

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YOĞURT ALTI SUYU VE SİRKE İLE ÜRETİLEN
FERMENTE SALATALIK TURŞULARINDA BULUNAN
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN TANIMLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Semanur CEBECİ AVUNCA

Enstitü Anabilim Dalı

: GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışmanı

: Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖZTÜRK

Ocak 2022

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YOĞURT ALTI SUYU VE SİRKE İLE ÜRETİLEN
FERMENTE SALATALIK TURŞULARINDA BULUNAN
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN TANIMLANMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Semanur CEBECİ AVUNCA

Enstitü Anabilim Dalı : GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Bu tez 13/01/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Semanur CEBECİ AVUNCA

13/01/2022

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasını titizlikle takip ederek yardımlarını esirgmeden beni teşvik eden, bilgi ve tecrübesi ile yol gösteren, desteğini hiçbir konuda esirgemeyen tez danışmanım değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Mustafa ÖZTÜRK’e;

Çalışmamın yürütülmesinde, analizlerimin planlanmasında ve sonuçların yorumlanmasında bilgi ve birikimi ile yol gösteren, desteğini ve yardımını esirgemeyen sayın hocam Prof.Dr. Arzu ÇAĞRI MEHMETOĞLU’na;

Laboratuvar çalışmalarında yardımcı oldukları için bölüm arkadaşlarım Özlem ÖZTÜRK, Melike SADAK, Nidanur GEÇİCİ ve Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği araştırma görevlilerine,

Hayatım boyunca hiçbir zaman fedakarlığını, sevgisini ve sonsuz emeğini esirgemeyen, maddi manevi her türlü desteği koşulsuz gösteren, varlığı ile güç aldığım sevgili annem, babam ve kardeşlerime;

Her zaman olduğu gibi tez çalışmam süresince de her sıkıntıda yanımda olan, sabır ve sevgi dolu sözlerle motive eden, yol gösteren, sevgisiyle hayatımı anlamlandıran hayat arkadaşım U. Talha AVUNCA’ya;

En içten ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
SUMMARY	ix
 BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
 BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Süt.....	3
2.2. Yoğurt.....	6
2.2.1. Süzme yoğurt (greek yogurt).....	7
2. 2. 2. Süzme yoğurt suyu (asit whey)	10
2.3. Turşu	12
2.4. Laktik Asit Bakterileri	15
2.4.1. <i>Lactobacillus</i>	20
2.4.2. <i>Lactococcus</i>	21
2.4.3. <i>Leuconostoc</i>	21
2.4.4. <i>Pediococcus</i>	22
2.4.5. Turşuda yer alan laktik asit bakterileri	22
2.4.6. Laktik asit bakterilerinin tanımlanması	23

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE METOD	27
3.1. Materyal	27
3.2. Metot	27
3.2.1. Turşu üretimi	27
3.2.2. Turşu örneklerinin kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri	29
3.2.3. Laktik asit bakterilerinin izolasyonu	29
3.2.4. Bakteri kültürlerinin muhafazası	30
3.2.5. Laktik asit bakterilerinin tanımlanması	30
3.2.5.1. Gram boyama testi	30
3.2.5.2. Hücre morfolojisi	31
3.2.5.3. Katalaz testi	31
3.2.5.4. Glikozdan gaz oluşturma testi	31
3.2.5.5. Farklı sıcaklık derecelerinde gelişme testi	31
3.2.5.6. Farklı pH değerlerinde gelişme testi	32
3.2.5.7. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme testi	32
3.2.5.8. Karbonhidrat fermantasyon profillerinin belirlenmesi	32
3.3. Deneysel Dizayn ve İstatistik Analizleri	34

BÖLÜM 4.

BULGULAR VE TARTIŞMA	35
4.1. Bakterilerin İzole Edildiği Turşu Örneklerinin Tanıtımı	35
4.2. Turşu Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları	35
4.3. Turşu Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	37
4.4. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanma Sonuçları	39
4.4.1. Gram boyama ve katalaz testi	39
4.4.2. Hücre morfolojisi	41
4.4.3. Glukozdan gaz oluşumu	45
4.4.4. Farklı sıcaklıklarda gelişim testleri	46
4.4.5. Farklı pH değerlerinde gelişim testleri	49
4.4.6. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim testleri	49
4.4.7. Karbonhidrat fermantasyonları	50

BÖLÜM 5.

SONUÇ 57

KAYNAKLAR 58

ÖZGEÇMİŞ 66



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

µm	: Mikrometre
API	: Analytical Profile Index
EMP	: Embden Meyerhoff Parnas
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
FSÜ	: Fermente Süt Ürünleri
g	: Gram
GRAS	: Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen
HMP	: Hekzozmonofosfat
kob/mL	: Mililitrede Koloni Oluşturma Birimi
L	: Litre
LAB	: Laktik Asit Bakterisi
Mg	: Miligram
MRS	: De Man Rogosa Sharpe Agar
PAS	: Peynir Altı Suyu
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
TUİK	: Türkiye İstatiksel Kurumu
YAS	: Yoğurt Altı Suyu

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Süzme yoğurt üretim şeması.....	10
Şekil 2.2. Laktik asit bakterilerinin glikozu homolaktik ve heterolaktik yollarla parçalaması	17
Şekil 2.3. Laktik asit bakterileri identifikasyon şeması.	25
Şekil 3.1. Sirke ile üretilen turşu örneği.....	28
Şekil 3.2. YAS ile üretilen turşu örneği	28
Şekil 4.1. Gram (+) laktik asit bakterisi	40
Şekil 4.2. Gram (-) bakteri	41
Şekil 4.3. <i>L. plantarum</i> bakterisinin API 50 CHL kit sonucu.....	52
Şekil 4.4. <i>L. pentosus</i> bakterisinin API 50 CHL kit sonucu	53

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1. İnek sütünün ortalama kimyasal bileşimi	4
Tablo 2.2. İnek sütünde bulunan çeşitli mineraller	5
Tablo 2.3. Yasal düzenlemelere göre süzme yoğurt bileşimi	8
Tablo 2.4. Tatlı ve asit peynir altı suyu bileşenleri	11
Tablo 2.5. Turşuluk hıyarların bileşimi.	13
Tablo 2.6. Turşu fermantasyon aşamaları.	14
Tablo 2.7. Laktik asit bakterilerinin genel özellikleri	18
Tablo 2.8. Bazı sebze fermantasyonlarında bulunan temel LAB türleri.....	19
Tablo 3.1. API 50 CHL sisteminde kullanılan karbon kaynakları	33
Tablo 4.1. Depolama süresi boyunca sirke ve YAS ile üretilen turşu salamurlarına ait pH, titrasyon asitliği ve tuz değerleri	36
Tablo 4.2. Depolama süresi boyunca turşu salamurlarına ait laktik asit bakteri sayısı.....	38
Tablo 4.3. Sirke ile üretilen turşulardan elde edilen bakterilerin hücre morfolojileri ve glikozdan gaz oluşturmaları	42
Tablo 4.4. YAS ile üretilen turşulardan elde edilen bakterilerin hücre morfolojileri ve glikozdan gaz oluşturmaları	43
Tablo 4.5. MRS ve M17 besiyeri bileşenleri	44
Tablo 4.6. Sirke ile üretilen turşu izolatlarının farklı sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonlarında gelişme testleri sonuçları	47
Tablo 4.7. YAS ile üretilen turşu izolatlarının farklı sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonlarında gelişme testleri sonuçları	48
Tablo 4.8. Sirke ve YAS ile üretilen turşuların izolatlarının API 50 CHL test kiti ile tanımlanması sonuçları.....	51

ÖZET

Anahtar kelimeler: laktik asit bakterileri, yoğurt altı suyu, kornişon turşusu

Bu çalışmada sirke ve yoğurt altı suyu (YAS) ile üretilmiş turşulardan fermentasyondan sorumlu laktik asit bakterilerinin (LAB) izolasyonu ve tanımlanması, sirke ve yoğurt altı suyu ile üretilen turşuların mikrobiyal florasının kıyaslanması amaçlanmıştır. Bu nedenle yoğurt altı suyu ve sirke ile hazırlanan salamuralar kullanılarak turşular üretilmiştir ve fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyonun 0, 7, 14, 21, 35, 49, 77 ve 105. günlerinde M17 ve MRS besiyerlerine ekim yapılarak mikrobiyolojik sayım yapılmıştır ve farklı morfolojiye sahip koloniler seçilerek izole edilmiştir. Toplamda 257 adet izolat elde edilmiştir. Ek olarak her analiz gününde salamura ve kornişona ait tuz, asitlik ve pH değerleri takip edilmiştir. Gram boyama ve katalaz testleri yapılarak laktik asit bakterisi olma özelliği göstermeyen kültürler elenmiştir. İzolatlara farklı sıcaklıklarda gelişme, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme, farklı pH değerlerinde gelişme, glikozdan gaz oluşturma testleri yapılmıştır. Glikozdan gaz oluşturma özelliğine göre 8 izolat heterofermantatif olarak belirlenmiştir. İzolatların en fazla üremeyi 10 °C sıcaklığında gösterdiği, 45 °C ve 50 °C sıcaklıklarında oldukça az sayıda izolatin geliştiği görülmüştür. 9,6 pH değerinde hiçbir izolat gelişemezken 4 izolat pH 3 değerinde, 25 izolat pH 4,5 değerinde gelişmiştir. %10 tuz konsantrasyonuna 2 izolat dayanıklılık gösterebilmiştir. %6,5 ve %2 tuz konsantrasyonlarında izolatların tamamına yakını gelişmiştir. Fenotipik özelliklerine göre izolatlar gruplandırılarak her bir gruptan bakteriler seçilip API 50 CHL test kiti ile tanımlama yapılmıştır. 48 izolatin kit ile tanımlanması yapılmıştır. 19 izolat *L. pentosus*, 29 izolat ise *L. plantarum* olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak YAS ve sirke kullanılarak hazırlanan iki farklı salamura ile üretilen turşuların mikrobiyal florasının benzer olduğu görülmüştür.

IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA IN FERMENTED CORNICHON PICKLES PRODUCED WITH ACID WHEY AND VINEGAR

SUMMARY

Keywords: Acid whey, pickle, cucumber

In this study, it was aimed to isolate and identify lactic acid bacteria (LAB) responsible for fermentation from pickles produced with vinegar and acid whey (YAS), and to compare the microbial flora of pickles produced with vinegar and acid whey. For this reason, pickles were produced using brine prepared with acid whey and vinegar and left for fermentation. On the 0, 7, 14, 21, 35, 49, 77 and 105th days of fermentation, microbial load was determined by inoculation on M17 and MRS. In addition, colonies with different morphologies were selected and isolated. A total of 257 isolates were obtained. Salt, acidity and pH values of brine and cornichon were followed on each analysis day. Gram reaction and catalase tests were analyzed and cultures that did not show the characteristic of being lactic acid bacteria were eliminated. Growth at different temperatures, growth at different salt concentrations, growth at different pH values, and gas formation from glucose were analyzed for the isolates. 8 isolates were determined as heterofermentative according to their ability to produce CO₂ from glucose. It was observed that the isolates showed the highest growth at 10 °C temperature, and very few isolates developed at 45 °C and 50 °C temperatures. While no isolates could grow at pH 9.6, 4 isolates were able to grow at pH 3 and 25 isolates at pH 4.5. Two isolates were able to show resistance to 10% salt concentration. Almost all isolates grew at 6.5% and 2% salt concentrations. The isolates were grouped according to their phenotypic characteristics and the bacteria from each group were identified with the API 50 CHL test kit. 48 isolates were identified with API 50 CHL. 19 isolates were determined as *L. pentosus* and 29 isolates as *L. plantarum*. As a result, it was seen that the microbial flora of the pickles produced with two different brine prepared using YAS and vinegar were similar.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Fermente süt ürünlerinde biri olan yoğurt, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* kültürleri kullanılarak laktik asit fermentasyonu ile elde edilen bir üründür. Yoğurdun yüksek oranda su içermesi nedeniyle raf ömrü sınırlıdır. Bu sorun yoğurdun serum kısmını süzme yardımıyla uzaklaştırarak süzme yoğurt üretiminin zamanla yaygınlaşmasına neden olmuştur. Yüksek besin değeri, biyoaktif özellikleri ve daha uzun raf ömrü nedeniyle süzme yoğurdun tüm dünya genelinde üretimi büyük oranda artmıştır. Fakat yoğurdun süzülmesi ile ortaya çıkan yoğurt altı suyu (YAS) üreticiler için halen bir sorundur. İçeriğindeki yüksek laktik asit miktarı YAS'ın işlenebilmesini zorlaştırmaktadır. Atık olarak çevreye atıldığında ise çevreye, canlılara, su ve suda yaşayan canlılara, toprağa zarar vermektedir.

Fermentasyon gıdaların duysal ve besin özelliklerini koruması amacıyla sıklıkla kullanılan basit ama değerli bir biyoteknolojik işlemdir. Laktik asit fermentasyonu ile oluşan turşu özellikle ülkemizde vazgeçilmez bir sofr ürünüdür. Turşu salamurası değişik formülasyonlar ile hazırlanabilmekle beraber genellikle salamura sirke ile hazırlanmaktadır.

Laktik asit bakterileri (LAB) patojen ve bozulma yapan mikroorganizmaları inhibe etmesi özelliği ile fermente gıdalar için çok önemlidir. Laktik asit bakterilerinin tanımlanması için bir takım fenotipik ve genotipik testlerden yararlanılmaktadır. Fenotipik testler bakterilerin farklı sıcaklıklarda gelişebilme, yüksek asitlik ve tuz konsantrasyonlarına dayanıklılık, glikozdan gaz oluşturma, hücre morfolojileri gibi özelliklerini belirleyerek familyadan cinse kadar tanımlama sağlayabilmektedir. API 50 CHL ile bakterilerin karbonhidrat fermentasyon karakteristiklerini inceleyerek tür

ve alttüre kadar tanımlama yapabilmektedir. Genotipik testler ise bakterilerin DNA karakterlerini belirlemeye yönelik testlerdir.

Bu çalışmada, sirke ve YAS ile üretilen hıyar turşularından, fermantasyondan sorumlu laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve turşuların mikrobiyal florasının belirlenmesi amacıyla tanımlanması amaçlanmıştır.



BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Süt

Süt doğumdan sonra tüm dişi memelilerin meme bezlerinde oluşturdıkları sıvı olarak tanımlanır. Porselen beyazı (beyaz-krem) rengine, kendine has tat ve kokusu vardır. Yeni doğan yavruların spesifik gelişim ihtiyaçlarını karşılamak için karbonhidratlar, proteinler, yağlar, mineraller ve vitaminler gibi temel besinler açısından zengindir (Guetouache ve ark., 2014; Foroutan ve ark., 2019).

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği tarafından hazırlanan “Çiğ Süt ve Işıl İşlem Görmüş Sütler Tebliğinde” (2000/6-RG:14.02.2000/23964) çiğ süt; “bir veya daha fazla inek, keçi, koyun veya mandanın sağılmasıyla elde edilen, 40 °C’nin üzerinde ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısıdır” şeklinde tanımlamıştır.

Mevcut araştırmalara göre memeden sağılan sütte yaklaşık 200 madde bulunmaktadır (Metin, 2009). Su, yağlar, proteinler, karbonhidratlar ve laktoz makro bileşenler; vitaminler, mineraller, organik asitler, enzimler, nükleotitler gibi birçok biyoaktif bileşik ise mikro bileşenler olarak sütün yapısında bulunur (Foroutan ve ark., 2019). Sütün kimyasal bileşimi hayvan türü ve genetiği, çevresel koşullar, laktasyon aşaması ve hayvanın beslenme durumu gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilir (Pereira, 2014). Sütün ortalama kimyasal bileşimi Tablo 2.1.’de verilmiştir (Poghossian, Geissler ve Schöning, 2019).

Tablo 2.1. İnek sütünün ortalama kimyasal bileşimi (Poghossian ve ark., 2019)

Bileşen	İnek Sütündeki Ortalama İçeriği (%w/w)
Su	87,20
Toplam Protein	3,50
Laktoz	4,90
Yağ	3,70
Mineral Tuzlar	0,72
Kazein	2,80

Sütün en önemli bileşenlerinden biri proteinlerdir ve insan diyetinde faydası oldukça yüksektir. İnek sütünde yaklaşık 32 g/L protein bulunmaktadır. Süt proteini esansiyel aminoasitler bakımından da zengindir; 18 esansiyel aminoasit içerir. Süt proteini üç nitrojen fraksiyonu olarak sınıflandırılır: en fazla (%78) olan ve dört ayrı proteinden (α_1 -, α_2 -, β - ve κ -kazein) oluşan kazein, serum veya peynir altı suyu proteinleri (%17) ve protein olmayan nitrojen fraksiyonu (%5) (Haug ve ark., 2007; Kurajdova ve ark., 2015; Dupont ve ark., 2019). Sütteki kazein miselleri kolloidal partiküllerdir ve yoğurt, peynir, dondurma gibi jelleşmiş ürünlerin üretiminde büyük öneme sahiptir. Kazein pH 4.6'da kolloidal durumunu kaybederek çökerken; serum veya peynir altı suyu proteinleri çözünebilir kalmaktadır. Kazeinin peynir altı suyu proteinine oranı türler arası farklılıklar göstermektedir. Peynir altı suyu proteinleri; α -laktalbumin, β -laktoglobulin, kan serum albumini, immünoglobulinler ve çeşitli minör proteinler şeklinde gruplandırılırlar (Tuinier ve De Kruif, 2002; Alichanidis ve ark., 2016).

Diğer bir önemli bileşen ise yağdır. Ortalama olarak sütte yaklaşık 33 g/L yağ bulunmaktadır. Sütte yağ bir lipoprotein membranı ile çevrelenmiş dağınık kürecikler şeklinde bulunur. Süt yağı globüllerinin çapı hayvan türlerine göre değişmekle beraber ortalama olarak 3 – 4 μ m çapındadır. Yağ globül membranı polar lipidler ve zara bağlı proteinlerden oluşur. Yağ globül membranının yaklaşık %30'unu oluşturan lipid fraksiyonu fosfolipidler (%25), serebrositler (%3) ve kolesterol (%2) gibi lipidlerden oluşur. Membran meteryalinin geri kalan %70'i ise proteindir. Süt yağı esas olarak triglesiridlerden (yaklaşık %98) oluşurken, %2'lik kısmı ise digliseritler ve monogliseritler, yağ asitleri, steroller, karotenoidler ve yağda çözünen vitaminler oluşturmaktadır (Haug ve ark., 2007; Lindmark Månsson, 2008). Süt yağı globülünün boyutu sütün stabilitesi ve teknolojik özellikleri üzerinde çok önemli etkiye sahiptir. Yağ, yağda çözünen vitaminlerin taşıyıcısı olarak görmektedir. Ayrıca duyuşal olarak

da oldukça önemli bir rolü vardır. Süte hoş, pürüzsüz, kadifemsi ve kremsi bir doku verir. Birçok aroma yağ ile ilişkilendirilir, aromaların tadına, yoğunluğuna ve dengesine müdahale eder (Guetouache ve ark., 2014; Alichanidis ve ark., 2016;).

Sütteki temel karbonhidrat, bir molekül D-galaktoz ve 1-4 glikozidik bağ ile bağlanmış bir molekül D-glikozdan oluşan laktozdur. Laktoz inek sütünde ortalama %4,7, kuru madde de ortalama %37 miktarında bulunmaktadır. Suyun dışında sütte en çok bulunan bileşen laktozdur. Sütteki hafif tatlı aromadan sorumludur (Demirci ve ark., 2010). Bir disakkarit olan laktozun tek kaynağı süttür. Laktoz probiyotik bir şekerdir ancak yetişkinlerin ince bağırsaklarındaki laktoz aktivitesi onun kullanımı ile ilgili problemlere sebep olabilmektedir. Laktoz, laktik asit bakterileri için bir karbon kaynağı gördüğü için fermente süt ürünlerinin üretiminde önemlidir, fermentasyon sırasında ana substrattır. Laktik asit bakterileri laktozu laktik aside fermente eder. Bu durumda süütün asitliği artarak pH değeri 6.7'den yaklaşık 4.6 değerlerine düşer. Laktik asit, süt proteinlerinin pH 4.6'da pıhtılaşmasını neden olur ve bu durum sonucunda jöle benzeri madde oluşur. Bu durum yoğurt, peynir, kefir gibi fermente süt ürünlerinde istenilmektedir (Harju, 2001; Fox, 2009; Guetouache ve ark., 2014; Pereira, 2014; Poghosian ve ark., 2019).

Sütün küçük fakat oldukça önemli diğer bir fraksiyonu ise minerallerdir. Sütte bulunan mineraller konsantrasyonlarına makro ve eser elementler şeklinde sınıflandırılmaktadır. Tablo 2.2.'de sütte bulunan ana mineraller verilmiştir (Guetouache ve ark., 2014).

Tablo 2.2. İnek sütünde bulunan çeşitli mineraller (Guetouache ve ark., 2014)

Mineral	Ca	Na	P	Mg	Cl	K	Fe	Cu	Zn	I
İçerik (ppm)	1180	445	896	105	958	1500	0,50	0,10	3,80	0,28

İnek sütünde %0,75-0,80 oranında mineral madde bulunmaktadır. Mineraller kantitatif olarak küçük bileşenler olmasına rağmen beslenme ve sütün teknolojik özellikleri açısından önemlidirler. Sütün tamponlama kapasitesine, süütün pH'sının korunmasına, süütün iyonik kuvvetine katkıda bulunurlar. Kalsiyum ve fosfat beslenmedeki öneminin yanında kazein misellerinin yapısı ve işleme sırasında davranışındaki rolleri açısından

da oldukça önemli ana elementlerdir. Kalsiyum ve fosfat protein miselini kazein alt miselleri arasında çapraz bağlar oluşturarak stabilize etmektedir. Kalsiyum ve fosfatın çoğu kazein miselleri ile ilişkili olduğundan, oranları sütün kazein içeriğine göre değişir. 1 litre sütte ortalama 1200 mg Ca bulunmaktadır. Sütteki mineral içeriği laktasyon durumu, iklim şartları, çevresel faktörler, kalıtım gibi durumlardan etkilenmektedir (Haug ve ark., 2007; Kurajdova ve Táborecka-Petrovicova, 2015; Alichanidis ve ark., 2016).

2.2. Yoğurt

Yoğurt besinsel değeri ve sağlık üzerindeki pozitif faydaları nedeni ile oldukça önemli fermente bir süt ürünüdür. Yoğurda verilen önem 1907 yılında Metchnikoff isimli bilim insanının “On the Prolongation of Life” isimli kitabının yayınlanması ile daha fazla artmış ve bu konu üzerine araştırmalar yoğunluk kazanmıştır. Metchnikoff, fermente süt ürünleri tüketiminin bağırsak florasını dengelediğini ve böylelikle ömrünün uzamasına yol açabileceğini ileri sürmüştür (Heller, 2001).

Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliğine göre yoğurt “sütün *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerinin laktik asit fermentasyonu ile meydana gelen koagüle bir süt ürünü” şeklinde tanımlanmaktadır. Türk Standartları Enstitüsü TS 1330 sayılı Yoğurt Standardında ise “Çiğ süt veya pastörize süt standartlarına uygun, tercihen homojenize edilmiş sütlerin *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*’un etkisiyle laktik asit fermentasyonu sonucu elde edilen ve yoğurt kültürlerini canlı olarak içeren fermente bir süt ürünü” olarak tanımlanmaktadır.

Yoğurdun kimyasal bileşimi süte benzemektedir ancak üretim esnasında sütün kuru madde miktarındaki değişim ve fermentasyon sırasındaki değişimlerden ötürü bazı farklılıklar olmaktadır. Yoğurt süte kıyasla daha fazla protein, kalsiyum, magnezyum, potasyum, çinko, B12 ve B2 vitamini içerir. Bununa birlikte gerçekleşen fermentasyonun da etkisiyle raf ömrü, protein sindirilebilirliği ve kalsiyum emilimi artmaktadır (Adolfsson ve ark., 2004; Wang ve ark., 2013; Köse ve Ocak, 2014).

Streptococcus thermophilus ve *Lactobacillus bulgaricus* bakterilerinin bağırsak sisteminde yaşama yetenekleri çok düşüktür. Yoğurda daha fazla besin değeri kazandırmak ve fizyolojik özelliklerini artırmak amacıyla bu kültürlerle ek olarak *Bifidobacterium ssp.*, *L. lactis*, *L. casei*, *L. acidophilus* gibi probiyotik kültürler kullanılabilmektedir. Özellikle Bifidobakterler ve *Lactobacillus acidophilus* yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu kültürler ile üretilen ürünler “probiyotik yoğurt” olarak satılmaktadır. Probiyotik yoğurdun serum kolesterol seviyesini düşürme, bağırsak florasını düzenleme, kalsiyum absorpsiyonunu ve laktoz kullanımını geliştirme gibi faydalarının olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte laktik asit bakterilerinin ürettiği antibiyotikler ve antimikrobiyal maddeler patojen mikroorganizmalara karşı koruma sağlamaktadır (Tamime ve Deeth, 1980; Ceyhan ve Alıç, 2012; Köse ve Ocak, 2014).

Yoğurdun raf ömrü oldukça sınırlıdır. Bu durumun nedenlerinden biri yaklaşık %85 oranında su içermesinden kaynaklanmaktadır. Yüksek su içeriği ve besin madde miktarı mikroorganizma faaliyetleri için uygun ortam sağlamaktadır. Ayrıca yoğurt oluşumunu sağlayan bakteriler ve enzimlerin düşük sıcaklıklarda bile faaliyetlerine devam etmesi de raf ömründe sorunlara yol açmaktadır.

Yoğurdun kısıtlı raf ömrünün olması, yoğurdun keşfinden bu yana çeşitli muhafaza tekniklerinin araştırılmasına ve geliştirilmesine yol açmıştır. Aseptik üretim, kimyasal koruma, biostabilizasyon, pastörizasyon, gaz verme, dondurma, kurutma ve HF/UHFR çok yönlü frekans metodu geliştirilen muhafaza tekniklerinden bazılarıdır (Rasic ve Kurman, 1978). Bu tekniklerin yanında yoğurdun su içeriğini azaltarak raf ömrünü uzatma prensibi ile yapılan süzölmüş veya koyulaştırılmış yoğurt da halen bazı bölgelerde sıkça üretilmektedir (Kırdar ve Gün, 2002).

2.2.1. Süzme yoğurt (greek yogurt)

Süzme yoğurt, yoğurdun serum kısmının süzülerek kuru madde kısmının değerlendirildiği bir yoğurt çeşididir. Torba yoğurdu veya kese yoğurdu gibi isimlerle de anılmaktadır.

Gıda maddeleri Tüzüğü'nün 56. Maddesine göre süzme yoğurt veya torba yoğurdu “yağlı, yarım yağlı ve yağsız yoğurtların veya ayanların torbada süzülmesi veya başka bir yöntemle suyunun alınması ile elde edilen katı kıvamlı yoğurt türüdür” olarak tanımlanmaktadır. Bu tüzüğe göre süzme yoğurtlarda en çok %70 oranında su bulunmalıdır. Gıda maddeleri tüzüğünde yayınlanan süzme yoğurt içeriği Tablo 2.3.'deki gibidir (Anonymous, 1982).

Tablo 2.3. Yasal düzenlemelere göre süzme yoğurt bileşimi (Anonymous, 1982)

Bileşim	GMT	Yoğurt standardı	FSÜ tebliği
Yağ (%)	5 tam yağlı 2,5 yarım yağlı	Ekstra yağlı 3,8 Tam yağlı 3,0 Yarım yağlı 1,5	Tam yağlı yoğurt süt yağı $\geq 3,8$ Yarım yağlı yoğurt $2 >$ süt yağı $\geq 1,5$ Yağsız yoğurt süt yağı $\leq 0,5$
Laktik asit (%)	2,2	0,8-1,6	0,6-1,5
Tuz (%)	1,5 veya tuzsuz	-	-

Fermente Sütler Tebliğinde süzme yoğurt geleneksel ürünler arasında yer almaktadır. Bu tebliğe göre ürünlerin kendine özgü tadı, kokusu ve yapısı olmalıdır. Süzme yoğurt yapımında kullanılan mikroorganizmaların dışında farklı tat ve aroma amacıyla farklı mikroorganizmalar da kullanılabilir fakat patojen mikroorganizma bulunmamalıdır (Anonymous, 2001).

Süzme yoğurdun yumuşak ve kolay sürülebilen bir yapısı vardır. Protein içeriği zengin olan yoğurdun kendine has tadı ve kokusu bulunmaktadır. İçerdiği laktik asit bakterileri sayesinde insan sağlığı ve beslenmesinde önemli özelliklere sahiptir. İnek, keçi, koyun ve manda sütlerinden elde edilen farklı yağ oranlarındaki yoğurtlardan da üretilmektedir. Süzme yoğurt randımanı %20-30 arasındadır. (Yaralı ve Çetiner, 2020).

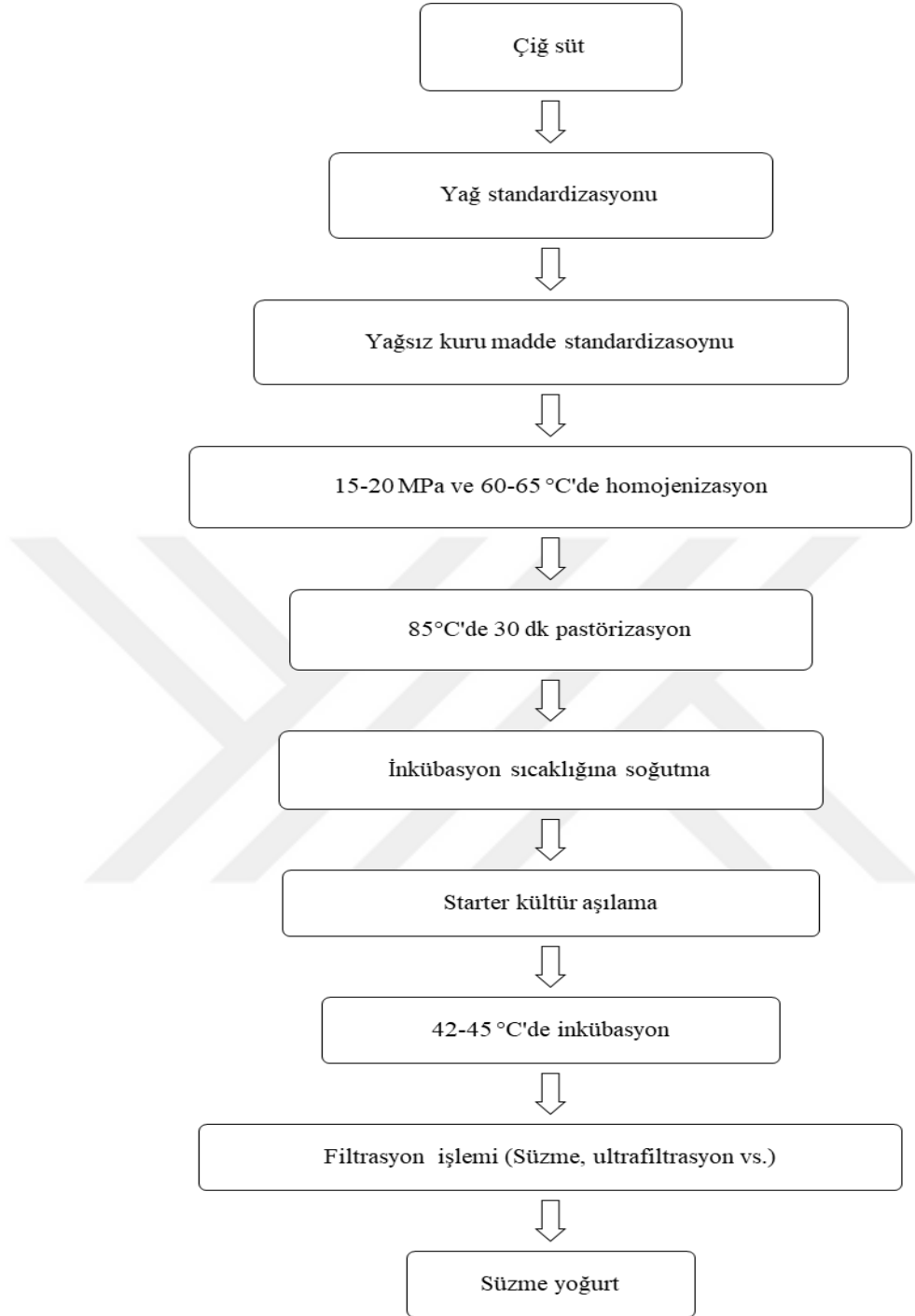
Süzme yoğurt binlerce yıldır atalarımızın yaptığı oldukça önemli bir fermente süt ürünüdür. Binlerce yıldır yapılan taze veya tüketimden artan yoğurdu daha dayanıklı hale getirmek için bez veya kıl torbalarla suyu süzdürülmüştür (Yaygın, 1999). Günümüzde halen geleneksel yöntemlerle evlerde ve küçük işletmelerde bu yöntemle süzme yoğurt üretimi yapılmaktadır.

Büyük işletmeler için geleneksel yöntemlerle üretim verimli değildir. Çünkü bu yöntemde uzun bir üretim süresine ihtiyaç vardır ve yoğurdun süzülebilmesi için geniş alana ihtiyaç duyulmaktadır, Randıman oldukça düşüktür. Bunların yanında yeterli hijyenik ortam sağlanamadığı için üründe mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal açıdan olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir.

Geleneksel metodun dezavantajlarını ortadan kaldırmak için alternatif birçok modern yöntemler geliştirilmiştir. Mekanik seperatörler ve ultrafiltrasyon gibi endüstriyel yöntemler sayesinde istenilen kuru madde içeriğine sahip ürün üretimi daha hijyenik, kaliteli, verimli şekilde ve daha kısa zamanda gerçekleştirilebilmektedir. Ters osmoz, santrifüjleme, doğrudan sulandırma da kullanılan endüstriyel yöntemlerden bazılarıdır (Nsabimana ve ark., 2005).

Özetle süzme yoğurt üretiminde temel prensip yoğurdun serum kısmının uzaklaştırılarak kuru madde içeriği yüksek ürün elde etmektir. Kuru madde içeriğinin artması suyun, laktozun ve mineral maddelerin yoğurttan uzaklaşması buna bağlı olarak protein ve yağ içeriğinin artmasıyla gerçekleşmektedir. Bu sayede set tipi yoğurda göre besin içeriği daha zengin ve daha uzun ömürlü ürün elde edilir.

Endüstriyel süzme yoğurt üretimi set tipi yoğurt gibi standart bir şekilde yapılır ancak son bir filtrasyon aşaması üretime eklenir. Süzme yoğurt üretimi Şekil 2.1.'de gösterilmiştir (Uduwerella, 2017).



Şekil 2.1. Süzme yoğurt üretim şeması (Uduwerella, 2017)

2. 2. 2. Süzme yoğurt suyu (asit whey)

Peynir ve yoğurt gibi fermente süt ürünlerinin üretimi ile genel olarak peynir altı suyu (whey – PAS) olarak adlandırılan yan ürünler açığa çıkmaktadır. Peynir altı suyu

işleme koşullarına göre tatlı peynir altı suyu (sweet whey) ve asit peynir altı suyu (asit whey) olarak iki sınıfa ayrılır. Tatlı peynir altı suyu peynir üretiminin bir yan ürünüdür ve pH değeri 6.02 ile 6.58 aralığındadır. Asit peynir altı suyu ise süzme yoğurt, krem peynir gibi ürünlerin üretiminin yan ürünüdür ve pH değeri 3.57 ile 4.34 aralığındadır (Alsaed ve ark., 2013; Chandrapala ve ark., 2015).

Amerika ve Avrupa gibi ülkelerde “Greek style yoğurt- Yunan tipi yogurt” olarak da bilinen süzme yoğurda olan talep son yıllarda çok hızlı bir şekilde artmıştır. ABD’de süzme yoğurdun pazar payı 2007’den 2015’e kadar %1’den %40’a yükselmiştir ve yılda yaklaşık 770.000 ton süzme yoğurt elde edilmiştir. Dolayısıyla süzme yoğurt üretiminde açığa çıkan süzme yoğurt suyu (asit whey) miktarında da ciddi bir artış gerçekleşmiştir. 1 kg süzme yoğurt üretiminden yaklaşık 2-3 kg süzme yoğurt suyu açığa çıkmaktadır (Menchik ve Moraru, 2019). 2015 yılında yalnızca ABD’de açığa çıkan süzme yoğurt suyu miktarı yaklaşık 4 milyon tona kadar ulaşmıştır (Lindsay ve ark., 2018).

Asit peynir altı suyu (YAS), tatlı peynir altı suyuna (PAS) kıyasla daha fazla miktarda kül, daha düşük miktarda protein içerirler ve laktik asit içeriği 16 kat daha fazladır. Buna ek olarak asitli ve tuzlu tadı nedeniyle gıda uygulaması daha sınırlıdır (Lievore ve ark., 2013). Tablo 2.4.’de YAS ve PAS’nun temel bileşenleri gösterilmiştir (Sanjeev Anand ve ark., 2013; Chandrapala ve ark., 2015).

Tablo 2.4. Tatlı ve asit peynir altı suyu bileşenleri (Anand ve ark., 2013; Chandrapala ve ark., 2015)

Bileşen	Tatlı peynir altı suyu (PAS, % w/w)	Asit peynir altı suyu (YAS, % w/w)
Toplam çözünmüş katı madde	6,35	6,50
Nem	93,70	93,50
Toplam protein	0,65-0,96	0,37-0,65
Laktoz	3,90-4,80	4,20-4,90
Mineral	0,50	0,80
Laktik asit	0,050	0,60-0,70

Süt endüstrisinde PAS yıllar içinde başarılı şekilde değerlendirilmiştir. Membran konsantrasyonu, buharlaştırma ve püskürtmeli kurutma gibi sistemlerle kolayca işlenmektedir. Günümüzde gıda endüstrisinde içecek tozları, besin barları, çorbalar,

fırın ürünleri, şekerleme kaplamaları ve dondurma gibi çeşitli ürünlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Bununla birlikte PAS kıymetli bir protein kaynağıdır ve protein tozu yapımında verimli bir şekilde kullanılmaktadır (Chandrapala ve ark., 2015).

PAS'nun aksine YAS süt endüstrisi için önemli bir bertaraf sorunudur. YAS'nun yüksek seviyelerde laktik asit ve kalsiyum içermesi nedeniyle toz haline getirilmesi zordur. Laktik asit son ürüne ekşi bir tat verir ve laktozun cam geçiş sıcaklığını düşürür, bu durum püskürtme ile kurutmayı oldukça verimsiz hale getiren yapışkan bir tozla sonuçlanabilir (Talebi ve ark., 2020). Yüksek miktarda laktik asit varlığı YAS'nun ticari değerini düşürür, potansiyel gıda uygulamalarını sınırlar ve işlemeyi çok zor hale getirir (Chandrapala ve ark., 2015).

YAS uygun şekilde atılmadığı takdirde ciddi çevresel sorunlara neden olabilir. YAS'nun bertarafı verimsiz toprak ve su kirliliği şeklinde çevreye zarar vererek balık ölümlerine neden olmaktadır. Bununla birlikte yüksek besin içeriğine sahip bir ürünün değerlendirilme şansı da ortadan kalkmış olur. YAS'nun değerini artırmak ve çevreye olan zararını ortadan kaldırmak için çeşitli değerlendirme yöntemleri araştırılmıştır. İki başlık altında toplayabileceğimiz çözümlerden biri daha az YAS'nun ortaya çıkacağı teknolojilerden yararlanmak, ikincisi ise YAS'nun farklı yan ürünlere dönüştürülebilirliğinin incelenmesidir (Silva ve Yang, 1995; Lindsay ve ark., 2018).

2.3. Turşu

Turşu, yüzyıllarca kış aylarında sofralarımızı zenginleştiren, Türk mutfağında vazgeçilmez olan geleneksel ürünlerimizden biridir. Turşu yapımı ile insanlar gıda maddelerini uzun süre saklayabilmekte, az ya da hiç bulunmadıkları dönemlerde dahi bu ürünlerden yararlanabilmektedirler (Aktan, 1998).

Turşunun klasik olarak tanımı “sebze ve meyvelerin belirli tuz konsantrasyonlu salamuraları veya kendi öz suları içinde laktik asit bakterileri ile fermentasyona uğratılmaları ile oluşan laktik asidin ve ortamdaki tuzun koruyucu etkisi sonucu, uzun süre dayanıklılık kazanan bir ürün” şeklinde yapılmaktadır (Aktan, 1998).

Türk Standartları Enstitüsü (TSE) standartlarına göre turşu “Turşu hammaddelerinin yıkama, ayıklama, sınıflandırma gibi ön işlemlerden geçirilerek fermentasyon ve tercihen pastörizasyona tabii tutularak gerektiğinde koruyucu madde ilavesiyle imal edilen ürün” şeklinde tanımlanmaktadır (Anonymous 2012).

Dünya genelinde çeşitli sebzelerin turşu yapılarak daha dayanıklı hale getirilmesi giderek önem kazanmıştır. Bu işlem artık yalnızca muhafaza amacı ile değil, çeşni elde etmek için de yapılmaktadır. Günümüzde turşu üretimi yapan işletme sayısı oldukça artmıştır. Ülkemiz de turşu üretiminde çok başarılı durumdadır, birçok ülkeye turşuyu ihraç etmektedir. 2019 TÜİK verilerine göre ülkemizde 2011 yılından bu zamana kadar 145 bin ton ve üzerinde turşu üretimi yapılmaktadır. 2016 yılı 175,3 bin ton ile en fazla üretimin yapıldığı yıldır ve turşu satış miktarı 162 milyon dolara ulaşmıştır. (TÜİK, 2019)

Ülkemizde hıyar, lahana, biber, patlıcan, domates ve fasulye gibi birçok sebzedden turşu yapılmaktadır. Bazı bölgelerde değişik meyvelerden de turşu yapımına rastlamak mümkündür (Ova, 2002). Dünyada ve ülkemizde turşu üretiminde en çok kullanılan sebze hıyardır. Turşuluk hıyarlar yüksek su oranına sahip olmasından dolayı sert ve gevrek bir yapıya sahiptir. Çok ince, genellikle tüylü ve dikenli kabuğu vardır. Tablo 2.5.’de turşuluk hıyarların bileşimi gösterilmiştir (Aktan ve ark., 1998).

Tablo 2.5. Turşuluk hıyarların bileşimi (Aktan ve ark. 1998).

Bileşim	Miktar (%)
Su	94,5-96,0
Karbonhidratlar	2,0-2,2
Protein	0,5-0,7
Mineraller	0,5-0,8
Yağ	0,2-0,3
Vitaminler	
A vitamini	90-105 mg
C vitamini	6-7 mg
Pektin	0,5-0,7

Turşu üretiminde laktik asit fermentasyonu ve tuz önemli iki temel faktörü oluşturmaktadır. Turşu fermentasyonunda, hammaddeden gelen doğal flora içerisindeki laktik asit bakterileri şekerleri asitlere dönüştürmektedir. Laktik asit

fermantasyonu patojenik mikroorganizmaların gelişimini engeller, bozulma ve toksin oluşumuna sebep olan mikroorganizmalara karşı direnç sağlar ve ürünün besinsel değerini artırır. Salamura içerisindeki tuz hammaddedeki pektinolitik ve proteinolitik hidrolizleri sınırlamaktadır. Böylelikle ürün dokusunda yumuşama kontrol altında tutulmuş olur ve bozulma engellenir (Tokatlı ve ark., 2012).

Turşu kalitesi için laktik asit fermentasyonunun başarılı olması çok önemlidir. Fermentasyon genel olarak 4 basamaktan oluşmaktadır: başlangıç, birincil fermentasyon, ikincil fermentasyon ve fermentasyon sonrası (Tablo 2.6.) (Çetin, 2017).

Tablo 2.6. Turşu fermentasyon aşamaları (Çetin, 2017).

Basamak	Baskın Mikroorganizma
1- Başlangıç	Çeşitli gram (+) ve gram (-) bakteriler
2- Birincil fermentasyon	Laktik asit bakterileri ve mayalar
3- İkincil fermentasyon	Mayalar
4- Fermentasyon sonrası	a) Açık tanklarda; salamura yüzeyinde oksidatif mayalar, küfler ve bakteriler b) Anaerobik tanklarda; mikrobiyal etkinlik gözlenmez.

Hammaddenin salamura içerisine yerleştirilmesiyle birlikte mayalar, Gram (+) ve Gram (-) bakteriler hızla gelişir. pH değeri başlangıçta 5,5 değerindedir fakat laktik asit bakterileri (LAB) laktik asit oluşturarak ortamın asitliğini düşürür ve birincil fermentasyon başlar. Bu aşamada LAB ortama hakim durumdadır fakat fermentatif mayalar da gelişebilmektedir. *Streptococcus faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus cerevisiae*, *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus plantarum* bu aşamada laktik asit üreten aktif beş bakteri türüdür (Daeschel ve ark., 1987). İkincil fermentasyonda mayalar ortama hakim hale gelir. LAB gelişimi asitliğin artmasıyla zamanla yavaşlamaktadır ve glikoz fermentatif mayalar tarafından besin olarak kullanılmaktadır. Maya gelişiminin kontrol altına alınması ürünün bozulmasının önlenmesi için oldukça önemlidir. Son aşamada fermentasyonun gerçekleştiği tank açık konumda ise salamura yüzeyinde tüm mikroorganizmalar gelişebilmektedir. Fakat kapalı olması durumunda anaerobik bir ortam sağlanmış olur ve hiçbir mikrobiyal aktivite söz konusu değildir (Franco ve Pérez-Díaz, 2012; Savaş ve Şahin, 2000).

2.4. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri gram pozitif, birkaçı haricinde hareketsiz, spor oluşturmeyan bakterileridir. Morfolojik olarak çubuk veya koktan oluşan farklı uzunluktaki zincirler şeklindedir. Anaerobik fakat oksijene toleransları olan, katalaz negatif, asidi tolere edebilen fakat nitratı redükte edemeyen mikroorganizmalardır (Mathur ve Singh, 2005; İşleroğlu ve ark., 2008;). Genellikle faaliyet gösterdiği optimal sıcaklık 30 °C civarındır, dayanıklılık gösterdiği sıcaklık ise 5 °C- 53 °C arasındadır (Rees, 1997).

Süt ve süt ürünlerinde, fermente gıdalarda, bazı bitkilerde, insan ve bazı canlıların bağırsak sistemlerinde laktik asit bakterilerine rastlamak mümkündür. Fermantasyon sırasında sentezledikleri organik asitler, hidrojen peroksit, ekzopolisakaritler, antimikrobiyal ve aromatik bileşikler gıdaların tekstürüne, raf ömrüne, lezzet ve aroma gelişimine katkıda bulunmaktadırlar (Salminen ve ark., 2004). Ayrıca ürettikleri organik asitler ile ortamın pH'sını düşürerek koruyucu etki göstermektedir (Yang ve ark., 2012).

Laktik asit bakterileri, Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından patojen ve saprofit bakterilerin gelişimini kısıtladığı için GRAS (generally recognized as safe; güvenli olarak kabul edilen) listesine alınmıştır (Omar ve ark., 2006).

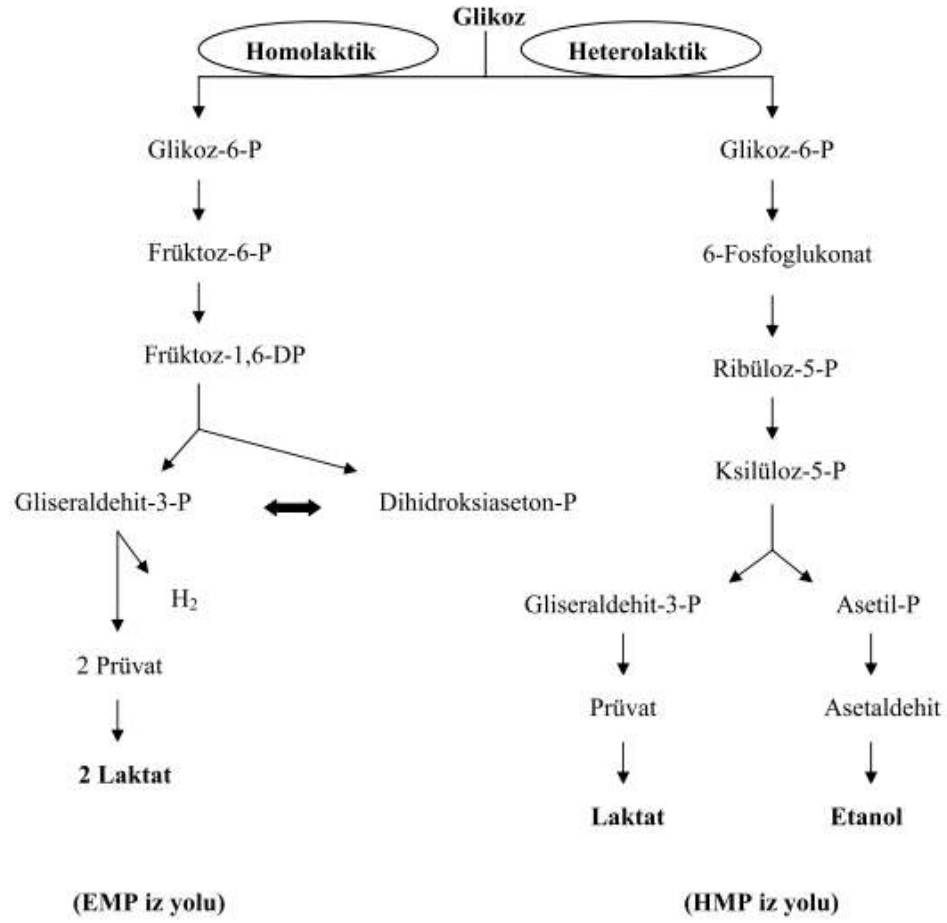
Fermente gıdalarda starter kültür olarak kullanılabilen laktik asit bakterileri patojen mikroorganizmalar üzerinde bakterisit veya bakteriyostatik etki gösterebilmektedir. Laktik asit bakterilerinin metabolitlerinden biri olan karbondioksit hücre içi ve dışı pH değerlerini, hücre zarının elektriksel potansiyelini düşürerek ve anaerobik ortam oluşturarak antimikrobiyal etki oluşturmaktadır ve bu özelliği sayesinde koruyucu kültür olarak da kullanılabilir. Bu bakteriler tarafından üretilen organik asitlerin antagonistik özellikleri sayesinde bakterilerin stoplazma zar geçirgenliği değiştirilerek gelişimleri inhibe edilebilmektedir (Seçkin ve ark., 2010).

Laktik asit bakterilerinin fermantasyonda oluşturduğu ürünler glikozun parçalanma şekline göre farklılık göstermektedir. Bu farklılık laktik asit bakterilerini

heterofermantatif ve homofermantatif olarak iki sınıfa ayırmaktadır. Bu durumdan laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında faydalanılmaktadır (Carr, Chill ve Maida, 2002).

Homofermantatif LAB glikozu EMP (Embden Meyerhoff Parnas) yolunu kullanarak parçalar ve sonucunda %90 laktik asit, %10 CO₂ oluşturur. *Streptococcus* ve *Pediococcus* cinsi bakteriler homofermantatif bakterilerdir. Heterofermantatif LAB ise glikozu HMP (Heksozmonofosfat) yolu ile parçalar ve sonucunda laktik asit yanında etanol, asetik asit ve CO₂ gibi yan ürünler oluşturur. *Leuconostoc* cinsi ile *Lactobacillus* cinsinin bir alt grubu olan *Betabacteria* heterofermantatif bakterilerdir (Carr ve ark., 2002; Evren, Apan, Tutkun ve Evren, 2011).

Homofermantatif bakteriler aldolaz ve heksoz izomeraz enzimlerine sahiptir fakat fosfoketolaz enzimleri yoktur. Bu sebeple glikozu indirgemek için EMP yolunu kullanırlar ve 2 laktat/glikoz oluştururlar. Heterofermantatif bakteriler ise fosfoketolaz enzimine sahiptirler fakat aldolaz ve heksoz izomeraz enzimleri yoktur. Dolayısıyla bu bakteriler HMP kullanırlar ve son ürün olarak laktik asit yanında CO₂, asetik asit ve etanol oluştururlar (Şekil 2.2.) (Jay, 2005).



Şekil 2.2. Laktik asit bakterilerinin glikozu homolaktik ve heterolaktik yollarla parçalaması (Fitzgerald and Caplice 1999)

1992 yılında Axelsson tarafından yapılan sınıflandırmaya göre laktik asit bakterilerine dahil 15 cins bulunmaktadır: *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Glaticatella*, *Lactobacillus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenecoccus*, *Vagococcus* ve *Weissella*. Gıda ile ilişkili cinsler ise *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenecoccus*, *Vagococcus* ve *Weissella*'dır.

Laktik asit bakterileri morfolojik özellikleri, gelişme gösterdikleri sıcaklıkları, yüksek tuz konsantrasyonlarında gelişebilme yetenekleri, ürettikleri laktik asit profilleri, glikozdan gaz oluşturma durumları ve karbonhidrat metabolizmaları gibi bazı fenotipik özelliklere göre sınıflandırılmaktadır (Tablo 2.7.) (Dinçer ve ark., 2010).

Tablo 2.7. Laktik asit bakterilerinin genel özellikleri (Ludwig ve ark., 2009)

	Glukozdan Gaz Olucumu	%2 Tuz	%4 Tuz	%6.5 Tuz	10 °C	15 °C	40 °C	45 °C	Arjinin Hidrolizi	Sitrat Kullanımı	Mannoz	Glicerol	Glukoz	Raffinaz	Trehaloz	Mannitol	Maltoz	Arabinoz	Sukroz	Sorbitol	Salisin	Ksiloz	Laktoz
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	-	+	+	-	+	+	-	+	-	±	-	+	±	+	±	+	-	+	+	-	±	-	+
<i>Lactobacillus plantarum</i>	-					+	-				-	+	±		+		±	+	±		-		
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	-					+	-				-	+	+		+		±	+	+		±		
<i>Lactobacillus. brevis</i>	+					+	-	+		-	-	+	+	-		+	+	±			±		
<i>Lactobacillus casei</i>	-					+	-				-	+	-		+		-	+	+		-		
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	-					+	-				-	+	-		+		-	+	±		-		
<i>Lactobacillus pentosus</i>	-					+	-				-	+	+		+		+	+	+		+		
<i>Lactobacillus buchneri</i>	-					+	-	+		-	-	+	+	-		+	+	±			±		
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	-					+		+		+	-	+	+	-		+	+	-			-		
<i>Enterococcus faecium</i>	-	+	+	+	+		+	+	+	-	+	-	+	±	+	±	+	+	±	±	-	+	
<i>Enterococcus durans</i>	-	+	+	+	+		+	+	+	+	+	-	+	±	+	-	+	+	±	-	-	+	
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	+	+	+	+		+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	±	-	+	
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>	+	+	+	-	+		+	-	-		±	-	+	±	±	±	+	+	+		±	±	±

(+): Gelişme Var; (-): Gelişme Yok; (±): Zayıf Gelişme

Laktik asit bakterileri fermente ürünlerin tamamında bulunmakta ve ürünlerin kendine has koku, aroma ve yapısının oluşmasına yardımcı olmaktadır (Eren ve ark., 2011). Gıda fermantasyonlarında yaygın olarak yer olan laktik asit bakterileri *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Tetragenococcus* cinsleridir. Bazı sebze fermantasyonlarında bulunan temel laktik asit bakterileri Tablo 2.8.'de verilmiştir (Hutkins ve ark., 2006).

Tablo 2.8. Bazı sebze fermentasyonlarında bulunan temel LAB türleri (Muñoz ve ark., 2009)

Sebze	Laktik asit bakterileri
Zeytin	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>
Lahana	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc citreum</i> <i>Lactobacillus paraplantarum</i>
Hıyar	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Leuconostoc sp.</i> <i>Pediococcus sp.</i>
Patlıcan	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Lactobacillus brevis</i>
Kapari	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus paraplantarum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus fermentum</i>
Üzüm Şırası	<i>Oenococcus oeni</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus hilgardii</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i>

Ek olarak laktik asit bakterileri midedeki gastrik asit ve pankreatik salgılara karşı direnç gösterir. Özellikle bitkisel ürünlerle vücuda giren laktik asit bakterileri hayvansal laktik asit bakterilerine göre mide ve bağırsaktaki koşullara daha dirençlidir (Munoz ve ark., 2009). Sindirim sistemindeki koşullara dirençli olan, canlı kalmayı başarabilen laktik asit bakterileri probiyotik olma özelliğindedir. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Enterococcus* cinsleri probiyotik laktik asit bakterilerine örnektir. Bu bakteriler bağırsak sisteminde yaşarlar ve beslenmeye olumlu etkiye bulunurlar, vücudu hastalıklardan korurlar. Laktik asit bakterileri bağırsak florasına faydaları ile bağışıklık sisteminin kuvvetlendirmektedirler (Klein, Pack ve Reuter, 1998).

2.4.1. *Lactobacillus*

Lactobacillus türlerinin yaşam alanları oldukça geniştir, doğada her yerde bulunabilen mikroorganizmalardır. Süt ve süt ürünleri, et ve et ürünleri, meyve ve sebzeler, meyve suları, tahıl ürünleri, fermente gıdalar, hayvan ve insan bağırsak sistemlerinde bulunabilmektedirler.

Lactobacillus cinsine ait tüm bakteriler çubuk şeklindedir. Fakat bakterinin türüne göre çubuk uzunluğu değişebilmekle beraber kıvrak, eğri veya ince çubuk şeklinde bulunabilirler. Koloni morfolojileri geniş yuvarlak veya küçük ve düzensiz formlarda bulunabilir. Katalaz ve oksidaz negatif, mikroaerofilik ya da anaerob bakterilerdir (Krieg ve ark., 1984; Stiles ve Holzapfel, 1997)

Laktobasiller fizyolojik özelliklerine göre mezofilik, psikrotrofik, termoturik ve termofilik türler içermektedir. Optimum gelişme sıcaklığı 30-45 °C sıcaklıklarındadır, 5-53 °C sıcaklıkları gelişme aralığıdır. Düşük su aktivitesi, yüksek tuz konsantrasyonu ve ozmotik basınca dirençli türleri bulunmaktadır. pH 4 seviyesinde asit üretebilme ve yüksek asitlik seviyelerine dayanabilme yeteneklerinden dolayı asidurik veya asidofilik özelliktedirler (Stiles ve Holzapfel, 1997; Hutkins, 2006).

Lactobacillus türleri biyokimyasal reaksiyonları ve farklı sıcaklık isteklerine göre Betabacterium, Streptobacterium ve Termobacterium olmak üzere 3 gruba ayrılır (Mavhungu, 2005).

Betabacterium heterofermantatif *Lactobacillus* türlerini içeren bir gruptur. Optimum gelişme sıcaklıkları 15 °C'dir. *L. brevis* ve *L. fermentum* bu grupta yer alan bakteri türlerinden bazılarıdır. Bu bakteriler fermente gıdalarda önemli rolü bulunan bakterilerdir (Carr ve ark., 2002).

Streptobacterium grubu bakterilerinin optimum gelişme sıcaklıkları 30 °C'dir. Bu gruptaki bakteriler homofermantatiftir, glikoz yerine glikonattan CO₂ oluştururlar ve

%1,5 üzerinde laktik asit üretebilirler. Endüstriyel fermantasyonlarda kullanılan geniş bakteri türünü içermektedir. *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. casei spp. rhamnexus* bu grupta yer alan önemli bakteri türlerinden bazılarıdır (Carr ve ark., 2002).

Thermobacterium grubu optimum gelişme sıcaklıkları 40-45 °C ve homofermantatif türleri içermektedir. %30 üzerinde laktik asit oluşturabilirler. *L. acidophilus*, *L. delbrueckii spp. bulgaricus*, *L. delbrueckii spp. lactis*, *L. salivarius* bu grupta bulunan türlerden bazılarıdır (Carr ve ark., 2002).

2.4.2. *Lactococcus*

Morfolojik görüntüsü kok şeklinde olan bakterilerdir. Bu bakterilerde gaz oluşumu gözlenmez. Optimum gelişme sıcaklıkları 30 °C'dir. 10 °C sıcaklığında gelişme gösterebilirken 45 °C sıcaklıklarında gelişemezler. Hareketsizlerdir, kapsülleri yoktur ve fakültatif anaeroptur. *L. garviae*, *L. lactis*, *L. piscium*, *L. plantarum*, *L. raffinolactis* olmak üzere 5 farklı türden oluşmaktadır. Fermente süt ürünlerinin üretiminde özellikle *L. lactis* alttürleri oldukça önemlidir (Teuber, 1995; Büyükyörük ve Soyutemiz, 2010).

2.4.3. *Leuconostoc*

Kok şeklinde, katalaz negatif, fakültatif anaerobik bakterilerdir. Gelişebilmek için ihtiyacı olan ortam 4,5 ve üzeri pH değerinde olmalıdır. Optimum gelişme sıcaklıkları 20-30 °C sıcaklıklarında olmakla beraber buzdolabı sıcaklığında da üreyebilme özellikleri vardır (Dellaglio ve ark., 1995; Carr ve ark., 2002). Süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanılabilen türleri bulunmaktadır. Oluşturdukları aroma bileşikleri ile gıdalara karakteristik aroma sağlayabilmektedirler. Tuza direnç göstermeleri sayesinde turşu fermantasyonlarında *Leu. mesenteroides* türü ile fermantasyonun ilk aşamasında bulunabilirler. Diğer laktik asit bakterilerine göre sebze fermantasyonlarını daha hızlı başlatabilirler (Mavhungu, 2005).

2.4.4. *Pediococcus*

Tetrat morfolojide bulunan laktik asit bakterileridir. Optimum gelişme sıcaklıkları 35 °C'dir. Homofermantatif ve katalaz negatiflerdir. %6,5 tuz konsantrasyonlarında ve 4,2 pH değerinde ortamlarda yaşayabilme yetenekleri bulunmaktadır. *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* türleri çiğ sebzelerde bulunmalarından dolayı fermente sebzelerin üretiminde önemli rol üstlenmektedirler (Hutkins, 2006).

2.4.5. Turşuda yer alan laktik asit bakterileri

Hem dünyada hem de ülkemizde yaygın olarak üretilen turşu çeşidi hıyar turşusudur. Hıyarlarda laktik asit bakterilerinin sayıları oldukça düşüktür. Fakat hıyarlar salamura ile bulunduğu mevcut laktik asit bakterileri ortama hızlı bir şekilde adapte olarak hızla gelişmeye başlar. Hammadde kaynaklı koliform grubu bakteriler fermantasyon sırasında artan asitlik ile inhibe olurlar. Bir başka istenmeyen mikroorganizma olan mayalar ise fermente edilebilir şekerler için laktik asit bakterileri ile rekabet halindedir.

Turşu ortamında baskın olma durumlarına göre laktik asit bakterileri *Leu. mesenteroides*, *Stp. faecalis* (güncel sınıflandırması *Enterococcus faecalis*) *P. pentosaceus* (önceki sınıflandırması *Pediococcus cerevisiae*), *L. brevis*, *L. plantarum* şeklinde sıralanmaktadır. *P. pentosaceus*, *L. brevis*, *L. plantarum* genellikle ticari fermantasyonlarda kullanılmaktadır (Pederson ve Albury, 1950).

Costilow ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada 84 farklı hıyar turşusundan 848 adet bakteri izolatu elde edilmiştir. İzolatları tür bazında 333 *L. plantarum*, 188 *L. brevis* ve 284 *P. cerevisiae* olarak belirlemişlerdir (İç ve Özçelik, 2000).

Ülkemizin farklı bölgelerinden elde edilen turşu örneklerinin mikrobiyolojik özelliklerini ortaya koymak amacıyla yapılan bir çalışmada, mikrofloranın yoğun olarak (%99) *Lactobacillus* ve *Pediococcus* türlerinden oluştuğu bildirilmektedir. Cinsler tür düzeyinde tanımlandığında *P. pentosaceus* ve *L. plantarum* türlerinin baskın florayı oluşturduğu ifade edilmiştir (Yıldız, 2011).

Türk turşuları üzerine araştırma yapan Ogabi ve Pamir (1973) 51 turşu örneğinden 502 adet bakteri izole etmişlerdir. Tüm izolatların *Lactobacillaceae* familyasına ait olduğunu belirten araştırmacılar 102 *L. plantarum*, 33 *L. casei*, 207 *L. brevis*, 72 *L. buchneri*, 13 *P. damnosus*, 17 *Leu. mesenteroides* türünü belirlemişlerdir.

Çetin (2011) yaptığı çalışmada turşuda starter kültür olarak *L. plantarum* kullanmıştır ve bu sayede aroma gelişimini sağlamayı ve probiyotik özellik kazandırmayı amaçlamıştır. Çalışma neticesinde rekabetçi mikrofloranın kısıtlandığı ve ürünün 60. güne kadar probiyotik özelliğini koruduğu bildirilmiştir.

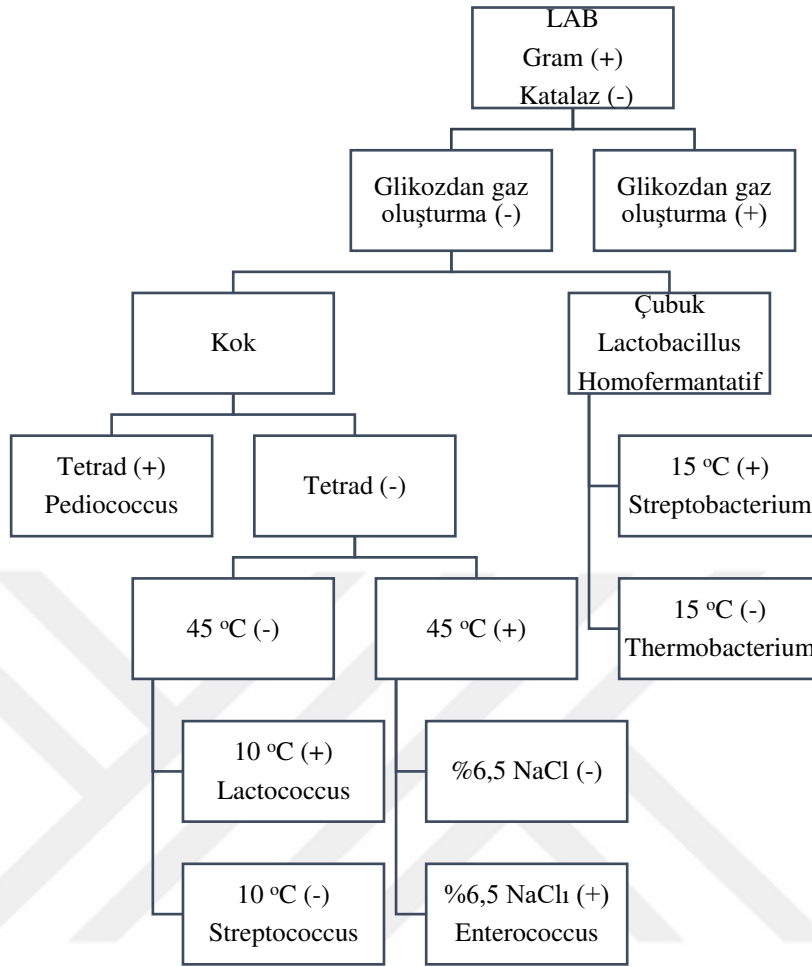
Evren ve Şahin (1993) tarafından Samsun’da yapılan bir çalışmada yöreye ait turşunun laktik asit bakterileri incelenmiş ve starter kültür olarak kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Turşulardan 100 adet bakteri izole etmişlerdir. Sonuçta 40 *L. plantarum* var. *plantarum*, 26 *L. plantarum* var. *pentosus*, 14 tanesi *L. plantarum* var. *Arabinosus* ve 20 *L. casei* türü tespit etmişlerdir. Ayrıca starter kültür kullanılarak üretilen turşuların duyusal ve içerik yönünden daha iyi olduğu belirtilmiştir.

2.4.6. Laktik asit bakterilerinin tanımlanması

Orla Jensen laktik asit bakterilerinin morfolojik, ekolojik ve fizyolojik özelliklerine üzerine ilk kullanışlı sınıflandırmayı yapan kişidir. Zamanla endüstriyel, ekonomik ve bilimsel açıdan önem kazanan laktik asit bakterilerinin moleküler karakterlerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar başlamıştır. Karbohidrat fermantasyon karakterleri, kullandıkları fermantasyon yolları, laktik asit üretim düzeyleri, peptidoglukan tabakalarının analizi, yağ asidi kompozisyonları, DNA’nın % G+C düzeyleri, gen ürünlerinin elektroforetik özellikleri, DNA-DNA hibridizasyonu gibi konular ile laktik asit bakterilerinin sınıflandırılmasına yeni bir yaklaşım getirilmiştir. Günümüzde laktik asit bakterilerinin tanımlanmasına yönelik metotlar fenotipik ve genotipik analizlerden oluşmaktadır (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Bakterilerin tanımlanmasının yapılabilmesi için ilk aşamada bulundukları ortamdan izole edilerek saf kültürler elde edilmektedir. Saf kültürler elde edildikten sonra ilk aşamada bakterilerin gram reaksiyonu, mikroskopik morfolojisi ve katalaz aktivitesi belirlenmektedir. Sonuçta gram pozitif, katalaz negatif, sporsuz kok veya çubuk şekilli izolatlar laktik asit bakterisi olarak ayrılmaktadır. Bu ayrılan izolatlara cins düzeyinde tanımlama yapılabilmesi amacıyla bazı morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik testler yapılmaktadır. Bu testlere farklı pH ve sıcaklıklarda gelişme, farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme, sukrozdan dekstran oluşturma, glukozdan gaz oluşturma, arjininden amonyak üretimi, karbonhidrat fermentasyon testleri örnek gösterilebilir (Papamanoli ve ark., 2003;Yerlikaya, 2014)

Klasik tanımlama testleri çok fazla olması ve standart bir ayırım yapan şemanın olmaması laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında zorluklara sebep olabilmektedir. Gram pozitif ve katalaz negatif olarak belirlenen laktik asit bakterileri; morfolojilerine, farklı sıcaklıklarda gelişebilmelerine ve glikozdan gaz oluşturma özelliklerine göre sınıflandırılabilir (Şekil 2.3.) (Schillinger ve Lücke, 1987).



Şekil 2.3. Laktik asit bakterileri identifikasyon şeması (Schillinger ve ark., 1987).

Çeşitli sayıda klasik biyokimyasal testten oluşan hazır API (Analytical Profile Index) test kitleri de günümüzde tanımlama amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. API 50 CH test kitleri sayesinde laktik asit bakterileri tür/alttür düzeyinde kolayca tanımlanabilmektedir. Bu test kitlerinden çıkan sonuçlar, test bilgisayar programının veri tabanında bulunan bakteri türleri ile sınırlıdır ve sonuçlar “% tanımlama” şeklindedir (Papamanoli ve ark., 2003; Yerlikaya, 2014).

Son yıllarda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamide Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE), Çoğaltılmış rDNA’nın Restriksiyon Analizi (ARDRA), Pulsed Field Jel Elektrofrezisi (PFGE), Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi (AFLP), Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) gibi moleküler biyoloji teknikleri sıklıkla laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında

kullanılmaktadır. Bu yöntemler cin, tür, alt tür ve suş düzeyinde tanımlama imkanı vermektedir (Kıran ve Osmanağaoğlu, 2011; Çetinkaya ve Ayhan, 2012).



BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada hammadde olarak kullanılan kornişonlar üretim gününde Sakarya Meyve Sebze Halinden alınarak laboratuvara getirilmiştir. Sirke ve YAS kullanılarak iki farklı formülasyonda salamura hazırlanmıştır. Çalışmamızda kullanılan YAS Güneşoğlu Süt Ürünleri A.Ş.'den, üzüm sirkesi ise yerel bir marketten temin edilmiştir. Turşu üretiminde saf su kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Turşu üretimi

Çalışmamızda 3 tekrerrürde fermente turşu üretimi gerçekleştirilmiştir. Her bir üretim farklı zamanlarda yapılmıştır. Sirke ve YAS kullanılarak iki farklı salamura hazırlanmıştır. Üretimde kullanılacak YAS ve sirke salamuralarının titrasyon asitlikleri %1 (w/w), tuz konsantrasyonları ise %8'e ayarlanmıştır. YAS 100°C'de 10 dakika ısıtılma işlemine tabi tutulmuş ardından da bir cendere bezi ile süzölmüştür. Böylelikle YAS yapısında bulunan proteinin bir kısmı koagüle edilerek uzaklaştırılmıştır.

Üretim öncesinde 1 numara kornişonlar yıkanmış, şekil bozukluğu olan veya uygun kalitede olmayanlar ayrılmıştır. Yaklaşık 290-300 g kornişon 1/2'lik (99mm uzunluk, 63mm çap) cam kavanozları dolduracak şekilde yerleştirilmiştir ve baskı aparatı ile sabitlenmiştir. Oda sıcaklığında salamura kornişonları tamamen kapatacak şekilde kavanozlara eklenmiştir. 25°C sıcaklığında inkübatöre yerleştirilerek fermentasyona

bırakılmıştır. Fermantasyonun 0, 7, 14, 21, 35, 49, 77, 105. günlerinde analizleri yapılmak üzere bir kavanoz turşu açılmıştır.



Şekil 3.1. Sirke ile üretilen turşu örneği



Şekil 3.2. YAS ile üretilen turşu örneği

3.2.2. Turşu örneklerinin kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri

Kornişon ve salamuradan alınan tüm örneklerin paralelli olarak pH değerlerine bakılmış, titrasyon asitliği (947.05; AOAC 2007) ve tuz analizleri (975.20; AOAC, 2007) yapılmıştır. Analizler üretimi takiben 0, 7, 14, 21, 35, 49, 77, 105. günlerde yapılmıştır. pH elektrodu (Inlab® solid pro; Mettler Toledo, Columbus, OH, ABD) ile uygun prob kullanarak belirtilen günlerde turşuların kornişon ve salamura pH değerleri izlenmiştir.

Turşu örneklerinden fermentasyonun 0, 7, 14, 21, 35, 49, 77, 105. günlerinde laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve mikrobiyolojik sayım için ekim yapılmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilen besiyerleri yaklaşık 45°C sıcaklığına ulaştığında petri kutularına dökülmüştür. Aseptik koşullarda turşu salamurasında 10 ml alınarak, steril peptonlu su ile uygun dilüsyonlar yapılmıştır.

Her bir dilüsyondan alınan 0.1 µL örnek MRS (DeMan, Rogosa and Sharpe Agar) ve M17 agar içeren petri plaklarına yayma plak yöntemine göre ekim yapılmıştır. MRS agar içeren petri plakları anaerobik şartlarda 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik ortamın sağlanabilmesi için oksijen tutucu kitler saf su (35 ml) ile aktifleştirilerek petri plakları ile kapalı ortama bırakılmıştır. M17 agar içeren petri plakları ise doğrudan 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.3. Laktik asit bakterilerinin izolasyonu

MRS ve M17 besiyerleri üzerinde gelişen kolonilerde birbiri ile farklı morfolojiye sahip olanlar öze yardımıyla alınmıştır ve MRS besiyerine çizim usulü ekim yapılmıştır. Petri plakları 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında tek bir koloni öze yardımıyla alınarak MRS Broth sıvı besiyerine daldırma usulü ekim yapılmıştır ve 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sona erdiğinde sıvı besiyeri vorteks yardımı ile homojen hale getirilerek tekrar çizim usulü MRS besiyerine ardından tek koloni alınarak MRS Broth sıvı besiyerine ekim yapılmıştır. Bu sayede oldukça saf bir koloni elde edilmiştir.

3.2.4. Bakteri kültürlerinin muhafazası

MRS Broth besiyerinde inkübasyonunu tamamlamış saf kültürler toplam hacmin %30'u gliserol olacak şekilde steril koşullarda, steril gliserol ile 1 mL'lik kriotüplere alınmıştır. Tanımlama analizlerinin yapılacağı güne kadar -80 °C'de donmuş kültür olarak bekletilmiştir. İzolatlar analiz öncesi aktifleştirilmiştir. Aktifleştirme işlemi için steril koşullarda gliserollü kültürlerden öze yardımı ile alınan kültür MRS Broth sıvı besiyerinde geliştirilmiştir. Bu işlem iki kez uygulanarak testlere hazır duruma getirilmiştir.

3.2.5. Laktik asit bakterilerinin tanımlanması

3.2.5.1. Gram boyama testi

Gram boyama testi için -80 °C'de bekletilen izolatlar 10 mL'lik MRS Broth sıvı besiyerine öze yardımıyla canlandırma yapılmak üzere alınmıştır. 30 °C'de geliştirilmiş 18-24 saatlik taze kültürler kullanılmıştır. Vorteks yardımı ile homojen hale getirilen sıvı besiyerinden steril koşullarda bir öze dolusu örnek alınmış, temiz lam üzerine homojen şekilde yayılarak kendi halinde kurumaya bırakılmıştır. Kurumuş olan lamlar boyama öncesi alev üzerinde üç kez fikse edilmiştir. Kristal violet çözeltisi ile lam üzerindeki örnek 1 dakika muamele edilmiştir ve süre sonunda saf su yardımıyla yıkanmıştır. Yıkama sonrası lugol çözeltisi damlatılmıştır ve 1 dakika sonunda tekrar saf su yardımıyla yıkanmıştır. Ardından 10 saniye %96'lık etil alkol ile muamele edilip saf su ile yıkanmıştır ve son olarak safranin damlatılarak 30 saniye sonunda yıkanmıştır. Boyama işlemi sona erdikten sonra lam hava akımı yardımıyla kurutulmuştur. Kuruyan lamdaki örnek üzerine immersiyon yağı damlatılarak X100 büyütme güçlü ışık mikroskopunda incelenmiştir. Hücreler pembe-kırmızı renge boyanmışsa gram (-), mavi-mor renge boyanmışsa gram (+) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5.2. Hücre morfolojisi

Gram boyama sırasında mikroskopta bakterilerin morfolojik durumu da incelenmiştir. Bakterilerin şekilleri kok ya da basil olarak belirlenmiştir. Bakteri dışındaki mikroorganizmalar ayırt edilerek çalışma kapsamından çıkarılmıştır.

3.2.5.3. Katalaz testi

Gram (+) olarak belirlenen bakterilerin katalaz üretilip üretilmediğini belirlemek amacıyla %30 H₂O₂ çözeltisi kullanılmıştır. MRS besiyerinde 30 °C’de 24 saat geliştirilmiş kolonilerin üzerine 3-4 damla H₂O₂ çözeltisi damlatılarak gaz çıkışı gözlemlenmiştir. Gaz çıkışı gösteren izolatlar katalaz (+) olarak, gaz çıkışı gözlemlenmeyen izolatlar ise katalaz (-) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5.4. Glikozdan gaz oluşturma testi

Glikozun fermente edilmesiyle ortamda gaz oluşup oluşmadığını gözlemlemek amacıyla 10 mL MRS Broth sıvı besiyerlerine ters konumda havası alınmış bir şekilde Durham tüpleri yerleştirilmiştir ve otoklavda steril hale getirilmiştir. Aktifleştirilmiş kültürden bir öze dolusu örnek alınarak içerisinde Durham tüpü bulunan sıvı besiyerlerine ekim yapılmıştır ve 30 °C’de 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sona erdiğinde Durham tüplerinin tabanında gaz oluşumu kontrol edilmiştir. Gaz oluşumu tespit edilmişse heterofermantatif, gaz oluşumu tespit edilmemişse homofermantatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5.5. Farklı sıcaklık derecelerinde gelişme testi

Bakteri hücrelerinin farklı sıcaklık derecelerinde faaliyetlerinin devam edip etmeyeceğini tespit etmek amacıyla aktifleştirilmiş örneklerden 1 öze alınarak MRS Broth sıvı besiyerine ekim yapılmıştır. 10 °C, 15 °C ve 45 °C olmak üzere üç farklı sıcaklık derecesinde 5 günlük inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişme

durumları gözlemlenmiştir. Besiyerinde bulanıklık gözlenen bakteriler pozitif, gözlenmeyenler negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5.6. Farklı pH değerlerinde gelişme testi

Farklı pH değerlerinde bakterilerin gelişme durumlarını incelemek amacıyla aktifleştirilmiş örneklerden 1 öze alınarak MRS Broth sıvı besiyerine ekim yapılmıştır. MRS Broth besiyeri pH değerleri ekim öncesinde asetik asit ile 3 ve 4,5 değerlerine, NaOH ile 9,6 değerine ayarlanmıştır ve 30 °C'de 3 günlük inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişme durumları gözlemlenmiştir. Besiyerinde bulanıklık gözlenen bakteriler pozitif, gözlenmeyenler negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5.7. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme testi

MRS Broth sıvı besiyeri sterilizasyon öncesi NaCl ile %2, %6,5 ve %10 (w/v) konsantrasyonlarında ayarlanmıştır. Aktifleştirilmiş örneklerden 1 öze alınarak steril edilmiş besiyerlerine ekim yapılmıştır ve 30 °C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişip gelişmedikleri gözlemlenmiştir. Besiyerinde bulanıklık gözlenen bakteriler pozitif, gözlenmeyenler negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5.8. Karbonhidrat fermentasyon profillerinin belirlenmesi

İzolatların tür düzeyinde belirlenebilmesi amacıyla API 50 CH kiti (BioMérieux, Marcy l'Etoile France) kullanılmıştır. Kit içerisinde bir tanesi kontrol olmak üzere 50 adet mikrotüp bulunmaktadır. Her bir mikrotüp içerisinde farklı karbon kaynakları vardır ve bunlar Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. API 50 CHL sisteminde kullanılan karbon kaynakları

0 (Kontrol)	D-Galaktoz	Metil- α -D-Mannopiranosid	D-Melibiyoz	D-Turanoz
Gliserol	D-Glukoz	Metil- α -D-Glukopiranosid	D-Sakkaroz	D-Liksoz
Eritritol	D-Fruktoz	N-Asetil-Glukozamin	D-Trehaloz	D-Tagatoz
D-Arabinoz	D-Mannoz	Amigidalin	İnülin	D-Fukoz
L-Arabinoz	L –Sorboz	Arbutin	D-Melezitoz	L-Fukoz
D-Riboz	L-Ramnoz	Eskulin	D-Rafinoz	D-Arabitol
D-Ksiloz	Dulsitol	Salisin	Amidon	L-Arabitol
L-Ksiloz	İnositol	D-Sellobiyoz	Glikojen	Potasyum Glukonat
D-Adonitol	D-Mannitol	D-Maltoz	Ksilitol	Potasyum 2-Ketoglukonat
Metil- β -D-ksilopiranosid	D-Sorbitol	D-Laktoz	Gentiyobiyo	Potasyum 5-Ketoglukonat

Sıvı besiyerinde aktifleştirilmiş örnekler analiz öncesi MRS besiyerinde geliştirilmiştir. Steril swab yardımı ile gelişen tüm bakteriler toplanarak Suspension Medium 2'ye aktarılmıştır. Hazırlanan yoğun süspansiyon bulanıklıkları 2 McFarland (Ref. 70 900, BioMérieux) konsantrasyonu ile aynı olacak şekilde Suspension Medium 5'e damlatılarak ve damla sayısı kaydedilmiştir. Kaydedilen damla sayısının iki katı bu süspansiyondan steril pipet yardımı ile alınarak "API 50 CHL Medium" besiyerine damlatılmıştır. Bu besiyeri içerisinde bromkresol moru indikatörü içermektedir. Test kitinde bulunan 50 mikrotüp bu içerik ile doldurularak üzeri hava almayacak şekilde mineral yağ ile kapatılmıştır. Hazırlanan kitler 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonunda renk değişimleri kitlerin örnek kartları üzerine kaydedilmiştir. Sarı renk pozitif, mavi mor renk negatif olarak kaydedilmiştir. Yalnızca 25 numaralı mikrotüpteki eskülin siyah renk aldığı pozitif olarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar "API Identification Software" (API Lab Plus Program, BioMérieux) programında değerlendirilmiştir. Böylelikle izolatlar cin, tür veya alt tür düzeyinde yüzdesele olarak belirlenmiştir.

3.3. Deneyisel Dizayn ve İstatistik Analizleri

Turşu üretimleri 3 farklı zamanda, YAS ve sirke olmak üzere iki farklı salamura kullanılarak gerçekleştirilmiştir. YAS ve sirke (S) ile hazırlanan turşuların ve fermentasyon süresinin (Z) pH, titrasyon asitliği ve tuz parametreleri üzerine etkileri parça-parcel (split-plot) dizayn ile incelenmiştir. Tüm-parcel faktöründe, (Ü) blok faktörü turşuların üretildiği zaman ve kesikli değişken salamura türü (YAS ve sirke) olarak ele alınmıştır. Depolamaya bağlı geçen süre (Z) ve salamura çeşidi kondisyonun etkileşimi ($Z \times S$) değişkenler olarak parça-parcel faktörü için ele alınmıştır. Hata faktörü (error term) salamuranın türü ve turşunun üretildiği zamanın etkileşimi ($S \times Ü$) olarak ele alınacaktır. İstatistiksel analizler JMP (13.0 versiyon; SAS Institute Inc., Cary, NC, ABD) kullanılarak yapılmıştır. Veriler varyans analizi (ANOVA) ile analiz edilmiş, istatistiksel farklılık Tukey-HSD çoklu karşılaştırma testi yardımıyla $p < 0.05$ düzeyinde belirlenmiştir. Farklı veriler arasındaki ilişki Pearson's korrelasyonu ile belirlenmiştir.

BÖLÜM 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bakterilerin İzole Edildiği Turşu Örneklerinin Tanıtımı

Bakteri kültürleri laboratuvar ortamında üretilen hıyar turşularından izole edilmiştir. 3 farklı zamanda üretim yapılmıştır ve iki farklı salamura (YAS ve sirke) kullanılmıştır. Fermantasyona bırakılan turşu örneklerinden 0, 7, 14, 21, 35, 49, 77, 105. günlerde bir kavanoz sirke ile üretilen bir kavanoz da YAS ile üretilen turşu salamuralarından örnekler alınarak ekim yapılmıştır ve kavanozların tuz, asitlik ve pH değerlerine bakılmıştır. Bir üretim gününde 8 kavanoz sirke ve 8 kavanoz da YAS'lı salamura içeren turşu üretimi yapılmıştır. Toplamda 24 kavanoz sirke, 24 kavanoz YAS içeren turşu üretimi yapılmıştır.

MRS ve M17 besiyerlerine yapılan ekimlerden laktik asit bakterisi olduğu düşünülen mikroorganizmalar izole edilmiştir. 105 gün sonunda toplam 257 adet izolat elde edilmiştir. 111 izolat M17 besiyerinden, 146 izolat ise MRS besiyerinden elde edilmiştir. M17 besiyerinden elde edilen izolatların 43'ü sirke, 68'i YAS içeren salamuradan alınırken; MRS besiyerinden elde edilen izolatların 69'u sirke, 77'si YAS içeren salamuradan alınmıştır.

4.2. Turşu Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları

Açılan her bir kavanozdan bakteri izolasyonu için gerekli örnekler alındıktan sonra, turşuların genel durumu hakkında bilgi sahibi olabilmek için salamuraların tuz, asitlik ve pH analizleri paralelli olarak yapılmıştır. Tablo 4.1.'de YAS ve sirke ile üretilen turşu salamuralarının tuz, asitlik ve pH değerleri verilmiştir.

Tablo 4.1. Depolama süresi boyunca sirke ve YAS ile üretilen turşu salamuralarına ait pH, titrasyon asitliği ve tuz değerleri

Zaman	pH		Titrasyon asitliği*		Tuz	
	YAS ¹	Sirke ²	YAS	Sirke	YAS	Sirke
0	4,21±0,04 ^a	3,59±0,11 ^b	0,71±0,07 ^a	0,61±0,01 ^a	4,93±0,12 ^a	4,53±0,48 ^a
7	3,71±0,03 ^a	3,53±0,08 ^a	1,32±0,03 ^a	0,79±0,05 ^a	3,58±1,46 ^a	4,68±0,44 ^a
14	3,64±0,02 ^a	3,58±0,29 ^a	1,49±0,11 ^a	0,80±0,17 ^a	5,07±0,81 ^a	4,69±1,05 ^a
21	3,62±0,03 ^a	3,36±0,30 ^a	1,71±0,16 ^a	1,06±0,22 ^a	5,47±0,45 ^a	4,79±0,20 ^a
35	3,61±0,06 ^a	3,52±0,28 ^a	1,78±0,16 ^a	0,93±0,25 ^b	4,97±0,53 ^a	4,78±0,31 ^a
49	3,57±0,01 ^a	3,55±0,14 ^a	1,85±0,16 ^a	0,95±0,12 ^b	5,30±0,54 ^a	4,41±0,21 ^a
77	3,48±0,02 ^a	3,52±0,33 ^a	1,84±0,19 ^a	0,94±0,24 ^a	5,18±0,52 ^a	4,51±0,19 ^a
105	3,53±0,04 ^a	3,49±0,31 ^a	1,75±0,13 ^a	0,97±0,22 ^b	5,21±0,51 ^a	4,57±0,26 ^a

¹Yoğurt altı suyu ile üretilmiş fermente kornişon turşusu (YAS).

²Sirke ile üretilmiş fermente kornişon turşusu.

^{a-b}Aynı satırdaki örnekler arasındaki farklılığı ifade eder.

*Asitlik laktik asit cinsinden verilmiştir.

Sirke ile hazırlanan salamura asitliği %0,61 ile %1,06 değerleri arasında değişmektedir. Fermantasyonun başlangıcında asitlik değeri %0,61 değerlerinde iken fermantasyon ilerledikçe asitliğin de arttığı görülmektedir. YAS ile hazırlanan salamuralarda asitlik değeri %0,71 ile %1,85 değerleri arasındadır. YAS ile hazırlanan salamuraların asitliğinde de sirke ile hazırlanan salamuraların asitliğine benzer durum görülmüştür. Başlangıçta %0,71 civarında olan titrasyon asitliği fermantasyonun ilerleyen günlerinde %1,75 değerine kadar ulaşmıştır. Sirke ile hazırlanmış salamuraların başlangıç pH değeri ortalama 3,59'dur. YAS ile hazırlanan salamuralarda ise ortalama pH değeri 4,21'dir. Sirkeli salamuralarda başlangıç pH'sının YAS ile hazırlanmış salamuralara kıyasla daha düşük değerlerde olduğu gözlemlenmiştir ($P < 0,05$).

“TS 11112 Hıyar Turşusu” standardına göre toplam asitlik laktik asit veya asetik asit cinsinden %0,5-2 olmalıdır (Anonim, 2015). Hem sirke hem de YAS ile üretilen turşuların asitlik değerlerinin standarda uygun olduğu görülmüştür. YAS ile üretilen turşuların titrasyon asitliği, sirke ile üretilen turşulara kıyasla daha yüksek oranda artış gerçekleşmiştir. YAS ile üretilen turşularda daha fazla sayıda bulunan laktik asit bakterileri, bu üretimde titrasyon asitliğinin de daha yüksek olmasını sağladığını düşünmekteyiz. Titrasyon asitliği değerlerindeki bu fark pH değerlerinde görülmemektedir. YAS ile üretilen turşuların titrasyon asitliği sirke ile üretilen turşuların yaklaşık iki katı olmasına rağmen YAS ile üretilen turşuların depolama süresi boyunca pH değerleri sirke ile üretilen turşularla benzer bulunmuştur ($P > 0,05$). YAS'nun yapısında sirkeye kıyasla daha yüksek oranda bulunan kalsiyumun

tamponlama etkisi bu durumu açıklamaktadır. Kalsiyum tamponlama etkisi göstererek YAS ile üretilen turşularda titrasyon asitliği fazla olmasına rağmen pH düşüşüne engel olmuştur.

Tuz konsantrasyonları sonuçları sirke ile hazırlanmış salamuralarda 4,41 ile 4,79 değerleri arasında olduğu gözlemlenmiştir. YAS ile hazırlanan salamuraların tuz konsantrasyonlarına bakıldığında ise 3,58 ile 5,47 aralığında değerler almıştır. Aşırı tuz oranı ile laktik asit bakterilerinin gelişimini inhibe etmemek, yeterli tuz oranı ile gelişimi desteklemek için tuz oranına dikkat edilmelidir.

Tuz oranı ortamdaki laktik asit bakterilerinin oldukça önemlidir. %5'ten daha az tuz konsantrasyonuna sahip turşularda baskın florayı *Leu. mesenteroides* oluşturmaktadır. Turşuda bulunan tuz oranı daha düşük seviyelerde olduğunda ise *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Flavobacterium* gibi doğal florada istenmeyen bakterilerin gelişimi gözlenebilmektedir. Tuz konsantrasyonu %5-%8 arasında ise *Leuconostoc* inhibe edilerek *Pediococcus sp.* ve *L. plantarum* gelişimi gözlenir (Başdoğan, 2020).

4.3. Turşu Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Sirke ve YAS ile üretilen turşu salamuralarının 0, 7, 14, 21, 35, 49, 77, 105. günlerine ait laktik asit bakteri sayısı log kob/mL şeklinde Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Depolama süresi boyunca turşu salamuralarına ait laktik asit bakteri sayısı

Üretim no	Zaman	MRS		M17	
		Sirke (kob/mL)	YAS (kob/mL)	Sirke(kob/mL)	YAS (kob/mL)
1(15)	0	2,33	3,52	4,59	5,39
	7	7,66	8,16	7,09	8,65
	14	5,95	7,47	6,11	7,93
	21	5,40	6,73	5,39	7,23
	35	4,03	6,96	4,23	6,75
	49	4,47	6,26	4,58	6,15
	77	4,21	5,84	3,72	5,68
	105	5,17	5,49	3,27	5,33
2(16)	0	2,95	4,08	4,87	5,87
	7	7,82	7,41	8,23	8,08
	14	6,85	7,66	6,32	7,56
	21	6,99	7,47	5,76	7,75
	35	5,84	6,96	5,33	6,94
	49	3,29	5,80	3,42	5,72
	77	0	5,93	2,91	5,77
	105	4,66	5,27	4,70	3,73
3(24)	0	2,59	3,46	6,69	6,15
	7	7,88	8,13	8,15	7,85
	14	6,89	7,59	6,59	7,48
	21	5,91	7,23	3,99	7,42
	35	4,17	7,12	3,68	7,14
	49	4,47	5,80	4,40	5,94
	77	3,42	5,67	2,80	5,64
	105	2,23	5,38	0	5,41

Sirke ile üretilen turşularda MRS besiyerinde gelişen laktik asit bakterileri her üç üretimde de fermantasyonun 7. gününde en yüksek değerde olduğu gözlemlenmiştir. Birinci üretimde 7,66 log kob/mL, ikinci üretimde 7,82 log kob/mL ve üçüncü üretimde 7,88 log kob/mL ile en yüksek değere ulaşan laktik asit bakterileri bu noktadan sonra bir azalmaya gitmiştir. 105. güne gelindiğinde yaklaşık olarak 3 ile 4 log kob/mL arasında azalma görülmüştür. Üçüncü üretimde 105. günde laktik asit bakterilerinin 2,23 log kob/mL değerlerine kadar düştüğü görülmüştür. YAS ile üretilen turşularda ise laktik asit bakterilerinin canlılığını daha iyi koruduğu görülmektedir. Sirke ile üretilen turşularla aynı şekilde fermantasyonun 7 ve 14. günlerinde maksimum değere ulaşan laktik asit bakterilerinin sayısı bu noktadan sonra azalmaya gitmiştir. Fakat azalma oranının sirke ile üretilmiş turşulara oranla daha az olduğu görülmektedir. 49 ve 77. günlere bakıldığında sirke ile üretilen turşularda laktik asit bakterilerinin sayısı 3,29 ve 4,21 log kob/mL gibi değerlerde iken YAS ile üretilen turşularda 5,80 ve 6,26 log kob/mL değerlerinde olduğu görülmektedir.

M17 besiyerinde gelişen laktik asit bakterilerinin sayısı sirke ile üretilen turşularda her üç üretimde de 7. günde en yüksek değere ulaşmıştır. MRS besiyerinde gelişen bakteriler ile aynı şekilde birinci üretimde 7,09 log kob/mL, ikinci üretimde 8,23 log kob/mL, ve üçüncü üretimde 8,15 log kob/mL değerleri ile en yüksek canlılık noktasına ulaşmıştır. Bu noktadan sonra laktik asit bakterilerinin canlılıklarında azalma görülmektedir. YAS ile üretilen turşularda da benzer durum görülmektedir. Birinci üretimde 8,65 log kob/mL, ikinci üretimde 8,08 log kob/mL ve üçüncü üretimde 7,85 log kob/mL ile canlılıkları en yüksek değerde olan laktik asit bakterilerinin sayısı bu noktadan sonra azalmıştır. YAS ile üretilen turşulardaki bakterilerin, MRS besiyerinde gelişen bakterilerde olduğu gibi, canlılığını daha iyi koruduğu görülmektedir. Sirke ile üretilen turşularda 77. günde bakteri sayısı 2,80 ve 2,91 gibi değerlere kadar düşmüşken; YAS ile üretilen turşularda 77.günde bakteri sayısı 5,68 ve 5,77 log kob/mL değerlerindedir.

Turşuda laktik asit bakterilerinin sayılarının artması fermantasyon sırasında laktik asit üretimini sağladığı için, asit gelişimi ile istenmeyen mikroorganizmaları inhibe ettiği için ve istenen aromanın oluşumunu sağladığı için istenilen bir durumdur. Üç üretimde de starter kültür kullanmadan laktik asit bakterileri 7. günlerde 7-8 log kob/mL değerlerine kadar çıkmıştır. Laktik asit bakterilerinin oluşturdukları asidin ve üretimde eklenen tuzun etkisi ile bakteriler 7.günden sonra azalmaya gitmiştir. Bu durumun turşu kalitesine pozitif faydası vardır. Bu sayede istenmeyen lezzet ve tekstürel bozukluklar engellenmiş olmaktadır.

4.4. Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanma Sonuçları

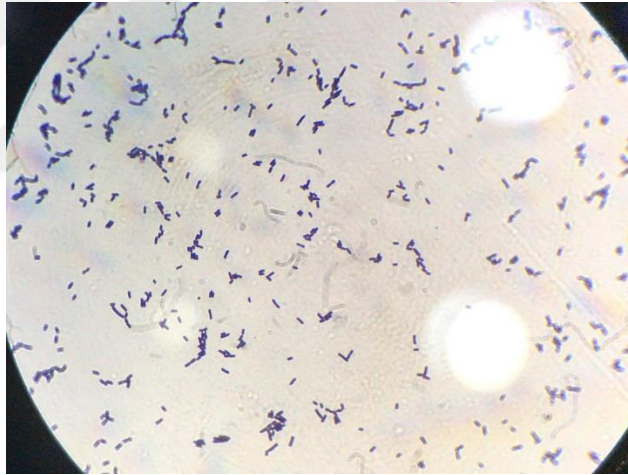
4.4.1. Gram boyama ve katalaz testi

Laktik asit bakterilerinin tümünün Gram (+) bakteriler olduğu bilinmektedir. Boyama işleminin ardından mikroskop altında mavi-mor renkte olduğu gözlemlenen bakteriler Gram (+) bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Gram (+) bakterilerin peptidoglikan hücre duvarı daha kalındır, bu sebeple boyaları tutma gücü daha fazladır ve mikroskop altında mavi-mor renkte görünmesine sebep olur.

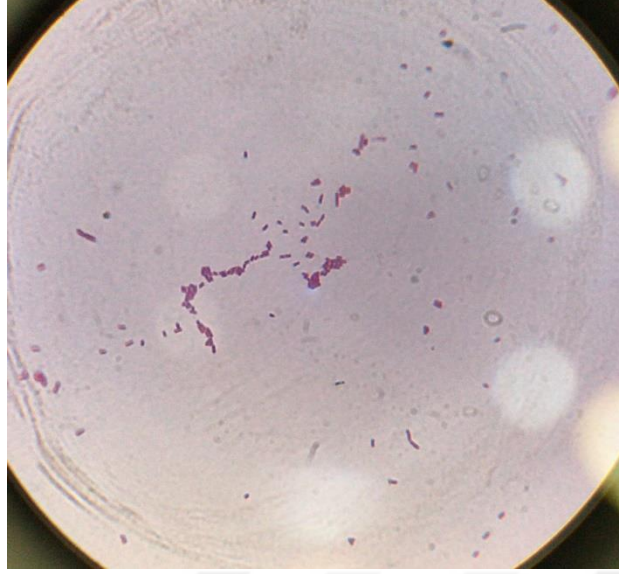
257 adet izolatın gram boyama sonuçlarına göre 227 izolat Gram (+) olarak tanımlanmıştır. Gram (-) 30 bakteri laktik asit bakterisi olma özelliği göstermemesi nedeni ile elenmiştir.

Laktik asit bakterileri katalaz negatif özelliktedir. Katalaz pozitif bakteriler, hidrojen peroksiti kullanarak su ve oksijen oluşturmaktadır ve kolonilerdeki gaz çıkışı ile bu fiziksel olarak gözlemlenebilmektedir. Test sırasında gaz çıkışı ile gözlemlenen durumun kimyasal reaksiyonu “ $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ ” şeklindedir.

Gram (+) bakteriler MRS besiyerinde geliştirildikten sonra saf kolonilerin üzerine hidrojen peroksit damlatılmıştır. 227 Gram (+) bakterinin tümü aynı zamanda katalaz negatif sonuç vermiştir.



Şekil 4.1. Gram (+) laktik asit bakterisi



Şekil 4.2. Gram (-) bakteri

4.4.2. Hücre morfolojisi

Gram boyama sırasında mikroskop ile bakterilerin hücre morfolojileri de gözlemlenmiştir. 227 Gram (+) bakteri izolatından 109 tanesinin analizlerine devam edilmiştir. Sirke ile üretilen turşulardan izole edilen bakterilere ait hücre morfolojileri Tablo 4.3.'de verilmiştir. MRS ve M17 besiyerinden elde edilmiş 53 izolatın 16 kok ve 37 basil şeklinde bakteri olduğu gözlemlenmiştir. YAS ile üretilen turşulardan izole edilmiş bakterilerin hücre morfolojileri Tablo 4.4.'de verilmiştir. Mikroskop ile inceleme sonucunda analizlerine devam edilen 56 izolatın 14'ünün kok ve 42'sinin basil şekilli olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4.3. Sirke ile üretilen turşulardan elde edilen bakterilerin hücre morfolojileri ve glikozdan gaz oluşturmaları

Üretim No	Salamura Tipi	Zaman	İzolat No	Hücre Morfolojisi	Glukozda Gaz Oluşumu
1	MRS	0	112	Basil	-
		7	122	Basil	-
		14	131	Basil	-
		21	141	Basil	-
		35	152	Basil	-
		49	162	Basil	-
		77	172	Basil	+
			173	Basil	+
		105	183	Basil	-
			184	Basil	-
	M17	0	X121	Basil	-
			X123	Kok	-
		21	X141	Basil	-
			X144	Kok	-
		35	X152	Basil	-
			X153	Basil	-
		49	X161	Basil	-
		105	X183	Basil	-
2	MRS	0	312	Kok	-
			313	Basil	-
		7	323	Basil	-
		14	331	Basil	-
		21	341	Basil	-
		35	353	Basil	-
		49	363	Kok	-
		105	381	Basil	-
	M17	7	X323	Kok	-
		35	X353	Kok	-
			X354	Basil	-
		49	X361	Basil	+
			X362	Basil	+
3	MRS	0	711	Kok	-
		7	721	Basil	-
			723	Kok	-
		14	732	Basil	-
			734	Basil	-
		21	741	Kok	-
			744	Basil	-
		35	752	Basil	-
			754	Basil	-
		49	761	Kok	-
		105	781	Basil	-
	M17	0	X711	Kok	-
			X712	Kok	-
		7	X723	Kok	-
		14	X733	Basil	-
		21	X741	Basil	-
			X744	Basil	+
		35	X751	Basil	-
			X753	Kok	-
		49	X762	Kok	-
		77	X771	Kok	-
		105	X783	Basil	-

-: gaz oluşumu yok, +: gaz oluşumu var

Tablo 4.4.YAS ile üretilen turşulardan elde edilen bakterilerin hücre morfolojileri ve glikozdan gaz oluşturmaları

Üretim No	Salamura Tipi	Zaman	İzolat No	Hücre Morfolojisi	Glukozda Gaz Oluşumu
1	MRS	7	223	Basil	-
		14	232	Basil	-
		21	241	Basil	-
		35	253	Kok	-
		49	263	Kok	-
		77	272	Kok	-
		105	281	Basil	-
	M17	0	X211	Basil	-
		7	X221	Basil	-
			X223	Basil	-
		21	X243	Basil	-
		35	X251	Basil	-
			X253	Basil	-
		49	X264	Basil	-
		77	X273	Basil	-
		105	X281	Basil	-
			X283	Basil	-
2	MRS	0	411	Kok	-
		7	422	Basil	-
		14	431	Basil	-
			432	Basil	-
		21	443	Kok	-
			444	Basil	-
		35	452	Basil	-
		49	463	Kok	-
		77	472	Kok	-
			474	Basil	-
		105	482	Basil	-
			483	Basil	-
	M17	7	X421	Kok	-
		21	X443	Basil	-
		35	X452	Basil	-
		49	X462	Kok	-
		77	X472	Kok	-
		105	X481	Basil	-
3	MRS	0	812	Basil	-
			813	Basil	-
		7	823	Basil	-
		14	831	Basil	+
			833	Basil	-
		21	841	Basil	-
			844	Basil	-
		35	852	Kok	-
			854	Basil	-
		49	861	Basil	-
			864	Basil	-
		105	881	Basil	-
	M17	7	X823	Kok	-
			X824	Basil	-
		14	X831	Basil	-
		21	X844	Basil	-
		35	X853	Kok	-
		49	X862	Kok	+
		77	X872	Basil	-
			X874	Basil	+
		105	X884	Basil	-

-: gaz oluşumu yok, +: gaz oluşumu var

Yapılan bazı çalışmalarda MRS besiyerinde gelişen kültürlerle laktobasil, M17 besiyerinde gelişen kültürlerle laktokok tanımlaması yapıldığı ile karşılaşılmaktadır. Bu bilgi eksiktir ve karışıklıklara sebep olabilmektedir. MRS besiyerinde gelişen kültüre analizleri yapılmadan laktobasil, M17’de gelişen kültüre de laktokok demek oldukça yanlış bir ifadedir. MRS besiyeri bileşiminde bulunan polisorbata, asetat ve magnezyum laktobasillerin gelişimini destekleyici faktörlerdir. MRS besiyeri diğer mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmek gibi bir özellik göstermemektedir. Laktobasiller dışında başka bakteri ve mayalar da MRS besiyerinde gelişim gösterebilmektedir (Aktan, Yücel ve Kalkan, 1998; Halkman ve Sağdaş, 2014).

M17 besiyeri *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus diacetylactis*, *Lactococcus lactis* gibi zor gelişen türlerin geliştirilmesi için en uygun besiyeridir. Yapısında bulundurduğu β -glycerophosphate sayesinde besiyerinin tamponlama kapasitesi artırılarak laktik streptokokların gelişimini teşvik etmektedir. MRS besiyeri ile benzer şekilde başka mikroorganizmaların gelişimini inhibe edecek selektif bir katkı yoktur, yalnızca laktokokların gelişimi desteklenmektedir. Dolayısıyla laktokok dışında mikroorganizmalar da M17 besiyerinde gelişim gösterebilmektedir (Halkman ve Sağdaş, 2014). Tablo 4.5.’de MRS ve M17 besiyerlerine ait bileşim verilmiştir.

Tablo 4.5. MRS ve M17 besiyeri bileşenleri

MRS Bileşimi (g/L)		M17 Bileşimi (g/L)	
D(+) Glucose	20,00	Sodium β -glycerophosphate	19,00
Agar-agar	14,00	Agar-agar	12,75
Peptone from casein	10,00	Peptone from casein	2,50
Meat Extract	10,00	Peptone from meat	2,50
Yeast extract	4,00	Peptone from soymeal	5,00
di-Potassium hydrogen phosphate	2,00	Lactose mono-hydrate	5,00
Tween 80	1,00	Yeast extract	2,50
di-Ammonium hydrogen citrate	2,00	Meat Extract	5,00
Sodium acetate	5,00	Magnesium sulfate	0,25
Magnesium sulfate	0,20	Ascorbic acid	0,50
Manganese sulfate	0,04		

Geçmişte yapılan çalışmalarda sıklıkla MRS besiyerinde geliştirilmiş ve tanımlama analizlerinin sonucunda laktokok şeklinde tanımlanmış, aynı şekilde M17 besiyerinde geliştirilmiş ve tanımlama analizlerinin sonucunda laktobasil olarak tanımlanmış bakteri karşımıza çıkmaktadır (Kahraman ve Arıcı, 2020; Kıvanç ve Erikçi, 2018; Saadi Al-Baer ve Hussein, 2017; Santos ve ark., 2005). Saadi Al-Baer ve arkadaşları

(2017), yaptıkları çalışmada çiğ inek sütünden bakteri izolasyonu yapmak için MRS besiyerini kullanmışlardır. Yapılan tanımlama analizlerinin sonucunda elde ettikleri 83 izolatın yalnızca 23'ü basil şekilli, kalan 60'ı kok şekilli olduğunu saptamışlardır.

Çetin (2017) turşudan M17 ve MRS besiyeri kullanarak elde ettiği izolatları tanımladığında tüm izolatların *Lactobacil* olduğunu belirtmiştir. Bunun sebebi olarak M17 besiyerinin yetersiz seçiciliği ve turşu fermantasyonunda laktik kokların yer almaması durumunu öne sürmüştür.

Sonuç olarak Laktobasil olduğunu bildiğimiz bakterinin gelişimi için en uygun besiyeri MRS'dir. Fakat hangi bakteri olduğunu bilmediğimiz, yalnızca MRS'de gelişen bakteriler için Laktobasil tanımlaması yanlış olacaktır. Bu durum M17 besiyeri için de aynı şekildedir. Laktobasil ve Laktokok ayrımını net bir şekilde yapabilmek için birtakım analizlere ihtiyaç vardır.

4.4.3. Glukozdan gaz oluşumu

Fermantasyon sonucunda, glikoz kullanımına bağlı olarak gaz oluşumu durumunu kontrol etmek amacı ile içerisinde durham tüpü bulunan sıvı besiyerlerine ekim yapılarak 7 günlük inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrası durham tüpünün tabanında gaz oluşumu gözlenen bakteriler pozitif olarak nitelendirilmiştir. Gaz oluşumu gözlenen laktik asit bakterileri heterofermantatif, gaz oluşumu gözlenmeyen laktik asit bakterileri ise homofermantatif bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Sirke ile üretilen turşulara ait gaz oluşumu Tablo 4.3.'de ve YAS ile üretilen turşulara ait gaz oluşumu Tablo 4.4.'de verilmiştir. YAS ile üretilen turşularda 3, sirke ile üretilen turşularda 5 adet olmak üzere toplamda 8 heterofermantatif bakteri tespit edilmiştir.

Hıyar turşularında, şişme sorunlarına yol açtığı için fermantasyonda CO₂ oluşumu olabildiğince az seviyede olması istenir. Dolayısıyla fermantasyon sonucunda CO₂ oluşturan Heterofermantatif laktik asit bakterileri, homofermantatif LAB'ne göre daha az istenmektedir (Daeschel ve Fleming, 1984).

4.4.4. Farklı sıcaklıklarda gelişim testleri

İki kez aktiveleştirme yapılmış izolatlar 10 °C, 45 °C ve 50 °C olmak üzere üç farklı sıcaklık derecesinde 5 günlük inkübasyona bırakılmıştır. Gelişme varlığı durumuna göre pozitif veya negatif olarak değerlendirilmiştir. Sirke ile üretilen turşulara ait bakterilerin farklı sıcaklıklarda gelişme testi sonuçları Tablo 4.6.'da, YAS ile üretilen turşulara ait bakterilerin sonuçları ise Tablo 4.7.'de verilmiştir.

Sirke ile üretilen turşulardan elde edilen bakterilerden 14 izolat 10 °C'de, 11 izolat 45 °C'de ve 4 izolat ise 50 °C'de gelişme göstermiştir. YAS ile üretilen turşulardan izole edilen bakterilerden 13 izolat 10 °C'de, 5 izolat 45 °C'de ve 3 izolat 50 °C'de gelişme göstermiştir.

Hıyar fermantasyonlarında laktik asit bakterilerinin optimum gelişme sıcaklığı 16-32 °C olarak belirtilmiştir. Hıyar turşularında gelişme gösterebilen bazı *Pediococci* türlerinin daha yüksek sıcaklıklarda gelişme gösterebilmektedir (Mark A. Daeschel ve Fleming, 1984).

Tablo 4.6. Sirke ile üretilen turşu izolatlarının farklı sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonlarında gelişme testleri sonuçları

İzolat No.	10 °C	Sıcaklık 45 °C	50 °C	3	pH 4,5	9,6	2	%Tuz 6,5	10
112	-	-	-	-	-	-	++	++	-
122	-	++	-	-	+	-	+	+	-
131	-	-	++	-	+	-	+	+	-
141	-	-	-	-	+	-	+	+	-
152	-	-	-	-	-	-	++	+	-
162	+	+	-	-	+	-	-	++	-
172	+	++	-	-	+	-	+	++	+
173	+	++	-	-	+	-	+	++	+
183	+	-	-	-	+	-	++	++	-
184	-	-	-	+	+	-	++	++	-
X121	+	++	-	-	+	-	+	++	-
X123	+	++	+	-	-	-	+	++	-
X141	-	-	-	-	+	-	+	+	-
X144	-	-	-	-	+	-	+	+	-
X152	-	-	-	-	-	-	+	++	-
X153	-	-	-	+	-	-	+	+	-
X161	-	-	-	-	-	-	++	-	-
X183	-	-	-	-	+	-	+	+	-
312	-	-	-	-	+	-	++	++	-
313	-	++	-	-	-	-	++	+	-
323	-	-	-	-	+	-	+	+	-
331	-	-	-	-	-	-	+	+	-
341	-	-	-	-	-	-	++	+	-
353	-	-	-	+	-	-	+	+	-
363	-	-	-	-	-	-	+	+	-
381	-	++	-	-	+	-	-	-	-
X323	-	-	-	-	+	-	+	++	-
X353	-	-	-	-	-	-	++	-	-
X354	-	-	-	-	-	-	++	+	-
X361	-	-	-	-	+	-	++	+	-
X362	-	-	-	-	+	-	++	-	-
711	+	-	-	-	-	-	+	+	-
721	-	-	-	-	-	-	+	+	-
723	-	-	-	-	-	-	+	+	-
732	-	-	-	-	-	-	++	-	-
734	-	-	-	-	-	-	++	+	-
741	-	-	-	-	-	-	++	+	-
744	-	-	-	-	-	-	+	+	-
752	-	-	-	-	-	-	++	-	-
754	-	-	-	-	-	-	++	-	-
761	-	-	-	-	-	-	+	+	-
781	-	-	-	-	-	-	-	-	-
X711	++	++	+	+	-	-	+	+	-
X712	+	+	-	-	-	-	+	+	-
X723	+	-	-	-	+	-	++	++	-
X733	-	-	-	-	-	-	++	+	-
X741	-	-	-	-	+	-	++	+	-
X744	+	-	-	-	-	-	+	+	-
X751	+	-	-	-	-	-	++	++	-
X753	-	-	-	-	-	-	++	++	-
X762	+	-	-	-	-	-	+	+	-
X771	++	-	-	-	-	-	+	++	-
X783	-	++	+	-	-	-	++	-	-

-: üreme yok, +: üreme var, ++: çok iyi üreme var

Tablo 4.7. YAS ile üretilen turşu izolatlarının farklı sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonlarında gelişme testleri sonuçları

İzolat No.	10 °C	Sıcaklık 45 °C	50 °C	3	pH 4,5	9,6	2	%Tuz 6,5	10
223	-	+	-	-	-	-	++	+	-
232	-	-	-	-	+	-	++	+	-
241	-	-	-	-	-	-	+	+	-
253	-	-	-	-	+	-	++	+	-
263	-	+	-	-	+	-	+	+	-
272	-	-	-	+	-	-	++	+	-
281	-	-	-	+	-	-	+	++	-
X211	+	-	-	-	+	-	+	+	-
X221	-	-	-	-	+	-	++	+	-
X223	-	-	-	-	-	-	+	+	-
X243	-	-	-	-	+	-	++	+	-
X251	-	-	-	-	-	-	++	+	-
X253	-	-	-	-	-	-	++	+	-
X264	-	-	-	-	+	-	++	+	-
X273	++	-	-	+	+	-	+	+	-
X281	-	-	-	-	+	-	-	-	-
X283	+	-	++	-	+	-	++	+	-
411	-	-	-	-	-	-	+	+	-
422	+	-	-	-	-	-	+	++	-
431	-	-	-	-	-	-	+	+	-
432	-	-	-	-	-	-	+	+	-
443	-	-	-	-	-	-	++	+	-
444	-	-	-	-	+	-	+	+	-
452	-	-	-	-	-	-	+	+	-
463	-	-	-	-	-	-	+	++	-
472	+	-	-	-	+	-	++	++	-
474	+	-	+	-	-	-	+	++	-
482	-	-	-	-	+	-	+	+	-
483	++	++	+	-	+	-	++	++	-
X421	-	-	-	-	+	-	++	+	-
X443	-	-	-	-	+	-	+	+	-
X452	-	-	-	-	-	-	+	-	-
X462	-	-	-	-	+	-	++	+	-
X472	-	-	-	-	+	-	+	+	-
X481	-	-	-	-	-	-	+	+	-
812	-	-	-	-	-	-	+	+	-
813	-	++	-	-	-	-	+	+	-
823	-	-	-	-	+	-	++	++	-
831	+	-	-	-	-	-	++	-	-
833	-	-	-	-	-	-	++	-	-
841	-	-	-	-	-	-	++	++	-
844	-	-	-	-	-	-	+	++	-
852	-	-	-	-	-	-	++	+	-
854	-	-	-	-	+	-	++	+	-
861	+	-	-	-	+	-	++	+	-
864	+	-	-	-	+	-	++	+	-
881	+	+	-	-	+	-	++	+	-
X823	-	-	-	-	-	-	++	++	-
X824	-	-	-	-	-	-	++	+	-
X831	-	-	-	-	-	-	++	-	-
X844	-	-	-	-	-	-	++	-	-
X853	-	-	-	-	-	-	++	+	-
X862	++	-	-	-	-	-	+	++	-
X872	-	-	-	-	+	-	++	++	-
X874	+	-	-	-	+	-	++	++	-
X884	-	-	-	+	+	-	++	+	-

-: üreme yok, +: üreme var, ++: çok iyi üreme var

4.4.5. Farklı pH değerlerinde gelişim testleri

İzole edilen kültürler aktifleştirildikten sonra 3, 4.5 ve 9.6 olmak üzere üç farklı pH değerinde 3 günlük inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyona sonrası gelişme durumu pozitif veya negatif olarak değerlendirilmiştir. Sirke ile üretilen turşulardan elde edilen bakteri izolatlarına ait gelişme durumu Tablo 4.6.'da, YAS ile üretilen turşuların bakteri izolatlarına ait sonuçlar ise Tablo 4.7.'de verilmiştir.

YAS ile üretilen turşulardan elde edilen 4 izolat pH 3 değerinde, 26 izolat pH 4.5 değerinde gelişme göstermiştir. pH 9.6 değerinde hiçbir izolat gelişme gösterememiştir. Sirke ile üretilen turşuların izolatlarında da benzer bir durum söz konusudur. pH 3 değerinde 4 ve pH 4.5 değerinde 20 izolat gelişme göstermiştir. pH 9.6 değerinde hiçbir gelişme gözlenmemiştir.

4.4.6. Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim testleri

Bakteri izolatları %2, %6,5 ve %10 olmak üzere üç farklı tuz konsantrasyonunda gelişme yetenekleri değerlendirilmiştir. Gelişme görülen kültürler pozitif olarak değerlendirilmiştir. YAS ile üretilen turşulardan elde edilen izolatlara ait sonuçlar Tablo 4.7.'de ve sirke ile üretilen turşulardan elde edilen izolatlara ait sonuçlar Tablo 4.6.'da verilmiştir.

YAS ile üretilen turşulardan elde edilen izolatların büyük çoğunluğu %2 ve %6,5 konsantrasyonunda gelişme göstermiştir. Toplam 56 izolattan 55'i %2 tuz konsantrasyonunda, 50'si ise %6,5 tuz konsantrasyonunda gelişme gösterebilmiştir. %10 tuz konsantrasyonunda hiçbir bakteri gelişmemiştir.

Sirke ile üretilen turşuların izolatları benzer şekilde %2 ve 6.5 konsantrasyonunda gelişme yeteneği yüksektir. Toplam 53 izolattan 50'si %2 konsantrasyonunda, 44'ü %6,5 konsantrasyonunda gelişme göstermiştir. YAS ile üretilen turşu izolatlarının aksine sirke ile üretilen turşulardan elde edilen izolatlardan 2'si %10 tuz konsantrasyonunda gelişmiştir.

4.4.7. Karbonhidrat fermantasyonları

Fenotipik analizleri yapılan bakteri izolatları gruplandırılmıştır. Birbirinden farklı özellik gösteren 26 farklı grup tespit edilmiştir ve 26 gruptan 48 bakteri izolatına API 50 CH test kiti ile tanımlama işlemi yapılmıştır.

Sirke ve YAS ile üretilen turşulardan elde edilen izolatların tür düzeyinde dağılımları Tablo'da verilmiştir. *Lactobacillus Plantarum*'un her iki salamura tipi için de baskın mikroorganizma olduğu görülmektedir.



Tablo 4.8. Sirke ve YAS ile üretilen turşuların izolatlarının API 50 CHL test kiti ile tanımlanması sonuçları

İzole edilen kaynak	Koloni No	Tür/Alttür	%
SİRKE	112	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,8
	131	<i>Lactobacillus pentosus</i>	97,4
	141	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	152	<i>Lactobacillus pentosus</i>	98,6
	162	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	172	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,1
	183	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	184	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,8
	313	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,6
	331	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	363	<i>Lactobacillus pentosus</i>	60,7
		<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	39,2
	381	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	721	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	761	<i>Lactobacillus pentosus</i>	98,6
	X152	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	X183	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	X323	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	X354	<i>Lactobacillus pentosus</i>	97,2
	X361	<i>Lactobacillus pentosus</i>	98,6
	X362	<i>Lactobacillus pentosus</i>	97,4
	X711	<i>Lactobacillus pentosus</i>	88,7
		<i>Lactobacillus brevis</i> 1	11,1
	X751	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,8
	X753	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	66,6
YAS		<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	33,3
	X771	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	241	<i>Lactobacillus pentosus</i>	97,4
	263	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	272	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	411	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	432	<i>Lactobacillus pentosus</i>	99,8
	444	<i>Lactobacillus pentosus</i>	98,6
	463	<i>Lactobacillus pentosus</i>	91,6
	474	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,2
	482	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	483	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,6
	823	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	831	<i>Lactobacillus pentosus</i>	98,6
	833	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	881	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	X221	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	X253	<i>Lactobacillus pentosus</i>	99,9
	X273	<i>Lactobacillus pentosus</i>	51,5
		<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	48,4
	X281	<i>Lactobacillus pentosus</i>	99,9
	X283	<i>Lactobacillus pentosus</i>	99,8
	X452	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	X472	<i>Lactobacillus pentosus</i>	97,4
	X481	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	X862	<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	99,9
	X874	<i>Lactobacillus pentosus</i>	98,6

Sirke ile üretilen turşulara bakıldığında *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus pentosus* türlerinin izole edildiği görülmektedir. Tanımlama yüzdesi genellikle oldukça yüksektir, yalnızca iki türde %60'larda yüzde ile karşılaşılmaktadır. Her bir üretim ayrı ayrı incelendiğinde genellikle *L. plantarum* türünün baskın olduğu görülmektedir. 3 numaralı üretim kodu için M17'den izole edilen (X3 kodlu örnekler) bakterilerde *L.pentosus* türünün baskın olduğu görülmektedir. Aynı üretimin MRS'den izole edilen bakterilerinde ise *L.plantarum* türü baskındır.

YAS ile üretilen turşulardan *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus pentosus* türlerinin izole edildiği görülmektedir. Sirke ile üretilen turşulara kıyasla YAS ile üretilen turşularda *L.pentosus* türünün daha baskın olduğu görülmektedir. Her bir üretim ayrı ayrı incelendiğine 2 numaralı üretimin M17'den izole edilen örneklerinde *L.pentosus* türünün baskın olduğu görülmektedir.



Şekil 4.3. *L. plantarum* bakterisinin API 50 CHL kit sonucu



Şekil 4.4. *L. pentosus* bakterisinin API 50 CHL kit sonucu

API test sonuçlarına göre bazı türlerin cins özellikleri daha önce belirlenmiş hücre morfolojileri ile uyumsuzluk göstermektedir. Sirke ile üretilen turşulardan izole edilmiş 363, 761, X323, X711, X753, X771 örnekleri kok olarak belirlenmesine rağmen API test sonuçlarına göre laktobasil olarak tanımlanmıştır. YAS ile üretilen turşulardan izole edilen 263, 272, 411, 463, X472, X862 kodlu örnekler de kok olarak belirlenmişken API test sonuçları laktobasil olduğunu göstermektedir. Bu durum temel olarak yapılan fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal analizlerin tanımlama çalışmalarında yeterli sonuç sağlamadığını göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, tulum peynirinden izole edilen 10 izolatın biyokimyasal testleri sonucunda laktokok özelliği göstermediği fakat PCR ile laktotok olduğu belirlenmiştir. Bu izolatları atipik olarak değerlendirmişlerdir. (Büyükyörük ve Soyutemiz, 2010). Benzer şekilde atipik izolat elde eden birçok çalışma bulunmaktadır (Klijn, Weerkamp ve De Vos, 1995; Fortina ve ark., 2003; Bulut ve ark., 2005; Ouzari ve ark., 2006). Bu durum sonuçların doğrulanabilmesi amacıyla daha kesin sonuçlar sağlayabilen biyokimyasal veya genotipik analizlerin gerekliliğini göstermektedir.

Sirke ile üretilen turşulardan tanımlaması yapılmış 3 örnek gaz oluşturma testine göre heterofermantatif özellik göstermiştir. YAS ile üretilen turşu örneklerinden de 3'ünün heterofermantatif olduğu görülmektedir. Her iki salamura tipinde de 3 heterofermantatif bakteriden 1'i *L. plantarum* ve 2'si *L. pentosus* olarak tanımlanmıştır. Literatürde bu iki bakteri gaz oluşturma yeteneklerine göre "fakültatif heterofermantatif" olduğu bildirilmiştir (Axelsson, 2004; Bustos, Moldes, Cruz ve Domínguez, 2005)

L. plantarum ve *L. pentosus* laktobasillerden Streptobacterium grubunda yer almaktadır. 30-35 °C sıcaklık aralığı optimum gelişme sıcaklığıdır, 15 °C'de gelişebilir fakat 50 °C'de çoğunlukla gelişemezler (Orla-Jensen, 1919; Idler, Venus ve Kamm, 2015). Farklı sıcaklıklarda gelişebilme testine bakıldığında *L. plantarum* ve *L. pentosus* benzer özellikler göstererek 45 ve 50 °C sıcaklıklarında bakterilerin bir kısmı gelişmiştir. Her iki bakteri için de 10 °C sıcaklığında gelişebilme yeteneğinin daha fazla olduğu görülmektedir. Şimşek (2003) turşudan izole ederek tanımladığı *L. plantarum* türünün 15 °C'de gelişme gösterdiğini ve 45 °C'de yalnızca 1 izolatin gelişebildiğini belirtmiştir.

L. plantarum ve *L. pentosus* türlerinin en iyi gelişmeyi pH 4,5'te gösterdiği görülmektedir. Her iki türün de farklı pH'larda gelişme özellikleri birbirine oldukça benzerdir. pH 3 değerinde bakteriler zayıf gelişme gösterebilmiştir ve pH 9,6 değerinde ise hiçbir bakteri üreme gösterememiştir. *L. plantarum* ve *L. pentosus* türlerinin zayıf da olsa pH 3'te gelişme gösterebilmeleri aside dayanıklılığının oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. Elmacı ve ark (2014), hıyar turşusu örneklerinden izole ederek tanımladığı *L. plantarum* türü bakterilerin pH 3'te düşük gelişme gösterdiğinin ve pH 9 değerinde hiç gelişme göstermediğini belirtmişlerdir. Bununla birlikte *L. plantarum* türü bakterilerin en iyi gelişmeyi pH 4'te gösterdiğini belirtmişlerdir. Turşudan izole edilen *L. plantarum* türü G-Allegria et al. (2004) tarafından yapılan çalışmada pH 3.2, 3.3, ve 3.6'da gelişme gösterdiği belirtilmiştir. Bir başka çalışmada da turşudan izole edilen *Lactobacillus* suşları pH 3 değerinde 6.2-

7.7 log kob/mL seviyesinde gelişim gösterdiği belirtilmiştir (Boricha, Shekh, Pithva, Ambalam ve Manuel Vyas, 2019).

Tanımlaması yapılan bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme testleri incelendiğinde 2 bakteri hariç tümünün %2 tuz konsantrasyonunda gelişim gösterdiği görülmektedir. 5 bakterinin ise %6,5 tuz konsantrasyonunda gelişim gösteremediği görülmektedir. %10 tuz konsantrasyonunda yalnızca 1 bakteri gelişebilme göstermiştir. Çetin (2017) yaptığı çalışmada turşudan izole ettiği ve *L. plantarum* olarak tanımladığı bakterileri %6,5, %10 ve %12 tuz konsantrasyonlarında gelişme durumlarını incelediğinde bakterilerin büyük çoğunluğunun %6,5 konsantrasyonunda geliştiğini ve konsantrasyon seviyesi arttıkça bakterilerin gelişme yeteneklerinin oldukça az olduğunu belirtmiştir. Bir başka çalışmada hıyar turşusundan izole edilen *L. plantarum* bakterisinin %3 ve %6,5 tuz konsantrasyonlarında çok iyi gelişme gösterdiği ve %10 tuz konsantrasyonunda gelişime düzeyinin oldukça düşük seviyede olduğu belirtilmiştir (Bağder Elmacı, Tokatlı, Dursun, Özçelik ve Şanlıbaba, 2015).

Bintsis ve Papademas (2002) yaptıkları çalışmada, düşük pH ve yüksek tuz içeriğinin laktobasillerin gelişimini sınırlandırmazken laktokokların gelişiminde inhibitör etkisinin olabileceğini ifade etmişlerdir. Çalışmamızda da baskın florayı laktobasillerin oluşturduğu görülmektedir. Bu durum turşu örneklerinin düşük pH ve yüksek tuz içeriğine sahip olmalarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

L. plantarum ve *L. pentosus* türleri fenotip olarak birbirlerine büyük ölçüde benzerlik göstermektedir. *L. pentosus* türünü *L. plantarum*'dan ayıran en büyük özellik hem ksilozu hem de arabinozu fermente edebilmesidir (Curk, Hubert ve Bringel, 1996). Çalışmamız bu bilgiler ile paralellik göstermektedir. Fenotipik testlere bakıldığında *L. plantarum* ve *L. pentosus* benzer sonuçlar vermiştir. API test kiti sonuçları incelendiğinde, 6 numaralı mikrotüpde bulunan ksilozu fermente ederek pozitif reaksiyon göstermiş tüm örneklerin *L. pentosus* olarak tanımlandığı görülmektedir.

Dursun (2010) 15 farklı hıyar turşusu örneğinden izole ettiği laktik asit bakterilerinin tanımlama analizlerini yapmış, sonucunda *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. acidophilus*

türlerinin baskın olduğunu belirtmiştir. Alan ve Dığrak (2012) salatalık kullanarak kendi ürettikleri turşu örneklerinden laktik asit bakterilerini izole ederek tanımlama analizlerini gerçekleştirmiştir. Analiz sonuçlarına göre izolatların büyük çoğunluğunun *L. plantarum* türü olduğunu belirtmişlerdir. Bir başka çalışmada ise Tamminen ve ark. (2004) salatalık turşusundan izole ettikleri bakterilerin büyük kısmını *L. plantarum* ve *L. pentosus*'un oluşturduğunu belirtmişlerdir.



BÖLÜM 5. SONUÇ

Sirke ve YAS ile hazırlanan iki farklı salamura ile üretilen turşulardan elde edilen izolatlara uygulanan tanımlama analizleri sonucunda *L.plantarum* ve *L.pentosus* bakterilerinin baskın florayı oluşturduğu saptanmıştır. İki farklı salamura ile üretilen turşuların mikrobiyal florasının benzer olduğu görülmüştür. Tanımlanan iki bakterinin de turşu fermantasyonu boyunca artan asitlik ve yüksek tuz konsantrasyonuna aynı derecede dayanıklılık gösterdiği ve fenotipik özelliklerinin de oldukça benzer olduğu görülmüştür. YAS ile üretilen turşunun, sirke kullanılarak üretilen turşu ile benzer florada olması YAS'ın turşu üretiminde başarılı bir şekilde kullanılabildiği çıkarımını desteklemektedir.

KAYNAKLAR

- Adolfsson, O., Meydani, S. N. ve Russell, R. M. (2004). Yogurt and gut function. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80(2), 245–256. doi:10.1093/ajcn/80.2.245
- Aktan, N., Yücel, U. ve Kalkan, H. (1998). *Turşu Teknolojisi. Ege Üni. Ege Meslek Yüksek Okulu Yayınları* (C. 23).
- Alichanidis, E., Moatsou, G. ve Polychroniadou, A. (2016). *Composition and properties of non-cow milk and products. Non-Bovine Milk and Milk Products*. Elsevier Inc. doi:10.1016/B978-0-12-803361-6.00005-3
- Alsaed, A. K., Ahmad, R., Aldoomy, H. ve El-qader, S. A. (2013). Characterization, concentration and utilization of sweet and acid whey. *Pakistan Journal of Nutrition*.
- Anonim. (1995). De man, rogosa and sharpe (MRS) agar. *Culture Media for Food Microbiology*, 34(C), 362–363. doi:10.1016/S0079-6352(05)80056-6
- Anonymous, 2001. Türk Gıda Kodeksi, Fermente Sütler Tebliği, Tebliğ No: 2001 / 21. TC Resmi Gazete. Sayı: 24512
- Axelsson, L. 2004. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. in: Salminen, S.von Wright, A. and Ouwehand A. (Eds.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. 3rd rev. and exp. ed. Marcel Dekker, Inc., New York, pp.1-66.
- Bağder Elmacı, S., Tokatlı, M., Dursun, D., Özçelik, F. ve 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. doi:10.1007/s12223-014-0363-x
- Başdoğan, M. G. (2020). *Geleneksel olarak üretilen turşulardan izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik potansiyelinin belirlenmesi*. ege üniversitesi.
- Bintsis, T. ve Papademas, P. (2002). Microbiological quality of white-brined cheeses: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 55(3), 113–120. doi:10.1046/j.1471-0307.2002.00054.x
- Boricha, A. A., Shekh, S. L., Pithva, S. P., Ambalam, P. S. ve Manuel Vyas, B. R. (2019). In vitro evaluation of probiotic properties of Lactobacillus species of food and human origin. *Lwt*, 106(December 2018), 201–208. doi:10.1016/j.lwt.2019.02.021

- Bulut, C., Gunes, H., Okuklu, B., Harsa, S., Kilic, S., Coban, H. S. ve Yenidunya, A. F. (2005). Homofermentative lactic acid bacteria of a traditional cheese, Comlek peyniri from Cappadocia region. *Journal of Dairy Research*, 72(1), 19–24. doi:10.1017/S0022029904000536
- Bustos, G., Moldes, A. B., Cruz, J. M. ve Domínguez, J. M. (2005). Influence of the metabolism pathway on lactic acid production from hemicellulosic trimming vine shoots hydrolyzates using *Lactobacillus pentosus*. *Biotechnology Progress*, 21(3), 793–798. doi:10.1021/bp049603v
- Büyükyörük, S. ve Soyutemiz, G. E. (2010). Geleneksel olarak üretilmiş izmir tulum peynirinden *Lactococcus lactis* (*Lactococcus lactis* alttür *lactis* ve alttür *cremoris*) luşlarının izolasyonu, fenotipik ve moleküler teknikler ile identifikasyonu. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7(2), 81–87.
- Carr, F. J., Chill, D. ve Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), 281–370. doi:10.1080/1040-840291046759
- Çetin, B. (2017). *Turşu fermantasyonunda kullanılabilecek laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve probiyotik turşu üretimi için uygun suşların seçimi*.
- Çetinkaya, E. ve Ayhan, K. (2012). Mikrobiyolojide Kullanılan Bazı Moleküler Teknikler Molecular Technics Used in Microbiology. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 2(1), 53–62.
- Ceyhan, N. ve Alıç, H. (2012). Bağırsak Mikroflorası ve Probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(1), 107–113.
- Chandrapala, J., Duke, M. C., Gray, S. R., Weeks, M., Palmer, M. ve Vasiljevic, T. (2015). Nanofiltration and nanodiafiltration of acid whey as a function of pH and temperature. *Separation and Purification Technology*, 160, 18–27. doi:10.1016/j.seppur.2015.12.046
- Chandrapala, J., Duke, M. C., Gray, S. R., Zisu, B., Weeks, M., Palmer, M. ve Vasiljevic, T. (2015). Properties of acid whey as a function of pH and temperature. *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4352–4363. doi:10.3168/jds.2015-9435
- Curk, M. C., Hubert, J. C. ve Bringel, F. (1996). *Lactobacillus paraplantarum* sp. nov., a new species related to *Lactobacillus plantarum*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 46(2), 595–598. doi:10.1099/00207713-46-2-595
- Daeschel, M.A., Andersson, R. E. ve Fleming, H. P. (1987). Microbial ecology of fermenting plant materials. *FEMS Microbiology Letters*, 46(3), 357–367. doi:10.1111/j.1574-6968.1987.tb02472.x
- Daeschel, Mark A. ve Fleming, H. P. (1984). Selection of lactic acid bacteria for use in vegetable fermentations. *Food Microbiology*, 1(4), 303–313. doi:10.1016/0740-0020(84)90064-9
- Dellaglio, F., Dicks, L.M.T. and Torani, S. 1995. “ The genus *Leuconostoc* “, in The lactic acid bacteria, the genera of lactic acid bacteria. Blackie Academics and Professionals. 2; 235-279.

- Demirci, M., Öksüz, Ö., Şimşek, O., Kurultay, G., Kıvanç, M., Gündüz, H. H. & Uçan, N. (2010). Süt ve Süt Ürünlerinin Kalite Kontrolü, Anadolu Üniversitesi Yayını No: 2064. 254s
- Dinçer E, Kıvanç M, Karaca H. Biyokoruyucu olarak laktik asit bakterileri ve bakteriyosinler. *Gıda*, 2010, 35: 55-62
- Dupont, D., Croguennec, T. ve Pochet, S. (2019). *Milk Proteins - Analytical Methods. Reference Module in Food Science*. Elsevier. doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.22616-4
- Evren, M., Apan, M., Tutkun, E. ve Evren, S. (2011). Geleneksel fermente gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 09(1), 11–17.
- Evren, İ. ve Sahin, . 1993. Tursudan laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve bunlardan starter kültür üretiminin araştırılması. *Doga*, cilt: 17; s. 881-890.
- 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.
- Foroutan, A., Guo, A. C., Vazquez-Fresno, R., Lipfert, M., Zhang, L., Zheng, J., ... Wishart, D. S. (2019). Chemical Composition of Commercial Cow's Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(17), 4897–4914. doi:10.1021/acs.jafc.9b00204
- Fortina, M. G., Ricci, G., Acquati, A., Zeppa, G., Gandini, A. ve Manachini, P. L. (2003). Genetic characterization of some lactic acid bacteria occurring in an artisanal protected denomination origin (PDO) Italian cheese, the Toma piemontese. *Food Microbiology*, 20(4), 397–404. doi:10.1016/S0740-0020(02)00149-1
- Fox, P. F. (2009). *Milk: An overview. Milk Proteins*. doi:10.1016/B978-0-12-374039-7.00001-5
- Franco, W. ve Pérez-Díaz, I. M. (2012). Role of selected oxidative yeasts and bacteria in cucumber secondary fermentation associated with spoilage of the fermented fruit. *Food Microbiology*, 32(2), 338–344. doi:10.1016/j.fm.2012.07.013
- Guetouache, M., Guessas Bettache ve Medjekal Samir. (2014). Composition and nutritional value of raw milk. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 2(10), 115–122. <http://www.journalissues.org/IBSPR/%5Cnhttp://dx.doi.org/10.15739/ibspr.005> adresinden erişildi.
- Halkman, K. ve Sağdaş, Ö. (2014). *Mikrobiyoloji El Kitabı*.
- Harju, M. (2001). Milk sugars and minerals as ingredients. *International Journal of Dairy Technology*, 54(2), 61–63. doi:10.1046/j.1471-0307.2001.00016.x
- Haug, A., Høstmark, A. T. ve Harstad, O. M. (2007). Bovine milk in human nutrition - A review. *Lipids in Health and Disease*, 6, 1–16. doi:10.1186/1476-511X-6-25
- Heller, K. J. (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: Product characteristics and starter organisms. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2 SUPPL.), 374–379. doi:10.1093/ajcn/73.2.374s

- Holzapfel, W.H. and Stiles, M.E. 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 36; pp. 1-29.
- Hutkins, R.W. 2006. *Microbiology and technology of fermented foods*. Blackwell Publishing, Oxford, 473p, UK.
- Iç, E. ve Özçelik, F. (2000). Kalsiyum iyonu içeren bileşiklerin hıyar turşularında ortaya çıkan yumuşamayı önlemede kullanılması. *Gıda*, 25(4), 241–247.
- Idler, C., Venus, J. ve Kamm, B. (2015). *Microorganisms for the production of lactic acid and organic lactates* (C. 26). doi:10.1007/978-3-662-45209-7
- İşleroğlu, H., Yıldırım, Z. ve Yıldırım, M. (2008). Yöresel peynirden antimikrobiyal aktiviteye sahip laktik asit bakterisinin izolasyonu ve tanısı, 25(1), 1–6.
- Jay, M. J. 2005. *Modern Food Microbiology*, 7th Ed. Springer Science+Business Media, Inc. Publisher, 715, N. Y. USA.
- Kahraman, M. ve Arıcı, M. (2020). Ekşi hamur fermentasyonu ile üretilmiş kek hamurunun laktik asit bakterileri çeşitliliği. *European Journal of Science and Technology*, (19), 32–42. doi:10.31590/ejosat.732009
- Kıran, F. ve Osmanağaoğlu, Ö. (2011). Laktik asit bakterilerinin (LAB) identifikasyonunda/tiplendirmesinde kullanılan moleküler yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 27(1), 62–74.
- Kırdar, S. ve Gün, I. (2002). Burdur’da tüketilen süzme yoğurtlarının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Gıda* (2002).
- Kıvanç, M. ve Erikçi, Ş. Y. (2018). Sofralık fermente zeytinlerden(olea europaea l.) izole edilen laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivitesinin ve bazı metabolik özelliklerinin belirlenmesi. *ANADOLU UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY –C Life Sciences and Biotechnology*, 1–1. doi:10.18036/aubtdc.310201
- Klein, G., Pack, A. ve Reuter, G. (1998). Antibiotic resistance patterns of enterococci and occurrence of vancomycin-resistant enterococci in raw minced beef and pork in Germany. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 1825–1830. doi:10.3168/jds.S0022-0302(82)82198-X
- Klijn, N., Weerkamp, A. H. ve De Vos, W. M. (1995). Detection and characterization of lactose-utilizing *Lactococcus* spp. in natural ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(2), 788–792. doi:10.1128/aem.61.2.788-792.1995
- Köse, Ş. ve Ocak, E. (2014). Yoğurtta Lezzet Bileşenlerinin Oluşumu ve Bu Oluşum Üzerine Etki Eden Faktörler. *Akademik Gıda Dergisi*, 12(2), 101–107.
- Kurajdova, K. ve Táborecka-Petrovicova, J. (2015). Literature review on factors influencing milk purchase behaviour. *International Review of Management and Marketing*, 5(1), 9–25.
- Lievore, P., Simões, D. R. S., Silva, K. M., Drunkler, N. L., Barana, A. C., Nogueira, A. ve Demiate, I. M. (2013). Chemical characterisation and application of acid whey in fermented milk. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2083–2092. doi:10.1007/s13197-013-1244-z

- Lindmark Månsson, H. (2008). Fatty acids in bovine milk fat. *Food and Nutrition Research*, 52, 5–8. doi:10.3402/fnr.v52i0.1821
- Lindsay, M. J., Walker, T. W., Dumesic, J. A., Rankin, S. A. ve Huber, G. W. (2018). Production of monosaccharides and whey protein from acid whey waste streams in the dairy industry. *Green Chemistry*, 20(8), 1824–1834. doi:10.1039/c8gc00517f
- Ludwig W, Schleifer K-H, Whitman BW. Order II. Lactobacillales ord. nov. In: Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer K-H, Whitman BW (eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume Three The Firmicutes*, 2nd ed. New York, Springer, 2009: 465-511.
- Mathur, S. ve Singh, R. (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - A review. *International Journal of Food Microbiology*, 105(3), 281–295. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008
- Mavhungu, J. 2005. Isolation and identification of lactic acid bacteria from ‘Ting’ in the Northern Province of South Africa. Department of Microbiology and Plant Pathology, University of Pretoria, 74 p., South Africa.
- Menchik, P. ve Moraru, C. I. (2019). Nonthermal concentration of liquid foods by a combination of reverse osmosis and forward osmosis. Acid whey: A case study. *Journal of Food Engineering*, 253(February), 40–48. doi:10.1016/j.jfoodeng.2019.02.015
- Metin M. (2009). Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi Kitabı (8.baskı).
- 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, 79-90.555
- Nsabimana, C., Jiang, B. ve Kossah, R. (2005). Manufacturing, properties and shelf life of labneh: A review. *International Journal of Dairy Technology*, 58(3), 129–137. doi:10.1111/j.1471-0307.2005.00205.x
- Ogabi, F. ve Pamir, M.H. 1973. Türk tursuları üzerinde araştırmalar, I. Çesitli tursuların mikroflorasında bulunan laktik asit bakterileri. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yıllığı, cilt: 23; s. 248-268.
- Omar, N. Ben, Abriouel, H., Lucas, R., Martínez-Cañamero, M., Guyot, J. P. ve Gálvez, A. (2006). Isolation of bacteriocinogenic *Lactobacillus plantarum* strains from ben saalga, a traditional fermented gruel from Burkina Faso. *International Journal of Food Microbiology*, 112(1), 44–50. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.014
- Ouzari, H., Hassen, A., Najjari, A., Ettoumi, B., Daffonchio, D., Zagorec, M., ... Mora, D. (2006). A novel phenotype based on esterase electrophoretic polymorphism for the differentiation of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* and *cremoris*. *Letters in Applied Microbiology*, 43(4), 351–359. doi:10.1111/j.1472-765X.2006.01985.x
- Ova, G. (2002). Hıyar turşularında duyu kalite karakteristiklerinin irdelenmesi. *Gıda* (2002), 315.

- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. ve Kotzekidou, P. (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*, 65(2), 859–867. doi:10.1016/S0309-1740(02)00292-9
- Pederson, C. S. ve Albury, M. N. (1950). Effect of temperature upon bacteriological and chemical changes in fermenting cucumbers. *N. Y. Agr. Expt. Sta. Bull*, 744.
- Pereira, P. C. (2014). Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*, 30(6), 619–627. doi:10.1016/j.nut.2013.10.011
- Poghossian, A., Geissler, H. ve Schöning, M. J. (2019). Rapid methods and sensors for milk quality monitoring and spoilage detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 140(January), 111272. doi:10.1016/j.bios.2019.04.040
- Rasic, J. L., Kurman, J. A. 1978. Yoghurt. Vol: 1. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen
- Rees, T., 1997. The Development of A Novel Antifungal Silage İnoculant. Cranfield University Phd. Thesis.
- Saadi Al-Baer, A. ve Hussein, A. A. (2017). Isolation and identification of lactic acid bacteria from raw cow milk. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci*, 4(11), 1–6. <http://dx.doi.org/10.22192/ijarbs.2017.04.11.001> adresinden erişildi.
- Salminen, juha pekka, Roslin, T., Karonen, M., Sinkkonen, J., Pihlaja, K. ve Pulkkinen, P. (2004). Seasonal variation in the content of hydrolyzable tannins, flavonoid glycosides and proanthocyanidins in oak leaves. *journal of chemical ecology*, 30(9). doi:10.2105/ajph.2.1.24
- Sanjeev Anand, Som Nath Khanal, and C. M. (2013). Whey and Whey Products Sanjeev. *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health*, 4770–497.
- Santos, E. M., Jaime, I., Rovira, J., Lyhs, U., Korkeala, H. ve Björkroth, J. (2005). Characterization and identification of lactic acid bacteria in “morcilla de Burgos”. *International Journal of Food Microbiology*, 97(3), 285–296. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.04.021
- Savaş, E. ve Şahin, I. (2000). Hıyar turşusu fermentasyonunda uygun sorbat ve benzoat miktarlarının araştırılması.
- Schillinger, U. ve Lücke, F. K. (1987). Identification of lactobacilli from meat and meat products. *Food Microbiology*, 4(3), 199–208. doi:10.1016/0740-0020(87)90002-5
- Seçkin, A. K., Tosun, H. ve Aritürk, R. (2010). Biyokorumanın süt endüstrisinde kullanım olanakları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 5(3), 36–46.
- Silva, E. M. ve Yang, S. T. (1995). Kinetics and stability of a fibrous-bed bioreactor for continuous production of lactic acid from unsupplemented acid whey. *Journal of Biotechnology*, 41(1), 59–70. doi:10.1016/0168-1656(95)00059-Y
- Stiles, M. E. ve Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36(1), 1–29. doi:10.1016/S0168-1605(96)01233-0

- Talebi, S., Suarez, F., Chen, G. Q., Chen, X., Bathurst, K. ve Kentish, S. E. (2020). Pilot study on the removal of lactic acid and minerals from acid whey using membrane technology. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 8(7), 2742–2752. doi:10.1021/acssuschemeng.9b06561
- Tamime, A. Y. ve Deeth, H. C. (1980). Yogurt: Technology and Biochemistry. *Journal of Food Protection*, 43(12), 939–977. doi:10.4315/0362-028x-43.12.939
- Teuber, M. 1995. The genus *Lactococcus*, in the lactic acid bacteria, the genera of lactic acid bacteria. Blackie Academics and Professionals. 2; 173-235.
- Tokatlı, M., Dursun, D., Arslankoz, N., Şanlıbaba, P. ve Özçelik, F. (2012). Turşu üretiminde laktik asit bakterilerinin önemi. *Akademik Gıda Dergisi*, 10(1), 70–76.
- TS 11688, 2012, İş Yerleri-Turşu Üretim Tesisleri-Genel Kurallar, Türk Standardları Enstitüsü, Bakanlıklar, Ankara.
- TUİK, 2019. [http://www.tuik.gov.tr/ VeriBilgi. do?tb_id=46&ust_id=13](http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13), Erişim Tarihi: 01.06.2020
- Tuinier, R. ve De Kruif, C. G. (2002). Stability of casein micelles in milk. *Journal of Chemical Physics*, 117(3), 1290–1295. doi:10.1063/1.1484379
- Uduwerella, G. (2017). *A novel strategy for minimizing acid whey generation during greek yoghurt production*. Victoria University.
- Wang, H., Livingston, K. A., Fox, C. S., Meigs, J. B. ve Jacques, P. F. (2013). Yogurt consumption is associated with better diet quality and metabolic profile in American men and women. *Nutrition Research*, 33(1), 18–26. doi:10.1016/j.nutres.2012.11.009
- Yang, E., Fan, L., Jiang, Y., Doucette, C. ve Fillmore, S. (2012). Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *AMB Express*, 2(1), 1–12. doi:10.1186/2191-0855-2-48
- Yaralı, E. ve Çetiner, Ş. (2020). İnkübasyon çıkış asitliğinin geleneksel olarak üretilen süzme yoğurtların bazı kalite özellikleri üzerine etkisi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 13(3), 297–302. doi:10.32707/ercivet.828819
- Yaygın, H. 1999. Yoğurt Teknolojisi. Akdeniz Üniversitesi Yayınları No:75, Antalya
- Yerlikaya, O. (2014). Laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında kullanılan başlıca fenotipik ve moleküler yöntemler. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 14, 8–22. doi:10.1046/j.1471-0307.2001.00016.x
- Yıldız, H., 2011. Turşu ve Zeytinlerden Laktik Asit Bakterileri ile Mayaların İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Elde Edilen İzolatların Bazı Özelliklerinin Belirlemesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Semanur CEBECİ AVUNCA

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Sakarya Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Gıda Mühendisliği	Devam Ediyor
Lisans	Yıldız Teknik Üniversitesi / Kimya Metalurji Fakültesi / Gıda Mühendisliği	2018
Lise	Çorum Anadolu Lisesi	2013

YABANCI DİL

İngilizce

ESERLER (makale, bildiri, proje vb.)

1. Spirulina ile Fonksiyonel Dondurma Üretimi. Proje Yürütücüsü, TÜBİTAK 2209/A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destek Programı, Mayıs 2018-Ağustos 2018.