



**ANTİMİKROBİYEL AKTİVİTEYE SAHİP *PEDIOCOCCUS ACIDILACTICI* VE
PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS SUŞLARININ PROBİYOTİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Nazife Yıldırım, Banu Özden Tuncer*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye

Geliş / *Received*: 23.02.2022; Kabul / *Accepted*: 01.04.2022; Online baskı / *Published online*: 11.04.2022

Yıldırım, N., Özden Tuncer, B. (2022). Antimikrobiyel aktiviteye sahip *Pediococcus acidilactici* ve *Pediococcus pentosaceus* suşlarının probiyotik özelliklerinin belirlenmesi. GIDA (2022) 47 (3) 434-446 doi: 10.15237/gida.GD22025

Yıldırım, N., Özden Tuncer, B. (2022). *Determination of probiotic properties of Pediococcus acidilactici and Pediococcus pentosaceus strains with antimicrobial activity.* GIDA (2022) 47 (3) 434-446 doi: 10.15237/gida. GD22025

ÖZ

Bu çalışmada, starter kullanılmadan üretilen sucuklardan izole edilmiş *Pediococcus acidilactici* ve *P. pentosaceus* suşlarının safra tuzuna tolerans, düşük pH ve fenol varlığında hayatta kalma, yapay mide öz suyuna tolerans, lizozime karşı direnç, hidrofobisite ve otoagregasyon yetenekleri gibi bazı probiyotik özellikleri incelenmiştir. İzolatların tamamının pH 1'de ilk ölçümlerinde, pH 3'te ise birinci saatin sonunda inaktive olduğu saptanmıştır. pH 5'te ise tüm *Pediococcus* suşları 4 saat inkübasyon süresi boyunca %67.02-95.42 oranında canlılıklarını korumuşlardır. %0.4 fenol uygulamasında *P. acidilactici* OBS62 suşu %2.32 oranında gelişim gösterirken diğer suşların %69.94-99.89 oranında canlılıklarını koruduğu tespit edilmiştir. 100 ppm lizozim uygulamasında suşların % canlılıkları 90.90 ve 107.40 arasında bulunmuştur. %0.3 pepsin içeren yapay mide suyu denemelerinde tüm *Pediococcus* suşları inaktive olmuştur. %0.3 ve %0.5 safra tuzu uygulamasında suşların tamamında hücre sayısında artış olduğu belirlenmiştir. %1 safra tuzu uygulamasında ise *P. acidilactici*'s OBS54 ve *P. pentosaceus* OBS56 suşları canlılığını korumuş, diğer suşlarda ise hücre sayısında artış olduğu tespit edilmiştir. *Pediococcus* suşlarının hidrofobisite oranları %61.42-%97.40 arasında, otoagregasyon yetenekleri ise %17.3-%64.78 arasında bulunmuştur. Sonuç olarak, izolatların mikroenkapsülasyon yolu ile midenin oluşturduğu sert çevresel koşullara dayanımının artırılması sayesinde probiyotik kültür olarak kullanılabilirler düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Sucuk, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, probiyotik

DETERMINATION OF PROBIOTIC PROPERTIES OF *PEDIOCOCCUS ACIDILACTICI* AND *PEDIOCOCCUS PENTOSACEUS* STRAINS WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY

ABSTRACT

In this study, some probiotic properties such as bile salt tolerance, survival in low pH and in presence of phenol, tolerance to simulated gastric juice, resistance to lysozyme, hydrophobicity and autoaggregation abilities of *Pediococcus acidilactici* and *P. pentosaceus* strains isolated from sausages produced without starter were investigated. It was determined that all of the isolates were inactivated

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding Author*

✉: banutuncer@sdu.edu.tr

☎: (+90) 246 211 8006

☎: (+90) 246 237 0437

Nazife Yıldırım; ORCID no: 0000-0002-8560-7770

Banu Özden Tuncer; ORCID no: 0000-0001-9678-4441

at the first measurement at pH 1 and at the end of the first hour at pH 3. At pH 5, all *Pediococcus* strains preserved their viability at a rate of 67.02-95.42% during the four-hour incubation period. *P. acidilactici* OBS62 strain grew at a rate of 2.32% in 0.4% phenol, while other strains maintained viability at a rate of 69.94-99.89%. In 100 ppm lysozyme application, the % viability of the strains was found between 90.90 and 107.40. All *Pediococcus* strains were inactivated in the trials of artificial gastric juice containing 0.3% pepsin. It was determined that there was an increase in the number of cells in all of the strains with the application of 0.3% and 0.5% bile salt. In 1% bile salt application, *P. acidilactici* OBS54 and *P. pentasaceus* OBS56 strains preserved their viability, while an increase in the number of cells was detected in other strains. The hydrophobicity rates of *Pediococcus* strains were found to be between 61.42% and 97.40%, and their autoaggregation abilities were found to be between 17.3% and 64.78%. As a result, it is thought that the isolates can be used as probiotic cultures by increasing their resistance to harsh environmental conditions created by the stomach by microencapsulation.

Key words: Sausage, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentasaceus*, probiotic

GİRİŞ

Günümüzde karmaşık mikrobiyal topluluklardan yararlı bakterilerin taranması, izolasyonu ve tanımlanması giderek daha yaygın hale gelmektedir. Dünyada milyarlarca mikroorganizma var olmasına rağmen ancak bunların çok azının özellikleri ve gıda proseslerinde uygulanabilirlikleri test edilmiştir. Bunlar arasında, probiyotik adı verilen mikroorganizmalar, insanlar, hayvanlar, bitkiler ve gıdalar üzerindeki yararlı etkileri nedeniyle günümüze kadar birçok araştırmanın odağı olmuştur. Probiyotikler yeterli miktarlarda tüketildiğinde ürettikleri çeşitli metabolizma ürünleri ile veya adezyon noktaları için patojenler ile rekabete girmeleri gibi etkenler sayesinde konak üzerinde faydalı etkiler gösteren canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2002). Probiyotik mikroorganizmalar arasında laktik asit bakterileri (LAB), hammaddelerin fermentasyonu sırasında ürettikleri organik asitler sayesinde gıdaların beslenme kalitelerinin korunmasında önemli rol oynar. LAB'nin gıda fermentasyonunda starter kültür olarak kullanılması ile ortam pH'sının düşürülmesi, proteolitik aktivite gibi çok yönlü metabolik özellikleri ve bakteriyosin gibi antimikrobiyel metabolitleri sentezleme yetenekleri sayesinde ürün kalitesi artırılmaktadır. Gıdalarda yaygın olarak bulunan LAB'nin, tekstür ve aroma gelişimine katkı sağlamalarının yanında biyo-koruyucu ve probiyotik olarak da kullanım potansiyelleri bulunmaktadır (Ng vd., 2015; Gad vd., 2016; Chen vd., 2017). Bu nedenle, daha geniş endüstriyel uygulamalar için yeni LAB türlerinin

izolasyonu ve karakterizasyonu endüstriyel öneme sahiptir (Abbasli vd., 2017). Son yıllarda, probiyotiklerin potansiyel sağlık yararları üzerine yapılan araştırmalarda viral veya bakteriyel ishal, ülseratif kolit ve poşit gibi kronik enflamatuvar hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli bulaşıcı hastalıkların tedavisinde önemli rol oynadıkları bildirilmektedir (Hickson vd., 2007; Grandy vd., 2010; Saad vd., 2013). Probiyotik mikroorganizmaların bağırsakta hayatta kalması ve konakçı üzerinde yararlı etkiler ortaya çıkarması için, mide ve bağırsaklardaki asidik pH ve safra tuzlarına toleransları çok önemlidir. İnsan midesinin pH'sı içerdiği hidroklorik asit nedeniyle yaklaşık 2.5 ile 3.5 arasındadır. Bu nedenle, probiyotiklerin ince bağırsağa ulaşması ve konakta kolonileşmesi için asidik mide ortamında hayatta kalması bir gerekliliktir. Ayrıca, probiyotiklerin besin alımı için diğer patojenlerle rekabet edebilmesi için gastrointestinal sistemdeki mukozal tabakaya yeterince iyi tutunması beklenir. Probiyotik bir mikroorganizmanın yüksek hücre yüzey hidrofobisitesi ile otoagregasyon yeteneğine sahip olması bağırsakta kolonizasyonu kolaylaştırırken, koagregasyon yeteneği ile de patojenler ile ilişkilenebilir bunların dışkı ile atımını kolaylaştırır. Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak seçilmesi için diğer önemli kriterler, patojenik bağırsak mikrobiyotasını inhibe etmek için organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosinler gibi antimikrobiyal molekülleri üretebilmesidir (Oelschlaeger, 2010; Shyamala vd., 2016; Thakur vd., 2016; Villena ve Kitazawa, 2017; Mokoena, 2017).

Endüstriyel düzeyde fermente gıdaların üretiminde rol alan LAB grubu üyesi *Pediococcus* cinsi, *P. inopinatus*, *P. dextrinicus*, *P. claussenii*, *P. damnosus*, *P. cellicola*, *P. ethanolidurans*, *P. parvulus*, *P. stilesii*, *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus*'u kapsayan çeşitli türler içermektedir (Dobson vd., 2002; Holzapfel vd., 2006; Todorov ve Dicks, 2009; Holzapfel ve Wood, 2014). Özellikle *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* türlerinin genetik, moleküler ve fizyolojik yönlerini inceleyen araştırmaların sayısı sürekli olarak artmaktadır. Virülans faktörlerinin ve virülans genlerinin yokluğu, bir bakteriyi probiyotik olarak kabul etmek için bir ön koşuldur. Virülans faktörlerinin yokluğu ile birlikte antibiyotik dirençlerinin olmaması LAB'nin güvenli olarak değerlendirilmesi için çok önemli bir husustur. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından gıda takviyeleri olarak tanımlanan *P. pentosaceus* ve *P. acidilactici* suşlarının, bilinen antibiyotik direnç genlerinden yoksun olduğu bildirilmiştir (Shani vd., 2021). Her iki tür de olgunlaştırılmış çeşitli peynirler, turşu, şarap, et ve süt ürünlerinden ve çeşitli içeceklerden sıklıkla izole edilmekte ve aynı zamanda sebzeler, sosisler ve sucuk gibi gıdaları fermente etmek amacıyla endüstride yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Papagianni ve Anastasiadou, 2009).

Bu çalışmada, starter kullanılmadan üretilen sucuktan izole edilmiş *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* suşlarının safra tuzuna tolerans, düşük pH'da hayatta kalma, fenol varlığında hayatta kalma, simüle mide özsuyna tolerans, lizozime karşı direnç, hidrofobisite ve otoagregasyon yetenekleri gibi bazı probiyotik özellikleri araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Çalışma kapsamında starter kullanılmadan üretilen fermente sucuk örneklerinden izole edilmiş 31 *P. acidilactici* ve 2 *P. pentosaceus* suşu kullanılmıştır (Yüceer ve Özden Tuncer, 2015). *Pediococcus* suşlarının *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium ve *Escherichia coli*'nin arasında bulunduğu çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği Aslan ve Özden Tuncer (2020)

tarafından belirlenmiştir. *Pediococcus* suşları de Man Rogosa and Sharp (MRS, Merck, Almanya) broth ortamlarında 30°C'de 24 saat süre ile geliştirilerek kültüre edilmiştir. Stok kültürler % 20 (v/v) oranında steril gliserol ilave edilerek -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Yöntem

Düşük pH'da hayatta kalma

Pediococcus suşlarının düşük pH'da hayatta kalma yetenekleri Conway vd. (1987) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. Kısaca, MRS broth besiyerinde 24 saat süre ile geliştirilen kültürler santrifüj ile çöktürülmüş (3000 g 10 dakika, Sigma 2-16P, Almanya) ve çöktürülen kültürün 10 katı hacminde fosfat buffer saline (PBS) ile yıkanmıştır. Ardından pH'sı 1, 3 ve 5'e ayarlanan PBS ortamlarına (2 mL) hazırlanan hücre süspansiyonlarından 0.1 mL aktarılmış ve inkübasyonun 0. 1. 2. 3. ve 4. saatinde hücre sayımları damla kültürel sayım yöntemi kullanılarak MRS agar ortamında yapılmıştır.

Fenol varlığında hayatta kalma

Teplý (1984) tarafından önerilen yöntemle göre %0.4 (w/v) oranında fenol (Riedel-de Haën, Almanya) içeren ve içermeyen MRS broth ortamlarına 200'er µL aktif *Pediococcus* kültürlerinden aktarılmış ve 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0. ve 24. saat sonunda hücre sayımları MRS agar ortamında yapılmıştır.

Lizozime karşı direnç

Pediococcus suşlarının lizozime karşı dirençleri 100 ppm düzeyinde lizozim içeren ve içermeyen MRS broth ortamlarında test edilmiştir (Brennan vd., 1986). Aktif *Pediococcus* kültürlerinden MRS broth ortamlarına %2 (v/v) oranında inokülasyon yapılmış ve tüpler 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda hücre sayımları MRS agar ortamında yapılmıştır.

Simüle mide suyunda hayatta kalma

Pediococcus suşlarının simüle mide suyuna tolerans düzeyleri Vinderola ve Reinheimer (2003) tarafından önerilen yöntemle tespit edilmiştir. 30 mL MRS broth ortamında 24 saat geliştirilen kültürler 6000 g'de (+5 °C) 20 dakika çöktürülmüş ve K₂HPO₄ (pH 6.5) ile yıkanmış ve aynı

tamponda (3 mL) çözülmüştür. Hazırlanan hücre süspansiyonundan 1'er mL alınıp 12000 g'de (+5 °C) 5 dk çöktürülmüştür. Çöken hücreler pH'sı 2 ve 3'e ayarlanmış simüle mide suyunda (%0.5 NaCl ve %0.3 pepsin) çözüldükten sonra 30 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0. ve 3. saatinde hücre sayımları MRS agar ortamında yapılmıştır.

Safra tuzuna dayanım

Pediococcus suşlarının safra tuzuna dayanımlarının belirlenmesi amacıyla %0.3, %0.5 ve % 1 düzeyinde safra tuzu içeren MRS broth ortamlarına 18 saatlik aktif kültürlerden %1 oranında inokülasyon yapılmış ve 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda hücre sayımları MRS agar ortamında yapılmıştır (Gilliland ve Walker, 1990).

Hidrofobisite yeteneklerinin belirlenmesi

Pediococcus suşlarının hidrofobisite yetenekleri Rosenberg vd. (1980) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. MRS broth ortamında 24 saat geliştirilen *Pediococcus* suşları santrifüj ile çöktürülüp (6000 g 15 dakika) iki kez PBS ile yıkanmıştır. Yıkanan hücre çökeltileri 0.1 M KNO₃ (pH 6.2) içinde çözülerek optik yoğunluğu 600 nm'de 0.5-0.6 (A_0) aralığına ayarlanmıştır. Hazırlanan hücre süspansiyonundan 3 mL alınmış üzerine 1 mL ksilen (Merck) ilave edilip oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiş ve akabinde 2 dakika vortekslenmiştir. Daha sonra süspansiyonda faz ayrımının olması için 20 dakika oda sıcaklığında tutulmuştur. Faz ayrımının tamamlanmasının ardından sulu fazın optik yoğunluğu 600 nm'de ölçülmüştür (A_1). *Pediococcus* suşlarının hidrofobisite değeri aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Hidrofobisite} = (A_0 - A_1 / A_0) \times 100$$

Otoagregasyon yeteneklerinin belirlenmesi

Suşların otoagregasyon yeteneklerinin belirlenmesi Basson vd. (2008) tarafından önerilen yöntemle göre yapılmıştır. 24 saat geliştirilen *Pediococcus* suşları 7000 g'de (10 dakika, 20 °C) çöktürülmüş ve FTS içinde çözülmüştür. Ardından hücre süspansiyonunun yoğunluğu 0.3'e (660 nm) ayarlanmıştır (A_0). 37 °C'de 60

dakika inkübe edilen hücre süspansiyonu 300 g'de (2 dakika, 20 °C) çöktürülmüştür. Santrifüj sonrası üstte kalan hücre süspansiyonunun yoğunluğu 660 nm'de ölçülmüştür (A_{60}). *Pediococcus* suşlarının otoagregasyon değeri aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Otoagregasyon} = (A_0 - A_{60} / A_0) \times 100$$

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Düşük pH'da hayatta kalma denemeleri sonucu, *Pediococcus* suşlarının tamamının pH 1'de 0. saatte canlılıklarını yitirdikleri, pH 3'te ise 0. saatte suşların tümünün belirli oranlarda aktivitelerini korudukları ($1 \pm 0.00 - 6.83 \pm 0.04$ log kob/mL) ancak takip eden inkübasyon sürelerinde ise inhibe oldukları belirlenmiştir. Diğer yandan, pH 5'te tüm suşların 4 saat inkübasyon süresi boyunca hayatta kaldıkları saptanmıştır. Suşların pH 5'te canlı kalma oranlarının %67.02 ile %95.42 arasında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1). *P. acidilactici* türü, ısı ve soğuk uygulamalarına, farklı pH değerlerine ve proteolitik uygulamalara dayanımlarının olabildiği ve antilisterial peptid (pediosin) üretme kapasitesine sahip suşlar içermesi sebebi ile gıda koruyucusu olarak potansiyel taşıyan mikroorganizmalardır (Papagianni ve Anastasiadou, 2009). Bir mikroorganizmanın probiyotik olabilme özelliklerinin başında mide öz suyuna yakın pH seviyelerinde (pH 2-3) 3 saat boyunca hayatta kalabilmesi gelmektedir. İyi bir probiyotik kültürün pH 3 seviyesindeki asitliğe dayanım göstermesi beklenmektedir (Fernandez vd., 2003; Park vd., 2006). Yapılan çalışmalarda genellikle pH 1 ve pH 3 seviyesindeki asitliklerde hücre konsantrasyonlarında düşüşler olduğu diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Fernandez vd., 2003; Pan vd., 2008; Sahadeva vd., 2011). Yüksekdag ve Aslim (2010) sucuğun doğal mikrobiyotasında bulunan potansiyel probiyotik mikroorganizmaları araştırdıkları bir çalışmada izole ettikleri suşlar arasında düşük pH'nın etkisine direnme kapasitesi en yüksek suşların *P. pentosaceus* Z12P ve Z13P suşları olduğunu tespit etmişlerdir. Gupta ve Sharma (2017) yaptıkları çalışmada *P. acidilactici* suşunun pH 2 ve pH 3'e 3 saat inkübasyon süresince dayanım gösterdiğini ve sırasıyla %72.69-%98.62 seviyesinde canlılıklarını koruduğunu

bildirmişlerdir. Benzer olarak yakın zamanda yapılan bir çalışmada, sosisten izole edilmiş *P.*

acidilactici CE51'in düşük pH'lara (pH 2, 2.5 ve 3) dirençli olduğu tespit edilmiştir (Vieira vd., 2020).

Çizelge 1. *Pediococcus* suşlarının düşük pH uygulamasına dayanımları (log kob/mL) ve pH 5'de canlılık oranları (%)

Table 1. Resistance of *Pediococcus* strains to low pH application (log cfu/mL) and viability rates (%) at pH 5

Suşlar Strains	pH 3					pH 5					% Canlılık Viability %
	0. s 0. b	1. s 1. b	2. s 2. b	3. s 3. b	4. s 4. b	0. s 0. b	1. s 1. b	2. s 2. b	3. s 3. b	4. s 4. b	
<i>P. acidilactici</i> OBS2	6.76±0.05	<1	<1	<1	<1	7.14±0.02	7.78±0.03	6.8±0.03	5.72±0.07	5.47±0.06	76.61
<i>P. acidilactici</i> OBS6	6.78±0.01	<1	<1	<1	<1	7.31±0.01	7.84±0.03	6.71±0.03	6.69±0.06	6.48±0.03	88.64
<i>P. acidilactici</i> OBS7	6.73±0.04	<1	<1	<1	<1	7.92±0.01	7.81±0.01	6.84±0.01	5.94±0.02	5.78±0.04	72.98
<i>P. acidilactici</i> OBS10	6.66±0.02	<1	<1	<1	<1	7.23±0.03	7.88±0.02	6.7±0.02	6.83±0.01	6.74±0.02	93.22
<i>P. acidilactici</i> OBS16	6.83±0.04	<1	<1	<1	<1	7.73±0.05	7.74±0.01	6.92±0.01	5.86±0.02	5.67±0.04	73.35
<i>P. acidilactici</i> OBS19	6.75±0.05	<1	<1	<1	<1	7.83±0.05	7.63±0.02	6.87±0.02	5.83±0.02	5.5±0.04	70.24
<i>P. acidilactici</i> OBS21	6.79±0.05	<1	<1	<1	<1	7.32±0.01	7.83±0.03	6.76±0.03	6.83±0.02	6.82±0.04	93.17
<i>P. acidilactici</i> OBS22	6.76±0.05	<1	<1	<1	<1	7.56±0.03	7.81±0.05	6.76±0.05	5.66±0.02	5.66±0.06	74.87
<i>P. acidilactici</i> OBS27	3.37±0.04	<1	<1	<1	<1	7.21±0.05	7.62±0.06	6.76±0.06	6.85±0.03	5.85±0.01	81.14
<i>P. acidilactici</i> OBS28	4±0.00	<1	<1	<1	<1	7.23±0.09	7.21±0.06	6.14±0.06	6.08±0.07	6.05±0.09	83.68
<i>P. acidilactici</i> OBS30	1±0.00	<1	<1	<1	<1	7.05±0.05	7.74±0.06	6.54±0.06	6.53±0.06	6.44±0.05	91.35
<i>P. acidilactici</i> OBS35	1±0.00	<1	<1	<1	<1	7.21±0.08	7.64±0.03	6.7±0.03	6.86±0.04	6.88±0.03	95.42
<i>P. acidilactici</i> OBS36	4.07±0.13	<1	<1	<1	<1	7.25±0.06	7.8±0.04	6.71±0.04	6.77±0.07	6.81±0.03	93.93
<i>P. acidilactici</i> OBS38	4.06±0.07	<1	<1	<1	<1	7.07±0.04	7.81±0.07	6.62±0.07	6.79±0.06	6.66±0.07	94.20
<i>P. acidilactici</i> OBS40	1±0.00	<1	<1	<1	<1	6.9±0.03	6.58±0.02	5.98±0.02	5.66±0.05	5.47±0.04	79.27
<i>P. acidilactici</i> OBS42	1±0.00	<1	<1	<1	<1	7.27±0.07	7.12±0.03	6.81±0.03	6.63±0.02	6.48±0.01	89.13
<i>P. acidilactici</i> OBS44	3.05±0.05	<1	<1	<1	<1	7.01±0.08	6.35±0.07	6.25±0.07	6.04±0.03	6.26±0.04	89.30
<i>P. acidilactici</i> OBS49	1±0.00	<1	<1	<1	<1	6.7±0.09	6.56±0.02	6.52±0.02	6.38±0.08	6.15±0.06	91.79
<i>P. acidilactici</i> OBS51	3.26±0.05	<1	<1	<1	<1	6.74±0.09	6.43±0.08	5.56±0.08	6.16±0.07	5.98±0.07	88.72
<i>P. acidilactici</i> OBS52	5.05±0.05	<1	<1	<1	<1	6.46±0.08	6.46±0.04	6.37±0.04	6.36±0.03	6.33±0.06	97.98
<i>P. acidilactici</i> OBS53	6.75±0.03	<1	<1	<1	<1	7.47±0.02	7.57±0.09	6.58±0.09	6.7±0.02	6.65±0.05	89.02
<i>P. acidilactici</i> OBS54	6.68±0.03	<1	<1	<1	<1	7.43±0.07	7.32±0.08	5.94±0.08	5.06±0.07	4.98±0.05	67.02
<i>P. acidilactici</i> OBS55	4.04±0.04	<1	<1	<1	<1	7.5±0.06	7.31±0.07	6.6±0.07	6.64±0.04	6.77±0.03	90.26
<i>P. pentosaceus</i> OBS56	4.04±0.00	<1	<1	<1	<1	7.64±0.05	7.38±0.07	6.54±0.07	6.45±0.03	6.37±0.07	83.38
<i>P. pentosaceus</i> OBS57	1±0.00	<1	<1	<1	<1	7.61±0.07	7.31±0.06	6.4±0.06	6.41±0.04	6.13±0.08	80.55
<i>P. acidilactici</i> OBS58	1±0.00	<1	<1	<1	<1	7.64±0.04	7.25±0.06	6.55±0.06	6.6±0.06	6.53±0.02	85.47
<i>P. acidilactici</i> OBS59	6.8±0.04	<1	<1	<1	<1	7.61±0.05	7.26±0.07	6.47±0.07	4.04±0.03	6.68±0.07	87.78
<i>P. acidilactici</i> OBS60	3.43±0.09	<1	<1	<1	<1	7.61±0.009	7.42±0.05	6.29±0.05	6.86±0.03	6.85±0.02	90.01
<i>P. acidilactici</i> OBS61	6.69±0.04	<1	<1	<1	<1	7.59±0.03	7.29±0.02	6.64±0.02	6.71±0.02	6.72±0.08	88.54
<i>P. acidilactici</i> OBS62	3.44±0.04	<1	<1	<1	<1	7.67±0.06	7.35±0.04	6.67±0.04	6.67±0.06	6.67±0.08	86.96
<i>P. acidilactici</i> OBS63	3.98±0.03	<1	<1	<1	<1	7.75±0.08	7.17±0.02	6.25±0.02	6.25±0.00	5.62±0.07	72.52
<i>P. acidilactici</i> OBS64	6.34±0.09	<1	<1	<1	<1	7.71±0.01	7.31±0.04	6.55±0.04	6.56±0.03	6.34±0.04	82.23
<i>P. acidilactici</i> OBS65	6.24±0.03	<1	<1	<1	<1	7.55±0.07	7.22±0.02	6.48±0.04	6.37±0.03	6.29±0.04	83.31

Pediococcus suşlarının %0.4 fenol varlığında hayatta kalma özellikleri incelendiğinde tüm suşların canlılıklarını sürdürdüğü belirlenmiştir. Yirmi dört saat inkübasyon süresi sonunda *P. acidilactici* OBS62 suşu hariç diğer *Pediococcus* suşlarının %69.94-99.89 oranında canlılıklarını koruduğu, *P. acidilactici* OBS62 suşunun ise %2.32 oranında gelişim gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 2). Ksiloz ve arabinoz gibi pentoz şekerlerini kullanabilen *P. acidilactici* türünün, lignoselülozik biyokütleden biyoetanol üretimi sırasında furan türevleri, fenolik bileşikler ve zayıf asitler gibi önceden işlenmiş inhibitörlere karşı yüksek direnç gösterdiği bildirilmiştir (Callejon vd., 2017). Fenol, tüketilen gıdalar ile alınan aromatik amino asitlerin sindirim sisteminde bulunan bakteriler

tarafından deaminasyonu ile oluşmaktadır. Bu nedenle fenole dayanım probiyotik bakterilerde aranan bir özelliktir (Gilliland ve Walker, 1990; Suscovic vd., 1997). Abbaslı vd. (2017), *P. acidilactici* KP 10 suşu ile yaptıkları çalışmada %0.4 fenol varlığında 24 s inkübasyon süresi sonunda hücre sayısında yaklaşık 1.5 log'luk düşüş olmasına rağmen söz konusu suşun fenolü tolere edebildiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Reuben vd. (2019) *P. pentosaceus* IL13 suşunun optik yoğunluğunda düşme olmasına rağmen %0.4 fenol konsantrasyonunu tolere edebildiğini rapor etmiştir.

Pediococcus suşlarının 100 ppm lizozim içeren MRS broth besiyerinde 24 saat sonunda canlılık oranları

%90.90 ile %107.40 arasında bulunmuştur (Çizelge 2). Lizozim tükürükte, insan sütünde ve diğer biyolojik sıvılarda doğal olarak bulunduğu, bağırsakta spesifik bakteri suşunun kolonizasyonunu etkileyebilmektedir. Bu nedenle, probiyotik bakterilerin lizozime dirençli veya orta derecede dirençli olması istenmektedir. Shukla ve Goyal (2014), *P. pentosaceus* CRAG-3

suşunun 2 saat süre ile 100 ppm lizozim uygulamasına kontrole kıyasla %75 oranında hayatta kaldığını bildirmişlerdir. Benzer olarak Attri vd. (2015) *P. acidilactici* NCDC252 suşunun lizozime karşı dirençli olduğunu ve inkübasyon süresi sonunda optik yoğunluğunun arttığını bildirmişlerdir.

Çizelge 2. *Pediococcus* suşlarının %0.4 fenol varlığında hayatta kalma ve 100 ppm lizozime karşı direnç düzeyleri

Table 2. Survival levels of *Pediococcus* strains in the presence of 0.4% phenol and resistance to 100 ppm lysozyme

Suşlar Strains	%0.4 Fenol 0.4% Phenol		% Canlılık Viability %	100 ppm Lizozim 100 ppm Lysozyme		% Canlılık Viability %
	0. s 0. h	24. s 24. h		0. s 0. h	24. s 24. h	
<i>P. acidilactici</i> OBS2	9.45±0.06	8.41±0.06	88.99	9.23±0.00	9.4±0.02	101.84
<i>P. acidilactici</i> OBS6	9.1±0.09	8.53±0.05	93.73	9.13±0.12	8.96±0.07	98.13
<i>P. acidilactici</i> OBS7	9.44±0.05	8.19±0.03	86.75	9.23±0.03	9.2±0.05	99.67
<i>P. acidilactici</i> OBS10	9.59±0.01	7.74±0.001	80.70	10.09±0.07	9.3±0.09	92.17
<i>P. acidilactici</i> OBS16	9.11±0.06	6.19±0.07	67.94	9.03±0.08	8.7±0.05	96.34
<i>P. acidilactici</i> OBS19	9.17±0.02	8.66±0.02	94.43	9.13±0.01	9.01±0.02	98.68
<i>P. acidilactici</i> OBS21	9.15±0.01	8.73±0.01	95.40	9.18±0.06	9.06±0.07	98.69
<i>P. acidilactici</i> OBS22	9.25±0.09	7.98±0.02	86.27	9.17±0.03	9.37±0.07	102.18
<i>P. acidilactici</i> OBS27	9.04±0.13	8.19±0.07	90.59	9.18±0.04	9.01±0.06	98.15
<i>P. acidilactici</i> OBS28	9.16±0.14	8.65±0.03	94.43	9.45±0.05	9.01±0.12	95.34
<i>P. acidilactici</i> OBS30	9.36±0.04	7.59±0.03	81.09	8.97±0.07	8.99±0.08	100.22
<i>P. acidilactici</i> OBS35	9.55±0.06	8.54±0.01	89.42	9.28±0.04	9.03±0.06	97.30
<i>P. acidilactici</i> OBS36	10.31±0.06	9.36±0.06	90.78	9.18±0.12	9.18±0.08	100
<i>P. acidilactici</i> OBS38	9.13±0.06	7.59±0.03	83.13	8.98±0.02	9.01±0.06	100.33
<i>P. acidilactici</i> OBS40	9.42±0.01	7.66±0.03	81.31	9.04±0.08	9.03±0.1	99.88
<i>P. acidilactici</i> OBS42	10.18±0.01	8.73±0.02	85.75	9.45±0.04	9.07±0.07	95.97
<i>P. acidilactici</i> OBS44	9.29±0.08	7.57±0.02	81.48	9.01±0.05	9.15±0.13	101.55
<i>P. acidilactici</i> OBS49	9.32±0.07	7.24±0.09	77.68	9.07±0.1	9.05±0.04	99.78
<i>P. acidilactici</i> OBS51	9.36±0.05	7.53±0.02	80.45	9.21±0.08	9.05±0.02	98.26
<i>P. acidilactici</i> OBS52	10.1±0.09	9.05±0.05	89.60	9.18±0.09	9.38±0.11	102.18
<i>P. acidilactici</i> OBS53	10.07±0.07	9.18±0.1	91.16	9.09±0.1	9.12±0.1	100.33
<i>P. acidilactici</i> OBS54	10.25±0.09	9.54±0.06	93.07	9.32±0.02	9.09±0.06	97.53
<i>P. acidilactici</i> OBS55	10.24±0.08	9.24±0.03	90.23	9.03±0.04	9.38±0.00	103.87
<i>P. pentosaceus</i> OBS56	10.25±0.1	9.1±0.03	88.78	9.02±0.02	9.38±0.13	103.99
<i>P. pentosaceus</i> OBS57	10.12±0.11	9.28±0.03	91.69	10.01±0.06	9.1±0.07	90.90
<i>P. acidilactici</i> OBS58	10.19±0.05	9.24±0.06	90.68	9.45±0.07	10.15±0.02	107.40
<i>P. acidilactici</i> OBS59	10.09±0.08	9.23±0.1	91.47	9.4±0.01	9.42±0.01	100
<i>P. acidilactici</i> OBS60	10.2±0.07	9.23±0.07	90.5	9.44±0.1	9.35±0.06	99.05
<i>P. acidilactici</i> OBS61	9.11±0.07	9.1±0.09	99.89	10.14±0.05	9.26±0.08	91.32
<i>P. acidilactici</i> OBS62	9.06±0.1	9.27±0.06	102.32	10.05±0.02	9.31±0.02	92.64
<i>P. acidilactici</i> OBS63	9.15±0.06	9.11±0.1	99.56	9.37±0.08	9.25±0.04	98.72
<i>P. acidilactici</i> OBS64	9.24±0.07	9.19±0.04	99.45	10.09±0.09	9.23±0.02	91.48
<i>P. acidilactici</i> OBS65	9.14±0.07	8.22±0.07	89.93	9.44±0.1	9.06±0.04	95.97

Pediococcus suşları pH'sı 2 ve 3'e ayarlanmış simüle mide suyunda 3 saat inkübasyonun ardından canlılıklarını yitirmişlerdir (Çizelge 3). Riberio vd. (2014), *P. acidilactici* B14 ile yürüttükleri bir çalışmada pH'sı 2 ve 4 olacak şekilde hazırlanan mide suyunda 4 saat inkübasyon süresi sonunda

hücre konsantrasyonunda sırası ile 3.2 ve 0.4 log'luk bir düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. pH 4 olan mide suyunda aynı suşun %98 oranında hayatta kaldığını bildirmişlerdir. Tokatlı vd. (2015), yaptıkları bir çalışmada pH'sı 2.5 olan simüle mide suyunda turşudan izole edilen *P.*

ethanolidurans suşlarının 4 saat inkübasyon süresi sonunda %40-76 oranında canlı kalabildiklerini bildirmişlerdir. Digtã vd. (2020), *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Leuconostoc* spp. ve *Pediococcus* spp. ile yaptıkları çalışmada, 90 dakika süre ile pH'sı 2.5'e ayarlanmış simüle mide suyunda, canlı hücre seviyelerinin 10^8 - 10^9 kob/mL'den 10^4 kob/mL'ye önemli ölçüde düştüğünü bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar uygulama

süresinin 3 saatte tamamlanması ile hücre sayılarının bir log daha azalarak 10^3 kob/mL seviyesine indiğini belirlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda test ettikleri LAB arasında *P. pentosaceus* L3 ve *P. acidilactici* L5 izolatlarının simüle mide suyuna diğer LAB'ne kıyasla daha dirençli olduğunu tespit etmişlerdir.

Çizelge 3. *Pediococcus* suşlarının simüle mide suyunda hayatta kalma oranları

Table 3. Survival rates of *Pediococcus* strains in simulated gastric juice

Suşlar Strains	pH 2		pH 3	
	0. s <i>0. b</i>	3. s <i>3. b</i>	0. s <i>0. b</i>	3. s <i>3. s</i>
<i>P. acidilactici</i> OBS2	9.23±0.06	<1	9.46±0.03	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS6	8.04±0.04	<1	9.38±0.05	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS7	8.53±0.05	<1	9.33±0.07	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS10	8.25±0.01	<1	9.35±0.02	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS16	8.61±0.04	<1	9.6±0.01	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS19	8.08±0.08	<1	9.3±0.04	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS21	8.06±0.06	<1	9.39±0.08	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS22	9.06±0.06	<1	9.28±0.1	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS27	8.28±0.07	<1	9.39±0.07	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS28	8.13±0.11	<1	9.4±0.06	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS30	9.01±0.05	<1	9.24±0.06	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS35	9.22±0.04	<1	9.37±0.02	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS36	9.02±0.08	<1	9.32±0.02	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS38	9.18±0.06	<1	9.26±0.01	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS40	9.41±0.05	<1	9.29±0.09	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS42	9.28±0.03	<1	9.29±0.05	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS44	9.27±0.04	<1	9.37±0.04	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS49	9.34±0.08	<1	9.35±0.06	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS51	9.32±0.07	<1	9.34±0.04	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS52	8.58±0.01	<1	9.28±0.03	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS53	9.4±0.01	<1	9.13±0.13	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS54	9.44±0.05	<1	9.17±0.12	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS55	9.34±0.05	<1	9.23±0.06	<1
<i>P. pentasaceus</i> OBS56	9.41±0.05	<1	9.23±0.05	<1
<i>P. pentasaceus</i> OBS57	9.22±0.07	<1	9.52±0.06	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS58	9.32±0.02	<1	9.24±0.04	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS59	9.28±0.07	<1	9.06±0.11	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS60	9.37±0.03	<1	9.32±0.07	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS61	9.32±0.07	<1	9.2±0.02	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS62	9.28±0.09	<1	9.4±0.03	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS63	9.39±0.05	<1	9.2±0.08	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS64	9.01±0.06	<1	9.1±0.08	<1
<i>P. acidilactici</i> OBS65	9.15±0.02	<1	9.21±0.09	<1

Pediococcus suşlarının tamamı denenen safra tuzu konsantrasyonlarında 24 saat inkübasyon süresi sonunda canlılıklarını korumuş, hatta başlangıç

konsantrasyonlarına göre geliştikleri gözlemlenmiştir. 24 saat inkübasyon süresi sonunda %0.3, %0.5 ve %1 safra tuzu

konsantrasyonlarında hücre sayılarının sırasıyla 7.96 ± 0.02 - 8.88 ± 0.01 , 7.93 ± 0.02 - 8.47 ± 0.02 ve 7.1 ± 0.09 - 8.36 ± 0.01 log kob/mL arasında olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4). Geleneksel Etiyopya fermente sığır eti sosisi Wakalim'den izole edilen *P. pentosaceus* suşlarının %0.3 safra tuzu konsantrasyonuna toleranslı olduğu rapor edilirken (Doungeraki vd., 2013), diğer taraftan *P. acidilactici* B14 ile yürütülen bir çalışmada %0.3 ve %1 safra tuzu içeren ortamlarda kontrole kıyasla

söz konusu suşun hücre konsantrasyonunda sırası ile 2 ve 4 log'luk azalma olduğu bildirilmiştir (Riberio vd., 2014). Mevcut bulgular, %0.3 safra tuzu konsantrasyonlarında pediokokların hayatta kalma oranlarının yüksek olduğunu gösteren farklı çalışmalar ile paralellik göstermektedir (Abbasilasi vd., 2012; Barbosa vd., 2015; Ilavenil vd., 2016; Zomiti vd., 2018; Yin vd., 2020; Digutá vd., 2020).

Çizelge 4. *Pediococcus* suşlarının %0.3, %0.5 ve %1 safra tuzuna dayanımları (log kob/mL)
Table 4. 0.3%, 0.5% and 1% bile salt resistance of *Pediococcus* strains (log cfu/mL)

Suşlar Strains	%0.3 Safra tuzu 0.3% Bile salt		%0.5 Safra tuzu 0.5% Bile salt		%1 Safra tuzu 1% Bile salt	
	0. s	24. s	0. s	24. s	0. s	24. s
	0. b	24. b	0. b	24. b	0. b	24. b
<i>P. acidilactici</i> OBS2	7.15±0.01	8.28±0.01	7.54±0.04	8.06±0.04	6.46±0.07	7.52±0.05
<i>P. acidilactici</i> OBS6	7.46±0.07	8.88±0.01	7.38±0.07	8.5±0.01	7.3±0.08	8.16±0.11
<i>P. acidilactici</i> OBS7	7.48±0.05	8.44±0.19	7.61±0.04	8.24±0.08	6.98±0.02	8.04±0.08
<i>P. acidilactici</i> OBS10	7.49±0.05	8.44±0.06	7.6±0.06	8.21±0.04	6.98±0.02	7.95±0.04
<i>P. acidilactici</i> OBS16	7.12±0.59	8.23±0.00	6.78±0.03	8.54±0.02	6.56±0.02	8.1±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS19	7.3±0.09	8.32±0.21	7.47±0.05	8.36±0.04	6.96±0.1	8.09±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS21	7.27±0.02	8.7±0.07	7.54±0.06	8.24±0.09	7.13±0.01	8.06±0.11
<i>P. acidilactici</i> OBS22	7.08±0.07	7.98±0.12	7.36±0.03	7.93±0.02	7.08±0.1	7.47±0.05
<i>P. acidilactici</i> OBS27	7.2±0.06	8.15±0.1	7.55±0.02	8.11±0.08	7.25±0.02	7.95±0.04
<i>P. acidilactici</i> OBS28	6.94±0.09	8.29±0.14	7.46±0.08	8.39±0.06	7.14±0.03	8.36±0.01
<i>P. acidilactici</i> OBS30	7.04±0.03	8±0.00	7.5±0.07	8.21±0.05	6.99±0.07	8.01±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS35	7.27±0.02	8.19±0.04	7.78±0.04	8.12±0.01	7.14±0.05	8.18±0.08
<i>P. acidilactici</i> OBS36	7.08±0.07	8.4±0.04	7.58±0.01	8.39±0.00	7.15±0.01	8.13±0.08
<i>P. acidilactici</i> OBS38	7.02±0.08	8.02±0.02	7.52±0.03	8.01±0.11	7.01±0.06	8.15±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS40	7.02±0.04	8.37±0.06	7.49±0.04	7.98±0.13	6.96±0.02	8.07±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS42	7.17±0.05	8.45±0.02	7.44±0.02	8.19±0.06	6.57±0.01	8.01±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS44	6.96±0.02	7.96±0.02	7.07±0.03	8.35±0.04	7.13±0.12	7.93±0.02
<i>P. acidilactici</i> OBS49	7.1±0.03	8.05±0.05	7.51±0.07	7.99±0.11	7.22±0.07	8.24±0.1
<i>P. acidilactici</i> OBS51	7.07±0.09	8.1±0.02	7.47±0.05	8.15±0.04	7.03±0.08	8.22±0.04
<i>P. acidilactici</i> OBS52	7.09±0.1	8.32±0.05	7.04±0.15	8.01±0.05	6.96±0.05	7.28±0.08
<i>P. acidilactici</i> OBS53	7.21±0.06	7.98±0.05	7.35±0.05	8.47±0.05	7.01±0.12	7.24±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS54	7.05±0.04	8.07±0.07	7.2±0.04	8.15±0.13	7.12±0.03	7.1±0.09
<i>P. acidilactici</i> OBS55	7.16±0.04	7.98±0.02	7.01±0.06	8.29±0.06	7.06±0.07	8±0.00
<i>P. pentosaceus</i> OBS56	6.95±0.04	8.06±0.11	7.03±0.04	7.98±0.07	7.16±0.04	7.1±0.02
<i>P. pentosaceus</i> OBS57	7.09±0.1	7.96±0.02	7.01±0.02	8.16±0.07	6.96±0.05	7.24±0.09
<i>P. acidilactici</i> OBS58	6.99±0.04	8.34±0.03	7.03±0.07	8.35±0.06	7.16±0.07	8.06±0.02
<i>P. acidilactici</i> OBS59	7.08±0.07	8.57±0.04	7.08±0.07	8.56±0.03	7.15±0.13	8.01±0.05
<i>P. acidilactici</i> OBS60	7.18±0.08	8.03±0.1	7.2±0.08	8.29±0.08	6.98±0.13	7.45±0.06
<i>P. acidilactici</i> OBS61	7.14±0.12	7.96±0.02	7.26±0.05	8.17±0.05	7.22±0.02	7.53±0.05
<i>P. acidilactici</i> OBS62	7.18±0.06	8.51±0.008	7.23±0.07	8.19±0.01	7.2±0.06	7.98±0.14
<i>P. acidilactici</i> OBS63	6.96±0.06	8.64±0.02	7.22±0.06	8.27±0.08	7.37±0.06	7.96±0.02
<i>P. acidilactici</i> OBS64	7.09±0.12	8.3±0.03	7.25±0.1	8.47±0.02	7.19±0.11	7.95±0.04
<i>P. acidilactici</i> OBS65	6.91±0.06	8.04±0.08	7.08±0.07	8.09±0.1	7.23±0.11	7.9±0.0

İzolatların hidrofobisite oranlarının %61.42 ile %97.40 arasında olduğu bulunmuştur. *P. acidilactici* OBS58 suşunun en yüksek (%97.40), *P. acidilactici* OBS16 suşunun ise en düşük (%61.42) hidrofobisite değeri gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 5). Abbasiliası vd. (2017), *P. acidilactici* KP10 ile yürüttükleri çalışmada hidrofobisite yeteneğini ksilen, kloroform, etilen asetat ve n-hekzadekan olmak üzere dört solvente karşı denemişlerdir. Deneme sonucunda *P. acidilactici* KP10 suşunun dört solvent arasından %47.97 ile en yüksek hidrofobisite yeteneğini ksilene karşı gösterdiği tespit edilmiştir. Mikroorganizmalardaki hidrofobikliğin, hücre yüzeyindeki fibriler yapıların ve spesifik hücre duvarı proteinlerinin varlığı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu özelliğin, konağın mide-bağırsak sisteminde bakteri için hayati önem taşıyan bir rekabet avantajı sunduğu ileri sürülmektedir. LAB'nin fizikokimyasal özelliklerinden biri olan hücre hidrofobikliği probiyotik bakterilerin konak doku ile etkileşiminde çok önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca, hidrofobikliğin türler arasında değişiklik gösterdiği ve hücrelerin fizyolojik durumundaki varyasyonlarla veya suşlar arasında değişken yüzeyle ilişkili proteinlerin ekspresyonuyla değişebildiği rapor edilmiştir (Olajugbagbe vd., 2020).

Pediococcus suşlarının otoagregasyon yetenekleri %17.3 ile %64.78 arasında bulunmuştur. Buna göre, *P. acidilactici* OBS16 suşunun en yüksek (%64.78), *P. acidilactici* OBS62 suşunun ise en düşük (%17.3) otoagregasyon değerlerini gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 5). Benzer olarak Xu vd. (2009) yaptıkları çalışmada probiyotik *P. acidilactici* KACC 12307 suşunun otoagregasyon yeteneğinin %40'a yakın olduğunu bildirmişlerdir. Abbasiliası vd. (2017) de bakteriyosin benzeri antimikrobiyal madde üreten *P. acidilactici* Kp10 suşunun otoagregasyon yeteneğinin % 35.2 olduğunu rapor etmişlerdir. Diğer taraftan *Pediococcus* suşlarının daha yüksek otoagregasyon değerleri gösterdiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Zommiti vd. (2018), *P. pentosaceus* MZF16 suşunun yaklaşık % 88, Bhagat vd. (2020) ise *P. acidilactici* SMVDUDB2 suşunun %77.68 düzeyinde otoagregasyon

yeteneği gösterdiğini bildirmişlerdir. Bir probiyotik mikroorganizmanın sahip olması gereken standart bir otoagregasyon yüzdesi olmamasına rağmen, son zamanlarda %40'tan daha az otoagregasyona sahip probiyotik izolatların zayıf otoagregasyon özelliklerine sahip olduğu bildirilmiştir (Wang vd., 2010). Bu bilgi ışığında çalışma kapsamında incelenen *Pediococcus* suşlarının % 72,73'ünün (24/33) otoagregasyon değerlerinin % 40'dan büyük olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 5. *Pediococcus* suşlarının otoagregasyon ve hidrofobisite değerleri (%)

Table 5. Autoaggregation and hydrophobicity values of *Pediococcus* strains (%)

Suşlar Strains	Otoagregasyon Autoaggregation	Hidrofobisite Hydrophobicity
<i>P. acidilactici</i> OBS2	42.96±2.88	80.40±3.47
<i>P. acidilactici</i> OBS6	37.55±2.37	62.31±3.35
<i>P. acidilactici</i> OBS7	52.02±4.53	85.10±2.18
<i>P. acidilactici</i> OBS10	41.58±4.64	61.73±2.76
<i>P. acidilactici</i> OBS16	64.78±3.91	61.42±3.42
<i>P. acidilactici</i> OBS19	38.96±2.45	65.33±0.90
<i>P. acidilactici</i> OBS21	28.78±2.36	63.30±1.94
<i>P. acidilactici</i> OBS22	48.12±3.31	66.60±2.59
<i>P. acidilactici</i> OBS27	38.53±3.50	79.27±2.49
<i>P. acidilactici</i> OBS28	38.74±0.81	61.99±2.94
<i>P. acidilactici</i> OBS30	61.93±3.22	87.73±2.32
<i>P. acidilactici</i> OBS35	47.09±1.11	89.46±2.88
<i>P. acidilactici</i> OBS36	47.39±2.19	87.29±3.25
<i>P. acidilactici</i> OBS38	46.49±4.48	85.49±0.38
<i>P. acidilactici</i> OBS40	52.39±4.13	94.69±0.19
<i>P. acidilactici</i> OBS42	44.96±4.32	92.91±3.98
<i>P. acidilactici</i> OBS44	57.52±1.77	93.04±3.10
<i>P. acidilactici</i> OBS49	54.30±1.59	95.22±0.96
<i>P. acidilactici</i> OBS51	40.91±4.60	94.26±1.07
<i>P. acidilactici</i> OBS52	44.61±0.47	82.94±2.02
<i>P. acidilactici</i> OBS53	55.37±3.51	94.42±3.71
<i>P. acidilactici</i> OBS54	53.28±3.33	89.69±0.65
<i>P. acidilactici</i> OBS55	41.35±3.47	96.59±1.30
<i>P. pentosaceus</i> OBS56	49.26±2.12	96.84±1.21
<i>P. pentosaceus</i> OBS57	54.51±1.55	95.62±0.72
<i>P. acidilactici</i> OBS58	48.20±3.84	97.40±0.75
<i>P. acidilactici</i> OBS59	49.80±2.78	94.35±3.55
<i>P. acidilactici</i> OBS60	49.65±2.10	89.11±1.50
<i>P. acidilactici</i> OBS61	39.43±4.16	88.12±0.55
<i>P. acidilactici</i> OBS62	17.34±4.54	90.38±0.60
<i>P. acidilactici</i> OBS63	38.02±2.93	87.73±2.08
<i>P. acidilactici</i> OBS64	30.26±3.91	89.88±1.76
<i>P. acidilactici</i> OBS65	53.50±2.73	91.03±0.19

SONUÇ

Pediococcus cinsine ait türler arasında özellikle *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* türlerinin genetik, moleküler, fizyolojik ve probiyotik yönlerini inceleyen araştırmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Yapılan bu çalışmalar, çeşitli gıda matrislerinden izole edilen *Pediococcus* suşlarının, fonksiyonel gıda üretiminde önemli bir rol oynayabileceğini ve probiyotik kültür olarak pediokokların da kullanım potansiyeline sahip olduklarını ortaya koymaktadır. Yapılan bu çalışmada *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* suşlarının pH 1 ve 3'te dört saat inkübasyon süresince hayatta kalamadıkları ve simüle mide suyunda canlılıklarını koruyamadıkları görülmüştür. Ancak çalışmada *Pediococcus* suşlarının lizozime karşı direnç, safra tuzuna dayanım, fenole karşı direnç, hidrofobisite ve otoagregasyon yetenekleri bakımından ise probiyotik kültür olarak kullanım potansiyeline sahip oldukları belirlenmiştir. Bu nedenle izolatların mikroenkapsülasyon yolu ile midenin oluşturduğu sert çevresel koşullara dayanımlarının artırılması sayesinde probiyotik kültür olarak kullanılabilirler düşünülmektedir. İleride yapılacak çalışma ile *Pediococcus* suşlarının probiyotik olarak kullanılabilirlikleri için aktarılabildiği antibiyotik direnç genleri içerip içermediklerinin de araştırılması gerekmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu makalede yazarların başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKILARI

Bu çalışma BÖT tarafından tasarlanmış, analizler BÖT ve NY tarafından gerçekleştirilmiştir. Makalenin yazımı BÖT tarafından yapılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 4203-YL1-14 nolu proje ile maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Abbasiliasi, S., Tan, J.S., Ibrahim, T.A.T., Ramanan, R.N., Vakhshiteh, F., Mustafa, S. (2012). Isolation of *Pediococcus acidilactici* Kp10 with ability to secrete bacteriocin-like inhibitory

substance from milk products for applications in food industry. *BMC Microbiology*, 12: 260, doi: 10.1186/1471-2180-12-260.

Abbasiliasi, S., Tan, J.S., Bashokouh, F., Ibrahim, T.A.T., Mustafa, S., Vakhshiteh, F., Sivasambo, S., Ariff, A.B. (2017). In vitro assessment of *Pediococcus acidilactici* Kp10 for its potential use in the food industry. *BMC Microbiology*, 17: 121, doi: 10.1186/s12866-017-1000-z.

Aslan, B., Özden Tuncer, B. (2020). Sucuktan izole edilen *Pediococcus* suşlarının bazı teknolojik özelliklerinin belirlenmesi. *GIDA* 45 (6): 1109-1120, doi: 10.15237/gida.GD20086

Attri, P., Jodha, D., Gandhi, D., Chanalia, P., Dhanda, S. (2015). In vitro evaluation of *Pediococcus acidilactici* NCDC 252 for its probiotic attributes. *International Journal of Dairy Technology*, 68: 533-542, doi: 10.1111/1471-0307.12194.

Barbosa, J., Borges, S., Teixeira, P. (2015). *Pediococcus acidilactici* as a potential probiotic to be used in food industry. *International Journal of Food Science and Technology*, 50: 1151-1157, doi: 10.1111/ijfs.12768.

Basson, A., Flemming, L.A., Chenia, H.Y. (2008). Evaluation of adherence, hydrophobicity, aggregation characteristics and biofilm development of *Flavobacterium johnsoniae*-like isolates from South African aquaculture systems. *Microbial Ecology*, 55: 1-14.

Bhagat, D., Raina, N., Kumar, A., Katoch, M., Khajuria, Y., Slathia, P.S., Sharma, P. (2020). Probiotic properties of a phytase producing *Pediococcus acidilactici* strain SMVDUDB2 isolated from traditional fermented cheese product, Kalarei. *Scientific Reports*, 10: 1926, doi: 10.1038/s41598-020-58676-2.

Brennan, M., Wansmail, B., Johnson, B.C., Ray, B. (1986). Cellular damage in dried *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Food Protection*, 49: 47-53.

Callejon, S., Sendra, R., Ferrer, S., Pardo, I. (2017). Recombinant laccase from *Pediococcus acidilactici* CECT 5930 with ability to degrade tyramine. *PLOS ONE* 12: e0186019, doi: 10.1371/journal.pone.0186019.

- Chen, F., Zhu, L., Qiu, H. (2017). Isolation and probiotic potential of *Lactobacillus salivarius* and *Pediococcus pentosaceus* in specific pathogen free chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19: 325-332, doi: 10.1590/1806-9061-2016-0413.
- Conway, P.L., Gorbach, S.L., Goldin, B.R. (1987). Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *Journal of Dairy Science*, 70: 1-12.
- Digută, C.F., Nitoi, G.D., Matei, F., Lută, G., Cornea, C.P. (2020). The biotechnological potential of *Pediococcus* spp. isolated from Kombucha Microbial Consortium. *Foods*, 9: 1780, doi:10.3390/foods9121780.
- Dobson, C.M., Deneer, H., Lee, S., Hemmingsen, S., Glaze, S., Ziola, B. (2002). Phylogenetic analysis of the genus *Pediococcus*, including *Pediococcus clausenii* sp. nov., a novel lactic acid bacterium isolated from beer. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52: 2003-2010. doi: 10.1099/00207713-52-6-2003.
- Doulgeraki, A.I., Pramateftaki, P., Argyri, A.A., Nychas, G.-J.E., Tassou, C.C., Panagou, E.Z. (2013). Molecular characterization of lactic acid bacteria isolated from industrially fermented Greek table olives. *LWT-Food Science and Technology*, 50: 353-356, doi: 10.1016/j.lwt.2012.07.003.
- Fernandez, M.F., Boris, S., Barbes, C. (2003). Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*, 94: 449-455.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization (FAO/WHO), 2002. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, pp. 1–11. London, Ontario, Canada.
- Gad, S.A., El-Baky, R.M.A., Ahmed, A.B.F., Gad, G.F.M. (2016). In vitro evaluation of probiotic potential of five lactic acid bacteria and their antimicrobial activity against some enteric and food-borne pathogens. *African Journal of Microbiology Research*, 10: 400-409.
- Gilliland, S.E., Walker, D.K. (1990). Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *Journal of Dairy Science*, 73: 905-911.
- Grandy, G., Medina, M., Soria, R., Terán C.G., Araya, M. (2010). Probiotics in the treatment of acute rotavirus diarrhoea. A randomized, double-blind, controlled trial using two different probiotic preparations in Bolivian children. *BMC Infectious Disease*, 10(253): 1-7.
- Gupta, A., Sharma, N. (2017). Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria- *Pediococcus acidilactici* Ch-2 isolated from Chuli- a traditional apricot product of Himalayan region for the production of novel bioactive compounds with special therapeutic properties. *Journal of Food Microbiology Safety Hygiene*, 2:119. doi:10.4172/2476-2059.1000119.
- Hickson, M., D'Souza, A.L., Muthu, N., Rogers, T.R., Want, S., Rajkumar, C., Bulpitt, C.J. (2007). Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *BMJ*, 335(7610): 80. doi: 10.1136/bmj.39231.599815.55.
- Holzappel, W.H., Franz, C.M.A.P., Ludwig, W., Back, W., Dicks, L.M.T. (2006). "The genera *Pediococcus* and *Tetragenococcus*," in *The Prokaryotes*, eds M.F.S. Dworkin, E. Rosenberg, K. H. Schleifer and E. Stackebrandt, E. (New York, NY: Springer-Verlag), 229–266. doi: 10.1007/0-387-30744-3_8.
- Holzappel, W.H., Wood, B.J.B. (2014). *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy, 1st Edn.* Somerset Wiley. ISBN: 978-1-444-33383-1. p.632
- Ilavenil, S., Vijayakumar, M., Kim, D.H., Valan Arasu, M., Park, H.S., Ravikumar, S., Choi, K.C. (2016). Assessment of probiotic, antifungal and cholesterol lowering properties of *Pediococcus pentosaceus* KCC-23 isolated from Italian ryegrass. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(2): 593-601. doi: 10.1002/jsfa.7128.
- Mokoena, M.P., (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review.

- Molecules*, 22: 1255, doi: 10.3390/molecules22081255.
- Ng, S.Y., Koon, S.S., Padam, B.S., Chye, F.Y. (2015). Evaluation of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from traditional Malaysian fermented Bambang (Mangifera pajang). *CyTA- Journal of Food*, 13(4): 563-572.
- Oelschlaeger, T.A. (2010). Mechanisms of probiotic actions-A review. *International Journal of Medical Microbiology*, 300: 57-62.
- Olajugbagbe, T.E., Elugbadebo, O.E., Omafuvbe, B.O. (2020). Probiotic potentials of *Pediococcus acidilactici* isolated from wara; A Nigerian unripened soft cheese. *Heliyon* 6: 9 e04889.
- Pan, X., Chen, F., Wu, T., Tang, H., Zhao, Z. (2008). The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Food Control*, 10: 135-140.
- Papagianni, M., Anastasiadou, S. (2009). Encapsulation of *Pediococcus acidilactici* cells in corn and olive oil microcapsules emulsified by peptides and stabilized with xanthan in oil-in-water emulsions: studies on cell viability under gastrointestinal simulating conditions. *Enzyme Microbial Technology*, 45: 514-522.
- Park, S.C., Hwang, M.H., Kim, Y.H., Kim, J.C., Song, J.C., Lee, K.W. (2006). Comparison of pH and bile resistance of *Lactobacillus acidophilus* strains isolated from rat, pig, chicken, and human sources. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22: 35-37.
- Reuben, R.C., Roy, P.C., Sarkar, S.L., Alam, R., Jahid, I.K. (2019). Isolation, characterization, and assessment of lactic acid bacteria toward their selection as poultry probiotics. *BMC Microbiology*, 19: 253, doi: 10.1186/s12866-019-1626-0.
- Riberio, M.C.O., Vandenberghe, L.P.S., Spier, M.R., Paludo, K.S., Soccol C.R., Soccol, V.T. (2014). Evaluation of probiotic properties of *Pediococcus acidilactici* B14 in association with *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 for application in a soy based aerated symbiotic dessert. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(5): 755-765.
- Rosenberg, M., Gutnick, D., Rosenberg, E. (1980). Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. *FEMS Microbiology Letters*, 9: 29-33.
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.M., Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *Journal of Food Science and Technology*, 50: 1-16.
- Shani, N., Oberhaensli, S., Arias-Roth, E. (2021). Antibiotic susceptibility profiles of *Pediococcus pentosaceus* from various origins and their implications for the safety assessment of strains with food-technology applications. *Journal of Food Protection*, 84(7): 1160-1168.
- Shukla, R., Goyal, A. (2014). Probiotic potential of *Pediococcus pentosaceus* CRAG3: A new isolate from fermented cucumber. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 6: 11-21.
- Shyamala, G.R., Meenambigai, P., Prabhavathi, P., Raja, R., Yesudoss, L. (2016). Probiotics and its effects on human health- A review. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 5(4): 384-392.
- Suscovic, J., Brkic, B., Matosic, S., Maric, V. (1997). *Lactobacillus acidophilus* M92 as potential probiotic strain. *Milchwissenschaft* 52: 430-435.
- Teply, M. (1984). Ciste mlekarke kulture. Phara. SNTL Nakladatelstvi. Technicke Litertury. In: *Starters for Fermented Milks*, Kurmann JA (chief ed), IDF Bulletin 227; pp. 41-55.
- Thakur, N., Rokana, N., Panwar, H. (2016). Probiotics: selection criteria, safety and role in health and disease. *Journal of Innovative Biology*, 3(1): 259-270.
- Todorov, S.D., Dicks, L.M. (2009). Bacteriocin production by *Pediococcus pentosaceus* isolated from marula (*Scerocarya birrea*). *International Journal of Food Microbiology*, 132: 117-126.
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Elmacı, S.B., Egleyen, N.A., Özçelik, F. (2015). *In vitro* properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles. *BioMedical Research International*, Article ID 315819, 8.

- Vieira, K.C.D.O., Ferreira, C.D.S., Bueno, E.B.T., de Moraes, Y.A., Toledo, A.C.C.G., Nakagaki, W.R., Pereira, V.C., Winkelstroter, L.K. (2020). Development and viability of probiotic orange juice supplemented by *Pediococcus acidilactici* CE51. *LWT- Food Science and Technology*, 130: 109637.
- Villena, J., Kitazawa, H. (2017). Probiotic microorganisms; A closer look. *Microorganisms*, 5: 17-28.
- Vinderola c.g., Reinheimer, j.a. (2003). Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research Internainal*, 36: 895-904.
- Wang, L.Q., Meng, X.C., Zhang, B.R., Wang, Y., Shang, Y.L. (2010). Influence of cell surface properties on adhesion ability of Bifidobacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26: 1999-2007.
- Yin, H., Ye, P., Lei, Q., Cheng, Y., Yu, H., Du, J., Pan, H., Cao, Z. (2020). *In vitro* probiotic properties of *Pediococcus pentosaceus* L1 and its effects on enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced inflammatory responses in porcine intestinal epithelial cells. *Microbial Pathogenesis*, 144: 104163
- Yuksekdag, Z.N., Aslim, B. (2010). Assessment of potential probiotic and starter properties of *Pediococcus spp.* isolated from Turkish-type fermented sausages (Sucuk). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20: 161-168.
- Yüceer, Ö., Özden Tuncer, B. (2015). Determination of antibiotic resistance and biogenic amine production of lactic acid bacteria isolated from fermented Turkish sausage (sucuk). *Journal of Food Safety*, 35: 276-285.
- Zommiti, M., Bouffartigues, E., Maillot, O., Barreau, M., Szunerits, S., Sebei, K., Feuilloley, M., Connil, N., Ferchichi, M. (2018). *In vitro* assessment of the probiotic properties and bacteriocinogenic potential of *Pediococcus pentosaceus* MZF16 isolated from artisanal Tunisian meat “Dried Ossban”. *Frontiers in Microbiology*, 9: 2607, doi: 10.3389/fmicb.2018.02607.
- Xu H., Jeong H. S., Lee H. Y., Ahn J. (2009). Assessment of cell surface properties and adhesion potential of selected probiotic strains. *Letters in Applied Microbiology*, 49: 434-442, doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02684.x.