

PASTIRMADAN İZOLE EDİLEN LAKTOBASİLLERİN BAZI BİYOKİMYASAL VE FİZYOLOJİK ÖZELLİKLERİ

HAYDAR ÖZDEMİR *

BELGİN SIRIKEN**

Some biochemical and physiological characterization of lactobacilli isolated from pastırma

Summary: This study was undertaken to determine of some biochemical and physiological properties of lactobacilli isolated from pastırma. Among the total of 94 strains of lactobacilli isolated from the pastırma microflora, determined as 66 (70.2 %) homofermentative while only 28 (29.7 %) heterofermentative. From the isolated lactobacilli; that identified as 40 (42.5 %) *L. sake*, 9 (9.5 %) *L. Carnis*, 8 (8.5 %) *L. curvatus*, 8 (8.5 %) *L. divergens*, 7 (7.4 %) *L. alimentarius*, 6 (6.3 %) *L. casei* spp. *rhamnosus*, 6 (6.3 %) *L. confusus*, 5 (5.3 %) *L. Plantarum* and 5 (5.3 %) *L. viridescens*.

As a conclusion, it was determined that homofermentative lactobacilli created the dominant group of pastırma microflora, and among these, *L. sake* as the most identified species of the microflora, on the other hand heterofermentative lactobacilli species were also existed in the microflora.

Key Words: Pastırma, lactobacilli.

Özet: Bu çalışma, kürlenmiş bir et ürünü olan pastırmadan izole edilen laktobasillerin bazı biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerini saptamak amacıyla yapıldı. Bu kapsamda pastırma mikroflorasından izole edilen toplam 94 laktobasil suşundan, 66'sının (% 70.2) homofermentatif, 28'inin (% 29.7) ise heterofermentatif özellikte olduğu saptandı. İzole edilen laktobasillerden; 40'ı (% 42.5) *L. sake*, 9'u (% 9.5) *L. carnis*, 8'i (% 8.5) *L. curvatus*, 8'i (8.5) *L. divergens*, 7'si (% 7.4) *L. Alimentarius*, 6'sı (% 6.3) *L. casei* spp. *rhamnosus*, 6'sı (% 6.3) *L. confusus*, 5'i (% 5.3) *L. plantarum* ve 5'i de *L. viridescens* olarak tanımlandı.

Sonuç olarak incelenen pastırmalarda, homofermentatif laktobasillerin dominant mikroflorayı oluşturduğu ve bunlar içerisinde *L. sake*'nin en yüksek düzeyde temsil edildiği, diğer taraftan heterofermentatif laktobasil türlerinin de mikroflorada bulunduğu saptandı.

Anahtar kelimeler: Pastırma, laktobasil.

Giriş

Fermente sucuklarda laktobasillerin bulunuşu ve bunların tür düzeyinde dağılımına ilişkin bir çok çalışma bulunmasına karşın, pastırma ve benzeri salamura tipi et ürünlerinde laktobasillerin bulunuşu ve tür düzeyinde dağılımına ilişkin çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Pastırmalarda mikrobiyal floranın belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda, dominant mikroflorayı genelde yüksek tuz konsantrasyonuna dirençli mikrokok ve stafilokoklar ile psikrofil özellikteki laktik asit bakterilerinin oluşturduğu bildirilmektedir (7,12).

Pastırma florasında bulunan laktobasillerin, ürün kalitesi üzerinde önemli derecede etkilerinin olmadığını bildiren araştırmacılar (15) bulunmasına karşın, Lücke (14) salamura tipi et ürünlerinde, laktobasiller ile mikrokokların esas flora komponentlerinden olup, ürünün duysal ve mikrobiyolojik kalitesini düzelttiğini bildirmektedir. Buna ilaveten El-Khateib ve ark. (7) pastırmalarda pH değerleri ile laktobasil düzeyleri arasında bir ilişki olduğunu bildirmektedirler.

Bu çalışma, pastırma florasında bulunan laktobasil türlerinin bazı biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerini belirleyerek, bu konu üzerinde yapılacak çalışmalara ışık tutmak amacıyla yapıldı.

Materyal ve Metot

Pastırma Numunelerinin Hazırlanması: Bu çalışmada Ankara piyasasında satışa sunulan değişik firmalara ait 25 adet pastırma numunesi materyal olarak kullanıldı. Bu amaçla numunelerin her birinden 200'er g temin edilerek aseptik koşullarda laboratuvara getirildi.

Numunelerin Mikrobiyolojik Analizlere Hazırlanması: Numunelerden 20'şer gram steril plastik torbalara konularak üzerine 180 ml steril peptonlu su (% 0.1) ilave edildi ve karışım stomacherde (Lab-Blender 400) yaklaşık 3 dakika süreyle homojenize edildi (7).

Laktobasillerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu: Pastırma numunelerinin 10^{-6} 'a kadar desimal dilusyonları hazırlanarak, MRS agara (Merck Art.Nr.10660) yayma plak yöntemiyle ekildi ve plaklar 30°C de 3-5 gün süreyle anaerob ortamda (BBL-gas pak) inkübasyona bırakıldı (1). Daha sonra MRS agarda üreyen tek kolonilerden, MRS buyyona (Merck Art.Nr. 10661) geçilerek, 30°C de 24 saat süreyle anaerob ortamda inkübe edildi (5). Suşların buyyon kültürlerinden Gram boyama yapılarak, faz kontrast mikroskopta hücre morfolojileri incelendi. Saflığından şüphe edilen kolonilerden, MRS agara tekrar çizme yöntemiyle ekim yapılarak, kolonilerin saflaştırılması yapıldı. Saf olarak belirlenen kolonilerde, katalaz testi yapıldıktan sonra Gram (+), katalaz (-), kokoid ve çomak formundaki koloniler laktobasil olarak ayrılarak, bazı araştırmacıların (1,11,19,21) bildirdiği karbonhidrat fermentasyon testi, gaz oluşumu, arjinin hidrolizi, pH 3.9'da üreme, % 7.5-10 tuz konsantrasyonuyla 4; 15 ve 45°C de üreme yetenekleri yönünden test edilerek identifikasyonları yapıldı. Karbonhidrat fermentasyon testleri içerisinde glikoz ve et eksrakıtı bulunmayan ancak % 000.4 oranında klorfenolred ile % 1 düzeyinde test edilcek karbonhidratları içeren MRS buyyonda yapıldı (1,11). Gaz oluşumu sitrat içermeyen ve içerisinde durheim tüpleri bulunan MRS buyyonda, arjinin hidrolizi içerisinde et eksrakıtı ve glikoz bulunmayan ancak % 0.3 düzeyinde arjinin ile % 0.2 düzeyinde sodyum sitrat bulunan MRS buyyonda yapıldı ve arjinin hidrolizi Nessler ayırıcı ile saptandı. pH 3.9'da üreme yeteneği, pH'sı 3.9'a ayarlanmış MRS buyyonda, değişik tuz konsantrasyonunda üreme yetenekleri içerisinde % 7.5-10 düzeyinde tuz bulunan MRS buyyonda, değişik sıcaklık derecelerinde (4;15;45 $^{\circ}\text{C}$) üreme yetenekleri MRS buyyonda yapıldı (19,21).

Bulgular

Bu çalışmada, pastırmalardan izole edilen toplam 94 adet laktobasil suşundan 66'sının (% 70.2) homofermentatif, 28'inin (% 29.7) ise heterofermentatif özellikte olduğu saptandı. İzole edilen tüm suşlar Gram (+), katalaz (-), kokoid ve çomak formunda olup, biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri tablo 1 de gösterilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi, izole edilen laktobasillerden; 40'ı (% 42.5) *L. sake*, 9'u (% 9.5) *L. carnis*, 8'i (% 8.5) *L. curvatus*, 8'i (% 8.5) *L. divergens*, 7'si (% 7.4) *L. alimentarius*, 6'sı (% 6.3) *L. casei spp. rhamnosus*, 6'sı (% 6.3) *L. confusus*, 5'i (% 5.3) *L. plantarum* ve 5'i de (% 5.3) *L. viridescens* olarak identifiye edildi.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada pastırma numunelerinde laktobasiller ortalama olarak 10^6 - 10^7 kob/g düzeyinde saptandı. Pastırmada mikrobiyal floranın belirlenmesi amacıyla yapılan değişik çalışmalarda da (6,7,13) laktobasillerin, genelde 10^5 - 10^7 kob/g düzeyinde bulunduğu bildirilmektedir. Buna ilaveten yapım teknolojisi gereği, çemenleme işlemi dışında pastırmaya benzerlik gösteren kürlenmiş ve kurutulmuş et ürünlerinde de dominant florayı laktobasiller ile mikrokok/stafilokokların oluşturduğu bildirilmektedir (12).

Fermente sucukların olgunlaşması ve buna bağlı olarak kalite niteliklerinin oluşmasında, özellikle laktobasiller etkili olmaktadır. Laktobasiller olgunlaşma sırasında oluşturdukları laktik asit ile sucuklarda kıvam, renk, aroma oluşumu ve patojen mikro organizmaların baskılanmasında etkin rol oynarlar (3,8,14).

Olgunlaştırma sıcaklığı 20 - 22°C olan fermente sucuklarda, laktobasillerin bulunuşu üzerinde yapılan çalışmalarda (2,10,17) florada dominant grubu *L. sake* ve *L. curvatus*'un oluşturduğu, olgunlaştırma sıcaklığının 25°C ve daha yüksek olduğu koşullarda ise florada *L. plantarum*'un bulunma düzeyinin arttığı bildirilmektedir (10,14,18). Bu çalışmada identifikasyonu yapılan laktobasiller içerisinde, dominant grubu % 70.2 düzeyiyle homofermentatif laktobasiller oluşturmuş olup, bu sonuçlar Molina ve ark. (15) nin sonuçlarıyla uyum göstermektedir. Nitekim Molina ve ark. (15) çemenleme işlemi dışında, üretim teknolojisi yönünden pastırmaya benzerlik gösteren, kürlenmiş ve kurutulmuş et ürünlerinde homofermentatif laktobasillerin % 66 düzeyiyle dominant grubu oluşturduklarını bildirmektedirler.

Tablo 1: Pastırmadan İzole Edilen Laktobasillerin Bazı Biyokimyasal ve Fizyolojik Özellikleri.
Table 1: Some Biochemical and Physiological Characterization of Lactobacilli Isolated from Pastırma.

Testler	HOMOFERMENTATİF LAKTOBASİLLER 66 SUŞ (% 70.2)			HETEROFERMENTATİF LAKTOBASİLLER 28 SUŞ (% 29.7)					
	<i>L.sake</i> 40 suş (%42.5)	<i>L.curvatus</i> 8 suş (%8.5)	<i>L.alimentarius</i> 7 suş (%7.4)	<i>L.casei spp.</i> <i>rhamnosus</i> 6 suş (%6.3)	<i>L.plantarum</i> 5 suş (%5.3)	<i>L.carnis</i> 9 suş (%9.5)	<i>L.divergens</i> 8 suş (%8.5)	<i>L.confusus</i> 6 suş (%6.3)	<i>L.viridescens</i> 5 suş (%5.3)
Melibiyoz	+	-	-	66.4	+	22.2	25	-	-
Mannitol	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Melezitoz	-	-	-	66.4	+	22.2	37.5	-	-
Mannoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	-	-	-	33.2	+	-	-	-	-
Rafinoz	25	-	-	-	+	11.1	-	-	-
Salisin	82.5	25	+	83	+	+	+	+	-
Riboz	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sakkaroz	+	-	+	66.4	+	66.6	+	+	40
Arabinoz	75	37.5	+	-	+	-	-	-	-
Maltoz	37.5	75	+	+	+	+	+	+	+
Laktoz	77.5	50	-	+	+	77.7	-	-	-
Trehaloz	+	75	85.2	+	+	+	+	-	20
Sellobiyoz	80	75	+	83	+	+	+	+	-
Kisiloz	-	-	-	-	40	55.5	-	+	-
Ramnoz	42.5	-	-	49.8	60	22.2	-	-	-
Galaktoz	+	+	+	+	-	+	12.5	+	-
Gaz oluş.	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Arjinin	+	-	-	-	-	+	+	+	-
pH 3.9	+	+	+	83	+	-	25	-	20
%7.5 tuz	+	50	+	66.4	+	-	75	49.8	+
%10 tuz	22.5	25	71	-	40	-	-	-	60
4°C	+	+	+	+	+	+	+	-	+
15°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45°C	-	-	-	-	-	-	-	33.2	-

+ : Suşların %90 veya daha fazlası pozitif reaksiyon gösterdi. - : Suşların %90 veya daha fazlası negatif reaksiyon gösterdi. 11.1 - 85.2 : pozitif reaksiyon yüzdesi.

Bununla birlikte bu çalışmada identifiye edilen laktobasillerin tür düzeyinde dağılımıyla sayısal oranları yönünden, Molina ve ark. nın (15) sonuçları arasında farklılık bulunmakta olup, araştırmacılar homofermentatif laktobasiller içerisinde, % 43 düzeyiyle *L. alimentarius*' un dominant grubu oluşturduğunu bildirmelerine karşın, bu çalışmada % 42.5 düzeyiyle dominant grubu *L. sake* oluşturmuştur. Yine Molina ve ark. (15) çalışmalarında, heterofermentatif laktobasil türü olarak sadece *L. divergens*'i izole etmelerine karşın, bu çalışmada heterofermentatif özellikte olan *L. viridescens*, *L. divergens*, *L. carnis* ve *L. confusus* izole edildi. Bu farklılığın muhtemelen üretim teknolojisinin ve işletme florasının farklı oluşundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Dellaglio ve ark. (4) ile Silla ve ark. da (22), çemenleme işlemi dışında pastırma ile benzer yapım teknolojisine sahip İtalya ve İspanya tipi salamura et ürünlerinde, bu çalışmada olduğu gibi, homofermentatif laktobasillerin dominant grubu oluşturduğunu bildirmektedirler.

Yine değişik araştırmacılar (2,9,16,20) yaptıkları çalışmalarda homofermentatif laktobasillerin et ürünlerinde dominant floranı oluşturduklarını bildirmektedirler.

Lücke'de (14) salamura tipi et ürünlerinde laktobasiller ile mikrokokların esas flora komponentlerini oluşturarak, ürünün

duyusal ve mikrobiyolojik kalitesinin düzelttiğini bildirmektedir.

Fermente sucuklarda dominant grubu *L. sake* ve *L. curvatus*'un oluşturduğu, buna ilaveten heterofermentatif laktobasillerin çok nadir izole edildiği bildirilmesine karşın (2,10,14) bu çalışmada görüldüğü gibi heterofermentatif laktobasiller, pastırma florasında fermente sucuklara oranla daha yüksek düzeyde bulundu.

Sonuç olarak incelenen pastırmalarda, homofermentatif laktobasillerin dominant mikrofloranı oluşturduğu ve bunlar içerisinde *L. sake*'nin en yüksek düzeyde temsil edildiği, diğer taraftan heterofermentatif laktobasil türlerinin de mikroflorada bulunduğu saptandı.

Kaynaklar

1. Bantleon, A. (1987). *Lactobacillus sake* und *Lactobacillus curvatus* als Starterkulturorganismen für die Rohwurstreifung. Diss rer nat Uni Hohenheim.
2. Comi, G., Manzano, M., Citterio, B., Bersani, C., Cantoni, C., Bertoldi, M. (1993). *Physiologische Charakterisierung und Entwicklung von Laktobazillen*. Fleischwirtsch 73, 1312-1318.
3. Coretti, K. (1977). *Starterkulturen in der Fleischwirtschaft*. Fleischwirtsch 57 (3) 386-394.
4. Dellaglio, F., Torriani, S., Sansidoni, A., Golinelli, F., Ternini, D. (1984). *Caratterizzazione dei batteri lattici nelle prime fasi di stagionatura del prosciutto di San Daniele*. Ind Alimentari 23, 676-682.

5. **De Man, J. C., Rogosa, M. and Sharpe, M. E.** (1960). *A medium for the cultivation of lactobacilli*. J Appl Microbiol 23, 130-135.
6. **Doğruer, Y.** (1992). *Farklı Tuzlama Süreleri ve Baskılama Ağırılıklarının Pastırma Kalitesine Etkileri Üzerine Araştırmalar*. Doktora Tezi. S Ü Sağ Bil Enst Konya.
7. **El- Khateib, T., Schmidt, U. und Leistner, L.** (1987). *Mikrobiologische Stabilität von türkischer Pastırma*. Fleischwirtsch 67 (1), 101-105.
8. **Hammes, W. P., Bantleon, A. and Min, S.** (1990). *Lactic acid bacteria in meat fermentation*. FEMS Microbiol Reviews 87, 165-174.
9. **Hugas, M., Garriga, M., Aymerich, T. and Monfort, J. M.** (1993). *Biochemical characterization of lactobacilli from dry fermented sausages*. Int J Food Microbiol 18, 107-113.
10. **Kagermeier, A.** (1981). *Taxonomie und Vorkommen von Milchsäurebakterien in Fleischprodukten*. Diss rer nat Uni München.
11. **Kandler, O. and Weiss, N.** (1986). *Genus Lactobacillus*. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. II. Eds. Sneath, P. H. A and Holt, J. G., Williams and Wilkins Co. Baltimore.
12. **Katsaras, K., Lautenschläger, R. und Boschkova, K.** (1996). *Das Verhalten von Mikroflora und Starterkulturen während der Pökellung, Trocknung und Lagerung von Pastırma*. Fleischwirtsch 76 (3), 308-314.
13. **Krause, P., Schmoldt, R., Tolgay, Z., Yurtyeri, A.** (1972). *Mikrobiologische und serologische Untersuchungen an Lebensmitteln in der Türkei*. Fleischwirtsch (1), 83-86.
14. **Lücke, F. K.** (1986). *Mikrobiologische Vorgänge bei der Herstellung von Rohwurst und Rohschinken*. Fleischwirtsch 66, 302-309.
15. **Molina, I., Silla, H. und Flores, J.** (1989). *Studie über die Keimflora trocken gepökelter Schinken. 3: Milchsäurebakterien*. Fleischwirtsch 69 (11), 1754-1756.
16. **Morischita, Y., Shironizu, K.** (1986). *Characterization of lactobacilli isolated from meats and meat products*. Int J Food Microbiol 3, 19-29.
17. **Özdemir, H.** (1995). *Türk Fermente Sucuğu Florasındaki Dominant Laktobasil Türlerinin Sucuğun Organoleptik Nitelikleriyle İlişkisi*. Doktora Tezi, A Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
18. **Özdemir, H., Çelik, T. H., Erol, İ., Sırıken, B.** (1996). *Yüksek sıcaklık derecesinde olgunlaştırılan Türk fermente sucuklarında laktobasillerin seyir, izolasyon ve identifikasyonu*. Gıda No: 763. Baskıda.
19. **Reuter, G.** (1970). *Laktobazillen und eng verwandte Mikroorganismen in Fleisch und Fleischerzeugnissen. 2. Mitteilung: Die Charakterisierung der isolierten Laktobazillenstämme*. Fleischwirtsch 50 (7), 954-962.
20. **Sanz, B., Selgas, D., Parejo, I., Ordenez, J.** (1988). *Characteristics of lactobacilli isolated from dry fermented sausages*. Int J Food Microbiol 6, 199-205.
21. **Schillinger, U and Lücke, F. K.** (1987). *Identification of lactobacilli from meat and meat products*. Food Microbiol 4, 199-208.
22. **Silla, M. H., Innerarity, A., Flores, J.** (1985). *Características de jamones con cristales de tirosina*. ATA 25/1, 95-103.