

Şalgam Suyu Üretiminde Gerçekleştirilen Hamur Fermantasyonu Sırasında İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması

Hasan Tangüler¹, Hüseyin Erten²¹Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sivas
²Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana

Geliş Tarihi (Received): 09.04.2012, Kabul Tarihi (Accepted): 23.07.2012

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): hasantanguler@hotmail.com (H. Tangüler)

☎ 0 346 219 10 10 📠 0 346 219 12 65

ÖZET

Bu çalışmada, geleneksel yöntem ile şalgam suyu üretiminde hamur fermantasyonu sırasında izole edilen laktik asit bakterileri tanımlanmıştır. İzole edilen kültürlerde Gram boyama ve katalaz testi, hücre morfolojisi, glikozdan CO₂ gazı üretimi, arjinin hidrolizi, nitratın indirgenmesi, asetoin üretimi, farklı sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonunda gelişme gibi özellikler test edilmiştir. Daha sonra, izole edilen türlerin karbon bileşiklerini kullanma özellikleri API 50 CH galerileri ve API CHL yardımı ile belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, izole edilen suşların hepsi Gram (+) ve katalaz negatif olup fermantasyon sırasında ortamdan en fazla izole edilen bakteri *Lb. plantarum*'dur. *Lb. plantarum* dışında ortamda en çok bulunan bakteriler *Lb. brevis* ve *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*'dir

Anahtar Kelimeler: Şalgam suyu, Laktik asit bakterileri, Hamur fermantasyonu, Tanımlama

Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated During the Process of Dough Fermentation in Traditional Shalgam Production

ABSTRACT

In this study, the lactic acid bacteria, isolated during the process of dough fermentation in traditional shalgam production, were identified. Isolates were tested for certain characteristics such as Gram reaction, catalase formation, cell morphology, CO₂ production from glucose, hydrolysis of arginine, nitrate reduction, acetoin formation, ability to grow at different temperature and pH and tolerance to salt. According to the results, all of the isolated species are Gram (+) and catalase (-), and the most frequently isolated bacteria during fermentation are *Lb. plantarum*. In addition to *Lb. plantarum*, the frequently found bacteria are *Lb. brevis* and *Lb. paracasei* subsp. *paracasei*.

Key Words: Shalgam beverage, Lactic acid bacteria, Dough fermentation, Identification

GİRİŞ

Fermantasyon yüzyıllardan beri bilinen en ekonomik gıda üretim ve koruma yöntemlerinden biridir. İnsanlar gıdaları saklama bilincine eriştikleri zamanlardan beri fermantasyondan yararlanmışlardır. Günümüzde de fermantasyon ürünlerine tüm toplumlarda rastlamak mümkündür. Bu ürünlerden sofralık zeytin, alkollü içkiler, turşu ve sirke evrensel nitelikte olup önemli ekonomik

değere sahiptir. Bu ürünler yanında dünya genelinde üretimi yöresel olarak sürdürülen pek çok fermantasyon ürünü olduğu bilinmektedir. Bunlardan biri de şalgam suyudur [1]. Adana, Hatay, Mersin, Osmaniye ve Kahramanmaraş illeri ile bu illere bağlı ilçelerde tüketilmekle beraber en yaygın olduğu yöre Adana ve yakın ilçeleridir [2,3]. Bu yörede açık olarak veya şişe ve plastik kaplar içerisinde tüketime sunulan şalgam suyu, yiyecek ve içeceklerle ilgili hemen her yerde

bulunmaktadır. Son yıllarda İstanbul ve Ankara gibi illerde de tüketilmeye başlanmıştır [2,4].

Kasım 2003 tarihinde revize edilen TS 11149 şalgam suyu standardında “Şalgam suyu, bulgur unu, ekşi hamur, içme suyu ve yemeklik tuzun karıştırılıp laktik asit fermantasyonuna tabi tutulduktan sonra elde edilen özütün, şalgam, mor havuç ve istenirse acı toz biber ilave edilerek hazırlanan karışımın tekrar laktik asit fermantasyonuna tabi tutulması ile elde edilen ve istendiğinde ısıl işlem ile dayanıklı hale getirilen bir ürün” olarak tanımlanmıştır [5].

Şalgam suyu üretiminde kullanılan temel hammadde havuçtur [6]. *Apiaceae* (önceleri *Umbelliferae*) familyasından iki yıllık bir bitki olan havuç'un bilimsel adı *Daucus carota*'dır ve binlerce yıldan beri yetiştirilmektedir [6-8]. 2002 yılında dünyada yıllık havuç (şalgam ile beraber) üretimi 21 milyon ton iken, 2010 yılında 33 milyon tonu geçmiştir. Türkiye 2002 yılında (235 bin ton) dünya'da 19. sırada iken 2010 yılında üretimini 533 bin tona çıkararak 10. sıraya yükselmiştir [9]. Şalgam suyu üretiminde botanik sınıflandırmaya göre antosiyanin grubunda olan siyah havuç, *Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef., kullanılır [2, 3]. *Curciferaceae* familyasından *Brassica* cinsine ait bir bitki olan şalgamın bilimsel adı *Brassica rapa* L.'dir [1, 3]. Yeşil kısımları yenebilen şalgam çok zengin besleyici maddeler içermektedir [10]. Bulgur unu (setik), bulgura işlenmek üzere kaynatılmış ve kurutulmuş buğdayın dış kabukları ayrıldıktan sonra, kırma haline getirilmesi sırasında oluşan ve elek altında kalan kısmı olup kırma haline getirilen tanenin %2-3'lük kısmını oluşturur. Şalgam suyu üretiminde mikroorganizmalar için besin kaynağı olarak rol oynar [1, 6]. Şalgam suyu üretiminde kullanıldığı gibi hayvan yemi olarak da kullanılmaktadır [10, 11].

Ekmek mayası, genellikle melas gibi şekerli hammaddelerden elde edilen *Saccharomyces cerevisiae* türü üst fermantasyon tipi kültür mayasıdır. Ekmek mayası sıvı, pres ve kuru maya olarak elde edilir. Şalgam suyu üretiminde maya olarak genellikle ekşi hamur kullanılır [1, 3, 6]. Şalgam suyu üretiminde kullanılan bu ekşi hamur, gece boyunca veya birkaç saat oda sıcaklığında ekmek mayası hamurunun fermantasyona bırakılması ile elde edilir [4, 6, 11]. Ekşi hamur, farklı laktik asit bakterileri ve mayaların karışık kültürlerini içeren fermantasyonda ekşi hamur ekmeğinin üretimi için kullanılmaktadır. Ekşi hamurda baskın laktik asit bakterileri *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. pontis*, *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. alimentarius*, *Lb. fructivorans*, *Lb. reuteri* ve *Lb. fermentum*'dur. Ekşi hamurda ikinci mikrobiyal flora olarak *Lactobacillus* (*Lb.*) dışında diğer laktik asit bakteri türleri de düşük seviyelerde bulunmaktadır. Öte yandan, *S. cerevisiae* ve daha az miktarlarda *S. exiguus*, *Candida krusei* ve *Candida milleri* gibi mayalarda bulunmaktadır [12-14]. Tuz denilince aksine bir belirtme yoksa sodyum ve klor iyonlarının birleşmesinden oluşan sodyum klorür anlaşılır. Şalgam suyu üretiminde kullanılan tuz, arıtılmamış kaya tuzudur [6].

Şalgam suyu üretimi ile ilgili standart bir üretim tekniği bulunmamakla birlikte, ticari olarak şalgam suyu üretimi geleneksel üretim (hamur fermantasyonu ve havuç fermantasyonu) ve hamur fermantasyonu uygulamadan yapılan doğrudan üretim olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilmekte olup endüstriyel olarak daha çok geleneksel yöntem kullanılmaktadır [2, 6]. Bu çalışmada, geleneksel üretim yönteminde bir işlem basamağı olan hamur fermantasyonu sırasında etkili olan laktik asit bakterileri izole edilip tanımlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Hamur fermantasyonu için bulgur unu, ekmek mayası, kaya tuzu ve su kullanılmıştır. Bulgur unu ve kaya tuzu “İçenbilir Hacının Şalgamı” işletmesinden temin edilmiş ve ekmek mayası bir marketten satın alınmıştır. Tanımlamalarda *Lb. buchneri*, *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum* ve *Lb. delbrueckii* bakterileri kontrol olarak kullanılmıştır.

Metot

Fermantasyonda Etkili Olan Laktik Asit Florasının Belirlenmesi

Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen denemelerde %3 bulgur unu, %0.2 tuz ve %0.2 ekşitilmiş maya karışımı, üzerine su ilave edilerek, yoğrulmuş ve hamur kıvamına getirilmiştir. Daha sonra 25°C'de 50 litrelik tankta hamur fermantasyonuna terk edilmiştir. Hamur fermantasyonu 3 gün süreyle yürütülmüştür.

Laktik Asit Bakterisi Florasının Belirlenmesi

Laktik asit bakterisi florasını belirlemek amacıyla fermantasyon süresince her gün aseptik koşullarda 25'er gram hamur örnekleri alınmış, 225 ml %0.85 steril fizyolojik tuzlu su ile süspansiyon edilmiş ve vorteks (karıştırıcı) ile 1 dakika homojenize edilmişlerdir. Bundan 1 mL örnek alınmış %0.85'lik tuzlu su ile gerekli seyreltme yapılmıştır. Daha sonra 0.1 mL seyreltilmiş örnekler, maya gelişimini önlemek için 50 µg/l sikloheksimit (aktidon) ilave edilmiş de Man, Rogosa ve Sharpe Agar, MRS agar, üzerine yayma yöntemi ile yayılmış ve petri kutuları içerisinde oksijeni uzaklaştıran gaz paketleri (Anaerocult) bulunan anaerob kavanozlarda 30°C'de 2-4 gün inkübe edilmişlerdir. Gerekli sayım yapıldıktan sonra farklı görünüme sahip koloniler alınmıştır. Daha sonra bu koloniler birkaç defa tekrar kültüre alınarak saflaştırılmış ve tanıları yapılmak üzere %20 gliserol içeren ortamda, -20°C'de saklanmışlardır.

Gerçekleştirilen çalışmada, katalaz testi McFaddin'e [15], Gram boyama, glikozdan CO₂ üretimi, arjinin ve nitrat testi Harrigan ve McCance'e [16], hareket testi Collins ve ark. [17]'a, asetoin üretimi Gürakan'a [18], metil red testi Halkman'a [19], farklı sıcaklık ve pH'larda gelişme testleri Carr ve ark.'na [20], farklı tuz

konsantrasyonlarına tolerans testleri Axelsson'a [21] göre yapılmıştır. Öte yandan, çeşitli karbon bileşiklerini özümleme testleri, API 50 CHL galerileri (BioMérieux, Fransa) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve izolatların tanıları API Lab software (API system, BioMérieux, Fransa)'de belirlenmiştir. Farklı kültür koleksiyonlarından temin edilen laktik asit bakterileri de kontrol olarak kullanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Biyoteknoloji laboratuvarında yapılan denemelerde hamur fermantasyonu 3 gün sürdürülmüştür. Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen denemelerde hamur fermantasyonları sırasında izole edilen laktik asit bakteri sayıları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Hamur fermantasyonu sırasında izole edilen farklı laktik asit bakterileri sayıları (adet)

	Deneme 1	Deneme 2	Deneme 3
0. gün	4	7	3
1. gün	4	6	3
2. gün	3	3	4
3. gün	3	3	4
Toplam	14	19	14

Tablodan da görüldüğü gibi hamur fermantasyonu sırasında günlük olarak alınan örneklerde farklı görünüme sahip olan koloniler izole edilmiş ve Deneme 1'den 14, Deneme 2'den 19 ve Deneme 3'den de 14 adet olmak üzere toplam 47 adet koloni izole edilmiş ve tanımlanmak üzere %20 gliserol içeren MRS ortamında, -20°C'de saklanmışlardır. Bakteriler tanımlanmadan önce -20°C'den MRS sıvı besiyerlerine alınmış (2 gün 30°C) ve aktif hale getirildikten sonra tek koloni düşecek şekilde MRS agarlar üzerine yayma yöntemi ile yayılmış ve petri kutuları içerisinde oksijeni uzaklaştıran gaz paketleri bulunan anaerob kavanozlarda 30°C'de 1-2 gün inkübe edilmişlerdir. Bakterilerin tanıları morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri ve API 50 CHL galerileri yardımı ile yapılmış ve başlangıçta, izole edilen kültürler gram boyama ve katalaz testine tabi tutulmuşlardır.

İlk gruplandırma hücre morfolojisi, hareket testi, glikozdan CO₂ gazı üretimi, nitrat redüksiyon testi, arjinin hidrolizi, asetoin üretimi, farklı sıcaklıklarda (10°C-45°C), farklı pH'larda (4.4-9.6), farklı tuz konsantrasyonlarında (%6.5-%18 NaCl) gelişme ve metil kırmızısı gibi fenotip özelliklere göre yapıldıktan sonra karbonhidratları kullanma testleri API 50CHL kitleri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir.

Morfolojik özelliklerin belirlenmesi mikroorganizmaların, özellikle bakterilerin, tanımlanması açısından çok önemlidir [22]. Bakteri hücresinin şekli çoğu zaman bakteri cins ve türlerinin tanımlanmasında ayırıcı özelliklerden birisi olup morfolojiye bağlı diğer kriterlere ait bilgiler de mikroskopik incelemeyle elde edilir. Bunun

için Gram boyama yapılır. Laktik asit bakterilerinde hareketlilik çok nadir görülen bir özelliktir [23].

Tablo 2'den de görüldüğü gibi izole edilen suşların hepsi Gram (+) ve katalaz negatiftir. Analizi gerçekleştirilen 47 laktik asit bakterisinden 4 tanesi (%8.51) kok şeklinde ve geri kalan 43 (%91.49) laktik asit bakterisinin çubuk şeklinde olduğu belirlenmiştir. Kok şekilli bakterilerden hiçbir hareketli değilken, çubuk bakterilerden 12 tanesi (%25.53) hareketlidir.

Laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında bunların fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin saptanabilmesi önemlidir. Tanımlamada ilk olarak kullanılan karakterler, bu bakterilerin oluşturdukları asit miktarı, optimum ve maksimum gelişme sıcaklıkları, farklı NaCl konsantrasyonlarındaki gelişme durumları, gaz ve uçucu bileşikler oluşturma yetenekleri ve pH'ya toleranstır. Bu özellikleri yanında fizyolojik ve biyokimyasal özellikler bakımından gerçekleştirilen tanımlamalarda Laktik asit bakterilerinin arjininden NH₃ oluşumu, asetoin üretimi, nitratin indirgenmesi gibi özellikler de değerlendirilir [23, 24].

Gerçekleştirilen analizler sonucu 47 adet laktik asit bakterisinin fizyolojik ve biyokimyasal özellikler bakımından suşlar arasında farklılıklar gözlemlendiği belirlenmiştir. Bakterilerden 11 tanesi glikozdan CO₂ oluşturmuş, 37 tanesi 10°C'de gelişebilmişken 10 tanesinde gelişme gözlenememiştir. Bununla beraber, 45°C'de sadece 3 bakteri de gelişme gözlemlenmiştir. pH 4.4'te tüm bakteriler gelişebilmişken, pH 9.6 ve %18 tuz konsantrasyonunda hiçbir bakteri gelişmemiştir.

Bakteri türlerini sınıflandırmak ve tanımlamak için çeşitli metotlar kullanılmaktadır [25]. Bunlardan geleneksel yöntemler türlerin ve tür içinde alt türlerin tanımlanması için kullanılmaktadır [26]. Tanımlamaların daha doğru ve güvenilir olabilmesi için farklı yöntemlerin bir arada destekleyici olarak kullanılması gerekir [25]. Laktik asit bakterilerinin tanımlamalarında hızlı yöntem olarak API kitleri yaygın olarak kullanılmaktadır [25, 27].

Tablo 2'de sonuçları verilen analizlere ilave olarak karbon bileşiklerini özümleme testleri için API kitleri ile de analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar bakterilerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri ile beraber değerlendirilmiş ve hamur örneklerinin bakteri florası belirlenmiştir.

Hamur Fermantasyonu Sırasında Laktik Asit Bakterisi Florası

Geleneksel yolla şalgam suyu üretiminde, birinci fermantasyonda denilen hamur fermantasyonu sırasında tanımlanan laktik asit bakterisi florası Tablo 3'te verilmiştir. Tablo 3'ten de görüldüğü gibi üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen hamur fermantasyonları sırasında toplam 47 adet laktik asit bakterisi izole edilmiş olup en fazla tanımlanan bakteri 19 adet (%40.43) ile *Lb. plantarum* türüne aittir.

Tablo 2. Hamur fermantasyonu boyunca izole edilen laktik asit bakterileri üzerinde yapılan morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal analizler

Suş No	Hücre Morfolojisi	Hareket	Gram Boyama	Katalaz	Glikozdan CO ₂ oluşumu	Arjinin	Nitrat	Asetoin	Sıcaklık °C		pH		Tuz %		Metil red
									10	45	4.4	9.6	6.5	18	
S1	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
S2	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
S3	Çubuk	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S4	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
S5	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
S6	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
S7	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
S8	Çubuk	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S9	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
S10	Çubuk	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S11	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
S12	Çubuk	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S13	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	Z
S14	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
S15	Çubuk	-	+	-	-	-	-	Z	+	-	+	-	+	-	+
S16	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
S17	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
S18	Çubuk	-	+	-	-	-	-	Z	+	-	+	-	+	-	+
S19	Çubuk	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S20	Çubuk	-	+	-	-	-	-	Z	+	-	+	-	+	-	+
S21	Çubuk	-	+	-	-	-	-	Z	+	-	+	-	+	-	+
S22	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
S23	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
S24	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
S25	Çubuk	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S26	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
S27	Çubuk	-	+	-	-	-	-	Z	+	-	+	-	+	-	+
S28	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	Z
S29	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
S30	Çubuk	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S31	Çubuk	-	+	-	-	-	-	Z	+	-	+	-	+	-	+
S32	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	Z
S33	Çubuk	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S34	Çubuk	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S35	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
S36	Kok	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-
S37	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	Z
S38	Kok	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-
S39	Çubuk	+	+	-	+	Z	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S40	Çubuk	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S41	Çubuk	-	+	-	-	-	-	Z	+	-	+	-	+	-	+
S42	Kok	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-
S43	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
S44	Çubuk	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+
S45	Çubuk	+	+	-	Z	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
S46	Çubuk	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
S47	Kok	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-

+: pozitif reaksiyon, -: negatif reaksiyon, z: zayıf reaksiyon

Lactobacillus cinsi bakterilerin sebze, et ve süt ürünleri gibi gıda fermantasyonlarında önemli rolü vardır [28]. Bu bakteriler genellikle, diğer laktik asit bakterilerinden daha çok asitlik koşullara dirençlidirler ve pH 4-5 civarında gelişme gösterebilirler [29]. Bitkisel ürünlerin doğal fermantasyonlarında, yüksek asitliğe ve tuz konsantrasyonlarına karşı dayanıklı olması nedeniyle *Lb. plantarum* baskın hale geçerek, pH'yı etkin bir şekilde düşürür [30-32].

Lb. plantarum, sebzelerin fermantasyonunda kullanılan, endüstriyel öneme sahip, aside dayanıklı bir laktik asit bakterisidir [33-35]. Bitkilerin doğal mikro florasında bulunan ve antagonisitk etkisi nedeniyle düşük pH,

organik asit, hidrojen peroksit, diasetil gibi metabolitlerin yanında ürettiği bakteriyosinlerle diğer mikroorganizmaların gelişimlerini inhibe eder.

Lb. plantarum'dan sonra en fazla tanımlanan bakteriler sırasıyla 12 adet (%25.53) ile *Lb. brevis* ve 10 adet (%21.28) ile *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* izlenmektedir. Bu 10 tane bakteriden Deneme 1 ve Deneme 2'de izole edilen bakteriler (toplam 8 adet) *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* 2 alt türüne ait olup, Deneme 3'de izole edilen bakteriler (toplam 2 adet) *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* 1 alt türüne aittir. Öte yandan, hamur fermantasyonları sırasında Deneme 1'de 2 adet (%4.26) *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* alt

türüne ait laktik asit bakterisi ve Deneme 3'de de 4 adet (%8.51) *Pe. pentosaceus* türüne ait laktik asit bakterisi belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Hamur fermantasyonu sırasında laktik asit bakteri florası

Suş No	Tanımlanan laktik asit bakterisi türü
S1	<i>Lb. plantarum</i>
S2	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>
S3	<i>Lb. brevis</i>
S4	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 2
S5	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 2
S6	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>
S7	<i>Lb. plantarum</i>
S8	<i>Lb. brevis</i>
S9	<i>Lb. plantarum</i>
S10	<i>Lb. brevis</i>
S11	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 2
S12	<i>Lb. brevis</i>
S13	<i>Lb. plantarum</i>
S14	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 2
S15	<i>Lb. plantarum</i>
S16	<i>Lb. plantarum</i>
S17	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 2
S18	<i>Lb. plantarum</i>
S19	<i>Lb. brevis</i>
S20	<i>Lb. plantarum</i>
S21	<i>Lb. plantarum</i>
S22	<i>Lb. plantarum</i>
S23	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 2
S24	<i>Lb. plantarum</i>
S25	<i>Lb. brevis</i>
S26	<i>Lb. plantarum</i>
S27	<i>Lb. plantarum</i>
S28	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 2
S29	<i>Lb. plantarum</i>
S30	<i>Lb. brevis</i>
S31	<i>Lb. plantarum</i>
S32	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 2
S33	<i>Lb. brevis</i>
S34	<i>Lb. brevis</i>
S35	<i>Lb. plantarum</i>
S36	<i>Pe. pentosaceus</i>
S37	<i>Lb. plantarum</i>
S38	<i>Pe. pentosaceus</i>
S39	<i>Lb. brevis</i>
S40	<i>Lb. brevis</i>
S41	<i>Lb. plantarum</i>
S42	<i>Pe. pentosaceus</i>
S43	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 1
S44	<i>Lb. plantarum</i>
S45	<i>Lb. brevis</i>
S46	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 1
S47	<i>Pe. pentosaceus</i>

Pediococcus (*Pe.*) spp. cinsine ait bakteriler, Gram pozitif, katalaz negatif, mikroaerofilik ve fermantatif kok şeklinde bakterilerdir. Koklar tekli ve ikili şekilde bulunabilirler veya kısa zincir veya tetrad oluşturabilirler [23, 35]. Hücreler 0.36-1.43µm çapındadır, hareketsiz olup spor ve kapsül oluşturmazlar [36]. *Pediococcus* cinsine ait türler tuza dayanıklı homofermantatif türlerdir ve bitkilerde, turşu, bira, şarap gibi fermente ürünlerde bulunurlar [35]. %5.5 tuz konsantrasyonunda rahatlıkla gelişme gösterirler. Şekerlerden %0.5-0.9 oranında laktik asit üretirler, gaz oluşturmazlar [36, 37]. 7-45°C'ler

arasında gelişme göstermekte olup, optimum gelişme sıcaklıkları ise 25-32°C arasındadır [35, 37].

Şalgam suyu üretiminde hamur fermantasyonu sırasında etkili olan laktik asit bakteri florası ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Hamur fermantasyonu sırasında etkili olan flora ekşi mayadan kaynaklanabilir. Ekşi maya kullanılarak çeşitli ekmekler üretilebilir. Ekmek üretiminde kullanılan ekşi mayanın florası ile ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda ekosistemden ekosisteme, bölgeden bölgeye ve ekşi hamur tipine göre değişiklik gösterdiği bildirilmiştir [38, 39].

Ekşi hamurlardan izole edilen bakteriler hamur fermantasyonundan izole ettiğimiz bakteriler ile benzer şekilde, genellikle *Lactobacillus* cinsine ait bakterilerdir [40]. Çeşitli araştırmacılar, ekşi hamurda baskın laktik asit bakterilerinin *Lb. brevis* ssp. *lindneri* (Eski adı *Lb. sanfranciscensis*), *Lb. plantarum*, *Lb. pontis*, *Lb. brevis*, *Lb. alimentarius*, *Lb. fructivorans*, *Lb. reuteri* ve *Lb. fermentum* olduğunu bildirmişlerdir. Öte yandan, *Lb.* yanında ortamda *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Enterococcus* cinslerine ait türlerin daha az sayıda bulunduğunu belirtmişlerdir [12-14, 40].

Menteş ve ark. [38] Ankara, Bursa ve Trabzon'dan aldıkları 20 farklı ekşi hamur örneğinden laktik asit bakterilerini izole etmişler ve izole ettikleri bakterilerden 150 tanesinin *Lactobacillus* cinsine ait tür ya da alt türler olduğunu bildirmişlerdir. Öte yandan, ekşi hamurlarda en fazla rastlanılan (dominant) türlerin *Lb. alimentarius* ve *Lb. plantarum* olduğunu ve bunların yanında *Lb. acidophilus*, *Lb. fermentum*, *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Lb. buchneri*, *Lb. brevis*, *Lb. reuteri*, *Lb. divergens* ve *Lb. viridescens* türlerinin de bulunabildiğini ileri sürmüşlerdir.

Bununla beraber, şalgam suyunda etkili olan laktik asit bakterileri ile ilgili çalışma sayısı da sınırlı olup gerçekleştirilen çalışmalarda, Erginkaya ve Hammes [41] toplam 48 saatlik fermantasyon sonucu ürettikleri şalgam sularında yapıları analiz sonucunda, şalgam suyu üretiminde fermantasyonu gerçekleştiren mikroorganizmaların *Lb. plantarum* ssp. *arabinosus*, *Lb. brevis* ve *Lb. fermentum* olduğunu belirlemişlerdir. Arıcı [42], kimyasal ve mikrobiyolojik yönden 25 adet şalgam suyu örneğini incelemiş ve şalgam sularında *Lb. plantarum* ve *Lb. paracasei* ssp. *paracasei*'nin bulunduğunu bildirmiştir. Gerçekleştirilen denemede hamur fermantasyonunda tanımlanan laktik asit bakterileri, hem ekşi hamurlardan izole edilen bakteriler ile [12-14, 40] hem de Erginkaya ve Hammes [41] ve Arıcı [42] tarafından şalgam suyunda tanımlanan laktik asit bakterileri ile uyum göstermektedir.

SONUÇ

Geleneksel olarak şalgam suyu üretiminde hamur fermantasyonu önemli bir işlem basamağıdır. Hamur fermantasyonu sırasında ortamda bulunan laktik asit bakterileri sayısında artış gözlenmekte bunun sonucu olarak istenilen laktik asit fermantasyonu için gerekli laktik asit bakterileri elde edilmiş olmaktadır. Daha önce, hamur fermantasyonu sırasında ortamda bulunan laktik

asit bakterilerinin tanımlanması ile ilgili herhangi bir yayına rastlanmamış olup ekşi hamur ve şalgam suyu üzerinde yapılan çalışmalarda da benzer laktik asit bakterilerinin tanımlandığı görülmüştür. Öte yandan, gerçekleştirilen çalışmada elde edilen bu bulgular şalgam suyu üretimi konusunda az olan bilimsel bilgi birikimine katkı sağlayacaktır.

TEŞEKKÜR

Çalışmaya verdikleri destekten dolayı TÜBİTAK'a (Proje No: 1060670), Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje no: ZF2006BAP17 ve ZF2006D31) ve Hacının Şalgamı İşletmesine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- [1] Canbas, A., Fenercioglu, H., 1984. Şalgam suyu üzerine bir araştırma *Gıda* 9: 279-286.
- [2] Tanguler, H., Erten, H., 2010. Some traditional lactic acid fermented products produced in Turkey. *The 1st International Symposium on "Traditional Foods from Adriatic to Caucasus"*, 15-17 April, 2010, Tekirdağ-Türkiye, 1034-1035p.
- [3] Erten, H., Tangüler, H., 2010. Fermente bitkisel ürünler. Alınmıştır: Gıda Biyoteknolojisi, Ed. Necla ARAN, Nobel Yayınevi: İstanbul, 241-278s.
- [4] Canbas, A., Deryaoğlu, A., 1993. Şalgam suyunun üretim tekniği ve bileşimi üzerinde bir araştırma. *Doğa-Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi* 17: 119-129.
- [5] T.S.E., 2003. TS 11149 Şalgam Suyu Standardı, Türk standartları Enstitüsü, Ankara.
- [6] Erten, H., Tanguler, H., Canbaş, A., 2008. A traditional Turkish lactic acid fermented beverage: Shalgam (salgam). *Food Reviews International* 24: 352-359.
- [7] Just, B.J., 2004. Genetic Mapping of Carotenoid Pathway Structural Genes and Major Gene Qtls for Carotenoid Accumulation in Wild and Domesticated Carrot (*Daucus carota* L.). University of Wisconsin-Madison, Doctor of Philosophy, PhD dissertation.
- [8] Kammerer, D. Carle, R., Schieber, A., 2004. Quantification of anthocyanins in black carrot extracts (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) and evaluation of their color properties. *European Food Research and Technology* 219 (5): 479-486.
- [9] FAO, 2012. <http://www.fao.org/corp/statistics/en/01.02.2012>.
- [10] Özler, N., Kılıç, O., 1996. Şalgam suyu üretimi üzerinde araştırmalar. *Gıda* 21: 323-330.
- [11] Deryaoğlu, A., 1990. Şalgam Suyu Üretimi ve Bileşimi Üzerinde Bir Araştırma. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 57s.
- [12] Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A., Di Cagno, R. 2005. Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science and Technology* 16: 57-69.
- [13] Paramithiotis, S., Gioulatos, Tsakalidou, E., Kalantzopoulos, G., 2006. Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria in sourdough. *Process Biochemistry* 41: 2429-2433.
- [14] Corsetti, A., Settanni, L., Valmorri, S., Mastrangelo, M., Suzzi, G., 2007. Identification of subdominant sourdough lactic acid bacteria and their evolution during laboratory-scale fermentations. *Food Microbiology* 24: 592-600.
- [15] McFaddin, J.F., 2000. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, Third Edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, USA, 506-509p.
- [16] Harrigan, W.F., McCance, M.E., 1990. Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology, 8th ed., Academic Press, London, 452p.
- [17] Collins, C.H., Lyne, P.M., Grange, J.M., 1995. Collins and Lyne's Microbiological Methods. Seventh Edition, Butterworth-Heinemann Ltd., Linacre House, Jordan Hill, Oxford, 493p.
- [18] Gürakan, G.C., 1991. Characterization of Lactobacilli and Staphylococci isolated from Turkish Dry Sausages, (Ph.D. Thesis), Department of Biotechnology, The Middle East Technical University, Ankara, 133p.
- [19] Halkman, A.K., 2005. Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. MERCK, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti., Ankara, 358s.
- [20] Carr, F.J., Chill, D., Maida, N., 2002. The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology* 28 (4): 281-370.
- [21] Axelsson, L., 1998. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology, In Lactic Acid Bacteria, Edited by S. Salminen and A. von Wright, Marcel Dekker, Inc., New York, 1-72p.
- [22] Grimont, P.A.D., 1999. Taxonomy and Classification of Bacteria. Manual of Clinical Microbiology, Edited by P.R. Murray, E. Jo Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, R.H. Tenover, ASM Press, Washington, 1773p.
- [23] Kılıç, S., 2008. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 542, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 451s.
- [24] Johansson, C.B., 1999. Bakterilerin Sınıflandırılması. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Editörler, Ş. Ustaçelebi, G. Mutlu, T. İmir, A.T. Cengiz, E. Tümbay ve Ö. Mete, Güneş Kitabevi, Ankara, 1339s.
- [25] Nigatu, A., Ahrne, S., Molin, G., 2000. Temperature-dependent variation in API 50 CH fermentation profiles of *Lactobacillus* species. *Current Microbiology* 41: 21-26.
- [26] Reuter, G., Klein, G., Goldberg, M., 2002. Identification of probiotic cultures in food samples. *Food Research International* 35: 117-124.
- [27] Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., Collins, J.K., 2001. Quality control *Lactobacillus* strains for use with the API 50CH and API ZYM systems at 37°C. *Journal of Basic Microbiology* 41 (5): 241-251.
- [28] Bernerdau, M., Vernoux, J.P., Henri-Dubernet, S., Gueguen, M. 2008. The *Lactobacillus* genus. *International Journal of Food Microbiology* 126: 278-285.

- [29] Hayaloğlu, A.A., Erginkaya, Z., 2001. Gıda Endüstrisinde Kullanılan Laktik Asit Bakterileri, Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No: 23, Bizim Büro Basımevi Yayın Dağıtım Sanayi Ticaret limited Şirketi, Ankara, 26s.
- [30] Desai, P., Sheth, T., 1997. Controlled fermentation of vegetables using mixed inoculum of lactic cultures. *Journal of Food Science and Technology* 34(2): 155-158.
- [31] Fleming, H.P., 1991. Mixed Cultures in Vegetable Fermentations, In *Mixed Cultures in Biotechnology*, Edited by J.G. Zeikus, E.A. Johnson, McGraw-Hill, Inc., New York, 69-103p.
- [32] Demir, N., 2000. Havuç suyu üretiminde total sıvılaştırma yöntemi uygulaması ve diğer bazı farklı teknikler üzerinde araştırmalar, (Doktora Tezi), Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, 145s.
- [33] Akçelik, M., Ayhan, K., 1988. Laktik asit bakterilerinin tedavi edici rolü. *Biyoteknoloji Haber Bülteni* 2: 2-3.
- [34] Barath, A., Corsetti, A., Halasz, A., Gelencser, E., 1999. New aspect for selection criteria of lactic acid starter cultures. *Proceedings of Euro Food Chemistry X*, 22-24 September, Budapest, Hungary, FECS-Event No: 234, Vol. 1, 37-45p.
- [35] Turantaş, F., 1998. Fermantasyonda Rol Oynayan Mikroorganizmalar, In *Gıda Mikrobiyolojisi*, Editörler: A. Ünlütürk ve F. Turantaş, Mengi Tan Basımevi, Çınarlı, İzmir, 433-453s.
- [36] Simpson, W.J., Taguchi, H., 1995. The Genus *Pediococcus* with Notes on the Genera *Tetragenococcus* and *Aerococcus*, In *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, Edited by B.J.B. Wood and W.H. Holzapfel, Vol. 2, Blackie Academic & Professional, London, 125-172p.
- [37] Ayhan, K., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Yayınları, Armoni Matbaacılık, Ankara, 37-80s.
- [38] Menteş, Ö., Akçelik, M., Ercan, R., 2004. Türkiye'de üretilen ekşi hamurlardan *Lactobacillus* suşlarının izolasyonu, identifikasyonu ve bu suşların temel endüstriyel özellikleri. *Gıda* 29 (5): 347-355.
- [39] De Vuyst, L., Vancanneyt, M., 2007. Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. *Food Microbiology* 24: 120-127.
- [40] Gül, H., Özçelik, S., Sağdıç, O., Certel, M., 2005. Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdough, *Process Biochemistry* 40: 691-697.
- [41] Erginkaya, Z., Hammes, W.P., 1992. Şalgam suyu fermantasyonu sırasında mikroorganizmaların gelişimi ve izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanmaları üzerine bir araştırma. *Gıda* 17(5): 311-314.
- [42] Arıcı, M., 2004. Microbiological and chemical properties of a drink called shalgam. (*Mikrobiologiske und Chemische Eigenschaften von Salgam*). *Ernahrungs-Umschau* 51 (1): 10.