

**SEBZE SULARINDA LAKTİK ASİT FERMENTASYONU İLE FERMENTE
SEBZE SUYU ÜRETİMİ**

NESRİN KURTAR

78362

ME. Ü.
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERSİN
OCAK - 1998

78362

30. YÜZ YIL
BİLİM KURULU
DURUMUNUN MERSİNİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu çalışma, jürimiz tarafından, Gıda Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

18./2/1998

Başkan : Doç. Dr. Nafi ÇOKSÖYLER

Üye : Doç. Dr. H. İbrahim EKİZ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Nursel IŞIKLI

NMF
H. Ekiz
N. Işikli

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 3./4./1998 gün ve 98./9...sayılı kararı ile onaylanmıştır.

NMF
Mersin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZ

Havuç ve salatalıktan elde edilen sebze suları laktik asit bakterilerinden *L. plantarum* ile fermentasyona uğratılmıştır. Fermentasyon süresince elde edilen sebze sularında şeker tüketimi, asitlik, pH tayini ve direk mikroskopik bakteri sayımı gibi parametreler temel alınarak sebze sularının karakteristik özellikleri belirlenmiştir. Mikroorganizma sayısından Modifiye Gompertz Eşitliği kullanılarak modelin gelişim parametreleri hesaplanmıştır. Spesifik gelişim hızı (μ_{max}) havuç suyu için 0.97 saat^{-1} ; salatalık suyu için 0.75 saat^{-1} olarak bulunmuştur. Fermentasyon süresince havuç ve salatalık sularında asitlik artarken, şeker miktarı ve pH'nın azaldığı tespit edilmiştir. 12 saatlik fermentasyon periyodunun sonunda havuç suyu için asitlik (laktik asit cinsinden) 0.70 g/100 mL , pH 4.06; salatalık suyu için asitlik (laktik asit cinsinden) 0.52 g/100 mL ve pH 3.82 olarak saptanmıştır. Havuç suyunda invert ve toplam şeker miktarları; sırasıyla 2.10 g/100 mL ve 4.68 g/100 mL olarak tespit edilirken, salatalık suyu için bu değerler sırasıyla 1.64 g/100 mL ve 1.66 g/100 mL olmuştur. Hazırlanan sebze sularıyla yapılan duyusal analiz sonucunda laktoferment havuç ve salatalık suları beğeniye sunulmuş ancak içimi yeterince kabul edilebilir bulunmamıştır.

ABSTRACT

Vegetable juices obtained from carrots and cucumbers were fermented with *L. plantarum*. During the fermentation period, characteristics of vegetable juice were determined by various parameters, like sugar consumption, acidity, pH and direct microscopic count. Growth parameters were estimated by using final microbial load in Modified Gombertz Equation Model. During the incubation period it was determined that acidity in vegetable juices increased whereas amount of sugar and pH decreased. The specific growth rate (μ_{\max}) was found as 0.97 hr^{-1} for carrot juice and for cucumber juice as 0.75 hr^{-1} . After 12 hours of fermentation period, acidity for carrot juice was determined 0.70 g/100 mL (as lactic acid basis), pH4.06 and for cucumber juice was 0.52 g/100 mL (as lactic acid basis), pH3.82 . The amount of invert and total sugar in the carrot juice were measured as 2.10 g/100 mL and 4.68 g/100 mL , respectively, while in cucumber juice these values were 1.64 g/100 mL , respectively. Lactoferment carrot and cucumber juices were presented to taste with sensory analysis; but their taste were not found acceptable sufficiently.

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında büyük emekleri geçen ve hiç bir zaman desteğini esirgemeyen Sayın Hocam Doç. Dr. Nafi ÇOKSÖYLER'e, yardımcı danışman hocam Yrd. Doç. Dr Erşan KARABABA'ya ve her zaman yakın ilgisini hissettiren Sayın Yrd. Doç. Dr. Nursel IŞIKLI'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma kültürünü temin eden Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölüm Hocalarından Prof. Dr. Yavuz BEYATLI'ya, deneylerin bir kısmının gerçekleştirilmesinde yardımcı olan İl Kontrol Laboratuvar çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım sırasında her türlü yardımda bulunan Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Doç. Dr. H. İbrahim EKİZ'e, tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma, laboratuvar çalışanlarına ve Arş. Gör. Devlet DEMİREL'e ile Arş. Gör. Meltem ÜRGÜN'a tüm yardımlarından dolayı sonsuz teşekkürler.

Ve son olarak da benden hiç bir yardımı esirgemeyen, desteklerini her zaman hissettiren sevgili aileme, Arş. Gör. A. Arzu AKKAN'a ve nişanlım Dz. Ütgm. C. Alper BOZBIYIK'a tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA NO</u>
ÖZ.....	III
ABSTRACT.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
ÇİZELGE LİSTESİ.....	VIII
ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
2.1. Laktik Asit Fermantasyonu ile İlgili Çalışmalar.....	6
2.2. Mikroorganizma Gelişiminde Matematiksel Modellerin Kullanımı.....	10
3. MATERYAL ve METOT.....	16
3.1. Materyal.....	16
3.1.1. Kimyasallar ve Besiyerleri.....	16
3.1.2. Ayıraç ve Çözeltiler.....	16
3.1.3. Çalışma Kültürü.....	16
3.1.4. Deney Materyali.....	17
3.2. Metod.....	18
3.2.1. Çalışma Kültürü (<i>L. plantarum</i>)'nün Hazırlanması.....	18
3.2.2. Mikroorganizma Sayımı.....	18
3.2.3. Asitlik Tayini.....	19
3.2.4. pH Tayini.....	20
3.2.5. Şeker Tayin Yöntemi.....	20
3.2.6. Gelişim Parametrelerinin Hesaplanması.....	20
3.2.7. İstatiksel Analizler.....	21
3.2.8. Duyusal Analizler.....	21
3.2.9. Laktoferment Sebze Suyu Üretimi.....	24
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	26
4.1. Sebze Sularında Fermantasyon Sürecinde Asitlik ve pH Değişimi.....	26
4.1.1. Havuç Suyunda Asitlik ve pH Değişimi.....	26
4.1.2. Salatalık Suyunda Asitlik ve pH Değişimi.....	30

4.2	Sebze Suyunda Fermantasyon Sürecinde Şeker Miktarındaki Değişim.....	32
4.2.1	Havuç Suyunda Fermantasyon Sürecinde Şeker Miktarındaki Değişim.....	32
4.2.2	Salatalık Suyunda Fermantasyon Sürecinde Şeker Miktarındaki Değişim.....	37
4.3.	Sebze Sularında <i>L. plantarum</i> 'un Gelişimi.....	41
4.3.1	Havuç Suyunda <i>L. plantarum</i> 'un Gelişimi.....	41
4.3.2	Salatalık Suyunda <i>L. plantarum</i> 'un Gelişimi.....	44
4.4.	Elde Edilen Fermente Sebze Sularının Duyusal Değerlendirilmesi.....	46
5.	SONUÇLAR.....	51
	KAYNAKLAR.....	53
	EKLER.....	58
	ÖZGEÇMİŞ.....	59
	ÖZET.....	60
	SUMMARY.....	62



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 3.1.	Deneyde Kullanılan Havuç ve Salatalık Sularının Kimyasal Özellikleri.....	17
Çizelge 3.2.	Sebze Sularına İlişkin Duyusal Testler Değerlendirme Formu....	23
Çizelge 4.3.	Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyundan Alınan Örneklerde Asitlik ve pH Değişimi.....	26
Çizelge 4.4.	Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerde Asitlik ve pH Değişimi.....	30
Çizelge 4.5.	Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyundan Alınan Örneklerde Şeker Miktarındaki Değişmeler.....	33
Çizelge 4.6.	Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyunda İvert Şeker Miktarındaki Azalış ve Asit Miktarındaki Artış.....	36
Çizelge 4.7.	Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerde Şeker Miktarındaki Değişmeler.....	37
Çizelge 4.8.	Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyunda İvert Şeker Miktarındaki Azalış ve Asit Miktarındaki Artış.....	39
Çizelge 4.9.	Havuç Suyunda Damla Plaka Yöntemine İlişkin Sayım Sonuçları.....	41
Çizelge 4.10.	Havuç Suyunda Breed Yöntemine İlişkin Sayım Sonuçları.....	43
Çizelge 4.11.	Salatalık Suyunda Breed Yöntemine İlişkin Sayım Sonuçları.....	44
Çizelge 4.12.	Sebze Suları Panel Testine Ait Varyans Analiz Tablosu.....	49
Çizelge 4.13.	Sebze Suları Panel Testine Ait Ortalama Puanlar Tablosu.....	50

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1	Mikroorganizmaların Üreme Evreleri..... 11
Şekil 2.2.	Modifiye Gompertz Eşitliğinde Kullanılan Parametrelerin <i>L.plantaruma</i> Ait Üreme Eğrisinde Gösterilişi..... 13
Şekil 3.3.	Laktoferment Sebze Suyu Üretim Akım Şeması..... 24
Şekil 4.4.	Fermantasyon Sürecinde Havuç Suyunda Gözlenen Asitlik Değişimi..... 27
Şekil 4.5.	Fermantasyon Sürecinde Havuç Suyunda Gözlenen pH Değişimi..... 28
Şekil 4.6.	Fermantasyon Sürecinde Salatalık Suyunda Gözlenen pH Değişimi..... 31
Şekil 4.7.	Fermantasyon Sürecinde Salatalık Suyunda Gözlenen Asitlik Değişimi..... 32
Şekil 4.8.	Fermantasyon Sürecinde Havuç Suyundan Alınan Örneklerde İnvert Şeker Miktarındaki Değişmeler..... 33
Şekil 4.9.	Fermantasyon Sürecinde Havuç Suyundan Alınan Örneklerde Toplam Şeker Miktarındaki Değişmeler..... 34
Şekil 4.10.	Fermantasyon Sürecinde Havuç Suyundan Alınan Örneklerde Diğer Şekerlerde Meydana Gelen Değişmeler..... 34
Şekil 4.11.	Fermantasyon Sürecinde Havuç Suyundan İnvert Şeker Miktarındaki Azalış ve Asit Miktarındaki Artış..... 36
Şekil 4.12.	Fermantasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerde İnvert Şeker Miktarındaki Değişmeler..... 38
Şekil 4.13.	Fermantasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerde Toplam Şeker Miktarındaki Değişmeler..... 38
Şekil 4.14.	Fermantasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerin Diğer Şeker Miktarlarındaki Değişmeler..... 39

Şekil 4.15.	Fermantasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerde İvert Şeker Miktarındaki Azalışa Karşılık ve Asit Miktarındaki Artış.....	40
Şekil 4.16.	Havuç Suyunda Damla Plaka Yöntemi İle Sayım Sonuç Grafiği.	42
Şekil 4.17.	Havuç Suyunda Breed Yöntemi İle Sayım Sonuç Grafiği.....	44
Şekil 4.18.	Salatalık Suyunda Breed Yöntemi İle Sayım Sonuç Grafiği.....	45



1. GİRİŞ

Genel olarak sebzelerin %90 - 95'i su, %1 - 3'ü azotlu maddeler, %1'den daha azı yağ, %3 - 7'si karbonhidrat ve %1 - 2'si mineral maddelerden oluşmaktadır. Ancak sebzelerin bileşimi türlere göre çok farklılık gösterdiği için elde edilen ürünlerin (sebze nektarları, doğal bulanık veya berrak sebze suları) bileşimlerini nitelik ve nicelik olarak kesin değer ve sınırlarla belirleyip tanımlamak zor, hatta hemen hemen olanaksızdır. (Cemeroğlu, 1986).

Sebzelerin meyvelerden en önemli farklılığı, genellikle karbonhidratlar ve asitlerde ortaya çıkmaktadır. En çok bulunan karbonhidrat nişasta olmasına rağmen, şekerler asıl tat bileşenlerini oluşturmaktadır. Havuç, kırmızı pancar gibi sebzeler şeker açısından zengindir ve hemen tamamı glukoz, fruktoz ve sakkarozdan oluşmaktadır. Beslenme fizyolojisi bakımından büyük öneme sahip sebze sularının besin değerlerinin anlaşılması, 1940'lı yılların başında lahananın ülser tedavisinde kullanılması, sebze suları üzerine yapılan çalışmaların artmasına ve ticari anlamda sebze sularının üretilmesine yol açmıştır (Özler ve Gürbüz, 1997a).

Ancak Avrupa ülkelerinde sebze suları üretimi az olup, meyve suları ve meyve suyu içeceklerinin yaklaşık %0.5 - 3'ü düzeyindedir. Bunun %90 kadarını domates suyu ve domates bazlı sebze suları ile sebze suyu kokteylleri oluşturur. Tüketimi az olmasına karşılık bu düşük kalorili içecekler gittikçe artan şekilde dikkat çekmektedir. Çünkü bunlar öncelikle iştah açıcı, hazmı düzenleyici olarak etkili olup, ayrıca vitamin ve mineral maddeler açısından da önem taşırlar (Schobinger, 1992).

Bitkisel ürünlerde laktik asit fermentasyon tekniği ile muhafaza çok uzun zamandır yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Özellikle son yıllarda, daha kısa sürelerde standart özelliklere sahip endüstriyel üretimlerin gerçekleştirilebilmesi amacıyla saf kültürlerin kullanımı ve dolayısıyla bu kültürlerin özellikleri üzerindeki çalışmalar hız kazanmıştır (Karapınar, 1988).

Sebze mayşeleri veya sebze sularının starter kültür adı verilen mikroorganizmalar tarafından çabuk ve kontrollü fermentasyonunun sağlanması

anlamına gelen Laktoferment yönteminde temel proses, hammadde de orjinal olarak bulunan veya dışarıdan ilave edilen şeker içeren bileşiklerin, aşılana laktik asit bakterisi tarafından laktik aside veya diğere bileşiklere dönüştürülmesidir (Özler ve Gürbüz, 1997b).

Laktoferment kelime anlamı olarak, *laktik asit fermentasyonu* (Schobinger, 1992), laktik asit fermentasyonu ise çeşitli karbonhidratların bazı bakteriler tarafından laktik aside dönüştürüldüğü biyokimyasal bir prosestir (Türker, 1975).

Laktoferment yöntemi ile süt asidi fermentasyonu yönlendirilir, kontrol edilir ve aynı zamanda da ortamda bulunabilen istenmeyen mikroorganizmaların üremesi engellenir. Böylece renk ve tat değişimleri de önlenmiş olur. Bu yöntemle elde edilen sebze sularının pH değeri 4'ün altında olduğundan, pastörizasyonla muhafaza mümkündür (Gökmen ve Acar, 1992).

pH'nın düşmesi, ürünün diğere sebze sularına oranla daha iyi muhafaza edilebilmesine, konserveye işlenmesi sırasındaki termik etkinin azalmasına ve ayrıca iyi bir renk ve bulanıklık stabilitesi kazanmasına neden olmaktadır. Ayrıca pH'nın düşmesi, sebze suyuna istenilen hoş lezzeti de kazandırmaktadır. Sebzelerin yapılarının birbirinden farklı olması ve farklı işleme teknikleri gerektirmesinden dolayı sebze suyu üretiminde gelişmiş yaygın bir teknoloji kullanılmamaktadır (Özler ve Gürbüz, 1997a).

Genel olarak sebze suyu üretiminde, uygun yıkama, ayıklama ve gerekiyorsa kabuk soyma işleminden sonra sebzeler parçalanmakta, elde edilen mayşe kısa bir süre (90°C 'de 5 dakika gibi) ısıtıldıktan sonra starter kültür ilavesi için 30 - 40°C'ye kadar soğutulmaktadır. Bu sıcaklıkta belli laktik asit bakterileri ile aşılanaarak 12 -18 saat fermentasyona bırakılmakta ve pH değeri 3.8 - 4.2'ye düştüğünde preslenerek santrüfüjleme ve hava çıkarma işlemlerinden sonra 85°C'de pastörize edilerek steril koşullarda depolanmaktadır (Schobinger, 1992).

Elde edilen laktoferment sebze suları + 2°C'de renk, aroma ve vitaminlerde önemli değişiklikler olmaksızın depolanabilmekte, çeşitli reçetelere göre ilave katkı ve

karışımlarla kokteylleri hazırlanarak, aseptik dolum tekniğiyle şişelenmekte ve koyu rekli şişelerde karanlıkta + 2°C'de depolanmaktadır. Her laktoferment sebze suyu'nun kullanılan hammaddeye göre karakteristik renk ve besin değeri vardır; bu nedenle bir çeşit sebze suyu üretilmesi yerine karışımları halinde standart ürün üretimine çalışılır (Schobinger, 1992).

Starter kültürler ve özellikle laktik asit bakterileri pH'yı düşürmeleri, rekabetçi flora olarak davranmaları ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddeler üretmeleri nedeniyle gıda muhafazasında çok fazla yararlanılan mikrobiyolojik kökenli etkenlerdir (Sorensen, 1994).

Fermente sebze suları üretiminde *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. xyloso*, *L. bifidus*, *L. delbrueckii* gibi özel starter kültürler ile homofermantatif bir fermentasyon sağlanarak sağa ve sola çeviren laktik asit oluşturulur. Kullanılacak starter kültürün ürettiği D(-), L(+) ve DL laktik asitin insan organizmasında yararlanması ve bu arada lezzeti, kültür seçiminde önemlidir (Gökmen ve Acar, 1992).

Fermentasyonla üretimi en fazla yapılan laktik asit, optik inaktif (DL) laktik asittir. Teknikte laktik asit üretiminde en yüksek verime ulaşmak için homofermantatif bakteriler kullanılır (Şahin, 1982).

L. plantarum, glukozdan üretilen laktik asit konfigürasyonu bakımından DL; glukoz metabolizması bakımından ise homofermantatif bir özellik taşımaktadır (Jay, 1992).

Doğal gıdalara karşın fermente sebzelerin ve sebze sularının kalitelerinin ve besin değerlerinin yüksekliği günümüzde pek çok araştırmacı tarafından ortaya konulmaktadır. Geleceğin besini olarak değerlendirilen fermente bitkisel ürünlerdeki laktik asit fermentasyonu sonucunda bitki dokularının zor sindirilebilir unsurlarından yeni oluşumlar meydana gelmekte ve laktik asit miktarında artış gözlenmektedir (Özler ve Gürbüz, 1997b).

Laktik asitin bilinen konzervatif, prezervatif, dezenfektan, fizyolojik ve teropatik etkileri, laktofermentasyon sırasında oluşan maddeler ile birlikte artmaktadır. Laktoferment ürünlerdeki laktik asit ve diğer bazı maddeler butirik asit bakterilerinin ve sporlu basillerin gelişmesini önlemekte, bunun yanında tifo, paratifo, dizanteri ve solunum yolu enfeksiyonlarını engellemektedir (Başçı, 1992).

Yine fermentasyon sonucu meydana gelen laktik asit mide ve bağırsak faaliyetlerini düzenlediği gibi *sauerkraut* (lahana turşusu) ve diğer fermente sebzeler aracılığıyla sedef hastalığında önemli etkiye sahiptir. Fermente gıdalar düzenli olarak tüketildiklerinde miktara bağlı olarak sağlık üzerinde fermente olmamış gıdalardan daha iyi etki bırakmaktadırlar. Fermentasyon gıdadaki kuru maddenin çok düşük bir kısmında gerçekleşir. Bu nedenle, vitamin, mineral madde ve proteinlerin miktarı mikrobiyal faaliyetten etkilenmemektedir. İnsan vücudundaki besinlerin daha iyi değerlendirilmesinde, kolesterol miktarının azaltılmasında ve ürik asit boşaltımının artmasında etkili olan C vitamini, fermentasyon sonucu elde edilen ürünlerde oldukça yüksek miktarlarda bulunmaktadır (Özler ve Gürbüz, 1997b).

Laktoferment uygulaması ile gıdalar daha güvenli bir şekilde muhafaza edilebilmekte, gıda maddesinde kabul edilebilir ve daha gelişmiş aroma oluşmakta, daha çok diyet gıda çeşitleri elde edilebilmekte ve gıda maddesinin besin değeri artarak fonksiyonel özellikleri gelişebilmektedir.

Laktik asit bakterilerinin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerinin belirlenmesi ile ilgili olarak UNIDO (United Nations Industrial Development Organisation) laktik asit bakterileri ve laktik asit fermentasyonu ile ilgili daha hızlı bilgi alışverişini sağlamak için 1994 yılında LABNET adı altında bir iletişim ağı oluşturulmaya başlanmıştır (Başçı, 1992).

Hemen her türlü gıdanın fermentasyon yolu ile muhafazası mümkünse de sebzelerden laktoferment yöntemi uygulanarak havuç, kırmızı pancar, kereviz, lahana, biber ve domates suları üretilmektedir. (Gökmen ve Acar, 1992).

Bu çalışmada bölgemizde yaygın olarak üretilen havuç ve salatalıktan laktoferment sebze suyu üretimi ile ilgili enemeler yapılmıştır. Yapılan çalışmada havuç ve salatalık suyunda *Lactobacillus plantarum* starter olarak kullanılmış ve fermentasyon sürecinde mikroorganizmanın gelişimi, substratın kullanımı, asitlik artışı ve pH'daki değişmeler izlenmiştir.

Sonuç olarak bu sebzelerden laktoferment sebze suyu üretimi için gerekli olacak bilgilerin elde edilmesi ve parametrelerin belirlenmesine çalışılmıştır.



2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1.Laktikasit Fermentasyonu ile İlgili Çalışmalar

Güven ve Ark. (1983), en eski laktoferment gıda maddesi olarak bilinen ve bir tür lahana turşusu da denilebilen "*sauerkraut*" ile salamura turşuyu karşılaştırdıkları çalışmalarında *sauerkraut*'un besin elementlerince salamura turşudan daha zengin olduğu sonucuna varmış ve geniş düzeyde yaptıkları duyu analizi sonuçlarına göre de *sauerkraut*'un salamura turşu kadar beğenildiğini belirtmişlerdir.

Fleming ve Ark. (1983), pH kontrolü sağlanarak *L. plantarum* ile fermente edilen sebzelerin, hermetikli kapatalmış kavanozlarda 12 ay mikrobiyolojik olarak stabil bir şekilde korunmasını, sebzelerde tüm fermente olabilir şekerlerin uzaklaştırılması ile pH'nın 3.8 ve altında olmasına bağlamış ve bu amaçla yaptıkları çalışmalarında fermente olabilir şekerlerin tamamen uzaklaştırılması için pH kontrollü fermente edilmiş yedi sebzenin ürün stabilitesi ve mikrobiyolojik problemlerini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda fermente yeşil fasulye, salatalık, kırmızı ve yeşil biber ile yeşil domateslerin mikrobiyolojik olarak stabil olduğunu ancak kalıntı sukroz bulunan kırmızı pancar ve havuçta ikincil fermentasyonun oluştuğunu bildirmişlerdir.

Kotzekidou ve Roukas (1987), bamya suyunda homo ve heterofermantatif laktobasillerin fermentasyon karakteristiklerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında suşlar; hızlı pH azalışı, musilaj dönüşümü (tüketicinin kabul edebileceği iyileştirme) ve indirgen şeker tüketimi (ikinci fermentasyonu önleyici) gibi kabul edilebilir karakteristikleri temel alınarak kullanılmıştır. En iyi fermentasyon karakteristikliğini 3.65'e düşen pH ve sukroz'un %90'nını ve indirgen şekerin %86, musilaj'ın %30'unu çeviren *L. cellobiosus* 2420 vermiştir. Aynı zaman aralıklarında diğer yedi suş, musilaj'ın %20.2-26.8 den azını, indirgen şekerlerin %78-%98'ni ve 3.4-4.23 pH aralığındaki sukroz'un %75-%80'ni dönüştürmüştür. Tüm suşlar; laktik asit, asetik asit ve ethanol üretim yeteneklerinde önemli varyasyonlar

göstermişlerdir. Ayrıca hepsinin LDH (Laktodehidrogenaz) aktivitesinin düşük seviyede olduğu gözlenmiştir.

Karapınar (1988)'ın çalışmasında belirttiğine göre Etchell ve Ark. (1966), kostik ilşe işlem görmüş *manzanillo* çeşidi yeşil zeytinlerin ısısal şoka tabi tutulması ile (74°C/3dak.) laktik starterlerin özellikle *Lactobacillus plantarum*'un üremesinin ve laktik asit sentezinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar çalışmalarında *L. plantarum*, *L. brevis*, *Pediococcus cerevisiae*, *Leuconostoc mesenteroides* laktik bakteri suşlarını tekli, çiftli (*L. plantarum*, *P. cerevisiae*) ve üçlü (*L. plantarum*, *P. cerevisiae*, *L. brevis*) kültür şeklinde kullanmışlardır.

Tütüncüler (1990), sarı, turuncu ve mor havuçların sularını hazırlamak ve onların farklı şartlarda dayanıklılığını araştırmak amacıyla yaptığı çalışmada, her üç havucunda havuç suyu hazırlamada kullanılabileceğini, ancak farklı renklerdeki havuçlardan hazırlanan suların arasında fazla kimyasal farklar olmamasına rağmen, turuncu renkli havuçların suyunun hazırlanmasının, karoten miktarı düşünüldüğü zaman daha iyi bir seçenek olabileceğini belirtmiştir.

McDonald ve Ark. (1991), salatalık fermentasyonlarının doğal olarak bulunan mikroorganizmalar'ın gelişimi ile olduğunu, ancak bunun mikrobiyolojik bozulmalara açık olduğundan salatalık fermentasyonunun kontrol edilmesi ile önlenebileceğini belirttikleri çalışmalarında, Pederson ve Albury (1961)'nin ısı işlem görmemiş salamuraya salatalıklara çeşitli laktik asit bakterileri'nin starter kültürlerini ekleyerek yaptıkları denemelerinde, türler içinde en yüksek asit toleransına sahip türün *Lactobacillus plantarum*'un olduğunu gözlediklerini belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu çalışmada Etchell ve Ark. (1964)'nin yaptıkları çalışmaya da değinerek, onların salamuraya koymadan önce salatalıkların doğal mikroflorasını uzaklaştırmak amacıyla sıcak suda haşlama (66-82 °C) yada radyasyon (8.83-1.00 µrad) uygulayarak saf kültür fermentasyonu elde ettiklerini ancak bu işlemin ekonomik olmadığını ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar çalışmalarında özellikle asitlendirme ve tampon uygulamasının *Enterobacteraceae*, laktik asit kültürü ve toplam aeroblar üzerindeki etkisini hem salatalık içinde hem de salamurada incelemişlerdir.

Gökmen ve Acar (1992), çalışmalarında *L. plantarum* L73, *L. xylosus* NRRL B-4449 ve *L. delbrueckii* NRRL B-763 kullanılarak havuç suyunda süt asiti oluşumunu incelemişlerdir. *L. plantarum* L73 hızlı pH düşüşü sağlaması ve istenilmeyen mikroorganizmalara karşı antagonistik etkileri nedeniyle laktoferment yöntemi ile havuç suyu üretimine uygun bulunmuştur. Ayrıca aynı hammadde ve işleme yöntemi kullanmak suretiyle, bu üç mikroorganizma ile üretilen fermente havuç suları üzerinde yapılan duyusal testlerde de en fazla beğeni puanını, ortama kısa sürede hakim olup iyi bir asitlik gelişimi sağlayan *L. plantarum* L73 alırken, *L. xylosus* NRRL B-4449 üç kültür arasında asitlik gelişimini en güç sağlayan mikroorganizma olarak saptanmıştır.

Erginkaya ve Hammes (1992), tarafından yapılan bir çalışmada spontan olarak ekşi hamur eldesi ile şalgam suyu üretilmiş ve fermentasyon süresince gelişen mikrobiyel flora incelenerek, fermentasyonda etkin olan laktik asit bakterilerinin tanımlanması yoluna gidilmiştir. Sonuçta, şalgam suyunda *Lactobacillus plantarum* spp. *arabinosus*, *L. fermentum* ve *L. brevis* izole edilmiştir.

Yaman ve Ark. (1993), kırmızı pancar suyunun çeşitli yöntemlerle dayandırılmasını inceledikleri çalışmalarında, kırmızı pancardan iki ayrı yöntemle özütlenen kırmızı pancar suyu'nun bir kısmı laktik asit fermentasyonu'na tabi tutulmuş, diğer kısmına da farklı pastörizasyon koşullarında ısıl işlem uygulanmıştır. Ayrıca bir kısım pancar suyuna da bazı yöntemler uygulanarak berraklaştırma yapılmıştır. Yapılan duyusal değerlendirmelerde en beğenilen örnek birinci özütleme sonrasında fermentasyona tabi tutulup berraklaştırma yapılmadan doğrudan panele sunulan örnek olmuş, bunu ikinci özütleme sonucunda laktik asit fermentasyonuna tabi tutulup filtrasyondan sonra panele sunulan örnek izlemiştir. Pastörizasyon yapılan örneklerde özellikle renk bozulmalarına rastlanılmış olup, bu durum ısıl işlemin getirdiği doğal olumsuzluklardan biri olarak bildirilmiştir.

Slinde ve Ark. (1993), çalışmalarında açık kırmızı sarı-renkli havuç cipslerini kızartmadan önce laktik fermentasyonuna tabi tutarak, fermentasyon işlemi ile invert

şeker miktarını %75'e kadar düşürmüş ve böylece ısı işlem sırasındaki Maillard reaksiyonlarını sınırlanmışlardır. Cips hazırlamak amacıyla yaptıkları çalışmalarında, havuç dilimlerini direk kızgın yağda kızartmanın hoş olmayan koyu kahve rengine ve yanmış tat oluşumuna neden olacağını, bu tür değişimlere neden olan Maillard reaksiyonlarının da indirgen şeker miktarının düşürülmesi ile kontrol edilebileceğini belirtmişler ve kızartma öncesi havuç dilimlerini hızlı gelişen, patojen olmayan ve daha küçük karbonhidratları kolaylıkla metabolize eden *Lactobacillus* türleri ile laktik fermentasyona bırakarak indirgen şeker miktarını azaltma yoluna gitmişlerdir. Aynı çalışmada bu araştırmacılar, Manan ve Ark.(1987)'nin derin kızartmadan önce patetes dilimlerini *L. plantarum* ile fermentasyona uğrattıklarında indirgen şekerin %60'nın uzaklaştırıldığını bildirmişlerdir.

Tsai ve Ark. (1993), laktik asit fermentasyonlarının özellikle parçalanabilir *polilaktik asit* (PLA) plastik ve kılıfları yapmak için endüstrinin ilgi odağına geldiğini belirttikleri çalışmalarında, yüksek karbonhidrat gıda yan ürünlerinin parçalanabilir PLA plastik ve kılıfa dönüşümünde kullanılacak bakterial şuşların gelişimini amaçlamışlar ve bu çalışmada, karbon kaynağı olarak glukoz içeren materyal kullanarak endüstriyel laktik asit fermentasyonuna uygun laktik asit bakterileri geliştirmeye çalışmışlardır. Ayrıca ticari laktik asit bakterilerinin 1881 yılından beri yapılmakta ve geleneksel laktik asit bakterilerinin iyi bilinmekte olduğunu belirterek çalışmalarında geleneksel laktik asit bakterileri ile ilgilenmemişlerdir.

Kyung ve Fleming (1994), dört kültür lahanasından elde edilen suyun, fermentasyonda kullanılan *Leuconostac mesenteroides* ve diğer bakterilere inhibitör aktivitesini belirlemek ve inhibitör oluşum sistemini karakterize etmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, filtre ile sterilize edilmiş taze lahana suyunun ısıtılmış lahana suyuna oranla laktik asit bakterileri için daha iyi bir gelişim ortamı olduğunu belirtmişler ve kimi lahana çeşitlerinin daha fazla antibakteriyel etki gösterirken kimilerinin daha az gösterdiğini bunun da varyete, yetiştirme mevsimi ve yaşa bağlı olarak değiştiğini belirtmişlerdir. Ayrıca laktik asit bakterileri'nin gelişiminin değişik derecelerde inhibe olduğu taze ve ısıtılmış lahana sularından, taze lahana suyunun antibakteriyel aktivitesi'nin sıcaklığa duyarlı ve pH'ya bağımlı bir faktörden

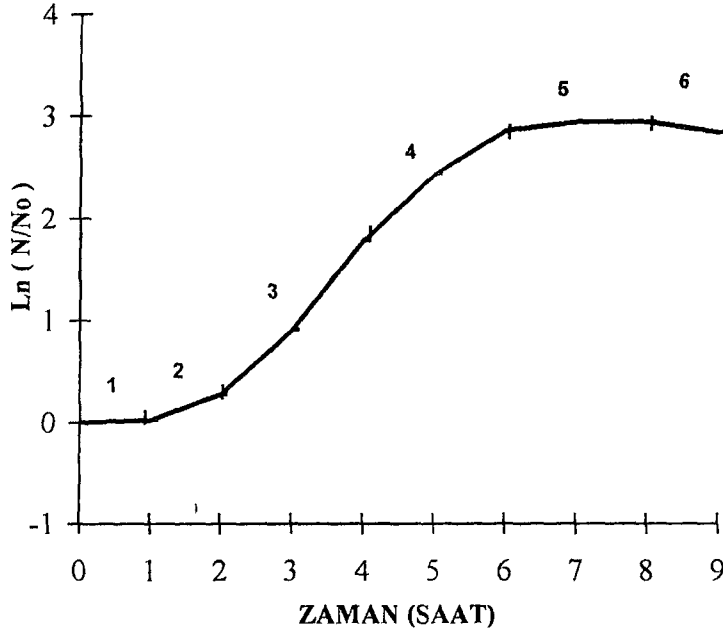
etkilendiğini, bu faktöründe pH4.0'a ayarlama ile çöktüğünü belirterek bunun öncül maddeyi inhibitöre dönüştüren bir enzim olabileceğini ve dolayısıyla da fermentasyonda yer alan laktik asit bakteri türlerini etkileyebileceğini açıklamışlardır.

Özdemir ve Acar (1996), fermente havuç mayşesinden total enzimatik sıvılaştırma uygulanarak ve uygulanmadan üretilen havuç suyunun bazı teknolojik ve analitik özelliklerini incelemiş ve aynı zamanda enzim uygulaması ve farklı starter kültürlerin havuç suyunun organoleptik özellikleri üzerine etkilerini de incelemişlerdir. Farklı üretim tekniklerinin, starter kültürler, enzim uygulaması ve starter kültür ile enzim intereksiyonunu istatistiksel olarak karşılaştırmış ve havuç sularında toplam asitlik, laktik asit miktarı ve renk açısından üretim teknikleri arasındaki farkı önemli bulmuşlardır ($P < 0.05$). Havuç sularında farklı starter kültür ve enzim uygulamasının organoleptik özellikler üzerine etkisini incelemek amacıyla yaptıkları duyu testleri sonucunda da enzim uygulaması yapılmayan havuç sularının daha fazla tercih edildiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, laktoferment yöntemi ile havuç suyu üretiminde uygun starter kültürün seçimi amacıyla üç farklı laktobasil suşu ön denemeye alınmış ve bunlardan *L. plantarum* ile *L. casei*'nin istenilen sürede yeterli asitlik geliştirerek mayşenin pH değerini düşürdüğü gözlenmiştir.

2.2. Mikroorganizma Gelişimi ve Matematiksel Modellerin Kullanımı

Mikroorganizmalar sabit pH, sıcaklık iyon kuvveti ve basınç gibi dış koşullar altında ve belirli substrat konsantrasyonunda gelişme ve üremeleri sonucu değişik dönemlerden geçerek bir kurve oluştururlar (Şekil 2.1). Bu kurve şu şekilde evrelere ayrılabilir (Pekin, 1980):

1. Gelişme yada gecikme evresi (Lag Fazı)
2. Hızlandırılma (akselerasyon) ya da geçiş evresi
3. Logaritmik evre
4. Duraklama evresi
5. Sabit evre
6. Ölüm ya da göçüş evresi



Şekil 2.1. Mikroorganizmaların Üreme Evreleri

Besin ortamına ekilen mikroorganizmaların yeni ortama uyum sağlayıp çoğalmaya başlayıncaya kadar sayılarında hiç bir artışın olmadığı bu ilk süreye “gelişme” yada “gecikme” evresi (Lag-Faz) adı verilir (1).

Gelişme evresinden sonra mikroorganizma sayısı yavaş yavaş artmaya başlar. Artık mikroorganizma bölünmeye başlamaktadır ancak çoğalma zamana bağlı olarak artmakta ve buna bağlı olarak da çoğalma sabitlik göstermemektedir. “Hızlandırılma” evresi denilen bu dönemin uzunluk veya kısalığı mikroorganizmanın cinsine göre değişmekle birlikte ortamın bileşimi, pH, sıcaklık, vb. gibi faktörlerin de etkisi altındadır (2).

Mikroorganizma sayısı belli bir düzeye ulaşıncaya kadar görülen “Logaritmik” evreye varılır. Bu kısma “üssel evre”de denilmektedir. Bu evrede mikroorganizmaların canlı, genç, ve diri oldukları ve üssel olarak arttıkları kabul edilir (3).

Ortamdaki besinlerin giderek azalması, mikroorganizmaların yaşlanması ve ölümü sonucu çoğalmada yavaşlama yani logaritmik evreye kıyasla üreme hızında azalma sonucu “duraklama evresi” başlar (4).

Duraklama evresini ise “sabit evre” izler. Bu evrede kimi mikroorganizmalar ürer, kimileri ölür ve bazıları da üremeden yaşamlarını sürdürür. Bu üç etmen birbirini dengelediğinden mikroorganizmalarda zamana göre net artış yada azalış görülmez (5).

Son evrede ise mikroorganizmaların ölüm hızları arttığı için zamanla konsantrasyonlarında azalma gözlenir. Bu evreye “ölüm, azalma yada göçüş” evresi denilmektedir (6).

Bakteriler logaritmik olarak ürerler ve nisbi populasyon değerinin tabii logaritması ($y = \ln(N/N_0)$) zamana karşı grafiğe geçirildiğinde şekil 2.1’deki gibi sigmoidal bir gelişim kurvesi ortaya çıkmaktadır (Öner, 1986).

Zwitering ve Ark. (1990)’na göre bakteriyel gelişim genelde, spesifik üreme hızının sıfır olduğu ve lag zamanının son bulmasına neden olarak belli bir zaman periyodunda max değere ulaşıldığı, hızlı bir dönem (faz) gösterir. Buna ilaveten, gelişim kurveleri hızın azaldığı ve sonuçta sifira ulaşarak asimtot değerin olduğu son bir faz da içermektedirler.

Gelişim kurvesi, zamana karşı organizma sayısının logaritmasının grafiğe aktarılması şeklinde tanımlandığında, bu üreme hızı değişiklikleri t=0 anında başlayan lag fazı izleyen logaritmik faz ve daha sonra sabit fazın olduğu sigmoidal bir kurve oluşumuna neden olmaktadır.

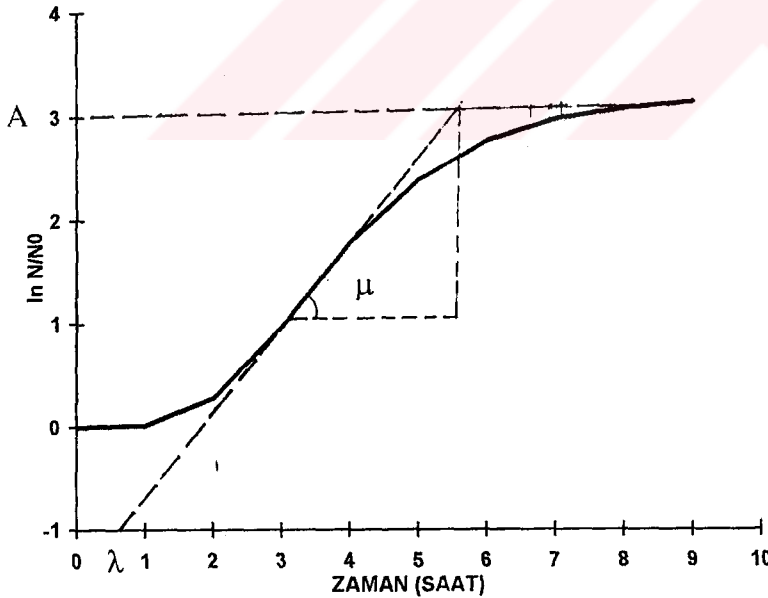
Bu araştırmacılar bakteriyel gelişim kurvesini tanımlamak için bazı sigmoidal fonksiyonları (Logistik, Gompertz, Richards, Schunute ve Stannard) t ve F testleri kullanarak karşılaştırmışlardır. Tüm sigmoidal fonksiyonlar biyolojik parametreleri içerecek şekilde modifiye edilmiş ve Modifiye Gompertz Eşitliği *L. plantarum*’un gelişim verilerini tanımlamada istatistiksel olarak yeterli ve kullanımı kolay

bulunmuştur. Ayrıca kullanılan bu model sadece organizma sayısını tanımlamakta olup ortamda mikroorganizmanın isteğini karşılayacak kadar substratın var olduğunu kabul etmiştir.

Zwietering ve Ark. (1991)'na göre gelişim kurvesi, zamanın (t) fonksiyonu olarak nisbi populasyon büyüklüğünün logaritması olarak tanımlanmıştır (Nisbi populasyon büyüklüğü [$y = \ln (N/N_0)$]). Bakterilerde gelişim hızı, lag fazı takiben üssel (logaritmik) fazı izler ve gelişim hızının sıfıra doğru gittiği bir azalma gösterir. Bahsedilen gelişim modeli bu kurveyi üç parametre ile tanımlar:

- 1) Maksimum spesifik gelişim hızı (μ_{max}): Eğim (dönüm) noktasındaki tanjant,
- 2) Lag zamanı (λ): Dönüm noktasındaki tanjantın t eksenini kestiği nokta,
- 3) Asimtot değeri (A): Eğrinin maksimum değere ulaştığı nokta.

Belirtilen bu parametreler şekil 2.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Modifiye Gompertz Eşitliğinde Kullanılan Parametrelerin *L. plantarum*'a Ait Üreme Eğrisinde Gösterilişi

Belirtilen bu parametreler aşağıda gösterilen Modifiye Gompertz Eşitliğinde tanımlanan gelişim verilerinden hesaplanabilmektedir.

$$y = A * \exp [-\exp \{ (\mu_{\max} * e/A) * (\lambda - t) + 1 \}]$$

$$y = \ln (N/N_0)$$

A = Asimtot değeri

μ_{\max} = Maksimum spesifik gelişim hızı (saat ⁻¹)

λ = Lag faz süresi (saat)

Zwietering ve Ark. (1991)'a göre gıda mikrobiyolojisinde tahmine dayalı modellemeler sıcaklık, pH, su aktivitesi gibi farklı fiziksel ve kimyasal şartlarda mikroorganizma davranışlarını belirlemek için kullanılmaktadır. Kullanılan bu modeller mikrobiyal güvenliği yada ürünün raf ömrünü tahminde, proseste kritik noktayı bulmada ve üretim ve dağıtım zincirini optimize etmede kullanılmaktadır.

Devres ve Pala (1993)'ya göre deneysel çalışmaların sınırlı yada imkansız olduğu, pratik ve ekonomik olarak çok sayıda deneyin yapılamadığı koşullarda, matematiksel modellemeden büyük ölçüde yararlanılmaktadır. Yine bu araştırmacılar fiziksel bir işlemin matematiksel olarak modellenmesinin ve işlem ile ilgili değerlendirmelerin, bu modelden elde edilen sonuçlar üzerine geliştirilmesinin son yıllarda sık olarak başvurulan analiz yöntemlerinden biri olduğunu ve gıda işleyen bir tesiste, üretim akışının modellenmesinin firma yöneticilerine büyük kolaylıklar sağlayabileceği gibi gerek tasarım aşamasında gerekse kapasite arttırımı veya azaltımı sırasında modellemenin kullanımı ile en uygun çözümlerin bulunmasını, ham ve mamul stoklarının denetlenmesini, en ekonomik ve optimum üretim yolunun saptanmasını kolaylaştıracağını belirtmişlerdir. Ancak yazarlara göre matematik modellemede unutulmaması gereken konu, modelin hiç bir zaman kesin ve tam olarak sistem veya işlemi tamamlayamaması, sadece sonuç ile ilgili bir yaklaşım yapmasıdır. Modelle ilgili herhangi bir değerlendirme yapmadan önce, modeli tanımlayan ifadelerin çözülmesi, elde edilen sonuçların güvenilir deneysel veya teorik çalışmalarla karşılaştırılması ve uygunluğunun saptanması gerekmektedir.

Duh ve Schaffner (1993), ise olayı mikrobiyal boyutta düşünerek bu alandaki modellerin bakterilerin ya logaritmik fazda gelişim oranını ya da lag fazda kalma sürelerini tahmin etmek için geliştirildiklerini ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılara göre lag zamanın belirlenmesinde tüm modeller içinde en iyi uyum sağlayan iki parametrelili Kare-kök Modeli olurken, bakterilerin gelişim oranını sıcaklığa bağlı olarak tahminde ise Yeni (New) Model en iyi tahmini vermiştir.



3.MATERYAL ve METOD

3.1.Materyal

3.1.1.Kimyasallar ve Besiyerleri

NaOH (0.1N ve 5N)

Fenolftalein (%1'lik)

MRS Broth (LAB M)

MRS Agar (LAB M)

3.1.2.Ayıraç ve çözeltiler *

Fehling A (Bakır sülfat çözeltisi)

Fehling B (Alkali tartarat çözeltisi)

Stok invert şeker çözeltisi

Standart invert şeker çözeltisi

Çinko asetat çözeltisi

Potasyum Ferro Siyanid

Bertrand yıkama çözeltisi

* Ayıraç ve Çözeltiler Anonymous (1988) ve Cemeroğlu (1992)'na göre hazırlanmıştır.

3.1.3.Çalışma Kültürü

Fermente sebze suyu ile yapılan bu çalışmada Gazi üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden sağlanan *L. plantarum* kültürü kullanılmıştır. *L. plantarum*'un test organizması olarak kullanılmasında en temel etken; yapılan çalışmalar bölümünde ayrıntılı olarak değinildiği gibi denemelerde en fazla asit ve laktik asit oluşumunun

L. plantarum tarafından gerçekleştirildiğinin ve bu bakterinin istenilen sürede asitlik geliştirerek mayşenin pH değerini düşürdüğü, sebze suyunda tat ve aromayı diğer suşlardan daha iyi düzeyde geliştirdiğinin bildirilmesidir.

Kullanılacak kültürün ürettiği laktik asitin formu [D(-), L(+) veya DL] ve insan organizmasındaki yayışlılığı da önemli olup laktik asit üretiminde DL, L konfigürasyonu toplam laktik asit'in % 27-75'ini oluştururken (Temiz, 1992), en fazla DL formunda laktik asit üreten *L. plantarum* da bu anlamda ayrı bir önem kazanmaktadır.

3.1.4. Deney Materyali

Çalışmada Mersin piyasasından temin edilen havuçların, santrifüj tipi sebze-meyve sıkacağından (Arçelik Robomaster) geçirilmesi sonucu elde edilen suları kullanılmıştır. Salatalık suyu olarak ise yine Mersin piyasasından temin edilen salatalıkların, kabuklarının soyulması ve robomasterdan geçirilmesi sonucu elde edilen suları kullanılmıştır.

Deney materyali olarak kullanılan havuç ve salatalıktan elde edilen sebze sularına ilişkin kimyasal özellikler Çizelge 3.1.'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Deneyde Kullanılan Havuç ve Salatalık Sularının Kimyasal Özellikleri

	HAVUÇ	SALATALIK
KM (%)	9	3
ŞEKER (g/100 mL)	5.54	4.16
ASİT (% Laktik asit)	0.64	0.53
pH	5.45-6.18	5.10-5.50

Çizelge 3.1.'de belirtilen değerler taze sıkılmış havuç ve salatalık sularına ilişkin olup bu sebze suları, kültür ile aşılardan önce 90°C'de 5 dakika pastörize edildikten sonra kullanıma hazır hale getirilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Çalışma kültürü (*L. plantarum*)'nün Harlanması

MRS sıvı besiyerinde $43 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de üç kez ardışık olarak aktifleştirildikten sonra $+ 4^\circ\text{C}$ 'de gliserol + yağsız süt (skim milk) içeren besiyerinde muhafazaya alınmış olarak gönderilen *L. plantarum* kültürü, aktifleştirilmek amacıyla 5'er mL hazırlanan MRS sıvı besiyerlerine 0.1'er mL ilave edilerek 30°C 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Üremenin gözlemlendiği tüpler üst üste iki kez pasaj yaparak aktifleştirildikten sonra kullanıma hazır hale gelmiş olup bir kısmı daha sonra kullanılmak üzere MRS katı besiyerine sürme yapılarak inkübasyona bırakılmıştır. MRS sıvı besiyerinde son mikroorganizma yükünü belirlemek amacıyla yapılan kültürel sayımlarda ise son mikroorganizma sayısı yaklaşık olarak 10^9 adet/mL bulunmuş olup bu sayı *L. plantarum* kültürünün havuç ve salatalık sularında gelişim eğrilerini belirlemeye yönelik çalışmalar için kullanılan, çalışma kültürümüzü oluşturmuştur.

3.2.2. Mikroorganizma Sayımı

Mikroorganizma sayımı Gürgün ve Halkman (1990)'da belirtildiği şekilde damla plaka ve Breed yöntemleriyle yapılmıştır.

Damla plaka yöntemi mikrobiyolojide kullanılan besiyerlerinin pahalı olmasından dolayı, sayım maliyetini düşüren ve aynı zamanda petri kutusundaki besiyeri üzerine birden fazla sayıda örneğin aktarılmasını sağlayan ekonomik bir yöntemdir. Değişen zaman aralıklarında fermentasyonu devam eden sebze suyundan örnekler alınıp seri dilüsyonlar hazırlanmış ve bu dilüsyonlardan MRS katı besiyeri içeren petrilere paralel ekimler yapılarak 35°C 'de 12 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonunda 2-3 cm çaplı (3-7 cm²) alanlı bölgelere yayılmış olan koloniler sayılmıştır. Bu sayım sonuçları asıl çalışma için bir ön deneme olarak kullanılmıştır.

Breed yöntemi ise havuç ve salatalık sularındaki toplam mikroorganizma yükünü belirlemek amacıyla, belli bir hacmin 1cm²'lik alan üzerine yayılması ve bu alanın sayılması ile yapılan bir sayım yöntemidir. Bu yöntemde direkt, 1/10, 1/100, ve 1/1000'lik dilüsyonlardan lam üzerine 0,01 mL pipetlenerek 1cm²'lik alan üzerine yayılmış, kurutulularak preparat boyanmıştır. Paralelli olarak hazırlanan bu preparatlardan bakteri sayısına göre değişmek üzere pek çok sahada sayım yapılarak ortalaması alınmıştır. Mikroskop faktörü hesaplanarak 1 mL'deki bakteri sayısı bulunmuştur.

$$1 \text{ mL' deki bakteri sayısı} = A \times MF \times 100 \times D$$

(Adet/mL)

A = Sayım Ortalaması

MF = Mikroskop Faktörü (1cm² lik alan içindeki görüş saha adedi)

D = Dilüsyon Oranı

3.2.3. Asitlik Tayini

Asitlik tayini, kolorimetrik titrasyon yöntemiyle yapılmıştır (Cemeroğlu, 1992) Titrasyonda 0.1N NaOH kullanılmış olup titrasyon bitiş noktası ise fenolftalein ile belirlenmiştir. Mikroorganizma gelişimini izlemek amacıyla belirli zaman aralıklarında 5 mL havuç ve salatalık suyu örnekleri alınmış, NaOH'e karşı titre edilerek sarfiyatlar kaydedilmiştir. Asitlik artışı mikrobiyal gelişimin kabaca izlenmesi ve örnek alma aralıklarının belirlenmesinde kullanılmıştır

$$\% \text{ Asitlik (g/100 mL)} = \frac{(S \times E)}{5} \times 100$$

S = Sarfiyat (mL)

E = 1 mL 0.1N NaOH'e eşdeğer asit (Laktik asit cinsinden, g)

3.2.4.pH Tayini

pH ölçümleri cam elektrotlu NEL 890 model pH-metrede yapılmıştır.

3.2.5.Şeker Tayin Yöntemi

İndirgen ve Toplam şeker tayinleri ve hesaplamaları, Cemeroğlu (1992) ve Anonymous (1988)'da belirtildiği şekilde yapılmış olup, çözeltilerde Anonymous (1988)'a göre hazırlanmıştır. Tayinde kullanılan numuneler ise daha önceden *L. plantarum* ile yapılan ön denemelerle, bu bakterinin tespit edilmiş olan lag faz, geçiş evresi, logaritmik ve duraklama dönemleri ile sabit evrelerini kapsayacak şekilde sekiz noktadan alınmış olup, numuneler hemen dondurularak analiz süresine kadar bu şekilde muhafaza edilmiştir.

Yöntemin ilkesi, alkali ortamda ve kaynama sıcaklığında kompleks olarak bağlı Cu-II iyonunun, indirgen şekerler tarafından Cu-I-okside indirgenmesidir. Bakır oksit suda çözünmediğinden tayinde, bakırın suda çözünen kompleks tuzu (Senyet tuzu) kullanılmıştır. Bir alkali kompleks Cu çözeltisi, şeker içeren bir örnekten hazırlanmış çözeltiyle kaynama sıcaklığında titre edilmiş ve titrasyonun son noktasını belirlemede redoks indikatörü olarak metilen mavisi kullanılmıştır. Metilen mavisi bazik ortamda şeker olmadığı zaman mavi, şeker olduğu zaman renksizdir. İşte mavi rengin kaybolduğu bu anda titrasyona son verilmekte ve ortam bakır kırmızısı renge dönüşmektedir.

3.2.6.Gelişim Parametrelerinin Hesaplanması

Gelişim parametrelerinin hesaplanmasında Zwietering ve Ark. (1991) tarafından belirtilen Modifiye Gompertz Eşitliği

$$y = A * \exp [-\exp \{ (\mu_{\max} * e/A) * (\lambda - t) + 1 \}]$$

kullanılmıştır.

Bu amaçla, *L. plantarum*'un 18 saatlik kültüründen, 90 °C'de 5 dakika pastörize edilerek hazırlanan havuç ve salatalık sularına başlangıç düzeyi 10^6 - 10^7 adet/mL olacak miktarda ilave edilmiştir. Ön denemede 35 °C'de 12-18 saat sürdürülen fermentasyon sırasında belirli aralıklarla örnek alınarak damla kültür yöntemi ile MRS agar besiyerine ekim yapılmış ve 35 °C'de 48 saat inkübasyon sonunda oluşan koloniler sayılmıştır. Asıl çalışmada ise direkt mikroskopik sayım yöntemi kullanılarak mikroorganizma sayımı gerçekleştirilmiştir. Sayım sonuçlarından Modifiye Gompertz Eşitliği kullanılarak μ_{max} (Maksimum spesifik gelişim hızı) ve λ (Lag faz süresi) değerleri hesaplanmıştır. Bu formülde Bölüm 2.2'de belirtildiği gibi $y = \ln(N/N_0)$, A ise asimtot değeri ifade etmektedir (Zwitering ve Ark.,1990; Zwitering ve Ark.,1991).

3.2.7. İstatistiksel Analizler

Yapılan çalışmalarda uygulanan Modifiye Gompertz Eşitliğinden elde edilen ölçüm değerleri modelin parametreleri olan μ_{max} ve λ , eğriyi en iyi temsil edecek şekilde SPSS for Windows (5.0.1 versiyon) paket programının non-lineer regresyonu kullanılarak hesaplanmıştır. Hazırlanan sebze sularında yapılan panel testten alınan sonuçlar varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Tatlılık, ekşilik, lezzet şiddeti, tat sonrası izlenim ve beğeni puanı gibi her bir özelliğe ilişkin ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır. Grupların farklılığı F-testi ile değerlendirilerek, yapılan varyans analizi sonucunda elde edilen ortalama değerler MSTAT paket programı kullanılarak LSD testi ile gruplandırılmıştır. Genel olarak tüm istatistikleri değerlendirmelerde Püskülcü ve İkiz (1986)'den yararlanılmıştır.

3.2.8. Duyusal Analizler

Meyve sularında çeşitli toplumlar arasında genellikle büyük bir beğeni farkı olmayabilir. Ancak sebze sularında toplumların lezzet alışkanlıkları çok önemlidir (Cemeroğlu, 1982). Bu amaçla yapılan tat panelinde elde edilen laktoferment sebze suları duyusal analize tabi tutulmuştur. *L. plantarum* ile belli bir düzeyde asit fermentasyonu sağlanarak içilebilir bir tat kazandırılan; fermente havuç suyu, fermente

salatalık suyu, sadece 90 °C'de 5 dakika ısıtılarak pastörize edilen havuç ve salatalık suları ile, fermente havuç ve fermente salatalık sularının 2:1 oranında karışımından hazırlanan kokteylden oluşan beş örnek, değişik yaş ve meslek grubundaki on kişi tarafından denenerek, lezzet karakteristikleri yönünden değerlendirilmiştir. Değerlendirmelerini yapmaları için panelistlere verilen anket formu Altuğ (1993)'a göre hazırlanmış, ancak bazı modifikasyonlar yapılmıştır. Anket formu Çizelge 3.2.'de gösterilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi panelistler beş örneği de aynı formda değerlendirmişlerdir. Her örnek bir harfle ifade edilmiştir. Kodların verilmesi kura çekme yöntemi ile yapılmış ve kodların hangi numunelere ait olduğu panelistlere söylenmemiştir. Değerlendirme yaparken hiçbir panelistin birbirini göremeyeceği bir oturma düzeni sağlanmıştır.

Çizelge 3.2.'de görüldüğü gibi I. bölümde panelistlerin; tatlılık, asidite, lezzet şiddeti ve tat sonrası izlenimleri için puan değil, minimum ile maksimum arasında (örneğin tatsız ile çok tatlı) 2 cm uzunluğunda bir skala kullanılmıştır. Panelistlerden bu skala üzerinde uygun bir noktaya "x" işareti koyarak değerlendirme yapmaları istenmiştir. Bu yolla belli sayılar verme alışkanlığının etkisi kaldırılarak, puanlar mm cinsinden değerlendirilmiştir. Bu durumda her örneğe 1 ile 20 arasında puan verilmiştir. 0 puan; en düşük değer olarak tatsız, asitsiz, lezzet şiddeti düşük ve tat sonrası izlenimi arzu edilen tat anlamına gelmektedir. Verilen puanların 20 civarında olması ise bu sebze sularının çok tatlı, çok asitli, yoğun ve istenilmeyen tat vermesi anlamına gelmiştir. Bölüm II'de; panelistlerin genel olarak ürün hakkında beğeni puanları vermeleri istenmiştir. Bu bölümde sebze suları 1-9 skalasında değerlendirilmiş olup 1 puan; çok fazla beğendim, 9 puan; hiç beğenmedim anlamına gelmiştir. Bölüm III'de ise panelistlerden beğenisinin nedeni sorulmuştur. Anket sonuçları istatistiksel olarak incelenmiş ve farklılık yaratan gruplar LSD testi ile belirlenmiştir.

Cizelge 3.2. Sebze Sularına İlişkin Duyusal Testler Değerlendirme Formu.

İsim:

Örnek No:

Tarih:

I. Aşağıda verilen skalalarda tüm lezzet karakteristikleri soldan sağa doğru artmaktadır. Örneklerin lezzet karakteristiklerini skalalarda uygun gördüğünüz yere "X" işareti koyarak değerlendiriniz.

	A	B	C	D	E
TATLILIK	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Tatsız					Çok tatlı
ASİDLİTE	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Asitsiz					Çok asitli
LEZZET ŞİDDETİ	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Düşük					Yoğun
TAT SONRASI İZLENİM	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Yok ya da istenilen tat					Kuvvetli ve istenilmeyen tat

II. Lütfen aşağıdaki ifadeler içerisinde size sunulan ürün hakkında hissettiğiniz yanıtı işaretleyiniz.

	A	B	C	D	E
1. Çok fazla beğendim					
2. Çok beğendim					
3. Orta derecede beğendim					
4. Az beğendim					
5. Ne beğendim, ne beğenmedim					
6. Biraz beğenmedim					
7. Orta derecede beğenmedim					
8. Çok beğenmedim					
9. Hiç beğenmedim					

III.

1) Hangi bardaktaki sebze suyunu tercih edersiniz? _____

2) Niçin bu tercihi yaptınız?

Lezzeti zengin _____

Daha ekşi _____

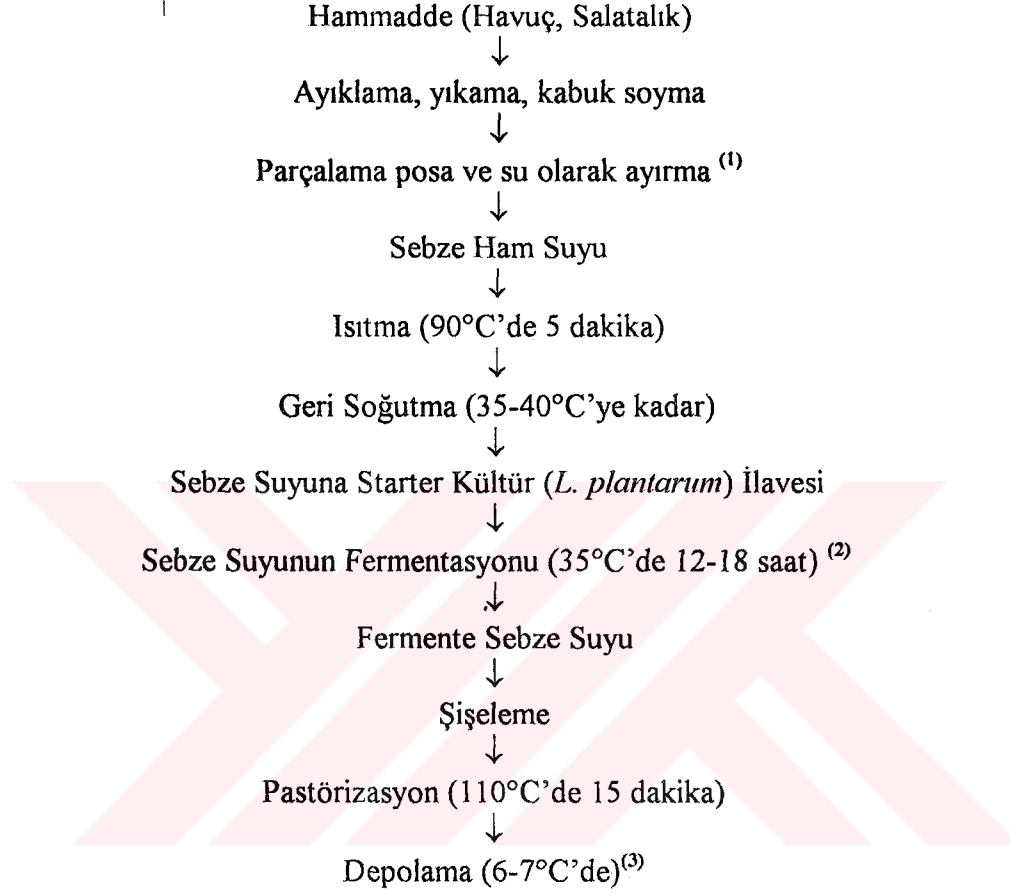
Daha hoş giden lezzet _____

Daha hoş giden koku _____

Diğer _____

3.2.9. Laktoferment Sebze Suyu Üretimi

Bu çalışmada laktoferment sebze suyu üretiminde kullanılan proses Şekil 3.3'de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. Laktoferment Sebze Suyu Üretimi Akış Şeması

NOT:

(1) Parçalama, posa ve su olarak ayırma ARK 98 RM model Robomaster'da aynı anda yapılmıştır.

(2) Fermentasyon sırasında belirli aralıklarla numuneler alınarak bunlarda pH, asitlik tayini, mikroorganizma sayımı yapılarak fermentasyonun gidişi izlenmiştir.

(3) Duyusal analizler bu örneklerde yapıldı.

Şekil 3.3'de görüldüğü gibi pazardan sağlanan havuç ve salatalıklar ayıklanarak, yıkanıp soyulduktan sonra ARK 98 RM model, rendeleme ve santrifüjle suyunu çıkarma prensibine göre çalışan bir meyve sıkacağına, parçalanıp suyu alınmıştır. Alınan su yeteri kadar partikülsüz olduğu için ilave bir süzme işlemine gidilmemiştir. Sebze suları kaynar su banyosunda ısıtılarak 90 °C'ye getirilmiş ve bu sıcaklıkta 5 dakika tutularak pastörize edilmiştir. Pastörize sebze suyundan uygun bir kısım aseptik şartlar altında şeker, asitlik ve pH tayini için ayrıldıktan sonra geri kalan kısım 35-40 °C'ye kadar soğutulup, 18 saatlik *L. plantarum* kültürü ile aşılansmıştır. Ön denemelerde belirlendiği üzere 12 saatte pH yeterli bir düzeye düştüğü için fermentasyona son verilmiş ve şişelenerek duyusal analize kadar buzdolabında muhafaza edilmiştir.



4.BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1.Sebze Sularında Fermentasyon Sürecinde Asitlik ve pH Değişimi

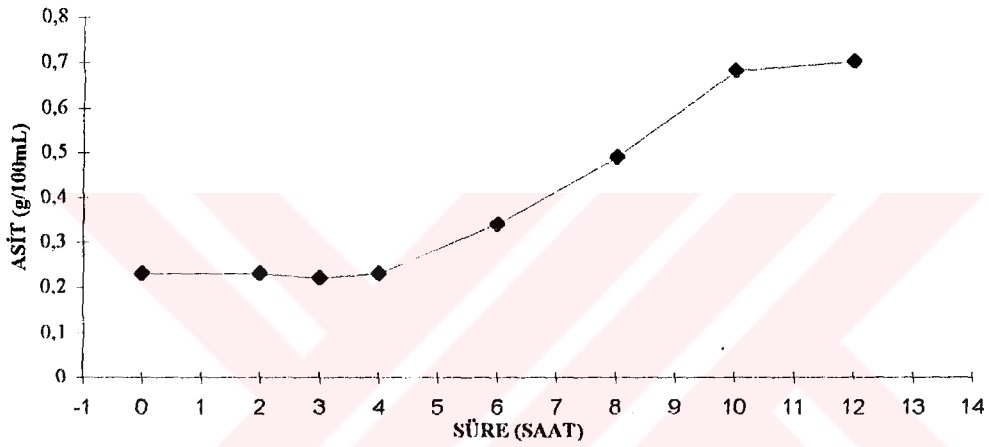
4.1.1.Havuç Suyunda Asitlik ve pH Değişimi

Yapılan bu çalışmada pastörize edilmiş havuç suyuna *L. plantarum* kültürü 10^6 - 10^7 adet/mL olacak düzeyde aşılınmış ve inoküle edilen havuç suyu 35 °C'de fermentasyona bırakılmıştır. (Yalnız bakteri gelişiminin izlenmesi için yapılan bir ön çalışmanın dışında) Fermentasyon sürecinde belirli aralıklarla örnekler alınmış olup bunlarda şeker, asitlik, pH tayini ve direk mikroskopik bakteri sayımı yapılmıştır. Asitlik ve pH ölçümlerine ait sonuçlar Çizelge 4.3'de verilmiştir. Ayrıca bu süreçte asitlik ve pH'daki değişim Şekil 4.4 ve 4.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyundan Alınan Örneklerde Asitlik ve pH Değişimi

Numunenin Alındığı Zaman (Saat)	Asitlik (Laktik asit cinsinden g/100 mL)	pH
0 (Pastörize Havuç Suyu)	0,16	6,5
0 (%4 Kültür ilavesi)	0,23	5,69
2	0,23	5,81
3	0,22	5,76
4	0,23	5,60
6	0,34	4,61
8	0,49	4,29
10	0,68	4,15
12	0,70	4,06

Çizelge 4.3’de ve Şekil 4.4’de de görüldüğü gibi başlangıçta pastörize havuç suyunda asitlik 0.16 g/100 mL ve pH 6.5 olarak belirlenmiştir. %4 oranında kültür ilavesi ile asitlik 0.23 g/100mL’ye yükselmiş ve pH da 5.69’a düşmüştür. Fermentasyon başlangıç anında 0,23 olan % asitlik, fermentasyonun sonlarına doğru 0.68-70’e yükselmiştir. Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4’de görüleceği üzere fermentasyonun başlangıç anında 5.69 olan pH, fermentasyon sonunda 4.2’nin altına düşmüştür.

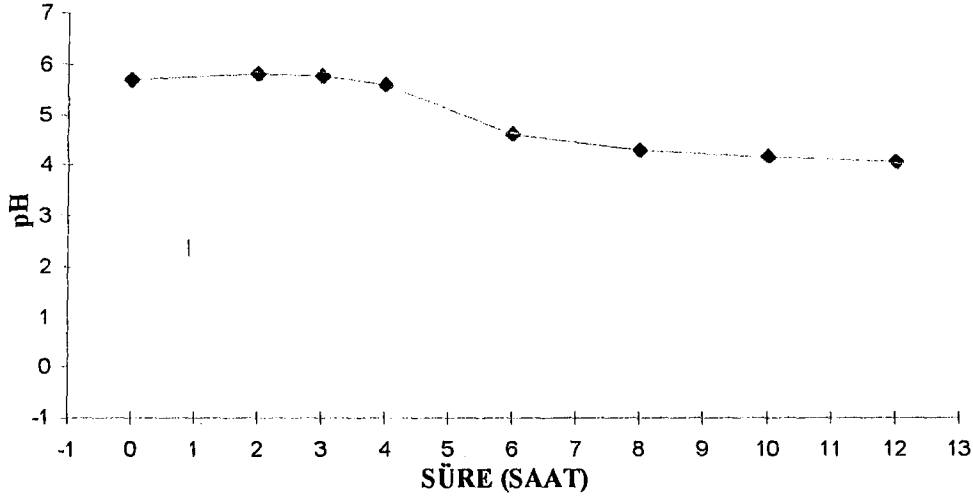


Şekil 4.4. Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyunda Gözlenen Asitlik Değişimi

Cemeroğlu (1982), havuçta pH’nın 5.5-5.6 arasında olduğunu belirtmiştir. Havuç suyu ile yapılan bu çalışmada ise pH 6.5 bulunmuştur.

Schobinger (1992), Laktoferment sebze suyu üretimi için; “sebzeler (havuç, kırmızı pancar, domates, kereviz, lahana, biber v.s) süt asidi bakterilerinden oluşan saf kültür ile aşılandıktan 12-18 saat sonra pH değeri 3.8-4.2’ye düşünce fermentasyona son verilir. Bu süre bakterinin sebze suyuna içilebilir bir tat vermesi için yeterlidir” ibaresini kullanmıştır. Tarafımızdan yapılan bu çalışmada pH, 12 saat içinde verilen bu sınırlar arasına düştüğünden ve bu sınırlar arasındaki pH’nın da sebze suyuna

içilebilir bir tad vermesini sağladığından, bu 12 saatlik sürenin fermentasyon için yeterli olduğuna karar verilmiştir.



Şekil 4.5. Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyunda Gözlenen pH Değişimi

Özdemir ve Acar (1996), *L. plantarum*'un 18 saatlik fermentasyonu sonucunda pH'yı taze havuç suyu için 6.13 ± 0.03 , fermente havuç suyu için 3.85 ± 0.10 olarak bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada Gökmen ve Acar (1992), yine aynı mikroorganizma ve aynı fermentasyon süresini kullanarak yaptıkları çalışmalarında taze havuç suyunda pH'yı 6.25 ± 0.01 , fermente havuç suyunda 3.81 ± 0.01 olarak bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada taze havuç suyunun pH'sı 6.5 olarak ölçülmüştür. 12 saatlik fermentasyon sonunda pH 5.69'dan 4.06'ya düşmüştür. pH'daki bu düşme yukarıda anlatılan her iki çalışma ile karşılaştırıldığında, bu çalışmadaki başlangıç pH'sının diğerlerine benzer olmasına karşılık son pH'ya bakıldığında düşüşün daha az olduğu görülmektedir. Yüksek pH'nın nedeni bir ölçüye kadar fermentasyon süresinin daha kısa olmasına bağlanabilir. Ancak Schobinger (1992)'e göre bu çalışmada elde edilen pH düşüşü ve fermentasyon süresi yeterli gözükmemektedir.

Luh ve Woodroof (1975), sebze suyu üretiminde kullanılan sebzelerden havuçta toplam asiti %0.12-0.60, kırmızı pancarda %0.10-0.20, kerevizde %0.10-0.18, beyaz lahanada %0.10-0.24, domateste %0.20-0.90, biberde %0.10-0.40, kuşkonmazda% 0.8 olarak bildirilmiştir. Güven ve Ark.(1983), tarafından genel asit (laktik asit cinsinden) beyaz lahanada 1.46-1.93 g/L, mor lahanada 2.48-2.68 olarak bildirilmiştir. Gökmen ve Acar (1992), hammadde havuçta toplam asitliği (sitrik asit cinsinden) 0.3 ± 0.0 g/L, starter kültür olarak *L. plantarum* kullanılarak fermente ettirilen havuç sularının toplam asitliğini (sitrik asit cinsinden) ise 3.9 ± 0.0 g/L, olarak bildirmişlerdir. Özdemir ve Acar (1996), taze havuç suyu için titrasyon asitliğini (susuz sitrik asit cinsinden, g/L) 0.55 ± 0.0 , laktik asit miktarını (mg/mL) 0.00 ± 0.0 olarak verirken, fermente havuç suyunun titrasyon asitliğini (susuz sitrik asit cinsinden, g/L) 4.13 ± 0.29 , laktik asidi (mg/mL) 8.96 ± 0.82 olarak bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada ise hammadde havuçta % toplam asitlik 0.16 olarak verilmiştir. Bu değer Luh ve Woodroof (1975), tarafından bildirilen asitlikle uyum göstermiştir. Bu çalışmada bulunan 0.16 değerinin susuz sitrik asit cinsinden karşılığı 0.12 g/100 mL (1.2 g/L)'dir. Gökmen ve Acar (1992), taze havuç suyu için asitliği (sitrik asit cinsinden) 0.3 ± 0.0 g/L, Özdemir ve Acar (1996), ise 0.55 g/L olarak bildirmişlerdir. Bu anlamda yapılan çalışmada kullanılan havucun toplam asitliği iki çalışmadaki toplam asitlikten de yüksek bulunmuştur.

Gökmen ve Acar (1992), 19 saat süre ile fermente ettirilen havuç suyunun titrasyon asitliğini 3.9 ± 0.0 g/L, Özdemir ve Acar (1996), 4.13 ± 0.29 g/L olarak bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise 12 saatlik fermentasyon sonrasında havuç suyunun asitliği laktik asit cinsinden 0.70 g/100 mL, sitrik asit cinsinden 0.50 g/100 mL (5 g/L) olarak bulunmuştur. Bu değer, yapılan iki çalışmada kaydedilen sonuçlardan daha yüksektir. Bunun nedeni havucun başlangıç asitliğinin yüksek olmasına bağlanabilir.

4.1.2. Salatalık Suyunda Asitlik ve pH Değişimi

Salatalık suyunda fermentasyon sürecinde alınan örneklerde asitlik ve pH ölçümü değerleri Çizelge 4.4.'de verilmiştir. Ayrıca fermentasyon süresince asitlik ve pH'daki değişim Şekil 4.6 ve 4.7'de gösterilmiştir.

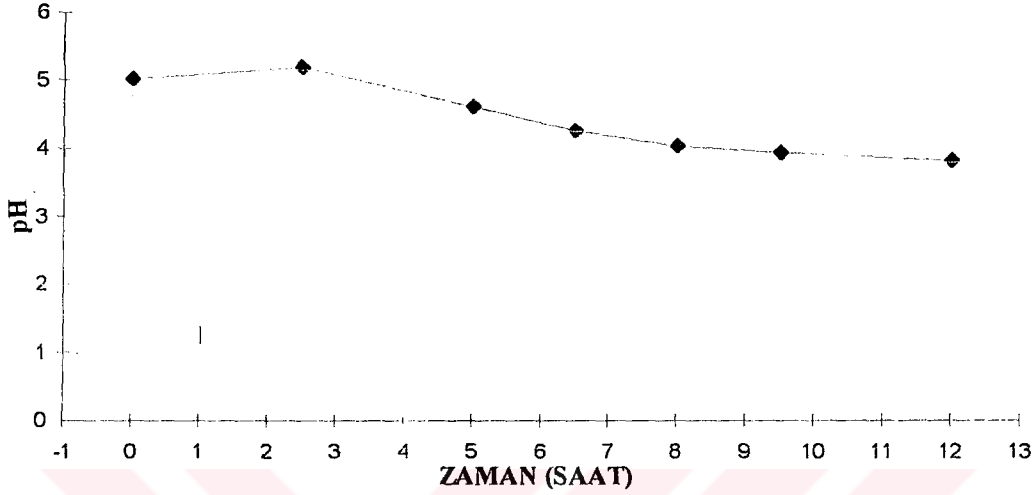
Çizelge 4.4. Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerde Asitlik ve pH Değişimi

Numunenin Alındığı Zaman (Saat)	Asitlik (Laktik asit cinsinden g/100 mL)	pH
0 Pastörize Salatalık Suyu	0,14	5,50
0 (%4 Kültür İlavesi)	0,25	5,01
2,5	0,22	5,18
5	0,27	4,61
6,5	0,34	4,25
8	0,41	4,03
9,5	0,47	3,93
12	0,52	3,82

Çizelge 4.4'de belirtildiği gibi pastörize edilmiş taze salatalık suyunda başlangıçta 5.50 olan pH, % 4'lük *L. plantarum* kültürünün ilave edildiği t = 0 anında 5.01'e düşerken 12 saatlik fermentasyon sonunda 3,82 olarak ölçülmüştür. Bu değerlere karşılık gelen grafik Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Mc Donald ve Ark. (1991), turşu hammaddesi olarak salatalıkta pH'yı 5.17 olarak bildirmişlerdir. Bu çalışmadaki başlangıç pH'sı bu değere yakın bulunmuştur.

Özçelik ve İç (1996), ekonomik olmayışı ve ticari üretimdeki zorluğu nedeniyle laktoferment yöntem yerine salamura vb. şekillerde tüketilmekte olan salatalık ile ilgili fazla bir bilgi bulunmadığını belirtmişlerdir. Bu nedenle salatalık suyu

ile ilgili veriler genel kaynaklarla tartışılmıştır. Schobinger (1992), tarafından laktoferment sebze suları için pH 3.8-4.2 olarak verilmiştir. Çizelge 4.4'den de görüleceği gibi bu çalışmada 12 saatlik bir fermentasyonun sonunda pH'nın 3.82'ye düşmesi , laktoferment sebze suyu üretimi için yeterli bulunmuştur.

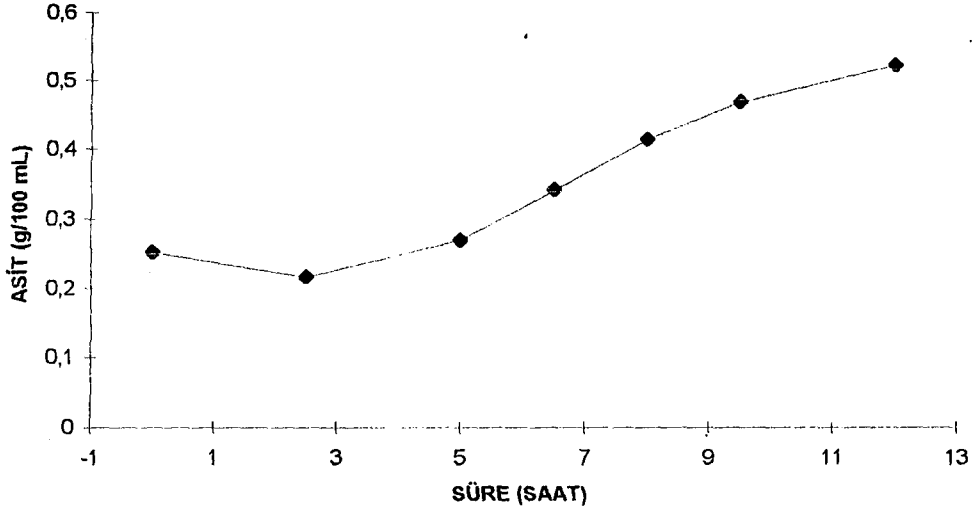


Şekil 4.6. Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyunda Gözlenen pH Değişimi

Çizelge 4.4 ve Şekil 4.7'de görüleceği üzere % asitlik (g/100 mL) t= 0 anında 0.25 g/100 mL iken fermentasyonun sonuna doğru 0.52 g/100 mL'ye yükselmiştir.

Yapılan bu çalışmada pastörize salatalık suyunda asitlik, laktik asit cinsinden 0.25 g/100mL olarak bulunmuştur. Bu değer sitrik asit cinsinden 0.18 g/100 mL 'ye eş değerdir. Bu değer Luh ve Woodroof (1975), tarafından bazı sebzeler için verilen asitlik miktarına benzer görülmektedir.

Yapılan fermentasyon sonucunda 12 saatte asitlik 0.25 g/100 mL 'den 0.52 g/100 mL'ye ulaşmıştır. Bu değer aynı sürede havuç suyunda elde edilen asitlik miktarından (0.23 g/100 mL - 0.70 g/100 mL) bir miktar daha az bulunmuştur.



Şekil 4.7. Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyunda Gözlenen Asit Değişimi

4.2. Sebze Suyunda Fermentasyon Sürecinde Şeker Miktarındaki Değişim

4.2.1. Havuç Suyunda Fermentasyon Sürecinde Şeker Miktarındaki Değişim

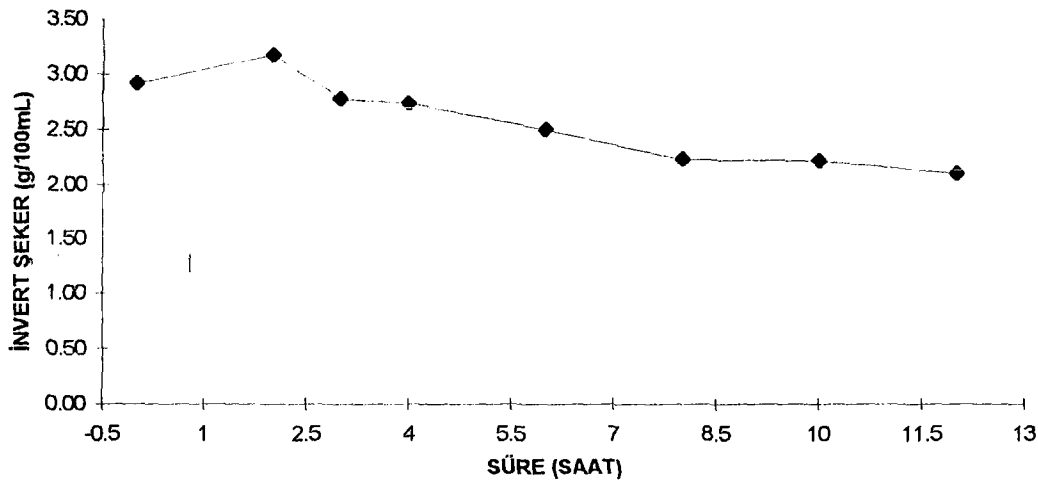
Havuç Suyunda *L. plantarum* ile fermentasyon sırasında alınan örneklerde şeker analiz sonuçları Çizelge 4.5'de verilmiştir. İvert şeker ve toplam şeker miktarlarındaki değişim Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da, diğer şeker miktarındaki değişim Şekil 4.10'da gösterilmiştir.

Slinde ve Ark. (1993) havuçta, Chen ve Ark. (1983) fasülyede uygulanan ısıtma işleminin şeker tüketimine herhangi bir etki yapmadığını bildirmişlerdir. Bu nedenle fermentasyon öncesi yapılan pastörizasyon işleminden önce ve sonra olmak üzere 2 ayrı şeker tayini yapılmamıştır.

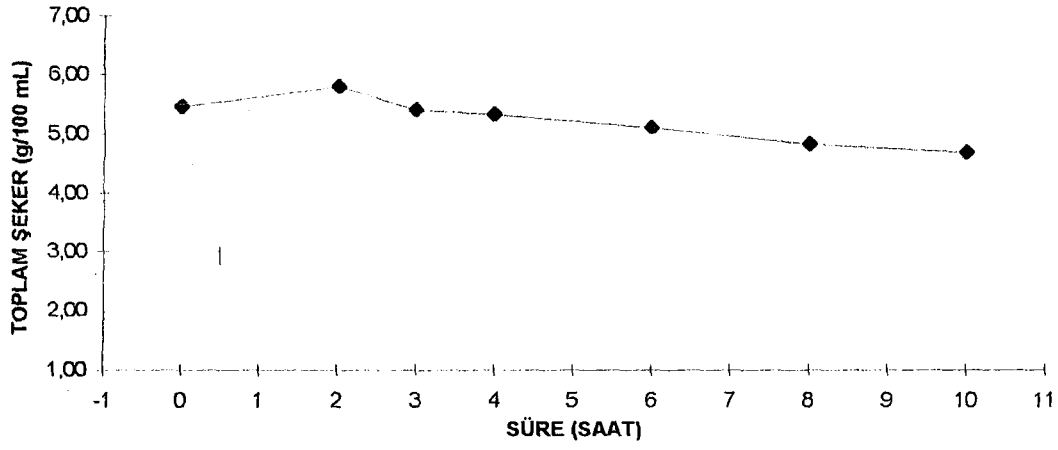
Çizelge 4.5. Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyundan Alınan Örneklerde Şeker Miktarındaki Değişmeler

Süre(saat)	İnvert Şeker (g/100mL)	Toplam Şeker (g/100mL)	Diğer Şekerler (g/mL)
0	2,92	5,45	2,53
2	3,17	5,79	2,62
3	2,78	5,40	2,62
4	2,74	5,32	2,58
6	2,50	5,10	2,60
8	2,23	4,82	2,59
10	2,22	4,68	2,46
12	2,10	-	-

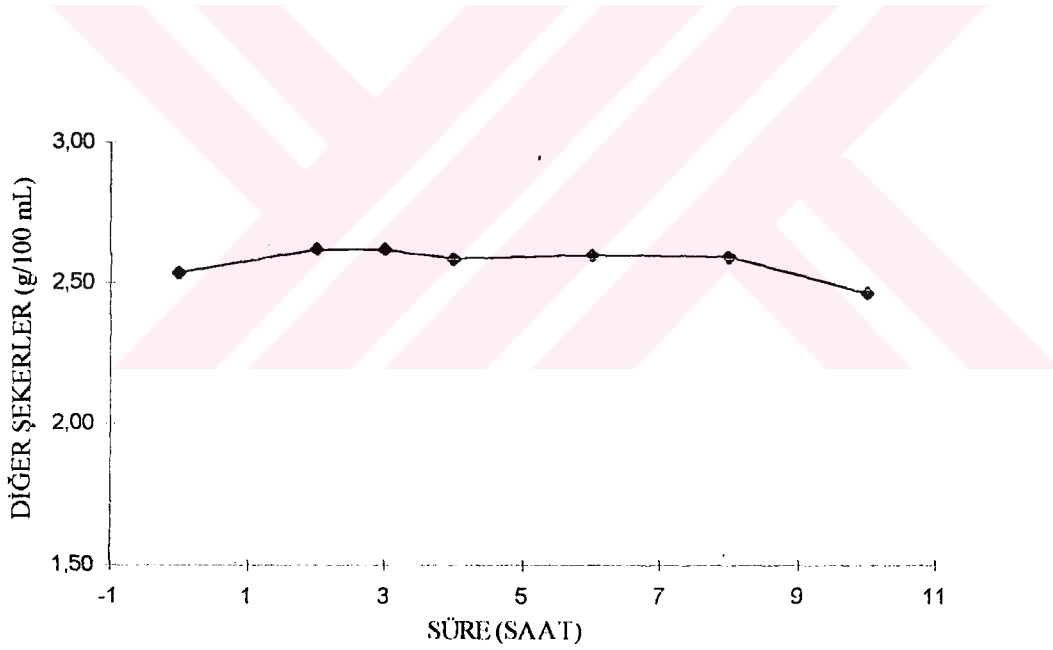
Pekin (1990), Kültür ortamından alınan örneklerde zamana göre substrat konsantrasyonundaki azalışlar ile mikroorganizmalardaki artışlar ölçülerek grafiklerin çizildiğini belirtmiştir. Aşağıda fermentasyon sürecinde şeker azalışına ilişkin grafikler görülmektedir.



Şekil 4.8. Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyundan Alınan Örneklerde İnvert Şeker Miktarındaki Değişmeler



Şekil 4.9. Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyundan Alınan Örneklerde Toplam Şeker Miktarındaki Değişmeler



Şekil 4.10. Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyundan Alınan Örneklerde Diğer Şekerlerde Meydana Gelen Değişmeler

Şekil 4.8'de görüldüğü gibi invert şeker miktarı 12 saatte %2.92'den %2.10'a düşerken, toplam şeker miktarı aynı sürede %5.45'den %4.68'e

düşmüştür (şekil 4.9). Diğer şekerlerde ise önemli bir değişiklik olmamıştır (şekil 4.10).

Özdemir ve Acar (1996), taze havuç suyundaki toplam şekeri 5.51 ± 0.20 g/100g, invert şekeri 4.11 ± 0.02 g/100g, olarak bildirirken, Gökmen ve Acar (1992), taze havuç suyundaki toplam ve invert şekeri ise sırasıyla 59.7 ± 0.3 g/L ve 25.1 ± 0.4 g/L olarak bildirmişlerdir. Çizelge 4.5'de (t=0 anında) görüldüğü gibi yapılan bu çalışmada pastörize havuç suyunda invert şeker 2.92 g/100 mL (29.2 g/L), toplam şeker 5.45 g/100 mL (54.5 g/L) bulunmuştur Fermente olmamış havuç suyu ile ilgili olarak verilen bu değerler her iki kaynakla uygunluk göstermektedir.

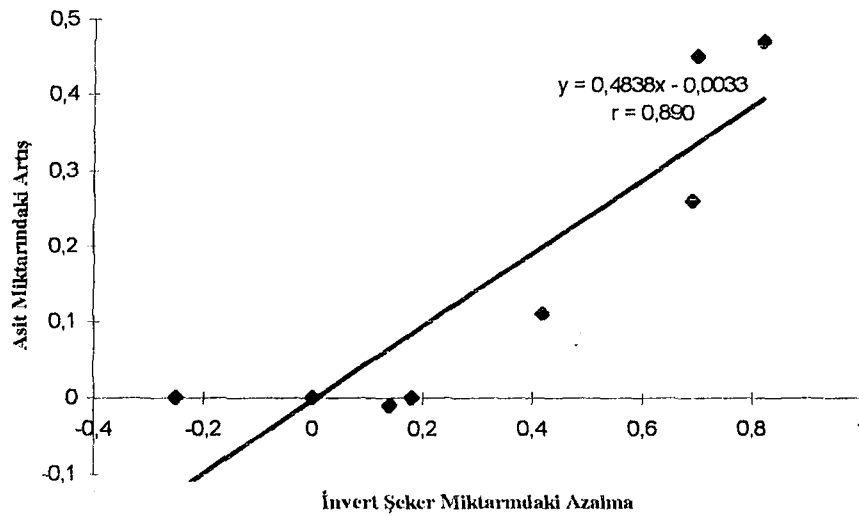
Yine Gökmen ve Acar (1992), *L. plantarum* ile hazırladıkları havuç suyundaki toplam ve invert şekerleri sırasıyla 44.3 ± 0.1 g/L ve 13.2 ± 0.1 g/L olarak, Özdemir ve Acar (1996), ise sırasıyla 5.02 ± 0.16 g/100g ve 4.35 ± 0.35 g/100g olarak açıklamışlardır. Yapılan bu çalışmada 12 saatlik fermentasyon sürecinde toplam şeker ve indirgen şeker miktarlarındaki azalış Çizelge 4.5 ve Şekil 4.8 ile 4.9'da görülmektedir. Çizelge 4.5 ve şekillerde de görüldüğü gibi fermentasyon sürecinde toplam şeker miktarında düzenli sayılabilecek bir azalma gözlenmiştir ve süre sonunda toplam şeker miktarı 4.68 g/100 mL 'ye, invert şeker miktarı 2.10 g/100 mL 'ye düşmüştür. İvert ve toplam şeker miktarındaki azalma diğer kaynaklarla (Gökmen ve Acar, 1992; Özdemir ve Acar 1996) benzerlik göstermiştir. Fermentasyon sürecinde şekerin önemli bir kısmı *L. plantarum* tarafından laktik asite çevrilmektedir (Pamir, 1977).

Yapılan bu çalışmada fermentasyon sürecinde şekerin azalışı Çizelge 4.5'de ve laktik asit miktarındaki artış ise Çizelge 4.3'de görülmektedir. Her iki çizelgeden yararlanarak fermentasyon sürecinde şeker miktarındaki azalışa karşılık laktik asit miktarındaki artış Çizelge 4.6.'da, bu ilişkiye ait regrasyon eğrisi de Şekil 4.11'de verilmiştir.

Şekilden de görüleceği gibi invert şeker miktarındaki azalış ile asit miktarındaki artış arasında önemli bir korelasyon vardır ($r = 0.89$). Buna göre % 1 şeker azalışı karşısında, asitlikte (laktik asit cinsinden) 0.48'lik bir artış meydana gelmiştir. Buna göre yapılan çalışmada laktik asit oluşumundaki verimin % 48 civarında olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.6. Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyunda İvert Şeker Miktarındaki Azalış ve Asit Miktarındaki Artış

SÜRE (Saat)	İvert Şeker Miktarındaki Azalış (g/100 mL)	Asit Miktarındaki Artış
0	0	0
2	-0.25	0
3	0.14	-0.01
4	0.18	0
6	0.42	0.11
8	0.69	0.26
10	0.70	0.45
12	0.82	0.47



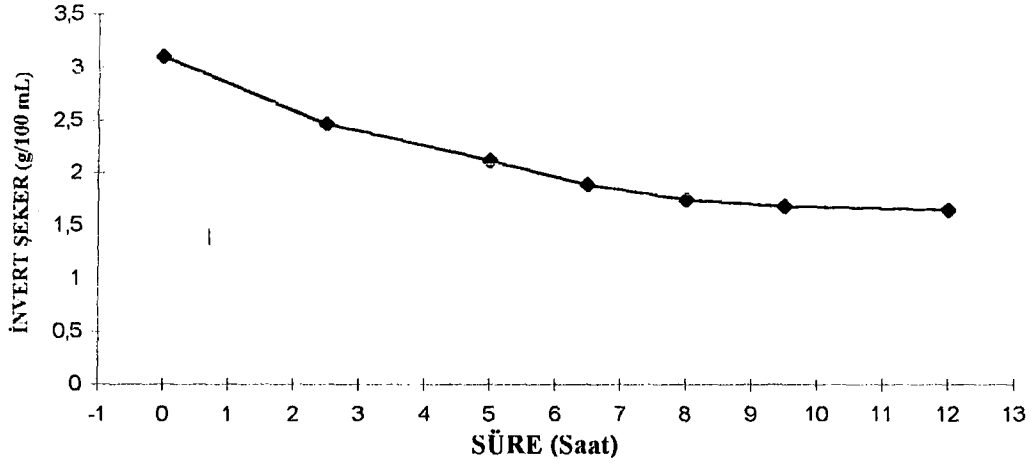
Şekil 4.11. Fermentasyon Sürecinde Havuç Suyunda İvert Şeker Miktarındaki Azalış ve Asit Miktarındaki Artış

4.2.2. Salatalık Suyunda Fermentasyon Sürecinde Şeker Miktarındaki Değişim

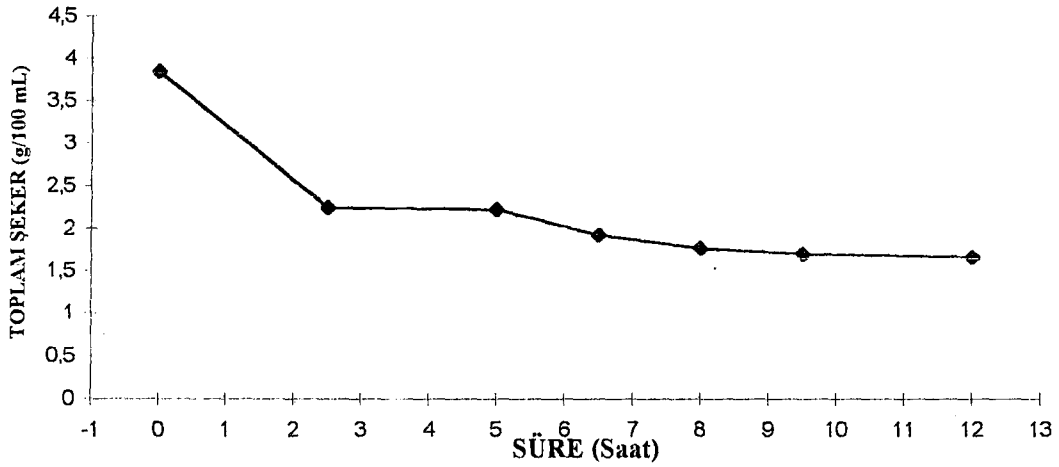
Salatalık Suyunda *L. plantarum* ile fermentasyon sırasında alınan örneklerde şeker analiz sonuçları Çizelge 4.7’de gösterilmiştir. Şeker miktarlarındaki azalışa ait grafikler ise Şekil 4.12, 4.13 ve Şekil 4.14’de yer almaktadır.

Çizelge 4.7. Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerde Şeker Miktarındaki Değişmeler

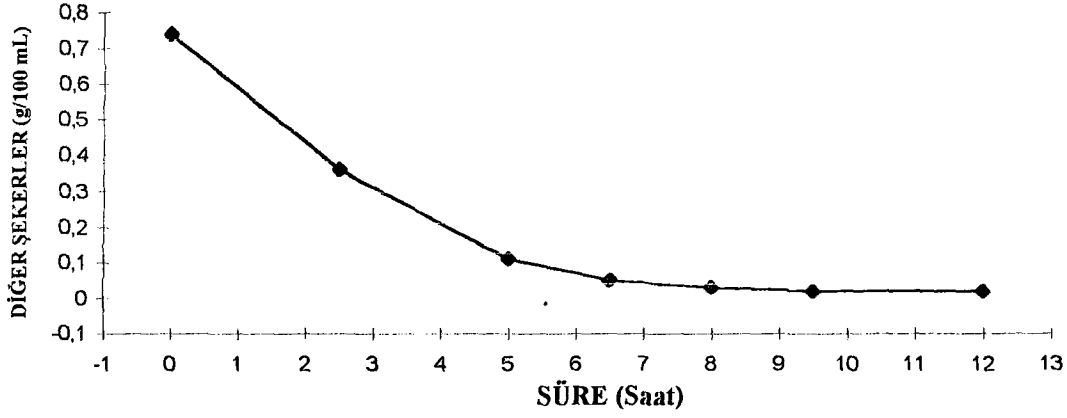
Süre	İnvert Şeker (g/100mL)	Toplam Şeker (g/100mL)	Diğer Şekerler (g/mL)
0	3,1	3,84	0,74
2,5	2,46	2,24	0,36
5,0	2,11	2,22	0,11
6,5	1,88	1,93	0,05
8,0	1,74	1,77	0,03
9,5	1,68	1,70	0,02
12	1,64	1,66	0,02



Şekil 4.12. Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerde İnyert Şeker Miktarındaki Değişmeler



Şekil 4.13. Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerde Toplam Şeker Miktarındaki Değişmeler



Şekil 4.14. Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerin Diğer Şeker Miktarlarındaki Değişmeler

Çizelge 4.6 ve Şekillerde de görüleceği üzere ilk 2.5-5 saat içinde toplam şeker miktarı % 4'den % 2.5'a, invert şeker miktarı ise % 3'den % 2'ye düşmüştür. Daha sonraki azalma ise oldukça yavaş olmuştur.

Çizelge 4.8. Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyunda İvert Şeker Miktarındaki Azalış ve Asit Miktarındaki Artış

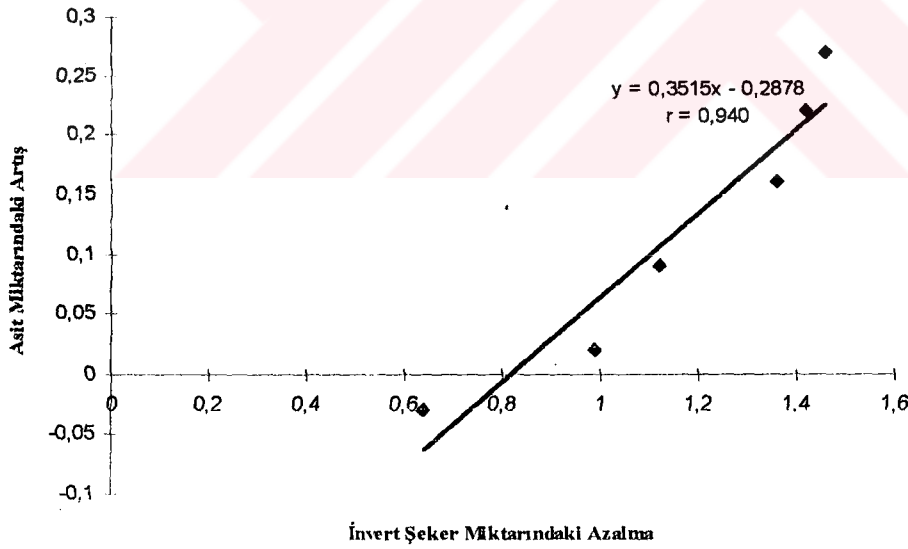
SÜRE (Saat)	İvert Şeker Miktarındaki Azalış (g/100mL)	Asit Miktarındaki Artış
0	0	0
2.5	0.64	-0.03
5.0	0.99	0.02
6.5	1.22	0.09
8.0	1.36	0.16
9.5	1.42	0.22
12	1.46	0.27

Salatalık fermentasyonunun izlenmesi asit ve şeker tayinleri ile de yapılabilir. Fermentasyon ilerledikçe asit artar ve şeker azalır. En son şeker sıfıra inerken asit en

yüksek noktaya ulaşır ya bu değerde sabit kalır veya az miktarda bir azalma gösterir (Şahin,1982). Yapılan çalışmada da benzer durum görülmekte, şeker azalırken asitlik artmaktadır.

Şekil 4.15'den de görüleceği gibi invert şeker miktarındaki azalış ile asit miktarındaki artış arasında önemli bir korelasyon vardır ($r = 0.94$) Buna göre % 1 şeker azalışı karşısında, asitlikte (laktik asit cinsinden) 0.35'lik bir artış meydana gelmiştir. Buna göre yapılan çalışmada laktik asit oluşumundaki verimin % 35 civarında olduğu söylenebilir.

Chen ve Ark. (1983), *L. plantarum*'un, fasulye suyunda tam bir homofermantatif ürün modeli vererek fermente olan hegzos başına 2 mol laktik asit oluşturduğunu bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada ulaşılan verim çok daha düşük olmuştur.



Şekil 4.15. Fermentasyon Sürecinde Salatalık Suyundan Alınan Örneklerde Invert Şeker Miktarındaki Azalışa Karşılık Asit Miktarındaki Artış

4.3. Sebze Sularında *L. plantarum*'un Gelişimi

4.3.1. Havuç Suyunda *L. plantarum*'un Gelişimi

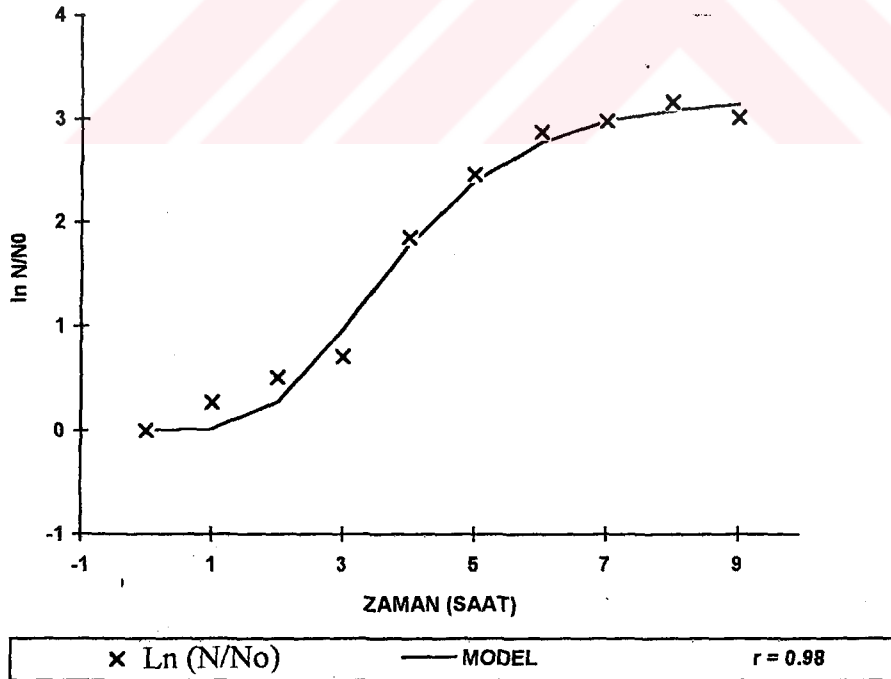
Bir ön çalışma olarak bölüm 3.2.9.'daki üretim planında belirtildiği şekilde hazırlanan havuç suyu *L. plantarum* kültürü ile başlangıç inokülüm miktarı 10^6 - 10^7 adet/mL olacak şekilde aşılansak 35°C 'de 12 saat fermentasyona bırakılmış ve sabit faza kadar olan devreyi kapsayacak şekilde damla kültür yöntemi ile MRS katı besiyerinde sayım yapılmıştır. Sayım sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Havuç Suyunda Damla Plaka Yöntemine İlişkin Sayım Sonuçları

SÜRE (Saat)	MİKROORGANİZMA SAYISI (adet/mL)
0	5.00×10^7
1	6.52×10^7
2	5.09×10^7
3	1.01×10^8
4	3.17×10^8
5	5.87×10^8
6	8.78×10^8
7	9.74×10^8
8	1.17×10^9
9	1.01×10^9

Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi aşılama anında Laktik asit bakterisi sayısı 5.0×10^7 olmuştur. Metotta belirtildiği gibi aşılansak laktik asit bakterisi sayısının 10^6 - 10^7 adet/mL olması planlanmıştır. Gökmen ve Acar (1992), yaptığı çalışmada başlangıç starter kültürünü 3×10^7 adet/g olarak bildirmişlerdir. Her iki çalışmada inokülüm yönünden benzerlik görülmektedir.

Çizelge 4.9' da görüldüğü gibi yapılan bu çalışmada 9 saatlik inkübasyon süresi sonunda laktik asit bakteri sayısı $1.0-1.2 \times 10^9$ 'a kadar yükselmiştir. Bakteri gelişimindeki bu artış şekil 4.16'da görülmektedir. Şekilden anlaşıldığı gibi bakteri sayısının nisbi popülasyon değerinin (N/N_0) doğal logaritmasının zamana karşı değişimi ("x" ile gösterilen noktalar) sigmoidal bir eğri göstermektedir. Eğrinin mikroorganizma gelişiminin modeli olarak kullanılan Modifiye Gompertz Eşitliğine uygunluğu doğrusal olmayan regresyon yöntemi ile belirlenmiş ve modelin parametreleri olan; maksimum spesifik üreme (gelişim) hızı $\mu_{max} = 0.85 \text{ saat}^{-1}$; lag faz süresi $\lambda = 1.85 \text{ saat}$ ve maksimum nisbi popülasyon değeri ($\ln(N/N_0)$ olarak) $A = 3.20$ olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmada elde edilen değerlerin modele uygunluğu oldukça yüksektir ($r = 0.98$). Bu parametreleri kullanarak çizilen eğri yine Şekil 4.16'da (—) görülmektedir. Şekilde de görüleceği üzere ortama aşılana *L. plantarum* kültürü yaklaşık ilk 2 saat sabit kalmış ve yaklaşık 7 saatte maksimum düzey olan 10^9 civarına ulaşmıştır.



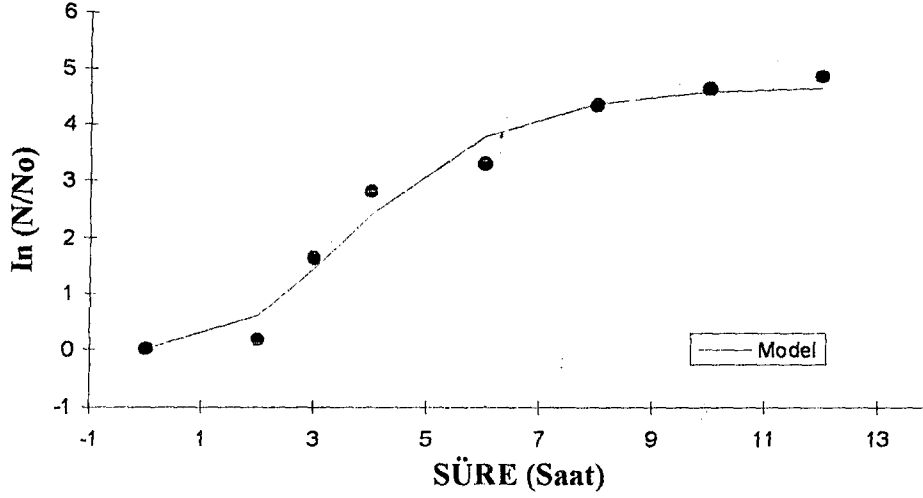
Şekil 4.16. Havuç Suyunda Damla Plaka Yöntemi ile Sayım Sonuç Grafiği

Asıl denemede ise mikroorganizma sayısı Breed yöntemi ile sayılmış olup, sayım sonuçları ve gelişim grafiği Çizelge 4.10 ve Şekil 4.17’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.10’da görüleceği üzere inoküle edilen bakteri düzeyi 1.53×10^7 adet/mL olmuştur. İnoküle edilen bakteri sayısı bakımından bu değerle bir önceki çalışma ve Gökmen ile Acar (1992)’ın yaptığı çalışma uygunluk göstermektedir. Bakteri düzeyi 10-12 saatlik bir inkübasyon sonrasında $1.58-1.99 \times 10^9$ adet/mL’ye yükselmiştir. Her iki çalışmada elde edilen sayım sonuçları birbirine yakın gözükmemektedir. Aynı şekilde yapılan bu çalışmada mikroorganizma sayım sonuçları Modifiye Gompertz Eşitliği kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen gelişim parametreleri ve bu modele ait eğri Şekil 4.17’de verilmiştir. Şekil incelendiğinde görüleceği üzere inoküle edilen mikroorganizma yaklaşık olarak 1.5 saatlik lag faz döneminden sonra artmaya başlamış ve yaklaşık 8’inci saatten sonra maksimum düzey olan 10^9 değerine ulaşmıştır.

Çizelge 4.10. Havuç Suyunda Breed Yöntemine İlişkin Sayım Sonuçları

SÜRE (Saat)	SAYI (Adet/mL)
0	1.53×10^7
2	1.82×10^7
3	7.86×10^7
4	2.52×10^8
6	4.15×10^8
8	1.18×10^9
10	1.58×10^9
12	1.99×10^9



$$A=4.71, \lambda=1.49, \mu_{max}=0.97, r=0.98$$

Şekil 4.17. Havuç Suyunda Breed Yöntemi ile Sayım Sonuç Grafiği

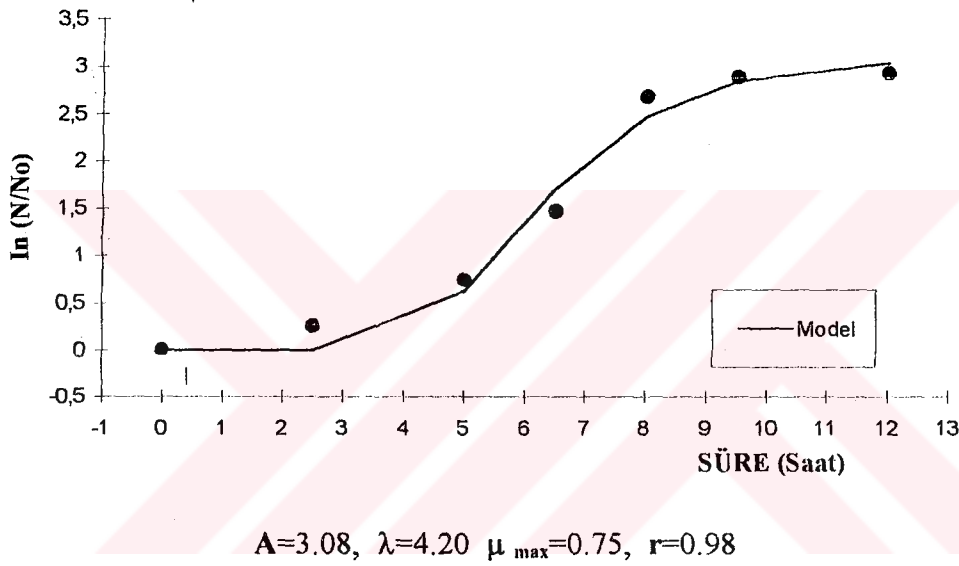
4.3.2. Salatalık Suyunda *L. plantarum*'un Gelişimi

Daha önce havuç suyunda belirtildiği gibi pastörize edilen salatalık suyu 10^6 - 10^7 adet/mL hücre içerecek şekilde *L. plantarum* kültürü ile aşılansak 35 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresince belli aralıklarla alınan örneklerde Breed yöntemi ile direk mikroskopik sayım yapılmıştır. Sayım sonuçları Çizelge 4.11'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.11. Salatalık Suyunda Breed Yöntemine İlişkin Sayım Sonuçları

SÜRE (Saat)	SAYI (Adet/mL)
10	2.40×10^7
2.5	3.08×10^7
5	4.99×10^7
6.5	1.03×10^8
8	3.49×10^8
9.5	4.30×10^8
12	4.45×10^8

Çizelge 4.11'den görüleceği üzere *L. plantarum* kültürü ile inokülasyon sonrası alınan $t = 0$ örneğinde mikroorganizma sayısı 2.4×10^7 adet/mL olmuştur. Bu sayının diğer çalışmalardaki başlangıç inokülasyon düzeyi ile uygunluk gösterdiği söylenebilir. Yine Çizelge 4.11 incelendiğinde görüleceği üzere 10-12 saatlik bir fermentasyon sonunda mikroorganizma sayısı $4.30-4.45 \times 10^8$ adet/mL düzeyine yükselmiştir. Ulaşılan bu artışın, havuç suyun ile yapılan çalışmada kaydedilen mikroorganizma sayısından daha düşük olduğu gözlenmiştir. Salatalık suyunda ise incelenen kaynaklar arasında benzer bir çalışmaya rastlanmadığından aynı şekilde mikroorganizma düzeylerini karşılaştırmak mümkün olmamıştır.



Şekil 4.18. Salatalık Suyunda Breed Yöntemi ile Yapılan Sayım Sonuç Grafiği

Şekil 4.18'de havuç suyunda yapıldığı gibi nisbi popülasyon değerinin doğal logaritması ($\ln (N/No)$) zamana karşı grafiğe geçirilmiş ve Şekil 4.18'deki gibi bir bakteriyal gelişim eğrisi elde edilmiştir. Şekilden görüleceği üzere asimtot değeri (A) = 3.08, lag faz süresi (λ) = 4.20 saat, maksimum spesifik gelişim hızı (μ_{max}) = 0.75 saat⁻¹, r = 0.98 olarak bulunmuştur. Şekilden görüleceği üzere ortama aşılana *L. plantarum* kültürü 12 saatlik fermentasyon süresi boyunca yaklaşık ilk 4 saat sabit kalmış ve yaklaşık 9-10 saatte maksimum düzey olan 10^9 adet/mL değerine ulaşmıştır. Çizelge 4.10

ve 4.11 ile Şekil 4.17 ve 4.18'de görüldüğü gibi *L. plantarum* kültürünün her iki sebze suyunda maksimum spesifik üreme hızları birbirine yakın bulunmuştur.

4.4. Elde Edilen Fermente Sebze Sularının Duyusal Değerlendirilmesi

Bölüm 3.2.7'de belirtildiği gibi fermente havuç ve fermente salatalık suları, bunların 2:1 oranından karışımından oluşan kokteyl ile kontrol olarak fermente olmamış (yalnızca pastörize edilerek hazırlanmış) havuç ve salatalık suları olmak üzere beş örnek on kişilik bir panel grubu tarafından duyusal analize tabi tutulmuştur. Panelistlerden her örnek için çizelge 2.'de verilen form ile örneklere ait tatlılık, ekşilik, lezzet şiddeti, tat sonrası izlenim ve beğeni puanları vermeleri istenmiştir. Örneklere ait tatlılık, ekşilik, lezzet şiddeti, tat sonrası izlenim ve beğeni puanına ait ortalama puanlar Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Hazırlanan sebze sularıyla yapılan panel testten alınan sonuçlar varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Varyans analizi sonucunda hazırlanan sebze suları arasında tüm kriterler açısından istatistiksel olarak önemli farklılıklar vardır (Çizelge 4.12).

Varyans analizi sonucu elde edilen ortalama değerler LSD testi kullanılarak gruplandırılmıştır. LSD değerleri Çizelge 4.13'de verilmiştir.

Bu çizelgeden de görüldüğü gibi sebze sularına ait tatlılık değerleri incelendiğinde panelistler en yüksek değeri pastörize havuç suyuna vermiştir. Bu sonuç pastörize havuç suyunun sebze suları içinde tatlılığı en yüksek sebze suyu olduğunu göstermiştir. Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.7'de belirtildiği gibi havuç suyunun toplam şeker miktarı salatalık suyundan daha yüksektir. Bu anlamda kimyasal ve duyusal değerlendirme sonuçları paralellik göstermektedir. Buna karşılık en düşük tatlılık puanı fermente salatalık suyunda saptanmıştır. Bu sonuçta Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.7'de verilen

toplam şeker analiz sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Fermente salatalık suyu, pastörize salatalık suyu ve kokteyl sebze suları arasında istatistiksel olarak önemli farklılık gözlenmemiştir.

Sebze suları ekşilik yönünden değerlendirildiğinde fermente havuç suyu en yüksek ekşilik değerini alırken, pastörize salatalık suyu en düşük değeri almıştır. Panelistler sebze sularını ekşilik yönünden değerlendirirken kontrol amacıyla kullanılan pastörize havuç ve pastörize salatalık suyunun ekşiliğini diğer üç sebze suyundan önemli düzeyde farklı bulmuşlardır. Beklenildiği gibi henüz fermente olmamış sadece pastörize edilerek panelistlere sunulmuş olan pastörize salatalık ve havuç suları çok az ekşi bulunurken, fermente olarak asitliği artan diğer üç sebze suyunda belirli bir ekşilik bulunmuştur.

Panelistlerin sunulan sebze suları içerisinde lezzet şiddeti en düşük sebze suyu, pastörize salatalık suyu olmuştur. Buna karşılık lezzet şiddeti en yoğun sebze suyu olarak pastörize havuç suyu diğer sebze suları içinde en yüksek puanı almıştır. Varyans analizinden de görüldüğü gibi sebze suları arasındaki farklılık tesadüfî olmayıp önemlidir.

Tat sonrası izlenim açısından değerlendirildiğinde fermente salatalık ve fermente havuç suyu panelistlere kuvvetli ve istenilmeyen bir tat izlenimi vermiştir. Panelistlerce tat sonrası izlenimi olmadığı için istenilen tat olarak tercih edilen sebze suyu ise pastörize havuç suyu olmuştur. Varyans analizinde de gözlendiği gibi sebze suları arasında gözlenen bu farklılık önemli olmayıp tesadüften ileri gelmektedir.

Çizelge 4.13’de görüldüğü üzere panelistler beğeni puanını pastörize havuç suyundan yana kullanmışlardır. Bu sebze suyunu beğeni puanı açısından fermente havuç suyu izlemiştir. Salatalık suyunun ise hem pastörize edilmiş, hem de fermente ettirilmiş hali tercih edilmemiştir.

Panelistlere "hangi sebze suyunu tercih ederdiniz?" şeklinde yöneltilen sorulara verilen yanıtlar değerlendirildiğinde ise panelistlerden beşi pastörize havuç suyunu, biri fermente havuç suyunu, diğeri kokteyli, bir diğeri de fermente salatalık suyunu tercih ederken, iki panelistte sebze sularından hiç birini tercih etmemişlerdir.

Panelin değerlendirmesine dayanılarak fermente sebze sularının panelistler tarafından pastörize sebze sularından daha az beğenildiğini söylemek mümkündür. Gökmen ve Acar (1992), üç farklı mikroorganizma kullanarak hazırladıkları laktoferment havuç sularına bir ay kadar 13-14 °C'de depoladıktan sonra tüketici olabilecek kişiler tarafından duyuşal testlere tabi tutmuşlardır. Toplam puan sayısına göre yaptıkları değerlendirme sonrasında *L. plantarum* kullanarak hazırladıkları sebze suları "içilebilir" bulunurken, diğeri iki sebze suyunun toplam puanları "tercih edilmez" ve "içilemez" şeklinde olmuştur. Özdemir ve Acar (1996), fermente havuç mayşesinden total enzimatik sıvılaştırma uygulayarak ve uygulamadan ürettikleri havuç sularını duyuşal testlere tabi tuttuklarında; enzim uygulaması yapılmayan örneklerin daha fazla tercih edildiğini bildirmişlerdir.

Sonuç olarak Schobinger (1992)'in belirttiği gibi hemen her türlü sebzedeki laktoferment yöntemiyle sebze suyu üretmek mümkündür. Ancak damak zevkinin oluşturulması ve laktoferment sebze suyunun içilebilirliğini artıracak önlemlerin alınması ile besleyici özelliği olan ve her hangi bir baharat ilavesi gerektirmediğinden diyet amaçlı kullanılabilen bu yeni mamulün yaygınlaştırılması sağlanabilir.

Çizelge 4.13. Sebze Suları Panel Testine Ait Ortalama Puanlar Tablosu

SEBZE SULARI	ORTALAMA DEĞERLER ^(a) ^(b)				
	Tatlılık	Eksiklik	Lezzet Şiddeti	Tat Sonrası İzlenim	Beğeni Puanı
1.Fermente Havuç Suyu	5.0 b	11.8 a	10.10 ab	11.3 a	4.7 ab
2.Fermente Salatalık Suyu	4.7 b	8.7 a	6.9 bc	12.7 a	6.4 ab
3.Pastörize Salatalık Suyu	6.9 b	1.9 b	4.7 c	10.8 ab	6.5 a
4.Pastörize Havuç Suyu	10.6 a	2.9 b	11.9 a	6.5 b	4.5 b
5.Kokteyl ^(c)	6.6 b	10.3 a	9.3 ab	10.6 ab	5.4 ab
LSD_{0.05}	3.692	4.462	4.141	4.390	1.954

^(a) Fermente havuç ve fermente salatalık sularının 2:1 oranında karışımı

^(b) Aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasında istatistikî olarak fark yoktur ($P < 0.05$)

^(c) Ortalamalar 50 değer ortalamasıdır.

Çizelge 4.12. Sebze Suları Panel Testine Ait Varyans Analiz Tablosu

KARELER ORTALAMALARI							
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Tatlılık	Eksişilik	Lezzet Şiddeti	Tat Sonrası İzlenim	Beğeni Puanı	
Tekerrür	9	70.6	30.7	68.3	87.5	10.1	
Sebze Suları	4	55.3*	198.9**	79.3*	53.8*	8.6*	
Hata	36	16.6	24.2	20.8	23.4	4.6	
Toplam	49						

* İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli

** İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli

5. SONUÇLAR

Yapılan bu çalışmada özet olarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Pastörize havuç suyunda pH 6.5; asitlik ise 0.16 g/100 mL (laktik asit cinsinden) bulunmuştur. Benzer şekilde pastörize salatalık suyunda pH 5.50; asitlik 0.14 g/100 mL bulunmuştur. Her iki sebze suyundaki asitlik ve pH değerleri literatür verileri ile uyumludur.

L. plantarum kültürü ile % 4 oranında inoküle edilmiş olan havuç suyunda 35°C'de 12 saat süren fermentasyon sonrasında pH 4.06; asitlik 0.70 g/100 mL olarak bulunmuştur. Benzer şekilde salatalık suyunda pH 3.82; asitlik 0.52 g/100 mL bulunmuştur. Ulaşılan bu pH değerleri, literatürde laktoferment sebze sularının içilebilirliği açısından yeterli kabul edilen sınırlar içerisinde.

Pastörize havuç suyunda invert şeker miktarı 2.92 g/100 mL, toplam şeker miktarı 5.55 g/100 mL olarak bulunmuştur. Pastörize salatalık suyunda ise invert şeker miktarı 3.10 g/100 mL, toplam şeker miktarı 3.84 g/100 mL olarak belirlenmiştir. Havuç suyundaki şeker miktarı ile ilgili olarak kaynaklarda bildirilen veriler yapılan bu çalışmada bulunan sonuçlarla uyum gösterirken, salatalık suyunda şeker miktarları yönünden karşılaştırma yapılacak bir literatür verisine rastlanamamıştır.

Fermentasyon sürecinde havuç suyunda invert şeker miktarı 0.82 g/100 mL azalarak 2.10 g/100 mL'ye inmiştir. Toplam şeker ise 0.77g/100 mL azalarak 4.68 g/100mL'ye düşmüştür. İvert şeker harcanımı ve laktik asit oluşumu karşılaştırıldığında yaklaşık verimin % 48 civarında olduğu gözlenmiştir.

Fermentasyon sürecinde salatalık suyunda invert şeker miktarı 1.46 g/100 mL azalarak 1.64 g/100 mL'ye düşmüştür. Toplam şeker ise 2.18 g/100 mL azalarak 1.66 g/100 mL'ye düşmüştür. İvert şeker harcanımı ve laktik asit oluşumu karşılaştırıldığında verimin % 35 civarında olduğu gözlenmektedir.

Havuç suyunda Breed direk mikroskopik sayım yöntemi ile yapılan çalışmada da bakterimi sayımı sonucunda ilk inoküle edilen düzeyin 10^7 adet/mL civarında olduğu gözlenmiştir. Bu inkübasyon düzeyi diğer çalışmalarla uygunluk göstermektedir. Laktik asit bakteri sayısı 12 saatlik fermentasyon sonrasında yaklaşık olarak 10^9 adet/mL düzeyine ulaşmıştır. *L. plantarum* gelişimi Modifiye Gompertz Modeli ile açıklanmaya çalışıldığında sırasıyla lag faz süresi $\lambda = 1.49$ saat, maksimum spesifik gelişim hızı $\mu_{max} = 0.97$ saat⁻¹ ve maksimum nisbi populasyon değeri $[\ln(N/N_0)]$, $A = 4.71$ olarak hesaplanmıştır. Salatalık suyunda benzer şekilde yapılan sayım sonucunda ilk inoküle düzeyi 10^7 adet/mL olmuştur. 12 saatlik fermentasyon sonrasında bu düzey 4.45×10^8 civarına ulaşmıştır. Yine bakteri gelişimi Modifiye Gompertz Modeli ile açıklanmaya çalışıldığında model parametreleri $\lambda = 4.20$ saat, $\mu_{max} = 0.75$ saat⁻¹ ve $A = 3.08$ olarak hesaplanmıştır.

Yapılan duyuusal analizde fermente havuç suyu, fermente salatalık suyu, pastörize salatalık suyu ve pastörize havuç suyu ile kokteyl olmak üzere beş farklı şekilde hazırlanan sebze suları; tatlılık, ekşilik, lezzet şiddeti, tat sonrası izlenim ve beğeni puanı açısından değerlendirilmiştir. Panel testi sonucunda panelistler tarafından en tatlı sebze suyu pastörize havuç suyu, en ekşi sebze suyu ise fermente havuç suyu bulunmuştur. Lezzet şiddeti açısından yapılan değerlendirmede; pastörize havuç suyu en yüksek puanı almıştır. Sebze suları içerisinde kuvvetli ve istenilmeyen tat arzu edilmediğinden panelistler tat sonrası izlenimi en düşük sebze suyu olan pastörize havuç suyunu tercih etmişlerdir. Hazırlanan beş örnek içinde en fazla beğeni puanını ise pastörize havuç suyu almıştır.

Tat panelinde panelistlerin vermiş olduğu puanlar genel olarak değerlendirildiğinde pastörize havuç suyu panelistlerin yarısı tarafından tercih edilmiştir. Diğer panelistlerin beğenileri birbirinden oldukça farklılık göstermiştir. İçilebilirlik açısından arttırılmaya çalışılan ekşilik, panelistler tarafından istenilen tat olarak tercih edilmemiştir. Bundan dolayı fermente havuç ve fermente salatalık suları beğenilmemiştir. Bu sonucun genellikle tatlı gıdaların yoğun tüketilmesinden kaynaklandığı düşünülebilir.

KAYNAKLAR

- ALTUĞ, T. 1993. Duyusal Test Teknikleri (Yardımcı Ders Kitabı). E.Ü. Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın No: 28, 1. Baskı, İzmir, 56 s.
- ANONYMOUS. 1988. Gıda Maddeleri Muayene ve Analiz Metodları. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Yayınları, Bursa, 883 s.
- BANWART, G.J.1983. Basic Food Microbiology. 3th. ed. The Avı publishing Company, INC. Westport, Connecticut. 781 p.
- BAŞÇI, A. D. 1992. Laktoferment havuç ve Kırmızı Pancar Suyu Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans tezi (Yayınlanmamış), Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- CEMEROĞLU, B. 1982. Meyve Suyu Üretim Teknolojisi. Ankara, 303 s.
- CEMEROĞLU, B. ve ACAR, J. 1986. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Sanem Matbaacılık, Ankara, 512 s.
- CEMEROĞLU, B. 1992. Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metodları. Biltav Yayınları, Ankara, 381 s.
- CHEN, K. H. ve Ark. 1983. Fermentation Characteristics of Heterolactic acid Bacteria in Green Bean Juice. Journal Food Science, 48, 962-966.
- DEVRES, Y. O. ve PALA, M. 1993. Gıda Sanayiinde Matematiksel Modellemenin Önemi ve Uygulama Alanları. Gıda, 18, 3, 173-181.
- DUH, Y. ve SCHAFFNER, D. 1993. Modelling the Effect of Temperature on the

Growth Rate and Lag Time of *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection. 56, 3, 205-210.

ERGINKAYA, Z. ve HAMMES, W. P. 1992. Şalgam Suyu Fermentasyonu Sırasında Mikroorganizmaların Gelişimi ve İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanmaları Üzerine Bir Araştırma. Gıda, 17, 5, 311-314.

FLEMING, H. P. ve Ark. 1983. Storage Stability of Vegetables Fermented With pH-Control. Journal of Food Science, 48, 975-981.

GÖKMEN, V. ve ACAR, J. 1992. Laktoferment Yöntemi ile Havuç Suyu Üretimi. Gıda, 17, 6, 395-398.

GÜVEN, S., ve Ark. 1983. Endüstri Tipi Lahana (Sauerkraut) Üretimi Üzerine Araştırma. Gıda, 8, 5, 218-224.

GÜRGÜN, V. ve HALKMAN A. K. 1990. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri. 2. Baskı, San Matbaası, Ankara, 146 s.

JAY, J. M. 1992. Modern Food Microbiology. 4th ed. Chapman and Hall One Penn Plaza New York, NY 10119, 701 p.

KARAPINAR, M. 1988. Fermente Bitkisel Gıdaların Eldesinde Mikroorganizmalar ve Starter Kullanımı. E. Ü. Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri: B, Cilt: 6, Sayı: 1, Sayfa 91-101.

KOTZEKIDOU, P. ve ROUKAS, T. 1987. Fermentation Characteristic of Lactobacilli in Okra (*Hibiscus esculentus*) Juice. Journal of Food Science. 52, 2, 487-490.

- KYUNG, K. H. ve FLEMING, H. P. 1994. Antibacterial Aktivitiy of Cabbage Juice Against Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Science*, 59, 1 25-129.
- LUH, B. S. ve WOODROOF, J. G. 1975. *Commercial Vegetable Procesing*. The Avi Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, 755 p.
- McDONALD, H. P. ve Ark. 1991. Acidification Effects on Microbial Populations Dring Initiation of cucumber Fermentation. *Journal of Food Science*, 56, 5, 1353-1356.
- ÖNER, M. 1986. *Genel Mikrobiyoloji. 2. Baskı. Ege Üniversitesi Basımevi. Bornova/İzmir, 381 s.*
- ÖZÇELİK, F. ve İÇ, E. 1996. Hıyar Turşusu Üretiminde Kontrollü Fermantasyon. *Gıda*, 21, 1, 49-53.
- ÖZDEMİR, N. ve ACAR, J. 1996. Laktoferment Yöntemi ile Havuç Suyu Üretiminde Pektolitik Enzim Kullanımı. *Gıda*, 21, 4, 231-237.
- ÖZLER, N. ve GÜRBÜZ, O. 1997a. Sebze Suyu Üretim Teknolojisi. *Gıda*, Nisan, 38-42.
- ÖZLER, N. ve GÜRBÜZ, O. 1997b. Sebze Suyu Üretim Teknolojisi. *Gıda*, Mayıs 12-14.
- PAMİR, M. 1977. *Fermentasyon Mikrobiyolojisi. Ankara Üniversitesi Basımevi , Ankara, 136 s.*
- PEKİN, B. 1980. *Biyokimya Mühendisliği (Temel İlkeler). Birinci Kitap: Kısım: 2. Ege Üniversitesi Matbaası. Bornova/İzmir. 765 s.*

- PÜSKÜLCÜ, H. ve İKİZ, F. 1986. İstatistiğe Giriş. 2. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova/İzmir.
- SCHOBINGER, U. 1992. Meyve ve Sebze Suyu Üretim Teknolojisi. 2. Baskı, Grafik Basım, Ankara, 602 s.
- SORENSEN, L. B. 1994. Discription of Hurdles. (Alınmıştır). Food Preservation by Combined Processes. Final Report. FLAIR (Food Linked Agro-Industrial Research) Concerted Action No:7, Subgroup B., ISBN 90-900-7303-5, Eur 15776 EN, Netherland, 7-27.
- SLINDE, E. ve Ark. 1993. Laktik Acid Fermentation Influence on Sugar Content and Colour of Deep-Fried Carrot Chips. Food Research International, 26, 255-260.
- ŞAHİN, İ. 1982. Asit Fermentasyonları (Sirke, Laktik ve Sitrikasit Fermentasyonları). A. Ü. Ziraat Fakültesi Ders Notu, Teksir No: 78, Ankara, 141 s.
- TEMİZ, A. 1996. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. 2. Baskı. Hatipoğlu Yayıncılık. Ankara, 274.
- TSAI, S. P. ve Ark. 1993. Strain Screening and Development for Industrial Lactic Acid Fermentation. Applied Biochemistry and Biotechnology, 39, 40, 323-335.
- TÜRKER, İ. 1975. Asit Fermantasyonları (Sirke, Turşu, Sofralık Zeytin ve Boza Teknolojileri). 2. Baskı, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 182s.
- TÜTÜNCÜLER, A. Y. 1990. Havuç Syunun Hazırlanması ve Muhafaza Edilmesi. Yüksek Lisans Tezi, M.E.T.Ü. Gaziantep Mühendislik Fakültesi, Gaziantep.

YAMAN, Ü. R. ve Ark. 1993. Kırmızı Pancar Suyunun Özütlenmesi ve Dayandırılması Üzerine Bir Çalışma. E.Ü. Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri: B, Cilt: 11, Sayı: 2, Sayfa: 67-72.

ZWIETERING, M. ve Ark. 1990. Modelling of the Bacterial Growth Curve. Applied and Environmental Microbiology, June 1990, s. 1875-1881.

ZWIETERING, M. ve Ark. 1991. Modelling of the Bacterial Growth as a Function of Temperature. Applied and Environmental Microbiology, April 1991, s. 1094-1101.



EKLER

Tez içerisinde geçen formüller aşağıda topluca verilmiştir:

Modifiye Gompertz Eşitliği:

$$y = A * \exp [-\exp \{ (\mu_{\max} * e/A) * (\lambda - t) + 1 \}]$$

$$y = \ln (N/N_0)$$

A = Asimtot değeri

μ_{\max} = Maksimum spesifik gelişim hızı (saat⁻¹)

λ = Lag faz süresi (saat)

Breed Yöntemi İçin Kullanılan Formül:

$$1 \text{ mL}' \text{deki bakteri sayısı} = A \times MF \times 100 \times D$$

(Adet/mL)

A = Sayım Ortalaması

MF = Mikroskop Faktörü (1cm²'lik alan içindeki görüş saha adedi)

D = Dilüsyon Oranı

Asitlik Hesabı:

$$\% \text{ Asitlik } (g/100 \text{ mL}) = \frac{(S \times E)}{5} \times 100$$

S → sarfiyat (mL)

E = 1 mL 0.1-n NaOH 'e eşdeğer asit (Laktik asit cinsinden), g

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Nesrin KURTAR

İş Adresi : Halil Akgün İlköğretim Okulu
Karayolları Durağı Çay Mah.
33100 Mersin - TÜRKİYE
Tel: (324) 2214406

Ev Adresi : İnönü Mah. 1406 Sok.
Güven Apt. No: 16
33130 Yenişehir Mersin - TÜRKİYE

Kişisel Bilgiler :

Doğum Yeri-Tarihi : Ankara / 31.03. 1971

Uyruğu : T.C

Eğitim Durumu :

Lisans : A.Ü. Ziraat Fak. Gıda Bil. ve Tek. Böl.

Yüksek Lisans : Me. Ü. Müh. Fak. Gıda Müh. Böl. (Devam ediyor)

Görevi :

Dili : İngilizce

ÖZET

Laktoferment sebze suları, sebze sularının veya sebze mayşelerinin 12-18 saat gibi kısa bir süre laktik asit bakterileri ile fermentasyonu sonucunda elde edilen, içilebilirliği ve besleme değeri yüksek olan ürünlerdir.

Yapılan bu çalışmada laktoferment sebze suyu üretimi için havuç ve salatalık seçilmiştir. Bunların elde edilen suları pastörize edildikten sonra *L. plantarum* kültürü ile 10^6 - 10^7 adet/mL düzeyinde olacak şekilde inoküle edilmiş ve 35 °C'de 12 saat inkübasyona tabi tutulmuştur.

Fermentasyon sürecinde belirli aralıklarla alınan örneklerle pH, asitlik, bakteri sayısı ile toplam ve invert şeker miktarları belirlenmiştir. Bu çalışmada havuç suyunda pH₀ 6.50'den 4.06'ya, salatalıkta 5.50'den 3.82'ye azalmıştır. Asitlik (laktik asit cinsinden) havuç suyunda 0.16 g/100 mL'den 0.70 g/100 mL'ye; salatalık suyunda ise 0.14 g/100 mL'den 0.52 g/100 mL'ye yükselmiştir.

Bu sebze sularından havuç suyunda başlangıç inokülümü 1.53×10^7 adet/mL'den, 1.99×10^9 adet/mL'ye; salatalık suyunda ise 2.40×10^7 adet/mL'den 4.45×10^8 adet/mL'ye yükselmiştir. Modifiye Gompertz Eşitliği kullanılarak elde edilen gelişim parametrelerinden havuç suyu ile yapılan denemede spesifik gelişim hızı (μ_{max}) = 0.97 saat⁻¹, lag faz süresi (λ) = 1.49 saat, ve asimtot değeri (A) = 4.71; salatalık suyunda μ_{max} = 0.75 saat⁻¹, λ = 4.20 saat, ve A = 3.08 olarak hesaplanmıştır. Her iki denemede elde edilen verilerin modele uygunluğunun oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir ($r_{havuç}$ = 0.98, $r_{salatalık}$ = 0.98).

Havuç ve salatalık sularında yapılan şeker tayinleri sonucunda havuçta invert şeker miktarı 2.92 g/100 mL'den 2.10 g/100 mL'ye; toplam şeker miktarı 5.45 g/100 mL'den 4.68 g/100 mL'ye azalma gösterirken, salatalıkta invert şeker miktarı 3.10 g/100 mL'den 1.64 g/100 mL'ye; toplam şeker miktarı da 3.84 g/100 mL'den 1.66 g/100 mL'ye düşmüştür.

Bu çalışmada *L. plantarum* ile 35 °C'de 10-12 saatlik fermentasyon süresinin, havuç ve salatalık suları için laktoferment sebze suyu üretmekte yeterli olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak adı geçen bu iki sebzedeki laktoferment yöntemiyle sebze suyu üretilmiştir.

Duyusal analiz sonuçlarından fermente sebze sularının tercih edilebilirliğinin, pastörize sebze sularının gerisinde kaldığı sonucuna varılmıştır.

SUMMARY

Lactoferment vegetable juices that obtained by fermentation of vegetable juices or mashes for a short time, such as 12-18 hours, are drinkable and highly nutritive products.

In this study, carrot and cucumber were chosen for the production of lactoferment vegetable juice. The obtained vegetable juices were pasteurized and then inoculated by *L. plantarum* culture at 10^6 - 10^7 cfu/mL level, and incubated at 35 °C for 12 hours.

pH, acidity, bacterial count and amount of total and invert sugar were determined in the samples that taken at determined intervals during fermentation period. In this study, pH decreased from 6.5 to 4.6, and 5.50 to 3.82 for carrot and cucumber juice, respectively. However, acidity (at lactic acid basis) increased from 0.16 g/100 mL to 0.70 g/100 mL for carrot juice and from 0.14 g/100 mL to 0.52 g/100 mL for cucumber juice.

Initial inoculum in carrot juice increased from 1.53×10^7 cfu/mL to 1.99×10^9 cfu/mL whereas in cucumber juice increased from 2.40×10^7 cfu/mL to 4.45×10^8 cfu/mL. Growth parameters were estimated by using Modified Gompertz Equation Model. For carrot juice estimated growth parameters were calculated as $\mu_{\max} = 0.97 \text{ hr}^{-1}$, $\lambda = 1.49$ hour and $A = 4.71$. The estimated growth parameters for cucumber juice were also $\mu_{\max} = 0.75 \text{ hr}^{-1}$, $\lambda = 4.49$ hour and $A = 3.08$. Moreover it was determined that obtained results from both experiment were highly fitted to Modified Gompertz Equation Model ($r_{\text{carrot}} = 0.98$ and $r_{\text{cucumber}} = 0.98$).

As a result of sugar analysis of carrot and cucumber juices, invert sugar decreased from 2.92 g/100 mL to 2.10 g/100 mL and from 3.10 g/100mL to 1.64 g/100 mL respectively and total sugar decreased from 5.45 g/100 mL to 4.68 g/100 mL and from 3.84 g/100 mL to 1.66 g/100 mL for carrot and cucumber juices respectively.

In this study it was determined that 10-12 hours of incubation period was sufficient for the production of lactoferment vegetable juice from cucumber and carrot by *L. plantarum* at 35 °C. As a result vegetable juices were produced from these vegetable with lactoferment method.

From the result of sensory analysis result, it was concluded that pasteurized vegetable juices were preferred to fermented vegetable juices.



TR. TÜRKİYE İHTİŞAT KURULU
MEMURU İYİ MEHMET