

SEÇİLMİŞ ENDOJEN LAKTİK STARTER KÜLTÜRLER İLE TURŞU ÜRETİMİ

Mehmet Tokatlı^{1*}, Simel Bağder Elmacı², Nurdan Arslankoz İşleyen³, Filiz Özçelik²

¹Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Tokat, Türkiye

²Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara, Türkiye

³Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Yeniçağa Yaşar Çelik Meslek Yüksekokulu, Bolu, Türkiye

Geliş / Received: 24.05.2019; Kabul / Accepted: 01.07.2019; Online baskı / Published online: 26.07.2019

Tokatlı, M., Bağder Elmacı, S., Arslankoz İşleyen, N., Özçelik, F. (2019). Seçilmiş endojen laktik starter kültürler ile turşu üretimi. GIDA (2019) 44 (4): 742-757 doi: 10.15237/gida.GD19081

Tokatlı, M., Bağder Elmacı, S., Arslankoz İşleyen, N., Özçelik, F. (2019). Pickle production by selected indigenous lactic starter cultures. GIDA (2019) 44 (4): 742-757 doi: 10.15237/gida.GD19081

ÖZ

Bu çalışmada, turşu üretiminde kullanılabilir starter kültürler geliştirmek amacı ile, seçilmiş endojen (yerel) *Lactobacillus plantarum* (MF513, MF377, MF213) ve *L. plantarum* MF513-*Pediococcus ethanolidurans* MF179 karışım suşları starter kültür olarak kullanılmış; fermentasyon süresince ve 6 aylık depolama aşamasında turşuların kimyasal, mikrobiyolojik, duyuşsal özellikleri değerlendirilmiştir. Starter kültürlerin fermentasyon sonuna kadar stabiliteğini koruyup koruyamadıkları, saf kültürlerin fermentasyonun başlangıcı ve bitimindeki hücre protein profilleri (SDS-PAGE) karşılaştırılarak belirlenmiştir. Karışık kültür kullanılarak üretilen turşularda en yüksek asitlik değeri (% 0.87) fermentasyonun 20. gününde ulaşıldığı belirlenmiş ve pH değeri 3.26 olarak ölçülmüştür. Kontrol örneğinde asitlik artışı starter kullanılan turşu örneklerine kıyasla daha yavaş gerçekleşmiştir. *L. plantarum* suşlarının fermentasyon sonuna kadar stabiliteğini korudukları ve ortamdaki baskın mikroorganizmalar oldukları belirlenmiştir. Depolama sonrası en yüksek laktik asit (1.62 g/100 mL) ve en düşük etil alkol (0.26 g/100 mL) miktarı MF513-MF179 suşlarının kullanıldığı turşu örneğinde ölçülmüştür.

Anahtar kelimeler:Turşu, Laktik asit bakterisi, Starter kültür, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus ethanolidurans*

PICKLE PRODUCTION BY SELECTED INDIGENOUS LACTIC STARTER CULTURES

ABSTRACT

In this study, in order to develop starter cultures suitable for pickle production, the selected indigenous cultures of *Lactobacillus plantarum* (MF513, MF377, MF213) and mixed cultures of *L. plantarum* MF513-*Pediococcus ethanolidurans* MF179 were used as starter cultures. The chemical, microbiological and sensory properties of pickles were monitored during fermentation and 6 months of storage. In order to determine whether the starter cultures preserved their stability until the end of fermentation, the cell protein profiles (SDS-PAGE) of pure cultures before fermentation were compared with that of after fermentation. The highest acidity (0.87 %) was found to be reached in the pickles produced by the addition of mixed starter cultures at the 20th day of fermentation and the pH value was measured as 3.26. The acidity increase was slower in control samples as compared with the starter culture-added pickle samples. It was determined that *L. plantarum* strains preserved their stability until the end of fermentation and were predominant microorganisms in the environment. After storage, the highest lactic acid (1.62 g/100 mL) and the lowest ethanol (0.26 g/100 mL) content was observed in the pickle samples inoculated with MF513-MF179 strains.

Keywords:Pickle, lactic acid bacteria, starter culture, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus ethanolidurans*

* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author;

✉ mehmet.tokatli@gop.edu.tr

☎ + 90 (356) 252 1616 / 2887

☎ + 90 (356) 252 1729

GİRİŞ

Meyve ve sebzelerin laktik asit fermantasyonu ile muhafaza edilmesi çok eski yıllardan bu yana uygulanan, bir gıda koruma yöntemidir. Laktik asit bakterileri (LAB) tarafından gerçekleştirilen laktik asit fermantasyonu sonucu üretilen fermente gıda ürünleri arasında turşu önemli bir yere sahiptir (Tokatlı vd., 2012). Turşu üretiminde kullanılan hıyar, lahana, yeşil biber gibi bitki kökenli substratların doğal mikroflorasında, laktik asit fermantasyonunu gerçekleştiren LAB'nin yanı sıra *Pseudomonas*, *Erwinia* ve *Enterobacter* türlerine ait bozulma yapan aerobik bakteriler, maya ve küfler gibi arzu edilmeyen mikroorganizmalar da yer almaktadır. LAB'nin taze hammaddedeki başlangıç sayıları da diğer mezofilik mikroorganizmalara kıyasla düşüktür (Breidt vd., 2013). Fermente sebzelerde, süt fermantasyonlarında olduğu gibi hammaddedeki istenmeyen endojen mikroflorayı pastörizasyon yolu ile inhibe etmek mümkün olmamaktadır. Ancak, fermantasyonun başlangıcında sayıları oldukça düşük olan LAB, yüksek tuz konsantrasyonu, yüksek asitlik ve düşük pH (<4.5) ile karakterize edilen turşunun ekstrem koşullarına dayanabildiklerinden, endojen mikroflorayla rekabete girerek ortama hakim olurlar. Bu zorlu ortam koşullarında koliform grubu bakteriler, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium* ve LAB dışındaki diğer mikroorganizmalar inhibe olurlar (Hutkins, 2006). Turşu üretiminde LAB'nin ortama hakim olması için su aktivitesi, sıcaklık, anaerobik ortam, tuz konsantrasyonu ve asitlik gibi uygun çevresel koşullar ayarlanırken, istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi engellenmiş olur (Erten vd., 2016). Endojen LAB ve diğer mikrobiyel flora çevresel faktörlere bağlı olarak değiştiğinden, sebze fermantasyonlarının kontrolü zordur. Bu nedenle, kontrolsüz koşullarda gerçekleşen spontan fermantasyon son ürünün kalitesi, duyuşal özellikleri, güvenliği ve stabilitesinde farklılıklara yol açabilmektedir (Gardner vd., 2001). Bu bağlamda, turşu üretiminde kullanılacak uygun starter kültürlerin geleneksel turşulardan izole edilen endojen (yerel) LAB arasından seçilmesi, bu endojen suşların, farklı kaynaklardan izole edilen endüstriyel starter kültürlerle kıyasla, turşunun zorlu çevresel koşullarına daha iyi adapte olabilmeleri ve

kolaylıkla floraya hakim olabilmeleri nedeniyle oldukça önemlidir. Bu şekilde, geleneksel fermente ürünün karakteristik duyuşal özelliklerini koruyarak, güvenli ve standart kalitede turşu üretimi mümkün olmaktadır (Tokatlı vd., 2017).

Ülkemizde Ankara-Çubuk bölgesi geleneksel yöntemlerle üretilen turşularıyla ünlüdür. Turşu Türk mutfağının vazgeçilmez ürünlerinden biri olmakla birlikte, üretimi halen küçük ölçekli işletmeler ile sınırlı olup, spontan fermantasyona dayalı olarak üretilmektedir. Büyük üretim potansiyeline rağmen, standart kalitede ürünler elde etmek mümkün olmamaktadır. Ürün standardizasyonu için, seçilen starter kültürlerin standart hammadde ve standart üretim tekniği ile birlikte kullanılması gerekmektedir. Turşu üretimi için uygun starter kültürlerin seçilmesi (Çon ve Karasu, 2009; Karasu vd., 2010) ve turşu üretiminde kullanılması (Çetin, 2011) üzerine az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, turşu üretiminde kullanılacak bir starter kültür geliştirmektir. Bu bağlamda, daha önceki çalışmalar ile Ankara Çubuk ilçesinden temin edilen geleneksel turşularından izole edilerek, moleküler tekniklerle tanımlanmış (Bağder Elmacı vd., 2015) endojen LAB arasından teknolojik (Tokatlı vd., 2017) ve fonksiyonel özelliklerine (Tokatlı vd., 2015) göre seçilmiş 4 farklı bakteri kültürü starter olarak kullanılarak pilot ölçekte hıyar turşuları üretilmiş ve depolanmıştır. Üretilen turşular kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal açıdan incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Starter Kültürler

Çalışmada starter kültür olarak kullanılan endojen *Lactobacillus plantarum* MF513 (erişim no: KJ855887), *L. plantarum* MF377 (erişim no: KJ994374), *L. plantarum* MF213 (erişim no: KJ994430) ve *Pediococcus ethanolidurans* MF179 (erişim no: KJ994445) suşları daha önceki çalışmada Ankara-Çubuk yöresinde üretilen turşulardan izole edilmiş olup, moleküler yöntemlerle tanımlanmış (Bağder Elmacı vd., 2015), teknolojik (Tokatlı vd., 2017) ve fonksiyonel (Tokatlı vd., 2015) özellikleri belirlenmiştir. Ankara Üniversitesi Gıda

Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonunda muhafaza edilen suşların 16S rRNA gen dizi analiz sonuçlarına ait GenBank erişim numaraları daha önceki çalışmada belirtilmiştir (Bağder Elmacı vd., 2015).

Turşu Üretimi

Teknolojik ve fonksiyonel özellikleri açısından önemli bulunan LAB suşları (*L. plantarum* MF513, *L. plantarum* MF377, *L. plantarum* MF213 ve *P. ethanolidurans* MF179) starter kültür olarak seçilerek turşu denemelerinde kullanılmıştır. Bu amaçla, Çubuk Bölgesinden temin edilen turşuluk hıyarlar kullanılmıştır. Fermantasyon denemeleri, kapağı açılmadan örnek almaya olanak sağlayan, özel örnek alma düzeneğine sahip 3 L hacimli cam kavanozlarda gerçekleştirilmiştir. Hasadı izleyen 8-10 saat içerisinde laboratuvara getirilen hıyarlar, öncelikle şebeke suyu ile yıkanarak toz, çamur gibi kirliliklerinden arındırılmış ve klor çözeltisi içerisinde 15 dakika bekletildikten sonra, steril kaynak suyu ile yıkanarak klor uzaklaştırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan 1.5 kg hıyar, 1.5 kg salamura (% 8 tuz, % 0.4 asetik asit, % 0.4 CaCl₂, % 2 glikoz) ile birlikte 3 L'lik fermantasyon kaplarına doldurulmuştur.

Fermantasyon denemelerinde; *L. plantarum* MF513, *L. plantarum* MF377, *L. plantarum* MF213 ve *L. plantarum* MF513-*P. ethanolidurans* MF179'in karışık kültürü ile % 5 oranında aşılansız ve kontrol amacıyla bakteri aşılansız örnekler olmak üzere 5 farklı turşu örneği, 28 °C'de sıcaklık kontrollü karanlık bir odada 3 tekerrürlü olarak fermantasyona uğratılmıştır. Starter kültür isimleri bu metinde turşu örneğinin ismi olarak kullanılmıştır. 20 günlük fermantasyon süresince ortaya çıkan kimyasal ve mikrobiyolojik değişiklikler izlenmiştir. Fermantasyon bitiminde kimyasal ve mikrobiyolojik analizlere ek olarak, hıyar turşularında duyu analizi ve starter kültür stabilite testleri yapılmıştır.

Depolama

Turşu depolama denemeleri de fermantasyon denemeleri ile aynı anda başlatılmış olup, denemeler 1L hacimdeki hermetik kapaklı cam kavanozlarda ve benzer dolom oranına göre hazırlanmış salamura ile gerçekleştirilmiştir.

Depolama süresince 2., 4. ve 6. aylarda alınan örneklerde kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Ayrıca, depolama sonunda (6. ay) turşu örneklerinde organik asit, şeker dağılımları ve etil alkol miktarları kromatografik (HPLC) olarak belirlenmiştir. Denemeler 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Mikrobiyolojik Analizler

Salamura örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı (TMAB), Plate Count Agar (PCA) besiyerinde yayma kültürel sayım yöntemine göre, 30 °C'de 48 saat inkübasyon ile; toplam LAB sayımı, yayma kültürel sayım yöntemi kullanılarak De Man-Rogosa-Sharpe (MRS) Agar besiyerinde 30 °C'de 72 saat inkübasyon ile; toplam maya-küf sayımı Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (YGC) besiyerinde yayma kültürel sayım yöntemine göre 30 °C'de 96 saat inkübasyon ile; toplam *Enterobacteriaceae* sayımı % 1 oranında glikoz ilave edilmiş Violet Red Bile Agar (VRBA) besiyerinde yayma kültürel sayım yöntemine göre 37 °C'de 18-24 saat inkübasyon ile yapılmıştır (Gürgün ve Halkman, 1988). İnkübasyonların süresi sonunda canlı hücre sayımı yapılarak, sonuçlar log kob/mL olarak belirtilmiştir.

Kimyasal Analizler

Salamuraların pH değeri, potansiyometrik olarak, pH-metre (Mettler Toledo, S-20K, İsviçre) ile 20 °C'de ölçülmüştür. Salamura örneklerinde titrasyon asitliği 0.01 N NaOH (Merck, Germany) çözeltisiyle fenolftalein indikatörü (% 0.1 g/mL) eşliğinde belirlenerek g laktik asit/100 mL olarak ifade edilmiştir. Tuz miktarı ise, Mohr yöntemi esas alınarak örneklerin 0.1 N AgNO₃ ile potasyum dikromat (% 5 g/mL) indikatörü eşliğinde titrasyonu ile belirlenmiş ve sonuçlar g NaCl/100 mL olarak verilmiştir. Salamura örneklerinde indirgen şeker tayini DNS (3.5-Dinitrosalisilik asit) kullanılarak, Miller yöntemine göre yapılmıştır (Forouchi ve Gunn, 1983).

Depolama denemelerinin sonunda (6. ay) alınan salamura örneklerinde organik asit, şeker dağılımını ve alkol içeriklerini belirlemek amacı ile; salamura örnekleri santrifüj edilmiş ve membran filtreden (Millipore Millex-HV Hydrophilic PVDF) geçirilerek sıvı faz HPLC cihazı için

hazırlanmıştır. Analiz için Shimadzu HPLC, Japan (SCL 10 AVP sistem kontrol ünitesi, RID 10A dedektör, LC 10AD Vp pompa, CTO 10AS Vp kolon fırını, Class Vp software, DGU 14A degazör, ICSep KE-COREGEL 87H3 kolon, ICSep COREGEL 87H guard kit) cihazı kullanılmıştır. Analiz için saf su mobil faz olarak kullanılarak 20 µL örnek enjeksiyonu yapılmıştır. Standart çözeltiler ise glikoz, fruktoz, etanol, asetik asit ve laktik asit ile hazırlanmıştır (Tomlins vd., 1990).

Duyusal analiz

Fermentasyon sonunda hıyar turşularında, 18-20 panelist tarafından görünüş, renk, koku, lezzet, sertlik ve genel beğeni parametreleri esas alınarak ve 1-5 aralığında puanlama kullanılarak duysal değerlendirmeleri yapılmıştır (Shinagawa vd., 1997).

Starter kültür stabilite testi

L. plantarum MF513, *L. plantarum* MF377, *L. plantarum* MF213 ve *P. ethanolidurans* MF179 starter kültürleri kullanılarak gerçekleştirilen 3 tekerrürlü fermentasyon denemeleri sonucunda, fermentasyonun bitiminden sonra salamura örneklerinden yayma plak yöntemine göre MRS katı besiyerine ekim yapılmıştır. Katı besiyeri üzerinde oluşan kolonilerden rastgele 20 adet saf kültür seçilerek, bu bakterilerin salamuraya ilave edilen starter kültür olup olmadıkları, hücre protein profilleri (SDS PAGE elektroforez) incelenerek belirlenmiştir. LAB'nin moleküler düzeyde belirlenmesi için, Laemmli (1970) tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek ve Sodium Dodecyl Sulfate PolyAcrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) tekniği kullanılarak toplam hücre protein profilleri ortaya konmuştur. LAB'nin hücre proteinleri, farklı yöntemlerin kombine edilmesiyle izole edilmiştir (Angelis vd., 2001; Swida ve Binek, 2005; Kim ve Adachi, 2007). Elde edilen proteinler, poliakrilamid jelde yürütülerek oluşan protein bantları jel görüntüleme sisteminde (Gel Logic 200 Imaging System Kodak, USA) görüntülenerek ilgili starter kültürlerine ait olup olmadıkları ortaya konmuştur.

İstatistiksel değerlendirme

Tekerrürlü olarak elde edilen analiz sonuçlarının ortalamaları alınarak standart sapmaları ile birlikte

verilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi ve karşılaştırılması Minitab programında (Minitab release 12.1, Minitab inc., 1998) two sample T-test, one-way (ANOVA) ve balanced (ANOVA) analizleri kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler

Toplam titrasyon asitliği ve pH değeri fermentasyonun seyri için izlenmesi açısından önemli rol oynamaktadırlar. Özellikle homofermantatif LAB tarafından gerçekleştirilen asit üretimi, salamuranın laktik asit cinsinden toplam asitliğini arttırmakta ve turşuda koruyucu görevi üstlenmesini sağlamaktadır. pH değerindeki azalma, asitlik oluşumunun ortaya çıkardığı bir sonuç olarak kendini göstermektedir (Daeschel ve Fleming, 1984).

Fermentasyon süresince kimyasal değişiklikler incelenecek olursa (Çizelge 1), fermentasyonların başlangıcında salamura pH değerleri 3.91-4.11 aralığında ölçülmüştür. Fermentasyonların başlangıcında salamuranın pH değerlerindeki düşüş, starter kültür kullanılmayan kontrol örneğinde daha yavaş bir hızla gerçekleşirken, daha sonra mikrobiyel aktivitedeki artışa bağlı olarak hız kazanmıştır. Starter kültür kullanılan tüm örnekler fermentasyonun 7. gününden itibaren sabit pH değerlerine ulaşmış, daha sonraki günlerde pH'da çok önemli bir değişim gözlenmemiştir. Kontrol örneğindeki pH düşüşü diğer örneklerle kıyasla daha yavaş seyretmiştir. 20 günlük fermentasyon süresince en düşük pH değeri (pH 3.26) karışık starter kültürün kullanıldığı MF513-MF179 nolu örnekte ölçülmüştür. Kontrol ve MF213 nolu turşu örneklerinde ise fermentasyon en yüksek pH değerlerinde tamamlanmıştır ($P > 0.05$).

Turşu üretiminde salamuraların başlangıç pH'sı, salamuradan karbondioksit (CO₂) geçirilerek veya asetik asit eklenerek daha da azaltılabilir. Salamuranın düşük başlangıç pH değerine sahip olması, fermentasyon sırasında oluşan fazla CO₂'nin salınmasına, LAB'nin seçilimine ve düşük pH değerlerine duyarlı enterobakterilerin inhibe edilmesine yardımcı olmaktadır. Laktik asit

fermantasyonlarında toplam asitlikte meydana gelen artışa paralel olarak ortam pH değerlerindeki azalma derecesi, sistemin tamponlama kapasitesi ve fermentasyondaki mikroorganizmalar tarafından yürütülen diğer biyokimyasal aktivitelerden önemli ölçüde etkilenmektedir. Tuzlu fermentasyonları pH 4.5'ten daha yüksek bir değerde tamamlanırsa, ürünlerin mikrobiyolojik açıdan stabilitesi bozulmaktadır. Diğer taraftan, özellikle hıyar turşularında *Pichia* ve *Issatchbenkia* cinsi mayaların, birincil fermentasyon sırasında üretilen laktik asidi katabolize ederek pH'da bir artışa neden olduğu da bilinmektedir (Pérez-Díaz vd., 2013). Kamdee

vd. (2014), hardal bitkisinin doğal ve starter kültür (*Weissella* spp. ve *L. fermentum*) kullanarak gerçekleştirdikleri laktik asit fermentasyonu sonucunda, starter kullanılan örneklerde pH değerini 3.22-3.24 olarak, doğal fermentasyon ile üretilen ürünlerde ise 3.33-4.44 olarak daha yüksek değerlerde bulmuşlardır. Çon ve Karasu (2009), antagonistik starter kültürler ile üretimi gerçekleştirilen turşularda pH değerlerini 3.50-3.94 aralığında ölçmüşlerdir. Fermente salatalık gibi benzer sebzeler hakkında literatürde bildirilen pH değerleri 3.1-3.5 aralığında olup, sonuçlar ile uyum içerisinde (Montet vd., 2014).

Çizelge 1. Fermentasyon sürüsünce salamura örneklerinin pH, asitlik, tuz ve indirgen şeker miktarları
Table 1. The pH, acidity, salt and reducing sugar in brine samples during fermentation

		Turşu örnekleri					
		Günler	kontrol	MF513	MF377	MF213	MF513-MF179
Toplam asitlik (%)	1		0.23 ± 0.00 ^{Ef}	0.29 ± 0.00 ^{Ac}	0.24 ± 0.01 ^{De}	0.27 ± 0.01 ^{Cc}	0.28 ± 0.01 ^{Bf}
	4		0.48 ± 0.00 ^{Cc}	0.63 ± 0.02 ^{Ad}	0.50 ± 0.01 ^{Cd}	0.60 ± 0.02 ^{Bd}	0.61 ± 0.01 ^{ABc}
	7		0.55 ± 0.01 ^{Cd}	0.67 ± 0.01 ^{Ac}	0.61 ± 0.03 ^{Bc}	0.62 ± 0.01 ^{Bcd}	0.67 ± 0.00 ^{Ad}
	11		0.61 ± 0.03 ^{Bc}	0.71 ± 0.04 ^{Abc}	0.70 ± 0.03 ^{Ab}	0.64 ± 0.01 ^{Bc}	0.74 ± 0.02 ^{Ac}
	14		0.64 ± 0.04 ^{Bbc}	0.73 ± 0.04 ^{Aab}	0.76 ± 0.02 ^{Aa}	0.65 ± 0.01 ^{Bbc}	0.76 ± 0.02 ^{Abc}
	17		0.66 ± 0.03 ^{Cab}	0.74 ± 0.04 ^{Bab}	0.78 ± 0.00 ^{ABa}	0.68 ± 0.04 ^{Cb}	0.81 ± 0.04 ^{Ab}
	20		0.69 ± 0.01 ^{Ca}	0.77 ± 0.05 ^{Ba}	0.78 ± 0.00 ^{Ba}	0.73 ± 0.04 ^{BCa}	0.87 ± 0.08 ^{Aa}
pH	1		4.30 ± 0.00 ^{Aa}	3.91 ± 0.02 ^{Da}	4.11 ± 0.04 ^{Ba}	4.01 ± 0.02 ^{Ca}	3.94 ± 0.02 ^{Da}
	4		3.63 ± 0.01 ^{Ab}	3.45 ± 0.03 ^{Bb}	3.59 ± 0.02 ^{Ab}	3.49 ± 0.04 ^{Bb}	3.47 ± 0.01 ^{Bb}
	7		3.53 ± 0.03 ^{Ac}	3.37 ± 0.04 ^{Bc}	3.44 ± 0.04 ^{Bc}	3.42 ± 0.03 ^{Bc}	3.39 ± 0.01 ^{Bbc}
	11		3.48 ± 0.03 ^{Ac}	3.33 ± 0.03 ^{Cc}	3.37 ± 0.04 ^{BCcd}	3.43 ± 0.02 ^{ABc}	3.32 ± 0.01 ^{Cc}
	14		3.46 ± 0.04 ^{Ac}	3.33 ± 0.03 ^{Cc}	3.35 ± 0.03 ^{BCd}	3.41 ± 0.02 ^{ABc}	3.30 ± 0.01 ^{Cc}
	17		3.44 ± 0.03 ^{Ad}	3.33 ± 0.02 ^{Bc}	3.34 ± 0.03 ^{Bd}	3.41 ± 0.02 ^{ABc}	3.26 ± 0.06 ^{Bc}
	20		3.44 ± 0.03 ^{Ad}	3.34 ± 0.02 ^{BCc}	3.34 ± 0.03 ^{Cd}	3.43 ± 0.03 ^{ABc}	3.26 ± 0.06 ^{Cc}
İndirgen şeker (g/L)	1		25.89 ± 0.27 ^{Aa}	24.05 ± 0.24 ^{Ca}	25.73 ± 0.73 ^{Aa}	24.26 ± 0.43 ^{BCa}	25.31 ± 0.39 ^{ABa}
	4		19.41 ± 1.04 ^{Bb}	21.72 ± 0.63 ^{ABab}	23.48 ± 1.70 ^{Aa}	21.12 ± 0.13 ^{ABb}	21.12 ± 0.08 ^{ABb}
	7		14.14 ± 1.48 ^{Ac}	18.39 ± 2.03 ^{Abc}	18.00 ± 2.10 ^{Ab}	18.59 ± 1.97 ^{Ab}	15.09 ± 0.82 ^{Ac}
	11		4.96 ± 0.25 ^{BCd}	16.54 ± 2.25 ^{Ac}	3.10 ± 1.85 ^{Cc}	8.06 ± 1.05 ^{Bc}	3.63 ± 0.45 ^{Cd}
	14		1.85 ± 0.22 ^{Be}	15.17 ± 3.40 ^{Ac}	1.87 ± 1.08 ^{Bc}	2.04 ± 0.73 ^{Bd}	1.39 ± 0.35 ^{Be}
	17		0.99 ± 0.38 ^{Be}	11.39 ± 1.46 ^{Ade}	0.94 ± 0.25 ^{Bc}	1.11 ± 0.34 ^{Bd}	1.07 ± 0.22 ^{Be}
	20		0.79 ± 0.14 ^{Be}	8.89 ± 0.11 ^{Ac}	0.71 ± 0.16 ^{Bc}	0.89 ± 0.17 ^{Bd}	0.92 ± 0.15 ^{Be}
% Tuz	1		4.42 ± 0.07 ^{Aa}	4.31 ± 0.18 ^{Aa}	4.43 ± 0.15 ^{Aa}	4.37 ± 0.12 ^{Aa}	4.25 ± 0.08 ^{Aa}
	4		4.25 ± 0.04 ^{Ab}	4.25 ± 0.09 ^{Aa}	4.30 ± 0.10 ^{Aa}	4.30 ± 0.06 ^{Aa}	4.23 ± 0.04 ^{Aa}
	7		4.25 ± 0.02 ^{Abc}	4.24 ± 0.05 ^{Aa}	4.25 ± 0.04 ^{Aa}	4.25 ± 0.04 ^{Aa}	4.25 ± 0.06 ^{Aa}
	11		4.25 ± 0.00 ^{Ac}	4.23 ± 0.07 ^{Aa}	4.25 ± 0.00 ^{Aa}	4.25 ± 0.00 ^{Aa}	4.25 ± 0.04 ^{Aa}
	14		4.24 ± 0.04 ^{Ac}	4.24 ± 0.03 ^{Aa}	4.23 ± 0.06 ^{Aa}	4.24 ± 0.03 ^{Aa}	4.23 ± 0.08 ^{Aa}
	17		4.25 ± 0.01 ^{Ac}	4.25 ± 0.00 ^{Aa}	4.25 ± 0.01 ^{Aa}	4.21 ± 0.07 ^{Aa}	4.25 ± 0.00 ^{Aa}
	20		4.25 ± 0.02 ^{Ac}	4.24 ± 0.02 ^{Aa}	4.24 ± 0.00 ^{Aa}	4.25 ± 0.00 ^{Aa}	4.25 ± 0.00 ^{Aa}

*ABC: İstatistiksel olarak aynı satırdaki veriler arasındaki benzerlik ($P < 0.05$)

**abc: İstatistiksel olarak aynı sütündeki veriler arasındaki benzerlik ($P < 0.05$)

Fermantasyon süresince salamura örneklerinin toplam titrasyon asitliklerinde meydana gelen değişimler Çizelge 1'de verilmiştir. Fermantasyonun 1. gününde örneklerin titrasyon asitlikleri, salamuraya ilave edilen asetik asit kaynaklı olarak % 0.23-0.29 arasında bulunmuştur. Starter kültür kullanılmayan kontrol örneğinde asitlik gelişiminin pH değişiminde olduğu gibi daha yavaş gerçekleştiği görülmektedir. Starter kültür kullanılan turşu örnekleri fermantasyonun ilk günlerinde (1-7. gün) kontrol örneğine kıyasla daha hızlı asit oluşturmuşlardır. Ancak MF377 nolu turşu örneğinde fermantasyonun 4. gününe kadar asitlik artışının kontrol örneği ile benzer olduğu görülmektedir. Fermantasyon sırasında en yüksek titrasyon asitliği (% 0.87) değerine karışık kültür kullanılan MF513-MF179 nolu örnekte fermantasyonun 20. gününde ulaşıldığı belirlenmiştir ($P < 0.05$). Asit oluşumu açısından fermantasyon sonunda karışık kültürün kullanıldığı turşularda en yüksek asitlik ve en düşük pH değerine ulaşıldığı gözlenmiştir. Bu durum, *L. plantarum* MF513 ve *P. ethanolidurans* MF179 suşlarının fermantasyon ortamında sinbiyotik çalışmalarının bir sonucu olarak daha verimli asit oluşumuna sebep olması ile ilişkilendirilmiştir. Tekli starter kültür kullanılarak üretilen salamura örneklerinin gerek pH gerekse toplam asitlik sonuçları incelendiğinde, sadece MF513 nolu turşu salamuralarının fermantasyon bitiminde yüksek asitlik değerlerine ulaştığı görülmektedir. Genel olarak turşu fermantasyonlarında *L. plantarum* türlerinin iyi bir asit üretici suş olduğu bilinmektedir (Nilchian vd., 2016). Bu durum, ayrıca daha önce yapmış olduğumuz LAB'nin teknolojik özelliklerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmada söz konusu *L. plantarum* MF513 suşunun iyi bir asit üreticisi olduğu sonucu ile de uyum içerisindedir (Tokatlı vd., 2017). Tüm örneklerde fermantasyon sonunda ulaşılan en yüksek titrasyon asitliği değerlerinin yapılan diğer çalışmalara kıyasla biraz düşük düzeylerde kaldığı belirlenmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda ise benzer asitlik değerleri elde edilmiştir. Nilchian vd. (2016), hıyar turşusu ile yaptıkları çalışmada, starter kültür olarak *L. plantarum*, *L. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*

suşlarını kullanarak gerçekleştirdikleri fermantasyonlarda son ürün asitlik değerini % 0.45-0.63 aralığında bulmuşlar ve kontrol örneğine kıyasla daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Akpınar-Bayizit vd. (2007), starter kültür olarak *L. plantarum*, *Leu. mesenteroides*, *L. brevis* ve *P. cerevisiae* suşlarını kullanarak ürettikleri havuç turşularında toplam asitlik değerini % 0.89-0.92 olarak, starter kültür kullanılmadan üretilen kontrol turşu örneklerinde ise % 0.77-0.83 olarak bulmuşlardır.

Salamuralarda bulunan indirgen şeker miktarı da, mikrobiyel popülasyonun hızla çoğalmasına paralel şekilde fermantasyonun 1. gününden itibaren hızla azalmıştır (Çizelge 1). 1. gün salamura örneklerinde belirlenen indirgen şeker miktarlarındaki farklılığın ise aynı olgunluk derecesindeki hammaddeye eşit olarak dağılmasından ve her kavanoz içerisindeki ilk 1 gün içerisinde farklı yoğunlukta bir mikrobiyel gelişme ortaya çıkmasından kaynaklandığı düşünülmektedir ($P < 0.05$). Fermantasyonun ilk gününde indirgen şeker miktarı 24.05-25.89 g/L aralığında saptanmıştır. Doğal fermantasyon yolu ile üretilen kontrol örneğinin 7. güne kadar indirgen şeker miktarındaki azalma çok hızlı gerçekleşmiş olup, bu durum asit üretim sonuçları ile uyumsuzluk sergilemiştir. Fermantasyonun ilk aşamasında kontrol örneğinin doğal florasında bulunan mikroorganizmalar tarafından kullanılan şekerlerin bir kısmının organik asitler dışında başka ürünlere dönüşümüne işaret etmektedir. Diğer taraftan, *L. plantarum* ve *P. ethanolidurans* suşları kullanılarak fermente edilen örnekte ise asitlik miktarlarındaki artışa paralel olarak indirgen şeker miktarının da hızla azaldığı görülmektedir. Fermantasyonun 11. gününe kadar kontrol, MF513-MF179, MF377, MF213 nolu örneklerde hızlı bir şekilde azalan indirgen şeker miktarı, bu günden sonra mikroorganizmalar tarafından daha yavaş bir hızla tüketilmiştir. Fermantasyon sonunda kontrol, MF377, MF213 ve MF513-MF179 nolu örneklerde düşük miktarda ve benzer (0.71-0.92 g/L) indirgen şeker kaldığı görülmektedir ($P > 0.05$). Fermantasyon sonunda salamuralarda çok düşük seviyede indirgen şeker

belirlenmesi, bu örneklerde fermantasyonun 17 günde tamamlandığını göstermektedir. Fermantasyon sonunda en yüksek indirgen şeker içeriği MF513 nolu turşu örneğinde (8.89 g/L) belirlenmiştir (Çizelge 1). Starter kültürler, fermente olabilir şekerleri, metabolik yola bağlı olarak lezzet bileşenlerinin yanı sıra laktik aside, organik asitlere, CO₂ ve alkole dönüştürmektedirler (Özer ve Yıldırım, 2018). *L. plantarum* suşları genellikle kalan şekerlerle fermantasyonun son aşamasında neredeyse sadece laktik asit üretirler ve çok düşük pH'ları tolere etme yeteneklerine sahiptirler (Breidt vd, 2013). Ancak, MF513 nolu turşu örneğinde fermantasyonda yüksek asitlik verisine rağmen yüksek miktarda şekerin ortamda kalmış olması tam olarak açıklanamamakla birlikte, MF513 nolu turşuda enzimatik aktivite nedeniyle, fermantasyonun sonlarına doğru şekerlerin sebzelere salamura ortamına difüzyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Gardner vd., 2001).

Denge noktasında % 4 NaCl içerecek şekilde hazırlanan salamuralarda tuz konsantrasyonu, fermantasyonun ilk gününde alınan örneklerde % 4.43-4.25 olarak bulunmuştur (Çizelge 1). Kontrol ve MF513 nolu turşu örneklerinde 1. günden sonra, MF377 ve MF213 nolu örneklerde ise 4. günden itibaren tuz içeriği dengeye ulaşmıştır. Sonuç olarak, tüm örneklerin fermantasyon süresince ulaştıkları tuz denge noktası birbirine benzer ($P > 0.05$) olarak bulunmuş ve fermantasyon % 4.25 tuz konsantrasyonunda tamamlanmıştır.

Starter kültürler ile üretimleri gerçekleştirilen turşu örneklerinin fermantasyon süresince mikrobiyolojik özelliklerinde meydana gelen değişimler Şekil 1'de verilmiş olup, incelendiğinde; starter kültür kullanılan MF513, MF377, MF213, MF513-MF179 nolu örneklerde, fermantasyonun ilk gününde yüksek oranda LAB ve toplam mezofil bakteri tespit edilmiş, en yüksek LAB sayısı, sırasıyla MF513, MF513-MF179, MF213, MF377 nolu örneklerde 8.48; 8.09; 8.06; 7.51 log kob/mL olarak bulunmuştur. Kontrol örneğinde ise, toplam LAB sayısı 4.01 log kob/mL olarak bulunmuştur. Benzer şekilde toplam mezofil bakteri sayısı da, sırasıyla MF513,

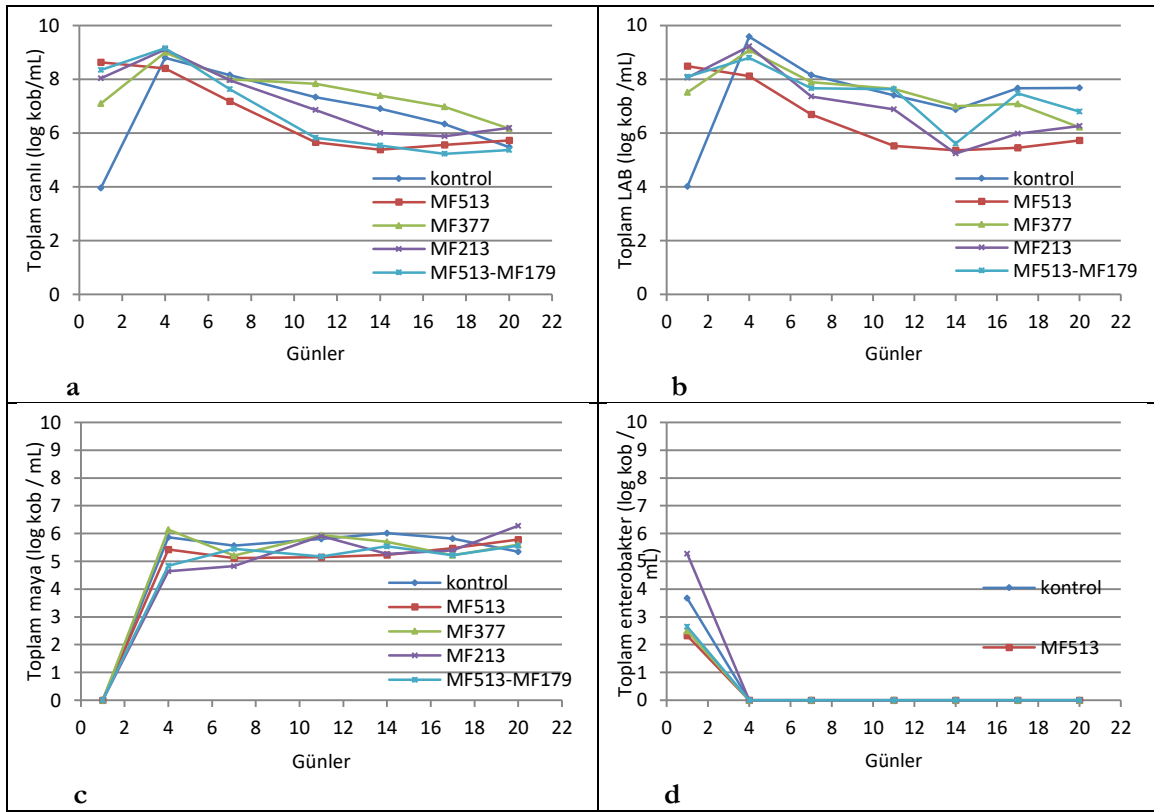
MF513-MF179, MF213, MF377 nolu örneklerde yüksek değerlerde bulunmuştur. Toplam mezofil bakteri sayısı ve toplam LAB sayısı, MF513 nolu örnek hariç tüm örneklerde 4. günde en yüksek değerine ulaşmış, daha sonraki günlerde giderek azalmıştır. Kamdee vd. (2014), starter kültür kullanarak gerçekleştirdikleri fermantasyonlarda başlangıç LAB yükünü 6.11-6.16 log kob/mL, kontrol örneğinde ise 5.58 log kob/mL olarak bulmuşlardır. Fermantasyonun 4. gününden itibaren salamuralarda maya gelişmesi tespit edilmeye başlanmış ve sonraki fermantasyon süresince çok önemli değişimler olmadan fermantasyonu tamamlamışlardır. Nilchian vd. (2016), starter kültür kullanarak ürettikleri hıyar turşularında fermantasyonun 6. gününde toplam LAB, mezofil bakteri ve maya miktarlarını sırası ile 7.46, 6.38 ve 6.65 log kob/mL olarak bildirmişlerdir. Fermente ürünlerde pH değerinin 4.5' in altına düşmesi birçok bozulma yapan bakteriler ve enterobakteriler için gelişmeyi sınırlayıcı faktör olduğu bilinmektedir (Özer ve Yıldırım, 2018). Fermantasyonun 1. günü tüm örneklerde rastlanan enterobakteriler ise 4. günden itibaren sayılamamıştır. Bu durum asitlik gelişimine paralel olarak enterobakterilerin daha fazla gelişemedikleri şeklinde yorumlanmıştır. Kamda vd. (2015) yaptıkları çalışmada, starter olarak LAB karışık kültürleri (*L. plantarum* UFLA CH3, *P. acidilactici* UFLA BFFCX 27.1) kullanılarak üretilen fermente turşularda yüksek miktarda organik asit ve esterlerin üretimi sonucu enterobakter gelişiminin inhibe edildiği sonucuna ulaşmışlardır.

Duyusal Değerlendirme

Çizelge 2 incelendiğinde kontrol ve starter kültürlerin kullanıldığı tüm turşu örneklerinin görünüş ve koku puanları benzer bulunmuştur ($P > 0.05$). Kontrol gurubuna ait renk puanlaması ise starter kullanılan örneklerden daha düşük olarak değerlendirilmiştir ($P < 0.05$). MF213 nolu turşu örneğinin ise lezzet, sertlik ve genel beğeni olarak almış olduğu puanların diğer turşu örneklerine göre daha düşük kaldığı görülmektedir. Bu durum MF213 nolu turşu örneğinde fermantasyon sonuna doğru maya sayısında gözlenen artış ile ilişkilendirilmiş ve artan maya popülasyonunun ürünün lezzet, sertlik ve genel beğeni puanlarına

olumsuz yansıdığı sonucunu göstermektedir. Çoğu turşu fermantasyonlarında maya aktivitesindeki artış, pektolitik enzimler ve uçucu bileşiklerin miktarında artışa sebep olarak ürünlerin fiziksel ve duyu kalitesini olumsuz etkilemektedir (Holzapfel, 2014). Diğer taraftan da bazı çalışmalarda bir miktar maya aktivitesinin ürünün kalitesine olumlu etkisinin bulunduğu belirtilmektedir (Wu vd., 2014). Duyusal değerlendirme sonuçları genel olarak

değerlendirilecek olursa; starter kültür kullanılarak üretilen turşuların beğenilme oranı, starter kültür kullanılmadan doğal fermantasyon ile üretilen kontrol örneklerine kıyasla belirgin bir farklılık ortaya koymamıştır. Xia vd. (2017), *L. brevis* AR123 suşunu starter kültür olarak kullandıkları çalışmada spontan fermantasyon ile elde edilen ürünlere kıyasla duyu açıdan daha iyi ürün elde ettiklerini bildirmişlerdir.



Şekil 1. Fermantasyon süresince salamuraadaki mikrobiyolojik sayım sonuçları (log kob/mL) a) Toplam mezofilik aerobik bakteri b) Toplam LAB c) Toplam maya-küf d) Toplam Enterobacteriaceae
Figure 1. Results of microbiological counting in brine during fermentation (log cfu/mL) a) Total mesophilic aerobic bacteria b) Total LAB c) Total yeast-mold d) Total Enterobacteriaceae

Çizelge 2. Fermantasyon sonrası turşuların duyu değerlendirme sonuçları
Table 2. Results of sensory evaluation of pickles after fermentation

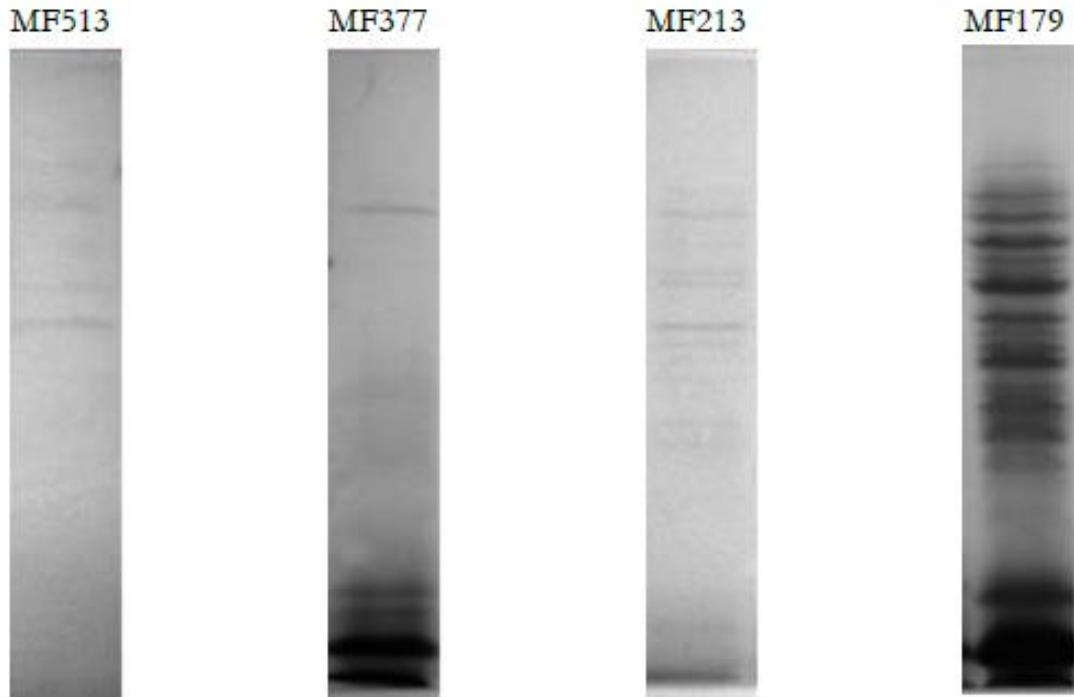
	Görünüş	Renk	Koku	Lezzet	Sertlik	Genel Beğeni
kontrol	4.00 ± 0.20 ^a	3.80 ± 0.08 ^a	3.74 ± 0.21 ^a	3.70 ± 0.31 ^a	4.37 ± 0.47 ^{ab}	3.71 ± 0.29 ^{ab}
MF513	4.00 ± 0.29 ^a	3.78 ± 0.36 ^{ab}	3.53 ± 0.64 ^a	3.56 ± 0.68 ^{ab}	4.35 ± 0.18 ^a	3.61 ± 0.72 ^{ab}
MF377	4.11 ± 0.35 ^a	4.13 ± 0.17 ^b	4.11 ± 0.29 ^a	3.93 ± 0.26 ^a	4.33 ± 0.32 ^{ab}	3.97 ± 0.29 ^a
MF213	3.96 ± 0.10 ^a	3.81 ± 0.20 ^{ab}	3.74 ± 0.10 ^a	3.30 ± 0.03 ^b	4.07 ± 0.06 ^b	3.42 ± 0.08 ^b
MF513-MF179	4.02 ± 0.50 ^a	3.83 ± 0.25 ^{ab}	3.80 ± 0.37 ^a	3.78 ± 0.43 ^a	4.13 ± 0.22 ^{ab}	3.60 ± 0.47 ^{ab}

*abc: İstatistiksel olarak aynı sütundaki veriler arasındaki benzerlik ($P < 0.05$)

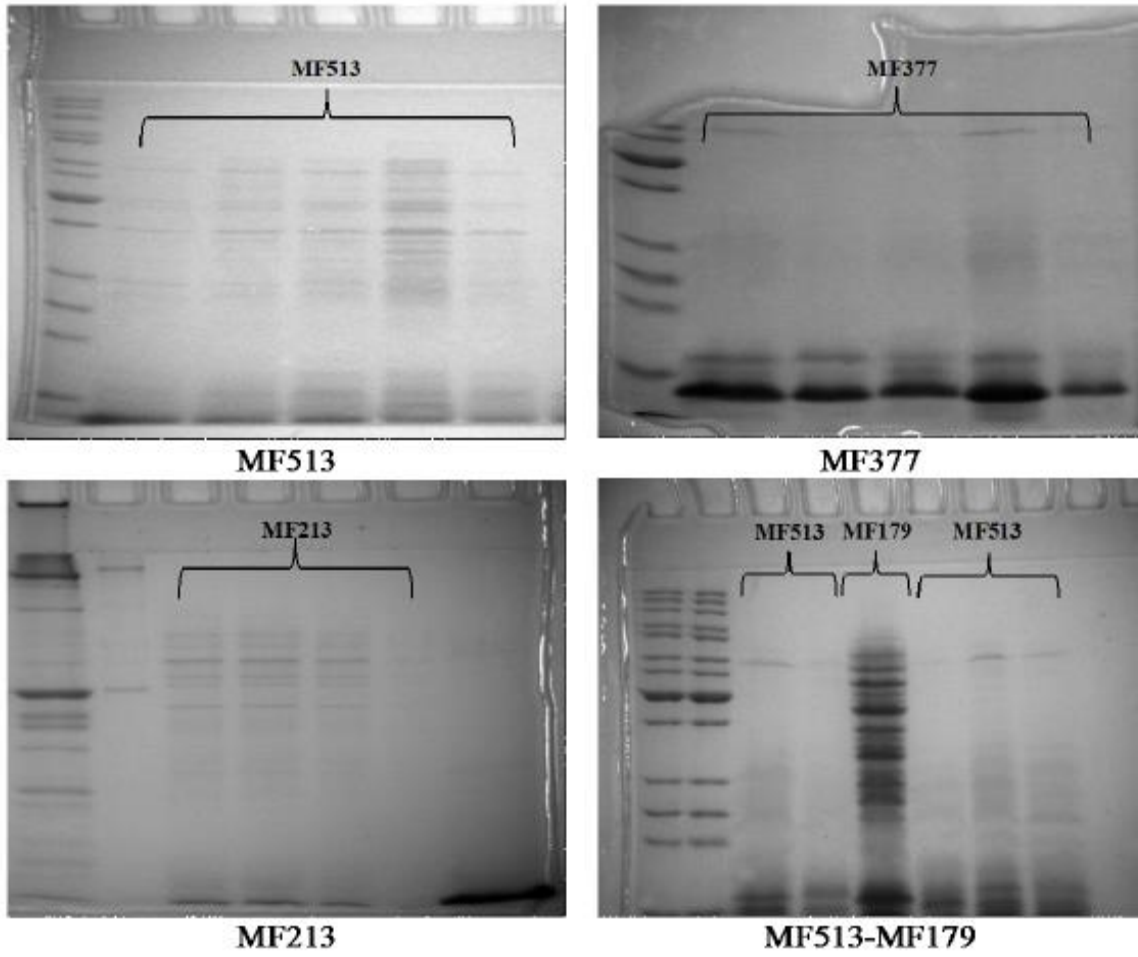
Starter Kültürlerin Stabiliteleri

Turşu örneklerine ilave edilen starter kültürlerine ait hücre protein profilleri (Şekil 2), MF513, MF377 ve MF213 suşları kullanılarak hazırlanan turşu fermantasyonlarının bitiminde izole edilen hücrelerin protein profilleri (Şekil 3) ile uyum içerisindedir. Yapılan çalışmada *L. plantarum* suşlarına ait protein bantlarının daha az sayıda ve silik olduğu görülmektedir. *L. plantarum* suşlarının pH 3.1 ile 3.5 arasında değişen yüksek asit toleransı, bu bakterileri turşu üretimi için starter kültür olarak uygun türler haline getirmektedir (Di Cagno vd., 2013). Bu nedenle, *L. plantarum* genellikle çoğu sebze fermantasyonunun sonunda baskın konumdadır (Mäkimmattila vd., 2011). Ancak, MF513-MF179 nolu turşu örneklerinden fermantasyon sonunda, MF179 numaralı starter kültüre ait bakteri protein profiline sahip sadece 3 bakteri izole edilirken, diğer 17 izolatan MF513 numaralı kültüre ait protein profiline sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durum, *P. ethanolidurans* MF179 suşunun fermantasyon sonuna kadar stabilitesini çok iyi koruyamadığı sonucunu göstermektedir.

Tokatlı vd. (2017) tarafından bu suşlara ait teknolojik özelliklerin incelendiği çalışmada *P. ethanolidurans* MF179 suşunun yüksek asitlik ve tuz şartlarında MF513 numaralı suşa göre daha zayıf bir gelişme göstermesi bulduğumuz sonucu destekler niteliktedir. Kamdee vd. (2014) bitkisel fermente ürünlerin üretiminde *Weissella* spp. ve *L. fermentum* suşlarını starter kültür olarak kullandıkları çalışmada, ürünlerin fermantasyon süresince starter kültür florasındaki değişimini rep-PCR tekniği ile izlemişlerdir. Yaptıkları çalışmada farklı inokulasyon oranlarında starter kültür kullanarak üretimini gerçekleştirdikleri ürünlerde fermantasyonun başlangıç aşamalarında *Weissella* spp. türünün predominant florayı oluşturduğunu, ancak daha sonra hızlı bir şekilde 3. günden itibaren floranın *L. fermentum* ve *L. plantarum* lehine değiştiğini belirlemişlerdir. Benzer şekilde, diğer bazı çalışmalarda da fermantasyon sonunda ürünlerde dominant florayı *L. plantarum* suşlarının oluşturduğu belirtilmektedir (Nguyen vd., 2013).



Şekil 2. Starter kültür olarak kullanılan suşlara ait hücre protein profilleri (SDS-PAGE)
Figure 2. Whole cell protein profiles of LAB strains used as starter culture (SDS-PAGE)



Şekil 3. Starter kültürler ile üretilen turşu örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerine ait hücre protein profilleri (SDS-PAGE)

Figure 3. Whole cell protein profiles of lactic acid bacteria isolated from pickle samples produced by starter cultures (SDS-PAGE)

Depolama

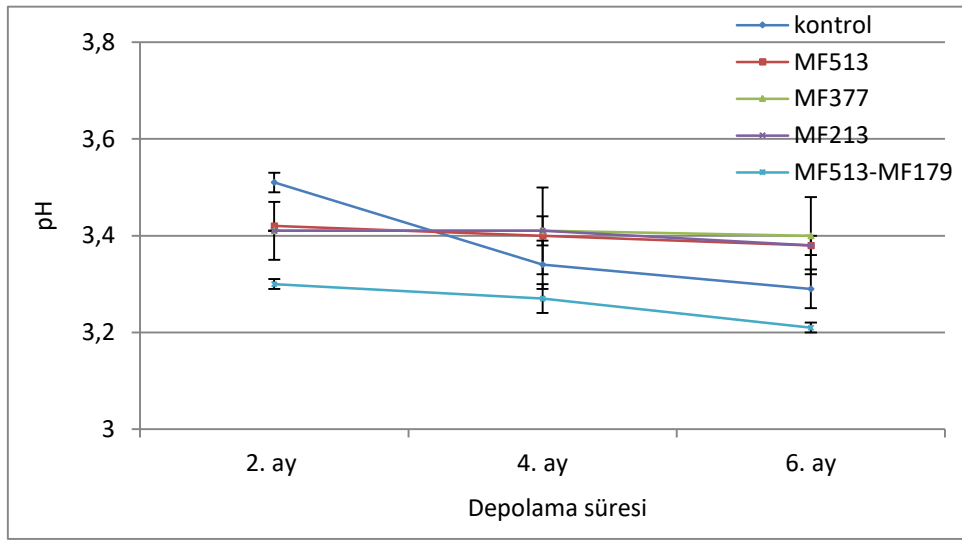
Depolama amacı ile üretimi gerçekleştirilen turşu gruplarından elde edilen veriler ile fermantasyon denemesinde üretilen turşulardan elde edilen veriler arasında bir ilişki veya bağıntı kurulması amaçlanmamış olup, tamamen ayrı bir deneme olarak düşünülmüştür. İki deneme arasındaki benzerlik, yalnızca aynı bileşimdeki salamuraların ve araştırma materyali olarak aynı özellikteki hiyarların kullanılması olarak kalmıştır. Depolama denemesi sırasında elde edilen değerler, farklı salamuralardan ve farklı depolama süreleri sonucu elde edilen kimyasal analizlerin ortalama deneysel sonuçları, Şekil 4' te verilmiştir.

Gerçekleştirilen depolama denemelerine ait pH sonuçları incelendiğinde (Şekil 4a) 2 aylık depolamaya alınan örneklerde en yüksek pH değeri kontrol örneğinde 3.51, en düşük değer ise MF513-MF179 nolu örnekte 3.30 olarak saptanmıştır. MF513, MF377 ve MF213 nolu örnek salamuralarının pH değerleri ise birbirine benzer bulunmuştur (pH 3.41). 4 aylık ve 6 aylık depolama örneklerinde benzer şekilde en düşük pH değeri MF513-MF179 nolu örnekte, sırasıyla 3.27 ve 3.21 olarak belirlenmiştir.

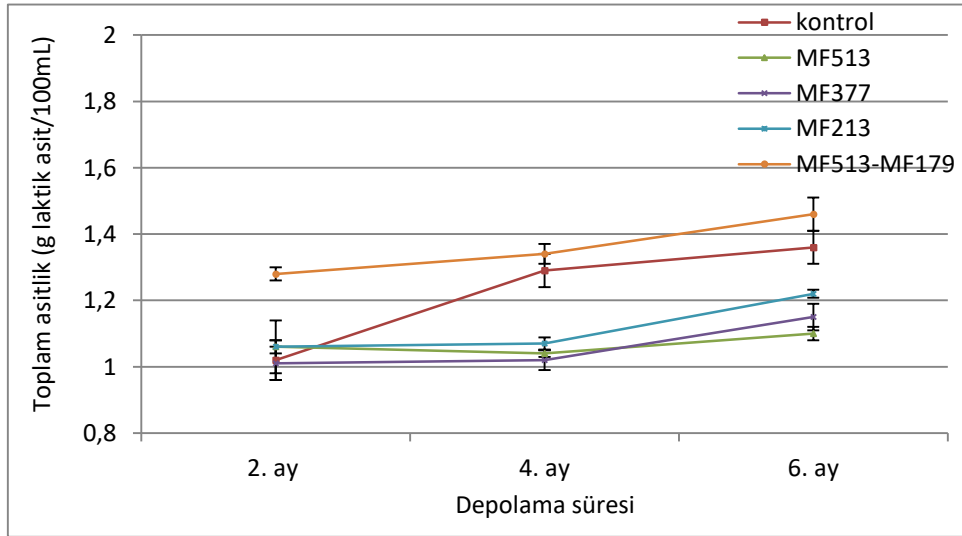
Depolanan örneklerde titrasyon asitliği değerleri (Şekil 4b) incelendiğinde, 2 aylık depolamaya alınan örneklerde en yüksek titrasyon asitliği

değeri MF513-MF179 nolu karışık kültür ile fermente edilen örnekte % 1.28 olarak, en düşük değer ise MF377 nolu örnekte % 1.01 olarak saptanmıştır. MF513, MF213 ve kontrol örneklerinde ortalama titrasyon asitliği değeri 1.05 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada ulaşılan titrasyon asitliğine ait sonuçlar ile Etchells ve ark. (1975)' in 3 ay depolama sonucu belirttiği ortalama % 0.60-1.46 değerleri arasında benzerlik bulunmaktadır. 4 aylık depolamaya alınan örneklerde en yüksek titrasyon asitliği değeri MF513-MF179 nolu karışık kültür ile üretilen

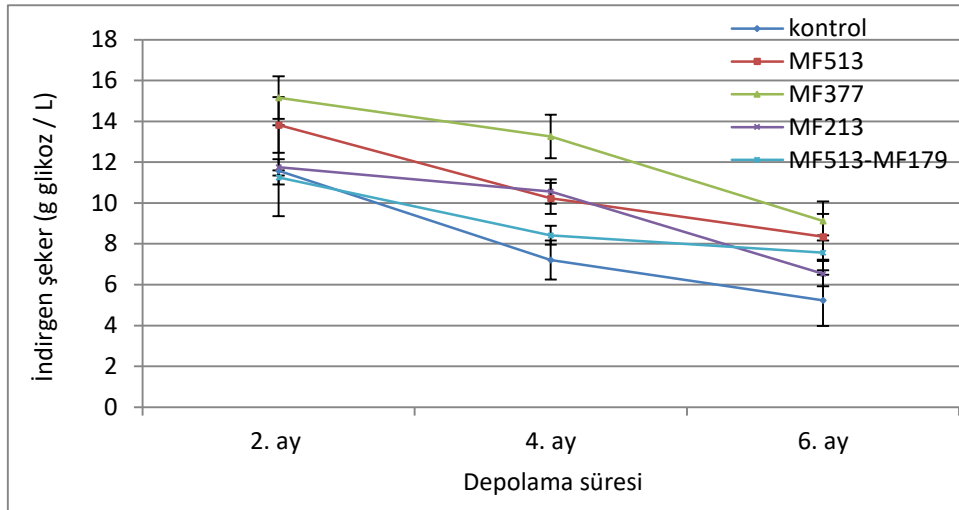
turşularda % 1.34; en düşük titrasyon asitliği ise MF377 nolu örnekte % 1.02 olarak bulunmuştur. 6 aylık depolamaya alınan örneklerde en yüksek titrasyon asitliği değeri MF513-MF179 nolu örnekte % 1.46; en düşük değer ise MF513 nolu örnekte % 1.10 olarak belirlenmiştir. 2, 4 ve 6 aylık depolama örneklerine ait salamuraların tümü incelendiğinde, en yüksek titrasyon asitliği değeri, ortalama % 1.26 ile 6 aylık turşularda, en düşük değer ise ortalama % 1.09 ile 2 aylık turşu örneklerinde ortaya çıkmıştır.



a



b



c

Şekil 4. Depolama süresince salamura örneklerinde a) pH, b) titrasyon asitliği ve c) indirgen şeker değerimleri

Figure 4. Changes in brine samples during storage a) pH, b) titratable acidity and c) reducing sugar

2 aylık depolanan örneklere ait indirgen şeker miktarlarının ise MF377 ve MF513 nolu örnekte en yüksek değerlerde (15.16 ve 13.82 g/L) bulunduğu, ancak diğer örneklerde de kalan şeker miktarının da oldukça yüksek değerlerde olduğu görülmektedir. 4 ve 6 aylık depolanan örneklerde ise daha düşük miktarlarda indirgen şeker belirlenmiştir (Şekil 4c). Fermantasyon sonunda kalan şeker düzeyinin bu denli yüksek olması, muhtemelen şeker dışında diğer indirgen maddelerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Depolama denemesi sırasında farklı salamuralardan elde edilen mikrobiyel sayımların ortalama sonuçları, Şekil 5'te verilmiştir. LAB sayısı 2 aylık örneklerde en fazla 6.05 log kob/mL ile MF213 nolu örnekte, en az 3.27 log kob/mL ile MF513-MF179 nolu örnekte bulunmuştur. Toplam mezofil bakteri sayısı 2 aylık örneklerde toplam LAB sayısında olduğu gibi en yüksek MF213 nolu örnekte, en düşük ise MF513-MF179 nolu örnekte tespit edilmiştir. Örneklerdeki toplam maya sayısı ise log 3.17-4.91 kob/mL aralığında bulunmuş olup en yüksek maya içeriği MF377 nolu örnekte saptanmıştır. Araştırmamızda elde edilen bu sonuçlara göre, LAB popülasyonunun depolama süresince,

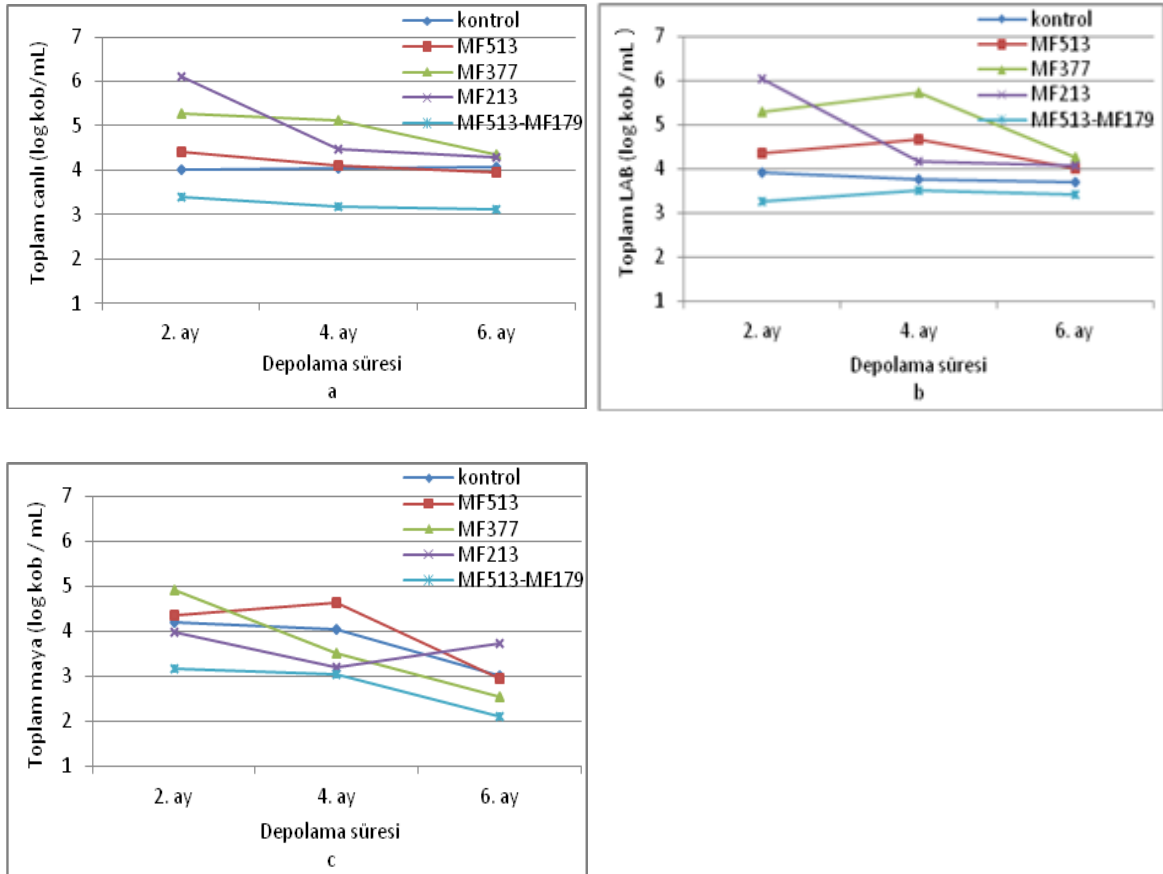
sayıları azalsa da, aktif kaldığı söylenebilir. Karışık starter kültürler kullanılarak üretilen ve depolanan MF513-MF179 kodlu örneklerin maya, LAB ve toplam mezofil mikrobiyel yükünün diğer örneklerle kıyasla daha düşük olması, bu turşu örneğinin daha yüksek asitlik ve düşük pH değeri ile de ilişkilendirilmiştir.

Depolama sonrası turşu örneklerinin şeker, organik asit kompozisyonu ve etil alkol oranları

Fermantasyon sırasında ve depolama aşamasında şeker ve organik asit kompozisyonlarının ve bunların miktarlarının belirlenmesi, fermantasyonda etkin bakteri grubunun belirlenebilmesi açısından bir yorum yapabilmeye olanak sağlayabilir. Örneklerin depolama sonunda HPLC ile şeker ve organik asit kompozisyonları belirlenmiş, bunlara ilaveten etil alkol miktarı da saptanmış; sonuçlar, 3 paralelin ortalaması olarak, Çizelge 3'te verilmiştir. Starter kültür kullanılan turşu örnekleri ile kontrol grubuna ait örnekte 6. ay depolama sonunda asetik asit miktarları benzer bulunmuş ve ortalama 0.26 g/100 mL olarak belirlenmiştir ($P > 0.05$). Fermantasyon denemelerinde elde edilen toplam asitlik sonuçlarında olduğu gibi depolama sonrası en

yüksek laktik asit miktarı MF513-MF179 suşlarının kullanıldığı turşu örneğinde belirlenmiş ve kontrol grubu turşu örneğinde benzer şekilde daha yüksek laktik asit miktarı ölçülmüştür ($P > 0.05$). En düşük laktik asit miktarı ise MF213 nolu turşu örneğinde belirlenmiş olup, 1.09 g laktik asit/100 mL olarak ölçülmüştür. Turşu örneklerinin 6 ay depolama sonrası kalan şekerlerin kompozisyonu incelenecek olursa, tüm örneklerin fruktoz miktarı glikoza kıyasla daha düşük belirlenmiştir. Özellikle 6. ay depolama sonunda laktik asit miktarı daha yüksek ölçülen MF513-MF179 nolu örnekte kalan fruktoz miktarının daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun, karışık kültür fermantasyonunda yer alan *L. plantarum* ve *P. ethanolidurans* suşlarının farklı şeker fermantasyon profiline sahip olması

ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Tüm turşu örneklerinde depolama sonrası kalan glikoz miktarları ise benzer olarak bulunmuştur ($P > 0.05$). Fermantasyon sonrası oluşan ve ortamda kalan etil alkol miktarları incelenecek olursa, en yüksek alkol MF213 nolu örnekte 0.48 g/100 mL olarak ölçülmüş olup, kontrol ve MF513 nolu örneklerde de benzer alkol miktarları belirlenmiştir. Yüksek alkol miktarları fermantasyonda kullanılan şekerlerin asit oluşumu ile birlikte alkol üretimine harcadığının göstergesi olmaktadır. Fermantasyon ortamında bulunan maya hücreleri alkol üretiminde temel sorumlu florayı oluşturmaktadır. Depolama sonrası MF213 nolu turşu örneğinde ölçülen düşük laktik asit miktarı ve maya yükü bu sonuçları destekler niteliktedir.



Şekil 5. Depolama süresince salamuradaki mikrobiyolojik sayım sonuçları (log kob/mL) a) Toplam mezofilik aerobik bakteri b) Toplam LAB c) Toplam maya-küf

Figure 5. Results of microbiological counting in brine during storage (log cfu/mL) a) Total mesophilic aerobic bacteria b) Total LAB c) Total yeast-mold

Çizelge 3. 6 ay süre ile depolanan turşu örneklerine ait şeker, organik asit dağılımı ve etil alkol miktarları (g/100 mL)

Table 3. Sugar, organic acid distribution and ethyl alcohol content (g/100 mL) of pickle samples stored for 6 months

	Fruktoz	Glikoz	Etanol	Asetik asit	Laktik asit
Kontrol	0.10±0.12 ^{ab}	0.44±0.26 ^a	0.37±0.14 ^{ab}	0.26±0.01 ^a	1.49±0.43 ^{abc}
MF513	0.21±0.05 ^a	0.60±0.16 ^a	0.38±0.10 ^{ab}	0.25±0.00 ^a	1.29±0.11 ^b
MF377	0.20±0.15 ^a	0.74±0.10 ^a	0.27±0.02 ^b	0.25±0.00 ^a	1.34±0.23 ^{bc}
MF213	0.16±0.04 ^a	0.55±0.16 ^a	0.48±0.11 ^a	0.26±0.02 ^a	1.09±0.04 ^c
MF513-MF179	0.02±0.01 ^b	0.74±0.08 ^a	0.26±0.02 ^b	0.26±0.00 ^a	1.62±0.02 ^{ab}

*abc: İstatistiksel olarak aynı sütundaki veriler arasındaki benzerlik ($P < 0.05$)

SONUÇ

Starter kültür kullanılarak üretilen turşularda duyuşsal olarak belirgin bir üstünlük belirlenememesine karşın, laktik asit fermantasyonunu kısa sürede tamamlamış olmaları nedeniyle, starter kullanımının fermantasyonun seyrine önemli bir katkıda bulunduğu anlaşılmaktadır. Turşu üretiminde starter kullanımını, fermantasyonun güvenle tamamlanmasına ve standart özelliklere sahip ürün oluşumuna verdiği katkı nedeniyle, üreticilere tavsiye edilebilir. Yapılan bu çalışma ile tanımlanmış ve karakterize edilmiş starter kültürler tarafından turşu fermantasyonlarının daha kontrollü ve güvenilir bir şekilde yürütülmesi sağlanarak, endüstriyel turşu üretimleri için kaynak oluşturması hedeflenmiştir. Özellikle karışık starter kültürlerin fermantasyonlarda kullanımı her bir kültürün sahip olduğu farklı teknolojik özelliklerin bir arada kullanımına fırsat verecektir. Spontan fermantasyonlardaki en büyük sorun olan standardizasyon ve ürün güvenliği bu şekilde daha iyi sağlanabilecektir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) (Proje No. 108O491) tarafından desteklenen projenin bir bölümüdür.

KAYNAKLAR

Akpınar-Bayizit, A., Özcan-Yılsay, T., Yılmaz, L. (2007). Study on the use of yoghurt, whey, lactic acid and starter culture on carrot fermentation. *Pol. J. Food. Nutr. Sci.*, 57(2): 147-150.

Angelis, M., Corsetti, A., Tosti, N., Rossi, J., Corbo, M.R., Gorbetti, M. (2001). Characterization of non-starter lactic acid bacteria from Italian ewe cheeses based on phenotypic, genotypic, and cell wall protein analyses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(5): 2011-2020.

Bağder Elmacı, S., Tokatlı, M., Dursun, D., Özçelik, F., Şanlıbaba, P. (2015). Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles of the Çubuk region in Turkey. *Folia Microbiol.*, 60: 241-251.

Breidt, F., McFeeters, R. F., Perez-Diaz, I., Lee, C. (2013). *Fermented vegetables. In Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers.* Doyle, M.P., Buchanan, R.L. (Ed.), ASM Press, Washington D.C., pp. 841-855.

Çetin, B. (2011). Production of probiotic mixed pickles (Turşu) and microbiological properties. *Afr. J. Biotechnol.*, 10(66): 14926-14931.

Çon, A.H., Karasu, N. (2009). Determination of antagonistic starter cultures for pickle and olive fermentation processes. *Czech. J. Food. Sci.*, 27(3): 185-193.

Daeschel, M.A., Fleming, H.P. (1984). Selection of lactic acid bacteria for use in vegetable fermentations. *Food Microbiol.*, 1: 303-313.

Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M., Gobbetti, M. (2013). Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiol.*, 33(1): 1-10.

Erten, H., Boyacı-Gündüz, C.P., Ağırman, B., Cabaroğlu, T. (2016). Fermentation, Pickling, and Turkish Table Olives. In: *Handbook of Vegetable*

- Preservation and Processing*, Hui, Y.H., Evranuz, E.Ö., Bingöl, G., Erten, H., Jaramillo-Flores, M.E. CRC Press, Taylor&Francis Group, Boca Raton, pp. 209-230.
- Etchells, J.L., Fleming, H.P., Bell, T.A. (1975). *Factor influencing the growth of lactic acid bacteria during brine fermentation of cucumbers; Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food*. Carr, J.G., Cutting, C.V., Whiting G.C. (Ed), Academic Press, New York, pp. 281-305.
- Forouchi, E., Gunn, D.J. (1983). Some effects of metal ions on the estimation of reducing sugars in biological media. *Biotechnol. Bioeng.*, 25: 1905-1911.
- Gardner, N.J., Savard, T., Obermeier, P., Caldwell, G., Champagne, C.P. (2001). Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures. *Int. J. Food Microbiol.*, 64: 261-275.
- Gürgün, V., Halkman, A.K. (1988). *Mikrobiyolojide sayım yöntemleri*. Gıda Teknolojisi Derneği, Ankara, 146 s.
- Holzapfel W. (2014) *Advances in fermented foods and beverages: improving quality, technologies and health benefits*. Woodhead Publishing, Elsevier, 541p.
- Hutkins, R.W. (2006). *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Blackwell Publishing, USA, pp.233-259.
- Kamda, A.G.S., Ramos, C.L., Fokou, E. (2015). In vitro determination of volatile compound development during starter culture controlled fermentation of Cucurbitaceae cotyledons. *Int. J. Food Microbiol.*, 192: 58-65.
- Kamdee, S., Plengvidhya, V., Chokesajjawatee, N. (2014). Changes in lactic acid bacteria diversity during fermentation of sour pickled mustard green. *KKU Res. J.*, 19: 26-33.
- Karasu, N., Şimşek, Ö., Çon, A.H. (2010). Technological and probiotic characteristics of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditionally produced fermented vegetables. *Ann. Microbiol.*, 60: 227-234.
- Kim, Y., Adachi, Y. (2007). Biological and genetic classification of canine intestinal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Mic. Immunol.*, 51: 919-928.
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- Mäkimattila, E., Kahala, M., Joutsjoki, V. (2011). Characterization and electrotransformation of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paraplantarum* isolated from fermented vegetables. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 27: 371-379.
- Montet, D., Ray, R.C., Zakhia-Rozis, N. (2014). *Lactic Acid Fermentation of Vegetables and Fruits. In Microorganisms and fermentation of traditional foods*. Ray, R.C., Montet, D. (Ed.), CRC Press., pp. 108-140.
- Nguyen, D.T., Van Hoorde, K., Cnockaert, M., De Brandt, E., Aerts, M., Binh Thanh, L., (2013). A description of the lactic acid bacteria microbiota associated with the production of traditional fermented vegetables in Vietnam. *Int. J. Food. Microbiol.*, 163(1): 19-27.
- Nilchian, Z., Sharifan, A., Rahimi, E., Mazid Abadi, N. (2016). Improvement of fermented cucumber characteristics by starter culture of *Lactobacillus plantarum*, *L. bulgaricus* and *S. thermophiles*. *J. Food Biosci. Technol.*, 6(2): 31-40.
- Özer, C., Kalkan Yıldırım H. (2018). Production of pickles by mixed culture fermentation. *The American J. of Chem. and App.*, 5: 57-68.
- Peréz-Díaz, I.M., Breidt, F., Buescher, R.W., Arroyo-López, F.N., Jiménez-Díaz, R., Garrido-Fernández, A., Johanningsmeire, S.D. (2013). *Fermented and acidified vegetables*. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, American Public Health Association, Washington DC, pp. 521-532.
- Shinagawa, H., Nishiyama, R., Miyao, S., Kozaki, M. (1997). Organic acid composition and quality of Japanese "shibazuke" pickles. *Food Sci. Technol. Int. Tokyo*, 3(2): 170-172.
- Swida, K.M., Binek, M. (2005). Selection of potentially probiotic *Lactobacillus* strains towards their inhibitory activity against poultry enteropathogenic bacteria. *Polish J. of Mic.*, 54: 287-294.

- Tokatlı, M., Dursun, D., Arslankoz, N., Şanlıbaba, P., Özçelik, F. (2012). Turşu üretiminde laktik asit bakterilerinin önemi. *Akademik Gıda*, 10(1): 70-76.
- Tokatlı, M., Elmacı, S.B., İşleyen, N.A., Özçelik, F. (2017). Technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles. *The Journal of Food*, 42(6): 693-707.
- Tokatlı, M., Gülgör, G., Bağder Elmacı, S., Arslankoz İşleyen, N., Özçelik, F. (2015). In vitro properties of potential probiotic indigenous lactic acid bacteria originating from traditional pickles. *Biomed Res. Int.*, 1-8.
- Tomlins, K.I., Baker, D.M., McDowell, I.J. (1990). HPLC method for the analysis of organic acids, sugars, and alcohol in extracts of fermenting cocoa beans. *Chromatographia*, 29(11-12): 557-561.
- Wu, C., Zheng, J., Huang, J., Zhou, R. (2014). Reduced nitrite and biogenic amine concentrations and improved flavor components of Chinese sauerkraut via co-culture of *Lactobacillus plantarum* and *Zygosaccharomyces rouxii*. *Ann. Microbiol.*, 64: 847-857.
- Xia, Y., Liu, X., Wang, G., Zhang, H., Xiong, Z., Sun, Y., Ai, L. (2017). Characterization and selection of *Lactobacillus brevis* starter for nitrite degradation of Chinese pickle. *Food Control*, 78: 126-131.