

# Laktik asit bakterilerinden elde edilen konsantre postbiyotiklerin bazı gıda patojenleri üzerine etkilerinin değerlendirilmesi

Nisanur Ektik Sezen<sup>1\*</sup>, Tevhide Elif Güner<sup>2</sup>, Hakan Tavşanlı<sup>3</sup>, Osman İrfan İlhak<sup>4</sup>

<sup>1,2</sup> Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Balıkesir, Türkiye  
<sup>3,4</sup> Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı, 10050, Balıkesir, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 07.03.2024, Kabul Tarihi / Accepted: 14.06.2024

**Özet:** Çalışmada dokuz farklı laktik asit bakterisi MRS Broth'da 24, 48 ve 96 saat inkübe edildikten sonra postbiyotikleri elde edildi. Elde edilen postbiyotiklerin (1x) suyu evaporasyonla uçurularak iki (2x) ve dört (4x) kat yoğunlaştırıldı. Farklı inkübasyon sürelerinde elde edilen ve farklı yoğunluktaki postbiyotiklerin pH değerleri, titre edilebilir organik asit miktarları ve *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157, metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ve *Brucella melitensis* üzerine antimikrobiyal etkileri agar difüzyon yöntemi ile inhibisyon zon çapları ölçülerek ortaya konuldu. Çalışmada laktik asit bakterilerinin inkübasyon sürelerindeki artışın postbiyotiklerindeki pH değerleri, titre edilebilir asit miktarları ve patojenler üzerine antimikrobiyal etkide önemli bir değişikliğe neden olmadığı görüldü ( $p > 0.05$ ). Postbiyotikler 2x ve 4x yoğunlaştırıldıklarında, içerdikleri organik asit miktarları artmasına ve patojenler üzerine daha güçlü bir antimikrobiyal etki göstermelerine rağmen ( $p < 0.05$ ), pH değerlerinde önemli bir değişiklik görülmedi ( $p > 0.05$ ). Postbiyotiklerin antimikrobiyal etkilerini içerdikleri organik asitler ile meydana getirdikleri, organik asitlerin ise NaOH ile nötralize edildiklerinde antimikrobiyal etkilerinin kaybolduğu tespit edildi. En yüksek titre edilebilir asit miktarları ve patojenlere karşı en güçlü antimikrobiyal etkiler ise *Lactobacillus plantarum*, *L. sakei* ve *L. curvatus*'dan elde edilen postbiyotiklerde görüldü ( $p < 0.05$ ).

**Anahtar kelimeler:** Antimikrobiyal etki, gıda patojenleri, postbiyotik

## Evaluation of the effects of concentrated postbiotics from lactic acid bacteria on some food pathogens

**Abstract:** In the study, nine different lactic acid bacteria were incubated in MRS Broth for 24, 48 and 96 hours and their postbiotics were obtained. The water of the obtained postbiotics (x) was evaporated and concentrated two (2x) and four (4x) times. The pH values and titratable organic acid amounts of postbiotics obtained at different incubation times and at different concentrations were determined, and their antimicrobial effects on *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Brucella melitensis* were determined by measuring the inhibition zone diameters with agar diffusion method. In the study, it was detected that the increase in the incubation period of lactic acid bacteria did not cause a significant change in the pH values, titratable acid content and antimicrobial effect on pathogens ( $p > 0.05$ ). When postbiotics were concentrated 2x and 4x, the amount of organic acids they contained increased ( $p < 0.05$ ) and they showed a stronger antimicrobial effect on pathogens ( $p < 0.05$ ), but there was no significant change in their pH values ( $p > 0.05$ ). It was determined that the postbiotics showed their antimicrobial effects through the organic acids which they produced, and when the organic acids were neutralized with NaOH, their antimicrobial effects disappeared. The highest titratable acid amounts and the strongest antimicrobial effects against pathogens were observed in postbiotics obtained from *L. plantarum*, *L. sakei* and *L. curvatus* ( $p < 0.05$ ).

**Keywords:** Antimicrobial effect, food pathogens, postbiotic

## Giriş

İnsanoğlu eski çağlardan beri laktik asit bakterilerini (LAB) gıdaların raf ömrünü uzatmak ve değişik lezzetler elde etmek için fermantasyon amacıyla kullanmasına rağmen, ancak 1900'lu yılların başında bu bakterilerin sağlık üzerine olumlu etkilerinin olduğunun farkına varmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar bakteriyel metabolizma sonucu üretilen ürünlerin de biyolojik aktiviteye sahip olduklarını or-

taya koymuş ve bu ürünlere yeni bir isimlendirmeye "postbiyotikler" adı verilmiştir. Postbiyotikler [veya diğer isimleriyle metabiyotikler, biyojenikler, probiyotik hücre parçaları, cell free supernatants (CFS)], fermentasyon sırasında LAB'lar tarafından üretilen biyoaktif çözümler ürünler veya metabolik son ürünler olarak tanımlanmaktadır (Barros ve ark. 2020; Aghebati-Maleki ve ark. 2022). Postbiyotik terimi günümüze kadar en sık kullanılan terim olmasına

rağmen hala evrensel olarak kabul edilmiş tam bir tanımı yoktur (Thorakkattu ve ark. 2022).

Postbiyotik terimi son yıllarda sık kullanılsa da, aslında bazı fermente gıdaların (yoğurt, turşu, kombucha çayı, kefir vs.) doğal olarak postbiyotik içerdikleri ve insanların tarih boyunca bu gıdaları tükettikleri ve fayda sağladıkları unutulmamalıdır. Postbiyotiklerin tespit edilmiş bir toksisitesinin olmaması, sindirim sistemi enzimlerine dirençli olmaları, uzun raf ömrü, immun sistem düzenleyici, antiinflamatuar, antihipertansif, antioksidan, antimikrobiyal, antikanser ve hipokolesterolemik aktivitelere sahip olmaları gibi avantajları bulunmaktadır (Aguilar-Talá ve ark. 2018; Wegh ve ark. 2019; Gökırmaklı ve ark. 2021; Rad ve ark. 2021). Ayrıca postbiyotiklerin hazırlanması ve kullanılmasının basit ve uygun olması, geniş pH ve sıcaklık aralıklarında stabil olmaları, kendilerine özgü kimyasal yapılarının ortaya konulabilmesi, mikroorganizma sayısında artışa sebep olmamaları, immun sistemi baskılanmış bireylerde yan etkilere sahip olmaması ve postbiyotik türlerine göre muhafazaları esnasında soğuk zincire gerek duyulmaması da avantajdır (Barros ve ark. 2020; Aghebatı-Maleki ve ark. 2022; Sabahi ve ark. 2022).

Son zamanlarda gıdalarda antimikrobiyal olarak kimyasal bileşiklerden ziyade doğal bileşiklerin kullanılmasına yönelik tüketici talepleri öne çıkmaktadır (Balthazar ve ark. 2021; Salantá ve Crobotova 2022). Postbiyotiklerin faydalı etkilerinden biri de bazı mikroorganizmalar üzerine inhibisyon etkilerinin olmasıdır. Kimyasal koruyuculara ve antibiyotiklere göre avantajlara sahip olan postbiyotiklerin gıdalarda bozulma yapan mikroorganizmalara ve gıda kaynaklı patojenlere karşı kullanılması ile ilgili araştırmalar devam etmektedir (Yolmeh ve ark. 2017; Jo ve ark. 2020; İncili ve ark. 2021; 2022a; 2022b; 2023; Mani-López ve ark. 2022). Postbiyotiklerin antimikrobiyal etkileri genel olarak elde edildikleri LAB türlerine, kültür ortamına, gelişme şartlarına, hedef mikroorganizmanın tipine (gram pozitif bakteriler, gram negatiflere göre postbiyotiklere daha dirençlidir) ve postbiyotiğin konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir (Özçelik ve ark. 2016; Moradi ve ark. 2020; Sabahi ve ark. 2022). Postbiyotiklerin sahip oldukları antimikrobiyal etkinin içerdikleri organik asitler, bakteriyosinler ve bakteriyosin benzeri inhibitör bileşiklerden ileri geldiği, hidrojen peroksit, diasetil, kısa ve uzun zincirli yağ asitleri ve etanolün de antimikrobiyal etkiye katkıda bulunduğu bildirilmektedir (Mani-López ve ark. 2022).

LAB'lardan elde edilen postbiyotiklerin toplam organik asit miktarı ve pH değerlerinin bilinmesi,

gıda patojenlerine karşı antimikrobiyal etkilerinin ortaya konulması gıda endüstrisi açısından büyük öneme sahiptir. Gıda güvenliği ve kalitesi açısından uygun LAB'ların seçiminde de bu verilerin önem arz edeceği ileri sürülebilir. Postbiyotiğin içerisindeki bileşiklerin karakterizasyonları ve miktarlarının ortaya konulması için kromatografik yöntemler (HPLC, GC veya TLC) ya da kapiler elektroforez, spektrofotometrik gibi analizlere ihtiyaç duyulmaktadır (Barros ve ark. 2020; Moradi ve ark. 2021; Thorakkattu ve ark. 2022). LAB'lardan elde edilen postbiyotiklerin kimyasal içeriği ve antimikrobiyal etkileri ile ilgili bazı detaylı araştırmalar mevcut olsa da bu konuda yeterli sayıda veri bulunmadığı görülmektedir. İleri teknolojik cihazların kullanılması çoğu laboratuvar için gerçekten pahalı yöntemlerdir ve rutin olarak her elde edilen postbiyotiğe uygulanmaları mümkün değildir. Ayrıca, postbiyotiklerin gıda güvenliği ile ilgili mikroorganizmalara karşı kullanılması için öncelikle kaba kimyasal bileşimlerinin analiz edilmesi ve in vitro antagonistik testlerle gıda patojenlerine karşı etkinliklerinin ölçülmesi uygun olabilir. Bu yüzden, daha basit ve ucuz yöntemlerle postbiyotiklerin antibakteriyel özelliklerini ortaya koymak ve etkili oldukları tespit edilince detaylı analizleri uygulamak yerinde olacaktır. Bu çalışma, starter kültür amacıyla da yaygın olarak kullanılan bazı LAB'ların MRS Broth'da farklı inkübasyon sürelerinde (24, 48 ve 96 saat) ürettikleri postbiyotiklerin normal, iki kat ve dört kat yoğunlaştırılmış formlarının toplam titre edilebilir organik asit (laktik asit cinsinden) miktarını, pH değerini ve in vitro şartlarda bazı gıda patojenleri (*Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157, Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* ve *Brucella melitensis*) üzerine antimikrobiyal etkilerini ortaya koymak amacıyla yürütülmüştür.

## Gereç ve Yöntem

### Çalışmada kullanılan laktik asit ve patojen bakteri suşları

Çalışmada kullanılan LAB suşları, referans kodları ve fermantasyon tipleri Tablo 1'de verilmiştir. Chr. Hansen firması tarafından üretilen Bactoferm™ B-LC-78 ticari kültürü liyofilize halde *Pediococcus acidilactici* ve *Staphylococcus carnosus* suşları; Bactoferm™ B-FM ticari kültürü ise *Lactobacillus sakei* ve *Staphylococcus xylosus* suşları içermektedir. Bu ticari kültürler ayrı ayrı De Man Rogosa and Sharpe Broth (MRS Broth) besiyerinde 30°C'de 20 saat inkübe (Mommert, Germany) edilerek aktive edildi. Aktivasyonun ardından MRS Agar'a çizim yapıldı ve gelişen kolonilerden gram boyama yapıldı. Kok ve basil

morfolojiye sahip olanlar *P. acidilactici* ve *L. sakei* olarak izole edilerek çalışmada kullanıldı.

Çalışmada, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Laboratuvarı koleksiyonunda bulunan üç adet *Salmonella* spp. (*Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 ve NCTC 12416), üç adet *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644, 13932 ve 19111), üç adet *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC

43890, 43895 ve 35150), bir adet metisilin-dirençli *Staphylococcus aureus* (ATCC 33591) ve saha izolatu olan iki adet *Brucella melitensis* tip III suşu (Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü (İstanbul, Türkiye) ve Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji anabilim dalından sağlanmıştır) patojen bakteri olarak kullanılmıştır.

**Tablo 1:** Çalışmada kullanılan laktik asit bakterileri

Laktik asit bakterisi	Kod	Glikoz fermentasyon tipi*
<i>L. plantarum</i>	Bioferm DSMZ 16627	Fakültatif heterofermentatif
<i>L. curvatus</i>	Bactoferm™ B-LC-48	Fakültatif heterofermentatif
<i>L. sakei</i>	Bactoferm™ B-FM	Fakültatif heterofermentatif
<i>L. paracasei</i>	ATCC 11974	Fakültatif heterofermentatif
<i>L. rhamnosus</i>	ATCC 7469	Fakültatif heterofermentatif
<i>L. fermentum</i>	ATCC 9368	Zorunlu heterofermentatif
<i>L. reuteri</i>	DSM 17938, Biogaia®	Zorunlu heterofermentatif
<i>P. acidilactici</i>	Bactoferm™ B-LC-78	Zorunlu homofermentatif
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	ATCC 11842	Zorunlu homofermentatif

\*: LAB'ın glikoz fermentasyon özellikleri De Angelis ve Gobbetti (2011) kaynağından alınmıştır.

### Laktik asit bakteri postbiyotiklerinin eldesi ve evaporasyon ile konsantre edilmesi

Çalışmada kullanılan LAB'ların her biri MRS Broth besiyerinde 30 °C'de 24, 48 ve 96 saat geliştirildi. İnkübasyon sonunda besiyerleri 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatantları elde edildi. Elde edilen süpernatantların (postbiyotik ürünler) su kısmı evaporasyon (60 °C'de, 0.75 atm basınçta) ile %50 ve %75 oranında uçurularak 2x ve 4x yoğunlukta postbiyotik ürünler elde edildi. Yoğunlaştırılmamış (x), 2x ve 4x yoğunlukta elde edilen postbiyotikler 0.22 mikron gözenekli filtreden geçirilerek steril edildi (İncili ve ark. 2022a).

### Postbiyotiklerin pH ve titre edilebilir asitlik değerlerinin ölçülmesi

Postbiyotiklerin pH değerleri dijital pH metre (HI 2211, Hanna Instruments, USA) kullanılarak ölçüldü. Postbiyotiklerin içerdikleri titre edilebilir asit miktarlarının ölçümü için, 5 ml postbiyotik içerisine 0.25 ml fenolftalein indikatörü ilave edildi ve 0.25 N NaOH (Merck, Emplura, Darmstadt, Germany) ile pembe renk oluşumu gözleninceye kadar titrasyon yapıldı. Titrasyon işlemi harcanan 0.25 N NaOH miktarı 20 ile çarpıldı, böylece 100 ml postbiyotik için harcanan NaOH miktarı tespit edildi. Elde edilen sonuç

0.0225 katsayısı ile çarpılarak çıkan sonuç % g laktik asit olarak kaydedildi (Serter ve ark. 2024).

### Patojen bakterilerin hazırlanması ve Agar kuyucuk difüzyon testi

Her bir patojen bakteri suşu Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerinde 35 °C'de 18-20 saat ayrı ayrı çoğaltıldı. İnkübasyon sonunda bakteri kültürü içeren tüpler soğutmalı santrifüjde 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldıktan sonra kalan bakteri peleti 10 ml steril maximum recovery diluent (MRD) içerisinde çözündürüldü ve tekrar santrifüj edilerek metabolit ürünlerden arındırıldı. Her bir bakteri peleti 10 ml steril MRD içerisinde çözündürüldükten sonra patojen süspansiyonları elde edildi. Üç farklı *Salmonella* suşundan elde edilen süspansiyonlardan 1'er ml alınarak ayrı bir steril tüpte birleştirildi ve tüp steril MRD ile 10 ml'ye tamamlanarak *Salmonella* spp. bakteri miksi hazırlandı. Aynı işlem *L. monocytogenes*, *E. coli* O157 ve *B. melitensis* bakterileri için de tekrarlandı. Hazırlanan bakteri solüsyonlarından 1 ml alındı ve ml'sinde yaklaşık 10<sup>6</sup> civarında bakteri olacak şekilde dilue edildi. Mililitresinde yaklaşık 10<sup>6</sup> bakteri içeren her bir solüsyondan 1 ml alınarak plaklara ilave edildi ve üzerine Muller Hinton Agar (MHA) eklendi. Besiyerinin katılaşmasından sonra agar üzerinde belirli yerlere steril pipetin küt ucu

yardımla 8 mm çapında kuyucuklar açıldı. Bu kuyucukların her birine daha önce hazırlanmış olan steril LAB postbiyotiklerinden 150 µl olacak şekilde ilave edildi ve plaklar 35 °C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Kontrol kuyucuğuna 150 µl steril distile su konuldu. Inkübasyon sonunda kuyucukların çevresinde oluşan inhibisyon zon çapları milimetre biriminden ölçülerek postbiyotiklerin antimikrobiyal etkinlikleri değerlendirildi (Serter ve ark. 2024).

Postbiyotiklerin antimikrobiyal etkilerinin içerdikleri organik asitlerden mi yoksa içerdikleri diğer bileşiklerden mi kaynaklandığını anlamak için postbiyotiklerin pH'ları 5 N NaOH solusyonu ile pH 6.0'a ayarlandı. pH değerleri 6.0'a ayarlanan postbiyotikler yukarıda anlatıldığı şekilde agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle patojen bakterilere karşı denenerek inhibisyon zonu oluşturup oluşturmadıkları gözlemlendi (Serter ve ark. 2024).

## İstatistiksel analiz

Çalışmanın tüm aşamaları üç tekrar olacak şekilde gerçekleştirildi. Her bir LAB postbiyotığının pH, titre edilebilir asit miktarları ve patojen bakterilere karşı agar kuyucukta oluşturdukları inhibisyon zon çapları *çalışma tekrarı × inkübasyon süresi × postbiyotik konsantrasyonu* olacak şekilde ana etkiler ve değişkenler arası interaksiyonlar yönünden varyans analizine (ANOVA) tabii tutuldu. İstatistiksel önem seviyesi  $p < 0.05$  olarak belirlendi.

## Bulgular

MRS Broth'da farklı sürelerde (24, 48 ve 96 saat) inkübe edilen LAB'lerden elde edilen farklı konsantrasyonlardaki (*x*, *2x* ve *4x*) postbiyotiklerin pH değerleri, laktik asit cinsinden titre edilebilir asit miktarları ve gıda patojenleri üzerine agar kuyucuk yöntemi ile göstermiş oldukları inhibisyon zon çapları Tablo 2-4'de verilmiştir.

LAB postbiyotiklerinin pH değerleri incelendiğinde, bakterilerin inkübasyon süresinin 24 saatten 48 veya 96 saate kadar uzatılmasının postbiyotiklerin pH değerlerinde önemli bir değişiklik meydana getirmediği görüldü ( $p > 0.05$ ). Ayrıca, elde edilen postbiyotikler iki veya dört kat yoğunlaştırıldıklarında da pH değerlerinde önemli bir değişim gözlemlenmedi ( $p > 0.05$ ). Postbiyotiklerin pH değerleri bakteri türlerine göre değişiklik göstermesine rağmen birbirlerine yakın değerlerdeydi. Yoğunlaştırılmamış postbiyotikler arasında en düşük pH değerine 96 saat inkübasyona bırakılmış *L. curvatus* bakterisi (pH 3.69) sahipken (Tablo 2), *2x* ve *4x* postbiyotiklerde

en düşük pH değerine 96 saat inkübasyona bırakılmış *L. sakei* bakterisinin (sırasıyla pH 3.64 ve 3.61) sahip olduğu görüldü (Tablo 2). Postbiyotikler arasında (*x*, *2x*, *4x*) en yüksek pH değerine ise inkübasyon süresinden bağımsız olarak *L. rhamnosus* bakterisinin sahip olduğu görüldü (sırasıyla pH 4.12, 4.08 ve 4.05) (Tablo 4).

LAB'ların inkübasyon süreleri 24 saatten 48 veya 96 saate uzatıldığında yoğunlaştırılmamış postbiyotiklerin titre edilebilir asit oranlarında önemli bir artış gözlemlenmedi ( $p > 0.05$ ). Ancak, *L. sakei* (Tablo 2) ve *L. reuteri 2x* postbiyotiklerinin inkübasyon süresinin artmasına paralel olarak içerdikleri titre edilebilir asit miktarlarının da önemli derecede artış olduğu tespit edildi ( $p < 0.05$ ) (Tablo 4). Benzer şekilde, *L. rhamnosus* ve *L. reuteri 4x* postbiyotiklerinde inkübasyon süreleri uzadıkça titre edilebilir asit miktarında önemli artış gözlemlendi ( $p < 0.05$ ) (Tablo 4). Yoğunlaştırılmamış postbiyotikler arasında en düşük titre edilebilir asit miktarına %1.41 ile 24 saat inkübe edilen *L. rhamnosus* postbiyotiği sahipken (Tablo 4), en yüksek asit içeriğine %2.19 ile 48 ve 96 saat inkübe edilen *L. plantarum* ve *L. sakei* (Tablo 2) postbiyotiğinin sahip olduğu görüldü. *2x* ve *4x* postbiyotikler arasında düşük asit içeriğine 24 saat inkübe edilen *L. reuteri* postbiyotiğinin (*2x* için %2.1 ve *4x* için %4.11), en yüksek asit içeriğine de *2x* postbiyotiklerde 96 saat inkübe edilen *L. sakei* (%3.66), *4x* postbiyotiklerde de *L. plantarum*'un (%7.08) sahip olduğu tespit edildi.

*Salmonella* spp. üzerine en güçlü antimikrobiyal etkiyi *x* ve *2x* postbiyotiklerde sırasıyla 96 ve 24 saat inkübasyona bırakılmış *L. curvatus* (23.7 ve 28.7 mm) gösterirken (Tablo 2), *4x* postbiyotiklerde en güçlü antimikrobiyal etkiyi 29.3 mm zon çaplarıyla 48 saat inkübe edilmiş *L. curvatus* (Tablo 2) ve *L. sakei* (Tablo 2) postbiyotikleri gösterdi (Tablo 3). *L. rhamnosus* ve *L. reuteri* (Tablo 4) suşları MRS Broth içerisinde 24 saatten 96 saate kadar inkübe edildiklerinde *Salmonella* spp. üzerine gösterdikleri inhibisyon zonlarında önemli bir artış gözlemlenmedi ( $p > 0.05$ ). Benzer şekilde, *L. curvatus*'un *2x* yoğunlaştırılmış postbiyotiği hariç (Tablo 2), çalışmadaki diğer LAB'ların MRS Broth'daki inkübasyon süreleri uzamasına rağmen *Salmonella* spp. üzerine oluşturdukları inhibisyon zonlarında bir artış gözlemlenmedi ( $p > 0.05$ ).

LAB'ların (*P. acidilactici*'nin *4x* postbiyotiği hariç) inkübasyon süreleri 24 saatten 48 veya 96 saate uzatılmasına rağmen *L. monocytogenes* üzerine antimikrobiyal etkileri arasında farklılık gözlemlenmedi ( $p > 0.05$ ). Yoğunlaştırılmamış postbiyotikler arasında *L. monocytogenes* üzerine en zayıf etkiyi 48 saat inkübe edilmiş *L. fermentum* (17.7 mm) (Tablo 3), en güçlü etkiyi ise 48 saat inkübe edilmiş *L. curva-*

tus (22.0 mm) postbiyotığının gösterdiği görüldü ( $p<0.05$ ) (Tablo 2). 2x ve 4x postbiyotikler arasında *L. monocytogenes* üzerine en güçlü antimikrobiyal etkiyi sırasıyla 24 mm ve 29 mm inhibisyon zon çapıyla 24 saat inkübe edilmiş *L. plantarum* postbiyotikleri gösterdi (Tablo 2).

*E. coli* O157 üzerine en güçlü antimikrobiyal etkiyi yoğunlaştırılmamış postbiyotikler arasında 96 saat inkübe edilmiş *L. plantarum* (22.7) (Tablo 2), 2x postbiyotikler arasında ise 96 saat inkübe edilmiş *P. acidilactici* (24.7 mm) postbiyotığı gösterdi (Tablo 3). *P. acidilactici*'nin 4x postbiyotığı hariç, diğer LAB'ların inkübasyon süreleri 24 saatten 96 saate uzatılmasına rağmen *E. coli* O157 üzerine antimikrobiyal etkileri arasında farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ). Postbiyotiklerden 4x grubunda hepsinin *E. coli* O157 üzerine etkilerinin arttığı, en güçlü etkiyi ise 30 mm zon

çapı ile 96 saat inkübe edilmiş *L. plantarum* postbiyotığının oluşturduğu görüldü.

Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) üzerine en güçlü antimikrobiyal etkiyi x ve 4x postbiyotikler arasında MRS Broth'da 24 saat inkübe edilmiş *L. plantarum* (sırasıyla 22.7 ve 30.7 mm) gösterirken, 2x postbiyotiklerde yine 96 saat inkübe edilmiş *L. plantarum* postbiyotığı (25.0 mm) göstermiştir (Tablo 2). 4x postbiyotiklerin hepsinde antibakteriyel etkinlikte artış belirlendi. Ancak bu artışlar bazı LAB'larda istatistiksel olarak önemli iken bazılarında önemsiz seviyede gözlemlendi. Özellikle *L. plantarum* ve *L. sakei*'den elde edilen 4x postbiyotiklerin MRSA üzerine en güçlü etkiyi gösterdikleri tespit edildi. *P. acidilactici*'nin 4x postbiyotığı hariç (Tablo 3), diğer LAB'ların inkübasyon süreleri 24 saatten 96 saate uzatılmasına rağmen MRSA üzerine antimikrobiyal etkileri arasında farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ).

**Tablo 2:** MRS Broth içerisinde farklı sürelerde inkübe edilen *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *L. sakei*'den elde edilen postbiyotiklerin iki (2x) ile dört kat (4x) yoğunlaştırılmasından sonra sahip olduğu pH, titre edilebilir asit miktarı (%g laktik asit cinsinden) ve agar kuyucuk yönteminde patojen bakteriler üzerine gösterdikleri inhibisyon zon çapları (mm)

	Postbiyotik yoğunluğu	<i>L. plantarum</i>			<i>L. curvatus</i>			<i>L. sakei</i>		
		İnkübasyon süresi (saat)			İnkübasyon süresi (saat)			İnkübasyon süresi (saat)		
		24	48	96	24	48	96	24	48	96
pH	x	3.83±0.11	3.72±0.08	3.74±0.12	3.90±0.16	3.73±0.05	3.69±0.12	3.94±0.17	3.77±0.09	3.74±0.06
	2x	3.87±0.06	3.75±0.14	3.76±0.06	3.88±0.08	3.86±0.09	3.75±0.05	3.83±0.06	3.75±0.09	3.64±0.04
	4x	3.80±0.07	3.67±0.11	3.67±0.04	3.83±0.12	3.71±0.08	3.62±0.11	3.68±0.11	3.73±0.09	3.61±0.15
Titre edilebilir asitlik	x	1.97 <sup>a</sup> ±0.02	2.19 <sup>a</sup> ±0.10	2.19 <sup>a</sup> ±0.14	1.77 <sup>a</sup> ±0.14	2.16 <sup>a</sup> ±0.16	2.16 <sup>a</sup> ±0.09	1.86 <sup>a</sup> ±0.14	2.19 <sup>a</sup> ±0.14	2.19 <sup>a</sup> ±0.10
	2x	3.63 <sup>y</sup> ±0.14	3.62 <sup>y</sup> ±0.11	3.63 <sup>y</sup> ±0.19	3.33 <sup>y</sup> ±0.24	3.36 <sup>y</sup> ±0.10	3.59 <sup>y</sup> ±0.10	3.30 <sup>Av</sup> ±0.09	3.45 <sup>By</sup> ±0.14	3.66 <sup>By</sup> ±0.19
	4x	6.78 <sup>a</sup> ±0.65	7.05 <sup>a</sup> ±0.53	7.08 <sup>a</sup> ±0.29	6.21 <sup>a</sup> ±0.59	6.78 <sup>a</sup> ±0.43	6.98 <sup>a</sup> ±0.12	6.56 <sup>a</sup> ±0.31	6.87 <sup>a</sup> ±0.32	6.93 <sup>a</sup> ±0.24
Patojen bakteriler		İnhibisyon zon çapları			İnhibisyon zon çapları			İnhibisyon zon çapları		
<i>Salmonella</i> spp.	x	21.7 <sup>a</sup> ±1.5	20.3 <sup>a</sup> ±2.1	23.3 <sup>a</sup> ±2.0	21.0 <sup>a</sup> ±1.0	22.0 <sup>a</sup> ±2.5	23.7 <sup>ay</sup> ±2.0	20.7 <sup>a</sup> ±2.1	21.7 <sup>a</sup> ±1.0	20.9 <sup>a</sup> ±1.0
	2x	26.3 <sup>y</sup> ±1.5	22.3 <sup>y</sup> ±2.3	27.3 <sup>y</sup> ±2.3	28.7 <sup>ay</sup> ±1.9	24.7 <sup>ABx</sup> ±1.7	21.7 <sup>Bx</sup> ±1.1	24.7 <sup>y</sup> ±2.1	24.7 <sup>a</sup> ±1.9	22.0 <sup>a</sup> ±1.7
	4x	27.4 <sup>y</sup> ±1.9	26.3 <sup>y</sup> ±2.1	28.3 <sup>y</sup> ±0.6	27.7 <sup>y</sup> ±0.6	29.3 <sup>y</sup> ±1.1	27.0 <sup>y</sup> ±0.1	29.0 <sup>a</sup> ±1.0	29.3 <sup>y</sup> ±0.6	27.0 <sup>y</sup> ±1.0
<i>L. monocytogenes</i>	x	20.7 <sup>a</sup> ±2.1	20.7 <sup>a</sup> ±1.5	20.0 <sup>a</sup> ±1.0	19.3 <sup>a</sup> ±2.0	22.0 <sup>a</sup> ±1.0	19.7 <sup>a</sup> ±1.5	20.7 <sup>a</sup> ±1.2	20.7 <sup>a</sup> ±1.2	20.7 <sup>a</sup> ±1.5
	2x	24.0 <sup>a</sup> ±1.7	23.3 <sup>y</sup> ±1.5	23.7 <sup>y</sup> ±1.2	21.7 <sup>y</sup> ±1.5	22.7 <sup>a</sup> ±0.6	22.7 <sup>a</sup> ±0.6	24.0 <sup>a</sup> ±1.5	23.7 <sup>a</sup> ±1.2	23.0 <sup>y</sup> ±2.0
	4x	29.0 <sup>a</sup> ±1.0	26.7 <sup>a</sup> ±2.1	28.7 <sup>a</sup> ±1.5	25.3 <sup>y</sup> ±0.6	27.3 <sup>y</sup> ±1.5	27.3 <sup>y</sup> ±1.5	25.3 <sup>y</sup> ±1.2	23.3 <sup>a</sup> ±1.2	26.3 <sup>y</sup> ±1.5
<i>E. coli</i> O157	x	21.0 <sup>a</sup> ±1.5	22.6 <sup>a</sup> ±2.1	22.7 <sup>a</sup> ±2.1	21.0 <sup>a</sup> ±1.6	21.7 <sup>a</sup> ±0.6	21.0 <sup>a</sup> ±2.0	21.3 <sup>a</sup> ±2.3	22.3 <sup>a</sup> ±1.2	21.7 <sup>a</sup> ±1.5
	2x	20.0 <sup>a</sup> ±1.0	21.3 <sup>a</sup> ±2.3	23.7 <sup>a</sup> ±0.6	20.7 <sup>a</sup> ±2.1	22.0 <sup>a</sup> ±1.0	19.3 <sup>a</sup> ±1.5	22.7 <sup>a</sup> ±2.1	22.3 <sup>a</sup> ±1.5	21.7 <sup>a</sup> ±0.6
	4x	27.7 <sup>a</sup> ±1.2	27.0 <sup>a</sup> ±2.6	30.0 <sup>y</sup> ±1.0	26.7 <sup>y</sup> ±1.5	29.0 <sup>y</sup> ±1.0	26.3 <sup>y</sup> ±1.5	25.7 <sup>a</sup> ±1.5	26.7 <sup>y</sup> ±1.6	27.0 <sup>y</sup> ±1.0
<i>S. aureus</i> *	x	22.7 <sup>a</sup> ±1.2	20.0 <sup>a</sup> ±2.0	21.3 <sup>a</sup> ±2.1	20.3 <sup>a</sup> ±0.6	20.3 <sup>a</sup> ±2.5	21.3 <sup>a</sup> ±2.1	19.7 <sup>a</sup> ±1.5	22.0 <sup>a</sup> ±1.0	22.3 <sup>a</sup> ±1.2
	2x	22.7 <sup>a</sup> ±1.2	21.3 <sup>a</sup> ±0.6	25.0 <sup>y</sup> ±1.0	23.3 <sup>y</sup> ±2.3	23.3 <sup>a</sup> ±1.5	23.7 <sup>y</sup> ±0.6	22.7 <sup>y</sup> ±1.2	23.7 <sup>a</sup> ±1.2	22.3 <sup>y</sup> ±2.3
	4x	30.7 <sup>y</sup> ±1.2	26.3 <sup>y</sup> ±1.2	29.3 <sup>y</sup> ±3.0	23.7 <sup>y</sup> ±0.6	25.0 <sup>a</sup> ±2.0	27.7 <sup>y</sup> ±2.5	26.3 <sup>y</sup> ±2.1	26.7 <sup>y</sup> ±1.5	29.3 <sup>y</sup> ±2.1
<i>B. melitensis</i>	x	19.0 <sup>a</sup> ±1.0	21.0 <sup>y</sup> ±2.0	18.7 <sup>a</sup> ±0.6	19.7 <sup>a</sup> ±0.6	19.3 <sup>a</sup> ±1.2	20.3 <sup>a</sup> ±2.5	20.7 <sup>a</sup> ±2.1	18.7 <sup>a</sup> ±1.5	20.3 <sup>a</sup> ±1.5
	2x	24.0 <sup>y</sup> ±1.7	19.3 <sup>a</sup> ±1.2	20.0 <sup>a</sup> ±2.6	22.7 <sup>y</sup> ±1.5	20.0 <sup>a</sup> ±1.7	21.3 <sup>y</sup> ±0.6	18.7 <sup>a</sup> ±0.6	20.0 <sup>a</sup> ±1.7	19.3 <sup>a</sup> ±1.2
	4x	25.7 <sup>y</sup> ±1.2	23.6 <sup>y</sup> ±0.6	27.3 <sup>y</sup> ±1.2	22.7 <sup>y</sup> ±0.6	24.0 <sup>y</sup> ±2.5	24.0 <sup>y</sup> ±1.7	24.0 <sup>y</sup> ±1.7	25.7 <sup>y</sup> ±2.3	26.7 <sup>y</sup> ±1.8

Her bir patojen bakteri kendi içerisinde değerlendirilmiştir. <sup>a-z</sup>: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar farklıdır ( $P<0.05$ ).

<sup>A-B</sup>: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar farklıdır ( $P<0.05$ ). \*metisilin dirençli *S. aureus*

**Tablo 3.** MRS Broth içerisinde farklı sürelerde inkübe edilen *P. acidilactici*, *L. fermentum* ve *L. delburueckii*'den elde edilen postbiyotiklerin iki (2x) ile dört kat (4x) yoğunlaştırılmasından sonra sahip olduğu pH, titre edilebilir asit miktarı (%g laktik asit cinsinden) ve agar kuyucuk yönteminde patojen bakteriler üzerine gösterdikleri inhibisyon zon çapları (mm)

	Postbiyotik yoğunluğu	<i>P. acidilactici</i>			<i>L. fermentum</i>			<i>L. delburueckii</i>			
		İnkübasyon süresi (saat)			İnkübasyon süresi (saat)			İnkübasyon süresi (saat)			
		24	48	96	24	48	96	24	48	96	
pH	x	3.96±0.10	3.87±0.08	3.83±0.11	4.10±0.05	4.04±0.12	4.10±0.07	3.99±0.10	3.94±0.14	3.92±0.11	
	2x	3.93±0.10	3.84±0.12	3.82±0.12	4.03±0.07	3.99±0.12	4.03±0.15	3.97±0.12	3.90±0.17	3.87±0.10	
	4x	3.77±0.15	3.80±0.09	3.77±0.15	3.94±0.06	3.92±0.08	3.89±0.10	3.93±0.07	3.85±0.09	3.81±0.13	
Titre edilebilir asitlik	x	1.74 <sup>a</sup> ±0.27	1.98 <sup>a</sup> ±0.18	1.95 <sup>a</sup> ±0.21	1.50 <sup>a</sup> ±0.14	1.71 <sup>a</sup> ±0.16	1.68 <sup>a</sup> ±0.05	1.65 <sup>a</sup> ±0.05	1.80 <sup>a</sup> ±0.18	1.80 <sup>a</sup> ±0.09	
	2x	3.21 <sup>y</sup> ±0.14	3.33 <sup>y</sup> ±0.18	3.42 <sup>y</sup> ±0.09	2.79 <sup>y</sup> ±0.16	2.94 <sup>y</sup> ±0.19	2.76 <sup>y</sup> ±0.14	2.97 <sup>y</sup> ±0.16	3.09 <sup>y</sup> ±0.27	3.09 <sup>y</sup> ±0.19	
	4x	6.33 <sup>z</sup> ±0.19	6.30 <sup>z</sup> ±0.27	6.45 <sup>z</sup> ±0.36	5.49 <sup>z</sup> ±0.24	5.34 <sup>z</sup> ±0.19	5.31 <sup>z</sup> ±0.18	5.52 <sup>z</sup> ±0.19	5.67 <sup>z</sup> ±0.24	5.88 <sup>z</sup> ±0.19	
Patojen bakteriler		İnhibisyon zon çapları			İnhibisyon zon çapları			İnhibisyon zon çapları			
	<i>Salmonella</i> spp.	x	20.0 <sup>a</sup> ±2.1	21.7 <sup>a</sup> ±2.1	22.7 <sup>a</sup> ±0.6	17.3 <sup>a</sup> ±1.1	18.0±2.0	20.0±2.0	19.7 <sup>a</sup> ±2.1	19.0 <sup>a</sup> ±1.7	20.0 <sup>a</sup> ±0.6
		2x	24.0 <sup>a</sup> ±1.7	23.0 <sup>y</sup> ±2.0	20.7 <sup>a</sup> ±0.6	19.7 <sup>y</sup> ±0.6	20.0±1.2	20.0±0.6	18.7 <sup>a</sup> ±0.6	20.0 <sup>a</sup> ±1.5	22.0 <sup>y</sup> ±2.1
4x		24.0 <sup>a</sup> ±2.3	28.0 <sup>y</sup> ±1.7	26.0 <sup>y</sup> ±1.5	22.7 <sup>y</sup> ±2.5	22.0±1.7	22.0±2.0	27.0 <sup>y</sup> ±2.0	23.0 <sup>a</sup> ±2.3	25.0 <sup>y</sup> ±0.6	
<i>L. monocytogenes</i>	x	21.3 <sup>a</sup> ±2.2	21.0 <sup>a</sup> ±1.7	20.3 <sup>a</sup> ±1.8	18.7 <sup>a</sup> ±2.1	17.7 <sup>a</sup> ±1.5	18.7 <sup>a</sup> ±0.6	20.0 <sup>a</sup> ±1.0	19.0 <sup>a</sup> ±1.0	19.7 <sup>a</sup> ±2.1	
	2x	23.3 <sup>a</sup> ±1.5	23.0 <sup>a</sup> ±2.0	23.3 <sup>a</sup> ±1.5	20.0 <sup>a</sup> ±2.0	20.7 <sup>y</sup> ±2.1	20.7 <sup>y</sup> ±1.5	19.7 <sup>a</sup> ±2.1	20.0 <sup>a</sup> ±1.0	20.7 <sup>y</sup> ±2.3	
	4x	23.3 <sup>Bx</sup> ±1.2	24.3 <sup>Bx</sup> ±0.6	28.9 <sup>y</sup> ±0.6	23.7 <sup>a</sup> ±2.1	23.3 <sup>y</sup> ±2.0	23.3 <sup>y</sup> ±1.2	23.7 <sup>a</sup> ±2.1	23.7 <sup>y</sup> ±0.6	24.7 <sup>y</sup> ±0.6	
<i>E. coli</i> O157	x	20.3 <sup>a</sup> ±2.5	19.0 <sup>a</sup> ±1.0	22.0 <sup>a</sup> ±1.0	18.7±1.2	19.3±1.2	18.7±1.2	20.3 <sup>a</sup> ±2.5	17.0 <sup>a</sup> ±1.0	19.0 <sup>a</sup> ±1.7	
	2x	24.3 <sup>a</sup> ±1.2	21.3 <sup>a</sup> ±1.5	24.7 <sup>a</sup> ±2.1	18.7±1.2	18.3±0.6	17.7±0.6	19.3 <sup>a</sup> ±1.5	21.0 <sup>a</sup> ±1.0	19.3 <sup>a</sup> ±0.6	
	4x	24.7 <sup>ABx</sup> ±2.1	22.3 <sup>Bx</sup> ±2.3	28.7 <sup>y</sup> ±0.6	21.7±2.1	21.3±2.3	22.3±2.5	21.7 <sup>a</sup> ±1.5	23.7 <sup>y</sup> ±1.2	23.0 <sup>a</sup> ±1.0	
<i>S. aureus</i> *	x	19.0 <sup>a</sup> ±1.0	19.7 <sup>a</sup> ±1.5	21.0 <sup>a</sup> ±1.0	18.3 <sup>a</sup> ±0.6	18.3 <sup>a</sup> ±1.5	19.0 <sup>a</sup> ±1.0	17.3 <sup>a</sup> ±2.1	18.3 <sup>a</sup> ±0.6	19.7 <sup>a</sup> ±0.6	
	2x	21.7 <sup>y</sup> ±0.6	24.0 <sup>y</sup> ±1.0	22.7 <sup>a</sup> ±2.1	17.3 <sup>a</sup> ±0.6	19.0 <sup>a</sup> ±1.0	19.3 <sup>a</sup> ±2.3	16.7 <sup>Bx</sup> ±1.5	23.0 <sup>y</sup> ±2.0	19.7 <sup>ABx</sup> ±0.6	
	4x	24.3 <sup>ABz</sup> ±1.2	22.3 <sup>Bzy</sup> ±2.1	28.7 <sup>y</sup> ±1.5	23.3 <sup>y</sup> ±2.3	23.7 <sup>y</sup> ±1.2	22.0 <sup>a</sup> ±2.0	23.3 <sup>y</sup> ±2.1	24.0 <sup>y</sup> ±1.7	23.7 <sup>y</sup> ±1.5	
<i>B. melitensis</i>	x	19.3 <sup>a</sup> ±2.3	19.0 <sup>a</sup> ±1.0	19.7 <sup>a</sup> ±1.5	17.3 <sup>a</sup> ±0.6	17.7 <sup>a</sup> ±0.6	17.0 <sup>a</sup> ±1.7	17.7 <sup>a</sup> ±0.6	19.7 <sup>y</sup> ±2.5	17.3 <sup>a</sup> ±0.6	
	2x	20.3 <sup>a</sup> ±2.5	22.0 <sup>y</sup> ±1.7	20.7 <sup>a</sup> ±1.2	17.7 <sup>a</sup> ±1.2	17.7 <sup>a</sup> ±0.6	18.7 <sup>y</sup> ±1.2	18.0 <sup>a</sup> ±0.0	19.3 <sup>a</sup> ±1.2	17.3 <sup>a</sup> ±1.2	
	4x	22.0 <sup>a</sup> ±1.7	24.0 <sup>y</sup> ±1.7	24.3 <sup>y</sup> ±0.6	23.7 <sup>y</sup> ±0.6	20.0 <sup>ABy</sup> ±2.0	20.7 <sup>By</sup> ±1.2	23.7 <sup>y</sup> ±1.2	22.0 <sup>a</sup> ±1.7	21.3 <sup>y</sup> ±1.5	

Her bir patojen bakteri kendi içerisinde değerlendirilmiştir. <sup>a-z</sup>: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar farklıdır (P<0.05).

<sup>A-B</sup>: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar farklıdır (P<0.05).\*metisilin dirençli *S. aureus*

*B. melitensis* üzerine yoğunlaştırılmamış postbiyotikler arasında en zayıf etkiyi 48 saat inkübe edilmiş *L. reuteri* (16.3 mm) (Tablo 4), en güçlü etkiyi ise 48 saat inkübe edilmiş *L. plantarum* (21.0 mm) postbiyotiklerinin gösterdiği görüldü (p<0.05) (Tablo 2). 2x postbiyotikler arasında en güçlü antimikrobiyal etki 24 saat inkübe edilmiş *L. plantarum* postbiyotiklerinde (24 mm), yine 4x postbiyotikler arasında da 96 saat inkübe edilmiş *L. plantarum* postbiyotiklerinde (27.3 mm) görüldü. *L. reuteri*'nin 4x postbiyotikliği hariç (Tablo 3), diğer LAB'ların inkübasyon süreleri 24 saatten 96 saate uzatılmasına rağmen *B. melitensis* üzerine antimikrobiyal etkileri arasında farklılık görülmedi (p>0.05).

Postbiyotiklerin içerdikleri asit 5N NaOH ile nötralize edildikten sonra tekrar MHA'da yapılan agar kuyucuk testlerinde patojen mikroorganizma-

lara karşı kuyucuklar çevresinde zon tespit edilmedi (veri gösterilmedi). Dolayısıyla postbiyotiklerin sergiledikleri antimikrobiyal etkinin içerdikleri organik asitlerden kaynaklandığı kanaatine varıldı.

## Tartışma ve Sonuç

Organik asitler postbiyotikler içerisindeki en önemli antimikrobiyal etkiye sahip bileşikler olarak bilinir. LAB'lar, MRS Broth besiyerinde gelişimleri esnasında besiyeri içerisindeki glikozu (20 g/L) kullanarak organik asit üretirler (Zalán ve ark. 2010). Organik asitler ortamın pH değerini önemli ölçüde düşürerek patojenleri inhibe eder (Mani-López ve ark. 2012). Mevcut çalışmada, kullanılan LAB'lara bireysel olarak bakıldığında MRS Broth içerisinde inkübasyon süreleri uzamasına (24, 48 ve 96 saat) rağmen postbiyotiklerinin pH değerleri arasında önemli

bir farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ) (Tablo 2-4). Örneğin, *L. plantarum* MRS Broth içerisinde 24, 48 ve 96 saat inkübe edildiğinde elde edilen postbiyotiklerin pH değerlerinin sırasıyla 3.83, 3.72 ve 3.74 olduğu (Tablo 2) ve aralarında önemli bir farklılık bulunmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ). Bu durumun kullanılan diğer

tüm LAB'lar için de geçerli olduğu görüldü. Ancak, postbiyotiklerin pH değerleri açısından bakteri türleri arasında farklılıklar olduğu ve genel olarak *L. fermentum*'dan elde edilen postbiyotiklerin pH değerinin diğer postbiyotiklerden daha yüksek olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ).

**Tablo 4:** MRS Broth içerisinde farklı sürelerde inkübe edilen *L. paracasei*, *L. rhamnosus* ve *L. reuterii*'den elde edilen postbiyotiklerin iki (2x) ile dört kat (4x) yoğunlaştırılmasından sonra sahip olduğu pH, titre edilebilir asit miktarı (% laktik asit cinsinden) ve agar kuyucuk yönteminde patojen bakteriler üzerine gösterdikleri inhibisyon zon çapları (mm)

Postbiyotik yoğunluğu	<i>L. paracasei</i>			<i>L. rhamnosus</i>			<i>L. reuterii</i>			
	İnkübasyon süresi (saat)			İnkübasyon süresi (saat)			İnkübasyon süresi (saat)			
	24	48	96	24	48	96	24	48	96	
pH	x	3.95±0.08	3.89±0.10	3.94±0.08	4.12±0.14	3.98±0.10	3.95±0.09	3.98±0.04	3.92±0.08	3.93±0.20
	2x	3.91±0.06	3.86±0.05	3.88±0.10	4.08±0.13	3.92±0.06	3.91±0.09	3.94±0.05	3.91±0.06	3.91±0.17
	4x	3.89±0.08	3.88±0.07	3.83±0.12	4.05±0.09	3.96±0.10	3.89±0.08	3.89±0.04	3.90±0.06	3.86±0.14
Titre edilebilir asitlik	x	1.83 <sup>a</sup> ±0.05	1.98 <sup>a</sup> ±0.16	1.74 <sup>a</sup> ±0.14	1.41 <sup>a</sup> ±0.14	1.65 <sup>a</sup> ±0.10	1.74 <sup>a</sup> ±0.19	1.59 <sup>a</sup> ±0.27	1.62 <sup>a</sup> ±0.16	1.80 <sup>a</sup> ±0.09
	2x	3.06 <sup>b</sup> ±0.09	3.45 <sup>b</sup> ±0.23	3.03 <sup>b</sup> ±0.29	2.88 <sup>b</sup> ±0.18	2.97 <sup>b</sup> ±0.18	2.88 <sup>b</sup> ±0.24	2.10 <sup>ab</sup> ±0.10	2.37 <sup>ab</sup> ±0.05	2.94 <sup>b</sup> ±0.19
	4x	5.73 <sup>c</sup> ±0.29	5.58 <sup>c</sup> ±0.24	5.89 <sup>c</sup> ±0.19	4.62 <sup>ab</sup> ±0.19	5.34 <sup>bc</sup> ±0.19	5.58 <sup>bc</sup> ±0.16	4.11 <sup>a</sup> ±0.10	4.71 <sup>ab</sup> ±0.29	5.46 <sup>bc</sup> ±0.23
Patojen bakteriler	İnhibisyon zon çapları			İnhibisyon zon çapları			İnhibisyon zon çapları			
<i>Salmonella</i> spp.	x	21.1 <sup>xy</sup> ±1.5	20.7 <sup>xy</sup> ±0.6	19.0 <sup>x</sup> ±1.0	19.3±2.0	19.7±0.6	18.7±2.3	19.3±1.5	20.7±2.1	20.3±0.6
	2x	18.7 <sup>x</sup> ±1.5	18.7 <sup>x</sup> ±1.5	23.7 <sup>xy</sup> ±1.5	19.7±0.6	22.0±1.0	23.0±2.5	20.7±0.6	21.0±2.0	22.3±2.1
	4x	23.0 <sup>y</sup> ±1.7	22.7 <sup>y</sup> ±2.1	22.7 <sup>y</sup> ±0.6	22.7±3.2	22.7±2.5	24.0±2.6	21.0±3.0	21.0±1.7	23.3±2.1
<i>L. monocytogenes</i>	x	19.0 <sup>x</sup> ±1.0	17.8 <sup>x</sup> ±1.5	19.3 <sup>x</sup> ±0.6	20.0 <sup>x</sup> ±1.6	18.7 <sup>x</sup> ±1.5	19.0 <sup>x</sup> ±2.0	19.0 <sup>x</sup> ±1.0	20.7 <sup>x</sup> ±1.9	19.3 <sup>x</sup> ±1.9
	2x	21.0 <sup>x</sup> ±2.0	20.5 <sup>xy</sup> ±2.1	23.3 <sup>xy</sup> ±2.1	20.3 <sup>x</sup> ±2.1	19.7 <sup>x</sup> ±0.6	19.0 <sup>x</sup> ±1.0	19.0 <sup>x</sup> ±1.0	19.7 <sup>x</sup> ±0.6	20.0 <sup>x</sup> ±2.0
	4x	24.3 <sup>y</sup> ±0.6	24.2 <sup>y</sup> ±1.5	24.7 <sup>y</sup> ±2.1	23.0 <sup>x</sup> ±2.0	25.0 <sup>y</sup> ±1.7	23.3 <sup>x</sup> ±2.5	22.3 <sup>y</sup> ±1.1	20.7 <sup>x</sup> ±1.1	23.3 <sup>x</sup> ±2.5
<i>E. coli</i> O157	x	18.3 <sup>x</sup> ±0.6	19.3 <sup>x</sup> ±1.2	19.0 <sup>x</sup> ±1.0	19.3 <sup>x</sup> ±2.5	19.7 <sup>x</sup> ±2.1	18.0 <sup>x</sup> ±0.0	20.3 <sup>x</sup> ±2.1	20.7 <sup>x</sup> ±2.1	19.3 <sup>x</sup> ±0.6
	2x	20.3 <sup>x</sup> ±0.6	17.0 <sup>x</sup> ±1.7	20.0 <sup>xy</sup> ±2.0	18.3 <sup>x</sup> ±1.2	17.0 <sup>x</sup> ±1.7	20.3 <sup>x</sup> ±0.6	19.0 <sup>x</sup> ±1.7	17.3 <sup>x</sup> ±1.2	21.0 <sup>x</sup> ±1.0
	4x	23.3 <sup>x</sup> ±1.5	24.7 <sup>y</sup> ±1.1	24.0 <sup>y</sup> ±1.7	22.0 <sup>x</sup> ±2.0	24.3 <sup>y</sup> ±1.5	24.0 <sup>x</sup> ±0.0	22.7 <sup>x</sup> ±2.1	19.3 <sup>x</sup> ±1.5	25.0 <sup>y</sup> ±1.7
<i>S. aureus</i> *	x	16.7 <sup>x</sup> ±0.6	19.3 <sup>x</sup> ±1.5	16.7 <sup>x</sup> ±2.1	17.0 <sup>x</sup> ±1.7	17.7 <sup>x</sup> ±1.2	18.7 <sup>x</sup> ±1.5	16.0 <sup>x</sup> ±1.0	18.0 <sup>x</sup> ±2.6	19.3 <sup>x</sup> ±0.6
	2x	15.3 <sup>x</sup> ±1.2	18.7 <sup>x</sup> ±1.5	19.0 <sup>xy</sup> ±2.6	16.7 <sup>x</sup> ±1.5	16.3 <sup>x</sup> ±0.6	18.3 <sup>x</sup> ±0.6	15.0 <sup>x</sup> ±1.0	18.0 <sup>x</sup> ±1.7	19.0 <sup>x</sup> ±1.0
	4x	24.7 <sup>y</sup> ±0.6	23.3 <sup>x</sup> ±2.3	23.7 <sup>y</sup> ±1.5	20.0 <sup>x</sup> ±2.0	23.0 <sup>y</sup> ±2.0	24.0 <sup>x</sup> ±2.6	21.7 <sup>y</sup> ±0.6	20.3 <sup>x</sup> ±2.5	24.7 <sup>y</sup> ±2.5
<i>B. melitensis</i>	x	17.3 <sup>x</sup> ±0.6	19.7 <sup>x</sup> ±2.5	17.3 <sup>x</sup> ±1.2	16.7 <sup>x</sup> ±1.2	19.0 <sup>x</sup> ±1.0	17.7 <sup>x</sup> ±0.6	16.7 <sup>x</sup> ±1.5	16.3 <sup>x</sup> ±1.5	18.7 <sup>x</sup> ±0.6
	2x	17.7 <sup>x</sup> ±0.6	19.3 <sup>x</sup> ±1.2	19.3 <sup>xy</sup> ±0.6	18.3 <sup>xy</sup> ±2.5	18.7 <sup>x</sup> ±1.2	20.3 <sup>x</sup> ±1.5	16.7 <sup>x</sup> ±1.5	19.3 <sup>x</sup> ±1.5	18.3 <sup>x</sup> ±1.2
	4x	23.7 <sup>y</sup> ±1.2	24.0 <sup>y</sup> ±1.0	22.3 <sup>y</sup> ±0.6	20.7 <sup>y</sup> ±1.5	22.3 <sup>x</sup> ±2.0	24.0 <sup>x</sup> ±2.0	19.3 <sup>ax</sup> ±1.2	20.7 <sup>ab</sup> ±0.6	23.3 <sup>by</sup> ±1.5

Her bir patojen bakteri kendi içerisinde değerlendirilmiştir. \*x-z: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar farklıdır ( $P<0.05$ ).

<sup>a-b</sup>: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ortalamalar farklıdır ( $P<0.05$ ). \*metisilin dirençli *S. aureus*

Postbiyotiklerin karakteristikleri elde edildikleri bakteri türlerine ve bakterilerin geliştiği kültür ortamına göre değişkenlik göstermektedir (Moradi ve ark. 2020; Sabahi ve ark. 2022). Elde edilen postbiyotiklerin pH durumunun LAB'ların metabolizmaları sonucu ürettikleri organik asitlerle birlikte değerlendirilmesi daha uygun olacaktır. Postbiyotikler titre edilebilir toplam asitlikleri bakımından da incelendiğinde, bakterilerin inkübasyon süresinin uzamasının üretilen organik asit miktarında önemli bir farklılık oluşturmadığı tespit edildi ( $p>0.05$ ) (Tablo 2-4).

Genel olarak *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *L. sakei* postbiyotiklerinin titre edilebilir asitlik değerlerinin çalışmada kullanılan diğer LAB'lardan daha yüksek olduğu tespit edildi. Bilindiği gibi, homofermentatif LAB'lar glikozdan %90-95 oranında laktik asit sentezlerken, heterofermentatif LAB'lar asetik asit, aseton, CO<sub>2</sub>, diasetil ve etanol ile birlikte laktik asidin %50'sini üretebilmektedir (Gunkova ve ark. 2021). Mevcut çalışmada postbiyotiklerdeki % laktik asit miktarı postbiyotiklerin asit-baz titrasyonu sonucunda harcanan NaOH miktarına göre hesaplandı.

Dolayısıyla, hesaplamada baskın organik asit (laktik asit) dikkate alındığından laktik asit bakterilerinin ürettiği diğer organik asitlerin miktarı hakkında fikir vermemektedir.

Düşük pH (ya da yüksek laktik asit miktarı) laktik asit bakterileri için gelişmeyi kısıtlayıcı bir faktördür. Laktobasillerin düşük pH değerlerinde metabolik bozulmaya yatkın oldukları, stres seviyesine bağlı olarak hücrelerin ana metabolik aktivitelerini azalttıkları, bu durumun enerji sentezinin, proton hareket gücünün, büyümenin ve canlılığın azalmasına neden olduğu belirtilmiştir (De Angelis ve Gobbetti 2011). Bundan dolayı, MRS Broth içerisinde inkübasyon süresi uzamasına rağmen laktik asit bakterileri laktik asit üretimini durdurmuş olabilir. Bu yüzden, postbiyotiklerin titre edilebilir asit miktarlarında önemli bir farklılık görülmemiş olabilir.

Elde edilen postbiyotikler 2x ve 4x yoğunlaştırıldıklarında titre edilebilir asit miktarları önemli oranlarda artış gösterdi ( $p < 0.05$ ). Ancak, 2x ve 4x postbiyotiklerin asit miktarları artmasına rağmen pH değerlerinde önemli bir düşüş görülmedi ( $p > 0.05$ ) (Tablo 2-4). Bilindiği gibi titre edilebilir asitlik bir çözeltideki toplam ayrılmış ve ayrılmamış asitleri ölçer. pH ile titre edilebilir asitlik arasında doğrudan veya öngörülebilir bir ilişki olmadığı, ancak pH'nın asitlerin ayrışma yeteneklerinden etkilendiği belirtilmiştir (Tyl ve Sadler 2017). Mevcut bu çalışmada da, postbiyotikler konsantre edildiklerinde içlerinde bulunan tüm ayrılmış ve ayrılmamış özellikte bulunan asitlerin miktarı artsa da aralarındaki orantı değişmediğinden pH değerlerinde önemli bir değişiklik görülmemiş olabilir.

Postbiyotiklerin patojen bakteriler üzerine inhibisyon özellikleri değerlendirildiğinde, genel olarak en güçlü antimikrobiyal etkiyi *L. plantarum*, *L. sakei* ve *L. curvatus*'tan elde edilen postbiyotiklerin gösterdiği tespit edildi. *L. plantarum*, *L. sakei* ve *L. curvatus* fakültatif heterofermentatif bakterilerdir. Fakültatif heterofermentatif LAB'lar heksozları ya tamamen laktik aside ya da laktik asit, asetik asit, etanol ve formik aside fermente ederler (De Angelis ve Gobbetti 2011). Mun ve ark. (2019) *L. plantarum*'un antimikrobiyal ve antifungal etkisini araştırdıkları çalışmalarında, *L. plantarum*'un organik asit olarak laktik asit (%75.2), asetik asit (%17.9), sitrik asit (%6.5) ve fenillaktik asit (%0.3) oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Heterofermentatif karakterdeki *L. curvatus*, *L. sakei* ve *L. plantarum* postbiyotiklerinin homofermentatif *P. acidilactici* ve *L. delburueckii* subsp. *bulgaricus* postbiyotiklerinden daha güçlü antibakteriyel etki göstermesinin sebebi laktik asit ve asetik asidin birlikte sinerjistik etki göstermesinden kay-

naklanmış olabilir. Habeeb ve ark (2021) laktik asit ve asetik asidin birlikte kullanıldıklarında sinerjistik antibakteriyel etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Mevcut çalışmada *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum* ve *L. reuteri* heterofermentatif karakterde LAB'lar olsa da ürettikleri postbiyotiklerin titre edilebilir asit miktarları düşük kalmıştır (Tablo 3-4). Bu yüzden antimikrobiyal etkilerinin de *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *L. sakei* postbiyotiklerine nazaran düşük kalması beklenebilir. Çalışmamızda % laktik asit miktarı asit-baz titrasyonu sonucu harcanan NaOH miktarına göre hesaplanmıştır. Formülde, materyaldeki hakim organik asit (laktik asit) dikkate alınarak hesaplama yapıldığı için laktik asit bakterilerinin ürettiği diğer organik asitler de laktik asit hesabına dahil olmakta ve diğer organik asit miktarları hakkında fikir vermemektedir.

Bakteriyosinler, *Lactobacillus* ve bifidobakteriler gibi çeşitli bakteriler tarafından üretilen antibakteriyel aktiviteye sahip peptitler veya proteinlerdir. Bakteriyosinlerin patojenik bakterilerin büyümesini ve gelişmesini engellemek gibi birçok olumlu etkiye sahip oldukları, ayrıca ısıya ve pH'ya dayanıklı oldukları bildirilmiştir (O'Connor ve ark. 2020). Postbiyotiklerin antimikrobiyal etkilerinin organik asitlerden veya organik asit dışı bileşiklerden ileri gelip gelmediğini anlamak için, postbiyotik bir alkali ile (genellikle 5 N NaOH) pH değeri 6.0-7.0'ye ayarlanır ve antimikrobiyal testler uygulanır (Moradi ve ark. 2021). Bu çalışmada, postbiyotiklerin pH değerleri 5 N NaOH ile pH 6.0'a ayarlandıktan sonra yapılan testlerde kuyucukların çevresinde inhibisyon zonu oluşmadığından antimikrobiyal etkinin postbiyotiklerin içerdikleri organik asitlerden kaynaklandığı, bakteriyosin ve diğer bileşiklerin (bakteriyosin benzeri inhibitör bileşikler, hidrojen peroksit, diasetil, kısa ve uzun zincirli yağ asitleri ve etanol) antimikrobiyal etki oluşturacak düzeyde bulunmadıkları kanaatine varılmıştır. LAB'lar tarafından sentezlenen en önemli antimikrobiyallerin laktik asit ve asetik asit olduğu, bunların yanı sıra düşük konsantrasyonlarda çok çeşitli bileşiklerde sentezledikleri bildirilmiştir (Mani-López ve ark. 2022). Sentezlenen bu bileşiklerin bir kısmının kendi minimum inhibisyon konsantrasyonlarının altında olabileceği (Nasrollahzadeh ve ark. 2022), ancak çok düşük konsantrasyonlarda dahi olsa da sentezlenen bu bileşiklerin laktik asit ve asetik asitle sinerjistik etki göstermelerinin mümkün olduğu ileri sürülmüştür (García-Díez ve ark. 2021).

Arena ve ark. (2016) şarap ve şıradan izole ettikleri 79 adet *L. plantarum* suşundan elde ettikleri postbiyotiklerin pH'ları nötrale edildikten sonra *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis* ve



*S. aureus* patojenlerine karşı çok az inhibisyon etkisi gözlediklerini ya da hiç gözlemlenemediklerini belirtmişlerdir. Divyashree ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada laktik asit bakteri süpernatantlarının *S. Paratyphi*'ye karşı inhibe edici etkilerinin organik asitlerden kaynaklanabileceği sonucuna varmışlardır. Araştırmacıların aldıkları sonuç yapılan bu çalışmayla uyumludur. LAB' ların bazı suşlarının bakteriyosin sentezi yaptıkları bildirilmiş olsa da, bakteriyosin üretiminin besiyeri ortamına, inkübasyon koşullarına, biyokütle, pH, sıcaklık ve üreme fazlarına bağlı olduğu, bakterilerin gelişmesi için optimum olan koşulların bakteriyosin üretimi için ideal olmayabileceği bildirilmiştir (Zhou ve ark. 2015).

Bildiğimiz kadarıyla, laktik asit bakteri postbiyotiklerinin *Brucella spp.*'ye karşı antimikrobiyal etkisini araştıran bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Elde edilen veriler incelendiğinde, çalışmada kullanılan postbiyotiklerin *B. melitensis* tip III üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip oldukları, ancak oluşturdukları zon çaplarının *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *E. coli* O157 ve metisilin dirençli *S. aureus* üzerinde oluşturdukları zon çaplarına göre daha düşük olduğu görüldü. Sonuçlar değerlendirildiğinde, *B. melitensis* tip III'ün organik asitlere karşı nispeten dirençli olduğu ileri sürülebilir. *Brucella spp.*'lerin minimum 4.1 pH'da hayatta kalabildiği belirtilmektedir (Jansen ve ark. 2019). El-Khawas ve Elbauomy (2015) tarafından yapılan ve düşük asitli yumuşak bir peynir (Karish peyniri) türünde *B. melitensis* üzerine organik asitlerin etkisinin incelendiği bir çalışmada, *B. melitensis*'in %1 asetik asit veya %1.5 sitrik asitten etkilenmedikleri, %1.5 asetik asit ve %2 sitrik asidin ise inhibe edici etkilerinin olduğu bildirilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan LAB postbiyotiklerinin antimikrobiyal etkilerinin içerdikleri organik asitlerden kaynaklandığı tespit edilmiştir. Laktik asit bakterisinin MRS Broth besiyeri içerisinde inkübasyon süresinin 24 saatten 96 saate uzatılmasının organik asit üretimini önemli seviyede artırmadığı ( $p>0.05$ ) ve postbiyotiğin pH değerini önemli seviyede değiştirmediği görülmüştür ( $p>0.05$ ). İnkübasyon sürelerinden bağımsız olarak, laktik asit bakterilerinden elde edilen postbiyotiklerin iki veya dört kat konsantrasyon edilmelerinin içerdikleri titre edilebilir organik asit miktarlarını önemli seviyede artırdığı ( $p<0.05$ ), ancak pH değerlerinde önemli bir değişikliğe sebep olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0.05$ ). Postbiyotikler iki veya dört kat konsantrasyon edildiklerinde içerdikleri organik asit miktarlarındaki artışa paralel olarak patojen bakteriler üzerinde gösterdikleri inhibisyon zon alanlarının arttığı ve daha güçlü antimikrobiyal etki gösterdikleri görülmüştür. Çalışılan laktik

asit bakterileri arasında patojen bakteriler üzerine en güçlü antimikrobiyal etkiyi *L. plantarum*, *L. sakei*, *L. curvatus* ve *P. acidilactici* bakterilerinden elde edilen postbiyotiklerin gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışmada elde edilen bulguların laktik asit bakterilerinden elde edilen postbiyotiklerin gıdalarda raf ömrünü artırmak veya mikrobiyal riskleri azaltmak açısından yapılacak olan ilerideki çalışmalara faydalı veriler sağlayacağı düşünülmektedir. Postbiyotiklerin içerdiği organik asitler ile antimikrobiyal diğer bileşiklerin çeşit ve miktarlarına yönelik daha ayrıntılı çalışmalar yapılması, bu organik ürünlerin gıda ve sağlık alanlarında kullanılma olanaklarına dair daha güçlü veriler ortaya koyacaktır.

**Etik kurul kararı:** Çalışma canlı örnek materyali içermemesi nedeniyle etik kurul izni gerektirmeyen çalışmalar arasında yer almaktadır.

**Maddi destek ve çıkar ilişkisi:** Bu çalışma, Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından (Proje No: 2021-129) desteklenmiştir.

## Kaynaklar

- Aghebaty-Maleki L, Hasannezhad P, Abbasi A, Khani, N. (2022) Antibacterial, Antiviral, Antioxidant, and Anticancer Activities of Postbiotics: A review of Mechanisms and Therapeutic Perspectives. *Biointerface Res Appl Chem.* 12, 2, 2629-2645. <https://doi.org/10.33263/BRIAC122.26292645>
- Aguilar-Toalá JE, Garcia-Varela R, Garcia HS, Mata-Haro V, González-Córdova AF, Vallejo-Cordoba B, Hernández-Mendoza A. (2018) Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci Technol.* 75, 105-114. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.009>
- Arena MP, Silvain A, Normanno G, Grieco F, Drider D, Spano G, Fiocco D. (2016) Use of *Lactobacillus plantarum* strains as a bio-control strategy against food-borne pathogenic microorganisms. *Front Microbiol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00464>
- Balthazar CF, Guimarães JF, Coutinho NM, Pimentel TC, Rana-dheera CS, Santillo A, Albenzio M, Cruz AG, Sant'Ana AS. (2022) The future of functional food: Emerging technologies application on prebiotics, probiotics and postbiotics. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 21, 3, 2560-2586. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12962>
- Barros CP, Guimarães JT, Esmerino EA, Duarte MCKH, Silva MC, Silva R, Ferreira BM, Sant'Ana AS, Freitas MQ, Cruz AG. (2020) Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products. *Curr Opin Food Sci.* 32, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.003>
- El-Khawas KM, Elbauomy EM. (2015) Control of *Brucella* Organisms During Manufacturing of Acid Cheese Using Some Organic Acids. *Assiut Vet Med J.* 61, 147, 73-79. <https://doi.org/10.21608/avmj.2015.170238>
- De Angelis M, Gobbetti M. (2011) Lactic Acid bacteria – *Lactobacillus spp.*: General Characteristics. *Encyclopedia of Dairy Sciences.* 2nd Edition, p.78–90. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00851-9>
- Divyashree S, Anjali PG, Somashekaraiah R, Sreenivasa MY. (2021) Probiotic properties of *Lactobacillus casei* – MYSRD 108 and

- Lactobacillus plantarum-MYSRD 71 with potential antimicrobial activity against Salmonella paratyphi. *Biotechnology Reports*, 32, e00672. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00672>
- García-Díez J, Saraiva C. (2021) Use of Starter Cultures in Foods from Animal Origin to Improve Their Safety. *Int J Environ Res Public Health*. 18, 2544. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052544>
- Gökırmaklı Ç, Üçgül B, Güzel-Seydim ZB. (2021) A new insight of the functional food concept: Postbiotics. *GIDA*. 46, 4, 872-882. <https://doi.org/10.15237/gida.GD21035>
- Gunkova PI, Buchilina AS, Maksimiuk NN, Bazarnova YG, Girel KS. (2021) Carbohydrate Fermentation Test of Lactic Acid Starter Cultures. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 852, 012035. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/852/1/012035>
- Habeeb GA, Durmuşoğlu H, İlhak Oİ. (2021) The combined effect of sodium lactate, lactic acid and acetic acid on the survival of Salmonella spp. and the microbiota of chicken drumsticks. *Slov Vet Res*. 58, 2, 47-54. <https://doi.org/10.26873/SVR-955-2020>
- İncili GK, Karatepe P, Akgöl M, Güngören A, Koluman A, İlhak Oİ, Kanmaz H, Kaya B, Hayaloğlu AA. (2022a) Characterization of lactic acid bacteria postbiotics, evaluation in-vitro antibacterial effect, microbial and chemical quality on chicken drumsticks. *Food Microbiol*. 104, 104001. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104001>
- İncili GK, Karatepe P, Akgöl M, Tekin A, Kanmaz H, Kaya B, Çalicioğlu M, Hayaloğlu AA. (2022b) Impact of chitosan embedded with postbiotics from *Pediococcus acidilactici* against emerging foodborne pathogens in vacuum-packaged frankfurters during refrigerated storage. *Meat Sci*. 188, 108786. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108786>
- İncili GK, Karatepe P, Akgöl M, Kaya B, Kanmaz H, Hayaloğlu AA. (2021) Characterization of *Pediococcus acidilactici* postbiotic and impact of postbiotic-fortified chitosan coating on the microbial and chemical quality of chicken breast fillets. *Int J Biol Macromol*. 184, 429-437. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.106>
- İncili GK, Akgöl M, Karatepe P, Kanmaz H, Kaya B, Tekin A, Hayaloğlu AA. (2023) Inhibitory effect of bioactive compounds derived from freeze-dried paraprobiotic of *Pediococcus acidilactici* against food-borne pathogens: In-vitro and food model studies. *Food Research International*, 170, 113045, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113045>
- Jansen W, Linard C, Noll M, Nöckler K, Dahouk SA. (2019) Brucella-positive raw milk cheese sold on the inner European market: A public health threat due to illegal import? *Food Control*. 100, 130-137. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.01.022>
- Jo D-M, Park S-K, Khan F, Kang M-G, Lee J-H, Kim Y-M. (2020) An approach to extend the shelf life of ribbonfish fillet using lactic acid bacteria cell-free culture supernatant. *Food Control*. 107731. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107731>
- Mani-López E, García H, López-Malo A. (2012) Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. *Food Res Int*. 45, 713-721. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.043>
- Mani-López E, Arrijoja-Bretón D, López-Malo A. (2022) The impacts of antimicrobial and antifungal activity of cell-free supernatants from lactic acid bacteria in vitro and foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 21, 604-641. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12872>
- Moradi M, Kousheh SA, Almasi H, Alizadeh A, Guimaraes JT, Yilmaz N, Lotfi A. (2020) Postbiotics produced by lactic acid bacteria: The next frontier in food safety. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 19, 3390-3415. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12613>
- Moradi, M, Molaei R, Guimaraes JT. (2021) A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. *Enzyme Microb Technol*. 143, 109722. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2020.109722>
- Mun SY, Kim SK, Woo ER, Chang HC. (2019) Purification and characterization of an antimicrobial compound produced by Lactobacillus plantarum EM showing both antifungal and antibacterial activities. *LWT - Food Sci Technol*. 108403. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108403>
- Nasrollahzadeh A, Mokhtari S, Khomeiri M, Saris PEJ. (2022) Anti-fungal Preservation of Food by Lactic Acid Bacteria. *Foods*, 11, 395. <https://doi.org/10.3390/foods11030395>
- O'Connor PM, Kuniyoshi TM, Oliveira RP, Hill C, Ross RP, Cotter PD. (2020) Antimicrobials for food and feed; a bacteriocin perspective. *Curr Opin Biotechnol*. 61, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.12.023>
- Özçelik S, Kuley E, Özogul F. (2016) Formation of lactic, acetic, succinic, propionic, formic and butyric acid by lactic acid bacteria. *LWT-Food Sci Technol*. 73, 536-542. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.066>
- Rad AH, Aghebati-Maleki L, Kafil HS, Abbasi A. (2021) Postbiotics: A novel strategy in food allergy treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 61, 3, 492-499. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1738333>
- Sabahi S, Rad AH, Aghebati-Maleki L, Sangtarash N, Ozma MA, Karimi A, Hosseini H, Abbasi A. (2022) Postbiotics as the new frontier in food and pharmaceutical research. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 63, 26, 8375-8402. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2056727>
- Salantá LC, Cropotova J. (2022) An Update on Effectiveness and Practicability of Plant Essential Oils in the Food Industry. *Plants*. 11, 2488. <https://doi.org/10.3390/plants11192488>
- Serter B, Önen A, İlhak Oİ. (2024) Antimicrobial efficacy of postbiotics of lactic acid bacteria and their effects on food safety and shelf life of chicken meat. *Ann. Anim. Sci*. 24, 1, 277-287. <https://doi.org/10.2478/aoas-2023-0081>
- Thorakkattu P, Khanashyam AC, Shah K, Babu KS, Mundanat AS, Deliephan A, Deokar GS, Santivarangkna C, Nirmal NP. (2022) Postbiotics: Current Trends in Food and Pharmaceutical Industry. *Foods*. 11, 3094. <https://doi.org/10.3390/foods11193094>
- Tyl C, Sadler GD. (2017) pH and Titratable Acidity. In: Nielsen, SS. (eds) *Food Analysis*. Food Science Text Series. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5\\_22](https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_22)
- Wegh CAM, Geerlings SY, Knol J, Roeselers G, Belzer C. (2019) Postbiotics and Their Potential Applications in Early Life Nutrition and Beyond. *Int J Mol Sci*. 20, 4673. <https://doi.org/10.3390/ijms20194673>
- Yolmeş M, Khomeiri M, Ahmadi Z. (2017) Application of mixture design to introduce an optimum cell-free supernatant of multiple-strain mixture (MSM) for Lactobacillus against food-borne pathogens. *LWT- Food Sci Technol*. 83, 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.035>
- Zalán Z, Hudáček J, Štětina J, Chumchalová J, Halász A. (2010) Production of organic acids by Lactobacillus strains in three different media. *Eur Food Res Technol*. 230, 3, 395-404. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1179-9>
- Zhou K, Zeng Y, Han X, Liu S. (2015) Modelling growth and bacteriocin production by Lactobacillus plantarum BC-25 in response to temperature and pH in batch fermentation. *Appl Biochem Biotechnol*. 176, 6, 1627-1637. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1666-3>