

**STARTER KÜLTÜR KULLANILARAK  
SİYAH ZEYTİN ÜRETİMİ  
Nur DEMİR**

**Yüksek Lisans Tezi  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı  
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Figen DAĞLIOĞLU  
2009**

**T.C.**

**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**STARTER KÜLTÜR KULLANILARAK SİYAH ZEYTİN ÜRETİMİ**

**Nur DEMİR**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Figen DAĞLIOĞLU**

**TEKİRDAĞ  
2009**

Yrd. Doç. Dr. Figen DAĞLIOĞLU danışmanlığında, Nur DEMİR tarafından hazırlanan bu çalışma ...../...../..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak oyçokluğu / oybirliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Muhammet ARICI

*İmza:*

Üye: Yrd. Doç. Dr. Figen DAĞLIOĞLU  
(Danışman)

*İmza:*

Üye: Yrd. Doç. Dr. Serdar POLAT  
(Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı)

*İmza:*

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### STARTER KÜLTÜR KULLANILARAK SİYAH ZEYTİN ÜRETİMİ

Nur DEMİR

Namık Kemal Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Figen DAĞLIOĞLU

Bu araştırmanın amacı, siyah zeytin fermantasyonunda başlangıç koşullarının ayarlanılarak istenilen düzeyde düşük pH ve yüksek asiditeye yakalanması ve sonuç olarak arzu edilen fizikokimyasal yapıya ulaşılması için salamuraya starter kültür ilave edilmesinin etkilerinin araştırılmasıdır. Optimum fizikokimyasal değerlere ulaşabilmek için starter kültür kullanılarak başlangıç ortamının asitliği yükseltilmiştir ve bunun için homofermentatif laktik asit bakterisi olan *Lactobacillus plantarum* saf kültürü kullanılmıştır.

Bu çalışmada %4,5 ve %6 oranlarında tuz konsantrasyonuna sahip, *Lb. plantarum* ilavesi yapılmayan kontrol numuneleriyle, 1. ve 4. günlerde *Lb. plantarum* ilavesi yapılan salamura örnekleri kimyasal, duyu ve mikrobiyolojik analizlerle karşılaştırılmıştır. Toplam 6 farklı salamura örneğinden en düşük pH ve en yüksek asiditeye sahip olan örnek %4,5 tuz konsantrasyonundaki 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılan salamura örneği olmuştur. Genel olarak starter kültür ilavesi yapılan diğer örneklerde de kontrol salamuralarına göre daha hızlı ve düşük oranda pH ve aynı ölçüde yüksek asidite değerleri tespit edilmiştir.

Bu araştırma gösteriyor ki, yüksek pH'daki başlangıç koşullarında *Lb. plantarum* gelişimi mümkün olabilmekte ve laktik asit üretimi için gerekli olan laktik asit bakteri popülasyonuna kısa sürede ulaşabilmektedir. Endüstriyel açıdan düşünülecek olursa bu çalışmayla, siyah zeytin fermantasyonunda salamuraya starter kültür ilave edilerek kısa sürede fermantasyon başlangıcı ve bitimi sağlandığı ve sonuç olarak standart kalitede ürün elde etmenin mümkün olduğu gösterilmiştir.

**Anahtar kelimeler;** Starter kültür, siyah zeytin fermantasyonu, *Lb. plantarum*, pH

**2009, 56 sayfa**

## ABSTRACT

MSc Thesis

### PRODUCING OF BLACK OLIVES WITH UTILIZATION OF STARTER CULTURE

Nur DEMİR

Namık Kemal University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Figen DAĞLIOĞLU

The aim of this research was to analyse effects of addition of starter culture to the brine in order to obtain low pH and high acidity in intended level with establishment of initial conditions during the fermentation of black olives and as a consequence to reach the desired physicochemical nature. To able to reach optimum physicochemical value, acidity of initial medium was increased with utilization of starter culture and hence, pure *Lactobacillus plantarum* culture that is homofermentative lactic acid bacteria was used.

In this research, control samples at %4,5 and %6 salt concentrations without addition of *Lb. plantarum* was compared with brine samples with addition of *Lb. plantarum* at 1. and 4. days according to chemical, organoleptic and microbiologic analyses. The sample at the lowest pH and the highest acidity among from 6 distinct brine samples was the brine sample with addition of *Lb. Plantarum* in fourth day at %4,5 salt concentration. It was determined that the other samples with starter culture was generally at more lower pH and higher acidity values in comparison with control brine samples.

With regard to the research, it can be indicated that *Lb. plantarum* may grow at initial conditions with high pH and the population of lactic acid bacteria required for generation of lactic acid is accesible within short time. When considered from industrial aspect, it was demonstrated with this research that fermentation was carried out in short period while starter culture was added to the brine in the fermentation of black olives and thus it was possible to obtain product with stardard quality.

**Key words;** Starter culture, Black olive fermentation, *Lb. plantarum*, pH

**2009, 56 pages**

## İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. LİTERATÜR BİLGİSİ.....</b>	<b>6</b>
<b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>18</b>
3.1. Materyal.....	18
3.2. Metot.....	18
3.2.1. Starter Kültür Hazırlanması.....	18
3.2.2. Zeytin Örneklerinin Salamuraya Hazırlanması.....	18
3.2.3. Salamuranın Hazırlanması.....	18
3.2.4. Dolum.....	18
3.2.5. Kimyasal Analiz Metotları.....	21
3.2.5.1. Salamurada Tuz Tayini.....	21
3.2.5.2. Asitlik Tayini.....	21
3.2.5.3. pH Tayini.....	22
3.2.6. Duyusal Değerlendirme.....	22
3.2.7. Mikrobiyolojik Değerlendirme.....	23
3.2.7.1. Laktik Asit Bakterilerinin Belirlenmesi.....	23
3.2.7.2. Maya – Küf Sayılarının Belirlenmesi.....	23
3.2.8. İstatistiksel Analiz Metotları.....	23
<b>4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>25</b>
4.1. Kimyasal analiz sonuçları.....	25
4.1.1. pH değerleri.....	25
4.1.2. Serbest asitlik değerleri.....	27
4.1.3. Örneklerin Tuz Değerleri Oranları.....	30
4.2. Duyusal Özellikler.....	33
4.3. Mikrobiyolojik analizler.....	36
4.3.1. Laktik Asit Bakteri Değerleri.....	36
4.3.2. Maya – Küf Değerleri.....	38
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>42</b>
5.1. Sonuç.....	42
5.2. Öneriler.....	44
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>45</b>
<b>EKLER</b>	
Ek1: Salamura siyah zeytinde pH değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma testi sonuçları	50
Ek2: Salamura siyah zeytinde serbest asitlik değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma testi sonuçları	51

Ek3:Siyah zeytin örneklerinde tuz konsantrasyonlarındaki Duncan Çoklu Karşılaştırma testi sonuçları	52
Ek4:Siyah zeytin örneklerinde Laktik asit bakteri değerlerinin Duncan Çoklu Karşılaştırma Test'i sonuçları	53
Ek5: Siyah zeytin örneklerinde toplam maya – küf değerlerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Test'i sonuçları	54
ÖZGEÇMİŞ.....	56

<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 1: Salamura siyah zeytin denemelerinde izlenen işlem aşamaları	20
Şekil 2: Siyah zeytin örneklerinde pH değerlerinin fermantasyon süresince değişimi	26
Şekil 3: Siyah zeytin örneklerinde serbest asitlik değerlerinin fermantasyon süresince değişimi	28
Şekil 4: Fermantasyon süresince salamura siyah zeytinlerde belirlenen tuz oranları değerleri	31
Şekil 5: Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre salamura siyah zeytin örneklerine ait beğeni grafiği	34
Şekil 6: Laktik asit bakterilerinin fermantasyon süresince gelişimi	37
Şekil 7: Fermantasyon süresi boyunca salamura siyah zeytin örneklerinde maya – küf gelişimi	39



## ÇİZELGELER DİZİNİ

## Sayfa

Çizelge 1: Sofralık Zeytin Bileşimi	6
Çizelge 2: Genel olarak zeytin meyvesine ve içerdiği yağa ait kimi fiziksel ve kimyasal özellikler	8
Çizelge 3: Duyusal analizde kullanılan değerlendirme formu	23
Çizelge 4: Duyusal değerlendirmede kullanılan puan sistemi	23
Çizelge 5: Siyah zeytin örneklerinde fermantasyon süresince ölçülen pH değerleri	25
Çizelge 6: Salamura tipi siyah zeytinlerde pH oranlarına ait varyans analiz sonuçları	26
Çizelge 7: Salamura siyah zeytin örneklerinde fermantasyon süresince ölçülen serbest asitlik değerleri	28
Çizelge 8: Salamura tipi siyah zeytinlerde serbest asitlik oranlarına ait varyans analiz sonuçları	29
Çizelge 9: Salamura siyah zeytinlerde fermantasyon süresince tespit edilen tuz oranları	31
Çizelge 10: Salamura siyah zeytin örneklerinde tuz oranlarına ait varyans analiz sonuçları	32
Çizelge 11: Salamura siyah zeytinlere ait duyusal analiz sonuçları	33
Çizelge 12: Tuz konsantrasyonunun duyusal değerlere etkisine ait Kruskal walls Testi Sonuçları	35
Çizelge 13: <i>Lb. plantarum</i> ilave edilme durumunun duyusal değerlere etkisine ait Kruskal walls Testi Sonuçları	35
Çizelge 14: Fermantasyon süresince siyah zeytin örneklerinde ölçülen laktik asit bakteri sayıları	36
Çizelge 15: Laktik Asit Bakteri gelişimine ait varyans analiz sonuçları	35
Çizelge 16: Salamura siyah zeytin örneklerinin fermantasyon boyunca toplam maya – küf değerleri	39
Çizelge 17: Salamura siyah zeytin örneklerinin maya – küf gelişimine ait varyans analiz sonuçları	40

## 1.GİRİŞ

Sofralık zeytin kaynaklarda, kültüre alınmış zeytin ağacı (*olea europaea sativa Hoffg, link*) meyvelerinin tekniğine uygun olarak acılığı giderilip, laktik asit fermantasyonuna tabi tutularak veya tutulmayarak gerektiğinde laktik asit ve/veya diğer kaktı maddeleri ilave edilen, pastörizasyon veya sterilizasyon işlemine tabi tutularak veya tutulmadan elde edilen mamul olarak tanımlanmaktadır (Anonim 1992).

Bir Akdeniz bitkisi olan zeytin, Akdeniz ülkelerinin tamamında yetişmektedir. En kötü toprak koşullarında bile yetişebilen bir üründür. Anavatanı Anadolu'dur. Anadolu'dan Adalar'a, Yunanistan'a, İtalya'ya ve İspanya'ya geçmiştir (Bülbül 2008).

Tarım ve Köy işleri Bakanlığı, Bornova Zeytincilik Enstitüsünce gerçekleştirilen bir çalışmaya göre, günümüz dünyasında toplam 14 ülkede ve yaklaşık 8 milyon hektarlık bir araziye yayılmış 800 milyon civarında zeytin ağacı bulunmakta ve bunun % 97'si Akdeniz ülkelerinde yer almaktadır (Kayahan ve Tekin 2006).

Dünyada zeytin ağaç varlığı ve tane zeytin üretimine paralel olarak sofralık zeytin üreten önemli ülkeler İspanya, Türkiye, İtalya, Yunanistan, ABD, Fas, Suriye ve Mısır'dır. Türkiye sofralık zeytin üretiminde İspanya'dan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Türkiye dünya sofralık zeytin üretiminde siyah sofralık zeytin üretimi ile ilk sırada yer alırken, yeşil sofralık zeytin üretiminde İspanya ilk sırada yer almaktadır (Tunalıoğlu 2003). Bu sebeple yeşil zeytinin diğer adı İspanyol tipi zeytin olarak anılmaktadır.

Dünya'da yaklaşık 8,5 milyon hektarlık alanda faaliyet yapılan zeytincilik genellikle Akdeniz ülkelerinde yoğunlaşmış olup, önemli miktarlarda olmamakla beraber bazı Güney Amerika ülkelerinde de zeytin yetiştirilmektedir. Son yıllar ortalama değerlere göre zeytin ağaç sayısının en fazla olduğu ülke İspanya'dır. Bu ülke yaklaşık 2 milyon Ha'lık alanda mevcut 220 milyon zeytin ağacı ile dünya toplam ağaç varlığının ¼'üne sahip bulunmaktadır (Çetin ve Tipi 2000).

İspanya'nın zeytin üretiminde birinci sırada olmasının önemli nedenlerinden birisi de söz konusu ülkedeki tarım politikası içinde, zeytinin daima liste başı ürün olarak desteklenmesidir. Gerçekten İspanya günümüzde 200 milyona ulaşan ağaç varlığı ve yıllık ortalama 500 bin ton yağ ve 200 bin ton salamura zeytin üretimi yanında, yıllık kişi başına 10

kg zeytinyağı tüketimi ile Dünya zeytinciliğinde ilk sıraya oturmuştur (Kayahan ve Tekin 2006).

Zeytin üretiminde ikinci sırada yer alan Türkiye, gerek iklim, gerekse toprak özellikleri dolayısıyla, büyük bir zeytin üretim potansiyeline sahip olmakla beraber, bu potansiyelin ancak %25'ini değerlendirilebilmektedir (Yavuz ve Gürbüz 2000).

Zeytin üretimi Marmara, Ege, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yoğunlaşmıştır. İşlenen tarım alanlarının % 4,1'inde zeytin tarımı yapılmaktadır (DİE 1999). Yaklaşık olarak 82 milyon adet meyve veren, 6 milyon adet meyve vermeyen zeytin ağacı mevcuttur. Gerek zeytin ağacı varlığı ve gerekse zeytin üretimi bakımından sırasıyla Ege (% 75), Akdeniz (% 14) ve Marmara (% 10) ilk sıralarda gelmektedir. Ancak, Ege ve Akdeniz bölgeleri yağlık zeytin çeşitleri, Marmara bölgesi ise sofralık zeytin çeşidi bakımından öndedir. Zeytinyağı tüketiminin sürekli artışı nedeniyle zeytinlik alanlar ve zeytin üretiminde 1950'li yıllardan bu yana sürekli artış görülmüştür. Örneğin 1945–70 döneminde zeytin ağacı sayısı 2,5 kat, zeytin üretimi ise 4 kat artış göstermiştir. Zeytin üretimindeki artışın, ağaç sayısındaki artıştan yüksek olması, verimlilik artışı ile açıklanabilir (Yavuz ve Gürbüz 2000).

Türkiye'de üretilen sofralık zeytinin %85'i siyah, %15'i yeşil ve rengi dönük olarak işlenmektedir. Türkiye'de (var yok yılları ortalaması olarak) 150 bin ton sofralık zeytin üretilmektedir. Bu miktar yok yıllarında 75 bin tona düşebildiği gibi, var yıllarında 225 bin tona da çıkabilmektedir. Tüketimin de üretimdeki bu dalgalanmaya bağlı olarak değiştiği fakat ihracatın üretimdeki değişmeden etkilenmediği görülmektedir (Tunalıoğlu 2003).

Sofralık zeytin, Akdeniz ülkelerinde yetişen temel tarımsal ürünlerden biridir ve Avrupa ve dünya çapında, en önemli fermente gıdalar arasında yer alır. 1998/1999'da dünya çapındaki üretimi 1.182.500 ton iken bunun çoğunluğu (%42) İspanya, İtalya ve Yunanistan'ın başı çektiği Avrupa ülkelerinde üretilmiştir. Aynı dönemde %34 ile tüketimde başı çeken Avrupa ülkeleri ve %15 ile ikinci sıradaki USA ile dünya çapında tüketimi 1.146.500 tondur. Bugün 3 temel çeşit sofralık zeytin mevcuttur: İspanyol usulü yeşil zeytin, Yunan usulü doğal siyah zeytin ve Kaliforniya usulü olgun zeytin. Yunan usulü zeytinler; Yunanistan, Türkiye ve bazı kuzey Afrika ülkelerinde popülerdir. Türkiye %24-27 ile en büyük üreticidir, onu %18-21 ile Yunanistan izler ve 1960'dan bu yana üretimde önemli ölçüde düşüş yaşansa da; halen dünya çapındaki üretimin %30'unu oluşturmaktadır (Piga ve ark. 2001).

Türkiye, üretiminin büyük bir miktarını tüketime yönlendirmekte, işleme tekniğindeki farklılıktan dolayı ihracatta aynı başarıyı gösterememektedir. Genellikle yüksek tuz konsantrasyonu içeren işleme tekniği ile başta AB ülkelerinin büyük tüketici ve ithalatçısı konumunda bulunan İtalya ve İspanya'nın da içerisinde yer aldığı birçok tüketici ülkenin damak zevkine hitap edilememektedir (Tunalıoğlu 2003). Memleketimizde daha ziyade siyah zeytin üretilmektedir. Üzeri buruşuk bu zeytinler dış piyasada tutulmamaktadır. Dış piyasa bilhassa batı ülkeleri üzeri düz ve gevrek etli zeytin istemektedir (Türker 1974). Ülkemiz dış satımda en az zeytin ihraç eden ülkeler arasında yer almaktadır.

Zeytin yağı üretiminin %75'inin AB ülkelerinde gerçekleşmektedir. Dolayısıyla zeytinyağı arzına ve piyasasına AB ülkelerinin hâkim olduğu söylenebilir. Dünya üretiminin %33'ünü başta İspanya, %23'ünü İtalya, %17'sini Yunanistan karşılamaktadır. Türkiye'nin dünya zeytinyağı üretimindeki payı %5 olup Tunus'tan (%8) sonra 5. sırada yer almaktadır. Üretim büyük kısmı (%82) üretici ülkelerde tüketilmekte ancak %18'i ihraç edilmektedir. Dünya ihracatının %54'ünü gerçekleştiren AB'yi Tunus (%29) izlemekte, Türkiye %10'luk payla dördüncü sırada yer almaktadır (Anonim 2008a).

Zeytinyağı üreticisi ülkelerde yıllık zeytinyağı tüketimi Yunanistan'da 21 kg, İtalya'da 11,5 kg, İspanya'da 10,4 kg, Tunus'ta 9,8 kg iken ülkemizde kişi başına 0,8 kg ile Akdeniz ülkeleri içerisinde en az zeytinyağı tüketen ülke durumundadır (Demirci 2003).

Ülkemizde Ege bölgesi ağaç sayısı bakımından Türkiye zeytinlerinin  $\frac{3}{4}$ 'e yakın kısmını ihtiva etmesine karşılık sofralık zeytin üretiminde ikinci sırayı almaktadır. Bu bölgede zeytinler çoğunlukla yağ eldesinde kullanılır (Türker 1974).

Zeytinlerden elde edilen yağ randımanı Türkiye'de %20 kabul edilir. Ortalama olarak 5 kilo zeytinden 1 kg yağ elde edilmektedir. Salamura zeytin imalinde ise randıman %90-95'i bulur. Bu bakımdan zeytini sofralık olarak değerlendirmek yapılan hesaplara göre yağ üretiminde kullanılmasına nazaran 2-3 misli daha karlıdır. Salamura hane tesisleri de basit ve zeytinyağı üretim tesislerine kıyasla pahalı değildir. Bunun için ülkemizde daha çok salamura zeytin üretimine önem verilmiştir (Türker 1974). Bu konu zeytin üretiminde 2. sırada zeytinyağı üretiminde ise 5. sırada olmamıza sebep olarak gösterilebilir.

Zeytin fermantasyonu çok önemli bir konudur. Tüketicinin damak tadına uygun ürünler elde etmek için üretim koşulları optimum düzeyde ayarlanmalıdır ki organoleptik özellikler bakımından arzu edilen ürünler ortaya çıkabilsin. Bu doğrultuda zeytin fermantasyonu kalitesi

için önemli kriterler olarak kabul edilen pH değeri ve serbest asitlik değerinin olması gereken değerlere ulaşabilmesi için değişik başlangıç koşulları ayarlanması denemeleri yapılmıştır. Bu denemeler arasında, asit ilavesiyle başlangıç pH'sının düşürülmesi ve laktik asit bakterilerinin gelişimi için uygun asit ortamının oluşturulması ve yine aynı amaç doğrultusunda asidik ortamı yakalamış olan bir önceki salamuranın kullanılması, farklı tuz oranlarının ve sıcaklıklarının denenmesi ve dışarıdan saf starter kültür ilavesi gibi denemeler yer almaktadır. Starter kültür ilavesinde seçilecek kültür çok önemlidir. Kültür ilavesinde daha önce yeşil zeytin üretimi için homofermentatif laktik asit bakterileri olan *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus pentosus* kültürleri kullanılmıştır (Vaughn 1982, van den Berg ve ark. 1992). Bu kültürlerin seçilmesindeki en önemli etkenlerden biri homofermentatif bakteriler olmasının yanı sıra yüksek pH oranlarında gelişebilmeleridir. Bu mikroorganizmalar 8,5 (Balatsouras 1985) ve 9,0-9,5'teki (Tanasupawat ve ark. 1992) pH değerlerine direnebilir ve hatta bu değerde çoğalabilirler. Zeytin fermantasyon başlangıç pH'sı yüksek olduğundan dolayı bu ortamda herhangi bir ek müdahale yapılmadan rahatlıkla gelişebilir, laktik asit üreterek laktik asit bakterilerinin gelişimi için uygun ortam koşullarının oluşması sağlanabilir.

Zeytin imalatında başarılı bir fermantasyon sağlamak için ortamdaki mikroorganizma florasının kontrolü büyük önem taşımaktadır. Fermantasyon şekli diğer doğal sebze fermantasyonlarında olduğu gibi hammadde ve işleme ortamında bulunan mikroorganizmalara bağlı olan deneysel bir sürece dayalı ve kendiliğinden gelişen geleneksel bir laktik asit fermantasyonudur (Sanchez ve ark. 2003). Laktik asit fermantasyonu laktik asit bakterileri tarafından yürütülür. Homofermentatif laktik asit bakterileri özellikle *Lb.plantarum* şekeri tamamen laktik aside dönüştürür. Heterofermentatif laktik asit bakterileri ise laktik asit yanında CO<sub>2</sub> ve etil alkol meydana getirir (Ünlütürk ve Turantaş 2003). Bu nedenle ortamda şekeri tümüyle laktik aside çeviren homofermentatif laktik asit bakterilerinin hakim olması istenir. Aksi halde şekerin bir kısmı CO<sub>2</sub> ve etil alkole dönüşebilir. Buda arzu edilen serbest asit artışıyla birlikte düşük pH değerine ulaşılmasını engellerken istenilmeyen tat ve kokuda ürünler oluşmasına sebep olur. Ülkemizde zeytin fermantasyonu tamamen spontane olarak yapılmaktadır. Yani fermantasyon için herhangi bir kültür kullanımı söz konusu değildir. Bu şekilde standart bir zeytin fermantasyonu yapmak mümkün değildir. Zeytincilikte ileri teknolojiyi kullanan Akdeniz ülkeleri ticari zeytin fermantasyonunda saf kültür kullanma yoluna gitmektedirler (Sanchez ve ark. 2003).

Fermantasyonun kısa sürede başlayıp, oluşacak laktik asit ile birlikte pH'nın hızlı bir şekilde düşmesini sağlamak için başlatıcı kültür olarak; saf kültür kullanılabileceği gibi, bir önceki

fermantasyonu iyi olan salamura da kullanılabilir. Bir önceki fermentasyonun salamurasının kullanılmasında elde edilecek zeytin kalitesi, önceki fermentasyonun başarısına bağlıdır.

Standart kalitede zeytin üretimi sağlamak için bir önceki zeytin salamurasının kullanılması sağlıklı sonuçlar vermemektedir. Bu sebeple standart kalitede zeytin üretimi için kültür kullanılmasıyla aynı lezzet ve olgunlukta, yeme kalitesi yüksek zeytinler elde edileceği gibi, kültür kullanılarak siyah zeytin üretimi fermentasyon süresini de önemli ölçüde kısaltarak daha seri ve hızlı imalata olanak sağlamaktadır. Aynı zamanda laktik asit bakterilerinin koruyucu etkisinden dolayı da (asit ve bakteriosin benzeri maddeler) bozucu mikroorganizmaların gelişmeleri engellenmektedir (Diez ve ark. 1983, Fernandez ve ark. 1995).

Son zamanlarda, starter kültür hazırlamaları piyasada olmasına karşın saf laktik starter kültürleri Avrupa'ya ait gıda fermentasyonlarında yaygın değildir (Buckenhüskes 1993). Fakat, endüstriyel deneyimin; bozulma olasılığını azalttığı ve gelişmiş ve daha öngörülebilir bir fermentasyon işlemini gerçekleştirmeye yardımcı olduğu için aşılamaı önermesinden bu yana, sofralık zeytinlerde kullanılmak üzere geliştirilen etkili starter kültürlerle ilgi giderek artmaktadır (Sanchez ve ark. 2001).

Bu çalışmada yukarıda yazılanlar doğrultusunda siyah zeytin üretiminde, bitkisel kaynaklı fermente gıdalarda en fazla bulunan ve bu fermentasyonlarda kültür olarak kullanılan *Lactobacillus plantarum* ile siyah zeytin üretimi gerçekleştirilecektir.

Bu çalışmanın amacı, en yüksek laktik asit oluşumu düzeyine ulaşabilmek için salamuraların en iyi başlangıç koşullarını bulmak ve başlangıç kültürü olarak *Lb. plantarum* kullanarak sofralık siyah zeytin fermentasyonunun fizikokimyasal ve mikrobiyolojik profilini incelemektir.

## 2. LİTERATÜR BİLGİSİ

Çok eski çağlardan bu yana tüketilen zeytin, zamanla önemini daha da arttırmış, sofralardaki daimi yerini alarak insan sağlığının önemli bir koruyucusu olmuştur. Besin değeri oldukça yüksek olan zeytin, aynı zamanda yağıyla da sağlığa olan katkısını arttırmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalar, zeytinin yalnızca lezzetli bir gıda değil, bunun yanında yüksek kaloriye sahip önemli bir besin kaynağı olduğunu da ortaya koymuştur. Zeytinin yanı sıra zeytinin yağı da, önemli bir besin kaynağıdır (Anonim 2008b).

Çizelge 1. Sofralık Zeytin Bileşimi

Besin bileşeni	Siyah zeytin (40–50 adet)	Yeşil zeytin (40–50 adet)
Enerji (kalori)	207	144
Yağ (g)	21,0	13,5
Karbonhidrat (g)	1,1	2,8
Protein (g)	1,8	1,5
Kalsiyum (mg)	77	90
Demir (mg)	1,6	2,0
Vitamin A (IU)	60	300
Vitamin B1 (mg)	0,02	0,02
Vitamin B2 (mg)	0,02	0,02
Niasin (mg)	0,2	0,1
Vitamin C (mg)	0	0

Memleketimiz hemen bütün sofralık zeytin çeşitlerinde yağ oranı yabancı salamuralık çeşitlerden oldukça daha yüksektir. Fakat yağın yüksek olması zeytinin beslenme değerini artırdığı gibi daha lezzetli ve gevrek olmasına yardım eder iddiası da vardır. Marmara

bölgesini de içine alan Balıkesir ili zeytin çeşitlerinde yağ miktarı kuru madde üzerinden %38,4- %57,4: ortalama %49,6'dır (Türker 1974).

Kimyasal yönden oleik ve linoleik asitleri içeren yağlar gurubunda yer alan zeytinyağı, yüksek oleik asit içeriği nedeniyle, oksidatif stabilitesi yüksek olan ve düşük de olsa içerdiği linoleik asit (%9) nedeniyle de, -5, -9<sup>0</sup>C gibi düşük sıcaklık derecelerinde donma gösteren bir yağ olarak bilinmektedir. Bunun yanında natürel ya da sızma zeytinyağının rengi, hasat sırasında ulaştığı olgunluk düzeyine ve içerdiği klorofil miktarına bağlı olarak, altın sarısı renginden yeşilimsi sarıya kadar değişebilmektedir. Bunun yanında natürel olarak tüketilmesini sağlayan ve genellikle hoşça giden kendine özgü bir doğal tada da sahiptir (Kayahan ve Tekin 2006).

Zeytin fermantasyonunda zeytinin bileşimindeki maddelerden bilhassa şeker ve azotlu maddeler önemlidir. Fermantasyonda meydana gelen laktik asit miktarı doğrudan doğruya zeytindeki fermente olabilir karbonhidrat yani şeker miktarına bağlıdır. Azotlu maddeler ise laktik asit bakterilerinin beslenmesi bakımından önem taşır (Türker 1974).

Taze yani yeni hasat edilen zeytinler acıdır. Acılık veren madde Oleuropein denilen bir glikozit olup 1930 yılında saf olarak elde edilmiştir. Oleuropein oda sıcaklığında seyreltik alkali ile tahrip olur ve tahrip olduktan sonra alkalinin giderilmesi veya nötrleştirilmesi halinde acılık tekrar meydana gelmez. Bu husus gayet önemli olup pratikte ve bilhassa yeşil zeytin yaparken acılığın giderilmesinde seyreltik NaOH kullanılmaktadır (Türker 1974).

Zeytin tanesi acılığı giderilerek ve laktik asit fermantasyonuna tabi tutulmak suretiyle yenebilir ve uzun zaman muhafaza edilebilir hale gelir (Türker 1974).

Çizelge 2'de farklı bir kaynaktan alınan zeytin ve zeytinyağının bileşimi ile ilgili değerler verilmektedir.



Çizelge 2. Genel olarak zeytin meyvesine ve içerdiği yağa ait kimi fiziksel ve kimyasal özellikler (Thieme 1956, Baltés 1975).

Meyve Özellikleri	Optimum değerler
Uzunluk (cm)	2–3
Genişlik (cm)	2–3
Tanede meyve eti oranı (%)	78–84
Tanede çekirdek oranı (%)	22–16
Meyve Etinin Bileşimi	
Nem içeriği (%)	22–28
Protein içeriği (%)	6–7
Ham lif (%)	9–10
Kül içeriği (%)	2–3
Yağ içeriği (%)	38–58
Meyve Eti Yağının Özellikleri	
Fiziksel özellikler	
Yoğunluk (40 <sup>0</sup> C)	0,899–0,900
Kırılma indisi (n <sup>40</sup> <sub>D</sub> )	1,461–1,462
Vizkozite	
20 <sup>0</sup> C'de	10,3
50 <sup>0</sup> C'de	3,78
100 <sup>0</sup> C'de	1,8
Donma noktası <sup>0</sup> C	-5'den - 9 'a kadar
Alev alma sıcaklığı <sup>0</sup> C	Yaklaşık 205
Sabunlaşma sayısı	186–196
İyot sayısı	76–90
Meyve Eti Yağının Yağ Asitleri Bileşimi	
Miristik asit	0,1–1,2
Palmitik asit	6,9–15,6
Stearik asit	1,4–3,3
Araşidik asit	0,1–0,3
Oleik asit	64,6–84,4
Linoleik asit	3,9–15,0
Meyve Eti Yağının Trigliserit Bileşimi	
U <sub>3</sub> (%)	55
U <sub>2</sub> S (%)	43–45
US <sub>2</sub> (%)	-
S <sub>3</sub> (%)	<2

Zeytin tanesi bileşiminde birçok fenolik bileşikler bulunmaktadır. Zeytinde bulunan en önemli fenolik bileşikler olarak; Tirosol, Hidroksitiresol, 3-(3,4-dihidroksifenil), Propanoik asit (dihidrokafeik asit), Dihidro-p-kumarik asid (filoretik asit), Fenilpropanoid glukosides akteosid (verbaskosit), isoakteosid, Flanoidler olarak da Luteoiiin ve Apigenin bulunmaktadır. Fakat yeşil zeytinde Hidroksitirosol ve Tirisol dışındaki polifenoller az miktardadır (Bülbül 2008).

Zeytinyağında oldukça yüksek miktar ve sayıda bulunan fenolik bileşiklerin tümü antioksidatif etkiye sahiptir. Bunun yanında, özellikle fenolik asitlerin ortamdaki metalleri bağlayarak, onların aktif radikal oluşturmasını önlemesi, yağın sıcak ve soğuk ortamlarda oksidatif tepkimelere karşı gösterdiği direnci daha bir artırmakta ve zeytinyağına, en stabil sıvı yağ olma niteliğini kazandırmaktadır (Kayahan ve Tekin 2006).

Zeytinde bulunan fenolik bileşikler bitkinin; özelliklerini, zeytin meyvesinin rengini, besinsel değerini, zeytinden elde edilen zeytinyağının stabilitesini, mikroorganizmalara karşı dayanıklılığını etkiler (Bülbül 2008).

Fenolik bileşikler ayrıca zeytine; sertlik, renk, acı tat ve kendine özgü aroma verirler. Stabilizasyonu sağlar ve oksidasyonu önleyerek zeytinin kötü tat almasına mani olurlar. İnsan sağlığına da olumlu katkılarda bulunurlar (Bülbül 2008).

Zeytinyağının bileşiminde bulunan doğal antioksidanlar kapsamında, fenoller, fenolik asitler ve polifenoller gibi fenolik bileşiklerin yanında farklı biyolojik ve antioksidatif etkiye sahip olan tokoferoller de yer almaktadır. Zeytinyağındaki tokoferollerin yaklaşık % 90'ını biyolojik yönden en yüksek vitamin etkinliğine, ya da biyolojik aktiviteye sahip olan alfa-tokoferol oluşturmakta ve miktarı 150–170 mg/kg arasında değişmektedir. A provitamini, renk maddesi ve antioksidan özelliklerine sahip olan beta-karotenin zeytinyağındaki miktarı ise 0,3–3,7 mg/kg arasında değişmektedir (Kayahan ve Tekin 2006).

Zeytin ve zeytinyağı içerdiği fenolik maddeler sebebiyle sağlık üzerine çok olumlu etkileri vardır. Doğal fenolik maddeler insan sağlığı üzerinde; Yaşlanmayı önleyici, sağlıklı kalmayı sağlayıcı, hastalıklardan koruyucu, hastalıkları iyileştirici etkileri bulunur (Bülbül 2008).

Zeytindeki fenolik bileşenlerin; hücrelerdeki oksidatif hasarı ve yaşlanmayı önleyici, kandaki toplam, serbest ve ester formdaki kolesterol seviyesini azaltıcı, lipit peroksidasyonu önleyici, güçlü serbest radikalleri yok edici aktiviteleri, düşük yoğunluklu lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonunu önleyici ve miktarını düşürücü etkileri bulunur (Bülbül 2008). Ayrıca;

kardiyovasküler kalp hastalıklarının önlenmesinde, çeşitli kanser (kolon, prostat ve göğüs) ve trombotik hastalıkların oluşumunu engellemekte, merkezi sinir sistemi dejenerasyonunu önlemekte ve serbest radikalleri yok ederek yaşlanmayı geciktirmektedir (Bülbül 2008).

Görüldüğü gibi sağlık açısından faydalarından dolayı bugün birçok bilim adamı zeytinyağını esas alan beslenme modelinin en ideal model olduğunu düşünmektedir. Bu özelliklerinden dolayı günlük beslenme programında her öğünde bulunması gereken en temel besinler zeytin ve zeytinyağı olarak belirtilmektedir (Anonim 2008c).

Akdeniz beslenme tarzında bol miktarda tüketilen zeytin ve zeytinyağının faydaları ve insan sağlığına olumlu etkileri çok fazladır. Kalori değeri yüksek, esansiyel yağ asitlerinin kaynağı ve yağda çözünen A, D, E, ve K vitaminlerinin deposu olan zeytinyağı kendine özgü tat ve kokusu ile diğer bitkisel yağlara tercih edilen ve hazım olma derecesi yüksek olan önemli bir yağdır (Demirci 2003).

Sofralık zeytin, Akdeniz ülkelerinin geleneksel bir fermente gıdasıdır, üretim ve tüketimleri tüm dünyada hızla yayılmaktadır (Lopez ve ark. 2008). Tarihte ilk kez Akdeniz bölgesinde ortaya çıkan ve zamanla tüm dünya ülkelerine yayılan bir uygulama olan sofralık zeytin fermantasyonu; gıda işleminde, biyoteknolojisinin en eski uygulamalarından biridir. Bugün, dünya çapında neredeyse bir milyon ton sofralık zeytin üretilir ve bu üretimin çoğu, Avrupa ülkelerinde gerçekleşir (yaklaşık %50) (IOOC 2002).

Uluslararası Zeytinyağı Konseyi (IOOC 2008), 2006/2007 mahsul döneminde, sofralık zeytinin dünya çapındaki üretiminin 1.823.000 tona ulaştığını tahmin etmektedir. En önemli endüstriyel hazırlamalar daha öncede değinildiği üzere, üretimin %40'nı oluşturan İspanyol usulü yeşil zeytin, bazik oksitleme ile olgun zeytin (Kaliforniya usulü olarak bilinir) ve Yunan usulü olarak bilinen doğal siyah zeytinlerdir (Diez ve ark. 1985, Fernandez ve ark. 1997, Panagou ve ark. 2008). Son zamanlarda, “baharatlı” sofralık zeytin gibi diğer ürünler; geleneksel ve doğal besin maddeleri için giderek daha bilinçli hale gelen müşterilerin ilgisini çekmektedir (Lopez ve ark. 2005).

Zeytin meyvesi, etli ve tek çekirdekli bir meyvedir. Acı bir tat veren bileşene (oleuropein), düşük şeker konsantrasyonuna (%2,6–6,0) ve yüksek yağ içeriğine (%12–30) sahiptir. Fakat bu değerler, zeytin türüne ve olgunluğuna göre değişiklik gösterebilir (Fernandez ve ark. 1997). Bu özellikleri nedeniyle zeytinler, direk olarak ağaçtan toplandığı gibi tüketilmez ve

yenilebilir hale getirmek için bölgeden bölgeye değişkenlik gösteren bir takım işlemler serisine tabi tutulmaları gerekir.

Salamuradaki doğal siyah zeytinler, önceden herhangi bir acılığı giderme işlemi uygulanmadan, direk olarak tuzlu suya batırılmış olan zeytinlerden elde edilir. Ortaya çıkan ürün, hafifçe bir acı tat içeren meyvemsi bir lezzete sahiptir. Bu hazırlama tekniği, Türkiye, Yunanistan ve farklı Kuzey Afrika ülkelerinde popülerdir ve üretimde 1960'dan bu yana önemli bir düşüş yaşanmasına karşın yine de dünya ticaretindeki zeytin piyasasının %30'u olarak açıklanır (Piga ve ark. 2001).

Siyah zeytin üretim aşamaları sırasıyla; meyveler tam olgunluktan hafif önceki dönemde (orta tabakanın  $\frac{3}{4}$ 'ü siyah renk aldığında) veya tam olgunken toplanması, fabrikaya gönderilmesi, bozuk olan zeytinlerin ayıklanması, yüzeysel kirleri temizlemek için yıkanması ve son olarak, zeytinlerin Gram negatif bakterileri, laktik asit bakterileri ve mayalardan oluşan bir karma mikrobiyal kombinasyon tarafından doğal fermantasyona uğradığı %8-10'luk tuz konsantrasyonunda bekletilmesi gibi birkaç basamaktan oluşur (Balatsouras 1990, Brenes 2004).

Zeytin taneleri salamuraya bırakıldığı an fermantasyon başlamış demektir. Fermantasyon sırasında tanedeki şekerler salamuraya geçer, salamura içerisinde bu şekerler mikroorganizmalar tarafından parçalanır sonuç olarak asit veya istenmeyen durumlarda alkol oluştururlar. Alkol oluşumu mayalar, asit oluşumu laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilir. Fermantasyonun ilerlemesiyle birlikte muhtelif mikroorganizmalar arasında laktik asit bakterileri ortama hâkim olarak laktik asit meydana getirirler ve asitliğin yükselmesiyle birlikte mayaların gelişimi sınırlandırılmış olur. Bu şekilde ortamda arzu edilen mikroorganizmaların varlığı sayesinde pH düşer ve bozulma yapan mikroorganizmaların gelişmesi önlenmiş olur. Arzu edilen olgunluğa ulaşıldığı zaman ki bu süre 3-4 hafta ile 2-3 ay arasında değişmektedir, fermantasyon tamamlanmış olur (Türker 1974).

Sofralık zeytin fermantasyonunun temel amacı; son ürünün muhafazasını sağlamak ve organoleptik özelliklerini geliştirmektir. Fermantasyon etkinliğini önemli kılan kriter, laktik asit konsantrasyonudur (Panagou ve Tassou 2006). Fermantasyon; gıdayı son tüketim tarihine kadar korumak ve gıda güvenliğini geliştirmek amaçlı kullanılan bir tekniktir. Laktik asit bakterilerinin etkisiyle pH'ın düşmesi; gıda bozulmalarını veya zehirli bakterilerin çoğalmasını engeller ve belli bazı patojenleri öldürür (Hammes ve Tichaczek 1994).

Fermentasyon işleminin temel zorlukları; mayalanabilir substratların kullanılabilirliği, tuz miktarı, pH, aerobik/anaerobik koşullar ve sıcaklık kontrolüdür (Bobillo ve Marshall 1991,1992, Garcia ve ark. 1992, Gonzalez ve ark. 1993, Montano ve ark. 1993, Quintana ve ark. 1999, Spyropoulou ve ark. 2001, Castro ve ark. 2002, Tassou ve ark. 2002, Alvalez ve ark. 2003, Chorianopoulos ve ark. 2005). Fermentasyonu gerçekleştirmek ve tutarlı ve yüksek kalitede ürünler elde etmek için bu parametrelerin işlem kontrolü gereklidir. Sofralık zeytin fermentasyonundaki başlıca amaç; konserve etkisi elde etmek ve işlenmiş ürünün organoleptik özelliğini artırmaktır. Fermentasyonun etkinliğini araştırmak için kolay bir ölçüt; üretilen laktik asit konsantrasyonudur. Laktik asit bakterileri fermentasyona çeşitli yollarla etki eder. En önemlisi; asidik ortamdaki artışı ile pH'ın düşmesi (< 4,0) sonucu oluşan mayalanabilir substratlardan laktik asit üretilmesidir. Böylece muhafaza edildiği süre boyunca ürünün mikrobiyolojik tutarlılığı sağlanmış olur (Panagou ve ark. 2008).

Normal bir fermentasyonda, en geçerli mikrobiyal gruplar; son ürünün karakteristiğini belirleyen akraba popülasyon olan laktik asit bakterileri ve mayalardır. Bu yüzden, laktik asit bakterileri mayalardan sayıca üstün olduğunda, laktik asit fermentasyonu; doğal siyah zeytin fermentasyonu için istenilen bir durum olan daha düşük pH'a sahip daha asidik bir ürün vermeyi tercih eder. Ters bir durumda, yani dominant olan grup mayalar olduğunda; daha yumuşak bir tada sahip ve kendini muhafaza etme özelliği daha yetersiz olan bir ürün oluşur (Panagou ve ark. 2008).

Mayalar tüm fermentatif işlem boyunca varlıklarını sürdürürler ve genellikle, son ürünün kalite ve lezzetini belirleyen önemli organoleptik özelliklere sahip bileşikler üretebildikleri kabul edilir. Fakat, mayalar ayrıca zeytin fermentasyonu ve saklanması gaz cebi, şişkin kaplar, buğulu salamura ve istenmeyen koku ve lezzete sebep olan mikroorganizmaları da olabilirler (Lopez ve ark. 2008). Mayalar özellikle düşük pH, yüksek tuz konsantrasyonu ve düşük sıcaklığa sahip yiyecek ve içeceklerde bozulma mikroorganizmaları olarak önemlidir (Stratford 2006). Bazı durumlarda; mayalar eğer kullanılan NaCl seviyeleri yüksek olursa ( $\geq 8\%$  NaCl), fermentasyon sırasında dominant mikroorganizmalar olabilirler (Lopez ve ark. 2008). Bu sebeple maya gelişimi kontrollü bir şekilde önlenmeli laktik asit bakterilerinin (LAB) mayalar üzerinde dominant hale gelmeleri sağlanmalıdır.

Fermentasyonunun amacı; özellikle *Lactobacillus pentosus* ve *Lb. plantarum* (Garrido Fernandez ve ark. 1997) suşları tarafından laktik asit üretimi yardımıyla meyvelerin muhafazasını sağlamak (Fernandez ve ark. 1997) ve istenilen organoleptik özellikleri elde

etmektedir. Dayanıklı ve güvenilir bir ürün, düşük pH'a (<4,5) sahip olmalıdır, aksi takdirde; Gram-negatif bakterilerinin üremeleri ve *Clostridium botulinum* sporlarının filizlenmesi muhtemeldir (Nout 1994). Laktik asit bakterileri mayalar üzerinde dominant olduğunda, yüksek serbest asitlik seviyelerine ve düşük pH'a (pH<4,5) ulaşılır. Fakat, bazı durumlarda mayalar dominant olup, kendini koruması düşük ve daha yumuşak tada sahip bir ürüne neden olur (Fernandez ve ark. 1997, Panagou ve ark. 2008). Bu problem, Tassou ve ark. (2002) tarafından, farklı tuz seviyeleri ve sıcaklıklarda fermente edilen doğal siyah zeytinlerin işlenmesinde rapor edilmiştir. Ayrıca, fermentatif mayaların gereğinden fazla üremeleri (>7 log kob/ml) zeytinlere nüfuz eden ve meyvelere zarar veren CO<sub>2</sub>'in fazla miktarda üretilmelerine neden olur (Diez ve ark. 1985). Quintana ve ark. (1979), siyah zeytin fermantasyonlarındaki çeşitli *S.cerevisiae* ve *P.anomala* maya suşlarının varlığındaki değişimi belirtmiştir. Fermentasyonda yüksek seviyelerde NaCl kullanımında (>%8), mayaların LAB'e karşı üremeleri kabul edilebilir (Fernandez ve ark. 1997, Tassou ve ark. 2002).

Zeytin fermantasyonunda mikrobiyal zincir, üç farklı fazda karakterize edilir (Fernandez ve ark. 1997). İlk fazda; işlemde dominant olan bakteriyel grup, çoğunlukla *Enterobacteriaceae* familyasına mensup Gram-negatif bakterileridir. İkinci faz, laktik asit bakterileri ve mayaların aşamalı ürediği ve Gram-negatif bakterilerinin yavaş yavaş azaldığı bir faz olarak tanımlanır. Üçüncü faz sırasında, çok fazla bir *lactobacilli* üremesi gözlenmiştir (özellikle fermantasyonun dominant mikro florası olan *Lactobacillus plantarum* türlerinde) (Panagou ve Katsaboxakis 2006).

*Enterobacteriaceae* familyasına ait türleri, son fermente ürünün kalitesini, geri dönülmeyecek şekilde etkileyebilen “gaz cebi” bozulması (Alcala ve ark. 1960) gelişimlerine sebep olmaktadır. Bu sebeple; özellikle bozulma ihtimalinin daha yüksek olduğu fermantasyon başlangıcında bu mikrobiyal grubun yaşama periyodu mümkün olduğu kadar kısa tutulmalıdır. Bu bakteriler, 20–25 günden daha fazla yaşatılmamalıdır (Fernandez ve ark. 1997).

Yoğun fermantasyon işlemlerinde; potansiyel bozulma mikroorganizmaları üzerinde laktik asit bakterilerinin hızlı bir şekilde dominantlığını sağlamak için, ilk ve ikinci faz süreleri en aza indirilmelidir. Organik asitlerle (laktik, asetik), başlangıç salamurasının asitleşmesi, saf bir *lactobacilli* kültürü ile aşılama ve bir önceki fermantasyondan alınan salamuranın kullanılması, işlemlerin birinci ve ikinci fazlarını kısaltmak için bazı yöntemlerdir. Ancak,

salamuranın güçlü tampon kapasitesi ile pH/asidite; son ürünün muhafazasını sağlamak için istenilen seviyeye ulaşmayabilir ve başka mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen sonraki kirlilik sırasında bozulma meydana gelebilir (Diez 1983, Fernandez ve ark. 1995). Bu durumda, fermantasyonun sonunda; salamuraya starter kültür ve/veya laktik asit ilavesi gibi tamamlayıcı uygulamalar gerekir. Bu uygulamalar; son ürünün fizikokimyasal özelliklerini geliştirir (pH/asidite) ve dayanıklılığını artırır (Panagou ve Katsaboukakis 2006).

İspanyol usulü işlenen Conservolea türü yeşil zeytin fermantasyonu üzerinde farklı salamura uygulamalarının etkisinin denendiği bir araştırmada (Panagou ve Katsaboukakis 2006), Enterobakterilerinin yaşama süresini kısalttığı için (24 gün), önceki salamuranın tekrardan kullanılması işlemi, bozulma ihtimalini en aza indirmede etkili bir yöntem olmuştur. Ancak, 35 günlük fermantasyon sonunda, pH değerleri tüm uygulamalarda 4,8 üzeri bir değere ulaşmıştır ve bu da; laktik asit fermantasyonunu artırmak ve son ürünün fizikokimyasal özelliklerini geliştiren ve ürün güzelliği sağlayan asidite/pH değerleri elde etmek için tamamlayıcı uygulamaların gerekli olduğunu göstermiştir. Aynı araştırmada tamamlayıcı olarak HCl ilavesi denenmiştir ve özellikle ilk 28 gün boyunca, hızlı bir pH düşüşü farkedilmiş, ardından pH sabit bir değerde seyretmiştir. İşlemlerin, HCl uygulanan, salamuranın tekrar kullanıldığı fermantasyonlarda daha hızlı ilerlediği görülmüştür.

Fermantasyon süresi; salamuradaki pH düşüşü (4 civarında), serbest asitlik değerlerinin (%0,7–0,8) olması gereken değerlere ulaşması gibi kriterlere bağlıdır. Asitlik gelişimi ise tamamen laktik asit bakterilerinin gelişimi ile ilgili bir durumdur. Laktik asit bakterilerinin arzu edildiği ölçüde ve hızda gelişmesi için uygun ortam sıcaklığı ve başlangıç mikroorganizma popülasyonu önem taşımaktadır (Türker 1974).

Bu doğrultuda, Borcaklı ve Özay (2000) tarafından yapılan bir araştırmada; 15<sup>0</sup>C, 23<sup>0</sup>C ve 35<sup>0</sup>C sıcaklıklarda fermantasyon süresince laktik asit bakteri sayıları incelenmiştir. Araştırma sonucuna göre 15<sup>0</sup>C ve 23<sup>0</sup>C'deki örneklerde laktik asit bakteri sayıları sürekli artış gösterirken, 35<sup>0</sup>C'deki örnekler 23. günden sonra laktik asit bakteri sayılarında düşüş gözlenmiştir. Bu demek oluyor ki sıcaklığın yüksek oluşu laktik asit bakteri yaşamını olumsuz yönde etkilemektedir.

Sıcaklık ve tuzun, fermantasyon işlemindeki en önemli iki parametre olduğu bilinir. Her iki faktör; mikrobiyal popülasyon sayılarının kontrolünde, fermantasyonu etkileyen mikrobiyal grupların seçilmesinde, laktik asit bakterilerinin baskın türlerinin seçilmesinde ve son ürün gelişimini etkilemede belirleyici olabilirler. Yapılan bir diğer araştırmada (Tassou ve ark.

2002), %4, %6 ve %8'lik tuz konsantrasyonu ve 18 °C ve 25°C sıcaklıklarda fermentasyonlar incelenmiştir. Bu fermentasyon denemeleri sırasında salamuradaki tuz konsantrasyonu düştüğü zaman mikroorganizmaların son popülasyonunda aşamalı düşüş gözlenmiştir. Ayrıca, fermentasyon sıcaklığı ne olursa olsun; %8 tuz konsantrasyonu, salamurada laktik asit bakterilerinin üremesini yavaşlatmış ve bunun bir sonucu olarak, daha az serbest asitlik ve daha yüksek pH değerlerine sahip ürünler meydana getiren, tuza yatkın mayaların sayısı; laktik asit bakterilerinin sayısını geçmiştir. Yine ortam sıcaklığındaki %8'lik NaCl konsantrasyonlu salamurada gerçekleşen fermentasyon sırasında, en yüksek ölüm oranı elde edilirken; bu örneklerdeki laktik asit bakterileri üremesi tüm testler arasında en düşük miktarda olmuştur. Buna karşılık; %6'lık NaCl salamurasında 25°C ve 18°C'de gerçekleşen siyah zeytin fermentasyonu sırasında laktik asit bakterilerinde dominantlık meydana gelirken, 8%'lik tuzlu su salamurasında ise üremede yavaşlama gözlenmiştir (Tassou ve ark. 2002).

Tassou ve ark. (2002) tarafından yapılan araştırmada pH düşüşü; ortam sıcaklığındakilerden ziyade, kontrollü sıcaklıkta fermente edilen zeytinlerde daha belirgin olmuştur. 25°C'de, son pH, %6 ve %8'lik NaCl ile tamamlanmış salamuralarda 3,8–3,9 iken; en yüksek pH'a (4,4) %4'lük NaCl'de rastlanmıştır. Buna karşılık; 18°C'de en yüksek pH değeri, %8'lik NaCl'de gözlenmiştir.

Aynı şekilde başlangıç mikro florası da serbest asitlik gelişimi için büyük önem taşımaktadır. Daha öncede değinildiği gibi, zeytin fermentasyonu mikro flora bakımından; başlangıç, ara ve son olmak üzere üç safhaya ayrılabilir. Fermentasyonun birinci kademesi zeytinlerin salamuraya konulduktan sonraki ilk 48–72 saatlik süredir. İlk 24–48 saatlik süreden sonra karışık olan mikro florada *Lactobacillus*'lar hâkim olmaya başlar. Zeytin fermentasyonunda alkali ile muamele ve yıkama gibi işlemler zeytinlerin üzerindeki laktik asit bakterilerinin çoğunu öldürür ve uzaklaştırır. Üstelik yıkama suyu ve salamuranın hazırlanmasında kullanılan su, istenmeyen mikroorganizmaları ihtiva edebilir. Onun için zeytinleri fermentasyona terk ederken starter kültür kullanılmalıdır. Starter olarak saf kültür kullanılması tavsiye edilir (Arıcı 2004).

Starter kültürler için gerekli olanlar; hızlı ve baskın bir büyüme, homofermentatif metabolizma, tuz, asit ve polifonollere tolerans ve birkaç üreme faktörü ihtiyaçlarıdır (Lüke ve ark. 1989, Barba ve ark. 1993).

Bu aşamada starter kültür seçimi çok önemlidir. Fermentasyon sırasında salamurada bulunan glikoz, homofermentatif laktik asit bakterileri ile ana ürün olarak laktik asite dönüşür,



heterofermentatif laktik asit bakterileri ile ise heterofermentatif yolla laktik ve asetik asit, diğer organik asitler, etanol, gliserol ve karbondioksite dönüşür (Ünlütürk ve Turantaş 2003). Bu sebeplerden dolayı en uygun starter kültür; homofermentatif laktik asit bakterilerinden seçilebilir. Zeytin fermantasyonunda daha önce bu konuda laktik asit bakterisi ilavesi farklı araştırmalarda denenmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır (Borcaklı ve Özay 2000, Diez ve ark. 1985, Fernandez ve ark. 1997, Nychas ve ark. 2002, Panagou ve ark. 2003, Skandamis ve Nychas 2003, Spyropoulou ve ark. 2001, Sanchez ve ark. 2001).

Yapılan bir araştırmada *Lb. plantarum* ilave edilen zeytinlerde dokusal olarak çok daha iyi zeytinler elde edilirken aynı zamanda hızlı pH düşmesiyle fermantasyon süresi de normal salamura zeytinlere göre daha kısa zamanda tamamlanmıştır (Borcaklı ve Özay 2000).

Geleneksel işlemden, zeytinler, kendine özgü tadı için olduğu kadar korunması içinde gerekli olan laktik asit miktarının elde edilmesinde en büyük öneme sahip olduğu düşünülen fermantasyon salamuralarındaki *Lb. plantarum*'un büyümesine yardımcı olacak şekilde seçilirler. Bununla birlikte, başlangıç koşulları genellikle, arzulanan mikroorganizmaların mikrobiyolojik büyümeleri açısından biraz kısıtlayıcıdır. *Lb. plantarum* popülasyonu, fermantasyon sürecinin sonuna kadar ve depolama süresi boyunca genellikle bir maya popülasyonu ile birlikte varlığını sürdürür. Bazı durumlarda, laktik asit, zeytinlerin yeterli derecede korunmasına yetecek kadar üretilmez ve başka mikro organizmaların yol açtığı ve daha sonra gerçekleşen kirlenme yüzünden bozulma meydana gelir. Bu açıdan, uygun *Lb. plantarum* başlangıç kültürlerinin kullanılması; sürecin mikrobiyolojik denetiminin geliştirilmesi, laktik asit üretiminin artırılması, dolayısıyla da sürekli olarak yüksek kaliteli İspanyol tipi mayalanmış yeşil zeytin üretiminin sağlanması yönünden potansiyel öneme sahiptir (Sanchez ve ark. 2003). Yakın zamanda, Sanchez ve ark. (2001) yüksek pH düzeylerinde laktobasilli başlangıç kültürlerinin kullanımını araştırmıştır.

Sanchez ve ark. (2001) tarafından yapılan bu araştırmada kültür ilavesi yapılmış salamurayla kontrol salamuraları arasındaki kimyasal ve mikrobiyolojik değerler karşılaştırılmıştır. Temel fermantasyon substratı olan glikoz konsantrasyonu aşılı salamurada ihmal edilebilir düzeydeyken kontrollerin 12. gününde halen glikoz mevcut bulunmuştur. Bunun anlamı; çürükçül ve Gram-negatif bakterilerinde büyüme meydana gelirken, ilk safhalarda, potansiyel çürüme mikroorganizmalarına daha fazla glikozun ulaşabildiğidir. Diğer bir taraftan; etkin bir şekilde yerleşik olan kültür ile glikozun hızlı tükenmesi; daha fazla güvenlik ve azaltılmış hijyen riski kadar, geliştirilmiş ve daha öngörülebilir bir fermantasyon işlemi demektir.

Bunlar; ev çapında ve endüstrilerde fermantasyon yapabilmek için starter kültürlerde aranılan özelliklerdir (Holzapfel 1997).

Kültürler aşısız kontrollerden kullanıldığında canlı *lactobacilli* popülasyonu her zaman önemli ölçüde daha fazla oluşur ve bu farklılık, aşılı fermenterlerde kontrol gruplarındaki daha hızlı bir biçimde aktifliğini kaybeden *Enterobacteriaceae* üzerinde önemli bir etkiye sahip olur (Sanchez ve ark. 2000). Aynı etki Ruiz-Barba ve ark. (1994) tarafından yapılan araştırmada da ispatlanmıştır ve gaz cebi (gas pocket veya bloater) ve bütrik asit bozulmaları riski oldukça yüksekken, İspanyol usulü yeşil zeytin fermantasyonunun ilk aşamasında bozulma olasılığı azaltmak adına lactobacilli starter kültürleri kullanmanın avantajlı olduğunu doğrular (Diez ve ark. 1985).

### **3. MATERYAL VE METOT**

#### **3.1. Materyal**

Araştırma materyali olarak Çanakkale yöresinde yetişen Gemlik tipi zeytinler salamura siyah zeytin yapımında kullanılmıştır. Kullanılan diğer materyaller ise salamura oluşumu için tuz (NaCl) ve asitliğin istenilen ölçüde gelişimini sağlamak için homofermentatif laktik asit bakterisi olan *Lb. plantarum* starter kültür kullanılmıştır. *Lb. plantarum* saf kültür olarak Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'nden temin edilmiş uygun koşullarda çoğaltılıp numunelere %1 oranında ilave edilmiştir.

#### **3.2. Metot**

##### **3.2.1. Starter Kültür Hazırlanması**

Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü'nden saf olarak temin edilen *Lb. plantarum* laboratuvar ortamında steril edilmiş 100 ml MRS broth'a ilave edildi ve 32 °C'de 72 saat boyunca inkübe edilmiştir. Daha sonra %10'luk yağsız süt tozu solüsyonu hazırlanarak pastörize edilmiş ve soğuduktan sonra daha önce hazırlanan kültür ilave edilmiştir. 30–32 °C'de yoğurt kıvamına gelinceye dek inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen yoğurt kıvamındaki kültür oluşumu %1 oranında salamura içerisine ilave edilerek fermantasyon başlatılmıştır.

##### **3.2.2. Zeytin Örneklerinin Salamuraya Hazırlanması**

Denemeye alınan zeytinler ilk önce çok iyi bir şekilde temizlenip ayıklanmış, bu aşamada zarar görmüş tanelerle sap, çöp gibi yabancı maddeler ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Böylece istenilmeyen küf ve mayaların gelişimi kısmen engellenmeye çalışılmıştır. Daha sonra 6 farklı salamurada zeytin işleme konulmuştur.

##### **3.2.3. Salamuranın Hazırlanması**

Bu araştırmada 2 farklı tuz oranlarında toplam 6 farklı numune denenmiştir. %4,5 ve %6 tuz oranlarında salamuralardan birer adet kontrol numunesi hazırlanmış ve salamura kaynama sıcaklığına çıkarılıp pastörize edilmiştir. Böylelikle içinde mikroorganizma varsa ölmeleri sağlanmış böylelikle laktik asit bakterilerinin gelişmesini engelleyici ya da durdurucu etkide bulunacak hiçbir mikroorganizma kalmaması sağlanmıştır. Daha sonra hazırlanan bu farklı tuz oranlarındaki salamuralara 1. ve 4. Günlerde %1 oranında *Lb. plantarum* ilave edilerek

kontrol salamuranın dışında farklı 2'şer salamura daha oluşturulmuştur. Böylelikle kontrol numuneleriyle birlikte toplam 6 farklı salamura örneği oluşturulmuştur. Dolum aşamasına gelmeden önce salamuraların soğuması için bir süre oda sıcaklığında beklenmiştir.

#### 3.2.4. Dolum

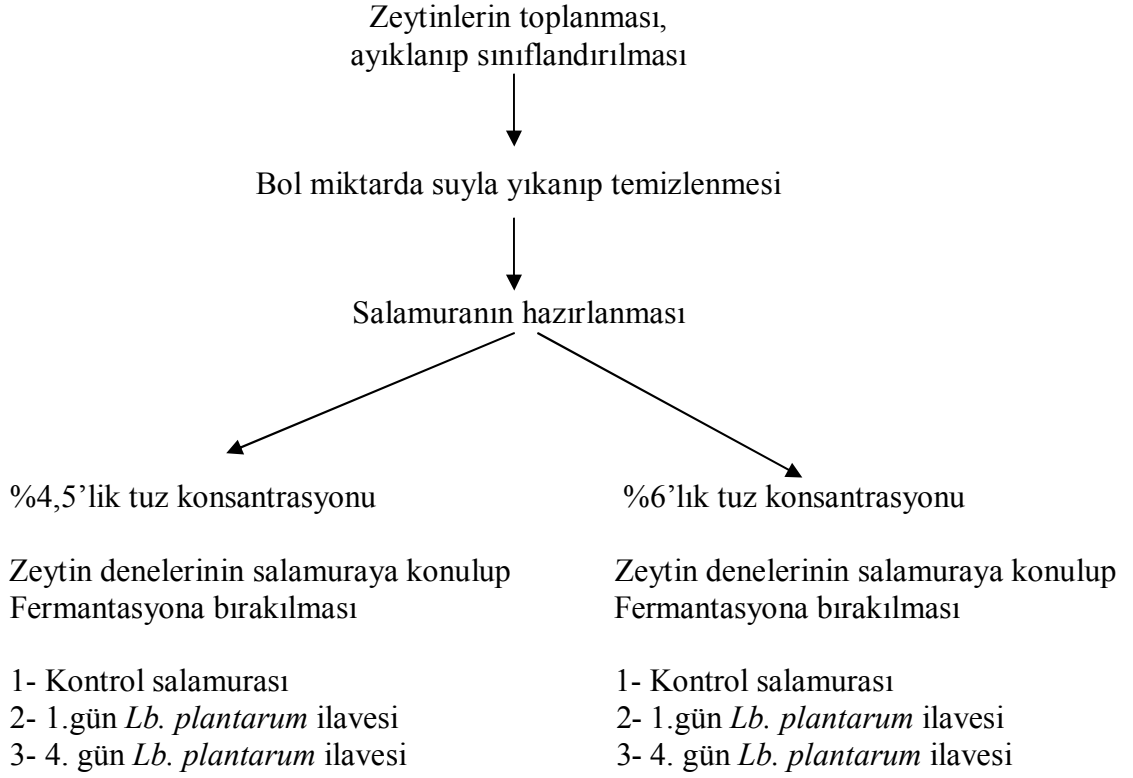
Hazırlanan salamuralar, kaynatılmış suda bir süre bekletilip yıkanan ve hava sıcaklığında kurutulan pastörize edilmiş 1 litrelik kavanozlara boşaltılmıştır. Bu arada salamura kavanozlara boşaltılmadan önce soğuması için bir süre bekletilmiştir. Salamuranın üzerine zeytin taneleri dikkatlice ilave edildikten sonra kontrol numunelerinin ağzı sıkıca kapatılmıştır. Ardından %4,5 ve %6 tuz oranlarındaki geri kalan 2 salamuraya *Lb. plantarum* %1 oranında ilave edilmiştir. Daha sonra tüm kavanozların ağzı sıkıca kapatılıp fermentasyona bırakılmıştır. Zeytin taneleri kavanozlara konulduktan sonra 4. gün geriye kalan son 2 salamuraya da (%4,5 ve %6 tuz konsantrasyonunda) yine %1 oranında *Lb. plantarum* ilavesi yapılmıştır ve hazırlık işlemi böylelikle tamamlanmıştır. Bunu takiben her hafta çeşitli analizlerle kavanozlardaki laktik asit bakterilerinin üreme miktarları ve hızı mikrobiyolojik analizlerle ve asit gelişimi, pH değeri, tuz oranı gibi kimyasal olaylarda çeşitli kimyasal ve duyuşsal analizlerle takibe alınmıştır.

1 aylık depolama süresince numuneler analizlerle takip edilmiştir.

Hazırlanan numuneler;

- A 1) %4,5 tuz oranındaki kontrol numunesi,
- A 2) %4,5 tuz oranında 1. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış numune,
- A 3) %4,5 tuz oranında 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış numune,
- B 1) % 6 tuz oranındaki kontrol numunesi,
- B 2) %6 tuz oranında 1. gün *Lb. plantarum* İlavesi yapılmış numune,
- B 3) %6 tuz oranında 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış numune.

## Siyah Zeytin Üretim Aşamaları



Şekil 1. Salamura siyah zeytin denemelerinde izlenen işlem aşamaları

Şekil 1'de görüldüğü üzere her tuz konsantrasyonunda 3 farklı örnek olmakla beraber toplam 6 farklı salamura denemesi incelenmiştir. Kontrol salamuraları 1. ve fermantasyon başladıktan sonra 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılan örnekleri değerlendirirken kullanılmıştır. Daha sağlıklı kıyaslama yapılması sağlanmıştır. İşlemler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.5. Kimyasal Analiz Metotları

#### 3.2.5.1. Salamurada Tuz Tayini (%)

Salamurada tuz tayini için V ml (yaklaşık 1 ml) salamura suyu bir erlene konur. Üzerine 50 ml damıtık su ve 2–3 damla potasyum kromat çözeltisi ilave edilir, iyice karıştırılır. Karışım gümüş nitrat çözeltisi ile sabit kiremit kırmızısı renge dönüncye kadar titre edilir (Anonim 1992).

— Hesaplama ve Sonuçların Gösterilmesi

Salamuradaki tuz (T) (m/v) yüzdesi olarak aşağıdaki formülle bulunur.

$$T = \frac{V1 \cdot N1 \cdot 5,85}{V}$$

Burada:

V1 = Harcanan gümüş nitrat çözeltisinin hacmi, ml

N1 = Gümüş nitrat çözeltisinin normalitesi,

V = Salamura hacmi, (ml)'dir.

#### 3.2.5.2. Asitlik Tayini (%)

Salamura suyundan V ml yaklaşık 10 ml bir pipetle alınıp 250 ml'lik erlene konur. Bir iki damla fenolftaleyn damlatılıp çalkalanır. Üzerine 20 ml damıtık su konur ve kalıcı pembe renk meydana gelinceye kadar sodyum hidroksit çözeltisi ile titre edilir (Anonim 1992).

- Hesaplama ve Sonuçların Gösterilmesi:

Salamura suyunun asitliği (LA), yüzde m/v laktik asit olarak, aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$LA = \frac{V1 \times N \times 9}{V}$$

Burada:

N: Sodyum çözeltilisinin normalitesi (0,1 N),

V1: Harcanan sodyum hidroksit çözeltilisinin hacmi (ml),

V: Salamura hacmi (ml), 'dir.

### 3.2.5.3. pH Tayini

pH tayini için 0,05 duyarlı bir pH metre ile salamura suyunun 20<sup>0</sup>C' deki pH' sına bakılır. Alet ölçme konumuna getirilerek salamuranın içerisine daldırılır, gösterge sabitleştiğinde okunan değer kaydedilir (pH değeri 0,05'lik birimlere kadar okunur) (Anonim 1992).

### 3.2.6. Duyusal Analiz Metotları

Duyu ile muayene aşağıda belirtilen kriterler göz önüne alınarak oluşturulan bir panel grubu tarafından yapılmıştır. Zeytin örnekleri; fermantasyonun 4. haftasından sonra, 10 kişilik jüri tarafından organoleptik olarak değerlendirilmiştir. Meyveler; kalıcı acılık, anormal fermantasyon sonucu istenmeyen kokular, renk oluşumu, asidite, tuz oranı, gaz cebi oluşumu, büzüşme veya buruşma ve yeme kalitesi açısından değerlendirilmiştir. Değerlendirme için, özel değerlendirme ölçeği kullanılmıştır (Çizelge3 ve 4).

Zeytinler;

- Temiz ve sağlam olmalı, yabancı tat ve koku ihtiva etmemelidir.
- Grup ve tipine has yeme uygunluğunda ve yenelir Özellikte olmalıdır.
- Ambalaj içindeki zeytinlerin çeşidi, sınıfı, grubu, tipi ve stili aynı olmalıdır.
- Kirli, kokuşmuş, özellikleri kaybolmuş, kurtlanmış veya küflenmiş olmamalıdır.
- Her türlü parazit, böcek veya bunların parçalarını ihtiva etmemelidir.
- Gözle görülür yabancı madde bulunmamalı, zararsız yabancı madde 1 kg'da en çok 1 adet olmalıdır (Anonim 1992).

Çizelge 3. Duyusal analizde kullanılan değerlendirme formu

ÖZELLİKLER	Puan
Temiz ve sağlam olmalı	
Yabancı tat ve koku ihtiva etmemeli	
Yeme olgunluğunda ve yenebilir özellikte olmalı	
Yumuşamış olmamalı	
Rengi, türüne has özellikte olmalı	
Her türlü parazit, böcek ve bunların parçalarını ihtiva etmemeli	
Gözle görülebilir yabancı madde bulunmamalı	
Küflenmiş olmamalı	

Çizelge 4. Duyusal değerlendirmede kullanılan puan sistemi

PUANLAMA	KÖTÜ	ORTA	İYİ	ÇOK İYİ
	3-4	5-6	7-8	9-10

### 3.2.7. Mikrobiyolojik Analiz Metotları

#### 3.2.7.1. Laktik Asit Bakteri Sayılarının Belirlenmesi

MRS agar üzerine ekimi yapılan örnekler 30<sup>0</sup>C’ de 2-3 gün inkübe edilerek yapılır (Baumgart 1993).

#### 3.2.7.2. Maya – Küf Sayılarının Belirlenmesi

PDA üzerine ekimi yapılan örnekler 25<sup>0</sup>C’ de 5 gün inkübe edilerek sayım yapılır (Baumgart 1993).

### 3.2.8. İstatistiksel Analiz Metotları

Analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesinde çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Buna göre varyans analizleri statistica paket programında yapılmıştır. Deneme deseninde 6 örnek numune 3 tekerrürlü olarak analiz edilmiş, önemli bulunan varyasyon kaynakları



Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi'ne tabi tutularak karşılaştırmaları yapılmıştır. Duyusal analizler ise minitab paket programında incelenmiş ve Kruskal Walls istatistik yöntemiyle karşılaştırmalar yapılmıştır (Soysal 1995).

## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Kimyasal Analiz Sonuçları

Farklı tuz oranları ve *Lb. plantarum* ilave edilme durumlarına göre hazırlanmış siyah salamura zeytin örneklerinin kimyasal analiz sonuçları aşağıda verilmiştir.

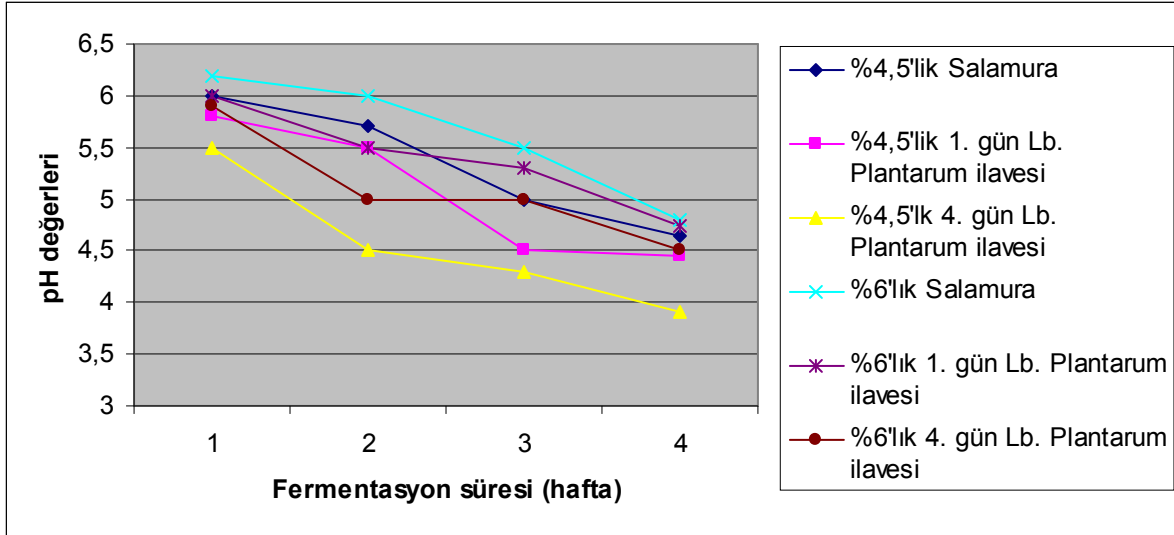
#### 4.1.1. pH Değerleri

İncelenen salamura siyah zeytinlerin fermantasyon süresince tespit edilen pH değerleri Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. Siyah zeytin örneklerinde fermantasyon süresince ölçülen pH değerleri

Örnekler	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
%4,5'lik Salamura	6	5,7	5	4,65
%4,5'lik 1. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	5,8	5,5	4,5	4,45
%4,5'lik 4. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	5,5	4,5	4,3	3,9
%6'lık Salamura	6,2	6	5,5	4,8
%6'lık 1. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	6	5,5	5,3	4,75
%6'lık 4. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	5,9	5	5	4,5

Şekil 2'de ise pH değerlerinin fermantasyon süresince değişimi daha açık bir şekilde incelenmektedir. Şekilde 2'de görüldüğü üzere *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örneklerde pH düşüşü daha hızlı ve daha düşük değerlerdedir. Ayrıca istenilen pH oranına daha kısa sürede erişilmekte yani olgunlaşma süresi kısalmaktadır.



Şekil 2. Siyah zeytin örneklerinde pH değerlerinin fermentasyon süresince değişimi

Salamura tipi siyah zeytinlerdeki uygulama şekilleri arasındaki farkın önemlilik derecesinin araştırılmasında istatistiksel analiz yöntemlerinden varyans analizi yöntemi kullanılmıştır. pH ile ilgili olarak yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 6'da verildiği gibidir.

Çizelge 6. Salamura tipi siyah zeytinlerde pH oranlarına ait varyans analiz sonuçları

	SD.	KT.	KO.	F	P
Fermentasyon Zamanı	3	19,615	6,538	743,9	** 0,000000
Tuz oranı	1	2,457	2,457	279,5	** 0,000000
Mikroorganizma ilavesi	2	6,192	3,096	352,3	** 0,000000
Fermentasyon Zamanı X Tuz	3	0,561	0,187	21,3	** 0,000000
Fermentasyon Zamanı X Mikroorganizma ilavesi	6	0,927	0,155	17,6	** 0,000000
Tuz oranı X Mikroorganizma ilavesi	2	0,254	0,127	14,5	** 0,000012
Fermentasyon Zamanı X Tuz oranı X Mikroorganizma ilavesi	6	0,417	0,069	7,9	** 0,000006
Hata	48	0,422	0,009	-	-
Genel	72	30,845	-	-	-

\* :  $P \leq 0,05$       \*\* :  $P \leq 0,01$

Varyans analiz sonucuna göre örnekler arasındaki fark önemli bulunmuştur ( $P \leq 0,01$ ). Hangi örnekler arasında ve hangi durumlarda önemli olduğunu belirlemek amacıyla Duncan Çoklu Karşılaştırma testi'ne başvurulmuştur.

Ek 1'deki çoklu karşılaştırma testi incelendiği zaman çoğu interaksiyon arasındaki farkın önemli olduğu görülmektedir ( $P < 0,05$ ). Diğer tüm Çoklu Karşılaştırma Testlerinin anlaşılması

açısından bu tabloyu kısaca anlatacak olursak; tabloda önemsiz olan değerler koyu renkle belirtilmiştir ( $P>0,05$ ). Tablonun üst ve alt bölümü simetri oluşturduğundan dolayı önemsiz kriterler her iki bölümde de belirtilmemiştir. Tabloda yatay ve dikey sütunlar fermentasyon zamanını (1.2.3.4), tuz konsantrasyonlarını(1:%4,5, 2:%6) ve mikroorganizma ilave edilme durumlarını (1: kontrol salamurası, 2: 1. gün *Lb. plantarum* ilavesi, 3: 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi) ifade etmektedir. Bu durumda x ve y koordinatlarını birleştirirsek önemsiz farklılıklar yani aynı sayılabilecek değerler ortaya çıkmaktadır. Tabloyu bir örnekle açıklamak gerekirse; (4.2.3) %6 tuz konsantrasyonunda ve 4. gün *Lb. plantarum* ilave edilmiş olan siyah zeytin örneklerinde fermentasyonun 4. haftasındaki durumuyla, (2.1.3) %4,5 tuz konsantrasyonunda ve yine 4. gün *Lb. plantarum* ilave edilmiş siyah zeytin örneklerinde fermentasyonun 2. haftası arasındaki durum arasında önemli bir farklılık bulunmamaktadır. Yani bu örnekte anlatılmak istenen; *Lb. plantarum* ilave edilmiş bu iki örnek farklı tuz konsantrasyonlarına sahiptir ve %4,5'lik tuz konsantrasyonu fermentasyonun 2. haftasında ulaştığı pH değerine, %6'lık tuz konsantrasyonunda ve yine *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örnekte 4. hafta ulaşabilmektedir. Tuz konsantrasyonu düştükçe *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örneklerde pH gelişim hızı artmıştır.

Sanchez ve ark. (2001) tarafından yapılan bir araştırmada yeşil zeytin fermentasyonunda *Lactobacillus pentosus* kullanılmıştır. Bu araştırmada starter kültürün etkileri; daha hızlı bir fermentasyon işlemi üzerinde açıkça görülmüştür. Fermentasyonun 3. ve 5. günde *L.pentosus* kültürleri ilave edildiğinde ani bir pH düşüşü meydana gelmiş ve kontrol pH eğrisinde önemli bir farklılık dikkat çekmiştir.

#### **4.1.2. Asitlik Değerleri (%)**

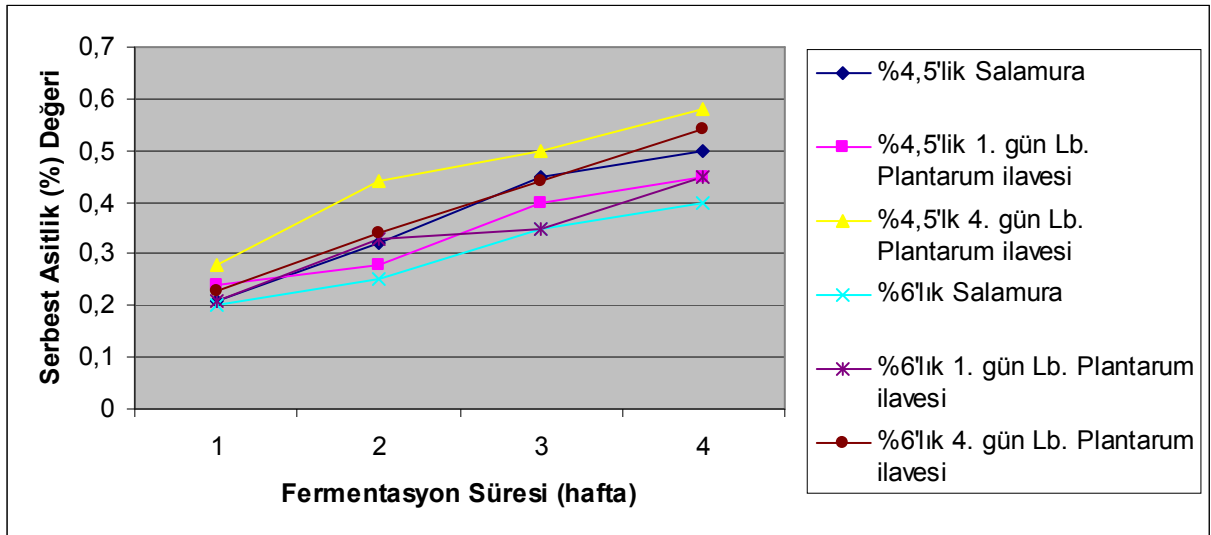
İncelenen salamura siyah zeytinlerin fermentasyon süresince tespit edilen serbest asitlik değerleri aşağıdaki Çizelge 7' verilmiştir.

Çizelge 7. Salamura zeytin örneklerinde fermantasyon süresince ölçülen (%) serbest asitlik değerleri

Fermantasyon süresi	%4,5'lik salamura	%4,5'lik salamura 1. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	%4,5'lik salamura 4. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	%6'lık Salamura	%6'lık salamura 1. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	%6'lık salamura 4. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi
1. hafta	0,21	0,24	0,28	0,2	0,21	0,23
2. hafta	0,32	0,28	0,44	0,25	0,33	0,34
3. hafta	0,45	0,4	0,5	0,35	0,35	0,44
4. hafta	0,5	0,45	0,58	0,4	0,45	0,54

Çizelge 7'deki değerler incelenecek olursa fermantasyon sonucunda serbest asitlik değeri yüksek olan örnekler pH değerlerinde olduğu gibi *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış olan örnekler olduğu görülmektedir. Özellikle bu artış fermantasyon başladıktan sonra 4. gün *Lb. plantarum* ilave edilmiş örneklerde daha belirgin olarak gözlenmektedir.

Şekil 3'de ise serbest asitlik değerlerinin fermantasyon boyunca değişim eğrileri verilmiştir. Bu grafik az önceki savları destekleyici niteliktedir.



Şekil 3. Siyah zeytin örneklerinde (%) serbest asitlik değerlerinin fermantasyon süresince değişimi

Şekil 3’de görüldüğü üzere fermantasyonun 4. günü *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örneklerde serbest asitlik değeri diğer örneklere göre daha yüksektir. Örnekler arasındaki farkın önemliliğinin araştırılması için varyans analiz yöntemi uygulanmıştır. Varyans analiz sonuçları Çizelge 8’de verilmiştir.

Çizelge 8. Salamura tipi siyah zeytinlerde serbest asitlik (%) oranlarına ait varyans analiz sonuçları

	SD	KT	K.O	F	P
Fermantasyon zamanı	3	0,717028	0,239009	608,08 **	0,000000
Tuz oranı	1	0,041089	0,041089	104,54 **	0,000000
Mikroorganizma ilavesi	2	0,096133	0,048067	122,29 **	0,000000
Fermantasyon Zamanı X Tuz oranı	3	0,003478	0,001159	2,95 *	0,041991
Fermantasyon Zamanı X Mikroorganizma ilavesi	6	0,012422	0,002070	5,27 **	0,000309
Tuz oranı X Mikroorganizma ilavesi	2	0,023411	0,011706	29,78 **	0,000000
Fermantasyon Zamanı X Tuz oranı X Mikroorganizma ilavesi	6	0,021122	0,003520	8,96 **	0,000001
Hata	48	0,018867	0,000393	-	-
Genel	72	0,933550	-	-	-

\* :  $P \leq 0,05$       \*\* :  $P \leq 0,01$

Çizelge 8’deki Varyans analiz sonuçlarına göre tuz oranı ve fermantasyon süresine ait interaksiyonun önemli olduğu ancak diğer interaksiyonlara göre daha az önemli olduğu görülmektedir ( $P \leq 0,05$ ).

Varyans analiz sonucuna göre örnekler arasındaki fark önemli bulunmuştur ( $P \leq 0,01$ ). Hangi örnekler arasında ve hangi durumlarda örnekler arasındaki farklılığın önemli olduğunu belirlemek amacıyla Duncan Çoklu Karşılaştırma testi’ne başvurulmuştur.

Ek 2’deki çoklu karşılaştırma testi incelendiği zaman çoğu intereksiyon arasındaki farkın önemli olduğu görülmektedir ( $P \leq 0,05$ ). Çoklu karşılaştırma testi sonuçlarını incelemek gerekirse; (1.1.2) %4,5 tuz konsantrasyonundaki ve 1. gün *Lb. plantarum* ilave edilmiş siyah zeytin örneğinde fermantasyonun 1. haftasındaki serbest asitlik durumu ile (1.1.1) %4,5 tuz konsantrasyonundaki kontrol salamurasının fermantasyonun 1. haftasındaki serbest asitlik durumu arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Yani fermantasyonun ilk haftası %4,5’lik tuz konsantrasyonuna sahip salamuralarda, 1. gün *Lb. plantarum* ilave edilmesiyle ilave edilmemesi arasında önemli bir fark oluşmamış, ilk hafta yaklaşık değerlerde serbest asitliğe ulaşmışlardır.

Bulunan bu değerlerin Sanchez ve ark. (2000) tarafından bulunan değerlerle benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Sanchez ve ark. (2000) tarafından yapılan bu araştırmada; titre edilebilen asitlikler pH eğrilerini takip etmiştir ve pH değerleri 7'nin üzerinde olduğunda ilk günlerde asiditeye rastlanmamıştır. Fakat kontrollerdeki asidite *lactobacilli* sayıca artana kadar dengeli biçimde devam ettiği halde 5–9. günlerde tüm aşılı kaplardaki asiditede keskin bir artış gözlenmiştir. pH ve asidite parametrelerinin gelişmesi; aşılama uygulandığında daha hızlı bir fermantasyon sağlamıştır. Fermantasyon başlangıcında asidite; kontrollerde, her aşılama sisteminkinden daha yavaş biçimde artmıştır.

Castro ve ark. (2002) tarafından yapılan farklı bir araştırmada ise, *Enterococcus casseliflavus* ve *Lactobacillus pentosus* bakterileri kullanılmıştır. Her iki aşılamanın aynı anda uygulanması ile karşılaştırıldığında, *enterococci* sonrasındaki 24 saatte uygulanan *lactobacilli* aşılmasının daha iyi bir sonuç verdiği gorlmuştur. Bu araştırmada, üzerinde çalıştığım araştırmadan farklı olarak, aşılama uygulansın veya uygulanmasın; tüm fermenterler, fermentasyonun 21. gününde aynı titre edilebilen asitliklere ve aynı pH'a ulaşmıştır. Bu da, farklılıklara yalnızca ilk 3 hafta rastlandığını göstermiştir.

Özellikle fermantasyonun ilk günleri boyunca, LAB olmayan bakterilerin remelerinin neden olduğu bozulma riskinin en yüksek olduğunun altı çizilmesi gerekir. Öte yandan, zeytin ve ortam salamurası arasında dengeye ulaşmadaki gecikme nedeniyle, pH ve asiditedeki ilk farklılıklar daha önemlidir (Sanchez ve ark. 2000). Ve ilk günlerden itibaren yapılan bu araştırmada asidite değerleri kontrol salamuralarındaki değerlere göre daha yüksek rakamlara ulaşmıştır.

İspanyol usulü yeşil zeytin fermantasyonu için kullanılan saf *lactobacilli* kültürlerinden elde edilen sonuçlarda da kanıtlanmış (Alcala ve ark. 1964) aşılı ve kontrol salamuralar arasında asidite ve pH farklılıkları saptanabilmiştir.

#### **4.1.3. Tuz Değerleri (%)**

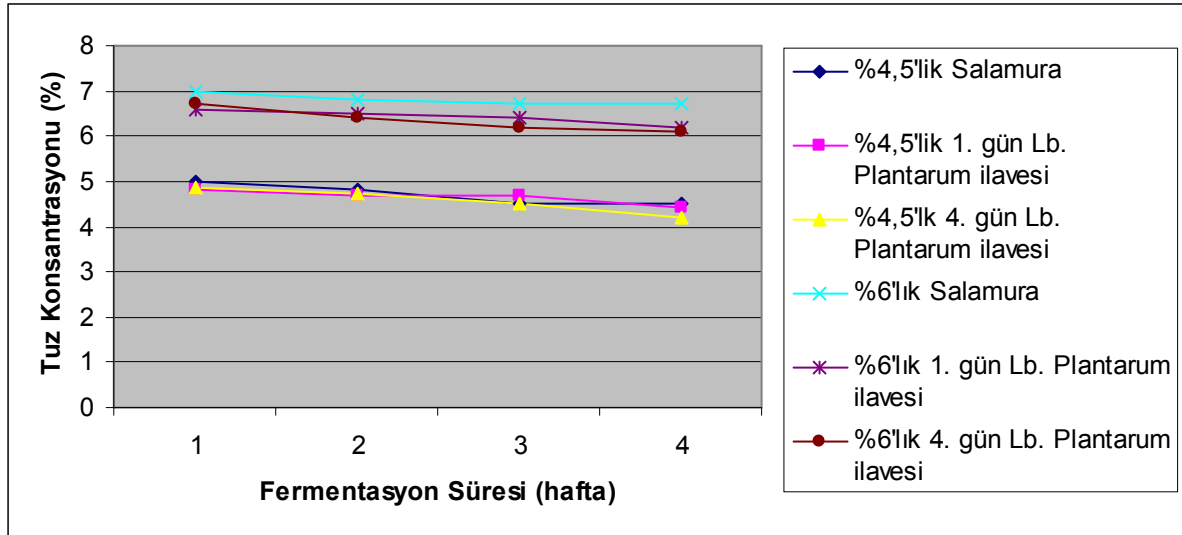
İncelenen salamura siyah zeytinlerin fermantasyon süresince belirlenen tuz oranı değerleri izelge 9'da verilmiştir.

Çizelge 9. Salamura siyah zeytinlerde fermantasyon süresince tespit edilen tuz oranları (%)

Örnekler	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
%4,5'lik Salamura	5	4,8	4,5	4,5
%4,5'lik 1. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	4,8	4,7	4,7	4,4
%4,5'lik 4. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	4,85	4,71	4,5	4,2
%6'lık Salamura	7	6,8	6,7	6,7
%6'lık 1. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	6,6	6,5	6,4	6,2
%6'lık 4. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	6,7	6,4	6,2	6,1

Çizelge 9'daki tuz oranları fermantasyon süresince fazla bir değişim göstermemiştir. Bunun en önemli nedeni zeytinlerin acılık giderilmesi işleminin alkali ile değil de tuzla yapılmış olmasıdır. Bu sebeple fermantasyon süresince tuz oranları istenilen düzeyde sabitlenmiş ve tuz oranını dengelemek amacıyla dışarıdan tuz ilavesine ihtiyaç duyulmamıştır.

Şekil 4'te salamura siyah zeytinlerdeki tuz oranları gösterilmiştir. Fermantasyon boyunca tuz oranındaki denge buradan da görülmektedir.



Şekil 4. Fermantasyon süresince salamura siyah zeytinlerde belirlenen tuz oranları değerleri

Tuz oranının değişmesi beklenen bir olgu değildir. Tuz oranlarının tespiti yalnızca farklı tuz oranlarında örnekler üzerinde araştırma yapıldığından dolayı bu tuz oranlarını korumak



amacıyla yapılmıştır. Azalan tuz konsantrasyonunu yerine koymak analiz sonuçlarının doğrulu açısından mutlak önem taşımaktadır.

Örnekler arasındaki farkın önemliliğinin araştırılması için varyans analiz yöntemi uygulanmıştır. Varyans analiz sonuçları Çizelge 10'da verilmiştir.

Çizelge 10. Salamura siyah zeytin örneklerinde tuz oranlarına ait varyans analiz sonuçları

	SD	KT	K.O	F	P
Fermantasyon zamanı	3	1,963	0,654	33,4	** 0,000000
Tuz oranı	1	62,944	62,944	3211,4	** 0,000000
Mikroorganizma ilavesi	2	1,160	0,580	29,6	** 0,000000
Fermantasyon Zamanı X Tuz oranı	X 3	0,062	0,021	1,1	0,376507
Fermantasyon Zamanı X Mikroorganizma ilavesi	X 6	0,367	0,061	3,1	* 0,011622
Tuz oranı X Mikroorganizma ilavesi	X 2	0,487	0,243	12,4	** 0,000045
Fermantasyon Zamanı X Tuz oranı X Mikroorganizma ilavesi	X X 6	0,090	0,015	0,8	0,602728
Hata	48	0,941	0,020	-	-
Genel	72	68,013	-	-	-

\* :  $P \leq 0,05$       \*\* :  $P \leq 0,01$

Varyans analiz tablosunda görüldüğü üzere tuz oranı ve fermantasyon süresi arasındaki interaksiyon önemsiz çıkmıştır ( $P > 0,05$ ). Bu sonuç beklenen bir sonuçtur ve grafiği doğrular niteliktedir. Aynı şekilde Fermantasyon Zamanı X Tuz oranı X Mikroorganizma ilavesi interaksiyonu için de aynı durum geçerlidir ( $P > 0,05$ ). Bu durumların dışındaki tüm interaksiyon koşulları için tuz oranları arasındaki farklılıklar önemlidir ( $P < 0,05$ ).

Varyans analizi sonucunda önemli çıkan kriterler için önemlilik derecesinin belirlenmesi açısından Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır.

Duncan Çoklu Karşılaştırmasını bir örnekle açıklayacak olursak; x ekseninde (4.2.2) %6 tuz konsantrasyonunda ve 1. gün *Lb. plantarum* ilave edilen örneğin fermantasyonunun 4. haftasındaki durumu ile (2.2.1) %6 tuz konsantrasyonunda kontrol salamurasının fermantasyonunun 2. haftadaki durumu arasında önemli bir farklılık bulunmamaktadır. Yani bu örnekte tuz konsantrasyonu aynı olduğu zaman *Lb. plantarum* ilavesi yapılıncaya tuz oranındaki düşüş ilave edilmeyene göre yarı yarıya düşmektedir. Bunun yanı sıra tuz oranları farklı olduğu durumlarda mikroorganizma ilave edilme durumu ve kaçınıcı gün ilave edildiği konuları numuneler arasında çok büyük önemli farklar oluşturmaktadır.

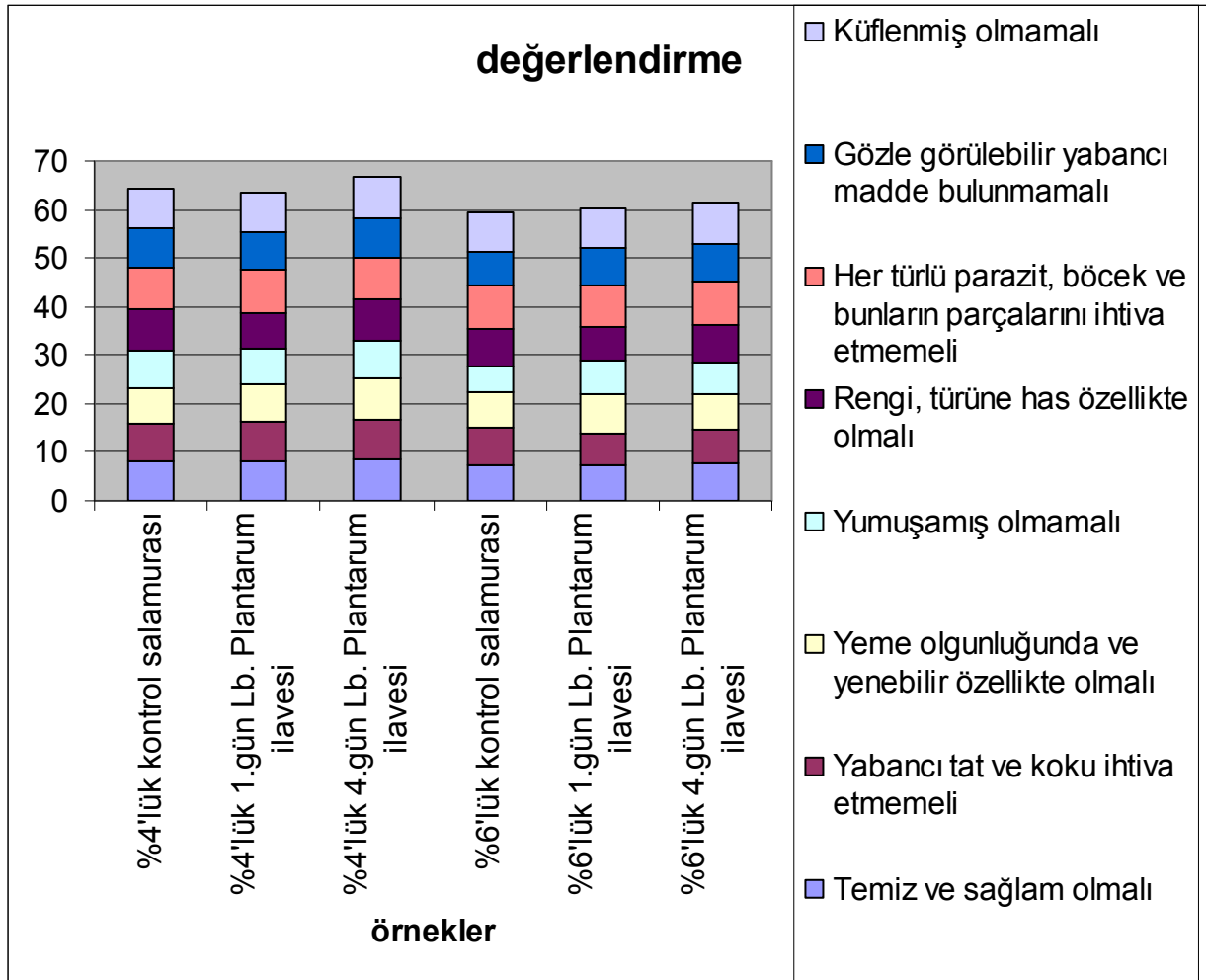
Bulunan bu değerlerin Sanchez ve ark. (2002) tarafından bulunan değerlerle benzerlik gsterdiği belirlenmiştir.

#### 4.2. Duyusal Analiz Sonuçları

Duyusal analizler 8 farklı tadımcıya denetilerek gerçekleştirilmiş ve ortalama değerleri alınmıştır. Duyusal analiz sonuçları izelge 11’de verilmiştir.

Çizelge 11. Salamura siyah zeytinlere ait duyusal analiz sonuçları

ÖZELLİKLER	%4,5’lik kontrol salamurası	%4,5’lik 1-gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	%4,5’lik 4-gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	%6’lük kontrol salamurası	%6’lük 1-gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	%6’lük 4-gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi
Temiz ve sağlam olmalı	8	8	8,5	7,5	7,17	7,68
Yabancı tat ve koku ihtiva etmemeli	7,83	8,17	8,33	7,5	6,83	7
Yeme olgunluğunda ve yenebilir özellikte olmalı	7,5	7,83	8,5	7,33	7,83	7,33
Yumuşamış olmamalı	7,67	7,33	7,83	5,33	7	6,5
Rengi, türüne has özellikte olmalı	8,33	7,33	8,17	7,67	7,17	7,67
Her türlü parazit, böcek ve bunların parçalarını ihtiva etmemeli	8,83	8,83	8,83	8,83	8,5	8,83
Gözle görülebilir yabancı madde bulunmamalı	7,83	7,67	8,17	7,17	7,73	8
Küflenmiş olmamalı	8,33	8,33	8,33	8	8,17	8,33
<b>ORTALAMA DUYUSAL BEğENİ DEğERLENDİRMESİ</b>	<b>8,04</b>	<b>7,93</b>	<b>8,33</b>	<b>7,41</b>	<b>7,55</b>	<b>7,66</b>



Şekil 5. Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre salamura siyah zeytin örneklerine ait beğeni grafiği

Şekil 5'te de görüldüğü üzere en çok beğeni alan siyah zeytin örneği %4,5'lik tuz konsantrasyonuyla hazırlanan ve 4. gün *Lb. plantarum* ilave edilmiş olan siyah zeytin örneğidir. Analiz sonuçlarına bakacak olursak ortalama değerleri en yüksek olan (8,33) örnek de aynı örnektir. Hemen arkasında ikinci duysal olarak beğeni toplayan örnek yine %4,5'lik salamura da hazırlanmış ve 1. gün *Lb. plantarum* ilave edilmiş siyah zeytin örneğidir. Görüldüğü üzere *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örnekler duyusal olarak beğeni toplamaktadır.

Genel bir karşılaştırma yapacak olursak %6'lık tuz konsantrasyonundaki kontrol salamurası ise en az beğeni toplayan örnektir. Ancak aynı örneğe yabancı tat ve koku ihtiva etmemesi koşulunda bakıldığında, aynı konsantrasyondaki 1. gün *Lb. plantarum* ilave edilen örneğe göre daha iyi beğeni değerlerinde olduğu gözlenmektedir. Bu farklı sonuçları detaylı inceleyebilmek açısından istatistiksel analizlere başvurulmuştur.

Duyusal analiz sonuçları arasındaki fark minitab programında istatistiksel olarak Kruskal walls istatistik yöntemiyle incelenmiştir. Çizelge 12’de tuz konsantrasyonunun duyuşal değere göre etkisine ait Kruskal walls Testi Sonuçları verilmiştir. Çizelge 13’te ise *Lb. plantarum* ilave edilme durumunun duyuşal değere etkisinin incelendiği Kruskal walls Testi Sonuçları verilmiştir.

Çizelge 12. Tuz konsantrasyonunun duyuşal değere etkisine ait Kruskal walls Testi Sonuçları

Sağlamlık üzerine: H: 10,96 , P: 0,01	P<0,05 olduğundan önemlidir.
Tat üzerine etkisi: H: 12,79 , P: 0,000..	P<0,05 olduğundan önemlidir.
Olgunluk üzerine etkisi: H: 3,77 , P: 0,052	P>0,05 olduğundan önemsizdir.
Yumuşaklık üzerine etkisi: H: 10,96 , P: 0,001	P<0,05 olduğundan önemlidir.
Renk üzerine etkisi: H: 12,79 , P: 0,000...	P<0,05 olduğundan önemlidir.
Parazit varlığı üzerine etkisi: H: 3,95 , P:0,047	P<0,05 olduğundan önemlidir.
Yabancı madde üzerine etkisi: H: 1,53 , P: 0,216	P>0,05 olduğundan önemsizdir.
Küf oluşumuna etkisi: H: 4,49 , P: 0,034	P<0,05 olduğundan önemlidir.

Çizelge 13. *Lb. plantarum* ilave edilme durumunun duyuşal değere etkisine ait Kruskal walls Testi Sonuçları

Sağlamlık üzerine: H: 2,27, P: 0,322	P>0,05 olduğundan önemsizdir.
Tat üzerine etkisi: H: 10,21, P: 0,032	P<0,05 olduğundan önemlidir.
Olgunluk üzerine etkisi: H: 4,61, P: 0,1	P>0,05 olduğundan önemsizdir.
Yumuşaklık üzerine etkisi: H: 1,13, P: 0,568	P>0,05 olduğundan önemsizdir.
Renk üzerine etkisi: H: 2,60, P: 0,273	P>0,05 olduğundan önemsizdir.
Parazit varlığı üzerine etkisi: H: 2,08, P:0,354	P>0,05 olduğundan önemsizdir.
Yabancı madde üzerine etkisi: H: 10,089, P: 0,004	P<0,05 olduğundan önemlidir.
Küf oluşumuna etkisi: H: 2,39, P: 0,302	P>0,05 olduğundan önemsizdir.

Çizelge 12 ve Çizelge 13'te belirtilen analiz sonuçlarına göre tuz oranının duyuşal değerlere birebir etkisi olduğu anlaşılmaktadır. Lezzet, görünüş, tat gibi önemli kriterleri etkileyen önemli bir unsur, içerdiği % tuz konsantrasyonudur. Salamuranın içerisine mikroorganizma ilave edilmesi istatistiksel olarak incelendiğinde istenilen tadın oluşumuna önemli etkisi olduğu gözlenmektedir. Yapılan duyuşal değerlendirmeler *Lb. plantarum* ilave edilen ve edilmeyen uygulamalar arasında önemli hiçbir farklılığın olmadığını göstermiştir. Yani; başlangıçta oluşun farklılıklara rağmen, aşıllı veya aşısız işlenen son ürünler, tatları açısından birbirlerinden farklı değillerdir. Hatta %4,5'lik tuz konsantrasyonunda *Lb. plantarum* ilave edilen uygulamada diğer uygulamalara göre az da olsa daha çok beğenildiği analiz eden jüri tarafından değerlendirilmiştir. Benzer sonuçlar Castro ve ark. (2002) tarafından yapılan starter kültür ilave edilerek geręekleştirilen fermantasyon sonuçlarında da gözlenmiş, kontrol salamuralarıyla aralarında duyuşal olarak önemli bir farkın olmadığı tespit edilmiştir.

### 4.3. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

#### 4.3.1. Laktik Asit Bakteri Sayıları

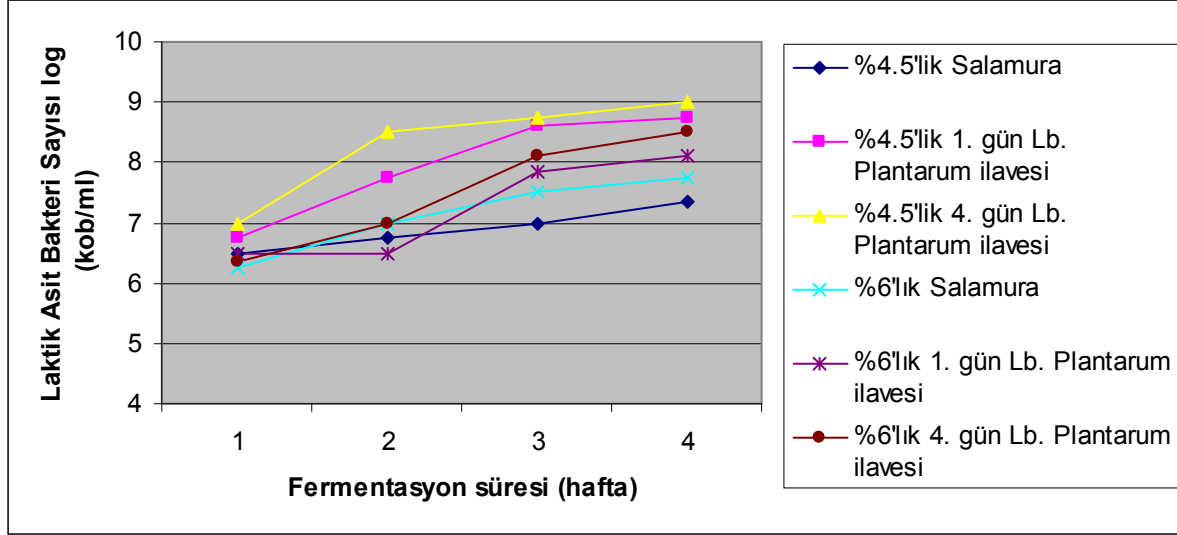
İncelenen salamura siyah zeytinlerin fermantasyon süresince belirlenen laktik asit bakteri sayıları Çizelge 14'te verilmiştir.

Çizelge 14. Fermantasyon süresince siyah zeytin örneklerinde ölçülen laktik asit bakteri sayıları (log kob/ml salamura)

Örnekler	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
%4,5'lik Salamura	6,5	6,75	7	7,35
%4,5'lik 1. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	6,75	7,75	8,6	8,75
%4,5'lik 4. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	7	8,5	8,75	9
%6'lık Salamura	6,25	7	7,5	7,75
%6'lık 1. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	6,5	6,5	7,84	8,1
%6'lık 4. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	6,37	7	8,1	8,5

Bu değerler Şekil 6'da daha açık bir şekilde ifade edilmiştir. Grafik incelenecek olursa *Lb. plantarum* ilavesi yapılmamış kontrol salamuralarının her ikisinde de (%4,5 ve %6 tuz konsantrasyonu) laktik asit bakterileri sayısında fermantasyon süresince tüm evrelerde bir

artış gözlenmektedir. Buna rağmen elde edilen değerlerin *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örneklerle göre daha düşük değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Fermentasyon süresi boyunca her örnekte laktik asit bakterilerinde artış gözlenirken bu artış tuz konsantrasyonu arttıkça (%6) azalmıştır. En yüksek laktik asit bakteri popülasyonuna %4,5'lik tuz konsantrasyonunda ve 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılan örnekte ulaşılmıştır.



Şekil 6. Laktik asit bakterilerinin fermentasyon süresince gelişimi

İstatistiksel olarak laktik asit bakterilerindeki değişimin örnekler arasındaki ilişkisini ve örnekler arasındaki farkın önemliliğinin araştırılması için varyans analiz yöntemi uygulanmıştır. Varyans analiz sonuçları çizelge 15'te verilmiştir.

Çizelge 15. Laktik Asit Bakteri gelişimine ait varyans analiz sonuçları

	SD	K.T.	K.O.	F	P
Fermentasyon zamanı	3	30,780	10,260	400,6 **	0,000000
Tuz oranı	1	3,494	3,494	136,4 **	0,000000
Mikroorganizma ilavesi	2	9,815	4,907	191,6 **	0,000000
Fermentasyon Zamanı X Tuz oranı	3	0,963	0,321	12,5 **	0,000004
Fermentasyon zamanı X Mikroorganizma ilavesi	6	2,283	0,381	14,9 **	0,000000
Tuz oranı X Mikroorganizma ilavesi	2	4,022	2,011	78,5 **	0,000000
Fermentasyon Zamanı X Tuz oranı X Mikroorganizma ilavesi	6	1,245	0,207	8,1 **	0,000005
Hata	48	1,229	0,026	-	-
Genel	71	76,8588	-	-	-

\* : P≤ 0,05      \*\* : P≤ 0,01

Varyans analiz sonuçları incelendiğinde tuz oranının ve *Lb. plantarum* ilavesinin laktik asit bakterilerinin gelişimini önemli ölçüde etkilediği görülmektedir ( $P<0,05$ ). Ayrıca bu değerlerin interaksiyonları da  $P\leq 0,01$  değerinde önemli çıkmaktadır.

Hangi örnekler arasında ve hangi durumlardaki farklılığın önemli olduğunu belirlemek amacıyla Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi'ne başvurulmuştur. Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Ek 4'te verilmiştir. Bu sonuçlara göre aynı koşullardaki salamura için *Lb. plantarum* ilavesi yapıldığı takdirde salamuradaki gelişen laktik asit bakteri sayısı önemli ölçüde değişmektedir. Laktik asit bakteri sayıları *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış salamura tipi siyah zeytin örneklerinde doğal sürece (kontrol salamurası) göre daha yüksek değerlerde çıkmıştır.

Son popülasyon yoğunluğu aynı olmasına rağmen, farklı uygulamaların, laktik asit bakterileri üreme hızını etkilediği Panagou ve Katsaboxakis (2006) tarafından yapılan bir araştırmada da tespit edilmiştir. Aynı araştırmada laktik asit bakterileri ve mayalar aşamalı olarak artmış ve tüm uygulamalarda fermantasyon boyunca mikro floranın baskın üyeleri olduğu açıklanmıştır.

Tassou ve ark. (2002) tarafından yapılan başka bir araştırmada ise farklı tuz konsantrasyon değerlerinde laktik asit bakterilerinin gelişimi incelenmiştir. Bu araştırmada; farklı NaCl seviyeleri ( %4, %6 ve %8) içeren salamuralardan 8%'lik NaCl konsantrasyonundaki örneklerde laktik asit bakterilerinin çoğalması etkilenmiş ve daha düşük serbest asitlik ve daha yüksek pH değerine sahip son ürün üreten fermente mayaların aktivitesini artmasına sebep olmuştur.

Castro ve ark. (2002) tarafından yapılan başka bir araştırmada ise; aşılama yapıldığında aynı laktik asit bakteri popülasyonuna ulaşılması için, kontrollere 1 hafta daha zaman gerekli olmuştur.

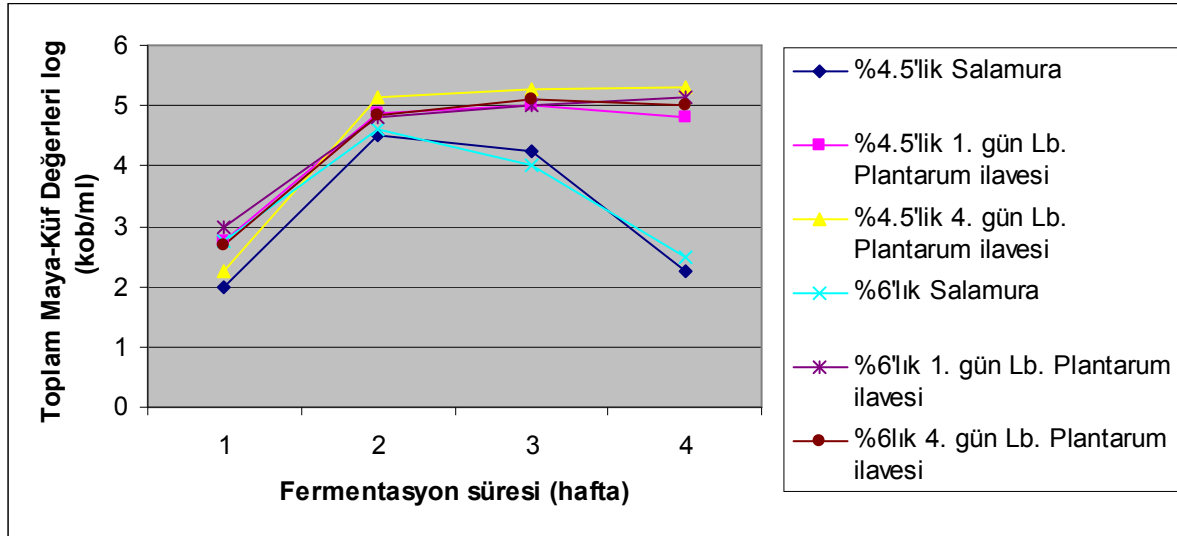
#### **4.3.2. Maya – Küf Sayıları**

Denemeye alınan salamura siyah zeytin örneklerine ait toplam maya – küf sayıları Çizelge 16'da verilmiştir.

Çizelge 16: Salamura siyah zeytin örneklerinin fermantasyon boyunca toplam maya – küf sayıları (log kob/ml salamura)

Örnekler	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
%4,5'lik Salamura	2	4,5	4,25	2,25
%4,5'lik 1. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	2,75	4,87	5	4,8
%4,5'lik 4. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	2,25	5,15	5,28	5,32
%6'lık Salamura	2,75	4,6	4	2,5
%6'lık 1. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	3	4,8	5	5,15
%6'lık 4. gün <i>Lb. plantarum</i> ilavesi	2,68	4,85	5,1	5

Değerler incelenecek olursa Şekil 7’de de görüldüğü üzere ilk 2 hafta maya küf değerlerinde 2–3 log kadar bir artış olmuştur. Daha sonra *Lb. plantarum* ilave edilen örneklerde maya populasyonu sabitlenmiştir. Ancak kontrol salamuralarının her ikisinde de başlangıç maya populasyonuna ulaşacak ölçüde bir düşüş gözlenmiştir. En yüksek değerlere %4,5’lik tuz konsantrasyonunda 4. gün *Lb. plantarum* ilave edilen salamura örneğinde ulaşılmıştır.



Şekil 7. Fermantasyon süresi boyunca salamura siyah zeytin örneklerinde maya – küf gelişimi

Örnekler arasındaki farkın önemliliğinin tespiti için varyans analizi uygulanmıştır. Salamura siyah zeytin örneklerindeki varyans analiz sonuçları Çizelge 17’de verilmiştir.



Çizelge 17. Salamura siyah zeytin örneklerinin maya – küf gelişimine ait varyans analiz sonuçları

	SD	K.T	K.O	F	P
Fermantasyon zamanı	3	58,910	19,637	329,89**	0,000000
Tuz oranı	1	0,128	0,128	2,14	0,149818
Mikroorganizma İlavesi	2	18,718	9,359	157,23**	0,000000
Fermantasyon zamanı X Tuz oranı	3	1,063	0,354	5,95 **	0,001551
Fermantasyon Zamanı X Mikroorganizma ilavesi	6	15,729	2,621	44,04 **	0,000000
Tuz oranı X Mikroorganizma İlavesi	2	0,300	0,150	2,52	0,090990
Fermantasyon Zamanı X Tuz oranı X Mikroorganizma ilavesi	6	0,455	0,076	1,27	0,287049
Hata	48	2,857	0,060	-	-
Genel	71	20710	-	-	-

\* :  $P \leq 0,05$       \*\* :  $P \leq 0,01$

Varyans analiz sonucundan da görüldüğü üzere fermantasyon süresi, ve mikroorganizma ilavesi maya popülasyonu üzerinde önemli etkilere sahiptir ( $P \leq 0,01$ ). Tuz konsantrasyonu tek başına maya gelişimine etki etmezken fermantasyon süresiyle birlikte maya gelişimine önemli etkileri olmuştur ( $P \leq 0,01$ ). Bu farkın derecesinin belirlenmesi açısından Duncan Çoklu Karşılaştırma Test'ine başvurulmuştur. Salamura siyah zeytin örneklerine ait Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Ek 5'de verilmiştir.

Ek 5 incelenecek olursa *Lb. plantarum* ilavesinin maya gelişimi üzerine etkisi açıkça görülmektedir. Burada en belirgin durum ise kontrol salamuralarının başlangıç maya popülasyonu ve fermantasyonun son haftasındaki maya popülasyonu arasında önemli bir farkın olmayışdır. *Lb. plantarum* ilavesi maya çoğalmasını hızlandırmış, ancak belirli bir noktadan sonra sabit değerlerde kalmıştır. Laktik asit bakterileri sayısından yaklaşık 4 log değeri altında çoğalma göstermiştir ve laktik asit bakterileri dominantlığını bu durumda korumuştur. Beklenen sonuçlarda bunlardır.

Panagou ve Katsaboxakis (2006) tarafından yapılan araştırmada; farklı başlangıç koşullarında salamuralar denenmiştir. Bu farklı koşullar dışarıdan asit ilavesi ve bir önceki salamuranın kullanılmasıyla oluşturulmuştur. Bu araştırma sonuçlarına göre; tüm işlemlerde mayalar, laktik asit bakterileri ile birlikte bulunmuş ancak, sayıları yaklaşık 3–4,5 log kadar daha düşük olmuştur. Üremelerinin hiçbir uygulamadan etkilenmediği ve her uygulamada aynı gelişim

süreci gösterdiği görülmüştür. İlk hafta boyunca laktik asit bakterileri ile benzer popülasyonlarda üremiş ve daha sonra, sayıları; fermantasyonun bitimine kadar aynı değerde sabit kalmıştır (2,8–4,2 log kob/ml). Zeytin fermantasyonundaki maya varlığı, uygulama için herhangi bir risk teşkil etmez, hatta tam tersi olarak, ürün lezzeti açısından varlıkları avantajlı olabilir (Fernandez ve ark. 1995).

Tassou ve ark. (2002) tarafından yapılan bir diğer araştırmada, fermantasyon boyunca mayaların belirgin olarak var olduğu tespit edilmiştir. Maya sayıları, fermantasyon işlemi başlangıcında hızlı bir biçimde 2-3 log birim kadar artış göstermiş, daha sonra değişmeden sabit kalmıştır. Ortam sıcaklığındaki 8%'lik NaCl konsantrasyonlu salamurada fermente edilen doğal siyah zeytinlerde dominant grupların mayalar olduğu gözlenmiştir ve bu tezle örtüşmemektedir. Bu durumun yüksek tuz oranından kaynaklandığı düşünülebilir. Zira bu araştırmada %4,5 ve %6 tuz konsantrasyonundan denenirken Tassou ve ark. (2002) tarafından yapılan bir araştırmada %8 tuz konsantrasyonu söz edilmektedir. Yüksek tuz konsantrasyonlarında mayalar çok rahat gelişebilirken laktik asit bakterileri arzu edilen ölçüde gelişip dominant hale gelemezler. Bu tezin doğruluğunu açıklayan bir başka araştırmada da Salamuradaki %6-8'lik tuz içeriğinin aşamalı düşüşü, laktik asit bakterilerinin mayalar üzerinde dominant olmasını sağlamıştır (Özay ve Borcaklı 1996).

Ayrıca bu sonuçlar arasındaki fark elbette bu araştırmada *Lb. plantarum* ilave edilmesinden dolayı da kaynaklanıyor olabilir. *Lb. plantarum* ortamı laktik asit bakterilerinin gelişimine uygun hale getirerek gelişimlerini hızlandırmıştır. Bu da maya gelişimini sınırlandırmıştır.

Sanchez ve ark. (2001) tarafından yapılan araştırmada kültürler aşısız kontrollerden kullanıldığında canlı *lactobacilli* popülasyonu her zaman önemli ölçüde daha fazla olmuştur ve bu farklılık, aşıli fermenterlerde kontrol gruplarındakinden daha hızlı bir biçimde aktifliğini kaybeden *Enterobacteriaceae* üzerinde önemli bir etkiye sahip olmuştur.

## 5.SONUÇ VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Bu araştırmada siyah salamura zeytin örneklerinde kontrol salamurası ile içerisinde fermentasyonun 1. ve 4. günü *Lb. plantarum* ilave edilmiş salamuralar arasında fermentasyon süresince kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özelliklerinde meydana gelen farklılıklar gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre;

Kimyasal analiz sonuçlarında tespit edilen değerlere göre; pH, serbest asitlik ve tuz oranlarındaki değişiklikler incelenmiştir. Fermentasyon süresi boyunca tuz oranlarında önemli bir değişiklik bulunmamıştır ancak pH ve serbest asitlik değerlerinde *Lb. plantarum* ilavesinin salamura üzerinde önemli farklılıklara yol açtığı gözlenmiştir. Kontrol salamuralarında her iki tuz konsantrasyonunda da pH değerleri *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış zeytin örneklerine göre yüksek değerlerde çıkmıştır. *Lb. plantarum* ilave edilmiş siyah zeytin örneklerinde pH düşüşü daha hızlıdır ve daha düşük değerlere ulaşmıştır. En düşük pH değeri %4,5'lik tuz konsantrasyonunda 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış zeytin örneğine aitken, en yüksek pH değeri ise %6'lık tuz konsantrasyonunda bulunan kontrol salamurasındaki zeytin örneklerine aittir. Yine serbest asitlik değerlerindeki artış da benzer ölçüde farklılık göstermektedir. Serbest asitlik değerleri en yüksek olan örnek %4,5'lik tuz konsantrasyonunda 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örnektir. Ardından gelen en yüksek değer ise %6'lık tuz konsantrasyonunda 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örnektir. Serbest asitlik değeri en düşük olan örnek ise yine pH da olduğu gibi %6'lık tuz konsantrasyonundaki kontrol salamurasına ait örnektir. Bu durum gösteriyor ki *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış olan örneklerde pH düşüşü ve bağlantılı olarak serbest asitlik değerlerinin yüksek olması *Lb. plantarum* ilavesiyle çok büyük farklılıklar göstermiştir. Yapılan istatistiksel analizlerde; *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örneklerle, kontrol salamura örneklerinde, serbest asitlik ve pH değerleri arasındaki fark önemli bulunurken, tuz konsantrasyonunun fermentasyon boyunca değişimi üzerindeki fark açısından belirlenen değerler önemsiz bulunmuştur.

Duysal analiz sonuçlarında tespit edilen değerlere göre; örneklerdeki tuz oranlarının farklı olması büyük önem taşımaktadır. *Lb. plantarum* ilavesi ise olgunluk ve yenilebilirlik açısından önemli bulunmuştur. Örnekler duysal anlamada karşılaştırılacak olursa en fazla beğeni alan örnek 8,33 puanla %4,5'lik tuz konsantrasyonunda 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi

yapılan örnektir. Ardından gelen örnek ise 8,04 puanla %4,5'lik tuz konsantrasyonundaki kontrol salamurasıyla, 7,93 puanla %4,5'lik 1. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış salamura örneğidir. Buradan anlaşılıyor ki %4,5'lik tuz konsantrasyonuna ait örnekler %6'lık salamuraya göre daha çok beğeni toplamıştır. En düşük beğeni alan örnek ise 7,41 puanla %6'lık kontrol salamurasına ait örnektir. Duyusal değerlere ait istatistiksel analizlere göre tuz konsantrasyonu arasındaki fark önemli bulunurken, *Lb. plantarum* ilave edilme durumunda yenilebilir olgunlukta olma özelliği açısından önemli farklar görülürken diğer yapısal kriterler açısından aralarındaki fark önemsiz bulunmuştur. Yani doğal salamura zeytinle starter kültür ilave edilen salamura zeytinler arasında lezzet açısından önemli bir fark bulunmamıştır.

Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre; laktik asit bakteri sayılarıyla toplam maya-küf sayıları arasındaki farklar incelenmiştir. Laktik asit bakteri sayısı fermentasyon süresince en büyük ve hızlı artış %4,5'lik tuz konsantrasyonunda 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örnekte gözlenmiştir. İlk 2 hafta boyunca büyük oranda bir artış son haftadaysa sabit sayıda kaldıkları gözlenmiştir. Ancak buna rağmen laktik asit bakteri sayısı en yüksek olan değerlere ulaşmıştır. Ardından %4,5'lik tuz konsantrasyonunda ve 1. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış siyah zeytin örneği en yüksek değerlere ulaşmıştır. Laktik asit bakteri sayısı en düşük değerde olan salamura örneği ise %4,5'lik kontrol salamurasına aittir. %6'lık tuz konsantrasyonundaki değerler genelde %4,5'lik tuz konsantrasyonundaki değerlere göre daha düşüktür. Bu tuz değerlerinde de genelde *Lb. plantarum* ilave edilen örnekler kontrol salamuralarına göre daha yüksek değerlerde laktik asit bakteri sayılarına ulaşmıştır. Bu durumda en iyi laktik asit bakteri gelişimi gösteren değerlerin %4,5'lik tuz konsantrasyonunda ve *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örneklerde görüldüğü gözlenmektedir. Maya – küf değerlerinde ise starter kültür ilave edilen salamura örneklerinde birbirine çok yakın değerler tespit edilirken kontrol salamuralarından daha yüksek değerlere ulaşılmıştır. İlk 2 hafta tüm örneklerde 2-3 log değerinde bir artış gözlenmiştir. Kontrol salamuraları daha sonra yaklaşık aynı oranda maya-küf değerlerinde düşüş gözlenirken starter kültür ilavesi yapılan örneklerde sabit değerlerde kalmıştır. İstatistiksel olarak yapılan analiz sonuçlarında ise laktik asit bakteri sayılarındaki artışta örnekler arasındaki interaksiyonlardaki fark genelde önemli bulunmuştur, maya-küf değerleri arasındaki fark ise hemen hemen tamamında önemli olarak tespit edilmiştir.

## 5.2. Öneriler

Araştırmada farklı tuz konsantrasyonlarında ve starter kültür olarak farklı zamanlar *Lb. plantarum* ilave edilerek salamura tipi siyah zeytin örnekleri denenmiştir. Kimyasal, duyu ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre en iyi kalitede salamura siyah zeytin örneği; %4,5'lik tuz konsantrasyonunda ve 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış siyah zeytinler olduğu tespit edilmiştir. En iyi koşullar genelde, hızlı şekilde yüksek asitlik gelişimi, düşük pH ve yüksek *laktobacillus* popülasyonu ile sağlanır. Yukarıda belirtilen başlangıç koşulları (%4,5'lik tuz konsantrasyonu ve 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi) seçildiğinde aşılama fermentasyonunun birinci evresi boyunca pH düşüşünü hızlandırır ve doğal (kendiliğinden gelişen: kontrol salamurası) sürece göre daha yüksek serbest asitliğe yol açar. Benzer sonuçlar (Sanchez ve ark. 2001) tarafından da tespit edilmiştir.

Hızlı bir şekilde pH düşüşü istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini sınırlandırırken, laktik asit bakterilerinin gelişimi için uygun ortam koşullarını sağlamaktadır. Bu şekilde istenilen ölçüde laktik asit bakterisi daha kısa sürede gelişmekte ve standart kalitede ürünler meydana gelmektedir. Bu koşullar en iyi biçimde %4,5'lik tuz konsantrasyonunda ve 4. gün *Lb. plantarum* ilavesi yapılmış örneklerde gözlenmiştir.

Sanayi boyutunda bu araştırmayı düşünecek olursak, seri ve standart kalitede siyah zeytin üretimi için saf kültür kullanılması çok pratik ve ekonomik bir yöntemdir. Kısa sürede fermentasyon tamamlanacağı için, üretim hızı artmakta, starter kültür kullanımıyla da her üründe aynı lezzeti yakalamak standart kaliteyi korumak mümkün olabilmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

Alcala BJM, Diez FMJ, Cancho FG (1960). Estudios sobre el aderezo de aceitunas verdes. XIX. Nuevas experiencias sobre el ‘‘alambrado’’. *Grasas Aceites*, 11: 256–260.

Alcala BJMR, Fernandez-Diez, MJ, Gonzalez- Cancho F (1969). Influence of pasteurization and lye treatment on the fermentation of Spanish-style Manzanilla olives. *Appl. Microbiol.* 17, 734–736.

Alvarez DME, Sanchez A, Lamarque AL (2003). Naturally black olives: comparison of three processes for fermenting cv. ‘Farga’ olives. *Olivae*, 97: 47–51.

Anonim 2008a. <http://www.zae.gov.tr>, (erişim tarihi: 15.08.08)

Anonim 2008b. <http://www.zeytinweb.com.tr>, (erişim tarihi: 10.07.08)

Anonim 2008c, <http://www.saglikveyasam.com>, (erişim tarihi: 22.08.08)

Anonim 1992. Sofralık Zeytin Standardı. TSE 774, ANKARA.

Arıcı M (2004). Fermantasyon Teknolojisi. T.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Ders Notu. Tekirdağ.

Balatsouras G (1985). Taxonomic and physiological characteristics of the facultative rod type lactic acid bacteria isolated from fermenting green and black olives. *Grasas Aceites*, 36:239–249.

Balatsouras GD (1990). Edible olive cultivars, chemical composition of fruit, harvesting, transportation, processing, sorting and packaging, styles of black olives, deterioration, quality standards, chemical analysis, nutritional and biological value of the end product. In: *Olio doliva e olive da tavola: tecnologia e qualita*, Istituto Sperimentale per la Elaiotecnica, Pescara, Italy.

Baltes J (1975). *Gewinnung und Verarbeitung von Nahrungsfetten*. Verlag Paul Parey in Berlin und Hamburg, 77–79.

Baumgart J (1993). *Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln*. Behr’s Verlag, Hamburg.

Bobillo M, Marshall VM (1991). Effect of salt and culture aeration on lactate and acetate production by *Lactobacillus plantarum*. *Food Microbiol.* 8:153–160.

Bobillo M, Marshall VM (1992). Effect of acidic pH and salt on acid end-products by *Lactobacillus plantarum* in aerated, glucose-limited continuous culture. *J. Appl. Bacteriol.*

Borcaklı M, Özay G (2000). Üç değişik sıcaklıkta havalandırılmalı siyah zeytin fermentasyonu, Türkiye Zeytincilik Sempozyumu, Bursa.

Brenes M (2004). Olive fermentation and processing: scientific and technological challenges. *Food Sci.* 69: FMS33–FMS34.

Buckenhüskes H (1993). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS Microbiol. Rev.* 12: 253–272.

Bülbül E (2008). *Her Yönüyle Zeytincilik*. 2. Baskı İnkılap Kitabevi, Yenibosna – İstanbul

Castro dA, Montano AFJ, Casado A, Sanchez H, Rejano L (2002). Utilization of *Enterococcus casseliflavus* and *Lactobacillus pentosus* as starter cultures for Spanish-style green olive fermentation. *Food Microbiology*, 19: 637–644.

Chorianopoulos NG, Boziaris IS, Stamatiou A, Nuchas GJE (2005). Microbial association and acidity development of unheated and pasteurised green table olives fermented using glucose or sucrose supplements at various levels. *Food Microbiol.* 22, 117–124.

Çetin B, Tipi T (2000). Dünya’da ve Türkiye’de Zeytinciliğin Ekonomik Yönden Bugünkü Durumu ve Olası Gelişmeler. Türkiye 1. Zeytincilik Sempozyumu, Bursa.

Delgado A, Britob D, Peresb C, Noe –Arroyoc F, Fernandez AG (2004). Bacteriocin production by *Lactobacillus pentosus* B96 can be expressed as a function of temperature and NaCl concentration,

Demirci M (2003). *Beslenme*, Rebel Yayıncılık, ISBN 975–97146–3–9.

DİE (1999). Yıllık İmalat Sanayi İstatistikleri, ISSN 0259–5141 ISBN 975–19–2213–5, Yayın No: 2248, Ankara.

Díez FMJ (1983). *Biotechnology: Food and Feed Production with Microorganisms*. Verlag, Florida, pp. 379–397.

Díez FMJ, Ramos CR, Garrido Fernandez A, Cancho GF, Pelliso GF, Vega NM, Moreno HA, Mosquera MMI, Navarro RL, Quintana DMC, Roldan SF, García GP, Gomez-Millan CA (1985). *Biología de la Aceituna de Mesa*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Graficas Urpe, Madrid (España).

Fernandez GA, Garcia GP, Balbuena BM (1995). Olive fermentations. In: Rehm, H.J., Nagodawithana, T.W. (Eds.), *Biotechnology: Enzymes, Biomass, Food and Feed*. VCH, Weinheim, pp. 593–627.

Fernandez GA, Díez FMJ, Adams MR (1997). *Table Olives: Production and Processing*. Chapman & Hall, London.

Gonzalez FMJ, Garcia GP, Fernandez GA, Quintana DMC (1993). Microflora of the aerobic preservation of directly brined green olives from Hojiblanca cultivar. *J. Appl. Bacteriol.* 75: 226-233.

- Garcia GP, Quintana DMC, Balbuera BM, Fernandez GA (1992). Lactic fermentation during the storage of 'Alorena' cultivar untreated green table olives. *J. Appl. Bacteriol.* 73:324-330.
- Hammes WP, Tichaczek PS (1994). The potential of lactic acid bacteria for the production of safe and wholesome food. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 198:193e201.
- Holzappel W (1997). Use of starter cultures in fermentation on a household scale. *Food Control*, 8:241-258.
- IOOC (2002). International Olive Oil Council. Recent trends on the table olive market, Madrid.
- IOOC (International Olive Oil Council) (2008). Statistic of table olives world production. Available online from: [http://www.internationaloliveoil.org/downloads/rodution3\\_ang.PDF](http://www.internationaloliveoil.org/downloads/rodution3_ang.PDF). erişim tarihi: 31 temmuz, 2008.
- Kayahan M, Tekin A (2006). Zeytinyağı Üretim Teknolojisi. 1. Baskı. Filiz Matbaacılık, Cebeci – ANKARA
- Lopez AFN (2005). Conservacion y envasado de aceitunas de mesa aliñadas de la variedad Manzanilla-Aloreña. Diseño de modelos matematicos para el crecimiento e inactivación de las poblaciones de microorganismos. Doctoral thesis. University of Seville.
- Lopez AFN, Querol A, Bautista-Gallego J, Fernandez AG (2008). Role of yeasts in table olive production, *International Journal of Food Microbiology*, Food-04518: No of Pages 8.
- Lüke FK, Brumer JM, Buckenhuskes A, Garrido Fernandez A, Rodrigo M, Smith JE (1989). Starter culture development. In: Zenthen, P, J.C Cheftel, T.R., Eriksson P, Garris P, Liuk Paulus, K. (Eds.), *Processing and Quality of Foods*, Vol. 2. Food Biotechnology. Avenues to Healthy and Nutritional Products, Elsevier, London, pp. 2:11-2.36.
- Montano A, Sanchez AH, Castro A (1993). Controlled fermentation of Spanish-type green olives. *J. Food Sci.* 58:842-844.
- Nychas GJN, Panagou EZ, Parker ML, Waldron KW, Tassou CC (2002). Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine. *Lett. Appl. Microbiol.* 34:173-177.
- Özay G, Borcakli M (1996). Effect of brine replacement and salt concentration on the fermentation of naturally black olives. *Food Res Inter.* 28:553-559.
- Panagou EZ, Tassou CC, Katsaboxakis CZ (2003). Induced lactic acid fermentation of untreated green olives of the Conservolea cultivar by *Lactobacillus pentosus*. *J. Sci. Food Agric.* 83:667-674.



- Panagou EZ, Tassou CC (2006). Changes in volatile compounds and related biochemical profile during controlled fermentation of cv. Conservolea green olives. *Food Microbiology*, 23:738-746.
- Panagou EZ, Katsaboxakis CZ (2006). Effect of different brining treatments on the fermentation of cv. Conservolea green olives processed by the Spanish-method. *Greece*, 23:199–204.
- Panagou EZ, Schillinger U, Franz CMAP, Nychasa GCE (2008). Microbiological and biochemical profile of cv. Conservolea naturally black olives during controlled fermentation with selected strains of lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 25: 348–358.
- Piga A, Gambella F, Vacca V, Agabbio M (2001). Response of three Sardinian olive cultivars to Greek-style processing. *Ital. J. Food Sci.* 13:29–40.
- Quintana DMC, Garcia Garcia P, Garrido Fernandez A (1999). Establishment of conditions for green table olive fermentation at low temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 51:133–143.
- Ruiz Barba JL, Cathcart DP, Warner PJ, Jimenez Diaz R (1993). Use of *Lactobacillus plantarum* LPC10, a bacteriocin producer starter culture in Spanish-style green olive fermentations. *Appl. Environ. Microb.* 60:2059–2064.
- Sanchez AH, Castro A, Rejano L, Montano A (2000). Comparative study on chemical changes in olive juice and brine during green olive fermentation. *J. Agric. Food Chem.* 48:5975–5980.
- Sanchez AH, Rejano L, Montano A, de Castro A (2001). Utilization at high pH of starter cultures of lactobacilli for Spanish-style green olive fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 67:115–122.
- Sanchez LMV, Diaz JR, Barragan MA, Fernandez GA, Barba RJL (2002). Optimization of bacteriocin production by batch fermentation of *Lactobacillus plantarum* LPCO10. *Applied and Environmental Microbiology* 4465e4471.
- Sanchez VLM, Ruiz-Barba JL, Sanchez AH, Rejano L, Diaz RJ, Garrido A (2003). Fermentation profile and optimization of green olive fermentation using *Lactobacillus Plantarum* LPCO10 as a Starter Culture. *Spain*.
- Skandamis PN, Nychas GJN (2003). Modelling the microbial interaction and the death of *Escherichia coli* during the fermentation of Spanish-style green table olives. *J. Food Prot.* 66:3–11.
- Soysal Mİ (1995). Çözümlü İstatistik Problemleri. T.Ü.Tekirdağ Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No:233, Yardımcı Ders Notu No:14.
- Spyropoulou KE, Chorianopoulos NG, Skandamis PN, Nychas GJN (2001). Control of *Escherichia coli* O157:H7 during the fermentation of Spanish-style green table olives

(Conservolea variety) supplemented with different carbon sources. Int. J. Food Microbiol. 66:3–11.

Stratford M (2006). Food and beverage spoilage yeasts. In: Querol A, Fleet H. (Eds.), Yeasts in Food and Beverages. Springer–Verlag, Berlin, pp. 335–379.

Tanasupawat S, Ezaki T, Suzuki KI, Okada S, Komagata K, Kozaki M, (1992). Characterization and identification of *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus plantarum* strains from fermented foods in Thailand. J. Gen. Appl. Microbiol. 38:121–134.

Tassou CC, Panagou EZ, Katsaboxakis KZ (2002). Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines. Food Microbiology, 19:605-615.

Thime JG (1956). Neuzetliche Technologie der Fette und Fettprodukte, 1. Lieferung: Die Rohstoffe, ihre Gewinnung, ihr Transport und ihre Lagerung. Aschendorffsche Verlagsbuchhandlung Münster Westf. 13-14.

Tunalıoğlu R (2003). “İç ve Dış Pazar Boyutu ile Türkiye Sofralık Zeytin Pazarlaması; Son Durum, Gelişmeler, Beklentiler..” Gemlik Zeytin Paneli, 13 Eylül 2003, Gemlik,Bursa, Türkiye .

Türker İ (1974). Asit Fermentasyonları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 577, Ders Kitabı;194.

Ünlütürk A, Turantaş F (2003). Gıda Mikrobiyolojisi. 3. Baskı, Meta Basımevi, Bornova – İZMİR

Vaughn RH (1982). The fermentation of olives. In: Reed, G. (Ed)., Industrial Microbiology. AVI Publ., Westport, pp. 207–236.

van den Berg DJC, Smits A, Pot B, Ledebøer AM, Kersters K, Verbakel JMA, Verrips CT (1993). Isolation, screening and identification of lactic acid bacteria from traditional food fermentation processes and culture collections. Food Biotechnol. 7:189–205.

Yavuz O, Gürbüz İB (2000), Türkiye zeytin ve zeytinyağı sektörünün üretim ve pazar yapısı, sorunlar ve çözüm önerileri. 1. Zeytincilik Sempozyumu, Bursa.











## TEŐEKKÜR

Evvela bu tezin oluŐumda beni yÖnlendiren değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Figen Dağlıoğlu'na, fermantasyon teknolojisini bana sevdiren, tez konumun seçiminde ve tüm aŐamalarında bana yardımcı olan çok değerli hocam Prof. Dr. Muhammet Arıcı'ya, mikrobiyolojik analizlerde benden yardımlarını esirgemeyen sevgili hocam Őükrü Demirci'ye, ve istatistiksel analizlerimde bana değerli zamanını ayırarak yardımcı olan, tezime emek veren değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Eser Kemal Gürcan'a çok büyük saygılarımı ve teŐekkürlerimi sunarım.

Son olarak maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen aileme ve eŐime çok teŐekkür ederim.

Nur DEMİR

2009



## **ÖZGEÇMİŞ**

1980 yılında Kırklareli'nde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Babaeski'de, lise öğrenimini Kırklareli'nde tamamladı. 2001 yılında Uludağ Üniversitesi T.B.M.Y.O.'nda Gıda Teknolojisi bölümünden mezun oldu. 2002 yılında dikey geçiş yaparak Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü'nde eğitimine devam etti. 2005 yılında Namık Kemal Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi'nde yüksek lisans eğitimine başladı.

Nur DEMİR

2009