

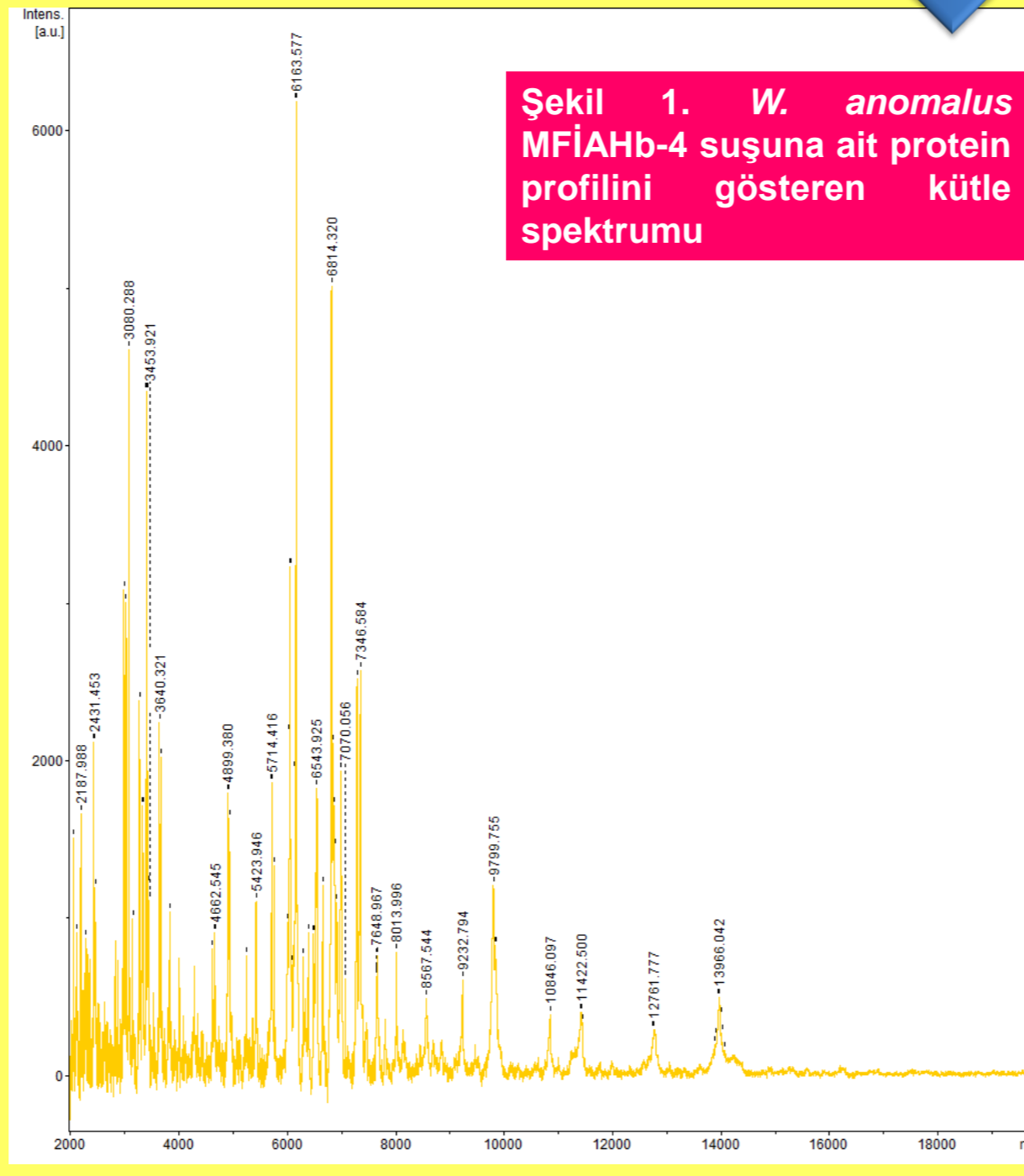
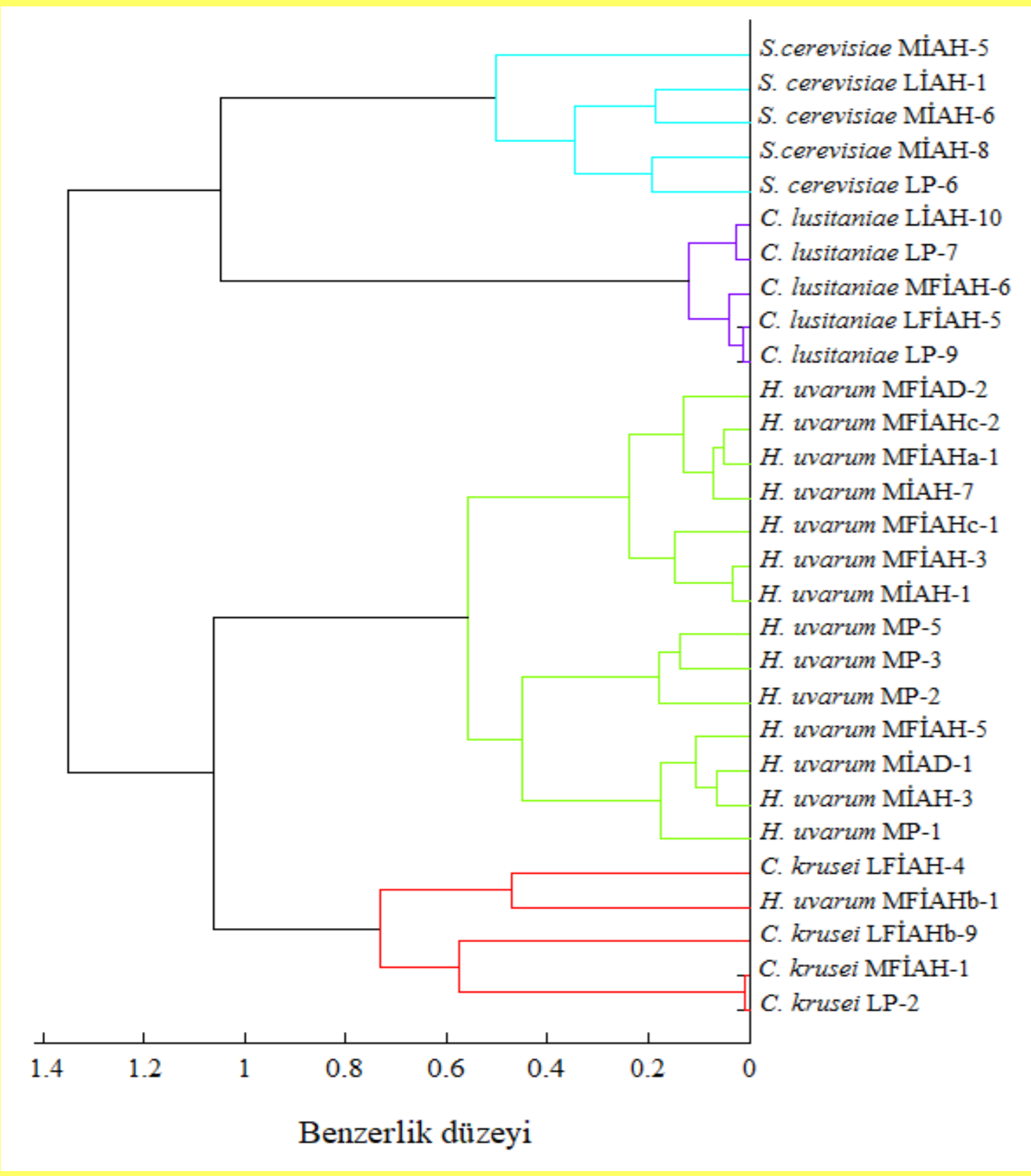
İRMİK ALTI UN İLE ÜRETİLEN KIZILCIK TARHANASININ MİKROBİYOTASININ İNCELENMESİ

Seda Karasu Yalçın*, Asiye Elvan Bellici, Kübra Eryaşar Örer, Erkan Yalçın
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
Gölköy Kampüsü 14280, Bolu. *e-posta: yalcin_s@ibu.edu.tr



Kızılçık tarhanası, Bolu ili başta olmak üzere Batı Karadeniz Bölgesinde üretilen ve coğrafi işaret tescilli ürünler arasında yer alan yöresel bir tarhana türü olup fermantasyon uygulanmaması ve yoğurt içermemesi nedeniyle farklılık göstermektedir (1). Çalışma kapsamında geleneksel yöntemin yanı sıra fermantasyona bırakılarak üretilen kızılçık tarhanasında hammadde olarak bir gıda endüstrisi artığı olan irmik altı un kullanılmıştır. Hammaddelerden ve üretimin çeşitli aşamalarından alınan örneklerin laktik asit bakterisi ve maya mikrobiyotası MALDI TOF-MS yöntemi kullanılarak Biotyper 3.1 yazılımı yardımıyla incelenmiştir. Kümeleme analizi sonucunda elde edilen dendogramlar aracılığıyla, kızılçık püresi ve tarhana örneklerinde ortak olan maya türleri arasındaki benzerlik profilleri değerlendirilmiştir.

- ✓ Kızılçık tarhanası üretimleri, Bolu'da bulunan ve çeşitli geleneksel ürünler üreten 'Behder' işletmesinde gerçekleştirilmiştir.
- ✓ **Fermantasyon uygulanmayan tarhana üretiminde;** kızılçık püresi, un ve tuz yoğrularak bir hamur haline getirilmiş ve iki gün süresince kurumaya (25°C / % 60 nem) bırakılmıştır. Ardından, kısmen kurutulmuş tarhana aynı koşullarda ve yedi gün tekrar kurutulmuştur.
- ✓ **Fermente tarhana üretiminde ise;** tarhana hamuruna 25°C'de 72 saat süren bir fermantasyon uygulanmıştır.
- ✓ Kızılçık püresi, irmik altı un ve tarhana hamurundan, ayrıca fermantasyonun 0, 24, 48 ve 72 saat aralıklarında ve ilk kurutma ile son kurutma aşamalarında örnekler alınmıştır.
- ✓ **MAYA İZOLASYONU:** YGC agar (28°C / 48 saat), YM agar besiyerinde kültürlerin saflaştırılması, mikroskopik morfolojilerin incelenmesi
- ✓ **LAKTİK ASİT BAKTERİSİ (LAB) İZOLASYONU:** MRS agar (37°C / 24-48 saat, anaerobik) ve M17 agar (aerobik); Katalaz testi; Gram boyama; mikroskopik morfolojilerin incelenmesi
- ✓ **TANIMLAMA:** MALDI TOF-MS (Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight spectrometry); Direkt transfer metodu, Direkt transfer-formik asit metodu; Ekstraksiyon metodu (2)
- ✓ Biotyper 3.1. yazılımı ile tanımlanacak olan suşun protein profiline ait kütle spektrumu yazılım içerisinde yer alan aynı türe ait çok sayıda mikroorganizmanın kütle spektrumu ile karşılaştırılmaktadır.
- ✓ Biotyper skoru > 2 ise tür; skor ≤ 1.99 ise cins düzeyinde tanımlama yapılmaktadır.



Şekil 1. *W. anomalous* MFIaHb-4 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu

Çizelge 1. Kızılçık tarhanasının çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları (P: kızılçık püresi; F: fermente; H: hamur; D: kurutulmuş; S: son ürün; a, b ve c fermantasyonun sırasıyla 24, 48 ve 72. saatleri)

İZOLAT NO	TANIMLAMA SONUCU	BIOTYPER SKORU
(kızılçık püresi)		
MP-1 / MP-2 / MP-3 / MP-5	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	2.129 / 2.166 / 2.226 / 2.129
LP-6 / LP-8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.041 / 1.981
LP-7 / LP-9	<i>Candida lusitanae</i>	2.407 / 2.420
LP-2 / LP-11	<i>Candida krusei</i>	2.208 / 1.797
(irmik altı un)		
MIAU-1 / LIAU-6	<i>Cyberlindnera fabianii</i>	2.235 / 2.160
LIAU-2	<i>Enterococcus faecium</i>	2.138 / 2.049 / 2.016 /
(fermantasyon yapılmayan tarhana)		
MIAH-1 / MIAH-3 / MIAH-7 / MIAH-1	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	2.235 / 2.160 / 2.102 / 2.280
MIAH-5 / MIAH-6 / MIAH-8 / LIAH-1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.138 / 2.049 / 2.016 / 2.154
MIAH-2 / MIAH-2 / MIAH-1 / MIAH-4	<i>Torulasporea delbrueckii</i>	2.101 / 2.363 / 2.161 / 2.021
MIAH-3	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	1.915
LIAH-10 / LIAD-8	<i>Candida lusitanae</i>	2.038 / 1.841
LIAH-6	<i>Bacillus oleronius</i>	2.048
LIAD-5	<i>Bacillus cereus</i>	1.806
(fermantasyon yapılan tarhana)		
MFIaH-3 / MFIaH-5 / MFIaHa-1 / MFIaHb-1 / MFIaHc-1 / MFIaHc-2 / MFIAD-2	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	2.223 / 2.125 / 2.204 / 2.208 / 2.330 / 2.263 / 2.234
LFIaHb-4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1.896
MFIaHa-4 / MFIaHb-2 / MFIAS-3	<i>Torulasporea delbrueckii</i>	2.527 / 2.376 / 2.000
MFIaHa-2 / MFIaHb-3 / MFIAS-2	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	1.810 / 1.861 / 1.833
MFIaH-6 / LFIaH-5 / LFIaHc-2 / LFIaHc-5 / LFIAD-4	<i>Candida lusitanae</i>	2.106 / 2.094 / 1.705 / 1.782 / 1.824
MFIaH-1 / LFIaHb-9 / LFIaH-4	<i>Candida krusei</i>	2.007 / 2.427 / 2.144
MFIaH-8	<i>Candida valida</i>	1.889
LFIaHb-8	<i>Candida parapsilosis</i>	2.397
MFIaHb-4 / MFIAD-1	<i>Wickerhamomyces anomalous</i>	2.347 / 1.946
LFIaH-1 / LFIaHc-7	<i>Bacillus cereus</i>	2.398 / 2.235
LFIaH-3 / LFIAD-6	<i>Bacillus licheniformis</i>	2.017 / 2.001
LFIaHa-1	<i>Bacillus pumilus</i>	1.190
LFIAS-1	<i>Bacillus circulans</i>	1.950

Şekil 2. İrmik altı un kullanılarak üretilen kızılçık tarhanasında MALDI TOF-MS ile tanımlanan suşların kümeleme analizi (P: kızılçık püresi; F: fermente; H: hamur; D: kurutulmuş; S: son ürün; a, b ve c fermantasyonun sırasıyla 24, 48 ve 72. saatleri)



- ✓ Kızılçık tarhanası mikrobiyotasının ağırlıklı olarak mayalardan oluştuğu ve bunun büyük ölçüde kızılçık meyvesi kullanımına bağlı olduğu belirlenmiştir.
- ✓ İrmik altı unda *Enterococcus faecium* tespit edilmiş, ancak tarhana üretimlerinde laktik asit bakterisine rastlanmamıştır.
- ✓ İzolasyonu yapılan 64 mikroorganizma arasından; *H. uvarum*, *S. cerevisiae*, *T. delbrueckii*, *M. pulcherrima* ve *C. lusitanae* başta olmak üzere toplam 41 mayanın tanımlamaları yapılmıştır.
- ✓ Ayrıca, farklı *Bacillus* türlerine ait 8 bakteriye rastlanmıştır.
- ✓ Fermente edilen kızılçık tarhanasında; *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. valida* ve *W. anomalous* türlerinin gelişmesine bağlı olarak, maya çeşitliliğinde geleneksel üretime göre artış görülmüştür (Çizelge 1).
- ✓ Kümeleme analizi sonucunda elde edilen dendogramlar aracılığıyla, kızılçık püresi ve tarhana örneklerinde ortak olan maya türleri arasındaki benzerlik profilleri değerlendirildiğinde, bazı suşların kaynaklarının aynı, bazılarının ise farklı oldukları görülmektedir (Şekil 2).

KAYNAKÇA:
1) Coşkun, F. (2014) History of Tarhana and Varieties of Tarhana in Turkey. Electronic Journal of Food Technologies, 9(3): 69-79.
2) Schuthess B, Brodner K, Bloemberg G, Zbinden R, Böttger E ve Hombach M (2013) Identification of Gram-Positive Cocci by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization- Time of Flight Mass Spectrometry: Comparison of Different Preparation Methods and Implementation of a Practical Algorithm for Routine Diagnostics, Journal of Clinical Microbiology, 51(6): 1834-1840.

TEŞEKKÜR:
Bu çalışmayı BAP - 2016.09.04.1084 numaralı araştırma projesi ile destekleyen Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına ve çalışmada elde edilen izolatların MALDI TOF-MS yöntemi ile tanımlanmasının gerçekleştirildiği Bilimsel Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi (BETUM)'ne teşekkür ederiz.