

T.C  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ŞALGAMDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN  
DEKARBOKSİLASYON AKTİVİTELERİNİN VE BİYOJEN  
AMİN ÜRETME YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyolog Aysun METE**

**Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ**

**Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Serap C. AKDEMİR**

**AĞUSTOS 2011**

T.C.  
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ


ŞALGAMDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN  
DEKARBOKSİLASYON AKTİVİTELERİNİN VE BİYOJEN AMİN  
ÜRETME YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ


YÜKSEK LİSANS TEZİ

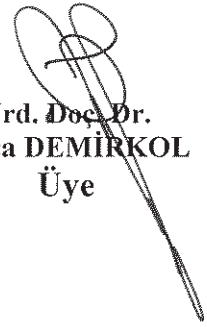
Biyolog Aysun METE

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 19/08/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

  
Yrd. Doç. Dr.  
Serap C. AKDEMİR  
Jüri Başkanı

  
Prof. Dr.  
Kamuran AYHAN  
Üye

  
Yrd. Doç. Dr.  
Omca DEMİRKOL  
Üye

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans dönemimde öncelikle maddi manevi hep yanımda olan, ilgisini, bilgisini ve tecrübesini hiçbir zaman eksik etmeyen değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Serap COŞANSU AKDEMİR' e, ardından yine tecrübesini ve ilgisini her zaman paylaşan değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Omca DEMİRKOL' a, maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Dilek ANGIN'a, maddi ve manevi olarak yardımlarını esirgemeyen, bilgisiyle bu çalışmamı zenginleştiren Sayın Prof. Dr. Kamuran AYHAN'a, çalışmalarım boyunca anlayışını eksik etmeyen bölüm başkanımız Sayın Doç. Dr. Ahmet AYAR' a, en başından beri her zaman yanımda olan, laboratuvar çalışmalarımda büyük katkısı olan sevgili arkadaşım Arş. Gör. Güliz YALDIRAK' a ve yine çalışmalarımda yanımda olan Yüksek Gıda Müh. Asuman YÜKSEL ÖZTÜRK' e, Gıda Müh. Ceren SEBAT' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma SAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje no: 2011-50-01-061). Bu nedenle çalışmamın gerçekleşmesinde maddi desteklerinden dolayı Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine teşekkür ederim.

Ayrıca, tüm hayatım boyunca hep yanımda olan, beni her daim destekleyen sevgili AİLEME, lisans ve yüksek lisans hayatım boyunca yüreğini ve desteğini hep yanımda hissettiğim sevgili eşim Ersin METE' ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
SUMMARY.....	ix
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1 Materyal.....	17
3.2 Yöntem.....	18
3.2.1 Geleneksel yöntemle şalgam suyu üretimi.....	18
3.2.2 Laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve ön identifikasyonu.....	19
3.2.3 Laktik asit bakterilerinin tanımlanması.....	19
3.2.3.1 Glikozdan gaz oluşumu.....	19
3.2.3.2 Arjinin hidrolizi.....	20
3.2.3.3 Farklı sıcaklıklarda gelişme.....	20
3.2.4 Dekarboksilaz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	20
3.2.5 İzolatların biyojen amin üretme yeteneklerinin belirlenmesi.....	21
3.2.5.1 İzolatların aminoasit içeren besiyerinde geliştirilmesi.....	21

3.2.5.2 HPLC cihazı.....	22
3.2.5.3 Biyojen amin standart çözeltilerinin hazırlanması.	23
3.2.5.4 Mobil faz.....	23
3.2.5.5 Örneklerin ekstraksiyonu ve türevlendirilmesi....	24
BÖLÜM 4.	
SONUÇLAR .....	25
4.1 Laktik asit bakterilerinin izolasyon ve ön identifikasyon sonuçları.....	25
4.2 Laktik asit bakterilerinin tanımlanması.....	25
4.3 Aminoasit dekarboksilaz testi sonuçları.....	28
4.4 Biyojen amin analiz sonuçları.....	30
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	34
KAYNAKLAR.....	39
EKLER.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	51

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ACN	: Asetonitril
AgNO <sub>3</sub>	: Gümüş nitrat
CH <sub>3</sub> COOH	: Asetik asit
C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	: Aseton
HClO <sub>4</sub>	: Perklorik asit
HOCH <sub>2</sub>	: Tris
K <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub>	: Potasyum kromat
Kob	: Koloni oluşturan birim
LAB	: Laktik asit bakterisi
MRS Broth	: Man Rogosa Sharpe Broth
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	: Sodyum karbonat
NaOH	: Sodyum hidroksit
PCA	: Plate Count Agar
TCA	: Triklor asetik asit
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
TRA	: Tiramin
PUT	: Putresin
AGM	: Agmatin

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Biyojen aminlerin oluşumunda metabolik iz yolu.....	4
Şekil 3.1.	Geleneksel yöntemle üretilen şalgam suyu üretim metodu .....	18
Şekil 3.2.	Laktik asit bakterilerinin ayrımı.....	19
Şekil 3.3.	Aminoasit dekarboksilaz testinin yapılışı.....	21
Şekil 3.4.	Çalışmada kullanılan HPLC sistemi.....	22
Şekil 4.1.	Aminoasit dekarboksilaz testi.....	28
Şekil 4.2	Standart biyojen aminlerin geliş sırası ve sürelerini gösteren kromatogram.....	30
Şekil 4.3	LAB izolatında biyojen aminlerin geliş sırası ve süresini gösteren kromatogram.....	31
Şekil 5.1	Bakterilerde arjinin metabolizması.....	37

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1.	HPLC cihazının özellikleri ve biyojen amin analizi için kromatografi koşulları.....	22
Tablo 3.2.	Kromatografide kullanılan gradient programı, toplam akış 1,3 ml/dk .....	24
Tablo 4.1.	İdentifikasyon sonuçları.....	26
Tablo 4.2.	Aminoasit dekarboksilaz testi sonuçları.....	29
Tablo 4.3	Tirozin ve arjinin ilave edilmiş MRS Broth besiyerine oluşan biyojen aminler ve miktarları (mg/l).....	32



## ÖZET

Anahtar kelimeler: Şalgam, Laktik asit bakterileri, Dekarboksilaz aktivitesi, Biyojen amin

Geleneksel yöntemle üretilen şalgam suyu örneklerinden fermantasyon süresince De Man Rogosa Sharp (MRS) Agar besiyerine yapılan ekim yapılmış ve 85 adet bakteri izole edilmiştir. Seksenbeş izolatanın 56 adedi laktik asit bakterisi (LAB) olarak doğrulanmıştır. Bunların 40 adedi streptobakteri, 11 adedi *Lactobacillus*, 3 adedi *Lactococcus*, birer adedi ise *Leuconostoc* ve *Streptococcus* olarak tanımlanmıştır. Histidin, ornitin, tirozin, lizin, fenilalanin, arjinin veya triptofan ilave edilmiş modifiye dekarboksilaz besiyerinde izolatların dekarboksilaz aktiviteleri test edilmiştir. Elli altı LAB suşunun 53 adedi hem arjinin hem de tirozin dekarboksilaz pozitif sonuç vermiştir. İzolatlardan biri (2C5) tirozin dekarboksilaz negatif, ikisi (4C10 ve 4E9) ise arjinin dekarboksilaz negatif reaksiyon vermiştir. LAB suşlarının hiçbiri histidin, ornitin, lizin, fenilalanin ve triptofan aminoasitlerini dekarboksile edememiştir. LAB suşları tirozin ve arjinin ilave edilmiş MRS Broth besiyerinde geliştirildikten sonra besiyerinde oluşan biyojen aminler HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) ile kantitatif olarak belirlenmiştir. İzolatların tamamı agmatin (105,78 - 867,53 mg/l) ve tiramin (24,52 - 649,72 mg/l) üretmişlerdir. Putresin üretimi ise sadece 0A8 nolu izolatta belirlenememiş, diğerleri ise 2,09 ile 33,34 mg/l aralığında putresin üretmişlerdir. Tirozin dekarboksilaz negatif reaksiyon veren 2C5 nolu izolatanın tiramin, arjinin dekarboksilaz negatif reaksiyon veren 4C10 ve 4E9 nolu izolatların ise agmatin ve putresin ürettikleri belirlenmiştir. Diğer bir deyişle dekarboksilaz testi bu üç izolatta sahte negatif sonuç vermiştir. İzolatlarda ornitin dekarboksilaz aktivitesine rastlanmamasına rağmen MRS Broth besiyerinde geliştirildiklerinde putresin oluşması nedeniyle, bu bakterilerin agmatin üzerinden agmatin deaminaz veya agmatinaz ve N-Karbamolputresin hidrolaz enzimleri ile putresin oluşturdukları düşünülmektedir. Buna göre, laktik asit bakterilerinin şalgam fermantasyonu sırasında özellikle tiramin ve agmatin oluşumundan sorumlu oldukları ve az miktarda da putresin ürettikleri sonucuna varılmıştır..

# **DETERMINATION OF DECARBOXYLATION ACTIVITY AND BIOGENIC AMINES-PRODUCING ABILITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM SHALGAM**

## **SUMMARY**

Key Words : Shalgam, Lactic acid bacteria, Decarboxylase activity, Biogenic amine

Serial dilutions from shalgam samples produced by traditional method were spread onto De Man Rogosa Sharpe (MRS) Agar and typical colonies were isolated. Out of 85 isolates, 56 confirmed as lactic acid bacteria (LAB). These isolates were identified as follow; 40 streptobacteria, 11 *Lactobacillus* spp., 3 *Lactococcus* spp., 1 *Leuconostoc* sp and 1 *Streptococcus* sp. Decarboxylase activity of isolates were tested using modified decarboxylase medium, added one of the histidine, ornithine, tyrosine, lysine, phenylalanine, arginine or tryptophan amino acids. Fifty three of 56 LAB isolates gave positive results for both arginine and tyrosine decarboxylase. One of the isolates (2C5) was tyrosine decarboxylase negative while two isolates (4C10 and 4E9) gave negative reaction for arginine decarboxylase. None of isolates could decarboxylate histidine, ornithine, lysine, phenylalanine or tryptophan. After LAB strains were grown in MRS Broth containing tyrosine and arginine, biogenic amines were detected quantitatively by HPLC (High Pressure Liquid Chromatography). All strains produced agmatine (105.78 – 867.53 mg/l) and tyramine (24.52 – 649.72 mg/l). Production of putrescine was not detected only for one isolate (0A8) while other isolates produced putrescine at the range from 2.09 to 33.34 mg/l. Tyrosine decarboxylase negative isolate (2C5) produced tyramine and arginine decarboxylase negative isolates (4C10 and 4E9) produced agmatine and putrescine. In other words, these three isolates gave false-negative results at decarboxylase test for corresponding amino acids. Although none of the isolates decarboxylated ornithine, almost all of the isolates produced putrescine suggesting these bacteria produced putrescine via agmatine deaminase or agmatinase and N-Carbomoylputrescine hydrolase enzymes. Therefore, it was concluded that during shalgam fermentation LAB were mainly responsible for tyramine and agmatine formation, as well as a small amount of putrescine.

## BÖLÜM 1. GİRİŞ

Aminoasitler laktik asit bakterileri (LAB) için önemli besin ögeleri olup, hücre içi pH kontrolü, enerji üretimi ve stres direnci gibi fizyolojik olaylarda rol alırlar. LAB'nin aminoasit metabolizması gıda kalitesi ve gıda güvenliği açısından da önemlidir. Çünkü bazı gıdalarda aminoasitler karakteristik aromanın oluşumuna katkıda bulunurlar. Diğer yandan sağlık açısından risk olarak kabul edilen biyojen aminler aminoasitlerin dekarboksilasyonu ile oluşmaktadır. Yapılan çalışmalar LAB nin aminoasitleri tamamen metabolize edebildiklerini, ancak bu özelliğin türler arasında büyük ölçüde değiştiğini göstermiştir (Tamam *et al.*, 2000; Kieronczyk *et al.*, 2001; Williams *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2003).

Dekarboksilaz enzimleri LAB' nin özellikle aminoasit katabolizma yolunda önemli rol oynarlar. Aminoasitler asidik şartlar altında aminleri oluşturmak için dekarboksile edilebilirler. Belirli dekarboksilaz enzimleri pH 5.0 ve altında çok iyi aktivite gösterirler.

Biyojen aminler, aminoasitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve keton gruplarının transaminasyonu ile oluşan azotlu bileşiklerdir. Gıdalarda biyojen amin oluşumu gıdalarda varolan aminoasitlerin dekarboksilasyonu ve enzimatik aktivite için uygun koşulların oluşmasıyla dekarboksilaz enzim aktivitesine sahip mikroorganizmaların faaliyeti sonucu meydana gelmektedir. Özellikle balık ve ürünleri, et ve et ürünleri, peynir gibi çeşitli gıdalarda, bira, şarap, lahana turşusu gibi fermente ürünlerde, önemli miktarda oluştukları bildirilmektedir (Shalaby, 1996).

Laktik asit fermantasyonu ile elde edilen şalgam suyu, kırmızı renkli, bulanık, ekşi lezzetli bir içecektir (Canbaş ve Fenercioğlu, 1984; Canbaş ve Deryaoğlu, 1993; Türker *et al.*, 2007; Arslan *et al.*, 2005). Fermantasyonda *Lactobacillus*

*sanfranciscensis*, *Lactobacillus pontis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus fermentum*, *Saccharomyces cerevisiae* ve az oranda *Saccharomyces exiguous*, *Candida krusei* ve *Candida milleri* etkilidir (Erginkaya ve Hammes, 1992; Blandio *et al.*, 2003; Paramithiotis *et al.*, 2006).

Şalgam suyu fermantasyonu sırasında etkili olan LAB'nin dekarboksilaz enzim aktiviteleri ve biyojen amin oluşturma yetenekleri üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada şalgam suyu fermantasyonu sırasında laktik asit bakterilerinin izolasyonu, tanımlanması, dekarboksilasyon enzim aktivitelerinin ve biyojen amin oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

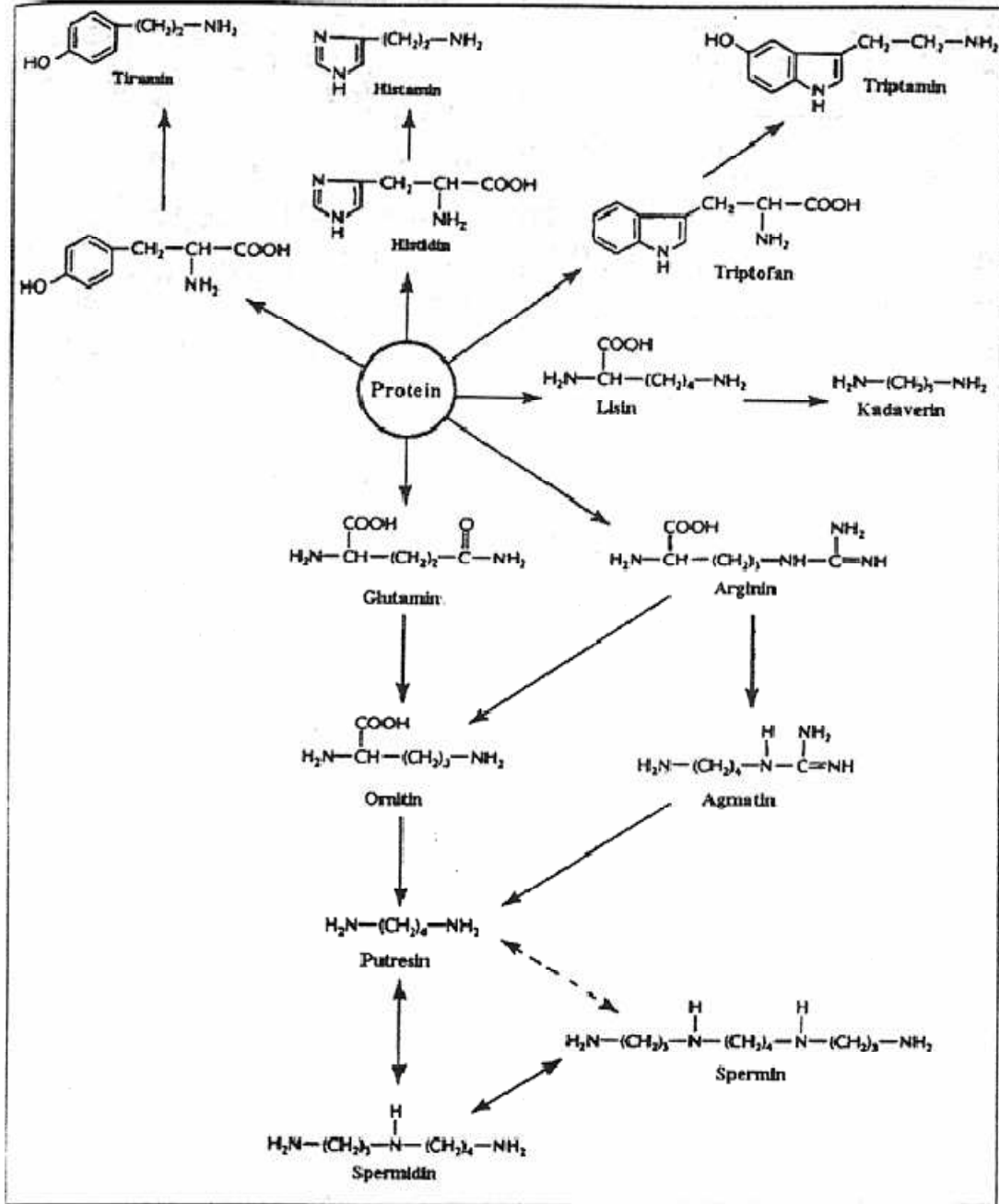
## BÖLÜM 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Biyojen aminler çeşitli fermente gıdalarda bulunan düşük moleküler ağırlıklı azotlu bileşiklerdir ve genel olarak aminoasitlerin mikrobiyal dekarboksilasyonu ile üretilirler (Anlı ve Bayram, 2009). Gıdalarda biyojen amin üretimi hem dekarboksilaz enzimi üretme kapasitesine sahip mikroorganizmaların varlığına hem de dekarboksilaz sentezi için gerekli şartların uygunluğuna bağlıdır (Ayhan ve Durlu-Özkaya, 2007). Mikroorganizmaların amin üretimi asidik bir çevreye karşı koruyucu mekanizmaları ile ilişkilidir (Arena ve Manca de Nadra, 2001). Aminler laktik asit bakterileri tarafından aminoasit dekarboksilasyonu ile peynir, sucuk, fermente sebzeler ve alkollü içecekler gibi gıda ve içeceklerin fermantasyonu sırasında oluşur (Ibe *et al.*, 1992; Lonvaud-Funel, 2001; Suzzia ve Gadrini, 2003; Loret *et al.* 2005). Poliaminler olarak nitelendirilen spermin ve spermidinin ise putresinden meydana geldiği ileri sürülmektedir (Kalać *et al.* 1999). Bazı biyojen aminlerin oluşum mekanizmaları Şekil 2.1' de gösterilmiştir.

Gıdalarda biyojen aminlerin varlığı ve birikimi öncelikle aminoasit dekarboksilaz enzim aktivitesine sahip, laktobasil, enterokok, mikrokok ve birçok enterobakteri suşu gibi mikroorganizmaların varlığıyla ilişkilidir (Suzzi ve Gadrini, 2003; Martuscelli *et al.*, 2005). Histamin, tiramin, putresin, kadaverin, triptamin, 2-feniletilamin, spermin, spermidin ve agmatin gıdalarda oluşan önemli biyojen aminlerdir.

Gıdalarda düşük seviyedeki biyojen aminler ciddi bir risk olarak görülmez. Ancak, tüketilen miktar yüksek ise veya amin katabolizmasının normal rotasını inhibe ediyorsa, hipotansiyon (histamin, putresin, kadaverin varlığında), hipertansiyon (tiramin varlığında), mide bulantısı, baş ağrısı, kızarıklık, baş dönmesi, kalp çarpıntısı, kusma ve hatta beyin kanaması, anafilaktik şok sendromu ve ölüm gibi

çeşitli fizyolojik etkilerle sonuçlanabilir (Shalaby, 1996; Halász *et al.*, 1994; Silla Santos 1996).



Şekil 2.1 Biyojen aminlerin oluşumunda metabolik iz yolu (Yücel *et al.*, 2001)

Bütün biyojen aminler aynı derecede toksik değillerdir. Histamin, tiramin ve 2-feniletilamin diğer biyojen aminlere göre daha yüksek toksik etkiye sahiptirler (Shalaby, 1996). Ayrıca putresin ve kadaverin de histaminin toksisitesine katkıda bulduklarından gıda zehirlenmelerinde önemli rol oynarlar. Poliaminler kanserojen

bileşikler olarak bilinen nitrozaminleri oluşturan nitritle reaksiyona girebilirler. Gıda maddeleri ve içeceklerdeki biyojen amin seviyelerini belirlemek sadece toksikolojik açıdan değil, ayrıca gıdaların tazeliğinin veya bozulma derecesinin indikatörü olarak kullanılabilmesi açısından da önemlidir (Özdestan ve Üren, 2009). Bu nedenle biyojen amin indeksinin (BAI) resmi bir kalite kriteri olarak kullanılması ve biyojen aminlerin toksik limitlerinin ürün etiketleri üzerinde belirtilmesi önerilmektedir (Ayhan ve Durlu- Özkaya, 2007).

Gıdalarda maksimum izin verilebilir biyojen amin miktarını net olarak söylemek mümkün değildir, çünkü bunlar diğer aminlerin varlığına ve bireysel tepkilerine bağlıdır (Halász *et al.*, 1994). Ayres *et al.* (1980)' e göre insan vücudu yaklaşık olarak 6 mg/kg biyojen amin/öğün tolere edebilmektedir. Nout (1994) fermente gıdalar için kabul edilebilir seviyeleri histamin için 50-100 mg/kg, tiramin için 100-800 mg/kg, 2-feniletilamin için 30 mg/kg ve toplam biyojen amin için 100-200 mg/kg olarak belirtmiştir. Silla-Santos (1996), toplam biyojen amin içeriği için 1000 mg/kg'ı kabul edilebilir seviye olarak önermiştir. Halász *et al.* (1994), gıdaların histamin miktarının 100 mg/kg en üst limit ve alkollü içeceklerin histamin miktarının 20 mg/l olarak rapor etmişlerdir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda sucuk, zeytin, turşu, kefir, şalgam ve şarap gibi fermente ürünlerde biyojen amin oluşumu, miktarları ve etkileyen faktörler araştırılmıştır. Ayhan *et al.* (1999) Türk sucuğunda biyojen amin oluşumunda starter kültürlerin etkisi üzerine bir araştırma yapmışlardır. Depolama sürecinde bütün kontrol örneklerinde putresin ve tiramin oluşumu gözlemlenirken, starter kültür katılan örneklerde sadece tiramin oluşumu gözlemlenmiştir.

Durlu-Özkaya *et al.* (2000) tulum peynirinde biyojen amin varlığını incelemiştir. Feniletilamin ve putresin baskın biyojen aminler olarak bulunmuştur. Depolama şartlarında bakterilerin proteolizinden dolayı biyojen amin konsantrasyonu artmıştır.

Durlu-Özkaya *et al.* (2001) et ürünlerinden izole ettikleri *Enterobacteriaceae* familyası tarafından üretilen biyojen aminler üzerine inceleme yapmışlardır. Bu

çalışma sonucu kültür ortamında ve et ürünlerinde oluşan başlıca biyojen aminlerin putresin, kadaverin, tiramin ve histamin olduğunu belirtmişlerdir.

Ergen (2006) sofralık yeşil ve siyah zeytin örneklerindeki biyojen amin miktarlarının belirlenmesi üzerine yaptığı çalışmasında zeytinlerde en yüksek konsantrasyona sahip biyojen aminlerin, sırasıyla, triptamin, tiramin ve feniletilamin olarak belirlemiştir. Belirlenen değerler içerisinde en düşük konsantrasyon aralığına sahip biyojen aminin histamin, rastlanma sıklığı en düşük biyojen aminin ise spermin olduğu görülmüştür. Zeytin örneklerinde belirlenen feniletilamin, putresin, histamin, tiramin ve toplam biyojen amin miktarlarının toksit limitlerin altında olduğu anlaşılmıştır.

Akbaş (2006) değişik turşularda biyojen amin miktarları üzerine yaptığı çalışmasında en yüksek konsantrasyona sahip biyojen aminlerin, sırasıyla, putresin, kadaverin, triptamin, en düşük konsantrasyona sahip biyojen aminin ise spermin olarak belirlemiştir.

Turgut (2006) starter kültür katılarak üretilen hıyar turşularında biyojen amin oluşumu üzerine bir araştırma yapmıştır. Starter katılan örneklerde, sırasıyla, putresin, feniletilamin ve triptamin, kontrol örneklerinde ise feniletilamin, putresin ve triptaminin en yüksek konsantrasyona sahip biyojen aminler olduğu ve starter kültür ilavesinin biyojen amin oluşumunu engellediği belirlenmiştir.

Yeğin ve Üren (2008) benzoil klorür ile türevlendirdikleri boza örneklerini HPLC metodu ile analiz etmişlerdir. Bütün boza örneklerinde tiramin, putresin ve spermidin belirlenmiştir. Miktarı en yüksek biyojen aminin tiramin olduğu gözlenmiştir. Boza örneklerinin toplam biyojen amin miktarları ise 13 ve 65 mg/kg aralığında değişmektedir.

Coşansu (2009) tarafından yapılan çalışmada boza örneklerinin biyojen amin içeriklerinde geniş bir varyasyon gözlenmiştir. Yirmibir boza örneğinin 18'inin en az bir biyojen amini içerdiği ve biyojen amin konsantrasyonlarının en yüksekten düşüğe



doğru tiramin, kadaverin, triptamin, putresin,  $\beta$ -feniletilamin ve histamin şeklinde sıralandığı belirlenmiştir.

Özdestan ve Üren (2010) fermente bir süt ürünü olan kefirde tiramin, putresin, kadaverin ve spermidin bulmuşlardır. Kefir örneklerinin toplam biyojen amin miktarı 2.4 ve 35.2 mg/l arasındadır. Kefir örneklerinin biyojen amin konsantrasyonları ile asiditileri ve toplam serbest amin asit içerikleri arasında önemli bir korelasyon gözlenmiştir.

Özdestan ve Üren (2010), Türkiye’de farklı üreticilerden aldıkları 20 şalgam örneğinin biyojen amin içeriğini araştırmışlardır. Putresin, kadaverin, histamin ve tiraminin tüm şalgam örneklerinde bulunduğunu belirlemişlerdir. Putresin en yaygın bulunan biyojen amin olup konsantrasyonu 5,0-42,3 mg/l aralığındadır. Toplam biyojen amin içeriği ise 26.7-134.3 mg/l’ dir.

Yüksel (2010) geleneksel yolla ürettiği şalgam suyunda farklı tuz konsantrasyonları uygulayarak biyojen amin oluşumu üzerine etkilerini incelemiştir. Toplam biyojen amin oluşumuna bakıldığında tuz konsantrasyonunun artışı ile biyojen amin oluşumunun azaldığı görülmüştür ve bu durum tuzun etkisiyle mikroorganizma gelişiminin ve mikrobiyel dekarboksilaz enzim aktivitelerinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Araştırmada, şalgam örneklerinde triptamin, putresin ve feniletilamin tespit edilmiş, en yüksek konsantrasyona sahip biyojen aminin triptamin, en düşük konsantrasyona sahip biyojen aminin ise feniletilamin olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan geleneksel yöntemle üretilen şalgam sularında histamin ve tiramin saptanamamıştır. Feniletilamin konsantrasyonunun tuz oranının artmasıyla birlikte azaldığı tespit edilmiştir. Yüksek tuz konsantrasyonunun en çok triptamin ve feniletilamin oluşumunu azalttığı saptanmıştır.

Yaldırak (2011) geleneksel yolla ürettiği şalgam suyunda farklı sıcaklık konsantrasyonları uygulayarak biyojen amin oluşumu üzerine etkilerini incelemiştir. Triptamin, feniletilamin ve putresin fermantasyonun 1., 2. ve 3. günlerinde 35°C de 25°C ye oranla istatistiksel açıdan önemli miktarda az oluştuğu belirlenmiştir. Ancak triptamin ve putresin konsantrasyonundaki bu farkın fermantasyonun 4. ve 5.

günlerinde ortadan kalktığı, feniletülinin konsantrasyonunun ise fermantasyonun 4. ve 5. günlerinde 35°C' de daha düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. Fermantasyon sonunda şalgam sularındaki toplam biyojen amin miktarının 127,04 ile 141,25 mg/l arasında değiştiği ve bu değerlerin içecekler için belirlenen toksik limit değerinden (20 mg/l) fazla olduğu tespit edilmiştir.

Gıdalarda biyojen aminlerin üretiminde, aminoasitleri dekarboksile edebilme yeteneğine sahip bakteriler rol oynamaktadır. Bakteriler tarafından üretilen dekarboksilaz enzimi ile aminoasitlerde bulunan  $\alpha$ -karboksil grubu ayrılarak ilgili amin üretilmektedir. Otolitik veya bakteriyel olarak oluşabilen proteoliz olayı, proteinlerden serbest aminoasitlerin meydana gelmesine neden olduğundan dekarboksilaz reaksiyonları için substrat sağlanmış olur.

Aminoasitler asidik şartlar altında dekarboksile olur ve biyojen aminler oluşur. Bazı dekarboksilaz enzimleri pH 5.0 ve altında optimum olarak aktiftirler. Bu tip dekarboksilaz enzimleri sadece organizmalar asidik şartlar altında geliştiği zaman oluşurlar ve hücrelerin dekarboksilaz enzim aktiviteleri çeşitli gelişme şartları altında değişir. Örneğin gelişme ortamının pH değeri düştükçe organizma ortama adaptasyon göstermek için daha çok enzim üretir (Gale, 1940a).

Farklı bakteriler arasında farklı dekarboksilaz enzimlerinin dağılımı, bir aminoasitin dekarboksilasyonu ve aminoasit molekülünün kendisi için her enzimin spesifik olduğunu gösterir. Aminoasit dekarboksilaz enzimleri asidik bir çevrede gelişmeye cevap olarak belirli bakteriler tarafından üretilirler (Gale, 1941). Türler ve suşlar arasında dekarboksilaz enzimlerinin dağılımı, her bir aktivitenin bir aminoasit için spesifik olan bir enzim tarafından üretildiğini gösterir (Gale, 1940b, c).

Aminoasitler laktik asit bakterilerinin (LAB) metabolizmasında önemli rol oynarlar. Örneğin hücre içi pH değerinin dengede tutulması, enerji üretimi ve stres direnci gibi fizyolojik olaylara katkıda bulunurlar. Sonuç olarak, aminoasit katabolizmasının regülasyonu geniş bir dizi genel ve spesifik regülatör içerir ve LAB arasında önemli farklılıklar gösterir.

LAB'nin aminoasit metabolizması aminoasitlerin bazı gıdaların karakteristik lezzetine önemli bir katkıda bulunmaları açısından da önem taşımaktadır. Dahası aminoasitler biyojen amin gibi bileşiklerin öncü maddeleridir. Yapılan çalışmalar LAB'nin aminoasitleri tamamen metabolize edebildiklerini göstermiştir, ancak aminoasit azaltma yeteneği türler arasında büyük ölçüde değişir (Tamam *et al.*, 2000; Kieronczyk *et al.*, 2001; Williams *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2003). Dekarboksilaz enzimleri LAB'nin aminoasitlerin katabolik iz yollarında önemli rol oynarlar. Bazı LAB ayrıca dekarboksilasyonla aromatik aminoasitleri de metabolize edebilirler.

*Lactobacillus* suşlarının bazılarında triptofan dekarboksilaz enzim aktivitesi belirlenmiştir. Ancak reaksiyon ürünü olan triptamin bu kültürlerin süpernatantlarında bulunamamıştır (Gao *et al.*, 1997). Tirozin dekarboksilaz enzim aktivitesi, fermente ürünlerde en çok bulunan biyojen amin tiramin olduğu için büyük ilgi görmüştür. Vazoaktif ve psikoaktif özellikleri içeren toksikolojik problemler yüksek seviyede tiramin içeren gıdaların tüketimiyle ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle içecek ve gıdalarda tiramin üreten bakterilerinin varlığından kaçınılması tavsiye edilmiştir (Silla Santos, 1996).

Gıdalarda histamin oluşumu sağlık ve gıda güvenliği açısından endişe yarattığı için histidin dekarboksilasyonu önem taşımaktadır (Taylor, 1986; Halász *et al.*, 1994; Silla Santos, 1996; Suzzi ve Gadrini, 2003). Histidin dekarboksilaz yeteneği suşa bağımlı olmakla birlikte, proteobakteriler, clostridiumlar ve LAB'lerinin çoğunda bulunduğu rapor edilmiştir (Halász *et al.*, 1994; Marino *et al.*, 2000). LAB içinde histidin dekarboksilaz aktivitesi *Lactobacillus*, *Oenococcus*, *Pediococcus* ve *Tetragenococcus* suşlarının bazılarında tanımlanmıştır (Rodwell, 1953; Rice ve Koehler, 1976; Recsei *et al.*, 1983; Lonvaud-Funel ve Joyeux 1994; Satomi *et al.*, 1997; Lucas *et al.*, 2005). Histidin dekarboksilaz enziminin asidik pH'da aktif formda olduğu, nötral veya alkalın pH'da ise bu aktivitesini azalttığı belirlenmiştir. Bu yüzden histidin dekarboksilaz enzim aktivitesi hücre içi pH değerine bağlı olarak regüle edilir. pH değerinin bu regüle edici etkisi histidin dekarboksilasyonunun asidik pH'ya karşı koruma mekanizması olarak oluştuğu görüşü ortaya konmuştur (Schelp *et al.*, 2001).

Arjinin dekarboksilaz enzimi arjinini agmatine dönüştürür. Bu aktivite arjinin varlığında hücreler geliştiğinde agmatin birikimine bağlı olarak sadece *Lb. hilgardii* X1B suşunda gözlenmiştir (Arena ve Manca de Nadra, 2001).

Ornitin dekarboksilaz enzimi ise ornitini putresine dönüştürür ve bu aktiviteye *Lactobacillus* sp. 30a (Hackert *et al.*, 1994), *O. oeni* (Marcobal *et al.*, 2004), *Lb. acidophilus* (Azcárate-Peril *et al.*, 2004) ve *Lb. johnsonii* (Pridmore *et al.*, 2004) suşlarında rastlanmıştır.

Nakazawa *et al.* (1977) aromatik L-aminoasitler olan 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin, L-tirozin, L-fenilalanin, L-triptofan ve 5-hidroksi-L-triptofan içeren ortamda L-aromatik aminoasit dekarboksilaz enzim oluşumu üzerine çalışmışlardır. *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* ve *Sarcina* gibi cinslerde dekarboksilaz enzim aktivitesi belirlenmiştir. *Micrococcaceae* familyasına ait suşlar L-triptofan, 5-hidroksi-L-triptofan ve L-fenilalanine karşı özellikle yüksek dekarboksilaz enzim aktivitesi göstermişlerdir.

Silla Santos (1998), et ürünlerinden izole ettiği enterobakteriler, LAB ve Gram-pozitif kokların aminoasit dekarboksilaz enzim aktivitelerini araştırmıştır. Enterobakterilerin diğer grup bakterilerden daha yüksek aminoasit dekarboksilaz enzim aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir.

Rodwell (1953) tarafından dekarboksilaz enzimi pozitif laktik asit bakteri suşlarında histamin, tiramin ve putresin oluşumu gözlenmiştir. Sumner *et al.* (1985) çiğ süttten yapılan peynirden dekarboksilasyon aktivitesine sahip laktobasilleri izole etmek için katı bir besiyeri geliştirmişlerdir. On beş peynir çeşidinden beş tane histidin ve bir tane tirozin dekarboksile eden suş izole etmişlerdir. Bu suşların identifikasyon testlerini yaparak histidin dekarboksile edebilen suşun *Lactobacillus buchneri*, tirozin dekarboksile edebilen suşun ise *Lactobacillus brevis* olduğunu göstermişlerdir. Benzer sonuçlar Joosten ve Northolt (1989) tarafından da bulunmuştur.

Choudhury *et al.* (1990) *Leuconostoc oenos* DSM 20252 ve *Lactobacillus buchneri* (Lb14 and St2A) nin iki suşu tarafından biyojen amin oluşumunu çalışmak için modifiye edilmiş dekarboksilaz enzim analiz besiyeri kullanmışlardır. Bu besiyerine ilgili biyojen aminlerin öncüleri olan histidin, lizin, ornitin ve tirozin aminoasitlerini ilave etmişlerdir. Uygun şartlar altında *Lactobacillus buchneri*' nin iki suşu 24 saat içinde histaminin %90'a yakın kısmını üretmiştir. *Leuconostoc oenos* DSM 20252 ise sadece tirozin üretmiştir.

Maijala (1993), fermente sosislerden ve ticari starter preparatlardan izole edilen LAB'nde histamin ve tiramin üretimi üzerine çalışmıştır. Hem modifiye dekarboksilasyon besiyerinde hem de MRS broth'tan HPLC metodu ile bulunan tek amin pozitif starter suş, *Lactobacillus brevis* olmuştur.

Leisner *et al.* (1994) vakum paketli tuzlanmış balıkta histamin veya tiramin üreten LAB'nin varlığı üzerine bir araştırma yapmışlardır. Tiramin üreten izolatların büyük çoğunluğu *Carnobacterium* spp. olarak tanımlanırken, histamin üreten herhangi bir izolata rastlanmamıştır. *Carnobacterium piscicola* N5 ve *Lactobacillus viridescens* için tiraminin büyük bir çoğunluğu eksponensiyal gelişme fazı boyunca üretilmiştir.

Bover-Cid ve Holzapfel (1999), aminoasit dekarboksilaz enzimi pozitif mikroorganizmaları ve özellikle LAB'ni belirlemek için bir besiyeri geliştirmişlerdir. Bu besiyerinin uygunluğu ve hassasiyeti HPLC yöntemiyle biyojen amin miktarı belirlenmek suretiyle kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Starter kültürler, koruyucu kültürler, kültür koleksiyonu suşları ve gıda izolatları dahil farklı orijinli LAB'nde tiramin, putresin, histamin ve kadaverin oluşumu araştırılmıştır. Yapılan çalışmada LAB tarafından biyojen amin üretim kapasitesini araştırmak için uygun ve hassas bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Bazı laktobasil suşlarının, özellikle *Lb. curvatus*, *Lb. brevis* ve *Lb. buchneri*'nin önemli miktarda tiramin ürettikleri belirlenmiştir. Bazı *Leuconostoc* ve *Weissella* türleri ile pediokoklar herhangi bir amin üretimi göstermemişlerdir. Ayrıca test edilen suşlar histamin üretmemişlerdir.

Bover-Cid *et al.* (2001), İspanyol fermente domuz sosislerinden izole edilen 66 adet laktik asit bakterisinin aminoasit dekarboksilaz enzim aktivitesinin varlığını

araştırmışlardır. Dekarboksilasyon sentetik sıvı besiyerinde biyojen amin varlığı *o*-phtalaldehide ile türevlendirilmiş ve HPLC ile belirlenmiştir. Test edilen LAB arasında, yirmi bir laktobasil, özellikle *Lactobacillus curvatus* ve on altı enterokok suşunun amin üreticisi olduğu belirlenmiştir. Bu bakteriler temel amin olarak tiramin üretirken ayrıca feniletilamin, triptamin, putresin ve kadaverin de üretmişlerdir.

Garai *et al.* (2007), doğal elma suyundan izole edilen LAB'nde histidin, tirozin ve ornitin dekarboksilaz enzim aktivitesi oluşumunu çalışmışlardır. Elma suyu ve dekarboksilaz enzim sentetik sıvı besiyerinde biyojen amin varlığı belirlenmiştir. Test edilen 54 adet laktik asit bakterisi arasında 6 bakteri (5 adet laktobasil ve bir adet *Oenococcus* sp.) her iki ortamda da biyojen amin üretmiştir. LAB tarafından oluşturulan histamin ve tiramin de araştırılmış olup *Lactobacillus diolivorans*'ın en yoğun histamin üreticisi olduğu belirlenmiştir. Bu türlerle birlikte *Lactobacillus collinoides* ve *Oenococcus oeni*'de tiramin üretimi gözlenmiştir. Şarap ve biralarda biyojen amin üreticisi olarak bilinen *Pediococcus parvulus* histamin, tiramin ve putresin üretmemiştir. Bu çalışmada elma suyunda gelişen laktik asit bakteri mikrobiyotasının biyojen amin, özellikle histamin ve tiramin üretme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiş olup bu yeteneğin bakteri türlerinden çok suşa bağımlı olabileceğini ileri sürülmüştür.

Tamang *et al.* (2009) fermente sebzelerden izole ettikleri LAB'nin fonksiyonel özellikleri üzerine bir araştırma yapmışlardır. Birkaç suş haricinde çoğu laktik asit bakterisinin biyojen amin üretmediği sonucuna varmışlardır. Bakterilerin dekarboksilaz aktivitelerini belirlemek için kullandıkları besiyerine histidin, lizin, ornitin ve tirozin ilave etmişlerdir. *Lb. brevis*'in sekiz suşunda ve *Leuc. lactis* SdR2 (BFE926) de genel olarak ornitini dekarboksile ettikleri belirlenmiştir.

Buňková *et al.* (2009) teknolojik olarak önemi olan *Lactococcus*, *Lactobacillus* ve *Streptococcus* cinslerine ait suşların biyojen amin üretme yetenekleri üzerine çalışmışlardır. Test edilen otuz dokuz LAB suşunun sekizinde (üç suş *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, üç suş *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, bir suş *Streptococcus thermophilus* ve bir suş *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) tirozin dekarboksilasyonu ile oluşan tiramin üretimi belirlenmiştir.

Changyuan *et al.* (2010) biyojen amin üreten LAB'nin belirlenmesi üzerine bir araştırma yapmışlardır. Fermente et ürünlerinden izole ettikleri *L. plantarum* suşunun çift tabakalı besiyerinde biyojen amin üretim metoduyla tespit etmişlerdir. Daha sonra üretilen biyojen amini HPLC metodu ile belirlemişlerdir. Konsantrasyonları sırasıyla 211,03 µg/ml ve 144,43 µg/ml olan histamin ve tiramin saptamışlardır.

LAB çok çeşitli fermente ürünlerin üretiminde rol oynayan en önemli endüstriyel mikroorganizmalar olarak bilinmektedir (Axelsson, 1993; Batish *et al.*, 1997). LAB gram pozitif, sporsuz, katalaz negatif, aerotolerant, aside dirençli, sitokromu olmayan tam anlamıyla fermantatif organizmalar olarak tanımlanırlar ve karbonhidrat metabolizmasının son ürünü olan laktik asidi üretirler. LAB olarak adlandırılan grup içinde genel olarak *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* cinsleri yer alır (Axelsson, 1998).

LAB gıda endüstrisinde önemli bir role sahiptir. Bunlar özellikle yoğurt, kefir, kıymız gibi fermente süt ürünleri, sauerkraut, salatalık turşusu ve salamura yeşil zeytin gibi fermente bitkisel ürünler, ekmekek, boza, tarhana ve oğri gibi tahıl ürünleri ve bunun yanında şarap, sucuk, balık sosu gibi pek çok gıdanın olgunlaştırılması, üretimi ve dayanıklılığının sağlanmasında kullanılırlar (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Holzapfel ve Wood, 1995; Blandio *et al.*, 2003).

Şarapta malolaktik fermantasyonda LAB geliştiği için biyojen amin oluşabilir (Lonvaud-Funel, 2001). Üzüm şırası ve şaraplar sadece birkaç tür laktik asit bakterisinin gelişimini destekleyen seçici ortamlardır. Bu ortamlarda *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Oenococcus* olmak üzere dört farklı cins bulunmuştur.

Şarap fermantasyonu boyunca karşılaşılan asidik ortamda LAB tarafından sergilenen dekarboksilaz aktivitesinin asidik koşullar altında canlı kalabilmek için bakteri tarafından geliştirilen bir savunma mekanizması olduğu düşünülmektedir (Konings, 2002). Şarapta laktik asit bakteri türleri tarafından üretilen başlıca aminler, histidin dekarboksilaz üzerinden histamin (Lonvaud-Funel ve Joyeux, 1994; Coton *et al.*, 1998a, b), tirozin dekarboksilaz üzerinden tiramin (Lucas *et al.*, 2003) ve ornitin

dekarboksilaz üzerinden (Arena ve Manca de Nadra, 2001; Marcobal *et al.*, 2004) veya agmatin deaminaz yoluyla (Arena ve Manca de Nadra, 2001; Lucas *et al.*, 2007) putresindir.

Arena ve Manca de Nadra (2001), laktobasil suşlarının şarap ve meyve sularında bulunan ana aminoasitlerden biri olan aminoasit türevi ornitin ve arjininden putresin ve agmatin üretebildiklerini göstermek istemişlerdir. Biyojen aminleri HPLC ile belirlemişlerdir. *Lb. hilgardii* X1B suşunun şarapta arjinin ve ornitinden putresin ve agmatin üretebildiğini ve meyve sularında zararsız bozulma etmeni mikroorganizma olarak bilinen *Lactobacillus plantarum*'un biyojen amin üretebildiğini göstermişlerdir.

Guerrini *et al.* (2002), farklı İtalyan şaraplarından izole edilen birkaç *Oenococcus oeni* suşunun biyojen amin üretme yeteneği üzerine bir araştırma yapmışlardır. Amin üretme kapasitesi suşlar arasında kalitatif ve kantitatif olarak farklılık göstermiştir. Optimal gelişme şartları altında 44 suş araştırılmıştır; %60' dan fazlası histamin üretebilirken konsantrasyonun 1,0' dan 33 mg/L' ye yükseldiği durumda, yaklaşık %16'sı hem putresin hem de kadaverin oluşturmuştur. Malolaktik fermantasyon sırasında suşların stres koşulları altında amin üretebilme davranışları doğrulanmıştır. Bazı suşlar tarafından arjininden putresin oluşumu da gözlemlenmiştir. Bu nedenle *O. Oeni*'nin şaraplarda toplam biyojen amin içeriğine önemli katkıda bulunabileceği sonucuna varılmıştır.

Moreno-Arribas *et al.* (2003), üzüm şırası ve şaraplardan izole edilen suşlar ile ticari malolaktik starter kültürleri ve kültür koleksiyonu suşlarından oluşan farklı kökenli LAB'nin tiramin, histamin ve putresin biyojen aminlerini üretme potansiyellerini araştırmışlardır. Dekarboksilaz sentetik sıvı besiyerinde biyojen amin varlığını ters faz yüksek performans sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile belirlemişlerdir. LAB suşları tarafından tiramin oluşumu incelenmiştir. *Leuconostoc* suşları en yoğun tiramin üreticileridir. *Oenococcus oeni* suşlarında herhangi bir amin oluşumu gözlenmemiştir. *Lactobacillus buchneri* □nin iki suşu putresin oluşumu ile ilişkilidir.



Landate *et al.* (2007a), biyokimyasal ve genetik metodlarla şarap LAB'nin tiramin ve feniletilamin üretme yeteneklerini araştırmışlardır. Tiramin üreten suşları belirlemek için katı besiyeri geliştirmişlerdir ve tdc gen varlığını bulan spesifik bir PCR yöntemi kullanmışlardır. Tdc gene sahip tüm suşlarda tiramin ve feniletilamin üretimi görülmüştür. Yüksek miktarlarda tiramin ve feniletilamin bulunan şarapların *Lactobacillus brevis* veya *Lactobacillus hilgardii* içerdiği ve esas tiramin üreticisinin *L. brevis* olduğu belirlenmiştir.

Landate *et al.* (2007b), şaraptan izole edilen 155 laktik asit bakterisi suşu, 40 asetik asit bakteri suşu ve 36 maya suşunun biyojen amin üretimini, üzüm sırasında, şarapta ve sentetik besiyerinde HPLC ile analiz etmişlerdir. Maya ve asetik asit bakterileri tarafından biyojen amin üretimi gözlemlenmemişler, ancak LAB tarafından histamin, tiramin, feniletilamin ve putresin üretildiğini belirlemişlerdir. Sentetik besiyeri ve şarapta biyojen amin üretimi arasında; genin varlığı ve aktivitesi arasında %100 ilişki gözlemlenmiştir. Buna bağlı olarak bu çalışmada LAB'nin şarapta histamin, tiramin, feniletilamin ve putresin oluşumundan sorumlu mikroorganizmalar olabileceğini düşünmüşlerdir.

Moreno-Arribas ve Polo (2008), sherry tipi şarapların yapımında ve olgunlaştırılmasında laktik asit bakteri mikrobiyotasını ve biyojen amin varlığını araştırmışlardır. Şaraplardan izole edilen çeşitli bakteri türleri içinde özellikle *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus zae* ve *Leuconostoc mesenteroides* yaygın olmak üzere laktobasil türleri bulunur. Bu izolatların biyojen amin üretme kapasiteleri araştırılmıştır. Genellikle tiramin ve feniletilamin üretimi gözlenirken putresin üretimi birkaç suşta gözlenmiştir. *L. zae* esas putresin üreticilerden biridir. Diğer şarap türleriyle benzer biyojen amin kompozisyonu bulunmuştur; putresin başlıca amin iken, onu sırasıyla kadaverin, histamin ve tiramin takip etmiştir.

İnsan yaşamının dengeli bir şekilde sürdürülmesini sağlayan gıdalar, kökenleri ve işlenme biçimleri farklı çeşitli ürünlerden oluşur. Bu ürünler arasında fermantasyona dayalı olanların önemli bir yeri vardır (Canbaş ve Fenercioğlu, 1984; Erten ve Tangüler, 2010).

Geleneksel fermente ürünler dünya genelinde hayatımızın önemli bir kısmını oluşturur (Erten *et al.*, 2008; Tangüler ve Erten, 2009). İnsanlar gıdaları saklama bilincine eriştikleri zamanlardan beri fermantasyondan yararlanmışlardır. Günümüzde de fermantasyon ürünlerine tüm toplumlarda rastlamak mümkündür. Çeşitli peynirler, yoğurt, turşu, boza, alkollü içecekler, kefir, sake, tarhana gibi fermantasyon ürünleri bulunmaktadır. Öte yandan, üretimi yöresel olarak sürdürülen pek çok fermantasyon ürünü olduğu bilinmektedir. Bunlardan biri de Adana ve çevresine özgü bir içecek olan şalgam suyudur (Canbaş ve Fenercioğlu, 1984; Tangüler ve Erten, 2009). Geleneksel Türk fermente içeceği olan şalgam suyu ticari olarak da üretilmektedir (Erten *et al.*, 2008).

Laktik asit fermantasyonu sonucu elde edilen şalgam suyu, kırmızı renkli, bulanık, ekşi lezzetli bir içecektir (Canbaş ve Fenercioğlu, 1984; Canbaş ve Deryaoğlu, 1993; Türker *et al.*, 2004; Arslan *et al.*, 2005). Fermantasyonda *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus pontis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus fermentum*, *Saccharomyces cerevisiae* ve az oranda *Saccharomyces exiguous*, *Candida krusei* ve *Candida milleri* etkilidir (Erginkaya ve Hammes, 1992; Blandio *et al.*, 2003; Paramithiotis *et al.*, 2006).

Şalgam fermentasyonunda rol alan bazı LAB'nin belirlenmesi ile ilgili yapılan iki farklı çalışmanın birincisinde; *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* (Arıcı, 2004), ikincisinde ise; *Lactobacillus plantarum* ssp. *arabinosus*, *L. fermentum* ve *L. brevis* (Erginkaya ve Hammes, 1992) türlerinin fermentasyonda etkili olduğu bulunmuştur.

LAB'nden *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* cinsleri ile *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Photobacterium* gibi bazı bakteri cinsleri biyojen amin üretme kabiliyetine sahiptirler (Beutling, 1993; Kung *et al.*, 2006).

## **BÖLÜM 3. MATERYAL ve YÖNTEM**

### **3.1 Materyal**

Çalışmada doğal fermantasyonla üretilen şalgam suyu kullanılmıştır. Şalgam suyu Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm Laboratuvarında üretilmiştir.

LAB'nin izolasyonu ve gelişimi için De Man Rogosa and Sharpe (MRS) Agar ve Broth (Merck) besiyeri kullanılmıştır.

L-ornitin monohydrachlorid (Merck), L-lysine monohydrachlorid (Merck), Fenilalanin (Merck), DL- tryptopan (Merck), tirozin (Merck), L-arginin (Schuchart München) ve histidin (Merck) aminoasitleri kullanılmıştır.

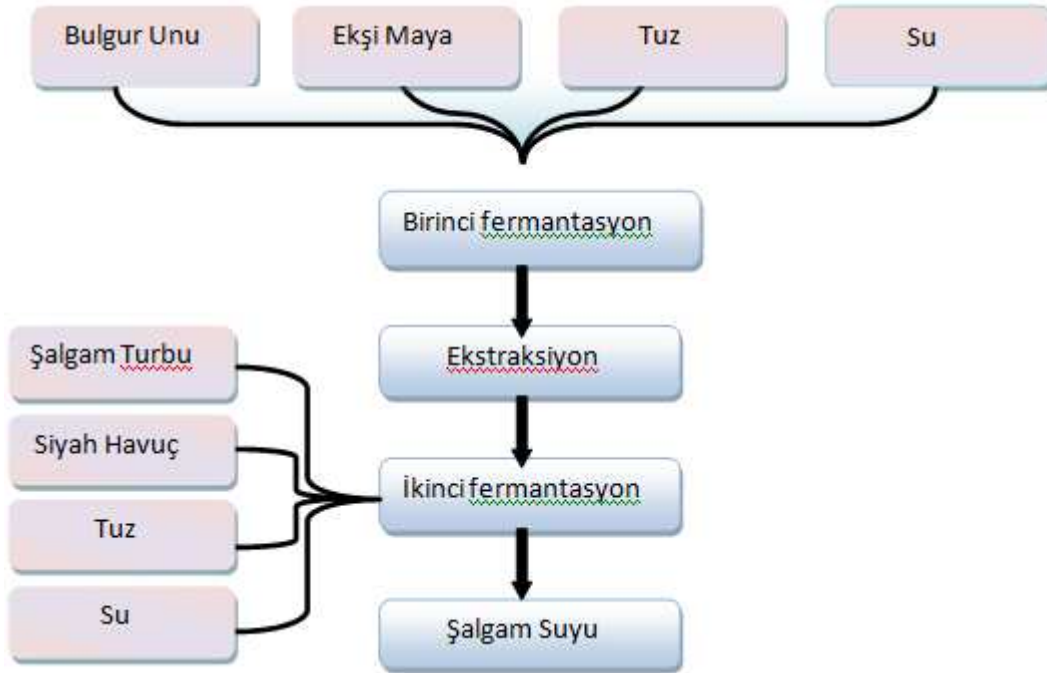
Hazırlanan besiyerlerinin pH değerinin ayarlanmasında sodyum hidroksit (NaOH, Merck) ve asetik asit (CH<sub>3</sub>COOH, Merck) kullanılmıştır.

Biyojen amin standart çözeltilerinin hazırlanması için gerekli olan tiramin, putresin, agmatin biyojen aminlerinin hidroklorid formları ile dansil klorür, sodyum glutaminat ve tris (HOCH<sub>2</sub>) Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO)'den sağlanmıştır. Ayrıca biyojen amin analizlerinde kullanılan perklorik asit (HClO<sub>4</sub>), sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), aseton (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O), asetonitril (ACN), triklor asetik asit (TCA) ve asetik asit (CH<sub>3</sub>COOH) kimyasalları Merck (Darmstadt, Almanya)' den sağlanmıştır.

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Geleneksel yöntemle şalgam suyu üretimi

Geleneksel yöntemle şalgam suyu üretimi Erginkaya ve Aksan (2004)' in belirttiği metoda göre yapılmıştır. 500 ml şalgam suyu üretimi için 100 g siyah havuç, 50 g bulgur unu, 7,5 g ekşi hamur, 10 g şalgam turpu, 7,5 g kaya tuzu kullanılmıştır. İlk aşamada bulgur unu, ekşi maya, kaya tuzunun 2,5 g' ı ve 110 ml damıtık su ilave edilerek beherler içinde 25 °C de 3 gün süreyle fermantasyona bırakılmıştır (1. fermantasyon). 3. günün sonunda hamur üzerine 420 ml su ilave edilmiş ve 5-10 dk karıştırılarak ekstrakte edilmiştir. Süzülen fermente sıvının bir kısmı 500 ml'lik cam kavanozlara alınmış içine önceden dilimlenip üretime hazırlanan şalgam turpu, siyah havuç ve kaya tuzunun geri kalanı ilave edilmiştir. Kavanozlar ekstrakte edilen fermente sıvının geri kalanı ile 500 ml' ye tamamlanmıştır. 2. Fermantasyona hazır hale gelen örnekler 25°C ve 35°C olmak üzere iki farklı fermantasyon sıcaklığı, 2 g ve 4 g tuz olmak üzere iki farklı tuz konsantrasyonu kullanılarak fermantasyona bırakılmıştır. Uygulanan üretim metodu Şekil 3.1' de özetlenmiştir.



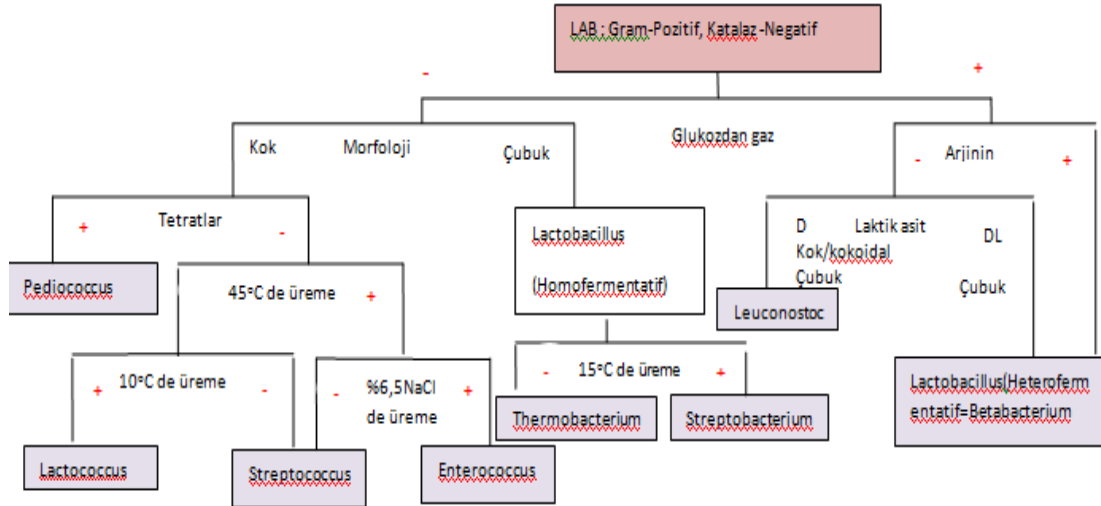
Şekil 3.1 Geleneksel yöntemle üretilen şalgam suyu üretim metodu

### 3.2.2 Laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve ön identifikasyonu

Geleneksel yöntemle üretilen şalgam sularından beş günlük fermantasyon süresince her gün örnek alınarak MRS Agar besiyerine sürme yöntemi ile ekim yapılmış ve 30°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda MRS Agar üzerinde gelişen beyaz renkli koloniler izole edilmiştir. Basit boyama, Gram boyama ve katalaz testi yapılmıştır. Gram boyama sonucu mikroskopta mavi-mor görünen ve katalaz testi sonucu negatif olan izolatlar LAB olarak doğrulanmıştır (Norris *et al.*, 1981). İzolatlar %15 gliserol içeren MRS Broth besiyerinde -20°C' de muhafaza edilmiştir.

### 3.2.3 Laktik asit bakterilerinin tanımlanması

İzolatların tanımlanmasında Schillinger ve Lücke (1987) tarafından önerilen identifikasyon şeması kullanılmıştır (Şekil 3.1). Buna göre glikozdan gaz oluşumu, morfoloji, arjinin hidrolizi, 15, 45 ve 10°C' de gelişme testleri yapılmıştır.



Şekil 3.2 Laktik asit bakterilerinin ayrımı (Schillinger ve Lücke, 1987)

#### 3.2.3.1 Glikozdan gaz oluşumu

Sitrat içermeyen MRS Broth besiyeri (EK-A) hazırlanarak içinde durham tüpü bulunan tüplere aktarılmıştır. Test edilecek izolatın aktif kültürü ile aşılaman tüpler

30 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda durham tüpleri içinde gaz oluşumu görsel olarak değerlendirilmiştir (Müller, 1990).

### 3.2.3.2 Arjinin hidrolizi

Arjinin hidrolizi ile amonyak üretimi % 0,3 arjinin eklenmiş MRS sıvı besiyerinde (EK-B) 30°C' de 24 saat inkübasyona bırakılıp, inkübasyon sonrası Nessler reaktifi (EK-C) katılarak renk değişimi incelenmiştir.

### 3.2.3.3 Farklı sıcaklıklarda gelişme

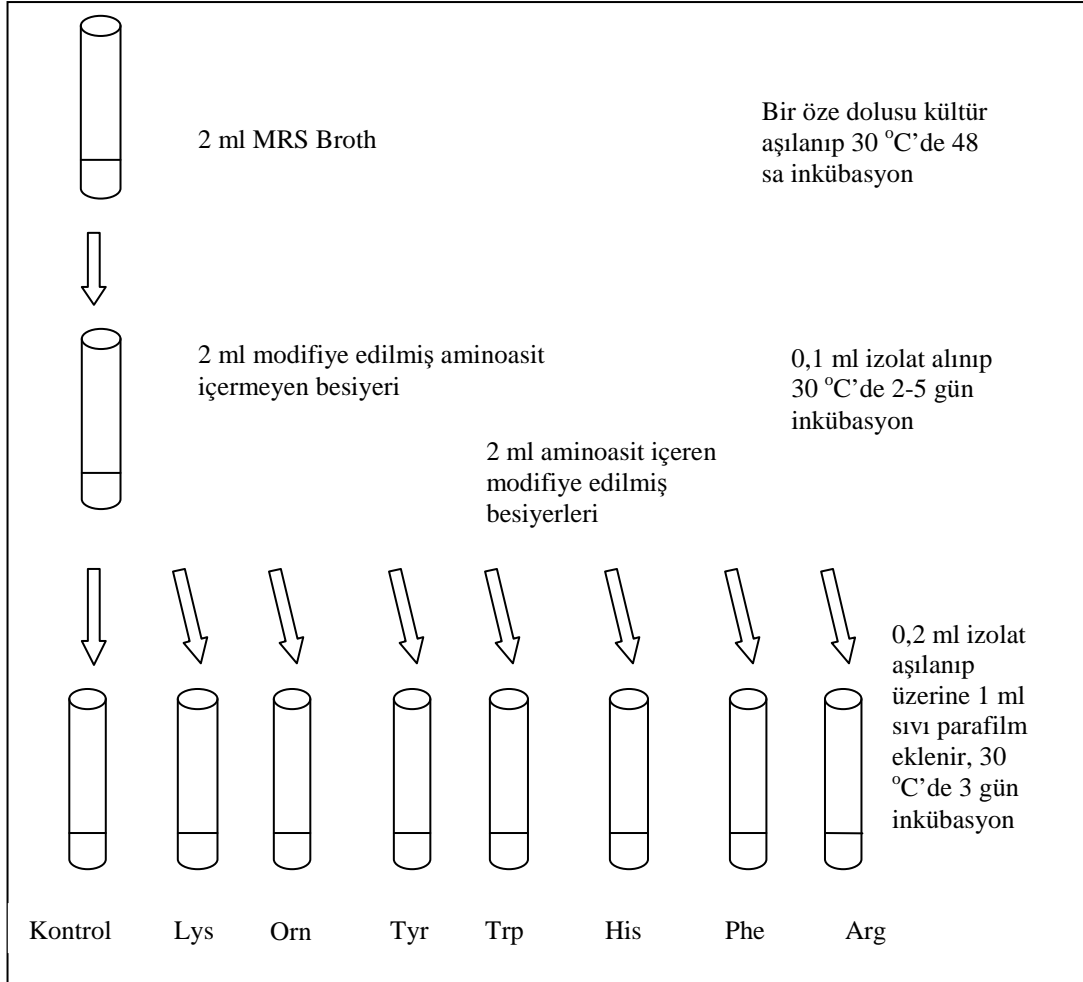
45°C, 10°C ve 15°C' de gelişme testleri MRS Broth besiyerinde 3 gün inkübasyona bırakılarak yapılmış, bulanıklık oluşan tüpler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### 3.2.4 Dekarboksilaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

LAB'nin dekarboksilaz enzim aktivitesini belirlemek için modifiye edilmiş sıvı besiyeri hazırlanmıştır. Beş gram tryptone; 8 g et ekstraktı; 4 g maya ekstraktı; 0,5 g tween-80; 0,2 g MgSO<sub>4</sub>; 0,05 g MnSO<sub>4</sub>; 0,04 g FeSO<sub>4</sub>; 0,1 g CaCO<sub>3</sub> ve 0,06 g bromocresol purple indikatörünün 1 litre destile suda çözündürülmesiyle hazırlanan besiyerine % 0,5 oranında histidin, ornitin, tirozin, lizin, fenilalanin, arjinin veya triptofan aminoasitlerinden biri ilave edilmiştir. Yedişer ml olacak şekilde tüplere dağıtılan besiyeri 121°C'de 10 dk sterilize edilmiştir. pH asetik asit (%5) veya sodyum hidroksit (1N) kullanılarak 5,3'e ayarlanmıştır. Kontrol olarak içinde aminoasit içermeyen modifiye edilmiş sıvı besiyeri kullanılmıştır (Maijala, 1993).

MRS Broth besiyerinde aktifleştirilen (30°C, 48 saat) izolatlar öncelikle aminoasit içermeyen modifiye sıvı besiyerine aşılansmış ve 30°C' de 2-5 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Aktifleştirilen izolatlar bir kontrol tüpüne ve her biri farklı bir aminoasit içeren 7 tüpe aşılansmıştır. Anaerob ortam oluşturmak için tüplere birer ml steril sıvı parafin eklenmiş ve 30 °C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda aminoasitleri dekarboksile eden izolatların tüpünde renk değişimi gözlemlenmiştir. Aşılansmadan önceki besiyerinin ve kontrol tüpünün rengi

sarı iken gelişme gösteren, ilgili aminoasite dekarboksilaz enzim aktivitesi gösteren izolatın besiyeri rengi mor renge dönüşmüştür. Kontrol tüpü aminoasit içermediği için gelişme olduğu halde renk değişimi gözlenmemiştir ve böylece izolatların ilgili aminoasitleri dekarboksile edebildiğine karar verilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.3 Aminoasit dekarboksilaz testinin yapılışı

### 3.2.5 İzolatların biyojen amin üretme yeteneklerinin belirlenmesi

#### 3.2.5.1 İzolatların aminoasit içeren besiyerinde geliştirilmesi

% 0,2 g arjinin ve tirozin içeren MRS Broth besiyeri hazırlanıp, 15'er ml tüplere dağıtılmış ve 121°C'de 15 dk sterilize edilmiştir. Öncelikle izolatlar MRS Broth besiyerine aktifleştirilmiş (30°C, 48 saat) ve aktif kültürlerden 200'er µl arjinin veya tirozin içeren MRS Broth besiyerine aşılansınmıştır. Tüpler 30°C'de 5 gün inkübasyona

bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kültürler biyojen amin analizi için türevlendirilmiştir (Joosten ve Northolt, 1989; Maijala, 1993).

### 3.2.5.2 HPLC cihazı

Çalışmada kullanılan HPLC cihazının özellikleri ve kromatografi koşulları Tablo 3.1’ de verilmiştir.

Tablo 3.1. HPLC cihazının özellikleri ve biyojen amin analizi için kromatografi koşulları

HPLC	HITACHI LACHROM ELITE (Tokyo, JAPONYA)
Kolon Fırını	L-2300 Column Oven, Sıcaklık 20°C
Kolon	Kromasil 100 C18 3,5µm (100×4.6 mm)
Pompa	L-2130 HTA Pump
Otosampler	L-2200 Autosampler (Isıtmalı ve Soğutmalı)
Degasser	Otomatik vakum degasser
Dedektör	L-2455 Diode Array Detector
Yazılım Programı	CDS: EZChorm Elite Chromatography Data System
Mobil Faz	Solvent A: 30 ml buffer / 550 ml asetonitril / 457,5 ml
Akış Hızı	Solvent B: 2 ml buffer / 900 ml asetonitril / 100 ml su 1,3 ml / dk
Enjeksiyon	25µl



Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan HPLC sistemi (SAÜ, Gıda Müh. Bölümü)



### 3.2.5.3 Biyojen amin standart çözeltilerinin hazırlanması

Putresin, tiramin ve agmatin son konsantrasyonları 0,2 mg/ml olacak şekilde tartılıp 50 ml'lik balon jöjeler içinde 0,4 M HClO<sub>4</sub> ile çözüldürülmüş ve 50 ml'ye tamamlanarak biyojen amin standart çözeltisi hazırlanmıştır. Bunlar stok çözeltilerdir.

Anamiks hazırlamak için stok çözeltilerden 5'er ml alınıp 50 ml'lik balon jöjeye aktarılarak 0,4M HClO<sub>4</sub> ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu ana miksten farklı konsantrasyonlarda standart biyojen amin içerecek şekilde mikslar hazırlanmıştır. Bunun için anamix, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve saf su belirli oranda karıştırılarak seyreltmeler yapılmıştır.

Dansil klorür (100 mg) 10 ml C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O içinde, 2 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10 ml saf suda ve 200 mg sodyum glutaminat 4 ml saf suda çözüldürülmüştür. Çalışmada kullanılan tüm çözeltiler günlük olarak hazırlanmıştır (Bütikofer *et al.* 1990).

### 3.2.5.4 Mobil faz

0,1 M Tris, 0,1 M asetik asit ve destile su sırasıyla % 40, % 20, % 40 oranında kullanılarak pH 8 olacak şekilde HPLC mobil fazında tampon görevi görecek olan buffer hazırlanmıştır.

Solvent A, 30 ml buffer, 550 ml asetonitril, 457,5 ml destile su ve Solvent B ise 2 ml buffer, 900 ml asetonitril, 100 ml su kullanılarak hazırlanmıştır. HPLC'de kullanılan gradiyent programı programı Tablo 3.2' de gösterilmiştir.

Tablo 3.2 Kromatografide kullanılan gradient programı, toplam akış 1,3 ml/dk

Süre (Dakika)	% Solvent B	% Solvent A
0,1	5	95
10	10	90
15	15	85
20	25	75
25	63	37
30	100	-
40	5	95

### 3.2.5.5 Örneklerin ekstraksiyonu ve türevlendirilmesi

Aminoasit içeren MRS Broth besiyerinde gelişen kültürlerden 10' ar ml alınıp 50 ml' lik balon jodelere konulmuştur. Üzerlerine 25' er ml 0,4 M perklorik asitten ilave edilerek 1 saat çalkalanmıştır. Ardından %5' lik triklor asetik asit ile 50 ml' ye tamamlanmıştır.

Ekstraktan hazırlanan çözeltilerden 400 µl alınarak önceden alüminyum folyo ile sarılmış 10 ml' lik kapaklı santrüfuj tüplerine aktarılmıştır. Üzerlerine 400 µl Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve 400 µl dansil klorür çözeltileri ilave edilip karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımlar 40 °C' ye ayarlanan su banyosunda 30 dk bekletilmiştir. Kalan dansil klorürü uzaklaştırmak için tüplere 200 µl sodyum glutaminat eklenerek karışım 40°C' lik su banyosunda 60 dk bekletilmiştir. Altmış dakikalık bekleme süresince her 15 dk da bir tüpler tüp karıştırıcıda karıştırılmıştır. Bu işlemin bitiminde tüplere 1'er ml asetonitril ilave edilerek 3500 devirde 20 dk santrüfjlenmiştir. Üstteki faz alınarak 0,22 µm lik por çapına sahip filtrelerden geçirilmiş ve ependorf tüplerine aktarılarak HPLC analizine kadar -20 °C' de muhafaza edilmiştir (Eerola *et al.* 1993).

## **BÖLÜM 4. SONUÇLAR**

### **4.1 Laktik asit bakterilerinin izolasyonu**

Geleneksel yöntemle üretilen şalgam sularından alınan örneklerden MRS Agar besiyerine ekim yapılmış ve 30 °C' de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda MRS Agar üzerinde gelişen beyaz renkli 85 koloni izole edilmiştir. Basit boyama, Gram Boyama ve katalaz testi yapılmıştır. Gram boyama sonucu mikroskopta mavi-mor görünen ve katalaz testi sonucu negatif olan 56 izolat laktik asit bakterisi olarak doğrulanmıştır. İzolatlar %15 gliserol içeren MRS Broth besiyerinde -20°C' de muhafaza edilmiştir.

### **4.2 Laktik asit bakterilerinin tanımlanması**

İzolatların tanımlanmasında Schillinger ve Lücke (1987) tarafından önerilen identifikasyon şeması kullanılmıştır. İzolatların morfolojileri ile glikozdan gaz oluşumu, arjinin hidrolizi, 45, 10 ve 15°C' de üreme test sonuçları Tablo 4.1' de verilmiştir.

İzolat No	Morfoloji	Gaz oluşumu	Arjinin hidrolizi	45°C' de üreme	10°C' de üreme	15°C' de üreme	Sonuç
0A1	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
0A2	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
0A3	Çubuk	+	+	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
0A4	Çubuk	+	+	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
0A5	Çubuk	+	+	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
0A6	Çubuk	+	+	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
0A8	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
1A4	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
2A2	Kok	-	(1)	-	+	-	<i>Lactococcus</i>
2A3	Çubuk	+	-	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
2A4	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
4A2	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
4A4	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
4A6	Çubuk	+	+	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
4A8	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5A20	Çubuk	+	+	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
0C2	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
0C4	Çubuk	+	+	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
1C1	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
1C2	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
1C4	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
1C7	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
1C8	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
1C9	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
2C5	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
3C3	Kok	-	(1)	-	+	-	<i>Lactococcus</i>
3C4	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
4C3	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium

(1) Arjinin hidrolizi testi uygulanmamıştır, (2) 45 °C de üreme testi uygulanmamıştır, (3) 10 °C de üreme testi uygulanmamıştır.

Tablo 4.1 (Devam)

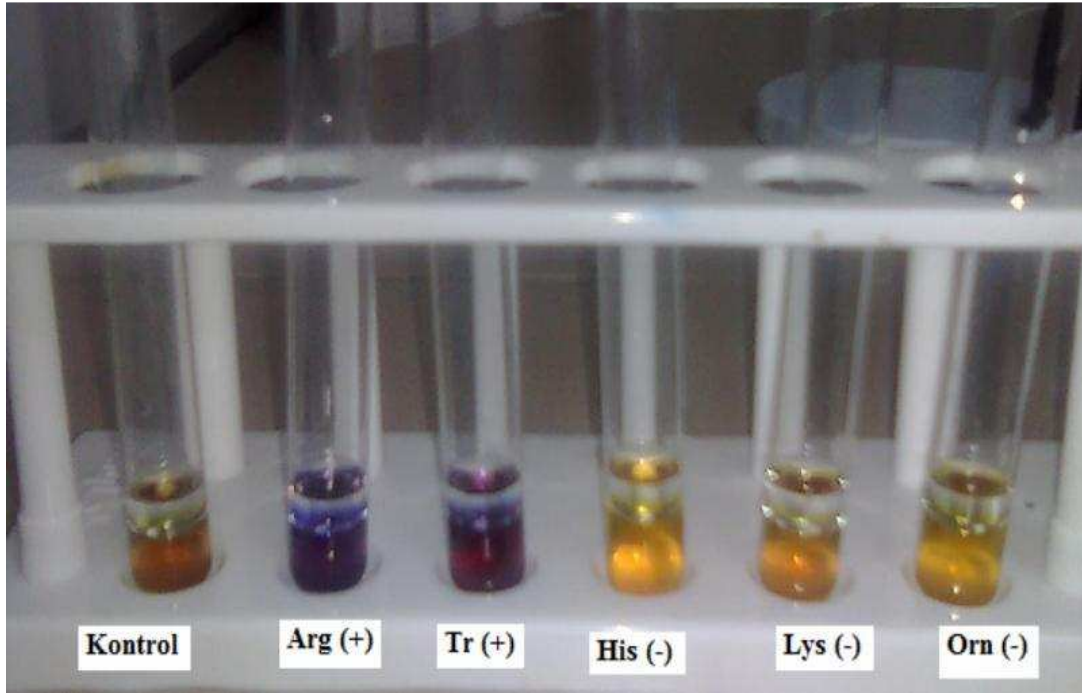
İzolat No	Morfoloji	Gaz oluşumu	Arjinin hidrolizi	45°C' de üreme	10°C' de üreme	15°C' de üreme	Sonuç
4C4	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
4C6	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
4C9	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
4C10	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5C2	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5C3	Çubuk	+	+	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
5C5	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5C6	Çubuk	+	+	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
5C7	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5C8	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5C13	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5C16	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5C17	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
1E3	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
1E4	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
1E5	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
1E6	Kok	-	(1)	-	+	-	<i>Lactococcus</i>
1E7	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
2E3	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
3E2	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
4E7	Kok	-	(1)	-	-	-	<i>Streptococcus</i>
4E9	Kok	+	+	(2)	(3)	-	<i>Leuconostoc</i>
5E3	Çubuk	+	+	(2)	(3)	-	<i>Lactobacillus</i>
5E11	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5E12	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5E14	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5E17	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium
5E18	Çubuk	-	(1)	(2)	(3)	+	Streptobacterium

<sup>(1)</sup> Arjinin hidrolizi testi uygulanmamıştır, <sup>(2)</sup> 45 °C de üreme testi uygulanmamıştır, <sup>(3)</sup> 10 °C de üreme testi uygulanmamıştır.

Ön identifikasyon sonuçlarına göre 56 izolatın 40 adedi streptobakteri, 11 adedi *Lactobacillus* spp., üç adedi *Lactococcus* spp., birer adedi ise *Streptococcus* sp. ve *Leuconostoc* sp. olarak tanımlanmıştır.

### 4.3 Aminoasit dekarboksilaz testi sonuçları

İzole edilen 56 laktik asit bakterisinin histidin, ornitin, tirozin, lizin, fenilalanin, arjinin ve triptofan aminoasitlerini içeren modifiye besiyerinde dekarboksilaz enzim aktiviteleri test edilmiştir. Aminoasit dekarboksilaz testine göre; inkübasyon sonunda kontrol tüpünde besiyerinin rengi sarı iken aminoasit içeren besiyerlerinde mor renk oluşumu pozitif, sarı renk oluşumu ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Aminoasit dekarboksilaz testi (Arg: arjinin, Tr: tirozin; His: histidin; Lys: lizin, Orn: ornitin)

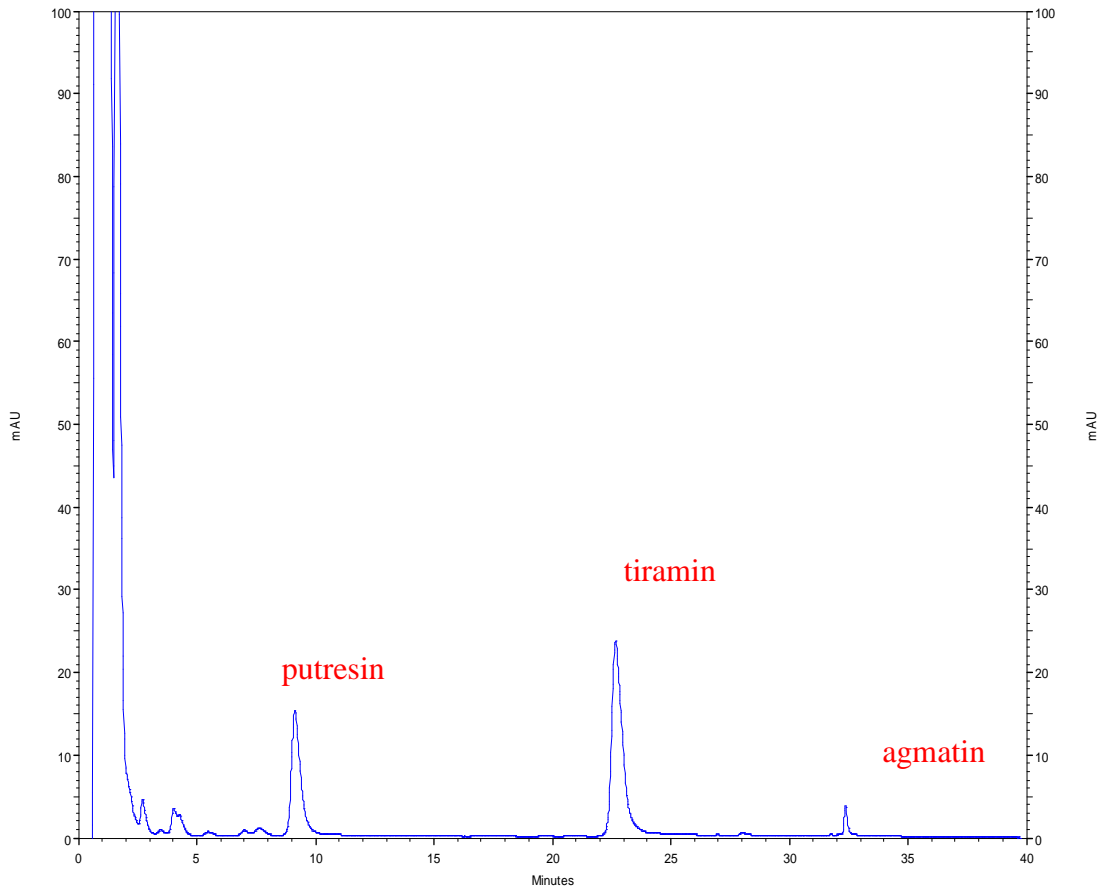
Aminoasit dekarboksilaz testi sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 56 izolattan hiç biri histidin, ornitin, lizin, fenilalanin ve triptofana karşı dekarboksilaz aktivitesi göstermemiştir. Elliüç izolatın hem arjinin dekarboksilaz hem de tirozin dekarboksilaz aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Diğer yandan iki izolat (izolat no 4E9 ve 4C10) sadece tirozin dekarboksilaz, bir izolat ise (izolat no 2C5) sadece arjinin dekarboksilaz aktivitesi göstermiştir.

Tablo 4.2. Aminoasit dekarboksilaz testi sonuçları

İzolot No	Arjinin	Tirozin	İzolot No	Arjinin	Tirozin
0A1	+	+	4C4	+	+
0A2	+	+	4C6	+	+
0A3	+	+	4C9	+	+
0A4	+	+	4C10	-	+
0A5	+	+	5C2	+	+
0A6	+	+	5C3	+	+
0A8	+	+	5C5	+	+
1A4	+	+	5C6	+	+
2A2	+	+	5C7	+	+
2A3	+	+	5C8	+	+
2A4	+	+	5C13	+	+
4A2	+	+	5C16	+	+
4A4	+	+	5C17	+	+
4A6	+	+	1E3	+	+
4A8	+	+	1E4	+	+
5A20	+	+	1E5	+	+
0C2	+	+	1E6	+	+
0C4	+	+	1E7	+	+
1C1	+	+	2E3	+	+
1C2	+	+	3E2	+	+
1C4	+	+	4E7	+	+
1C7	+	+	4E9	-	+
1C8	+	+	5E3	+	+
1C9	+	+	5E11	+	+
2C5	+	-	5E12	+	+
3C3	+	+	5E14	+	+
3C4	+	+	5E17	+	+
4C3	+	+	5E18	+	+

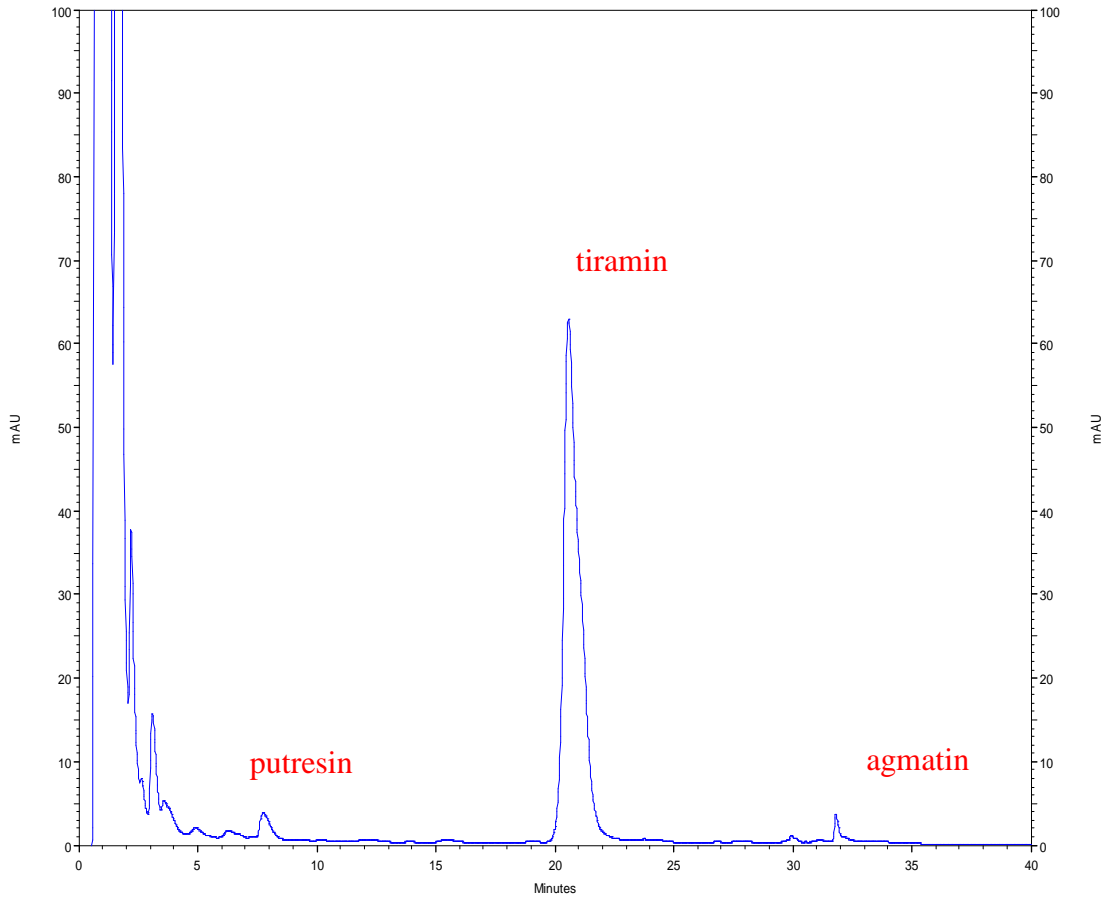
#### 4.4 Biyojen amin analiz sonuçları

Aminoasit dekarboksilaz testi sonuçlarına göre 56 izolat arjinin ve/veya tirozin dekarboksilaz aktivitesi göstermiştir. Bu nedenle, bu izolatların arjininden putresin ve/veya agmatin, tirozinden ise tiramin oluşturabilecekleri göz önüne alınarak söz konusu aminoasitlerin ilave edildiği besiyerinde bu üç biyojen aminin oluşumu HPLC ile kantitatif olarak araştırılmıştır. Şekil 4.2 ve 4.3 sırasıyla standart biyojen aminlere ve LAB izolatlarından birine ait kromatogramlar görülmektedir.



Şekil 4.2. Standart biyojen aminlerin geliş sırası ve sürelerini gösteren kromatogram





Şekil 4.3. LAB izolatında biyojen aminlerin geliş sırası ve sürelerini gösteren kromatogram

Tirozin ve arjinin ilave edilmiş besiyerinde geliştirilen izolatlar putresin, agmatin ve tiramin olmak üzere üç farklı biyojen amin üretmişlerdir (Tablo 4.3). Agmatin ve tiramini tüm izolatlar üretirken, putresin sadece 0A8 nolu izolatta belirlenememiştir. Putresin miktarları 2,09 ile 33,34 mg/l arasında değişirken, agmatin miktarları 105,78 ile 867,53 mg/l aralığında bulunmuştur. Diğer yandan en düşük tiramin miktarı 24,52 mg/l, en yüksek tiramin miktarı ise 649,72 mg/l olarak belirlenmiştir.

Aminoasit dekarboksilaz testi sonuçlarına göre 2C5 nolu izolat tirozin dekarboksilaz testinde negatif sonuç vermiştir (Tablo 4.2). Ancak tirozin içeren MRS broth besiyerinde bu izolatın 225,74 mg/l düzeyinde tiramin ürettiği belirlenmiştir (Tablo 4.3). Benzer şekilde 4C10 ve 4E9 nolu izolatlar dekarboksilaz testinde arjinin dekarboksilaz negatif sonuç verdikleri halde arjinin içeren MRS Broth besiyerinde sırasıyla 337,95 ve 152,34 mg/l düzeyinde agmatin üretmişlerdir.

Tablo 4.3 Tirozin ve arjinin ilave edilmiş MRS broth besiyerinde oluşan biyojen aminler ve miktarları (mg/l)

İzolat no	Biyojen aminler (mg/l)		
	Putresin	Agmatin	Tiramin
0A1 ( <i>Streptobacterium</i> )	4,79	378,53	122,37
0A2 ( <i>Streptobacterium</i> )	4,50	340,32	169,11
0A3 ( <i>Lactobacillus</i> )	26,34	539,57	217,74
0A4 ( <i>Lactobacillus</i> )	5,83	203,59	143,93
0A5 ( <i>Lactobacillus</i> )	3,81	166,29	133,72
0A6 ( <i>Lactobacillus</i> )	2,38	134,53	87,21
0A8 ( <i>Streptobacterium</i> )	ND	154,64	97,44
1A4 ( <i>Streptobacterium</i> )	3,64	332,46	66,55
2A2 ( <i>Lactococcus</i> )	7,74	219,27	295,78
2A3 ( <i>Lactobacillus</i> )	8,26	279,04	142,96
2A4 ( <i>Streptobacterium</i> )	6,36	180,52	107,31
4A2 ( <i>Streptobacterium</i> )	16,42	566,64	298,36
4A4 ( <i>Streptobacterium</i> )	9,69	507,26	198,55
4A6 ( <i>Lactobacillus</i> )	12,65	510,71	250,59
4A8 ( <i>Streptobacterium</i> )	7,48	652,18	373,10
5A20 ( <i>Lactobacillus</i> )	15,24	267,28	307,97
0C2 ( <i>Streptobacterium</i> )	14,68	390,20	277,84
0C4 ( <i>Lactobacillus</i> )	13,56	741,89	252,65
1C1 ( <i>Streptobacterium</i> )	16,27	398,66	298,23
1C2 ( <i>Streptobacterium</i> )	9,58	287,12	228,22
1C4 ( <i>Streptobacterium</i> )	12,56	275,03	361,20
1C7 ( <i>Streptobacterium</i> )	2,19	190,91	139,32
1C8 ( <i>Streptobacterium</i> )	10,35	180,98	118,53
1C9 ( <i>Streptobacterium</i> )	5,04	288,71	24,52
2C5 ( <i>Streptobacterium</i> )	6,03	446,82	225,74
3C3 ( <i>Lactococcus</i> )	5,15	275,03	271,24
3C4 ( <i>Streptobacterium</i> )	5,23	346,41	261,47
4C3 ( <i>Streptobacterium</i> )	9,38	120,28	147,39

Tablo 4.3 (Devam)

İzolat no	Biyojen aminler (mg/l)		
	Putresin	Agmatin	Tiramin
4C4 (Streptobacterium)	12,96	164,84	163,79
4C6 (Streptobacterium)	4,21	240,53	176,63
4C9 (Streptobacterium)	8,61	320,92	68,01
4C10 (Streptobacterium)	4,09	337,95	161,05
5C2 (Streptobacterium)	5,17	492,73	315,28
5C3 ( <i>Lactobacillus</i> )	9,05	147,75	106,55
5C5 (Streptobacterium)	7,07	867,53	593,62
5C6 ( <i>Lactobacillus</i> )	7,78	105,78	229,09
5C7 (Streptobacterium)	9,48	828,02	462,68
5C8 (Streptobacterium)	2,09	157,82	167,73
5C13 (Streptobacterium)	6,69	287,89	370,64
5C16 (Streptobacterium)	8,85	145,14	235,12
5C17 (Streptobacterium)	11,08	344,55	158,89
1E3 (Streptobacterium)	33,34	185,21	325,94
1E4 (Streptobacterium)	21,05	214,95	235,87
1E5 (Streptobacterium)	10,13	187,86	228,47
1E6 ( <i>Lactococcus</i> )	9,98	370,95	355,90
1E7 (Streptobacterium)	3,89	308,12	183,91
2E3 (Streptobacterium)	8,29	189,82	32,56
3E2 (Streptobacterium)	6,40	267,77	139,96
4E7 ( <i>Streptococcus</i> )	4,70	205,61	111,89
4E9 ( <i>Leuconostoc</i> )	3,91	152,34	158,94
5E3 ( <i>Lactobacillus</i> )	15,03	220,63	649,72
5E11 (Streptobacterium)	5,47	362,40	175,96
5E12 (Streptobacterium)	2,66	216,29	177,01
5E14 (Streptobacterium)	4,11	202,04	282,42
5E17 (Streptobacterium)	6,28	587,78	152,38
5E18 (Streptobacterium)	11,19	403,01	99,41

## BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Çalışmada doğal fermantasyonla üretilen şalgam sularından laktik asit bakterileri izole edilip, identifikasyon testleri yapılmış, dekarboksilaz enzim aktiviteleri belirlenmiş ve biyojen amin üretme yetenekleri incelenmiştir.

Geleneksel yöntemle üretilen şalgam sularından fermantasyon süresince MRS Agara yapılan ekimler sonucunda 85 adet koloni izole edilmiş ve 56 izolat laktik asit bakterisi olarak doğrulanmıştır. Bu izolatlar Schillinger ve Lücke (1987) tarafından önerilen identifikasyon şeması kullanılarak tanımlanmıştır ( Bkz. Şekil 3.2). Buna göre 40 izolat streptobakteri yani homofermantatif *Lactobacillus* spp., 11 izolat heterofermantatif *Lactobacillus* spp., 3 izolat *Lactococcus* spp., 1 izolat *Streptococcus* sp. ve 1 izolat *Leuconostoc* sp. olarak tanımlanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalara göre şalgam fermantasyonunda *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus pontis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus fermentum*, *Saccharomyces cerevisiae* ve az oranda *Saccharomyces exiguous*, *Candida krusei* ve *Candida milleri* etkilidir (Erginkaya ve Hammes, 1992; Blandio ve ark., 2003; Paramithiotis ve ark., 2006).

Şalgam fermantasyonu üzerine yapılan diğer çalışmalarda *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* (Arıcı, 2004) ile *Lactobacillus plantarum* ssp. *arabinosus*, *L. fermentum* ve *L. brevis* (Erginkaya ve Hammes, 1992) türlerinin fermantasyonda etkili olduğu bildirilmiştir.

Çalışmada laktik asit bakterilerinin dekarboksilaz enzim aktiviteleri arjinin, histidin, ornitin, fenilalanin, lizin, triptofan ve tirozin aminoasitlerinden birini içeren modifiye dekarboksilaz besiyerinde test edilmiştir. İzolatlar arjinin ve/veya tirozini dekarboksile etmişlerdir.

Laktik asit bakterilerinin dekarboksilaz enzim aktiviteleri üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Beutling (1992) ve Bover-Cid ve Holzapfel (1999) bakterilerin aminoasit dekarboksilasyon aktivitelerini belirlemek üzere yaptıkları çalışmalarda histidin, putresin, tiramin ve kadaverin oluşumunu incelemişlerdir. Arena ve Manca de Nadra (2001) *Lb. hilgardii* X1B suşunda arjinin dekarboksilaz enzim aktivitesiyle agmatin oluşumunu gözlemlemişlerdir. Ornitin dekarboksilaz enzimi *Lactobacillus* sp. 30a (Hackert *et al.*, 1994), *Lb. johnsonii* (Pridmore *et al.*, 2004) suşlarında rastlanmıştır. Straub *et al.* (1995), Masson *et al.* (1996) ve Roig-sagues *et al.* (1997)' e göre *Lb. brevis*, *Lb. curvatus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. paracasei* ve *Leuconostoc lactis* türleri tiramin üreticileridir. *Lb. brevis* suşunun tirozin dekarboksilaz enzim aktivitesi belirlenmiştir (Joosten ve Stadhouders 1987; Joosten ve Northolt 1989).

Literatür verilerine göre histidin dekarboksilaz aktivitesi LAB'nde pek yaygın olmamakla birlikte bazı *Lactobacillus*, *Oenococcus*, *Pediococcus* ve *Tetragenococcus* suşlarında tanımlanmıştır (Rodwell 1953; Rice ve Koehler 1976; Recsei *et al.* 1983; Lonvaud-Funel ve Joyeux 1994; Satomi *et al.* 1997; Lucas *et al.* 2005). Buna karşın çalışmada aminoasit dekarboksilaz testi sonuçlarına göre LAB izolatlarının hiç biri histidini dekarboksile edememiştir. Benzer şekilde Bover-Cid *et al.* (2001) ve Moreno-Arribas *et al.* (2003) test ettikleri LAB'nin hiç birinin histamin üretmediğini belirtmişlerdir.

Bakteriler tarafından biyojen amin üretimini veya dekarboksilaz aktivitesini belirlemek için kullanılan testlerde pH indikatörü içeren diferansiyel besiyerleri kullanılmaktadır. pH yükselmesine bağlı olarak rengin mora dönüşmesi pozitif olarak değerlendirilmektedir (Garai *et al.*, 2007). Şalgam fermantasyonu sırasında izole edilen 2C5 nolu izolat dekarboksilaz testinde tirozin dekarboksilaz negatif sonuç verdiği halde tirozin içeren besiyeride tiramin üretmiştir. Bir diğer deyişle bu izolat dekarboksilaz testinde sahte negatif sonuç vermiştir. Benzer şekilde 4C10 ve 4E9 nolu izolatlar arjinin dekarboksilaz testinde sahte negatif sonuç vermişlerdir. Bover-Cid ve Holzapfel (1999) tiramin üreten üç laktobasil suşunun dekarboksilaz testinde negatif sonuç verdiklerini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar bu üç suşun ürettiği amin miktarının, özellikle asit de ürettikleri göz önüne alındığında, pH değişimini sağlamaya yetecek düzeyde olmadığı ve bu nedenle renk dönüşümünün

gerçekleşmediği sonucuna varmışlardır. Benzer bir sonuç de Llano *et al.* (1998) tarafından da elde edilmiştir.

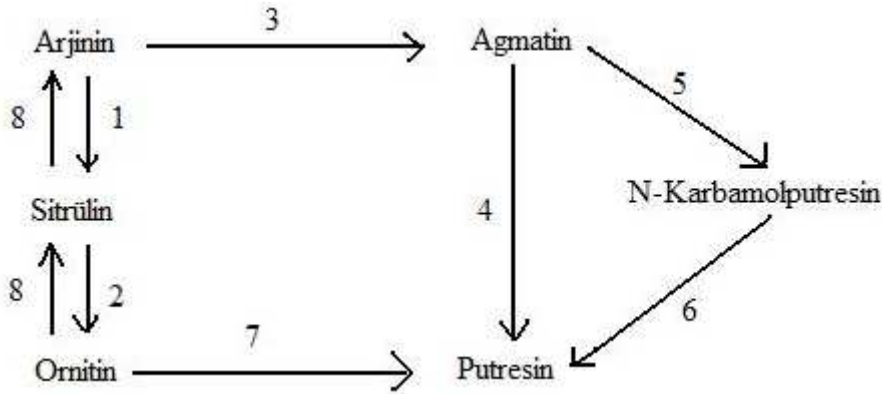
Çalışmada izole edilen LAB'nin tiramin, agmatin ve putresin olmak üzere üç farklı biyojen amin ürettikleri tespit edilmiştir. Piyasada satılan şalgam sularının biyojen amin içeriğini belirlemek amacıyla Özdehan ve Üren (2010) tarafından yapılan çalışmada ise tiramin ve putresin örneklerin tamamında, agmatin ise 20 şalgam örneğinin 11 adedinde belirlenmiştir. Putresin ve agmatinin histamin oksidasyonunu baskılamak suretiyle insanlarda histaminin toksisitesini artırdıkları bilinmektedir. Ayrıca, bu iki biyojen amin nitrit varlığında kanserojen nitrozaminleri oluşturabilirler (Arena ve Manca de Nadra, 2001). Tiramin ise toksisitesi yüksek bir biyojen amin olup özellikle monoamin oksidaz inhibitörü içeren ilaçları kullanan hastalarda hassasiyete neden olmaktadır (McCabe-Sellers *et al.*, 2006).

Şalgamdan izole edilen LAB'nin tamamının tiramin üreticisi olduğu belirlenmiştir. Gıdalarda tiramin oluşumu özellikle LAB ile ilişkilendirilmektedir (Leisner *et al.*, 1994). Bover-Cid ve Holzapfel (1999) laktik asit bakterilerinin biyojen amin üretimini belirlemek için kullandıkları tarama yönteminde LAB suşları tarafından üretilen başlıca biyojen aminin tiramin olduğunu belirlemişlerdir. Bover-Cid *et al.* (2001) fermente domuz sosislerinden izole ettikleri LAB arasından *L. curvatus* suşlarının tiramin, putresin, feniletilamin ve kadaverin ürettiğini bulmuşlardır. Pons-Sánchez-Cascado *et al.* (2005) buzda depolanmış hamsilerden izole ettikleri bakteriler üzerine yaptıkları çalışmada genel olarak LAB ve enterokokların diaminlerden ziyade tiramin üretme potansiyeline sahip olduklarını belirlemişlerdir. Landate *et al.* (2007b) şaraptan izole ettikleri LAB'nin histamin, tiramin, feniletilamin ve putresin ürettiklerini belirlemişlerdir.

İzole edilen LAB'den sadece bir adedi ( $4E9$ ) *Leuconostoc* sp. olarak tanımlanmış olup (Bkz. Tablo 4.1), tirozin dekarboksilaz pozitif sonuç vermiş (Bkz. Tablo 4.2) ve tirozin içeren MRS Broth besiyerinde 158,94 mg/l düzeyinde tiramin üretmiştir (Bkz. Tablo 4.3). *Leuconostoc* türlerinin tiramin üreticisi olduğu Choudhury *et al.* (1990), de Llano *et al.* (1998) ve Moreno-Arribas *et al.* (2003) tarafından da rapor edilmiştir.

*Streptococcus* sp. olarak tanımlanan izolat (4E7) 111,89 mg/l düzeyinde tiramin üretmiştir (Bkz. Tablo 4.3). Buňková *et al.* (2009) test edilen 21 *Streptococcus thermophilus* suşundan bir adedinin tiramin ürettiğini belirlemişlerdir.

Çalışmada hiçbir izolatta ornitin dekarboksilaz aktivitesi belirlenememiş olmasına rağmen 0A8 nolu izolat hariç diğer izolatların tamamı tiramin ve agmatin miktarları ile karşılaştırıldığında oldukça düşük olmakla birlikte 2,09 – 33,34 mg/l düzeyinde putresin üretmişlerdir (Bkz. Tablo 4.3). Arjinin metabolizmasına göre, arjininden putresin oluşumu iki şekilde gerçekleşebilmektedir (Şekil 5.1). Bu yollardan birincisinde arjininden arjinin deiminaz enzimi ile sitrülün, sitrülinden ornitin transkarbamilaz enzimi ile ornitin ve son olarak ornitinden ornitin dekarboksilaz enzimi ile putresin oluşmaktadır. İkinci yolda ise öncelikle arjininden arjinin dekarboksilaz enzimi ile agmatin oluşmaktadır. Daha sonra agmatin ya agmatin deiminaz enzimi ile direkt olarak putresine dönüşmekte, ya da agmatinaz enzimi ile öncelikle N-Karbamolputresine, daha sonra da N-Karbamolputresin hidrolaz enzimi ile putresine dönüşmektedir (Arena ve Manca de Nadra, 2001).



Şekil 5.1 Bakterilerde arjinin metabolizması (Arena ve Manca de Nadra, 2001)

(1) Arjinin deiminaz, (2) Ornitin transkarbamilaz, (3) Arjinin dekarboksilaz, (4) Agmatin deiminaz, (5) Agmatinaz, (6) N-Karbamolputresin hidrolaz, (7) Ornitin dekarboksilaz, (8) Anabolik sistem

Çalışmada izolatlarda ornitin dekarboksilaz aktivitesi belirlenememiş olmasına karşın, arjinin ilave edilmiş MRS Broth besiyerinde agmatin yanında az miktarda putresin de üretilmiştir. Buna göre, izolatların agmatin deiminaz veya agmatinaz ve N-Karbamolputresin hidrolaz enzimleri ile agmatinden putresin oluşturdukları düşünülmektedir. *Lactobacillus hilgardii* X1B suşunda da bu yolla arjininden

putresin üretildiği belirlenmiştir (Arena ve Manca de Nadra, 2001, Arena *et al.*, 2008).

Sonuç olarak; şalgam fermantasyonunda rol oynayan LAB'nin özellikle tiramin ve agmatin oluşumundan sorumlu oldukları, ayrıca putresin oluşumuna katkıda buldukları belirlenmiştir. Çalışmadaki bir diğer önemli sonuç ise elde edilen izolatlarda putresin oluşumunun ornitinden ornitin dekarboksilaz enzimi ile değil de agmatin üzerinden agmatin deaminaz enzimi ile gerçekleştiğidir. Aminoasit dekarboksilaz aktivitesini belirlemek için kullanılan sıvı besiyerinde pH'ya bağlı olarak meydana gelen renk değişiminin tespitine dayanan yöntem sahte negatif sonuç verebilmektedir. Bu nedenle dekarboksilasyon ürünlerinin HPLC ile belirlenmesine yönelik kantitatif yöntemlerin daha güvenilir sonuçlar vereceği düşünülmektedir. Biyojen amin içeriği düşük şalgam üretimi için dekarboksilaz aktivitesi göstermeyen starter kültür kullanımına gidilmeli ve ayrıca fermantasyon sıcaklığı, tuz konsantrasyonu gibi biyojen amin oluşumu üzerine etkili faktörler göz önünde bulundurulmalıdır.



## KAYNAKLAR

AKBAŞ, L.G., Değişik turşularda biyojen amin miktarları üzerine araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, 2006.

ANLI, R.E. and BAYRAM, M., Biogenic Amines in Wines. Food Reviews International, 25: 86–102, 2009.

ARENA, M.E. and MANCA DE NADRA, M.C., Biogenic amine production by *Lactobacillus*, Journal of Applied Microbiology, 90, 158–162, 2001.

ARENA, M.E., LANDATE, J.M., MANCA DE NADRA, M.C., PARDO, I. and FERRER, S. Factors affecting the production of putrescine from agmatine by *Lactobacillus hilgardii* X1B isolated from wine. Journal of Applied Microbiology, 105, 158-165, 2008.

ARICI, M., Microbiological and Chemical Properties of Drink Called Shalgam (Mikrobiologiske Und Chemische Eigenschaften Von Salgam), Ernährungs-Umschau, 51, 1, 10, 2004.

ARSLAN, D., ÜNVER, A. ve ÖZCAN, M., Kontrollü Şartlarda Şalgam Suyu Üretimi, 8. Gıda Kongresi. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir, s. 229-232, 2005.

AXELSSON, L.T., Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology, (S. SALMINEN and A. von WRIGHT, editörler), Lactic Acid Bacteria, Marcel Dekker, Inc., New York, 442 p, 1993.

AXELSSON, L., Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Salminen S and von Wright A (Eds) Lactic acid bacteria, Microbiology and functional aspects, Marcel Dekker, Inc., New York., 1-72, 1998.

AYHAN, K., KOLSARICI, N. and OZKAN, G.A., The effects of a starter culture on the formation of biogenic amines in Turkish soujousks, Meat Science, Volume 53, Issue 3, Pages 183-188, 1999.

AYHAN, K. and DURLU-OZKAYA, F., Biogenic amines in foods, Metabolism and Applications of Lactic acid bacteria, pp. 87-113, 2007.

AYRES, J.C., MUNDT, J.O. and SANDINE, W.E., Foodborne Illnesses, Microbiology of Foods, Chapter:21, Eds: B.S. Schweigert. 708p, 1980.

AZCÁRATE-PERIL, M.A., ALTERMANN, E., HOOVER-FITZULA, R.L., CANO, R.J. and KLAENHAMMER, T.R., Identification and inactivation of genetic

loci involved with *Lactobacillus acidophilus* acid tolerance, Applied and Environmental Microbiology 70, 5315–5322, 2004.

BATISH, V.K., ROY, U. and GROVER, S., Antifungal attributes of lactic acid bacteria-A review, Critical Reviews in Biotechnology, 17(3):209-225, 1997.

BEUTLING, D. Prüfung von Starterorganismen auf ihre Befähigung zur Bildung von Histamin und Tyramin. *Monatshefte für veterinär Medizin*, 47, pp. 587–591, 1992.

BEUTLING, D., Studies on the Formation of Tyramine by Microbes with Food Hygienic Relevance, Arch. Lebensmittelhygiene, 44, 83–87, 1993.

BLANDIO, A., AL-SEERİ, ME., PANDIELLA, SS., CANTERO, D. and WEBB, C., Cereal –based fermented foods and beverages, Food Research International 36, 527-543, 2003.

BOVER-CID, S. and HOLZAPFEL, W.H. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiol. 53; 33–41, 1999.

BOVER-CID, S., HUGAS, M, IZQUIERDO-PULIDO, M., VIDAL - CAROU, M.C., Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages, International Journal of Food Microbiol. 66; 85–189, 2001.

BUŇKOVÁ, L., BUŇKA, F., HLOBİLOVÁ, M., VAŇÁTKOVÁ, Z., NOVÁKOVÁ, D. and DRÁB, V., Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*, European Food Research and Technology. 229:533–538, 2009.

BUTIKOFER, U., FUNCHS, D., HURNI, D. and BOSSET, J.O., Bestimmung biogener amine in kase, Mitteilungen dee Gebiete der Lebensmittelhygiene 81; 120-133, 1990.

CANBAŞ, A. ve DERYAOĞLU, A., Şalgam Suyunun Üretim Tekniği ve Bileşimi Üzerinde Bir Araştırma, Doğa-Turkish Journal of Agricultural and Forestry, 17:119-129, 1993.

CANBAŞ, A. ve FENERCİOĞLU, H., Şalgam Suyu Üzerine Bir Araştırma, Gıda, 9(5):279-286, 1984.

CAPLICE, E. and FITZGERALD, G.F., Food Fermentations: Role of Microorganisms in Food Production and Preservation, International Journal of Food Microbiology, 50:131-149, 1999.

CHANGYUAN, W., YUNGUANG, W., CHANGQING, Y., YANLI, H., Detection of Lactic Acid Bacteria Producing Biogenic Amine and Determination of Content, (1. Food College, Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing,

Heilongjiang 163319, China;2. Heilongjiang Animal Husbandry and Aquatic Products Bureau, Daqing, Heilongjiang 163319,China), Academic Periodical of Farm Products Processing, 2010.

CHOUDHURY, N., HANSEN, W., ENGESSER, D., HAMMES, W.P. and HOLZAPFEL, W.H., Formation of histamine and tyramine by lactic acid bacteria in decarboxylase assay medium, Letters in Applied Microbiology, 11,278-281, 1990.

COŞANSU, S., Determination of Biogenic Amines in Fermented Beverage, Boza, Journal of Food, Agriculture & Environment Vol. 7 (2) : 54 -58, 2009.

COTON, E., ROLLAN, G., BERTRAND, A., LONVAUD-FUNEL, A., Histamine producing lactic acid bacteria: early detection, frequency and distribution, American Journal of Enology and Viticulture 49, 199-204, 1998a.

COTON, E., ROLLAN, G.C., LONVAUD-FUNEL, A., Histidine decarboxylase of *Leuconostoc* 9204: purification, kinetic properties, cloning and nucleotide sequence of the *hdc* gene, Journal of Applied Microbiology, 84, 143-151, 1998b.

DE LLANO, D.G., CUESTA, P. and RODRIGUEZ, A. Biogenic amine production by wild lactococcal and leuconostoc strains, Letters in Applied Microbiology, 26, 270-274, 1998.

DURLU-OZKAYA, F., AYHAN, K., OZKAN, G., Biogenic amine determination in Tulum cheese by high performance liquid chromatography (HPLC), Journal Milchwissenschaft, Vol. 55 No. 1 pp. 27-28, 2000.

DURLU-OZKAYA, F., AYHAN, K. and VURAL, N., Biogenic amines produced by *Enterobacteriaceae* isolated from meat products, Meat Science, Volume 58, Issue 2, Pages 163-166, 2001.

EEROLA, S., HINKKANEN, R., LINDFORS, E. AND HIRVI, T., Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages, J. AOAC International, 76, 575-577, 1993.

ERGEN, K.Ö., Sofralık zeytinlerde biyojen amin miktarlarının belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, 2006.

ERGİNKAYA, Z. and AKSAN, E., Adana ili geleneksel içeceği; şalgam. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 23-24 Eylül 2004, Van.

ERGİNKAYA, Z. and HAMMES, W.P., Şalgam Suyu Fermantasyonu Sırasında Mikroorganizmaların Gelişimi ve İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlamaları Üzerine Bir Araştırma, Gıda, 17, 5, 311-314, 1992.

ERTEN, H., TANGÜLER, H., CANBAŞ, A., A traditional Turkish lactic acid fermented beverage: Shalgam (Salgam), Food Reviews International 24 (3), 352–359, 2008.

ERTEN, H. ve TANGÜLER, H., Fermente Bitkisel Ürünler, İçinde: Gıda Biyoteknolojisi, (N. Aran, editör), Nobel Yayın Dağıtım Tic. Ltd. Şti., Ankara, ss. 241-277, 2010.

GALE, E.F., Enzymes concerned in the primary utilization of amino acids by bacteria, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1940a.

GALE, E.F., The production of amines by bacteria. I. The decarboxylation of amino-acids by strains of *Bacterium coli*, *Biochemical Journal*, 34, 392-413, 1940b.

GALE, E.F., III. The production of putrescine from l(+)-arginine by *Bacterium coli* in symbiosis with *Streptococcus faecalis*, *Biochemical Journal*, 34, 853-857, 1940c.

GALE, E.F., The production of amines by bacteria. 4. The decarboxylation of aminoacids by organisms of the groups *Clostridium* and *Proteus*. *Biochemical Journal*, 35, 66, (1941).

GAO, S., OH, D.H., BROADBENT, J.R., JOHNSON, M.E., WEIMER, B.C., and STEELE, J.L., Aromatic amino acid catabolism by lactococci, *Lait* 77, 371-381, 1997.

GARAI, G., DUENAS, M.T., IRASTORZA, A. and MORENO-ARRIBAS, M.V., Biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from cider, *Letters in Applied Microbiology*, ISSN 0266-8254, 2007.

GUERRINI, S., MANGANI, S., GRANCHI, L., VINCENZINI, M., Biogenic Amine Production by *Oenococcus oeni*, *Current Microbiology* Vol. 44, pp. 374-378, 2002.

HACKERT, M.L., CARROLL, D.W., DAVIDSON, L., KIM, S.O., MOMANY, C., VAALER, G.L., and ZHANG, L., Sequence of ornithine decarboxylase from *Lactobacillus* sp. strain 30a, *Journal of Bacteriology*, 176, 7391-7394, 1994.

HALÁSZ, A., BÁRATH, A., SIMON-SARKADI, L., HOLZAPFEL, W., Biogenic amines and their production by microorganisms in food, *Trends Food Science Technology* 5, 42-49, 1994.

HOLZAPFEL, W.H. and WOOD, B.J.B., Lactic Acid Bacteria in Contemporary Perspective, (WOOD, B.J.B. and HOLZAPFEL, W.H., editors), *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, Vol: II, Blackie Academic & Professional, London, p. 1-6, 1995.

IBE, A.; NISHIMA, T.; KASAI, N., Formation of tyramine and histamine during soybean paste (mine) fermentation Japanese, *Journal of Toxicology and Environmental Health* 38, 181-187, 1992.

JOOSTEN, H. M. L. J. and NORTHOLT, M. D., Detection, Growth, and Amine-Producing Capacity of Lactobacilli in Cheese, *Applied and Environmental Microbiology* September p. 2356-2359, Vol. 55, No. 9, 1989.

JOOSTEN, H.M.L.J. and STADHOUDERS, J., Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese, 1: decarboxylative properties of starter bacteria, *Netherlands Milk and Dairy Journal*, Volume 41(3), Pages 247-258, 1987.

KALACĚ, P., ŠPIČKA, J., KŘIŹEK, M., STEIDLOVÁ Š. and PELIKÁNOVÁ, T., Concentrations of seven biogenic amines in sauerkraut, *Food Chemistry* 67, 275-280, 1999.

KIERONCZYK, A., SKEIE, S., OLSEN, K., LANGSRUD T., Metabolism of amino acids by resting cells of non-starter lactobacilli in relation to flavour development in cheese, *International Dairy Journal*, Volume 11, Issues 4-7, Pages 217-224, 2001.

KONINGS, W.N., The cell membrane and the struggle for life of lactic acid bacteria, *Antonie Van Leeuwenhoek* 82, pp. 3-27, 2002.

KUNG, H.F., LEE, Y.H., TENG, D.F., HSIEH, P.C., WEI, C.I. and TSAI, Y.H., Histamine Formation by Histamine-Forming Bacteria and Yeast in Mustard Pickle Products in Taiwan, *Food Chemistry*, 99: 579-585, 2006.

LANDETE, J.M., PARDO, I., FERRER, S., Tyramine and phenylethylamine production among lactic acid bacteria isolated from wine, *International Journal of Food Microbiology* 115, 364-368, 2007a.

LANDETE, J.M., FERRER, S., PARDO, I., Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine, *Food Control* 18, 1569-1574, 2007b.

LEISNER, J. J., MILLAN, J.C., HUSS, H.H. and LARSEN, L.M., Production of histamine and tyramine by lactic acid bacteria isolated from vacuum-packed sugar-salted fish, *Journal of Applied Bacteriology*, 76, 417- 423, 1994.

LIU, S.Q., HOLLAND, R., and CROW, V.L., The potential of dairy lactic acid bacteria to metabolise amino acids via non-transaminating reactions and endogenous transamination, *International Journal of Food Microbiology* 86, 257-269, 2003.

LONVAUD-FUNEL, A., JOYEUX, A., Histamine production by wine lactic acid bacteria: isolation of a histamine-producing strain of *Leuconostoc oenos*, *Journal of Applied Bacteriology*, 77, 401-407, 1994.

LONVAUD-FUNEL, A., Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria, *FEMS Microbiology Letters* 199, 9-13, 2001.

LORET, S.; DELOYER, P.; DANDRIFOSSE, G., Levels of biogenic amines as a measure of the quality of the beer fermentation process: Data from Belgian samples, *Food Chemistry* 89, 519-525, 2005.

- LUCAS, P., LANDETE, J., COTON, M., COTON, E., LONVAUD-FUNEL, A., The tyrosine decarboxylase operon of *Lactobacillus brevis* IOEB 9809: characterization and conservation in tyramine-producing bacteria, *FEMS Microbiology Letters* 229, 65-71, 2003.
- LUCAS, P.M., WOLKEN, W.A.M., CLAÏSSE, O., LOLKEMA, J.S., and LONVAUD-FUNEL, A., Histamine-producing pathway encoded on an unstable plasmid in *Lactobacillus hilgardii* 0006, *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 1417– 1424, 2005.
- LUCAS, P.M., BLANCATO, V.S., CLAÏSSE, O., MAGNÌ, C., LOLKEMA, J.S., LONVAUD-FUNEL, A., Agmatine deiminase pathway genes in *Lactobacillus brevis* are linked to the tyrosine decarboxylation operon in a putative acid resistance locus, *Microbiology* 153, 2221-2230, 2007.
- MAIJALA, R. L., Formation of histamine and tyramine by some lactic acid bacteria in MRS-broth and modified decarboxylation agar, *Letters in Applied Microbiology* 17, 40-43, 1993.
- MARCOBAL, A., DE LAS RIVAS, B., MORENO-ARRIBAS, M.V., MUNOZ, R., Identification of the ornithine decarboxylase gene in the putrescine producer *Oenococcus oeni* BIFI- 83, *FEMS Microbiology Letters* 239, 213-220, 2004.
- MARINO, M., MAIFRENI, M., MORET, S., and RONDININI, G., The capacity of *Enterobacteriaceae* species to produce biogenic amines in cheese, *Letters Applied Microbiology* 31, 169–173, 2000.
- MARTUSCELLI, M., GARDINI, F., TORRIANI, S., MASTROCOLA, D., SERIO, A., CHAVES-LOPEZ, C., SCHIRONE, M., SUZZI, G., Production of biogenic amines during the ripening of Pecorino Abruzzese cheese, *International Dairy Journal* 15, 571-578, 2005.
- MASSON, F., TALON, R. And MONTEL, M.C., Histamine and tyramine production by bacteria from meat products, *International Journal of Food Microbiology*, Volume 32, Issues 1-2, Pages 199-207, 1996.
- MCCABE-SELLERS, B.J., STAGGS, C.G. and BOGLE, M.L., Tyramine in foods and monoamine oxidase inhibitor drugs: A crossroad where medicine, nutrition, pharmacy, and food industry converge, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 558-565, 2006.
- MORENO-ARRIBAS, M.V., POLO, M.C., JORGANES, F., MUÑOZ, R., Screening of biogenic amine production by lactic acid bacteria isolated from grape must and wine, *International Journal of Food Microbiology* 84, 117– 123, 2003.
- MORENO-ARRIBAS, M.V. and CARMEN POLO, M., Occurrence of lactic acid bacteria and biogenic amines in biologically aged wines, *Food Microbiology* 25, 875– 881, 2008.

- MULLER, T., Comparison of methods for differentiation between homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria, *Zentralblatt Mikrobiologie*, 145, 363–366, 1990.
- NAKAZAWA, H., SANO, K., KUMAGAI, E. and YAMADA, H., Distribution and Formation of Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase in Bacteria, *Agricultural and Biological Chemistry* 41 (11), 2241- 2247, 1977.
- NORRIS, J.R., BERKELEY, R.C.W., LOGAN, N.A., O'DONNELL, A.G., The Genus *Bacillus* and *Sporolactobacillus*, In: Starr, M.P., Stolp, H., Trüper, H.G., Balows, A., Schlegel, H.G.(Eds.), *The Prokaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria*, Vol. 2, Springer, New York, pp. 1711-1742, 1981.
- NOOT, M.J.R., Fermented foods and food safety, *Food Research International*, Volume 27, Issue 3, Pages 291-298, 1994.
- ÖZDESTAN, Ö. and ÜREN, A., A method for benzoyl chloride derivatization of biogenic amines for high performance liquid chromatography, *Talanta*, Volume 78, Issues 4-5, Pages 1321-1326, 2009.
- ÖZDESTAN, Ö. and ÜREN, A., Biogenic amine content of kefir: a fermented dairy product, *Eur Food Res Technology* 231:101–107, 2010.
- ÖZDESTAN, Ö. and ÜREN, A., Biogenic Amine Content of Shalgam (S-algam): A Traditional Lactic Acid Fermented Turkish Beverage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 2602–2608, 2010.
- PARAMITHIOTIS, S., GIOULATOS, TSAKALIDOU, E. and KALANTZOPOULOS, G., Interactions Between *Saccharomyces cerevisiae* and Lactic Acid Bacteria in Sourdough, *Process Biochemistry*, 41: 2429-2433, 2006.
- PONS-SÁNCHEZ-CASCADO, S., BOVER-CID, S., VECIANA-NOGUÉS, M.T. and VIDAL-CAROU, M.C. Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from ice-preserved anchovies. *European Food Research and Technology*, 220, 312-315, 2005.
- PRIDMORE, R.D., BERGER, B., DESIERE, F., VILANOVA, D., BARRETTO, C., PITTET, A.C., ZWAHLEN, M.C., ROUVET, M., ALTERMANN, E., BARRANGOU, R., MOLLET, B., MERCENIER, A., KLAENHAMMER, T., ARIGONI, F., and SCHELL, M.A., The genome sequence of the probiotic intestinal bacterium *Lactobacillus johnsonii* NCC 533, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 101, 2512–2517, 2004.
- RECSEI, P.A., MOORE, W.M., and SNELL, E.E., Pyruvoyl-dependent histidine decarboxylases from *Clostridium perfringens* and *Lactobacillus buchneri* comparative structures and properties, *Journal of Biological Chemistry* 258, 439–444, 1983.

RICE, S.L., and KOEHLER, P.E., Tyrosine and histidine decarboxylase activities of *Pediococcus cerevisiae* and *Lactobacillus* species and production of tyramine in fermented sausages, *Journal Milk Food Technology* 39, 166–169, 1976.

RODWELL A, W., The Occurrence and Distribution of Amino-acid Decarboxylases within the Genus *Lactobacillus*, *Journal of General Microbiology* 8, 224-232, 1953.

ROIG-SAGUÉS, A.X., HERNÁNDEZ-HERRERO, M.M., . LÓPEZ-SABATER, E.I. AND RODRÍGUEZ-JEREZ, J.J., Evaluation of three decarboxylating agar media to detect histamine and tyramine-producing bacteria in ripened sausages, *Letters In Applied Microbiology*, Volume 25, Issue 5, Pages 309-315, 1997.

SATOMI, M., KIMURA, B., MIZOI, M., SATO, T., and FUJII, T., *Tetragenococcusmuriaticus* sp. nov, a newmoderately halophilic lactic acid bacterium isolated from fermented squid liver sauce, *International Journal Systematic Bacteriology* 47, 832–836, 1997.

SCHELP, E., WORLEY, S., MONZINGO, A.F., ERNST, S., and ROBERTUS, J.D., pH-induced structural changes regulate histidine decarboxylase activity in *Lactobacillus* 30a, *Journal Molecular Biology* 306, 727–732, 2001.

SCHILLINGER, U. and LUCKE, F.K., Identification of Lactobacilli from Meat and Meat Products, *Food Microbiology*, 4, 199-208, 1987.

SHALABY, A. R., Significance of biogenic amines to food safety and human health, *Food Research International* 29(7), 675- 690, 1996.

SILLA SANTOS, M. H., Biogenic amines: Their importance in foods, *International Journal of Food Microbiology* 29, 213- 231, 1996.

SILLA SANTOS M. H., Amino acid decarboxylase capability of microorganisms isolated in Spanish fermented meat products, *International Journal of Food Microbiology*, 39; 227–230, 1998.

STRAUB, B.W., KICHERER, M., SCHILCHER, S.M. AND HAMMES, W.P., The formation of biogenic amines by fermentation organisms, *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung A* Volume 201, Number 1, 79-82,1995.

SUMNER, S.S., SPECKHARD, M.W., SOMERS, E.B. and TAYLOR, S.L., Isolation of histamine producing *Lactobacillus buchneri* from Swiss cheese implicated in a food poisoning outbreak, *Applied and Environmental Microbiology* 50, 1094 – 1096, 1985.

SUZZI, G.; GADRINI, F., Biogenic amines in dry fermented sausages: A review, *International Journal of Food Microbiology*, 88, 41- 54, 2003.

TAMANG, JP., TAMANG, B., SCHILLINGER, U., GUIGAS, C., and HOLZAPFEL, W.H., Functional properties of lactic acid bacteria isolated from



ethnic fermented vegetables of the Himalayas, *International Journal of Food Microbiology*, 135; 28–33, 2009.

TAMMAM, J.D., WILLIAMS, A.G., NOBLE, J., and LLOYD, D., Amino acid fermentation in non-starter *Lactobacillus* spp. isolated from Cheddar cheese, *Letters Applied Microbiology* 30, 370–374, 2000.

TANGÜLER, H. ve ERTEN, H., Geleneksel Laktik Asit Fermantasyonu Ürünü Şalgam Suyu ve Üretim Yöntemleri, II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, Türkiye, Van, 650-654, 27-29 Mayıs 2009.

TAYLOR, S.L., Histamine food poisoning: toxicology and clinical aspects, *Critical Reviews in Toxicology* 17, 91–128, 1986.

ten BRINK, B., DAMINK, C., JOOSTEN, H.M.L.J. and HUIS in't VELD, J.H.J., Occurrence and formation of biologically active amines in foods, *International Journal of Food Microbiology* 11; 73-84, 1990.

TURGUT, Z., Starter kültür kullanılarak üretilen hıyar turşularında biyojen amin oluşumu üzerine araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, 2006.

TÜRKER, N., AKSAY, S. and EKİZ, H.I., Effect of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (*Daucus carota* var. L.) beverage Shalgam, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 3807–3813, 2004.

TÜRKER, N., AKSAY, S., ISTANBULLU, Ö. and ARTUVAN, E., A Study on the Relation Between Anthocyanin Content and Product Quality: Shalgam as A Model Beverage, *Journal of Food Quality*, 30: 953-969, 2007.

WILLIAMS, A.G., NOBLE, J., and BANKS, J.M., Catabolism of amino acids by lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese, *International Dairy Journal* 11, 203– 215, 2001.

YALDIRAK, G., Doğal Fermantasyonla Üretilen Şalgam Suyunda Farklı Fermantasyon Sıcaklığının Biyojen Amin Oluşumu Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, 2011.

YEĞİN, S. and ÜREN, A., Biogenic amine content of boza: A traditional cereal-based fermented Turkish beverage, *Food Chemistry* 111, 983–987, 2008.

YÜCEL, U., ÜREN, A., HOCALAR, B. ve TURANTAŞ, F., Fermente ürünlerden peynir, şarap ve lahanalar turşularında histamin miktarları, TÜBİTAK-TOGTAĞ Proje no. 1726, s. 1-25, 2001.

YÜKSEL, A., Doğal Fermantasyonla Üretilen Şalgam Suyunda Farklı Tuz Konsantrasyonunun Biyojen Amin Oluşumu Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, 2010.

## EKLER

### EK-A Sitrat içermeyen MRS-Broth Besiyeri

Tryptone	10 g
Lab-Lemko et ekstraktı	10 g
Maya ekstraktı	5 g
D-Glikoz	20 g
Tween 80	1 ml
Di potasyum hidrojen fosfat	2 g
Sodyum asetat, 4 sulu	5 g
Magnezyum sülfat, 7 sulu	0,2 g
Mangan sülfat, 4 sulu	0,05 g
Destile su	1000 ml

Glikoz ve et ekstraktı dışındaki bileşenler destile suda eritilerek çözülmüş ve pH 6,2-6,6' ya ayarlanmıştır. Glikoz ve et ekstraktı ilave edildikten sonra 7' şer ml tüplere dağıtılıp, dürham tüpleri eklenerek 121 °C' de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

### EK-B Arjinin MRS Broth besiyeri

Dehidre MRS broth besiyerine % 0,3 L-arjinin mono hidroklorid ilave edilmiş ve besiyeri tüplere 5' er ml bölünüp 121 °C' de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

### EK-C Nessler Reaktifi

Potasyum iyodür	8,5 g
Cıva iyodür	11,5 g
Destile su	50 ml
6 N NaOH	50 ml

NaOH 6 N olacak şekilde tartılıp, 50 ml destile suda çözüldükten sonra soğutulmuş ve diğer maddelerle karıştırıldıktan sonra 50 ml daha destile su ilave edilerek hazırlanmıştır ( Harrigan ve Mc Cance 1966).

## ÖZGEÇMİŞ

Aysun METE, 28.02.1985 yılında Sakarya' da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Sakarya' da tamamladı. 2002 yılında Ali Dilmen Süper Lisesi'nin sayısal ağırlıklı bölümünden mezun oldu. 2003 yılında başlamış olduğu Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünü 2008 yılında tamamladı. 2008 – 2009 eğitim öğretim yılının güz döneminde Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği bölümünde yüksek lisansa başladı. 2011 Mart ayında Tarım Bakanlığı Çorum Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü' nde göreve başladı.