

**GELENEKSEL VE ENDÜSTRİYEL OLARAK
ÜRETİLEN TURŞULARDA MAYA
MİKROFLORASININ BELİRLENMESİ**

Elif GÖZÜTOK

**Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Doç. Dr. Bülent ÇETİN**

2013

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**GELENEKSEL VE ENDÜSTRİYEL OLARAK ÜRETİLEN
TURŞULARDA MAYA MİKROFLORASININ BELİRLENMESİ**

Elif GÖZÜTOK

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Erzurum

2013

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZONAY FORMU

**GELENEKSEL VE ENDÜSTRİYEL OLARAK ÜRETİLEN TURŞULARDA
MAYA MİKROFLORASININ BELİRLENMESİ**

Doç. Dr. Bülent Çetin danışmanlığında, Elif GÖZÜTOK tarafından hazırlanan bu çalışma...28.../03.../2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans teziolarak oybirliği/oy çokluğu (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Selahattin SERT

İmza:

Üye : Prof.Dr. Orhan ERDOĞAN

İmza:

Üye : Doç.Dr. Bülent ÇETİN

İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU

Enstitü Müdürü

Bu Atatürk Üniversitesi BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir. Proje No: 2011/166

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GELENEKSEL VE ENDÜSTRİYEL OLARAK ÜRETİLEN TURŞULARDA MAYA MİKROFLORASININ BELİRLENMESİ

Elif GÖZÜTOK

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Bülent ÇETİN

Bu çalışma, ev tipi ve endüstriyel turşu örneklerinin maya mikroflorasını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Turşu örnekleri Erzurum, Hatay, Erzincan, Denizli, Rize, Mersin, Kars, Bayburt, Malatya ve Ankara yörelerinden alınmıştır. Denemede ürünün gıda güvenliği ve fermantasyonda rol alabilecek muhtemel floranın belirlenmesi amaçlanmış, bu nedenle Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB), Psikrotrofilik, *Pseudomonas*, Maya ve Küf (PDA ve YGC’de gelişen), Muhtemel Laktik Asit Bakterileri (Laktokoklar ve Laktobasiller), Enterobacteriaceae, Enterekoklar, *Staphylococcus aureus* sayımı gerçekleştirilmiştir. Sayımı yapılan mikroorganizmalarda ortalama sayı sırası ile; 4.58, 0.48, <1, 2.81, 2.79, 4.36, 4.49, 0.27, 2.00, <1 olarak tespit edilmiştir. Kimyasal analizlerden ise pH, asitlik ve tuz tayini yapılmış olup ortalamalar sırası ile 3.74, %0.94, %2.29 olarak bulunmuştur. Elde edilen maya izolatları genetik ve API ID 32C biyokimyasal kit sistemi kullanılarak tanıları gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonucunda; turşu örneklerinden 12 farklı maya suşu izole edilmiştir. Tür bazında elde edilen sonuçlarda ise; izole edilen mayalar *Candida aff. sorboxylosa*, *Hanseniaspora opuntiae*, *Hanseniaspora uvarum*, *Kazachstania exigua*, *Pichia barkeri*, *Pichia fermentans*, *Pichia kudriavzevii*, *Pichia kluyveri* ve *Pichia membranifaciens* mayaları tanılanmıştır.

2013, 63 Sayfa

Anahtar kelimeler: turşu, maya, fermantasyon, genetik tanı

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF YEAST MICROFLORA IN TRADITIONAL AND INDUSTRIAL PRODUCED TURŞU SAMPLES

Elif GÖZÜTOK

Atatürk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Bülent ÇETİN

This study has been carried out to identify the microflora of turşu which were produced by traditional and industrial methods. The turşu samples were collected from Erzurum, Hatay, Erzincan, Denizli, Rize, Mersin, Kars, Bayburt, Malatya and Ankara regions. In the study, Total Aerobic Mesophilic Bacteria (TAMB), Psychrotrophic bacteria, *Pseudomonas*, Yeast and Mould (on PDA and YGC), Lactic Acid Bacteria (presumptive lactic acid bacteria on MRS and M17), Enterobacteriaceae, *Enterococcus* and *S.aureus* were counted in order to identify the microflora which have a role in food safety, spoilage and fermentation. In sequence, means of enumerations are found; 4.58, 0.48, <1, 2.81, 2.79, 4.36, 4.49, 0.27, 2.00, <1. As of chemical analyses pH, acidity and salt were measured. Means of chemical analyses are found; 3.74, 0.94% and 2.29%, respectively. Identification of isolated yeast strains have been carried out by Molecular and API ID 32C methods. As a result, microflora of turşu samples consists of yeast species which are *Candida aff. sorboxylosa*, *Hanseniaspora opuntiae*, *Hanseniaspora uvarum*, *Kazachstania exigua*, *Pichia barkeri*, *Pichia fermentans*, *Pichia kudriavzevii*, *Pichia kluyveri* and *Pichia membranifaciens*.

2013, 63 pages

Keywords: turşu, yeast, fermentation, genetic identification

TEŞEKKÜR

Tezimin oluşmasında; planlanması, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesinde maddi manevi desteğini esirgemeyen, tüm bilimsel birikimini ve tecrübelerini benimle paylaşan, eğitici olarak saygı duyduğum değerli hocam Sayın Doç. Dr. Bülent ÇETİN’e...

Çalışmam süresince gerektiğinde bana laboratuvar ortamını açan, maddi ve manevi olarak destekleyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU’na...

Çalışmalarında bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Emre GERÇEKASLAN’a ve Sayın Arş. Gör. Tuğba ERKAYA’ya...

Bu projeyi maddi olarak destekleyen “Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine” ne...

Hayatım boyunca her ne olursa olsun maddi ve manevi hep desteklerini gördüğüm, her türlü sıkıntımı ve mutluluğumu paylaştığım, her zaman yanımda hissettiğim, varlıklarını kendime en büyük avantaj olarak gördüğüm, beni bu günlere getiren ve beni sabırla destekleyen çok sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Elif GÖZÜTOK

Şubat 2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
3. METARYAL ve YÖNTEM.....	22
3.1. Materyal	22
3.2. Yöntem.....	23
3.2.1. Dilüsyonların hazırlanması	24
3.3. Mikrobiyolojik Analizler	24
3.3.1. Toplam mezofilik aerobik bakterinin sayımı	24
3.3.2. Maya ve küf sayımı	24
3.3.3. Enterekokların sayımı	25
3.3.4. Muhtemel laktik asit bakterilerinin sayımı.....	25
3.3.4.a. Laktik basillerin sayımı	25
3.3.4.b. Laktik kokların sayımı	25
3.3.5. <i>Staphylococcus aureus</i> sayımı	26
3.3.6. Enterobacteriaceae sayımı.....	26
3.3.7. Psikrotrofik bakterilerin sayımı.....	26
3.3.8. <i>Pseudomonas</i> 'ların sayımı	27
3.4. Mikroskopi ve Görüntüleme	27
3.5. İzolatların Tanısı	27
3.5.1. İzolatların tekrar canlandırılması	28
3.5.2. İzolatların genetik tanısı	28
3.5.3. İzolatların biyokimyasal tanısı	29
3.6. Kimyasal Analizler.....	30

3.6.1. pH tayini.....	30
3.6.2. Tuz tayini.....	30
3.6.3. Titrasyon asitliği tayini.....	31
3.7. İstatistik Analizler	31
4. ARAşTIRMA BULGULARI	32
4.1. Mikrobiyolojik Bulgular	32
4.2. Kimyasal Bulgular.....	46
5. TARTIşMA VE SONUÇ.....	51
5.1. Sonuç.....	55
KAYNAKLAR	57
ÖZGEçMİş	64

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

µl	mikro litre
H	Saat
2kg	potassium 2-KetoGluconate
Act	cycloheximide
Bç	baz çifti
Cel	D-CELLobiose
Ery	ERYthritol
g	gram
Gal	D-Galactose
Gln	Glucosamine
Glu	D-Glucose
Gly	Glycerol
Gnt	Potassium gluconate
Grt	Sodium glucuronate
Kob/g	Koloni oluşturan birim/gram
Lac	D-Lactose
Lat	Lactic acid
maks	maksimum
Mal	D-Maltose
Man	D-Mannitol
Mdg	Methyl α D-glucopyranoside
Mel	D-Melibiose
min	minimum
ml	mililitre
Mlz	D-Melezitose
Nag	D-acetyl-glucosamine
Ple	Palatinose
Raf	D-Raffinose
rDNA	Ribozomal DNA

Rib	D-Ribose
Sac	D-Saccharose
Sbe	L-Sorbose
Sor	D-Sorbitol
Tre	D-Trehalose
Xyl	D-Xlyose

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Maya Hücresi.....	8
Şekil 1.2. Maya tanısında kullanılan ITS ve 26S rRNA D1/D2 bölgeleri ve üniversal primerleri	12
Şekil 4.1. Mikroskopik türlerin şekilleri.....	38
Şekil 4.2. İzole edilen farklı suşların agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş hali	39
Şekil 4.3. 26S rRNA D1/D2 bölgesi amplifiye edilen mayaların elektroforez görüntüsü	41
Şekil 4.4. API görüntüleri	46

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Turşu fermantasyonu aşamaları	6
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan turşu örneklerinin yöreleri ve özellikleri	22
Çizelge 4.1. Denemede kullanılan turşu örneklerine ait genel mikrobiyolojik sonuçlar (log kob/ml).....	32
Çizelge 4.2. Denemede izole edilen maya suşlarına ait dendrogram	40
Çizelge 4.3. Sekans analizi sonucunda elde edilen bulgular	42
Çizelge 4.4. Biyokimyasal ve moleküler sonuçların karşılaştırılması	43
Çizelge 4.5. API ID 32C kit 24 saatlik test sonuçları	44
Çizelge 4.6. API ID 32C kit 48 saatlik test sonuçları	45
Çizelge 4.7. Numunelerin asitlik, tuz ve pH ölçümleri.....	46
Çizelge 4.8. Farklı analiz parametreleri arasındaki korelasyon	50

1. GİRİŞ

Turşu, genellikle taze sebze ve meyvelerin belirli bir tuz konsantrasyonunda, kendi öz sularında veya sirkeli suda laktik asit fermentasyonuna uğratılmasıyla elde edilen fermente bir üründür. Geleneksel bir ürünümüz olan turşu sadece tek bir metodla üretilmemekte örneğin sanayiide hermetik kapatılabilen ambalajlarda sirkeli salamuralı dolgu sıvısında ısı uygulaması ile elde edilebilir. Ayrıca herhangi bir salamura ve laktik asit fermentasyonu işlemine tabi tutulmadan sirkeye yatırılarak da üretilir. Bu ürün bazen çeşni ve katkı maddeleri ilavesiyle kendine özgü tat ve kokuya sahip, uzun süre dayanıklılığını koruyan bir çeşni veya garnitür (Şahin 1985; Çalış vd 1992; Anonim 1993; Aktan vd 1998; Güven 1998).

Laktik asit fermentasyonu, meyve ve sebzelerin muhafazasında binlerce yıldır tercih edilen ve uygulanan bir metot olmasının yanı sıra gıdalarda, örneğin tat, aroma ve yapıya dair oluşturduğu önemli değişiklikler ile de insanlar tarafından tüketilebilirliği oldukça yüksek gıdaların üretimine olanak veren bir işlemdir. Bu işlemin uygulandığı gıdalar arasında turşu önemli bir yer tutmaktadır (Aktan 1998).

Turşu, kış sofralarımızı zenginleştiren, yüzyıllarca Türk kültüründeki yerini koruyabilmiş, mutfağımızın vazgeçilmezlerinden olan geleneksel ürünlerimizden biridir (Akbaş 2006).

Turşu yapımında hammaddenin sadece renk, tat ve kokusu değil, kimyasal yapısında da önemli değişiklikler meydana gelmektedir ve tümüyle değişik görünüş ve tada sahip bir ürün ortaya çıkmaktadır (Şahin 1997). Bu özelliğinden dolayı da günümüzde fermente gıdalarla birlikte ürün çeşitliliği de artmıştır.

Turşu eğer tekniğine uygun olarak üretilirse gıdalardaki hastalıklara sebep olan mikroorganizmaların gelişimini önleyerek gıda güvenliğini de artırabilmektedir. Ayrıca turşu üretim maliyetinin düşük olması ve birçok ürünün lezzetinin fermentasyon

teknolojisiyle oluşması, güneşte kurutma veya ısıtma işlemleri gibi evde bile gerçekleştirilebilmesi nedeniyle tercih edilir (Nout 2001).

Turşu ve turşu teknolojisi sebzelerin ve meyvelerin bol bulunduğu mevsimlerden, daha az olduğu veya hiç bulunmadığı mevsimlere kadar dayandırılması çabalarının sonucu olarak bulunmuş, uzun ve zengin bir tarihe sahiptir (Şahin 1997; Aktan vd 1998).

Turşu Farsça kökenli “torsh” kelimesinden gelir ve “sour” yani “ekşi” anlamındadır (Kabak, 2011). Üretiminin ilk kez nerede, ne zaman ve nasıl başladığı bilinmemektedir. Ancak ekmek, bira, şarap ve sirke gibi birçok yiyecek ve içecekte laktik asit fermentasyonu kullanılmakta olduğu düşünülürse milattan 7000 yıl öncelerine giden bulgulara rastlandığı görülmektedir (Şahin 1997; Aktan vd 1998; Ross *et al.* 2002).

Fermentasyon yapan mikroorganizmaların oluşturduğu enzimler, substratları çeşitli değişimlere uğratarak; tat-koku ve görünüş açısından tüketim cazibesinin artmasını, istenmeyen öğelerin parçalanmasını, ürün kalitesinin düzelmesini, besleyici değerinin ve sindirilebilirliğinin artmasını sağlamaktadır (Ulu 2001).

Ülkemiz orta kuşakta bulunan bir ülke olması sebebiyle, iklim istekleri farklı sebzelerin ve meyvelerin fazla miktarlarda üretilmesine uygundur. Dolayısıyla hammadde yönünden oluşan bu zenginlik turşuculuğun gelişmesinde önemli üstünlük sağlamaktadır (Şahin 1985; Güven 1998; Aktan vd 1999; Ova 2002). Özellikle sebze ve meyvelerin bol bulundukları mevsimde fermente edilen meyve ve sebzeler turşu yapılarak az veya hiç bulunmadıkları dönemlere kadar muhafaza edilebilmektedir (Özçelik ve Ulu 2002). Böylece ürünlerin, zamana bağlı kalmaksızın tüketimi sağlanabilmektedir (Dursun 2010).

Turşu üretiminde kullanılan sebze ve meyvelerin başında hıyar, lahana, biber, patlıcan, domates ve fasulye gelmektedir (Ova 2002, Aktan vd 1999). Ayrıca, ülkemizde farklı yöre veya bölgelerde değişik meyvelerden yapılmış turşulara rastlamak da mümkün olmaktadır (Şahin 1997). Bu değişiklikte bölgelerimizin sebze üretim miktarları ve yöre

halkının tüketim zevki etken olmaktadır. Bunun yanında tüketici zevki, aynı sebzedden üretilen turşuların bile çok değişik olmasına neden olabilmektedir (Şahin 1985). Ortaya çıkan geleneksel fermente gıdalar, üretim bölgelerindeki doğal floradan kaynaklanan karakteristik özellikler ve bölgelere has üretim yöntemlerindeki farklılıklarla önem kazanmaktadır (Dursun 2010). Örnek olarak taze fasulye, kızılıcık, kavun (kelek), elma (ham yeşil), zeytin (yeşil), erik (ham yeşil), şalgam (ham yeşil), kayısı (ham yeşil), kereviz yaprağı, şeftali (ham yeşil), bamya, badem (ham yeşil), karnabahar, armut (ahlat), brokoli, kızılıcık, üzüm (koruk), kapari (iri boylar), kiraz, vişne verilebilir (Aktan vd 1998).

Tüm bu bilgilerin yanında dünyada ve Türkiye’de turşu üretiminde kullanılan sebzelerin başında hıyar gelmektedir. Son yıllarda özellikle Amerika’dan başlayarak, Japonya’ya, Avrupa’ya ve tüm dünyada yayılan hazır yemek tipi gıdaların tüketim alışkanlıkları hıyar turşusu tüketimini büyük boyutlara getirmiştir. Hıyar üretimini tarihini inceleyecek olursak ilk olarak sofralık hıyar ile başlamış ve 1900 yılından itibaren turşuluk hıyar yetiştiriciliğine geçilmiş ve çok büyük miktarlara ulaşmıştır. Turşu üretiminin endüstriye geçişi de aynı tarihlerde başlamıştır (Aktan vd 1998).

Turşu tüketimi son yıllara kadar ticari boyuttan uzak, evlerde üretilen bir ürün ve küçük çapta bir ekonomik kazanç kaynağı olarak görülmüştür. Ancak artan nüfus, gelişen toplumsal yapı, iç satımın yanında dış pazara yönelik talep ve insanların ilgisiyle birlikte turşuya olan bu bakış açısı değişmiş ve tüketimi artmıştır. Özellikle iç pazardaki tüketicinin bilinçlenmesi ve dışa yönelik talebin artmasıyla birlikte turşunun, gıda sanayisindeki önemi anlaşılmıştır. Ticari anlamdaki yaklaşım da, buna bağlı olarak farklılaşmış ve önem kazanmıştır. ABD’de turşuların artan taleple birlikte, mevcut marketlerdeki piyasa değeri iki milyar doların üzerinde olduğu bildirilmektedir (Breidt *et al.* 2007). Böyle bir ticari öneme sahip turşu üzerinde endüstriyel boyutta bir üretime, standart üretim tekniklerinin oluşturulmasına ve kaliteli ürün elde etmeye yönelik çalışmaların yoğunlaştırılması büyük anlam ve önem taşımaktadır.

Türkiye dünyada önemli bir turşu üreticisi konumundadır. Yukarıda bahsedildiği üzere hammadde bakımından ülkemizin sahip olduğu çeşitlilik turşu endüstrisinin gelişmesi için önemli üstünlük sağlanmıştır. Turşu üretimi 1980’li yıllara kadar küçük yerleşim birimlerinde tamamen, kentlerde ise kısmen evlerde yapılmaktaydı. Büyük yerleşim merkezlerine yakın yörelerde de küçük kapasiteli turşu işletmeleri faaliyet göstermekteydi. Günümüzde turşu hemen hemen her evde yapılan ve zevkle tüketilen bir ürünümüz olması yanında, bazı yörelerimizde aile işletmelerinde ticari olarak yapıldığı gibi, büyük ve modern tesislerde de konserve turşular hem iç piyasa hem de dış piyasada satışa sunulmaktadır. Özellikle kornişon turşusu büyük gıda işletmelerinde üretilmekte ve tamamına yakın kısmı ihraç edilmektedir (Şahin 1985; Aktan vd 1998; Güven 1998; Ulu 2001, Sürücüoğlu ve Özçelik 2003). Günümüzde fermente sebze üreten işletmelerin sayısı oldukça artmıştır. (Aktan vd 1999; Ova 2002). Turşu üretimi Türkiye gıda sektörünün en önemli kollarından biri haline gelmiştir (Aktan vd 1998).

Ülkemizde yılda 28 milyon kavanoz hazır turşu tüketilmekte olup ihracat 160 milyon kavanozu bulmaktadır. Ekonomik büyüklüğü 215 milyon Euro’ya ulaşan sektörde, ihracat 170 milyon Euro’ya ulaşmaktadır. Yedi büyük üreticinin, 100’ün üzerinde de küçük aile işletmesinin faaliyet gösterdiği pazarda, iç tüketimin yarısını açıkta satılan ürünler karşılamaktadır. Sektör gelişimi incelendiğinde kornişon üretiminin hızla arttığı ve ambalajlı ürünlerin piyasa genelinde payını artırdığı gözlenmektedir (Çelebi 2007). Uluslararası ticarette ülkemiz oldukça önemli bir paya sahip olup özellikle Hindistan orta ve uzun dönemde önemli bir rakip olarak dikkat çekmektedir.

Bir başka kaynağa göre; ülkemizde konserve meyve ve sebze kapsamında incelenen grup içinde en önemli ihracat sektörü turşulardır. 2003 yılında konserve meyve ve sebze ihracat miktarı 252.121 ton seviyesine yükselirken değer olarak da 199 milyon dolar seviyesine ulaşmıştır. Bu ihracatın %40’ı turşu ve salamura zeytin ihracatından oluşmaktadır (Yılmaz 2008).

Her ne kadar modern gıda teknolojisi, günümüzün yüksek kalite ve hijyen standartlarını yükseltmiş olsa da bu eski prosesin prensipleri hemen hemen hiç değişmemiştir.

Endüstriyel toplumlarda çeşitli fermente gıdalar çekici aromaları ve besleyici özellikleriyle tüketiciler tarafından her geçen gün artan oranlarda tercih edilmektedir (Nout 2001).Tüm bunlara rağmen özellikle küçük yerleşim birimlerinde yaşayan halkın ihtiyacını kendi üretimleriyle karşılamaları iç pazar koşullarını olumsuz yönde etkilemektedir (Güven 1998).

Fermentasyonun tuzlama ile birlikte biyoteknoloji uygulamaları içerisinde bilinen en eski gıda işleme ve koruma yöntemlerinden biri hatta ilki olduğu belirtilirken (Fleming ve McFeeters 1981; Borgstorm 1986; Nout 2001; Li 2004) fermente gıdaların da insanlar tarafından ilk tüketilen gıdalardan olduğu tahmin edilmektedir (Nout 2001; Ross *et al.* 2002; Li 2004; Hutkins 2006). Fermentasyon, kurutma ve tuzlama ile birlikte gıdaların saklanması en etkili yöntemlerden biridir. Etanol, asetik asit, laktik asit gibi çeşitli fermentasyon uygulamaları 6000-10000 yıldan fazla süredir kullanılan bir yöntemdir (Holzapfel 1997, 2002; Beukes *et al.* 2001; Hutkins 2006). 1970’li yıllardan bu yana, biyoteknolojik uygulamaların gelişmesine bağlı olarak, fermente gıdaların tüketimi oldukça artış göstermiştir (Board *et al.* 1995). Bu artışın nedeni tüketiciler için fermente ürünlerde ilgili mikroorganizmaların var olması ve bu mikroorganizmaların metabolitlerinin ürün güvenliği açısından sorun teşkil etmemesi ve bu tür gıdaların sağlıklı ve doğal olduklarını düşünmeleridir (Mavhungu 2005).

Fermentasyon, gelişmekte olan tropikal bölgelerdeki ülkelerde gıda işlemede en önemli seçenek haline gelmektedir. Evlerde veya soğutma, dondurma ve konserveleme gibi ekonomik bakımdan ve kolay erişilebilirlik gibi imkânların olmadığı durumlarda, gıda muhafazası için uygulanabilirliği pratik, fazla enerji ve işgücü gereksinimi olmayan kullanışlı bir tekniktir. Fermentasyon, ürünlerin organoleptik ve besinsel özelliklerini geliştirebilen, lezzet bakımından farklı tatların oluşmasına imkân sağlayan, insan sağlığına yararlı bileşikler ile faydalı gıdalar sunabilen ve tüketim alanı olarak geniş yelpazeye sahip ürünler ortaya koyabilen bir gıda işleme yöntemi olarak karşımıza çıkmaktadır (Steinkraus 1983; Nout 2001).

Fermantasyon; fruktoz, glukoz ve sakkaroz gibi şekerlerin parçalanmasıyla özellikle laktik asit gibi çeşitli asitlerin oluşması ile gerçekleşir. Başlangıç, birincil fermentasyon, ikincil fermentasyon ve fermentasyon sonrası olmak üzere 4 basamaktan oluşur (Çizelge1.1) (Daeschel *et al.* 1987; Aktan 1998).

Çizelge 1.1. Turşu fermentasyonu aşamaları (Daeschel *et al.* 1987; Aktan 1998)

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

Çizelge1.1’de fermentasyonun başlangıç aşamasında sebzenin kendisinde olan fakültatif veya mutlak anaerobik bakteriler bulunduğu görülmektedir. Bu aşamada ortama hâkim olan laktik asit bakterileri pH’yı düşürerek gram (-) ve sporlu bakterilerin gelişimi engellemektedir (Aktan 1998).

Birincil fermentasyon aşamasında ortamdaki şeker bitene dek veya asit inhibasyonu meydana gelinceye kadar fermentatif laktik asit bakterileri ve mayalar ortama hakim olmaktadır (Aktan 1998).

Gıda fermentasyonunda rol alan LAB’ler; *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella*’dır (Wessels 2004). Farklı filogenetik sınıfa dâhil olmasına rağmen bazı araştırmacılar probiyotik rollerinden dolayı *Bifidobacterium* cinsini de laktik asit bakterilerine dâhil etmektedirler (Temmerman *et al.* 2004; Trias *et al.* 2008). Önemli mayalar ise *Saccharomyces* spp., *Kluyveromyces* spp. gibi fermentatif mayalar ve *Hansenula* spp., *Pichia* spp., *Candida* spp., *Debaryomyces hansenii* gibi oksidatif

mayalardır. Bazı hammaddelerde bunlara ilave olarak, mezofil aerob bakteriler, koliform bakteriler ve farklı mayalar da katkı yapabilir (Harris 1998).

İkinci fermantasyon aşamasında ise laktik asit bakterileri düşen pH'dan dolayı ortamı fermantatif mayalara bırakmaktadırlar. Fermantatif mayalar ise ortamda kalan şekeri ve laktik asidi kullanmaktadır (Aktan 1998).

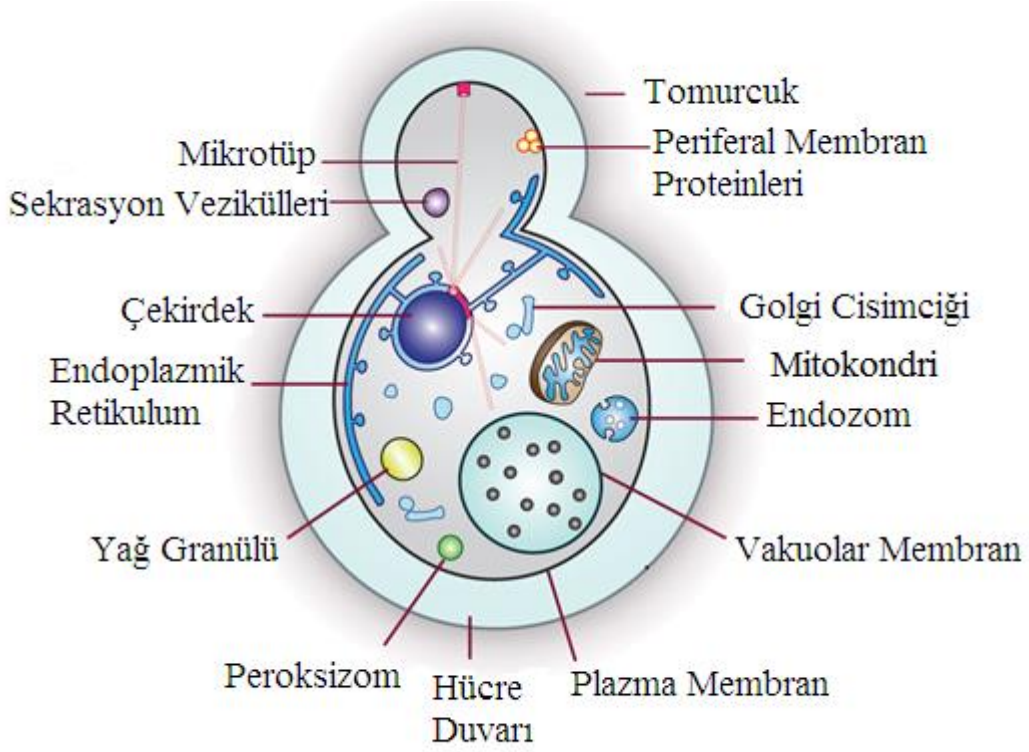
Fermantasyon sonrası aşamasında ise artık ortamda hiçbir karbonhidrat kaynağı kalmadığı için anaerobik şartlarda hiçbir mikroorganizma gelişimi söz konusu değildir. Yüzeyi havayla temas eden tanklarda oksidatif mayalar, küfler ve bozulma yapan bazı bakteri türleri gelişmektedirler (Aktan 1998).

Mayalar çok eski zamanlardan beri gıda endüstrisinin birçok alanında önemli rol almışlardır. Bitki doku yüzeylerinde yaşayan mayalar tek hücreli ökaryotik mikroorganizmalardır. Mayalar 1500'ün üzerinde türü olan fakültatif aneorobik canlılardır. Genellikle şekerce zengin substratlardan izole edilirler. Gıda ve içecek üretiminde büyük öneme sahiptirler. Bazı peynir, ekmek şarap ve sebze fermantasyonlarında starter kültür olarak kullanılabilirler. Bunun yanında bazı gıdaların işleme ve muhafazası sırasında da bozulmalara veya arzu edilmeyen değişimlere neden olabilirler (Arroyo-Lopez *et al.* 2008; Goretti *et al.* 2009; Savard *et al.* 2002).

Mayalar uygun ortamlarda yalancı misel oluştursalar da tek hücreli, büyük (5-8µm çapında), oval, uzun, eliptik veya yuvarlak hücre şekilleri ile ve bölünme esnasında tomurcuk oluşturmaları nedeniyle bakteri ve küflerden ayrılırlar. Eşeyli veya eşeysiz çoğalabilirler. Geniş pH, şeker ve alkol sınırları içerisinde gelişebilirler. Krem renginden pembe kırmızıya kadar değişen renkte pigmentler oluşturabilirler (Ayhan 2000; Sert 2000).

Mayaların, “tomurcuklanma ile çoğalan ve şekeri alkol ve CO₂'e dönüştüren tek hücreli mikroorganizma” klasik tanımı bu mikroorganizmaların incelenmesinde yeterli

olmamıştır. Örneğin spor oluşturan bazı maya türleri *Endomycetaceae* veya *Saccharomycetaceae* familyasına dâhildir (Pamir 1984).



Şekil 1.1. Maya Hücresi (Anonymous 2013)

Turşu yapımında gerçekleşen laktik asit fermantasyonunda aktivite gösteren çeşitli mikroorganizma grupları ürünün kalitesi üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (Özçelik vd 1998). Turşu üretiminde starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri iyi bir fermantasyona yol açarak standart kalitede turşu üretimi sağlar. Bunlar laktik asit ve organik asitlerin üretimi ile çığ materyalde hızlı asit birikimini sağlamaktadırlar. Bunun yanında; aroma maddeleri, bakteriyosin ve ekzopolisakkarit (EPS)'de üretmektedirler. Üretilen bu maddelerle gıdaların raf ömrü, mikrobiyal güvenliği, tekstürü ve albenisi artmaktadır (Çalış vd 1993; Özçelik ve İç 1996; Holzapfel 1997; Leroy and De Vuyst 2004). İyi bir fermantasyonla elde edilen turşular, özellikle kalın bağırsakta olmak üzere insanlarda sağlığı koruyucu etki gösterdiği kabul edilmektedir (Şahin ve Akbaş 2001).

Vitamin, esansiyel aminoasit ve proteinlerin biyosentezini sağlayarak beslenme açısından da önem taşımaktadır (Giraffa 2004).

Maya ve küflerin gıdalarda birçok yararlı yönlerine rağmen özellikle fermentatif gıdalarda istenmeyen şekilde geliştiklerinde üründe yumuşamaya, rengin koyulaşmasına ve istenmeyen tat ve aroma oluşumuna neden olarak raf ömrünü kısaltıp önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadırlar. Ayrıca istenmeyen mikrobiyal bozulmaya yumuşama, çiçeklenme, sünme, şişme ve siyahlaşma neden olabilmektedirler (Aktan 1998; Savard *et al.* 2002; Viljoen 2006).

Özellikle fermente edilebilir şekerler olduğunda alkolik fermantasyon yapan ve istenilen aromatik yan ürünleri oluşturan mayalar ile şekerlerin tükendiğinde bakterilerin ürettiği asitleri oksitleyen ve post fermantasyon sırasında yüzeyde gelişen mayalar olmak üzere iki grup maya fermantasyonda önemli rol oynar. Gıdalardaki maya popülasyonunda ise üretim şekli etkilidir. %15 ve üstü yüksek tuz konsantrasyonundaki turşular ile %5 ve altı tuz konsantrasyonlarındaki diğer sebze salamuralarının maya florası farklılık arz eder (Pederson 1971; Etchells *et al.* 1975; Fleming 1982; Deak and Beuchat 1988).

Gıda maddeleri ve mikroorganizmalar birbirleriyle çok ilişkilidir. Mikroorganizmalar kendi yaşamlarını sürdürecektel şekilde gıda üzerinde bulunurken insan sağlığı açısından bazen olumlu bazen de olumsuz etki gösterebilmeleri, bir gıdayı üretirken hem yapıcı hem de bozucu faktör olmalarıyla insan, gıda ve mikroorganizma üçlüsü arasında önemli ilişki vardır. Bu üçlü arasındaki karşılıklı etkileşimin belirlenmesi gıda mikrobiyolojisi alanında çalışan bilim insanlarına önemli görevler yüklemektedir. Özellikle mikrobiyolojik tanının en doğru şekilde yapılması ise en önemli konuyu teşkil etmektedir (Fırat 2012).

Gıdalarda, genel olarak mikroorganizma tanı yöntemleri klasik ve moleküler olmak üzere ikiye ayrılır. Ancak bir bakteri veya mayanın morfolojik özelliklerinin belirlenmesi moleküler özelliklerinin belirlenmesinde oldukça önemli rol oynar. Bu da metotların birbirleriyle iç içe olduğunu gösterir (Fırat 2012).

Klasik tanı yöntemlerinde tanı fenotip, fizyolojik özellikler, besiyerinde gelişim şekli ve hücre morfolojisi gibi özellikler göz önüne alınarak belirlenmektedir (Gadrini *et al.* 2001; Nunez *et al.* 1996). Suşların izolasyon işlemleri ardından mikroorganizmalar mikroskopta boyanarak ve/veya boyanmadan incelenerek morfolojik özellikleri belirlenir. Belirlenen farklı koloniler saflaştırılır. Saflaştırılan kolonilerin şeker, aminoasit, organik asit kullanımı gibi biyokimyasal özelliklerine bakılarak tür ve suş ayrımı yapılır. Fakat her mikroorganizmanın beslenme şekli aynı değildir. Mesela mayaların beslenme şekilleri değişkendir ve mutasyona da açık özelliklerdir. Bu da genetik mutasyonlarda yanlış sınıflandırma ve tiplendirmeye sebep olabilecek bir veya birçok karakteristik özelliğin diğer mayalarla karışmasına neden olmaktadır. Genomda olan bu değişkenlik de biyokimyasal ve geleneksel tanı metotlarını yetersiz kılmaktadır (Boekhout *et al.* 2003; Fernandez- Espinar *et al.* 2006).

Buradan da anlaşılabileceği gibi klasik metotlarla istenilen doğrulukta bir sonuca ulaşılamamaktadır. 1985 yılında Poymerase Chain Reaction'ın (Polimeraz Zincir Reaksiyonu, PCR) keşfedilmesi ile DNA'nın hücre dışında çoğaltılabileceği anlaşılmıştır. Bu durum genetik için çok önemli bir adım olmuştur. Bu önemli adımdan yola çıkılarak mikroorganizmaların tanısı da sağlıklı bir şekilde yapılabilmektedir. Bunun nedeni ise artık saf kültürden doğrudan DNA izole edildikten sonra PCR ile DNA'nın istenilen farklı bölgelerinin çoğaltılabilesidir. Bu da tür hatta suş bazında kesin bir ayrımın yapılmasına olanak sağlayabilmektedir (Çetin 2012).

Gıdalardaki mikroorganizmaların tanımlanmaları için son yıllarda birçok yöntem kullanılmaktadır. Mayalarda da RFLP (restriction fragment length polymorphism), PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) sıkça kullanılan yöntemler arasındadır (Karasu vd 2010).

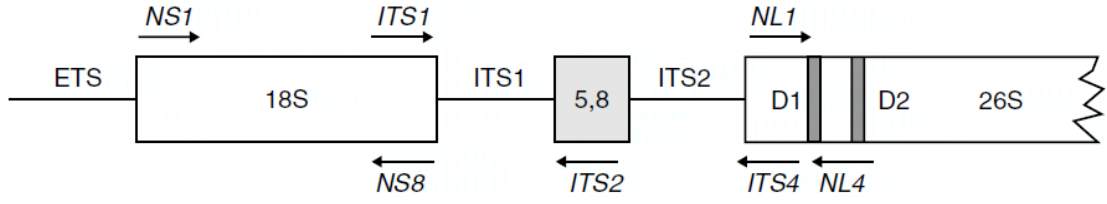
RAPD metodunda, özgün mikrosatelit primerlerinin kullanımı karışık ve çok fazla numunenin olduğu çalışmalarda tanıda oldukça faydalı olmaktadır. Mikrosatelitler, basit dizi tekrarları olarak, hem ökaryotik hem de prokaryotik hücrelerde bulunan, (AT)_n, (GT)_n, (ATT)_n veya (GACA)_n şeklindeki arka arkaya tekrar eden kısa DNA parçalarıdır

(Tautz *et al.* 1986; Litt and Luty 1989; Chen *et al.* 2011). Mikrosatelitler genom içerisinde rastgele dağılmışlardır (Ün vd 2000). Bu yapıların proteinlerin sentezinde rol almadığı, ancak hücrede gen regülasyonunda, transkripsiyon ve protein mekanizmasında yer aldığı düşünülmektedir (Chen *et al.* 2011).

Mikrosatelitler genomda bol sayıda bulunmakta olup rastgele dağılmış olmaları, laboratuvarlar arasında paylaşımının kolay olması, yüksek oranda polimorfik olması, diğer fingerprinting metotlarına göre daha kolay uygulanabilirliği tekniğin avantajlarından (Klug *et al.* 2009). Bunun yanında ilk marker geliştirme işleminin pahalı ve zaman alıcı olması ve bu markerlerin türe spesifik olması dezavantajlarından (Sezer 2008).

Organizmaya özgü mikrosatelitlerin araştırılması özellikle genetik olarak yakın canlı gruplarının birbirlerinden ayırt edilmesinde veya popülasyonlarda yakın zamanda oluşmuş olan bir olayın izlerinin aranacağı bir durumda kullanılan önemli bir genetik metottur (Togan *et al.* 2003).

Farklı tür ve suşların belirlenmesinde sadece fingerprintlerin belirlenmesi yeterli olmamaktadır. Bu amaçla standart organizmalar da eş zamanlı olarak benzer işlemlere tabi tutularak elde edilen fingerprintler beraber yorumlanmaktadır. Fakat bu durum farklı mikroorganizmalarla karşılaşılabileceği, özellikle gıda mikroflorasının belirlenmesi gibi çalışmalarda daha objektif, ilave bir metod da gerektirmektedir. Tanıda güvenliğin artırılması amacı ile en çok kullanılan metod ise tanıya yönelik genetik bölgelerin sekans işlemlerinin gerçekleştirilmesidir. Bu amaçla bakterilerde genellikle 16S rDNA, maya ve küflerde ise ITS (internal transcribed spacer) ve 26S rRNA D1/D2 bölgeleri kullanılmaktadır. Aşağıda mayalarda kullanılan ITS ve 26S rRNA D1/D2 bölgeleri şematik olarak gösterilmiştir (Deak 2008).



Şekil 1.2. Maya tanısında kullanılan ITS ve 26S rRNA D1/D2 bölgeleri ve üniversal primerleri (Deak 2008)

Turşu yapımı insanların gıda maddelerini uzun süre saklayabilmek ve az ya da hiç bulunmadıkları yer ve dönemlerde, bu ürünlerden yararlanabilmek için geliştirdikleri muhafaza yöntemleri arasında en eski olanlarından birisidir. Geleneksel bir ürünümüz olan turşudaki bozucu mayalarla ilgili araştırma sayısı ise oldukça azdır (Yıldız 2011).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Turşu fermentasyonunda mikroflora, bakteriler ve mayalardan oluşmaktadır. Turşu fermentasyonunda rol alan bakterilerle ilgili çalışmalar az da olsa bulunabilse de mayalar ile ilgili yapılan araştırmalar oldukça azdır.

Salamura hıyarların laktik asit fermentasyonunu *Pediococcus cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* olmak üzere üç çeşit laktik asit bakterisi gerçekleştirmektedir. Yapılan bir çalışmada (Etchells *et al.* 1964) salamura hıyarlarda gelişen ve asit oluşturan *Pediococcus cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* türleri saf kültür fermentasyonlarında değerlendirilmiştir. Sonuçta maya gelişiminin fermentasyonda rol alan laktik asit bakterilerinin gelişimini kısıtladığı gözlenmiştir.

Turşuda özellikle ortamda fermente edilebilir şekerler olduğunda alkolik fermentasyon yapan ve istenilen aromatik yan ürünleri oluşturan mayalar ile şekerler tükendiğinde bakterilerin ürettiği asitleri oksitleyen ve post fermentasyon sırasında yüzeyde gelişen mayalar olmak üzere iki grup maya fermentasyonda önemli rol oynar. Gıdalardaki maya popülasyonunda üretim şekli etkilidir. %15 ve üstü yüksek tuz konsantrasyonundaki turşular ile %5 ve altı tuz konsantrasyonlarındaki diğer sebze salamuralarının maya florası farklılık arz eder. İlk olarak 1950’li yıllarda yapılan çalışmalarla fermentasyonlardaki flora kompozisyonu tanımlanmaya başlanmıştır. Yüksek tuzlu hıyar salamurasında gelişim gösteren başlıca maya türleri *Candida versatilis*, *Candida lactis condensii*, *Pichia subpelliculosa*, *Saccharomyces exiguus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Candida etchellsii* ve *Pichia anomala*’dır. Salamura yüzeyindeki zarlardan ana oksidatif mayalar *Debaryomyces hansenii*, *Pichia ohmeri*, *Zygosaccharomyces rouxii* ve *Issatchenkia orientalis*’dir (Pederson 1971; Etchells *et al.* 1975; Fleming 1982; Deak and Beuchat 1988).

Mayaların sebep olduğu bozulma özellikle pektinlerin enzimatik yıkımı veya gaz fermantasyonu sonrası kabarma oluşması ile yapıda yumuşama şeklinde meydana gelir. Çoğu maya pektolitik enzimlere sahip olmamasına rağmen oksidatif mayalar yüzeyde gelişerek laktik asidi parçalar ve diğer mikroorganizmalar tarafından yapılan bozulmayı kolaylaştırıcı etkide bulunur (Etchells *et al.* 1975).

Hava, mayaların istenmeyen gelişimi yönünde etki etmektedir (Aktan 1998). Fermantasyon sırasında ve sonrasında salamuranın yüzeyinde zar oluşumuna imkân verilmemeli, bu amaçla salamuranın hava ile temasını en az düzeyde tutan kaplar kullanılmalıdır. Yüzeyde oluşan zarda bulunan maya ve küfler laktik asidi parçaladığından sık sık temizlenmelidir (Anonim 2007).

Turşu fermentasyonunun sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi için, yüzeyde zar yapan ve ürüne zarar veren *Hansenula*, *Torulaspora*, *Torulopsis*, *Kloeckera* ve *Candida* cinsi mayaların, ayrıca küflerin ve diğer bakterilerin gelişimi önlenmelidir (Uylaşer vd 2004).

Turşulardaki hıyarların yumuşamasının nedeninin belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada etmenin salamura hıyarların içinde gelişen mayalar olduğu tespit edilmiştir (Costilow *et al.* 1980).

Konserve tipi tursu yöntemi son yıllarda hıyar turşusu üretiminde en çok uygulanan yöntemdir. İşlem taze hıyarların fermantasyona uğratılmadan doğrudan kavanoz veya teneke kutulara alınıp asit ve tuzdan oluşan salamuraları konarak pastörize edilmesi esasına dayanır. Ayrıca bazı hallerde içlerine şeker katıldığı da görülür. Ancak tatlı turşu olarak adlandırılan bu şekerli ve yapay tatlandırıcılı turşu üretimi çok azdır. Her geçen gün daha da azalmaktadır. (Aktan vd 1998).

Çetin (2011) turşuda aroma gelişimi sağlamak ve probiyotik özellik kazandırmak amacı ile ürüne *Lactobacillus plantarum* suşunu ilave etmiştir. Denemede ilk başlarda sirke ilavesiyle de düşük bir pH sağlanarak rekabetçi mikrofloranın gelişiminin kısıtlandığı

görülmüştür. Depolamanın 60. gününe kadar ürün probiyotik özelliğini korurken maya gelişimi nedeni ile tüketilebilirliğini kaybettiğini rapor etmiştir.

Bir diğer çalışmada hıyar turşusunda karışık kültür fermantasyonunda *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces rosei*'yi *Lactobacillus plantarum* ile birlikte kullanılabilirliği değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede şeker kullanımı ve her bir mikroorganizmanın hücre sayısı ve inokülasyon zamanından etkilenildiği görülmüştür. Eş zamanlarda aynı miktarlarda maya ve bakteri veya bakterilerden önce mayalar eklendiği zaman şeker fermantasyonunun 28°C'de 6 günde tamamlandığı görülmüştür. Sadece *L.plantarum* eklendiğinde veya düşük sayıda maya eklendiğinde ise şeker fermantasyonu durmuştur. Mayalar ortamdayken NaCl konsantrasyonuna direkt bağlı olarak gliserol üretildiği görülmüştür. Bu nedenle de asitliğin kontrol edilmesi gerektiği ve fermantasyonda mayaların kullanılabilirliğinin avantajları belirtilmiştir (Daeschel *et al.* 1988).

Samsun piyasasında satışı sunulan 9 teneke ambalaj materyali ile açık olarak satılan, 8 poşet ambalaj materyali içinde ve 14 cam kavanoz ambalaj materyali içinde ve ev ölçeğinde üretilen hıyar turşularının bileşimi saptanmak istenmiştir. Bu bileşimin TS 11112 standardına uygun olup olmadığı tespiti için kavanoz ambalaj materyali içinde bulunan hıyar turşularında brüt ağırlık, net ağırlık, tepe boşluğu, doldurma oranı, süzme ağırlığı ve net ağırlıkta süzme ağırlığı analizleri, piyasadan satın alınan teneke turşu, poşet turşu, kavanoz turşu ve evlerden toplanan hıyar turşularının tümünde fiziksel olarak en-boy ölçümü, renk analizi ve havaya duyarlılık analizleri; turşuların salamuraalarında asitlik, pH, uçucu asit, uçmayan asit, tuz ve şeker, kuru madde ve C vitamini analizleri; katı kısımlarında ise asitlik, pH, tuz, kuru madde ve şeker analizleri yapılmıştır. Kavanoz turşuların net ağırlıkta süzme ağırlığı oranları TS 11112 standardına uygun olmadığı bulunmuştur. Ayrıca ev turşularının uçucu asit miktarı diğer turşu gruplarına göre daha düşük ($p<0.01$), uçmayan asit miktarı ise daha yüksek ($p<0.01$) bulunmuştur. Sonuçlar dikkate alındığında ev turşularının doğal fermantasyonla yapıldığı kanaatine varıldığı bildirilmiştir (Cingöz 2005).

Bir diğ er çalışmada %3, %4 NaCl ve 0,025, 0,05 M Ca-asetat içeren salamuralarda fermente edilen hıyar turşuları, farklı depolama sıcaklıklarında (4, 20 C) ve değışik s relerde (3, 6 ay), pastörize edilerek (70  C, 15 dakika) ve edilmeden depolanmıştır. 3 ve 6 ay depolama sonunda, salamuradaki kimyasal ve mikrobiyolojik değışmeler ve hıyar turşusunun doku sertliğı belirlenmiştir. Salamuraya ilave edilen Ca-asetat hıyar dokusu sertliğini %26,91 düzeyine kadar artırırken, Ca-asetat içermeyen salamura içerisinde depolanan hıyar turşularında %37,93 düzeyine kadar ulaşan yumuşama gözlenmiştir. Pastörizasyon işlemi (70 C, 15 dakika) laktik asit bakterisi ve maya gelişmesini engellemiş, aynı zamanda, hıyar dokusu sertliğinin korunmasına yardımcı olmuştur ( z elik vd 2000).

Kazancı'nın (2008) yaptığı bir diğ er çalışmada %8 tuz, %0.4 CaCl₂ içeren stok salamuraya asit düzenleyici olarak asetik, sitrik ve laktik asitler %0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1,0 oranlarında ilave edilerek hazırlanan salamuralar hıyar turşusu denemesi amacı ile 120 L'lik bidonlarda fermentasyona uğratılmıştır. Depolama periyodu boyunca titre edilebilir asitlik, tuz, indirgen şeker, renk stabilitesi (Hunter Lab kolorimetresi ile) ve sertlik analizleri gerçekleştirilmiştir. Fermentasyon sonunda örneklerden 11 paralel olacak şekilde son üründe %3,5 tuz ve %0.8 asit oluşturacak ve başlangıçtaki asit çeşidiyle uyumlu olacak şekilde aroma katkılı yeni bir salamura hazırlanarak 720 mL kavanozlara doldurulup 88 3 C'de 20 dk pastörize edilmiştir. 9 aylık depolama periyodu süresince kavanozlarda titre edilebilir asit, tuz, sertlik ve renk analizleri aylık olarak yapılmıştır. Denem sonucunda farklı konsantrasyonlarda farklı asitlerin turşu sertliğı üzerinde ayırt edici etkisinin olmadığı ve %1 konsantrasyondaki asetik asidin turşuların renginin muhafazası ve parlaklığı bakımından en olumlu asit düzenleyici olduğı belirtilmiştir.

Bir diğ er çalışmada doğıal fermentasyon ve 11B starter kültürü kullanılarak yapılan hıyar turşusu  retiminde Yüksek Performanslı Sıvı kromatografi (HPLC) yöntemi kullanılarak biyojen amin tespiti yapılmıştır. Denemede kullanılan *Lactobacillus plantarum* 11B MRS sıvı besiyesinde 0,413  g/ml biyojen amin tespit edilmiştir. Fermentasyon bitişindeyse starter katılan örneklerde putresin (11,863  g /ml- salamura),

feniletilamin (4,633 µg/ml salamura), triptamin (1,936 µg/ml salamura) kontrol örneklerinde ise putresin (20,492 µg/ml salamura), feniletilamin (29,817 µg/ml salamura), triptamin (9,246 µg/ml salamura) en yüksek konsantrasyondaki biyojen aminler olarak yer almışlardır. Doğal fermentasyonda ise spermin ve histamin düzeylerinin starter katılmış hıyar turşularına oranla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kontrol örneklerindeki feniletilamin miktarları hariç putresin, histamin, tiramin ve toplam biyojen amin miktarlarının toksik limitlerin altında olduğu bulunmuştur (Turgut 2006).

Akbaş (2006)'ın yaptığı çalışmada, cam kavanozlarda satışa sunulan 10 çeşit pastörize ve 10 çeşit pastörize edilmemiş 20 turşu ile 20 adet ev yapımı turşu örneğini içeren toplam 40 adet turşu örneğinde mikrobiyolojik, kimyasal analizler ve biyojen amin miktarları belirlenmiştir. Bu turşuların raf ömrü süresince 4°C ve 20°C'de depolanmasında kimyasal değerlerinde önemli değişiklik olmamıştır. Mikrobiyolojik olaraksa depolama sonrasında pastörize örneklerde TMAB, LAB, maya-küf, koliform ve enterobakteri sayım sonuçları <1 log kob/mL olarak bulunmuştur. Ev yapımı pastörize olmayan örneklerde ise TMAB, LAB, maya-küf sayım sonuçları ve kimyasal analiz sonuçları her bir örnek için farklı miktarlarda bulunmuştur. Biyojen amin miktarında ise depolama süresince önemli bir artış ve azalış olmadığı saptanmıştır. Genellikle biyojen amin içerikleri salamuradaki hallerinde meyvelerinin biyojen amin miktarına kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Turşularda en yüksek konsantrasyona sahip olan biyojen aminler sırasıyla putresin (PUT), kadaverin (KAD) ve triptamin (TRP), en düşük konsantrasyona sahip biyojen amin ise spermin (SPM) olarak belirlenmiştir.

Ülkemizde yapılan maya tanısına yönelik bir çalışmada Samsun ilindeki farklı marketlerde satışa sunulan farklı marka ve ambalajlardaki peynirlerden 28 adet, evlerden sağlanan 12 adet olmak üzere toplam 40 adet beyaz peynir örneği alınmıştır. Glikoz Pepton Yeast Extract Broth besiyerinde zenginleştirme yapılarak Glikoz Pepton Yeast Extract Agar besiyeri kullanılarak gelişen kolonilerden rengi, şekli, büyüklüğü ve mikroskoptaki görünüşlerinin incelenmesi sonucunda 100 adet maya izole edilmiştir.

İzole edilen suşlara tanı amacı ile morfolojik ve biyokimyasal testler uygulandıktan sonra izolatların *Candida spp.*, *Pichia spp.*, *Rhodotrula spp.*, *Kluyveromyces spp.* ve *Cryptococcus spp.* cinslerinin beyaz peynir yüzeyinden izole edilen dominant maya cinsleri olduğu bildirilmiştir (Apan 2007).

Fırat (2012)'ın yaptığı çalışmada Tokat, Manisa ve Erzincan yörelerinden seçilen geleneksel ev tipi ve endüstriyel salamura asma yapraklarının gıda güvenliği ve fermantasyonda rol alabilecek muhtemel floranın belirlenmesi amacıyla Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB), Psikrotrofilik, *Pseudomonas*, Maya ve Küf (PDA ve YGC'de gelişen), Laktik Asit Bakterileri (Laktokoklar ve Laktobasiller), Enterobacteriaceae, Enterekoklar, *Staphylococcus aureus* sayımı gerçekleştirilmiş ve sonuç olarak ortalama sayılar sırası ile; 0.88, <2, <2, 3.92, 4.01, <2, <2, 0.09, 0.04, <2 olarak tespit edilmiştir. Genel olarak salamura asma yapraklarının mikroflorasını mayaların oluşturduğu belirtilmiş olup üründen 12 farklı maya suşu izole edilmiş ve bu mayalar tür bazında *Pichia subpelliculosa*, *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces bisporus*, *Pichia membranifaciens*, *Hanseniaspora uvarum* olarak tanımlanmıştır. Bunun yanı sıra kimyasal olarak da pH, asitlik ve tuz tayini yapılmış ve bu analizler sonucunda ortalamalar sırası ile; 3.37, %1.32, %12.62 olarak bildirilmiştir.

Kimchi Kore de üretilen turşu benzeri geleneksel bir fermente üründür. Park *et al.* (2009) yaptıkları çalışmada kimchi'nin maya ve bakteri florası belirlenmek istenmiştir. 16S ve 26S rRNA genleri hedefleyerek mikrobiyal çeşitliliğin takibi amacı ile real time PCR işlemi uygulanmışlardır. Toplam bakteri sayısı fermantasyon aşamasında artmasına rağmen, maya sayısında önemli ölçüde bir değişiklik meydana gelmediği bildirilmiş olup, turşuda olduğu gibi Kimchi fermantasyonunda bakterilerin önemli rol aldığı belirtilmiştir.

Fermente hıyar turşularında mikrobiyal kinetik ve bozulmanın incelendiği bir çalışmada depolama periyodunca tespit edilen 6 maya ve bakteri türü fermantasyona katkıları açısından değerlendirilmiştir. Fermantasyonda başlangıçta *Lactobacillus buchneri* ve *Pediococcus ethanolidurans* gelişimi ile laktik asit ve aseik asit oluşturarak ürün

pH'sını 3.5 e kadar düşürdüğü, ardından *Clostridium bifermentans* ve *Enterobacter cloacae*'nın pH'yı 4.5 e kadar çıkardığı belirlenmiştir. Son olarak ise *Issatchenkia occidentalis* ve *Pichia manshurica* türlerinin aerobik metabolizma sonucunda laktik ve asetik asidi parçaladığı, artan pH seviyesinin ise ürün bozulmasına neden olduğu tespit edilmiştir (Franco *et al.* 2012).

Meyve sebze fermentasyonu turşu üretiminden farklı olarak mikrobiyal biyokitle üretimi amacı ile de kullanılmaktadır. Bu amaç için dört farklı (*Candida utilis*, *Pichia stipitis*, *Kluyveromyces marxianus* ve *Saccharomyces cerevisiae*) mayanın kullanıldığı ve çin lahanasının substrat olarak kullanıldığı bir çalışmada *C. Utilis* protein muhtevası açısından en başarılı tür olarak tespit edilmiştir (Choi *et al.* 2003).

Ankara ili Çubuk ilçesine ait 15 adet farklı ev ve endüstriyel olarak doğal yöntemlerle üretilen turşu örneğinden 174 adet laktik asit bakterisi izole edilmiş ve bu izolatlar morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testler yapılmıştır. Bu izolatlar yapılan fenotipik testler sonucu laktik asit bakterisi olma özelliği gösteren 51 adet izolattan 45 tanesinin API 50 CHL kiti ile karbonhidrat fermentasyon profilleri belirlenmiştir. 51 izolatin 38'inin *Lactobacillus* cinsi olduğu ve bunlar arasında *L. brevis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*'un baskın türler olduğu belirlenmiştir. Bu sonucu doğrulamak için de izolatların SDS-PAGE yöntemi ile toplam hücre protein profilleri incelenerek standart marker proteinler yardımıyla protein fingerprintleri belirlenmiştir (Dursun 2006).

Ülkemizdeki turşularda yapılan bir diğer araştırmada 71 turşu örneğinin mikrobiyasındaki mayalar incelenmiş ve cins bazında yapılan cins seviyesindeki tanımlamada 2 adet *Candida*, 11 adet *Pichia*, 8 adet *Saccharomyces*, 3 adet *Torulopsis* ve 49 adet de *Trichosporon* izole edilmiştir (Şahin 1978).

Günümüzde mayaların sadece gıdaların bozulmasında ve ekmek, bira, şarap gibi üretimlerinde rol alanları dikkat çekmemektedir. Moleküler metodların gelişmesi, farklı özelliklere sahip yeni suşların izolasyonu ile koruyucu ve probiyotik kültür olarak kullanımları da gündemdedir (Fleet 2007).

Ülkemizde maya izolasyon ve tanısına yönelik çalışmalar oldukça azdır. Bunda gıdalarda küfler ve bakteriler kadar etkin olamamalarının yanı sıra özellikle izolasyon ve tanı metotlarının zor oluşu da etkili görülmektedir. Dolayısı ile ülkemiz turşularında maya florasını belirlemeye yönelik miktar ve kalitede çalışma da oldukça azdır.

Samsun piyasasında satılmakta olan 5 değişik tip 11 adet tursu örneği ve evlerde üretilen 6 değişik tip 10 adet tursu örneği ve Mersin ilinde evlerde üretilen 12 değişik tip 38 adet tursu örneği olmak üzere toplam 59 adet turşu örneği toplanmıştır. Glikoz Pepton Yeast Extract Broth besiyerinde zenginleştirme yapılarak Glikoz Pepton Yeast Extract Agar besiyeri kullanılarak gelişen kolonilerin rengi, şekli, büyüklüğü ve mikroskopik görünüşlerinin incelenmesi sonucunda 99 adet maya izole edilmiştir. İzole edilen suşlara biyokimyasal ve morfolojik testler uygulandıktan sonra turşudaki mayaların *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Pichia* ve *Torulospira* cinslerine ait oldukları tespit edilmiştir. *Candida* spp., *Debaryomyces* spp., *Pichia* spp., *Cryptococcus* spp., ve *Torulospira* spp. cinslerinin turşu ve zeytin yüzeyinden izole edilen dominant maya cinsleri olduğunu göstermiştir (Albayram 2007).

Turşuda laktik asit bakterileri ile mayaların izolasyonunu ve identifikasyonunu amaçlayan bir diğer çalışmada spesifik bazı biyokimyasal yardımcı testler ve API 20 C AUX kullanılarak mayaları tür bazında tanımlanmıştır. Bunun için 12 adet ev yapımı turşu örneğinden salamura kısmından 14, meyve kısmından 14 olmak üzere toplam 28 adet maya izolasyonu ve identifikasyonu yapılmıştır. Turşu örneklerindeki mayalar *Candida*, *Geotrichum*, *Saccharomyces* ve *Sporobolomyces* olarak tanımlanmış ve dominant türün *C. boidinii* (10 izolat) olduğu belirlenmiştir (Yıldız 2011).

Gönlüm (1994), maya ve maya benzeri fungusların klasik yöntemler ve hazır kit sistemleri ile karşılaştırmalı identifikasyonunu amaçlayarak yaptıkları çalışmada, 100 adet maya suşunu klasik yöntemlerle identifiye etmişlerdir. Ardından üç ticari kitle (API 20 C, API 20 C AUX ve API ID 32 C) yapılan tanımlamada 57 *Candida albicans*, 9 *C. keyfr*, 6 *C. parapsilosis*, 5 *C. tropicalis*, 3 *C. krusei*, 2 *C. guilliermondii*, 13 *Torulopsis glabrata*, 3 *Saccharomyces cerevisiae* ve 2 *Rhodotorula rubra* tespit

edilmiştir. Bu tespitteki doğruluk oranları %91-98 arasında hesaplanarak API 20 C ve API 20 C AUX'un doğruluk ve uyum oranları bakımından maya ve benzeri izolatlarda en iyi ticari kit olduğu vurgulanmıştır. Ancak bu sonuç tartışılırken denemede kullanılan suşların büyük çoğunluğunun *Candida* spp. olduğu göz ardı edilmemelidir.

Bilim insanları son araştırmalarla besinlerdeki pek çok kimyasal maddenin, vitamin ve mineraller kadar hastalıklarla savaşta önemli olduğunu göstermiştir. Fitokimyasallar denilen bu koruyucu maddeler yeri geldiğinde ilaçlardan daha etkin olabilmektedir. Artık beslenmenin basit değil karmaşık bir olay olduğu kabul edilmektedir. Bilinçli bir şekilde dengelenmiş antioksidanlar, fitokimyasallar ve lifler sağlıklı bir vücut oluşumuna katkıda bulunur (Block *et al.* 1992). Son zamanlardaki buluşlar şunu gösteriyor ki, gıdalardaki birçok bio-aktif bileşenler antioksidan etkisiyle antioksidanlar ve hastalıklar arasındaki ilişkinin önemini oldukça arttırmıştır (Nilsson *et al.* 2004). Yaşla ilgili kanser, kardiovasküler hastalıklar, katarak ve kas dejenerasyonu gibi bazı hastalık risklerine karşı sebze tüketiminin çok güçlü ve koruyucu bir etkisi olduğu epidemiyolojik çalışmalar sonucu saptanmıştır (Graham *et al.* 1978). Turşu ise meyve, sebze ve mikroorganizmaların bileşiminden oluşan, belirtilen faydaları sağlayabilecek geleneksel bir ürünümüzdür.

Bu çalışma ile turşuda bulunan muhtemel bozucu maya florasının tespitinin moleküler metodlar kullanılarak en doğru şekilde yapılması amaçlanmıştır. Böylece ürün geliştirmede veya muhafazası amacı ile ilgili maya suşlarını içeren bir kültür koleksiyonu oluşturulacaktır. Ayrıca ürünün genel mikrobiyolojik özellikleri belirlenerek mikroflorası ve güvenliği konusunda fikir edinilmeye çalışılacaktır. Yapılan kimyasal analizlerle ürünün mikrobiyal gelişimi etkileyen özellikleri belirlenecektir.

3. METARYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak; 31 adet farklı şehirden ev tipi turşu ile 12 ticari turşu olmak üzere toplam 43 turşu örneği üzerinde çalışılmıştır. Turşu örnekleri ticari ve ev tipi olarak ikiye ayrılmıştır. Bu 43 farklı örnekten 31 ev tipi örnek 500 ml’lik 121°C’de 15 dak steril edilmiş kavanozlara konularak, ticari olan turşular ise kendi ambalajları ile hızlıca laboratuvara getirilmiş ve analiz edilinceye kadar buzdolabında +4°C’de muhafaza edilmiştir. Numuneler en kısa sürede mikrobiyolojik ve kimyasal analizlere tabi tutulmuştur. Örneklerin üretim bölgesi ve şekline ait bilgiler çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan turşu örneklerinin yöreleri ve özellikleri

Örnek No	Yöresi	Ev tipi / Endüstriyel
1	Merkez \ Erzurum	Ev
2	Merkez \ Erzurum	Ev
3	Merkez \ Erzurum	Ev
4	Oltu / Erzurum	Ev
5	Oltu / Erzurum	Ev
6	Oltu / Erzurum	Ev
7	Oltu / Erzurum	Ev
8	Oltu / Erzurum	Ev
9	Kemah / Erzincan	Ev
10	Merkez / Erzurum	Ev
11	İskenderun / Hatay	Ev
12	Merkez / Denizli	Ev
13	İskenderun / Hatay	Ev
14	Merkez / Erzurum	Ev
15	Tercan / Erzincan	Ev
16	Ardeşen / Rize	Ev
17	Tarsus / Mersin	Ev
18	Tortum / Erzurum	Ev
19	Tortum / Erzurum	Ev

Çizelge 3.1. (devam)

Örnek No	Yöresi	Ev tipi / Endüstriyel
20	Merkez / Erzurum	Ev
21	Merkez / Erzurum	Ev
22	Merkez / Erzurum	Ev
23	Merkez / Erzurum	Ev
24	Ticari	Endüstriyel
25	Ticari	Endüstriyel
26	Ticari	Endüstriyel
27	Ticari	Endüstriyel
28	Ticari	Endüstriyel
29	Ticari	Endüstriyel
30	Ticari	Endüstriyel
31	Ticari	Endüstriyel
32	Ticari	Endüstriyel
33	Ticari	Endüstriyel
34	İskenderun / Hatay	Ev
35	Merkez / Kars	Ev
36	Merkez / Bayburt	Ev
37	Merkez / Malatya	Ev
38	Merkez / Bayburt	Ev
39	Pazar / Kars	Ev
40	Merkez / Bayburt	Ev
41	Merkez / Denizli	Ev
42	Çubuk / Ankara	Endüstriyel
43	Çubuk / Ankara	Endüstriyel

3.2. Yöntem

Bu araştırma da elde edilen 43 farklı turşu örneğinden mikrobiyolojik floranın ve özellikle turşu bozulmalarına neden olan mayaların tanımlanmaları hedeflenmiştir. Bu amaçla Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB), Psikrotrofilik bakteri, *Pseudomonas*, Maya ve Küf, Enterekoklar, Laktik Asit Bakterileri (Laktokoklar ve Laktobasiller), *Staphylococcus aureus* ve Enterobacteriaceae sayımı gibi mikrobiyolojik ve tuz, asitlik, pH gibi kimyasal analizlerin yapılması amaçlanmıştır. Ardından

mayalarının izole edilmesi ve elde edilen izolatların tanımlanması ve bir kültür koleksiyonu oluşturulması amaçlanmıştır.

3.2.1. Dilüsyonların hazırlanması

Seyreltme sıvısı olarak %0,85 NaCl ve %0,1 pepton içeren steril fizyolojik çözelti kullanılmıştır. Dilüsyonların hazırlanması amacı ile örneklerin salamura kısımlarından 1ml alınarak her bir örnek için desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır (Harrigan 1998).

3.3. Mikrobiyolojik Analizler

Araştırmada, ürünün gıda güvenliği, raf ömrü ve fermentasyonda rol alabilecek muhtemel floranın belirlenmesi amaçlanmış, bu nedenle Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB), Psikrotrofilik bakteri, *Pseudomonas*, Maya ve Küf, Enterekoklar, Laktik Asit Bakterileri (Laktokoklar ve Laktobasiller), *Staphylococcus aureus* ve Enterobacteriaceae sayımı gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Toplam mezofilik aerobik bakterinin sayımı

Bu amaçla Plate Count Agar (PCA) (Oxoid) besiyeri kullanılmıştır. Yayma kültür yöntemi uygulanmış, uygun dilüsyonlardan 0,1'er ml petri plağına ilave edilmiş ve steril drigalski spatülü ile yayılmıştır. Plaklar 30-32°C 'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılmıştır. Elde edilen sayı dilüsyon faktörü ile çarpılarak numunenin 1 ml'deki miktarı bulunmuştur. Sonuçlar kob (koloni oluşturan birim)/ ml cinsinden verilmiştir (Maturin *et al.* 1998; Harrigan 1998).

3.3.2. Maya ve küf sayımı

Maya ve küf sayımı için Potato Deksrose Agar (PDA) (Merck) sterilize edildikten sonra %10'luk steril laktik asit çözeltisi kullanılarak asitlendirilmiş (pH 3.5) ve petri

plaklarına dökülmüştür. Petriler katılaştıktan sonra uygun dilisyonlardan ekim yapılmış ve oda sıcaklığında (25°C) 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon boyunca üç petriden fazla istifleme yapılmamıştır. İnkübasyon sonunda gözlenebilen koloniler mikroskopik muayene eşliğinde sayılmıştır (Speck 1984; Tournas *et al.* 1998). Turşu örneklerinde bulunabilecek mayaların izolasyonu amacı ile ayrıca Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar (YGC, Merck) kullanılmıştır. Ekimi yapılan petrilere 25°C’de 5 günün ardından gözlenen koloniler mikroskopik muayenenin ardından farklılıklarına göre depolanmışlardır. İzolatlar -80°C’de LB Broth’da (Merck) %80 Gliserol (Merck) eşliğinde depolanmıştır.

3.3.3. Enterekokların sayısı

Kanamycin Aesculin Azide Agar (KAA) (Merck)’a ekimin ardından petri kutuları 35-37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gözlenen siyah ve haleli koloniler sayılmış ve sonuçlar kob (koloni oluşturan birim)/ ml olarak verilmiştir (Harrigan 1998).

3.3.4. Muhtemel laktik asit bakterilerinin sayısı

3.3.4.a. Laktik basillerin sayısı

MRS (de Man, Rogosa, Sharpe) agara yapılan petriler anaerobik şartlarda 2-3 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından mikroskopik muayene ve katalaz testi eşliğinde laktobasiller sayılmıştır (Speck 1984; Pichhardt 2004).

3.3.4.b. Laktik kokların sayısı

M17 agar (Merck)’e yapılan ekimler aerobik şartlarda 30-32°C’de 1 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından mikroskopik muayene eşliğinde laktokoklar

sayılmıştır ve sonuçlar kob (koloni oluşturan birim)/ml cinsinden verilmiştir (Pichhardt 2004).

3.3.5. *Staphylococcus aureus* sayımı

Uygun dilüsyonlardan 0,1 ml önceden hazırlanmış Baird-Parker Agar'a (Merck) ilave edilerek steril drigalski spatülü yardımı ile petri yüzeyine yayılmıştır. Ekimi tamamlanan petriler 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda koloni gelişimi gözlenmeyen durumlarda inkübasyona 24 saat daha devam edilmiştir. İnkübasyon sonunla tipik *S. Aureus* kolonileri (1–1,5 mm çaplı, siyah, parlak, konveks, çevresinde 2–5 mm çapa kadar genişleyebilen opak zonlu) yatık agara alınarak; katalaz, koagülaz ve termonükleaz testleri gerçekleştirilmektedir. Katalaz (+), Koagülaz (+) ve termonükleaz (+) koloniler patojenik *S.aureus* olarak değerlendirilmektedir (Horwitz *et al.* 2005).

3.3.6. Enterobacteriaceae sayımı

Enterobacteriaceae sayımında Violet Red Bile Deksrose Agar (VRBD) (Merck)'e dökme yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petri plaklarına uygun dilüsyonlardan 1 ml alınarak üzerine 45°C'de 15 ml agar dökülerek homojen bir karışım sağlanmaya çalışılmıştır. Agar katılaştıktan sonra üzerine 5 ml daha agar ilave edilerek 35-37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tipik koloniler sayılmıştır (Harrigan 1998).

3.3.7. Psikrotrofik bakterilerin sayımı

Aerobik psikrotrofik bakterilerin sayımı için; Plate Count Agar (PCA) (Merck)'a uygun dilüsyonlardan ekim yapılmıştır. Ekimi tamamlanan petriler 7°C'de 10 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gözlenen koloniler mikroskopik özellikler de göz önünde bulundurularak sayılmıştır (Bailey *et al.* 2000).

3.3.8. *Pseudomonas*'ların sayımı

Pseudomonas'ların sayımı için; CFC Agar (Cephaloridine Fucudin Cetrimide) (Oxoid) kullanılmıştır. Bu amaçla sterilize edilen besiyerlerine soğuduktan (50°C) sonra CFC Supplement (SR 103,oxoid) ilave edilmiş ve besiyerleri iyice karıştırılmıştır. Hazırlanan besiyeri petrilere dökülerek katılaşması beklenmiştir. Katılaştıktan sonra ekim yapılmış ve ekimin ardından 25°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda mikroskop eşliğinde oksidaz pozitif koloniler *Pseudomonas* olarak değerlendirilmiştir (Nel *et al.* 2004).

3.4. Mikroskopi ve Görüntüleme

Besiyerinde gelişen kolonilerin incelenmeleri lam-lamel arası preparasyon (Sert 2000) hazırlanarak gerçekleştirilmiştir. Mikroskopi ve görüntüleme amacı ile olympus BX51T Scientific mikroskop ve olympus C7070 görüntüleme sistemi (Olympus, Tokyo Japan) kombine edilerek kullanılmıştır.

3.5. İzolatların Tanısı

Denemede makroskobik ve mikroskobik özelliklerine göre tasnif edilerek depolanan mayalar asit içermeyen PDA Agar (Merck) kullanılarak tekrar canlandırılmış, ardından DNA izolasyonları gerçekleştirilip, suşlar arasındaki farklılıklar bakteriyofaj M13 primer kullanılarak fingerpritleri belirlenmiştir. Elde edilen Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) fingerprintleri gruplandırılmış, temsili izolatların 26S rRNA D1/D2 bölgelerinin sekans işlemleri ardından tanıları yapılmıştır. İzolatların biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve ikinci bir tanı amacı ile API ID32C (bioMérieux) kit sistemi kullanılmıştır.

3.5.1. İzolatların tekrar canlandırılması

Sayım ve izolasyon aşamasında makroskobik ve mikroskobik özelliklerine göre tasnif edilen mayalar tanı amacı ile PDA agara üçlü çizim usulü ekilmişlerdir. Mayaların tanısı genetik ve biyokimyasal olarak gerçekleştirilmiş olup; inkübasyon, kültürlerin genç olarak kullanılmaları amacı ile 25 °C’de 1-2 gün olarak gerçekleştirilmiştir.

3.5.2. İzolatların genetik tanısı

Genomik DNA izolasyonu Lööke *et al.* (2012) tarafından önerilen metot modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla genç kültürlerden 100-200 µL (OD₆₀₀=0,4) taze maya kültürü alınıp, 1ml steril saf su ilave edilerek vortekslenmiştir. Karışım 20000xg’de 3 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Pellet üzerine 100 µl 200mM LiOAc+%1 SDS çözeltisi eklenmiş, vortekslemenin ardından 70°C’de 5 dakika inkübasyona tabi tutulmuştur. Muhtevaya 300 µl %96’lık soğuk etanol eklenmiştir. Vorteksleme işlemi ardından örnekler oda sıcaklığında 3 dakika 15000xg’de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında süpernatant atılmış ve üzerine 300 µl %70’lik soğuk etanol eklenmiştir. Karışım son olarak 15000xg’de 15s santrifüj edilmiştir. İşlem sonrası örneklerden alkol uzaklaştırılmış, yerine 50 µl TE ilave edilerek -20°C’de muhafaza edilmiştir.

Genomik DNA’ları saflaştırılan mayaların birbirinden farklı olanların belirlenmesi amacı ile bakteriyofaj M13 mikrosatelit primeri kullanılarak RAPD fingerprintleri elde edilmiştir. Böylece hem maliyet azaltılmış hem de suş çeşitliliği belirlenmiştir. Bu amaçla 25 µl PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) master miksi (Qiagen), 18 µl su, 4 µl Kalıp DNA ve 3 µl M13 mikrosatelit primeri (5’-GAGGAGGGTGGCGGTTCT-3’) kullanılarak toplam 50 µl PCR karışımı hazırlanmıştır. Karışım Thermal Cyclerde (Eppendorf) 94°C’de 4 dakika ilk denatürasyon işlemi, 94°C’de 30 sn denatürasyon, 36°C’de 45 sn yapışma ve 72°C’de 45 sn uzama PCR siklüsünün 35 tekrarı ve 72°C’de 7 dakika son uzama olacak şekilde amplifikasyona tabi tutulmuştur. PCR işlemi sonucu

elde edilen ürün %1,2 agaroz jelde 30 V gerilimde 10 saat yürütülerek fingerprintler görüntülenmiştir (Uvitech, Biolab) (Vasdinyei *et al.* 2003).

Denemede elde edilen tüm izolatlara ait fingerprintler benzerliklerine göre gruplandırılarak her grubu temsil eden bir örnek yaklaşık 600 bp büyüklüğündeki 26S rRNA D1/D2 bölgesi amplifiye edilmek üzere tekrar PCR işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla PCR karışımı 15µl master mix (Qiagen), 0.5 µl NL-1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'), 0.5 µl NL-4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'), 3 µl kalıp DNA ve 11 µl su kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler, 95°C'de 15 dakika ilk denatürasyon, bunu takiben 35 döngü olacak şekilde 96°C'de 30 sn denatürasyon, 50°C'de 15 sn bağlanma ve 68°C'de 2 dakika uzama basamakları ve son olarak 72°C'de 10 dakika uzama basamağından oluşacak şekilde PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. PCR işlemi sonucu elde edilen ürün, %1 agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiştir (White *et al.* 1990; Hesham *et al.* 2010). Elde edilen ampikonlar saflaştırılarak sekans analizine tabi tutulmuş, sonuçlar BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) programı kullanılarak değerlendirilmiştir (Florez *et al.* 2007).

3.5.3. İzolatların biyokimyasal tanısı

Denemede elde edilen izolatların ikinci bir tanı işleminin yapılması ve suşların biyokimyasal fingerprintinin elde edilmesi amacı ile API ID32C (bioMerieux) (REF 32 200) tanı sistemi kullanılmıştır. Bu amaçla RAPD ile elde edilen temsili suşların PDA Agar'a üçlü çizimleri gerçekleştirilmiş, petriler 25 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Taze kültürler API® Suspension Medium içerisinde McFarland 2'ye ayarlanmış, ardından API C Medium solüsyonuna 250 µl aktarılmıştır. Bu son bakteri karışımı vorteks yardımı ile homojenize edildikten sonra API ID32C test kiti tüpçüklerine 135 µl olacak şekilde ilave edilmiştir. Kit muhtevası 30°C'de nemli ortamda 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüpçükler incelenerek gelişme gözlenenler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.4). Sonuçlar APILAB Plus Ver. 3.3 Programı yardımıyla değerlendirilmiştir.

3.6. Kimyasal Analizler

3.6.1. pH tayini

pH ölçümü dijital pH Metre (Hanna pH-211) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla pH ölçümü salamura kısmından alınmış 10 ml örneğe probun daldırılması ile gerçekleştirilmiştir (Anonim 2002).

3.6.2. Tuz tayini

Turşu örneklerinin salamura kısımlarında tuz tayini için; salamuradan bir pipetle 10 ml deney numunesi bir behere alınmış ve içerisine bir kaç damla metil oranj katılmıştır. Ayarlı 1 N NaOH çözeltisi ile renk sarıya dönüncye kadar (pH 5-7) titre edilmiştir. Titrasyonun dönüm noktasına dikkat edilmiştir. Daha sonra indikatör olarak 1 ml %5'lik potasyum kromat çözeltisi ile gümüş kromattan meydana gelen kırmızı renk görölünceye kadar titrasyona devam edilmiştir. Örneklerin salamuralarının 100 ml'sindeki tuz miktarı g olarak aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (Anonim 2003).

$$M = 0,585 \times V \times N$$

Burada;

M : 100 ml salamuradaki tuz miktarı, g

V : Sarf olunan 0,1 N AgNO₃ çözeltisi, ml

0,585 : N AgNO₃ çözeltisinin tekabül ettiği tuz miktarı

N : Kullanılan AgNO₃'ün normalitesi

3.6.3. Titrasyon asitliği tayini

Turşu örneklerinde titrasyon asitliği tayini salamura kısmında yapılmıştır. Bu amaçla örnek iyice karıştırıldıktan sonra 25 ml alınarak ölçü balonunda saf suyla 250 ml'ye tamamlanmıştır. Seyreltilen numune iyice karıştırıldıktan sonra 50 ml alınarak karıştırıcısı bulunan bir behere aktarılmıştır. Karıştırma işlemiyle beraber pH $7\pm 0,2$ olana dek hızlı bir şekilde, $8\pm 0,1$ oluncaya dek ise yavaş bir şekilde 0,1 N NaOH çözeltisi ilave edilmiştir. Harcanan 0,1 N NaOH çözeltisinin miktarı kaydedilmiştir. Kaydedilen değer formülde yerinen yazılarak toplam asitlik değerine ulaşılmıştır (Cemeroğlu 2010).

Örneklerin salamura kısımlarının 100 ml'sindeki, H^+ iyonunun milimol değeri olarak ifade edilen titre edilebilir asitlik (A) aşağıdaki formülden elde edilmiştir (Anonim 2002).

$$A = 1000 \times V_1 \times C / V_0$$

Burada;

V_1 : Harcanan NaOH miktarı, ml

V_0 : 50 ml

C : NaOH'ın gerçek derişimi; 0,1 N

3.7. İstatistik Analizler

Deneme tam şansa bağlı deneme planına göre ve analizler iki paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilecek veriler SPSS for Windows Release ver. 13.00 paket programı kullanılarak istatistiksel analize tabi tutulmuştur (SPSS inc. Chicago, IL. USA).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Ülkemizin çeşitli yörelerinden turşu üretimi yapılan toplam 43 ev ve endüstriyel turşu örneği temin edilmiştir. Ürünün oluşumuna olumlu yönde katkı sağlayabilecek, bozucu yönde rol oynayabilecek ve patojen mikroorganizmaların belirlenmesi amacı ile Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri sayımı, Psikrotrofilik Bakteri Sayımı, *Pseudomonas*ların sayımı, Maya ve Küf Sayımı, Muhtemel Laktobasil ve Laktokokların sayımı, Enterobacteriaceae familyasının sayımı, Enterokokların sayımı ve *S. Aureus* sayımı gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’de görülmektedir. Kimyasal analizlerden ise pH, asitlik ve tuz tayini yapılmıştır (Çizelge 4.7).

4.1. Mikrobiyolojik Bulgular

Çizelge 4.1. Denemede kullanılan turşu örneklerine ait genel mikrobiyolojik sonuçlar (log kob/ml)

Numune	Tekerrür	TAMB	Psikrofilik	<i>Pseudomonas</i>	M-K –PDA	M-K –YGC	LB	LK	Enterobacteria ceae	Enterokok	<i>S.aureus</i>
1	1	7,37	7,66	<1	7,48	7,70	7,48	7,85	<1	4,17	<1
	2	7,48	7,78	<1	7,72	7,80	7,71	7,85	<1	4,17	<1
2	1	7,39	7,78	<1	5,50	5,30	7,00	5,18	1,79	2,60	<1
	2	7,45	7,78	<1	5,30	5,39	6,11	5,40	1,79	2,88	<1
3	1	5,41	5,31	<1	5,26	5,68	7,30	4,00	<1	2,64	<1
	2	5,41	5,31	<1	5,26	5,68	7,15	4,00	<1	2,64	<1
4	1	7,45	<1	<1	5,49	5,58	7,16	7,25	<1	5,18	<1
	2	7,30	<1	<1	5,60	5,70	7,10	7,27	<1	5,18	<1
5	1	7,57	<1	<1	4,93	5,85	7,32	7,36	<1	5,12	<1
	2	7,30	<1	<1	5,00	5,78	7,18	7,36	<1	5,12	<1
6	1	7,51	<1	<1	3,30	<1	7,14	7,55	<1	2,99	<1
	2	7,48	<1	<1	3,30	<1	7,30	7,40	<1	2,99	<1
7	1	6,88	<1	<1	<1	<1	6,51	6,40	<1	4,43	<1
	2	6,85	<1	<1	<1	<1	6,30	7,00	<1	4,43	<1
8	1	6,73	<1	<1	6,26	6,79	7,12	7,26	2,06	5,11	<1
	2	6,73	<1	<1	6,00	6,79	7,30	7,26	2,06	5,11	<1

Çizelge 4.1. (devam)

[illegible]

Çizelge 4.1. (devam)

Numune	Tekerrür	TAMB	Psikrofilik	Pseudomonas	M-K –PDA	M-K –YGC	LB	LK	Enterobacteria ceae	Enterokok	<i>S.aureus</i>
28	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
29	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
30	1	3,70	<1	<1	<1	<1	<1	2,70	<1	<1	<1
	2	3,70	<1	<1	<1	<1	<1	2,70	<1	<1	<1
31	1	4,15	<1	<1	4,28	4,18	6,38	3,00	<1	<1	<1
	2	4,15	<1	<1	4,28	4,18	6,38	3,00	<1	<1	<1
32	1	4,94	<1	<1	<1	3,78	4,72	4,49	<1	<1	<1
	2	4,94	<1	<1	<1	3,78	4,72	4,49	<1	<1	<1
33	1	3,70	<1	<1	<1	<1	<1	3,70	<1	<1	<1
	2	3,70	<1	<1	<1	<1	<1	3,70	<1	<1	<1
34	1	3,30	<1	<1	3,00	<1	6,23	3,90	<1	<1	<1
	2	3,30	<1	<1	3,00	<1	6,23	3,90	<1	<1	<1
35	1	3,85	<1	<1	<1	<1	<1	4,08	<1	1,70	<1
	2	3,85	<1	<1	<1	<1	<1	4,08	<1	1,70	<1
36	1	7,07	<1	<1	6,95	6,94	7,19	7,04	<1	3,78	<1
	2	7,07	<1	<1	6,95	6,94	7,00	7,04	<1	3,78	<1
37	1	6,91	<1	<1	5,70	5,30	6,30	6,56	0,90	1,67	<1
	2	6,91	<1	<1	5,70	5,30	6,30	6,56	0,90	1,67	<1
38	1	7,64	<1	<1	4,63	4,32	7,78	8,18	<1	4,73	<1
	2	7,64	<1	<1	4,63	5,00	7,78	8,18	<1	4,73	<1
39	1	6,34	<1	<1	4,32	4,46	7,13	7,07	<1	2,80	<1
	2	6,34	<1	<1	4,32	4,46	7,30	7,07	<1	2,80	<1
40	1	5,11	<1	<1	<1	<1	7,01	6,97	<1	2,89	<1
	2	5,11	<1	<1	<1	<1	7,30	6,97	<1	2,89	<1
41	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
42	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
43	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Maks.		7,67	7,78	0,00	7,72	7,80	7,78	8,18	2,85	5,60	<1
Min.		<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Evort		5,81	0,67	<1	3,76	3,62	5,88	5,61	0,38	2,77	<1
Standart Sapma		1,92	2,10	-	2,62	2,81	2,18	2,25	0,82	1,82	-
End.ort		1,37	<1	<1	0,36	0,66	0,93	1,16	<1	<1	<1
Standart Sapma		2,01	-	-	1,21	1,52	2,14	1,72	-	-	-
Genel ortalama		4,58	0,48	<1	2,81	2,79	4,49	4,36	0,27	2,00	<1

TAMB’da en düşük ve en yüksek değer, <1 ve 7,67 log kob/ml olarak bulunmuştur. Genel ortalaması da 0,58 log kob/g olarak analiz edilmiştir. Örnekler üretim tipine göre incelendiğinde ev tipi örneklerinin ortalamasının 5,81 ve endüstriyel tipi üretimin ortalamasının 1,37 olduğu ve istatistiksel olarak üretim farklılığının TAMB üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir ($p<0,01$).

Psikrotrofilik mikroorganizmalarda en düşük ve en yüksek değer <1–7,78 log kob/ml olarak tespit edilmiştir. Numunelerin genel ortalaması 0,48 log kob/ml olarak bulunmuştur. Örnekler üretim tipine göre incelendiğinde ev tipi örneklerinin ortalamasının 0,67 log kob/ml ve endüstriyel tipi üretimin ortalamasının <1 olduğu ve istatistiksel olarak üretim farklılığının psikrofilik bakteriler üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir ($p<0,01$).

Mayaların sayımı ve izolasyonu amacı ile PDA ve YGC besiyerlerine ekim yapılmıştır. PDA’da elde edilen sayıların <1–7,72 log kob/ml arasında değiştiği belirlenmiştir. YGC’de en düşük ve en yüksek değer <1 ve 7,80 log kob/ml olduğu görülmüştür. Genel ortalama ise PDA’da 2,81 log kob/ml; YGC’de 2,79 log kob/ml olarak bulunmuştur. PDA için örnekler üretim tipine göre incelendiğinde ev tipi örneklerinin ortalamasının 3,76 ve endüstriyel tipi üretimin ortalamasının 0,36 olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1) YGC için ise ev tipi örneklerinin ortalamasının 3,62 ve endüstriyel tipi üretimin ortalamasının 0,66 olduğu görülmüştür. Buna göre istatistiksel olarak üretim farklılığının PDA ve YGC üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir ($p<0,01$).

Laktik basillerde MRS’e ekim yapılmış, en düşük ve en yüksek değer <1 ve 7,78 log kob/ml olduğu gözlenmiştir. Ürünlerin genel ortalaması da 4,49 log kob/ml olarak analiz edilmiştir. Örnekler üretim tipine göre incelendiğinde ev tipi örneklerin ortalamasının 5,88 ve endüstriyel tipi üretimin ortalamasının 0,93 olduğu ve istatistiksel olarak üretim farklılığının laktik basiller üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir ($p<0,01$).

Laktik koklarda M17’ye ekim yapılmış, en düşük ve en yüksek değer <1 ve 8,18 log kob/ml olarak bulunmuştur. Genel ortalama 4,36 log kob/ml olarak analiz edilmiştir.

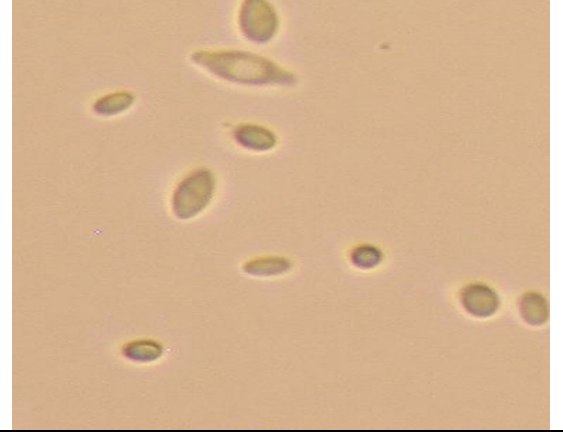
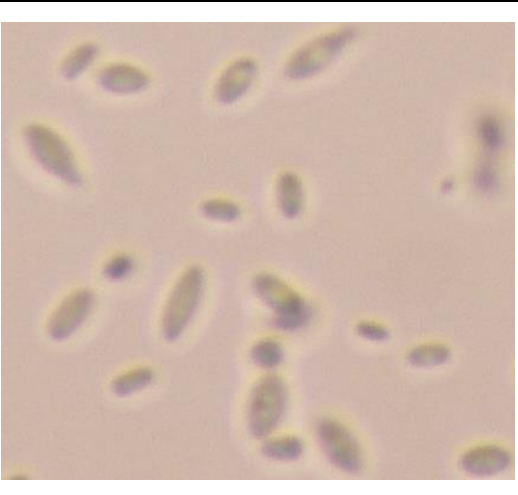
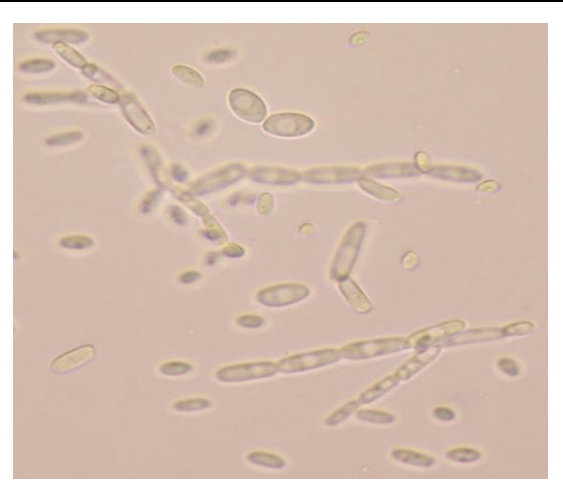
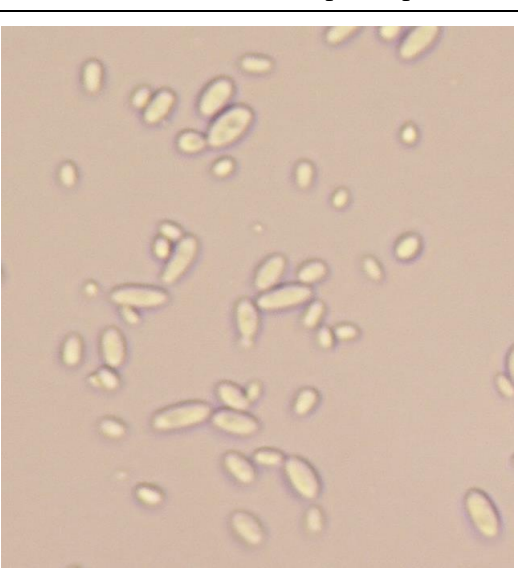
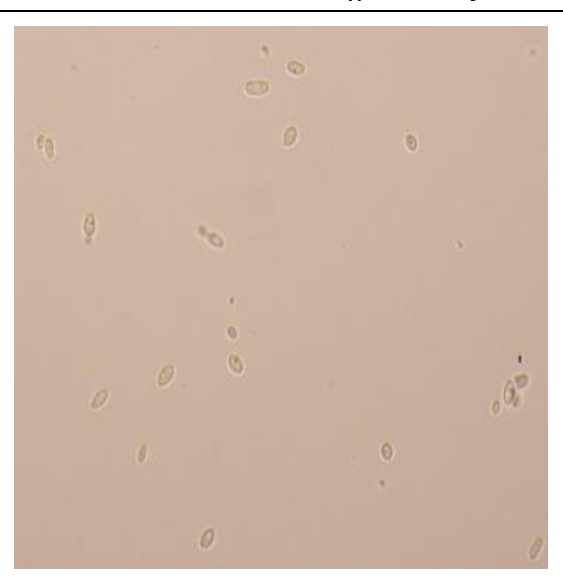
Örnekler üretim tipine göre incelendiğinde ev tipi örneklerin ortalamasının 5,61 ve endüstriyel tipi üretimin ortalamasının 0,16 olduğu ve istatistiksel olarak üretim farklılığının laktik koklar üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir ($p<0,01$).

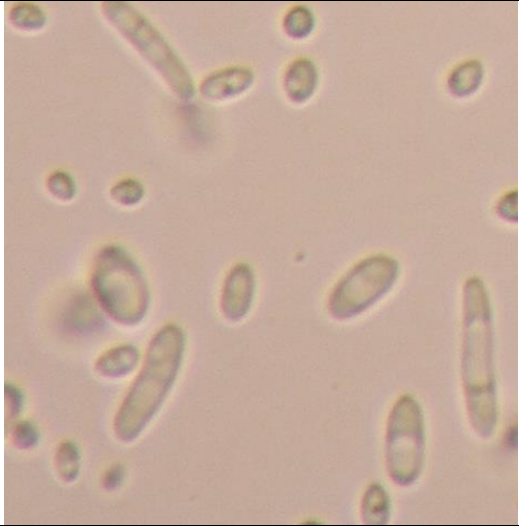
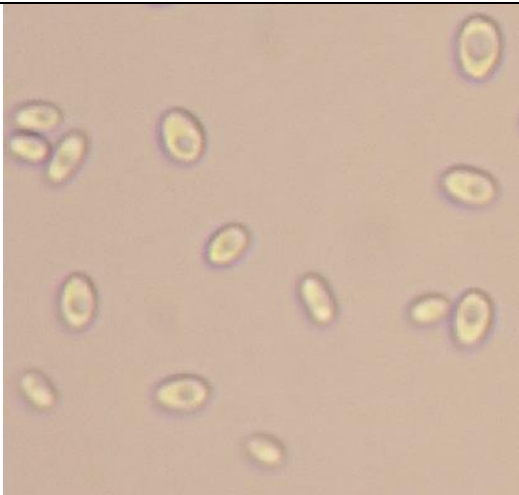
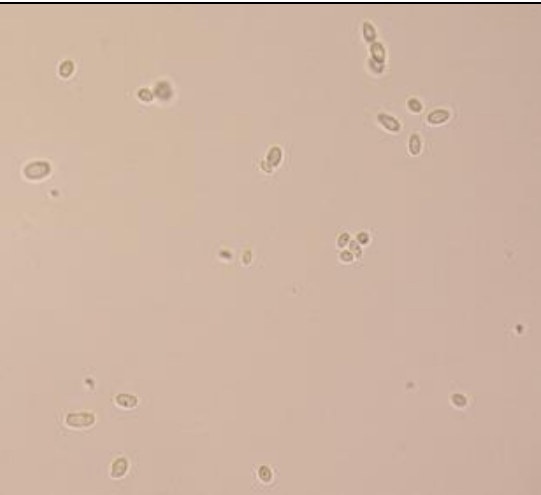
Denemede kullanılan CFC agarda da üreme gözlenmemiştir. Bu durum *Pseudomonas*'ların üründe etkili olmadığını göstermektedir.

Üründe bulunabilecek muhtemel patojenlerin belirlenmesi amacı ile VRBD, KAE ve BPA agarlara ekimler yapılmıştır. BPA agarda tipik *S. aureus* kolonilerine rastlanmamıştır. VRBD'de ekim yapılan Enterobacteriaceae familyası için değerler $<1-2,85$ log kob/ml arasında gözlenmiştir. Enterokoklarda ise KAE'ye ekim yapılarak en düşük ve en yüksek değer $<1-5,60$ log kob/g olarak gözlenmiştir. Genel ortalama da ise VRBD'de 0,27 log kob/ml; KAE'de 2,00 log kob/ml olarak bulunmuştur.

Araştırmada mayaların identifikasyonu amacıyla makroskobik ve mikroskobik özellikleri belirlenerek 83 adet izolat elde edilmiştir. Elde edilen izolatların benzer olanları gruplandırılmak için RAPD (M 13) fingerprintleri elde edilmiştir. Tüm izolatların fingerprintleri incelendiğinde toplam 83 izolatın aslında 12 farklı suştan oluştuğu gözlenmiştir. Bu suşlara ait RAPD profilleri (Şekil 4.2) ve mikroskobik (Şekil 4.1) görüntüleri ilgili şekillerde görülmektedir.

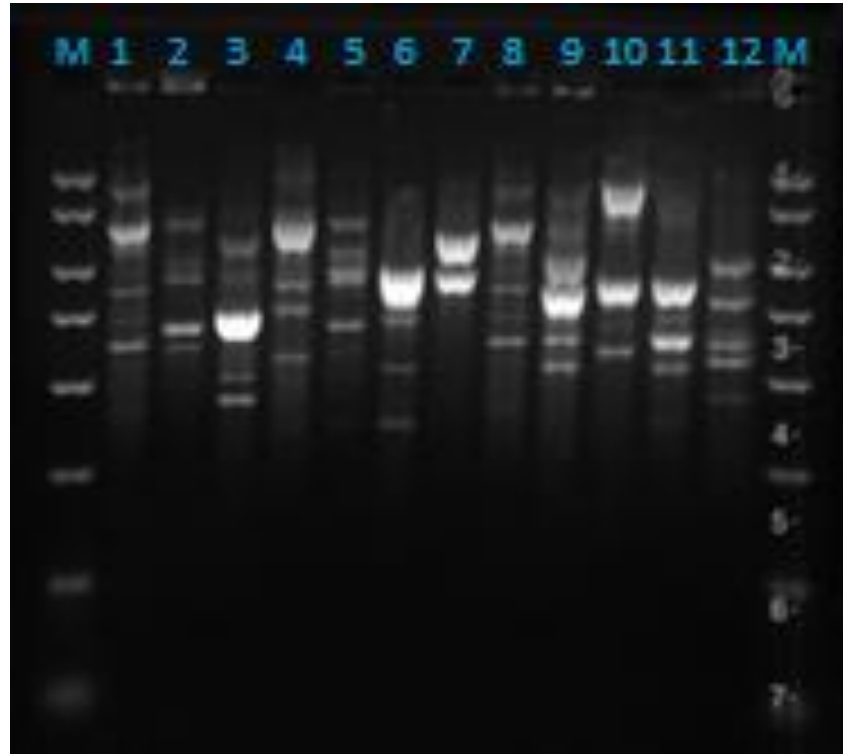
Mikroorganizma kültürlerinden DNA saflaştırma işlemi yapıldıktan sonra, M13 protokolü uygulanmıştır. RAPD olarak da adlandırılan bu yöntemde genomik DNA'nın rastgele yerlerine yapışan primer, çeşitli uzunlukta DNA parçacıkları oluşturur. Bu DNA parçacıkları da agaroz jel elektroforezinde boyları ile ters orantılı olacak şekilde ilerler. Yani büyük DNA parçaları az, küçük DNA parçaları ise büyük mesafeler kat eder. Farklı suşların DNA'larından amplifiye olan parçalar da farklı olduğundan farklı bant görüntüleri ortaya çıkar.

	
3 nolu örnek, <i>Pichia kudriavzevii</i>	4 nolu örnek, <i>Pichia kluyveri</i>
	
9 nolu örnek, <i>Hanseniasporaopuntiae</i>	11 nolu örnek, <i>Candida aff. Sorboxylosa</i>
	
13 nolu örnek, <i>Pichia kluyveri</i> var. <i>Kluyveri</i>	19 nolu örnek, <i>Kazachstania exigua</i>

	
41 nolu örnek, <i>Hanseniaspora uvarum</i>	52 nolu örnek, <i>Pichia kudriavzevii</i>
	
58 nolu örnek, <i>Pichia fermentans</i>	60 nolu örnek, <i>Pichia barkeri</i>
	
74 nolu örnek, <i>Kazachstania exigua</i>	84 nolu örnek, <i>Pichia membranifaciens</i>

Şekil 4.1. Mikroskobik türlerin şekilleri

Denemede 43 turşu numunesinden 83 maya izole edilmiş, bunların aynı olanları ilk elektroforez uygulaması ile elenmiştir. Birbirinden farklı olan 12 suşun elektroforez sonucu Şekil 4.2'deki gibidir.

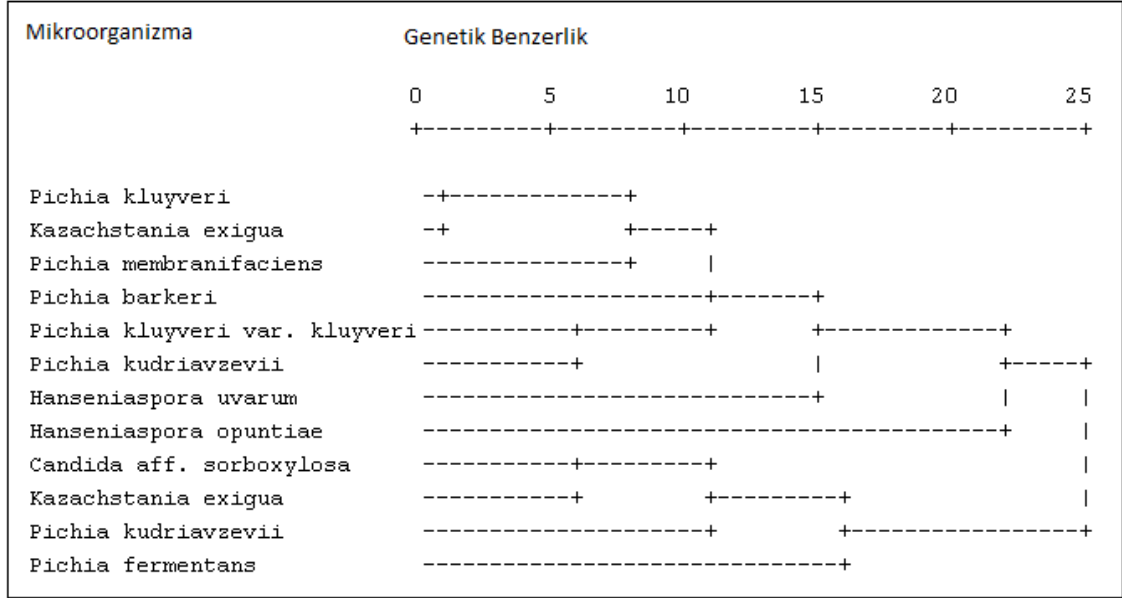


Şekil 4.2. İzole edilen farklı suşların agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş hali

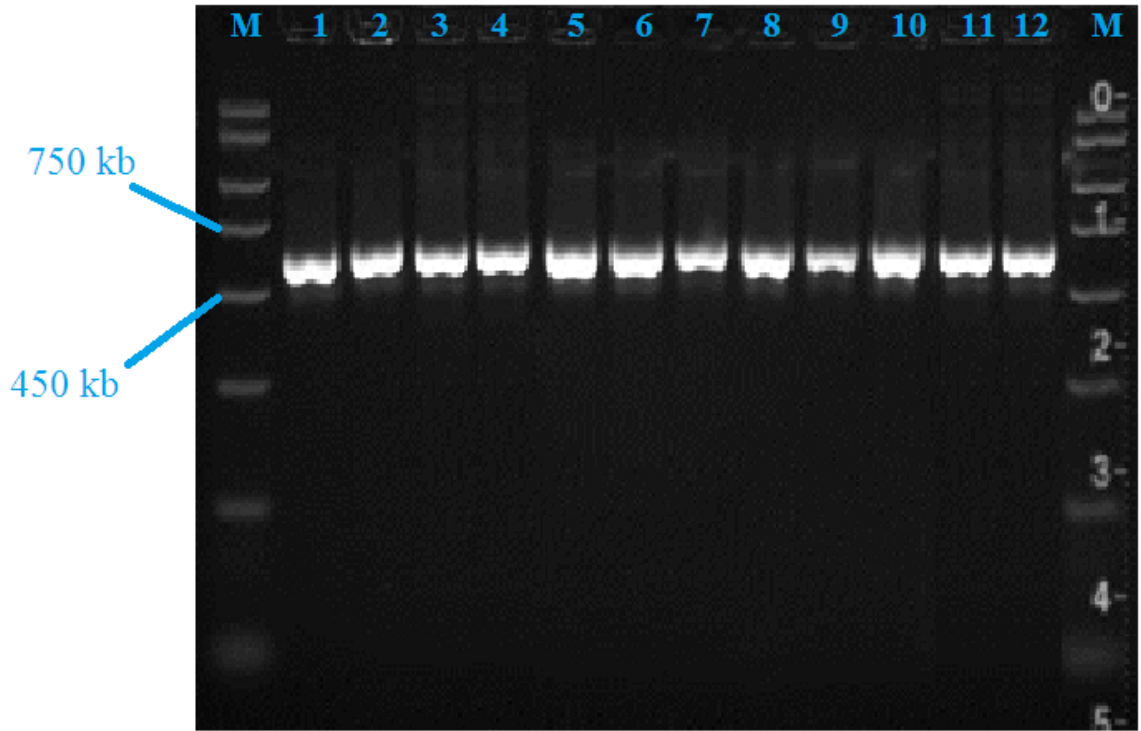
* M: Marker, 1: *Pichia kudriavzevii* (3), 2: *Pichia kluyveri* (4), 3: *Hanseniasporaopuntiae* (9), 4: *Candida aff. Sorboxylosa* (11), 5: *Pichia kluyveri* var. *kluyveri* (13), 6: *Kazachstania exigua* (19), 7: *Hanseniaspora uvarum* (41), 8: *Pichia kudriavzevii* (52), 9: *Pichia fermentans* (58), 10: *Pichia barkeri* (60), 11: *Kazachstania exigua* (74), 12: *Pichia membranifaciens* (84)

Elde edilen tipik 12 örneğe sekans analizi yapılması amacı ile 26S rRNA D1/D2 bölgesi hedef alınarak NL-1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') ve NL-4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') primerleri kullanılarak PCR işlemi yapılmıştır. İşlem sonucu 600 bp uzunluğunda DNA parçacıkları amplifiye edilmiş ve oluşan PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinde yürütülerek kontrol edilmiştir (Şekil 4.2).

Denemede elde edilen maya suşlarının birbirleri ile olan benzerliklerinin incelendiği dendrogram Çizelge 4.2'de görülmektedir.

Çizelge 4.2. Denemede izole edilen maya suşlarına ait dendrogram

Çizelge 4.2’de görüldüğü üzere genel olarak aynı cinse ait türler benze kümelenme göstermişlerdir. Öte yandan en farklı grup *P. kudriavzevii*’nin bir suşu ile *P. fermentans*’ın olduğu diğer *Pichia* spp. arasında görülmüştür. En yakın benzerlik *P. kluyveri* ile *K. exigua* arasında olduğu görülmektedir (%95). Birbirine en uzak iki suş ise *P. kluyveri* ve *P. fermentans* olarak gözlenmiştir. Bu durumda *Pichia* cinsinin farklı özelliklere sahip birçok türü içermesinin etkili olduğu görülmektedir. Dendrogram sonuçları kullanılan primerin (M13) mayalarda alt tür ayrımında oldukça etkili olduğunu da göstermektedir.



Şekil 4.3. 26S rRNA D1/D2 bölgesi amplifiye edilen mayaların elektroforez görüntüsü
 * M: Marker, 1: *Pichia kudriavzevii*, 2: *Pichia kluyveri*, 3: *Hanseniasporaopuntiae*, 4: *Candida aff. Sorboxylosa*, 5: *Pichia kluyveri* var. *kluyveri*, 6: *Kazachstania exigua*, 7: *Hanseniaspora uvarum*, 8: *Pichia kudriavzevii*, 9: *Pichia fermentans*, 10: *Pichia barkeri*, 11: *Kazachstania exigua*, 12: *Pichia membranifaciens*.

Elde edilen sekans sonuçları ilgili kütüphanelerle karşılaştırıldığında izole edilen 12 suşun: *Pichia kudriavzevii*, *Pichia kluyveri*, *Hanseniasporaopuntiae*, *Candida aff. Sorboxylosa*, *Hanseniaspora uvaru*, *Pichiafermentans*, *Pichiabarkeri*, *Kazachstaniaexigua*, *Pichia membranifaciens* türlerden oluştuğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.3. Sekans analizi sonucunda elde edilen bulgular

Sıra	Tanı sonucu genetik	Genetik benzerlik oranı	Referans suş no	Temsil ettiği izolat sayısı	Temsil ettiği izolatların numaraları
1	<i>Pichia kudriavzevii</i>	%100	JQ779970.1	13	3,7,17,18,24,83,86,87,88,89,90,91,92
2	<i>Pichia kluyveri</i>	%99	JQ771714.1	3	4,16,77
3	<i>Hanseniasporaopuntiae</i>	%99	JX129909.1	6	1,5,9,10,14,45
4	<i>Candida aff. sorboxylosa</i>	%98	AF485970.1	6	2,6,11,12,15,73
5	<i>Pichia kluyveri</i> var. <i>kluyveri</i>	%99	HM191634.1	9	8,13,23,25,26,32,33,34,35
6	<i>Kazachstania exigua</i>	%99	HQ143209.1	12	19,20,22,27,29,30,31,37,65,78,79,80
7	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	%99	JQ678687.1	9	39,41,42,66,67,68,69,70, 71
8	<i>Pichia kudriavzevii</i>	%99	JQ779970.1	4	36,50,51,52
9	<i>Pichia fermentans</i>	%99	HE660054.1	11	38,40,43,44,46,47,58,59,62,63,64
10	<i>Pichia barkeri</i>	%88	EF550247.1	4	48,49,60,61
11	<i>Kazachstania exigua</i>	%99	FJ468461.1	2	74,75
12	<i>Pichia membranifaciens</i>	%99	JQ665248.1	4	81,82,84,85

Araştırmada genetik tanı metoduna alternatif olarak API ID32C test kiti kullanılmıştır. Bu tanı metoduyla izolatların biyokimyasal karakterleri de belirlenmek istenmiştir (Çizelge 4.4). Ancak moleküler ve API ID32C test kiti sonuçları incelendiğinde cins ve tür bazında sonuçların örtüşmediği ortaya çıkmaktadır (Çizelge 4.4).

Moleküler sonuçlar incelendiğinde %99 oranında doğruluk gösteren sonuçlar elde edilmiştir. Ancak biyokimyasal test sonuçları incelendiğinde ise daha 24. ve 48.

saatlerde bile farklı sonuçlar verdiği görülmektedir. Bu da ilave test ihtiyacı doğurmuş, tanı açısından ilave zaman ve ekonomik kayba ve şüpheye neden olmuştur.

Moleküler yöntemde saflaştırılan DNA'dan sonra direk sekans yapılabilir. Ancak biyokimyasal yöntemler incelendiğinde ise metodun mayaların şeker kullanımı dikkate alınarak oluşturulduğu görülmektedir. Ancak mayaların beslenme şekillerinin oldukça değişken olduğu ve mutasyon ihtimali de düşünülürse moleküler yöntemin daha doğru sonuçlar vereceği görülmüş olur (Boekhout & Robert 2003; Fern'andez-Espinar *et al.* 2006).

Çizelge 4.4. Biyokimyasal ve moleküler sonuçların karşılaştırılması

	Tanı sonucu API ID 32 C 24 s	Tanı sonucu API ID 32 C 48 s	Biyokimyasal benzerlik oranı (%) 24/48 s	İlave test ihtiyacı	GENETİK tanı sonucu
1	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida krusei</i>	85,7 / 97,8	Evet	<i>Pichia kudriavzevii</i>
2	<i>Candida valida</i>	<i>Candida inconspicua/norvegensis</i>	89,9 / 96,5	Evet	<i>Pichia Kluyveri</i>
3	<i>Kloeckera japonica</i>	<i>Kloeckera apis/apiculata</i>	92,7 / 99,9	Evet	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>
4	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida krusei</i>	45,8 / 28,7	Evet	<i>Candida aff. Sorboxylosa</i>
5	<i>Candida valida</i>	<i>Candida valida</i>	89,9 / 89,9	Evet	<i>Pichia kluyveri var. Kluyveri</i>
6	<i>Candida holmii</i>	<i>Candida holmii</i>	34,5 / 99,9	Evet	<i>Kazakhstania exigua</i>
7	<i>Kloeckera japonica</i>	<i>Kloeckera apis/apiculata</i>	94,0 / 98,9	Evet	<i>Hanseniaspora uvarum</i>
8	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida krusei</i>	85,7 / 97,8	Evet	<i>Pichia kudriavzevii</i>
9	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida lambica</i>	99,8 / -	Evet	<i>Pichia fermentans</i>
10	<i>Candida valida</i>	<i>Candida inconspicua/norvegensis</i>	89,9 / 86,4	Evet	<i>Pichia Barkeri</i>
11	<i>Candida holmii</i>	<i>Candida holmii</i>	67,6 / 98,9	Evet	<i>Kazakhstania exigua</i>
12	<i>Zygosaccharomyces spp</i>	<i>Candida valida</i>	87,4 / 68,3	Evet	<i>Pichia membranifaciens</i>

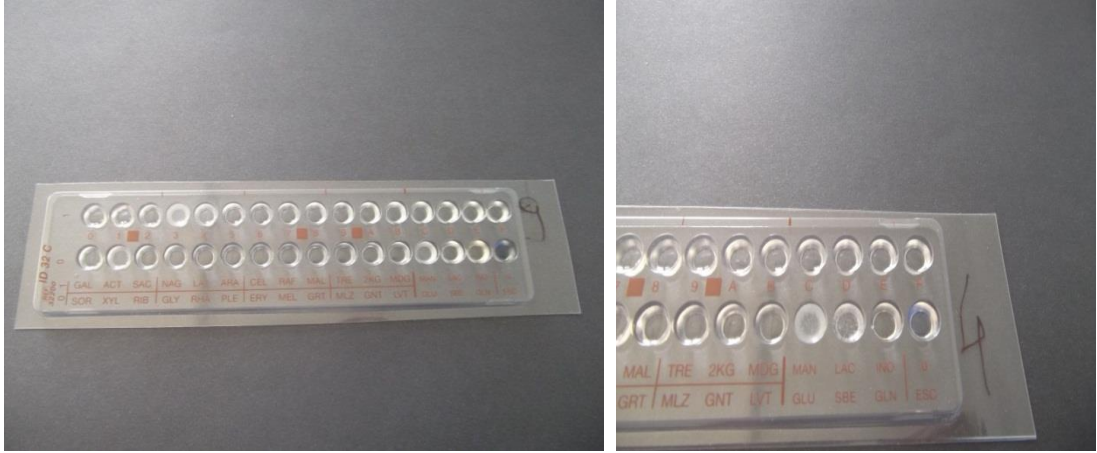
API ID 32C ile yapılan 24–48 saatlik test sonuçları aşağıda verilmiştir.

Çizelge 4.5. API ID 32C kit 24 saatlik test sonuçları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
GAL	-	-	-	-		+	-	-	-	-	-	-
ACT	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
SAC	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
NAG	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
LAT	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
ARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CEL	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RAF	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
MAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TRE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LEG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MDG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
MAN	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
LAE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
INO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XYL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RİB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PRE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ERY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MEL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GRT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ML7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GNT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LVT	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SBE	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
GLN	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
ESC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maya Türü	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida valida</i>	<i>Kloeckera japonica</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida valida</i>	<i>Candida holmii</i>	<i>Kloeckera japonica</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida valida</i>	<i>Candida holmii</i>	<i>Zygosaccharomyces spp</i>

Çizelge 4.6. API ID 32C kit 48 saatlik test sonuçları

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
GAL	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
ACT	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-
SAC	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
NAG	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
LAT	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-
ARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CEL	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RAF	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
MAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TRE	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
LEG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MDG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
MAN	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
LAE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
INO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XYL	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
RİB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLY	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PRE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ERY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MEL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GRT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ML7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GNT	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
LVT	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
GLU	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SBE	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
GLN	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+
ESC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maya Türü	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida inconspicua/norvegensis</i>	<i>Kloeckera apis/apiculata</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida valida</i>	<i>Candida holmii</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida lambica</i>	<i>Candida inconspicua/norvegensis</i>	<i>Candida holmii</i>	<i>Candida valida</i>



Şekil 4.4. API görüntüleri

4.2. Kimyasal Bulgular

Çalışmada özellikle mikrobiyolojik gelişmeyi etkileyen pH, asitlik ve tuz analizleri yapılmıştır. Denemede numunelerin kimyasal özelliklerine ait veriler Çizelge 4.7’de görülmektedir.

Çizelge 4.7. Numunelerin asitlik, tuz ve pH ölçümleri

Üretim tipi	Numune no	Tekerrür	Asitlik	Tuz	pH
ev	1	1	0,68	3,45	3,86
		2	0,67	3,51	3,86
ev	2	1	0,81	1,76	3,53
		2	0,85	1,81	3,53
ev	3	1	0,86	3,68	3,43
		2	0,85	3,74	3,43
ev	4	1	0,85	1,17	3,87
		2	0,86	1,17	3,87
ev	5	1	0,40	2,69	3,88
		2	0,41	2,81	3,88
ev	6	1	0,90	1,81	3,84
		2	0,90	1,87	3,85
ev	7	1	0,78	2,16	3,85
		2	0,79	2,23	3,85
ev	8	1	0,95	1,58	3,93
		2	0,96	1,52	3,93

Çizelge 4.7. (devam)

Üretim tipi	Numune no	Tekerrür	Asitlik	Tuz	pH
ev	9	1	1,37	1,11	3,82
		2	1,37	1,11	3,83
ev	10	1	0,95	1,17	3,82
		2	0,96	1,23	3,82
ev	11	1	1,22	3,45	3,83
		2	1,24	3,51	3,83
ev	12	1	1,26	2,69	3,58
		2	1,25	2,57	3,58
ev	13	1	1,44	4,10	3,68
		2	1,45	4,21	3,68
endüstriyel	14	1	0,50	2,28	3,94
		2	0,49	2,28	3,94
ev	15	1	0,92	3,21	3,70
		2	0,92	3,28	3,70
ev	16	1	0,90	0,99	3,95
		2	0,91	1,05	3,95
ev	17	1	2,16	1,76	3,52
		2	2,17	1,81	3,52
ev	18	1	0,81	2,69	3,80
		2	0,81	2,69	3,80
ev	19	1	1,40	0,94	3,72
		2	1,40	0,88	3,72
ev	20	1	0,23	1,05	3,68
		2	0,23	1,05	3,68
ev	21	1	0,77	0,33	3,66
		2	0,77	0,39	3,66
ev	22	1	0,54	0,06	3,72
		2	0,54	0,06	3,72
ev	23	1	0,50	0,06	3,50
		2	0,50	0,06	3,50
endüstriyel	24	1	0,99	3,33	3,63
		2	0,99	3,39	3,62
endüstriyel	25	1	1,35	4,15	3,58
		2	1,35	4,21	3,58
endüstriyel	26	1	1,08	3,45	3,81
		2	1,08	3,51	3,81
endüstriyel	27	1	0,94	2,87	4,19
		2	0,94	2,98	4,19
endüstriyel	28	1	1,21	4,10	3,65
		2	1,22	4,15	3,65

Çizelge 4.7. (devam)

Üretim tipi	Numune no	Tekerrür	Asitlik	Tuz	pH
endüstriyel	29	1	1,13	2,81	4,29
		2	1,12	2,93	4,29
endüstriyel	30	1	0,22	0,64	3,92
		2	0,22	0,64	3,92
endüstriyel	31	1	0,18	0,35	3,70
		2	0,18	0,41	3,70
endüstriyel	32	1	0,13	4,10	3,92
		2	0,14	4,09	3,92
endüstriyel	33	1	0,14	1,05	4,04
		2	0,14	1,11	4,04
ev	34	1	1,71	3,69	3,49
		2	1,71	3,74	3,49
ev	35	1	1,62	2,93	3,59
		2	1,62	2,98	3,59
ev	36	1	0,94	3,51	3,76
		2	0,94	3,63	3,76
ev	37	1	1,07	2,87	3,75
		2	1,07	2,87	3,75
ev	38	1	0,36	1,05	3,83
		2	0,36	1,23	3,83
ev	39	1	0,95	1,23	3,72
		2	0,95	1,29	3,72
ev	40	1	1,21	1,29	3,64
		2	1,22	1,17	3,64
ev	41	1	1,35	2,57	3,42
		2	1,36	2,57	3,42
endüstriyel	42	1	1,30	3,51	3,34
		2	1,31	3,57	3,34
endüstriyel	43	1	1,37	4,04	3,43
		2	1,37	4,04	3,43
Maksimum değer			2,17	4,21	4,29
Minimum değer			0,13	0,06	3,34
Ev ort			0,98	2,06	3,72
Standart Sapma			0,42	1,14	0,15
End.ort			0,84	2,89	3,79
Standart Sapma			0,50	1,37	0,28
Genel ortalama			0,94	2,29	3,74
Standart sapma			0,45	1,26	0,20

Çizelge 4.7 incelendiğinde örneklere ait laktik asit cinsinden %asitlik değerinin 0,13–2,17 arasında değiştiği, genel ortalamanın 0,94 olduğu görülmektedir. Örnekler üretim tipine göre incelendiğinde ev tipi örneklerinin ortalamasının 0,98 ve endüstriyel tipi üretimin ortalamasının 0,84 olduğu ve istatistiksel olarak üretim farklılığının asitlik üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir ($p<0,01$).

Örneklere ait tuz değerinin 0,06-4,21 arasında değiştiği, genel ortalamanın 2,29 olduğu görülmektedir (Çizelge 4.7). Örnekler üretim tipine göre incelendiğinde ev tipi örneklerin ortalamasının 2,06 ve endüstriyel tipi üretimin ortalamasının 2,89 olduğu ve istatistiksel olarak üretim farklılığının tuz miktarı üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir ($p<0,01$).

Örneklere ait pH değerinin 3,34-4,29 arasında değiştiği, genel ortalamanın 3,74 olduğu görülmektedir (Çizelge 4.7). Örnekler üretim tipine göre incelendiğinde ev tipi örneklerinin ortalamasının 3,72 ve endüstriyel tipi üretimin ortalamasının 3,79 olduğu ve istatistiksel olarak üretim farklılığının pH üzerinde etkili bir faktör olduğu gözlenmiştir ($p<0,01$).

Çizelge 4.8’de incelendiğinde tüm mikrobiyolojik değerler arasında pozitif bir korelasyon olduğu, buna karşın asitlik ve tuz muhtevası açısından önemli bir ters orantı gözlenmiştir. Bu durum artan asitlik ve tuz miktarının mikrobiyal çeşitlilik ve gelişim için kısıtlayıcı bir faktör olduğu gerçeğini tekrar gözler önüne koymuştur. Psikrofil mikroorganizma gelişimi ise en yüksek korelasyonu maya sayısı ile göstermiştir. Çalışmada gözlenen bir diğer pozitif korelasyon Laktik kok ve basiller arasında gözlenmiştir. Bu durum her iki grup laktik asit bakterinin bir biri ile uyumlu olarak üründe olabileceğini de göstermektedir. Ürün güvenliği açısından ise tuz miktarı enterokoklar üzerine asitlikten daha etkili bulmuştur. Bu durum kritik tuz seviyesinin belirlenerek ürün güvenliği programlarında (HACCP gibi) kritik kontrol noktası olarak kullanılabileceği bilgisini ortaya çıkarmaktadır.

Çizelge 4.8. Farklı analiz parametreleri arasındaki korelasyon

	Numune	Tekerrür	TAMB	Psikro	Pseudo	PDA	YGC	Lbasil	Lkok	Enterob	Enterokok	<i>S.aureus</i>	Asitlik	Tuz	pH
Numune	1	0,00	-0,49 **	-0,44 **	-	-0,39 **	-0,038**	-0,45 **	-0,39**	-0,28*	-0,50**	-	0,08	0,09	-0,19
Tekerrür	0,00	1	-0,00	0,00	-	-0,00	0,01	-0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,02	0,00
TAMB	-0,49**	-0,00	1	0,23*	-	0,69**	0,67**	0,90 **	0,94**	0,33 **	0,75**	-	-0,28**	-0,42**	0,13
Psikro	-0,44**	0,00	0,23 *	1	-	0,33 **	0,34**	0,23*	0,14	0,15	0,17	-	-0,10	0,13	-0,15
Pseudo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PDA	-0,39**	-0,00	0,69**	0,33**	-	1	0,94**	0,74**	0,65**	0,38 **	0,45**	-	-0,21	-0,27*	0,00
YGC	-0,38**	0,01	0,67**	0,34**	-	0,94**	1	0,69**	0,62**	0,40**	0,44**	-	-0,33**	-0,23 *	0,07
Lbasil	-0,45**	-0,00	0,90**	0,23 *	-	0,74**	0,69**	1	0,87**	0,24*	0,67**	-	-0,21	-0,36**	0,02
Lkok	-0,39**	0,00	0,94**	0,14	-	0,65 **	0,62**	0,87**	1	0,27*	0,69**	-	-0,33**	-0,38**	0,21
Enterob	-0,28*	0,00	0,33**	0,15	-	0,38**	0,40**	0,24*	0,27*	1	0,28**	-	-0,11	-0,14	0,01
Enterokok	-0,50**	0,00	0,75**	0,17	-	0,45**	0,44**	0,67**	0,69**	0,28**	1	-	0,06	-0,29**	0,13
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asitlik	0,08	0,00	-0,28**	-0,10	-	-0,21	-0,33**	-0,21	-0,33**	-0,11	0,06	-	1	0,39**	-0,42**
Tuz	0,09	0,02	-0,42**	0,13	-	-0,27*	-0,23*	-0,36**	-0,38**	-0,14	-0,29**	-	0,39**	1	-0,16
pH	-0,19	0,00	0,13	-0,15	-	0,00	0,07	0,02	0,21	0,01	0,13	-	-0,42**	-0,16	1

** 0,01seviyesinde önemli

* 0,05seviyesinde önemli

-Tüm örnekler için N değeri 86 dır.

-Enterob: Enterobacteriaceae

-PDA: Maya Küf PDA besiyeri

-YGC: Maya Küf YGC besiyeri

-Lbasil:Muhtemel laktik basiller

-Lkok: Muhtemel laktik koklar

-Psikro: Psikrotrofik bakteri

-Pseudo: *Pseudomonas*

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bilindiği üzere turşu, farklı meyve ve sebzelerin fermentasyonu ile üretilen ve sevilerek tüketilen geleneksel bir ürünümüzdür. Günümüzde turşu üretimi gıda sanayinin önemli faaliyet alanlarından biri haline gelmiştir. Ancak geleneksel fermentasyon metodu ile üretilen ürünün raf ömrünün nispeten az olması ticari olarak üretimini mümkün kılmamaktadır. Turşuda ürünün raf ömrünü kısıtlayan en önemli faktörün maya gelişimi olduğu belirtilmektedir (Çetin 2011). Bu nedenle ticari ve ev yapımı turşuların tüm mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri istatistiksel olarak farklı bulunmuştur ($p<0,01$).

Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB), Yıldız (2011) tarafından belirtilen değerler (4,84 log kob/ml) ve Karasu (2006) tarafından belirtilen değerler (5,48 log kob/ml) ile benzer olduğu görülmüştür.

Turşu ve benzeri ürünlerde Psikrotrofilik bakteri sayımı hakkında herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmada bitki patojeni bazı suşların bilinmesi nedeni ile *Pseudomonas* cinsine ait türlerin ürüne geçebileceği düşünülmüştür. Bu nedenle özellikle fermentasyonun ilk aşamalarında bulunabilme ihtimali göz önünde bulundurularak sayımı gerçekleştirilmiştir. Ancak, hiçbir örnekte *Pseudomonas* cinsi bakteri sayımı gerçekleştirilememiştir.

Çalışma sonuçları Maya ve Küf sayısı açısından incelendiğinde, Yıldız (2011) tarafından belirtilen değerlerle (4,57 log kob/ml) yaptığımız araştırma ile benzerlik göstermediği görülmüştür. Karasu (2006) tarafından belirtilen değerlerle (5,24 log kob/ml) yaptığımız araştırma sonuçları benzerlik göstermediği görülmüştür.

Kullanılan numunelere ait Enterekok sayılarıba ait değerler Yıldız (2011) tarafından belirtilen ortalamadan (1,52 log kob/ml) nispeten yüksek bulunmuştur.

Ürün laktik asit bakteri sayıları açısından incelendiğinde Yıldız (2011) tarafından bulunan laktobasillerin değerlerinden (6,65 log kob/ml) düşük olduğu, Karasu'nun (2006) rapor ettiği değerden (5,79 log kob/ml) ise nispeten yüksek olduğu görülmüştür. Laktokoklar değerlendirildiğinde ise Yıldız (2011)'ın bulduğu değerlerden (2,27 log kob/ml) yüksek olduğu görülmüştür.

Turşuda *S. aureus* sayımını Yıldız (2011) gerçekleştirmiştir. *S. aureus* bulaşma kaynaklarının çeşitliliği ve tuz toleransı nedeni ile ürünün mikrobiyolojik güvenliği açısından belirlenmesi amaçlanmıştır. Ancak hiçbir örnekte *S. aureus* izolasyonu gerçekleştirilememiştir. Benzer sonuç denemede kullanılan turşu örneklerinde gözlenmiştir.

Enterobacteriaceae sayımı Yıldız (2011) tarafından belirtilen değerlerle (<1 log kob/ml) benzerlik göstermediği görülmüştür.

Deneme verileri tuz muhtevası açısından incelendiğinde, hem Yıldız (2011) tarafından belirtilen değerlerle (3,66) hem de Karasu (2006) tarafından belirtilen değerlerle (3,96) benzerlik göstermediği belirlenmiştir. Denemede kullanılan numunelere ait ortalama tuz muhtevası her iki araştırmacının rapor ettiği değerlerden az bulunmuştur.

Asitlik için elde edilen değerler Yıldız (2011) tarafından belirtilen değerlerle (1,11) benzerlik gösterdiği görülmüştür. Ancak Karasu (2006) tarafından belirtilen değerlerle (1,58) mukayese edildiğinde daha az ortalama değere sahip oldukları belirlenmiştir.

pH değerleri nispeten yüksek olmakla beraber Yıldız (2011) tarafından belirtilen ortalama değere (3,51) daha yakın olduğu, Karasu (2006) tarafından belirtilen değerden ise (3,53) bir miktar yüksek olduğu görülmektedir.

Türk Standartları Enstitüsünün turşu çeşitleri ile ilgi ilgili lahana (TS 4200), karışık (TS 4214), patlıcan (TS 4213), biber (TS 4199), hıyar (TS 11112), havuç (TS 5984) gibi farklı standartları olmakla beraber ürünün mikrobiyolojik özelliği hakkında bilgi

bulunmamaktadır. Kimyasal özellikleri ile ilgili olarak ise nispeten benzer rakamlar gözlenmektedir. Kullanımda olan mevcut standartların tarihi ise 1990 yılına değin uzanmaktadır. Lahana ve karışık turşuda toplam asitlik miktarı salamura da en düşük %0,5 en yüksek 2,0 arasında olması istenirken, hıyar turşularında bu değerin %1-2 arasında olması istenmektedir. Denemede kullanılan turşu örneklerine ait genel ortalama dikkate alındığında ilgili standartları karşıladığı gözlenmektedir. Tuz değeri açısından ilgili standartlar incelendiğinde maksimum değerin %6-7 olabileceği bildirilmiştir. Deneme verileri tuz muhtevası açısından incelendiğinde maksimum değerin %4,21 olduğu, dolayısı ile ilgili standarda uygun oldukları belirlenmiştir.

Mayaların, turşu gibi fermente meyve ve sebze ürünlerin mikroflorasındaki varlığı yapılan birçok araştırma ile kanıtlanmıştır (Pederson 1971; Etchells *et al.* 1975; Şahin 1978; Costilow *et al.* 1980; Fleming 1982, Daeschel *et al.* 1988; Deak ve Beuchat 1988; Gönülüm 1994; Aktan 1998; Özçelik vd 2000; Uylaşer vd 2004; Albayram 2007; Anonim 2007; Fleet 2007; Yıldız 2011). Ülkemizde turşudan maya izolasyon ve tanısına yönelik çalışmalar ise oldukça azdır.

Albayram (2007) Samsun ve Mersin piyasasından elde ettiği 59 turşu örneğinden 99 adet maya izole etmiştir. Yaptığı çalışmada biyokimyasal (tuza dayanıklılık testi, üre hidrolizi, %50 glikozda gelişme testi, karbonhidrat fermentasyonu, antibiyotik direnci, vs.) ve morfolojik testler kullanarak izolatları tanılamaya çalışmıştır. Sonuç olarak *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Pichia* ve *Torulospira* cinslerine ait suşların varlığı rapor edilmiştir. Araştırma bulguları ilgili çalışma ile mukayese edildiğinde *Pichia*, *Candida* cinslerin ortak olarak izole edildiği ancak diğer 2 cinsin benzerlik göstermediği tespit edilmiştir.

Yıldız (2011)'ın yaptığı çalışmada ise tüplerde API 20 C AUX kullanılarak mayalar tür bazında tanımlanmıştır. Bunun için 12 adet ev yapımı turşu örneğinsalamura kısmından 14, meyve kısmından 14 olmak üzere toplam 28 adet maya izole etmiştir. *Candida*, *Geotrichum*, *Saccharomyces*, *Sporobolomyces* cinsleri olarak tanımlamış ve en baskın türün ise *Candida boidinii* olduğu belirlenmiştir. Araştırma bulguları ilgili

Çalışma ile mukayese edildiğinde *Candida* cinslerin ortak olarak izole edildiğı ancak diğler 3 cinsin benzerlik göstermediğı tespit edilmiştir.

Gönlüm (1994) klasik yöntemlerle ön tanısı gerçekleştirilmiş 100 maya suşunun tekrar tanısı amacı ile API 20 C, API 20 C AUX ve API ID 32 C kitleri kullanmıştır. Sonuç olarak tanı amacı ile kit kullanımının oldukça başarılı olduğunu belirtmiştir. Ancak ilgili çalışmada farklı bir metot (genetik veya immünolojik) veya standart suş kullanımının söz konusu olmadığı görölmektedir. Oysa çalışmamızda tanı amacı ile hem kit hem de sekans analizi gerçekleştirilmiş olup genetik tanı sonucunun daha güvenilir olduğu belirlenmiştir. Öte yandan konu ile ilgili kaynaklarda da benzer tavsiyelerde bulunmaktadır (Deak 2008) Benzer sistemi kullandığımız çalışmamız da kit sisteminin 24. ve 48. saatler de bile farklı sonuçlar verdiği görölmektedir. Hatta bazen %90 ve üzeri benzerlik oranı verilen örneklerde dahi sonuç değişebilmektedir. Bu da ilave test ihtiyacı doğurmakta ve önemli şüphe ve zaman kaybına neden olmaktadır. Ayrıca biyokimyasal yöntemler incelendiğinde metodun mayaların şeker kullanımı dikkate alınarak işlediğı görölmektedir. Fakat mayaların beslenme şekillerinin oldukça değişken olduğu ve mutasyon ihtimali de düşünülürse moleküler yöntemlerin daha doğru sonuçlar vereceğı görölmüş olur (Boekhout & Robert 2003; Fern'andez- Espinar *et al.* 2006).

Uylaşer ve arkadaşları (2004)'nın yaptıkları bir diğler çalışmada yüzeyde zar yapan ve ürüne zarar veren *Hansenula*, *Torulaspora*, *Torulopsis*, *Kloeckera* ve *Candida* cinsi mayaların turşuda görölebileceğı rapor edilmiştir. Araştırma sonuçları belirtilen maya cinsleri ile karşılaştırıldığında genetik tanı sonucu ile uyum göstermediğı API test kit sonucu ile nisbi benzer olduğu görölmektedir.

Ürünün mikroflorası ile ilgili farklı kaynaklarda farklı veriler bulunmakla beraber meyve ve sebze kökenli diğler fermente gıdalar ile mukayese edildiğinde özellikle genetik tanı sonuçlarının benzer ürünlerde bulunabilecek maya türleri ile örtüştüğü gözlenmektedir (Fleming 1982; Deak 2008; Fırat 2012). Mayaların yaşam toleransları (pH, a_w , vs.) geniş aralıklarda olduğu için peynir (Apan 2007), asma yaprağı (Fırat

2012), zeytin (Albayram 2007; Yıldız 2011) gibi birçok gıdada varlığı söz konusudur. Araştırma bulguları ilgili literatürle mukayese edildiğinde farklı oranlarda benzerlikler görülmektedir.

5.1. Sonuç

1. Çalışmada ürün güvenliği açısından herhangi bir patojen mikroorganizmaya rastlanılmamıştır. Ancak 6 örnekte düşük sayıda Enterobacteriaceae tespit edilmiştir.
2. Numunelerin incelenen tüm özellikleri açısından geleneksel ve ticari üretim arasında istatistiksel olarak önemli derecede farklar olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$).
3. Genel mikrobiyolojik veriler gözden geçirildiğinde TAMB sayısının 4.58, Psikrotrofilik bakteri sayısının 0.48, Maya ve küf sayısının 2.81, Laktobasillerin 4.49, laktokokların 4.36, Enterobacteriaceae 0.27, *Enterococcus* 2.00 log kob/ml ortalama değerlerine sahip olduğu gözlenmiştir.
4. Denemede *Pseudomonas* ve *S. aures* belirlenmemiştir.
5. Çalışmada kimyasal özelliklerden asitlik (% laktik asit), tuz (%) ve pH belirlenmiş olup 43 örneğe ait ortalama değerler sırası ile 0.94, 2.29 ve 3.74 olarak belirlenmiştir.
6. Çalışmada elde edilen 83 izolatın 12 suştan ibaret olduğu, bunların 9 tür ve 4 cins oldukları belirlenmiştir (Çizelge 4.3).
7. Elde edilen sekans sonuçları ilgili kütüphanelerle karşılaştırıldığında izole edilen 12 suşun; *Pichia kudriavzevii*, *Pichia kluyveri*, *Hanseniaspora opuntiae*, *Candida aff. sorboxylosa*, *Hanseniaspora uvarum*, *Pichia fermentans*, *Pichiabarkeri*, *Kazachstania exigua*, *Pichia membranifaciens* türlerinden oluştuğu gözlenmiştir.
8. Deneme sonucunda turşuda en sık rastlanan türün *Pichia kudriavzevii* (%20,48), en sık belirlenen cinsin ise *Pichia* (%53.54) olduğu belirlenmiştir.
9. Denemede tanı amacı ile biyokimyasal test temelli API ID 32C ve genetik temelli sekans işlemleri gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak genetik tanının hızlı ve güvenilir olması nedeni ile diğer tanı metotlarından daha uygun olduğu tespit edilmiştir.
10. Ürünün fermentasyonunun ideal şartlarda geliştirilmesi raf ömrü, aroması ve sağlık açısından daha değerli olması nedeni ile konu ile ilgili araştırmaların artırılarak devam

etmesi, uygun starter geliştirilmesi sağlanarak standart kalitede daha iyi ürünlerin üretimi önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

- Akbaş, L. G., 2006. Değişik turşularda biyojen amin miktarları üzerine Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Aktan, N., Yücel, U. ve Kalkan, H., 1998. Turşu Teknolojisi. Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları No: 23, 138 s, İzmir.
- Aktan, N., Kalkan, H. ve Yücel, U. (1999) Turşu Teknolojisi, Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları, No:23, 148s.
- Albayram, C., 2007. Turşu ve Zeytinde Gelişen Mayaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Anonim, 1993. TS 11112 Türk Standardı: Hıyar Tursusu, Türk Standardları Enstitüsü, Ankara, 9s.
- Anonim, 2002. Toplam Asit Tayini, TSE:1125, Necatibey Cad. No:112, Bakanlıklar, Ankara.
- Anonim, 2002. Sofralık Zeytin, TSE:774, Necatibey Cad. No:112, Bakanlıklar, Ankara.
- Anonim, 2003. Gıda maddeleri tüketim harcaması miktarları ve toplam değerleri, <http://www.tuik.gov.tr/PreIstatistikTablo.do?>, 21,10,2011.
- Anonymous, 2005 b. World Cancer Research Fund/ American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: A Global Perspective 1997.
- Anonymous, 2013, Yeast Cell, <http://uregina.ca/~babu200m>, 07.02.2013.
- Anonim, 2007. Turşu ve Salamura Yapımı. İzmir.
- Apan, M., 2007. Beyaz Peynirlerin Yüzeyinde Gelişen Mayaların İzolasyonu ve İdentifikasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Arroyo-López, F. N., Querol, A., Bautista-Gallego, J. ve Garrido-Fernandez, A., 2008. Role of yeast in table olive production. International Journal of Food Microbiology, 128, 189-196.
- Aydın, M. 2004. Bakteri identifikasyonunda kullanılan standart biyokimyasal ve fizyolojik testler. Ed: Cengiz, Mısırlıgil, Aydın., Tıp ve diş hekimliğinde genel ve özel mikrobiyoloji, 11, 91-110. Güneş Yayınevi, Ankara.
- Ayhan, K., 2000. Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar, Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara, 55-56.
- Bailey, J. S., Lyon B. G., Lyon C. E. and Windham W. R., 2000. The microbiological profile of chilled and frozen chicken, J Food Microbiol., 63 (9)1228-1230.
- Boekhout, T., & Robert, V. (2003). Yeast in food. Beneficial and detrimental aspects. Cambridge: CRC Press.
- Beukes, E. M., Bester, B. H. and Mostert, F. 2001. The microbiology of South African traditional fermented milks. International Journal of Food Microbiology, 63, pp. 189-197.
- Block, G., Patterson, B., Subar, A. 1992. Fruit, Vegetables and Cancer Prevention: A Review of the Epidemiological Evidence. Nutr Cancer. 12:1-29
- Board, R. G., Jones, D. and Jarvis, B. 1995. Microbial Fermentation: Beverages, Foods and Feeds. Journal of Applied Bacteriology, 79, pp. 505.

- Borgstorm, G. 1986. Principal of food science, Vol 2. Food Microbiology and Biochemistry. New York, Macmillian, pp. 625.
- Breidt, F. Jr., McFeeters, R. F. and Diaz-Muñiz, I. 2007. Food Microbiology Fundamentals and Frontiers, 783-793, 3rd Ed. ASM Press, Washington D.C.
- Cemeroğlu, B. 2010. Gıda Analizleri. 2. Baskı, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:34, Ankara.
- Chanchaichavivat, A., Ruenwongsa P., and Panijpan B., 2007. Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: Potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichum capsici*), Biological Control 42:326–335.
- Chen, M., Zeng, G., Tan, Z., Jiang, M., Zhang J., Zhang, C, Lu L, Yuzhen Lin Y., Peng, J., 2011. Compound microsatellites in complete *Escherichia coli* genomes. FEBS Letters, 585, 1072–1076.
- Choi, M.H. ve Park, Y.H., 2003. Production of yeast biomass using waste Chinese cabbage. Biomass and Bioenergy 25, 221–226.
- Cingöz, Esra, 2005. Samsun’da Tüketilen Hıyar Turşularının Bileşimi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Costilow, R. N., Gates, K. ve Lacy, M.L., 1980. Molds in Brined Cucumbers: Cause of Softening During Air- Purging of Fermentations. Appl. Environment. 1980. 40 (2): 417-422.
- Çalış, S. ve Akbulut, N. 1992. Tatlı Ve Tatlı Ekşi Turşuların Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Gıda 17 (6): 399-403.
- Çalış, S. ve Akbulut, N., 1993. Hıyar, lahana, biber, havuç ve domates turşularının özellikleri üzerinde bir araştırma. Gıda 18 (3): 207- 213.
- Çelebi, E., 2007. Fast Food Köprü oldu, Dünyaya 170 Milyon Euro’luk turşu gitti. Ankara,
- Çetin B., 2011. Production of probiotic mixed pickles (turşu) and microbiological properties. African Journal of Biotechnology, 10 (66) 14926-14931.
- Çetin, B., 2012. Gıdalarda Klasik Ve Moleküler Tanı Teknikleri. Yayınlanmamış Ders Notları.
- Daeschel, M.A., Andersson, D.E., Flemming, H.P., 1987. Microbial ecology of fermenting plant materials Fems Microbiology Reviews 46 357-367.
- Daeschel, M.A., Fleming, H.P. ve McFeeters, R.F., 1988. Mixed Culture Fermentation of Cucumber Juice with *Lactobacillus Plantarum* and Yeasts. Journal of Food Science, Vol. 53, No.3, pp. 862-864.
- Deák, T. and Beuchat, L. R., 1988 Evaluation of simplified and commercial systems for identification of foodborne yeasts. Int. J. Food Microbiol. 7:135–145.
- Deak, T., 2008. Handbook of Food Spoilage Yeasts, Second Edition. CRC Press Boca Raton.
- Dursun, D., 2010. Ankara Çubuk Yöresi Turşularından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Toplam Hücre Protein Profillerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Etchells, J. L., Costilow, R. N., Anderson, T. E. ve Bell, T. A., 1964. Pure Culture Fermentation of Brined Cucumbers. Applied microbiology. Vol. 12, No. 6, 523-535p.

- Etchells, J. L., Fleming, H. P., and Bell, T. A. 1975. Factors influencing the growth of lactic acid bacteria during the fermentation of brined cucumbers. *In: Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food* (eds. Carr, J. G., Cutting, C. V., and Whiting, G. C.). Academic Press, London. pp. 281–305.
- Fernandez-Espinar, M. T., Martorell, P., de Llanos, R., & Querol, A. (2006). Molecular methods to identify and characterize yeast in foods and beverages. In A. Querol & G. H. Fleet (Eds.), *Yeast in food and beverages. The yeast handbook* (pp. 1–13). Berlin: Springer.
- Fırat, M. Ç., 2012. Geleneksel ve Endüstriyel Yöntemlerle Üretilmiş Salamura Asma Yapraklarının Mikroflorasının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Fleming H.P., McFeeters R.F., 1981. Use of Microbial Cultures: Vegetable products. *Food Technology*. January. 84-88.
- Fleming, H. P. (1982) Fermented vegetables. In: *Economic Microbiology*, Vol. 7. *Fermented Foods* (ed. Rose, A. H.). Academic Press, London. pp. 227–258.
- Fleet G.H., 2007. Yeasts in Foods and Beverages: Impact on Product Quality and Safety. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18 (2): 170-5s.
- Flórez, A.B., Martín, P.A., López-Díaz, T.M., Mayo, B., 2007. Morphotypic and molecular identification of filamentous fungi from Spanish blue-veined Cabrales cheese, and typing of *Penicillium roqueforti* and *Geotrichum candidum* isolates. *International Dairy Journal*, 17, 350-357.
- 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, 338-344.
- Gardini, F., Suzzi, G., Lombardi, A., Galgano, F., Crudele, M. A., Andrighetto, C., Schirone, M. & Tofalo, R. (2001). A survey of yeasts in traditional sausages of southern Italy. *FEMS Yeast Research*, 161–167.
- Giraffa, G. (2004) Studying The Dynamics of Microbial Population During Food Fermentation. *FEMS Microbiology Reviews*, 28: 251-260.
- Goretti, M., Turchetti, B., Buratta, M., Branda, E., Corazzi, L., Vaughan-Martini, A. ve Burzini, P., 2009. In vitro antimycotic activity of a *Williopsis saturnus* killer protein against food spoilage yeast. *International Journal of Food Microbiology*, 131 (2-3), 178-182.
- Gönlüm, A., 1994. Maya ve Maya Benzeri Fungusların Klasik Yöntemler ve Hazır Kit Sistemleri ile Karşılaştırmalı İdentifikasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı. Ankara.
- Graham, S., Dayal, H., Swanson, M., Mittelman, A., Wilkinson, G. 1978. Diet in the Epidemiology of Cancer of the Colon and Rectum. *J Nat Cancer Inst.* 61 (3): A369.
- Güven, S., 1998. Turşu Üretim Tekniği. Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı Yayın No:32. 1-88. Yalova.
- Harrigan, W.F., 1998. *Laboratory Methods in Food Microbiology*, Academic Press, San Diego, USA, 532 p
- Harris, L.J., 1998. The Microbiology of Vegetable Fermentations, (B.J.B. WOOD, editor), *Microbiology of Fermented Foods*, Blackie Academic and Professional, London, p. 45-72.

- Hesham, A. L. and Hashem M. M., 2010., Molecular Genetic Identification of Yeast Strains Isolated from Egyptian Soils for Solubilization of Inorganic Phosphates and Growth Promotion of Corn Plants, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 21 (1), 55–6.
- Holzappel, W. 1997. Use of Starter Cultures in Fermentation on a Household Scale, *Food Control*, 8 (5/6): 241-258.
- Horwitz, W. and Latimer G. W., 2005, *Staphylococcus aureus* in Foods (AOAC Official Method 987.09), official methods of analysis of AOAC International (18th edition), Maryland, USA.
- Hutkins, R., 2006. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Blackwell Publishing, Garsington Road, Oxford.
- Kabak, B. ve A. D. W., Dobson, 2011. An Introduction to the Traditional Fermented Foods and Beverages of Turkey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51:248–260.
- Karasu, N., 2006. Turşu ve Zeytinden Antagonistik ve Probiyotik Özellikte Laktik Starter Kültür Eldesi. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Karasu Yalçın, S., Şenses, Ergül, Ş., Özbaş, Z.Y., 2010. Moleküler Esaslı Yöntemlerin Gıda Kaynaklı Mayaların Tanımlanmalarında Kullanılmaları *Gıda* 35 (5) 379-386
- Kazancı, Y. T., 2008. Hıyar Turşusu Üretiminde Farklı Asit Ve pH'nın Renk Stabilitesi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Klug, S.W., Cummings, MR., Spencer, CA., 2009. Genetik Kavramlar. Çeviri editörleri: Ömer, C., Sümer, S., Öner, R., Ögüş, A., Açık, L., Palme Yayıncılık, Ankara.
- Leroy, F., De Vuyst, L. (2004) Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for the Food Fermentation Industry, *Trends in Food Science & Technology*, 15: 67-78.
- Li, K.Y., 2004. Fermentation: Principles and Microorganisms. In: *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology*. Marcel Dekker Inc, Madison Avenue, New York. p. 595-610.
- Lity, M. Ve Luty, J. A., 1989. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 44: 397-401.
- Löke M., Kristjuhan K., Kristjuhan A., 2012. Yeast genomic DNA extraction with LiOAc-SDS (Protocol for: Extraction of genomic DNA from yeasts for PCR-based applications), *BioTechniques Protocol Guide*, 395.
- López-Díaz, T. M., Alonso, C., Román, C., García-López, M. L. and Moreno, B. 2000. Lactic acid bacteria isolated from a hand-made blue cheese. *Food Microbiology*. 17, pp. 23-32.
- Maturin L.J. and Peeler J.T., 1998. Aerobic plate count, (Chapter 3), *Bacteriological Analytical Manual (BAM, 8th edition)*, Food and Drug Administration, Gaithersburg, MD, USA. P. 17-26.
- 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.

- Nel S., Lues J.F.R., Buys E.M., Venter P., 2004. Bacterial populations associated with meat from the deboning room of a high throughput red meat abattoir, *Meat Science* 66: 667–674.
- Nilsson, J., STEGMARK, R. AND AKESSON, B. 2004. Total Antioxidant Capacity in Different Pea Varieties After Blanching and Freezing. *Food Chemistry* 86, pp.501-507.
- Nout, R., 2001. Fermented Foods and Their Production. In: *Fermentation and Food Safety*, Eds M.R. Adams and M.J.R. Nout. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland. p.1-19.
- Nunez, F., Rodr'iguez, M. M., C'ordoba, J. J., Berm'udez, M. E., & Asensio, M. A. (1996). Yeast population during ripening of dry-cured Iberian ham. *International Journal of Food Microbiology*, 29, 271–280.
- Ova, G., 2002. Hıyar Tursularında Duyusal Kalite Karakteristiklerin İncelenmesi. *Gıda*, 27 (4): 315-319.
- Özçelik, F. ve İç, E. 1996. Hıyar Tursusu Üretiminde Kontrollü Fermentasyon. *Gıda*. 21 (1). 49-53s.
- Özçelik, F., İç, E. ve Yıldız, Ş., 1998. Hıyar Turşusu Üretiminde pH Stabilitesinin Fermentasyon Üzerine Etkisi. *Gıda*, 23 (2):87-95.
- Özçelik, F. ve İç, E., 2000. Hıyar Turşularının Düşük Tuz Konsantrasyonlarında Depolanması Üzerine Bazı Koşulların Etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 6 (4), 115-119.
- Özçelik, F., Ulu, T. (2002) Dep olanmış Hıyar Tursularının Sertliği ve Duyusal Özellikleri Üzerine pH'nın Etkisi, *Gıda*, 27 (6): 521-527.
- Pamir, H., 1984. Fermentasyon Mikrobiyolojisi Uygulama Kılavuzu. 107s, Ankara.
- Park, E.J., Chang, H.W., Kim, K.H., Nam, Y.D., Roh, S.W. ve Bae, J.W., 2009. Application of Quantitative Real-Time PCR for Enumeration of Total Bacterial, Archaeal, and Yeast Populations in Kimchi. *The Journal of Microbiology*, 47 (6), s 682-685.
- Pederson, C. S. 1971. *Microbiology of Food Fermentations*. AVI Publ. Co., Westport, CT.
- Pichhardt, K., 2004. *Gıda mikrobiyolojisi (Gıda Endüstrisi için Temel Esaslar ve Uygulamalar) (çevirenler: Y. Sekin, N. Karagözlü)*, Literatür Yayıncılık, İstanbul, Türkiye.
- Ross, R.P., Morgan, S. and Hill, C. (2002) Preservation and Fermentation: Past, Present and Future, *International Journal of Food Microbiology*, 79: 3-16.
- Saginur, R., Clecner, B., Portnoy, J. and Mendelson, J. 1982. Superoxol (Catalase) test for identification of *Neisseria gonorrhoeae*. *Journal of Clinical Microbiology* Mar., pp. 475-477.
- Savard, T., Beaulieu, C., Gardner, N. J. Ve Champagne, C. P., 2002. Characterization of spoilage yeast isolated from fermented vegetables and inhibition by lactic, acetic and propionic acids. *Food Microbiology*, 19 (4), 363-373.
- Sert, S., 2000. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Notları, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları No: 138, Erzurum.

- Sezer, A., 2008. Ilıman İklim Meyve Türlerinde Çeşit ve Tiplerinin Moleküler Tekniklerle Karakterizasyonu. Fındık Araştırma Enstitüsü, [http://www.google.com.tr/url?sa=t &rct= j&q =il %C4 %B1man %20iklim %20meyve %20t %C3 %BCrlerinde %20 %C3 %A7e %C5 %9Fit %20 ve %20tiplerinin %20molek %C3 %BCler %20 tekniklerle %20karakterizasyonu &source =web&cd =1&ved =0CBsQFjAA&url =http %3A %2F %2Fwww.fae.gov.tr %2Fyuklenenler %2Fdosyalar %2Fmolekuler-karakterizasyona.sezer--kopya.ppt&ei=D4nfTtj3EbL64QS888HLBg&usg=AFQjCNH4UC-PqN7HwCFTeHDzAKOHm5wrPw&sig2=5SMCeatxoIvmu3stXwj0EQ](http://www.google.com.tr/url?sa=t&rct=j&q=il%C4%B1man%20iklim%20meyve%20t%C3%BCrlerinde%20%C3%A7e%C5%9Fit%20ve%20tiplerinin%20molek%C3%BCler%20tekniklerle%20karakterizasyonu&source=web&cd=1&ved=0CBsQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.fae.gov.tr%2Fyuklenenler%2Fdosyalar%2Fmolekuler-karakterizasyona.sezer--kopya.ppt&ei=D4nfTtj3EbL64QS888HLBg&usg=AFQjCNH4UC-PqN7HwCFTeHDzAKOHm5wrPw&sig2=5SMCeatxoIvmu3stXwj0EQ) (07.12.2011)
- Silva-Filho E. A., Brito dos Santos S. K., Resende A., Morais J.O.F., Morais M. A. and Simoes D. A., 2005. Yeast population dynamics of industrial fuel-ethanol fermentation process assessed by PCR-fingerprinting, *Antonie van Leeuwenhoek*, 88:13–23.
- Speck, M. L., 1984. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association, Washington.
- Steinkraus, K. H. 1983. Lactic acid fermentation in the production of foods from vegetables, cereals and legumes. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 49, 337-348.
- Steinmetz, K., Potter, J. 1996. Vegetables, Fruit and Cancer Prevention: A Review. *J Am Diet Assoc.* 96:1027-39.
- Sürücüoğlu, M.S. ve Özçelik, A.Ö. 2003. Çubuk İlçesi Aşağı Çavundur Köyü Turşuculuğu. *Folklor Halk Bilim Dergisi*, 6 (52); 35-43.
- Şahin, İ., 1978. Tursularda Rastlanan Mayalar Üzerine Bir Arastırma. *Ankara Üniversitesi Fakültesi Yıllığı*. 28, 389-402.
- Şahin, İ., 1985. Turşu. *Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı Yayın No: 11*. 1-65. Yalova.
- Şahin, İ., 1997. Tursu, *Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı*, Yayın No:29, Yalova, 64s.
- Şahin, İ., Akbas, H. (2001) Hıyar Tursularında Yumusaklığın Önlenmesi ve Kullanılabilecek CaCl₂ Miktarının Belirlenmesi, *Gıda*, 26 (3): 333-338.
- Tautz, D., Trick, M. ve Dower, G., 1986. Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. *Nature* 322: 652-656.
- Temmerman, R.; Huys, H. ve Swings, J., 2004. Identification of lactic acid bacteria; culture-dependent and culture independent methods. *Trends in Food Science & Technology*, 15 (7-8), 348-359.
- Togan, I., Soysal, M.J., Attunok, V., Özkan, E., Koban, E., 2003. Popülasyon Genetiği Çalışmalarında Kullanılan Yeni İstatistik Yöntemler, GAP 3. Tarım kongresi, 2-3 Ekim, Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Şanlıurfa.
- Tournas V., Stack M. E., Mislivec P. B., Koch H. A. and Bandler L., 1998. Yeasts, molds and mycotoxins (Chapter 18), *Bacteriological Analytical Manual (BAM, 8th edition)*, Food and Drug Administration, Gaithersburg, MD, USA. 227-234.
- Trias, R., Baneras, L., Montesinos, E. Ve Badosa, E., 2008. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. *International Food Microbiology*, 11, 231-236.

- Turgut, Z., 2006. Starter Kültür Kullanılarak Üretilen Hıyar Turşularında Biyojen Aminoluşumu Üzerine Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ulu, T. 2001. Hıyar turşularının dep olama stabilitesi üzerine pH'nın etkisi. Yüksek lisans tezi (basılmamış). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 47 s, Ankara.
- Ün, C., Wimmers, K., Ponsuksili, S., Schmoll, F., Schellander, K., 2000. Mikrosatellitler ve Kullanım Alanları. Hayvansal Üretim, 41, 9-14.
- Uylaşer, V. ve Erdem, F., 2004. Stoklanmış Hıyarlardan Farklı Uygulamalarla Turşu Üretimi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18 (1): 81-92.
- Vasdinyei, R. and Deák T., 2003. Characterization of yeast isolates originating from Hungarian dairy products using traditional and molecular identification techniques, *International Journal of Food Microbiology* 86:123–130.
- Viljoen, B. C., 2006. Yeast Ecological Interactions. Yeast–Yeast, Yeast–Bacteria, Yeast–Fungi Interactions and Yeasts as Biocontrol Agents. *Yeasts in Food and Beverages*, Ed: Amparo Querol, Graham Fleet. Springer, Germany, 83-110.
- Wessels, S., Axelsson, L., Hansen, E. B., De vuyst, L., Laulund, S., Lahteenmaki, L., Lindgren, S., Mollet, B., Salminen, S., Wright, A. V., 2004. The lactic acid bacteria, the food chain and their regulation. *Trends in food science & Technology*, 25 498-505.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, eds. Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White. Academic Press, Inc., New York.
- Yılmaz, N., 2008. Konserve meyve ve sebze Türkiye'nin dış ticareti, <http://www.gidasanayii.com>. (05.02.2013).
- Yıldız, H., 2011. Turşu ve Zeytinlerden Laktik Asit Bakterileri İle Mayaların İzolasyonu-İdentifikasyonu ve Elde Edilen İzolatların Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

ÖZGEÇMİŞ

1 Kasım 1989 yılında Erzurum'un Olur ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğretimini Erzurum'un Oltu ilçesinde tamamladı. 2006'de Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nü kazandı. 2010'da mezun oldu ve yine aynı tarihte Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisansa başladı. Halen devam etmektedir.