

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GELENEKSEL TURŞULARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN ENDÜSTRİYEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE
LİYOFİLİZE FORMLARININ TURŞU ÜRETİMİNDE KULLANILMASI**

Aylin KORKUT ALTINTAŞ

**Danışman
Prof. Dr. Hakan KULEAŞAN**

**DOKTORA TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2023**



©2023 [Aylin KORKUT ALTINTAŞ]

[illegible]

3.2.3.4. Antifungal etkilerinin belirlenmesi	41
3.2.3.5. Antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi	41
3.2.3.6. Biyojen amin üretim özelliklerinin belirlenmesi	42
3.2.4. Turşu üretimlerinde kullanılacak izolatların seçimi ve starter kültürlerin liyofilizasyonu	42
3.2.5. Liyofilize starter kültürlerin depolama süresi boyunca canlılıklarının belirlenmesi.....	43
3.2.6. Seçilmiş kültürlerin genetik tanımlamaları	43
3.2.7. Kontrollü şartlarda turşu üretimi.....	44
3.2.7.1. Kornişon turşusu üretimleri	44
3.2.7.2. Karışık turşu üretimi.....	46
3.2.8. Turşuların kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi...	47
3.2.8.1. Salamura örneklerinin pH değerlerinin belirlenmesi.....	47
3.2.8.2. Salamura örneklerinde toplam asitliğin belirlenmesi.....	47
3.2.8.3. Salamura örneklerinde tuz miktarının belirlenmesi	48
3.2.8.4. Salamurada toplam indirgen şeker miktarının belirlenmesi ...	48
3.2.8.5. Salamura örneklerinde toplam laktik asit bakterisi sayımı.....	49
3.2.8.6. Salamura örneklerinde toplam maya ve küf sayımı	49
3.2.8.7. Salamura örneklerinde toplam <i>Enterobacteriaceae</i> sayımı	50
3.2.8.8. Salamura örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı.....	50
3.2.9. Turşuların duyuusal ve tekstürel analizi	50
3.2.10. Turşuların organik asit ve aroma profili analizi ile biyojen amin içeriklerinin belirlenmesi	52
3.2.11. Turşu yüzeylerinin taramalı elektron mikroskopunda görüntülenmesi	54
3.2.12. İstatistiksel değerlendirme	54
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	56
4.1. İzolatların Fenotipik Özellikleri ve Genotiplendirme.....	56
4.2. Laktik Asit Bakterilerinin Endüstriyel Özellikleri.....	61
4.2.1. Laktik asit üretim miktarları.....	62
4.2.2. %10tuz ve pH 3 değerlerinde gelişme özellikleri.....	66
4.2.3. Antimikrobiyal ve antifungal etkileri	72
4.2.4. Biyojen amin üretim özellikleri	75
4.2.5. Antibiyotik dirençlilikleri	77
4.3. Kornişon Turşusu Üretimlerinde Yıkama ve Isıl İşlem	79
4.4. Kornişon Turşusu Üretimlerinde Fermantasyon Sürecinde Meydana Gelen Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler	81
4.4.1. Asitlik ve pH	81
4.4.2. Toplam laktik asit bakterisi sayıları.....	92
4.4.3. Toplam maya ve küf sayıları	95
4.4.4. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları.....	99
4.4.5. Toplam <i>Enterobacteriaceae</i> sayıları	104
4.4.6. Tuz miktarları	107
4.4.7. Toplam indirgen şeker miktarları	109
4.5. Kornişon Turşusu Üretimlerinde Depolama Sürecinde Meydana Gelen Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler.....	112

4.5.1. Asitlik ve pH	112
4.5.2. Toplam laktik asit bakterisi sayıları.....	117
4.5.3. Toplam maya ve küf sayıları	120
4.5.4. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları.....	123
4.5.5. Toplam <i>Enterobacteriaceae</i> sayıları	125
4.5.6. Tuz miktarları	126
4.6. Karışık Turşularda Fermantasyon Sürecinde Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler	127
4.6.1. Asitlik ve pH	127
4.6.2. Tuz miktarları	130
4.6.3. Toplam indirgen şeker miktarları	130
4.6.4. Toplam laktik asit bakterisi sayıları.....	132
4.6.5. Toplam maya ve küf sayıları	133
4.6.6. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları.....	134
4.6.7. Toplam <i>Enterobacteriaceae</i> sayıları	135
4.7. Karışık Turşularda Depolama Sürecinde Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler.....	136
4.7.1. Asitlik ve pH	136
4.7.2. Tuz miktarları	138
4.7.3. Toplam laktik asit bakterisi sayıları.....	138
4.7.4. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları.....	139
4.7.5. Toplam maya ve küf ile toplam <i>Enterobacteriaceae</i> sayıları.....	140
4.8. Duyusal Analiz Sonuçları.....	141
4.9. Sertlik ve Renk Analizi Sonuçları.....	144
4.10. Organik Asit Analizi Sonuçları.....	150
4.11. Aroma Profili Analizi Sonuçları	154
4.12. Biyojen Amin Analizi Sonuçları	157
4.13. Liyofilize Starter Kültürlerin Depolamada Canlılık Oranları	159
4.14. Turşu Yüzeylerinin Taramalı Elektron Mikroskopunda Görüntülenmesi	161
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	163
KAYNAKLAR	168
EKLER.....	183
EK A. Biyojen amin analizinde kullanılan gradient program	183
EK B. Putrescine standardına ait kalibrasyon grafiği	183
EK C. Cadeverine standardına ait kalibrasyon grafiği.....	183
EK D. Histamine standardına ait kalibrasyon grafiği	183
EK E. Tyriptamin standardına ait kalibrasyon grafiği.....	184
EK F. Phenyletil amin standardına ait kalibrasyon grafiği	184
EK G. Tiramin standardına ait kalibrasyon grafiği	184
EK H. Spermin standardına ait kalibrasyon grafiği	184
EK I. Spermidine standardına ait kalibrasyon grafiği.....	185
EK J. Biyojen amin analizi numune kromatogramı	185
ÖZGEÇMİŞ.....	186

ÖZET

Doktora Tezi

GELENEKSEL TURŞULARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ENDÜSTRİYEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ VE LİYOFİLİZE FORMLARININ TURŞU ÜRETİMİNDE KULLANILMASI

Aylin KORKUT ALTINTAŞ

Süleyman Demirel Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hakan KULEAŞAN

Çalışmada, 73 adet geleneksel turşu örneğinden 145 laktik asit bakterisi izole edilmiş ve seçilen izolatların turşu üretimlerinde kullanılmak üzere endüstriyel özellikleri (laktik asit üretimleri, yüksek tuz ve düşük pH ortamlarında gelişimleri, biyojen amin üretim özellikleri) belirlenmiştir. Testler sonucunda starter kültür olarak seçilen izolatlar, 16S rDNA dizi analizleri sonucunda *Lactiplantibacillus plantarum* AK 87 (*L. plantarum* AK 87), *Lactiplantibacillus plantarum* AK 91 (*L. plantarum* AK 91), *Levilactobacillus brevis* AK 72 (*L. brevis* AK 72), *Enterococcus casseliflavus* AK 114 (*E. casseliflavus* AK 114) olarak tanımlanmıştır. Seçilen kültürler, liyofilize edilmiş ve bunlar, kornişon turşusu ve karışık turşu üretiminde kullanılmıştır.

Turşu üretimlerinde, kontrol grupları haricinde starter kültürlerin bireysel grupları ve karışık kültür grupları ile kontrollü fermentasyonlar gerçekleştirilmiştir. Kornişon turşusu üretimleri, starter kültürlerin inokülasyon oranı ve salamura içeriklerine göre üç farklı deneme şeklinde, karışık turşu üretimi ise tek deneme planında gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında gerçekleştirilen denemelerde fermentasyonu tamamlanan turşular, +4 °C'de 6 ay süreyle depolanmıştır. Fermentasyon ve depolama sürecinde alınan örneklerde kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmış ve sonuçlar, kontrol gruplarıyla karşılaştırılmıştır. Ayrıca örneklerde biyojen amin analizi, aroma profili ve organik asit analizleri ile sertlik ve renk analizleri yapılmış, turşu yüzeyleri taramalı elektron mikroskobunda görüntülenmiştir.

Çalışma sonunda fermentasyon süresince starter kültür kullanılan turşularda, kontrol gruplarına göre daha yüksek asit üretimi ve daha düşük pH değerlerine ulaşılmıştır. Kornişon turşusu üretimlerinde starter kültür gruplarında %0,92 laktik asit ile 3,2 pH değerleri tespit edilirken, karışık turşu üretimlerinde %1,03 laktik asit ile 3,01 pH değerleri tespit edilmiştir. Starter kültür gruplarından *L. plantarum* suşlarının ve karışık kültür kullanımının daha etkili olduğu belirlenmiştir. Tüm üretimlerde starter kültürlerin kullanımları ile enterobakterler kısa sürede inhibe edilmiştir. Starter kültürlerin bireysel olarak 10^6 kob/ml kullanıldıklarında maya ve küfler üzerinde inhibe edici etkileri belirlenirken, 10^4 kob/ml inokülasyon

oranlarında maya ve küfler üzerinde etkili olmamışlardır. Karışık kültürlerin kullanımında ise tüm üretimlerde kısa sürede maya ve küfler inhibe edilmiştir. Starter kültürlerin fermantasyon sürecindeki etkileri depolama boyunca da devam etmiş, böylece depolamada bozulma yapabilecek olası mikroorganizma gruplarının oluşturabileceği sorunlar engellenmiştir. Yapılan duyuşsal analizlerde kültür kullanılarak üretilen turşular, kontrol örneklerine göre daha çok beğenilmiştir. Turşu salamuralarındaki biyojen amin analizi sonuçlarına göre, starter kültür kullanılarak üretilen turşulardaki biyojen amin miktarlarının toksik limitlerin altında olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada turşu salamuralarında organik asit miktarının ve çeşitliliğinin artırılmasında starter kültür kullanımının etkili olduğu, starter kültürlerin ürettiği aroma maddelerinin turşu kalitesine ve duyuşsal özelliklerine de etkili olduğu belirlenmiştir. Fermantasyonu tamamlanan turşuların yüzeyinde çok sayıda laktik asit bakterilerinin var olduğu taramalı elektron mikroskopuyla gösterilmiştir. Renk ve sertlik analizleri sonucuna göre, turşuların duyuşsal olarak kabul edilir özellikte olduğu, depolama sürecinde ise salamuraya sitrik asit ve glikoz kullanılan turşularda yumuşama ve renkte sararmaların olduğu belirlenmiştir.

Endüstriyel turşu üretiminde kullanılmak üzere liyofilize edilen kültürlerin bir yıl süresince canlılık oranları belirlenmiş ve bu süre içerisinde canlılıklarını fazla kaybetmeden korudukları tespit edilmiştir. Starter kültürlerin liyofilize formlarının turşu üretimlerinde kullanıldığı bu çalışmadan elde edilen veriler, starter kültür kullanımının turşu fermantasyonunun gidişatı ve kalitesi üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu göstermekle birlikte, starter kültürlerin liyofilize formlarının uzun süre canlılıklarını sürdürmeleri, turşu üretimlerinde kullanımının pratik ve etkili olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Turşu, liyofilizasyon, liyofilize starter kültürler, turşu fermantasyonu, endüstriyel özellikler, kontrollü fermantasyon

2023, 187 sayfa

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

DETERMINATION OF INDUSTRIAL CHARACTERISTICS OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM TRADITIONAL PICKLES AND USING THE LYOPHILIZED FORMS IN THE PRODUCTION OF PICKLE

Aylin KORKUT ALTINTAŞ

Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Hakan KULEAŞAN

In the study, 145 isolates of lactic acid bacteria were selected from 73 traditional pickle samples. Industrial properties (lactic acid production, growth in high salt and low pH environments, biogenic amine production characteristics) of these isolates to be used in pickle production were determined. After 16S rDNA sequence analysis of selected isolates were identified as *Lactiplantibacillus plantarum* AK 87 (*L. plantarum* AK 87), *Lactiplantibacillus plantarum* AK 91 (*L. plantarum* AK 91), *Levilactobacillus brevis* AK 72 (*L. brevis* AK 72), *Enterococcus casseliflavus* AK 114 (*E. casseliflavus* AK 114). These cultures were lyophilized and further used in the production of pickled gherkins and mixed pickles.

In pickle production, controlled fermentations were carried out with individual groups of starter cultures and mixed culture groups. The production of pickled gherkins was carried out in three different production trials depending on the inoculation rate of the starter cultures and the brine contents, while mixed pickles was carried out in a single production. The fermentation process was carried out at room temperature and after completion of fermentation stage pickles were stored at +4°C for 6 months. Chemical and microbiological analyzes were performed during fermentation and storage steps and the results were compared with the control groups. In addition, biogenic amine, aroma profiles and organic acid analyzes along with the hardness and color analyzes were done. Finally the surface of the pickles were visualized under scanning electron microscopy.

At the end of the study, higher acid production and lower pH values were achieved in the pickles produced by addition of starter cultures in fermentation process compared to the control groups. While 0.92% lactic acid and 3.2 pH values were determined in starter culture groups in pickled gherkins, 1.03% lactic acid and 3.01 pH values were determined in mixed pickles. It was also determined that the use of *L. plantarum* strains and mixed cultures for fermentation were more effective. *Enterobacteriaceae* were inhibited in a short time with the use of starter cultures in all productions. While the inhibitory effects of starter cultures were determined on

yeast and molds when they were used individually at 10^6 cfu/ml, they were not effective on yeast and molds at 10^4 cfu/ml inoculation rates. In the use of mixed cultures, yeast and molds were inhibited in a short time in all productions. The antimicrobial effects of the starter cultures used in the fermentation process continued throughout the storage period, thus preventing possible problems caused by microorganisms which can cause deteriorations during storage. In the sensory analysis, the pickles produced by using the culture were more appreciated than the control samples. According to the results of biogenic amine analysis in pickle brines, the amounts of biogenic amines in pickles produced using starter cultures were below toxic limits. It was also determined that using starter cultures was effective in increasing the amount and variety of organic acids in pickle brines, and the aroma substances produced by starter cultures were also effective on pickle quality and sensory properties. The presence of a large number of lactic acid bacteria on the surface of the pickles was demonstrated by scanning electron microscopy. According to the results of the color and hardness analysis, it was determined that the pickles were acceptable regarding their sensory quality. The pickles produced by addition of citric acid and glucose in brine softened and turned to yellow during storage.

The viability rates of the cultures lyophilized for use in industrial pickle production were determined for one year and it was determined that they preserved their vitality without losing much during this period. The study showed that lyophilized forms of starter cultures can be used in pickle production, showing that the use of starter cultures has positive effects on the course and quality of pickle fermentation. Prolonged term survival of lyophilized cultures showed that their use in pickle production is practical and effective.

Keywords: Pickle, lyophilisation, lyophilized starter cultures, pickle fermentation, industrial properties, controlled fermentation

2023, 187 pages

TEŞEKKÜR

Lisans bitirme ödevim de dahil olmak üzere kendisiyle sekiz yılı aşkın süredir çalışma imkanı bulduğum ve doktora eğitimim süresince de çalışmalarımın her aşamasında ilgisini ve bilimsel desteğini esirgemeyen, karşılaştığım zorlukları aşmamda bilgi ve tecrübesi ile yardımcı olan, yoğun ve stresli zamanlarımın keyifli hale gelmesini sağlayan değerli Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Hakan KULEAŞAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında öneri ve bakış açılarıyla önemli katkılarda bulunan Tez İzleme Komitesinin değerli üyeleri Sayın Dr. Öğr. Üyesi Büşra AKTAŞ MANSUROĞLU ve Sayın Prof. Dr. Yasin YUNCER'e çok teşekkür ederim.

Deneysel araştırmalarım sırasında, koronavirüs nedeniyle malzeme tedarikinde yaşanan gecikmelerde deneylerimin aksamaması için malzeme desteği yapan değerli Hocam Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN ÇAKMAKÇI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam kapsamında üretilen turşuların sertlik analizlerinin gerçekleştirilmesi için tekstür analiz cihazını kullanma imkanı sağlayan değerli Hocam Doç. Dr. Erkan KARACABEY'e ve analizin gerçekleştirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Merve Seçil BARDAKÇI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Turşuların renk analizleri aşamasında renk analiz cihazını kullanma imkanı sunan değerli Hocam Prof. Dr. Atıf Can SEYDİM'e ve renk analizinde yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Çağlar GÖKIRMAKLI'ya teşekkür ederim.

Turşuların biyojen amin analizlerinde sonuçların yorumlanmasında emeği geçen değerli Hocam Doç. Dr. Hale SEÇİLMİŞ CANBAY'a teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, doktora eğitimim sürecinde de en büyük destekçilerim olan canım aileme ve değerli eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın bu en yoğun ve aynı zamanda en keyifli döneminde manevi desteklerini esirgemeyen arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

FDK-2020-7487 No' lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince 100/2000 YÖK doktora projesi kapsamında burs desteği sağlayan Yükseköğretim Kuruluna teşekkürlerimi sunarım.

Aylin KORKUT ALTINTAŞ
ISPARTA, 2023

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Homofermantatif ve heterofermantatif laktik asit bakteri metabolizması.....	6
Şekil 2.2. Turşu üretim yöntemleri.....	9
Şekil 2.3. Geleneksel yöntemle turşu üretim aşamaları	10
Şekil 2.4. Fermantasyon ile turşu üretimi	12
Şekil 2.5. Fermante olmayan turşuların üretim aşamaları.....	17
Şekil 2.6. Genel starter kültür üretim akış şeması	22
Şekil 3.1. Liyofilizatör cihazı.....	43
Şekil 3.2. Kornişon turşusu üretimleri.....	46
Şekil 3.3. Karışık turşu üretimi.....	47
Şekil 3.4. İndirgen şeker analizinde kullanılan standart eğri.....	49
Şekil 3.5. Sertlik (solda) ve renk (sağda) analizinde kullanılan cihazlar	51
Şekil 4.1. Bazı izolatların antimikrobiyal ve antifungal etkileri ile ilgili fotoğraflar	74
Şekil 4.2. Turşuların taramalı elektron mikroskopundaki görüntüleri.....	161

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Doğal fermantasyon aşamaları	13
Çizelge 2.2. Bazı sebze fermantasyonları ile ilişkilendirilen LAB türleri	18
Çizelge 3.1. Turşu örneklerine ilişkin bilgiler	32
Çizelge 3.2. Kornişon turşusu üretimleri ile ilgili bilgiler	45
Çizelge 4.1. Laktik asit bakteri izolatları ve fenotipik test sonuçları	57
Çizelge 4.2. İzolatların laktik asit üretim miktarları ve pH değerleri	63
Çizelge 4.3. Yüksek oranda laktik asit üreten izolatların analiz sonuçları	64
Çizelge 4.4. İzolatların pH 3 ve %10 tuz ortamlarında gelişim testleri	67
Çizelge 4.5. %10 tuz içeren pH 3,5 ortamında gelişim testi sonuçları	70
Çizelge 4.6. İzolatların antimikrobiyal etkileri (mm)	73
Çizelge 4.7. İzolatların biyogen amin üretim özellikleri	76
Çizelge 4.8. İzolatların antibiyotik direnç durumları	78
Çizelge 4.9. Kornişonların yıkama ve ısıtma işlem sonrası mikroorganizma sayıları	80
Çizelge 4.10. K1D salamuralarındaki laktik asit miktarları (g/100 mL)	81
Çizelge 4.11. K2D salamuralarındaki laktik asit miktarları (g/100 mL)	82
Çizelge 4.12. K3D salamuralarındaki laktik asit miktarları (g/100 mL)	84
Çizelge 4.13. K1D salamuralarında pH değerleri	87
Çizelge 4.14. K2D salamuralarında pH değerleri	87
Çizelge 4.15. K3D salamuralarında pH değerleri	88
Çizelge 4.16. K1D salamuralarında toplam laktik asit bakterisi sayıları (log kob/mL)	92
Çizelge 4.17. K2D salamuralarında toplam laktik asit bakterisi sayıları (log kob/mL)	93
Çizelge 4.18. K3D salamuralarında toplam laktik asit bakterisi sayıları (log kob/mL)	94
Çizelge 4.19. K1D salamuralarında toplam maya ve küf sayıları log (kob/mL)...	96
Çizelge 4.20. K2D salamuralarında toplam maya ve küf sayıları log (kob/mL)...	96
Çizelge 4.21. K3D salamuralarında toplam maya ve küf sayıları log (kob/mL)...	97
Çizelge 4.22. K1D salamuralarında toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/mL)	100
Çizelge 4.23. K2D salamuralarında toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/mL)	101
Çizelge 4.24. K3D salamuralarında toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/mL)	102
Çizelge 4.25. K1D salamuralarında toplam <i>Enterobacteriaceae</i> sayıları log (kob/mL)	104
Çizelge 4.26. K2D salamuralarında toplam <i>Enterobacteriaceae</i> sayıları log (kob/mL)	105
Çizelge 4.27. K3D salamuralarında toplam <i>Enterobacteriaceae</i> sayıları log (kob/mL)	106
Çizelge 4.28. K1D salamuralarında tuz miktarları (g/100 mL)	107
Çizelge 4.29. K2D salamuralarında tuz miktarları (g/100 mL)	108
Çizelge 4.30. K3D salamuralarında tuz miktarları (g/100 mL)	108

Çizelge 4.31. K1D salamuralarında toplam indirgen şeker miktarları (g/100 mL)	109
Çizelge 4.32. K2D salamuralarında toplam indirgen şeker miktarları (g/100 mL)	110
Çizelge 4.33. K3D salamuralarında toplam indirgen şeker miktarları (g/100 mL)	111
Çizelge 4.34. K2D depolamada salamuralardaki laktik asit miktarları (g/100mL)	112
Çizelge 4.35. K3D depolamada salamuralardaki laktik asit miktarları (g/100 mL)	113
Çizelge 4.36. K2D depolamada salamuraların pH değerleri.....	115
Çizelge 4.37. K3D depolamada salamuraların pH değerleri.....	115
Çizelge 4.38. K2D depolamada toplam laktik asit bakterisi sayıları (log kob/mL)	117
Çizelge 4.39. K3D depolamada toplam laktik asit bakterisi sayıları (log kob/mL)	118
Çizelge 4.40. K2D depolamada toplam maya ve küf sayıları (log kob/mL)	120
Çizelge 4.41. K3D depolamada toplam maya ve küf sayıları (log kob/mL)	121
Çizelge 4.42. K2D depolamada toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları (log kob/mL)	123
Çizelge 4.43. K3D depolamada toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları (log kob/mL)	124
Çizelge 4.44. K2D depolamada salamuraların tuz miktarları (g/100 mL)	126
Çizelge 4.45. K3D depolamada salamuraların tuz miktarları (g/100 mL)	126
Çizelge 4.46. Karışık turşu salamuralarında laktik asit miktarları (g/100 mL)	128
Çizelge 4.47. Karışık turşu salamuralarında pH değerleri	128
Çizelge 4.48. Karışık turşu salamuralarında tuz miktarları (g/100 mL)	130
Çizelge 4.49. Karışık turşu salamuralarında toplam indirgen şeker miktarları (g/100 mL)	131
Çizelge 4.50. Karışık turşu üretiminde kullanılan sebzelerin mikrobiyolojik analiz sonuçları log (kob/mL)	132
Çizelge 4.51. Karışık turşu salamuralarında toplam laktik asit bakterisi sayıları log (kob/mL)	132
Çizelge 4.52. Karışık turşu salamuralarında toplam maya ve küf sayıları log (kob/mL)	134
Çizelge 4.53. Karışık turşu salamuralarında toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/mL)	134
Çizelge 4.54. Karışık turşu salamuralarında Toplam <i>Enterobacteriaceae</i> sayıları log (kob/mL)	135
Çizelge 4.55. Karışık turşularda depolamada laktik asit miktarları (g/100 mL) ..	137
Çizelge 4.56. Karışık turşuların depolamada pH değerleri	137
Çizelge 4.57. Karışık turşularda depolamada toplam laktik asit bakterisi sayıları log (kob/mL)	139
Çizelge 4.58. Karışık turşularda depolamada toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/ml)	140
Çizelge 4.59. Kornişon turşularının duyu analizi sonuçları	141
Çizelge 4.60. Karışık turşularının duyu analizi sonuçları	143

Çizelge 4.61. Taze kornişonların renk ve sertlik analizi sonuçları	144
Çizelge 4.62. Kornişon turşularında renk analizi sonuçları	145
Çizelge 4.63. Karışık turşuların beyaz lahanalarındaki renk analizi sonuçları	146
Çizelge 4.64. K2D turşularında sertlik analizi sonuçları (kg).....	147
Çizelge 4.65. K3D turşularında sertlik analizi sonuçları (kg).....	148
Çizelge 4.66. Kornişon ve karışık turşu salamuralarında organik asit analizi sonuçları (ppm).....	151
Çizelge 4.67. K2D turşularında aroma profili analizi sonuçları	154
Çizelge 4.68. Turşu salamuralarında biyojen amin analizi sonuçları (mg/L).....	158
Çizelge 4.69. Liyofilize kültürlerin saklanması boyunca canlılık oranları (log kob/g)	160



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DNS	3,5-Dinitrosalisilik asit
d	Dakika
EMP	Embden-Meyerhof-Parnas
FTS	Fizyolojik tuzlu su
GC	Gaz kromatografisi
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit
HMP	Heksoz monofosfat
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
h	Saat
K1D	Kor nişon birinci üretim denemesi
K2D	Kor nişon ikinci üretim denemesi
K3D	Kor nişon üçüncü üretim denemesi
KT	Karışık turşu
kob	Koloni oluşturan birim
LAB	Laktik asit bakterileri
L	Litre
log	Logaritma
mg	Miligram
MK	Maya ve küf
MRS	De Man, Rogosa ve Sharpe
MS	Kütle spektrometresi
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mTorr	Militorr
NaOH	Sodyum hidroksit
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standarts
nm	Nanometre
N	Normalite
PCA	Plate Count Agar
PDA	Potato Dextrose Agar
ppm	Milyonda bir
SPME	Sıvı faz mikroekstraksiyon
s	Saniye
TE	Toplam <i>Enterobacteriaceae</i>
TMAB	Toplam mezofilik aerobik bakteri
VRBA	Violet Red Bile Agar
v	Hacim
rpm	Dakikadaki devir sayısı
%	Yüzde
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
Δ	Fark

1. GİRİŞ

Turşu, sebze ve meyvelerin, belirli tuz konsantrasyonları veya kendi öz suları içinde laktik asit bakterileri tarafından fermentasyona uğratılmaları ile oluşan laktik asidin ve ortamdaki tuzun koruyucu etkisi ile, uzun süre dayanıklılık kazanan bir üründür (Aktan vd., 1998). Ülkemizde ve Dünya genelinde çeşitli sebze ve meyvelerden üretilen turşular sevilerek tüketilen fermente gıdalardan bir tanesidir.

Sahip olduğu iklimsel özellikleri ile sebze ve meyvelerin bol miktarda yetiştirildiği ülkemizde, mevsiminde toplanan sebze ve meyveler ile çeşitli turşular yapılmaktadır. Turşu üretimiyle sebze ve meyveler, zamana bağlı kalmaksızın uzun süre muhafaza edilebilmekte ve tüketilebilmektedir. Başta hıyar, lahana, biber olmak üzere, taze fasülye, patlıcan, havuç ve kapari üretimleri yaygın olarak gerçekleştirilen başlıca turşu çeşitleridir (Dursun, 2010). Ayrıca kızılcık, elma (ham yeşil), zeytin (yeşil), erik (ham yeşil), şalgam turpu (ham yeşil), kayısı (ham yeşil), kereviz yaprağı, şeftali (ham yeşil), bamya, badem (ham yeşil), karnabahar, armut (ahlat), brokoli, üzüm (koruk), vişne gibi meyve ve sebzelerden de turşular üretilmektedir (Aktan vd., 1998).

Hammadde bakımından sahip olduğu çeşitlilik, turşu endüstrisinin gelişmesini sağlayarak ülkemizi dünyada önemli turşu üreticilerinden biri konumuna getirmiştir. 1980'li yıllara kadar turşu üretimi çoğunlukla evlerde gerçekleştirilmekte, ayrıca küçük kapasiteli turşu işletmeleri de faaliyet göstermekteydi. Günümüzde halen evlerde üretimi yapılan ve tüketilen bir ürün olmakla birlikte, büyük ve modern tesislerde de üretilen geleneksel ve konserve turşular hem iç piyasa hem de dış piyasada satışa sunulmaktadır. Özellikle kornişon turşusu büyük gıda işletmelerinde üretilmekte ve tamamına yakın kısmı ihraç edilmektedir (Çetin, 2017).

1970'li yıllardan bu yana, biyoteknolojik uygulamaların gelişmesine bağlı olarak, fermente gıdaların tüketimi büyük bir artış göstermiştir. Tüketicilerin fermente gıdalara olan ilgisinin artmasında, fermente ürünlerde ürün güvenliği açısından sorun oluşturmayan mikroorganizmaların ve metabolitlerinin bulunması, bu tür

fermente gıdaların sağlıklı, doğal ve daha aromatik olduklarını düşünmeleri etkili olmaktadır. (Mavhungu, 2006; Bourdichon vd., 2012).

Sebze ve meyveler, yapılarında doğal olarak bulunan laktik asit bakterileri ile fermente edilebilmekte ya da bu mikroorganizmalar starter kültür olarak gıdaların üretilmesinde dışarıdan ilave edilebilmektedir. Fermente gıdaların üretilmesinde, hammaddede bulunan laktik asit bakterileri ile doğal fermantasyon gerçekleştirilebilmektedir. Doğal fermantasyon ile tüketim açısından uygun gıdalar üretilebilmekte, ancak iklim koşulları, hammaddede bulunan mikroorganizmaların çeşidi ve sayısı gibi birçok faktörün farklılık göstermesi nedeniyle standart kalitede ürün üretimi sağlanamayabilmektedir. Bu noktada doğal fermantasyondaki bu olumsuzlukların giderilmesi için üretimde hammaddeye dışarıdan starter kültür veya kültürlerin ilavesiyle bu sorunların çözülmesi sağlanmakta, standart kalitede ürün üretimi gerçekleştirilebilmektedir. Doğal fermantasyon tekniklerinin uygulandığı sauerkraut ve turşu fermantasyonlarında da artık starter kültür kullanımına bağlı kontrollü bir fermantasyon gerçekleştirilmektedir (Hutkins, 2006).

Ülkemizde ve dünyada sevilerek tüketilen turşuların standart kalitede üretimlerinin gerçekleştirilmesi ve yüksek kapasiteli üretimlerde gerçekleştirilen doğal fermentasyonlardaki olumsuzlukların en aza indirilmesi için, kontrollü fermentasyon uygulamalarına ve bu kapsamda starter kültür kullanımına gerek duyulmaktadır. Bu durum turşu üretimi için uygun starter kültürlerin geliştirilmesini bir gereklilik haline getirmiştir. Bu doğrultuda ülkemizde bugüne kadar turşulardan laktik asit bakterilerinin izole edilerek turşu fermantasyonu için uygun starter kültürlerin araştırıldığı ve bu starter kültürler ile turşu üretimlerinin gerçekleştirildiği çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar incelendiğinde, starter olarak kullanılan bakterilerin genellikle aktif formlarının kullanıldığı görülmekte olup, liyofilize formlarının kullanıldığı çalışmaların ise daha sınırlı olduğu dikkat çekmektedir.

Bu çalışmanın amacı, turşu fermantasyonunda rol oynayan önemli bakterilerin belirlenmesi ve izole edilmesinin ardından bunların tekli veya çoklu kullanımı ile kontrollü bir fermantasyon sağlanması sonucunda standart ve yüksek kalitede bir

turşu üretimini gerçekleştirmektir. Bu amaçla geleneksel turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin endüstriyel özellikleri belirlenmiş ve starter kültür olma potansiyeline sahip görülen izolatlar liyofilize edilerek kullanıma hazır kültür üretimleri gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, elde edilen liyofilize kültürlerin turşu fermantasyonunda kullanımı ile kontrollü bir fermantasyon gerçekleştirilerek, geleneksel yöntem ile turşu üretimindeki olumsuzlukların giderilebileceği ve çalışmadan elde edilen verilerin literatüre katkı sağlayacağı düşünülmüştür. Ayrıca elde edilen liyofilize kültürlerin raf ömrü boyunca canlılıklarının da tespit edilmesiyle, turşu üretiminde liyofilize starter kültürlerin kullanım olanakları değerlendirilmiştir.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Laktik Asit Bakterileri ve Fermantasyon

Gıdaların korunması ve işleme metodlarının sınıflandırılmasında biyolojik proseslerden bir tanesi olan fermantasyon, gıdaların korunmasında en eski metodlardan olup, karbonhidratların oksidasyonu sonucunda alkol ve asit üretilen bir prosestir (Sherawat vd., 2021). Fermantasyon kelimesi sözlük anlamı ile “mayalanma” olarak dilimizde karşılığını bulmakla birlikte teknolojik olarak farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Genel olarak endüstride oksijenli ve oksijensiz ortamlarda büyük ölçekli mikrobiyel prosesler olarak adlandırılmakla birlikte “organik moleküllerin hem hidrojen vericisi, hem de alıcısı olarak kullanıldığı, genellikle oksijensiz ortamlarda süren ve sınırlı sayıda ATP’nin substrat fosforilasyonu ile kazanıldığı metabolizma” şeklinde tanımlanmaktadır (Tunail, 2009; Bourdichon vd., 2012).

Fermente gıdalar; içecekler, tahıl ürünleri, süt ürünleri, balık ürünleri, meyve ve sebze ürünleri, baklagiller ve et ürünleri olmak üzere yedi sınıfa ayrılmaktadır. Fermantasyon sonucu elde edilen geleneksel fermente gıdalar, tat ve lezzet özelliklerinin yanı sıra çeşitli fonksiyonel özellikler de içermektedirler. Bu özellikler; gıdada tat, aroma ve dokunun geliştirilmesini sağlamak, laktik asit, asetik asit ve alkol fermantasyonları ile gıdaların muhafazasına katkı sağlamak, proteinler, esansiyel amino asitleri, esansiyel yağ asitleri ve vitaminler açısından gıdaları zenginleştirmek olarak belirtilmektedir. Bunun yanı sıra, geleneksel kırsal ve kentsel çevrelerde iş imkânı yaratılması ve gelir arttırmaya yönelik olanakların sağlanması da fermente gıdaların üretilmesi ile elde edilebilen sosyal faydalar arasında bulunmaktadır (Tokatlı, 2013).

Salamura içindeki sebze ve meyveler laktik asit fermantasyonuna uğratarak, oluşan laktik asidin ve ortamdaki tuzun koruyucu etkisiyle dayanıklı hale getirilmekte, böylece az veya hiç bulunmadıkları mevsimlere kadar muhafaza edilebilmektedir (Özçelik ve Ulu, 2002). Fermantasyon ile hammaddenin renk, tat ve kokusu ile

kimyasal yapısında değişimler meydana gelerek, tümüyle farklı görünüş ve tada sahip ürünler oluşmakta ve böylece ürün çeşitliliği de artmaktadır (Karasu, 2006). İnsanlar tarafından fermente gıdaların ilk 'işlenmiş' gıdalar olarak üretilmesi ve tüketilmesi, fermente gıdalar üzerine birçok araştırma yapılmasına yol açmış ve bu çalışmalar fermentasyonun bir gıda endüstrisi olarak gelişmesine yardımcı olmuştur (Hutkins, 2006).

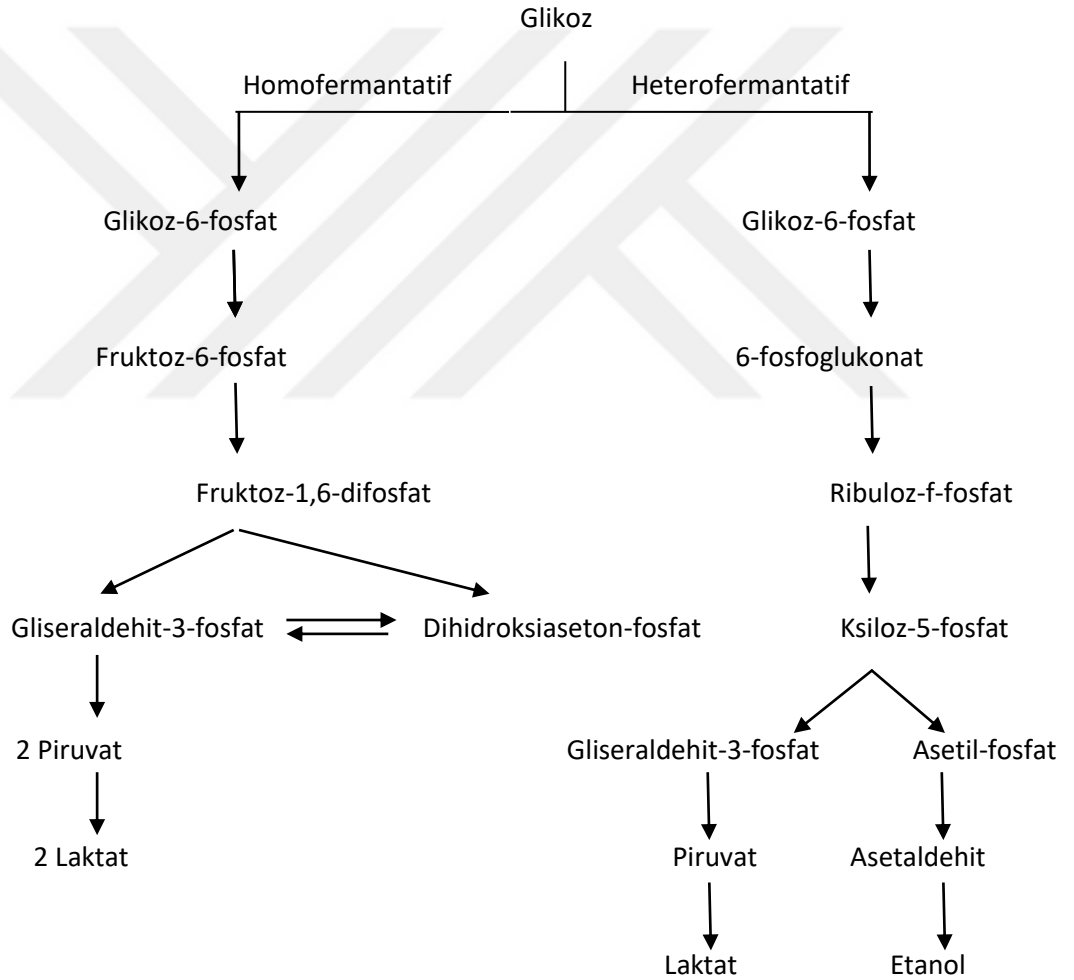
Fermentasyon ile gıdaların üretilmesi ve muhafazası, çok eski bir yöntem olmasına rağmen, 1861 yılında Louis Pasteur tarafından pastörizasyonun bulunmasıyla mikroorganizmaların fermentasyon ile olan ilişkisi anlaşılmıştır (Ross vd., 2002). Bakterilerin fermentasyon ile olan ilişkisinin anlaşılmasıyla laktik asit bakterilerine olan ilgi de artmıştır. Fermente gıdalar denildiğinde ilk olarak bu ürünlerin aroma, tekstür ve besin değerlerine katkıda bulunan Laktik Asit Bakterileri (LAB) akla gelmektedir (Arslankoz, 2011).

Bazı istisnalar dışında laktik asit bakterileri Gram pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmayan, fakültatif anaerobik, çubuk ya da kok şekilli, oksidaz negatif bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Süt ve süt ürünleri, taze veya çürümüş bitkiler, insan ve hayvanların bağırsak sistemleri, LAB'nin doğal olarak bulundukları yaşam alanlarıdır (Carr vd., 2002; Karasu, 2006).

Laktik asit bakterileri anaerobik koşullar altında gelişim gösterebilmekte, oksijene karşı duyarlı olmadıklarından aerotolerant anaerob organizmalar olarak adlandırılmaktadırlar. Sitokrom içermedikleri ve elektron taşıma sistemi taşımadıkları için enerji eldesi yalnızca substrat düzeyinde fosforilasyon ile gerçekleştirilmektedir. Fizyolojik karakterleri bakımından birbirine yakın olan LAB, hücre morfolojileri bakımından birbirlerinden oldukça farklı olan cinsleri içermektedir. Laktik asit bakterileri kok, basil veya kokobasil şeklinde olup, bazı cinsler zincir oluşturabilmektedir (Klein vd., 1998; Renault, 2002; Liu, 2003; Françoise, 2010). Genel olarak mezofilik bakterilerdir ancak 5 °C'den 45 °C'ye kadar oldukça geniş bir sıcaklık aralığında da gelişebilirler. Asit ve alkali ortamlara

toleranslı olan bu bakteriler gelişebilmeleri için serbest aminoasit ve vitaminlere ihtiyaç duymaktadırlar (Yıldız, 2011).

Metabolizmaları fermantatif proseslere dayalı olan LAB'nin fermantasyon sonucu oluşturduğu ürünler, genetik ve fizyolojik farklılıklara bağlı olarak glikozun parçalanması ile değişiklik gösterir ve bu şekilde bakteriler homofermantatif ve heterofermantatif olarak gruplandırılmaktadır (Yıldız, 2011). Şekil 2.1.'de homofermantatif ve heterofermantatif laktik asit bakterilerinin glikozu parçalaması ile oluşturdukları ürünler görülmektedir (Dündar, 2017).



Şekil 2.1. Homofermantatif ve heterofermantatif laktik asit bakteri metabolizması

Homofermantatif laktik asit bakterileri (*Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* ve bazı *Lactobacillus* türleri), aldolaz ve heksoz izomeraz enzimlerine sahiptir, ancak fosfoketolaz enzimleri yoktur. Dolayısıyla, Embden-Meyerhof-Parnas

(EMP) iz yolunu kullanarak şekerin %90'dan fazlasını laktik aside dönüştürürler. Heterofermantatiflerin (*Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weisella* ve bazı *Lactobacillus* türleri) ise fosfoketolaz enzimleri vardır, ancak aldolaz ve heksoz izomeraz enzimlerinden yoksundurlar. Bu sebeple, glikozu indirgemek için heksoz monofosfat (HMP) ya da pentoz iz yolunu kullanırlar ve %50 kadarı laktik asit, bunun yanında yüksek oranda etanol, asetik asit, gliserol, mannitol ve fruktoz oluştururlar (Dursun, 2010).

Lactobacillus, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Tetragenococcus* cinsleri doğrudan gıda fermantasyonlarında yaygın olarak rol oynayan LAB'dir. Ayrıca, *Enterococcus* cinsi de bazı gıda fermantasyonlarında yer almaktadır (Hutkins, 2006). Karbonhidratlardan laktik asit ve diğer asitleri üretebilme yetenekleri, LAB'nin gıda fermantasyonlarına ilişkin önemli ve temel özelliklerinden bir tanesidir (Tokatlı, 2013).

Meyve ve sebzelerin fermantasyon ile muhafazası M.Ö 1000-1500 yıllarına dayanmaktadır. Günümüzde ise salatalık, lahana, havuç, kereviz, şalgam, turp, pancar, biber gibi birçok sebze fermente edilerek tüm dünyada, çok fazla miktarda ve çeşitlilikte ürün oluşmaktadır (Daeschel vd., 1987). Ülkemizde iklim koşullarının uygunluğu sebebiyle değişik sebzeler üretilmesi sonucunda fermente sebze ürün çeşitleri de artmaktadır. Bunların başında hıyar, lahana, biber, patlıcan, domates ve fasulye gelmektedir (Ova, 2002; Aktan vd., 1998). Ayrıca ülkemizde farklı bölgelerde daha farklı meyve ve sebzelerden yapılan turşular da bulunmaktadır (Karasu, 2006).

2.2. Turşu Tanımı ve Tarihçesi

Turşu; sebze ve meyvelerin belirli tuz konsantrasyonları veya kendi öz suları içinde laktik asit bakterileri tarafından fermantasyona uğratılmaları ile oluşan laktik asidin ve ortamdaki tuzun koruyucu etkisi sonucu, uzun süre dayanıklılık kazanan bir üründür (Aktan vd., 1998).

Turşu” Farsça kökenli olup ekşi anlamındaki “torş” kelimesinden türetilmiştir (Kabak ve Dobson, 2011). Türk Standartları Enstitüsünün (2012) yaptığı tanıma göre; Turşu (TS 11688) “Turşu hammaddelerinin yıkama, ayıklama, sınıflandırma gibi ön işlemlerden geçirilerek fermantasyon ve tercihen pastörizasyona tabii tutularak gerektiğinde koruyucu madde ilavesiyle imal edilen ürün” olarak tanımlanmıştır (Çetin, 2017).

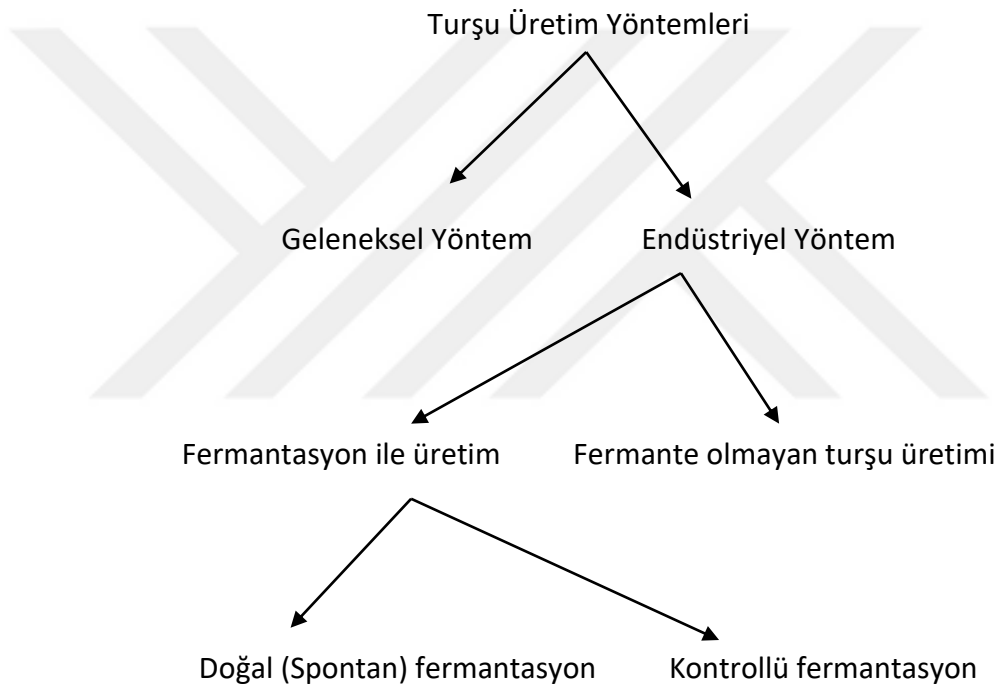
Turşu üretiminin ilk kez nerede, ne zaman ve nasıl başladığı bilinmemektedir. Ekmek, bira, şarap ve sirke gibi birçok yiyecek ve içeceğin üretiminde fermantasyonun kullanılmakta olduğu düşünülmekte olup, bu konuda milattan 7000 yıl öncelerine kadar giden bulgulara rastlanmaktadır (Aktan vd., 1998; Ross vd., 2002). Bundan dolayı turşu üretiminin de aynı yıllarda başlamış olabilme ihtimali kuvvetlidir.

Laktik asit fermantasyonu sonucunda üretilen önemli gıdalardan biri olan turşu üretiminde, laktik asit fermantasyonu ve tuz iki önemli temel faktörü oluşturmaktadır. Turşu fermantasyonunda, hammaddeden kaynaklı flora içerisinde bulunan veya ilave edilen starter kültürlerden gelen laktik asit bakterilerinin şekerleri büyük oranda laktik asit gibi asitlere dönüştürmesi ile temelde laktik asit fermantasyonu gerçekleşmektedir. Laktik asit fermantasyonu sonucunda gıdalarda mikrobiyel bozulmaya, toksinlerin oluşmasına karşı koruma sağlanmakta, patojenik mikroorganizmaların gelişimi engellenmekte, ayrıca fermantasyon sonunda yeni ve farklı özellikte ürünler elde edilmektedir (Hutkins, 2006; Çetin, 2017).

Üretimde kullanılan salamura içindeki tuzun konsantrasyonuna bağlı olarak mikrobiyal aktivitenin boyutunu ve türünü belirlemek, hammaddedeki pektinolitik ve proteinolitik hidrolizleri sınırlandırarak ürün dokusunda yumuşamayı kontrol etmek ve bozulmanın engellenmesine yardımcı olmak gibi önemli görevleri bulunmaktadır (Dursun, 2010).

2.3. Turşu Üretim Yöntemleri

Turşu üretim yöntemleri geleneksel yöntem ve endüstriyel yöntem olmak üzere temel olarak ikiye ayrılmaktadır. Geleneksel ve endüstriyel turşu üretimi, genel hatlarıyla benzer olmakla birlikte aralarında bazı farklılıklar olabilmektedir. Özellikle endüstriyel üretimde üretilen turşuların miktarının fazla olmasından kaynaklanan farklılıklar vardır. Endüstriyel üretimde raf ömrünün uzun olmasının arzu edilmesi, pastörizasyon ve benzeri bazı ilave işlemleri gerektirebilmektedir. Turşu üretim yöntemleri, Şekil 2.2’de verilmiştir (Dursun, 2010; DüNDAR, 2017; İCİL, 2019).



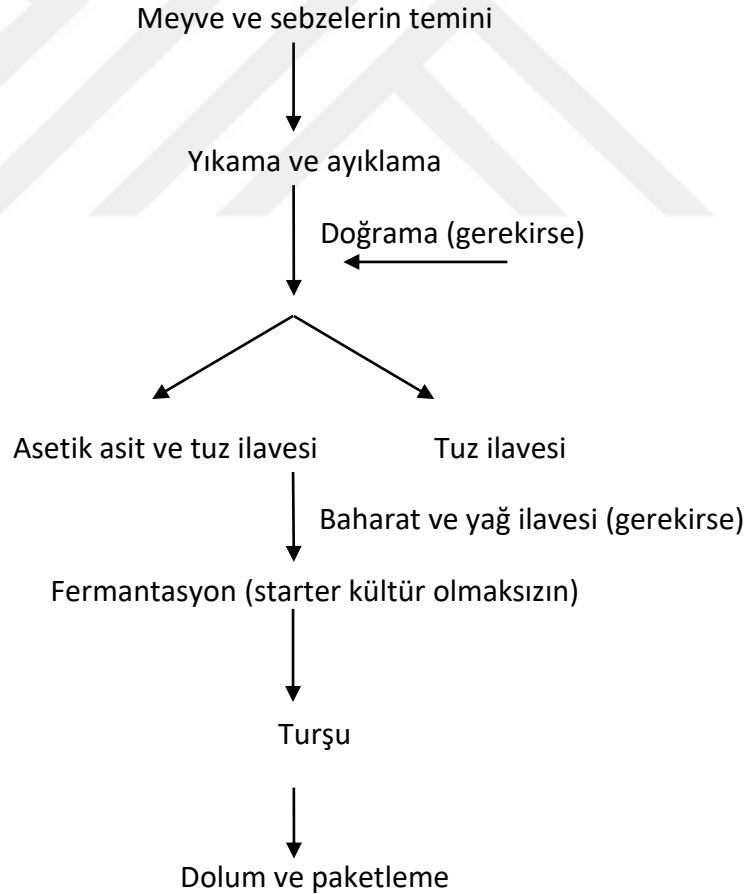
Şekil 2.2. Turşu üretim yöntemleri

2.3.1. Geleneksel yöntem

Geleneksel yöntemle turşu üretimi, starter kültür ilave edilmeksizin laktik asit fermantasyonu ile gerçekleştirilmektedir. Geleneksel yöntemle turşu üretiminde, meyve ve sebzelerin salamura eklenmesiyle ham maddelerin yapısında bulunan mikroorganizmalarla başlayan fermantasyonda kısa sürede karbondioksit gazı oluşumu görülmeye başlanabilmektedir. Ortam sıcaklığına bağlı olarak 1-4 hafta fermente olması için bekletilen turşularda gaz çıkışının sonlanması ise

fermantasyonun bittiğine işaret etmektedir. Şekil 2.3'te görüldüğü üzere son aşama, turşuların temiz kavanozlara dolumu ve soğukta depolanması şeklinde gerçekleşmektedir. Bazı durumlarda ise turşuların üzeri kapatılmadan önce ince bir yağ tabakası ile kaplanabilmektedir (Dündar, 2017).

Laktik asit fermentasyonunun iki farklı uygulaması bulunmaktadır. En yaygın yöntem olan 'asitli salamuralı fermentasyon' uygulamasında, hammadde asetik asit ve salamura içinde fermentasyona tabi tutulurken, diğer yöntem olan 'salamuralı fermentasyon' uygulamasında ise asit katkısı olmaksızın hammadde salamura içerisinde fermentasyona tabi tutulmaktadır. Bu şekilde uygulanan işleme 'stok işleme' adı da verilmektedir (Aktan vd., 1998). Şekil 2.3'te geleneksel yöntem ile üretilen turşuların üretimi verilmiştir (Dündar, 2017).



Şekil 2.3. Geleneksel yöntemle turşu üretim aşamaları

Ülkemizde üretilen turşularda kullanılan hammaddelerin başında hıyar, daha sonra ise biber gelmekte olup, lahana ve karışık turşuya olan ilgi son zamanlarda artmaktadır (Aktan vd., 1998). Karışık turşu üretimi için karışık turşuya katılacak olan sebzeler (lahana, salatalık, yeşil biber, yeşil domates, kırmızı biber) yıkanmakta ve fermantasyon için hazırlık işlemleri (havuçların doğranması, lahanaların parçalanması gibi) yapılmaktadır. Fermantasyon tanklarına doldurulan sebzelere su, tuz ve sirkeden oluşan salamura eklenmektedir. Turşu içerisine isteğe bağlı olarak sarımsak, dereotu ve benzeri çeşitli bitki ve baharatlar katılmaktadır. Fermantasyon aşaması oda sıcaklığında gerçekleştirildikten sonra oluşumu tamamlanan turşular depolanmaktadır (Çetin, 2011).

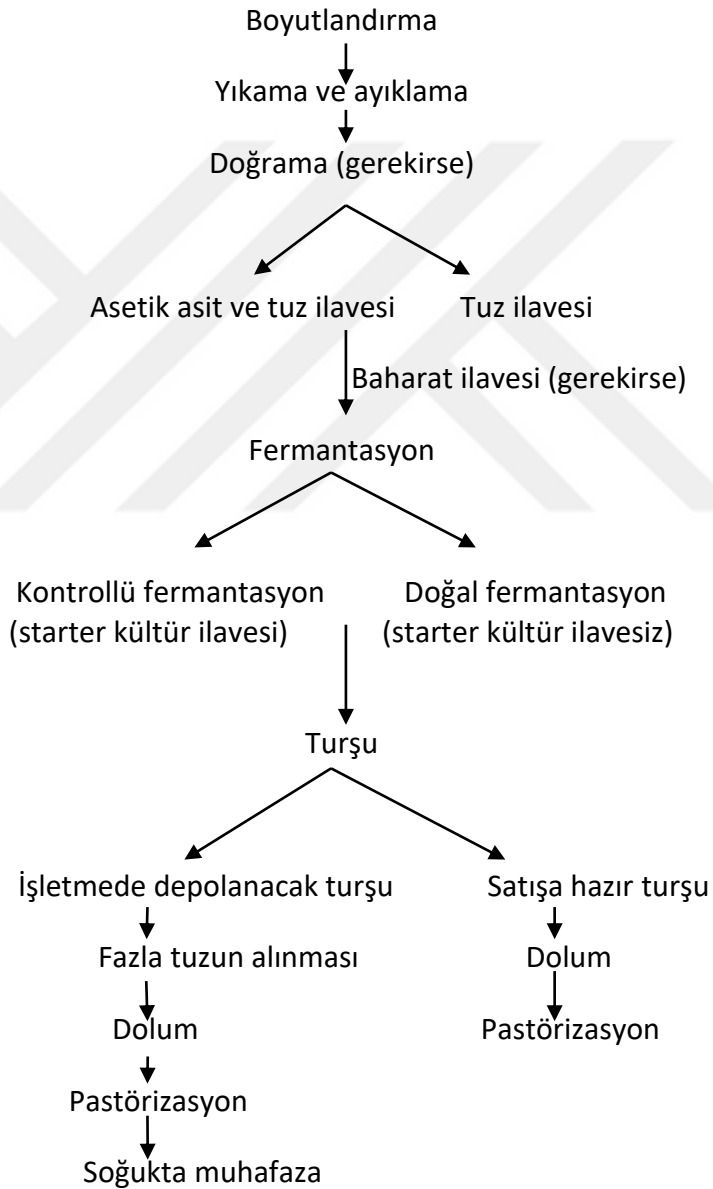
2.3.2. Endüstriyel yöntem

Endüstriyel turşu üretimi, turşu üretim miktarının fazla olması ve satışa sunulana kadar bekletilmesi durumları da göz önüne alınarak fermantasyon ile ya da fermantasyon uygulanmadan üretilmektedir. Üretim, öncelikle turşu yapılacak küçük ve olgunlaşmamış meyve ve sebzelerin seçilmesiyle başlamaktadır. Seçilenler boylarına göre sınıflandırılmakta, yıkanmakta, tanklara yerleştirilmekte ve tamamıyla salamura suyunun içinde olacak şekilde salamuraları eklenmektedir. Tanelerin salamura içerisinde kalması bozulmanın önlenmesinde önemli bir işlemdir. Salamuradaki tuz konsantrasyonu, uzun süreli depolanacak turşularda yüksek oranlarda (%10-12) hazırlanırken, soğuk havada depolanması ve piyasaya sürülmesi planlanan veya konserve işlemine tabi tutulacak turşularda ise tuz oranı (%5-8) daha düşük tutulmaktadır.

Salamuranın asitlendirilmesi amacıyla sirke (asetik asit) kullanılmaktadır. Bu aşamada tercihe göre gazlı ve şişmiş turşular elde edilmek isteniyorsa, %1 oranında glikoz eklenebilmektedir (Dündar, 2017).

2.3.2.1. Fermantasyon ile turşu üretimi

Endüstriyel yöntemde fermantasyon ile üretilecek olan turşularda gerçekleşen laktik asit fermantasyonu, doğal fermantasyon (spontan fermantasyon) ve kontrollü fermantasyon (saf kültür ilave edilerek) olmak üzere iki şekilde gerçekleştirilmektedir (İcil, 2019). Şekil 2.4'te fermantasyon ile üretilen turşuların üretim akışı verilmiştir.



Şekil 2.4. Fermantasyon ile turşu üretimi

2.3.2.1.1. Doğal fermantasyon (spontan fermantasyon) ile turşu üretimi

Endüstride yaygın olarak uygulanan doğal fermantasyon ile turşu üretimi, hammaddenin salamuraya konulmasıyla birlikte, üzerinde bulunan doğal mikroorganizmalar ile gerçekleştirilmektedir (Palop vd.,2000). Doğal fermantasyon sürecinde laktik asit bakterilerinin aktivitesini ve ürün kalitesini önemli derecede etkileyebilecek mikrobiyel etkileşimler gerçekleşmekte ve floranın doğal fermantasyon süresince değişmesi nedeniyle fermantasyon; başlangıç, birincil fermantasyon, ikincil fermantasyon ve fermantasyon sonrası olmak üzere dört aşamayla kategorize edilmektedir (Daeschel vd., 1987).

Doğal fermantasyon aşamaları ve ortamda bulunan mikroorganizmalar, Çizelge 2.1.'de gösterilmektedir (Daeschel vd., 1987; Aktan vd., 1998).

Çizelge 2.1. Doğal fermantasyon aşamaları

Turşu fermantasyon aşamaları	Mevcut mikroorganizmalar
Başlangıç	Çeşitli Gram (+) ve (-) bakteriler
Birincil fermantasyon	Laktik asit bakterileri ve sınırlı sayıda maya türleri
İkincil Fermantasyon	Mayalar
Fermantasyon sonrası	Aerobik ortam: yüzeyde oksidatif maya, küf ve bakteriler Anaerobik ortam: yok

Fermantasyonun başlangıç aşamasında ilk önce mayalar ile Gram (+) ve Gram (-) bakteriler gelişmektedir. Hammaddeden gelen fermente edilebilir şekerler olan glikoz ve früktoz hem laktik asit bakterileri hem de *Enterobacteriaceae* üyeleri için uygun olduğundan bu iki grup bakteri rekabet halindedir (Daeschel vd., 1987). Bu aşamanın sonunda, pH'nın düşmesiyle birlikte laktik asit bakterileri baskın konuma gelmekte ve birincil fermantasyon başlamaktadır. Birincil fermantasyon aşamasında laktik asit üreten en aktif beş bakteri türünün gelişimlerine göre muhtemel sıralamasının *E. faecalis*, *Leu. mesenteroides*, *P. cerevisiae*, *L. brevis* ve *L. plantarum* şeklinde olduğu bildirilmektedir (Dursun, 2010). Tuzun etkisi göz önünde bulundurulduğunda, laktik asit bakterilerinden *Leu mesenteroides*, *P. pentosaceus*

ve *L. plantarum* türleri baskın laktik asit üreticileri olarak öne çıkmaktadırlar. Bu sıralamayı türlerin başlangıçtaki sayıları, gelişme hızları, tuz ve asit dirençlilikleri etkilemektedir. *L. mesenteroides*'in aside direnci diğer bakteriler kadar yüksek olmasa da hammaddede diğer laktik asit bakterilerine oranla daha yüksek sayıda bulunması nedeniyle fermantasyonu başlatan mikroorganizma olduğu belirtilmektedir (Daeschel vd., 1987). Asit direnci çok yüksek olan *Lactobacillus plantarum* ise fermantasyonu sonlandıran mikroorganizma olarak rol oynamaktadır (Dursun, 2010).

Hammadde florasındaki diğer mikroorganizmalardan birincil fermantasyon aşamasında daha az aktif olan mayalar ise birincil aşamada ortamda fermente edilebilir şekerlerin kalması durumunda ikincil fermantasyon aşamasında daha aktif rol oynamaktadır. Turşu fermantasyonlarında rol oynamaları genellikle istenmeyen mayaların oksidatif ve fermantatif faaliyetleri bozulma etmeni olarak değerlendirilmektedir. Fermantatif mayalar, oluşturdukları CO₂ kaynaklı bozulmalara neden olurken, oksidatif mayalar ise fermantasyonda oluşan laktik asidi kullanarak asitliği azaltırlar ve diğer bozulma etmenlerinin faaliyetlerine imkan tanırlar. Mayaların bu olumsuz etkileri dışında, kalan şekerleri kullanarak fermantasyonu tamamlamaları ile ürüne yönelik olumlu etkiler de sağlayabildikleri bazı kaynaklarda belirtilmiştir. Bir diğer mikroorganizma grubu olan küfler ise selülitik ve pektinolitik aktiviteleri ile turşularda yumuşamaya neden olduklarından gelişmeleri istenmez. Fermantasyonun son aşamasında ise fermantasyonun gerçekleştirildiği kabın (tankın) açık ya da kapalı olmasına göre fermantasyonun gidişatı değişmektedir. Kapalı tankların kullanımı durumunda, herhangi bir mikrobiyel aktivite söz konusu olmamakta, açık tanklarda ise salamura yüzeyinde pek çok istenmeyen mikroorganizmalar gelişebilmektedir (Aktan vd. 1998).

2.3.2.1.2. Kontrollü fermantasyon ile turşu üretimi

İşlenmemiş sebze ve meyvelerin yapılarında bulunan mikroorganizmalarla fermantasyona bırakılması sonucu gerçekleşen doğal fermantasyon, küçük ölçekteki üretimlerde, gelişmemiş ya da az gelişmiş ülkelerde ve ev tipi üretimlerde

kullanılmaktadır. Doğal fermantasyon ile tüketim anlamında kabul edilebilir özelliklerde ürünler elde edilebilmekte, ancak endüstriyel boyutta bir üretim söz konusu olduğunda ise ürüne yönelik istenen sonuçları her zaman sağlayamayabilmektedir. Doğal fermantasyonla üretilen son ürünlerde görülen tutarsızlıklar ve bozulmalar, fermantasyonun kontrol ve güvenliğinin sağlanamaması, ürün ve üretime yönelik standardizasyonun oluşturulamaması olarak belirtilmiştir (Daeschel ve Fleming, 1987). Fermente gıdaların standart bir kalitede olmasının oldukça önemli olduğu göz önüne alındığında, doğal fermantasyondaki bu tür olumsuzlukları ortadan kaldırmak için kontrollü fermantasyon uygulamaları geliştirilmiştir (Özçelik ve İç, 1996).

Kontrollü fermantasyon, turşu fermantasyon ortamında doğal olarak bulunan laktik asit bakterilerinin gelişmesinden çok, eklenen starter kültürlerin gelişmesi için gerekli çevresel koşulların sağlanmasını hedefleyen bir uygulama olarak tanımlanmıştır (Özçelik ve İç, 1996).

Kontrollü fermantasyon uygulamasının prensiplerinin, ilk kez 1973 yılında yapılan bir çalışmada ortaya konulduğu belirtilmiştir. Hıyar üretimi için kontrollü fermantasyon uygulamasının aşamaları; hıyarların yıkanması, baskı tahtası konması, salamura dolumu, asitlendirme, temizleme (azot gazı ile), tampon ilavesi, starter kültür ilavesi, tuz ilavesi, fermantasyon ve depolama olarak belirtilmiştir (Özçelik ve İç, 1996). Bu aşamalar incelendiğinde, starter kültür ilavesinin kontrollü fermantasyonun aşamalarından bir tanesi olduğu dikkati çekmektedir.

Doğal fermantasyonun fiziksel ve kimyasal olarak kontrol edilebilmesi, ancak starter kültürün fermantasyonda kullanılmasıyla etkili olabilmektedir (Daeschel ve Fleming, 1987). Starter kültürlerin, hammaddelere ilavesiyle, fermente bir ürüne ilişkin istenen ve olması gereken tüm özellikler sağlanabilmektedir. Bu nedenle; ticari boyuttaki fermantasyonlarda, starter kültür kullanımı temel bir zorunluluk olarak görülmektedir (Dursun, 2010).

Gıda fermantasyonlarını kontrol etmek, istenilen doğrultuda yönlendirebilmek ve koşullarını iyileştirebilmek için yapılan çalışmaların temelini oluşturan starter kültür teknolojisi, 1900'lü yıllardan bu yana gelişim göstermiş olup, çeşitli fermantasyon alanlarında kullanılmaktadır. Başta süt endüstrisi olmak üzere et, ekmek, bira, şarap ve sirke fermantasyonlarında starter kültür teknolojisi uygulanmaktadır. Doğal fermantasyon tekniklerinin uygulandığı turşu fermantasyonlarında da artık starter kültür kullanımına bağlı kontrollü bir fermantasyon gerçekleştirilmektedir (Hutkins, 2006)

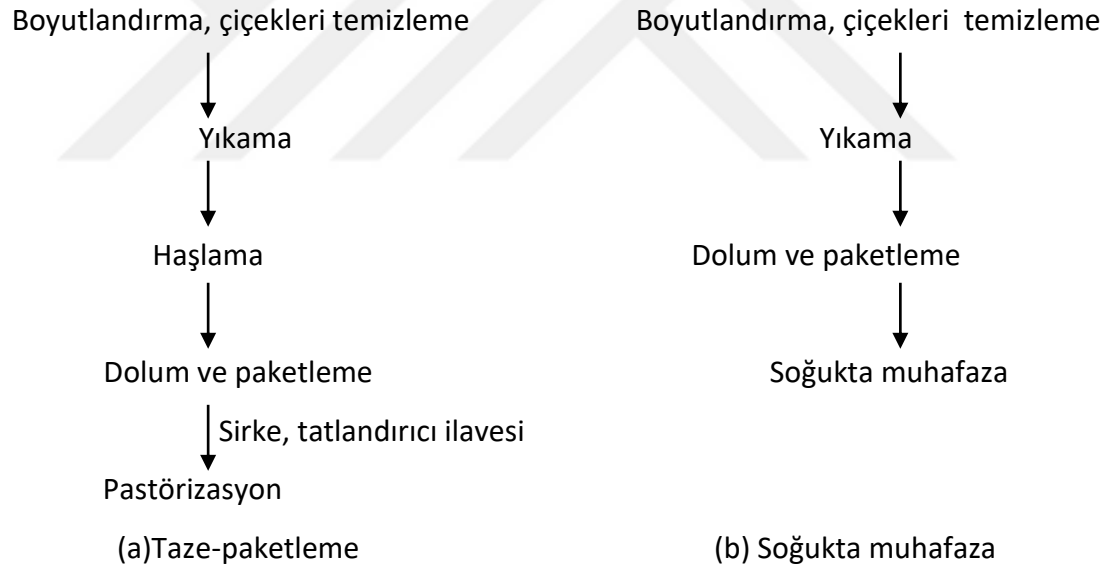
Sebze fermantasyonlarından temel olarak sorumlu olan mikroorganizma grupları olan laktik asit bakterileri, sıcaklık, hasat koşullarına bağlı olarak çeşitlenmekte ve bu nedenle doğal fermantasyonlar, ürünün duyu özelliklerinde çeşitliliklere neden olmaktadır. Starter kültürün kullanımı, mikroflarının kontrolünü sağlamak yoluyla (özellikle aerobik floranın) fermantasyonların standardize edilmesine yardımcı olmaktadır (Gardner vd., 2001). Standart bir ürün ve üretim tekniğinin oluşturulması, üretim kolaylığı, üretim hızı ve verimde artış, biyogen amin oluşumunda baskılama/azaltma, depolama sürecinde stabilizasyon gibi nitelikler de fermente sebze teknolojisinde starter kültür kullanımına bağlı olarak elde edilebilecek faydalardır (Halasz vd., 1999; Hutkins, 2006). Kontrollü fermantasyon uygulaması ile doğal fermantasyonda oluşabilecek olumsuzluklar giderilebilmekte, fermantasyon istenilen doğrultuda yönlendirilebilmekte, gelişmesi istenen starter kültür için gerekli çevre koşulları sağlanabilmektedir (Özçelik ve İç, 1996).

2.3.2.2. Fermante olmayan turşuların üretimi

Bazı ülkelerde geleneksel sayılmamakla birlikte fermantasyon işlemi olmaksızın endüstriyel turşu üretimi de gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde, kavanoz veya teneke kutulara yerleştirilen hammadde üzerine asit ve tuzdan oluşan salamura konularak, fermantasyon işlemi yapılmaksızın, pastörizasyon prosesi uygulanmaktadır. 'Kavanoz veya teneke işleme' olarak adlandırılan ilk yöntemde, kavanoz veya tenekelerdeki asit ve tuz içeren salamura içerisine hammaddenin konularak pastörizasyon işlemi gerçekleştirilmektedir. Diğer bir uygulama olan "stok

veya yarı mamul işleme” yönteminde ise hammaddeler daha sonra kavanoz veya tenekelere işlenmek üzere sirkeli salamura içinde muhafaza edilmekte ve gerektiği zaman son ürüne işlenmektedir (Dursun, 2010).

Şekil 2.5’te fermente olmayan turşulardan, taze paketlenen (a) ve soğukta muhafaza edilen (b) turşuların üretim aşamaları verilmiştir. Şekil 2.5’te görüldüğü üzere endüstriyel turşu üretiminde laktik asit fermantasyonu, bir üretim yöntemi olarak tüm turşularda uygulanmamaktadır. Amerika’da tüketilen turşuların yaklaşık yarısını laktik asit fermantasyonu gerçekleştirilmeksizin üretilen turşular oluşturmaktadır. Bu durumda, fermantasyon aşaması atlanarak salamuraya koruyucu olarak asetik asit katılmakta ve turşular bu şekilde üretilmektedir. Genellikle fast-food tarzı yiyeceklerde bu şekilde üretilmiş turşuların kullanıldığı bilinmektedir (Hutkins, 2006).



Şekil 2.5. Fermante olmayan turşuların üretim aşamaları

Amerika’da turşular genellikle, üretim proseslerinin farklılığına göre; üç grupta toplanmaktadır. Taze paketlenmiş turşular: sirke ve çeşitli tatlandırıcılarla karıştırılarak ve pastörize edilerek üretilen turşulardır. Soğutulmuş turşular: sirke ve çeşitli tatlandırıcıların katıldığı, soğutma işleminin uygulandığı, zayıf bir fermantasyon işleminin gerçekleştirildiği turşu grubunu oluştururken, fermente

edilmiş turşular ise gerçek turşu olarak da nitelendirilmekte ve normal fermentasyon uygulanmasıyla diğer turşulardan oldukça farklı tat, aroma ve tekstür oluşumu gerçekleşmektedir (Hutkins, 2006).

2.4. Turşu Fermentasyonunda Rol Oynayan Başlıca Laktik Asit Bakterileri

Taze sebze ve meyvelerin doğal mikroflorası çok çeşitli mikroorganizmalardan meydana gelmektedir. Bu populasyonun içinde bozulmalara neden olan mikroorganizmalar ve laktik asit bakterileri de yer almaktadır. (Aktan vd., 1998). Genel olarak sebze fermentasyonlarıyla ilişkilendirilen laktik asit bakteri türleri, Çizelge 2.2.'de verilmiştir (Muñoz vd.,2009).

Çizelge 2.2. Bazı sebze fermentasyonları ile ilişkilendirilen LAB türleri

Sebze	Laktik asit bakterileri
Hıyar	<i>L. plantarum</i> <i>L. brevis</i> <i>L. pentosus</i> <i>Leuconostoc</i> spp. <i>Pediococcus</i> spp.
Lahana	<i>Leu. mesenteroides</i> <i>L. brevis</i> <i>P. pentosaceus</i> <i>L. plantarum</i>

Turşu fermentasyonlarında genel olarak izole edilen ve fermentasyon ortamında bulunan laktik asit bakterisi türleri aşağıda özetlenmiştir.

2.4.1. *Lactobacillus plantarum*

Çubuk şeklinde, tek hücre halinde ya da kısa zincirler halinde bulunmakla birlikte uygun koşullar söz konusu olduğunda kısa çubuklar halindedirler. Olumsuz koşullarda, örneğin fermente sebzelerde asitlik arttıkça, daha uzun bir yapı oluşturmaktadır. Büyük çoğunluğu glikoz, früktoz, mannoz, galaktoz, arabinoz, sakkaroz, maltoz, laktoz, rafinoz ve salisin kaynaklarından asit meydana getirir. Bazı suşlar sorbitol, mannitol, dekstrin, gliserol ve ksilozu fermente edip asit

oluştururken; ramnoz, nişasta ve inulini genelde fermente etmez. Fermantasyon sırasında heksoz şekerlerden esas olarak laktik asit, çok düşük miktarlarda asetik asit ve karbondioksit oluştururken, pentozlardan ise asetik ve laktik asit oluştururlar. Tuza dirençliliği %5,5 düzeyine ulaşabilen bakteri, sıvı ortamda yaklaşık %1,2 kadar bir asitlik meydana getirmektedir. Mikroaerofilik olan *L. plantarum*, 10-40 °C sıcaklık aralığında gelişebilmekte, en uygun sıcaklık gelişimi ise 30 °C'dir. Özellikle fermente sebzelerde ve hayvansal ürünlerde yer almaktadır (Tokatlı, 2013). *L. plantarum* diğer laktik asit bakterilerine göre daha yüksek asit toleransına sahip olduğu için, turşularda fermantasyonu tamamlayan bakteridir. Salatalık ve lahana fermantasyonunda son ürünün kalitesinde ve mikrobiyal dengenin sağlanmasında önemli bir etkiye sahiptir (Lu vd., 2003).

2.4.2. *Lactobacillus brevis*

Çubuk şekilli, kısa zincirler halinde veya tek tek bulunan bakteri, genel olarak fermente sebze ve hayvansal ürünler ile toprakta bulunmaktadır. Pentozlardan, laktik asit ve asetik asit üretebilmektedir. Ksiloz, arabinoz, glikoz, galaktoz ve maltozu kullanarak da laktik asit üretebilmektedir. Suşa bağlı olarak laktoz, sakkaroz, mannoz, rafinoz ve mannitolü fermente edebilmekte, sorbitol, gliserol, ramnoz, dekstrin, inülin ve nişastayı nadiren fermente etmektedir. Aldoheksozlardan, laktik asit, asetik asit, etil alkol ve karbondioksit (CO₂) üretebilen bakterinin optimum gelişim sıcaklığı 30 °C olup, 15 °C altında ve 37 °C üzerinde zayıf bir gelişme göstermektedir. (Arslankoz, 2011; Tokatlı, 2013).

2.4.3. *Pediococcus pentosaceus*

Küresel şekilli, tekli hücreler halinde, çiftler halinde ya da dörtlü formda olabilmektedir. Asitli ortamda ise dörtlü yapı daha fazla gözlenmektedir. Glikoz, früktoz, galaktoz, mannoz ve maltozdan asit üretebilmekte, laktoz, rafinoz, salisin, sükroz, arabinoz ve amigdalinden genellikle asit oluşturabilirken, ksiloz ve ramnozdan bazen oluşturmaktadır. Mannitol, alfametil glikozid, inulin, dekstrin ve nişastadan asit üretememektedir. Mikroaerofilik olup, 7-45°C aralığında

gelişebilirken, 25-32 °C'de optimum gelişme göstermektedir. Bira, sauerkraut ve turşu gibi fermente ürünler doğal olarak bulunabildikleri ortamlardır (Tokatlı, 2013).

2.4.4. *Leuconostoc mesenteroides*

Leu. mesenteroides, fermente bitki ürünlerinde ilk gelişen bakteridir ve yaklaşık laktobasillere benzer asit toleransına sahiptir (Holzapfel ve Stiles, 1997). Mannitol dehidrogenaza sahip olup fruktozdan laktat, asetat, mannitol, etanol ve CO₂ üretmektedir. Yüksek oranlarda şekeri tolere edebilmektedir (Mavhungu, 2006). Glikoz, früktoz, galaktoz, mannoz, ksiloz, arabinoz ve sakkarozdan asit oluştururken, laktoz, rafinoz, salisin ve mannitolden, genellikle dekstrin, nişasta, inulin, sorbitol, ramnoz ve gliserolden de nadiren asit oluşturabilir. Optimum gelişim sıcaklık aralığı 21-25°C'dir. Yaşam alanı olarak, *Leuconostoc* cinsinin en aktif türü olup, fermente sebzelerde, bitki materyallerinde ve hazır et ürünlerinde bulunur (Tokatlı, 2013).

2.4.5. *Enterococcus faecalis*

Oval şekilli çiftler ya da kısa zincirler halinde bulunurlar. Birkaç suşu hareketli olan bakterinin sıcaklık gelişim aralığı 10-45°C olup, %40 ve üzerinde oranlardaki safrada, pH 9,6 değerinde ve %6,5 tuz içeren ortamda gelişebilmektedir. Glikoz, maltoz, laktoz, teraloze ve salisinden asit üretir. Mannitol ve sorbitolü yalnızca çok özel durumlarda kullanırken, inulin ve rafinozu nadiren fermente eder. İnsanların ve sıcakkanlı hayvanların bağırsaklarında doğal olarak yaşam alanı bulur (Tokatlı, 2013). *Enterococcus* cinslerinin fermente ürünlerin olgunlaştırılması sırasında istenen teknolojik ve metabolik özelliklere sahip olmaları nedeniyle, *E. faecium* ve *E. faecalis* peynir ve fermente sucukların üretiminde bazı laktik asit bakterileri ile birlikte kullanılan yaygın starter kültürler arasında bulunmaktadır. (Erginkaya vd., 2007).

2.5. Starter Kültür retim Tekniği Olarak Liyofilizasyon

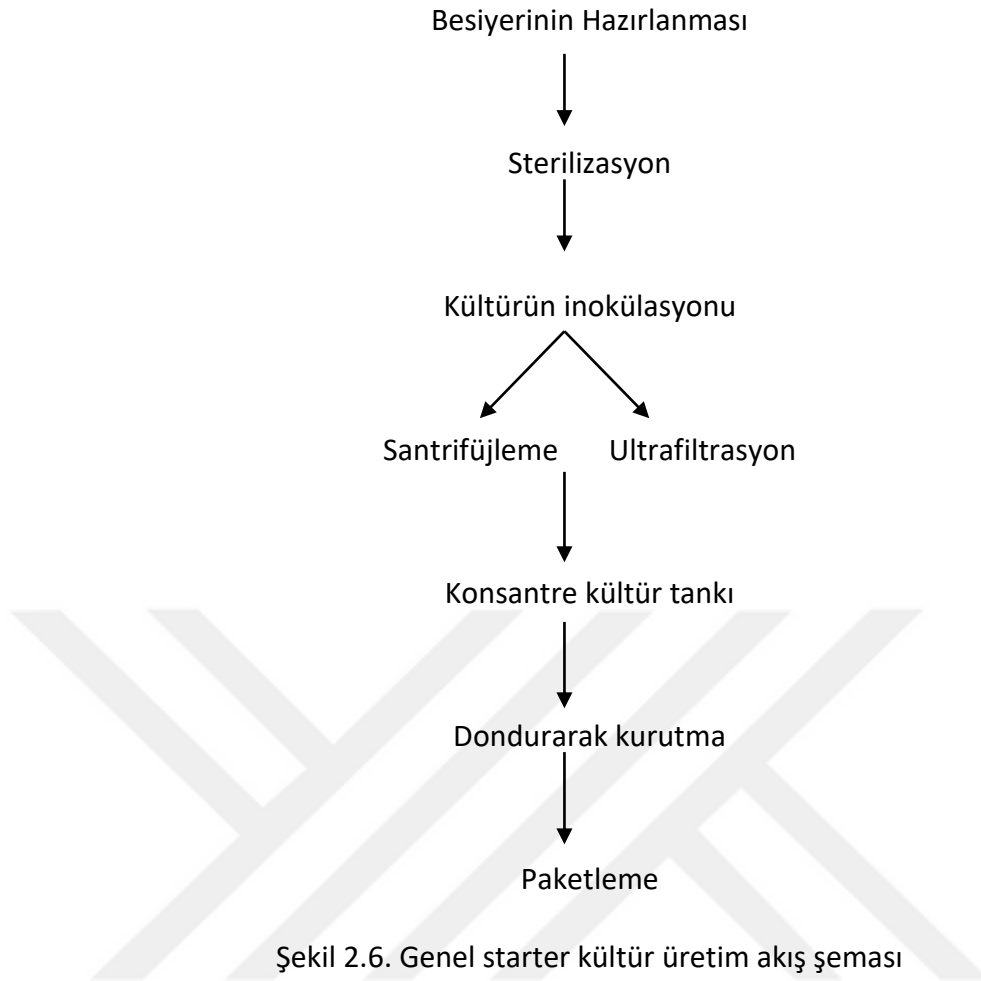
Starter kültürler, kontrollü fermentasyon sağlamak amacıyla gıdalara katılan, özellikleri iyi belirlenmiş mikroorganizma kültürleri olarak tanımlanmıştır (Leroy ve Vuyst, 2004).

Starter kültürlerin fermente gıdaların üretiminde kullanılmasının öneminin anlaşılmasıyla birlikte, gıda endüstrisinin starter kültürlere olan ilgisi artmıştır. Başlangıçta genellikle süt endüstrisinde kullanılan starter kültürler, günümüzde çoğu fermente gıdaların üretiminde kullanılmaktadır (Altieri vd., 2016). *L. plantarum*, salatalık ve lahana turşusunda en fazla kullanılan starter kültürdür (Demirgöl ve Sağdıç, 2017).

Ticari starter kültürler, çoklu tür ve suşlardan oluşabileceği gibi tek bir suştan da oluşabilmektedir. Üretim yöntemlerine göre sıvı, toz (püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş ve dondurarak kurutulmuş) ve dondurulmuş kültürler olmak üzere 3 temel formda kültürler üretilmektedir (Hier vd., 2010; Demirgöl ve Sağdıç, 2017). şekil 2.6.'da starter kültür üretim akış şeması verilmiş olup, toz kültürlerin üretiminde liyofilizasyonun uygulandığı görülmektedir (Demirgöl ve Sağdıç, 2017).

Starter kültür üretim yöntemlerinden biri olan liyofilizasyon en basit tanımıyla, maddenin önce dondurulduğu ve sonrasında süblimasyon ve desorpsiyon ile solvent miktarının, biyolojik veya kimyasal reaksiyonları durdurabilecek değerlere kadar azaltıldığı bir stabilizasyon prosesidir (Deepak ve Iqbal, 2015; Gaidhani vd., 2015).

Dondurarak kurutma olarak da adlandırılan liyofilizasyon, kuru, aktif, uzun raf ömrüne sahip, kolayca çözünebilen bir ürün elde etmek amacıyla, dondurma ve kurutma işlemlerinin faydalarının bir arada kullanıldığı bir yöntem olarak tanımlanmıştır (Karagl ve Altuntaş, 2018).



Yunanca ‘çözücü seven-sıvı çeken’ liyofil teriminden türetilen liyofilizasyon, kuru bir ürünün yüksek seviyede tekrar rehidre olabilme yeteneğini ifade etmektedir. Liyofilizasyon işlemi, her bir aşamasının kritik olduğu çok aşamalı bir işlem olarak da ifade edilmektedir (Gaidhani vd., 2015; Karagül ve Altuntaş, 2018).

Genellikle çok düşük basınçta donmuş gıdalardan veya çözeltilerden çözücünün süblimasyonla uzaklaştırılması olarak tanımlanan liyofilizasyon yöntemi, genel olarak 3 aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar; dondurma, birincil kurutma, ikincil kurutma olarak belirlenmiştir (Ergün, 2015). Katı fazdan gaz faza doğrudan bir hal değişimi olan dondurarak kurutmada, başarılı bir liyofilizasyon işlemi için, birincil kurutmaya başlamadan önce kurutulacak olan materyalin dondurulması gerekmektedir (Gaidhani vd., 2015; Karagül ve Altuntaş, 2018). Ürün, donma noktasına ulaştığında, birincil kurutma basamağına geçilmektedir. Birincil kurutma

basamağında, liyofilize edilecek ürüne zarar vermeden bağıl nemin üründen uzaklaştırılması amaçlanmaktadır (Przc vd., 2004; Ergün, 2015).

Birincil kurutma işlemi tamamlandıktan sonra, ürün kurumuş görünmesine rağmen, kalan nem içeriği, %7-8'den daha yüksek olabilmektedir. Çoğu durumda bu nem oranı, biyolojik maddelerin stabilitesinin korunması açısından halen yüksek bir değerdir. Bu sebepten dolayı, istenilen stabilitenin sağlanması, üründeki nem içeriğinin istenen seviyeye azaltılması için ikincil kurutma basamağına ihtiyaç duyulmaktadır (Ergün, 2015).

İkincil kurutmada, sıcaklığın yükseltilmesiyle çözünen kısımdan donmamış suyun büyük kısmı desorpsiyon ile uzaklaştırılmaktadır (Patel vd., 2010; Gaidhani vd., 2015). Çözücünün, matristen süblimasyon yoluyla uzaklaştırılmasının sağlandığı birincil kurutma sonrası gerçekleştirilen ikincil kurutmada, ürünün nem içeriği biyolojik aktivitelerin veya kimyasal reaksiyonların gerçekleşemeyeceği düzeylere kadar düşürülmektedir. İkincil kurutma aşaması, aktif bileşenin kinetik saatini yavaşlatmakta ve dolayısıyla liyofilize edilmiş ürünün uzun süreli stabilitesi sağlanmaktadır. Böylece liyofilizasyon ile ürünlerin muhafaza süresi arttırılmaktadır (Karagül ve Altuntaş, 2018).

Liyofilizasyon yönteminin birçok avantajı bulunmaktadır. Liyofilizasyon süreci boyunca, kurutulmuş üründeki bileşenlerin dağılımı değişmeden kalmakta ve ürünün su içeriği çok düşük seviyelere düşürülebilmektedir. Su içeriğinin düşmesiyle birlikte ürünün dayanıklılığı artmaktadır. Ürün normalde vakum veya inert gaz altında bulundurulduğundan, oksidatif denatürasyon büyük oranda azaltılmaktadır. Bir diğer avantajı ise, suyun ağırlığının azaltılmasına bağlı olarak ürün ağırlığının da azalması ve nakliye sırasında oluşabilecek maliyetlerin düşürülmesidir. Liyofilizasyon, diğer kurutma yöntemlerine göre daha kontrollü çevre şartlarında gerçekleştiği için kontaminasyon riski azaltılmış olmaktadır. Liyofilizasyon ile biyolojik ürünlerin depolanması ve taşınmasında kolaylık sağlanmaktadır (Kumar vd., 2011; Ergün, 2015).

Birçok avantajının yanında liyofilizasyonun dezavantajları da bulunmaktadır. İşlem süresinin uzun olması, ayrıca ürünün içerisindeki uçucu bileşenlerin (üründe bu bileşenler elzem olabilir) vakumla uzaklaştırılarak kaybı, yöntemin olumsuzlukları arasındadır. Ayrıca, liyofilize edilmiş ürünlerin kullanılabilmesi için çoğunlukla steril suya ihtiyaç duyulması durumu, maliyeti arttırmaktadır (Tang ve Pikal, 2004; Ergün 2015).

Gelişen teknolojiye bağlı olarak bugün pek çok biyolojik materyal ve gıdalar liyofilizasyon tekniği ile korunabilmektedir (Pınarkara, 2008). Isıya duyarlı biyolojik materyallerin korunmasında, mikrobiyal kültür gibi canlı materyallerin stabilizasyonu başta olmak üzere birçok alanda liyofilizasyonun kullanıldığı belirtilmiştir. Çay, meyve ve sebzeler, et ürünleri, hazır yiyecekler ve bazı aromatik otlar dondurularak kurutma işleminin uygulandığı gıda ürünlerindendir (Przic vd., 2004; Ciurzyńska ve Lenart, 2011).

Isıya duyarlı biyolojik materyallerin korunmasında kullanılan bir işlem olan liyofilizasyonun, gıdalar ve mikroorganizmalar için değerli bir koruma yöntemi olduğu belirtilmiştir (Demirgöl ve Sağdıç, 2017). Liyofilize kültürlerin ambalajlarındaki hava uzaklaştırıldığından ve kültürde az miktarda su bulunduğu için, kültüre alınmış mikroorganizmaların canlılıklarını uzun süre koruyabildiği ve liyofilize kültürlerin depolama stabilitesinin çok iyi olduğu bildirilmiştir (Hansen, 2014; Demirgöl ve Sağdıç, 2017).

Günümüzde sıvı kültürlerin yerini, dondurulmuş veya toz starter kültürler almaktadır. Toz starter kültür üretiminde kurutma işlemi, püskürtmeli kurutucular yardımıyla veya dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemi ile yapılır. Püskürterek kurutmanın, laktik asit bakterileri için iyi bir uzun süreli koruma yöntemi olduğu, düşük maliyetli olmasına rağmen mikrobiyal kültürlerin püskürterek kurutulmasında, dondurarak kurutma yöntemine göre ticari olarak daha az uygulanmakta olduğu belirtilmiştir. Bu durumun sebepleri arasında, püskürterek kurutmada, depolamada daha düşük stabilite gözlenmesi ve ürünün rehidrasyonundaki zorluklar olduğu bildirilmiştir (Demirgöl ve Sağdıç, 2017).

2.6. Turşu Üretiminde Laktik Asit Bakterilerinin Kullanımı

Liyofilize starter kültürlerin sanayi boyutunda kullanımları ilk olarak 1957 yılında gerçekleşmiş ve kontrollü fermantasyon ile yapılan üretimlerde fermantasyon süresi kısalmıştır (Alan, 2015).

Ticari öneme sahip fermente bir ürün olan turşu üzerinde standart üretim tekniklerinin oluşturulması ve kaliteli ürün elde etmeye yönelik çalışmaların yoğunlaştırılması büyük önem taşımaktadır. Ülkemizde ekonomik ve kültürel değeri nedeni ile turşu üzerinde özellikle fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini konu alan çalışmalar bulunmakla birlikte, turşu üretiminde kontrollü fermantasyon gerçekleştirmek amacıyla çeşitli turşulardan laktik asit bakterilerinin izole edilerek, starter kültür olma potansiyellerinin incelendiği ve turşu denemelerinde kullanıldığı bazı çalışmalar da gerçekleştirilmiştir.

Tokatlı (2013) yapmış olduğu çalışmada, Ankara çubuk yöresi turşularından izole ettiği laktik asit bakterisi suşlarının teknolojik ve fonksiyonel özelliklerini incelemiş ve seçilen izolatlar ile üretim denemeleri yaparak starter kültür olma potansiyelini değerlendirmiştir. Denemelerde 4 adet *L. plantarum* ile 1 adet *P. ethanolidurans* ile oluşturulan karışık kültür ile %5 oranında aşılanmış gruplar ve kontrol grubu olmak üzere 5 farklı grup oluşturulmuş ve 28 °C'de üretim gerçekleştirmiştir. Çalışma sonunda starter kültür kullanılan turşularda kontrol örneğine göre daha yüksek titrasyon asitliği değerleri (0,73–0,87 g/100 mL) ve daha düşük pH değerleri (3,26–3,43) elde edilmiştir. Ayrıca fermantasyon daha kısa sürede (7 gün) tamamlanmıştır. Kullanılan starter kültürlerin fermantasyon sonuna kadar stabilitelerini koruyarak ortamdaki baskın mikroorganizmalar olduklarını ve bu turşuların beğenilme oranının, starter kültür kullanılmadan doğal fermantasyon ile üretilen kontrol örneklerine kıyasla belirgin bir farklılık ortaya koyduğunu tespit etmiştir.

Tokatlı (2013) tarafından bahsedilen bir araştırmada ise Samsun yöresine ait 39 farklı turşunun laktik asit bakterisi içeriği ve bunların starter kültür olarak kullanılabilme özellikleri incelenmiştir. Yüz adet *Lactobacillus* cinsi izolatların elde

edildiği çalışmada, starter kültür kullanılarak üretilen turşuların duyusal ve içerik yönünden daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür.

Turşu ve zeytinlerden fermantasyon sürecinde antagonistik starter kültürlerin seçiminin amaçlandığı bir çalışmada, Türkiye'nin çeşitli yerlerinden temin edilen turşu ve zeytin örneklerinde kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Araştırmacılar önemli bazı gıda patojenlerine karşı antagonistik etkiye sahip 16 suşun 13'ünün *L. plantarum*, diğer üçünün ise *L. pentosus* olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca fermente turşu ve zeytin üretiminde *L. plantarum* 9 ve *L. plantarum* 25 izolatlarının starter kültür olarak uygun olduğunu tespit etmişlerdir (Çon ve Karasu, 2009). Bu çalışmanın devamı niteliğindeki bir diğer çalışmada, teknolojik ve probiyotik özellikleri açısından en uygun izolatin, *L. plantarum* 22 olduğunu belirtmişlerdir (Karasu vd., 2010).

Bir diğer çalışmada hıyar suyu fermantasyonunda karışık kültür olarak *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces rosei*'nin *L. plantarum* ile kombine kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Bu denemede şeker kullanımı ile laktik asit ve etanol üretiminin, hücre sayısı ve aşılama zamanından etkilendiği görülmüştür. Eş zamanlı olarak aynı miktarlarda maya ve bakteri eklenmesi veya bakterilerden önce mayaların eklendiği durumda, şeker fermantasyonunun 28 °C'de 6 günde tamamlandığı görülmüştür. Çalışma sonunda maya ilavesinin fermantasyonun tamamlanmasında önemli bir etken olduğu sonucuna varmışlardır (Daeschel vd., 1988).

Wouters vd. (2013), geleneksel karnabahar ve karışık sebze fermantasyonlarındaki (yeşil domates, havuç, karnabahar) laktik asit bakteri çeşitliliğini inceledikleri çalışmalarında, *L. brevis* ve *L. plantarum* suşlarının sıklıkla izole edildiğini ve kontrollü sebze fermantasyonlarında, *L. brevis* ve *L. plantarum* suşlarının iyi birer starter kültür olabileceğini belirtmişlerdir.

Bir diğer çalışmada turşuda aroma gelişimini sağlamak ve probiyotik özellik kazandırmak amacı ile karışık turşu üretiminde *L. plantarum* suşu kullanılmıştır.

Başlangıç fermantasyon koşullarında sirke ilavesiyle düşük pH seviyeleri elde edilmesi sağlanarak, rekabetçi mikrofloranın gelişiminin kısıtlandığı görülmüştür. Ancak depolamanın 60. gününe kadar ürünün özellikleri korunurken, bu süreden sonra aside dirençli mayaların gelişimi nedeniyle raf ömrünün sınırlı kaldığı rapor edilmiştir (Çetin, 2011).

Et ve süt ürünlerinde starter kültürler, çeşitli ve fazla olmasına rağmen sebze fermantasyonları için tasarlanan starter kültürlerin az sayıda olduğu bildirilmiştir (Gardner vd., 2001). Bu amaçla Gardner vd. (2001), çalışmalarında havuç, lahana ve pancar içeren karışık sebze suyu fermantasyonunda, liyofilize halde *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. casei*, *Leu. mesenteroides*, *P. acidilactici* kültürlerinin tekli ve karışık halde etkilerini incelemişlerdir. Fermantasyon, 3 gün 20°C'de diğer günler 4°C'de gerçekleştirilmiştir. Şekerlerin parçalanması, karışık kültür kullanılan grupta tek kültür kullanılan gruplara göre daha hızlı gerçekleşmiştir. 72 saatlik sürenin sonunda kültür ilave edilmiş sebzelerin pH'sı, edilmemiş kontrol gruplarına göre belirgin bir şekilde daha düşük çıkmıştır. Tüm deneme gruplarında mayalar yoğun olarak bulunmuşken, F3 karışık starterinde (*L. plantarum*, *P. acidilactici* ve *Leu. mesenteroides*) tespit edilememiş ve bu karışık starterin düşük etanol üretimi, daha hızlı asitlendirme oranı ile daha stabil bir son ürün oluşumunu sağladığını bildirmişlerdir. Bu çalışmayı destekler şekilde Özçelik vd. (2001), hıyar turşusunda % 2 oranında ilave edilmiş homofermantatif *L. plantarum* kültürünü kullanarak yaptıkları çalışmada, starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterilerinin kısa sürede ortamda baskın mikroorganizmalar olduğunu ve fermantasyonun tamamlamasını sağladıklarını belirtmiştir.

İç vd. (2001), düşük konsantrasyonlarda tuz ve tamponlanmış salamurada *L. plantarum* kültürü kullanarak hıyar fermantasyonunu inceledikleri çalışmalarında, laktik asit bakterisi sayısının %3 tuzlu salamurada 4. günde, %4 tuzlu salamurada ise 7. günde en yüksek sayıya ulaştıklarını, starter kültür kullanımının laktik asit bakterilerinin ortama hakim olmasını sağladığını ancak bu sürenin tuz konsantrasyonundan etkilenebildiğini belirtmişlerdir.

Arslankoz (2011), Çubuk yöresi turşularından izole edilen laktik asit bakteri suşlarının bazı teknolojik ve fonksiyonel özelliklerini belirlemiştir. Çalışmada isolatların farklı pH ve tuz oranlarında gelişme, laktik asit üretimi, antimikrobiyel aktivite gibi teknolojik ve fonksiyonel özellikleri incelenmiştir. İzolatların tamamına yakınının, pH 5,0 ve 6,5 ile %3 ve %6,5 tuz konsantrasyonlarında geliştiği, *L. inocua*, *E. coli* ve *Salmonella spp.* gibi patojenler üzerinde antimikrobiyel aktivite gösterdikleri, fakat bakteriyosin ve benzeri metabolitler üretmedikleri sonucu rapor edilmiştir. Ayrıca en fazla laktik asit oluşturan türün, *L. plantarum* olduğu da belirlenmiştir.

Çetin (2017), turşu fermantasyonunda kullanılabilecek laktik asit bakterilerini incelediği çalışmada, toplam 305 izolat elde etmiş ve moleküler tanı sonucunda 184 *L. plantarum*, 87 *L. brevis*, 13 *Bacillus spp.*, 11 *L. paraplantarum*, 7 *Enterococcus spp.* ve 3 *P. ethanolidurans* dağılımı ile isolatların çeşitlilik gösterdiklerini belirtmiştir. Çalışma sonunda, *L. plantarum* ve *L. brevis*'in turşu fermantasyonunda etken olduğu vurgulanmıştır. Benzer şekilde Ankara ili Çubuk ilçesinde üretilen turşuların konu alındığı bir diğer çalışmada, evlerde ve işletmelerde doğal yöntemlerle üretilen turşu örneklerinden izole edilip tanımlamaları yapılan 45 adet izolatin 38'inin *Lactobacillus* cinsine ait olduğunu, turşu örneklerinde *L. brevis*, *L. acidophilus* ve *L. plantarum*'un, baskın türler olduğu tespit edilmiştir (Dursun, 2010).

Dündar (2017), geleneksel olarak üretilmiş ev tipi turşularda laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve tanısını incelediği çalışmada, 176 izolatin büyük çoğunluğunun *Lactobacillus* olmak üzere *Lactococcus* ve *Enterococcus* cinslerine ait olduklarını, ev turşusu örneklerinde hâkim bakteri türünün ise *L. plantarum* olduğunu tespit etmiştir.

Alan (2019), çalışmada *Lactobacillus* cinsi isolatları kullanarak gerçekleştirdiği fermente kornişon turşu üretiminde, starter kültür kullanımı ile yüksek kalitede turşu üretiminin sağlandığını, *L. plantarum* 49 izolatinın kullanımı durumunda toplam aerobik mezofilik bakteri ve maya küf sayımının önemli derecede azaldığını, en düşük toplam biyogen amin miktarının *L. plantarum* kültürlerinin kullanıldığı

turşularda tespit edildiğini ve bu seviyelerin insan sağlığı için toksik olmadığını belirtmiştir.

Tokatlı vd. (2017), geleneksel turşulardan izole ettikleri 75 adet laktik asit bakterisi suşunun bazı teknolojik özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, *L. plantarum* suşlarının en uygun teknolojik özelliklere sahip olduklarını, bir suş (MF219) dışındaki tüm *L. plantarum* suşlarının, starter kültürlerde istenen özelliklerden yüksek asit üretim hızı ve yeteneği, pH 4,0 ve %10 tuza karşı dayanıklılık ve biyojen amin üretme özelliklerine sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Turgut (2006), yapmış olduğu çalışmada, doğal fermantasyon ve *L. plantarum* kültürü kullanılarak üretilen hıyar turşularında Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemiyle biyojen amin analizi gerçekleştirmiştir. Fermantasyon sonunda starter ilaveli ve kontrol örneklerde putresin, feniletilamin, triptamin en yüksek konsantrasyondaki biyojen aminler olarak belirlenmiş olup, kontrol örneklerindeki miktarları daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol örneklerinde spermin ve histamin düzeylerinin, starter katılmış turşulara oranla daha yüksek olduğu, feniletilamin miktarları hariç putresin, histamin, tiramin ve toplam biyojen amin miktarlarının toksik limitlerin altında olduğu tespit edilmiştir.

Aktaş ve Çetin (2022), turşu kökenli laktik asit bakterilerinin starter kültür özellikleri ve antifungal etkilerini inceledikleri çalışmalarında, laktik asit bakterilerinin (*L. brevis*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *P. parvulus* ve *Leu. holzapfel*) *Hanseniaspora opuntiae*, *Kazachstania exigua* ve *Pichia fermentans* hariç tüm mayalar üzerinde antifungal etkiye sahip olduğu, 10°C ve 25°C'de, 3,9 ve 5 pH'da ve %4 tuz konsantrasyonunda gelişim gösterdikleri ve ayrıca vankomisine direnç gösterdikleri belirlenmiştir. Çalışma sonunda *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. paracasei* suşlarının turşu üretimi ve antifungal etki açısından starter kültür olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Ji vd. (2013), salatalık turşusu üretiminde doğal fermantasyon ve *L. acidophilus* ve *L. helveticus* kültürleriyle kontrollü koşullarda oda sıcaklığında fermantasyona bırakılan

turşuları inceledikleri çalışma sonucunda, laktik asit bakterileri ilave edilen turşuların doğal fermentasyona göre organik asit içeriğinin daha yüksek, tekstürel ve duyuşsal olarak da daha iyi olduğunu belirtmişlerdir.

Garmasheva vd. (2019), Ukrayna’da sebze fermentasyonlarında kullanılacak ticari bakteri kültürleri bakımından yetersizlikler olduğunu ve *L. plantarum*’un sebze fermentasyonlarında starter olarak kullanımı ile ilgili sınırlı sayıda çalışma olduğunu belirtmişlerdir. Bu amaçla yaptıkları çalışmada, 109 *L. plantarum* suşunun pastörize sebze bazlı besiyerine aşılamaadan 8 saat sonra pH değerine göre uygun starter seçimi yapmışlar ve seçilen suşları lahanalar ve salatalık fermentasyonunda değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, pH değerlerindeki hızlı düşmeye bağlı olarak, laktik asit bakterilerinin sebze bazlı besiyerinde iyi bir gelişim gösterdiğini, bazı *L. plantarum* suşlarının sebze fermentasyonlarında starter olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır.

Yu vd. (2012), turşularda baskın laktik asit bakteri çeşitliliğini incelemek için 6 farklı bölgeden topladıkları 36 turşu örneğinde 185 muhtemel laktik asit bakterisini izole ettikleri çalışmalarında, *L. plantarum*’un çoğu örnekten izole edildiğini ve baskın mikroorganizma olduğunu belirlemiştir.

Egbe vd. (2017), çalışmalarında %7 tuz içeren salamurada doğal fermentasyon ile üretilen salatalık turşularındaki laktik asit bakterisi profilini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda doğal salatalık fermentasyonlarında temel olarak *L. plantarum*, *Leu. mesenteroides* ve *L. pentosus*’un yer aldığı, temel olarak *L. plantarum*’un hakim olduğu ve bu mikroorganizmaların sebze ve meyve fermentasyonlarında starter olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Pérez-Díaz vd. (2021), ticari ölçekteki salatalık turşusu fermentasyon tanklarından izole ettikleri *L. pentosus* ve *L. plantarum* suşlarının, farklı sıcaklık ve pH değerleri ile farklı tuz konsantrasyonlarındaki salatalık suyu besiyeri ortamlarındaki fermentasyon yeteneklerini araştırdıkları çalışma sonucunda, üç adet *L. pentosus* ve

bir adet *L. plantarum* suşun ticari salatalık fermantasyonları için starter kültür adayı olabileceği belirtilmiştir.

Nilchian vd. (2016), farklı tuz ve inulin içeren salamura ortamlarında farklı laktik asit bakteri suş (*L. plantarum*, *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus*) ve kombinasyonlarının etkilerini inceledikleri çalışmalarında, salatalıkların fermantasyonunun kontrolünde, söz konusu suşların çalışmadaki inokülasyon oranından daha yüksek inokülasyon oranında kullanılmasının tavsiye edilebilir olduğunu, laktik asit bakterileri ile inokülasyonun ve uygun başlangıç tuz konsantrasyonlarının, geleneksel üretime göre fermantasyon boyunca daha iyi bir pH düşüşü ve daha yüksek asitlik sağladığını belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Turşu örnekleri

Laktik asit bakterilerinin izole edilmesi için kullanılan turşu örnekleri, Muğla ve Isparta illerinden temin edilmiştir. Bu amaçla geleneksel turşular temin edilirken, laboratuvar ortamında da geleneksel yöntemle farklı turşu çeşitlerinin üretimleri yapılarak turşu örnek sayısı arttırılmıştır. Laboratuvar ortamında kurulan turşular iç örnek, çevre illerden toplanan turşu örnekleri ise dış örnek olarak adlandırılmıştır. Steril tüplere alınan dış örnek numuneleri izolasyon aşamasında kadar +4°C’de muhafaza edilmiştir. İç örnekler ise laboratuvar ortamda üretilerek örnekler alınmıştır.

Çizelge 3.1.’de temin edilen turşu örnekleri hakkında ayrıntılı bilgiler verilmiş olup, ek bilgiler kısmında; dış örneklerde sırasıyla numune alım tarihi ve turşuların fermentasyon süre bilgisi, iç örneklerde ise turşunun yapıldığı tarih bilgileri verilmiştir.

Çizelge 3.1. Turşu örneklerine ilişkin bilgiler

Örnek kodu	Bölge	Turşu içeriği	Kaynak	Tarih/Gün
T1	Muğla	Biber, Kornişon, Havuç, Domates	Dış örnek	17.02.2020,25-30 gün
T2	Muğla	Biber, Kornişon, Zeytin, Havuç	Dış örnek	17.02.2020,25-30 gün
T3	Isparta	Biber, Acur, Kırmızı biber	Dış örnek	18.02.2020,25-30 gün
T4	Isparta	Beyaz Lahana, Domates	Dış örnek	20.02.2020,25-30 gün
T5	Isparta	Kırmızı pancar	Dış örnek	20.02.2020,25-30 gün
T6	Isparta	Kornişon	Dış örnek	20.02.2020,25-30 gün
T7	Isparta	Kırmızı lahana	Dış örnek	20.02.2020,25-30 gün
T8	Isparta	Bamya	Dış örnek	20.02.2020,25-30 gün
T9	Isparta	Kornişon	Dış örnek	20.02.2020,25-30 gün
T10	Isparta	Kornişon	Dış örnek	20.02.2020,25-30 gün
T11	Isparta	Sarımsak	Dış örnek	26.02.2020,25-30 gün
T12	Isparta	Lahana, Havuç	Dış örnek	09.03.2020,25-30 gün

Çizelge 3.1. Turşu örneklerine ilişkin bilgiler (Devam)

Örnek kodu	Bölge	Turşu içeriği	Kaynak	Tarih/Gün
T13	Isparta	Kornişon	Dış örnek	12.10.2020,15 gün
T14	Isparta	Kornişon	Dış örnek	12.10.2020,15 gün
T15	Isparta	Kıl biber	Dış örnek	12.10.2020,15 gün
T16	Isparta	Kıl biber, Dilimlenmiş kornişon	Dış örnek	12.10.2020,15 gün
T17	Isparta	Biber	Dış örnek	04.10.2020, 25 gün
T18	Isparta	Kornişon	Dış örnek	04.10.2020,15-20 gün
T19	Isparta	Biberiye	Dış örnek	04.10.2020,15-20 gün
T20	Isparta	Hıyar	Dış örnek	04.10.2020,15-20 gün
T21	Isparta	Kornişon	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T22	Isparta	Kornişon	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T23	Isparta	Kornişon	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T24	Isparta	Kornişon	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T25	Isparta	Kornişon	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T26	Isparta	Kornişon	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T27	Isparta	Kornişon	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T28	Isparta	Kıl biber	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T29	Isparta	Kıl biber	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T30	Isparta	Kıl biber	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T31	Isparta	Kıl biber	İç örnek	07.10.2020 üretimli
T32	Isparta	Kornişon, biber	Dış örnek	08.10.2020, 25 gün
T33	Isparta	Acur	Dış örnek	16.10.2020,25-30 gün
T34	Isparta	Kornişon	Dış örnek	16.10.2020,25-30 gün
T35	Isparta	Kornişon	Dış örnek	16.10.2020,25-30 gün
T36	Isparta	Gül biber (çiçek biber)	Dış örnek	16.10.2020,25-30 gün
T37	Isparta	Dilimlenmiş jalapeno	Dış örnek	16.10.2020,25-30 gün
T38	Isparta	Acı süs biberi	Dış örnek	16.10.2020,25-30 gün
T39	Isparta	Kornişon	Dış örnek	16.10.2020,25-30 gün
T40	Isparta	Kornişon	Dış örnek	16.10.2020,25-30 gün
T41	Isparta	Kornişon, biber	Dış örnek	16.10.2020,25-30 gün
T42	Isparta	Lahana	İç örnek	14.10.2020 üretimli
T43	Isparta	Lahana	İç örnek	14.10.2020 üretimli
T44	Isparta	Lahana	İç örnek	14.10.2020 üretimli
T45	Isparta	Lahana	İç örnek	14.10.2020 üretimli
T46	Isparta	Kornişon	Dış örnek	20.10.2020,30 gün

Çizelge 3.1. Turşu örneklerine ilişkin bilgiler (Devam)

Örnek kodu	Bölge	Turşu içeriği	Kaynak	Tarih/Gün
T47	Isparta	Lahana, Hıyar, Biber	Dış örnek	23.10.2020,15-20 gün
T48	Isparta	Biber	Dış örnek	23.10.2020,15-20 gün
T49	Isparta	Hıyar	Dış örnek	23.10.2020,15-20 gün
T50	Isparta	Lahana	Dış örnek	25.10.2020, 5 gün
T51	Isparta	Lahana, kırmızı biber, hıyar,kırmızı pancar,havuç	Dış örnek	25.10.2020, 25-30 gün
T52	Isparta	Lahana, kırmızı pancar	Dış örnek	25.10.2020, 25-30 gün
T53	Isparta	Kornişon	İç örnek	26.10.2020 üretimli
T54	Isparta	Kornişon	İç örnek	26.10.2020 üretimli
T55	Isparta	Gül biberi	İç örnek	26.10.2020 üretimli
T56	Isparta	Jalapeno biber	İç örnek	26.10.2020 üretimli
T57	Isparta	Jalapeno biber	İç örnek	26.10.2020 üretimli
T58	Isparta	Jalapeno biber	İç örnek	26.10.2020 üretimli
T59	Isparta	Kornişon, Jalapeno biber, Gül biberi	İç örnek	26.10.2020 üretimli
T60	Isparta	Kornişon	İç örnek	29.10.2020 üretimli
T61	Isparta	Kornişon	İç örnek	29.10.2020 üretimli
T62	Isparta	Kornişon	İç örnek	29.10.2020 üretimli
T63	Isparta	Kırmızı lahana	Dış örnek	25.11.2020, 10 gün
T64	Isparta	Kırmızı lahana	Dış örnek	24.11.2020, 10 gün
T65	Isparta	Lahana (Sauerkraut)	İç örnek	08.12.2020 üretimli
T66	Isparta	Lahana (Sauerkraut)	İç örnek	08.12.2020 üretimli
T67	Isparta	Lahana (Sauerkraut)	İç örnek	08.12.2020 üretimli
T68	Isparta	Kırmızı lahana	İç örnek	08.12.2020 üretimli
T69	Isparta	Kırmızı lahana	İç örnek	08.12.2020 üretimli
T70	Isparta	Kornişon	Dış örnek	04.12.2020, 30-35 gün
T71	Isparta	Kornişon	Dış örnek	04.12.2020, 30-35 gün
T72	Isparta	Lahana, kornişon, biber, domates	Dış örnek	04.12.2020, 30-35 gün
T73	Isparta	Lahana	İç örnek	22.12.2020 üretimli

Turşu örnekleri ağırlıklı olarak hıyar olmak üzere, lahana, biber ve çeşitli sebze ve meyveler kullanılarak yapılan karışık turşulardan ve laboratuvarında üretilen turşulardan oluşmaktadır. Dış örneklerin fermentasyon süreleri, alınan kaynakların verdikleri bilgilere göre belirlenmiştir. Toplandıkları mevsim de dikkate alındığında

10-60 gün arasında bir fermentasyon süresine sahip oldukları hesaplanmıştır. Çalışma kapsamında 73 adet turşu örneği (42 adet dış örnek, 31 adet iç örnek), laktik asit bakterilerinin izolasyonu için kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Turşu Örneklerinden Laktik Asit Bakterileri (LAB)'nin İzolasyonu

Dış örneklerle doğrudan izolasyon işlemi uygulanırken, iç örneklerden fermentasyonun 5, 10, 15, 20, 25 ve 30. günlerinde numuneler alınarak izolasyonlar gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla turşu salamuralarından uygun dilüsyonlar hazırlanmış ve hazırlanan dilüsyonların ekimleri, MRS (De Man, Rogosa ve Sharpe) (Biolife, İtalya) agara yapılmıştır. Dilüsyonlardan alınan 100 µl örnek, drigalski spatülü ile homojen bir şekilde yayılmış ve petri kutuları, 30 °C' de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında izolatlar, oluşturduğu koloni yapısı dikkate alınarak önce gözle seçilmiş, ardından katalaz testi ve basit boyama yapılarak mikroskop görüntüleri incelenmiştir. Muhtemel laktik asit bakterisi olduğu düşünülen kolonilere katalaz testi yapılarak katalaz negatif koloniler, katı besiyerine tek koloni düşürme tekniği ile sürme yapılarak saflık kontrolünden geçirilmiş ve MRS sıvı besiyerine alınarak geliştirilmiştir. 18-24 saatlik taze kültürler, %30 (v/v) steril gliserol ilavesi sonrasında tanımlama testlerine kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. İzolatların fenotipik özelliklerinin belirlenmesi

Bu aşamada, izolatlara fenotipik tanımlama testleri uygulanmıştır. Tanımlama testleri öncesinde, kültürler aktiveleştirilerek kullanılmıştır. Aktifleştirme işlemi için örnekler, gliserollü stoklardan öze yardımıyla alınmış ve MRS sıvı besiyerinde geliştirilerek uygulanacak testler için hazır hale getirilmiştir (Halkman, 2005).

3.2.2.1. Gram boyama

MRS sıvı besiyerinde 30°C’de geliştirilmiş 18-24 saatlik aktif kültürler, Gram boyama testi için kullanılmıştır. Aseptik koşullarda, kültürlerden bir öze dolusu örnek alınarak, temiz bir lam üzerine homojen şekilde yayılmış ve hava yoluyla kurutulmuştur. Alevden geçirilerek kültürler fikse edildikten sonra, Gram boyama setinin (Histomed, Türkiye) üzerinde belirtilen talimatlar doğrultusunda boyama işlemi gerçekleştirilmiştir. Boyama işlemi sonunda eflatun-mor renkli hücreler Gram pozitif, pembe-kırmızı renkli hücreler ise Gram negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.2. Hücre morfolojisi

Gram boyama sonrasında kültürlerin hücre morfolojileri mikroskop altında (Zeiss, Almanya) incelenmiş ve morfolojik bakımından kok, basil ve kokobasil olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.3. Katalaz testi

Gram pozitif olduğu belirlenen örneklerin katalaz enzimi üretilip üretilmediklerini tespit etmek amacıyla, MRS agar ortamında geliştirilen bakteri kolonileri lam üzerine aktararak, üzerine %3'lük hidrojen peroksit (Merck) çözeltisinden damlatılmış ve gaz çıkışının olup olmadığı gözlenmiştir. Gaz oluşturanlar katalaz pozitif, oluşturmayanlar ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Halkman, 2005).

3.2.2.4. Oksidaz testi

Gram pozitif ve katalaz negatif olan izolatlar, MRS katı besiyerinde 30°C’de 2-3 gün süreyle geliştirilmiş ve oluşan koloniler oksidaz test kitinde (Chembio, Almanya) belirtilen talimatlara göre teste tabi tutulmuşlardır. Katı besiyerinde gelişen kolonilerden plastik öze yardımıyla alınarak, oksidaz test kartları üzerindeki alana aktarılmış ve belirtilen süre kadar bekletilerek renk değişimine göre sonuçlar

değerlendirilmiştir. Test kartı üzerinde mavi rengin oluşması, oksidaz pozitif olarak kaydedilmiştir.

3.2.2.5. Glikozdan gaz oluşum testi

Gelişim sırasında kültürlerin glikozu metabolize etmeleri sonucunda oluşturdukları CO₂ gazının belirlenmesi amacıyla 10 mL MRS sıvı besiyeri içeren deney tüplerine Durham tüpleri konulmuştur. Aktif kültürlerden 0,1 mL örnek alınmış ve tüplere aşılandıktan sonra 30°C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi boyunca Durham tüplerinde gaz oluşumunun varlığı kontrol edilmiştir. Gaz oluşumu tespit edilen örnekler heterofermantatif, tespit edilmeyen örnekler ise homofermantatif olarak değerlendirilmiştir (Dursun, 2010).

3.2.2.6. 15°C sıcaklık, 9,6 pH ve %6,5 tuz değerlerinde gelişim testi

Laktik asit bakterilerinin fenotipik tanımlamalarında, farklı sıcaklık, pH ve tuz değerlerinde gelişimleri önem arz etmektedir. Bu amaçla tüm izolatlar 15 °C'de gelişim, 9,6 pH'da gelişim testi ve %6,5 tuz oranında gelişim testleri yapılmıştır. 9,6 pH ve %6,5 tuzda gelişim testleri için, 24 saat süre ile aktive edilmiş kültürler, 9,6 pH'daki ve % 6,5 tuz içeren steril MRS sıvı besiyerlerine aşılanarak, 30 °C' de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. 15°C'de gelişim testi için, 24 saat süre ile aktive edilmiş kültürler, steril MRS sıvı besiyerlerine aşılanarak, 15°C' de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüplerdeki bulanıklığa göre gelişim test sonuçları, pozitif ve negatif olarak değerlendirilmiştir (Dursun, 2010).

3.2.3. Laktik asit bakterilerinin endüstriyel özelliklerinin belirlenmesi

Endüstriyel özellikleri belirlenmesi planlanan izolatlar alındıkları turşu çeşidi, izolasyon günü ve hücre morfolojileri göz önüne alınarak seçilmiştir.

3.2.3.1. Laktik asit üretim miktarlarının belirlenmesi

Turşu fermentasyonu göz önüne alındığında, izolatların endüstriyel özelliklerinin belirlenmesinde öncelikli olarak laktik asit üretim miktarı ve hızının önemli olduğuna karar verilmiş ve izolatların bu yetenekleri öncelikli olarak incelenmiştir.

LAB'nin asit üretim miktarlarının ve hızlarının belirlenmesi için, seçilen izolatların, 12, 24, 48 ve 72. saatte ürettikleri laktik asit miktarları ve sıvı kültürlerin pH'ları belirlenmiştir. Bu amaçla, MRS sıvı besiyerinde 30°C'de 24 saat süre ile aktifleştirilmiş taze kültürlerden steril MRS sıvı besiyerlerine aşılanarak, 30 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 12, 24, 48, ve 72. saatlerinde titrimetrik yöntemle toplam % laktik asit miktarı hesaplanmış, ayrıca süreler sonunda sıvı kültürlerin pH'ları ölçülmüştür. Sıvı kültür örneklerinde toplam asitliğin belirlenmesi için 0,5 mL örnek alınarak, üzerine belli miktar saf su ilave edilmiş ve 2-3 damla fenolfitalein (Merck, Almanya) indikatörü eşliğinde, 0,01 N NaOH (Merck, Almanya) çözeltisiyle hafif pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Titrasyon sonu % laktik asit miktarları, (3.1) numaralı formül kullanılarak hesaplanmıştır (Tokatlı, 2013).

$$\% \text{ Asitlik} = (V.F.E)/m \times 100 \quad (3.1)$$

Burada, V: Titrasyonda harcanan (V1-V2) NaOH miktarı (mL), F: Titrasyonda kullanılan bazın normalitesi, E: Eş değer gram (Laktik asit): 0,09 g, m: örnek miktarı (mL)'ni temsil etmektedir.

Analiz sonunda 72.saatte göre pH'yı en hızlı düşüren ve yüksek oranda laktik asit üreten izolatlar belirlenmiştir. Çalışmaya bu izolatların diğer endüstriyel özellikleri incelenerek devam edilmiştir.

3.2.3.2. % 10 tuz ve pH 3 koşullarında gelişme özelliklerinin belirlenmesi

Bir önceki aşamada seçilen ve starter olarak kullanılması planlanan kültürlerin belirlenmesinde, izolatların asit üretim yetenekleri önemli olduğu kadar, kültürlerin salamuradaki tuz konsantrasyonlarına ve pH koşullarına dirençli olup gelişimlerini sürdürebilmesi, izolatların önemli endüstriyel özelliklerini oluşturmaktadır. Turşu fermentasyonunda genel olarak %5-10 tuz oranı aralığında salamura kullanıldığı düşünülerek, izolatlar, %10 tuzlu ortamda gelişimleri açısından incelenmiştir. Ayrıca literatürde turşu çalışmalarındaki salamura pH'ları değerlendirilerek, seçilen izolatların pH 3'teki gelişimleri incelenmiştir.

24 saatlik aktif kültürlerin hücre yoğunlukları, McFarland cihazı (DEN-1 McFarland, Biosan, Letonya) aracılığıyla $1,5 \times 10^8$ hücre/ml (0,5 McFarland) olacak şekilde ayarlandıktan sonra, %10 tuz içeren steril MRS sıvı besiyerlerine ve pH'sı 3'e ayarlanan steril MRS sıvı besiyerlerine inoküle edilerek, 30 °C'de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda canlı sayımı, MRS agarda yayma plak yöntemine göre yapılarak izolatların bu ortamlardaki gelişimleri incelenmiştir. Denemelerde izolatların başlangıçtaki 0,5 McFarland hücre yoğunluğu, canlı sayımı da yapılarak kontrol edilmiştir. Ayrıca 2. gün ve 15. gün inkübasyon süresinin sonunda izolatların %10 tuz içeren steril MRS sıvı besiyerlerinde ve pH'sı 3'e ayarlanan steril MRS sıvı besiyerlerinde ürettikleri % laktik asit üretim miktarları ve sıvı kültürlerin pH'ları da ölçülmüştür. Bu noktada denemede kullanılan steril MRS sıvı besiyerinin de pH'sı ölçülmüş ve kontrol pH'sı olarak kayda alınmıştır.

Laktik asit bakterilerinin turşu fermentasyon ortamında hem tuz hem de pH açısından stres ortamına girdikleri ve bu koşullarda dayanımları yüksek olan izolatların turşu üretiminde kullanılmak üzere tercih edilmesi gerektiği düşünülerek, %10 tuz içeren MRS sıvı besiyerinin pH'sı 3'e ve 3,5'e ayarlanarak, bu koşullarda iyi gelişebilen, yüksek oranda laktik asit üretme yeteneğinde olan ve hızlı pH düşüşünü sağlayabilen izolatların gelişimleri incelenmiştir. 24 saatlik aktif kültürlerin hücre yoğunlukları McFarland cihazıyla $1,5 \times 10^8$ hücre/ml (0.5 McFarland) olacak şekilde ayarlandıktan sonra, %10 tuz içeren pH'sı 3'e ve 3,5'e ayarlanan steril MRS sıvı

besiyelerine inoküle edilerek, 30°C'de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda canlı sayımı, MRS agarda yayma plak yöntemine göre yapılarak isolatların bu ortamlardaki gelişimleri incelenmiştir. Kültürlerin başlangıçta hücre yoğunluğu 0,5 McFarland derecesine ayarlanmış ve canlı sayımları yapılarak hücre sayıları kontrol edilmiştir. Kültürlerin sıvı besiyerinde 2. gün ve 15. gün inkübasyon süresinin sonunda ürettikleri % laktik asit üretim miktarları ve pH'ları da ölçülmüştür. Denemelerde kullanılan steril MRS sıvı besiyerinin de pH'sı ölçülmüş ve kontrol pH'sı olarak değerlendirmeye alınmıştır.

3.2.3.3. Antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi

%10 tuz içeren ve pH'sı 3,5'e ayarlanmış MRS sıvı besiyerinde iyi gelişebilen, yüksek oranda laktik asit üretme yeteneğinde olan ve hızlı pH düşüşünü sağlayabilen isolatlar seçilerek, bu isolatların antimikrobiyal ve antifungal etkileri, biyojen amin üretme özellikleri ve antibiyotik direnç durumları belirlenmiştir.

Seçilen isolatların antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesinde Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümü kültür koleksiyonundan alınan yaygın gıda patojeni ve indikatör mikroorganizmalar (*Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, *Bacillus subtilis* ATTC 6633, *Staphylococcus aureus* ATTC 700699, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*) kullanılmıştır. Laktik asit bakterilerinin bu mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkileri, kuyucuk difüzyon yöntemiyle (Tagg ve McGiven, 1971) belirlenmiştir. Kültürler MRS sıvı besiyerinde 30°C'de 18-24 saat aktifleştirilmiştir. Analizde kullanılan mikroorganizmalar ise 30°C'de Tyryptic Soy sıvı besiyerinde (Merck, Germany) aktifleştirilmiş ve 100 µl oranında Tyryptic Soy agara steril drigalski spatülü yardımıyla yayılmıştır. Petrilere metal delgeç yardımıyla açılan 10 mm kuyucuklara aktif LAB kültürleri, 100'er µl inoküle edilmiştir. Petriler, analizde kullanılan indikatör ve patojen mikroorganizmaların optimum gelişim sıcaklıklarında 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan zon çapları mm olarak ölçülmüştür. Analizde negatif kontrol olarak, steril MRS sıvı besiyeri kullanılmıştır. Analiz sonucunda antimikrobiyal etki gösteren isolatlarda antimikrobiyal etkinin kaynağının

belirlenmesi için kültür süpernatantları hazırlanmıştır. Kültür süpernatantlarının hazırlanması için, 24 saatlik inkübasyon sonrası kültürler, 3500 rpm'de 4 °C'de 20 dk santrifüj edilmiş ve berrak süpernatantlar elde edilmiştir. Berrak süpernatantların pH'ları 1N NaOH ile 6,5-7,0'ye ayarlanarak nötralize süpernatantlar elde edilmiştir. Nötralize süpernatantlar ile antimikrobiyal etki denemesi tekrarlanmış ve sonuçlar kaydedilmiştir.

3.2.3.4. Antifungal etkilerinin belirlenmesi

İzolatların maya ve küfler üzerindeki antifungal etkileri, kuyucuk difüzyon yöntemiyle (Tagg ve McGiven, 1971) belirlenmiştir. Öncelikle petri kutularına 15'er ml Potato Dextrose Agar (PDA) besiyeri dökülmüştür. Besiyerleri katılaştıktan sonra, denemeye alınan maya ve küf izolatlarından süspansiyonlar hazırlanmıştır. Kültür süpernatantlarının hazırlanması için, 24 saatlik inkübasyon sonrası kültürler, 3500 rpm'de 4 °C'de 20 dk santrifüj edilmiş ve berrak süpernatantlar elde edilmiştir. Berrak süpernatantların bir kısmı ayrı bir tüpe aktarılmış ve pH'ları 1N NaOH ile 6,5-7,0'ye ayarlanarak nötralize süpernatantlar elde edilmiştir. Hazırlanan süspansiyonlardan, 0,1 mL PDA'ya aktarıldıktan sonra drigalski spatülü ile yayılmıştır. Her bir petri kutusuna 10 mm çapında kuyucuklar açılmış ve kuyucuklara berrak süpernatantlar ve negatif kontrol olarak steril MRS sıvı besiyerinden 100'er µl ilave edilmiştir. İnoküle edilen petriler, 25°C'de 3-5 gün inkübe edilmiş ve inkübasyon süresi sonrasında oluşan zon çapları mm olarak ölçülmüştür.

3.2.3.5. Antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi

İzolatların antibiyotik direnç durumlarının belirlenmesinde, Kirby-Bauer disk difüzyon metodu (Bauer vd., 1966) kullanılmıştır. Disk difüzyon metodunda, MRS sıvı besiyerinde 48 saat aktiveleştirilen kültürlerden, MRS Agar besiyerine 100'er µL aktararak yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Besiyerleri üzerine antibiyotik diskleri yerleştirilmiş (Bioanalyse, Türkiye) ve 30 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresi sonunda antibiyotik diskleri etrafında oluşan zon çapları kumpas yardımı ile mm olarak ölçülmüştür. İzolatların antibiyotik duyarlılık

düzeyleri, National Committee for Clinical Laboratory Standarts (NCCLS, 2017) kılavuzuna göre duyarlı, orta seviyede dirençli ve dirençli olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.6. Biyojen amin üretim özelliklerinin belirlenmesi

Laktik asit bakterilerinin biyojen amin üretim özelliklerinin fenotipik olarak belirlenmesi amacı ile dekarboksilaz sıvı besiyeri içerisine %0,5 oranında histidin, lizin, tirozin ve arjinin aminoasitleri eklenerek, 121 °C'de 10 dk sterilize edilmiştir. Kontrol olarak ise aminoasit ilave edilmemiş besiyeri kullanılmıştır (Halkman, 2019). Analiz aşamasında, MRS sıvı besiyerinde 30 °C'de 24 saat süre ile aktifleştirilmiş taze kültürlerden, %0,1 oranında dekarboksilaz sıvı besiyerine aşılanarak, 30 °C'de 4 gün inkübe edilmiştir. Gelişme ortamında rengin sarıdan mor-eflatun'a dönüşmesi (biyojen amin oluşumu) pozitif olarak değerlendirilmiştir (Tokatlı, 2013).

3.2.4. Turşu üretimlerinde kullanılacak izolatların seçimi ve starter kültürlerin liyofilizasyonu

Turşu üretiminde starter olarak kullanılacak izolatların seçilmesinde, endüstriyel özelliklerinden tuzda gelişimleri, % laktik asit üretim miktarları ve pH'yı düşürme yetenekleri bakımından genel olarak değerlendirilerek starter kültürler seçilmiştir. Seçilmiş starter kültürler, Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümündeki liyofilizatör cihazı (Virtis benctop SLC, Almanya) kullanılarak liyofilize edilmiştir. Liyofilizasyon için, MRS sıvı besiyerinde 30 °C'de 48 saat aktifleştirilen kültürler, 3500 rpm'de 4 °C'de 30 dk santrifüj edilmiş ve elde edilen peletlere, kriyoprotektan olarak pelet ağırlığının %10'u oranında D-mannitol (Merck) ilave edilmiştir. Liyofilizasyon işlemi, -60 °C'de 50 mTorr vakum altında liyofilizatör cihazında gerçekleştirilmiştir. Liyofilize kültürler, turşu üretiminde kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Şekil 3.1'de liyofilizasyon işleminde kullanılan liyofilizatör cihazı verilmiştir.



Şekil 3.1 Liyofilizatör cihazı

3.2.5. Liyofilize starter kültürlerin depolama süresi boyunca canlılıklarının belirlenmesi

Liyofilize kültürlerin depolanma süresi boyunca canlılıklarının incelenmesi için, 3, 6, 9 ve 12. aylarda liyofilize kültürlerden örnekler alınarak, MRS agarda yayma plak yöntemiyle canlı sayımları gerçekleştirilmiştir. Ayrıca liyofilizasyon işlemi öncesi ve sonrasında da MRS agarda canlı sayımı yapılarak kültürlerin liyofilizasyon işlemine dayanımı değerlendirilmiştir. Liyofilize kültürlerin, canlılık oranları (%), aşağıdaki (3.2) numaralı formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Canlılık oranları \%} = (\text{canlı hücre sayısı} / \text{başlangıç hücre sayısı}) \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.6. Seçilmiş kültürlerin genotipik tanımlamaları

Seçilmiş kültürlerin 16S rDNA dizi analizi ile tanımlanması, BM Yazılım Danış. ve Lab. Sis. Ltd. Şti. tarafından hizmet alımı şeklinde yapılmıştır. Bakteri üzerinden tür tayini istenilen örneklerin DNA izolasyonu için, EurX GeneMATRIX Bacterial & Yeast DNA

izolasyon kiti (Polonya) kullanılmıştır. Bu aşamadan sonra firma tarafından belirlenen prosedürlere göre işlemler gerçekleştirilmiştir.

3.2.7. Kontrollü şartlarda turşu üretimi

Kontrollü şartlarda yapılacak turşu denemeleri için kornişon ve karışık turşu üretimleri gerçekleştirilmiştir. Üretimler laboratuvar ortamında oda sıcaklığında üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.7.1. Kornişon turşusu üretimleri

Kornişon turşusu üretimleri, 3 farklı üretim denemesi şeklinde gerçekleştirilmiş olup, kornişon birinci üretim denemesi (K1D), kornişon ikinci üretim denemesi (K2D) ve kornişon üçüncü üretim denemesi (K3D) olarak adlandırılmış ve her üretim üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.1’de kornişon üretimlerinde fermentasyon öncesi işlemler, deneme grupları ve salamura özellikleri ile ilgili bilgiler verilmiştir.

Isparta İli yerel pazarlardan temin edilen kornişonlar (No:2) ilk önce çeşme suyu ile yıkanmıştır. Yıkanan kornişonlar, topraktan kaynaklanabilecek istenmeyen mikrofloranın azaltılması amacıyla su banyosunda (Nüve, Türkiye) sıcak suda bekletmek suretiyle ısıl işleme tabi tutulmuştur. Üretime hazır hale getirilen kornişonlar, kornişon-salamura oranı (1:1) olacak şekilde 500 mL’lik steril cam kavanozlara yerleştirilmiş ve steril salamuraları ilave edilmiştir. Liyofilize kültür kullanılan turşu gruplarında, liyofilize kültürler %2 tuzdan oluşan rehidrasyon ortamında (Gardner vd., 2001) 30 °C’de 30 dakika bekletilmiş ve süre sonunda hücre yoğunluğu McFarland cihazı kullanılarak 0,5 McFarland değerine ($1,5 \times 10^8$ kob/ml) ayarlanmıştır.

Çizelge 3.2 Kornişon turşusu üretimleri ile ilgili bilgiler

Kornişon turşusu üretimleri	Fermantasyon öncesi işlemler	Deneme grupları	Salamura özellikleri
K1D	Yıkama, 80°C suda 3 dk ısı uygulaması	Kontrol <i>L. brevis</i> AK 72 <i>L. plantarum</i> AK 87 <i>L. plantarum</i> AK 91 <i>E. casseliflavus</i> AK 114 Karışık kültür	%8 tuz, Kültürlü gruplarda salamurada $1,5 \times 10^6$ kob/ml inokülasyon
K2D	Yıkama, 80°C suda 5 dk ısı uygulaması	Kontrol <i>L. brevis</i> AK 72 <i>L. plantarum</i> 87 <i>L. plantarum</i> AK 91 <i>E. casseliflavus</i> AK 114 Karışık kültür	%8 tuz, Kültürlü gruplarda salamurada $1,5 \times 10^4$ kob/ml inokülasyon
K3D	Yıkama, 80°C suda 5 dk ısı uygulaması	Kontrol <i>L. brevis</i> AK 72 <i>L. plantarum</i> AK 87 <i>L. plantarum</i> AK 91 <i>E. casseliflavus</i> AK 114 Karışık kültür	%8 tuz, %1 glikoz, %0,35 sitrik asit, Kültürlü gruplarda salamurada $1,5 \times 10^4$ kob/ml inokülasyon

Salamurada hücre yoğunluğu, Çizelge 3.2'deki oranlarda olacak şekilde salamuraya inoküle edildikten sonra, kavanozlar kapatılmış ve oda sıcaklığında fermantasyona bırakılmıştır. Karışık kültür ile yapılan üretimlerde, salamurada toplam hücre yoğunluğu belirlenen oranda olacak şekilde liyofilize kültürler, eşit oranda inoküle edilmiştir. Tüm kavanozların yüzeyine steril plastik baskılayıcı süzgeç yerleştirilerek kornişonların salamura yüzeyine çıkmaları engellenmiştir. Kornişonların yıkama işlemi ve ısı işlem sonunda toplam canlı sayımı, toplam maya ve küf sayımı, toplam *Enterobacteriaceae* sayımı, toplam laktik asit bakteri sayımları yapılarak mikrofloraları incelenmiştir. Şekil 3.2'de kornişon turşusu üretimi ile ilgili görseller verilmiştir.



Şekil 3.2. Kornişon turşusu üretimleri

3.2.7.2. Karışık turşu üretimi

Karışık turşu üretimi için, Isparta İli yerel pazarlarından beyaz lahana (%50), havuç (%25), yeşil biber (%10), salatalık (%10) ve kapyra biber (%5) temin edilmiş ve çeşme suyu ile yıkandıktan sonra 1,5 litrelik kaplara belirlenen oranlarda tartılarak yerleştirilmiştir. Ardından üzerlerine %6 tuz içeren steril salamuraları ilave edilmiştir. Karışık turşu üretim denemesi; geleneksel yöntem, *L. brevis* AK 72, *L. plantarum* AK 91, *E. casseliflavus* AK 114 ve karışık kültürle üretim (AK 72, AK 91, AK 114) olmak üzere beş deneme grubundan oluşmaktadır. Liyofilize kültürler, salamurada $1,5 \times 10^4$ kob/mL olacak şekilde, inoküle edilmiş ve fermentasyon oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

Yıkama işlemi sonunda sebze ve meyvelerin mikroflorasının belirlenmesi amacıyla toplam mezofilik aerobik bakteri, toplam laktik asit bakterisi, toplam maya-küf, toplam *Enterobacteriaceae* sayımları yapılmıştır. Karışık turşu üretimiyle ilgili görseller, Şekil 3.3'te verilmiştir.



Şekil 3.3. Karışık turşu üretimi

3.2.8. Turşuların kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi

Fermantasyon süresi boyunca belirli günlerde turşulardan örnekler alınarak, kimyasal ve mikrobiyolojik olarak incelenmiştir. Fermantasyon bitiminde buzdolabı koşullarında muhafaza edilen turşular, depolama süresi boyunca da kimyasal ve mikrobiyolojik olarak incelenmiştir.

3.2.8.1. Salamura örneklerinin pH değerlerinin belirlenmesi

Fermantasyon süresince ve depolama boyunca turşuların salamuralarında pH değerleri, pH metre (WTW Inolab pH Level 1, Almanya) ile belirlenmiştir.

3.2.8.2. Salamura örneklerinde toplam asitliğin belirlenmesi

Fermantasyon süresince ve depolama boyunca salamura örneklerinde toplam asitliğin belirlenmesi için, 1 mL örnek alınarak, üzerine belli miktar saf su ilave edilmiş ve 2-3 damla % 1'lik fenolfitalein indikatörü eşliğinde, ayarlı 0,01 N NaOH çözeltisiyle hafif pembe renk oluşuncaya kadar titre edilerek harcanan alkali miktarı kaydedilmiştir. Sonuçlar, (3.1) numaralı formüle göre hesaplanarak toplam asitlik, % laktik asit cinsinden (g/100 mL) ifade edilmiştir.

3.2.8.3. Salamura örneklerinde tuz miktarının belirlenmesi

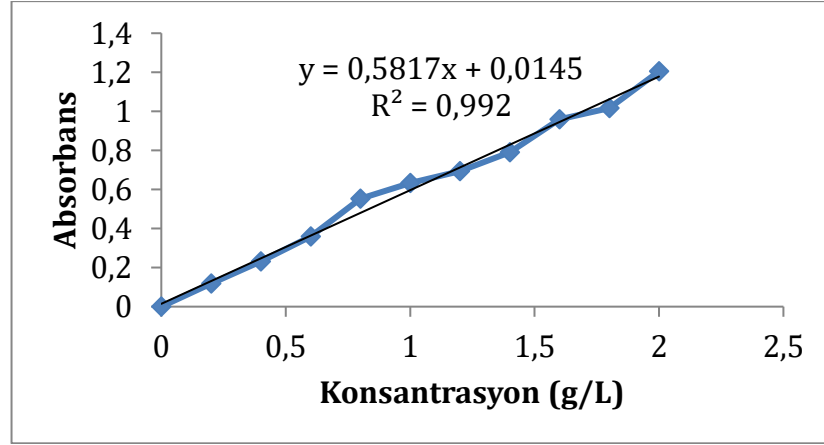
Fermantasyon süresince ve depolama boyunca salamura örneklerinde tuz miktarı, Mohr yöntemi esas alınarak belirlenmiştir. Bunun için, salamura örneklerinden belli hacimde alınarak, üzerine belli miktar saf su ile seyreltilerek, üzerine 1 mL %5'lik potasyum dikromat (K_2CrO_4) çözeltisinden ilave edilmiş ve 0,1 N $AgNO_3$ çözeltisiyle kremet kırmızısı renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan $AgNO_3$ çözeltisinin miktarı kaydedilmiş ve sonuçlar aşağıdaki (3.3) numaralı formüle göre hesaplanarak toplam tuz miktarı % NaCl cinsinden belirlenmiştir.

$$\% \text{ Tuz} = V.N.(0,0585) \times 100/m \quad (3.3)$$

Burada, V: titrasyonda harcanan (V_1-V_2) $AgNO_3$ miktarı (ml), N: titrasyonda kullanılan $AgNO_3$ normalitesi, m: örnek miktarı (mL)'ni temsil etmektedir.

3.2.8.4. Salamurada toplam indirgen şeker miktarının belirlenmesi

Fermantasyonun belirli günlerinde salamura örneklerinde indirgen şeker tayini yapılmıştır. Bunun için analizden önce örnekler santrifüj edilmiş ve gerekli oranda seyreltilmiş örnekten 1 mL alınıp, üzerine 2 mL DNS (3,5-Dinitrosalisilik asit) çözeltisi ilave edilerek karıştırıldıktan sonra kaynar su banyosunda 15 dk bekletilmiştir. Oluşan sarı kahverengi rengin stabilizasyonu için üzerine 1 mL Rachelle tuzu ilave edilip tekrar karıştırılmıştır. Laboratuvar sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra üzerine 5 mL damıtık su ilave edilip tekrar karıştırılmış ve spektrofotometrede, 540 nm dalga boyunda tanığa karşı absorbans değerleri ölçülmüştür (Tokatlı, 2013). Hesaplama, 0-2 g/L glikoz içeren çözeltiler yardımıyla önceden çizilen standart eğri kullanılarak yapılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. İndirgen şeker analizinde kullanılan standart eğri

3.2.8.5. Salamura örneklerinde toplam laktik asit bakterisi sayımı

Fermentasyon ve depolama süresi boyunca toplam laktik asit bakterisinin sayımı için; aseptik şartlarda turşu salamuralarından 1 mL örnek alınarak, 9 mL % 0,85 NaCl içeren steril fizyolojik tuzlu su (FTS) içerisinde seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan, yayma plak yöntemine göre 0,1 mL örnek MRS Agar içeren petrilere aktarılmıştır. Ekim yapılan petrilere 30°C'deki inkübatörde 2 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Farklı dilüsyonlara ait petrilere sayımı yapılan koloniler üzerinden salamura örneklerindeki toplam laktik asit bakterisi sayısı hesaplanarak, sonuçlar log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.8.6. Salamura örneklerinde toplam maya ve küf sayımı

Fermentasyon ve depolama süresi boyunca toplam maya küf sayımı için aseptik şartlarda turşu salamuralarından 1 mL örnek alınarak, 9 mL %0,85 NaCl içeren steril fizyolojik tuzlu su (FTS) içerisinde seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan, yayma plak yöntemine göre, 0,1 mL örnek alınarak, Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (Biolife, İtalya) içeren petrilere aktarılmıştır. Ekim yapılan petrilere, 25°C'deki inkübatörde 3-5 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda salamura örneklerindeki toplam maya ve küf sayısı hesaplanarak sonuçlar log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.8.7. Salamura örneklerinde toplam *Enterobacteriaceae* sayımı

Fermentasyon ve depolama süresi boyunca toplam enterobakter sayımı için; aseptik şartlarda turşu salamuralarından 1 mL örnek alınarak, 9 mL % 0,85 NaCl içeren steril fizyolojik tuzlu su (FTS) içerisinde seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan, yayma plak yöntemine göre 0,1 mL örnek alınarak % 1 oranında glikoz ilave edilmiş Violet Red Bile Agar (VRBA) (Merck, Almanya) içeren petrilere aktarılmıştır. Ekim yapılan petrilere 37°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda salamura örneklerindeki toplam enterobakter sayısı hesaplanarak, sonuçlar log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.8.8. Salamura örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı

Fermentasyon ve depolama süresi boyunca toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı için; aseptik şartlarda turşu salamuralarından 1 mL örnek alınarak, 9 mL % 0,85 NaCl içeren steril fizyolojik tuzlu su (FTS) içerisinde seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan, yayma plak yöntemine göre 0,1 mL örnek alınarak Plate Count Agar (PCA) (Merck, Almanya) içeren petrilere aktarılmıştır. Ekim yapılan petrilere 30 °C'deki inkübatörde 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda salamura örneklerindeki toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı hesaplanarak, sonuçlar log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir.

3.2.9. Turşuların duyusal ve tekstürel analizi

Turşuların duyusal özellikleri (renk, lezzet, doku, genel beğeni), 10 panelist ile duyusal analiz yapılarak değerlendirilmiştir. Turşuların renk özelliği 1-3, lezzet, doku, genel beğeni özellikleri ise 1-5 arası puanlama ile değerlendirilmiştir. Turşuların duyusal açıdan genel izlenimi, Ji vd. (2013)'nin puanlama sisteminde değişiklik yapılarak hesaplanmış ve aşağıdaki (3.4) numaralı formüle göre değerlendirilmiştir.

$$\text{Genel beğeni} = a_1 \times 0.2 + a_2 \times 0.25 + a_3 \times 0.25 + a_4 \times 0.3 \quad (3.4)$$

Burada, a1; renk puanı, a2 ; lezzet puanı, a3; doku puanı, a4 ; genel beğeni puanı'nı temsil etmektedir.

Duyusal olarak incelenen turşularda sertlik analizi ve renk analizleri, Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarındaki cihazlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Renk analizi, Minolta Chroma Meter (CR-400; Konica Minolta, Inc.) cihazında CIE L*a*b* sistemi kullanılarak her deneme grubu için 10 ölçüm yapılarak gerçekleştirilmiştir.

Sertlik analizi ise, tekstür analiz cihazı (TA-TX plus, Stable Mikrosistemleri, İngiltere) kullanılarak delme testi ile gerçekleştirilmiştir. Her bir analiz için, yatay pozisyonda cihaza yerleştirilen kornişonlara, kornişon çapının yarısına kadar batırılan 0,2 cm paslanmaz çelik probe kullanılarak 1 mm/saniye test hızı ile her deneme grubunda 10 ölçüm yapılarak ve her ölçümde kornişonların sap, orta ve baş kısımlarını da analiz ederek tüm kornişon sertliğini temsil edecek şekilde ölçümler yapılmıştır. Sonuçlar ortalama ($\pm$ standart sapma) olarak cihaza bağlı bilgisayar programı ile hesaplanmıştır. Şekil 3.5'te sertlik ve renk analizi için kullanılan cihazlar verilmiştir.



Şekil 3.5. Sertlik (solda) ve renk (sağda) analizinde kullanılan cihazlar

3.2.10. Turşuların organik asit ve aroma profili analizi ile biyojen amin içeriklerinin belirlenmesi

Fermantasyonu tamamlamış bazı turşu gruplarında, turşu salamuralarında organik asit analizi, Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. HPLC analizi ile turşu salamuralarının tartarik, okzalik, malik, sitrik, süksinik, laktik ve asetik asit cinsinden organik asit içeriği, Alhendawi vd. (1997), Krapez vd. (2001), yöntemleri modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir.

Organik asit analizi için kullanılan HPLC cihazı ile ilgili özellikler, aşağıda açıklanmıştır:

Dedektör: SPD-10Avp UV-VIS detectör (210 nm)

System controller: LC- 20AT prominence

Auto sampler: SIL-20AC prominence

Pump: LC- 20AT prominence

Degasser: DGU- 20A5 prominence

Column oven: CTO-10AS vp

Kolon : Teknokroma TRACER EXTRASIL ODS(2) (250 x 4,6 mm) 5µ TR-016059

Kolon sıcaklığı: 30 °C

Mobil faz: H₃PO₄/H₂O (pH:2,0)

Enjeksiyon hacmi: 20 µl

Akış Hızı: 0,8 mL / dakika

Turşu salamuralarında aroma profili analizi, Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Aroma profili analizi, GC/MS-SPME ile gerçekleştirilmiştir. Analizde kullanılan cihaz ile ilgili özellikler ve SPME şartları aşağıda açıklanmıştır:

Kullanılan cihaz: Shimadzu (Japan) GC- 2010 Plus, Shimadzu GCMS-QP2010 SE (Dedektör)

Enjeksiyon Bloğu: 250 °C

Dedektör: 250 °C

Akış Hızı (mL/dakika): 1,61

Dedektör: 70 eV

İyonlaştırma Türü: EI

Kullanılan Gaz: Helyum

Kullanılan Kolon: Restek Rx-5Sil MS 30 m * 0.25 mm, 0.25 um

katalog no: Restek 13623

Sıcaklık Programı: 40 °C'de 2 dakika bekledikten sonra 250 °C' de dakikada 4 °C'lik artışla ulaşıyor. 250 °C'de 5 dakika bekliyor.

Kullanılan Kütüphaneler: Wiley, Nist, Tutor, FFNSC

SPME şartları: Fused silica SPME fiber CAR/PDMS numune 60 °C'de fibersiz 15 dakika fiber ile 30 dakika bekletilip 250 °C'de desorbe edilir. Katalog no: supelco 57318

SPME VIAL: Supelco 27159 15 mL clear PTFE /Silicone septa Cap.

Fermantasyonu tamamlamış turşu salamuralarında, kadaverin, putresin, tiramin, triptamin, histamin, feniletilamin, spermin ve spermidin bakımından incelenen biyogen amin analizi, Mehmet Akif Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Numune hazırlık işlemleri için, 2 g numune alınmış üzerine 2 mL 0.1 M HCl eklenmiştir. Homojenize edilen karışım, 4000 rpm'de 4°C'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Üst faz alınmış, üzerine 100 µL 2 N NaOH, 150 µL doymuş sodyum bikarbonat ve 1 ml dansil klorür konulmuştur. Karışım 40 °C'de 45 dakika inkübe edilmiş ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Üzerine 50 µL %25 NH₃ eklenmiş ve 30 dakika daha oda sıcaklığında bekletilmiştir. Üzerine 1 mL amonyum asetat:asetonitril eklenmiştir. 0.45 µm'lik filtreden geçirilip HPLC sistemine enjekte edilmiştir (Köse vd., 2011; Mazzuco vd., 2001). HPLC analizinde Köse vd., (2011)'nin metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Analizde kullanılan gradient program, EK A.'da, biyogen amin standartlarına ait kalibrasyon grafikleri, Ekler bölümünde (B, C, D, E, F, G, H, I), numuneye ait kromatogram ise EK J'de verilmiştir.

Biyojen amin analizinde kullanılan HPLC cihazı ve yöntem ile ilgili özellikler, aşağıda açıklanmıştır:

HPLC Metodu: Kullanılan Sistem: Shimadzu Prominence Marka HPLC

CBM: 20ACBM

Dedektör: DAD (SPD-M20A)

Kolon Fırını: CTO-10ASVp

Pompa: LC20 AT

Autosampler: SIL 20AHT

Bilgisayar Programı: LC Solution

Mobil Faz: A: 0.1 M Amonyum asetat B: Asetonitril

Kolon: ACE5 C-18 (250x4.6 mm, 5 µm)

Kolon Sıcaklığı: 40°C

Akış hızı: 1 mL/dk

Enjeksiyon hacmi: 50 µL

Sonuçlar 254 nm’de değerlendirilmiştir.

Geri Kazanım Değerleri: % 80

3.2.11. Turşu yüzeylerinin taramalı elektron mikroskopunda görüntülenmesi

Fermantasyonu tamamlamış kornişon turşularındaki mikroorganizmaların görüntülenmesi amacıyla, turşuların mezokarp kısımları bıçak ile sıyrılarak atılmış ve 5 mm x 5 mm ölçülerinde kesilen örnekler, Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi (Enerji Teknolojileri Araştırma Birimi)’de bulunan QUANTA FEG 250 Taramalı Elektron Mikroskobu kullanılarak görüntülemeleri yapılmıştır.

3.2.12. İstatistiksel değerlendirme

Tekerrürlü olarak elde edilen analiz sonuçlarının ortalamaları alınarak standart sapmaları ile birlikte verilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi ve karşılaştırılması, Minitab programında (Minitab release 17.1.0, Minitab inc.,

2013) tek yönlü varyans analizi (ANOVA) analizi kullanılarak yapılmış, gruplar arası farklılıklar TUKEY testi ile değerlendirilmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. İzolatların Fenotipik Özellikleri ve Genotiplendirme

Fermantasyon süresinin, izole edilecek laktik asit bakterisi türleri üzerinde etkili olabileceği düşünüldüğünden, iç örneklerden fermantasyon boyunca 5, 10, 15, 20, 25 ve 30. günlerde numuneler alınarak laktik asit bakterilerinin izolasyonu gerçekleştirilirken, dış örnekler doğrudan izolasyon işlemlerine tabi tutulmuştur. Korona virüs salgını sebebiyle oluşan kısıtlamalardan dolayı çalışmaya 15 gün ara verilmesi gerekmiş olduğundan, T21-31 arası örneklerinin 30. gün, T42-45 arası örneklerinin 20, 25 ve 30. gün izolasyonları, T53-59 arası örneklerin 10. ve 15. gün izolasyonları, T60-62 arası örneklerin ise 5, 10 ve 15. gün izolasyonları yapılamamıştır. Bu nedenle bazı turşu örneklerinde 30. gün izolasyonları incelenemediğinden, 42 ve 50. gün şeklinde yapılabilmektedir.

Laktik asit bakterilerinin fenotipik olarak tanımlanmalarında hücre ve koloni morfolojileri, farklı sıcaklık ve pH değerlerinde gelişim ile farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim gibi metabolik/biyokimyasal özelliklerin incelenmesini içeren testler uygulanmaktadır (Tokatlı, 2013). İzolasyon işlemi sonunda stok besiyerine alınan izolatlar, çalışmada kullanılmak üzere saflık kontrolünden geçirilmiş ve fenotipik tanımlama testleri uygulanmıştır. Bu amaçla tüm izolatlara, pH 9,6'da gelişim testi, %6,5 tuzda gelişim testi, 15 °C'de gelişim testi ve glikozdan gaz oluşum testleri yapılmıştır.

Çizelge 4.1'de turşu örneklerinden izole edilen muhtemel laktik asit bakterisi izolatlarının, mikroskop görüntüleri, katalaz testi sonuçları ve bazı izolasyon bilgileri ile laktik asit bakterisi izolatlarına yapılan fenotipik tanımlama testlerinin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.1. Laktik asit bakteri izolatları ve fenotipik test sonuçları

TURŞU ÖRNEK KODU	İZOLASYON GÜNÜ	İZOLAT KODU	MORFOLOJİ	KATALAZ	pH 9,6'DA GELİŞİM	%6,5 TUZDA GELİŞİM	15° C'DE GELİŞİM	GLİKOZ KULLANIM ŞEKLİ
T1	Dış örnek	AK1	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T7	Dış örnek	AK2	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T9	Dış örnek	AK3	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T9	Dış örnek	AK4	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T12	Dış örnek	AK5	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T12	Dış örnek	AK20	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T13	Dış Örnek	AK6	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T13	Dış Örnek	AK7	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T17	Dış Örnek	AK8	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T17	Dış Örnek	AK9	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T17	Dış Örnek	AK10	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T15	Dış Örnek	AK11	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T15	Dış Örnek	AK12	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T15	Dış Örnek	AK13	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T15	Dış Örnek	AK14	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T14	Dış Örnek	AK15	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T16	Dış Örnek	AK16	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T16	Dış Örnek	AK17	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T20	Dış Örnek	AK18	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T20	Dış Örnek	AK19	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T27	Dış Örnek	AK21	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T28	5.gün	AK22	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T28	5.gün	AK23	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T28	5.gün	AK24	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T21	5.gün	AK25	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T21	5.gün	AK26	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T29	5.gün	AK27	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T21	5.gün	AK42	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T27	10.gün	AK43	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T36	10.gün	AK44	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T36	Dış Örnek	AK106	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T39	Dış Örnek	AK45	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T39	Dış Örnek	AK46	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T30	Dış Örnek	AK28	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T30	5.gün	AK29	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T34	5.gün	AK30	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T34	Dış Örnek	AK31	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T34	Dış Örnek	AK32	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T40	Dış Örnek	AK33	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T40	Dış Örnek	AK34	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T40	Dış Örnek	AK35	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T40	Dış Örnek	AK36	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T41	Dış Örnek	AK37	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T41	Dış Örnek	AK38	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T35	Dış Örnek	AK39	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T35	Dış Örnek	AK40	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T35	Dış Örnek	AK41	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T42	Dış Örnek	AK47	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T42	5.gün	AK49	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T45	5.gün	AK48	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T45	5.gün	AK50	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T27	5.gün	AK 51	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T21	15.gün	AK52	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T46	15.gün	AK53	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T46	Dış Örnek	AK54	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif

Çizelge 4.1. Laktik asit bakteri izolatları ve fenotipik test sonuçları (Devam)

TURŞU ÖRNEK KODU	İZOLASYON GÜNÜ	İZOLAT KODU	MORFOLOJİ	KATALAZ	pH 9,6'DA GELİŞİM	%6,5 TUZDA GELİŞİM	15° C'DE GELİŞİM	GLİKOZ KULLANIM ŞEKLİ
T43	Dış Örnek	AK55	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T42	10.gün	AK56	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T42	10.gün	AK57	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T42	10.gün	AK58	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T45	10.gün	AK59	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T45	10.gün	AK60	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T49	10.gün	AK61	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T50	Dış Örnek	AK62	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T21	Dış Örnek	AK63	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T21	20.gün	AK64	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T58	20.gün	AK65	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T42	20.gün	AK66	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T58	15.gün	AK67	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T58	20.gün	AK68	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T59	20.gün	AK69	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T59	20.gün	AK70	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T53	20.gün	AK71	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T61	20.gün	AK72	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T61	20.gün	AK73	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T62	20.gün	AK74	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T62	20.gün	AK75	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T55	20.gün	AK76	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T57	5.gün	AK77	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T58	5.gün	AK78	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T54	5.gün	AK79	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T59	20. gün	AK80	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T59	5.gün	AK81	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T55	5.gün	AK82	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T59	20.gün	AK83	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T59	25.gün	AK84	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T62	25.gün	AK85	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T62	25.gün	AK86	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T61	25.gün	AK87	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T61	25.gün	AK88	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T63	25.gün	AK89	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T45	Dış Örnek	AK90	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T26	42.gün	AK91	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T42	50.gün	AK92	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T45	42.gün	AK93	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T43	42.gün	AK94	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T55	42.gün	AK95	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T61	30.gün	AK96	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T62	30.gün	AK97	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T70	30.gün	AK98	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T70	Dış Örnek	AK99	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T70	Dış Örnek	AK100	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T70	Dış Örnek	AK101	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T71	Dış Örnek	AK102	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T72	Dış Örnek	AK103	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T72	Dış Örnek	AK104	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T72	Dış Örnek	AK105	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T65	Dış Örnek	AK107	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T65	5.gün	AK108	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T65	5.gün	AK109	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T65	5.gün	AK110	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif

Çizelge 4.1. Laktik asit bakteri izolatları ve fenotipik test sonuçları (Devam)

TURŞU ÖRNEK KODU	İZOLASYON GÜNÜ	İZOLAT KODU	MORFOLOJİ	KATALAZ	pH 9,6'DA GELİŞİM	%6,5 TUZDA GELİŞİM	15° C'DE GELİŞİM	GLİKOZ KULLANIM ŞEKLİ
T65	5.gün	AK122	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T65	10.gün	AK123	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T65	10.gün	AK124	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T65	10.gün	AK130	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T65	15.gün	AK131	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T66	15.gün	AK111	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T66	5.Gün	AK112	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T66	5.Gün	AK125	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T66	10.gün	AK126	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T67	10.gün	AK113	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T67	5.gün	AK114	Kok	Negatif	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T68	5.gün	AK115	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T68	5.gün	AK116	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T68	5.gün	AK117	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T68	5.gün	AK118	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T68	5.gün	AK127	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T68	10.gün	AK134	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T69	20.gün	AK119	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T69	5.gün	AK120	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T69	5.gün	AK121	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T69	5.gün	AK128	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T69	10.gün	AK129	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T69	10.gün	AK132	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T69	15.gün	AK133	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T69	15.gün	AK135	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T69	20.gün	AK136	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T69	20.gün	AK137	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T69	25.gün	AK142	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T69	25.gün	AK143	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T73	5.gün	AK138	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T73	5.gün	AK139	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T73	5.gün	AK140	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T73	5.gün	AK141	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Homofermantatif
T73	10.gün	AK144	Kokobasil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif
T73	15.gün	AK145	Basil	Negatif	Negatif	Pozitif	Pozitif	Heterofermantatif

Lactobacillus cinsinin yüksek tuz ve düşük asitli ortamlarda gelişerek fermantasyonu yürüten esas bakteri cinsi olması dolayısıyla izolasyon işlemlerinde morfolojik açıdan basil ve kokobasil izolatlar tespit edilerek incelenmeye alınmıştır. Çalışmada 73 turşu örneğinden 32 adet kokobasil, 1 adet kok ve 112 adet basil morfolojisinde olmak üzere 145 adet katalaz ve oksidaz negatif, Gram pozitif laktik asit bakterisi izole edilmiştir (Çizelge 4.1).

Laktik asit bakterisi izolatları, glikozdan gaz oluşturma testinin sonucuna göre homofermantatif ve heterofermantatif olarak sınıflandırılmıştır. Gaz oluşturma testi sonucunda 76 izolatın glikozdan gaz oluşturmadağı, 69 izolatın ise gaz oluşturduğu

belirlenerek; muhtemelen, 75 izolat homofermantatif, 70 izolat ise heterofermantatif olarak sınıflandırılmıştır. İzolatların tamamının 15°C'de ve % 6,5 tuzda geliştiği, pH 9,6'da ise sadece bir izolatın geliştiği (AK 114) belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Literatürde, turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin, farklı sıcaklık, pH ve tuz değerlerinde gelişimleri incelenmiş, ayrıca glikozdan gaz oluşum testleri yapılarak fenotipik olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalarda, suşa bağlı olmak üzere genel olarak 15 °C'de ve %6,5 tuzda geliştikleri, 9,6 pH'da gelişimlerinin ise değişken olduğu belirtilmiştir (Dursun, 2010; Yıldız, 2011; Arslankoz, 2011; Tokatlı, 2013; Tokatlı vd., 2017; Çetin, 2017; Monika vd., 2017; Aktaş ve Çetin, 2022; Avunca vd., 2022). Turşular, fermantasyon ve depolama koşulları gereği 20-25 °C civarında muhafaza edildiğinden, özellikle bu sıcaklık seviyelerinde iyi gelişebilen mikroorganizmaları yoğun olarak içermektedir. Dolayısıyla turşudan izole edilen LAB'nin farklı sıcaklıklarda gelişimleri incelendiğinde, 15°C gelişimlerinin iyi olması beklenen bir sonuç olarak karşımıza çıkmıştır. Çalışmada *Enterococcus* ve *Lactobacillus* cinslerinin tanımlanması için yapılan 9,6 pH'da gelişim testinde basil morfolojisindeki izolatlar 9,6 pH'da gelişme göstermemiş, sadece kokobasil görünümündeki AK 114 izolatı gelişim göstermiştir.

İzolasyonda fenotipik tanımlama testlerinde turşu fermantasyonlarının gerçekleştirildiği genel sıcaklık değerleri (15-25°C) ve tuz oranları (%5-10) düşünülerek, 15°C ve % 6,5 tuzda gelişimleri incelenmiştir. Böylece izolatların fenotipik tanımlamaları yapılırken, aynı zamanda turşu fermantasyon ortamında gelişme yetenekleri bakımından bir ön eleme yapıldığı düşünülmektedir.

Sebzelerin kontrollü fermantasyonu için starter kültürlerin seçiminde, minimum besin gereksinimi, düşük sıcaklıklarda gelişme, farklı karbon kaynaklarını fermente etme özellikleri, hızlı asit üretme yeteneği, düşük pH ve tuza tolerans, depolama boyunca canlılık kaybının en az seviyede olması, duyuasal açıdan aroma maddeleri üretmesi, besinsel fayda açısından ise biyojen amin üretmemesi gibi kriterler aranmaktadır. Hıyar fermantasyonlarında homofermantatif metabolizma önemli

seçim kriteri iken, sauerkraut için istenmeyen bir özelliktir (Buckenhüskes, 1993; Hutkins, 2006). Bu çalışmada turşu üretimleri için izolatların seçilmesinde, izolatların en önemli endüstriyel özelliklerinden % laktik asit üretimleri, tuza ve asitliğe toleransları yapılan testler ile incelenmiştir. Bu testler sonucunda AK 72, AK 87, AK 91 ve AK 114 izolatlarının turşu üretimlerinde kullanılmasına karar verilmiştir. İzolatların genotipik tanımlamaları, 16S rDNA dizi analizi ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre AK 72; *L. brevis*, AK 87 ve AK 91; *L. plantarum*, AK 114; *E. casseliflavus* olarak tanımlanmıştır.

Literatürde geleneksel turşulardan *L. brevis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *Enterococcus* spp, *P. ethanolidurans*, *P. parvulus*, *L. paracasei*, *L. casei*, *Leu. holzapfelii*, *Leu. mesenteroides*, *E. faecium*'un izole edildiği, en baskın türün ise *L. plantarum* olduğu bildirilmiştir (Dursun, 2010; Yıldız, 2011; Yu vd., 2012; Tokatlı, 2013; Bağder Elmacı vd., 2015; Çetin, 2017; DüNDAR, 2017; Avunca vd., 2022; Aktaş vd., 2022). *E. casseliflavus* izolatlarının, *L. plantarum* ve *L. brevis* izolatlarına göre turşulardaki bulunma oranı daha düşük olmasına rağmen, çiğ hıyarlardan ve fermente turşulardan izole edilip tanımlandığı çalışmalar mevcuttur (Reina vd.,2005; Arslankoz, 2011; Chen vd., 2012; Tokatlı vd., 2015; 2017). Bu çalışmada *Lactobacillus* ve *Enterococcus* cinsinin turşulardan izole edilerek tanımlanması, literatür çalışmaları ile uygunluk göstermektedir. Ayrıca geleneksel turşulardan izole edilen enterokokların, turşu üretiminde starter olarak kullanıldığı çalışmalara rastlanmaması nedeniyle turşu üretimlerinde starter olarak değerlendirilmesine karar verilerek üretimlerde kullanılmıştır.

4.2. Laktik Asit Bakterilerinin Endüstriyel Özellikleri

Fermente sebze teknolojisinde kullanılmak üzere starter kültürlerin seçiminde düşük pH'nın sağlanması, böylece fermentasyon başlangıcında istenmeyen mikroorganizmaların inhibisyonu için laktik asit bakterilerinin hızlı asit oluşturma özellikleri, temel starter kültür seçim kriterlerinden biri olarak belirtilmiştir (Daeschel ve Fleming, 1984; Çon ve Karasu, 2009). Bu nedenle turşu fermentasyon ortamı göz önüne alındığında, izolatların endüstriyel özelliklerinin belirlenmesinde %

laktik asit üretim miktarı ve hızlarının belirlenmesi aşaması öncelikli olarak incelenmiştir. Bu kapsamda turşu çeşitleri, izolasyon günleri ve izolatların morfolojileri değerlendirilerek bazı izolatlar seçilmiştir.

Turşu fermantasyonunda kullanılacak olan starter kültürün belirlenmesinde izolatların tuza dirençli olması, salamura pH'sını hızla düşürerek yüksek oranda laktik asit üretmesi beklenmektedir. Bu kapsamda endüstriyel özellikleri incelenecek olan izolatların seçiminde, temin edilen tüm turşu çeşitlerini kapsayacak şekilde ve iç örneklerde 15-30. günler ile 42 ve 50. günler gibi fermantasyonun ilerleyen dönemlerinde olan turşulardan yoğunlukta olmak üzere fermantasyonun tüm aşamalarından izolatlar seçilmiştir. Bu seçimin yapılmasında, turşu fermantasyonunun başında salamura sıvısında daha fazla tuz olması, buna paralel olarak fermantasyon ileri aşamalarında daha fazla laktik asit bulunması durumu dikkate alınmıştır. Bu nedenle ortama hâkim olabilecek farklı mikroorganizmaların izole edilebileceği düşüncesi etkili olmuştur. Morfolojik olarak izolatların seçilmesinde, *Lactobacillus* cinsinin turşu fermantasyonunda aside dayanıklı olma ve fermentasyonu tamamlayan laktik asit bakteri cinsi olduğu bilindiği için, ince uzun çubuk, kalın kısa çubuk ve kokobasil görünümündeki izolatlar seçilmiştir. Sadece bir izolat (AK 114), fenotipik tanımlama testlerinde ve mikroskop görüntüsünün incelenmesi sonucu enterokok cinsi görüntüsüne sahip olduğundan ve fermantasyonda enterokokların kullanımının değerlendirilmesi amaçlandığından seçilerek çalışmaya dahil edilmiştir.

4.2.1. Laktik asit üretim miktarları

Turşu fermantasyonunda starter kültür olarak kullanılması planlanan izolatlarda ürettikleri laktik asit miktarı, önemli endüstriyel özelliklerinden birisidir. Turşu üretiminde kullanılacak kültürün pH'yı hızlı bir şekilde düşürmesi ve yüksek oranda laktik asit üretmesi istenmektedir. Asit oluşturma yeteneği, özellikle ortamda hızlı pH düşüşünü sağlayarak, starter kültürün fermantasyon ortamına hâkim olması ve diğer istenmeyen mikroorganizmaların baskılanması açısından önemlidir. Bu nedenle seçilen izolatların 12, 24, 48 ve 72.h'te laktik asit üretimleri ve MRS

besiyerindeki pH değışimleri incelenmiştir. Çizelge 4.2.'de izolatların laktik asit üretim miktarları (g/100 mL) ve pH sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.2. İzolatların laktik asit üretim miktarları ve pH değeri

İZOLAT	pH				% Laktik asit			
	12.h	24.h	48.h	72.h	12.h	24.h	48.h	72.h
AK 25	4,17	3,76	3,79	3,80	0,70	1,36	1,29	1,11
AK 21	4,38	4,37	4,33	4,30	0,77	0,74	0,77	0,73
AK 42	5,62	5,38	3,98	3,85	0,16	0,24	1,11	0,99
AK 52	4,92	4,64	4,61	4,57	0,38	0,51	0,52	0,47
AK 51	4,38	4,38	4,33	4,07	0,71	0,80	0,84	0,81
AK 63	5,69	4,27	3,90	3,92	0,20	1,04	1,34	1,40
AK 72	4,20	3,79	3,79	3,76	0,70	1,33	1,37	1,15
AK 87	4,14	3,76	3,76	3,75	0,84	1,39	1,44	1,31
AK 96	4,12	3,77	3,76	3,64	0,83	1,35	1,50	1,43
AK 97	5,76	5,20	4,74	4,42	0,15	0,31	0,81	0,62
AK 3	4,17	3,79	3,78	3,82	0,38	1,74	1,48	1,02
AK 33	4,19	3,78	3,78	3,77	0,82	1,30	1,36	1,18
AK 35	4,19	3,80	3,78	3,75	0,75	1,28	1,19	1,21
AK 32	5,60	4,94	4,33	4,36	0,23	0,41	0,78	0,61
AK 40	4,26	3,77	3,71	3,71	0,69	1,38	1,43	1,10
AK 91	4,16	3,75	3,74	3,74	0,75	1,36	1,39	1,23
AK 4	4,20	3,79	3,75	3,90	0,89	1,83	1,52	1,33
AK 6	5,78	5,11	4,32	4,10	0,21	0,53	0,87	1,10
AK 7	5,86	5,09	4,23	4,17	0,23	0,59	0,87	1,33
AK 54	5,93	4,31	3,93	3,91	0,05	0,56	1,02	1,45
AK 47	4,36	3,93	3,86	3,92	0,45	0,91	1,02	1,36
AK 114	4,95	4,60	4,60	4,18	0,28	0,40	1,02	0,90
AK 57	4,52	3,85	3,85	3,82	0,35	0,94	1,24	1,39
AK 144	4,36	4,37	4,37	4,41	0,50	0,58	0,71	0,69
AK 66	4,20	3,8	3,8	3,81	0,52	1,02	1,23	1,33
AK 145	5,4	4,22	4,22	4,22	0,14	0,63	0,80	0,86
AK 134	4,62	3,91	3,91	3,90	0,32	0,91	1,16	1,07
AK 136	4,46	3,88	3,88	3,87	0,39	0,94	1,02	1,15
AK 143	5,85	5,16	5,16	4,40	0,01	0,15	0,67	0,55
AK 62	4,51	4,41	4,41	4,26	0,42	0,45	0,68	0,70
AK 111	5,53	4,78	4,78	4,45	0,04	0,26	0,56	0,58
AK 92	4,11	3,77	3,77	3,80	0,59	0,96	1,14	1,16
AK 94	4,14	3,76	3,76	3,79	0,72	1,02	1,01	1,25
AK 90	4,22	3,78	3,78	3,78	0,62	1,00	1,00	1,29
AK 93	4,47	3,86	3,86	3,82	0,44	0,83	0,96	1,17
AK 89	4,23	3,78	3,78	3,80	0,62	0,79	0,96	1,29
AK 2	4,21	3,80	3,79	3,70	0,38	1,24	1,40	1,02
AK 131	4,07	3,84	3,81	3,79	0,70	0,97	1,07	1,61
AK 1	4,87	4,48	4,37	4,41	0,59	1,03	0,94	0,82
AK 80	4,04	3,83	3,83	3,83	0,80	1,08	1,08	1,14
AK 84	5,44	4,62	4,14	4,14	0,13	0,36	0,79	0,79
AK 103	5,67	5,04	4,47	4,59	0,09	0,20	0,51	0,50
AK 105	5,54	4,26	4,00	4,01	0,09	0,58	0,92	0,96
AK 5	4,84	4,46	4,54	4,42	0,58	0,92	0,63	0,79

Çizelge 4.2. İzolatların laktik asit üretim miktarları ve pH değerleri (Devam)

İZOLAT	pH				% Laktik asit			
	12.h	24.h	48.h	72.h	12.h	24.h	48.h	72.h
AK 22	4,42	4,37	4,37	4,28	0,52	0,55	0,58	1,01
AK 24	4,46	4,39	4,39	4,23	0,50	0,55	0,63	1,14
AK 14	4,08	3,85	3,84	3,84	0,69	1,08	1,06	1,18
AK 12	4,00	3,82	3,8	3,83	0,66	1,02	1,02	1,06
AK 67	4,17	3,80	3,79	3,78	0,59	1,01	1,12	1,43
AK 13	3,96	3,80	3,8	3,78	0,85	1,02	1,08	1,53
AK 95	4,11	3,78	3,82	3,82	0,73	1,12	1,11	1,24
AK 11	4,14	3,8	3,71	3,87	1,10	1,34	1,47	1,54
AK 9	6,19	5,27	4,31	4,26	0,09	0,25	0,86	1,16
AK 8	4,31	3,76	3,72	3,81	0,95	1,46	1,43	1,74
AK 44	3,91	3,78	3,8	3,8	0,95	1,08	1,07	1,19
AK 10	4,92	4,39	4,31	4,25	0,52	0,78	0,76	1,15

Çalışmada izolatların, 12 saat inkübasyon süresi sonrası 0,04-1,10 g/100 mL, 24 saat inkübasyon sonrası 0,15-1,83 g/100 mL, 48 saat inkübasyon sonrası 0,51-1,52 g/100 mL, 72 saat inkübasyon sonrası 0,47-1,74 g/100 mL laktik asit ürettiği tespit edilmiştir. 12 saat inkübasyon süresi sonrası 3,91-6,19 pH, 24 saat inkübasyon sonrası 3,75-5,38 pH, 48 saat inkübasyon sonrası 3,71-5,16 pH, 72 saat inkübasyon sonrası 3,64-4,59 aralığında pH değerleri belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2’de bazı izolatların 48. ve 72. saatlerde sıvı besiyerlerinde daha hızlı pH düşüşü sağladıkları ve daha yüksek oranlarda laktik asit ürettikleri belirlenmiştir. İzolatların genel olarak 48 ve 72. saatte ürettikleri laktik asit miktarlarının birbirine yakın olduğu belirlenmiştir. 72. saatte yüksek oranda laktik asit üreten, pH’yı hızlı düşüren izolatlar belirlenmiş ve ürettikleri laktik asit üretim miktarları (%) ile sıvı besiyerlerindeki pH değişimleri (Δ pH), Çizelge 4.3.’te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Yüksek oranda laktik asit üreten izolatların analiz sonuçları

İZOLAT	72.h pH	72.h % laktik asit	Δ pH
AK 96	3,64	1,43	2,56
AK 2	3,70	1,02	2,50
AK40	3,71	1,10	2,49
AK91	3,74	1,23	2,46
AK87	3,75	1,31	2,45
AK35	3,75	1,21	2,45
AK72	3,76	1,15	2,44

Çizelge 4.3. Yüksek oranda laktik asit üreten izolatların analiz sonuçları (Devam)

İZOLAT	72.h pH	72.h % laktik asit	ΔpH
AK33	3,77	1,18	2,43
AK13	3,78	1,53	2,42
AK67	3,78	1,43	2,42
AK90	3,78	1,29	2,42
AK131	3,79	1,61	2,41
AK94	3,79	1,25	2,41
AK89	3,80	1,29	2,40
AK44	3,80	1,19	2,40
AK92	3,80	1,16	2,40
AK25	3,80	1,11	2,40
AK8	3,81	1,74	2,39
AK66	3,81	1,33	2,39
AK57	3,82	1,39	2,38
AK95	3,82	1,24	2,38
AK93	3,82	1,17	2,38
AK3	3,82	1,02	2,38
AK80	3,83	1,14	2,37
AK12	3,83	1,06	2,37
AK14	3,84	1,18	2,36
AK11	3,87	1,54	2,33
AK4	3,90	1,33	2,30
AK47	3,92	1,36	2,28
AK105	4,01	0,96	2,19
AK114	4,18	0,90	2,09

Literatürde turşu kökenli laktik asit bakterilerinin MRS sıvı besiyerinde ya da laboratuvar ortamında geliştirilen sebze bazlı besiyerlerinde farklı saatlerde ürettikleri % laktik asit miktarlarını inceleyen araştırmalar bulunmaktadır. Bu araştırmalarda, izolatların tür ve suş düzeyinde ürettikleri laktik asit miktarlarının değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Ancak genel olarak en hızlı ve yüksek oranda laktik asit oluşturan türün *L. plantarum* olduğu tespit edilmiştir (Gardner vd., 2001; Karasu, 2006; Di Cagno vd., 2008; Arslankoz, 2011; Tokatlı, 2013; Tokatlı vd., 2017; Çetin, 2017).

Bu çalışmada daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlara yakın veya daha yüksek değerlerde laktik asit üreten izolatlar elde edilmiştir (Çizelge 4.3). Bazı

izolatların daha düşük oranlarda laktik asit üretmiş olmalarının, uygulanan aşılama oranlarının farklılığından, izolatın düşük laktik asit üretme yeteneklerinden ya da homofermantatif veya heterofermantatif olmalarından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Tokatlı (2013), çalışmasında özellikle *L. plantarum* türlerinin 48 saatlik inkübasyon süresinde asit üretim hızlarının diğer türlerden belirgin bir şekilde yüksek olduğunu ve bunu *Pediococcus* türlerinin takip ettiğini, *L. buchneri* ve *L. brevis* olarak tanımlanan türlerin ise asit üretim hızlarının diğerlerine göre daha düşük olduğunu belirtmiştir.

Çalışmada izolatların laktik asit üretme yetenekleriyle birlikte MRS sıvı besiyerinde yaptıkları pH düşürme etkileri de incelenmiştir. İzolatların 72. saatteki pH düşürme oranlarının 2,09-2,56 birim arasında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). İzolatların zamana karşı asit üretme yeteneklerini inceleyen çalışmalarda, Δ pH değerlerinin 1-3,05 arasında olduğu tespit edilmiştir (Gardner vd., 2001; Di Cagno vd., 2008). Literatürde farklı besiyeri ortamının kullanımı ve farklı inokülasyon oranları sebebiyle izolatların asit üretim yeteneklerini kıyaslamamanın oldukça zor olduğu vurgulanmıştır (Gardner vd., 2001). Bu çalışmada izolatların laktik asit üretim yeteneklerinin belirlenmesinin, starter olarak kullanımları halinde genel asidifikasyon yeteneklerinin bilinmesi açısından önemli bir avantaj sağladığı düşünülmektedir.

4.2.2. %10 tuz ve pH 3 koşullarında gelişme özellikleri

Fermantasyonun gidişini yönlendiren ve son ürün kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden bir tanesi de tuz konsantrasyonudur. Düşük tuz konsantrasyonlarında (%5-8) fermantasyonun hızlı, yüksek tuz konsantrasyonlarında (%10 ve üzeri) ise yavaş olarak gerçekleşeceği veya hiç gerçekleşmeyeceği belirtilmiştir. Ayrıca tuz konsantrasyonunun fermantasyonda rol alan mikroorganizmaların faaliyetleri üzerine seçici bir etki gösterdiği bildirilmiştir (Aktan vd., 1998). Bu nedenle izolatların yüksek tuz ve asidik bir ortamda gelişme özellikleri endüstriyel açıdan

önemlidir. Bu amaçla yüksek laktik asit üretme yeteneğinde olan Çizelge 4.3'teki izolatların % 10 tuz oranında ve pH 3 ortamında gelişim yetenekleri incelenmiştir. Bu nedenle izolatların % 10 tuz ve pH 3 ortamlarında inkübasyon süreleri sonunda besiyeri pH'ları, laktik asit üretim miktarları (g/100 mL) belirlenmiş aynı zamanda 48 saatlik inkübasyon sonunda canlı sayımları (kob/mL) yapılarak sonuçlar, Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. İzolatların pH 3 ve % 10 tuz ortamlarında gelişim testleri

İzolat	pH 3'de gelişim					%10 tuzda gelişim				
	pH		% laktik asit		2. gün Sayım Sonucu	pH		% laktik asit		2. gün Sayım Sonucu
	2. gün	15. gün	2. gün	15. gün		2. gün	15. gün	2. gün	15. gün	
AK67	3,06	2,87	0,69	0,73	2,0x10 ⁸	5,3	3,89	0,31	0,34	2,2x10 ⁷
AK4	3,09	2,98	0,45	0,50	7,5x10 ⁷	5,62	5,08	0,26	0,24	1,0x10 ⁵
AK89	3,02	2,82	0,65	0,64	7,5x10 ⁷	3,90	3,86	0,71	0,86	8,5x10 ⁸
AK13	3,04	2,86	0,48	0,45	1,5x10 ⁸	5,63	5,49	0,26	0,14	0,5x10 ⁶
AK11	3,01	2,91	0,64	0,40	8,0x10 ⁷	5,66	5,43	0,26	0,23	1,0x10 ⁶
AK96	3,00	2,81	0,61	0,64	2,5x10 ⁸	3,86	3,56	0,60	1,14	6,5x10 ⁸
AK90	2,99	2,83	0,75	0,64	0,5x10 ⁸	3,91	3,64	0,74	1,05	4,5x10 ⁸
AK66	2,99	2,81	0,75	0,64	3,0x10 ⁸	5,61	5,47	0,41	0,26	4,2x10 ⁷
AK47	3,08	3,06	0,56	0,60	0,5x10 ⁶	5,64	5,51	0,25	0,06	7,0x10 ⁶
AK57	3,07	2,93	0,56	0,69	5,5x10 ⁷	5,13	5,13	0,47	0,28	1,0x10 ⁷
AK131	2,92	2,82	0,81	0,72	0,5x10 ⁸	5,53	5,46	0,50	0,14	6,0x10 ⁶
AK91	2,92	2,76	0,80	1,02	4,5x10 ⁸	3,81	3,77	0,76	0,95	2,0x10 ⁸
AK87	2,95	2,78	0,79	0,96	1,5x10 ⁸	3,84	4,16	0,79	0,69	7,5x10 ⁸
AK8	3,03	2,94	0,59	0,64	5,5x10 ⁷	5,65	5,48	0,38	0,95	0,5x10 ⁶
AK 94	2,99	2,8	0,80	0,85	3,0x10 ⁸	3,85	3,81	0,76	0,95	5,5x10 ⁸
AK25	3,06	2,98	0,68	0,96	6,0x10 ⁷	5,36	5,27	0,21	0,47	1,9x10 ⁷
AK114	3,06	3,09	0,58	0,50	2,0x10 ⁶	5,23	4,53	0,55	0,88	1,4x10 ⁷
AK95	3,01	2,94	0,90	0,73	9,5x10 ⁷	5,31	5,24	0,20	0,43	3,8x10 ⁷
AK2	2,56	2,58	1,23	0,59	3,5x10 ⁷	5,49	5,47	0,27	0,36	5,0x10 ²
AK80	2,87	2,89	1,01	0,97	4,0x10 ⁸	4,32	3,53	0,79	1,01	1,0x10 ⁸
AK44	2,84	2,90	1,04	0,96	1,5x10 ⁶	5,49	5,33	0,20	0,54	2,0x10 ³
AK93	2,94	2,95	1,05	1,06	2,0x10 ⁹	5,46	5,45	0,38	0,43	1,6x10 ⁶
AK12	2,96	2,95	0,98	0,89	5,0x10 ⁸	5,49	5,49	0,38	0,42	1,2x10 ⁶
AK3	2,97	3,07	0,99	0,57	2,0x10 ⁶	5,53	5,50	0,46	0,46	5,0x10 ⁶
AK33	2,99	3,05	0,93	0,56	9,0x10 ⁵	5,55	5,45	0,47	0,55	0,5x10 ³
AK14	2,99	2,99	0,97	0,86	5,5x10 ⁷	5,51	5,46	0,32	0,43	5,5x10 ³
AK35	3,02	2,93	0,90	0,72	1,0x10 ⁸	5,52	5,42	0,32	0,53	6,8x10 ⁶
AK105	2,99	2,92	0,85	0,75	2,1x10 ⁸	5,30	3,82	0,41	0,81	1,0x10 ⁸
AK92	2,92	2,94	1,06	0,73	6,0x10 ⁷	3,86	3,49	1,40	1,09	6,0x10 ⁸

Çizelge 4.4. İzolatların pH 3 ve % 10 tuz ortamlarında gelişim testleri (Devam)

İzolat	pH 3'de gelişim					%10 tuzda gelişim				
	pH		% laktik asit		2. gün Sayım Sonucu	pH		% laktik asit		2. gün Sayım Sonucu
	2. gün	15. gün	2. gün	15. gün		2. gün	15. gün	2. gün	15. gün	
AK40	2,96	3,02	1,03	0,58	2,1x10 ⁷	4,50	4,18	0,93	0,91	0,5x10 ⁷
AK72	2,98	2,97	0,95	0,87	5,0x10 ⁷	5,50	5,44	0,27	0,53	2,0x10 ⁵

%10 tuz ve pH 3 ortamlarında gelişebilen izolatlar metabolik faaliyetleri sonucunda sıvı besiyerinde laktik asit üretmekte ve buna bağlı olarak pH'larda belirli oranlarda düşüş gözlenmektedir. Dolayısıyla pH düşürme hızı ve üretilen laktik asit miktarları genel olarak değerlendirilerek izolatların bu ortamlardaki genel gelişme durumları belirlenmektedir. Buna göre genel olarak izolatların iki gün inkübasyon süreleri sonunda %10 tuz ve pH 3 ortamlarında gelişmeleri sonucunda besiyeri pH'larının azaldığı ve belirli oranlarda laktik asit ürettikleri belirlenmiştir. İnkübasyon süresinin ilerlemesiyle birlikte pH değerlerinde genel olarak azalmalar tespit edilirken bazı izolatlarda düşük seviyelerde de olsa pH değerlerinde artışlar tespit edilmiştir. Laktik asit miktarları ise inkübasyonun ilerlemesiyle birlikte genel olarak artmakla birlikte bazı izolatlarda düşük seviyelerde azalmıştır. İnkübasyon süresinin ilerlemesiyle bazı izolatlarda besiyeri pH'ları ve laktik asit miktarlarında görülen düşük seviyelerdeki artışların, besin miktarındaki azalmanın da etkisiyle canlılıklarını yitiren izolatların otolizi sonucu besiyeri ortamına salınan maddelerden ya da bazı izolatların besiyerlerindeki laktik asidi parçalayabilmiş olabilecekleri ile ilişkilendirilmiştir.

Çalışmada bazı izolatların %10 tuz ve pH 3 ortamlarında gelişim yeteneklerinin daha iyi olması nedeniyle, besiyerlerinde hızlı pH düşüşleri sağladığı ve daha yüksek oranda laktik asit ürettikleri tespit edilmiştir. %10 tuzlu ortamda iki gün inkübasyon sonunda en hızlı pH düşüşünün, AK 91 izolatı başta olmak üzere AK 94 ve AK 87 izolatlarında olduğu belirlenmiştir. En yüksek laktik asit üretimi AK 92 (%1,40) izolatında, en düşük asit üretimi ise AK 95 izolatında (%0,20) tespit edilmiştir. AK 114 izolatının, bazı izolatlara göre %10 tuz ortamında daha yüksek laktik asit üreterek daha iyi geliştiği dikkati çekmiştir (Çizelge 4.4). *Enterococcus* cinsi bakterilerin yüksek tuz konsantrasyonlarında geliştiği bilinmektedir (Tuncer, 2009).

Turşudan izole edilen enterokokların yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişebilen türlerinin belirlenmesi turşu endüstrisinde starter olarak kullanılabilmesi açısından bir avantaj olarak düşünülmektedir. pH 3 ortamında iki gün inkübasyon süresi sonunda en yüksek laktik asit üretimi ve en düşük pH değeri AK 2 (%1,23) izolatında tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

İzolatların % 10 tuz ve pH 3 ortamındaki gelişim durumlarının pH ve % laktik asit üretim miktarlarına göre incelenmesinin yetersiz olduğu düşünülerek, bu ortamdaki gelişimleri canlı sayımları yapılarak da incelenmiştir. Canlı sayım sonuçlarına göre, %10 tuz ortamında AK 89 ve AK 87'nin, pH 3 ortamında ise AK 12 ve AK 91'in en iyi gelişen izolatlar olduğu belirlenmiştir. Oval kok görünümündeki AK 114 izolatının ise %10 tuz ve pH 3 ortamlarında bazı izolatlardan daha iyi gelişebildiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Çizelge 4.4'teki pH, % laktik asit miktarları ve canlı sayım sonuçları genel olarak değerlendirilerek, %10 tuz ve pH 3 ortamlarında en iyi gelişen izolatlar belirlenmiş ve çalışmaya bu izolatlar ile devam edilmiştir.

Turşu fermentasyon ortamında laktik asit bakterilerinin hem tuz hem de pH açısından stres ortamına girdikleri ve bu koşullarda dayanımları yüksek olan izolatların turşu üretiminde kullanılmak üzere değerlendirilmesi gerektiği düşünülerek, %10 tuz içeren pH'sı 3'e ayarlanmış MRS sıvı besiyeri ortamında izolatların gelişimleri incelenmiştir. Yüzde 10 tuz içeren pH'sı 3'e ayarlanan MRS sıvı besiyeri ortamında canlı mikroorganizma sayım sonuçlarında çoğu mikroorganizmanın gelişememesi ve canlılıklarının önemli derecede azalmasından dolayı, izolatların %10 tuz içeren pH'sı 3,5 olan MRS sıvı besiyerindeki gelişimleri incelenmiş ve sonuçlar, Çizelge 4.5.'te verilmiştir.

İki gün inkübasyon süresi sonunda %10 tuz içeren pH'sı 3,5 olan ortamda AK 91 izolatı başta olmak üzere, AK 92, AK 94 ve AK 80 izolatlarının, diğer izolatlara göre hızlı pH düşüşü sağladıkları, yüksek oranda laktik asit ürettikleri ve mikroorganizma sayılarının da yüksek olması ile bu ortamda daha iyi geliştikleri belirlenmiştir. AK 2, AK 40 ve AK 44 izolatlarının ise bu ortamda gelişemedikleri canlı sayım sonuçlarında da görülmektedir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. %10 tuz içeren pH 3,5 ortamında gelişim testi sonuçları

İZOLAT	2.gün pH	2.gün % laktik asit miktarı	2. gün canlı sayım sonucu (kob/ml)	15.gün pH	15.gün % laktik asit miktarı
AK89	3,49	0,62	5,5x10 ³	3,48	0,46
AK96	3,52	1,32	2,5x10 ²	3,52	0,01
AK90	3,35	0,54	3,5x10 ²	3,50	0,12
AK91	3,22	0,64	6,0x10 ⁴	3,44	0,76
AK87	3,48	1,28	3,0x10 ³	3,48	0,02
AK94	3,21	0,41	6,5x10 ³	3,42	0,59
AK66	3,55	1,41	2,0x10 ¹	3,52	0,01
AK131	3,47	0,56	6,0x10 ¹	3,44	0,59
AK2	3,49	0,62	*	3,52	0,48
AK80	3,23	0,35	4,0x10 ³	3,38	0,65
AK44	3,49	0,66	*	3,49	0,48
AK93	3,51	1,37	3,0x10 ⁵	3,53	0,48
AK14	3,52	0,66	1,5x10 ³	3,50	0,69
AK92	3,17	0,62	5,0x10 ⁴	3,46	0,64
AK40	3,55	1,49	*	3,58	0,41
AK72	3,50	0,62	1,7x10 ⁵	3,52	0,46
AK114	3,49	0,61	1,4x10 ⁵	3,59	0,38

*:gelişim yok

İzolatların hem tuz hem de asitlik açısından gelişimlerini kısıtlayan %10 tuz içeren pH 3 ortamında ise gelişimlerinin önemli derecede azaldığı canlı sayım sonuçlarında tespit edilmiştir. Bu sonuç beklenen bir durumdur. Ancak yüksek stres ortamında izolatların gelişimlerinin ne derecede azaldığının belirlenmesi de en dirençli izolatların seçilerek, turşu fermantasyon ortamındaki yüksek tuz oranlarına (%5-10) dayanımlarının tahmin edilmesi açısından önemli bir değerlendirmedir. Yüksek tuz oranlarına dirençli olan izolatlar, fermantasyon başlangıcında sayıları azalsa da gelişimlerini sürdürebilecek ve laktik asit üreterek ortama hâkim olabilecektir. Fermantasyon ilerledikçe azalan pH'ya da belirli oranda direnç gösterebilen izolatlar, fermantasyon ortamına hâkim olarak baskın duruma gelebilecektir. Dolayısıyla turşu üretiminde starter olarak kullanılacak izolatların yüksek tuz ve düşük pH değerlerine toleransının önemli endüstriyel özellikler olduğu düşünülmektedir. Bu amaçla gerçekleştirilen deney sonuçlarının, yüksek tuz ortamında ve düşük pH değerlerinde

gelişebilen izolatların belirlenmesi açısından önemli katkıları olduğu düşünülmektedir.

Literatürde turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı tuz ve pH değerlerinde gelişimlerinin incelendiği çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda izolatların genel olarak düşük tuz oranları ve yüksek pH değerlerinde geliştiği, %8-12 tuz oranları gibi yüksek tuz oranları ve pH 2 ve pH 3 ortamları gibi düşük pH'larda ise gelişimlerinin azaldığı veya hiç gelişemedikleri belirlenmiştir (Karasu, 2006; Yıldız, 2010; Arslankoz, 2011; Tokatlı, 2013; Tokatlı vd., 2017; Monika vd., 2017; Çetin, 2017; Boricha vd., 2019; Başdoğan, 2020; Aktaş ve Çetin, 2022; Avunca vd., 2022;). İzolatların laktik asit bakterisi olması nedeni ile bu sonuçların beklentiler çerçevesinde olduğu görülmektedir. Çalışmalar değerlendirildiğinde, türlere ve suşlara bağlı olarak izolatların gelişimlerinin farklı seviyelerde olduğu görülmektedir. Ancak turşu izolatları arasında pH 3 ve %10 tuz ortamlarında zayıf gelişen ya da en iyi gelişen türün *L. plantarum* olarak belirlenmesi, bu türün aside ve tuza en dirençli olduğu hususundaki mevcut bilgileri (Aktan vd., 1998; Sanchez vd., 2000) desteklemektedir.

Ayrıca bu çalışmadaki *E. casseliflavus* izolatının, Arslankoz (2011)'un çalışmasındaki *E. casseliflavus* izolatından farklı olarak pH 3 ve % 10 tuzda gelişebildiği belirlenmiştir. Böylece bu çalışmada, turşulardan izole edilen enterokok izolatları arasında yüksek tuz ve düşük pH değerlerinde iyi gelişebilen izolatların belirlenmesi önemli bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmalarda çeşitli turşulardan izole edilen bazı *L. plantarum* izolatlarının, %10 tuzda gelişmediğini belirten çalışmalar (Yıldız, 2011; Aktaş ve Çetin, 2022; Avunca vd., 2022;) bulunmaktadır. Bu çalışmada ise, %10 tuz ve pH 3 gibi yüksek tuz ve düşük asitli koşullarda iyi gelişen izolatların belirlenmesi, turşu üretiminde tuza ve aside dirençli starter kültürlerin tespit edilmesi açısından önemli bir sonuçtur. Ayrıca izolatların turşu starter kültürü olarak seçilmesinde, yüksek tuz içeren düşük pH değerlerindeki turşu fermantasyon ortamlarına benzer olacak şekilde, %10 tuz içeren pH'sı 3,5 olan ortamdaki gelişimlerinin incelendiği bir uygulamaya

rastlanmamıştır. Bu çalışmada tuza ve aside dirençli izolatların belirlenmesi turşu üretiminde en iyi endüstriyel özellikte starter kültürlerin seçilmesi açısından önemlidir.

4.2.3. Antimikrobiyal ve antifungal etkileri

Laktik asit bakterilerinin, homofermantatif ve heterofermantatif metabolizmaları sonucu organik asit, hidrojen peroksit, karbon dioksit, diasetil, asetaldehit, etanol ve bakteriyosin gibi geniş spektrumlu antimikrobiyal bileşikler ürettikleri, ayrıca maya ve küfler üzerinde antifungal etki gösterdikleri bilinmektedir. Laktik asit bakterilerinin ürettikleri fermantasyon ürünleri, protein yapısındaki komponentler ve düşük molekül ağırlığındaki inhibitör bileşenlerin bazı maya ve küfler üzerinde antifungal etki gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca organik asitlerin pH'daki düşüş ve bunun sonucunda hücre sitoplazmasında asidifikasyona neden olarak antimikrobiyal etki gösterdikleri, düşük pH değerlerinde fazla miktarda laktik asidin birçok bakteri, küf ve maya için toksik etki gösterdiği belirtilmiştir (Yang, 2000).

Çalışmada starter kültür olarak seçilen izolatların bazı mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkileri, kuyucuk difüzyon yöntemine göre test edilerek (Tagg ve McGiven, 1971) oluşturdukları inhibisyon zonları ölçülmüştür. İzolatların nötralize olmayan süpernatantlarının antimikrobiyal aktivite sonuçları, Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite denemesi sonucunda, *L. plantarum* izolatlarının incelenen tüm mikroorganizmalara karşı 12-15 mm arası zon çapları ile antimikrobiyal etki gösterdikleri, *E. casseliflavus* izolatının ise *S. Enteritidis*'e karşı 14 mm ve *B. subtilis* ATCC 700699'a karşı 11 mm zon çapı ile antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. İzolatların antimikrobiyal etkileri (mm)

Mikroorganizma	<i>L. brevis</i> AK 72	<i>L. plantarum</i> AK 87	<i>L. plantarum</i> AK 91	<i>E. casseliflavus</i> AK 114
<i>M.luteus</i>	*	14,00	15,00	*
<i>L.monocytogenes</i>	*	12,00	12,00	*
<i>S. Enteritidis</i>	*	14,00	13,00	14,00
<i>B. subtilis</i> ATTC 6633	*	12,00	13,00	11,00
<i>S.aureus</i> ATTC 700699	*	12,00	12,00	*
<i>P. aeruginosa</i>	*	14,00	14,00	*
<i>E. coli</i>	*	12,00	12,00	*

*:zon yok, sonuçlara zon çapı dahildir

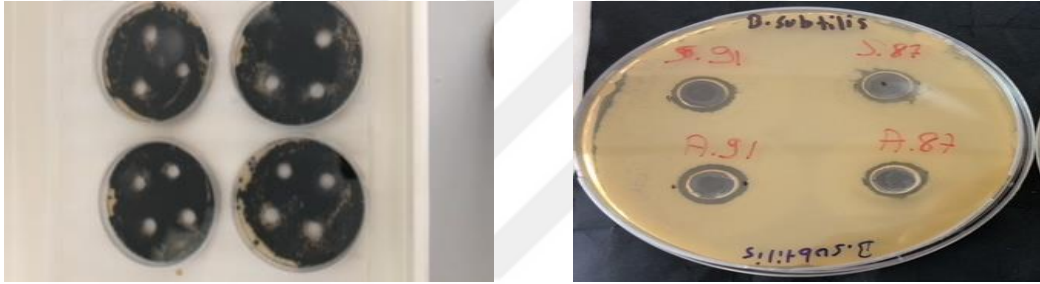
L. brevis izolatu ise mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Antimikrobiyal etki gösteren izolatların süpernatantları, 1 N NaOH ile nötralize edilerek antimikrobiyal etki denemesi tekrarlanmış ve antimikrobiyal etki elde edilememiştir. Bu durum genel olarak antimikrobiyal etkinin izolatların ürettikleri laktik asit gibi organik asitlerden kaynaklandığını göstermektedir. Çalışmada tüm patojenlere karşı antimikrobiyal etkinin elde edildiği *L. plantarum* izolatlarının, laktik asit üretimlerinin yüksek olması ve dolayısıyla fermantasyon ortamında hızlı pH düşüşü sağlayarak oluşturdıkları laktik asidin antimikrobiyal etkinliğini arttırdığı düşünülmektedir.

Turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin yaygın gıda patojenleri üzerinde antimikrobiyal etkilerinin incelendiği bazı çalışmalarda, bazı laktik asit bakterilerinin patojenlere karşı farklı seviyelerde antimikrobiyal etki gösterdiği belirtilirken, bazı patojenlere karşı antimikrobiyal etki elde edilmemiştir (Karasu, 2006; Çon ve Karasu, 2009; Arslankoz, 2011; Başdoğan, 2020).

Turşudan izole edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal etkilerinin incelendiği çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, türlere ve suşlara bağlı olarak antimikrobiyal etkinin değiştiği görülmektedir. Test edilen bütün patojenlere karşı sadece *L. plantarum* kültürlerinin antimikrobiyal etki göstermesi, antimikrobiyal aktiviteli

laktik asit bakterilerinin büyük çoğunluğunun *L. plantarum*'dan oluştuğunu belirten Arslankoz (2011)'un çalışma sonuçları ile uyum içerisindedir. Ayrıca *L. plantarum* suşlarının diğer türlere göre antimikrobiyal aktivite konusunda daha etkili olması ve bu etkinin asitlikten kaynaklanması durumu, Tokatlı (2013)'ün çalışma sonuçları ile uyumludur.

Çalışmada, antifungal etki denemesi sonucunda izolatların bazı maya ve küflere karşı (*C. albicans* ATTC 1023, *Saccharomyces* spp. ve *Penicillium* spp.) antifungal etki göstermediği belirlenmiştir. Şekil 4.1'de bazı izolatların *Penicillium* spp. ve *B. subtilis*'e karşı antifungal ve antimikrobiyal etki denemesi ile ilgili fotoğraflar verilmiştir.



Şekil 4.1. Bazı izolatların antimikrobiyal ve antifungal etkileri ile ilgili fotoğraflar

Turşudan izole edilen laktik asit bakterisi izolatlarının bazı maya ve küfler (*Candida* spp, *Geotrichum* spp., *Saccharomyces* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp.) üzerinde antifungal etkilerinin incelendiği çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Yıldız, 2011; Arslankoz, 2011; Tokatlı, 2013; Aktaş ve Çetin 2022). Bu çalışmalarda bazı izolatların antifungal etkiye sahip olduğu belirtilirken bazı çalışmalarda ise antifungal etkiye rastlanmamıştır. Bu çalışmada izolatların bazı maya ve küflere karşı antifungal etki göstermemesi, Tokatlı (2013) ve Arslankoz (2011) tarafından yapılan çalışmalara ait sonuçlar ile uyumludur.

Çalışmalarda farklı gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin çeşitli metabolitler üreterek antifungal etki gösterebildiği belirtilmiştir (Schnürer ve Magnusson, 2005). Laktik asit bakterisi suşlarının ürettiği antimikrobiyal ve antifungal bileşiklerin etkinliği, ortam koşullarına bağlı olarak değişebilmektedir. pH

5,0 seviyelerinde laktik asidin, sporlu bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiği ancak maya ve küflere karşı etkisiz olabileceği belirlenmiştir (Fitzgerald ve Caplice, 1999).

4.2.4. Biyojen amin üretim özellikleri

Biyojen aminler, gıdalarda bazı spesifik amino asitlerin dekarboksilasyonu veya aldehit ve keton gruplarının transaminasyonu ile oluşan azotlu bileşikler olup, gıdalardaki yüksek miktarlardaki varlığı, genellikle mikrobiyel gelişme ile açıklanmaktadır. Gıdalarda biyojen amin varlığı dekarboksilaz enzimi üretme yeteneğinde olan bazı mikroorganizmaların sayısı ile ortamdaki serbest aminoasit konsantrasyonu gibi faktörlere bağlıdır. Histidin, tirozin, triptofan ve fenilalaninden histamin, tiramin, triptamin ve feniletilamin oluşurken, ornitin ve lisinden putresin ve kadaverin oluşmaktadır (Turgut, 2006).

Fermente gıdalar ile içeceklerde bulunan biyojen aminler, fermente sebzelerde de belirlenmiştir (Karahan, 2003). Fermente ürünler içerisinde yaygın olarak tüketilen turşularda, biyojen amin oluşumunda hammadde, fermantasyon süresi, doğal flora ve katılan starter kültür gibi faktörlerin rol aldığı belirtilmiştir (Turgut, 2006). Doğal mikrofloradaki çeşitlilik ve kontrolsüz koşullarda gerçekleşen fermantasyonun biyojen amin düzeylerinde ve bileşiminde farklılıklara sebep olduğu için, biyojen amin içermeyen ürünlerin üretiminde alınması gereken tedbirler arasında, biyojen amin üretmeyen suşların starter kültür olarak kullanımı vurgulanmıştır (Karahan, 2003).

Gıda fermantasyonlarında kullanılan starter kültürlerin seçiminde, sadece laktik asit üretim miktarlarının göz önüne alınmaması, biyojen amin üretim yeteneklerinin de araştırılması gerekmektedir. Bu kapsamda starter kültür olarak seçilen izolatların turşularda yaygın olarak araştırılan bazı biyojen aminleri üretim özellikleri incelenmiş ve sonuçlar, Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. İzolatların biyojen amin üretim özellikleri

İZOLAT	ARJİNİN	TİROZİN	HİSTİDİN	LYSİN
<i>L.brevis</i> AK 72	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif
<i>L.plantarum</i> AK 87	Pozitif	Pozitif	Negatif	Negatif
<i>L.plantarum</i> AK 91	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
<i>E. casseliflavus</i> AK 114	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

Yapılan biyojen amin analizi sonucunda arjinin ve tirozinden sadece *L. brevis* ve *L. plantarum* (87) izolatlarının biyojen amin üretme özelliklerinin olduğu, tüm izolatların histidin ve lisinden biyojen amin üretmediği fenotipik olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Aminoasit dekarboksilaz enzimi bakteriler arasında çok yaygın bulunmamakla birlikte, *Lactobacillus* cinsi ve *Enterobacteriaceae* familyası üyesi bazı bakteriler ile enterokokların biyojen amin oluşturma yeteneğine sahip oldukları bildirilmiştir (Bover-Cid ve Holzapfel, 1999; Turgut, 2006). Bazı çalışmalarda ise fermente sebzelerden izole edilen *Lactobacillus* cinsi izolatların, biyojen amin üretme yeteneğinde olmadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Seseña vd., 2005; Tamang vd., 2009; Bevilacqua vd., 2010).

Turşulardan izole edilen laktik asit bakterisi suşlarının biyojen amin oluşturma özelliklerini inceleyen çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalardan Tokatlı vd. (2017)'nin çalışmalarında, geleneksel turşulardan izole ettikleri suşların, histidin, lizin ve tirozinden biyojen amin oluşturmadıkları belirtilmiş olup, bu sonuç sebze kaynaklı laktik asit bakterisi izolatlarının zayıf biyojen amin oluşturduğunu belirten çalışma sonuçlarını (Seseña vd., 2005; Tamang vd., 2009) desteklemektedir. Fermente sebzelerden izole edilen *Lactobacillus* cinsinin biyojen amin üretmeme özelliği, Bevilacqua vd. (2010)'nin çalışmalarında da belirtilmiştir.

Halasz vd. (1999), sauerkraut fermentasyonunda *L. plantarum*'un düşük düzeyde amin ürettiğini ve histidin dekarboksilaz enzim aktivitesine sahip olduğunu belirtirken, Turgut (2006), hıyar turşularında starter olarak kullandığı *L. plantarum* 11B'nin ürettiği toplam biyojen amin miktarını düşük seviyede tespit etmiştir. Bu

çalışmada, *L. brevis* izolatının arjinini dekarboksile etme yeteneği ile uyumlu olarak Tokatlı (2013), sadece arjinin içeren besiyerinde bazı *L. brevis* kültürleri ile *P. ethanolidurans* izolatlarından birinin biyojen amin oluşturabildiklerini belirlemiştir.

4.2.5. Antibiyotik dirençlilikleri

Çalışmada starter kültür olarak seçilen izolatların farklı etki mekanizmalarına sahip antibiyotik gruplarından hücre duvar ve sitoplazmik zar sentezini inhibe eden (Penisilin G (10 U), Metisilin (5 µg), Teikoplanin (300 µg), Basitrasin (0,04), Amoksisilin (10 µg), protein sentezini inhibe eden (Gentamisin (10 µg), Kloramfenikol (30 µg), Tetrasiklin (30 µg), Kanamisin (30 µg), Neomisin (30 µg), Streptomisin (10 µg), Eritromisin (15 µg), nükleik asit sentezini inhibe eden Rifampin (5 µg), hücre membran geçiş artışına neden olan Polimiksin B (300U) antibiyotiklerine karşı direnç durumları incelenmiştir.

Starter kültür olarak seçilen izolatların antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesinde, disk difüzyon metodu (Bauer vd., 1966) kullanılmış ve sonuçları dirençli (R) ve duyarlı (S) olarak Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Antibiyotik direnç sonuçlarına göre izolatların vankomisin, gentamisin, polimiksin, metisilin, teikoplanin, kanamisin, neomisin, streptomisin, basitrasin antibiyotiklerine karşı dirençli, eritromisin, rifampin, amoksilin, tetrasiklin ve kloramfenikol’e karşı duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca penisilin G’ye karşı sadece *E. casseliflavus* izolatı dirençli iken, diğer izolatların duyarlı oldukları belirlenmiştir. Genel olarak izolatların incelenen çoğu antibiyotiğe karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).

Turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnç durumlarını incelemiş birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmadaki sonuçlardan farklı olarak Karasu (2006), turşu ve zeytinden izole edilen *L. plantarum* ve *L. pentosus* suşlarının bir izolat dışında tümünün tetrasikline dirençli olduğunu, izolatların eritromisine karşı %75’inin, *L. pentosus* izolatlarının ise % 67’sinin dirençli olduğunu belirlemiştir.

Ayrıca tüm izolatların ampisilin, polimiksin B, gentamisin, basitrasin, streptomisin ve kanamisine dirençli olarak tespit edilmesi, bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile uyumludur.

Çizelge 4.8. İzolatların antibiyotik direnç durumları

ANTİBİYOTİK	<i>L. brevis</i> AK 72	<i>L. plantarum</i> AK 87	<i>L. plantarum</i> AK 91	<i>E. casseliflavus</i> AK 114
E	S	S	S	S
C	S	S	S	S
V	R	R	R	R
G	R	R	R	R
P	R	R	R	R
TEC	R	R	R	R
AML	S	S	S	S
M	R	R	R	R
R	S	S	S	S
TE	S	S	S	S
K	R	R	R	R
N	R	R	R	R
P	S	S	S	R
B	R	R	R	R
S	R	R	R	R

E: Eritromisin 15 µg, C: Kloramfenikol (30 µg), V: Vankomisin (30 µg), G: Gentamisin (10 µg), P: Polimiksin B (300 U), TEC: Teikoplanin (300 µg), A: Amoksisilin (10 µg), M: Metisilin (5 µg), R: Rifampin 5(µg), TE: Tetrasiklin 30 (µg), K: Kanamisin 30 (µg), N: Neomisin 30 (µg), P: Penisilin G (10 U), B: Basitrasin (B-0,04), S: Streptomisin (10 µg)

Başdoğan (2020), geleneksel turşulardan izole ettikleri laktik asit bakterisi izolatlarının hiçbirinin kanamisine direnç göstermediğini, 6 izolatın gentamisine, izolatların büyük çoğunluğunun ise kloramfenikol, amfisilin ve eritromisine karşı direnç gösterdiğini belirtmiştir. Direnç gösteren izolatlar arasında *L. plantarum* ve *L. brevis* olarak tanımlanan izolatların olması, bu çalışmadaki sonuçlar ile uyumludur.

İzolatların eritromisin, rifampin, amoksisilin, tetrasiklin ve kloramfenikol'e karşı duyarlı olmaları, Zeng vd., (2020)'nin ev yapımı Çin turşularından izole ettikleri *L. plantarum* izolatlarının antibiyotik dirençlilik sonuçları ile uyumludur. Aktaş ve Çetin (2022), turşudan izole ettikleri *L. brevis* ve *L. plantarum* izolatlarının, vankomisin hariç diğer antibiyotiklere karşı duyarlı olduğunu belirtmişlerdir.

Enterokokların genellikle sefalosporinler, bazı β -laktamlar, sülfonamidler ve oksasiline gibi yarı sentetik penisilinler dâhil olmak üzere birçok antibiyotiğe doğal olarak dirençli olduğu (Graham vd., 2020), ayrıca kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, rifampisin, ampisilin, vankomisin ve teikoplanin'e karşı antibiyotik direnci, aktarılabılır genetik materyaller aracılığı ile kazanabildiği bildirilmiştir (Foulquié Moreno vd., 2006). Ayrıca vankomisin ve teikoplanin gibi glikopeptit antibiyotik dirençlerinin, enterokoklarda yaygın olarak gözlemlendiği belirtilmiştir (Akpınar Kankaya vd., 2017).

Lactobacillus türlerinin penisilin ve ampisilin gibi pek çok hücre duvarı sentezi inhibitörüne ve protein sentezini inhibe eden kloramfenikol, eritromisin, klindamisin antibiyotiklerine karşı duyarlı oldukları, vankomisin ve tetrasikline karşı dirençli oldukları belirtilmiştir (Meral ve Korukluoğlu, 2014). Fermente gıdalardan elde edilen laktik asit bakterilerinin fenotipik ve genotipik dirençlerini araştıran bir çalışma, tüm suşların ampisilin, basitrasin ve sefsulodin'e duyarlı; nalidiksik asit, kanamisin ve vankomisine ise doğal olarak dirençli olduklarını göstermiştir (Nawaz vd., 2011).

Gerek turşudan izole edilen gerekse çeşitli fermente gıdalardan izole edilen laktik asit bakterileri türlerinde antibiyotik dirençliliğinin varlığı dikkati çekmektedir. Laktik asit bakterilerinin patojen olmamasına rağmen, antibiyotik direnç genlerini patojenlere aktarabildiği bildirilmiştir. Ayrıca gıdalarda doğal olarak bulunan ve fermente gıdalardan da izole edilen enterokokların direnç genlerini, gıda kaynaklı patojenlere veya gıda ortamlarında yaygın olarak bulunan laktik asit bakterilerine de transfer edebildikleri bildirilmiştir (Geniş, 2022). Benzer bir çalışmada laktik asit bakterilerinin bazı antibiyotiklere karşı doğal direnç sahibi olabildiği de belirtilmiştir (Meral ve Korukluoğlu, 2014).

4.3. Kornişon Turşusu Üretimlerinde Yıkama ve Isıl İşlem

Turşu üretiminde kullanılacak olan kornişonlar, topraktan ve çevre koşullarından gelen sporlu ve sporsuz bakteriler, maya ve küf, mezofilik aerobik bakteriler gibi

farklı mikroorganizma gruplarını içermektedir. Hammaddenin yapılarında doğal olarak sayıca az bulunan laktik asit bakterilerinin bu mikroorganizmalarla rekabet ortamında üstün gelmesi istenmekte ve bu durumun sonucu olarak turşu kalitesi de etkilenmektedir. Bu nedenle üretim öncesi kornişonlara, ısıtma işlemi uygulanmıştır. Yapılan bir çalışmada hıyarların iç sıcaklığı, 82.2 °C’de 2 dakikayı geçtiğinde, doku içi zararların başladığı belirtildiğinden (Fasina ve Fleming, 2001), yüksek sıcaklık ve uzun süre işlemlerinin hıyar tekstürüne zarar vermemesi için, ısıtma işlemleri, 80 °C’de gerçekleştirilmiştir. Yapılan ilk denemede (K1D) 80 °C’de 3 dk ısıtma işlemi uygulanmış ve bu ısıtma işlemin etkinliği yetersiz bulunarak sonraki üretimlerde (K2D ve K3D) 80 °C’de 5 dk ısıtma işlemi uygulanmıştır.

Denemelerde kornişonlara uygulanan yıkama ve ısıtma işlemleri sonrası mikroorganizma sayım sonuçları log (kob/mL), Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Yıkama ile mikrobiyal yükü kısmen azalan kornişonlarda ısıtma işlemi mikroorganizma sayılarında azalmaların olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.9). Çalışmada ısıtma işleminin enterobakterler başta olmak üzere diğer mikroorganizma gruplarında azalmalar sağladığı ancak çalışmada uygulanan 3 ve 5 dakikalık ısıtma işlemi süresinin, mikroorganizma gruplarındaki azalmaları önemli düzeyde etkilemediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.9. Kornişonların yıkama ve ısıtma işlemi sonrası mikroorganizma sayıları

	TMAB		MK		LAB		TE	
	Yıkama sonrası	Isıtma işlemi	Yıkama sonrası	Isıtma işlemi	Yıkama sonrası	Isıtma işlemi	Yıkama sonrası	Isıtma işlemi
K1D	8,87±0,12	6,01±0,09	7,77±0,01	6,00±0,00	8,24±0,33	5,47±0,24	7,73±0,00	3,95±0,05
K2D	6,01±0,34	4,70±0,57	3,92±0,03	2,95±0,00	5,00±0,00	3,23±0,34	4,00 ±0,00	2,00±0,00
K3D	4,28±0,00	<1,00±0,00	3,71±0,06	<1,00±0,00	5,86±0,02	3,60±0,43	4,92 ±0,00	<1,00±0,00

TMAB:toplam mezofilik aerobik bakteri, MK: maya ve küf, LAB:toplam laktik asit bakterisi, TE: toplam *Enterobacteriaceae* sayısı.

Kontrollü fermantasyonlarda starter kültür ilavesinden önce ısıtma işlemi ile hıyar fermantasyonlarında önemli bir sorun olan şişme zararının azaltıldığı ya da önleildiği, doğal olarak bulunan mikroorganizmaların baskılanabileceği bildirilmiştir (Etchells vd., 1964; Gates ve Costilow, 1981; McDonald vd., 1993; İç vd., 2001). Ayrıca hammaddelerin salamuraya yerleştirilmesinden önce yüzeyindeki istenmeyen mikroorganizmaları ve yumuşama yapan enzimleri inaktive etmek için ısıtma işlem uygulamalarının yapıldığı belirtilmiştir (Fasina ve Fleming, 2001). Breidt vd. (2000) yaptıkları çalışmada, 80 °C'de 15 saniye ısıtma işlem uygulaması ile hıyarlardaki toplam aerobik canlı sayımının 2-3 log azaldığını belirtmiştir.

4.4. Kornişon Turşusu Üretimlerinde Fermantasyon Sürecinde Meydana Gelen Kimyasal ve Mikrobiyolojik değişimler

4.4.1. Asitlik ve pH

Kornişon turşusu üretimlerinde laktik asit fermantasyonundaki ilerlemenin takip edilmesinde salamuralarda pH değerlerinin yanı sıra % laktik asit miktarları da belirlenmiştir. K1D, K2D ve K3D üretimleri için salamuralardaki % laktik asit miktarları sırasıyla Çizelge 4.10, 4.11 ve 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4. 10. K1D salamuralarındaki laktik asit miktarları (g/100 mL)

Gruplar	1.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	0,09±0,04 ^{Bc}	0,33±0,02 ^{Bab}	0,27±0,03 ^{Bab}	0,24±0,03 ^{Ab}	0,26±0,02 ^{Bab}	0,25±0,04 ^{Bb}	0,36±0,07 ^{Aa}
<i>L. brevis</i>	0,19±0,02 ^{Ac}	0,35±0,03 ^{Babc}	0,30±0,03 ^{Bbc}	0,26±0,03 ^{Abc}	0,37±0,13 ^{ABabc}	0,45±0,09 ^{ABab}	0,53±0,08 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 87	0,12±0,01 ^{ABb}	0,62±0,11 ^{Aa}	0,63±0,18 ^{Aa}	0,51±0,13 ^{Aab}	0,58±0,15 ^{Aa}	0,56±0,17 ^{Aa}	0,60±0,20 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 91	0,13±0,04 ^{ABc}	0,60±0,06 ^{Aa}	0,60±0,04 ^{Aa}	0,46±0,03 ^{Ab}	0,52±0,04 ^{Aab}	0,55±0,03 ^{Aab}	0,56±0,05 ^{Aab}
<i>E. casseliflavus</i>	0,12±0,02 ^{ABd}	0,26±0,02 ^{Bbcd}	0,23±0,05 ^{Bcd}	0,34±0,20 ^{ABcd}	0,46±0,08 ^{ABab}	0,48±0,06 ^{ABab}	0,52±0,06 ^{Aa}
Karışık	0,17±0,04 ^{ABb}	0,57±0,02 ^{Aa}	0,56±0,03 ^{Aa}	0,48±0,04 ^{Aa}	0,56±0,04 ^{Aa}	0,47±0,06 ^{ABa}	0,54±0,02 ^{Aa}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K1D üretiminde fermantasyonun 1. gününde salamuraların titrasyon asitlikleri % 0,09-0,17 arasında değişmiştir. Kontrol grubunda asitlik gelişiminin diğer gruplara göre yavaş olduğu belirlenmiştir. Bu gruplarda 30. günde ulaşılan en yüksek laktik asit üretimine (%0,36), *L. brevis*, *L. plantarum* ve karışık kültür gruplarında 1-7. gün arasında ulaşılmış olup, *E. casseliflavus* kültür gruplarında 14. günde ulaşılmıştır. 1-7. günlerde *L. plantarum* grupları ile karışık kültür gruplarında, diğer gruplara göre daha hızlı ve daha yüksek miktarlarda (%0,60-0,62) laktik asit tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu gruplarda 7. günde elde edilen yüksek laktik asit miktarları, 30. güne kadar önemli oranda değişmemiştir (Çizelge 4.10). Çalışmada laktik asit üretimleri açısından *L. plantarum* kültürleri başta olmak üzere karışık kültür kullanımının oldukça etkili olduğu, bunu diğer starter kültürlerin takip ettiği belirlenmiştir. Dolayısıyla karışık kültür gruplarında elde edilen yüksek laktik asit miktarına, *L. plantarum* kültürlerinin daha fazla etki ettiği düşünülmektedir. Ayrıca salamuralardaki laktik asit miktarları ile pH değerleri (Çizelge 4.13) incelendiğinde, laktik asit fermantasyonunun kontrollü şekilde ilerlediği belirlenmiştir.

K2D üretiminde fermantasyonun 1. gününde grupların laktik asit miktarları, 0,12-0,17 g/100 mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. K2D salamuralarındaki laktik asit miktarları (g/100 mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	0,17±0,04 ^{Ab}	0,28±0,06 ^{Dab}	0,33±0,03 ^{Cab}	0,42±0,06 ^{Bab}	0,43±0,10 ^{Bab}	0,35±0,08 ^{Dab}	0,44±0,08 ^{Cab}	0,46±0,21 ^{Ba}
<i>L. brevis</i>	0,15±0,04 ^{Ae}	0,42±0,01 ^{BCcd}	0,54±0,08 ^{ABCbc}	0,53±0,03 ^{ABbc}	0,49±0,01 ^{Bbcd}	0,40±0,01 ^{CDd}	0,56±0,01 ^{BCb}	0,71±0,06 ^{ABa}
<i>L. plantarum</i> AK 87	0,17±0,03 ^{Ad}	0,54±0,01 ^{Ac}	0,75±0,06 ^{Aab}	0,82±0,01 ^{Aa}	0,81±0,02 ^{Aa}	0,82±0,01 ^{ABb}	0,85±0,09 ^{Aa}	0,79±0,01 ^{Aab}
<i>L. plantarum</i> AK 91	0,12±0,01 ^{Ae}	0,49±0,04 ^{ABd}	0,67±0,05 ^{ABC}	0,83±0,05 ^{Aab}	0,82±0,02 ^{Aab}	0,83±0,01 ^{Abc}	0,89±0,03 ^{Aa}	0,80±0,10 ^{Aabc}
<i>E. casseliflavus</i>	0,17±0,03 ^{Ac}	0,24±0,02 ^{Dbc}	0,34±0,23 ^{Cabc}	0,41±0,27 ^{Babc}	0,42±0,25 ^{Babc}	0,44±0,12 ^{CDabc}	0,66±0,04 ^{Bab}	0,72±0,14 ^{ABa}
Karışık	0,13±0,02 ^{Ad}	0,39±0,02 ^{Cc}	0,41±0,03 ^{BCc}	0,61±0,06 ^{ABab}	0,56±0,03 ^{ABb}	0,54±0,01 ^{BCb}	0,58±0,02 ^{BCb}	0,67±0,02 ^{ABa}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$)

Kontrol gruplarında en yüksek laktik asit değerine (%0,46) 30. günde ulaşılmış olup, laktik asit üretim hızının diğer gruplara göre daha yavaş olduğu belirlenmiştir. Laktik asit fermantasyonunun başlamasıyla birlikte 1-4. günler arasında salamuraların laktik asit miktarlarının önemli düzeyde arttığı, en hızlı artışın *L. plantarum* gruplarında olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). En yüksek laktik asit miktarlarının, sırasıyla *L. plantarum* AK 91 gruplarında (% 0,89) ve *L. plantarum* AK 87 gruplarında 20. günde (%0,85) belirlenmesi (Çizelge 4.11), kültürlerin yüksek asit üretme yetenekleri ile ilişkilendirilmiştir. *L. brevis*, *E. casseliflavus* ve karışık kültür gruplarında ise daha düşük laktik asit miktarları belirlenmiş olup, sonuçlar salamuraların pH sonuçları ile uyumludur (Çizelge 4.14). Karışık kültür gruplarının, *L. plantarum* gruplarına göre daha düşük miktarda laktik asit ürettikleri belirlenmiş, bu durum karışık kültür kullanımında kültürlerin organik asitler dışında farklı metabolitler de üretmelerine bağlanmıştır.

Çalışmada starter kültürlerin kullanımı ile kontrol gruplarına göre daha yüksek laktik asit miktarları belirlenmiş olup, bu noktada *L. plantarum* starter kültürlerinin kullanımının, diğer gruplara göre daha yüksek laktik asit miktarı ve daha düşük pH değerine ulaşmada oldukça etkili oldukları tespit edilmiştir. *L. plantarum* kültürlerinin yüksek laktik asit üretici kültürler olduğu ve asitliğe direnç göstererek fermantasyonu tamamlayan kültürler olduğu bilinmektedir. *L. brevis* kültürünün zorunlu heterofermantatif olması, *E. casseliflavus* kültürünün homofermantatif olması, aynı zamanda daha düşük oranda laktik asit üretme özelliklerinin belirlenmiş olması dolayısıyla, *L. plantarum* gruplarına göre daha düşük laktik asit üretmeleri beklenen bir sonuç olarak karşımıza çıkmıştır.

K3D üretiminde fermantasyonun 1. gününde grupların laktik asit miktarları, %0,27-0,30 arasında belirlenmiş ve 30. güne kadar laktik asit fermantasyonun bir sonucu olarak laktik asit miktarları artmıştır (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. K3D salamuralarındaki laktik asit miktarları (g/100 mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	0,30±0,02 ^{Ac}	0,31±0,04 ^{Cc}	0,56±0,21 ^{ABb}	0,70±0,02 ^{Bc}	0,67±0,07 ^{Bab}	0,68±0,01 ^{ABab}	0,70±0,01 ^{BCa}	0,70±0,01 ^{Bab}
<i>L. brevis</i>	0,29±0,02 ^{ABe}	0,52±0,02 ^{Ad}	0,72±0,00 ^{ABab}	0,68±0,00 ^{Bd}	0,68±0,03 ^{Bbc}	0,73±0,01 ^{ABc}	0,75±0,07 ^{Ca}	0,75±0,01 ^{Ba}
<i>L. plantarum</i> AK 87	0,29±0,01 ^{ABc}	0,45±0,08 ^{ABc}	0,76±0,02 ^{Aab}	0,81±0,04 ^{Aab}	0,72±0,02 ^{Bb}	0,81±0,16 ^{Aab}	0,92±0,12 ^{Aa}	0,90±0,14 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 91	0,29±0,02 ^{ABe}	0,44±0,07 ^{ABde}	0,52±0,18 ^{Bcd}	0,55±0,23 ^{Aa}	0,64±0,06 ^{Bbc}	0,60±0,11 ^{ABbcd}	0,70±0,07 ^{Cab}	0,76±0,01 ^{Bab}
<i>E. casseliflavus</i>	0,27±0,01 ^{Bc}	0,39±0,04 ^{BCbc}	0,63±0,00 ^{ABab}	0,70±0,02 ^{Babc}	0,71±0,03 ^{Ba}	0,62±0,01 ^{Babc}	0,74±0,01 ^{Ca}	0,69±0,03 ^{Ba}
Karışık	0,28±0,01 ^{ABd}	0,44±0,02 ^{ABc}	0,70±0,00 ^{ABb}	0,89±0,00 ^{ABb}	0,89±0,07 ^{Aa}	0,80±0,10 ^{Cd}	0,89±0,06 ^{ABa}	0,87±0,10 ^{ABa}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Kontrol gruplarında 11. günde belirlenen en yüksek laktik asit miktarı (%0,70), bu günden itibaren sabit değerlerde devam etmiştir. *L. plantarum* AK 87 ve karışık kültür gruplarında, 11. günden itibaren diğer gruplara göre daha yüksek laktik asit miktarları (%0,72-0,92) belirlenmiştir. Çalışmada *L. plantarum* AK 87 ve karışık kültürlerin kullanımının salamurada yüksek laktik asit miktarlarına ulaşmada daha etkili oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Kornişon turşusu üretimlerinde salamuralardaki % laktik asit miktarları genel olarak değerlendirildiğinde, starter kültürlerin kullanımı ile kontrol gruplarına göre salamuralarda daha yüksek asitlik değerlerinin kısa sürede elde edildiği belirlenmiştir. Starter kültür gruplarından *L. plantarum* kültürleri başta olmak üzere karışık kültür kullanımının diğer starter kültürlerle göre salamurada daha yüksek laktik asit miktarının elde edilmesinde oldukça etkili oldukları belirlenmiştir. Bu durum *L. plantarum* kültürlerinin homofermantatif olması ve yüksek asit üretimleri ile ilişkilendirilmektedir. Karışık kültür gruplarındaki bu etkinin, *L. plantarum* kültürlerinin karışık kültür içerisinde oran olarak fazla bulunmaları ile ilişkilendirilmiştir. *L. brevis* kültürünün zorunlu heterofermantatif, *E. casseliflavus* kültürünün ise daha düşük asit üretme yeteneğinde olması ile salamuralardaki laktik asit miktarlarından elde edilen veriler, beklenen bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Starter kültürler ile kontrollü fermantasyonun gerçekleştirildiği bu çalışmada, 10^6 (kob/ml) inokülasyon oranında starter kültürlerin fermantasyondaki etkilerini yeterince gösteremedikleri pH ve laktik asit miktarlarından da görülmektedir. Bu nedenle 10^4 (kob/mL) inokülasyon oranı ile kültürlerin fermantasyon ortamına daha çok hakim olarak, metabolik faaliyetleri sonucunda daha yüksek laktik asit üreterek kontrollü fermantasyon gerçekleştirdikleri belirlenmiştir.

Çalışmada starter kültürlerin kullanımı ile salamurada yüksek laktik asit miktarlarının elde edilmesi, Çetin (2011), Tokatlı (2013), Nilchian vd. (2016), Tokatlı vd. (2019), Alan (2019) ile Alan ve Yıldız (2020)'in çalışma sonuçları ile uyumludur. Starter kültürlerin kullanıldığı söz konusu çalışmalarda, salamuralardaki laktik asit miktarlarının farklılığı, starter kültürlerin asit üretim yetenekleri, inokülasyon oranları ve üretimde kullanılan salamura içeriklerinin (tuz oranı, asitlendirici içerip içermemesi gibi) farklı olması ile ilişkilendirilmiştir.

Turşu üretimlerinde *L. plantarum* kültürlerinin yüksek asit üreticisi mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada da *L. plantarum* kültürleri kullanımının turşu fermantasyonunda salamuralardaki laktik asit miktarlarının arttırılmasında oldukça etkili oldukları belirlenmiştir. Starter kültür olarak *L. plantarum* kültürleri kullanan çalışmalarda laktik asit miktarlarının farklı olmasında, kültürlerin önemli endüstriyel özelliklerinden biri olan asit üretme hızları ve yetenekleri ile inokülasyon oranlarının farklı olmasının etkili oldukları belirlenmiştir. K2D ve K3D üretimlerinde *L. plantarum* gruplarında, Tokatlı (2013), Tokatlı vd. (2019)'nın çalışmalarında daha yüksek inokülasyon oranındaki *L. plantarum* gruplarından daha yüksek laktik asit miktarlarının belirlenmesi, *L. plantarum* (AK 87 ve AK 91) kültürlerinin oldukça etkili starter kültürler olduklarını düşündürmektedir. Benzer inokülasyon oranındaki Suresh (2008)'in çalışmasında ise *L. plantarum* gruplarında daha düşük laktik asit miktarlarının belirlenmesi, bu görüşü destekler niteliktedir.

Sebze fermantasyonlarında laktik asit üretimi ile pH değerleri azalmakta ve 3,5 gibi oldukça düşük pH değerlerine ulaşabilmektedir. Çalışmadan elde edilen veriler,

turşu üretimlerinde starter kültürlerin kullanımının salamuralardaki laktik asit miktarlarının arttırılarak, fermentasyonun kontrollü şekilde ilerlemesini sağladığını belirtmektedir.

Ön işlemleri tamamlanan kornişonların salamuraya yerleştirilmesiyle birlikte laktik asit fermentasyonu başlamaktadır. Turşu salamuralarında öncelikle laktik asit bakterileri olmak üzere ısıl işlem sonrası kalan bazı mikroorganizmaların yaptıkları faaliyetlerin sonucunda salamura pH'larında değişimler meydana gelmiştir. Salamuralardan belirli günlerde alınan örneklerde fermentasyonun gidişatı ve starter kültürlerin etkinliğini belirten pH değerleri izlenmiş ve üç ayrı denemeye ait sonuçlar, Çizelge 4.13, 4.14 ve 4.15'te verilmiştir.

K1D üretiminde fermentasyonun 1. gününde salamuralarda 4,22-5,24 aralığında pH değerleri tespit edilmiştir. 1-7. günler arasında mikrobiyal faaliyetlere bağlı olarak salamuraların pH değerlerinde azalmalar gözlenmiş, 7. günden itibaren ise sabit pH değerlerine ulaşılmıştır. Kontrol gruplarında, starter kültür gruplarına göre daha yüksek pH değerleri tespit edilmiş olup, 4 ve üzeri pH değerleri, 30. güne kadar devam etmiştir. Kontrol gruplarındaki en düşük pH değerlerine, *L. plantarum* ve karışık kültür gruplarında 7. günde ulaşılması, starter kültür kullanımı ile laktik asit bakterilerinin fermentasyon ortamına daha çabuk hakim olmalarının sağlandığını ve fermentasyonunun hızlandığını göstermiştir (Çizelge 4.13).

Fermentasyonun 1-7. günleri arasında *L. plantarum* grupları başta olmak üzere karışık kültür gruplarında hızlı pH düşüşleri tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.13). *L. brevis* ve *E. casseliflavus* kültürlerinin kullanımının, diğer starter kültür gruplarına göre pH'nın hızlı düşüşünü sağlamada yetersiz kalması, laktik asit üretim miktarları ve hızlarının diğer kültürlere göre düşük olmasının bir sonucu olarak görülmüştür. Karışık kültür gruplarındaki pH düşüşünde, *L. plantarum* kültürlerinin önemli etkilerinin olduğu düşünülmektedir. Çalışmadan elde edilen veriler, turşu fermentasyonunda, *L. plantarum* kültürleri ve karışık kültür kullanımının pH'yı diğer starter kültürlere göre daha hızlı düşürmeleri ile fermentasyon başlangıcında oldukça etkili olduklarını belirtmektedir.

Çizelge 4.13. K1D salamuralarında pH değerleri

Gruplar	1.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	5,24±0,1 ^{Aa}	4,20±0,13 ^{Ab}	4,15±0,11 ^{Ab}	4,15±0,11 ^{Ab}	4,15±0,10 ^{Ab}	4,18±0,15 ^{Ab}	4,11±0,19 ^{Ab}
<i>L. brevis</i>	4,22±0,09 ^{Ca}	3,96±0,03 ^{Aab}	3,94±0,08 ^{ABab}	3,94±0,10 ^{ABab}	3,81±0,26 ^{ABbc}	3,61±0,19 ^{Bbc}	3,54±0,11 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 87	5,05±0,23 ^{ABa}	3,51±0,19 ^{Bb}	3,52±0,23 ^{Cb}	3,52±0,22 ^{Bb}	3,51±0,22 ^{Bb}	3,52±0,23 ^{Bb}	3,53±0,27 ^{Bb}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,12±0,45 ^{ABa}	3,53±0,08 ^{Bb}	3,54±0,09 ^{Bcb}	3,56±0,11 ^{Bb}	3,55±0,09 ^{Bb}	3,55±0,10 ^{Bb}	3,55±0,12 ^{Bb}
<i>E. casseliflavus</i>	4,48±0,12 ^{BCa}	4,30±0,18 ^{Aa}	4,18±0,23 ^{ABab}	3,91±0,38 ^{ABab}	3,66±0,16 ^{Bb}	3,61±0,13 ^{Bb}	3,62±0,13 ^{Bb}
Karışık	4,52±0,35 ^{BCa}	3,59±0,02 ^{Bb}	3,52±0,04 ^{Cb}	3,55±0,05 ^{Bb}	3,54±0,04 ^{Bb}	3,51±0,05 ^{Bb}	3,51±0,04 ^{Bb}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K2D üretiminde fermentasyonun 1. gününde salamuraların pH değerleri, 5,08-5,64 aralığında belirlenmiştir. 1-4. günler arasında salamura pH'larında hızlı azalmalar tespit edilirken, 7. günden itibaren sabit pH değerlerine ulaşıldığı belirlenmiştir. Kontrol gruplarındaki pH azalması, starter kültür gruplarına göre oldukça yavaş gerçekleşmiş olup, 20. günde ulaşılan en düşük pH değerine (3,63), *L. plantarum* gruplarında 4. günden itibaren ulaşılmıştır. Starter kültür gruplarının 4. günden itibaren pH'yı hızlı bir şekilde düşürdükleri belirlenmiştir (p<0,05) (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. K2D salamuralarında pH değerleri

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	5,42±0,22 ^{Aa}	4,47±0,09 ^{Ab}	4,37±0,06 ^{Ab}	4,20±0,12 ^{Abc}	4,07±0,02 ^{Abcd}	4,05±0,03 ^{Abcd}	3,63±0,28 ^{Ad}	3,87±0,29 ^{AcD}
<i>L. brevis</i>	5,08±0,10 ^{Aa}	4,01±0,01 ^{BCb}	3,87±0,03 ^{Bbc}	3,88±0,06 ^{ABbc}	3,88±0,02 ^{ABbc}	3,86±0,03 ^{ABbc}	3,73±0,11 ^{ABc}	3,48±0,03 ^{Bd}
<i>L. plantarum</i> AK 87	5,13±0,25 ^{Aa}	3,60±0,03 ^{Db}	3,39±0,06 ^{Cbc}	3,35±0,01 ^{Cc}	3,33±0,02 ^{Cc}	3,33±0,01 ^{Dc}	3,28±0,01 ^{Bc}	3,35±0,02 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,21±0,29 ^{Aa}	3,68±0,09 ^{Db}	3,38±0,02 ^{Cbc}	3,31±0,03 ^{Cc}	3,28±0,01 ^{Cc}	3,29±0,01 ^{Dc}	3,24±0,00 ^{Bc}	3,32±0,02 ^{Bc}
<i>E. casseliflavus</i>	5,38±0,34 ^{Aa}	4,22±0,15 ^{Bb}	3,94±0,27 ^{Bb}	3,92±0,36 ^{ABb}	3,84±0,33 ^{ABb}	3,72±0,22 ^{BCb}	3,49±0,26 ^{ABb}	3,47±0,16 ^{Bb}
Karışık	5,64±0,12 ^{Aa}	4,22±0,15 ^{Cb}	3,94±0,27 ^{Bc}	3,92±0,36 ^{BCcd}	3,51±0,02 ^{BCde}	3,72±0,22 ^{CDde}	3,49±0,02 ^{ABe}	3,52±0,02 ^{ABde}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

En yüksek pH değerleri kontrol gruplarında belirlenirken, en düşük pH değerleri, *L. plantarum* kültürleri başta olmak üzere karışık kültür gruplarında belirlenmiştir. En düşük pH değeri (3,24), *L. plantarum* AK 91 kültür grubunda 20. günde belirlenmiştir (Çizelge 4.14). Çalışmada liyofilize starter kültürlerin kullanımının, salamura da düşük pH değerlerine kısa sürede ulaşmada kontrol gruplarına göre oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Bu etkinin *L. plantarum* kültürleri başta olmak üzere karışık kültür gruplarında daha belirgin olması, kültürlerin hızlı asit üretme yetenekleri ile ilişkilendirilmiştir (Çizelge 4.11). *L. brevis* kültürünün zorunlu heterofermantatif, *E. casseliflavus* kültürünün ise daha düşük asit üretme yeteneğinde olması nedeniyle düşük pH değerlerine kısa sürede ulaşmada, *L. plantarum* kültürleri kadar etkili olmamaları beklenen bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

K3D üretiminde salamura ya katılan %0,35 oranında sitrik asitin etkisiyle fermantasyonun 1. gününde pH değerlerinin, 3,78-4,05 aralığında oldukları belirlenmiştir. Laktik asit fermantasyonun başlamasıyla birlikte salamuraların pH değerlerinde önemli düzeylerde azalmalar belirlenmiştir ($p<0.05$). pH değerlerinin kontrol gruplarında 11. günden, *L. brevis*, *L. plantarum* AK 87, *E. casseliflavus* ve karışık kültür gruplarında 7. günden, *L. plantarum* AK 91 kültür gruplarında ise 14. günden itibaren sabit değerlerde olduğu belirlenmiştir. (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. K3D salamuralarında pH değerleri

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	3,78±0,08 ^{Ca}	3,87±0,02 ^{Aa}	3,65±0,31 ^{ABab}	3,45±0,08 ^{ABbc}	3,41±0,02 ^{ABc}	3,42±0,03 ^{ABc}	3,42±0,04 ^{ABc}	3,44±0,04 ^{ABc}
<i>L. brevis</i>	3,90±0,06 ^{Bab}	4,17±0,84 ^{Aa}	3,41±0,01 ^{ABCb}	3,38±0,01 ^{ABb}	3,38±0,01 ^{ABb}	3,41±0,01 ^{Ab}	3,41±0,01 ^{Ab}	3,41±0,01 ^{Ab}
<i>L. plantarum</i> AK 87	3,87±0,04 ^{BCa}	3,70±0,01 ^{Ab}	3,29±0,05 ^{BCC}	3,24±0,05 ^{Bc}	3,33±0,03 ^{BCC}	3,23±0,11 ^{Bc}	3,22±0,10 ^{Bc}	3,21±0,08 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	3,93±0,02 ^{Ba}	3,62±0,09 ^{Aab}	3,67±0,35 ^{Aab}	3,62±0,38 ^{Aab}	3,48±0,15 ^{Ab}	3,49±0,13 ^{Ab}	3,43±0,06 ^{Ab}	3,43±0,06 ^{Ab}
<i>E. casseliflavus</i>	4,05±0,06 ^{Aa}	3,75±0,00 ^{Ab}	3,41±0,01 ^{ABCb}	3,35±0,01 ^{ABd}	3,39±0,01 ^{ABcd}	3,41±0,01 ^{Ac}	3,41±0,01 ^{Ac}	3,42±0,03 ^{Ac}
Karışık	3,94±0,06 ^{ABa}	3,60±0,05 ^{Ab}	3,26±0,00 ^{Cc}	3,19±0,01 ^{Bc}	3,21±0,03 ^{Cc}	3,22±0,05 ^{Bc}	3,23±0,05 ^{Bc}	3,24±0,06 ^{Bc}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

Starter kültür gruplarında pH'nın 1. günde kontrol gruplarına göre daha hızlı düşüş göstermesi, starter kültürlerin etkilerini hızlı bir şekilde gösterebildiklerini belirtmiştir. 1-7. günler arasında en düşük pH değerleri, karışık kültür gruplarında ve *L. plantarum* gruplarında tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). Böylece bu starter kültürlerin kullanımı ile oldukça düşük pH değerlerine kısa sürede ulaşıldığı ve fermantasyonun gidişatı açısından önemli etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Kornişon turşusu üretimlerindeki salamuraların pH değerleri genel olarak değerlendirildiğinde, starter kültürlerin kullanımı ile salamuralarda daha düşük pH değerlerine kısa sürede ulaşılması ile laktik asit fermantasyonunun kontrollü bir şekilde ilerlemesi sağlanmıştır. K1D üretiminde starter kültürlerin kullanımı ile 3,5 pH değerlerine ulaşılmış ancak K2D ve K3D üretimi turşu salamuralarında düşük pH değerlerine daha kısa sürede ulaşılmıştır. Starter kültürlerin K1D üretiminde 10^6 kob/ml inokülasyon oranına sahip olmalarına karşın 10^4 inokülasyon oranına göre ortama yeterince hakim olamamış ve etkileri daha düşük seviyelerde kalmıştır. Bu nedenle K2D ve K3D üretimlerinde daha düşük inokülasyon oranı uygulanmış ve salamura pH değerleri bakımından daha etkili sonuçlar elde edilmiştir. Starter kültür grupları arasında *L. plantarum* kültürleri ile karışık kültürlerin kullanımının, daha yüksek laktik asit üretimi özellikleri nedeniyle diğer kültürlerden daha etkili oldukları belirlenmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, turşu üretimlerinde starter kültür kullanımı ile salamura pH'larını belirli bir güne kadar önemli düzeyde azaldığını belirten Çetin (2011), Tokatlı (2013), Nilchian vd. (2016), Alan (2019), Tokatlı vd. (2019), Alan ve Yıldız (2020)'in çalışma sonuçları ile uyumludur. Bu çalışmalarda asetik asit, sirke, CaCl_2 , glikoz gibi bileşenler içeren salamuralarda yaklaşık 10^6 - 10^7 kob/mL inokülasyon oranında üretimler gerçekleştirilmiş, bu çalışmaya yakın ya da yüksek pH değerleri belirlenmiştir. Salamuralardaki pH değerlerinin farklılığında, üretimlerde kullanılan starter kültürlerin laktik asit üretim yetenekleri, inokülasyon oranları, salamura içeriği gibi faktörlerin etkisinin olduğu düşünülmektedir. Söz konusu çalışmalarda, *L. plantarum* kültürlerinin salamuralarda hızlı pH düşüşü sağlamaları, çalışma sonuçlarımız ile uyumlu olup, starter kültürlerin farklı

endüstriyel özellikleri dolayısıyla salamura pH'larındaki etkilerinin farklılık gösterebildiği düşünülmektedir.

K2D üretiminde *L. plantarum* gruplarındaki düşük pH değerlerinin, Tokatlı (2013), Tokatlı vd. (2019)'nın çalışmalarındaki karışık kültür gruplarında elde edilmiş olması, *L. plantarum* AK 87 ve AK 91 starter kültürlerinin tek başına kullanım durumlarında bile etkili olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle daha düşük inokülasyon oranında starter kültürün seçimi ile karışık kültür kullanmadan salamura pH'larının benzer değerlere düşürülebileceği belirlenmiştir. Daha yüksek inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürleri ile gerçekleştirilen Özçelik ve Ulu (2002) ile Turgut (2006)'un çalışmalarında, benzer ya da daha yüksek pH değerlerinin belirlenmiş olması, başlangıç salamura pH değerleri daha yüksek olmasına rağmen, *L. plantarum* (AK 87 ve AK 91) kültürlerinin yüksek asit üretim yetenekleri ile etkilerini düşük inokülasyon oranında gösterebildiğini belirtmektedir. Benzer sonuçlar, aynı inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürleri inoküle edilen Suresh (2008)'in çalışmasında da elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, turşu üretiminde yüksek asit üretme yeteneğindeki *L. plantarum* AK 87 ve AK 91 kültürleri kullanımının fermentasyon ortamına hakim olarak etkilerini gösterebilmeleri bakımından önemli bulunmuştur. Özçelik vd. (1998) ile İç vd. (2001)'in çalışmalarında denge noktasında farklı oranlarda tuz ve Ca-asetat içeren salamuralarda, yaklaşık 10^6 kob/mL inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürü ile gerçekleştirilen turşu üretimlerinde, tampon madde içermeyen salamuralarda pH değerlerinin 3,4'e kadar düştüğünü bunun laktik asit bakterilerinin gelişimlerini etkileyebileceği belirtilmiştir. Bu çalışmadaki K2D üretiminde ise sadece tuz içeren salamurada daha düşük inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürleri ile benzer veya daha düşük pH değerlerinin elde edilmesi, starter kültürlerin salamuradaki pH değişimlerinden daha az etkilenecek fermentasyonda aktif rol aldıklarını göstermektedir. Bu durum *L. plantarum* starter kültürlerinin pH 3-4 ortamlarında gelişim yeteneklerinin daha iyi olması ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, turşu üretimleri için starter kültürlerin belirlenmesinde, izolatların düşük pH değerlerinde gelişim yeteneklerinin önemli bir endüstriyel özellik olduğu dikkati çekmektedir.

K3D üretiminde *L. plantarum* AK 87 ile karışık kültür gruplarındaki düşük pH değerlerine, Tokatlı (2013) ve Tokatlı vd. (2019)'nın çalışmalarındaki gruplardan daha erken sürede ulaşılması, turşu üretimlerinde daha etkili *L. plantarum* suşları ile karışık kültürlerin belirlenmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle hızlı asit üretme yeteneğindeki *L. plantarum* kültürleri kullanımı ile karışık kültür kullanmadan da aynı etkinin oluşabileceği belirlenmiştir. Bu çalışmadaki karışık kültür grubundaki pH değerlerinde daha hızlı azalmaların görülmesi ve daha düşük pH değerlerinin kısa sürede elde edilmesi, karışık kültür grubunun daha etkili olduğunu göstermektedir.

Doğal fermantasyon ile %8 tuz içeren salamuraya sirke ilave edilerek kornişon turşusu üretiminin gerçekleştirildiği Avunca vd. (2022)'nin çalışmasına kıyasla bu çalışmada sirke kullanılmadan üretilen turşuların *L. plantarum* gruplarında fermantasyonun ilk günlerinde salamura pH'larının hızla düşmesi sağlanmıştır. Bu nedenle hızlı ve yüksek asit üretme yeteneğindeki *L. plantarum* AK 87 starter kültürünün kullanımı ile fermantasyon başlangıcında bu amaçla kullanılmak istenen sirke gereksinimini azaltabileceği/ortadan kaldıracabileceği ve starter kültürlerin kullanımı ile salamuradaki laktik asit bakterilerinin rekabet yeteneklerinin arttırılabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada starter kültür kullanılmayan kontrol gruplarında, doğal olarak bulunan laktik asit bakterilerinin faaliyetleri sonucunda da salamura pH'larında azalmalar tespit edilmiş, ancak bu etkinin starter kültür gruplarında daha hızlı ve daha düşük seviyelerde olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle turşu üretimlerinde starter kültürlerin inokülasyonu ile fermantasyonun başlarında laktik asit bakterilerinin hakimiyeti sağlanmakta ve fermantasyonun kontrollü şekilde başlaması mümkün olmaktadır. Farklı salamura içeriklerinde doğal fermantasyon ile gerçekleştirilen İç ve Özçelik (1999)'in çalışmalarında da, laktik asit fermantasyonunun doğal bir sonucu olarak salamura pH'ları azalmış ancak bu çalışmadaki starter kültürlerin kullanımı ile ulaşılan pH değerlerine daha uzun sürede ulaşılmıştır. Bu nedenle turşu üretimlerinde starter kültür ve/veya kültürlerin kullanımının fermantasyonun kontrollü şekilde sürdürülmesi açısından olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir.

4.4.2. Toplam laktik asit bakterisi sayıları

Turşu üretimlerinde doğal fermantasyonda hammaddedeki laktik asit bakterileri ile fermantasyon başlarken, starter kültür kullanılarak gerçekleştirilen kontrollü turşu üretimlerinde, doğal olarak bulunan bakterilere ek olarak, eklenen starter kültürler de fermantasyonda rol almaktadır. Kornişon turşusu üretimlerinde starter kültür kullanımının etkilerini görebilmek amacıyla gerçekleştirilen laktik asit bakterisi sayımları, K1D, K2D ve K3D üretimleri için sırasıyla Çizelge 4.16, 4.17 ve 4.18’de verilmiştir.

K1D üretiminde ısıtım işlem sonrası kornişonlardaki 5,47 log (kob/mL) seviyesindeki laktik asit bakterilerinin salamuraya yerleştirilmesiyle birlikte fermantasyon süreci başlamıştır. Fermantasyonun ilk gününde gruplarda 7,49-8,64 log (kob/mL) aralığında laktik asit bakterisi tespit edilmiştir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. K1D salamuralarında toplam laktik asit bakterisi sayıları (log kob/mL)

Gruplar	1.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	7,52±0,57 ^{Ab}	8,02±0,48 ^{BCab}	8,22±0,02 ^{ABab}	7,89±0,27 ^{ABab}	7,66±0,31 ^{ABab}	8,38±0,02 ^{Aa}	7,83±0,44 ^{Aab}
<i>L. brevis</i>	8,44±0,10 ^{Aa}	8,13±0,57 ^{BCa}	8,17±0,17 ^{ABa}	7,75±0,18 ^{ABCa}	8,33±0,58 ^{Aa}	8,47±0,77 ^{Aa}	7,57±0,02 ^{ABa}
<i>L. plantarum</i> AK 87	8,05±0,52 ^{Aab}	8,39±0,09 ^{ABa}	8,08±0,23 ^{Bab}	7,58±0,57 ^{BCDabc}	7,73±0,44 ^{ABabc}	7,06±0,32 ^{Bbc}	6,72±0,58 ^{ABCc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	7,49±0,61 ^{Aab}	7,85±0,48 ^{Ca}	7,14±0,12 ^{Cab}	6,82±0,24 ^{Dab}	6,96±0,12 ^{Bab}	6,78±0,30 ^{Bab}	6,43±0,74 ^{BCb}
<i>E. casseliflavus</i>	8,64±0,19 ^{Aa}	7,97±0,33 ^{BCab}	8,77±0,12 ^{Aa}	8,59±0,61 ^{Aa}	8,62±0,45 ^{Aa}	7,62±0,54 ^{ABbc}	6,82±0,24 ^{ABCc}
Karışık	7,97±0,56 ^{Aab}	8,65±0,16 ^{Aa}	7,56±0,25 ^{BCbc}	6,93±0,44 ^{CDcd}	6,73±0,15 ^{Bcd}	6,65±0,16 ^{Bcd}	6,20±0,28 ^{Cd}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

En yüksek laktik asit bakterisi sayısı, *L. plantarum* grupları ve karışık kültür gruplarında 7. günde, *E. casseliflavus* ve kontrol gruplarında 11. günde, *L. brevis* grubunda 20. günde tespit edilmiştir (Çizelge 4.16). *L. plantarum* AK 91 ve karışık kültür gruplarında 7. günden, diğer gruplarda ise 11. günden itibaren laktik asit

bakterisi sayılarında azalmalar başlamıştır. Çalışmada tüm gruplarda 30 gün boyunca laktik asit bakterileri canlılıklarını azalarak da olsa sürdürmüştür.

K2D üretiminde ısı işlem sonrası fermantasyon öncesi kornişonlarda doğal olarak bulunan laktik asit bakterisi sayısı 3,23 log (kob/mL) olarak tespit edilmiştir. Fermantasyonun 1. gününde gruplardaki toplam laktik asit bakterisi sayısı, 6,62-8,54 log (kob/ml) olarak belirlenmiştir. 1-7. günler arasında laktik asit bakterileri ortamda bulunan şekerleri kullanarak sayıları hızla artmıştır. *L. plantarum* AK 91 ve karışık kültür gruplarında 1-4. günlerde sayılarındaki artışın önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). En yüksek laktik asit bakterisi sayısı, 7. günde sırasıyla *L. plantarum* AK 91 (8,90) ve karışık kültür (8,80) gruplarında belirlenmiştir. 7. günden itibaren gruplardaki laktik asit bakteri sayıları azaldığı ancak 30 gün boyunca fermantasyonda aktif rol aldıkları belirlenmiştir. (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. K2D toplam laktik asit bakterisi sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	7,50±0,86 ^{Aa}	8,34±0,06 ^{Aa}	8,14±0,52 ^{Aa}	8,22±0,33 ^{Aa}	8,25±0,53 ^{ABa}	8,26±0,67 ^{Aa}	7,65±0,88 ^{Aa}	7,67±0,49 ^{ABa}
<i>L. brevis</i>	8,54±0,05 ^{Aa}	8,36±0,39 ^{Aa}	8,47±0,07 ^{Aa}	7,85±0,33 ^{Aab}	7,34±0,43 ^{ABb}	7,40±0,04 ^{Ab}	7,86±0,21 ^{Aab}	8,00±0,63 ^{Aab}
<i>L. plantarum</i> AK 87	7,97±0,43 ^{Ab}	8,56±0,06 ^{Aa}	8,61±0,23 ^{Aa}	7,84±0,47 ^{Aab}	7,17±0,02 ^{ABbc}	6,80±0,16 ^{Ac}	6,64±0,29 ^{Ac}	6,09±0,40 ^{Cd}
<i>L. plantarum</i> AK 91	7,07±0,90 ^{ABcd}	8,68±0,21 ^{Aa}	8,90±0,17 ^{Aa}	8,08±0,68 ^{Aab}	7,55±0,48 ^{ABabc}	7,18±0,35 ^{ABcd}	6,47±0,43 ^{Ac}	6,14±0,22 ^{Cd}
<i>E. casseliflavus</i>	7,16±0,28 ^{Ab}	8,37±0,07 ^{Aa}	8,11±0,42 ^{Aab}	6,39±0,68 ^{Bb}	7,02±0,92 ^{Bab}	7,82±0,74 ^{Ab}	7,82±0,82 ^{Ab}	7,36±0,09 ^{ABab}
Karışık	6,62±0,38 ^{Be}	8,50±0,11 ^{Aab}	8,80±0,46 ^{Aa}	8,66±0,06 ^{Aab}	8,60±0,22 ^{Aab}	7,86±0,09 ^{Ab}	7,15±0,22 ^{Ac}	6,80±0,48 ^{BCd}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$)

K3D üretiminde fermantasyon başlangıcında, kornişonlara uygulanan ısı işlem sonucu 3,60 log (kob/mL) seviyesindeki laktik asit bakterileri, hızla gelişerek 1. günde gruplarda 5-6,74 log (kob/mL) seviyelerinde tespit edilmiştir. Gruplarda 1-4. günler arasında laktik asit bakterisi sayılarındaki hızlı artışlar, 11. güne kadar devam etmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.18).

Bu süreç içerisinde karışık kültür grubu başta olmak üzere *L. plantarum* gruplarındaki artışın daha hızlı olduğu, kontrol grubunda ise yavaş gerçekleştiği belirlenmiştir. Bu durum, kontrol grubunda doğal olarak bulunan laktik asit bakterilerinin fermentasyon ortamında rekabet güçlerinin yetersiz kalmasıyla ilişkilendirilmiştir (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. K3D salamuralarında toplam laktik asit bakterisi sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	5,30±0,43 ^{Cd}	7,24±0,75 ^{Babc}	7,97±1,37 ^{Aab}	8,48±0,01 ^{Aa}	7,65±0,49 ^{Aabc}	7,08±0,05 ^{ABabc}	6,38±0,34 ^{ABbc}	6,04±0,27 ^{Cc}
<i>L. brevis</i>	6,74±1,04 ^{Ade}	8,71±0,08 ^{Aa}	8,77±0,04 ^{Aa}	8,09±0,05 ^{ABab}	7,24±0,14 ^{Abc}	6,87±0,12 ^{Bcd}	5,97±0,94 ^{Bde}	5,72±0,17 ^{Ce}
<i>L. plantarum</i> AK 87	5,00±0,00 ^{BCd}	8,28±0,28 ^{ABab}	8,76±0,17 ^{Aa}	7,97±0,44 ^{ABabc}	7,66±0,69 ^{Abc}	7,97±0,70 ^{ABbc}	7,57±0,38 ^{Abc}	7,39±0,30 ^{Ac}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,00±0,00 ^{BCb}	8,57±0,03 ^{ABa}	8,24±0,90 ^{Aa}	7,37±1,26 ^{Ba}	7,94±0,69 ^{Aa}	7,56±0,54 ^{ABa}	7,49±0,92 ^{Aa}	7,10±0,21 ^{ABa}
<i>E. casseliflavus</i>	5,66±0,93 ^{ABf}	8,65±0,02 ^{ABb}	8,97±0,04 ^{Aa}	8,31±0,15 ^{ABb}	7,22±0,06 ^{Ac}	6,69±0,30 ^{Bd}	6,50±0,19 ^{ABde}	6,01±0,23 ^{Ce}
Karışık	5,15±0,21 ^{BCe}	8,59±0,02 ^{ABa}	8,77±0,14 ^{Aa}	8,48±0,14 ^{Ab}	7,95±0,41 ^{Aabc}	7,62±0,88 ^{ABbcd}	7,20±0,85 ^{ABcd}	6,81±0,05 ^{Bd}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Kornişon turşusu üretimlerinde fermentasyon sürecinde salamuralardaki LAB sayılarından elde edilen sonuçlar, starter kültürü turşu üretimlerinde LAB sayılarının fermentasyonun belirli günlerine kadar arttığı ve daha sonra azalmaya başladıklarını belirten bazı çalışmalarda da tespit edilmiştir (Fleming vd., 1995; Özçelik vd., 2001; Turgut, 2006; Tokatlı, 2013; Tokatlı vd., 2019; Alan, 2019; Alan ve Yıldız, 2020). Bu çalışmalarda üretim yöntemi (sirke oranı, tuz oranı) ve starter kültürlerin endüstriyel özellikleri (tuza ve aside dayanıklılık, antimikrobiyal metabolit üretimi gibi) ve inokülasyon oranlarına bağlı olarak LAB sayılarındaki artış ve azalışların farklılık göstermesi beklenen bir sonuç olarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada LAB sayılarının fermentasyonun belirli günlerine kadar artması ve daha sonra azalmaya başlamaları, starter kültür kullanımına bağlı olarak salamura pH değerlerindeki azalışlar, laktik asit miktarlarındaki artışlar ile aside ve tuza direnci olmayan laktik asit bakterilerinin canlılıklarını yitirmeleri ile ilişkilendirilmiştir.

Fermantasyon ortamındaki tuz, asitlik gibi koşullara dirençliliği yüksek olan, endüstriyel özellikleri belirlenmiş starter kültürlerin ilavesi ile LAB sayılarının yüksek olması ve fermantasyonun kontrollü şekillerde ilerlemesi beklenmektedir. Bu çalışmada starter kültürlerin ilavesiyle 30 gün boyunca salamuralardaki LAB sayılarının yaklaşık 6-8 log seviyelerinde olması sağlanmıştır. Farklı salamura içeriklerinde starter kültür kullanmaksızın yapılan bir çalışmada (İç ve Özçelik 1999) hammaddede doğal olarak bulunan ve sayıları az olan laktik asit bakterilerinin fermantasyon ortamına zamanla hakim oldukları, artan asitlik ile sayılarının zamanla azaldığı belirtilmiştir. Bu nedenle doğal fermantasyon ile üretilen turşulardaki laktik asit bakterisi sayılarının zamanla azalma hızını yavaşlatmada, starter kültürlerin kullanımının etkili olması, çalışma sonuçlarımızı doğrular niteliktedir.

4.4.3. Toplam maya ve küf sayıları

Turşu fermantasyonlarında mayalar istenmeyen mikroorganizmalar olarak nitelendirilmektedir (Alan, 2019). Maya ve küflerin kontrolsüz şekilde geliştiklerinde üründe yumuşamaya, istenmeyen tat ve aroma oluşumuna neden oldukları, raf ömrünü kısaltıp önemli ekonomik kayıplara yol açtıkları belirtilmiştir (Gözütok, 2013). Bu nedenle salamuralardaki maya ve küf sayıları takip edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.19, 4.20 ve 4.21’de verilmiştir.

L. brevis, *L. plantarum* AK 87 ve karışık kültür gruplarında 11. günden, *E. casseliflavus* gruplarında ise 20. günden itibaren maya ve küf tespit edilmemiştir. Kontrol gruplarında ise maya ve küflerin 30 gün boyunca canlılıklarını sürdürerek ortamda bulundukları belirlenmiştir (Çizelge 4.19). Karışık kültürlerin kullanımı başta olmak üzere *L. brevis*, *L. plantarum* AK 87 kültürleri kullanımının, maya ve küflerin inaktivasyonunda oldukça etkili olduğu, *L. plantarum* AK 91 kültürünün maya ve küfler üzerinde diğer kültürlere göre daha az etkili olduğu ancak maya gelişimini sınırlandırabildiği belirlenmiştir. Benzer turşularda pektolitik enzimleri üreten ve yumuşamaya neden olan küflerin varlığı ise, 30 gün boyunca kontrol gruplarında belirlenmiş, starter kültür gruplarında ise 7. günden itibaren tespit edilmemiştir. Dolayısıyla starter kültürlerin kullanımının küflerin sayısı üzerinde önemli baskılayıcı

etkisi olduğu belirlenmiştir. Çalışmada turşu fermentasyonunda maya ve küflerin inhibisyonunda ve gelişimlerinin sınırlandırılmasında starter kültürlerin kullanımının oldukça etkili olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.19. K1D salamuralarında toplam maya ve küf sayıları (log kob/mL)

Gruplar	1.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	5,00±0,01 ^{Aa}	4,54±0,94 ^{Aab}	2,52±0,70 ^{Be}	3,39±0,36 ^{Bcde}	4,30±0,01 ^{Aabc}	3,98±0,03 ^{Abcd}	3,00±0,00 ^{Ade}
<i>L. brevis</i>	3,95±0,00 ^{BCa}	2,00±0,01 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}
<i>L. plantarum</i> AK 87	3,92±0,00 ^{BCb}	4,36±0,46 ^{Aa}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	3,90±0,00 ^{Ba}	2,00±0,03 ^{Bd}	2,00±0,02 ^{Cd}	2,00±0,01 ^{Cd}	2,93±0,17 ^{Cc}	3,05±0,14 ^{Bb}	1,10±0,19 ^{Be}
<i>E. casseliflavus</i>	3,82±0,00 ^{Bc}	5,36±0,62 ^{Aa}	4,92±0,03 ^{Ab}	4,60±0,50 ^{Ab}	3,14±0,17 ^{Bd}	<1,00±0,00 ^{Ce}	<1,00±0,00 ^{Ce}
Karışık	3,69±0,00 ^{Ca}	2,90±0,07 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Çizelge 4.20. K2D salamuralarında toplam maya ve küf sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	2,92±0,02 ^{Aa}	2,05±0,94 ^{Aa}	2,35±0,60 ^{ABa}	2,16±0,28 ^{Ba}	2,58±0,75 ^{Aa}	2,69±0,74 ^{ABa}	4,10±0,01 ^{Aa}	3,00±0,00 ^{Cb}
<i>L. brevis</i>	2,84±0,01 ^{Ba}	2,97±1,20 ^{Aa}	2,83±1,44 ^{Aa}	4,23±0,40 ^{Aa}	4,16±0,28 ^{Aa}	4,41±1,66 ^{Aa}	5,26±0,68 ^{Aa}	5,34±0,24 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 87	2,67±0,02 ^{Dbc}	1,36±0,62 ^{Ac}	1,10±0,17 ^{Bc}	2,16±0,28 ^{Bbc}	2,78±0,71 ^{Abc}	3,46±0,45 ^{Aab}	3,75±1,26 ^{Aab}	4,75±0,58 ^{ABa}
<i>L. plantarum</i> AK 91	2,74±0,02 ^{Ca}	2,54±0,93 ^{Aa}	1,60±1,04 ^{ABa}	2,00±0,00 ^{Ba}	2,74±1,28 ^{Aa}	2,86±1,24 ^{Aa}	3,11±1,15 ^{Aa}	3,59±0,98 ^{Ba}
<i>E. casseliflavus</i>	2,69±0,01 ^{Dabc}	1,20±0,35 ^{Abc}	1,00±0,00 ^{Bc}	3,58±1,00 ^{Aabc}	3,83±1,43 ^{Aa}	3,09±1,16 ^{Aabc}	3,75±1,30 ^{Aab}	3,71±0,74 ^{ABa}
Karışık	2,65±0,02 ^{Da}	2,61±1,06 ^{Aa}	1,50±0,86 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Cb}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

İkinci üretimde karışık kültür gruplarında 11. günden itibaren maya ve küf tespit edilmemişken, diğer gruplarda mayalar ortamda bulunmuş ve sayıları artmıştır (Çizelge 4.20). Çalışmada maya ve küflerin inaktivasyonu üzerine, karışık kültürlerin

daha etkili olduğu ve bu etkinin 30 gün boyunca devam ettiği belirlenmiştir. Liyofilize starter kültürlerin bireysel kullanımlarının ise mayaların inaktivasyonu üzerinde etkili olmadığı ancak maya sayılarında çok hızlı artışların görülmemesi nedeniyle mayaların gelişimini sınırlandırabildikleri belirlenmiştir. En yüksek maya ve küf sayısı (5,34), *L. brevis* grubunda 30. günde tespit edilmiştir (Çizelge 4.20). Küflerin varlığı 20 gün boyunca kontrol grubunda belirlenmiş, starter kültür gruplarında ise 4. günden itibaren tespit edilmemiştir. Dolayısıyla starter kültürlerin kullanımının küfler üzerinde önemli etkileri olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.21. K3D salamuralarında toplam maya ve küf sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	3,57±0,81 ^{AcD}	5,30±0,00 ^{ABa}	4,25±0,30 ^{Bbc}	4,50±0,28 ^{Bab}	4,45±0,21 ^{Babc}	3,74±0,06 ^{Bbcd}	3,30±0,00 ^{Cd}	4,41±0,89 ^{Babc}
<i>L. brevis</i>	3,63±0,46 ^{Ab}	4,93±0,53 ^{BCab}	6,13±1,60 ^{Aa}	6,07±0,23 ^{Aa}	6,12±0,91 ^{Aa}	5,64±0,90 ^{Aa}	5,89±0,54 ^{Aa}	6,03±0,64 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 87	3,39±0,12 ^{Ad}	5,58±0,03 ^{Aa}	4,72±0,60 ^{ABb}	3,78±0,25 ^{BCcd}	4,15±0,21 ^{BCc}	4,06±0,03 ^{Bc}	4,15±0,21 ^{Bc}	3,95±0,07 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	2,66±0,93 ^{Ac}	3,61±0,01 ^{Dbc}	4,97±1,37 ^{ABab}	5,56±0,79 ^{Aa}	5,50±0,71 ^{Aa}	5,48±0,67 ^{Aa}	5,35±0,49 ^{Aa}	5,04±0,37 ^{ABab}
<i>E. casseliflavus</i>	3,24±0,41 ^{Ac}	4,54±0,09 ^{Ca}	3,54±0,76 ^{Babc}	3,39±0,55 ^{Cbc}	3,39±0,55 ^{Cbc}	3,42±0,60 ^{Bbc}	3,45±0,64 ^{BCbc}	4,38±0,00 ^{Bab}
Karışık	2,71±1,00 ^{Ac}	5,14±0,06 ^{Ba}	4,24±0,34 ^{Bab}	4,24±0,34 ^{BCab}	4,00±0,00 ^{BCab}	4,30±0,00 ^{Bab}	3,69±0,30 ^{BCbc}	<1,00±0,00 ^{Bab}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Karışık kültür gruplarında 30. günde maya ve küflerin inhibisyonu gerçekleşirken, diğer gruplarda ise maya ve küfler canlılığını sürdürerek ortamda kalmışlardır. En yüksek maya ve küf sayısı (6,13) *L. brevis* grubunda 7. günde belirlenmiş olup, bu grupta maya ve küflerin yüksek sayıda oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 4.21). *L. plantarum* AK 87 grubundaki maya ve küf yoğunluğunun, *L. plantarum* AK 91 grubuna göre daha düşük seviyelerde olması, salamura pH'larının daha düşük, laktik asit miktarlarının daha yüksek olması (Çizelge 4.12 ve 4.15) ve düşük düzeyde de olsa antifungal etki gösterebilmesi ile ilişkilendirilmiştir.

Kültürlerin bireysel kullanımlarında sadece K1D üretiminde *L. brevis*, *L. plantarum* AK 87 ve *E. casseliflavus* kültürlerinin 10⁶ kob/mL inokülasyon oranında kullanımında

mayaların inhibe edilmesi, söz konusu kültürlerin mayaları inhibe etmesinde 10^4 kob/mL inokülasyon oranının yetersiz olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmada K1D ve K2D üretimlerinde sırasıyla 10^6 ve 10^4 kob/mL inokülasyon oranlarında karışık kültür kullanımında mayaların 11. günde, K3D üretiminde ise 10^4 kob/mL inokülasyon oranında 30. günde inhibe edilmeleri, K3D üretiminde salamura katılan %1 glikoz ve %0,35 sitrik asit ilavesinin maya gelişimini teşvik etmeleri ile ilişkilendirilmiştir.

Sebze fermentasyonlarında karışık kültür kullanımı, turşu kalitesinin geliştirilmesi için iyi bir yaklaşım olarak görülmektedir (Özer ve Yıldırım, 2018). Fermentasyon sonunda üretilen antimikrobiyal ve antifungal etkili bileşiklerden asetik asitin, laktik asit ile sinerjistik etkiye sahip olduğu, laktik asidin ortam pH'sını azaltırken, asetik asidin toksik etkisini arttırdığı belirtilmiştir (Yang, 2000). Ayrıca laktik ve asetik asitlerin birlikte etkisinin maya türlerini inhibe ettiği, bu asitlerin bireysel olarak yüksek konsantrasyonda bulunmaları durumunda dahi mayalar üzerinde etkili olmadığı belirtilmiştir (Schnürer ve Magnusson, 2005). Bu çalışmada, homofermantatif ve heterofermantatif özellikteki starter kültürlerin birlikte kullanımının sinerjistik etki yaratarak maya ve küfler üzerinde oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla karışık starter kültür kombinasyonları oluşturmada farkı metabolizmaya sahip starterlerin bir arada kullanımının etkili olduğu söylenebilir. Çalışmada K3D üretiminde karışık kültür grubunda inhibisyonun 30. günde gerçekleşmesi, karışık kültürlerin maya ve küfler üzerinde inhibisyon etkisini engelleyen ya da geciktiren faktörlerin olabileceğini düşündürmektedir. Salamuraya %1 oranında katılan glikozun etkisiyle mayaların faaliyetlerinin hızlanmış olabileceği, sitrik asit ilavesiyle ortam pH'sının starter kültürlerin faaliyetleri dışında da düşmesinin bir sonucu olarak aside dirençli fermentatif mayaların gelişimlerine destek olduğu düşünülmüştür. Ayrıca karışık starter kültürlerin kullanımı ile maya ve küflerin inhibe edilmediği Tokatlı (2013) ve Tokatlı vd. (2019)'nın çalışmalarındaki *L. plantarum* gruplarından daha düşük sayılarda mayaların belirlenmesi, bu çalışmadaki *L. plantarum* kültürlerinin mayalar üzerinde daha etkili olabildiklerini göstermesi bakımından önemlidir. Bu nedenle yüksek laktik asit üreten *L. plantarum*

suşlarının mayalar üzerinde de etkili olmaları, turşu üretimlerinde starter olarak kullanımında turşu kalitesi üzerinde daha etkili olacaktır.

Yapılan bazı çalışmalarda starter kültür kullanılarak üretilen turşularda fermantasyonun ilerlemesiyle maya ve küf sayılarının artabildiği ve fermantasyon boyunca canlılıklarını sürdürdükleri belirlenmiştir. Bu çalışmalarda maya sayıları üzerinde salamura içeriği, starter kültür grupları ve inokülasyon oranları gibi birçok faktörün etkili olduğu, fermantasyonun ilerlemesiyle salamura pH değerlerinin düşmesi sonucunda gelişimleri sınırlanan laktik asit bakterilerinin yararlanamadıkları bazı şekerleri kullanarak mayaların gelişme imkanı buldukları belirtilmiştir (İç vd., 2001; Özçelik vd., 2001; Tokatlı, 2013; Nilchian vd., 2016; Alan, 2019; Tokatlı vd., 2019; Alan ve Yıldız, 2020).

Farklı salamura içeriklerinde starter kültür kullanmadan gerçekleştirilen İç ve Özçelik (1999)'in çalışmalarında, başlangıç sayıları az olan maya ve küflerin fermantasyon ortamında zamanla gelişerek sayılarının arttığı belirtilmiştir. Starter kültürlerin kullanıldığı bu çalışmada ise maya ve küf sayılarının fermantasyon boyunca daha düşük sayıda olması, turşu fermantasyonunda zamanla ortama hakim olan mayaların gelişimlerinin kısıtlanmasında starter kültür kullanımının önemli bir avantaj sağladığını kanıtlamaktadır.

Çalışmadan elde edilen veriler, starter kültür kullanımının turşu fermantasyonunda laktik asit asit bakterilerinin azalmasıyla sayıları hızla artan mayaların gelişimlerinin sınırlandırılması ve karışık kültürlerin kullanımı ile kısa sürede inaktive edilmesini sağladığını belirtmiştir.

4.4.4.Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları

Doğal laktik asit fermantasyonunda sebzelerin yüzeyinde az sayıda bulunan laktik asit bakterileri, zamanla ortama hakim olarak şekerleri kullanmakta ve asit üretmektedirler. Turşu üretimlerinde hammaddede doğal olarak bulunan laktik asit bakterileri ve starter kültürlerin ilavesi ile mikrobiyal faaliyetler değişmektedir.

Fermantasyondaki bu değişimleri incelemek amacıyla kornişon turşularında yapılan toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayım sonuçları, Çizelge 4.22, 4.23 ve 4.24'te verilmiştir.

K1D üretiminde salamuralardaki toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayıları Çizelge 4.22'de verilmiştir.

Çizelge 4.22 K1D salamuralarında toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	7,63±0,39 ^{Bb}	8,32±0,22 ^{ABa}	8,27±0,15 ^{Aab}	8,26±0,65 ^{Aab}	7,95±0,31 ^{BCab}	8,23±0,86 ^{BCDab}	7,78±0,37 ^{ABab}
<i>L. brevis</i>	8,13±0,09 ^{ABab}	7,91±0,38 ^{Bab}	8,03±0,11 ^{ABab}	7,88±0,17 ^{ABb}	8,76±0,48 ^{Aa}	8,78±0,08 ^{Aa}	6,80±0,46 ^{CDc}
<i>L. plantarum</i> AK 87	8,26±0,33 ^{ABab}	8,12±0,14 ^{ABab}	8,16±0,60 ^{ABab}	8,16±0,28 ^{Aab}	8,57±0,47 ^{ABa}	8,67±0,37 ^{ABa}	7,69±0,21 ^{ABb}
<i>L. plantarum</i> AK 91	8,21±0,48 ^{ABa}	8,09±0,49 ^{ABa}	7,12±0,07 ^{Bbc}	7,20±0,35 ^{Bc}	7,65±0,23 ^{Cabc}	7,90±0,28 ^{CDab}	7,24±0,35 ^{BCc}
<i>E. casseliflavus</i>	8,66±0,06 ^{Aab}	8,56±0,04 ^{ABabc}	8,21±0,81 ^{Ac}	8,10±0,28 ^{Ad}	8,94±0,32 ^{Aa}	8,41±0,33 ^{ABCbcd}	8,26±0,45 ^{Abcd}
Karışık	7,59±0,58 ^{Bab}	8,36±0,29 ^{ABa}	7,48±0,26 ^{ABb}	7,18±0,44 ^{Bbc}	6,56±0,12 ^{Dc}	7,70±0,41 ^{Dab}	6,35±0,16 ^{Dc}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Kornişonların fermantasyon öncesi, TMAB sayısı, 6,01 log (kob/mL) olarak belirlenmiştir. Gruplarda fermantasyonun ilk gününde 7,59-8,66 log kob/mL aralığında mezofilik aerobik bakteri tespit edilmiştir. 1-7. günler arasında kontrol gruplarında, diğer gruplara göre mezofilik aerobik bakteri sayısında hızlı bir artış görülmüştür (p<0,05) (Çizelge 4.22). Bu artış, kontrol gruplarında doğal olarak bulunan laktik asit bakterilerinin faaliyetlerinin daha yavaş olmasının bir sonucu olarak salamura pH'larının daha yüksek, laktik asit miktarlarının ise daha düşük olması ile ilişkilendirilmiştir (Çizelge 4.10 ve Çizelge 4.13). 20. günden itibaren *L. brevis*, *L. plantarum* ile karışık kültür gruplarında, TMAB sayılarında hızlı azalmaların belirlenmesi, kültürlerin 20. günden itibaren ortama daha iyi hakim olarak ürettikleri metabolitler ile mezofilik aerobik bakterilerin inhibisyonunu sağlamaları şeklinde yorumlanmıştır.

K2D üretiminde fermantasyon öncesi kornişonlarda bulunan 4,70 log (kob/mL) seviyelerindeki mezofilik aerobik bakteriler hızla gelişmiş ve 1. günde gruplarda 7,14-8,23 log (kob/mL) aralığında belirlenmiştir (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. K2D salamuralarında toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	7,48±0,80 ^{ABbc}	8,46±0,07 ^{ABa}	7,97±0,06 ^{Aab}	8,43±0,36 ^{Aa}	6,96±0,03 ^{BCc}	7,54±0,06 ^{Babc}	6,96±0,14 ^{BCc}	7,37±0,25 ^{ABbc}
<i>L. brevis</i>	8,51±0,07 ^{Aa}	8,37±0,16 ^{ABa}	8,04±0,38 ^{Aab}	7,59±0,53 ^{ABabc}	6,48±0,00 ^{Cc}	7,06±0,42 ^{BCbc}	7,86±0,56 ^{ABab}	7,91±0,65 ^{Aab}
<i>L. plantarum</i> AK 87	7,95±0,43 ^{Aab}	8,57±0,14 ^{Aa}	8,56±0,31 ^{Aa}	7,27±0,24 ^{Bbcd}	7,30±0,15 ^{Bbc}	6,20±0,35 ^{Ce}	6,56±0,39 ^{Ccde}	6,39±0,36 ^{BCde}
<i>L. plantarum</i> AK 91	7,14±0,85 ^{ABbcd}	8,37±0,07 ^{ABab}	8,74±0,28 ^{Aa}	8,10±0,69 ^{ABab}	7,57±0,41 ^{Babc}	7,10±0,38 ^{BCbcd}	6,56±0,40 ^{Ccd}	6,18±0,21 ^{Cd}
<i>E. casseliflavus</i>	7,64±0,19 ^{ABbc}	8,30±0,02 ^{Bab}	8,26±0,36 ^{Aab}	7,58±0,17 ^{ABbc}	7,32±0,28 ^{Bcd}	8,52±0,34 ^{Aa}	8,37±0,39 ^{Aab}	6,67±0,35 ^{BCd}
Karışık	8,23±0,12 ^{Bd}	7,48±0,01 ^{Cabcd}	7,59±1,01 ^{Aabcd}	8,64±0,11 ^{Aa}	8,48±0,44 ^{Aab}	7,97±0,35 ^{ABabc}	7,25±0,31 ^{BCbcd}	7,05±0,06 ^{ABCcd}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Kornişonların salamuraya yerleştirilmesiyle birlikte gruplarda 1-7. günler arasında mezofilik aerobik bakteri sayılarında artışlar tespit edilmiştir. En yüksek TMAB sayısı, *L. plantarum* AK 91 gruplarında 7. günde (8,74), karışık kültür gruplarında 14. günde (8,48) belirlenirken, diğer gruplarda 4. günde tespit edilmiştir (Çizelge 4.23). TMAB sayılarındaki artışlar, tuza ve aside dirençli bakterilerin canlılığını sürdürebilmesine bağlanmıştır. *L. plantarum* grupları ile karışık kültür gruplarında 14. günden itibaren TMAB sayılarında hızlı bir azalma belirlenmiştir (p<0,05). Bu durum, söz konusu starter kültürlerin hızla gelişerek mezofilik aerobik bakterilerin gelişimlerine engel olabilmeleri ile ilişkilendirilmiştir. *L. plantarum* kültürlerinin yüksek oranda asit üretme özellikleri sayesinde mezofilik aerobik bakteriler üzerinde daha etkili oldukları düşünülmektedir.

K3D üretiminde kornişonlarda fermantasyon öncesinde mezofilik aerobik bakteriler tespit edilmemesine rağmen, fermantasyonun ilk gününde tüm gruplarda 5-6 log (kob/mL) mezofilik aerobik bakteriler tespit edilmiştir (Çizelge 4.24). Bu durum,

uygulanan ısıtma işlemde merkez sıcaklığının 55-58 °C aralığında olması nedeniyle bu ısıtma işlem parametrelerine dayanıklı olan sporlu mezofilik aerobik bakterilerin gelişmesi, canlı fakat kültüre edilemeyen mezofilik aerobik bakterilerin salamura da belirli bir süre sonra sayılabilir hale gelmesi ile ilişkilendirilmiştir.

Çizelge 4.24. K3D salamura larında toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	5,37±0,07 ^{ABd}	6,95±0,89 ^{Babc}	8,08±0,01 ^{Aab}	8,41±0,47 ^{ABa}	7,90±0,10 ^{Aabc}	6,83±0,18 ^{Bbc}	6,43±0,16 ^{ABcd}	6,20±0,17 ^{BCcd}
<i>L. brevis</i>	5,00±0,00 ^{Bf}	8,59±0,02 ^{Aab}	8,87±0,10 ^{Aa}	8,11±0,05 ^{ABb}	7,19±0,02 ^{Ac}	6,85±0,04 ^{Bcd}	6,10±0,88 ^{Be}	6,35±0,43 ^{BCde}
<i>L. plantarum</i> AK 87	5,24±0,34 ^{ABe}	8,52±0,06 ^{Aab}	8,66±0,08 ^{Aa}	7,87±0,12 ^{Bc}	8,11±0,47 ^{Aabc}	7,93±0,53 ^{ABc}	7,59±0,32 ^{ACd}	7,08±0,18 ^{Ad}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,35±0,49 ^{ABc}	8,57±0,05 ^{Aa}	8,03±1,03 ^{Aab}	6,85±0,45 ^{Cbc}	8,05±1,06 ^{Aab}	7,61±0,65 ^{ABab}	7,33±1,20 ^{ABab}	7,32±0,24 ^{Aab}
<i>E. casseliflavus</i>	6,00±0,21 ^{Ad}	8,58±0,02 ^{Aa}	8,61±0,53 ^{Aa}	8,66±0,35 ^{Aa}	7,29±0,02 ^{Ab}	6,59±0,16 ^{Bc}	6,26±0,17 ^{ABcd}	5,93±0,04 ^{Cd}
Karışık	5,76±1,07 ^{ABe}	8,60±0,01 ^{Aab}	8,91±0,23 ^{Aa}	8,63±0,20 ^{Aa}	8,02±0,45 ^{Aabc}	7,33±1,03 ^{ABbcd}	7,03±1,03 ^{ABcde}	6,52±0,11 ^{Bde}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Fermantasyonun 1. gününde gruplarda 5-6 log (kob/mL) aralığında belirlenen mezofilik aerobik bakteri sayıları 1-4. günler arasında hızla artmış, fermantasyonun ilerlemesiyle birlikte sayıları azalarak devam etmiştir (p<0,05). Fermantasyon ortamındaki aside ve tuza dirençli mezofilik aerobik bakteriler belirli bir güne kadar sayıları artarak fermantasyon ortamında belirlenmiş, laktik asit fermantasyonu sonucunda laktik asit bakterilerinin ortama hakim olmasıyla birlikte (Çizelge 4.18) sayıları azalmıştır (Çizelge 4.24). Dolayısıyla hızlı ve yüksek oranda asit üreten starter kültürlerin kullanımı ile laktik asit bakterilerinin fermantasyon ortamına hakim olmaları sağlanmış, bunun sonucunda da salamura da gelişemeyen mezofilik aerobik bakteriler inhibe olmuştur.

Koruyucu turşusu üretimlerinde fermantasyonda TMAB sayılarından elde edilen veriler, fermantasyon başlangıcında mezofilik aerobik bakteri sayılarında görülen artışların, fermantasyonun ilerlemesiyle birlikte belirli günlerden sonra azaldığını

belirten Fleming vd. (1995), Özçelik vd. (2001), Turgut (2006), Tokatlı (2013), Tokatlı vd. (2019), Alan (2019), Alan ve Yıldız (2020)'in çalışma sonuçları ile uyumludur. Çalışmada belirli günlere kadar TMAB ve LAB sayımlarının yakın değerlerde olması, TMAB sayımlarına bazı laktik asit bakterilerinin de dahil edilmiş olabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda benzer sonuçlar McDonald vd. (1991), Fleming vd. (1995) ile Özçelik vd. (2001)'in çalışmalarında da belirtilmiştir. Turşu üretimlerinde starter kültürlerin kullanıldığı Fleming vd. (1995), Özçelik vd. (2001), Turgut (2006), Tokatlı (2013), Tokatlı vd. (2019), Alan (2019), Alan ve Yıldız (2020)'in çalışmalarında salamura içeriği (tuz oranı, asitlendirici içerip içermemesi), kullanılan starter kültürler ve inokülasyon oranları gibi faktörlerin laktik asit bakterilerinin gelişimlerini etkileyebilmesi nedeniyle mezofilik aerobik bakteriler üzerinde etki derecelerinin değiştiği düşünülmektedir. Bu çalışmalarda genel olarak starter kültür gruplarında kontrol gruplarına göre TMAB sayılarında daha hızlı azalışların belirlenmesi, çalışma sonuçlarımız ile uyumlu olmakta birlikte, elde edilen veriler starter kültür kullanımının laktik asit bakterilerinin ortama hakim olarak faaliyetlerini göstermeleri sayesinde mezofilik aerobik bakterilerin gelişimlerini sınırlandırdığını göstermektedir. Çalışmalarda farklı *L. plantarum* kültürlerinin TMAB sayıları üzerinde etki derecelerinin farklı olduğu dikkati çekmekle birlikte, bu çalışmada salamuralara asetik asit, tampon maddeler gibi bileşenler ilave edilmeden starter kültürlerin kullanımı ile de benzer oranlarda TAMAB sayılarının azaltıldığının belirlenmesi, starter kültürlerin etkinliği bakımından önemli bir sonuç olarak düşünülmektedir.

Çalışmada doğal fermantasyon ile turşu üretiminin gerçekleştirildiği İç ve Özçelik (1999)'in çalışmalarından daha yüksek başlangıç sayılarındaki mezofilik aerobik bakteri sayılarında daha hızlı azalmaların görülmesi, turşu üretimlerinde starter kültürlerin kullanımı ile mezofilik aerobik bakterilerin daha etkili şekilde inaktive edilerek fermantasyonda laktik asit bakterilerinin hakim olması konusunda önemli bir avantaj olduğu düşünülmektedir. Starter kültürlerin kullanımı ile salamura pH'larındaki azalmaların, laktik asit bakterisi dışındaki mikroorganizmaların gelişimlerini sınırlandırabileceği, Perez-Diaz vd. (2019)'nin çalışmalarında da belirtilmiştir. Ayrıca farklı sebze örneklerinde *Pseudomonas*, *Flavobacterium*,

Escherichia ve *Bacillus* cinslerinin toplam popülasyonunun 10^7 kob/g gibi yüksek bir seviyedeysen, LAB'lerinin yaklaşık 10^3 kob/g seviyesinde olduğu bildirilmiştir (Hutkins 2006; Tokatlı vd., 2015). Bu nedenle turşu fermantasyonunu gerçekleştiren laktik asit bakterilerinin sayıca düşük olması, fermantasyon başlangıcında mezofilik aerobik bakteriler üzerindeki rekabet yeteneğini azaltacağı için, starter kültür ilavesinin bu konuda etkili olduğu belirlenmiştir.

4.4.5. Toplam *Enterobacteriaceae* sayıları

Fermantasyon süresi boyunca koliform grup bakteriler ile önemli gıda patojenlerini de içeren *Enterobacteriaceae* üyesi mikroorganizmaların (TE) sayım sonuçları, Çizelge 4. 25, 4.26 ve 4.27'de verilmiştir.

Çizelge 4.25. K1D salamuralarında toplam *Enterobacteriaceae* sayıları (log kob/mL)

Gruplar	1.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	5,49±0,85 ^{Aab}	6,62±1,02 ^{Aa}	6,30±0,52 ^{Aa}	5,47±0,40 ^{Aab}	5,30±0,52 ^{Aab}	5,32±0,26 ^{Aab}	4,40±0,46 ^{Ab}
<i>L. brevis</i>	5,10±0,04 ^{Aa}	2,57±0,01 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 87	5,38±0,05 ^{Ab}	5,71±0,57 ^{ABa}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,44±0,03 ^{Aa}	5,10±0,17 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Bb}
<i>E. casseliflavus</i>	4,89±0,78 ^{Aab}	5,30±0,10 ^{Ba}	5,41±0,16 ^{Ba}	4,40±0,46 ^{Bbc}	3,16±0,28 ^{Bd}	3,58±0,51 ^{Bcd}	<1,00±0,00 ^{Be}
Karışık	4,83±0,43 ^{Aa}	2,50±0,05 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K1D üretiminde fermantasyonun ilk gününde gruplarda 4,83-5,49 log (kob/mL) aralığında toplam enterobakter üyesi mikroorganizmalar tespit edilmiştir. Fermantasyonun ilerlemesiyle birlikte mevcut laktik asit bakterilerinin metabolik aktiviteleri sonucu laktik asit ve diğer metabolitleri üretmeleri nedeniyle, salamura pH'ları azalmış ve bunun sonucunda enterobakter sayılarında azalmalar başlamıştır. Kontrol gruplarında enterobakter sayılarındaki azalmalar çok yavaş gerçekleşmiş ve

bir aylık süreçte canlılıklarını sürdürmüşlerdir. Bu sonuç, kontrol grupları salamuralarının laktik asit miktarlarının düşük olmasına ve doğal olarak bulunan laktik asit bakterilerinin etkin bir şekilde fermantasyon ortamına hakim olamamalarına bağlanmıştır. Karışık kültür, *L. plantarum* ve *L. brevis* gruplarında 11. günden, *E. casseliflavus* gruplarında ise 30. günden itibaren enterobakter üyeleri tespit edilmemiştir (Çizelge 4.25). *E. casseliflavus* gruplarında inhibisyonun daha geç gerçekleşmesi, laktik asit üretim yeteneklerinin daha zayıf olmasına bağlanmıştır. Elde edilen veriler, turşu üretiminde starter kültür kullanımının, enterobakterler üzerinde kontrol grubuna göre kısa sürede inhibisyon sağlaması açısından önemli etkilerinin olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.26. K2D salamuralarında toplam *Enterobacteriaceae* sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	6,43±0,89 ^{ABa}	6,60±1,03 ^{Aa}	5,80±0,87 ^{Aab}	5,80±1,38 ^{Aab}	3,59±0,78 ^{Bbc}	4,58±0,18 ^{Aab}	5,26±1,19 ^{Aab}	1,23±0,40 ^{Ac}
<i>L. brevis</i>	6,56±0,61 ^{ABa}	5,42±0,36 ^{ABb}	4,03±0,24 ^{Bc}	2,67±0,61 ^{Bd}	1,89±0,85 ^{Bd}	<1,00±0,00 ^{Be}	<1,00±0,00 ^{Be}	<1,00±0,00 ^{Be}
<i>L. plantarum</i> AK 87	6,70±0,19 ^{Aa}	5,43±0,74 ^{ABb}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,45±1,25 ^{ABa}	4,23±0,40 ^{ABa}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Bb}
<i>E. casseliflavus</i>	4,65±1,13 ^{BCa}	5,49±0,50 ^{ABa}	5,65±0,30 ^{Aa}	5,89±1,15 ^{Aa}	6,15±1,02 ^{Aa}	4,66±0,77 ^{Aa}	<1,00±0,00 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Bb}
Karışık	3,10±0,00 ^{Cb}	4,49±0,85 ^{ABa}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K2D üretiminde fermantasyon başlangıcında kornişonlarda 2,00 log (kob/mL) seviyesindeki *Enterobacteriaceae* üyeleri hızla çoğalmışlardır. Karışık kültür ve *L. plantarum* gruplarında 7. günden, *L. brevis* gruplarında 17. günden, *E. casseliflavus* gruplarında ise 20. günden itibaren enterobakter üyeleri tespit edilmemiştir (Çizelge 4.26). Çalışmada starter kültür gruplarında belirli günlerden itibaren enterobakterilerin tespit edilmemesi, kontrol gruplarında ise 30 gün boyunca aktif kalmaları, starter kültür gruplarında asitlik gelişimine paralel olarak enterobakterilerin daha fazla gelişemedikleri şeklinde yorumlanmıştır. Bu

sonuçlardan yola çıkarak enterobakter üyeleri üzerinde *L. plantarum* kültürleri başta olmak üzere karışık kültürlerin oldukça etkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.27. K3D salamuralarında toplam *Enterobacteriaceae* sayım sonuçları log (kob/mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	4,37±1,09 ^{ABCb}	6,08±0,00 ^{Aa}	4,79±0,47 ^{Aab}	3,99±1,40 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
<i>L. brevis</i>	4,62±0,87 ^{ABa}	4,16±0,17 ^{Ca}	<1,00±0,00 ^{Db}	<1,00±0,00 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}
<i>L. plantarum</i> AK 87	3,81±0,14 ^{BCb}	4,99±0,12 ^{Ba}	3,30±0,43 ^{BCc}	<1,00±0,00 ^{Bd}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}
<i>L. plantarum</i> AK 91	3,12±0,59 ^{Cb}	4,70±0,38 ^{BCa}	4,70±0,99 ^{ABa}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
<i>E. casseliflavus</i>	5,60±0,69 ^{Aa}	5,93±0,21 ^{Aa}	3,13±1,18 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
Karışık	4,32±0,20 ^{ABCa}	4,85±0,78 ^{BCa}	2,57±0,81 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K3D üretiminde fermantasyonun ilk günlerinde tüm gruplarda 3,12-5,60 log (kob/mL) seviyelerinde enterobakterler tespit edilmiştir. Kontrol grubunda 14. günden, *L. brevis* gruplarında 7. günden, diğer starter kültür gruplarında ise 11. günden itibaren *Enterobacteriaceae* üyeleri tespit edilmemiştir (Çizelge 4.27).

Kornişon turşusu üretimlerinde, starter kültür kullanımının enterobakter üyeleri üzerinde belirli günden itibaren inhibisyon etki göstermesi, yapılan bazı çalışmalarda da belirtilmiştir (Fleming vd., 1988; 1995; McDonald vd., 1991; İç vd., 2001; Tokatlı, 2013; Tokatlı vd., 2019). Bu çalışmalarda artan asitliğe bağlı olarak enterobakterlerin tespit edilemedikleri belirtilmiştir. Bu görüşü doğrular nitelikteki bu çalışmada da starter kültürlerin kullanımı ile aynı etkilerden dolayı enterobakterlerin inhibisyonu sağlanmıştır.

Enterobakterlerin doğal olarak hıyar meyvelerinde bulunduğu fakat birincil fermantasyon süresince pH'nın azalması, laktik asidin artmasıyla birlikte inhibe oldukları, ayrıca laktik asit bakterilerinin yokluğunda enterobakterlerin geliştiği ve

hıyarlarda şişme ve bozulmaya neden olan pH'nın artmasına neden oldukları Perez-Diaz vd. (2019)'ın çalışmalarında da belirtilmiştir. Bu grup mikroorganizmalardan koliform bakterilerin düşük tuz konsantrasyonlarında asit üretimi fazla ise salamurada rekabet edemedikleri, bu nedenle başlangıç asitliğinin onların gelişimini önlemeleri gerektiği bildirilmiştir (Etchells vd., 1964). Bu çalışmada, turşu üretiminde hızlı ve yüksek miktarda asit üreten, *L. plantarum* kültürlerinin bazı enterobakter üyeleri üzerinde antimikrobiyal etkili olması ile fermentasyon başlangıcında enterobakterlerin inaktive edilmesi ve oluşturacakları olası bozulmaların engellenmesi sağlanarak turşu kalitesi üzerine olumlu etkileri olmuştur.

4.4.6. Tuz miktarları

Yüzde 8 tuz içeren salamura ile hazırlanan kornişon turşularında fermentasyon süresince tuz miktarları belirlenmiş ve ilgili sonuçlar Çizelge 4.28, 4.29 ve 4.30'da verilmiştir. K1D üretiminde salamuralardaki %8 olan tuz konsantrasyonunun fermentasyonun 1. gününde %5,80 oranına düştüğü tespit edilmiş olup 14. günden itibaren %4,64- 4,52 değerleri ile denge noktasına ulaştığı belirlenmiştir (Çizelge 4.28).

Çizelge 4. 28. K1D salamuralarındaki tuz miktarları (g/100 mL)

Gruplar	1.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	5,80±0,01 ^{Aa}	5,56±0,02 ^{Aa}	5,43±0,02 ^{Aa}	4,64±0,01 ^{Aa}	4,59±0,01 ^{Aa}	4,57±0,00 ^{Aa}	4,52±0,01 ^{Aa}
<i>L. brevis</i>	5,80±0,01 ^{Aa}	5,56±0,02 ^{Aa}	5,43±0,00 ^{Aa}	4,64±0,00 ^{Aa}	4,59±0,02 ^{Aa}	4,57±0,01 ^{Aa}	4,52±0,02 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 87	5,80±0,03 ^{Aa}	5,56±0,03 ^{Aa}	5,43±0,01 ^{Aa}	4,64±0,03 ^{Aa}	4,59±0,02 ^{Aa}	4,57±0,02 ^{Aa}	4,52±0,02 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,80±0,02 ^{Aa}	5,58±0,01 ^{Aab}	5,43±0,01 ^{Aabc}	4,64±0,02 ^{Aabc}	4,59±0,03 ^{Abc}	4,57±0,02 ^{Ac}	4,52±0,03 ^{Abc}
<i>E. casseliflavus</i>	5,80±0,01 ^{Aa}	5,58±0,02 ^{Aa}	5,43±0,03 ^{Ab}	4,64±0,02 ^{Aabc}	4,59±0,01 ^{Abc}	4,57±0,02 ^{Ac}	4,52±0,03 ^{Ac}
Karışık	5,80±0,03 ^{Aa}	5,58±0,03 ^{Aab}	5,43±0,01 ^{Aab}	4,64±0,01 ^{Aab}	4,59±0,04 ^{Aab}	4,57±0,03 ^{Ab}	4,52±0,04 ^{Ab}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K2D üretiminde salamuralardaki tuz konsantrasyonu, fermantasyonun ilk gününde alınan örneklerde %5,82 olarak belirlenmiş olup, zamanla azalarak 14. günden itibaren % 4,87-4,29 aralığında tespit edilmiştir (Çizelge 4. 29).

Çizelge 4.29. K2D salamuralarındaki tuz miktarları (g/100 mL)

Gruplar	1.GÜN	4.GÜN	7.GÜN	11.GÜN	14.GÜN	17.GÜN	20.GÜN	30.GÜN
Kontrol	5,82±0,01 ^{Aa}	5,62±0,04 ^{Aab}	5,60±0,01 ^{Aab}	5,51±0,01 ^{Ab}	4,87±0,01 ^{Ac}	4,58±0,01 ^{Ad}	4,38±0,01 ^{Ade}	4,29±0,01 ^{Ae}
<i>L. brevis</i>	5,82±0,01 ^{Aa}	5,62±0,03 ^{Aab}	5,60±0,01 ^{Aab}	5,51±0,02 ^{Ab}	4,87±0,04 ^{Ac}	4,58±0,01 ^{Ad}	4,38±0,03 ^{Ade}	4,29±0,03 ^{Ae}
<i>L. plantarum</i> AK 87	5,82±0,02 ^{Aa}	5,62±0,03 ^{Aab}	5,60±0,03 ^{Aab}	5,51±0,03 ^{Ab}	4,87±0,03 ^{Ac}	4,58±0,03 ^{Ad}	4,38±0,03 ^{Ade}	4,29±0,03 ^{Ae}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,82±0,02 ^{Aa}	5,62±0,02 ^{Ab}	5,60±0,04 ^{Ab}	5,51±0,03 ^{Ab}	4,87±0,02 ^{Ac}	4,58±0,04 ^{Ad}	4,38±0,02 ^{Ade}	4,29±0,02 ^{Ae}
<i>E. casseliflavus</i>	5,82±0,03 ^{Aa}	5,62±0,01 ^{Ab}	5,60±0,03 ^{Aab}	5,51±0,02 ^{Ab}	4,87±0,03 ^{Ac}	4,58±0,04 ^{Ad}	4,38±0,02 ^{Ade}	4,29±0,00 ^{Ae}
Karışık	5,82±0,02 ^{Aa}	5,62±0,00 ^{Ab}	5,60±0,02 ^{Aab}	5,51±0,04 ^{Ab}	4,87±0,04 ^{Ac}	4,58±0,02 ^{Ad}	4,38±0,04 ^{Ade}	4,29±0,01 ^{Ae}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K3D üretiminde salamuralarda tuz konsantrasyonu, fermantasyonun ilk gününde alınan örneklerde %5,62 olarak belirlenmiş olup, zamanla azalarak 14. günden itibaren % 4,87- 4,21 aralığında tespit edilmiştir (Çizelge 4.30).

Çizelge 4.30. K3D salamuralarındaki tuz miktarları (g/100 mL)

Gruplar	1.GÜN	4.GÜN	7.GÜN	11.GÜN	14.GÜN	17.GÜN	20.GÜN	30.GÜN
Kontrol	5,62±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	4,87±0,00 ^{Ab}	4,38±0,00 ^{Ab}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}
<i>L. brevis</i>	5,62±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	4,87±0,00 ^{Ab}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}
<i>L. plantarum</i> AK 87	5,62±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	4,87±0,00 ^{Ab}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,62±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	4,87±0,00 ^{Ab}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}
<i>E. casseliflavus</i>	5,62±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	4,87±0,00 ^{Ab}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}
Karışık	5,62±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	5,51±0,00 ^{Aa}	4,87±0,00 ^{Ab}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,38±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}	4,21±0,00 ^{Ac}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Kornişon turşusu üretimlerinde salamuralardaki tuz oranı ile ilgili bulgular, yapılan bazı çalışmalar ile uyum göstermektedir (İç vd., 2001; Şahin ve Akbaş, 2001; Turgut, 2006; Tokatlı, 2013; Tokatlı vd., 2019; Alan, 2019; Alan ve Yıldız, 2020). Hammaddenin salamuraya konulması ile birlikte madde alışverişi gerçekleşmekte ve buna bağlı olarak zamanla salamuradaki tuz oranları azalarak, belirli bir noktada dengeye ulaşmaktadır. Yapılan farklı çalışmalarda salamuraların denge noktalarındaki tuz oranlarının farklı olması, salamuranın başlangıç tuz konsantrasyonu, fermantasyon sıcaklığı, hammaddelerin büyüklüğü, hammaddenin bütünlüğü ve olgunluğu gibi faktörler ile ilişkilendirilmiştir.

4.4.7. Toplam indirgen şeker miktarları

Üretimde kullanılan hammaddelerin indirgen şeker içerikleri, toprak, yetiştirme koşulları gibi birçok faktöre bağlı olarak değişebilmektedir. Fermantasyonda mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak hammaddedeki şekerler tüketilmekte ve zamanla azalmaktadır. Bu nedenle salamuralardan belirli günlerde alınan örneklerdeki indirgen şeker miktarları belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.31, 4.32 ve 4.33'te verilmiştir.

Çizelge 4.31. K1D salamuralarında toplam indirgen şeker miktarları (g/100 mL)

Gruplar	10.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	0,31±0,03 ^{Aa}	0,26±0,03 ^{Ab}	0,16±0,05 ^{Ac}
<i>L. brevis</i>	0,15±0,04 ^{CDa}	0,12±0,02 ^{Cb}	0,09±0,03 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 87	0,17±0,02 ^{BCa}	0,10±0,01 ^{Db}	0,06±0,03 ^{Cc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	0,14±0,01 ^{Da}	0,11±0,02 ^{CDb}	0,09±0,02 ^{Bc}
<i>E. casseliflavus</i>	0,16±0,04 ^{BCa}	0,14±0,01 ^{Bb}	0,08±0,02 ^{Bc}
Karışık	0,18±0,05 ^{Ba}	0,10±0,01 ^{Db}	0,05±0,01 ^{Cc}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K1D üretiminde fermantasyon öncesi kornişonların toplam indirgen şeker içeriği 14,18±0,19 g/L olarak saptanmıştır. Fermantasyonun başlamasıyla birlikte

salamuralarda bulunan indirgen şeker miktarının, mikrobiyal popülasyonun hızla çoğalmasına paralel olacak şekilde hızlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.31). Azalan şeker miktarına ve salamuralardaki laktik asit üretim hızının yavaşlamasına göre fermantasyonun 10. günde tamamlandığı tespit edilmiştir. Analiz günlerinde gruplar arası indirgen şeker içeriklerindeki farklılıklar, aynı olgunluktaki hammaddenin kavanozlara eşit şekilde dağıtılamaması, her kavanozda mikrobiyal gelişimlerin farklı düzeyde olabilmesi ve kornişonlardan salamuraya şeker geçiş hızında farklılıkların olabilmesine bağlanmıştır. Kontrol grubundaki şeker miktarının diğer gruplardan daha yüksek olması, kontrol grubundaki doğal floradaki mikroorganizmalar tarafından şekerlerin organik asitler dışında başka ürünlere dönüştüğü şeklinde yorumlanmıştır.

K2D üretiminde fermantasyon öncesi kornişonların toplam indirgen şeker içeriği, $14,00\pm0,13$ (g/L) olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.32. K2D salamuralarında toplam indirgen şeker miktarları (g/100 mL)

Gruplar	10.GÜN	14.GÜN	30.GÜN
Kontrol	$0,58\pm0,11^{Aa}$	$0,30\pm0,05^{ABb}$	$0,15\pm0,02^{ABb}$
<i>L. brevis</i>	$0,55\pm0,26^{Aa}$	$0,23\pm0,02^{Bab}$	$0,12\pm0,01^{ABb}$
<i>L. plantarum</i> AK 87	$0,38\pm0,10^{Aa}$	$0,26\pm0,00^{Bab}$	$0,17\pm0,03^{ABb}$
<i>L. plantarum</i> AK 91	$0,49\pm0,17^{Aa}$	$0,24\pm0,10^{Bab}$	$0,10\pm0,04^{Bb}$
<i>E. casseliflavus</i>	$0,61\pm0,10^{Aa}$	$0,34\pm0,10^{Ab}$	$0,24\pm0,10^{Ac}$
Karışık	$0,26\pm0,10^{Aa}$	$0,18\pm0,03^{Ba}$	$0,10\pm0,03^{Ba}$

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

K2D grubunda fermantasyonun başlamasıyla birlikte mikroorganizmaların metabolizmalarının sonucu olarak salamuralardaki şeker içeriği azalmıştır. Azalan şeker miktarına ve laktik asit üretim hızının yavaşlamasına göre, fermantasyonun 14. günde tamamlandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.32).

K3D üretiminde kornişonların fermantasyon öncesi toplam indirgen şeker miktarları, 22,03±0,60 (g/L) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.33).

Çizelge 4.33. K3D salamuralarında toplam indirgen şeker miktarları (g/100 mL)

Gruplar	10.GÜN	14.GÜN	20.GÜN	30.GÜN
Kontrol	0,35±0,09 ^{Ac}	0,62±0,04 ^{ABa}	0,48±0,02 ^{Ab}	0,19±0,04 ^{Ad}
<i>L. brevis</i>	0,15±0,04 ^{BCc}	0,57±0,06 ^{ABa}	0,41±0,05 ^{ABb}	0,15±0,09 ^{ABc}
<i>L. plantarum</i> AK 87	0,13±0,01 ^{Cc}	0,56±0,01 ^{ABa}	0,29±0,02 ^{Bb}	0,17±0,05 ^{ABc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	0,34±0,00 ^{Ac}	0,61±0,05 ^{ABa}	0,35±0,11 ^{ABb}	0,10±0,02 ^{Bc}
<i>E. casseliflavus</i>	0,36±0,03 ^{Ab}	0,66±0,02 ^{Aa}	0,30±0,06 ^{Bb}	0,15±0,02 ^{ABc}
Karışık	0,24±0,00 ^{Bbc}	0,53±0,05 ^{Ba}	0,35±0,11 ^{ABb}	0,13±0,04 ^{ABc}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K3D grubunda salamuraya %1 glikoz ilavesi yapıldığı için, 20. ve 30. günde de indirgen şeker analizi yapılmıştır. Starter kültür gruplarına göre kontrol örneklerindeki indirgen şeker miktarlarının daha yüksek olması, laktik asit bakterilerinin gelişimlerine bağlı olarak şekerleri daha yavaş metabolize etmeleri ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmada fermantasyonun azalan şeker miktarlarına ve salamuralardaki laktik asit üretim hızının yavaşlamasına göre bağlı olarak 20. günde tamamlandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.33).

Kornişon turşusu üretimlerinde salamuralardaki indirgen şeker miktarlarından elde edilen sonuçlar, mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak salamuralardaki şeker miktarının azaldığını ve fermantasyonun azalan şeker oranına göre belirli bir günde tamamlandığını belirten bazı çalışma sonuçları ile uyumludur (Fleming vd., 1995; Özçelik vd., 1998; İç vd., 2001; Özçelik vd., 2001; Tokatlı, 2013; Tokatlı vd., 2019).

4.5. Kornişon Turşusu Üretimi Depolama Sürecinde Meydana Gelen Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler

Fermantasyonu tamamlanan ve olgunlaşan turşular, buzdolabı koşullarında 6 ay süreyle depolanmıştır. Depolama süresince turşularda meydana gelen kimyasal ve mikrobiyolojik değişimler incelenmiş ve elde edilen sonuçlar ilgili bölümlerde açıklanmıştır.

4.5.1. Asitlik ve pH

Depolamada kornişon turşu üretimlerinde salamuralarındaki laktik asit miktarları, depolama stabilitesi açısından incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.34 ve 4.35'te verilmiştir.

K2D üretiminde depolama başlangıcında kontrol grubu salamuralarındaki laktik asit miktarlarının diğer gruplara göre daha düşük olması durumu, depolama süresince devam etmiştir (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.34. K2D depolamada salamuralardaki laktik asit miktarları (g/100 mL)

Gruplar	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Kontrol	0,46±0,21 ^{Bab}	0,56±0,01 ^{Ca}	0,50±0,02 ^{Dab}	0,43±0,01 ^{Eab}	0,45±0,08 ^{Cab}	0,43±0,02 ^{Cb}
<i>L. brevis</i>	0,71±0,06 ^{ABa}	0,71±0,03 ^{Aa}	0,70±0,02 ^{Ba}	0,72±0,02 ^{Ba}	0,71±0,01 ^{Aa}	0,71±0,01 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 87	0,79±0,01 ^{Aa}	0,72±0,01 ^{Aab}	0,73±0,02 ^{ABab}	0,73±0,01 ^{ABab}	0,72±0,01 ^{Aab}	0,70±0,07 ^{Ab}
<i>L. plantarum</i> AK 91	0,80±0,10 ^{Aa}	0,76±0,01 ^{Aa}	0,78±0,01 ^{Aa}	0,77±0,01 ^{Aa}	0,77±0,02 ^{Aa}	0,76±0,01 ^{Aa}
<i>E. casseliflavus</i>	0,72±0,14 ^{ABa}	0,69±0,07 ^{ABab}	0,60±0,04 ^{Cabc}	0,61±0,04 ^{Cabc}	0,56±0,01 ^{Bc}	0,53±0,01 ^{Bc}
Karışık	0,67±0,02 ^{ABa}	0,61±0,01 ^{BCb}	0,58±0,03 ^{Cbcd}	0,55±0,02 ^{Dcd}	0,59±0,00 ^{Bbc}	0,58±0,00 ^{Bd}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K2D üretiminde en yüksek laktik asit miktarları, *L. plantarum* kültürleri başta olmak üzere *L. brevis* gruplarında belirlenmiştir. Gruplarda depolamanın ilerlemesiyle laktik asit miktarlarında istatistiksel olarak azalmalar belirlenmesine rağmen ($p<0,05$), rakamsal olarak çok az fark olması nedeniyle depolamadaki laktik asit değerlerinin sabit değerlerde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.35. K3D depolamada salamuralardaki laktik asit miktarları(g/100 mL)

Gruplar	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Kontrol	0,70±0,01 ^{Ba}	0,67±0,02 ^{BCab}	0,64±0,01 ^{Bb}	0,57±0,01 ^{Fc}	0,59±0,00 ^{ABCb}	0,57±0,02 ^{Ac}
<i>L. brevis</i>	0,75±0,01 ^{Ba}	0,70±0,01 ^{BCb}	0,66±0,00 ^{Bc}	0,59±0,01 ^{Ee}	0,64±0,02 ^{BCd}	0,63±0,00 ^{Ad}
<i>L. plantarum</i> AK 87	0,90±0,14 ^{Aa}	0,87±0,01 ^{Aa}	0,82±0,08 ^{Aa}	0,91±0,02 ^{Aa}	0,73±0,00 ^{Aa}	0,78±0,14 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 91	0,76±0,01 ^{Ba}	0,76±0,01 ^{Ba}	0,71±0,00 ^{Bab}	0,64±0,01 ^{Cb}	0,63±0,05 ^{Cb}	0,65±0,07 ^{Ab}
<i>E. casseliflavus</i>	0,69±0,03 ^{Ba}	0,65±0,05 ^{Cab}	0,65±0,02 ^{Bab}	0,61±0,01 ^{Dab}	0,64±0,01 ^{Cab}	0,59±0,08 ^{Ab}
Karışık	0,87±0,10 ^{ABab}	0,92±0,02 ^{Aa}	0,84±0,03 ^{Aab}	0,66±0,01 ^{Bc}	0,72±0,03 ^{ABbc}	0,68±0,10 ^{Ac}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$)

K3D üretiminde *L. plantarum* AK 87 ve karışık kültür gruplarında yüksek laktik asit miktarları tespit edilmiş olup ($p<0,05$), en yüksek laktik asit miktarı (%0,92), 60. günde karışık kültür grubunda belirlenmiştir. *L. plantarum* AK 87 ve karışık kültür gruplarında 30. günde tespit edilen yüksek laktik asit miktarları, depolama boyunca da devam etmiştir (Çizelge 4.35).

Yapılan bazı çalışmalarda da starter kültürlerin kullanımı ile depolamada laktik asit miktarlarının sabit değerlerde olduğu belirtilmiştir (Özçelik ve İç, 2000; Alan, 2019; Alan ve Yıldız, 2020). Bu çalışmada starter kültürlerin kullanımı ile kontrol grubuna göre salamuralardaki laktik asit miktarlarının yüksek olması, depolama süresince de devam etmiştir. Depolamanın ilerlemesiyle özellikle *E. casseliflavus* ve yine bu kültürü de içeren karışık kültür gruplarında düşük düzeyde laktik asit miktarlarında

azalmalar belirlenmiş olup, bu durum enterokokların canlılığını daha çabuk yitirmeleri ve salamurada oluşmuş laktik asidi kullanmaları ile ilişkilendirilmiştir.

Depolamada daha yüksek laktik asit miktarlarının belirlendiği (%1,02-1,46) Tokatlı vd. (2019)'nın çalışmasında *L. plantarum* gruplarında, 2-4. aylar arası laktik asit miktarlarının sabit değerlerde olduğu (%1,01), çalışma sonuçlarımız ile uyumlu olup, 4-6. aylarda ise arttığının belirtilmesi bakımından farklılık göstermektedir. Bu farklılıkta starter kültürlerin daha yüksek inokülasyon oranında kullanılması ve depolamada daha uzun süre canlı kalmalarının etkisinin olduğu düşünülmektedir. Söz konusu çalışmada en yüksek laktik asit miktarları (%1,46), karışık kültürlerin kullanıldığı örneklerde 6. ayda belirlenmiştir. Bu çalışmada 6. ayda karışık kültür gruplarında daha düşük laktik asit miktarlarının belirlenmesi, 6. ayda laktik asit bakterilerinin tespit edilmemesi ile ilişkilendirilmiştir (Çizelge 4.38, 4.39). Alan (2019) ile Alan ve Yıldız (2020)'in çalışmalarında farklı *L. plantarum* kültürlerinin kullanımı ile salamuraların laktik asit miktarlarında önemli farklılıkların belirlenmesi, bu çalışmadaki *L. plantarum* kültürleri (AK 87 ve AK 91) arasında da tespit edilmiştir.

Turşu fermantasyonunda ikincil fermantasyonun başlangıcında bozulma yapan mayaların varlığında, laktik ve asetik asitin tüketildiği, ikincil fermantasyonun devam etmesi ile laktik asit tüketiminin devam ettiği bildirilmiştir (Franco ve Perez-Diaz, 2013). Bu çalışmada salamuraların laktik asit miktarlarında ise çok hızlı şekilde azalmalar gerçekleşmemiştir. Bu nedenle *L. plantarum* kültürleri başta olmak üzere, *L. brevis* ve karışık kültürlerin kullanımı ile depolamada da mevcut mayaların gelişiminin sınırlandırıldığı, ikincil fermantasyonun gerçekleşmesinin engellenebildiği belirlenmiştir.

Depolama süresince kornişon turşuları salamuralarındaki pH değerleri, Çizelge 4.36 ve 4.37'de verilmiştir.

Fermantasyon sürecinde azalmış olan pH'nın depolama süresince de korunması istenmeyen mikroorganizmaların gelişimlerinin önlenmesinde önemlidir. Sitrik asit içermeyen K2D denemesinde turşularda en yüksek pH değerleri kontrol gruplarında

belirlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.36). Depolama süresince grupların pH'larındaki değişimlerin önemsiz olduğu tespit edilmiş ($p>0,05$), ancak gruplar arasındaki pH farkı korunmuştur. Sitrik asit ilave edilen K3D üretiminde ise gruplar arasındaki pH farkları daha az olmuştur (Çizelge 4.37).

Çizelge 4.36. K2D depolamada salamuraların pH değerleri

Gruplar	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Kontrol	3,87±0,29 ^{Aa}	4,02±0,03 ^{Aa}	4,04±0,04 ^{Aa}	4,05±0,01 ^{Aa}	4,08±0,01 ^{Aa}	4,09±0,01 ^{Aa}
<i>L. brevis</i>	3,48±0,03 ^{Ba}	3,44±0,04 ^{BCa}	3,47±0,02 ^{BCa}	3,48±0,01 ^{Ca}	3,47±0,02 ^{Ca}	3,46±0,02 ^{Ca}
<i>L. plantarum</i> AK 87	3,35±0,0 ^{Ba}	3,42±0,08 ^{BCa}	3,39±0,08 ^{CDa}	3,35±0,01 ^{Da}	3,35±0,01 ^{Da}	3,34±0,01 ^{Da}
<i>L. plantarum</i> AK 91	3,32±0,02 ^{Ba}	3,32±0,01 ^{Ca}	3,32±0,01 ^{Da}	3,32±0,01 ^{Da}	3,32±0,01 ^{Da}	3,30±0,02 ^{Da}
<i>E. casseliflavus</i>	3,47±0,16 ^{Ba}	3,47±0,17 ^{BCa}	3,55±0,06 ^{Ba}	3,59±0,05 ^{Ba}	3,60±0,06 ^{Ba}	3,58±0,05 ^{Ba}
Karışık	3,52±0,02 ^{ABa}	3,54±0,02 ^{Ba}	3,54±0,02 ^{Ba}	3,54±0,03 ^{BCa}	3,54±0,01 ^{Ba}	3,53±0,01 ^{Ba}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$)

Çizelge 4.37. K3D depolamada salamuraların pH değerleri

Gruplar	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Kontrol	3,44±0,04 ^{Abc}	3,43±0,02 ^{Ac}	3,46±0,01 ^{Aabc}	3,48±0,01 ^{Aa}	3,47±0,01 ^{Aab}	3,49±0,02 ^{Aa}
<i>L. brevis</i>	3,41±0,01 ^{Aab}	3,40±0,02 ^{Ab}	3,43±0,01 ^{ABa}	3,41±0,01 ^{Bab}	3,41±0,01 ^{ABab}	3,43±0,01 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 87	3,21±0,08 ^{Ba}	3,20±0,06 ^{Ba}	3,20±0,06 ^{Ca}	3,17±0,01 ^{Ea}	3,30±0,05 ^{BCa}	3,25±0,07 ^{Ca}
<i>L. plantarum</i> AK 91	3,43±0,06 ^{Aa}	3,44±0,02 ^{Aa}	3,35±0,01 ^{Ba}	3,37±0,01 ^{Ca}	3,41±0,09 ^{ABCa}	3,42±0,05 ^{ABa}
<i>E. casseliflavus</i>	3,42±0,03 ^{Aa}	3,42±0,02 ^{Aa}	3,38±0,04 ^{ABa}	3,42±0,02 ^{Ba}	3,43±0,03 ^{ABa}	3,47±0,06 ^{Aa}
Karışık	3,24±0,06 ^{Ba}	3,21±0,01 ^{Ba}	3,19±0,07 ^{Ca}	3,33±0,01 ^{Da}	3,27±0,07 ^{Ca}	3,27±0,08 ^{BCa}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$)

K3D üretiminde depolamada en düşük pH değerleri, *L. plantarum* AK 87 ve karışık kültür gruplarında belirlenmiş olup ($p<0,05$), diğer grupların pH değerleri birbirine

yakın değerlerdedir. Çalışmada *L. plantarum* AK 87 ve karışık kültür kullanımlarında depolama sürecinde de düşük pH değerlerinin belirlenmesi, bu kültürler tarafından üretilen turşuların stabilitelerini sürdürebilmesi açısından önemli bir sonuçtur.

Starter kültürlerin kullanımı ile depolamada düşük pH değerlerinin korunduğu yapılan bazı çalışmalarda da belirtilmiştir (Özçelik ve İç 2000; İç vd., 2001; Çetin, 2011; Alan, 2019; Tokatlı vd., 2019; Alan ve Yıldız, 2020). Bu çalışmada daha düşük inokülasyon oranı ile benzer ve daha düşük pH değerlerinin elde edilmesi, farklı bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

K3D üretiminde depolamada *L. plantarum* AK 87 grubunun, *L. plantarum* AK 91 grubuna göre salamura pH'sını etkileme derecesinin farklı olması, Alan ve Yıldız (2020)'in farklı *L. plantarum* kültür grupları arasında da belirlenmiştir. Bu nedenle farklı endüstriyel özellikteki *L. plantarum* suşlarının kullanımı ile depolama sürecinde salamura pH değerlerinde farklılıkların olabileceği belirlenmiştir.

Turşu fermantasyon aşamalarından birincil fermantasyonda ortamdaki şekerler tüketilerek, laktik asit üretilmekte ve pH azalmaktadır. İkincil fermantasyonun başlangıcında ise oksijen ve bozulma yapan mayaların varlığında, laktik ve asetik asit tüketilmekte, salamura pH'ları artmaktadır. İkincil fermantasyonun devam etmesi ile laktik asit tüketimi devam etmekte, salamura pH'sı ise daha fazla artmaktadır (Franco ve Perez-Diaz, 2012; 2013). Bu çalışmada starter kültürlerin kullanımı ile depolama süresince salamuraların pH değerlerinin sabit değerlerde olduğu ve mevcut mayaların gelişiminin sınırlandırıldığı (Çizelge 4.40 ve 4.41) belirlenerek ikincil fermantasyonun gerçekleşmediği düşünülmektedir. K2D üretiminde kontrol gruplarında salamura pH'larının 4 seviyelerinde olması, daha uzun süreli depolamalar için ikincil fermantasyona uğrayabileceğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiş ve starter kültürlerin kullanımının ikincil fermantasyonu önlemede etkili oldukları belirlenmiştir.

Depolama süresince kornişon turşularında mikrobiyolojik analizler yapılmış ve starter kültür kullanımının depolamada turşuların mikrobiyolojik stabilitesine etkileri incelenmiştir.

4.5.2. Laktik asit bakterisi sayıları

Depolamada kornişon turşusu üretimlerinde salamuralardaki LAB sayıları, Çizelge 4.38 ve 4.39'da verilmiştir.

Çizelge 4.38. K2D depolamada toplam laktik asit bakterisi sayıları (log kob/mL)

Gruplar	30.GÜN	60.GÜN	90.GÜN	120.GÜN	150.GÜN	180.GÜN
Kontrol	7,67±0,49 ^{ABa}	6,26±0,45 ^{Ab}	6,06±0,10 ^{Abc}	5,47±0,01 ^{Abc}	5,13±0,05 ^{Ac}	5,35±0,60 ^{Abc}
<i>L. brevis</i>	8,00±0,63 ^{Aa}	6,16±0,28 ^{Ab}	3,97±0,06 ^{Bc}	3,30±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bd}	<1,00±0,00 ^{Bd}
<i>L. plantarum</i> AK 87	6,09±0,40 ^{Ca}	5,26±0,45 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	6,14±0,22 ^{Ca}	3,00±0,00 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}
<i>E. casseliflavus</i>	7,36±0,09 ^{ABa}	5,41±0,71 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}
Karışık	6,80±0,48 ^{BCa}	6,32±0,28 ^{Aa}	4,10±0,17 ^{Bb}	2,90±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bd}	<1,00±0,00 ^{Bd}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K2D üretiminde kontrol gruplarında, laktik asit bakterileri 6 aylık depolama süresince varlığını sürdürmüştür (p<0.05). Bu durum, kontrol grupları salamuralarındaki laktik asit miktarının düşük, pH'nın ise yüksek olması dolayısıyla laktik asit bakterilerinin gelişimlerine devam edebilmesi ile ilişkilendirilmiştir (Çizelge 4.34, 4.36). *L. plantarum* grupları ile *E. casseliflavus* gruplarında 90. günden itibaren, *L. brevis* ve karışık kültür gruplarında ise 150. günden itibaren laktik asit bakterileri tespit edilmemiştir (Çizelge 4.38).

K3D üretiminde ise 90. günden itibaren ise laktik asit bakterileri tespit edilmemiştir (Çizelge 4.39).

Kornişon turşusu üretimlerinde tüm gruplarda depolama süresince salamuralardaki laktik asit bakterisi sayılarının zamanla azaldığı belirlenmiştir (Çizege 4.39).

Çizelge 4.39. K3D depolamada toplam laktik asit bakterisi sayıları(log kob/mL)

Gruplar	30.GÜN	60.GÜN	90.GÜN	120.GÜN	150.GÜN	180.GÜN
Kontrol	6,04±0,27 ^{Ca}	5,95±0,25 ^{Aa}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}
<i>L. brevis</i>	5,72±0,17 ^{Ca}	5,58±0,57 ^{ABCa}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}
<i>L. plantarum</i> AK 87	7,39±0,30 ^{Aa}	4,60±0,30 ^{BCb}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
<i>L. plantarum</i> AK 91	7,10±0,21 ^{ABa}	6,46±0,15 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
<i>E. casseliflavus</i>	6,01±0,23 ^{Ca}	4,40±0,39 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
Karışık	6,81±0,05 ^{Ba}	5,77±0,76 ^{ABb}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Depolamada K2D üretiminde kontrol grubunda laktik asit bakterileri canlılığını sürdürürken, K3D üretiminde, 90. günde inhibe olmuşlardır (Çizelge 4.39). Kontrol gruplarındaki bu farklılık, salamuraların pH ve laktik asit miktarlarının farklı olması ve K3D üretiminde salamuraya ilave edilen sitrik asidin, bazı laktik asit bakterilerinin gelişimlerini engellemeleri ile ilişkilendirilmiştir. Starter kültür gruplarında laktik asit bakteri sayılarının depolama ilerledikçe azalması ve belirli günlerden itibaren tespit edilmemesi, salamuralarındaki azalan besin içeriğine ek olarak, daha yüksek asitlik ve düşük pH değerlerinin gelişimlerini kısıtlanması ile ilişkilendirilmiştir.

Bu çalışmada 30-60. günler arasında laktik asit bakterileri sayılarında azalmalar olduğu belirlenmesine karşın, bazı çalışmalarda laktik asit bakteri sayılarının sabit kaldığı belirtilmiştir (Alan, 2019; Çetin, 2011; Alan ve Yıldız, 2020). Tokatlı vd. (2019)'nın çalışmasında ise 4-6. aylarda laktik asit bakterilerinin sayılarının azaldığı ancak canlılığını sürdürdükleri belirtilmiştir. Laktik asit bakterilerinin fermentasyonda aktif rol almalarından sonra depolamada sayılarının azalması, sabit kalması ve bir süre sonra canlılıklarını yitirmeleri beklenen bir sonuçtur. Turşu üretiminde kullanılan starter kültürlerin endüstriyel özellikleri, inokülasyon oranları,

salamura içerikleri gibi birçok etkenin depolamada laktik asit bakterilerinin canlılığını etkileyebileceği düşünülmektedir.

Bozulmuş hıyar fermantasyonlarından *Lactobacillus* cinsi mikroorganizmaların izole edildiği belirtilmiştir (Kim ve Breidt, 2007; Franco vd., 2012; Johanningsmeier vd., 2012). Dolayısıyla bu çalışmada depolamada laktik asit bakterilerinin doğal fermantasyonla üretilen turşulara göre daha kısa sürede inhibe olması, bozulma yapan söz konusu laktik asit bakterilerinin olası varlığında sebep olabilecek bozulmaları önleyebilmesi açısından turşu kalitesine olumlu yönden katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca depolamada laktik asit bakterilerinin canlılığının uzun süre devam etmesi durumunda, biyojen aminleri üretme yeteneğinde olan bazı laktik asit bakterileri, biyojen amin miktarlarının artmasına sebep olabilecektir. Bu nedenle starter kültürlerin kullanımı ile depolamada laktik asit bakterilerinin de inhibe olmasıyla yüksek oranda biyojen amin oluşumunun engellenerek, depolamada bu riskin azaltılabileceği düşünülmektedir.

Özçelik ve Ulu (2002), *L. plantarum* kültürü kullanarak gerçekleştirdikleri hıyar turşusu üretiminde, fermantasyon sonunda laktik asitle asitlendirilmemiş ve pastörizasyon uygulanmayan grupta, $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de depolamanın 6. ayına kadar düşük sayılarda laktik asit bakterileri tespit ettiklerini, pastörizasyon işlemi uygulanmış gruplarda ise tespit edilmediğini belirtmişlerdir. Fermantasyon sonu salamuraların pH değerlerinin 0,2 ile 0,4 birim düşürülmesi için salamuraya katılan laktik asit ilavesinin depolamada mikrobiyel aktiviteyi yavaşlattığı çalışmada, 2,8 pH'ya asitlendirilen salamurada bile laktik asit bakterilerinin varlığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla starter kültür kullanılarak üretilen turşularda depolama öncesi pastörizasyon ve asitlendirme işlemi uygulamadan, soğukta muhafaza ile depolamada laktik asit bakterilerinin inaktive edilerek mikrobiyal stabilitenin sağlanacağı düşünülmektedir.

Farklı salamuralarda starter kültür kullanarak gerçekleştirilen turşu üretiminde pastörizasyon ile laktik asit bakterilerinin inhibe edildiği, pastörize edilmeyen gruplarda ise canlılıklarını sürdüğü İç vd. (1999)'nin çalışmasında belirtilmiştir.

Özçelik ve İç (2000)'in çalışmalarında ise pastörizasyon uygulanmayan turşularda 4 °C'de depolamanın ise laktik asit bakterileri üzerinde etkili olmadığı belirtilmiştir. Bu çalışmada turşularda fermantasyon sonrası pastörizasyon işlemi uygulanmaksızın 4 °C'de yapılan depolamada laktik asit bakterileri 3. aydan itibaren inhibe olmuşlardır. Pastörize edilmeyen, asetik asit ve diğer koruyucuları içermeyen fermente sebzelerde laktik asit bakterilerinin bozulmaya yol açabileceği belirtilmiştir (Çetin, 2011). Dolayısıyla endüstriyel özellikleri ile depolamada laktik asit bakterilerinin inhibe edilmesini sağlayabilen starter kültürlerin kullanımı ile pastörize edilmeyen, koruyucu içermeyen turşulardaki bozulmaların önlenebileceği düşünülmektedir.

4.5.3. Toplam maya ve küf sayıları

Depolamada turşu kalitesi etkileyen maya ve küflerin varlığı, depolama süresince takip edilmiş ve sonuçlar, Çizelge 4.40 ve 4.41'de verilmiştir.

Çizelge 4.40. K2D depolamada toplam maya ve küf sayıları log (kob/mL)

Gruplar	30.GÜN	60.GÜN	90.GÜN	120.GÜN	150.GÜN	180.GÜN
Kontrol	3,00±0,00 ^{Cf}	4,46±0,15 ^{Ae}	5,05±0,08 ^{Ad}	5,35±0,07 ^{ABc}	5,96±0,03 ^{BCb}	6,41±0,01 ^{Ba}
<i>L. brevis</i>	5,34±0,24 ^{Ab}	5,41±0,08 ^{Ab}	4,95±0,05 ^{Ac}	5,07±0,02 ^{BCc}	6,09±0,09 ^{ABa}	6,34±0,01 ^{Ba}
<i>L. plantarum</i> AK 87	4,75±0,58 ^{ABa}	5,24±1,10 ^{Aa}	4,77±0,77 ^{Aa}	5,01±0,06 ^{CDa}	5,89±0,02 ^{BCa}	5,67±0,06 ^{Ca}
<i>L. plantarum</i> AK 91	3,59±0,98 ^{BCc}	3,87±0,91 ^{Abc}	4,59±0,78 ^{Aabc}	4,73±0,03 ^{Dabc}	5,74±0,24 ^{Ca}	5,50±0,05 ^{Dab}
<i>E. casseliflavus</i>	3,71±0,74 ^{ABCc}	4,81±0,79 ^{Abc}	4,69±1,20 ^{Aabc}	5,56±0,24 ^{Aabc}	6,26±0,01 ^{Aab}	6,59±0,01 ^{Aa}
Karışık	<1,00±0,00 ^{Da}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ea}	<1,00±0,00 ^{Da}	<1,00±0,00 ^{Ea}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K2D üretiminde gruplarda depolama süresince küf varlığı tespit edilmemiştir. Fermantasyonda 11. günde karışık kültürlerin maya ve küfler üzerindeki inhibe edici etkisi, depolama boyunca da devam etmiştir. En yüksek maya ve küf sayıları, 6. ayda

E. casseliflavus ve kontrol gruplarında belirlenmiştir. *L. plantarum* (87) gruplarında maya ve küf sayılarındaki artışın önemli düzeyde olmaması ($p>0,05$), *L. plantarum* AK 91 gruplarında ise diğer gruplara göre daha az sayıda belirlenmeleri ile bu starter kültürlerin depolamada mayalar üzerinde daha etkili oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 4.41. K3D depolamada toplam maya ve küf sayıları log (kob/mL)

Gruplar	30.GÜN	60.GÜN	90.GÜN	120.GÜN	150.GÜN	180.GÜN
Kontrol	4,41±0,89 ^{BCb}	5,16±0,28 ^{Bab}	5,34±0,05 ^{Aa}	5,39±0,01 ^{Ba}	5,46±0,01 ^{Ba}	5,52±0,06 ^{Aa}
<i>L. brevis</i>	6,03±0,64 ^{Aa}	5,97±0,07 ^{Aab}	5,32±0,01 ^{Ac}	5,36±0,10 ^{Bc}	5,46±0,15 ^{Bbc}	5,56±0,07 ^{Aabc}
<i>L. plantarum</i> AK 87	3,95±0,07 ^{Cc}	4,30±0,30 ^{Cbc}	4,15±0,15 ^{Bbc}	4,81±0,13 ^{Cb}	5,89±0,01 ^{Aa}	5,62±0,54 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,04±0,37 ^{Bcd}	4,77±0,07 ^{BCd}	5,33±0,05 ^{Abc}	5,82±0,04 ^{Aa}	5,59±0,11 ^{Bab}	5,67±0,06 ^{Aab}
<i>E. casseliflavus</i>	4,38±0,00 ^{BCd}	4,76±0,15 ^{BCd}	5,35±0,05 ^{Ab}	5,69±0,09 ^{Aa}	5,40±0,09 ^{Bb}	5,78±0,01 ^{Aa}
Karışık	<1,00±0,00 ^{Da}	<1,00±0,00 ^{Da}	<1,00±0,00 ^{Ca}	<1,00±0,00 ^{Ca}	<1,00±0,00 ^{Ca}	<1,00±0,00 ^{Ba}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$)

K3D üretiminde karışık kültürler gruplarında 30. günde belirlenen maya ve küfler üzerindeki inhibisyon etkisi, depolama boyunca da devam etmiştir. Diğer gruplarda depolama süresince bulundukları belirlenmiştir (Çizelge 4.41). Özellikle kontrol grubu ile *E. casseliflavus* gruplarındaki maya ve küf sayılarındaki artışının, diğer gruplardan daha hızlı olduğu, bu nedenle maya ve küfler üzerinde daha az etkili oldukları belirlenmiştir.

Kornişon turşusu üretimlerinde depolamada salamuralardaki maya ve küf sayıları incelendiğinde, karışık kültür haricindeki kültür grupları mayaları inhibe etmemiş ancak depolama sonuna kadar maya sayılarında istatistiksel olarak önemli artışlar olmasına rağmen maya sayılarındaki artış hızlarına göre gelişimlerinin baskılandığı belirlenmiştir. Starter kültür kullanılarak gerçekleştirilen turşu üretimlerinde depolamada maya ve küflerin canlılıklarını sürdürdüğünü, maya ve küfler üzerinde starter kültür kullanımının kontrol grubuna göre oldukça etkili olduğunu belirten

alışmalar bulunmaktadır (etin, 2011; Tokatlı vd., 2019; Alan, 2019; Alan ve Yıldız, 2020).

etin (2011)'in %4 tuz ve %2,5 sirke içeren salamura da *L. plantarum* kültürü kullanarak gerçekleştirdiği turşu üretiminde, 45. günden itibaren tespit edilebilir seviyede olan maya ve küflerin 60. güne kadar sayılarının hızla arttıkları belirlenmiştir. Çalışmada başlangıçta kullanılan sirkenin laktik asit bakterilerinin rekabetçi flora ile mücadelesinde fayda sağladığı, fakat aside dirençli mayaların turşuda gelişerek yüzeyde tabaka oluşturdukları belirtilmiştir. Bu çalışmada ise 30-60. günler arasında daha düşük inokülasyon oranı ile starter kültür gruplarında maya ve küf sayılarındaki artışın daha yavaş gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu nedenle daha düşük inokülasyon oranında starter kültürlerin kullanımı ve asitlendirici kullanılmamasının depolama başlangıcında maya gelişimini kısıtladığı düşünülmektedir.

Bu alışma sonuçlarından farklı olarak Tokatlı vd. (2019)'nin çalışmasında karışık kültür kullanımının mayaları inhibe etmediği belirlenmiştir. Söz konusu çalışmada starter kültürlerin kullanımı ile depolama sonunda daha düşük sayılarda mayaların tespit edilmesi, starter kültürlerin inokülasyon oranlarının daha yüksek olması ile ilişkilendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda maya gelişiminin fermentasyonda rol alan laktik asit bakterilerinin gelişimini kısıtladığı, sebzelerde yumuşamaya neden oldukları, oksidatif mayaların yüzeyde gelişerek laktik asidi parçaladıkları ve bozulma yapan mikroorganizmaların faaliyetlerine imkan tanıdıkları belirtilmiştir (Etchells vd., 1964; 1975; Costilow vd., 1980). Bu çalışmada karışık kültürlerin mayaları inhibe etmesiyle mayaların sebep olacakları olası bozulmaların engellenmesi yönünde önemli etkileri olduğu düşünülmektedir. Ayrıca turşularda bazı mayaların biyojen amin üretebildikleri belirtildiğinden (etin, 2011), starter kültür kullanımı ile depolamada maya aktivitelerinin sınırlandırılarak biyojen amin miktarının artmasının engellenebileceği düşünülmektedir.

4.5.4. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları

Depolamada kornişon turşusu üretimlerinde salamuralardaki TMAB sayıları, Çizelge 4.42 ve 4.43'te verilmiştir.

Çizelge 4.42. K2D depolamada toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları (log kob/mL)

Gruplar	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Kontrol	7,37±0,25 ^{ABa}	6,15±0,05 ^{Ab}	6,25±0,31 ^{Ab}	5,67±0,06 ^{Ac}	2,94±0,03 ^{Ad}	2,48±0,00 ^{Ae}
<i>L. brevis</i>	7,91±0,65 ^{Aa}	6,77±0,67 ^{Ab}	5,32±0,28 ^{Ac}	4,14±0,02 ^{Cd}	<1,00±0,00 ^{Be}	<1,00±0,00 ^{Be}
<i>L. plantarum</i> AK 87	6,39±0,36 ^{BCa}	5,71±0,72 ^{Aa}	5,43±0,38 ^{Aa}	3,42±0,10 ^{Eb}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	6,18±0,21 ^{Ca}	4,28±0,49 ^{Bb}	4,20±0,35 ^{Bb}	4,56±0,07 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}
<i>E. casseliflavus</i>	6,67±0,35 ^{BCa}	6,13±0,12 ^{Aa}	5,82±0,73 ^{Aa}	3,60±0,00 ^{Db}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}
Karışık	7,05±0,06 ^{ABCa}	6,79±0,29 ^{Aa}	6,00±0,04 ^{Ab}	5,75±0,05 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K2D üretiminde 150. günden itibaren starter kültür gruplarında mezofilik aerobik bakteriler tespit edilmemiş, kontrol gruplarında ise depolama sonuna kadar mezofilik aerobik bakterilerin canlılığını sürdürdükleri belirlenmiştir (Çizelge 4.42).

K3D üretiminde 120. günde gruplarda 4-5 log (kob/mL) aralığında mezofilik aerobik bakteriler tespit edilmiş olup, 150. ve 180. günlerde ise tespit edilmemiştir (Çizelge 4.43).

Kornişon turşusu üretiminde depolamanın ilerlemesiyle salamuralardaki mezofilik aerobik bakteri sayılarının azaldığı tespit edilmiştir (p<0,05). Depolamada mezofilik aerobik bakterilerin canlılıklarını yitirmeleri, laktik asit bakteri faaliyetleri sonucu üretilen metabolitler ve salamurada azalan besin içeriği ile ilişkilendirilmiştir.

Çizelge 4.43. K3D depolamada toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/mL)

Gruplar	30.GÜN	60.GÜN	90.GÜN	120.GÜN	150.GÜN	180.GÜN
Kontrol	6,20±0,17 ^{BCb}	5,95±0,35 ^{Ab}	6,92±0,02 ^{Aa}	4,20±0,17 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}
<i>L. brevis</i>	6,35±0,43 ^{BCa}	6,07±0,58 ^{Aa}	6,72±0,03 ^{Aa}	4,60±0,00 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
<i>L. plantarum</i> AK 87	7,08±0,18 ^{Aa}	4,35±0,35 ^{Bb}	4,09±0,14 ^{Cb}	4,48±0,00 ^{Bb}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
<i>L. plantarum</i> AK 91	7,32±0,24 ^{Aa}	6,07±0,38 ^{Ab}	5,53±0,05 ^{Bc}	5,03±0,03 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ae}	<1,00±0,00 ^{Ae}
<i>E. casseliflavus</i>	5,93±0,04 ^{Ca}	5,64±0,63 ^{Aa}	5,24±0,24 ^{Ba}	4,00±0,00 ^{Db}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
Karışık	6,52±0,11 ^{Ba}	5,15±0,15 ^{ABb}	5,13±0,43 ^{Bb}	4,00±0,00 ^{Dc}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Çalışmada starter kültür kullanımının, kontrol gruplarına göre depolamada TMAB sayılarının daha kısa sürede azalmasını sağlayarak önemli etkileri olduğu belirlenmiştir. Kontrol gruplarında, doğal olarak bulunan laktik asit bakterilerinin zamanla canlılıklarını yitirmelerine bağlı olarak, salamura pH'larının ve laktik asit miktarlarının mezofilik aerobik bakterilerin gelişimlerini teşvik etmeleri nedeniyle, mezofilik aerobik bakteriler üzerinde daha geç inaktivasyon sağladıkları düşünülmektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda da depolamanın ilerlemesiyle mezofilik aerobik bakteri sayılarının azaldığı belirtilmiştir (Alan, 2019; Tokatlı vd., 2019). Bu çalışmada Tokatlı vd. (2019) çalışmasında 4. ayda *L. plantarum* ile karışık kültür grupları ile benzer seviyelerde mezofilik aerobik bakterilerin tespit edilmesine rağmen, 5. ve 6. aylarda mezofilik aerobik bakterilerin tespit edilmemesi açısından farklı bir sonuç elde edilmiştir. Bu nedenle daha düşük inokülasyon oranında starter kültürlerin kullanımı ile depolamada mezofilik aerobik bakterilerin inaktive edilmesi üzerinde bu çalışmada daha etkili sonuçlar elde edilmiştir.

Alan (2019)'ın çalışmasında bazı *L. plantarum* kültürlerinin mezofilik aerobik bakteri sayılarının azalmasında oldukça etkili oldukları belirtilmiş, benzer sonuçlar bu

çalışmadaki *L. plantarum* grupları arasında da belirlenmiştir. Alan ve Yıldız (2020)'ın yaptıkları çalışmada starter kültür kullanılan gruplarda 30-60. günler arası mezofilik aerobik bakteri sayılarının arttığı belirlenmiştir. Bu çalışmada ise *L. plantarum* starter kültürlerinin kullanımı ile 30-60. günler arası TMAB sayılarında azalmalar tespit edilmiştir. Bu nedenle *L. plantarum* kültürlerinin mezofilik aerobik bakteriler üzerinde depolamanın başlangıcında oldukça etkili oldukları belirlenmiştir.

İç vd. (1999), denge noktasında farklı tuz ve kalsiyum asetat içeren salamuralarda *L. plantarum* kültürü ile üretilen turşuların pastörizasyon işlemi uygulanmayan gruplarında mezofilik aerobik bakterilerin 6 ay süresince canlılıklarını sürdürdüğünü tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise 5. ayda mezofilik aerobik bakterilerin inaktive edilmesi, pastörizasyon işlemi uygulamadan depolamada mezofilik aerobik bakterilerin inaktivasyonunun sağlanabilmesi açısından önemli bir sonuçtur.

Düşük tuz içeren salamuralarla yapılan üretimlerde *Bacillus* cinsi bakterilerin izole edildiği belirtilmiştir (Kim ve Breidt, 2007). Bu çalışmada starter kültürlerin kullanımı ile depolamada mezofilik aerobik bakterilerin kontrol gruplarına göre daha kısa sürede inhibe edilmesi, bozulma yapan söz konusu mikroorganizmaların olası varlığında sebep olacakları bozulmaları önleyebilmesi açısından turşu kalitesine olumlu yönden katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bazı mikroorganizmaların aerobik metabolizmaları sonucunda laktik asit ve asetik asidi parçaladığı ve bunun sonucunda artan pH seviyesinin ise ürünlerin bozulmasına neden olduğu ifade edilmiştir (Franco ve Perez-Diaz, 2012a).

4.5.5. Toplam *Enterobacteriaceae* sayıları

Depolamada gruplarda toplam *Enterobacteriaceae* üyeleri tespit edilmemiştir. Fermantasyon başlangıcında starter kültürlerin kullanımı ile kısa sürede enterobakterlerin inhibe edilmesi sağlanarak depolama sürecinde de enterobakter üyeleri açısından turşularda mikrobiyal stabilite sağlanmıştır.

4.5.6. Tuz miktarları

Depolamada salamuralardaki tuz miktarları, Çizelge 4.44 ve 4.45'te verilmiştir. Her iki üretim grubunda da salamuradaki tuz içerikleri sınırlı bir şekilde azalmış ancak gruplar arasında herhangi bir farklılık belirlenmemiştir.

Çizelge 4.44. K2D depolamada salamuraların tuz miktarları (g/100 mL)

Gruplar	30.GÜN	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Kontrol	4,30±0,01 ^{Aa}	4,09±0,05 ^{Ab}	3,80±0,04 ^{Ac}	3,80±0,03 ^{Ac}	3,80±0,04 ^{Ac}	3,80±0,01 ^{Ac}
<i>L. brevis</i>	4,30±0,03 ^{Aa}	4,09±0,01 ^{Ab}	3,80±0,05 ^{Ac}	3,80±0,05 ^{Ac}	3,80±0,03 ^{Ac}	3,80±0,02 ^{Ac}
<i>L. plantarum</i> AK 87	4,30±0,02 ^{Aa}	4,09±0,04 ^{Ab}	3,80±0,03 ^{Ac}	3,80±0,05 ^{Ac}	3,80±0,04 ^{Ac}	3,80±0,00 ^{Ac}
<i>L. plantarum</i> AK 91	4,30±0,004 ^{Aa}	4,09±0,04 ^{Ab}	3,80±0,05 ^{Ac}	3,80±0,01 ^{Ac}	3,80±0,01 ^{Ac}	3,80±0,01 ^{Ac}
<i>E. casseliflavus</i>	4,30±0,01 ^{Aa}	4,09±0,02 ^{Ab}	3,80±0,01 ^{Ac}	3,80±0,02 ^{Ac}	3,80±0,01 ^{Ac}	3,80±0,04 ^{Ac}
Karışık	4,30±0,06 ^{Aa}	4,09±0,03 ^{Ab}	3,80±0,01 ^{Ac}	3,80±0,02 ^{Ac}	3,80±0,02 ^{Ac}	3,80±0,03 ^{Ac}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Çizelge 4.45. K3D depolamada salamuraların tuz miktarları (g/100 mL)

Gruplar	30.GÜN	60.GÜN	90.GÜN	120.GÜN	150.GÜN	180.GÜN
Kontrol	4,21±0,01 ^{Aa}	4,09±0,03 ^{Ab}	4,09±0,04 ^{Ab}	4,09±0,01 ^{Ab}	4,09±0,01 ^{Ab}	4,09±0,01 ^{Ab}
<i>L. brevis</i>	4,21±0,02 ^{Aa}	4,09±0,01 ^{Ab}	4,09±0,02 ^{Ab}	4,09±0,03 ^{Ab}	4,09±0,00 ^{Ab}	4,09±0,02 ^{Ab}
<i>L. plantarum</i> AK 87	4,21±0,02 ^{Aa}	4,09±0,01 ^{Ab}	4,09±0,02 ^{Ab}	4,09±0,03 ^{Ab}	4,09±0,01 ^{Ab}	4,09±0,02 ^{Ab}
<i>L. plantarum</i> AK 91	4,21±0,01 ^{Aa}	4,09±0,03 ^{Ab}	4,09±0,01 ^{Ab}	4,09±0,02 ^{Ab}	4,09±0,01 ^{Ab}	4,09±0,03 ^{Ab}
<i>E. casseliflavus</i>	4,21±0,01 ^{Aa}	4,09±0,01 ^{Ab}	4,09±0,03 ^{Ab}	4,09±0,01 ^{Ab}	4,09±0,02 ^{Ab}	4,09±0,01 ^{Ab}
Karışık	4,21±0,02 ^{Aa}	4,09±0,02 ^{Ab}	4,09±0,01 ^{Ab}	4,09±0,00 ^{Ab}	4,09±0,02 ^{Ab}	4,09±0,03 ^{Ab}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Salamura başlangıç tuz oranları aynı olmasına rağmen fermentasyon sonrası ve depolama süresince hammaddenin tuzu absorbe etme oranı farklı olmuştur. Bu durumun hammaddenin olgunluk derecesinin veya yetiştirildikleri toprağın farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca salamuradan hammadde içerisine tuz geçişinde mikroorganizmaların herhangi bir etkilerinin olmadığı belirlenmiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda da salamuralardaki tuz oranlarının depolamada bir miktar azalabildiği ve zamanla denge noktasına ulaştığı bildirilmiştir (İç vd., 1999; Özçelik ve Ulu, 2002; Alan, 2019; Alan ve Yıldız, 2020; Tokatlı vd; 2019).

4.6. Karışık Turşularda Fermentasyon Sürecinde Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler

Karışık turşu üretiminde fermentasyon süresince turşu salamuralarında kimyasal, mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar ilgili bölümlerde açıklanmıştır.

4.6.1. Asitlik ve pH

Karışık turşularda fermentasyon süresince laktik asit fermentasyonu ile oluşan laktik asit miktarları ile salamuralardaki pH değerleri takip edilmiş ve sonuçları, Çizelge 4.46 ve 4.47’de verilmiştir.

Fermentasyonda salamuralardaki laktik asit miktarları, önemli düzeyde artmıştır ($p<0.05$). En yüksek laktik asit miktarları, sırasıyla *L. plantarum* (%0,89) ve karışık kültür gruplarında (%0,86) 30. günde tespit edilmiş olup, diğer gruplara göre önemli derecede yüksektir ($p<0.05$) (Çizelge 4.46). Gruplarda 1. günde 5,37-5,86 aralığında belirlenen pH değerleri, laktik asit fermentasyonunun etkisiyle hızla azalmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubunda en düşük pH değeri (3,40), 30. günde belirlenmiştir (Çizelge 4.47).

Çizelge 4.46. Karışık turşu salamuralarında laktik asit miktarları (g/100mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	0,07±0,0 ^{ABe}	0,38±0,01 ^{Cd}	0,49±0,00 ^{Bc}	0,50±0,01 ^{Cc}	0,60±0,01 ^{Bb}	0,61±0,01 ^{Bb}	0,62±0,01 ^{Bb}	0,66±0,01 ^{Ba}
<i>L. brevis</i>	0,09±0,02 ^{Ad}	0,53±0,01 ^{Bc}	0,58±0,02 ^{Abc}	0,54±0,01 ^{Bc}	0,61±0,02 ^{Bb}	0,62±0,02 ^{Bb}	0,64±0,03 ^{Bab}	0,68±0,03 ^{Ba}
<i>L. plantarum</i> AK 91	0,07±0,01 ^{ABf}	0,57±0,01 ^{Ae}	0,61±0,03 ^{Ade}	0,65±0,00 ^{Ad}	0,74±0,03 ^{Ac}	0,78±0,01 ^{Ac}	0,85±0,01 ^{Ab}	0,89±0,02 ^{Aa}
<i>E. casseliflavus</i>	0,06±0,00 ^{ABC}	0,39±0,01 ^{Cb}	0,44±0,01 ^{Bb}	0,44±0,01 ^{Db}	0,41±0,01 ^{Cb}	0,44±0,01 ^{Cb}	0,52±0,13 ^{Bb}	0,67±0,03 ^{Ba}
Karışık	0,06±0,00 ^{Be}	0,54±0,01 ^{Bd}	0,58±0,03 ^{Ad}	0,67±0,02 ^{Ac}	0,74±0,02 ^{Ab}	0,76±0,03 ^{Ab}	0,85±0,01 ^{Aa}	0,86±0,04 ^{Aa}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Çizelge 4.47. Karışık turşu salamuralarında pH değerleri

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	5,76±0,01 ^{Ba}	4,76±0,05 ^{Ab}	3,83±0,04 ^{Ac}	3,56±0,03 ^{Bd}	3,50±0,02 ^{Bde}	3,47±0,03 ^{Bef}	3,46±0,03 ^{Aef}	3,40±0,02 ^{Af}
<i>L. brevis</i>	5,37±0,04 ^{Da}	3,78±0,02 ^{Cb}	3,63±0,02 ^{Bc}	3,49±0,03 ^{Cd}	3,47±0,03 ^{Bd}	3,45±0,04 ^{Bd}	3,44±0,04 ^{Ad}	3,42±0,04 ^{Ad}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,64±0,05 ^{Ca}	3,67±0,03 ^{Db}	3,43±0,02 ^{Dc}	3,25±0,00 ^{Ed}	3,20±0,01 ^{Dde}	3,18±0,01 ^{Cef}	3,15±0,01 ^{Bef}	3,12±0,01 ^{Cf}
<i>E. casseliflavus</i>	5,86±0,03 ^{Aa}	4,65±0,03 ^{Bb}	3,82±0,02 ^{Ac}	3,81±0,01 ^{Ac}	3,80±0,02 ^{Ac}	3,78±0,06 ^{Ac}	3,40±0,09 ^{Ad}	3,22±0,03 ^{Be}
Karışık	5,75±0,01 ^{Ba}	3,68±0,03 ^{Db}	3,51±0,03 ^{Cc}	3,32±0,03 ^{Dd}	3,27±0,03 ^{Cde}	3,23±0,03 ^{Ce}	3,19±0,03 ^{Bef}	3,14±0,02 ^{Cf}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Çalışmada salamuralardaki pH değerleri, fermentasyonun başlangıcından itibaren azalmış ve bu azalma, salamuralardaki titrasyon asitliğinin artışı ile paralel olmuştur (Çizelge 4.47). Salamuralardaki laktik asit miktarlarının, pH değerleri ile uyumlu olması, laktik asit bakterilerinin fermentasyon ortamına hakim olarak fermentasyonun kontrollü şekilde ilerlediğini göstermiştir. Starter kültürlerin kullanımı ile daha kısa sürede düşük pH değerleri ile yüksek laktik asit miktarlarına ulaşıldığı, bu konuda *L. plantarum* kültürü başta olmak üzere karışık kültür kullanımının daha etkili oldukları tespit edilmiştir. *L. brevis* grubunda, *E. casseliflavus* grubuna göre, daha düşük pH değerlerinin belirlenmesi, kültürlerin

heterofermantatif/homofermantatif metabolizmaları ile zıt bir durum olarak ortaya çıkmış ancak bu durum, *L. brevis* kültürünün laktik asit dışında ürettikleri organik asitler ve metabolitler ile salamura pH'sını düşürmesi ile ilişkilendirilmiştir.

Ülkemizde karışık turşu üretimleri ile ilgili çalışmalar bulunmakta birlikte, karışık turşu üretimlerinde kontrollü fermantasyon uygulamaları çerçevesinde starter kültür kullanımı ile ilgili sınırlı sayıda çalışma olduğu belirlenmiştir. Doğal fermantasyonla karışık turşu üretiminin gerçekleştirildiği İcil (2019)'in çalışmasında %6 tuz ve %1 sitrik asit içeren salamuralarda, fermantasyon sonunda %1,08-1,13 g/100 mL aralığında laktik asit miktarları belirlenmiştir. Bu çalışmada starter kültür kullanımı ile yakın değerlerde laktik asit miktarları belirlenmiştir. İcil (2019)'in çalışmasında farklı fermantasyon stratejileri ile endüstriyel çapta lahana turşusu üretiminde ölçekler arası kültür transferi işleminin, fermantasyon süresini kısalttığı belirtilmiştir. Bu çalışmada laboratuvar ölçeğinde farklı endüstriyel özellikteki starter kültürler ile üretilen karışık turşuların, endüstriyel ölçekte üretime geçişte kültür transferi işlemlerinde kullanılması durumunda, fermantasyon süresini kısaltacağı ve turşu kalitesine olumlu etkilerinin olacağı düşünülmektedir. Çetin (2011)'in %4 tuz ve %2,5 sirke içeren salamurada 10^6 (kob/mL) inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürü kullanımı ile karışık turşu üretimi çalışmasında, fermantasyon başlangıcında salamura pH'larının 3,58 değerlerinde olduğu, 15. günde starter kültürlü grupta kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalması ile 3,53 pH değeri belirlenmiştir. Bu çalışmada ise fermantasyon başlangıcında salamura asitlendirme amacıyla sirke kullanmadan 14. günde ve 30. günde starter kültürlü gruplarda (özellikle *L. plantarum* ve karışık kültür grubunda) daha düşük pH değerleri tespit edilmiştir. Johanningsmeier vd. (2007) sebze fermantasyonlarında pH 'daki hızlı düşüşün, fermantasyonun gidişatı açısından önemli olduğunu belirtmişlerdir. Dolayısıyla daha düşük inokülasyon oranı ile salamurada asitlendirici kullanmaksızın starter kültür gruplarında daha düşük pH değerlerine kısa sürede ulaşılması ($p<0,05$), bu starter kültürlerin yeterince etkili olduklarını göstermektedir.

4.6.2. Tuz miktarları

Salamuralarda tuz oranları, fermantasyonun ilk gününde alınan örneklerde %5,84 olarak belirlenmiş olup, zamanla azalarak 11. günden itibaren %4,38 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.48).

Çizelge 4.48. Karışık turşu salamuralarında tuz miktarları (g/100 mL)

Gruplar	1.gün	4.gün	7.gün	11.gün	14.gün	17.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	5,84±0,00 ^{Ab}	5,55±0,00 ^{Ab}	4,97±0,00 ^{Ac}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}
<i>L. brevis</i>	5,84±0,00 ^{Ab}	5,55±0,00 ^{Ab}	4,97±0,00 ^{Ac}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,84±0,00 ^{Ab}	5,55±0,00 ^{Ab}	4,97±0,00 ^{Ac}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}
<i>E. casseliflavus</i>	5,84±0,00 ^{Ab}	5,55±0,00 ^{Ab}	4,97±0,00 ^{Ac}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}
Karışık	5,84±0,00 ^{Ab}	5,55±0,00 ^{Ab}	4,97±0,00 ^{Ac}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}	4,38±0,00 ^{Ad}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Yapılan bazı çalışmalarda da salamuralardaki tuz oranlarının, hammaddenin salamuraya konulması ile madde alışverişinin gerçekleşmesine bağlı olarak zamanla azaldığı ve daha sonra denge noktasına ulaştığı belirtilmiştir (İç vd.,2001; Şahin ve Akbaş, 2001; Tokatlı, 2013; Tokatlı vd., 2019; Alan, 2019; Alan ve Yıldız, 2020).

4.6.3. Toplam indirgen şeker miktarları

Fermantasyon ortamında bulunan mikroorganizmaların şekerleri kullanmasına bağlı olarak salamuralardaki şeker miktarları azalmaktadır. Salamuralardan belirli günlerde örnekler alınarak indirgen şeker miktarları hesaplanmış ve sonuçlar, Çizelge 4.49’da verilmiştir.

Üretimde kullanılan hammaddelerin indirgen şeker içerikleri, beyaz lahanada 46,70± 0,87 (g/L), havuçta 7,92± 1,72 (g/L), yeşil biberde 6,20± 1,72 (g/L), kapy biberde 31,15± 0,75 (g/L), salatalıkta ise 31,50± 0,46 (g/L) olarak tespit edilmiştir.

Gruplarda salamuralardaki mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak indirgen şeker miktarlarının önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.49).

Çizelge 4.49. Karışık turşularda toplam indirgen şeker miktarları (g/100 mL)

Gruplar	10.gün	14.gün	20.gün	30.gün
Kontrol	4,52±0,38 ^{BCa}	2,50±0,45 ^{Bb}	1,76±0,46 ^{BCb}	1,46±0,39 ^{Ab}
<i>L. brevis</i>	4,21±0,07 ^{Ca}	3,20±0,76 ^{Aab}	2,48±0,93 ^{ABb}	1,85±0,48 ^{Ab}
<i>L. plantarum</i> AK 91	5,89±0,37 ^{Aa}	4,34±0,17 ^{Bb}	2,10±0,31 ^{ABCc}	1,66±0,11 ^{Ac}
<i>E. casseliflavus</i>	5,15±0,10 ^{ABa}	4,51±0,19 ^{Ab}	3,23±0,19 ^{Ac}	1,90±0,35 ^{Ad}
Karışık	2,94±0,38 ^{Da}	2,51±0,16 ^{Ba}	0,99±0,05 ^{Cb}	0,17±0,10 ^{Bc}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$),abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

30. günde % toplam indirgen şeker içeriğinin %1'in altına düşmeye başlaması, 20. günden itibaren salamura pH'larının, laktik asit üretim hızının ve miktarlarının sabit değerlerde olması nedeniyle, fermantasyonun azalan şeker miktarlarına bağlı olarak 30. günde tamamlandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.49).

Sonuçlar, turşu üretimlerinde mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak salamuralardaki şeker miktarının azaldığını ve fermantasyonun azalan şeker oranına göre belirli bir günde tamamlandığının belirten çalışma sonuçları ile uyumludur (Fleming vd., 1995; İç vd., 2001; Özçelik vd., 2001; Tokatlı, 2013; Tokatlı vd. 2019). Çalışmalarda hammaddenin şeker oranına ve mikroorganizma faaliyetlerine bağlı olarak fermantasyonun farklı günlerde tamamlanması beklenen bir durumdur.

Fermantasyon öncesi sebzelerin mikroflorasının belirlenmesi amacıyla laktik asit bakterisi, mezofilik aerobik bakteri, maya-küf ve *Enterobacteriaceae* sayımları yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.50'de verilmiştir.

Karışık turşu üretimi için fermantasyon öncesi sebzelerde yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre, incelenen mikroorganizmaların 2,75-4,42 log (kob/mL) seviyelerinde bulundukları tespit edilmiştir (Çizelge 4.50).

Çizelge 4.50. Karışık turşu üretiminde kullanılan sebzelerin mikrobiyolojik analiz sonuçları log (kob/mL)

Mikroorganizma grubu	log (kob/mL)
Toplam laktik asit bakterisi sayımı	3,49±0,20
Toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı	4,42±0,08
Toplam maya küf sayımı	3,59±0,54
Toplam <i>Enterobacteriaceae</i> sayımı	2,75±0,05

4.6.4. Toplam laktik asit bakterisi sayıları

Fermantasyon süresince alınan salamura örneklerindeki laktik asit bakterisi sayıları Çizelge 4.51’de verilmiştir.

Çizelge 4.51. Karışık turşu salamuralarında toplam laktik asit bakterisi sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.GÜN	4.GÜN	7.GÜN	11.GÜN	14.GÜN	17.GÜN	20.GÜN	30.GÜN
Kontrol	3,81±0,75 ^{Bc}	5,33±0,25 ^{Cb}	6,98±0,25 ^{Ca}	7,77±0,07 ^{ABCa}	7,30±0,30 ^{Ba}	7,53±0,21 ^{Aa}	7,10±0,17 ^{Ba}	7,20±0,35 ^{ABa}
<i>L. brevis</i>	3,98±0,30 ^{Bd}	6,89±0,12 ^{Ac}	8,25±0,04 ^{Aa}	8,04±0,26 ^{ABa}	8,08±0,28 ^{Aa}	7,69±0,27 ^{Aab}	7,33±0,35 ^{ABbc}	6,84±0,12 ^{Bc}
<i>L. plantarum</i> AK 91	4,16±0,20 ^{ABb}	7,17±0,31 ^{Aa}	7,78±0,01 ^{Ba}	7,40±0,17 ^{BCa}	7,43±0,23 ^{Ba}	7,26±0,24 ^{Aa}	7,42±0,10 ^{ABa}	7,30±0,30 ^{ABa}
<i>E. casseliflavus</i>	4,16±0,28 ^{ABc}	6,37±0,06 ^{Bb}	7,00±0,00 ^{Ca}	7,20±0,35 ^{Ca}	7,26±0,24 ^{Ba}	7,10±0,17 ^{Aa}	7,10±0,17 ^{Ba}	7,20±0,17 ^{ABa}
Karışık	5,10±0,23 ^{Ae}	6,97±0,06 ^{Ad}	8,00±0,15 ^{ABab}	8,30±0,30 ^{Aa}	7,88±0,03 ^{ABabc}	7,36±0,32 ^{AcD}	7,75±0,05 ^{Aabc}	7,53±0,21 ^{ABc}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Hammaddedeki 3,49 log (kob/mL) seviyelerindeki laktik asit bakterisi sayıları artarak 1. gün gruplarda 3,81-5,10 log (kob/mL) seviyelerinde belirlenmiştir. Fermantasyon boyunca gruplarda laktik asit bakterileri gelişerek sayıları artmış ve fermantasyon ortamına hakim olmuşlardır (Çizelge 4.51). Starter kültür gruplarında 1-4. günler

arası laktik asit bakterisi sayılarındaki artışların kontrol grubuna göre hızlı olması, starter kültür kullanımı ile laktik asit bakterilerinin fermentasyon başlangıcında baskın konuma gelmelerini sağlamıştır.

Çetin (2011)'in çalışmasında %4 tuz ve %2,5 sirke içeren salamurada 10^6 (kob/mL) inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürü ile gerçekleştirilen karışık turşu üretiminde, 30 günlük fermentasyon boyunca starter kültürlü grupta kontrol grubuna göre daha yüksek sayıda laktik asit bakterisi belirlenmiş olup, starter kültürlü grupta 7,41 log seviyelerinde belirlenmiştir. Bu çalışmada ise daha düşük inokülasyon oranında starter kültür gruplarında benzer LAB sayısının belirlenmesi, kullanılan kültürlerin fermentasyon ortamına hızlı adapte olarak geliştiklerini göstermiştir.

4.6.5. Toplam maya ve küf sayıları

Fermentasyon öncesi sebzelerde 3,59 log (kob/mL) olarak tespit edilen maya ve küf sayısı, 1. günde kontrol grubunda 2,20 log (kob/mL) seviyesinde belirlenirken, 7. günden itibaren ise tespit edilmemiştir. Starter kültür gruplarında ise 1. günden itibaren maya ve küfler tespit edilmemiştir. Elde edilen sonuçlar, starter kültür kullanımının maya ve küfler üzerinde daha kısa sürede inaktivasyon sağladığını göstermektedir (Çizelge 4.52).

Çetin (2011)'in %4 tuz ve %2,5 sirke içeren salamurada 10^6 (kob/mL) inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürü ile gerçekleştirdiği karışık turşu üretimi çalışmasında, 1-30. günler arasında maya sayılarının tespit edilebilir limitlerin altında olduğu (<1 log CFU/mL), ancak 45. günden itibaren mayaların ortama hakim oldukları belirtilmiştir.

Çizelge 4.52. Karışık turşu salamuralarında toplam maya ve küf sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.GÜN	4.GÜN	7.GÜN	11.GÜN	14.GÜN	17.GÜN	20.GÜN	30.GÜN
Kontrol	2,20±0,17 ^{Aa}	1,11±0,10 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
<i>L. brevis</i>	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}
<i>L. plantarum</i> AK 91	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}
<i>E. casseliflavus</i>	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}
Karışık	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}	<1,00±0,00 ^{Ba}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

4.6.6. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları

Fermantasyonun başlangıcında sebzelerde bulunan 4,42 log (kob/mL) seviyesindeki mezofilik aerobik bakteriler hızla gelişerek 1. günde gruplarda 5,33-6,36 log (kob/mL) seviyesine ulaşmışlardır (Çizelge 4.53).

Çizelge 4.53. Karışık turşu salamuralarında toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.GÜN	4.GÜN	7.GÜN	11.GÜN	14.GÜN	17.GÜN	20.GÜN	30.GÜN
Kontrol	5,33±0,35 ^{Bd}	6,73±0,45 ^{Ac}	8,34±0,05 ^{Aa}	7,58±0,27 ^{Babc}	7,36±0,10 ^{BCabc}	8,31±0,06 ^{Aa}	7,72±0,66 ^{ABab}	7,20±0,17 ^{ABbc}
<i>L. brevis</i>	6,36±0,32 ^{Ab}	6,79±0,16 ^{Ab}	7,95±0,09 ^{ABa}	8,03±0,10 ^{ABa}	7,80±0,27 ^{Ba}	7,57±0,10 ^{Ba}	7,61±0,15 ^{Aa}	6,78±0,26 ^{Bb}
<i>L. plantarum</i> AK 91	6,10±0,17 ^{Ac}	6,94±0,07 ^{Abc}	7,77±0,27 ^{Bab}	7,62±0,33 ^{Bab}	8,30±0,02 ^{Aa}	7,49±0,15 ^{Bab}	7,08±0,65 ^{Ab}	7,46±0,15 ^{ABab}
<i>E. casseliflavus</i>	5,69±0,09 ^{ABd}	6,00±0,10 ^{Bd}	6,77±0,27 ^{Cbc}	7,47±0,40 ^{Bab}	7,10±0,17 ^{Cab}	6,26±0,24 ^{Ccd}	7,61±0,24 ^{Aa}	7,33±0,35 ^{ABab}
Karışık	6,30±0,30 ^{Ae}	6,93±0,03 ^{Ad}	7,92±0,14 ^{ABbc}	8,67±0,10 ^{Aa}	8,28±0,19 ^{Aab}	7,43±0,18 ^{Bcd}	7,80±0,03 ^{Abc}	7,48±0,31 ^{Ac}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Fermantasyon boyunca gruplardaki mezofilik aerobik bakteriler gelişerek sayıları 11. güne kadar artmış, zamanla salamura pH, % laktik asit miktarlarındaki değişimler ve

mikrobiyolojik etkileşimlere bağlı olarak azalmaya başlamıştır. Starter kültürlerin kullanıldığı bazı çalışmalarda da fermentasyon süresince mezofilik aerobik bakteri sayılarının belirli bir güne kadar arttığı ve daha sonra azaldığı belirtilmiştir (Fleming vd., 1995; Özçelik vd., 2001; Turgut, 2006; Tokatlı, 2013; Tokatlı vd., 2019; Alan, 2019; Alan ve Yıldız, 2020).

4.6.7. Toplam *Enterobacteriaceae* sayıları

Fermentasyon öncesi hammaddelerde 2,75 log (kob/mL) seviyelerinde tespit edilen enterobakter sayılarının fermentasyon süresince değişimi, Çizelge 4.54'te verilmiştir.

Fermentasyonun başlamasıyla birlikte enterobakter sayıları, gruplarda hızla azalmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubunda 17. günden, *E. casseliflavus* grubunda 11. günden, diğer gruplarda ise 7. günden itibaren enterobakterler tespit edilmemiştir (Çizelge 4.54).

Çizelge 4.54. Karışık turşu salamuralarında Toplam *Enterobacteriaceae* sayıları log (kob/mL)

Gruplar	1.GÜN	4.GÜN	7.GÜN	11.GÜN	14.GÜN	17.GÜN	20.GÜN	30.GÜN
Kontrol	4,39±0,08 ^{Ab}	4,18±0,04 ^{Ab}	4,05±0,06 ^{Ab}	2,67±0,06 ^{Ac}	1,36±0,10 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ae}	<1,00±0,00 ^{Ae}	<1,00±0,00 ^{Ae}
<i>L. brevis</i>	4,41±0,06 ^{Ab}	2,69±0,09 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
<i>L. plantarum</i> AK 91	4,25±0,05 ^{ABa}	2,42±0,10 ^{Db}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
<i>E. casseliflavus</i>	4,17±0,12 ^{Ba}	3,88±0,03 ^{Bb}	2,10±0,17 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bd}	<1,00±0,00 ^{Bd}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}
Karışık	4,31±0,03 ^{ABa}	2,73±0,05 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$)

Çalışmada starter kültür kullanımı ile kontrol grubuna göre daha kısa sürede enterobakterlerin inhibe edildiği belirlenmiştir. Starter kültür grupların enterobakterlerin inhibisyonu üzerinde etki sürelerinin farklı olması, salamura pH ve laktik asit miktarlarındaki farklılıklar ile ilişkilendirilmiştir (Çizelge 4.46 ve 4.47).

Çetin (2011)'in çalışmasında %4 tuz ve %2,5 sirke içeren salamurada 10^6 (kob/mL) inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürü ile gerçekleştirilen karışık turşu üretiminde 1-30. günler arasında enterobakterlerin tespit edilmediği, bu durumun depolama sonuna kadar devam ettiği belirtilmiştir. Çalışmada sirke ilavesinin bozulma yapan ve patojen bakterilerin inaktive edilmesinde oldukça etkili olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada ise sirke kullanmadan gerçekleştirilen üretimde starter kültürlerin enterobakterler üzerinde oldukça etkili oldukları belirlenmiştir. Bu nedenle fermentasyon başlangıcında yüksek asit üretme yeteneğindeki starter kültürlerin daha düşük inokülasyon oranlarında kullanımı ile enterobakteriler üzerinde sirke kullanmadan inaktivasyonun gerçekleştirilebileceği belirlenmiştir.

4.7. Karışık Turşularda Depolama Sürecinde Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler

Karışık turşularda depolama boyunca turşu salamuralarında kimyasal, mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiş ve elde edilen aşağıda sunulmuştur.

4.7.1. Asitlik ve pH

Depolamada karışık turşu salamuralarından örnekler alınarak laktik asit miktarları incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.55'te verilmiştir.

Depolama başlangıcında *L. plantarum* AK 91 ve karışık kültür gruplarında diğer gruplara göre daha yüksek laktik asit miktarları tespit edilmesi durumu, depolama boyunca da devam etmiştir ($p < 0,05$). En yüksek laktik asit miktarı (% 1,03), *L. plantarum* AK 91 grubunda 60. günde belirlenmiştir (Çizelge 4.55). Grupların 60-180. günler arası laktik asit miktarlarındaki değişimlerin çok düşük seviyelerde olduğu belirlenmekle birlikte, *L. plantarum* ve karışık kültür kullanımı ile depolamada da daha yüksek laktik asit miktarlarının belirlenmesi, bu kültürlerin depolama sürecinde de daha etkili olduklarını göstermektedir.

Çizelge 4.55. Karışık turşularda depolamada laktik asit miktarları (g/100 mL)

Gruplar	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Kontrol	0,66±0,01 ^{Ba}	0,68±0,02 ^{Ca}	0,64±0,02 ^{Ca}	0,63±0,07 ^{Ca}	0,65±0,01 ^{Da}	0,64±0,01 ^{Ca}
<i>L. brevis</i>	0,68±0,03 ^{Ba}	0,67±0,03 ^{Ca}	0,55±0,03 ^{Db}	0,56±0,04 ^{Cb}	0,63±0,01 ^{Dab}	0,63±0,06 ^{Cab}
<i>L. plantarum</i> AK 91	0,89±0,02 ^{Abc}	1,03±0,01 ^{Aa}	0,93±0,02 ^{Abc}	0,86±0,02 ^{Ac}	1,00±0,00 ^{Aa}	0,96±0,05 ^{Aab}
<i>E. casseliflavus</i>	0,67±0,03 ^{Bc}	0,92±0,01 ^{Ba}	0,75±0,02 ^{Bb}	0,75±0,02 ^{Bb}	0,78±0,01 ^{Cb}	0,79±0,01 ^{Bb}
Karışık	0,86±0,04 ^{Abc}	0,99±0,01 ^{Aa}	0,88±0,01 ^{Ab}	0,83±0,01 ^{ABc}	0,89±0,01 ^{Bb}	0,90±0,01 ^{Ab}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Çizelge 4.56. Karışık turşuların depolamada pH değerleri

Gruplar	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Kontrol	3,40±0,0 ^{Aa}	3,35±0,0 ^{Aa}	3,32±0,0 ^{Aa}	3,31±0,0 ^{Aa}	3,32±0,0 ^{Aa}	3,31±0,07 ^{Aa}
<i>L. brevis</i>	3,42±0,0 ^{Aa}	3,37±0,0 ^{Aa}	3,38±0,0 ^{Aa}	3,37±0,0 ^{Aa}	3,34±0,0 ^{Aa}	3,35±0,05 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 91	3,12±0,0 ^{Ca}	3,05±0,0 ^{Bbc}	3,07±0,0 ^{Bb}	3,05±0,0 ^{Bbc}	3,06±0,0 ^{Bb}	3,01±0,02 ^{Bc}
<i>E. casseliflavus</i>	3,22±0,0 ^{Ba}	3,12±0,0 ^{Bb}	3,13±0,0 ^{Bb}	3,12±0,0 ^{Bbc}	3,14±0,0 ^{Bb}	3,07±0,01 ^{Bc}
Karışık	3,14±0,0 ^{Ca}	3,10±0,0 ^{Bab}	3,11±0,0 ^{Ba}	3,10±0,0 ^{Bab}	3,10±0,0 ^{Bab}	3,04±0,02 ^{Bb}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.005)

L. brevis ve kontrol grubu haricindeki gruplardaki pH azalmaları istatistiksel olarak önemli olmasına rağmen, azalmaların oldukça düşük seviyelerde olması ile sabit değerlerde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.56). *L. plantarum*, *E. casseliflavus* ve karışık kültür gruplarında diğer gruplara göre daha düşük pH değerlerinin belirlenmesi, bu kültürlerin kullanımı ile daha düşük pH değerlerine ulaşmada oldukça etkili olduklarını göstermektedir.

Çetin (2011)'in çalışmasında %4 tuz ve %2,5 sirke içeren salamura 10⁶ (kob/mL) inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürü ile gerçekleştirilen karışık turşu

retiminde, depolama boyunca kontrol grubu ile starter kültür gruplarının pH değerleri 3,53-3,66 aralığında belirlenmiş olup, gruplar arasındaki farkın önemli olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir. Ancak depolama sonuna kadar az olmakla birlikte pH değerlerinde artış olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada ise sirke içermeyen salamuralarda daha düşük inokülasyon oranı ile starter kültür gruplarında 3,05-3,37 gibi oldukça düşük pH değerleri tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar hızlı ve yüksek asit üretme yeteneğindeki söz konusu starter kültürlerin kullanımı ile depolamada bozulma yapan mikroorganizmaların gelişmesinin engellenmesi garanti altına alınmıştır. Bu nedenle karışık turşu üretiminde endüstriyel özellikleri bilinen starterlerin kullanımının oldukça avantajlı olduğu belirlenmiştir.

4.7.2. Tuz miktarları

Depolama süresince grupların salamuralarında tuz miktarları, 4,38 g/100 mL olarak belirlenmiş ve depolama sonuna kadar sabit değerde devam etmiştir.

4.7.3. Toplam laktik asit bakterisi sayıları

Karışık turşu üretiminde salamuralardan örnekler alınarak laktik asit bakterisi sayıları incelenmiş ve sonuçları, izelge 4.57’de verilmiştir.

Depolamanın ilerlemesiyle birlikte gruptaki laktik asit bakterisi sayıları hızla azalmıştır ($p<0,05$). Kontrol ve *L. brevis* grubunda 120. günden, diğer grupta ise 60. günden itibaren laktik asit bakterileri tespit edilmemiştir (izelge 4.57). Depolamanın ilerlemesiyle laktik asit bakteri sayılarının azalması beklenen bir sonuçtur. Kontrol grubunda laktik asit bakterilerinin daha uzun süre canlı kalmaları, salamura pH’ları ve laktik asit miktarları ile ilişkilendirilmiştir (izelge 4.55, 4.56).

Çizelge 4.57. Karışık turşularda depolamada toplam laktik asit bakterisi sayıları log (kob/mL)

Gruplar	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Kontrol	7,20±0,35 ^{ABa}	6,32±0,04 ^{Ab}	4,04±0,07 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}
<i>L. brevis</i>	6,84±0,12 ^{Ba}	3,56±0,07 ^{Bb}	1,30±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}
<i>L. plantarum</i> AK 91	7,30±0,30 ^{ABa}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}
<i>E. casseliflavus</i>	7,20±0,17 ^{ABa}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}
Karışık	7,53±0,21 ^{Aa}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}	<1,00±0,00 ^{Ab}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Pastörize edilmeyen, asetik asit ve diğer koruyucuları yeterli oranlarda içermeyen fermente sebzelerde de laktik asit bakterilerinin bozulmaya yol açabileceği belirtilmiştir (Çetin, 2011). Dolayısıyla starter kültür kullanımı ile depolamada bozulma yapabilecek laktik asit bakterileri inhibe olarak pastörize edilmeyen, koruyucu içermeyen turşulardaki bozulmaların önlenebileceği belirlenmiştir.

Çetin (2011)'in çalışmasında %4 tuz ve %2,5 sirke içeren salamura 10⁶ (kob/mL) inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürü ile gerçekleştirilen karışık turşu üretiminde, 30-60. günler arasında starter kültür grubunda laktik asit bakterisi sayıları önemli düzeyde değişmemiş, 60. günde 7,49 log (kob/mL) olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda ise *L. plantarum* kültür grubunda 60. günde laktik asit bakterileri tespit edilememiş olup, bu durum kültürlerin salamuralardaki yüksek laktik asit ve düşük pH değerlerine dirençlerinin azalması ile ilişkilendirilmiştir.

4.7.4. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları

Karışık turşu üretiminde depolamada toplam mezofilik aerobik bakterileri sayıları, Çizelge 4.58'de verilmiştir.

Çizelge 4.58. Karışık turşularda depolamada toplam mezofilik aerobik bakteri sayıları log (kob/mL)

Gruplar	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Kontrol	7,20±0,17 ^{ABa}	6,09±0,15 ^{Ab}	4,39±0,36 ^{Ac}	2,60±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ae}	<1,00±0,00 ^{Ae}
<i>L. brevis</i>	6,78±0,26 ^{Ba}	3,09±0,02 ^{Bb}	1,42±0,10 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Bd}	<1,00±0,00 ^{Ad}	<1,00±0,00 ^{Ad}
<i>L. plantarum</i> AK 91	7,46±0,15 ^{ABa}	1,67±0,06 ^{Db}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
<i>E. casseliflavus</i>	7,33±0,35 ^{ABa}	1,56±0,07 ^{Db}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}
Karışık	7,48±0,31 ^{Aa}	2,03±0,02 ^{Cb}	<1,00±0,00 ^{Cc}	<1,00±0,00 ^{Bc}	<1,00±0,00 ^{Ac}	<1,00±0,00 ^{Ac}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Gruplarda depolamanın ilerlemesiyle birlikte TMAB sayıları hızla azalmıştır (p<0,05). Kontrol grubunda 150. günden, *L. brevis* grubunda 120. günden, diğer gruplarda ise 90. günden itibaren laktik asit bakterisi tespit edilmemiştir (Çizelge 4.58). Starter kültür kullanımının depolama sürecinde de mezofilik aerobik bakteriler üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Starter kültürlerin mezofilik aerobik bakteriler üzerindeki inhibisyon etki gösterdiği günlerin farklılık göstermesi, kültürlerin asit üretme yetenekleri ile ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla mezofilik aerobik bakterileri depolamada daha kısa sürede inhibe eden starter kültürlerin kullanımı ile bozulma yapan bu grup bakterilerin faaliyetlerinin daha kısa sürede önlenebileceği belirlenmiştir.

4.7.5. Toplam maya ve küf ile toplam *Enterobacteriaceae* sayıları

Depolama sürecinde gruplarda maya ve küfler ile enterobakterler tespit edilmemiştir. Çetin (2011)'in çalışmasında %4 tuz ve %2,5 sirke içeren salamurada 10⁶ (kob/mL) inokülasyon oranında *L. plantarum* kültürü ile gerçekleştirilen karışık turşu üretiminde, depolama süresince starter kültür grubu ile kontrol grubunda 45. günden itibaren maya tespit edilmiş ve depolama sonuna kadar sayıları önemli düzeyde artmıştır (p<0,05). Söz konusu çalışmada düşük pH değerlerinin laktik asit bakterilerinin gelişimini artırdığı, aynı zamanda turşuların bozulmasına yol açan,

yüzeyde film tabakası oluşturan yüksek asit toleranslı mayaların gelişimini de teşvik ettiği belirtilmiştir. Ayrıca turşularda bazı mayaların biyogen amin üretebildikleri belirtilmiş ve salamuralardaki zayıf pH artışları mayaların üretebildiği amonyak ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada ise sirke içermeyen salamuralarda daha düşük inokülasyon oranında starter kültürlerin kullanımı ile maya ve küfler üzerindeki inhibisyon etkisinin depolama sonuna kadar devam etmesi, kültürlerin etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca mayaların starter kültür kullanımı ile inaktive edilmesi ile salamuralarda biyogen üretme özelliğindeki bazı mayaların olası varlığında, turşularda yüksek miktarlarda biyogen amin oluşumunun engellenebileceği düşünülmektedir.

4.8. Duyusal Analiz Sonuçları

Fermantasyonu tamamlayan turşuların duyusal özelliklerini (renk, lezzet, doku) belirlemek için yapılan duyusal analizlerin sonuçları, Çizelge 4.59.'da verilmiştir.

Çizelge 4.59. Kornişon turşularının duyusal analiz sonuçları

Gruplar	K2D				K3D			
	Renk	Doku	Lezzet	Genel Beğeni	Renk	Doku	Lezzet	Genel Beğeni
Kontrol	2,23±0,60	3,54±0,88	3,31±0,75	3,24±0,66 ^A	2,50±0,85	2,00±0,47	2,80±0,92	2,42±0,50 ^B
<i>L. brevis</i>	2,58±0,79	4,25±0,87	3,92±1,00	3,86±0,68 ^A	2,80±0,79	3,5±0,53	3,50±0,97	3,42±0,73 ^A
<i>L. plantarum</i> AK 87	2,67±0,65	3,83±0,95	3,50±0,90	3,47±0,65 ^A	2,80±0,63	3,8±0,92	3,90±1,20	3,66±0,78 ^A
<i>L. plantarum</i> AK 91	2,33±0,65	3,83±1,34	3,67±0,98	3,52±0,91 ^A	2,55±1,04	3,45±0,69	4,09±0,94	3,51±0,63 ^A
<i>E. casseliflavus</i>	2,92±0,29	3,83±0,89	4,08±1,00	4,04±0,62 ^A	2,40±0,70	2,40±0,52	2,60±1,07	2,54±0,52 ^B
Karışık kültür	2,67±0,49	4,08±0,90	3,58±1,25	3,60±0,83 ^A	2,80±0,63	3,90±0,74	4,00±1,05	3,74±0,73 ^A

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

K2D üretiminde starter kültür kullanılarak üretilen turşuların genel beğenilme oranı, starter kültür kullanılmadan doğal fermantasyon ile üretilen kontrol gruplarına kıyasla belirgin bir farklılık ortaya koymamış (p>0,05) ancak kontrol grupları renk, doku ve lezzet parametreleri açısından daha düşük puan almıştır. *E. casseliflavus* kültürü başta olmak üzere liyofilize starter kültür kullanılan turşular, kontrol

grubuna göre daha çok beğenilmiştir (Çizelge 4.59). Panelistler tarafından, *L. plantarum*, *L. brevis* gruplarında tipik kornişon turşusu lezzeti ve ekşiliği olduğu, karışık kültür ve *E. casseliflavus* kültür gruplarında bu özelliklerin yanında hoş giden turşu aroması olduğu da belirtilmiştir. Kontrol grubu da starter kültür gruplarına yakın ölçüde beğenilmiş ancak ekşilik ve baskın turşu aroması bakımından starter kültürlerin, turşuların duyuşal özelliklerini istenen yönde etkilediği belirlenmiştir.

K3D üretiminde karışık kültür grubu başta olmak üzere *L. plantarum* grupları ile *L. brevis* grupları daha çok beğenilmiştir. *E. casseliflavus* grubu, diğer starter kültür gruplarına göre en az beğenilen turşu grubu olup, genel olarak tipik turşu ekşiliğinin bu turşularda daha az olduğu panelistler tarafından belirtilmiştir. Kontrol grubunun daha yumuşak oldukları ve mayamsı bir tada sahip oldukları belirtilmiştir. Karışık kültür kullanılarak üretilen turşuların duyuşal özelliklerinin, diğer starter kültür gruplarına göre daha çok beğenildiği, kontrol grubunun ise en az beğenilen turşu grubu olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.59). Çalışmada kontrol gruplarında genel değerlendirme sonucunun düşük çıkması, laktik asit miktarlarının daha düşük olması ile ilişkilendirilmiştir. Kornişon turşulardaki duyuşal analiz sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde sitrik asit kullanılan turşuların daha az beğenildiği, starter kültür kullanımının turşuların duyuşal özelliklerini olumlu yönde etkileyerek daha çok beğenildiğini göstermektedir.

Bazı çalışmalarda bir miktar maya aktivitesinin ürünün kalitesine olumlu etkisinin bulunduğu belirtilmekle birlikte (Wu vd., 2014), çoğu turşu fermantasyonlarında maya aktivitesindeki artış, pektolitik enzimler ve uçucu bileşiklerin miktarında artışa sebep olarak ürünlerin fiziksel ve duyuşal kalitesini olumsuz etkilemektedir (Tokatlı vd., 2019). Bu nedenle starter kültür kullanımı ile mayaların aktivitelerinin azaltılması ile olumsuz etkilerin daha az olabileceği sonucuna varılmıştır.

Karışık turşuların duyuşal analiz sonuçları ise Çizelge 4.60'da verilmiştir. Karışık turşularda starter kültür kullanılarak üretilen turşuların genel beğenilme oranı, doğal fermantasyon ile üretilen kontrol gruplarına kıyasla belirgin bir farklılık ortaya koymamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.60).

Çizelge 4.60. Karışık turşuların duyu analizi sonuçları

Gruplar	Renk	Doku	Lezzet	Genel beğeni
Kontrol	3,40±0,52	4,30±0,67	3,90±0,88	3,87±0,57 ^A
<i>L. brevis</i>	3,60±0,84	4,30±0,82	4,40±0,52	4,22±0,47 ^A
<i>L. plantarum</i> AK 91	3,50±0,71	3,90±0,57	3,60±0,84	3,75±0,54 ^A
<i>E. casseliflavus</i>	3,73±0,90	4,09±0,70	3,82±0,87	3,87±0,64 ^A
Karışık	3,30±0,67	3,80±0,79	3,50±0,85	3,60±0,61 ^A

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Panelistler tarafından starter kültür grupları arasında *L. brevis* kültür grubu, turşu ekşilik lezzetinin baskın olması açısından diğer gruplara göre daha çok beğenilmiştir. Karışık turşu fermentasyonlarında her bir sebzenin farklı aroma ve dokuda olduğu düşünüldüğünde, bu etkenlerin fermentasyon sırasında duyu özellikleri belirlemede baskın olduğu düşünülmektedir (Çizelge 4.60).

Sebzelerin turşu yapılarak korunması yaklaşımı, sebze tuz ve/veya asitlendirilmiş sıvı ilavesi ile temel olarak korunmasını içermektedir (De Matoz vd., 2019). Ülkemizde geleneksel yöntemle turşu üretiminde sirke, limon tuzu gibi asitlendirici ajanlar kullanılmakla birlikte sadece tuz içeren salamuralar kullanılarak da üretilmektedir. Bu çalışma kapsamında bazı panelistler, sirke kullanılan turşulardaki asetik asit aromasının genel turşu aromasını baskıladığı için turşuda sirke kullanmadıklarını belirtmişler ve sadece tuzlu salamura kullanarak üretilen K2D turşularının aromasının, geleneksel yöntemden daha iyi olduğunu belirtmişlerdir. De Matoz vd. (2019)'un çalışmasında da asetik asit tadının bazı tüketiciler tarafından sevilmediği belirtilmiştir.

Turşu üretimlerinde starter kültürlerin kullanımı ile doğal fermentasyon ile üretilen ürünlere kıyasla, duyu özelliklerin daha iyi olduğu bazı çalışmalarda belirtilmiştir (Gardner vd., 2001; Suresh, 2008; Çetin, 2011; Xia vd., 2017). Bu çalışmada starter kültürler kullanılarak üretilen turşuların beğenilmesi, turşuların duyu özelliklerini

geliştirebildiğini göstermektedir. Starter kullanımı ile asitliğin hızlı artışının, fermente ürünlerin duysal özelliklerini geliştirdiği Nilchian vd., 2016'nın çalışmalarında da belirtilmiştir.

4.9. Sertlik ve Renk Analizi Sonuçları

Duyusal olarak incelenen turşularda sertlik analizi ve renk analizleri, Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarındaki cihazlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Taze kornişonların renk ve sertlik analiz sonuçları, Çizelge 4.61'de verilmiştir.

Çizelge 4.61. Taze kornişonların renk ve sertlik analizi sonuçları

K2D renk değerleri	K2D sertlik değerleri	K3D renk değerleri	K3D sertlik değerleri
L*: 28,5±0,40		L*: 29,6±0,04	
a*:-12,6±0,03	21,2±0,80	a*:-11,97±0,06	20,8±0,70
b*:15,94±0,16		b*:16,00±0,10	

Turşularda renk tüketicilerin ürün kalitesini belirlemede kullandıkları önemli kriterlerden biridir. Fermantasyon başlangıcında hıyarlardaki yeşil renk, fermantasyon bitiminden itibaren olgunlaşma süresince kendine has yeşilimsi-sarı renkte ideal turşu rengini almaktadır. Ülkemizde hıyar turşu üretiminde karşılaşılan bozulma problemlerin yanında, hıyar renginin beyazlaşması, matlaşması ve olması gereken sarımsı yeşil rengi kaybetmesi de önemli kayıplara yol açmaktadır. İşleme sırasında, yeşil sebzelerdeki renk kaybının nedeninin, pH'nın etkisiyle klorofillerin feofitinlere dönüşmesi olduğu bildirilmiştir. Sebzelerin yeşil rengi, ısıtıldığında veya asidik ortamlarda tutulduğunda, klorofiller feofitin ve feoforbidlere dönüşmekte ve sebzelerin rengi parlak yeşilden mat zeytin yeşili veya zeytin sarısına renge dönüşmektedir (Kazancı, 2008). Ayrıca sebzelerin salamuraya konulmasında kullanılan tuzda bazı iyonların bulunması, pigment oksidasyonuna neden olabilmekte, depolama süresinde de renkte sararma, beyazlama gibi fotooksidasyon reaksiyonları gerçekleşebilmektedir (Franco vd., 2016).

Fermentasyonu tamamlayan ve depolama süresince turşuların renk analizi, CIE L*a*b* sistemi ile her deneme grubu için 10 ölçümün ortalamasını gösterecek şekilde gerçekleştirilmiş ve sonuçları, Çizelge 4.62, ve 4.63'te verilmiştir.

Kornişon turşusu üretimlerinde fermentasyonu tamamlayan turşu gruplarının renk analizleri genel olarak incelendiğinde, sitrik asit kullanılmayan turşu gruplarında depolama süresince aydınlık, sarılık ve yeşillik değerlerindeki önemli düzeyde değişimlerin olmadığı, böylece bu grup turşuların depolamada da kabul edilebilir renkte oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.62).

Çizelge 4.62. Kornişon turşularında renk analizi sonuçları

K2D RENK ANALİZ SONUÇLARI						
Gruplar	1.ay			6.ay		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Kontrol	40,45 ±3,69	-0,05 ±0,70	9,40 ±2,97	37,89 ±5,53	-1,07 ±1,13	8,12 ±1,78
<i>L. brevis</i>	40,47 ±4,89	-0,17 ±0,90	12,15 ±3,39	45,95 ±1,29	-1,33 ±0,65	11,88 ±1,36
<i>L. plantarum</i> AK 87	41,86 ±4,49	-0,26 ±0,66	12,42 ±3,05	48,02 ±2,95	-1,48 ±0,92	9,66 ±1,10
<i>L. plantarum</i> AK 91	42,41 ±3,60	0,05 ±0,45	12,51 ±3,08	41,74 ±1,97	-0,44 ±0,99	13,43 ±3,49
<i>E. casseliflavus</i>	42,54 ±2,58	-0,14 ±0,41	9,76 ±1,97	40,92 ±3,45	-0,06 ±0,52	8,26 ±0,75
Karışık	44,21 ±2,92	-1,80 ±3,57	9,88 ±3,11	42,16 ±1,78	-0,09 ±0,28	10,20 ±1,95
K3D RENK ANALİZ SONUÇLARI						
Gruplar	1.ay			6.ay		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Kontrol	49,65 ±2,28	0,62 ±0,42	16,83 ±1,93	41,30 ±1,72	0,03 ±0,75	12,27 ±2,42
<i>L. brevis</i>	49,03 ±4,63	0,64 ±0,47	14,19 ±5,02	43,76 ±5,47	0,26 ±0,79	10,72 ±0,75
<i>L. plantarum</i> AK 87	51,10 ±4,53	0,61 ±0,69	15,26 ±2,81	45,31 ±3,59	0,60 ±0,41	10,05 ±1,18
<i>L. plantarum</i> AK 91	50,29 ±1,39	0,59 ±0,58	16,37 ±3,76	40,73 ±2,75	0,87 ±0,88	14,75 ±1,47
<i>E. casseliflavus</i>	45,65 ±2,47	0,58 ±0,35	16,75 ±2,56	42,37 ±1,06	0,47 ±0,20	8,10 ±2,96
Karışık	50,67 ±3,65	0,58 ±0,52	14,00 ±4,85	49,07 ±2,38	0,60 ±0,36	12,67 ±1,26

Sitrik asit kullanılan turşularda ise depolama süresince aydınlık, sarılık ve yeşillik değerlerindeki değişimlerin önemli düzeyde olduğu ve depolama sonuna doğru

renkte sararmaların başladığı ancak turşuların duyusal kalitesini etkilemediği belirlenmiştir (Çizelge 4.62).

Karışık turşuda fermentasyon bitiminde renk analizi yapılarak, bu turşu grubunda depolama boyunca renk değişmesinin en fazla görüldüğü beyaz lahanalardaki renk analiz sonuçları, Çizelge 4.63'te verilmiştir.

Çizelge 4.63. Karışık turşuların beyaz lahanalarındaki renk analizi sonuçları

Gruplar	1.ay			6.ay		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Kontrol	73,78 ±1,59	-1,28 ±0,28	13,88 ±1,21	74,20 ±3,43	4,10 ±1,43	31,48 ±2,64
<i>L. brevis</i>	68,69 ±0,35	-0,53 ±0,15	6,47 ±0,52	91,46 ±3,83	-1,36 ±0,99	20,51 ±2,47
<i>L. plantarum</i> AK 91	73,42 ±1,49	-0,60 ±0,32	6,41 ±1,27	82,95 ±8,65	-0,65 ±1,68	20,67 ±3,82
<i>E. casseliflavus</i>	73,10 ±2,24	-0,72 ±0,35	10,94 ±1,00	78,35 ±9,39	0,50 ±1,41	33,27 ±4,66
Karışık	76,69 ±0,56	-1,43 ±0,13	12,27 ±0,78	89,92 ±2,34	-0,07 ±1,51	24,36 ±2,26

Fermentasyon sonunda karışık turşulardaki lahanaların turşuların duyusal olarak istenilen beyaz renkte olduğu panelistler tarafından belirtilmiştir. 6. ayın sonunda ise starter kültür kullanılmayan gruplardaki ve *E. casseliflavus* gruplarındaki lahanaların renginde hafif kararmaların olduğu hem duyusal olarak hem de renk analizleri ile belirlenmiştir (Çizelge 4.63).

Düşük pH ile fermentasyona başlanmasının, renk stabilitesi sağlayarak potansiyel matlaşma, sararma veya kararmaları önlediği, aynı zamanda laktik asit miktarlarının da daha yüksek seviyelere ulaşmasına katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Aktan vd., 1998). Bu çalışmada turşuların, kabul edilir renkte olduğu ve starter kültür kullanımı ile sağlanan daha yüksek oranda laktik asit üretiminin, turşuların fiziki olarak kabul görmesine katkıda bulunduğu belirlenmiştir.

Kornişon turşulardan belirli günlerde alınan örneklerde sertlik analizleri yapılmış ve sonuçlar, Çizelge 4.64 ve 4.65'te verilmiştir.

Turşuların tekstürü, tüketicilerin beğenisini belirlemede önemli faktörlerden biridir. Çalışmada turşuların tekstürünü belirlemede en çok kullanılan objektif testlerden olan delme (puncture) testi kullanılmış olup, depolamada turşuların sertliğindeki değişimler incelenmiştir. Depolama sonuna kadar kontrol grupları, *L. plantarum* ile karışık kültür gruplarındaki turşuların sertliklerindeki değişimler ile 180.gün haricinde starter kültür grupları ile kontrol grupları turşularının sertliklerinin önemli düzeyde farklı olmadığı belirlenmiştir. Gruplarda depolama sonuna kadar yumuşama problemleri belirlenmemiş olup, tüketilebilirliğini korumuştur (Çizelge 4.64).

Çizelge 4.64. K2D turşularında sertlik analizi sonuçları (kg)

Gruplar	30.gün	90. gün	120. gün	180. gün
Kontrol	0,96±0,03 ^{Aa}	1,11±0,12 ^{Aa}	0,81±0,25 ^{Aa}	0,93±0,19 ^{ABa}
<i>L. brevis</i>	0,87±0,05 ^{Aab}	1,05±0,13 ^{Aab}	0,81±0,17 ^{Ab}	1,19±0,09 ^{Aa}
<i>L. plantarum</i> AK 87	1,00±0,08 ^{Aa}	1,11±0,06 ^{Aa}	0,84±0,22 ^{Aa}	1,01±0,13 ^{ABa}
<i>L. plantarum</i> AK 91	1,21±0,02 ^{Aa}	0,95±0,07 ^{Aa}	1,09±0,20 ^{Aa}	1,18±0,08 ^{ABa}
<i>E. casseliflavus</i>	1,09±0,08 ^{Aab}	1,19±0,06 ^{Aa}	0,80±0,61 ^{Ab}	0,87±0,12 ^{ABab}
Karışık	1,06±0,02 ^{Aa}	0,95±0,13 ^{Aa}	1,08±0,26 ^{Aa}	0,73±0,14 ^{Ba}

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Sertlik belirlemede delme testinin, birçok araştırmacı tarafından turşularda kullanıldığı belirtilmiştir (Ji vd., 2013). Bazı araştırmacılar tekstür ölçümünde sadece delme testi ile değerlendirme yapmanın, ürünlerin heterojen yapıda olması nedeniyle kolay olmadığı, bu yüzden mekanik testler ile duyuusal testlerin yapılmasının ürünlerin tekstürü hakkında daha iyi sonuç verdiğini belirtmiştir (Kohyama vd., 2009). Bu çalışmada, K2D üretimi turşularında duyuusal testler ile sertlik analiz sonuçları kıyaslandığında, starter kültür kullanılmayan turşuların daha düşük sertlik değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir.

K3D üretiminde 30. günde turşu gruplarının sertlik değerleri arasındaki farklar, önemsiz düzeyde olmasına rağmen ($p>0,05$), duyu analizde starter kültür kullanılmayan turşuların doku değerleri daha az puan almıştır (Çizelge 4.65). Depolamada 90. günden itibaren K3D üretimi turşuların aşırı yumuşamış oldukları belirlendiğinden, 180. gün sertlik analizleri yapılmamıştır. Üretimde kullanılan glikoz ve sitrik asitin, depolamada mayaların aktivitelerini arttırması dolayısıyla yumuşama probleminde sebep olduğu düşünülmüştür.

Çizelge 4.65. K3D turşularında sertlik analizi sonuçları (kg)

Gruplar	30. gün	90. gün	120. gün
Kontrol	0,26±0,05 ^{Aa}	0,17±0,02 ^{BCa}	0,05±0,00 ^{Ca}
<i>L. brevis</i>	0,59±0,03 ^{Aa}	0,45±0,02 ^{Aa}	0,52±0,22 ^{Ba}
<i>L. plantarum</i> AK 87	0,41±0,02 ^{Aa}	0,28±0,03 ^{Ba}	0,14±0,00 ^{BCb}
<i>L. plantarum</i> AK 91	0,24±0,02 ^{Aa}	0,22±0,02 ^{Ba}	0,08±0,03 ^{Cb}
<i>E. casseliflavus</i>	0,49±0,08 ^{Ab}	0,07±0,03 ^{Cb}	1,10±0,18 ^{Aa}
Karışık	0,37±0,02 ^{Aa}	0,16±0,03 ^{BCab}	0,10±0,01 ^{Cb}

ABC....; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$), abc..; : aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$)

Karışık turşularda depolama boyunca sertlik analizi yapılmamış, bunun yerine yapılan duyu değerlendirmelerde herhangi bir yumuşama sorunu tespit edilmemiştir.

Hıyar turşularında görülen yumuşamanın, pektolitik ve selülotik enzim sistemlerinin faaliyetleri, tuz konsantrasyonu, depolama sıcaklığı ve süresi gibi etkenlerin bir sonucu olduğu belirtilmektedir (Uylaşer ve Erdem, 2004). Fermente sebzelerde görülen bozulmalarının çoğunun mayalarla ilişkili olduğu, mayaların birçoğunun bitki dokusunun bozulmasına yol açan poligalakturonaz ve pektinaz enzimlerini ürettiği belirlenmiştir. Mayaların pektinolitik enzimleri üretebildikleri ve pektinlerin enzimatik yıkım ile yapıda yumuşamaya neden oldukları diğer bazı çalışmalarda da bildirilmiştir (Etchells vd., 1975; Albayram, 2007). Ayrıca hıyar meyvelerinde bulunan küflerin ürettiği selülotik ve pektolitik enzimlerin yumuşamaya yol açtığı, ayrıca hıyar meyvelerinin doğal olarak bazı enzimleri içerdikleri belirtilmiştir (İç ve Özçelik, 1997). Kalite kaybına yol açan yumuşamaları engellemek için önerilen

yöntemler arasında, salamuraya uygun konsantrasyonlarda kalsiyum klorür ve Ca^{++} içeren bileşiklerin ilavesi, pastörizasyon ve koruyucu kullanımının yer aldığı pek çok çalışmada bildirilmektedir (Buescher ve Hudson, 1984, Buescher ve Burgin, 1988; Guillou vd., 1992, İç ve Özçelik 1997; Fleming vd., 1987, Özçelik ve İç, 2000; Şahin ve Akbaş, 2001; Uylaşer ve Erdem, 2004).

Hıyarlara fermentasyon öncesi ısıtma işlem uygulamasının, hıyar turşularında yumuşamaya neden olan enzim aktivitelerini ortadan kaldırdığı, belirli enzimlerin pektik maddeler üzerindeki etkilerinin azalabileceği belirtilmiştir (İç vd., 1999; İç ve Özçelik, 1997). Bu çalışmada hıyarların fermentasyon öncesi çiçeklerinden arındırılması ve yıkanması işlemleri ile ısıtma işlem uygulamasının, enzim aktivitelerini azaltabildiği, aynı zamanda yumuşama sebebi olan maya ve küf sayısını azaltması ile turşuların sertliğine önemli etkileri olduğu düşünülmektedir. Hıyar turşularında sertliğin salamura pH'ları ile ilgili olduğu, salamuraya sertliğin artırılması amacıyla eklenen Ca^{++} iyonlarının yumuşama üzerindeki etkilerinin salamura pH değerlerine de bağlı olabileceği belirtilmiştir (McFeeters ve Fleming, 1991). Bu çalışmada starter kültürlerin kullanımı ile kısa sürede düşük pH değerlerine ulaşılması ve depolama süresince pH değerlerinin sabit düzeylerde kalması sağlanmıştır. Dolayısıyla starter kültür kullanımının, doku sertliğinin artırılması ve depolama süresince korunmasında önemli katkıları olabileceği düşünülmektedir. İç ve Özçelik (1997)'in çalışmasında hıyarların fermentasyon öncesi kısa süreli ısıtma işlem uygulaması ve daha sonra starter kültür ilavesi ile yumuşamalara neden olabilecek hidrolitik enzim konsantrasyonunun azaltılması ya da ortadan kaldırılmasının sağlanabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada K2D üretimlerinde karışık kültür grupları haricindeki starter kültür gruplarında küfler inaktive edilmiş ancak mayalar inhibe edilmese de hızlı çoğalmaları engellenerek aktiviteleri sınırlandırılmıştır. Karışık starter kültürlerin kullanımı ile mayalar ve küfler inaktive edilmişlerdir. Ayrıca tüm gruplarda starter kültürlerin kullanımı ile depolama boyunca da yumuşama problemleri görülmemiştir. K3D üretiminde de karışık kültür haricindeki starter kültürlerin kullanımları, aynı etkileri yaratmış ancak depolamada 90. günden itibaren yumuşama problemleri başlamıştır. Bu üretimde karışık kültür gruplarında maya ve küflerin inaktive edilmesine rağmen, depolamada yumuşamaları, salamuraya ilave

edilen şeker içeriğinin mayaların aktivitelerini arttırarak enzimatik faaliyetlerini hızlandırması ile ilişkilendirilmiştir.

Turşu üretimlerinde starter kültürlerin kullanıldığı Tokatlı (2013), Ji vd. (2013), Tokatlı vd. (2019)'un çalışmalarında da starter kültür kullanılan turşular ve doğal fermantasyon ile üretilen turşular arasında fermantasyon sonunda sertlik değerleri bakımından belirgin bir farklılık ortaya çıkmadığının belirlenmesi, sonuçlarımız ile uyumludur.

4.10. Organik Asit Analizi Sonuçları

Sitrik asit ve glikoz ilave edilerek yapılan turşuların depolamada 90. günden itibaren yumuşaması ve tüketilemeyecek hale gelmesinden dolayı bu grupta analizler yapılmamıştır. K2D üretimi ve karışık turşu üretimindeki salamuraların fermantasyon sonundaki organik asit içerikleri incelenmiş ve sonuçlar, Çizelge 4.66'da verilmiştir.

Organik asitler, özellikle lezzet, renk, aroma gibi sebzelerin organoleptik özelliklerini etkilemektedir. Bu yüzden organik asitlerin belirlenmesi, kimyasal stabilitenin ve lezzet dengesinin belirlenmesi ile mikrobiyal aktivitenin ve fermentasyon gidişatının kontrol edilmesinde bir göstergedir (Ji vd., 2013). Bu çalışmada fermantasyonu tamamlanan turşulardaki organik asit analizleri gerçekleştirilmiştir. K2D üretimi salamuralarında tüm gruplarda okzalik, laktik, asetik, sitrik ve süksinik asit bulunduğu, tartarik, malik ve süksinik asitlerin ise tüm gruplarda bulunmadığı belirlenmiştir. Gruplarda en yüksek konsantrasyonda bulunan organik asit laktik asit olup, bunu asetik ve sitrik asit takip etmiştir. Turşu fermantasyonunda baskın asit olan laktik asidin, starter kültür kullanılan turşu gruplarında, kontrol grubuna göre daha fazla miktarda bulunduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla daha yüksek oranda laktik asidin eldesinde starter kültür kullanımının oldukça etkili olduğu, bunun sonucunda da fermantasyonun kontrollü şekillerde ilerlemesini sağladığı belirlenmiştir (Çizelge 4.66).

Çizelge 4.66. Kornişon ve karışık turşu salamuralarında organik asit analizi sonuçları (ppm)

Kornişon Turşusu	Okzalik	Tartarik	Malik	Laktik	Asetik	Sitrik	Süksinik	Toplam
Kontrol	133,5	*	*	8899,7	2369,3	3701,5	2281,4	17.385
<i>L. b</i>	118,6	943,9	*	9144,4	2255,4	2891,8	1257,7	16.611
<i>L. p</i>	134,0	952,1	916,4	12510,2	3266,9	2837,6	*	20.617
<i>E. c</i>	116,9	1077,3	1120,1	13363,3	2898,0	2007,9	*	20.583
Karışık	106,5	830,2	*	11090,9	2358,4	2916,8	*	17.302
Karışık Turşu	Okzalik	Tartarik	Malik	Laktik	Asetik	Sitrik	Süksinik	Toplam
Kontrol	228,5	1386,3	*	6257,5	2212,5	957,7	*	11.042
<i>L. b</i>	274,3	948,1	*	3921,1	1414,7	701,2	*	7.259
<i>L. p</i>	675,7	1912,5	*	14677,3	3166,1	621,7	*	21.035
<i>E. c</i>	356,8	1846,6	*	12485,3	2841,7	578,0	*	18.081
Karışık	292,4	1882,4	*	15163,0	4144,5	935,2	*	22.417

*:tespit edilmedi, *L. b*: *L. brevis*, *L. p*: *L. plantarum* AK 91, *E. c*: *E. casseliflavus*

En yüksek toplam organik asit miktarı *L. plantarum* ve *E. casseliflavus* gruplarında belirlenmiş, diğer gruplarda ise kontrol gruplarına yakın miktarlarda tespit edilmiştir. Bu nedenle turşu salamuralarında fermentasyon sonunda organik asit içeriğini arttırmak için starter kültürlerin kullanımının önemli bir araç olduğu belirlenmiştir. Salamuradaki organik asitlerin miktar ve çeşitliliği üzerinde fermentasyon süresince salamurada bulunan mikroorganizma gruplarının etkili olduğu düşünülmektedir. Nitekim, *L. plantarum* ve *E. casseliflavus* gruplarında daha yüksek oranda laktik asidin belirlenmesi, inoküle edilen starter kültürlerin homofermantatif metabolizmaları ile ilişkilendirilmiştir. Gruplarda belirli miktarlarda asetik asidin bulunması, fermentasyonda heterofermantatif starter kültürlerin kullanımı ve doğal floradan gelen heterofermantatif LAB'nin metabolizmaları ile ilişkilendirilmiş olup, *L. plantarum* ve *E. casseliflavus* gruplarında daha yüksek miktarlarda belirlenmiştir. Bu

durum *L. plantarum* ve *E. casseliflavus* kültürleri kullanımı ile fermentasyon ortamında sağlanan değişimlerin (düşük pH, yüksek laktik asit üretimi) heterofermantatif LAB'nin gelişimini teşvik edebilmiş olabileceklerini düşündürmektedir. Ayrıca fermentasyon ortamında bulunabilen fakültatif heterofermantatif laktik asit bakterilerinin, oksijen varlığında ve glukoz eksikliğinde fosfoketolaz yoluyla asetik asit ve etanol üretebilmelerinin de salamuradaki asetik asit miktarı üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Malik asidin doğal olarak hıyarlarda bulunan bir organik asit olduğu, malik asidi dekarboksile etme yeteneğindeki laktik asit bakterilerinin malik asitten laktik asit oluşturabildiği bildirilmiştir (McFeeters, 1993). Bu çalışmada K2D üretimi turşularında sadece *L. plantarum* ve *E. casseliflavus* gruplarında malik asidin tespit edilmiş olması, bu gruplarda malik asidi dekarboksile edemeyen LAB'nin bulunduğu ve bu gruplarda hıyar fermentasyonlarında istenmeyen malolaktik fermentasyonun daha az gerçekleşmiş olabildiğine işaret etmektedir. Süksinik asit ise sadece kontrol gruplarında ve *L. brevis* gruplarında belirlenmiştir. Süksinik asidin, LAB tarafından malik asitten oluşturulabildiği göz önüne alındığında (Fleming vd., 1989), bu gruplarda malik asidi dekarboksile eden LAB'nin sayıca daha fazla olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada K2D üretimi turşularında en yüksek sitrik asit miktarı, kontrol gruplarında belirlenmiştir. Olgunlaşmamış hıyarlarda sitrik asitin bulunduğu, olgunlaşma sırasında sitrik asitin birikerek temel asit olabileceği belirtilmiştir (McFeeters vd., 1982). Çalışmada salamuraya sitrik asit ilavesi yapılmadığından, bu asidin kornişonlarda doğal olarak bulunabilmesinin yanında mikrobiyal faaliyetler sonucunda oluştuğu düşünülmektedir. Sitrik, süksinik gibi asitler, aerob solunum yapan mikroorganizmaların sitrik asit döngüsü ile pirüvatı parçalalamaları sırasında da oluşabilmektedir. Dolayısıyla kontrol grubunda sitrik asit ve süksinik asit miktarlarının diğer gruplara göre fazla olması, aerob mikroorganizmalar ile mayaların aktiviteleri ile ilişkilendirilmiştir. Bazı sitrat kullanabilen LAB'lerindeki sitrat liyaz enzimi ile sitrik asidin oksaloasetata ve asetata dönüştürüldüğü

düşünüldüğünde (Hugenholtz, 1993), mikroorganizma faaliyetlerinin fermente ürünlerin organik asit içeriklerini etkiledikleri sonucuna ulaşılmaktadır.

Tartarik asidin eksiliğinin, malik ve sitrik asitten daha güçlü olduğu ve bu nedenle LAB ile fermente hıyarların tat ve lezzetinin, doğal fermantasyonla üretilen hıyarlara göre daha güçlü olduğu belirtilmiştir (Ji vd., 2013). Bu çalışmada K2D üretimi turşularında starter kültür kullanılan gruplardaki tartarik asit miktarlarının yüksek olması, kontrol grubunda ise tespit edilmemesi, kontrol grubunda tipik turşu eksiliği tadının eksiliğinin bir sebebi olarak görülmüştür. Karışık turşu üretimlerinde ise kontrol grubunda, diğer gruplara göre genel olarak yakın miktarlarda tartarik asit tespit edilmesi, turşu eksiliği bakımından tüm grupların genel olarak aynı derecede olmasını açıklamaktadır.

Karışık turşularda ise tüm gruplarda süksinik ve malik asit tespit edilmemiştir. *L. brevis* kültür grubu haricindeki starter kültür gruplarının toplam organik asit içeriği, kontrol grubuna göre daha yüksek miktarlarda olup, en yüksek laktik ve asetik asit miktarları, karışık kültür kullanılan turşularda belirlenmiştir. Çalışmada karışık turşu üretimlerinde, karışık kültür kullanımı başta olmak üzere starter kültürlerin kullanımı ile turşuların organik asit miktarlarının arttırılabileceği, aynı zamanda üretilen organik asitlerin antimikrobiyal ve antifungal etkileri ve salamura pH'larının azalmalarını sağlamaları ile turşunun mikrobiyolojik stabilitesi ve lezzeti üzerinde önemli etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Starter kültürler ile gerçekleştirilen turşu üretimlerinde fermantasyon metabolitlerinin incelendiği çalışmalardan Nilchian vd. (2016)'nın çalışmasında laktik asitin salamurada temel metabolik ürün olduğu, asetik asidin de belirli miktarlarda belirlendiği, tartarik, malik ve sitrik asidin ise tespit edilmediği belirtilmiştir. Bazı çalışmalarda da fermantasyon metabolitleri olarak laktik ve asetik asidin tespit edildiği ve temel metabolitin laktik asit olduğu belirtilmiştir (Gardner vd., 2001; Ji vd., 2013; Tokatlı vd., 2019; Alan, 2019; Alan ve Yıldız, 2020).

Laktik ve asetik asidin yüksek olmasının, hıyarların muhafazası ve lezzeti için faydalı olduğu bildirilmiştir (Franco ve Pérez-Díaz, 2012; Franco vd., 2012). Bu çalışmada starter kültür gruplarında organik asit miktarlarının kontrol gruplarına göre yüksek olmasının, turşuların muhafazasına hem de duyuşsal özelliklerine olumlu etkileri olması bakımından starter kültürlerin kullanımının önemli olduğu belirlenmiştir. Kornişon ve karışık turşu üretimlerinde, karışık starter kültür gruplarındaki laktik, asetik ve sitrik asit miktarlarının, diğer starter kültür gruplarına göre yüksek oranlarda bulunması, karışık starter kültürlerin kullanımı ile söz konusu organik asitlerin sinerjistik etkilerinin artabileceği, bu nedenle antifungal olarak daha etkili oldukları düşünülmektedir. Asetik asidin, maya, küf ve bakterileri inhibe edebildiği, laktik asitten daha çok inhibitör etkilere sahip olduğu göz önüne alındığında (Fitzgerald ve Caplice, 1999), heterofermantatif ve homofermantatif metabolizmalara sahip starter kültürlerin karışık kültür formülasyonlarında kullanılmasının bu konuda önemli etkilerinin olmasının yanında, turşularda organik asit çeşitliliğinin artmasını sağlayacağı düşünülmektedir.

4.11. Aroma Profili Analizi Sonuçları

K2D üretimi turşularında aroma profili analizi sonucu tespit edilen aroma maddeleri oranları, Çizelge 4.67’de verilmiştir.

Çizelge 4.67. K2D turşularında aroma profili analizi sonucu

AROMA PROFİLİ	Kontrol	<i>L.b</i>	<i>L.p</i>	<i>E.c</i>	Karışık
Ethanol	20.73	30.71	8.25	10.25	31.60
Dimethyl sulfide	0.23	0.54	1.83	2.72	1.12
1-Propanol	0.36	*	*	*	*
3-Methylpentane	22.51	*	*	*	*
Acetic acid	25.06	43.33	38.98	40.38	25.76
1-Pentene-3-ol	0.67	*	*	*	*
3-Methyl-1-butanol	0.86	*	*	*	*
1-Pentanol	1.92	*	*	*	*
cis-3-Penten-1-ol	0.49	*	*	*	*
Hexanal	0.41	0.45	0.99	0.68	0.76
cis-3-Hexene-1-ol	1.99	2.74	3.50	2.63	1.18
trans-2-Hexen-1-ol	1.67	1.41	1.17	*	0.62

*: tespit edilmedi, *Lb*: *L. brevis*, *L.p*: *L. plantarum* (91), *E.c*: *E. casseliflavus*

Çizelge 4.67. K2D turşularında aroma profili analizi sonucu (Devam)

AROMA PROFİLİ	Kontrol	<i>L.b</i>	<i>L.p</i>	<i>E.c</i>	Karışık
Hexanol	4.04	3.02	5.12	1.11	1.72
2-Ethylhexanol	0.71	0.82	*	*	9.69
Benzyl alcohol	1.86	0.88	*	*	*
Oct-2€-enal	0.69	1.14	1.76	1.16	2.93
Linalool	13.73	11.04	*	29.08	15.92
Methyl salicylate	1.20	0.79	*	*	1.49
Hept-2€-enal	*	*	1.63	*	*
1-Octen-3-one	*	*	0.22	*	*
1-Octen-3-ol	*	*	0.65	*	*
6-Octen-2-one, (Z)-	*	*	0.67	*	*
3-Octanone (CAS) EAK	*	*	1.53	*	0.52
Octanal	*	*	0.31	*	*
2-Propanone (CAS) Acetone	*	*	*	0.85	*
3-Pentanone (CAS) Diethyl ketone	*	*	*	0.69	*
2-Butanone, 3-hydroxy-(CAS) Acetoin	*	*	*	1.25	*
Heptanal	*	*	*	0.47	0.45
6-Methyl-5-hepten-2-one	*	*	*	1.18	*
Hexanoic acid	*	*	*	*	*
Ethyl vinyl ketone	*	*	*	0.49	*
Nona-2€,6(Z)-dienal	*	*	*	*	0.82
beta- Fenchyl alcohol	0.86	1.39	*	1.81	1.60
2-Pentanone	*	0.09	1.38	*	*
Pentanol	*	1.17	2.84	1.00	0.90
Nonanal	*	0.49	*	1.65	1.04
Ethyl Acetate	*	*	1.10	1.48	1.38
2-Butenal	*	*	0.86	*	*
3-Pentanone	*	*	1.46	*	*
€-2-Hexenal	*	*	0.35	*	*
2-Heptanone	*	*	2.44	*	*

*: tespit edilmedi, *Lb*: *L. brevis*, *L.p*: *L. plantarum* (91), *E.c*: *E. casseliflavus*

Aroma profili incelendiğinde, tüm gruplarda etanol ve asetik asidin aroma bileşenleri içerisinde yüksek oranda bulundukları, nona-2€,6(Z)-dienal, Octanal, linalool, hexanol ve hexanal gibi taze hıyar aroma bileşenlerinin gruplara göre değişen oranlarda yer aldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.67). *L.brevis* ve karışık starter kültür gruplarında etanol seviyesinin, *L. brevis* gruplarında asetik asit oranlarının diğer gruplara göre yüksek olması, *L. brevis* kültürünün zorunlu heterofermentatif olması ile ilişkilendirilmiştir. Salamurada bulunan etanol miktarı üzerinde

fermantasyon bulunan fakültatif ve zorunlu heterofermantatif laktik asit bakterileri ile mayaların oldukları düşünülmektedir.

Turşu salamuralarında *trans*-4-hexenoic acid ve *cis*-4-hexenoic acid'in önemli aroma bileşenleri olduğu, taze hıyarlarda ise (E,Z)-2,6-nonadienal, (E)-2-nonenal, hexanal, (E)-2-hexenal, (E)-6-nonenal, nonanal, (Z)-2-heptenal, pentanal, propanal, (E,E)-2,4-heptadienal, 1-nonanol, 1-nexanol, (Z)-3,6-nonadien-1-ol gibi birçok aroma maddelerinin yer aldığı yapılan bazı çalışmalarda belirlenmiştir (Forss vd., 1962; Schieberle vd., 1990; Zhou ve McFeeters, 1998; Marsili ve Miller, 2000; Chen vd., 2015).

Zhou ve McFeeters (1998), *L. plantarum* ile düşük tuzlu salamurada gerçekleştirdikleri çalışmalarında taze hıyar aroması veren (E,Z)-2,6-nonadienal ve 2-nonenal bileşenlerinin, fermentasyon süresince azaldığını belirtmişlerdir. Çalışmada taze hıyarlarda etil asetat, hexanal, hexanol, 2-heptenal, actanol, linalool, (E,Z)-2,6-nonadienal bileşenlerinin bulunduğu, fermentasyon sonunda salamurada miktarlarının değiştiği belirtilmiştir. Ayrıca, lipoksigenaz enziminin taze hıyar aromasının oluşmasında önemli bir enzim olduğunu ve fermentasyon ile salamura pH'larının azalması ile linolenik ve linoleik asitten sırasıyla (E,Z)-2,6-nonadienal ve 2-nonenal bileşenlerinin oluşumunun engellenebileceği vurgulanmıştır. Dolayısıyla laktik asit fermentasyonu ile salamura pH'larındaki azalmalarla birlikte salamuradaki aroma maddelerinin miktarlarının değişebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada söz konusu aroma maddelerinin starter kültür gruplarında tespit edilmesi ve bulunma yüzdelerinin kontrol gruplarına göre daha yüksek olması, starter kültür kullanımı ile taze hıyar aroma bileşenlerinin fermentasyonda azalmasına rağmen tespit edilmesi bakımından turşunun duyuşal özelliklerine olumlu etkilerinin olduğu düşünülmektedir.

Zhou ve McFeeters (1998)'in çalışmalarında salamuraya asetik asit ilavesi yapıldığında oluşan ethyl acetate, isopropyl acetate, isopropyl propionate, propyl propionate, butyl acetate, isopropyl butyrate esterlerinin, asetik asitten kaynaklandığı belirtilmiştir. Salamurada asetik asit kullanılmayan bu çalışmada ise

fermantasyon sonunda üretilen asetik asit, starter kültür gruplarında kontrol gruplarına göre daha yüksek oranda belirlenmiştir. Starter kültürlerin oluşturduğu asetik asidin hem turşuların aromasını olumlu yönde etkilediği hem de mikroorganizmalar tarafından üretilen etil asetatın kaynağı olduğu düşünülmektedir.

4.12. Biyojen Amin Analizi Sonuçları

Fermentasyonu tamamlanan K2D üretimi ve karışık turşu (KT) salamuralarındaki organik asit analizi, Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından, biyojen amin analizi ise Mehmet Akif Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezinde hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada turşularda yaygın olarak bulunan kadaverin, putresin, tiramin, triptamin, histamin, feniletilamin, spermin ve spermidin biyojen aminleri belirlenmiş olup, analiz sonuçları Çizelge 4.68’de verilmiştir.

Hem karışık hem de kornişon turşularında tiramin, putresin ve spermin biyojen aminleri tespit edilmiştir. Starter kültür kullanılmayan turşulardaki toplam biyojen amin miktarlarının, starter kültür kullanılan turşulara göre daha yüksek seviyede olduğu, ancak biyojen amin miktarlarının toksik limitlerin altında olduğu tespit edilmiştir. Karışık turşu üretiminde kontrol grupları ile karışık kültür grupları haricindeki starter kültür gruplarındaki toplam biyojen amin miktarları birbirine yakın değerlerde tespit edilmiştir. Karışık kültür gruplarındaki toplam biyojen amin miktarının, kontrol gruplarından yüksek olması beklenmeyen bir sonuç olarak karşımıza çıkmış ancak değerler toksik limitlerin altında tespit edilmiştir. Çalışmada arjinin ve tirozinden biyojen amin oluşturma özelliğinde olan *L. brevis* starter kültürünün kullanıldığı turşularda, putresin ve tiraminin tespit edilmediği, karışık turşulardaki putresin biyojen amin miktarının da toksik limitlerin altında olduğu, tiraminin ise tespit edilmediği belirlenmiştir. Bu nedenle söz konusu bakterinin sıvı besiyerinde putresin ve tiramin üreticisi olduğu belirlenmiş olmasına karşın turşu ortamında biyojen amin üretmedikleri belirlenmiştir.

Çizelge 4.68. Turşu salamuralarında biyojen amin analizi sonuçları (mg/L)

Gruplar	C	P	T	TR	H	PEA	S	SP	Toplam
K2D Kontrol	*	3,77	*	*	0,38	*	0,62	*	4,77
K2D <i>L.b</i>	*	*	*	*	0,48	*	0,31	*	0,79
K2D <i>L.p</i>	*	0,13	*	*	1,25	*	0,76	*	2,14
K2D <i>E.c</i>	*	0,34	*	*	0,02	*	2,81	*	3,17
K2D Karışık	*	0,16	*	*	0,49	*	0,39	*	1,04
KT Kontrol	*	0,20	*	*	0,38	*	0,47	*	1,05
KT <i>L.b</i>	*	0,29	*	*	0,02	*	0,92	*	1,23
KT <i>L.p</i>	*	0,19	*	*	0,27	*	1,46	*	1,92
KT <i>E.c</i>	*	0,02	*	*	0,74	*	0,33	*	1,09
KT Karışık	*	0,25	*	*	0,54	*	1,49	*	2,28

*: tespit edilmedi, C: Kadaverin, P: Putresin, T: Tiramin, TR: Triptamin, H: Histamin, PEA: feniletilamin, S: Spermin, SP: Spermidin, *L.b*: *L. brevis*, *L.p*: *L. plantarum*(91), *E.c*: *E. casseliflavus*

Gıdalarda biyojen aminlerin oluşumu için ortamda serbest aminoasitlerin bulunması, dekarboksilasyon yapma yeteneğine sahip mikroorganizmaların olması, bu mikroorganizmaların faaliyetlerini sürdürmek için gerekli enzimleri bulundukları ortamda sentezleyebilmeleri gerekmektedir. *Lactobacillus*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Pediococcus*, *Photobacterium*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Streptococcus*, *Vibrio* cinsleri ile birçok *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinin bir veya daha fazla amino asidi dekarboksile etme yeteneğinde olduğu bildirilmiştir (Bucak, 2011). Bakterilerin yanı sıra bazı maya türleri de (*Debaryomyces hansenii*, *Yarrowia lipolytica*, *Pichia jadinii*, *Geotrichum candidum*, *Candida glabrata*, *Candida rugosa*) potansiyel biyojen amin üreticileri olarak tanımlanmıştır (Kung vd., 2006; Alvarez ve Moreno-Arribas, 2014). pH, sıcaklık, tuz ve şeker konsantrasyonu ile starter kültür kullanımının dekarboksilaz aktivitesini etkilediği bilinmektedir (Gürhan, 2021). pH'nın aminoasit dekarboksilaz aktivitesini dolayısıyla biyojen amin üretimini iki şekilde etkilediği

belirtilmiştir. Bu etkiler asitliğin artmasıyla mikroorganizma gelişiminin inhibe olması ve enzim aktivitesini sınırlaması şeklinde iki grupta sınıflandırılmıştır (Akan ve Demirağ, 2018) Mikrobiyal dekarboksilaz aktivitesinin asidik ortam koşullarında arttığı, pH 4,0 -5,5 aralığında optimum seviyelerde olduğu, pH seviyeleri 4,0'ün altına düştüğünde amin pozitif bakterilerin hayatta kalamadıkları için biyogenik amin üretemedikleri anlaşılmıştır (Silla-Santos, 1996). Bu çalışmada starter kültürlerin kullanımı ile salamuraların pH değerleri hızla azalmış ve doğal floradaki biyogen amin dekarboksile edebilen mikroorganizmaların inhibe edilmesiyle de toplam biyogen amin miktarlarının toksik limitlerin altında olması sağlanmıştır. Biyogen aminlerin oluşumu ortam pH'sını yükseltebilmektedir (Alper ve Temiz, 2001). Kornişon turşularında kontrol grubundaki pH değerlerinin daha yüksek olması, bu gruptaki yüksek miktarda biyogen amin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca fermantasyon süresince kontrol gruplarının pH değerlerinin daha yüksek olması, bu gruptaki biyogen amin dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların faaliyetleri sonucu üretilen aminlerin salamura pH'larını arttırmaları ile de ilişkilendirilmiştir. Starter kültürlerin kullanımı ile depolama sürecinde olası dekarboksilaz pozitif bakterilerden toplam mezofilik aerobik bakteriler, laktik asit bakterileri ve enterobakterlerin inhibe edilmeleri sağlanmıştır. Bundan dolayı depolamada turşuların biyogen amin içeriğinin artmasının önlenmesinde önemli etkileri olduğu düşünülmüştür.

Fermente ürünlerde starter kültür kullanımının biyogen aminlerin oluşmasının engellenmesine katkı sağladığı ve biyogen aminlerin starter kültür kullanılmayan doğal fermantasyonlara göre daha az miktarda tespit edildiği yapılan bazı çalışmalarda da belirtilmiştir (Silla-Santos, 1996; Halász vd., 1999; Kalac vd., 2000; Spicka vd., 2002; Turgut, 2006; Alan, 2019). Bu nedenle turşu üretimlerinde starter kültürlerin kullanımının biyogen amin içeriğini azaltmada etkili olduğu düşünülmektedir.

4.13. Liyofilize Starter Kültürlerin Depolamada Canlılık Oranları

Çalışmada liyofilize starter kültürlerin depolama süresince canlılık durumları incelenmiş ve sayım sonuçları ile canlılık oranları, Çizelge 4.69'da verilmiştir.

Depolamada starter kültürlerin canlılıklarında belirli oranlarda azalmalar olduğu belirlenmiştir. *L. brevis* starter kültürünün canlılığında önemli bir değişim tespit edilmemiştir. *L. brevis* kültürü haricindeki kültürlerde ise canlılıkta görülen azalmaların istatistiksel olarak önemli olmasına rağmen, rakamsal olarak düşük seviyelerde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.69).

Çizelge 4.69. Liyofilize kültürlerin saklanması boyunca canlılık oranları (log kob/g)

Liyofilize kültür	0. ay	3.ay	6.ay	9.ay	12.ay
<i>L. brevis</i>	11,83±0,00 (% 100)	11,54±0,00 ^{Aa} (% 97,55)	11,29±0,58 ^{Aa} (% 95,44)	11,10±0,17 ^{Aa} (% 93,83)	10,94±0,03 ^{Aa} (% 92,48)
<i>L. plantarum</i> AK 87	9,1±0,00 (% 100)	8,97±0,00 ^{Ca} (% 98,57)	8,10±0,17 ^{Bb} (% 89,01)	7,75±0,05 ^{Cb} (% 85,16)	7,77±0,40 ^{Bb} (% 85,38)
<i>L. plantarum</i> AK 91	9,2±0,00 (% 100)	8,57±0,00 ^{Da} (% 93,15)	8,52±0,24 ^{Bab} (% 92,61)	8,46±0,15 ^{Bab} (% 91,96)	8,10±0,17 ^{Bb} (% 88,04)
<i>E. casseliflavus</i>	11,8±0,00 (% 100)	11,48±0,00 ^{Ba} (% 97,29)	11,26±0,24 ^{Aab} (% 95,42)	11,00±0,04 ^{Ab} (% 93,22)	10,42±0,10 ^{Ac} (% 88,31)

ABC; aynı sütundaki farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05), abc; aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Starter kültürler arasında en fazla canlılık kaybı (% 13,19), *L. plantarum* (87) kültüründe belirlenmiş, ancak bir yıl içerisinde liyofilize starter kültürlerin canlılıklarını çok fazla kaybetmedikleri tespit edilmiştir (Çizelge 4.69). Kültürlerin bu şartlar altında liyofilizasyon işlemine dayanıklı olmasında, suşların ve liyofilizasyon işleminde kullanılan kryoprotektanın önemli etkilerinin olduğu düşünülmektedir.

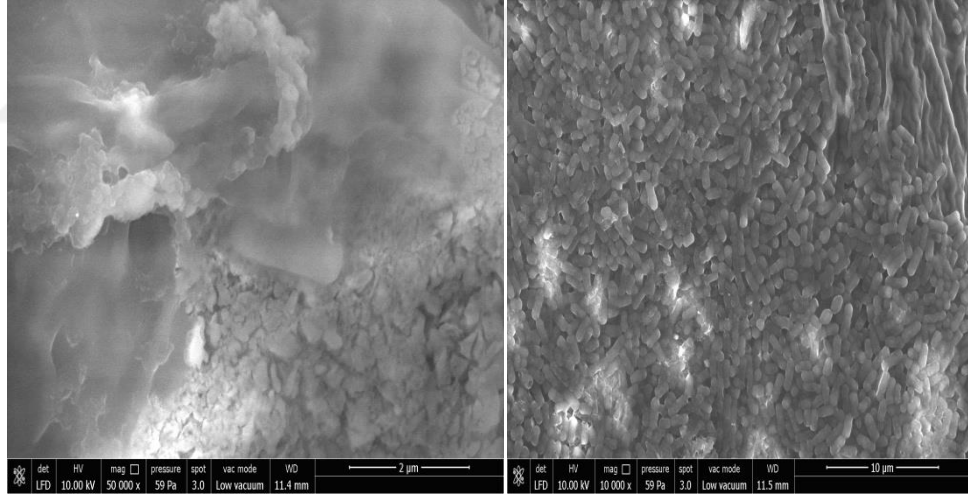
Mikroorganizmaların uzun süreli muhafazası, kültür koleksiyonları ve gıda endüstrisindeki kullanımları için büyük önem taşımaktadır. Gıda fermentasyonları için uygun starter kültürlerin belirlenmesi önemli bir aşama olmakla birlikte, üretimlerde kullanılacak olan starterlerin uzun süre canlılığını koruması, depolama ve taşıma maliyetleri gibi hususlarda endüstriyel olarak uygun olması ve ekonomik kolaylıklar sağlaması istenmektedir. Bu açıdan liyofilizasyon ile starter kültürlerin canlılığını büyük ölçüde kaybetmeden uzun süre muhafazasının sağlandığı, çeşitli gıda prosesleri için en kullanışlı ve ideal bir yöntem olduğu belirtilmektedir (Üçok, 2020). Liyofilizasyon işlemlerinde mikroorganizmaların canlılığında görülen

azalmaları en düşük seviyeye indirmek için kriyoprotektan kullanılan çalışmalar bulunmaktadır (G-Allegria, 2004; Zhao ve Zhang, 2005; Reddy vd., 2009; Shekh, 2020; Üçok, 2020).

Bu çalışmada turşu üretimlerinde kullanılan starter kültürlerin depolamada da canlılıklarını büyük ölçüde kaybetmediği belirlenmiş olup, turşu endüstrisinde kullanımı için uygun oldukları belirlenmiştir.

4.14. Turşu Yüzeylerinin Taramalı Elektron Mikroskopunda Görüntülenmesi

Fermantasyonu tamamlanan turşuların yüzeyinden alınan kesitlerdeki mikroorganizmalar, taramalı elektron mikroskopunda görüntülenmiştir. Şekil 4.2’de *L. plantarum* (solda) ve karışık kültür grubundaki turşularda (sağda), kok ve basil morfolojisindeki bakterilerin kornişonların yüzeyinde bulundukları görüntülenmiştir.



Şekil 4.2. Turşuların taramalı elektron mikroskopundaki görüntüleri

Şekil 4.2’de soldaki fotoğrafta 50.000 büyütme ile turşu kesiti daha yakın görüntülenirken, sağdaki fotoğrafta ise 10.000 büyütme gücü ile görüntüleme yapılmıştır. Turşu kesitindeki görüntüler incelendiğinde, basil ve kok görünümündeki mikroorganizmaların turşu yüzeyinde bulunarak fermantasyonda aktif rol aldıkları belirlenmiştir (Şekil 4.2). Ji vd. (2013)’ün çalışmasında da laktik asit bakterileri

inokölasyonu ile gerçekleştirilen hıyar turşusu üretiminde turşu yüzeyinde laktik asit bakterilerinin yer aldıkları belirtilmiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, geleneksel turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin endüstriyel özelliklerinin belirlenmesi ve liyofilize formlarının turşu üretimlerinde kullanılması amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çalışma kapsamında geleneksel turşu örnekleri ile laboratuvar ortamında geleneksel yöntemle kurulan 73 turşu örneği izolasyon işlemleri için kullanılmıştır. İzolasyon işlemleri sonucunda 145 adet laktik asit bakterisi izole edilmiş ve izolatlar fenotipik olarak tanımlanmıştır. Fenotipik tanımlama testleri sonucunda 75 izolat homofermantatif, 70 izolat ise heterofermantatif olarak sınıflandırılmıştır. İzolatların tamamının 15 °C'de ve % 6,5 tuzda geliştiği, pH 9,6'da ise sadece *E. casseliflavus*'un geliştiği (AK 114) belirlenmiştir.

Seçilen izolatların endüstriyel özelliklerinin belirlenmesinde, öncelikli olarak laktik asit üretim miktarları ve hızları belirlenmiş, yüksek oranda laktik asit üreten izolatlar tespit edilerek çalışmaya bu izolatlar ile devam edilmiştir. Bir sonraki aşamada izolatların tuz ve asit ortamlarda gelişimlerinin belirlenmesi için, sırasıyla % 10 tuz, pH 3, % 10 tuz içeren pH'sı 3'e ayarlanan ortam ve % 10 tuz içeren pH'sı 3,5 olan ortamlardaki gelişimleri incelenerek en iyi gelişen izolatlar belirlenmiştir. Bu testler sonucunda, AK 72, AK 87, AK 91 ve AK 114 izolatları, turşu starter kültürleri olarak belirlenmiştir. İzolatların genotipik tanımlamaları, 16S rDNA dizi analizi ile gerçekleştirilmiştir. Buna göre AK 72; *L. brevis*, AK 87 ve AK 91; *L. plantarum*, AK 114; *E. casseliflavus* olarak tanımlanmıştır. Starter olarak seçilen kültürlerin liyofilizasyonları -60 °C'de 50 mTorr vakum altında gerçekleştirilmiştir. Liyofilize kültürlerin bir yıl depolama sürecindeki canlılık oranları belirlenmiş ve depolama süresince canlılıklarındaki değişimin çok düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

Çalışma kapsamında izolatların, yaygın gıda patojenleri ile bazı maya ve küfler üzerindeki antimikrobiyal ve antifungal etkileri incelenmiştir. *L. plantarum* kültürlerinin incelenen tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterdikleri, *E. casseliflavus* kültürünün ise sadece *S. Enteritidis* ile *B. subtilis* ATCC 6633'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca kültürlerin

antimikrobiyal etkilerinin, ürettikleri laktik asitten kaynaklandığı belirlenmiştir. *L. brevis* kültüründe ise antimikrobiyal etki tespit edilmemiştir. Kültürlerin, test edilen maya ve küfler üzerinde antifungal etki göstermediği belirlenmiştir.

Kültürlerin arjinin, histidin, tirozin ve lisin amino asitlerini dekarboksile ederek biyojen amin oluşturma özellikleri, fenotipik olarak incelenmiştir. Biyojen amin analizi sonucunda arjinin ve tirozinden sadece *L. brevis* ve *L. plantarum* AK 87 izolatlarının biyojen amin üretme özelliklerinin olduğu, tüm izolatların histidin ve lisinden biyojen amin üretmediği belirlenmiştir.

Farklı etki mekanizmalarına sahip antibiyotiklere karşı dirençlilik durumları incelenen kültürlerin vankomisin, gentamisin, polimiksin, metisilin, teikoplanin, kanamisin, neomisin, streptomisin, basitrasin antibiyotiklerine karşı dirençli, eritromisin, rifampin, amoksilin, tetrasiklin ve kloramfenikol 'e karşı duyarlı oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca penisilin G'ye karşı sadece *E. casseliflavus* izolatu dirençli iken, diğer izolatların duyarlı oldukları belirlenmiştir. Genel olarak kültürlerin çoğunun incelenen antibiyotiklere karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Starter kültürler ile kornişon turşusu ve karışık turşu üretimleri gerçekleştirilmiştir. Üretimlerde starter kültürlerin kullanılmadığı kontrol grupları dışında starter kültür grupları ile kontrollü fermentasyon gerçekleştirilmiştir. Kornişon turşusu üretimleri, starter kültürlerin salamuraya inokülasyon oranları ve salamura içeriklerinin farklı olmasından dolayı 3 farklı denemeden (K1D, K2D, K3D) oluşmakta, karışık turşu üretimi ise tek üretim denemesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Kornişon turşusu üretimlerinde kontrol grubu, *L. brevis*, *L. plantarum* AK 87, *L. plantarum* AK 91, *E. casseliflavus* ve bu kültürleri içeren karışık kültür grupları, karışık turşu üretimlerinde ise kontrol grubu, *L. brevis*, *L. plantarum* AK 91, *E. casseliflavus* ve karışık kültür (AK 72, AK 91, AK 114) grupları bulunmaktadır. Starter kültürlerin 10^6 kob/ml olacak şekilde salamuralara inokülasyonu ile gerçekleştirilen turşu üretiminde, fermentasyonun kısa sürede tamamlanmasına rağmen, starter kültürlerin fermentasyonda etkinliklerini yeterince gösteremedikleri, turşuların olgunlaşmasında gecikmelere neden olduğu belirlenmiş ve diğer kornişon turşusu

retimlerinde inokülasyon oranı 10^4 kob/ml olacak Şekilde ayarlanmıştır. 10^4 kob/ml inokülasyon oranında gerŐekleŐtirilen üretimlerde ise, starter kültürlerin fermentasyon ortamına hâkim olarak etkilerini gösterebildikleri belirlenmiŐtır. Çalışmada daha düşük inokülasyon oranı ile fermentasyonda daha etkili sonuçların elde edilmiş olmasının, endüstriyel açıdan daha ekonomik olabileceği belirlenmiŐtır.

Bu çalışmada, turşu üretimlerinde starter kültürlerin kullanımı ile salamuralarda daha hızlı pH düşüşü ve daha yüksek laktik asit üretim oranı olduğu belirlenmiŐtır. Bu açıdan öncelikle *L. plantarum* suşları ve bunu da içeren karışık kültür kullanımının daha etkili olduğu belirlenmiŐtır. Starter kültürlerin kullanımı ile *Enterobacteriaceae* familyası üyelerinin kısa sürede inaktivasyonu sağlanmış, karışık kültür kullanımı ile yumuşama, renk değişimi gibi sorunlara yol açan maya ve küfler kısa sürede inaktive edilmiŐtır. Turşu fermentasyonlarında *L. plantarum*'un baskın ve etkili mikroorganizmalar olduğu olduğu bilinmekle birlikte, starter kültür kullanımını konu alan turşu çalışmalarında, genel olarak *L. plantarum* suşları başta olmak üzere *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* cinsi izolatların kullanıldığı, enterokok izolatlarının ise değerlendirilmediği dikkati çekmiştir. Bu nedenle bu çalışmada farklı *Lactobacillus* cinsi izolatların endüstriyel özellikleri incelenerek farklı suşların etkileri değerlendirilirken turşularda bulunan enterokokların da turşu üretimlerinde kullanımı ile fermentasyonun gidişatı ve turşu kalitesi üzerinde oluşturduğu etki belirlenmiŐtır. Kullanılan enterokok suşunun, *L. plantarum* suşları gibi yüksek asit oluŐurmamasına rağmen, ürettikleri aroma maddeleri ile turşuların duyusal özelliklerini geliştirdiği ve ortamdaki laktik asit bakterileri ile sinerjist etki yaratarak diğer laktik asit bakterilerinin ortama hakim olmalarına destek olduğu düşünülmektedir.

Fermentasyon sonunda turşuların duyusal analizleri gerŐekleŐtirilmiŐ ve kültür içeren grupların doğal fermentasyon ile üretilen turşulara göre daha fazla beğenildiği belirlenmiŐtır. Fermentasyonu tamamlamış turşulardaki biyojen amin miktarlarının toksik limitlerin altında olduğu belirlenmiŐtır. Organik asit ve aroma maddeleri analizleri sonucunda ise starter kültürlerin kullanımının turşu salamuralarında organik asit miktarının arttırılmasını sağladıkları, ürettikleri aroma

maddeleri ile turşuların duysal özelliklerini olumlu yönde etkiledikleri belirlenmiştir. Taramalı elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde, laktik asit bakterilerinin fermentasyon süresince turşularda bulundukları belirlenmiştir. Ayrıca turşularda önemli kalite parametrelerinden olan renk ve sertlik analizleri gerçekleştirilmiştir. Depolama süresince tuz ve kültür dışında herhangi bir katkı olmayan gruplarda renk ve sertlik açısından turşu kalitesi daha iyi bulunurken, sitrik asit ve glikoz kullanılarak kurulan turşularda ise depolamada yumuşama ve renkte sararmalar olduğu belirlenmiştir.

Ülkemizde turşu üretimlerinde starter kültürlerin kullanımı yaygın olmamakla birlikte, bu çalışmada endüstriyel özellikleri belirlenen starter kültürler ile kontrollü fermentasyon gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda starter kültür kullanılmayan doğal fermentasyonla üretilen turşularda ise laktik asit bakterilerinin ortama daha geç hâkim oldukları, dolayısıyla enterobakterler, mezofilik aerobik bakteriler ile maya ve küflerin inaktivasyonunda yaşanan gecikmelerden dolayı turşu kalitesinin olumsuz etkilendiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda turşu kalitesi üzerinde starter kültürlerin kullanımının etkili oldukları ve fermentasyonun gidişatını olumlu yönde etkiledikleri belirlenmiştir. Sağlanan bu faydaların depolama süresince de devam ettiği ve turşuların depolama stabilitesine önemli katkılarının olduğu, depolama süresince yapılan kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre belirlenmiştir.

Ülkemizde yaygın olarak tüketilen turşu kalitesinin yükseltilmesi ve endüstriyel üretimlerde doğal floradan kaynaklanabilecek risklerin azaltılması için, kontrollü fermentasyon uygulamalarına ve starter kültür kullanımına gerek duyulmaktadır. Ayrıca turşu üretiminde yumuşama ve benzeri sorunlara yol açan mayalar üzerine çalışmalar bulunmakla birlikte starter kültürler ile mayalar üzerindeki etkileşimleri konu alan daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışmada karışık starter kültürlerin üretilen turşularda maya ve küfleri kısa sürede inaktive etmesi dikkat çekici olmuştur.

Ülkemizde süt endüstrisi dışında starter kültür kullanımının yaygın olmadığı ve bu konuda yapılan bilimsel çalışmaların sınırlı sayıda olduğu dikkati çekicidir. Ülkemizde turşu starter kültürlerinin aktif formlarının kullanıldığı çalışmalar bulunmakla birlikte, liyofilize formdaki kültürlerin kullanımı ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle geleneksel turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin endüstriyel özelliklerinin daha geniş çapta araştırılarak turşu üretimleri için uygun starter kültür ve/veya kültür kombinasyonlarının oluşturulması için bilimsel araştırmalar teşvik edilmeli, bu kültürlerin orta ve büyük ölçekte üretilmeleri için araştırma-geliştirme faaliyetleri gerçekleştirilmelidir. Bu konuda gerekli teşviklerin yapılarak, endüstriyel boyutta liyofilize yerel turşu starter kültürlerinin üretilmesinin sağlanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu tarz kültürlerin turşu endüstrisinde uygulamaya geçilebilmesi için ölçek büyütme çalışmaları yapılmalıdır.

Yapılan bu çalışmada starter kültürlerin liyofilize formlarının turşu üretimlerinde kullanım kolaylığı sağlaması, depolamada canlılık kayıplarının önemli düzeyde olmaması ve turşu kalitesi üzerinde sağladığı faydalar neticesinde turşu üreticileri tarafından kullanımının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Akan, S., Demirağ, M. K. 2018. Gıdalarda biyojen amin oluşum mekanizmalarına etki eden faktörler ve biyojen aminlerin diğer bileşiklere dönüşümleri. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 24(7), 1388-1392.
- Akpınar Kankaya, D., Özden Tuncer, B., Tuncer, Y. 2017. Gıda Kaynaklı Enterokokların Potansiyel Risk Faktörleri. Gıda / The Journal of Food, 42, 8–19.
- Aktan, N., Kalkan, H. ve Yücel, U. 1998 Turşu Teknolojisi, Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları, No:23, 148s.
- Aktaş, B., Budinich, M., Hoza, L., Rankin, S. A., Broadbent, J. R., Steele, J. L. 2022. Shelf-life studies of putative probiotic *Lactocaseibacillus casei* strains in milk and model yogurt. Food Science and Technology International, 0(0), 1-10.
- Aktaş, H., Çetin, B. 2022. Investigation of Starter Culture Properties And Antifungal Activities of Pickle-Derived Lactic Acid Bacteria. Gıda, 47(3), 387-398.
- Alan, D., 2015. Doğal turşulardan *Lactobacillus paraplantarum* ve *Lactobacillus pentosus* suşlarının moleküler tanımlanması ve plazmid içeriklerinin belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 71s, Kahramanmaraş.
- Alan, Y. 2019. Culture fermentation of *Lactobacillus* in traditional pickled gherkins: Microbial development, chemical, biogenic amine and metabolite analysis. Journal of food science and technology, 56(8), 3930-3939.
- Alan, Y., Yıldız, N. 2021. Effects of Lactobacillus used as the starter culture on naturally fermented pickled cabbage. Food Science and Technology, 42.
- Albayram, C. 2007. Turşu ve Zeytinde Gelişen Mayaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 88s, Samsun.
- Alhendawi, R.A., Römheld, V., Kirkby, E.A. and Marschner, H. 1997 Influence of increasing bicarbonate concentrations on plant growth, organic acid accumulation in roots and iron uptake by barley, sorghum and maize,. Journal of Plant Nutrition, 20 (12), 1731-1753.
- Alper, N., Temiz, A. 2001. Gıdalardaki Biyojen Aminler ve Önemi. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 58(2), 71-80.
- Altieri, C., Ciuffreda, E., Maggio, D.B., Sinigaglia, M., 2016. Lactic Acid Bacteria As Starter Cultures. Starter Cultures in Food Production, Edited by Barbara

- Speranza, Antonio Bevilacqua, Maria Rosaria Corbo, Milena Sinigaglia. Wiley Blackwell Publishing, 1-15.
- Alvarez, M. A., Moreno-Arribas, M. V. 2014. The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. Trends in food science & technology, 39(2), 146-155.
- Arslankoz, N. Y., Özçelik, F. T. D. 2011. Ankara Çubuk yöresi turşularından izole edilen laktik asit bakterilerinin bazı teknolojik ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 71 s, Ankara.
- Avunca, S. C., Çetin, Ö. Ö., Mehmetoğlu, A. Ç., Öztürk, M. 2022. Identification of Lactic Acid Bacteria in Fermented Cornichon Pickles Produced with Acid Whey and Vinegar. Sakarya University Journal of Science, 26(2), 273-282.
- Bağder Elmacı, S., Tokatlı, M., Dursun, D., Özçelik, F., Şanlıbaba, P. 2015. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles of the Çubuk region in Turkey. Folia Microbiologica, 60(3), 241-251.
- Basdogan, M.G. 2020. Geleneksel olarak üretilen turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik potansiyelinin belirlenmesi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 98s, İzmir.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., Turck, M. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. American Journal of Clinical Pathology, 45(4), 493–496.
- Bevilacqua, A., Altieri, C., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., Ouoba, L.I.I. 2010. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Italian Bella di Cerignola table olives: selection of potential multifunctional starter cultures. Journal of Food Science, 75: M536-M544.
- Boricha, A. A., Shekh, S. L., Pithva, S. P., Ambalam, P. S., Vyas, B. R. M. 2019. In vitro evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus* species of food and human origin. LWT, 106, 201-208.
- Bourdichon, F, Casaregola, S, Farrokh, C, Frisvad, JC, Gerds, ML, Hammes, WP, Harnett, J, Huys, G, Laulund, S, Ouwehand, A, Powell, IB, Prajapati, JB, Seto, Y, Ter Schure, E, Van Boven, A, Vankerckhoven, V, Zgoda, A, Tuijelaars, S Hansen, EB., 2012. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use, International Journal of Food Microbiology, 154(3), 87-97.
- Bover-Cid, S., Holzapfel, W.H. 1999. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 53, 33-41.

- Breidt, F., Hayes, J. S., Fleming, H. P. 2000. Reduction of microflora of whole pickling cucumbers by blanching. *Journal of food science*, 65(8), 1354-1358.
- Bucak, Ö. 2011. Laktik Asit Bakterilerinde Biyojenik Amin Üretiminin Moleküler Olarak Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 50s, Kahramanmaraş.
- Buckenhüskes, H. J. 1993. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS microbiology reviews*, 12(1-3), 253-271.
- Buescher, R. J. M. Hudson, 1984. Softening of Cucumber Pickles by Cx- Cellulase and its Inhibition by Calcium. *Journal of Food Science*, 49 (3), 954-955.
- Buescher, R. W., Burgin, C. 1988. Effect of calcium chloride and alum on fermentation, desalting, and firmness retention of cucumber pickles. *Journal of Food Science*, 53(1), 296-297.
- Carr, F. J., Chill, D., Maida, N. 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28(4), 281-370.
- Chen, S., Zhang, R., Hao, L., Chen, W., Cheng, S. 2015. Profiling of volatile compounds and associated gene expression and enzyme activity during fruit development in two cucumber cultivars. *PLoS One*, 10(3), e0119444.
- Chen, Y. S., Wu, H. C., Lo, H. Y., Lin, W. C., Hsu, W. H., Lin, C. W., Yanagida, F. 2012. Isolation and characterisation of lactic acid bacteria from jiang-gua (fermented cucumbers), a traditional fermented food in Taiwan. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(10), 2069-2075.
- Ciurzynska, A., Lenart, A., 2011. Freeze-drying-Application in Food Processing and Biotechnology- A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 61(3).
- Costilow, R. N., Gates, K. ve Lacy, M.L., 1980. Molds in Brined Cucumbers: Cause of Softening Durin Air- Purging of Fermentations. *Appl. Enviroment*. 1980. 40 (2): 417-422.
- Çetin, B., 2011. Production of probiotic mixed pickles (Turşu) and microbiological properties. *African Journal of Biotechnology*, 10(66), 14926-14931.
- Çetin, B., Çakmakçı, S., Yıldız, H., Bilginer, H., Tarakçıoğlu, F., 2017. Turşu Fermantasyonunda Kullanılabilecek Laktik Asit Bakterilerinin Belirlenmesi ve Probiyotik Turşu Üretimi için Uygun Suşların Seçimi, Proje Sonuç Raporu. Tübitak, Ankara.

- Çon, A. H., Karasu, N. 2009. Determination of antagonistic starter cultures for pickle and olive fermentation processes. Czech Journal of Food Sciences, 27(3), 185-193.
- Daeschel, M. A., Fleming, H.P. 1987. Achieving pure culture cucumber fermentations. Review, A. Development in Industrial Microbiology Pierce. G.E. Society for Industrial Microbiology Arlington, V.A., 28, 141-148.
- Daeschel, M. A., Fleming, H. P., McFeeters, R. F. 1988. Mixed culture fermentation of cucumber juice with *Lactobacillus plantarum* and yeasts. Journal of Food Science, 53(3), 862-864.
- Daeschel, M.A., Andersson, R.E. and Fleming, H. P. 1987. Microbial Ecology of Fermenting Plant Materials. FEMS Microbiology Reviews, 46, 357-367.
- Daeschel, M.A., Fleming, H.P. 1984. Selection of lactic acid bacteria for use in vegetable fermentations. Food Microbiology., 1, 303 – 313.
- de Matos, A. D., Marangon, M., Magli, M., Cianciabella, M., Predieri, S., Curioni, A., Vincenzi, S. 2019. Sensory characterization of cucumbers pickled with verjuice as novel acidifying agent. Food chemistry, 286, 78-86.
- Deepak, B., Iqbal Z., 2015. Lyophilization Process and Optimization for Pharmaceuticals. International Journal of Drug Regulatory Affairs;, 3(1), 30-40.
- Demirgöl, F., Sağdıç, O., 2017. Laktik Starter Kültür  retim Teknolojisi. Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, 7(11), 27-37.
- Di Cagno, R., Surico, R. F., Siragusa, S., De Angelis, M., Paradiso, A., Minervini, F., De Gara, L., Gobbetti, M. 2008. Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. International journal of food microbiology, 127(3), 220-228.
- Dursun, D., 2010. Ankara  ubuk Yöresi Tur ularından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Toplam Hücre Protein Profillerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 100s, Ankara.
- Dündar, R., 2017. Geleneksel Olarak  retilmi  Ev Tipi Tur ularda Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Tanısı. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 64 s, Erzurum.
- Egbe, J. B., Lennox, J. A., Anitha, P. R., Umoafia, G. E., 2017. Lactic Acid Bacteria Profile of Fermenting Cucumber in 7% Brine Solution. Journal of Advances in Microbiology, 3(1): 1-8.

- Erginkaya, Z., Yurdakul, N.E., Karakaş, A. 2007. *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*'in Starter ve Probiyotik Kültür Özellikleri. Gıda 32 (3), 137-142s.
- Ergün, Z., 2015. Biyolojik Maddelerin Kurutularak Saklanması: Liyofilizasyon. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 26(1), 35-40.
- Etchells, J. L., Bell, T. A., Fleming, H. P., Kelling, R. E., Thompson, R. L. 1973. Suggested procedure for the controlled fermentation of commercially brined pickling cucumbers—the use of starter cultures and reduction of carbon dioxide accumulation. *Pickle Pak Sci*, 3(4).
- Etchells, J. L., Costilow, R. N., Anderson, T. E. ve Bell, T. A., 1964. Pure Culture Fermentation of Brined Cucumbers. *Applied microbiology*. 12(6), 523-535.
- Etchells, J. L., Fleming, H. P., and Bell, T. A. 1975. Factors influencing the growth of lactic acid bacteria during the fermentation of brined cucumbers. *In: Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food* (eds. Carr, J. G., Cutting, C. V., and Whiting, G. C.). Academic Press, London, 281–305.
- Fasina, O. O., Fleming, H. P. 2001. Heat transfer characteristics of cucumbers during blanching. *Journal of Food Engineering*, 47(3), 203-210.
- Fitzgerald, G. F. and Caplice, E. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 131-149.
- Fleming, H. P., McDonald, L. C., McFeeters, R. F., Thompson, R. L., Humphries, E. G. 1995. Fermentation of cucumbers without sodium chloride. *Journal of food science*, 60(2), 312-315.
- Fleming, H. P., McFeeters, R. F., Daeschel, M. A., Humphries, E. G., Thompson, R. L. 1988. Fermentation of Cucumbers in Anaerobic Tanks. *Journal of Food Science*, 53(1), 127–133.
- Fleming, H. P., Daeschel, M. A., McFeeters, R. F., Pierson, M. D. 1989. Butyric acid spoilage of fermented cucumbers. *Journal of Food Science*, 54(3), 636-639.
- Fleming, H. P., R. F. McFeeters, R. L. Thompson, 1987. Effects of Sodium Chloride Concentration on Firmness Retention of Cucumbers Fermented and Stored Calcium Chloride. *Journal of Food Science*, 52 (3): 653- 657.
- Forss, D. A., Dunstone, E. A., Ramshaw, E. H., Stark, W. 1962. The flavor of cucumbers. *Journal of Food Science*, 27(1), 90-93.

- Franco, W., Pérez-Díaz, I. M. 2013. Microbial interactions associated with secondary cucumber fermentation. *Journal of applied microbiology*, 114(1), 161-172.
- Franco, W., Johanningsmeier, S., Lu, J., Demo, J., Wilson, E., Moeller, L. 2016. Cucumber fermentation. *Lactic acid fermentation of fruits and vegetables*, 107-155.
- Franco, W., Pérez-Díaz, I. M. 2012. Development of a Model System for the Study of Spoilage Associated Secondary Cucumber Fermentation during Long-Term Storage. *Journal of food science*, 77(10), M586-M592.
- Franco, W., Pérez-Díaz, I. M., Johanningsmeier, S. D., McFeeters, R. F. 2012. Characteristics of spoilage-associated secondary cucumber fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(4), 1273-1284
- Françoise, L., 2010. Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiology*, 1-12.
- Foulquié Moreno, M. F., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., De Vuyst, L. 2006. The role and application of enterococci in food and health. *International journal of food microbiology*, 106(1), 1-24.
- Gaidhani, K. A., Harwalkar, M., Bhambere, D., Nirgude, P. S., 2015. Lyophilization/freeze drying—A Review. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(8), 516-543.
- G-Alegría, E., López, I., Ruiz, J. I., Sáenz, J., Fernández, E., Zarazaga, D., Ruiz-Larrea, F. 2004. High tolerance of wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains to lyophilisation and stress environmental conditions of acid pH and ethanol. *FEMS Microbiology Letters*, 230(1), 53-61.
- Gardner, N. J., Savard, T., Obermeier, P., Caldwell, G., Champagne, C. P. 2001. Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures. *International journal of food microbiology*, 64(3), 261-275.
- Garmasheva, I., Vasyliuk, O., Kovalenko, N., Oleschenko, L. 2019. New approach for fast screening of lactic acid bacteria for vegetable fermentation. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1066-1071.
- Gates, K., Costilow, R. N. 1981. Factors influencing softening of salt-stock pickles in air-purged fermentations. *Journal of Food Science*, 46(1), 274-282.
- Geniş, 2022. Çiğ Et ve Et Ürünlerinden Bakteriyosinogenik Koagülaz-Negatif Stafilokokların ve Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Starter Kültür

Olarak Kullanım Potansiyellerinin Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 168s, Isparta.

Gözütok, E., 2013. Geleneksel ve Endüstriyel Olarak Üretilen Turşularda Maya Mikroflorasının Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 63s, Erzurum.

Graham, K., Stack, H., Rea, R. 2020. Safety, beneficial and technological properties of enterococci for use in functional food applications—a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 60(22), 3836-3861.

Guillou, A. A., J. D. Floros and M. A. Cousin, 1992. Calcium Chloride and Potassium Sorbate Reduce Sodium Chloride Used During Natural Cucumber Fermentation and Storage. Journal of Food Science, 57 (6), 1364-1368.

Gürhan, M. F. 2021. Biyojen aminlerin oluşumu, detoksifikasyon mekanizmaları ve insan sağlığına etkileri. 6. Uluslar arası Battalgazi Bilimsel Çalışmalar Kongresi, 8-9 Mayıs, Malatya, 192-206.

Halasz, A., Barath, A. and Holzapfel, W. H. 1999. The influence of starter culture selection on sauerkraut fermentation. Z. Lebensm Unter Frosch. A, 208, 434-438.

Halkman, A. K. 2019. Dekarboksilaz ve Dihidrolaz Testleri. Halkman, A. K. (Ed.), Gıda Mikrobiyolojisi (191-193).Başak Matbaacılık Ltd. Şti., 648 s. Ankara.

Halkman, A. K. (Ed.), 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd. Şti., 358 s. Ankara.

Hansen, E.B., 2014. Starter Cultures: Uses in the Food Industry. Encyclopedia of Food Microbiology, 529-534. doi:10.1016/b978-0-12-384730-0.00320-7.

Høier, E., Janzen, T., Rattray, F., Sørensen, K., Børsting, M.W., Brockmann, E., Johansen, E., 2010. The Production, Application and Action of Lactic Cheese Starter Cultures. Technology of Cheesemaking, Second Edition Edited by Barry A. Law and A.Y. Tamime, 166-192.

Holzapfel, W.H., Stiles, M.E. 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. International Journal of Food Microbiology, 36, 1-29.

Hugenholtz, J., 1993. Citrate metabolism in lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Reviews, 12(1-3), 165-178.

Hutkins, R.W. 2006. Microbiology and technology of fermented foods. Blackwell Publishing, Oxford, 473p, UK.

- İcil, S., 2019. Farklı Fermantasyon Stratejileri ile Endüstriyel Çapta Turşu Üretimi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 104s, İzmir.
- İç, E. ve F. Özçelik, 1999. Hıyar Turşularının Düşük Tuzlu Salamura Fermentasyonu Üzerine Bir Araştırma. Gıda, 24 (2): 77-87.
- İç, E., Özçelik, F. 1997. Hıyar turşularında küf kaynaklı enzimatik yumuşama ve önlemleri. Gıda, 22(4), 263-267.
- İç, E., Özçelik, F., Denli, Y. 1999. Hıyar Turşularının Depolanması Üzerine Kalsiyum Asetat ve Pastörizasyonun Etkisi. Gıda, 24(4), 243-250.
- İç, E., Özçelik, F., Özçelik, A. Ö. 2001. Düşük Tuzlu ve Tamponlanmış Salamura Hıyar Turşusu Fermentasyonu. Journal of Agricultural Sciences, 7(1), 27-33.
- Ji, X., Wu, Y., Wu, X., Lin, Y., Xu, W., Ruan, H., He, G., 2013. Effects of Lactic Acid Bacteria Inoculated Fermentation on Pickled Cucumbers. Advance Journal of Food Science and Technology, 5(12), 1610-1617.
- Johanningsmeier, S. D., Franco, W., Perez-Diaz, I., McFeeters, R. F. 2012. Influence of sodium chloride, pH, and lactic acid bacteria on anaerobic lactic acid utilization during fermented cucumber spoilage. Journal of Food Science, 77(7), M397-M404.
- Johanningsmeier, S. D., R. F. McFeeters, H. P. Fleming, and R. L. Thompson. 2007. Effects of *Leuconostoc mesenteroides* starter culture on fermentation of cabbage with reduced salt concentrations. J. Food Sci. 72:M166-M172
- Kabak, B., Dobson A. D. W., 2011. An Introduction to the Traditional Fermented Foods and Beverages of Turkey, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 51:248–260.
- Kalac, P. 2000. The effects of lactic acid bacteria inoculants on biogenic amines formation in sauerkraut. Food Chemistry, 70(3), 355-359. doi:10.1016/s0308-8146(00)00103-5.
- Karagül, M. S., Altuntaş, B., 2018. Liyofilizasyon: Genel Proses Değerlendirmesi. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi, 29(1), 62-69.
- Karahan, A. G. 2003. Gıdalarda biyogen aminler. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 1(5), 21-32.
- Karasu, N. 2006. Turşu ve zeytinden antagonistik ve probiyotik özellikte laktik starter kültür eldesi. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 78s, Denizli.

- Karasu, N., Şimşek, Ö., Çon, A. H. 2010. Technological and probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditionally produced fermented vegetables. *Annals of microbiology*, 60(2), 227-234.
- Kazancı, Y. T., 2008. Hıyar Turşusu Üretiminde Farklı Asit ve pH'nın Renk Stabilitesi Üzerine Etkisi. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 54s, Bursa.
- Kim, J. H., Breidt, F. 2007. Development of preservation prediction chart for long term storage of fermented cucumber. *Journal of Life Science*, 17(12), 1616-1621.
- Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C. Reuter, G., 1998. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 41 (2), 103–125.
- Kohyama, K., Nagata, A., Tamaki, Y., Sakurai, N. 2009. Comparison of human-bite and instrument puncture tests of cucumber texture. *Postharvest biology and technology*, 52(2), 243-246.
- Köse, S., Kaklıkkaya, N., Koral, S., Tufan, B., Buruk, K. C., Aydın, F. 2011. Commercial test kits and the determination of histamine in traditional (ethnic) fish products-evaluation against an EU accepted HPLC method. *Food Chemistry*, 125(4), 1490–1497.
- Krapez, K. M., Abram, V., Kac, M. and Ferjancic, S. 2001 Determination of Organic Acids in White Wines by RP-HPLC, 2001. *Food Technology and Biotechnology*. 39 (2), 93-99.
- Kumar GP, Prashanth N, Kumari BC., 2011. Fundamentals and Applications of Lyophilization. *Journal of Advanced Pharmaceutical Research*. 2(4), 157-169.
- Kung, H. F., Lee, Y. H., Teng, D. F., Hsieh, P. C., Wei, C. I., Tsai, Y. H. 2006. Histamine formation by histamine-forming bacteria and yeast in mustard pickle products in Taiwan. *Food Chemistry*, 99(3), 579-585.
- Leroy, F., Vuyst, D.L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 67-78.
- Liu, S.Q., 2003. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *International Journal of Food Microbiology* 83(2), 115-131.
- Lu, Z., Breidt, F., Fleming, H.P, Altermann, E., and Klaenhammer, T.R. 2003. Isolation and Characterization of a *Lactobacillus plantarum* Bacteriophage, øJL-1, From a Cucumber Fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 84, 225-235.

- Marsili, R. T., N. Miller. 2000. Determination of major aroma impact compounds in fermented cucumbers by solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometryolfactometry detection. *Journal of Chromatographic Science*, 38, 307-314.
- Mavhungu, J. 2006. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from "Ting" in the Northern Province of South Africa. Master of Science University of Pretoria. 74 p., Pretoria.
- Mazzucco, E., Gosetti, F., Bobba, M., Marengo, E., Robotti, E., Gennaro, M. C. 2010. High-performance liquid chromatography– ultraviolet detection method for the simultaneous determination of typical biogenic amines and precursor amino acids. Applications in food chemistry. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(1), 127-134.
- McDonald, L. C., Fleming, H. P., Daeschel, M. A. 1991. Acidification effects on microbial populations during initiation of cucumber fermentation. *Journal of food science*, 56(5), 1353-1356.
- McDonald, L. C., Shieh, D. H., Fleming, H. P., McFeeters, R. F., Thompson, R. L. 1993. Evaluation of malolactic-deficient strains of *Lactobacillus plantarum* for use in cucumber fermentations. *Food microbiology*, 10(6), 489-499.
- McFeeters, R. F. 1993. Single-injection HPLC analysis of acids, sugars, and alcohols in cucumber fermentations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(9), 1439-1443.
- McFeeters, R. F., Fleming, H. P. 1991. pH effect on calcium inhibition of softening of cucumber mesocarp tissue. *Journal of Food Science*, 56(3), 730-732.
- McFeeters, R. F., Fleming, H. P., Thompson, R. L. 1982. Malic and citric acids in pickling cucumbers. *Journal of food science*, 47(6), 1859-1861.
- Meral, H., Korukluoğlu, M. 2014. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnç mekanizmaları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 71-82.
- Monika, S., Kumar, V., Kumari, Anila., Angmo, K., Bhalla, T. C. 2017. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional pickles of Himachal Pradesh, India. *Journal of Food Science Technology*, 54, 1945–1952
- Muñoz, R., Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J.M., Rivas, B., Felipe, F.L., Gómez-Cordovés, C. and Mancheño, J.M. 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132, 79-90.

- Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., Moore, J. E., Millar, B. C., Xu, J. 2011. Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products. *Current microbiology*, 62(3), 1081-1089.
- Nilchian, Z., Sharifan, A., Rahimi, E., Mazid, A. N. 2016. Improvement of Fermented Cucumber Characteristics by Starter Culture of *Lactobacillus plantarum*, *L. bulgaricus* and *S. thermophiles*. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 6(2),31-40.
- Ova, G. 2002. Hıyar turşularında duyuşal kalite karakteristiklerinin irdelenmesi. *Gıda*, 27(4), 315-319.
- Özçelik, F. , Yıldırım, M. İç, E. 2001. Hıyar Turşusu Fermentasyonunda Şişme Zararını Önlemek için Salamuradan Karbondioksitin Uzaklaştırılması. *Gıda*, 26(5), 323-329.
- Özçelik, F., Erhan, İ. Ç., Yıldız, S. 1998. Hıyar Turşusu Üretiminde pH Stabilitesinin Fermentasyon Üzerine Etkisi. *Gıda*, 23(2), 87-95.
- Özçelik, F., İç, E. 2000. Hıyar turşularının düşük tuz konsantrasyonlarında depolanması üzerine bazı koşulların etkileri. *Journal of Agricultural Sciences*, 6(4), 115,119.
- Özçelik, F., İç, E., 1996. Hıyar turşusu üretiminde kontrollü fermentasyon. *Gıda*, 21(1), 49-53.
- Özçelik, F., Ulu, T., 2002. Depolanmış Hıyar Tursularının Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri Üzerine pH'nın Etkisi. *Gıda*, 27(3).
- Özer, C., Yıldırım, H. K. 2018. Production of Pickles by Mixed Culture Fermentation. *American Journal of Chemistry and Applications*. 5(3), 57-68.
- Palop, L., Sánchez, I. Ballestenos, C. 2000. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of 'Almagro' eggplants. *International Journal of Food Microbiology*, 59, 9-17.
- Patel, S. M., Doen, T., Pikal, M. J., 2010. Determination of End Point of Primary Drying in Freeze-drying Process Control. *Aaps Pharmscitech*, 11(1), 73-84.
- Pérez-Díaz, I. M., Hayes, J. S., Medina, E., Webber, A. M., Butz, N., Dickey, A. N., Lu, Z., Azcarate-Peril, M. A. 2019. Assessment of the non-lactic acid bacteria microbiota in fresh cucumbers and commercially fermented cucumber pickles brined with 6% NaCl. *Food microbiology*, 77, 10-20.
- Pérez-Díaz, I. M., Johanningsmeier, S. D., Anekella, K., Pagán-Medina, C. G., Méndez-Sandoval, L., Arellano, C., Price, R., Borges, M., Bream, C., Connely, L., Dieck, S. E., Levi, M. T., McMurtrie, E. K., Smith Jr, R. E., Theora, J. C.,

- Wendland, P., Gómez-Rodríguez, F., Daughtry, K. V., Arroyo-López, F. N. 2021. Genotypic and phenotypic diversity among *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus pentosus* isolated from industrial scale cucumber fermentations. *Food Microbiology*, 94, 103652.
- Pınarkara, Y., 2008. Liyofilizasyon İşlemi Esnasında Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Canlılıkları Üzerine Kriyojenik Koruyucu Maddelerin Etkileri. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 106s, Konya.
- Pržić, D. S., Ružić, N. L., Petrović, S. D., 2004. Lyophilization: The Process and Industrial Use. *Hemijaska Industrija*, 58(12), 552-562.
- Reddy, K. B. P. K., Awasthi, S. P., Madhu, A. N., Prapulla, S. G., 2009. Role of Cryoprotectants on The Viability and Functional Properties of Probiotic Lactic Acid Bacteria during Freeze Drying. *Food Biotechnology*, 23(3), 243-265.
- Reina, L. D., Breidt Jr, F., Fleming, H. P., Kathariou, S. 2005. Isolation and selection of lactic acid bacteria as biocontrol agents for nonacidified, refrigerated pickles. *Journal of food science*, 70(1), M7-M11.
- Renault, P., 2002. Genetically modified lactic acid bacteria: applications to food or health and risk assessment. *Biochimie*, 84(11), 1073–1087.
- Ross, R. P., Morgan, S., Hill, C., 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. *International journal of food microbiology*, 79(1-2), 3-16.
- Sanchez, I., Palop, L., Ballesteros, C. 2000. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of 'Almagro' eggplants. *International Journal of Food Microbiology*, 59(1-2), 9-17.
- Silla-Santos, M. H. 1996. Biogenic amines: their importance in foods. *International journal of food microbiology*, 29(2-3), 213-231.
- Schieberle, P., Ofner, S., Grosch, W. 1990. Evaluation of potent odorants in cucumbers (*Cucumis sativus*) and muskmelons (*Cucumis melo*) by aroma extract dilution analysis. *Journal of Food Science*, 55(1), 193-195.
- Schnürer, J., Magnusson, J. 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science and Technology*, 16(1-3), 70-78.
- Seseña, S., Sánchez, I., Palop, L. 2005. Characterization of *Lactobacillus* strains and monitoring by RAPD-PCR in controlled fermentations of "Almagro" eggplants. *International Journal of Food Microbiology*, 104(3), 325–335.
- Shekh, S. L., Boricha, A. A., Chavda, J. G., Vyas, B. R. M. 2020. Probiotic potential of lyophilized *Lactobacillus plantarum* GP. *Annals of microbiology*, 70(1), 1-12.

- Sherawat, M., Rahi, R. K., Gupta, V., Neelam, D., Sain, D., 2021. Prevention and Control of Food Spoilage: An Overview. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 11 (1), 124-130.
- Špička, J., Kalač, P., Bover-Cid, S., Křížek, M. 2002. Application of lactic acid bacteria starter cultures for decreasing the biogenic amine levels in sauerkraut. *European Food Research and Technology*, 215(6), 509-514.
- Suresh, E. R. 2008. Development of shelf-stable brined vegetables by lactic acid fermentation. *Journal of Horticultural Sciences*, 3(2), 150-155.
- Şahin, İ., Akbaş, H. 2001. Hıyar Turşularında Yumuşamanın Önlenmesi ve Kullanılabilecek Kalsiyum klorür Miktarının Belirlenmesi. *Gıda*, 26(5), 333-338.
- Tagg, J., McGiven, A. R. 1971. Assay System for Bacteriocins. *Applied Microbiology*, 21(5), 943.
- Tamang, J.P, Tamang, B., Schillinger, U., Guigas, C., and Holzaphel, W.H. 2009. Functional Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Ethnic Fermented Vegetables of the Himalayas. *International Journal of Food Microbiology*, 135, 28-33.
- Tang, X.C., Pikal, M.J., 2004. Design of fFeeze-drying Processes for Pharmaceuticals: Practical Advice. *Pharmaceutical Research* Pharm. 21(2), 191-200.
- Tokatlı, M., 2013. Ankara Çubuk Yöresi Turşularından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanmaları, Teknolojik ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi ve Starter Olarak Kullanılma Olanaklarının Değerlendirilmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 183 s, Ankara.
- Tokatlı, M., Elmacı, S. B., İşleyen, N. A., Özçelik, F. 2017. Technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles. *The Journal of Food*, 42(6), 693-707.
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Elmacı, S., Arslanköz, N., Özçelik, F., 2015. In Vitro Properties of Potential Probiotic Indigenous Lactic Acid Bacteria Originating from Traditional Pickles. *BioMed Research International*. Article ID 315819. 1-8.
- Tokatlı, M., Elmacı, S. B., İşleyen, N. A., Özçelik, F. 2019. Seçilmiş endojen laktik starter kültürler ile turşu üretimi. *Gıda*, 44(4), 742-757.
- Tunail, N., 2009. Mikrobiyoloji, Pelin Ofset Tipo Matbaacılık, Ankara, Türkiye. 448s.
- Tuncer, Y. 2009. Some technological properties of phenotypically identified enterococci strains isolated from Turkish tulum cheese. *African Journal of Biotechnology*, 8(24).

- Turgut, Z., 2006. Starter Kültür Kullanılarak Üretilen Hıyar Turşularında Biyojen Amin Oluşumu Üzerine Araştırma. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 72s, Ankara.
- Uylaşer, V., Erdem, F. 2004. Stoklanmış hıyarlardan farklı uygulamalarla turşu üretimi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18(1), 81-92.
- Üçok, G., 2020. Ekşi Hamurlardan İzole Edilen *Lactobacillus plantarum* Türünün Dondurarak Kurutulmasında Farklı Sütçülük Yan Ürünlerinin Kriyoprotektif Rollerinin Belirlenmesi. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 183s, Konya.
- Wouters, D., Grosu-Tudor, S., Zamfir, M., De Vuyst, L. 2013. Bacterial community dynamics, lactic acid bacteria species diversity and metabolite kinetics of traditional Romanian vegetable fermentations. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(4), 749-760.
- Wu, C., Zheng, J., Huang, J., Zhou, R. 2014. Reduced nitrite and biogenic amine concentrations and improved flavor components of Chinese sauerkraut via co-culture of *Lactobacillus plantarum* and *Zygosaccharomyces rouxii*. Annals of Microbiology, 64(2), 847-857.
- Xia, Y., Liu, X., Wang, G., Zhang, H., Xiong, Z., Sun, Y., Ai, L. 2017. Characterization and selection of *Lactobacillus brevis* starter for nitrite degradation of Chinese pickle. Food Control, 78, 126-131.
- Yang, Z. 2000. Antimicrobial compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: structure and properties. Academic Dissertation. Department of Food Technology, University of Helsinki, 61 p., Helsinki.
- Yıldız, 2011. Turşu ve Zeytinlerden Laktik Asit Bakteri ve Mayaların İzolasyonu-İdentifikasyonu ve Elde Edilen İzolatların Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 134 s, Erzurum.
- Yu, J., Gao, W., Qing, M., Sun, Z., Wang, W., Liu, W., Pan, L., Sun, T., Wang, H., Bai, N., Zhang, H. 2012. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles in Sichuan, China. The Journal of General and Applied Microbiology, 58(3), 163-172.
- Zeng, Y., Li, Y., Wu, Q.P., Zhang, J.M., Xie, X.Q., Ding, Y., Cai, S.Z., Ye, Q.H., Chen, M.T., Xue, L., Wu, S., Zeng, H.Y., Yang, X.J., Wang, J. 2020. Evaluation of the antibacterial activity and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* isolated from chinese homemade pickles. Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 1-11.

- Zhao, G., Zhang, G., 2005. Effect of Protective Agents, Freezing Temperature, Rehydration Media on Viability of Malolactic Bacteria Subjected to Freeze-drying. *Journal of Applied Microbiology*, 99(2), 333-338.
- Zhou, A., McFeeters, R. F. 1998. Volatile compounds in cucumbers fermented in low-salt conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(6), 2117-2122.

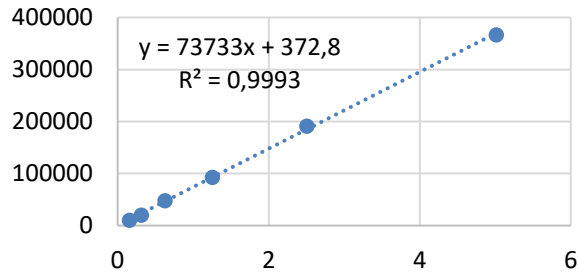


EKLER

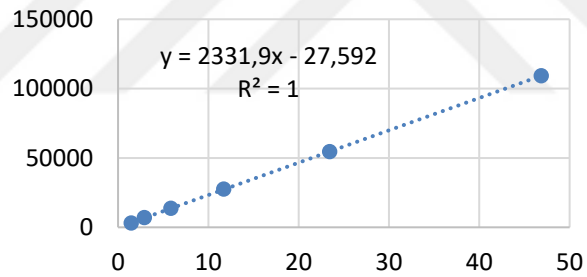
EK A. Biyojen amin analizinde kullanılan gradient program

Süre (dk)	A%	B%
1	80	20
25	50	50
40	20	80

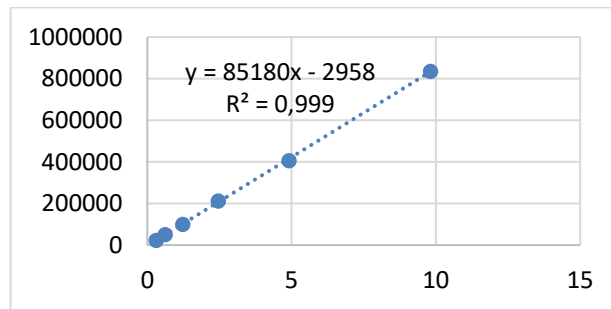
EK B. Putrescine standardına ait kalibrasyon grafiği



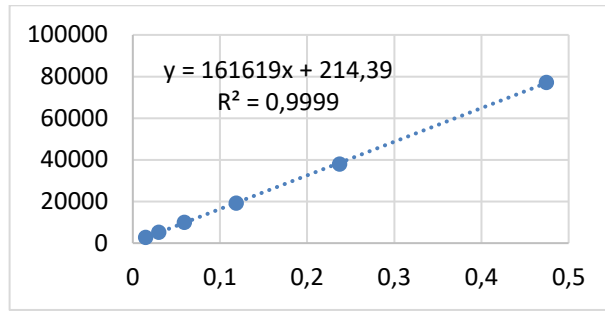
EK C. Cadeverine standardına ait kalibrasyon grafiği



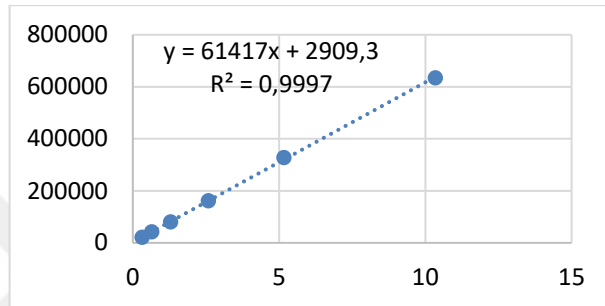
EK D. Histamine standardına ait kalibrasyon grafiği



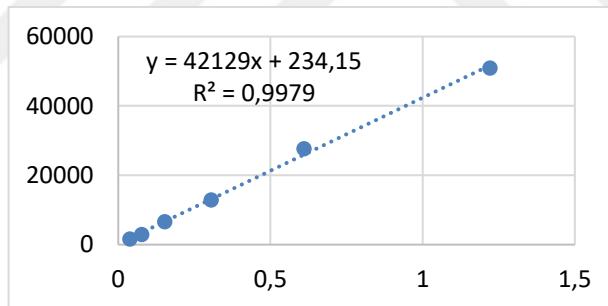
EK E. Tyriptamin standardına ait kalibrasyon grafiği



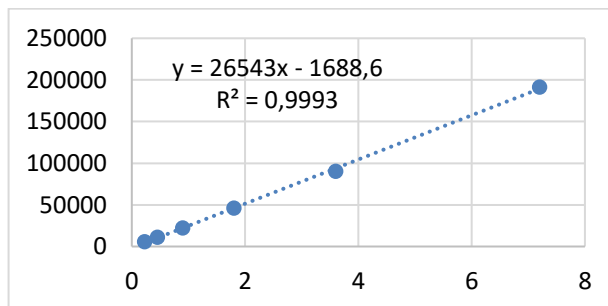
EK F. Phenyletil amin standardına ait kalibrasyon grafiği



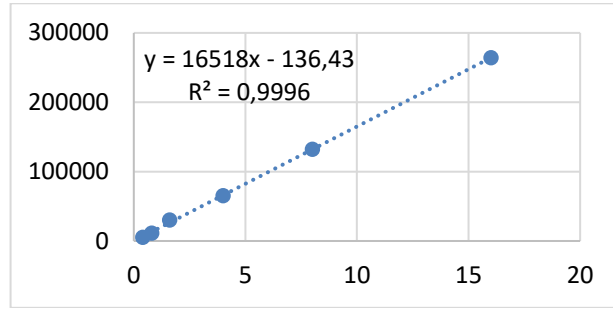
EK G. Tiramin standardına ait kalibrasyon grafiği



EK H. Spermin standardına ait kalibrasyon grafiği



EK. I Spermidine standardına ait kalibrasyon grafiği



EK J. Biyojen amin analizi numune kromatogramı

