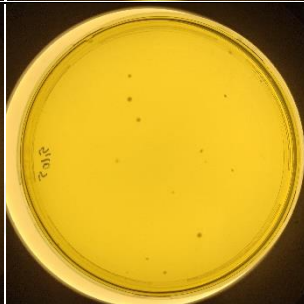
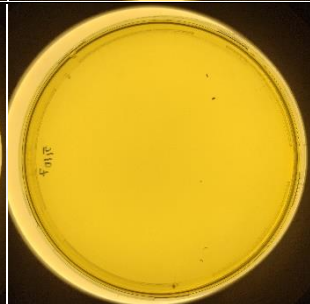
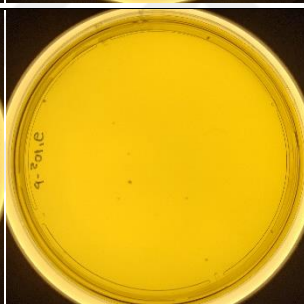
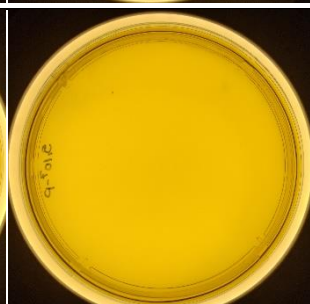
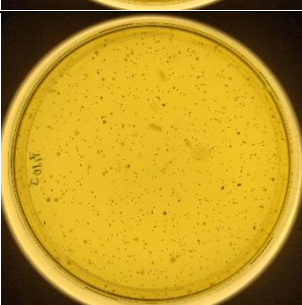
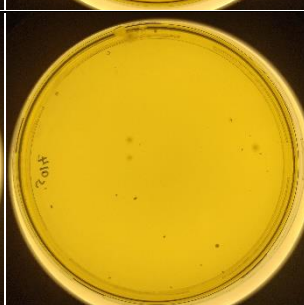
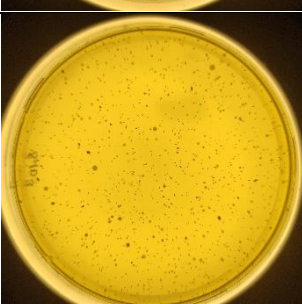
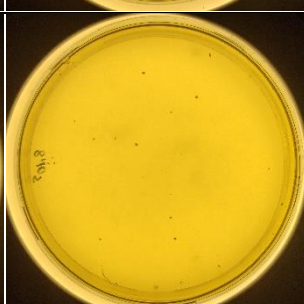
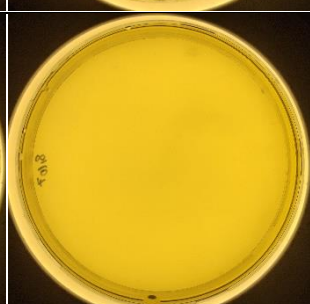
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-6} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B8 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 65 °C ısıt ışlem sıcaklığında elde edilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kùltürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri gùrùntùleri.*

İşlem Sıcaklığı	İşlem Sùresi	a	b	c
65 °C	Kontrol			
	30 dk			
	45 dk			
	60 dk			
	90 dk			

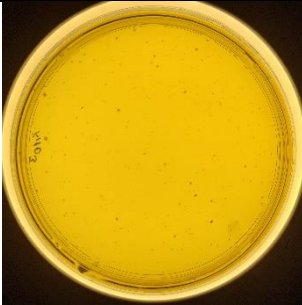
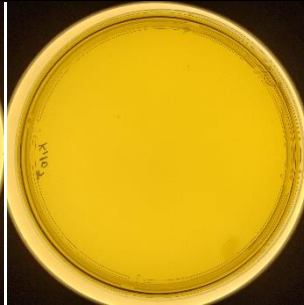
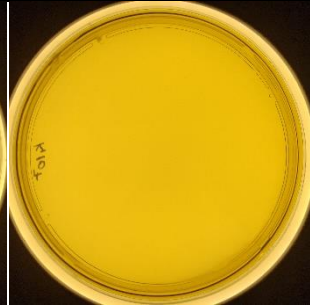
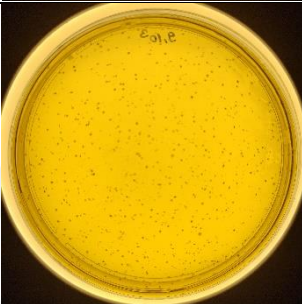
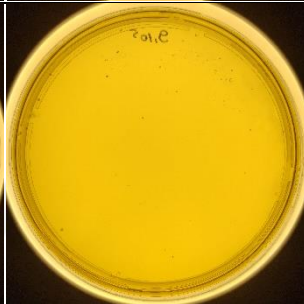
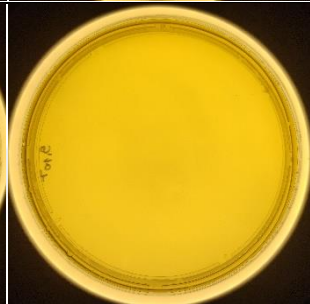
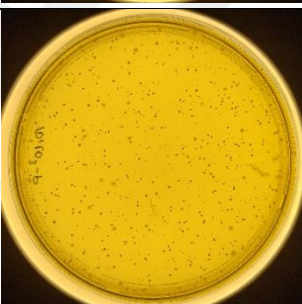
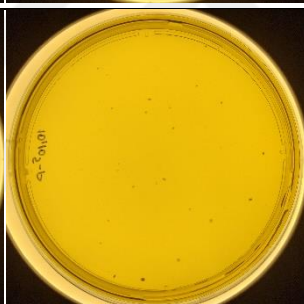
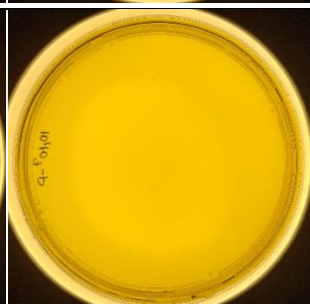
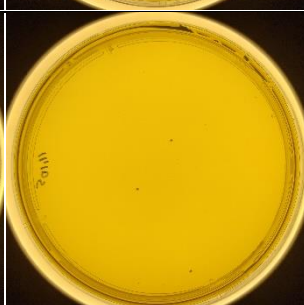
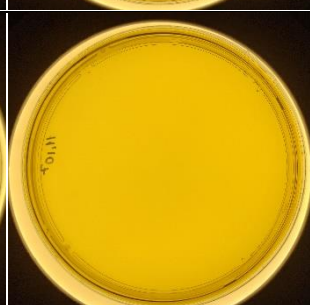
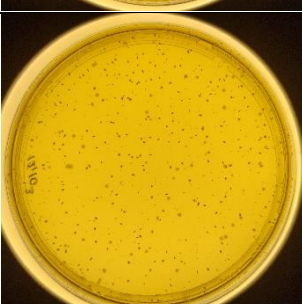
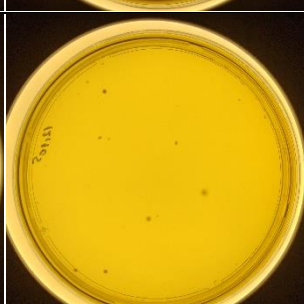
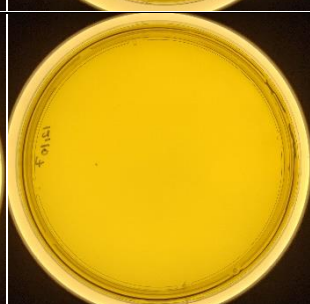
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan gùrùntùler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan òrneklere; “b” olarak belirtilen ve sunulan gùrùntùler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan òrneklere; “c” olarak belirtilen ve sunulan gùrùntùler ise 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş olan òrneklere aittir.

Ek B9 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 75 °C ısıtılma sıcaklığında elde edilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
75 °C	Kontrol			
	15 dk			
	30 dk			
	45 dk			
	60 dk			

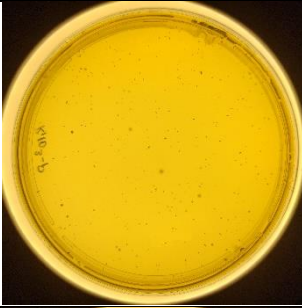
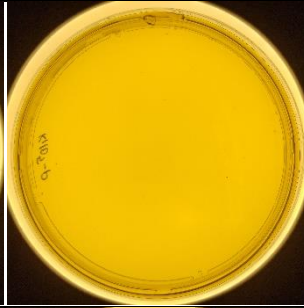
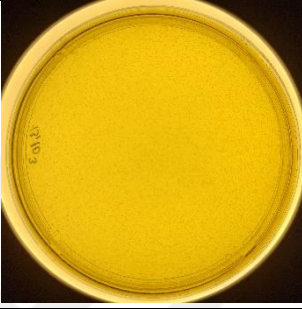
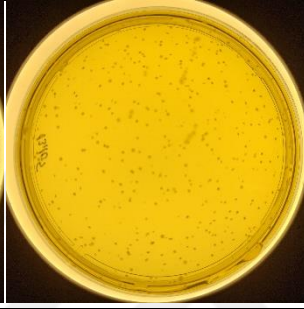
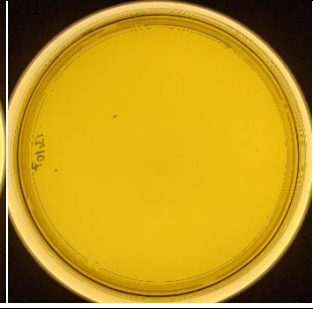
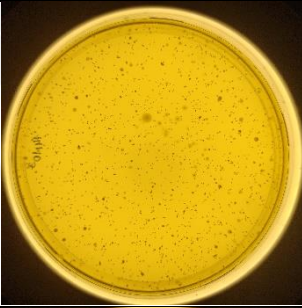
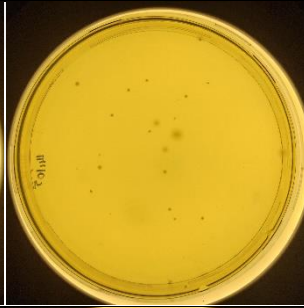
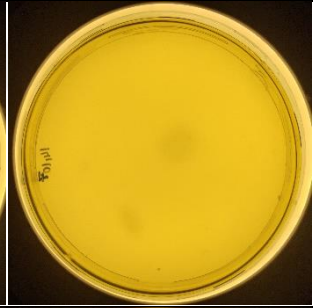
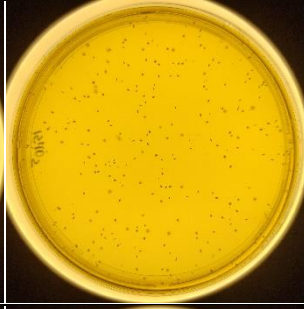
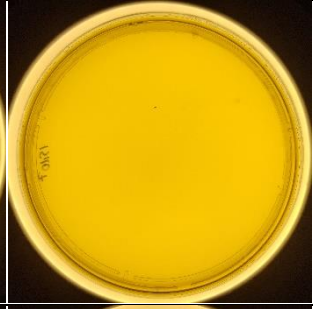
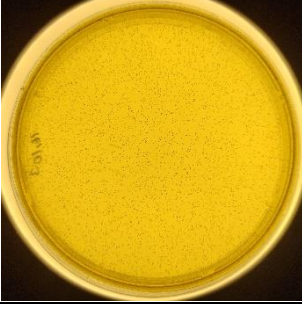
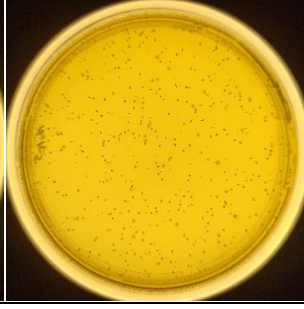
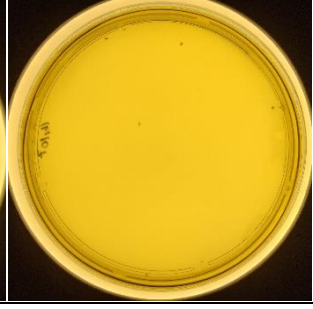
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B10 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 85 °C ısıtılma sıcaklığında elde edilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
85 °C	Kontrol			
	10 dk			
	15 dk			
	30 dk			
	45 dk			

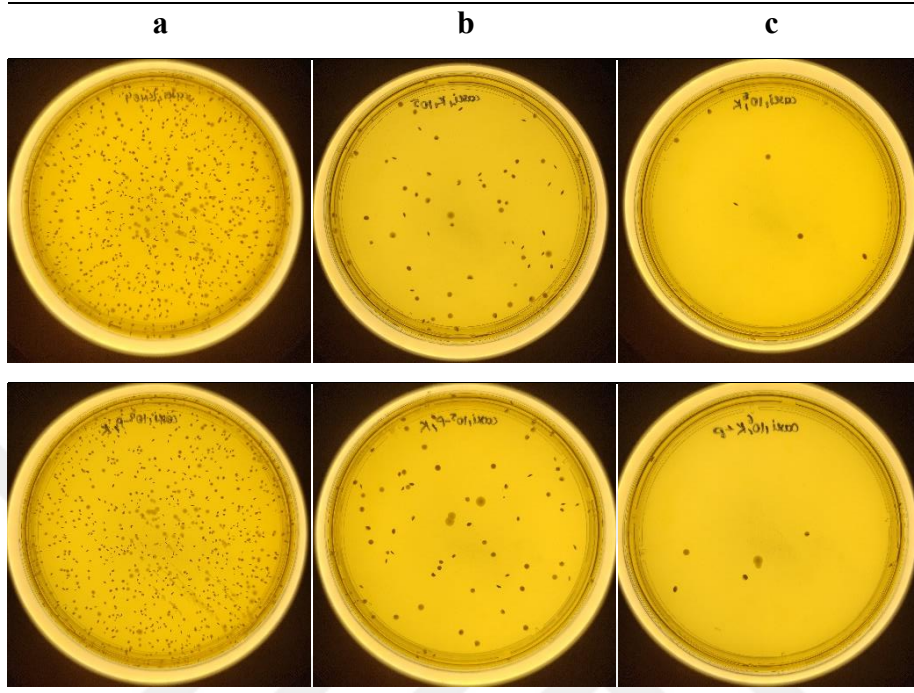
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B11 *B. lactis* BB-12 kullanılarak kullanılarak 95 °C ısıtılma sıcaklığında elde edilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

İşlem Sıcaklığı	İşlem Süresi	a	b	c
95 °C	Kontrol			
	5 dk			
	10 dk			
	15 dk			
	20 dk			

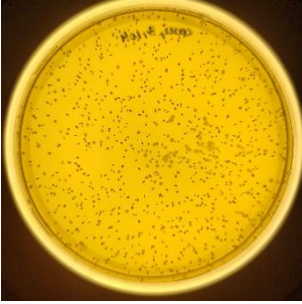
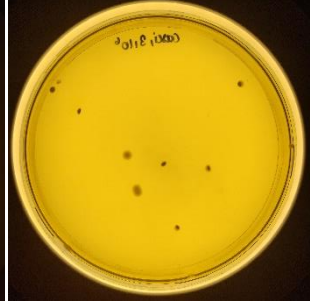
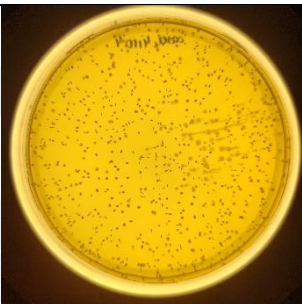
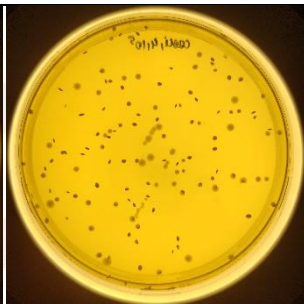
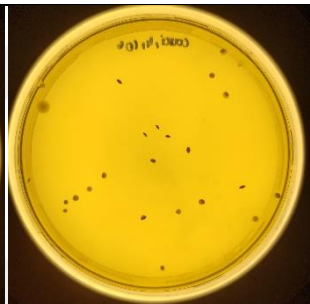
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir

Ek B12 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases yöntemiyle elde edilmiş postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi için ekimi yapılmış kontrol örneklerinin petri görüntüleri.*



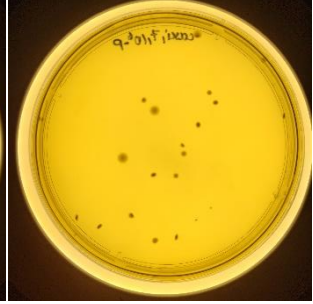
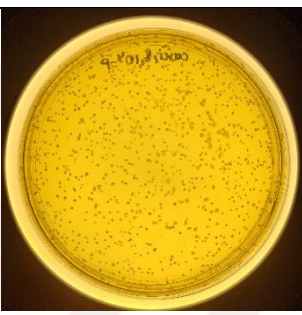
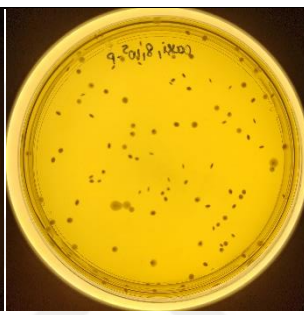
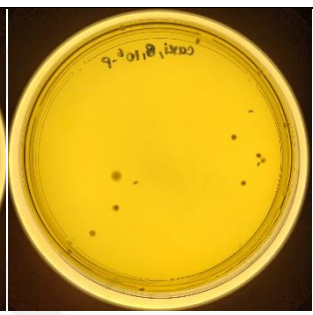
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-6} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B13 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 98 µm genlikte ultrases ile elde edilmiş postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

Genlik (µm)	İşlem Süresi	a	b	c
98	45 dk			
	60 dk			

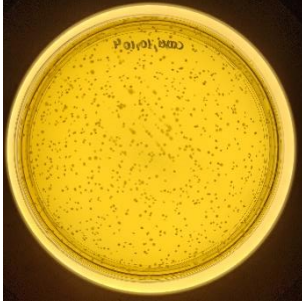
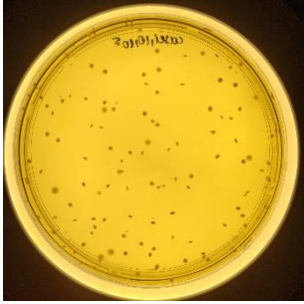
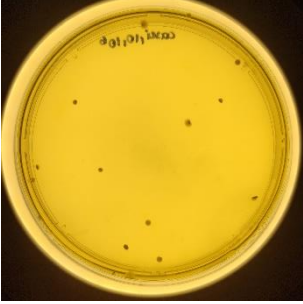
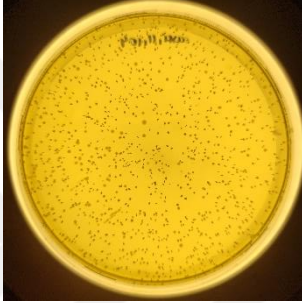
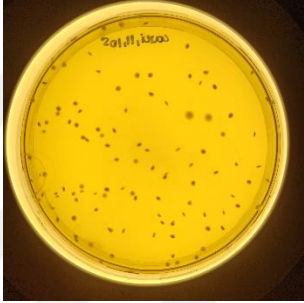
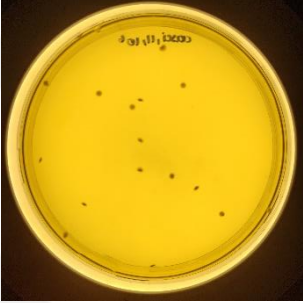
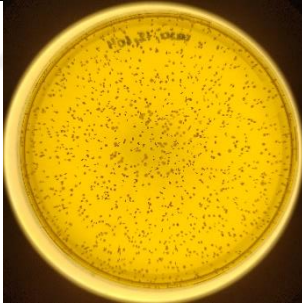
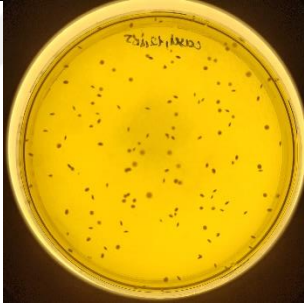
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-6} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B14 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 172 μm genlikte ultrases ile elde edilmiş postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

Genlik (μm)	İşlem Süresi	a	b	c
172	45 dk			
	60 dk			

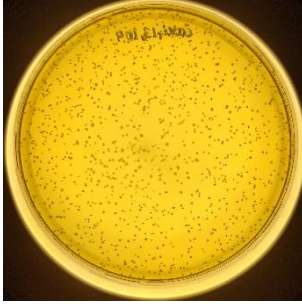
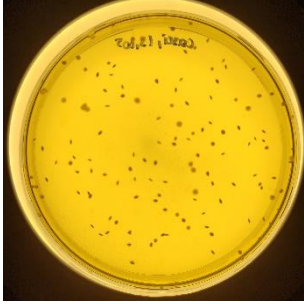
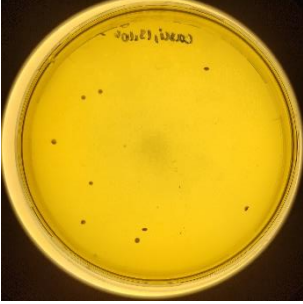
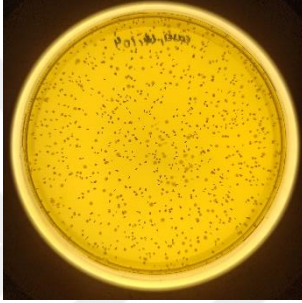
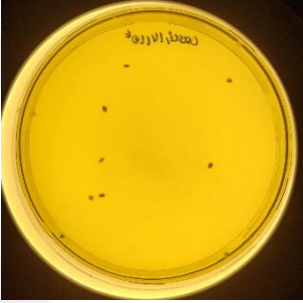
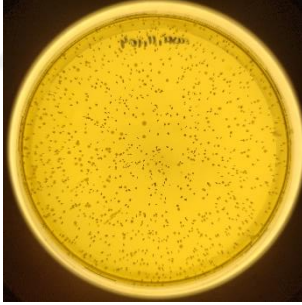
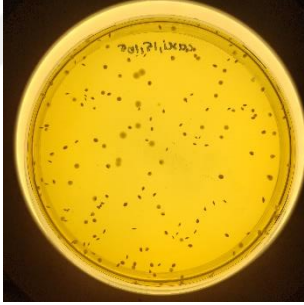
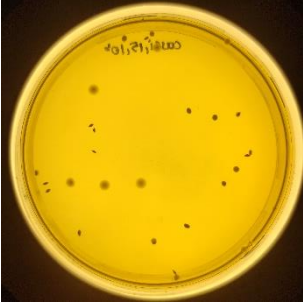
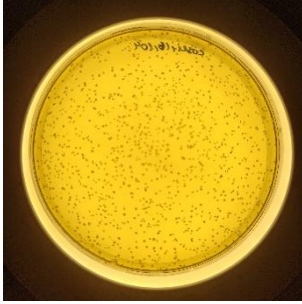
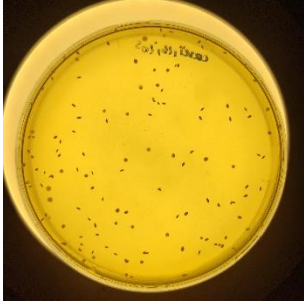
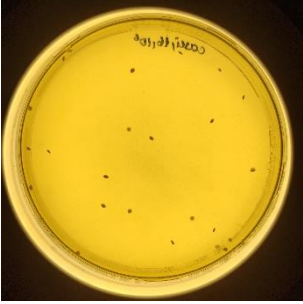
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-6} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B15 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 246 µm genlikte ultrases ile elde edilmiş postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

Genlik (µm)	İşlem Süresi	a	b	c
246	30 dk			
	45 dk			
	60 dk			

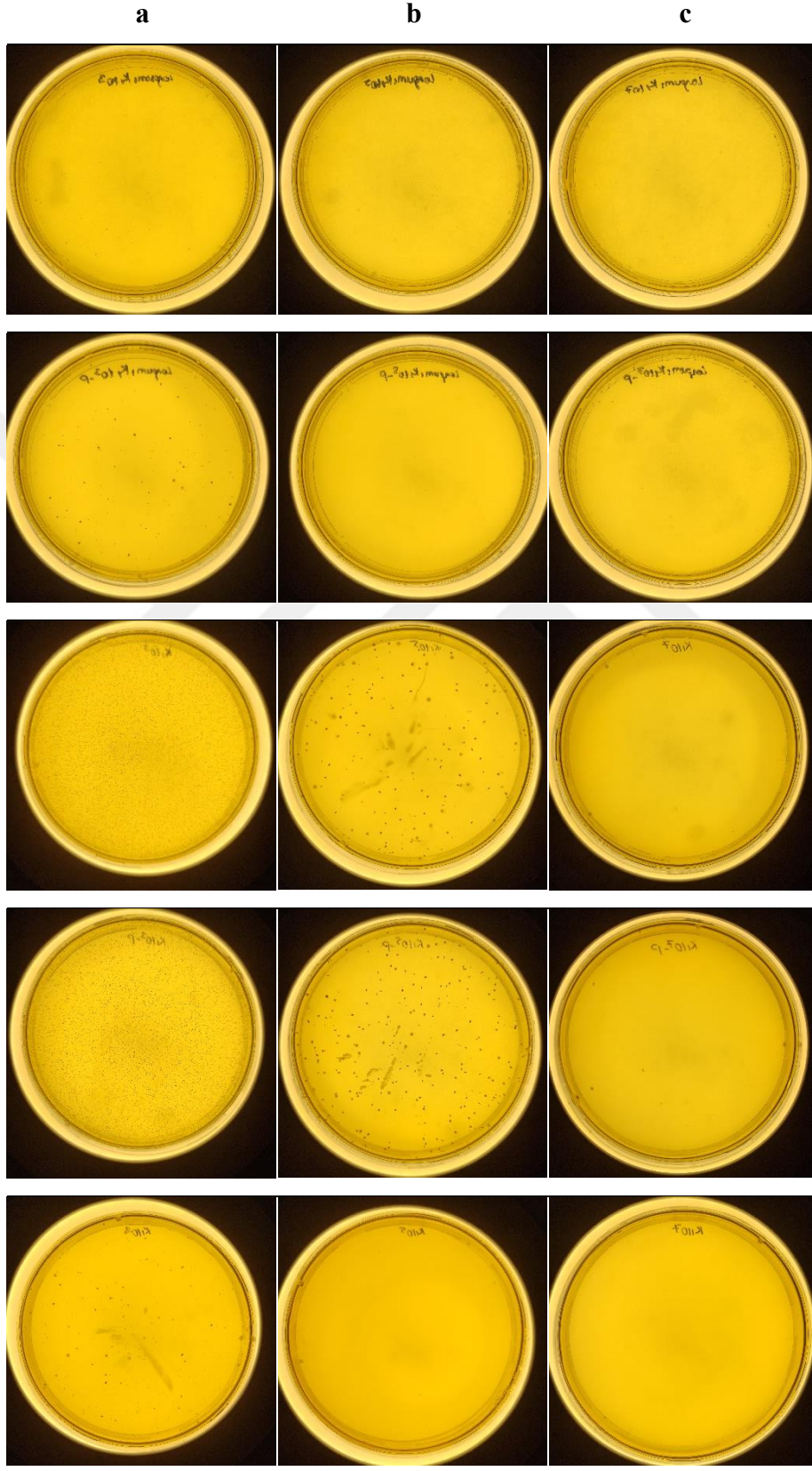
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-6} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere aittir.

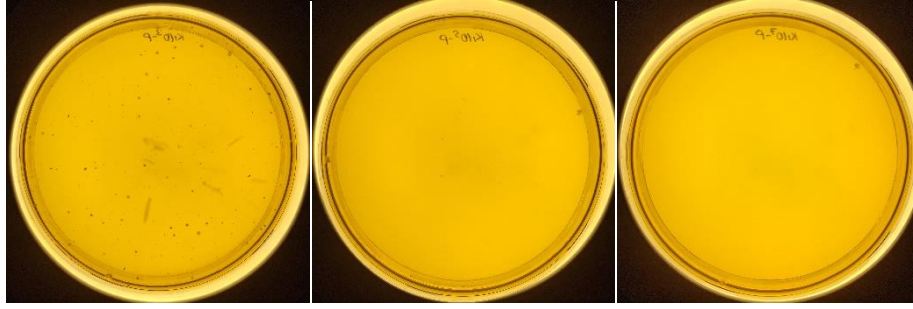
Ek B16 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 320 µm genlikte ultrases ile elde edilmiş postbiyotiklerin *Lactobacillus casei* 431 üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

Genlik (µm)	İşlem Süresi	a	b	c
320	15 dk			
	30 dk			
	45 dk			
	60 dk			

* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-4} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-6} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B17 *B. lactis* BB-12 kullanılarak ultrases yöntemiyle elde edilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi için yapılmış kontrol ekimleri petri görüntüleri.*





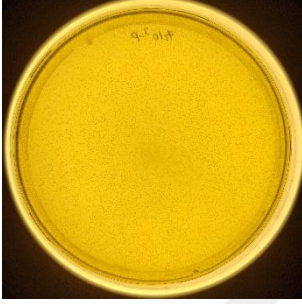
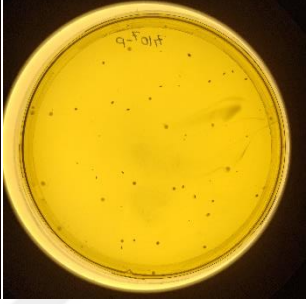
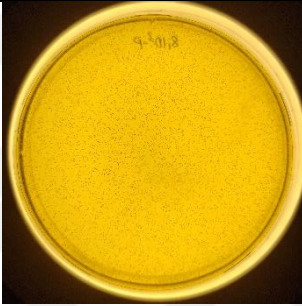
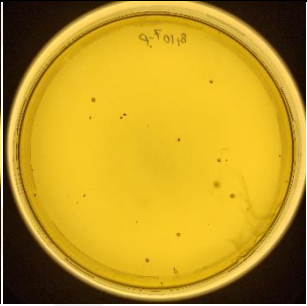
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere aittir.

Ek B18 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 98 μ m genlikte ultrases ile elde edilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

Genlik (μ m)	İşlem Süresi	a	b	c
98	45 dk			
	60 dk			

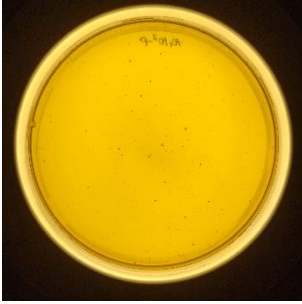
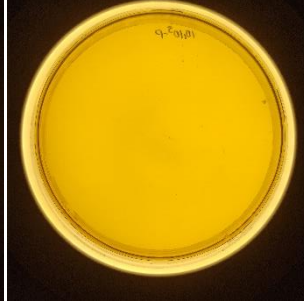
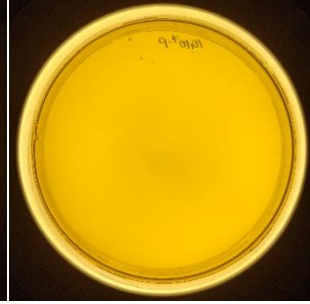
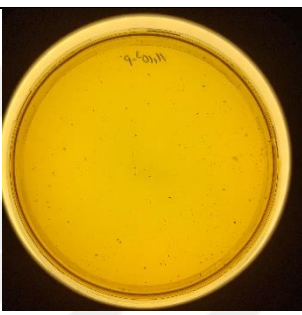
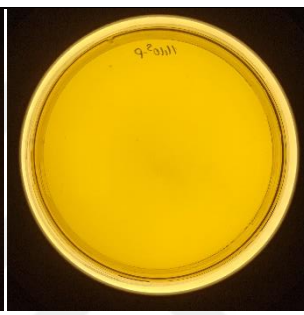
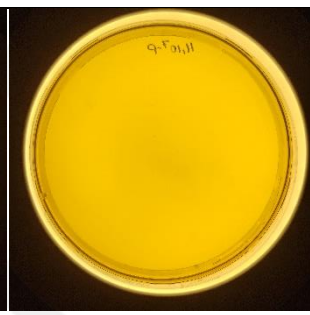
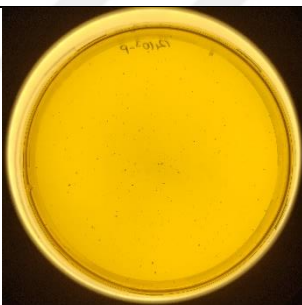
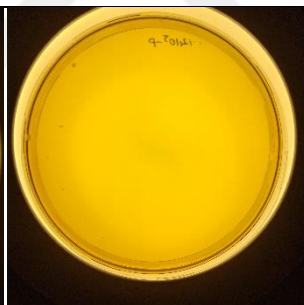
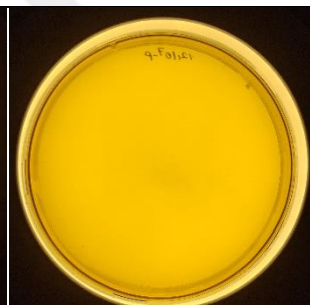
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere aittir.

Ek B19 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 172 µm genlikte ultrases ile elde edilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

Genlik (µm)	İşlem Süresi	a	b	c
172	45 dk			
	60 dk			

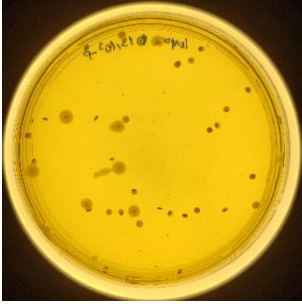
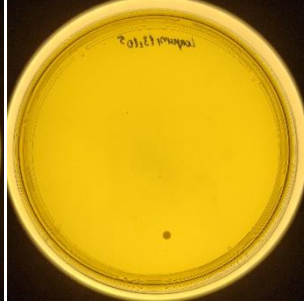
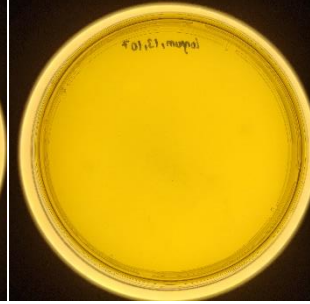
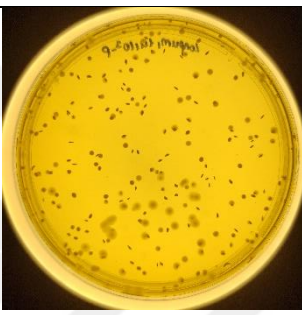
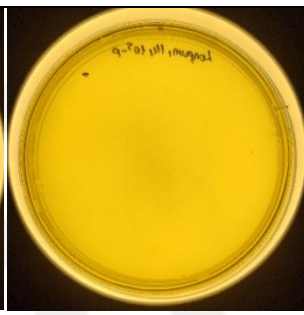
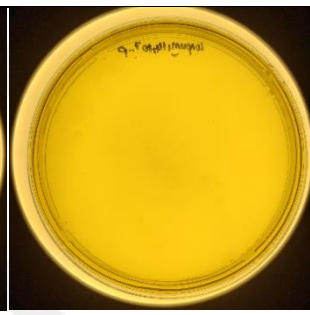
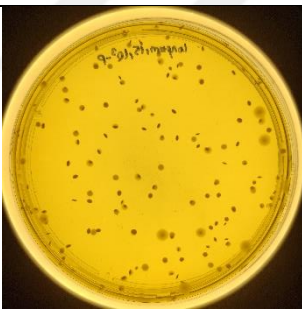
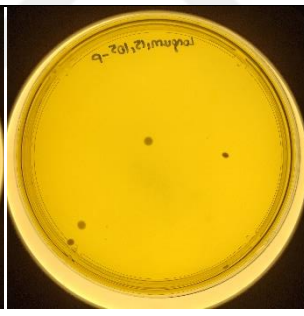
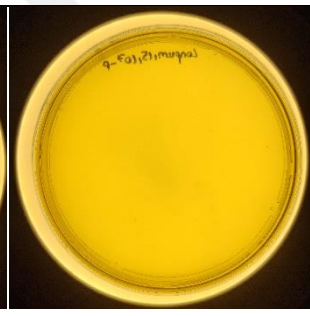
* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklere aittir.

Ek B20 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 246 µm genlikte ultrases ile elde edilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

Genlik (µm)	İşlem Süresi	a	b	c
246	30 dk			
	45 dk			
	60 dk			

* Tabloda “a” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-3} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “b” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler 10^{-5} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle; “c” olarak belirtilen ve sunulan görüntüler ise 10^{-7} düzeyinde seyreltilmiş olan örneklerle aittir.

Ek B21 *B. lactis* BB-12 kullanılarak 320 µm genlikte ultrases ile elde edilmiş postbiyotiklerin *Bifidobacterium* kültürü üzerindeki probiyotik geliştirici aktivite analizi sonucundaki petri görüntüleri.*

Genlik (µm)	İşlem Süresi	a	b	c
320	15 dk			
	30 dk			
	45 dk			
	60 dk	