

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI KAYNAKLARDAN ELDE EDİLEN
POSTBİYOTİKLERİN KARAKTERİZASYONU VE
FONKSİYONEL BİLEŞEN OLARAK KULLANIM
OLANAKLARI**

Dilara YALMANCI

DOKTORA TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Prof. Dr. Enes DERTLİ

Haziran, 2023

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI KAYNAKLARDAN ELDE EDİLEN
POSTBİYOTİKLERİN KARAKTERİZASYONU VE
FONKSİYONEL BİLEŞEN OLARAK KULLANIM
OLANAKLARI**

Dilara YALMANCI tarafından hazırlanan tez çalışması 14.06.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Enes DERTLİ
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Enes DERTLİ, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Muhammed ARICI, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Funda KARBANCIOĞLU GÜLER, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Salih KARASU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Hamza GÖKTAŞ, Üye
İstinye Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Enes DERTLİ sorumluluğunda tarafımda hazırlanan “Farklı Kaynaklardan Elde Edilen Postbiyotiklerin Karakterizasyonu ve Fonksiyonel Bileşen Olarak Kullanım Olanakları” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Dilara YALMANCI

İmza



Bu çalışma, Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) tarafından desteklenmiştir.



Aileme

TEŞEKKÜR

Öncelikli olarak Doktora tez sürecim boyunca değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, kendime çizdiğim yolda bana her zaman destek olarak güvenen ve araştırmamın özenle ilerlemesine katkıda bulunan saygıdeğer danışmanım *Prof. Dr. Enes DERTLİ* 'ye teşekkürlerimi sunarım. Bu meşakkatli süreci kolaylıkla atlatmamı sağlayan desteğini ve güvenini her zaman hissettiğim beni her seferinde daha çok çalışmaya teşvik eden ve kendisini çalışırken izleme fırsatı tanıyarak akademik bakış açımı geliştirebilmeme katkı sağlayan çok değerli hocam *Doç. Dr. Salih KARASU* 'ya ayrıca teşekkürü bir borç bilirim. Doktora Tez Dönemimin hayatıma kattığı en anlamlı değerlerden biri olan, her türlü çalışmamda benden anlayış ve desteklerini esirgemeyen hem hocam hem arkadaşım olan *Dr. Zeynep Hazal TEKİN ÇAKMAK* 'a en içten sevgilerimle teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarımda destekleri olan arkadaşım *Dr. Zuhale ALKAY* ve *Dr. Hümeysra İSPİRLİ* 'ye de teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca bu araştırmanın maddi açıdan desteklenmesine katkı sağlayan Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) ' ne ve teknik imkanlarını kullanmama izin veren Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümüne teşekkür ederim. Son olarak eğitim hayatım ve çalışmalarım boyunca, her koşulda yanımda olan sevgili babam *İlyas YALMANCI* ' ya, annem *Meltem YALMANCI* ' ya ve kardeşlerim *Doğukan & Eda YALMANCI* ' ya teşekkürü bir borç bilirim.

Dilara YALMANCI

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	v
SİMGE LİSTESİ	vii
KISALTMA LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiv
1 GİRİŞ	16
1.1 Literatür Özeti.....	16
1.2 Tezin Amacı.....	40
1.3 Tezin Hipotezi.....	41
2 EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİCİSİ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU ve EPS'LERİN KARAKTERİZE EDİLMESİ	43
2.1 Giriş.....	43
2.2 Materyal Metot.....	44
2.3 Sonuçlar ve Tartışma	53
3 YAĞI AZALTILMIŞ MAYONEZ ÜRETİMİ	68
3.1 Giriş.....	68
3.2 Literatür Özeti.....	70
3.3 Materyal Metot.....	81
3.4 Sonuçlar ve Tartışma	85
3.5 Genel Değerlendirmeler.....	100
4 GLUTENSİZ KEK ÜRETİMİ	103
4.1 Giriş.....	103
4.2 Materyal Metot.....	113
4.3 Sonuçlar ve Tartışma	115
4.4 Genel Değerlendirmeler.....	123
5 SONUÇLAR	127
KAYNAKÇA	129
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	146

SİMGELİSTESİ

pH	Asit veya bazlık derecesini gösteren ölçü birimi
rpm	Dakikada devir sayısı
g	Gram
a*	Kırmızılık
L	Litre
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
L*	Parlaklık
Tm	Primer erime sıcaklığı
b*	Sarılık
°C	Santigrat derece
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

AACCI	American Association of Cereal Chemists International
CGTase	Siklodekstrin Glikosiltransferaz
CMS	Karboksi Metil Selüloz
DATEM	Mono- ve digliseritlerin diasetil tartarik asit esterleri
DE	Dekstroz Eşdeğeri
DP	Düşük Polimerizasyon Derecesi
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
EPS	Ekzopolisakkarit
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
GH70	Glikozid Hidrolaz Ailesi 70
GIT	Gastrointestinal Sistem
GO	Glikoz oksidaz
GPC	Jel geçirgenlik kromatografisi
GRAS	Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen
HePS	Heteropolisakkarit
HoPS	Homopolisakkarit
HPMC	Hidroksipropil-metilselüloz
IP	İndüksiyon Periyodu
LAB	Laktik Asit Bakterileri
MBHI	Modifiye Brain Heart Infusion
MC	Metil Selüloz
MRS	Man Rogosa ve Sharpe
MWPI	Mikro partiküle Whey Protein İzolatı
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
PZR	Polimerik Zincir Reaksiyonu

SH	Serbest Tiýol
SS	Disülfít
SSL	Sodyum Stearoil Laktilat
TBA	Tris Borat EDTA
TGA	Termogravimetrik Analiz
TGase	Transglutaminaz
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
WPC	Whey Protein Konsantratı
WPI	Whey Protein İzolatı
XG	Ksantan Gum
XRD	X-Işını Difraktometresi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 Homopolimerik ve Heteropolimerik EPS yapıları	20
Şekil 1.2 LAB genel karbonhidrat yolları ve dekstran,mutan,alternan sentezi	21
Şekil 1.3 Laktik asit bakterilerin EPS üretimini etkileyen faktörler.....	24
Şekil 1.4 EPS'lerin yapısı ve özellikleri arasındaki ilişki	26
Şekil 1.5 Endüstriyel olarak kullanılan mikrobiyal polisakkaritler.....	28
Şekil 1.6 EPS yapısı ve viskoziteye etkisi;.....	32
Şekil 2.1 Çimlendirilmiş ve öğütülmüş tahıl ve baklagil taneleri	45
Şekil 2.2 Ön fermentasyon sıvılarının hazırlanma akış şeması.....	45
Şekil 2.3 16S PZR amplifikasyonu sonrası agaroz jel görüntüsü.....	54
Şekil 2.4 LAB'nin EPS üretim yeteneklerinin kalitatif olarak belirlenmesi	56
Şekil 2.5 Glukoz verimi en yüksek iki EPS için HPLC kromatogramı.....	58
Şekil 2.6 EPS ¹⁷ ve EPS ¹⁰ için ¹ H ve ¹³ C NMR spektrumlarının gösterimi	60
Şekil 2.7 EPS ¹⁷ ve EPS ¹⁰ için FTIR grafikleri.....	61
Şekil 2.8 EPS ¹⁰ ve EPS ¹⁷ için TGA DTG/DTA ve DSC grafikleri.....	64
Şekil 2.9 EPS ¹⁰ ve EPS ¹⁷ için XRD grafikleri.....	65
Şekil 3.1 Farklı gıda sistemlerinde çeşitli polisakkaritlerin yağ ikame mekanizmaları.....	77
Şekil 3.2 O/W emülsiyonunun emülgatör stabilizasyonu	80
Şekil 3.3 %5 WPI (A), WPI ve %2 EPS ¹⁰ - % 5 WPI (B), %2 EPS ¹⁷ - %5 (C) sulu çözeltileri için FTIR grafikleri	87
Şekil 3.4 Az yağlı mayonezlerin akış davranış reolojik özellikleri.....	90
Şekil 3.5 Az yağlı mayonezlerin viskoelastik davranış özellikleri.....	96
Şekil 3.6 Az yağlı mayonezlerin 3 ITT davranış özellikleri.....	97
Şekil 3.7 Az yağlı mayonezlere (EPS ¹⁷) ait emülsiyon stabilite grafikleri ; (A) Düşük sıcaklık termal döngü testi,.....	101
Şekil 3.8 Az yağlı mayonezlere (EPS ¹⁰) ait emülsiyon stabilite grafikleri ; (B) Düşük sıcaklık termal döngü testi,.....	102
Şekil 4.1 Hamur örneklerinin reolojik özellikleri. (A): Akış davranış özellikleri; (B) 3 ITT; (C) Viskoelastik davranış özellikleri.....	119
Şekil 4.2 Buğday ve nohut unu yapılmış kek örnekleri.....	126

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 LAB türleri ve GenBank erişim numaraları	55
Tablo 2.2 EPS üreticisi LAB'nin glukoz verimleri.....	57
Tablo 2.3 EPS ¹⁰ ve EPS ¹⁷ için Fizikokimyasal Özellikler.....	66
Tablo 2.4 EPS ¹⁰ ve EPS ¹⁷ için emülsiyon stabilite değerleri	67
Tablo 2.5 EPS ¹⁰ ve EPS ¹⁷ Sinersis özellikleri.....	67
Tablo 3.1 Mayonez formülasyonları.....	82
Tablo 3.2 Az yağlı mayonezlerin akış davranış reolojik özellikleri	91
Tablo 3.3(A) Az yağlı mayonezlerin dinamik reolojik özelliklerin Power Law parametreleri	94
Tablo 3.3(B) Az yağlı mayonezlerin dinamik reolojik özelliklerin Power Law parametreleri	95
Tablo 3.4 Az yağlı mayonezlerin IP değerleri	100
Tablo 4.1 NU bazlı glutensiz kek formülasyonları	114
Tablo 4.2 Hamur örneklerinin reolojik özelliklerine ait parametreler	120
Tablo 4.3 Glutensiz keklerin fizikokimyasal özellikleri.....	121
Tablo 4.4 Glutensiz keklerin tekstürel özellikleri.....	124
Tablo 4.5 Glutensiz keklerin renk özellikleri.....	125

Farklı Kaynaklardan Elde Edilen Postbiyotiklerin Karakterizasyonu ve Fonksiyonel Bileşen Olarak Kullanım Olanakları

Dilara YALMANCI

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Enes DERTLİ

GRAS statüleri ile gıdalar için önemli bakteriler olan Laktik Asit Bakterileri (LAB) çok çeşitli fermentasyon ortamlarından izole edilebilmekte olup ortam şartlarındaki farklılıklarla ilişkili olarak önemli tekno-fonksiyonel özelliklere sahip olan ekzopolisakkaritleri (EPS) üretebilmektedirler. Bu çerçevede çimlendirilmiş tahıl taneleri bu çalışmada özgün kaynaklar olarak seçilmiş ve bu ortamlardan izole edilen LAB suşlarında EPS üretimi fizikokimyasal olarak karakterize edilmiştir. Bu kapsamda fermente edilmiş tahıl taneleri ile oluşturulan ortamlardan elde edilip genotipik olarak tanımlanan 17 farklı suş içerisinde *Weissella confusa* W-16 ve *Leuconostoc lactis* GW-6 suşlarına ait EPS'ler saflaştırılarak kimyasal karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. EPS yapılarının monomer kompozisyonu HPLC analizi ile belirlenmiş ve yapının sadece glukoz birimlerinden oluştuğu tespit edilmiştir. FTIR analizi ile bu α -D-glukoz birimlerinin (1→6) / (1→3) bağları ile yapıda yer aldığı ve ^1H ve ^{13}C NMR analizi ile ise bu EPS yapılarının %1-3 ila %5-7 (1→3) bağlı α -D-glukoz üniteleri içeren homopolimerik yapıda lineer zincirli dekstranlar oldukları açığa çıkarılmıştır. Termal özelliklerin açığa çıkarılması

amacıyla uygulanan TGA ve DSC analizleri sonucunda EPS yapılarının yüksek termal stabiliteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca XRD analizi ile yapıların amorf karakter gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, EPS yapılarının homopolimerik glukon yapıda lineer dekstran tipte az dallanma oranına sahip polimerler olduğu ortaya çıkarılmıştır. Karakterize edilen EPS'lerin fonksiyonel bileşen olarak kullanım imkanlarının değerlendirilmesi için iki farklı gıda uygulaması gerçekleştirilmiştir. İlk olarak peynir altı suyu protein izolatı (WPI) ile saflaştırılan EPS'lerin ısıtma işlemi oluşturduğu kompleksin mayonez örneklerinde yağ ikame edici özelliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda farklı konsantrasyonlarda WPI-EPS kompleksleri hazırlanarak 50% oranında yağ miktarı azaltılmış mayonez formülasyonlarına ilave edilmiş ve ksantan gum ile hazırlanmış %100 ve %50 yağlı kontrol mayonez örnekleri ile karşılaştırılmıştır. Örneklerin reolojik özellikleri, akış davranışları, frequency sweep ve 3-ITT reolojik özellikleri emülsiyon ve oksidatif stabiliteleri belirlenmiştir. %2 EPS ve %5 WPI kompleksinin, az yağlı mayonezlerde sağlam bir yapı sağladığı ve fiziksel stabiliteyi geliştirdiği ve yağ ikamesi olarak kullanılabileceği belirlenmiştir. Diğer bir gıda uygulamasında EPS yapısının glutensiz ürünlerde yapı geliştirici ajan olarak kullanım imkanları değerlendirilmiş ve bu amaçla nohut unundan yapılmış keklerin yapısal özellikleri buğday unlu kontrol kek örnekleri ile karşılaştırılmıştır. Kek hamurlarına ait reolojik özellikler ile kek örneklerinin tekstürel ve fiziksel özelliklerinin EPS-WPI kompleksinin ilavesi ile geliştirilebildiği açığa çıkartılmıştır. Sonuç olarak elde edilen veriler tahıl tanelerinin fermentasyonu ile oluşturulan ortamların özgün glukon üreticisi LAB suşlarını içerdiği ve bu glukonların gıda formülasyonlarında tekno-fonksiyonel katkı sağlayabildikleri gösterilmiştir. Tüketici beklentilerine uygun olarak temiz etiketli ürünlerin üretilmesi kapsamında bu EPS'lerin önümüzdeki dönemde kapsamlı çalışmalara daha fazla konu olabileceği öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Laktik asit bakterileri, ekzopolisakkaritler, yağ ikamesi, glutensiz kek

Characterization of Postbiotics Obtained from Different Sources and Their Usage as Functional Components

Dilara YALMANCI

Department of Food Engineering

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Enes DERTLİ

Lactic acid bacteria, which are important bacteria for foods with their GRAS status, can be isolated from a wide variety of fermentation media and can produce exopolysaccharides with important techno-functional properties in relation to differences in ambient conditions. The aim of this study is to isolate EPS producer LAB strains from fermented media created with various cereal and leguminous grains, which have an important place in human nutrition, and to chemically characterize EPS structures of the two types that produce EPS with the highest efficiency and to evaluate their use as functional components in foods. In this context, EPSs belonging to *Weissella confusa* W-16 and *Leuconostoc lactis* GW-6 strains were purified, and chemical characterization was carried out among 17 different genotypically defined strains. The monomer composition of the EPS structures was determined by HPLC analysis, and it was determined that the structure consisted only of glucose units. With FTIR analysis, these α -D-glucose units are located in the structure with (1 $\rightarrow$ 6) / (1 $\rightarrow$ 3) bonds, and with ^1H and ^{13}C NMR analysis, these EPS structures are 1-3% to 5-7% (1 $\rightarrow$ 3) were found to be linear chain dextrans in homopolymeric structure containing linked α -D-glucose units. As a result of TGA and DSC analyzes applied to reveal the thermal properties,

it was determined that EPS structures have high thermal stability. In addition, it was determined that the structures showed amorphous character by XRD analysis, and this data was supported by DTA data applied for thermal analysis. As a result, it has been revealed that EPS structures are linear dextran type polymers with low branching ratio in homopolymeric glucan structure. Two different food applications were carried out to evaluate the possibilities of using the characterized EPSs as functional components. First, it was aimed to evaluate the fat-substituting feature of the complex formed by heat treatment of whey protein isolate (WPI) and EPS in mayonnaise samples. In this context, different concentrations of WPI-EPS complexes were prepared and added to mayonnaise formulations with 50% reduced fat content and compared with 100% and 50% oily control mayonnaise samples prepared with xanthan gum. The rheological properties, flow behavior, frequency sweep and 3-ITT rheological properties of the samples, emulsion and oxidative stability were determined. It has been determined that the complex of 2% EPS and 5% WPI provides a solid structure and improves physical stability in low-fat mayonnaises and can be used as a fat substitute. As another food application, the possibilities of using EPS structures as a structure improving agent in gluten-free products were evaluated and for this purpose, the structural properties of the cakes made from chickpea flour were compared with the wheat flour control cake samples. It has been revealed that the rheological properties of cake batters and the textural and physical properties of cake samples can be improved by the addition of EPS-WPI complex.

Keywords: Lactic acid bacteria, exopolysaccharides, fat substitute, gluten-free cake

1.1 Literatür Özeti

1.1.1 Postbiyotik Kavramı

Gıdaların raf ömürlerinin uzatılarak kayıpların azaltılması ve aynı zamanda doğallıklarının muhafaza edilmesi gıda sektöründeki en önemli hedeflerden biridir. Bu hedeflerin gerçekleştirilmesinde özellikle doğal gıda katkılarına olan ilgi günümüzde giderek artmaktadır. Gıdaların doğal olarak muhafazasında kullanılan en eski yöntemlerden biri ise fermantasyondur. Tarihsel sürece bakıldığında antik çağ Mısır ve Orta Doğu medeniyetlerinde fermantasyon yönteminin kullanıldığını ve bu durumda da probiyotik laktik asit bakterilerinin (LAB) çok uzun zamandır insanlar tarafından tüketildiği söylenebilmektedir. Ancak bu bakterilerin sağlık üzerine etkileri 1907 yılında Elie Metchnikoff tarafından keşfedildi. Terim olarak “*probiyotik*” kavramının kullanımı ise 1953 yılında “*sağlıklı yaşam için temel aktif maddeler*” şeklinde tanımlanarak kullanılmaya başlandı. 2001 yılında Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) uzmanları tarafından probiyotikler; “yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlandı. Fermantasyonun gerçekleştirilmesinde esas rolü oynayan bu laktik asit bakterilerinin etkinlikleri ise gelişim sağladıkları ortam, gıda işleme ve depolama koşulları ile ilişkili olduğundan etkinliğin sürdürülebilirliğinin sağlanması ve standardın yakalanması aşılması zor bir engel olmaktadır. Ancak yapılan son çalışmalar LAB’nin koruyucu etkilerinin sadece canlı olmaları ile ilişkili olmadığını aynı zamanda bu mikroorganizmaların metabolik yan ürünlerinin de istenilen özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. (Barros vd, 2019; Cuevas-González vd, 2020). Terminolojide faydalı etkilere sahip “*canlı olmayan mikrobiyal hücreler*”, “*parabiyotikler*”, “*inaktif probiyotikler*” veya “*hayalet probiyotikler*” olarak tanımlanırken, mikrobiyal metabolizma yan ürünleri ise “*postbiyotikler*” olarak karşılık bulmaktadır. “*Postbiyotik*”, “*metabiyotik*” veya “*hücretsiz süpernatant*” kavramları canlı mikroorganizmalar tarafından üretilen veya hücrenin parçalanması sonucu elde edilen çözünebilir nitelikte, konakçıya fayda sağlayan bileşenler olarak tanımlanır (Barros vd, 2019).

Postbiyotik teriminin tanımlanması ve sınıflandırılmasına dair sınırlar tam olarak çizilemese de son zamanlarda bu bileşiklerin dikkat çekmekte olmasının en önemli sebepleri (i) *belirgin kimyasal yapıları*, (ii) *güvenli doz parametreleri*, (iii) *uzun raf ömürleri* (iv) *anti-inflamatuvar, anti-obezojenik, hipokolestrolemik, anti-proliferatif, antioksidan, antihipertansif, immünomodulator özellikteki çeşitli sinyal molekülleri içeriğidir* (Aguilar-Toalá vd, 2018; Moradi vd., 2019). Postbiyotiklerin bu bahsedilen olumlu özelliklerine ek olarak; (i) canlı mikroorganizmalara karşı *hassas ve bağışıklığı baskılanmış kişilerde bağırsak lümeninden kana bakteri translokasyonu riskinin olmaması*, (ii) *Antibiyotik direnç genlerini alma ve aktarma şansının olmaması* (iii) *Standardizasyon, depolama ve taşıma kolaylığı* (iv) *Hücrenin lizisi ile canlılığın kaybı daha başka yararlı etkiler oluşturabilmesi* (v) *Gıda proseslerinde dayanıklılık ve istenilen özelliğin daha uzun süre korunabilmesi* (vi) *Raf ömrünün uzatılmasında gıda bileşenleri ile daha az etkileşim gibi avantajları vardır* (Nataraj, 2020).

LAB'leri ve onların eşsiz antimikrobiyal ajanları food-grade bileşenler olarak bilinmektedir. Bu bileşenler düşük molekül ağırlıklı (hidrojen peroksit, CO₂, diasetilin) ve yüksek molekül ağırlıklı (bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri) olarak iki kategoriye ayrılmakta olup yüksek molekül ağırlıklı bu bileşenler genellikle *postbiyotikler* olarak adlandırılmaktadır (Moradi vd, 2019). *Postbiyotikler*, canlı mikroorganizma tarafından salgılanan veya bakteriyel lizis sonrası ortama salınan enzimler, peptitler, teikoik asit, peptidoglukan türevleri muropeptitler, hücre yüzey proteinleri, polisakkaritler ve organik asitler olarak şekilde gruplandırılmaktadır. Bakteriyosinler, organik asitler, enzimler, alkoller ve düşük molekül ağırlıklı reuterin benzeri maddeler genellikle antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olup gıda endüstrisinde en çok çalışılan postbiyotik grubunu *bakteriyosinler* oluşturmaktadır. Diğer taraftan ise önemli tekno-fonksiyonel ve bazı biyolojik özelliklere sahip *ekstrasellüler mikrobiyal polimerler* olan **ekzopolisakkaritler (EPS)** gıda katkısı olarak kullanımları bakımından endüstride giderek önem kazanmaktadır (Angelin J., Kaitha M., 2020; Yang vd, 2018).

1.1.2 Mikrobiyal Polisakkaritler

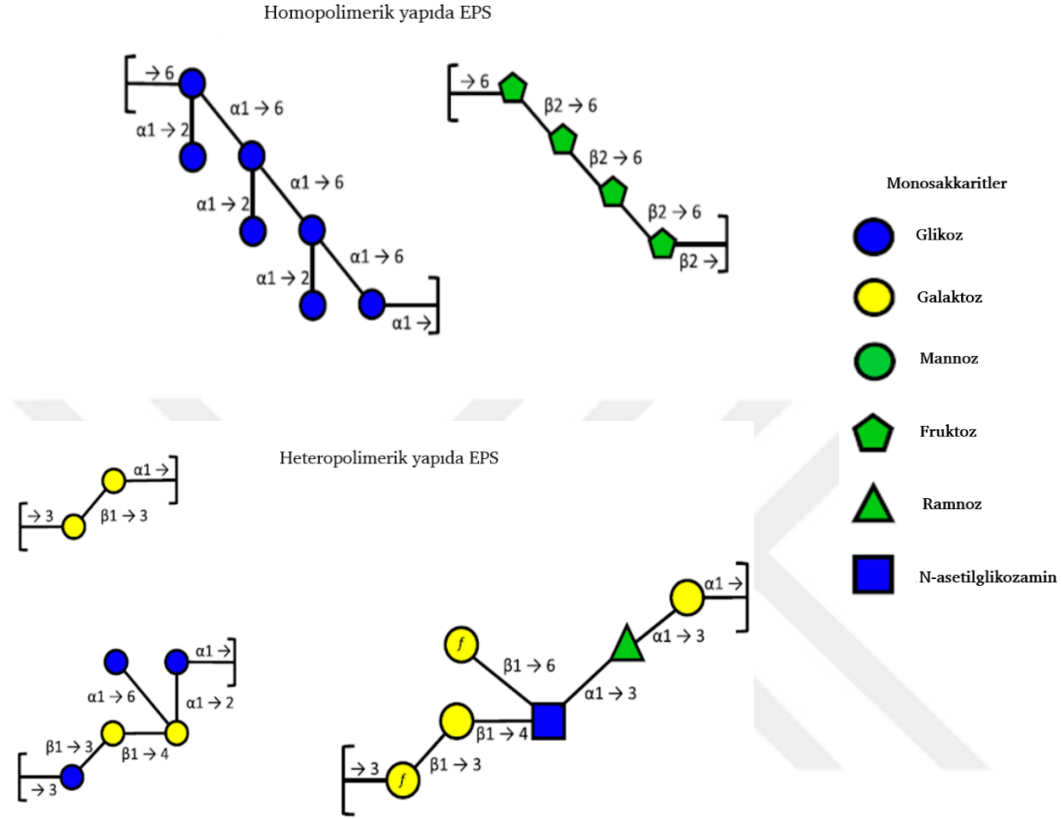
Mikrobiyal polisakkaritler, bakteri, maya, alg veya fungi türleri tarafından çözünebilir veya çözünemez formda yüksek molekül ağırlığına sahip karbonhidrat polimerleri olarak hücre duvarına sıkıca bağlı kapsül formunda veya hücreye

gevşekçe bağlı veya tamamen ortama salınan mukus formunda bileşenlerdir (Angelin & Kaitha, 2020; Yang vd, 2018; Zhu vd, 2018; Dertli, 2016). **Ekzopolisakkaritler (EPS)** olarak isimlendirilen bu polimerler yapısal olarak, tekrar eden D-glikoz, D-galaktoz, L-ramnoz veya nadiren N-asetilglikozamin, N-asetilgalaktozamin ve glukronik asit birimlerini düz veya dallanmış yapıda farklı zincir uzunluklarında içeren, farklı molekül ağırlıklarına sahip mikrobiyal polimerlerdir (Yılmaz, 2014; Soyuçok vd., 2016). EPS'ler arasında farklılığı oluşturan çeşitli etmenler mevcuttur; (I) fermente sistemdeki konumu, (II) ortamdaki işlevselliği veya (III) moleküler bileşimi ve yapısı (Mende vd., 2020). Moleküler yapılarında bulundurdukları şeker çeşitlerine göre EPS'ler homopolisakkarit (HoPS) veya heteropolisakkarit (HePS) olarak iki gruba ayrılmaktadırlar (Şekil 1.1). HePS'ler D-glikoz, D-galaktoz ve daha az bulunan L-ramnoz, mannoz, arabinoz ve fukoz şekerlerden oluşurken bazı durumlarda N-asetilglukozamin, N-asetilgalaktozamin veya glukuronik asitte bulundurabilir ve gellan, ksantan ve kefiran olarak adlandırılırlar. HoPS'ler ise glukoz veya fruktoz birimlerinden dallanmış veya dallanmamış yapıda olup, α -glukanlar; glukan (α -1,2), dekstran (α -1,6), mutan (α -1,3), alternan (α -1,6; α -1,3) ve reuteran (α -1,4), β -glukanlar, fruktanlar; levan (β -2,6) ve inülin (β -2,1), poligalaktonlar olarak kategorize edilir (Angelin & Kaitha, 2020).

LAB'leri her iki türde de EPS üretebilme kabiliyetinde olup üretimleri açısından HoPS yapıda olan EPS'lerin bazı avantajları vardır. Bunlar;

- HePS yapıda EPS'ler daha karmaşık bir biyosentez mekanizmasına sahip olmaları ve üretim için daha fazla miktarda enzime ihtiyaç duymaları sebebiyle çok daha az oranda üretilmektedirler. Buna karşılık HoPS yapıda bir EPS üretimi için daha basit bir metabolik yol izlenmekte olup ortamda karbon kaynağı olarak sukroz, enzim olarak ise glukansükraz veya fruktansükraz varlığı yeterli olmaktadır. Bu duruma bağlı olarak da daha fazla oranda EPS üretilmektedirler.
- HoPS yapıda EPS'lerin üretiminden sadece tek bir gen (*gtf/ftf*) sorumlu olup üretimi için gen kümesine ihtiyaç duyan HePS yapıya göre daha kolay sentezlenir.

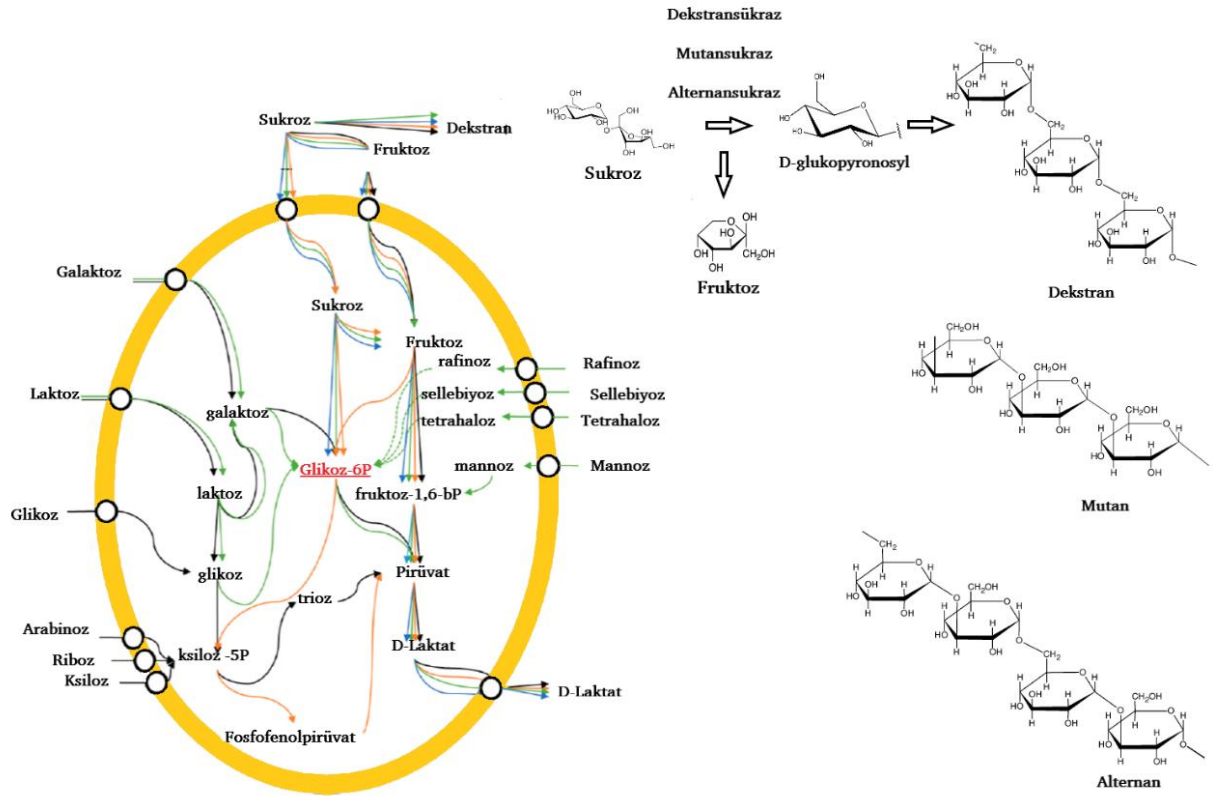
- Ekstrasellüler olarak sentezlendiğinden direk ortama salınırlar ve ekstrakte edilmeleri daha kolaydır (Mende vd., 2020; Bounaix vd., 2009).



Şekil 1.1 Homopolimerik ve Heteropolimerik EPS yapıları (Mende vd., 2020)

HoPS yapıda EPS'lerin üretilebilmesi için glikozid hidrolaz ailesi 70 (GH70) içerisinde yer alan glukansükraz enzimlerinin aktivitesine ihtiyaç vardır. Bu enzimler glucosyltransferaz veya glukansükraz enzimleri olarak adlandırılmakta olup; enzim özgünlüğündeki farklılığa ve glikozidik bağın türüne göre; dekstransükraz, alternansukraz, mutansukraz ve reuteransukraz olarak sınıflandırılırlar. LAB türlerinde yaygın olarak görülen bu enzimler D-glukopyronosyl donörü olarak sükrozu kullanarak yüksek molekül ağırlıklı glukanoları sentezlerler ve fruktoz açığa çıkartırlar (Şekil 1.2). Bu enzimler küçük moleküllerden polisakkarit polimerlerinin sentezini de nova olarak katalize ederler (Yan vd. 2018). Glukan sentezini katalize eden bu enzimler, istenilen yapı ve özelliklerde α -glukanların sentezleme potansiyeline sahip olduğundan ilgi

görmektedir. Günümüzde fırıncılık, şekerleme, dondurma ve içecek endüstrisinde (stabilize edici, nem tutucu, emülsifiyer) kullanılan dekstran ana zincir yapısı, yapıya rijit özellik veren α -(1,2,) α -(1,3) ve α -(1,4) ikincil bağlantıları ile dallanmış ve daha esnek yapıda olan α -1,6 glikozidik bağlarından (>%50) oluşur. Her dekstranın tam yapısı sentezinde yer alan spesifik *dekstransükraz* (E.C. 2.4.1.5) enzimlerine bağlıdır. Yapıda bulunan dallanma EPS'lerin özelliklerini etkileyebilmektedir örneğin; *Mutansukraz* (E.C.2.4.1.5) tarafından %50 'den fazla oranda α -1,3 bağı içerecek şekilde sentezlenen mutan suda düşük çözünürlük gösterirken *Leuconostoc mesenteriodes* tarafından *alternansukraz* (E.C. 2.4.1.140) enzimi ile sentezlenen α -1,6 ve α -1,3 glikozidik bağları içeren alternan yüksek çözünürlük, düşük viskozite ve mikrobiyal ve enzimatik hidrolize direnç özelliğine sahiptir (Mende vd., 2020; Yan vd. 2018; Monsan vd.; 2001). EPS'ler arasındaki çeşitlikler, şeker momomerlerindeki varyasyonların yanı sıra monosakkaritlerin anomerik konfigürasyonlarında, stereokimyalarında veya siklik konformasyonlarında çeşitlilik göstermeleri, zincir uzunlukları, glikozidik bağların türleri, polimerlerin dallanma dereceleri ve sayıları veya karbonhidrat olmayan diğer bileşenlerin varlığı gibi durumlara bağlı olarakta çok sayıda kombinasyon oluşturabilmeleri ile ilişkilendirilmektedir (Mende vd. 2020; Dertli, 2016a; Tükenmez ve Aslım, 2017). Bu sebeplerle farklı gıdalarda farklı özellikleri sebebiyle kullanılacak olan EPS'lerin çeşitlendirilerek araştırılması büyük önem arz etmektedir.



Şekil 1.2 LAB genel karbonhidrat yolları ve dekstran,mutan,alternan sentezi

**Leuconostoc* (siyah), *Weissella* (turuncu), *Lactobacillus* (mavi) ve *Streptococcus* (yeşil) (Díaz-Montes, 2021’den türetilmiştir)

1.1.3 LAB’nin Ekzopolisakkarit Sentezini Etkileyen Faktörler

Ekzopolisakkaritler yukarıda bahsedildiği gibi çeşitli monosakkarit grupları ve kalıntılarından oluşan yüksek moleküler ağırlığına sahip, biyolojik olarak parçalanabilir polimerler olup çok çeşitli bakteriler tarafından hücre içi veya hücre dışı olarak sentezlenebilmektedirler (Perri vd., 2021). LAB, Gram pozitif, katalaz negatif, hareketsiz, spor oluşturmeyan, çubuk veya kok şeklinde, zorunlu olarak fermentatif, aerotolerant veya anaerobik türler olup karbonhidratları fermente ederek son ürün olarak laktik asit üreten bakterilerdir (Holzapfel vd., 2001; Leroy & Vuyst, 2004). LAB’leri gelişimleri için kompleks besin (karbonhidratlar, amino asitler, peptitler, yağ asitleri, vitaminler) kaynaklarına ihtiyaç duyarlar. Bu sebeple zengin besinsel ortamlara sahip fermente gıdalarda bulunurlar ve son ürünlerin

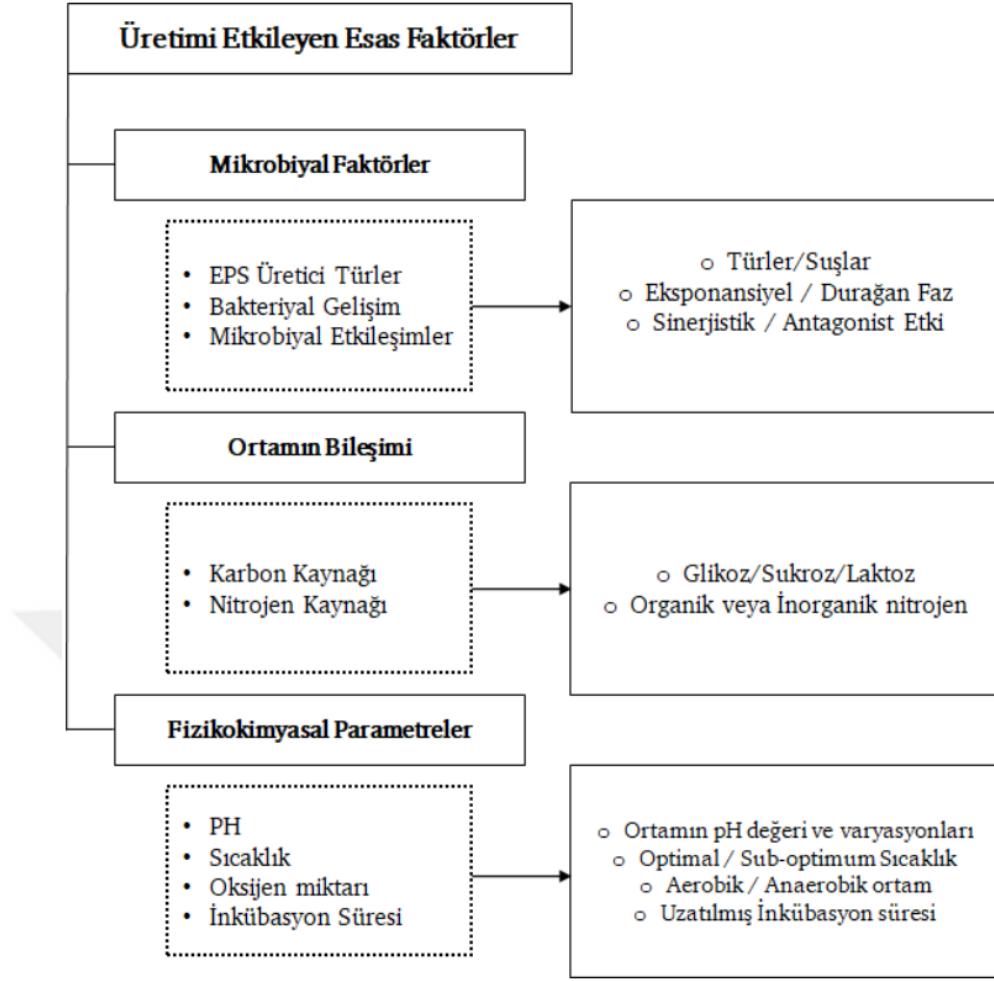
oluşmasında temel olarak görev alırlar. Bakteri grupları arasında GRAS (Genel olarak güvenilir kabul edilen) statülerinden dolayı son derece önemlidirler (İspirli vd., 2019). EPS üretiminin bakteri fizyolojisine sağladığı yararlı etki hala tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Ancak LAB'nin pH, sıcaklık ve ozmotik stres gibi fermentasyon süreçleriyle ilgili tüm streslere dayanmak için koruyucu bir matris olarak EPS ürettiği ön görülmektedir (Donot vd., 2012). Çoğu araştırmacı, LAB'nin sahip olduğu bu GRAS statüleri sebebiyle, gıda ve tıbbi uygulamalarda kullanılmak üzere yeni EPS üreticisi türlerinin keşfi için bu bakterilere yönelmişlerdir. Bakteriyel EPS'ler elde edildikleri kaynaklara göre çeşitlilik göstermektedir. Örneğin; süt ürünleri kaynaklı EPS'ler genel olarak HePS yapıda iken tahıl kaynaklı fermente ürünlerden elde edilen EPS'ler fermentasyon ortamındaki şeker kaynağı ile ilişkili olarak HoPS yapıdadır (Mende vd., 2020; Bounaix vd., 2009). EPS üreten türler için çoğunlukla yoğurt, kefir gibi fermente süt ürünleri ve ekşi hamur başta olmak üzere çok çeşitli fermente ürünlerde çalışılmıştır (Galle & Arendt, 2014). Çeşitli alanlarda yararları olan doğal polimerlere olan talep her geçen gün artmaktadır. EPS üretebilme yeteneğine sahip çok sayıda LAB türleri şimdiye kadar izole edilmiş ve bazılarının karakterizasyonu ve fonksiyonel özellikleri değerlendirilmiş olsa da endüstriyel kapsamda kullanılabilen tür sayısı halen kısıtlıdır.

LAB'nin EPS üretme yeteneği çeşitli faktörlere bağlı olmakla beraber üretim miktarı büyük ölçüde türe ve suşa özgüdür. Bakteriyel büyüme ile ilişkili olan sıcaklık, inkübasyon süresi, pH, oksijen oranı vb. gibi fizikokimyasal parametreler ile farklı karbon ve nitrojen kaynakları EPS üretimini etkileyen ana faktörlerdir. (Şekil 1.3) Diğer taraftan aynı LAB suşu, farklı büyüme koşulları altında çeşitli EPS'leri sentezleyebilir. Kültür ortamının büyümeyi destekleyici besinsel bileşenler ile zenginleştirilmesi EPS üretimini önemli ölçüde etkileyebilmektedir (Lorey & Vuyts, 2016; Jolly vd., 2002). Örneğin, HoPS yapıda EPS üretimini gözlemleyebilmek için süktroz, fruktoz veya maltoz gibi karbon kaynakları ile desteklenmiş Man Rogosa ve Sharpe (MRS) besi yeri ortamı kullanılabilir (Cirincione vd., 2018). Kültür ortamının EPS üretim seviyesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada yağsız veya kısmen yağsız süt, peynir altı suyu bazlı ortam, yarı tanımlı ortam, kimyasal olarak tanımlanmış ortam ve bazal minimum ortam olmak üzere çeşitli besiyerleri oluşturulmuştur. Sonuç olarak uygun karbon

kaynağı ile desteklenmiş süt bazlı ortamların EPS üretimi için uygun olduğu belirtilmiştir (Ruas-Madiedo & Reyes-Gavilán ,2005). Benzer şekilde başka çalışmalarda *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* türünün karbon kaynağı olarak glikoz kullanılan ortamda yüksek oranda EPS üretebildiği tespit edilirken sadece fermente sütte kültüre alınan ve *Lacticaseibacillus casei* ve *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşları farklı karbon ve nitrojen kaynakları ile desteklenmiş M17 sıvı besiyerine kıyasla daha düşük miktarda EPS üretmişler (Rabha vd., 2012; Petry vd., 2000).

EPS üretimi için önemli olan diğer bir etmen fizikokimyasal bir parametre olan pH'tır. LAB için optimum pH değerinin genellikle pH 6.0 civarında olduğu kabul edilir, ancak türler ve LAB suşları arasında büyük farklılıklar gösterir. Düşük pH değerinin ise (yani 4.9) EPS yapısının bozunumunu önemli ölçüde etkilediği ve EPS veriminde düşüşe sebep olduğu bildirilmiştir (Pham vd., 2000; Vaningelgem vd., 2004). Bir diğer parametre olan sıcaklığın EPS üretimi üzerindeki etkisi ile ilgili olarak özellikle proteolitik aktiviteden yoksun suşlarda (Örn; *Streptococcus thermophilus*) bakteri hücreleri üzerindeki düşük sıcaklığın neden olduğu fizyolojik strese bağlı olarak, daha yüksek seviyelerde EPS üretimi gerçekleşebileceği bildirilmiştir. Yani optimal olmayan sıcaklığın en uygun sıcaklık olduğunu tespit edilmiştir (Mende vd., 2012; Rabha vd., 2012).

Kültür ortamında farklı LAB türlerinin bir arada bulunması EPS üreten bakterilerin aktivitesini etkileyebilir. Özellikle endüstriyel uygulamalarda, aynı LAB türünün ve/veya farklı türlerin çoklu suşlarından oluşan karışık kültürler kullanılmaktadır. Bu sebeple kültür ortamında bakteriler arası ilişki önem arz etmektedir. EPS üreticisi ve üretici olmayan suşların bir arada bulunduğu ortamlarda, farklı türde ve yapıda EPS sentezi mümkün olabilir ve bu da son üründe farklı nitel özelliklerin gelişmesine katkı sağlayabilir (Ahmed vd., 2013). *Saccharomyces cerevisiae* ile kombinasyon halinde üç farklı *Lacticaseibacillus rhamnosus* suşu tarafından üretilen EPS miktarı üzerindeki ortak kültürün etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ortamda EPS biyosentezini destekleyen etkileşimlerin geliştiği bildirilmiştir (Bertsch vd., 2019).



Şekil 1.1 Laktik asit bakterilerin EPS üretimini etkileyen faktörler

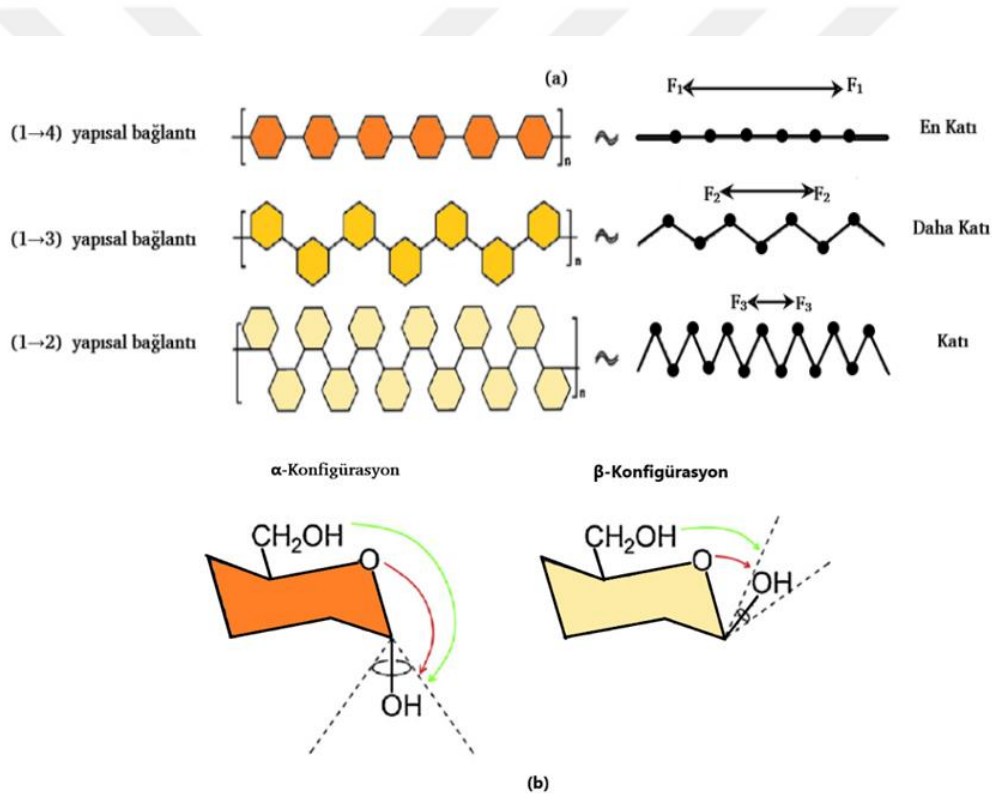
1.1.4 Ekzopolisakkaritlerin Yapısal ve İşlevsel Özelliklerini Etkileyen Faktörler

EPS'ler, farklı kimyasal yapıların yanı sıra farklı fizyolojik ve teknolojik işlevleri ile de karakterize edilir. Bu mikrobiyal polimerlerin sahip oldukları özellikler, tür kökenleri yerine yapılarıyla (örneğin, bileşim, bağlantılar, omurgalar, moleküler ağırlık ve ikame grupları) ilişkilendirilmiştir. Yaygın olarak kabul edildiği üzere, *moleküler yapı*, *zincir uzunluğu* ve *Substituent grupları* olmak üzere toplam üç yapıyla ilgili faktörler, bu biyopolimerlerin fizyolojik ve teknolojik fonksiyonları üzerinde belirgin bir etkiye sahiptir.

Moleküler Yapı EPS'lerin moleküler yapılarını oluşturan bağlantılar (α/β ve 1→3, 4, 6) ve bunların birleşimleri (izomerler ve fonksiyonel gruplar) onların fizikokimyasal ve işlevsel özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir (Zhou vd., 2019). EPS polimerik zincirinde yer alan (1→4) omurga bağlantıları, (1→2) ve (1→3) olanlara göre yapıya daha fazla sertlik kazandırır. Bu durumun olası nedeni, para- pozisyonun yapıya meta- ve orto-pozisyona göre daha kuvvetli bir şekilde kesme gerinimine dayanma yeteneğini kazandırması ve köşelerdeki glikozidik bağların yüksek yapılı EPS'lerden düşük yapılı EPS'lere dönüşebilmesi için kolayca ayrışabilmesi olarak bildirilmektedir (Du vd.,2017). Bu sebeple bozunumu zor olan 1→4 bağlantılarına (para-) sahip EPS'ler genellikle yüksek viskozite, güçlü anti-mikrobiyal ve kolesterol düşürücü aktivitelerle karakterize edilmektedir. Şekil 1.4 (a) moleküler yapıyı demir tel modellemesine göre tasvir etmektedir. (1→4), (1→3) ve (1→2) bağlantıları sırasıyla 180°, 120° ve 60° açılı demir tel ile temsil edilebilir, F1 & F2 & F3, farklı koşullar altında gerilime dirençli kuvvetleri gösterir. Bu nedenle, üç yapı sırasıyla en katı, daha katı ve katı olarak karakterize edilebilir (Zhou vd., 2019).

Dekstranın yapısı, α -1,2, α -1,3 ve α -1,4 sekonder bağlantıları aracılığıyla dallanan α -1,6 glikozidik bağlardan (toplam bağlantıların>%50'si) oluşur. Alternan ise yapısında değişen oranlarda α -1,6 ve α -1,3 glikozidik bağlantıları ve bazı α -1,3 dallarını içermektedir. Bu yapı ona yüksek çözünürlük, düşük viskozite ve mikrobiyal ve enzimatik hidrolize karşı direnç özelliklerini kazandırır. Mutan, genellikle *Streptococcus mutans* tarafından sentezlenen lineer yapıda bir polisakkarittir. Sahip olduğu α -1,3 (> %50) bağlantıları onların düşük suda çözünürlüğünden sorumludur (Mende, 2020; Monsan vd., 2001). Yapısal ve işlevsel özelliklerin geliştirilmesinde başka bir önemli faktör karakteristik fonksiyonel grupların (karboksil grupları) etkisi ile ortaya çıkmaktadır. Yapıda yer alan fonksiyonel gruplar moleküller arası hidrojen bağı etkileşimlerini güçlendirmek için daha fazla yalnız çift elektron sağlayabilirler ve ardından yüksek viskozite, antimikrobiyal ve kolesterol düşürücü aktivitelerin gelişimine yardımcı olurlarken diğer taraftan bu negatif gruplar EPS'lerin hidrolizini kolaylaştırmak için asidik bir ortam oluşturabilirler (Tang vd., 2018; Zhou vd., 2019). Allosterik ve stereospesifik özelliklere α/β , izomerler ve sarmal konfigürasyon gibi faktörler katkıda bulunur. Bu faktörler biyomakromoleküllere, potansiyel biyoaktif ilişkili

proteinler ve sinyallerle etkileşime girme yeteneği sağlar. Yapıda yer alan α -bağları, β -bağlarına göre daha esnektir (Laws vd., 2001), hidroksil grupları, hidrojenlere kıyasla daha büyük bir grup olarak kategorize edilir, α -konfigürasyonlu hemiasetal hidroksil, daha geniş bir uzama aralığı ve monosakkarit içinde diğer atomlar tarafından uygulanan daha zayıf bir kuvvet taşır. Şekil 1.4 (b), α -konfigürasyonunun ve β -konfigürasyonunun karşılaştırmasını basitçe göstermektedir. Sırasıyla kırmızı ve yeşil oklar, bitişik oksijen atomu ve para pozisyonundaki hidroksimetil grubu tarafından uygulanan kuvvetleri ifade eder ve α -konfigürasyonundaki hidroksil, β -konfigürasyonundakinden daha zayıf bir kuvvet alır, dolayısıyla α -hidroksil, geniş genişleme aralığı ve büyük esneklik gösterir (Zhaou vd.,2019).



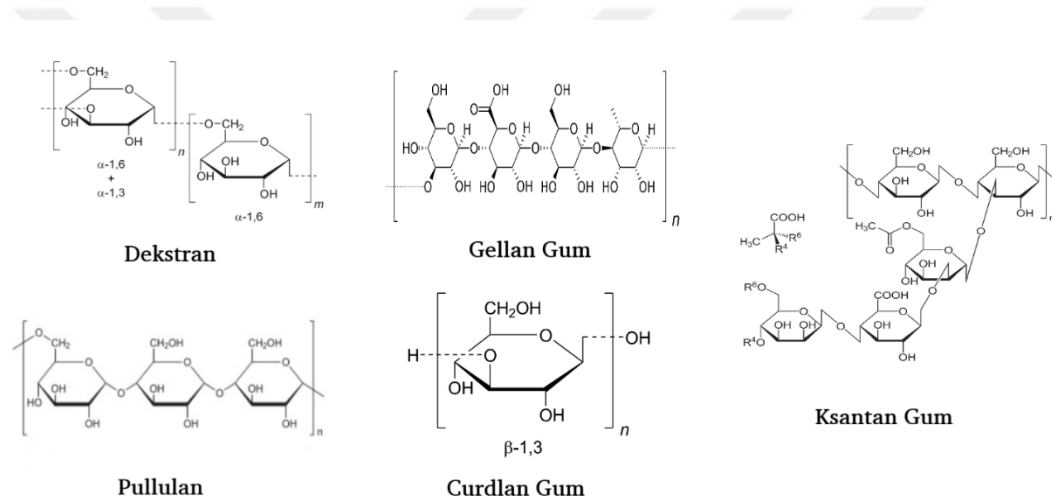
Şekil 1.4 EPS'lerin yapısı ve özellikleri arasındaki ilişki (Zhaou vd.,2019)

Zincir Uzunluğu ve Molekül Ağırlığı EPS'nin zincir uzunluğu, onun fizikokimyasal ve biyolojik özellikleri üzerinde büyük ölçüde etkilidir. Bu durum zincir uzunluğunun artmasıyla birlikte güçlü molekül içi kuvvetlere (kimyasal bağlar) atfedilmektedir. Zincir uzunluğu ile viskozite arasında doğrusal bir ilişki olduğu kabul edilmektedir (Du, vd., 2017; Zhaou vd.,2019). HoPS yapıda EPS'ler bir tür monosakkaritten, esas olarak glikoz veya fruktozdan ve daha az ölçüde galaktozdan oluşmaktadırlar ve genellikle 10^5 ila 10^7 Da arasında bir moleküler kütleyle sahiptirler. Dekstranlar 440 MDa'ya kadar moleküler ağırlığa sahip olup zincirlerinin uzunluğuna göre iki tipte sınıflandırılabilir; moleküler ağırlığı 40 kDa'dan küçük olanlar basitçe *dekstranlar* (düşük moleküler ağırlıklı dekstran) olarak adlandırılırken, moleküler ağırlığı 40 kDa'dan fazla olanlar *oligodekstranlar* (yüksek moleküler ağırlıklı dekstran) olarak adlandırılabilir (Heinze vd., 2006; Díaz-Montes, 2021). Dekstranın hem moleküler ağırlığını hem de dallanmasını çeşitli faktörlerden etkilenebilir; örneğin, 25 °C'den daha yüksek fermantasyon sıcaklıklarında, daha fazla dallanma gözlemlenirken, 25 °C'nin altındaki sıcaklıklarda ise daha yüksek moleküler ağırlığa sahip dekstran elde edilebilir. Ayrıca sakaroz konsantrasyonundaki artışın dekstran verimini azalttığı, ancak dallanma derecesi de arttırdığı bildirilmiştir (Díaz-Montes, 2021).

Substituent Gruplar: Sübstitüsyonel modifikasyonlar sülfonasyon, fosforilasyon, asetilizasyon ve selenilasyon gibi mekanizmalar içermektedir ve bunlar EPS'lerin fizikokimyasal ve biyolojik aktiviteleri üzerinde olumlu veya olumsuz etkilere sahiptirler. Bunlar polimerlerin suda çözünürlüğünü iyileştirme veya uygun moleküler konfigürasyonu modüle etme şeklinde olabilir. EPS'lerin biyoaktiviteleri için gerçekten önemli olan ise kökenleri değil temel kimyasal yapılarıdır (Zhou vd., 2019).

1.1.5 Gıda Endüstrisinde Mikrobiyal Polisakkaritlerin kullanım İmkanları

Çoğu gıda sistemi kendi içinde kolloid bir yapı sergiler. Soslar, mayonezler gibi ürünler suyun ve diğer bileşenlerin yer aldığı sudaki yağ emülsiyonları şeklindedirler. Kullanılmadan önce sulandırılması gereken kurutulmuş halde pazarlanmakta olan emülsiyon içeren bazı gıda sistemleri de bulunmaktadır. Bu tür emülsiyon gıda ürünleri için stabilizasyon önemlidir ve bunun için polisakkaritler kullanılmaktadır (Akbarzadeh vd., 2013). Endüstriyel anlamda önemli kullanılan mikrobiyal kaynaklı polisakkaritlere bakıldığında, ksantan, pullulan, gellan veya curdolan olarak adlandırılan polisakkaritlerin varlığı bilinmekle beraber endüstriyel ölçekte genel olarak HoPS yapıda olan dekstran kullanılmaktadır (Şekil 1.5).



Şekil 1.5 Endüstriyel olarak kullanılan mikrobiyal polisakkaritler

Ksantan gum (XG), özellikle kuru karışım gıda ürünlerinde olmak üzere birçok emülsiyon gıda sisteminde yaygın olarak kullanılan bir polisakkarittir. XG endüstriyel olarak sıklıkla kullanılan, 4.05×10^3 kDa ve 214.21 dl/g $[\eta]$, *Xanthomonas campestris* türleri tarafından üretilen bir hücre dışı polisakkarittir. XG Saf *Xanthomonas campestris* kültürlerinin glikoz veya sukroz sulu çözeltilerinin aerobik fermantasyonu ile üretilir. Seçilen bakteri suşunun inokülasyonundan sonra, yaklaşık 3 gün boyunca 30 °C'de sürekli olarak fermantasyon gerçekleştirilir (Imeson, 2010). Bir trisakarit yan zinciri ile (1,4)- β -D-glikozun ana zincirinden oluşur. Yüksek sıfır-kesme viskozitesi ve kesme inceltme davranışı nedeniyle, XG çözeltisi dispersiyonları ve emülsiyonları stabilize etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Razavi vd., 2020). Bileşenlerin orijinal ayrı

fazlarına geri dönmesini engeller ve gıda ürünleri için çok önemli olan uzun süreli stabiliteyi korur (Jindal & Khattar, 2018). Polisakkaritlerin gıda endüstrisindeki diğer bir önemli rolü, sulu fazı jelleştirmektir. Polisakkarit molekül yapısında yer alan hidrojen bağları ve iyonik etkileşimler, sulu fazda düzenli polisakkarit konformasyon yapısı ile sonuçlanır ve bu da jel yapısının gelişmesine olanak sağlar (Brunchi, vd., 2014). Gellan sakızı, *Sphingomonas elodea* tarafından fermantasyon yoluyla üretilen hücre dışı polisakkarittir. Bu polisakkarit, 1.5:1:1 moleküler oranda D-glukoz, L-ramnoz ve D-glukuronik asit yapı taşlarından oluşan lineer düz zincirli, anyonik bir heteropolisakkarittir. Zincir, α -(1→3) bağlantısındaki β -(1→4)-bağlı glikoz, glukuronik asit, glikoz ve ramnozun birbirine bağlandığı tekrar eden tetrasakkarit birimlerinden oluşmaktadır (Ferreira vd., 2016). Gıda endüstrisinde jelleştirme maddesi olarak potansiyel kullanımları olan bu mikrobiyal kökenli polisakkarit karragenana benzer özellikler taşır. Jelleşmenin meydana gelmesi için hem gellan hem de karragenan, tek değerlikli ve iki değerlikli iyonlara ihtiyaç duyar. Bu katyonların yapısı ve konsantrasyonu erime ve jelleşme sürecinde histerezis ve jel gücü üzerinde etkilidir (Sousa vd., 2013).

Gellan sakızı, farklı gıda uygulamalarında koyulaştırıcı, bağlayıcı ve dengeleyici olarak kullanılır. Esas olarak tatlılar ve jöleler gibi su bazlı jelleri stabilize eder. Özellikle vegan ürünlerde ve yoğurt ve ekşi krema gibi bazı süt ürünlerinde jelatin ikamesi olarak dikkat çekmektedir. Ayrıca düşük kalorili (şekersiz) reçellerde pektin yerine de kullanılmaktadır. Şekerleme endüstrisinde nişastalı şekerlemelerin sertleşme süresini kısaltmayı sağlar ve şekerlerin sıcaklıktan etkilenecek kaldığında birbirine yapışmasını da engeller (Saha & Bhattacharya, 2010). Gellan kullanılarak yapılan jöleler oldukça berrak bir yapı sergiler ve ağızda jelatine benzer bir his vermek için sadece %0,2 gellan yeterlidir (Komlenic vd., 2012; Jindal & Khattar, 2018). Diğer bir HePS yapıda mikrobiyal polisakkarit olan curdolan ise patojenik olmayan bakteri *Agrobacterium biobar* ve *Alcaligenes faecalis* mutantları tarafından hücre dışı bir süreçte üretilir (Zhang & Edgar, 2014). Kokusuz beyaz bir tozdur. Sulu çözeltilerinde 54°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ve sulu alkali çözeltilerde çözünür. Çözelti ısıtıldığında şişmeye başlar ve güçlü bir elastik jel oluşturur. Jel oluşturma gücü agar ve jelatin arasındadır (Saha & Bhattacharya, 2010). Curdolan erişte, sosis, reçel ve jöleler gibi çeşitli gıda ürünlerinin dokusunu geliştirmek için kullanılmaktadır. Pişmiş gıdaların şeklini korumaya yardım eder,

kalınlığını ve stabilitesini artırır (Farris & Piergiovanni, 2008; Jindal & Khattar, 2018).

Pullulan, yaygın olarak "kara maya" olarak adlandırılan ve bir mantar türü *Aureobasidium pullulans* tarafından fermantasyon yoluyla üretilen hücre dışı bir glukandır. Pullulan'ı saflaştırma işlemi birkaç aşamalı olup öncelikle mikrobiyal hücreler, süzme yoluyla sıvı besiyerinden uzaklaştırılır sonrasında renk giderimi için aktif karbon ile dekolorizasyon işlemi uygulanır. Süzüntüde istenmeyen tuzları ve proteinleri uzaklaştırmak için bir iyon değiştirme kromatografisine tabi tutulur. Çözelti konsantre edildikten sonra kurutulur. Pullulan, esasen maltotrioz birimlerinden oluşan lineer, homopolisakkarittir (Mariod & Fadul, 2013; Jindal & Khattar, 2018). Gıdalarda bağlayıcı, koyulaştırıcı (%0,2-%3) ve kaplama maddesi olarak kullanılmaktadır. Yaygın olarak hazır içeceklerde, kremalarda, soya soslarında, diğer soslarda, tatlılar ve şekerlemelerde kullanılır. Özellikle biyolojik olarak parçalanabilen yapısı ve düşük kalorili bir gıda katkı maddesi olarak kullanımı ile ilgi çeker. Kaplama materyali olarak jelatinin yerine kullanılabilir (Ferreira vd., 2016).

Endüstride sıklıkla kullanılan dekstran ise GRAS kabul edilen *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512 kültürü yoluyla elde edilmektedir. Dekstran unlu mamuller açısından yumuşaklığı, kırıntı dokusunu ve somun hacmini iyileştirir. Şekerleme ürünlerinde kristalleşmeyi önlediği, nem tutmayı iyileştirdiği, viskoziteyi artırdığı ve lezzeti koruduğu için dengeleyici olarak kullanılır. Alkolsüz içeceklerde, sütli içeceklerde ve buzlanma bileşimlerinde de tercih edilir. Dekstranların kokusuz, tatsız ve toksik olmaması nedeniyle bu özelliklerin diğer stabilizatörlere göre avantajları olduğu düşünülmektedir (Díaz-Montes, 2021; Kothari vd., 2014).

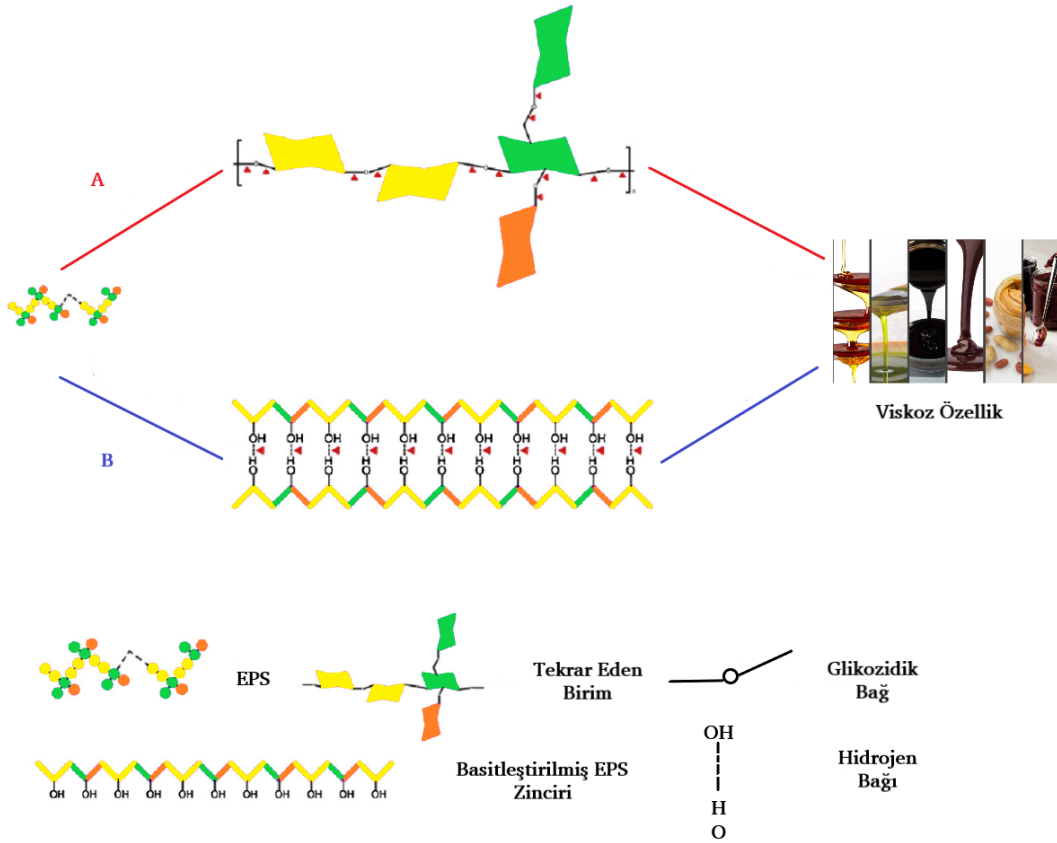
Son zamanlarda çoğu araştırmacı, LAB'nin sahip olduğu GRAS statüsü sebebiyle, gıda ve tıbbi uygulamalarda kullanılmak üzere yeni EPS türlerinin keşfi için bu bakterilere yönelmişlerdir. Bakteriyel EPS'ler elde edildikleri kaynaklara göre çeşitlilik göstermektedir. Örneğin; süt ürünleri kaynaklı EPS'ler genel olarak heteropolimerik (HePS) yapıda iken tahıl kaynaklı fermente ürünlerden elde edilen EPS'ler fermantasyon ortamındaki şeker kaynağı ile ilişkili olarak homopolimerik (HoPS) yapıdadır. Yukarıda bahsedildiği gibi endüstriyel anlamda önemli EPS'lere

bakıldığında, ksantan, gellan, pullulan veya curdolan olarak adlandırılan EPS'lerin varlığı bilinmekle beraber endüstriyel ölçekte kullanılan HoPS yapıda kullanılan mikrobiyal polisakkarit ise dekstrandır. LAB'leri her iki türde de EPS üretebilme kabiliyetinde olup HePS yapıda EPS'ler daha karmaşık bir biyosentez mekanizmasına sahip olmaları ve üretim için daha fazla miktarda enzime ihtiyaç duymaları sebebiyle çok daha az oranda üretilmektedirler. Buna karşılık HoPS yapıda bir EPS üretimi için daha basit bir metabolik yol izlenmekte olup ortamda karbon kaynağı olarak sükkroz, enzim olarak ise glukansükraz veya fruktansükraz varlığı yeterli olmaktadır. Bu duruma bağlı olarak da daha fazla oranda EPS üretilmektedirler (Mende vd., 2020; Bounaix vd., 2009). Literatüre bakıldığında EPS üreten türler için çoğunlukla yoğurt, kefir gibi fermente süt ürünleri ve ekşi hamur başta olmak üzere çok çeşitli fermente ürünlerde çalışılmıştır (Galle ve Arendt, 2014). EPS üreticisi pek çok LAB türü şimdiye kadar izole edilmiş, bazılarının karakterizasyonu ve fonksiyonel özellikleri değerlendirilmiş olsa da endüstriyel kapsamda kullanılabilen tür sayısı kısıtlıdır. Çeşitli alanlarda yararları olan bu doğal polimerlere olan talep ise her geçen gün artmaktadır.

Yoğurt, peynir, ekşi hamur, turşu, boza gibi fermente pek çok ürünün oluşumunda yer alan ve GRAS özellikteki LAB'lerinin üretmiş oldukları metabolik son ürünler, gıdaların raf ömrü ile reolojik ve duyuşal özelliklerinin geliştirmeleri açısından gıda endüstrisi için oldukça önemlidir. *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* ve *Weissella* gibi çoğu starter ve ilave kültürler ise ekstrasellüler polisakkaritler (EPS) üreterek bu tür gıdaların tekstür ve organoleptik özelliklerini olumlu bir şekilde etkilemektedirler. LAB tarafından üretilen bu EPS'lerin tekno-fonksiyonel özellikleri genellikle su bağlama ve nem tutma özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Angelin & Kaitha, 2020; Taylan vd, 2019; Lynch vd., 2018; Miao vd., 2015).

Sahip oldukları viskozite arttırıcı reolojik özellikleri ve sinersizi azaltıcı su bağlayabilme kapasiteleri sebebiyle EPS'ler ayrıca ilgi çekmektedir. EPS'ler yapılarında sahip oldukları tekrar eden birimlerin fazlalığı sebebiyle gıdalara yüksek viskozite ve reolojik özellikler kazandırmaktadırlar. Büyük polimerizasyon derecesi ve EPS'lerin önemli hidroksil kombinasyonlarını bu özelliğe yol açan ana sebepler olarak görülmektedir. Diğer taraftan EPS'lerin, karbonhidrat molekülleri

içinde çok sayıda yüksek enerjili kimyasal bağları içermesi ve yüksek polimerizasyon ve dallanma derecelerine sahip olmaları onların katı ve sert özelliklerle karakterize edilmesini sağlar. Öte yandan, büyük oranda hidroksil grupları moleküller arası etkileşimi güçlendirir ve sonuç olarak içsel viskozite ve reolojinin geliştirilmesine yardımcı olur (Şekil 1.6).



Şekil 1.6 EPS yapısı ve viskoziteye etkisi (Zhaou vd.,2019)

*Sırasıyla kırmızı ve mavi yollarla işaretlenmiş iki ana faktör, molekül içi glikozidik bağlar (A) ve moleküller arası hidrojen bağları (B), viskozite ve reolojiye katkıda bulunur. Hem çok sayıda yüksek enerjili kimyasal bağ (glikozidik bağlar) hem de hidroksil bağlar molekül içi ve moleküller arası etkileşimi güçlendirir ve bu nedenle yüksek viskozite ve reoloji gelişebilir.

EPS üreten LAB'leri gıdaların tekstür, ağız hissi ve stabilitesini geliştirici özellikleri ile yeni gıda ürünlerinin üretimine katkı sağlar. Özellikle viskozlaştırıcılık, emülsifiye edicilik, biyokalkınlaştırıcılık ve stabilize edicilik gibi gıda üretiminde istenilen fonksiyonel etkilere sahiptirler. Gıda ürünleri için istenilen bu özellikler sıcaklık, pH ve iyonik güç ile ilişkilendirilmekte olup EPS

kullanımı bu gibi durumların kısıtlayıcılığına karşı avantajlar sağlayabilmektedir (Angelin & Kaitha, 2020). Abid ve ark. (2018) yaptıkları bir çalışmada çeşitli fermente gıda ve içeceklerden tanımladıkları dört farklı LAB tarafından üretilen EPS'lerin DSC analizi ile termal stabilite özelliklerini tanımlamışlar ve tespit edilen yüksek erime noktalarına bağlı olarak elde edilen bu EPS'lerin termal işlem uygulanan gıdalarda kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde Yang ve ark. (2018) ise soya fasulyesi ezmesinden izole ettikleri *Leuconostoc pseudomesenteroides* YF32 türü tarafından üretilen dallanmamış dekstran yapısındaki EPS'nin yüksek termal stabilite ile yüksek çözünürlük ve emülsifiye edebilme kapasitesine sahip olduğunu belirterek elde edilen EPS'nin gıda katkısı olarak potansiyel olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Rajoka ve ark. (2018) yapmış oldukları daha geniş kapsamlı bir çalışmada EPS'lerin fonksiyonel özelliklerini incelemek için anne sütünden izole edilen altı farklı *Lactocaseibacillus rhamnosus* türü tarafından üretilip saflaştırılan EPS'lerin *in vitro* koşullarda floküle etme, emülsiyonlaştırma, çözünürlük, antioksidan, antibakteriyal ve anti tümör aktiviteleri ayrı ayrı karakterize etmişler ve izole edilen bu *L. rhamnosus* suşlarının gıda, biyotıp ve eczacılık endüstrilerinde büyük bir potansiyele sahip olduğu tespit ederken Feng ve ark. (2018) fermente ananastan izole ettikleri *Leuconostoc citreum* B-2 türü tarafından üretilen EPS'nin özelliklerini belirledikleri araştırmalarında elde ettikleri EPS'nin %80 oranında suda çözünebilir ve %450 oranında ise su tutabilme kapasitesine sahip olduğunu ve benzer kullanım alanlarında uygulanabileceğini belirtmişlerdir. Bazı durumlarda yoğurt formülasyonlarında stabilize edici olarak ucuz olması, sinersizi engelleyebilmesi ve viskoziteyi geliştirebilmesi gibi avantajlara sahip olan modifiye nişasta kullanılabilmektedir ancak EPS üreten LAB'nin starter olarak seçildiği ürünlerde ilave nişastaya ihtiyaç duyulmamaktadır. EPS üreten LAB türleri ile nişastanın yoğurtlarda sinersizi engelleyebilme özelliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada üç farklı EPS üreten tür (*Streptococcus thermophilus* ST1, *Lactobacillus delbrueckii* subps. *bulgaricus* LB1 ve *Lactobacillus delbrueckii* subps. *bulgaricus* LB2) kullanılmış ve fermantasyonu sırasında *in situ* olarak üretilen EPS gıda matriksindeki bileşenlerle etkileşime girerek tekstür özelliklerini geliştirirken nişasta ilavesinin set tip yoğurtların reolojik ve fiziksel özelliklerinde neredeyse hiç etkili olmadığını ifade edilmiştir (Gentes vd, 2016). EPS üreten LAB'nin glutensiz ürünlerde kullanımı da son zamanlarda oldukça dikkat çekmektedir. Yapısında gluten bulunmayan tahıllar ile

elde edilen son ürün gluten ağ tabakasının yokluğuna bağlı olarak yapısal, tekstürel, ağız hissi ve bayatlama derecesi açısından glutenli ürünlere göre yetersiz kalmaktadır. İstenilen yapıyı elde etmek için ise hidrokolloidler veya gumlar kullanılmaktadır. Ancak bu yapıların ürüne katkı olarak ilave edilmesi ürün etiketinde belirtilmelerini gerektirmektedir. Bu durum ise daha doğal ürünleri talep eden tüketiciler için negatif bir bakış açısı oluşturmaktadır. EPS üreten LAB'nin *in situ* olarak ürettikleri HoPS'ler, bu katkıların glutensiz ürünlerde kullanımının azaltılabilmesi veya ortadan kaldırılabilmesini sağlarken aynı zamanda etikette belirtilme şartı olmadığı için tüketicilerin talebi olan 'temiz etiketli' ürünlerin elde edilmesini sağlayabilmektedir (Lynch vd., 2018). Sebze içeren ürünlerde hidrokolloidler ve diğer katkıların kullanımını azaltarak temiz etiketli ürün talebinin karşılanabilmesi açısından umut verici olan bir çalışmada ise Juvonen ve ark. (2015) dekstran, levan ve/veya β -glukan üretebilen 16 farklı *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Weissella* türlerini kullanarak fermente sıvı havuç püresinin tekstür özelliklerini incelemişler ve az dallanma gösteren dekstranların üründe kalınlık ile beraber hoş a giden koku ve lezzet oluşturabildiğini , β -glukanların ise elastiklik üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir. EPS üreticisi türün gıda fermantasyon sürecine dahil edilerek ürünün kalite özelliklerinin geliştirilmesine yönelik *in situ* çalışmalar çoğunluğu oluşturmaktadır. Yılmaz (2014) dondurma, ayran ve sucuk örnekleri ile yapmış olduğu çalışmasında seçmiş olduğu EPS üreticisi suşların, farklı inkübasyon koşullarında bu ürünlerin özellikleri üzerine etkisini araştırmış ve bu tür suşların kullanımının ürün kalitesi üzerinde olumlu etkilere sahip olduğunu belirtmiştir. Broadbent ve ark. (2001) ise düşük yağ içerikli peynirlerde gelişen organoleptik kalite kayıplarının azaltılması amacıyla EPS üretici suşlar kullanmışlar. Yağ oranının azaltılmasına bağlı olarak gelişen sertlik ve erime ile ilişkili kalite kayıpları seçilen EPS üretici suşların nem ve erime özellikleri geliştirmesine bağlı olarak azaltılabilmektedir. Bu türlerin gıdalarda geliştirdiği kalite özelliklerinin daha ileriye taşınabilmesi için yapılan bir çalışmada gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan whey-protein konsantratları (WPC) fonksiyonelliklerinin artırılması amacıyla EPS üreticisi türler ile modifiye edilmiş ve kültür koşulları ve seçilen türün özelliklerine bağlı olarak elde edilen bu yeni WPC'lerinin jelleştirme kabiliyetinin geliştiği, emülsifiye etme kapasitesinin arttığı ve protein denaturasyonun azaldığı belirtilmiştir (Deep vd., 2012). Sun ve ark., (2018) ise yaptıkları bir çalışmada mayonezlerde yağ içeriğini düşürebilmek için

mikro partiküle edilmiş whey protein-pektin kompleksi kullanmışlar ve bu kompleksin yağ ikamesi olarak değerlendirilebileceğini belirtmişlerdir. Yukarıda bahsedilen çalışmalar ışığında, bitkisel bir polisakkarit olan pektin yerine benzer özellikler gösteren mikrobiyal polisakkaritler olan EPS'lerin kullanılmasının benzer şekilde umut verici olabileceği görülmektedir. EPS'lerin kullanılabildiği bir diğer yöntemi ise Ale ve ark., (2018) tarafından yapılan çalışmada olduğu gibi EPS üreticisi suşlar tarafından sentezlenen EPS'lerin ekstrakte edilip yeni bir gıda katkısı olarak değerlendirilmesidir. Yapılan bu çalışmada ekstrakt halinde elde edilen EPS yoğurda belirli miktarlarda ilave edilmiş ve bunun teknolojik, reolojik ve duyuşsal özelliklere olan etkisi gözlemlenmiştir ve sonuç olarak tekno-fonksiyonel özelliklerin geliştirilmesinde doğal gıda katkısı olarak EPS ekstraktlarının kullanılabileceği bildirilmiştir. Yine bu çalışmayı destekleyici olarak yapılan bir diğer çalışmada ise pişmiş dana sosislerine eklenen EPS'in fizikokimyasal, tekno-fonksiyonel özellikleri ile antioksidan aktivitesinin ürün üzerindeki etkinliği değerlendirilmiş ve pişmiş dana sosislerinin depolama stabilitesini geliştirdiği, doğal bir gıda katkısı olarak endüstride kullanılan sentetik polimerlerin yerine kullanılabileceği belirtilmiştir (Trabelsi vd., 2018)

1.1.6 Mikrobiyal Polisakkaritlerin Diğer Fonksiyonel Özellikleri

LAB tarafından üretilen EPS'ler gıdalara oluşturdukları tekno-fonksiyonel özelliklerin yanında sağlık üzerine olumlu etkilere sahip olmaları sebebiyle de önemli bileşenlerdir. Probiyotik bakterilerce üretilen EPS'lerin antioksidan, bağışıklık sistemini geliştirici, kolesterol düşürücü, anti-diyabetik, anti-ülser, anti-tümör ve antimutajenik gibi terapötik etkileri yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Soyuçok vd, 2016; Angelin & Kaitha, 2020). EPS'lerin konakçıya etkisi bağırsak mikrobiyotası ve gastrointestinal sistemde (GIT) epitele adezyon özelliklerine bağlı olarak oluşturduğu bağışıklık tepkileri ile ilişkilendirilmektedir. Bu biyolojik aktiviteler probiyotik bakterilerin geliştirilmesi sırasındaki fermantasyon koşulları ile ilişkili olarak farklı kaynaklardan elde edilen EPS'lerin spesifik konformasyonları, zincir uzunlukları ve moleküler ağırlıkları, monosakkarit kompozisyonu, glikozidik bağlar, kimyasal modifikasyonlar gibi değişikliklerden etkilenmektedir. Bununla birlikte, çeşitli polimer gruplarının kompozisyonel (bağlantı tipi, yüklü grupların varlığı) ve yapısal (molekül ağırlığı, dallanma) doğası

konakçı sağığı üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde önemlidir (Angelin & Kaitha, 2020; Lynch vd., 2018; Oerlemans vd., 2021). Yenilenebilir kaynaklardan sürdürülebilir olarak üretilebilmeleri, toksik olmayan özellikleri ve petrol bazlı yenilemez polimerlerle karşılaştırıldığında biyolojik olarak parçalanabilirlikleri ise endüstriyel açıdan önemli biyopolimerler olarak EPS'ye olan ilgiyi her geçen gün artmaktadır (Castellane vd., 2015).

Günlük diyetle alınan ve insan sağığı açısından çeşitli faydalara sahip olan diyet lifleri; oligosakkaritler, polisakkaritler ve onların türevleri olup bağırsak sistemindeki enzimler tarafından sindirilemeyen ancak üst sindirim kanalında özellikle probiyotik bakterilerce fermente edilerek emilebilir bileşenlere dönüştürülen yapılar olarak tanımlanır. Diyet liflerinin sağık üzerine olan etkilerini; (i) bağırsak geçiş süresinin azaltılması, (ii) kolorektal kanser riskinin azaltılması, (iii) kısa zincirli yağ asitlerinin üretimi, (iv) kan kolesterol seviyesinin düşürülmesi ve (v) faydalı bağırsak mikrobiyotasının büyümesinin teşvik edilmesi şeklinde sıralayabiliriz. LAB'nin üretmiş olduğu EPS'ler özellikle bu prebiyotik etkileri sebebiyle de dikkat çekmektedir. Prebiyotik bir besin takviyesi olarak EPS'lerin kullanılabilmesi için öncelikle gastrointestinal sistemin üst kısmında sindirilmeden ve absorbe edilmeden kolona ulaşmalıdır. İnsan sindirim sisteminde furuktan ve β -glukanları parçalayabilecek enzimler yoktur ve bu sebeple HoPS'ler sindirilmeden kolona ulaşabilir. *Pediococcus pentosaceus*, *Weissella confusa*, *Weissella cibaria* ve *Lactobacillus plantarum* gibi bazı LAB'leri tarafından üretilen dekstranların ise mide asidi ve pankreas amilazı gibi fizyolojik durumlara dirençli olduğu ve probiyotik *Bifidobacterium bifidum* türü için karbon kaynağı olduğu belirtilmiştir (Baruah vd., 2017). Düşük molekül ağırlıklı oligodekstranlar iyi bilinen prebiyotikler olan fruktooligosakkaritlere benzer bifidojenik etki gösterir ve kolonda istenmeyen bakteri seviyesini azaltabilir. Büyük boyutlu D-glukoz ünitelerinden oluşan homopolisakkaritler olan dekstranlar ise proksimal olarak tamamen fermente edilmek yerine bağırsak mikrobiyotası için kolon boyunca kalıcı fermente edilebilir karbonhidrat kaynağı oluştururlar. *Weissella cibaria* RBA12 türü tarafından üretilen dekstran-RBA12 ticari bir prebiyotik olan inülin ile kıyaslandığında sahip olduğu önemli derecedeki düşük sindirilebilirliği ve probiyotik bağırsak mikrobiyotası tarafından fermente edilebilirliği dekstran tip EPS'lerin verimli diyet lifi olarak kullanılabilirliklerini kanıtlamıştır. Kompleks

yapılarına bağılı olarak HePS EPS'lerinde sindirime karşı daha dirençli olduğu varsayılmaktadır (Lynch vd., 2018; Oerlemans vd, 2021; Castro-Bravo vd., 2018).

Reaktif oksijen türleri gibi yüksek seviyelerdeki serbest radikaller biyolojik makromoleküllerin ve dokuların hasar görmesine sebep olabildiklerinden insan vücudu için zararlıdır. Çeşitli dış faktörler, yaşam tarzı ve beslenme bozukluklarına bağılı olarak gelişen oksidatif stres kanser, ateroskleroz, romatoid arterit ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalıkların ortaya çıkmasına sebebiyet vermektedir. Antioksidanların tüketimi ise vücutta bozulan antioksidan ve serbest radikal dengesini antioksidanlar lehine değiştirerek olumsuz etkilerin azaltılabilmesini sağlar (Oerlemans vd, 2021; Angelin & Kaitha, 2020). Probiyotik bakteriler tarafından üretilen EPS'lerin potansiyel antioksidan aktivitelerine dair pek çok rapor bulunmaktadır. Bu bileşenlerin antioksidan etkinliğinin süperoksit anyonu ve hidrojen peroksidin degradasyonu, ROS'nin azaltılması ve metal şelatlama aktivitesi ile ilişkilendirilmiş ve gıda takviyesi veya ilaç salım sistemleri için kullanılabileceği bildirilmiştir (Angelin & Kaitha, 2020). Özellikle HePS'lerin yapılarında bulunan D-galaktoz, fruktoz, arabinoz ve mannoz gibi nötr polisakkaritlerin fazla olmasıyla ilişkili olarak daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Tükenmez & Aslım, 2018). Rani ve ark. (2018) tavuklardan izole ettikleri *Lactobacillus gasseri* FR4 türünden saflaştırdıkları HePS yapıda EPS'nin antioksidan aktivitesini *in vitro* koşullarda DPPH, hidroksil ve süperoksit radikali yakalayabilme özelliklerini değerlendirmişler ve konsantrasyon artışına bağılı olarak EPS'nin serbest radikal yakalama özelliğinin arttığını bildirmişlerdir.

Kanser, aşırı büyüme özelliğine sahip anormal hücrelerin replikasyonu sonucu dokuların istilası ve diğer organlarla metastazı olarak tanımlanan ve dünya genelinde en çok ölüme sebep olan ikinci sıradaki etkendir. Tedavi için uygulanan yöntemler ise istenmeyen çeşitli yan etkiler oluşturmaktadır ve bu da alternatif yolların aranmasına sebep olmaktadır. Üzerinde çalışılan en önemli alternatiflerden biri bazı gıdalar ve gıda bileşenleri üzerindedir. Özellikle fermente süt ürünleri ve sahip oldukları probiyotik etkiler konakçı sağlığını olumlu yönde etkilemektedir. Probiyotik canlı mikroorganizmaların insan bağırsağındaki kanser hücrelerinin zar yapısında bozulmayı tetiklediği bildirilmiştir ancak ilginç olarak LAB'nin ölü olan hücrelerinin ve onların metabolitlerinin de bu türlü etkilere sahip olabileceği *in vitro*

çalışmalarla tespit edilmiştir. Probiyotik bakterilerce üretilen EPS'lerin, tümör hücrelerinin, vakuolasyon, sitoplazma yoğunlaşması, nükleer parçalanma ve kromatin yoğunlaşması gibi karakteristik apoptotik morfolojik özellikleri üzerinde değişikliklere sebep olduğu gözlemlenmiştir (Baruah vd., 2017). EPS'lerin muhtemel kanser önleyici mekanizmasının; (i) tümör oluşumunu engellemesi (ii) kanser hücresi apoptozunun indüksiyonu (iii) bağışıklığın iyileştirilmesi şeklinde belirtilmektedir (Angelin & Kaitha, 2020).

EPS'lerin immün sistemi düzenleyici etkileri de yapısal özelliklerine bağlı olup genel olarak β -(1,3), β -(1,4) veya β -(1,6) bağları ile dallanmış zincirleri içeren polisakkaritlerin aktivite için gerekli olduğu bildirilirken, yapılan çalışmalar düşük molekül ağırlıklı EPS'lerin daha iyi immünomodulator aktiviteye sahip olabileceği bildirilmiştir. EPS'lerin immün sistemdeki farklı hücre tiplerini etkileyebildiği ve bağışıklık reseptörleri ile etkileşerek immün tepkiler oluşturabildiği tespit edilmiştir. Gastrointestinal sistem, mukozal bağışıklık sisteminde bulunan bağışıklık hücrelerinin neredeyse %80'ini içeren vücuttaki en büyük bağışıklık bölgelerinden biri olduğundan EPS gibi bakteriyel bileşenlerin bu bölge ile etkileşimi insan sağlığı açısından oldukça önemlidir (Oerlemans vd., 2021; Tükenmez & Aslım, 2018). Taylan ve ark. (2019) ekşi hamurdan izole ettikleri *Leuconostoc mesenteroides* S81 türü tarafından üretilen levan tip EPS'nin *in vitro* koşullarda yüksek oranda immünomodulator etki ve antioksidan kapasite gösterdiğini belirlemişlerdir.

LAB'leri tarafından üretilen pek çok bileşenler gibi EPS'ler de antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. EPS'lerin patojenik bakteriler üzerinde antagonist etkisi yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla tespit edilmiştir (Castro-Bravo vd., 2018; Angelin & Kaitha, 2020). Probiyotik türlerin *in vitro* olarak test edilen fenotipik özelliklerinden biri patojenlerle bir araya gelebilme yeteneğidir. Bu kümeleşme özelliğın zararlı mikroorganizmaların bağırsak epiteline erişmesini engellediği düşünülmektedir. Yüksek oranda EPS üretebilen *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* türünün *Escherichia coli* ile bir araya toplanabilme yeteneği olduğu bildirilmiştir (Castro-Bravo vd., 2018). Zivkovic ve ark. (2016) *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2-8 ve onun EPS üretmeyen mutant türü ile Caco-cells kullanarak *in vitro* olarak yaptıkları bir çalışmada, EPS üreten doğal türün *E. coli*'nin inhibisyonunda etkili olduğunu göstermişlerdir.

Mikroorganizmalar, birbirleri ile iletişim halinde bulundukları biyofilm olarak adlandırılan çok hücreli kümeler veya topluluklar halinde bulunabilirler. Biyofilm yapısı bu mikroorganizmalara canlı/cansız yüzeylere tutunabilme ve buralarda çoğalabilme özelliği sağlamak ve onları olumsuz çevresel faktörlere karşı dirençli olmalarını sağlayarak veya konakçı bağışıklık sisteminden koruyarak daha uzun süre varlıklarını devam ettirebilmelerine sebep olmaktadır. Bu dirençli yapılar gıda güvenliği, sağlık ve endüstriyel üretim açısından önem arz etmektedir (Wang vd, 2015). Özellikle biyofilm oluşturan bozulma yapan ve patojen mikroorganizmalar, gıda bozulmalarına, biyolojik kirlenmelere ve kronik ve tekrarlayan enfeksiyonların etkili bir şekilde tedavi edilememesine sebep olabilmektedir (Wang vd., 2020). Wang ve ark. (2019) *Lactiplantibacillus plantarum* YW32 türü ile yaptıkları geniş kapsamlı bir çalışmada üretilen EPS'nin *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* veya *Escherichia coli* gibi patojenik türlerin oluşturduğu biyofilm tabakasını etkili bir şekilde inhibe ettiğini ve anti-biyofilm ajanı olarak EPS'lerin kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Diğer bir açıdan bakıldığında probiyotik LAB'nin sağlığı geliştirici etkileri onların hücre yüzey karakteristikleri GIT'de tutunabilme kabiliyetleri ile ilgilidir. LAB sahip oldukları EPS üretebilme kabiliyetleri ile hem kendilerini mide asidi ve safra tuzu gibi dış etkilere karşı koruyabilmekte hem de bağırsak yüzeylerine tutunup burada kolonize olarak sağlık üzerine faydalı olan etkilerini gösterebilmektedirler. EPS'lerin sahip oldukları özellikler ise bakterilerin tutunma ve kolonizasyon yeteneklerini etkileyen hidrofobisite ve Zeta potansiyeli gibi fizikokimyasal hücre yüzey karakteristiklerini etkileyebilmektedir (Dertli vd., 2015; Wang vd., 2020).

Yukarıda verilen bilgiler ışığında katma değeri yüksek fonksiyonel ve doğal ürünlerin üretiminde EPS üreten LAB'nin ve EPS'lerinin izole edilerek tanımlanması günümüzde önemli bir araştırma alanı oluşturduğu söylenebilmektedir. LAB'nin üretmiş oldukları EPS'lerin çeşidi genetik faktörlerle birlikte bulundukları ortam ve gelişme şartları (sıcaklık, inkübasyon sıcaklığı ve süresi, karbon: nitrojen oranı, pH, vitamin ve mineraller), fizikokimyasal ve kinetik parametreler ve bakteri tarafından kullanılan karbon kaynağı gibi pek çok faktör ile ilişkilidir. Yüksek seviyelerde EPS üretebilen genetiği değiştirilmiş organizmaların kullanımı ise hala sınırlı olduğundan doğal ekolojik ortamlardan yabani LAB

suşlarının biyolojik çeşitliliğinin araştırılması istenilen EPS fenotipinin aranmasında en uygun yaklaşımdır.

1.2 Tezin Amacı

Son zamanlarda tüketiciler tarafından sağlıklı gıda kavramı “temiz etiketli” ürünler olarak daha az miktarda katkı ve kimyasal bileşen içeren ürünler ile ilişkilendirilmektedir. Tüketicilerin sahip olduğu bu farkındalık göz önüne alındığında, gıda güvenliğinin sağlanması ve aynı zamanda tüketicilerin temiz etiketli gıda taleplerinin karşılanması için doğal maddeler üzerinde yapılan çalışmalar giderek önemini arttırmaktadır (Moradi vd,2021). Gıda sektörü açısından, tarladan çatala konseptinde her aşamada gıda güvenliğinin sağlanması, gıda israfının önlenmesi için raf ömrünün uzatılması ve aynı zamanda besin değeri yüksek ürünler elde edilmesi öncelikli amaçlar arasındadır. Tüm bu faktörleri ve günümüz tüketicilerinin isteklerini karşılayabilmek için ise halihazırda kullanılmakta olan kimyasal katkılara ikame olabilecek hem gıda güvenliğini sağlayabilecek hem de tüketici sağlığını geliştirici fonksiyonel özelliklere sahip düşük maliyetli doğal metabolitlere ihtiyaç vardır (Yılmaz,2014).

Baklagil ve tahıl taneleri insanlığın başlangıcından itibaren tüketilen en önemli besin kaynaklarıdır. Günümüzde ise özellikle fonksiyonel gıdalara olan ilginin arttığı şu dönemlerde insanlar beslenme ihtiyaçlarını karşılarken aynı zamanda sağlık açısından da fayda sağlamak istemektedirler. Bu sebeple, yüksek besinsel değerlere sahip bu tanelere olan ilgi her geçen gün artmaktadır. Ancak bu taneler faydalarının yanında özellikle sağlık üzerinde olumsuz etki oluşturabilecek bazı antinutrient bileşenler içerebilmekte ayrıca benzerlerine oranla teknolojik olarak bazı durumlarda kullanılabilirlikleri kısıtlı olabilmekte ve istenilen kalite kriterlerini sağlayamamaktadır. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak için ise son zamanlarda tahıl ve baklagil tanelerine çimlendirme ve fermantasyon gibi bazı ön işlemler yapılarak teknolojik ve besinsel anlamda değerleri yükseltilmektedir. Ancak henüz bu ön işlemlere tabi tutulmuş olan tanelerden elde edilebilecek ve teknolojik açıdan değerli olabilecek olan EPS üreticisi LAB’leri ile ilgili yeterli çalışma mevcut değildir. Bu kapsamda tezin amacı farklı tahıl taneleri ile üretilecek ön fermantasyon sıvılarından homopolimerik α -glukan tipinde EPS üreticisi LAB türlerine ait uygun suşlar izole edilmesi, bunların genotipik olarak tanımlanması,

ürettikleri EPS'lerin kimyasal karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi ve bu EPS'lerin gıda uygulamalarında değerlendirilmesidir. Bu amaçlar doğrultusunda yapılması planlanan çalışmalar şu şekilde sıralanabilir;

- 1) Ülkemizde yaygın olarak kullanılan buğday, nohut, yeşil mercimek ve beyaz fasulye tanelerinin işlem görmemiş unları ile besinsel profili değiştirecek çimlendirilme işlemi uygulanması sonucunda elde edilecek tanelere ait unların ön fermentasyona tabi tutularak LAB izolasyonu için ortamların hazırlanması.
- 2) İzolasyon ortamlarından teknolojik açıdan değerli olabilecek α -glukan tipinde EPS üreticisi LAB türlerine ait suşların izolasyonu.
- 3) İzole edilen LAB'lerin genomik olarak tanımlanması ve EPS üreticisi suşların tespit edilmesi
- 4) En iyi verimde EPS üretici olan iki suşun seçilerek EPS'lerin kimyasal karakterizasyonunun gerçekleştirilmesi
- 5) Karakterize edilen EPS'lerin gıda uygulamalarında değerlendirilmesi

1.3 Tezin Hipotezi

Bu çalışma kapsamında EPS üreten türlerin izolasyonu için ekşi hamur üretiminde kullanılan ön fermentasyon sıvıları kullanılacaktır. Literatür incelendiğinde ekşi hamur kaynaklı LAB türlerine dair pek çok çalışma olduğu gözlemlenmiştir. Geleneksel ekşi hamur prosesine bakıldığında üretim back-slopping denilen yöntem ile ilerlemekte olup bu yöntemde ortam belirli aralıklarla tazelenmekte ve var olan mikrobiyota canlı ve kuvvetli tutulmaya çalışılmaktadır. Ekşi hamur mikroflorasına bakıldığında LAB'leri ve mayalardan oluştuğu ve aralarında 100:1 şeklinde bir oran olduğu görülmektedir. LAB'leri arasında hâkim olan türlerin ise genellikle heterofermantatif özellikte oldukları belirtilmektedir (Dertli vd.; 2016). Bu duruma sebep olarak özellikle eski kültür ekşi mayalarda bu türlerin adaptasyon yeteneklerinin fazla olması gösterilebilmektedir. Sonuç olarak ise şimdiye kadar ekşi hamur ile yapılan çalışmalarda izole edilen LAB türleri genellikle rekabet yeteneği yüksek, ortama daha iyi uyum sağlayabilen bu türlerdir. LAB tarafından üretilen EPS'ler yüksek oranda bakteriyel suşa özgü olmakla beraber, ortamın kompozisyonu, hücrenin yaşı, pH ve sıcaklık gibi faktörlerden de etkilenmektedir

(Nataraj vd., 2020). Bu kapsamda bakıldığında, farklı türlerde unların, yan bileşenlerin ve fermantasyon yöntemlerinin kullanıldığı kültürel ve coğrafi olarak değişik kimliklere sahip, çeşitli geleneksel ekşi hamurlar birbirinden farklı LAB mikrobiyotasına sahip olduğu belirtilmektedir (Dertli vd., 2016). Bu bilgiler ışığında, ülkemizde ekşi hamur üretiminde yaygın olarak kullanılan buğday ile daha az yaygın olan nohut ve daha önce kullanılmamış olan yeşil mercimek ve beyaz fasulye, sahip oldukları zengin besinsel profiller sebebiyle, EPS üreticisi LAB türlerinin izole edilebileceği düşünülen, ön fermantasyon sıvılarının hazırlanmasında hammadde olarak kullanılacaktır. Yapılan araştırmalara bakıldığında, fermantasyonun başlangıç aşamasında ortam şartları ekşi hamura göre değişiklik gösteren, ilk fermantasyon sıvılarına ilişkin çalışmalara rastlanmamıştır. Bu kapsamda doktora tez çalışmamızın ilk hipotezi, bu ilk fermentasyon sıvılarında homopolimerik EPS üretim kabiliyetinde olabilecek ancak şartların değişmesine bağlı olarak ilerleyen aşamalarda canlılığını devam ettiremeyen LAB türlerinin ve onların EPS yapılarının ortaya çıkarılabileceği düşüncesidir. İkinci olarak ise bu EPS yapılarının gıdalarda tekno-fonksiyonel özellikleri geliştirici ajanlar olarak kullanılabilecekleridir.

EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİCİSİ LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU ve EPS'LERİN KARAKTERİZE EDİLMESİ

2.1 Giriş

Tahıllar ve baklagiller, beslenme profillerini iyileştirmeyi veya kullanılabilirliklerini artırmayı hedefleyen orijinal olarak, öğütülmüş, çimlendirilmiş, fermente edilmiş veya ısıtılmış formlarında kullanılabilir. Çimlendirme ve fermentasyon bilinen en eski ve iyi uygulamalardandır. Çimlenme sırasında tanelerin depo dokularındaki rezervler, düşük molekül ağırlıklı bileşiklere hidrolize edilerek büyümeyi desteklemek için immobilize edilir (Bewley, 2001; Montemurro vd., 2019). Tohumlar, dormansiye kırıldığında koruyucu yanıt olarak riboflavin, tiamin, biotin, pantotenik asit, niasin, C vitamini, tokoferoller ve fenolik bileşikler gibi birçok biyoaktif bileşen sentezler ve bunların kullanılabilirliğini artırır (Donkor ve ark., 2012). Çimlenen tanelerde ayrıca hidrolitik enzimler aktivite kazanır ve yeni enzimler sentezlenir. Bu süreç, şekerler, çözünür diyet lifleri, peptitler ve amino asitler gibi daha fazla kullanılabilir besleyici bileşiklerle sonuçlanır. Tahıl bazlı fermente gıdaların üretiminde fermentasyonun farklı süreçleri LAB için önemli kaynaklardır. Çimlendirme işlemi ise tahılların besinsel profillerindeki değişiklikler ile ilişkili olarak, farklı LAB türleri için kaynak olabilir (Hung vd., 2012; Liptáková vd., 2017). Ancak çimlendirme işlemine tabi tutularak fermente edilmiş farklı tahıl ve baklagillerin mikrobiyal profilleri hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Bölüm 1'de verilen literatür bilgilerinde belirtildiği gibi LAB'leri tarafından üretilen EPS'ler bakterilerin özelliklerinden etkilendiği gibi ortam şartlarına bağlı olarak da çeşitlilik gösterebilmektedir. Özellikle ortamdaki şeker kaynağı üretilen EPS'nin türünü etkileyen esas bileşendir. Çalışma kapsamında seçilen hammaddeler olan buğday, nohut, yeşil mercimek ve beyaz fasulye fermentasyon ortamında LAB'leri tarafından kullanılacak olan besin kaynaklarının çeşitlendirilmesi için iki farklı gruba ayrılarak kullanılmıştır. Bu amaçla ilk grupta işlem görmemiş tahıl ve baklagil unları kullanılarak fermentasyon gerçekleştirilmiş olup ikinci grupta ise Perri ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışma temel alınarak, seçilen tahıl ve baklagillere bir ön çimlendirme prosesi

uyguladıktan sonra elde edilen unlar ile fermantasyon gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda, tez çalışmasının bu bölümünün amacı, çeşitli tahıl ve baklagillerin çimlendirilmiş ve çimlendirilmemiş tanelerine ait unların ön fermantasyonu ile elde edilen ortamlardan LAB türlerinin izole edilmesi ve tanımlanması, EPS üretim yeteneğine sahip suşların belirlenmesi ve verimi en yüksek olan iki suşa ait EPS'lerinin karakterize edilmesidir.

2.2 Materyal Metot

2.2.1 İzolasyon Ortamlarının Hazırlanması

Türkiye menşeli nohut, yeşil mercimek, beyaz fasulye ve buğday olmak üzere 4 adet hammadde LAB türlerinin izole edilmesi planlanan ön fermantasyon sıvılarının elde edilmesinde kullanılmak üzere belirlenmiştir.

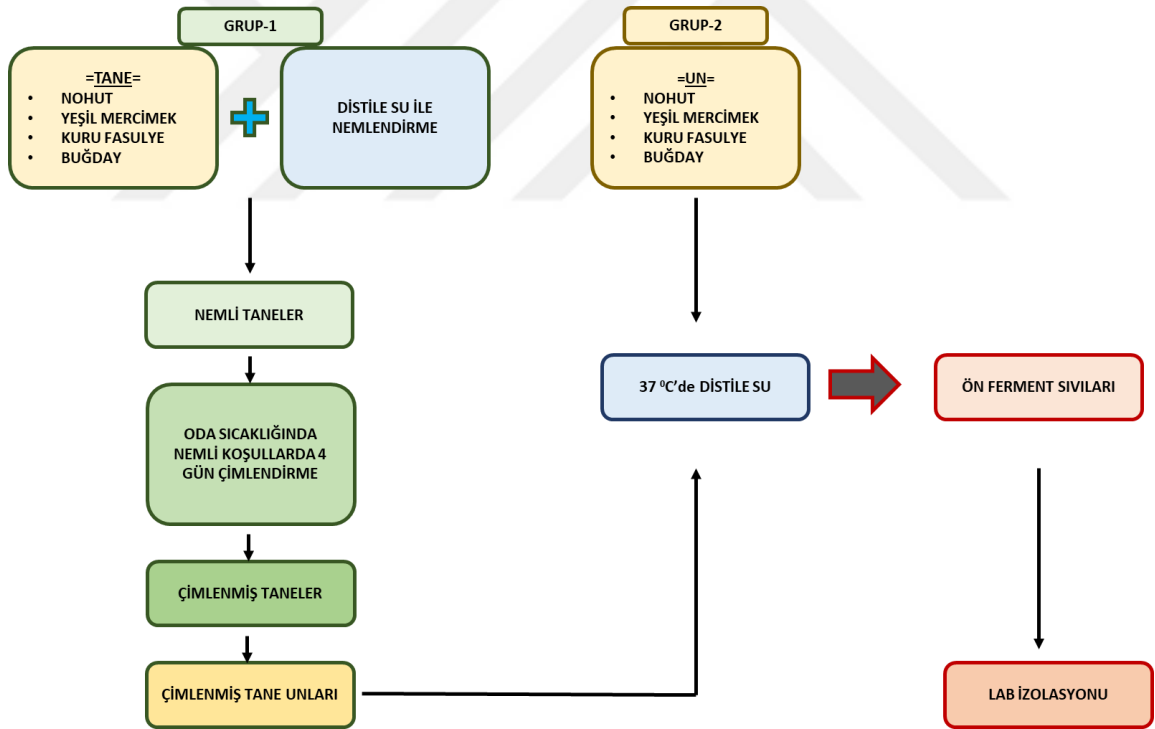
Grup-1 İzolasyon Ortamı (Çimlendirilmiş taneler): Bu amaçla 400'er gram hammadde iki katı kadar distile su içinde ön nemlendirilmenin sağlanması için 24 saat bekletilmiştir. Sonrasında süzülen taneler tanelerin nemi ise yaklaşık %50 olacak şekilde düzenli olarak nemlendirilerek nemli bir laboratuvar kâğıdı içerisinde, 4 gün boyunca oda sıcaklığında çimlendirilmiştir (Montemurro vd., 2019; Boyacı Gündüz vd.; 2020; Xu vd., 2019). Çimlendirme işlemi sonrasında taneler 40 °C'de 4 saat kurutuldu ve laboratuvar tipi değirmende öğütülerek depolanmıştır (Şekil 2.1).

Grup-2 İzolasyon Ortamı (Çimlendirilmemiş Taneler): bu aşama için hammadde olarak seçilen buğday (Hatap Un), nohut (Safi Bahçe Organik Nohut Unu), yeşil mercimek (İpek Değirmen) ve kuru fasulye (Dr. Akyol) tanelerine ait ticari olarak satılan unlar temin edilmiştir.

İki grup için elde edilen unlardan ön fermantasyon sıvılarının hazırlanması için 50'şer gram tartılıp 400 ml sterilize edilmiş ve 37 °C'ye soğutulmuş su ile karıştırılıp yine 37 °C'de, 18 saat fermantasyona tabi tutulmuştur (Şekil 2.2).



Şekil 2.1 Çimlendirilmiş ve öğütülmüş tahıl ve baklagil taneleri



Şekil 2.2 Ön fermentasyon sıvılarının hazırlanma akış şeması

2.2.2 Ön Fermentasyon Sıvılarından LAB'nin İzolasyonu ve Genotipik Olarak Tanımlanması

2.2.2.1 Kültür Ortamlarının Hazırlanması

Tez çalışması boyunca kullanılan besiyeri bileşimleri ve miktarları aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Modifiye Broth (MRS5): 10 g L⁻¹ maltoz, 5 g L⁻¹ fruktoz, 5 g L⁻¹ glukoz, 10 g L⁻¹ tryptone, 5 g L⁻¹ et ekstraktı, 5 g L⁻¹ maya ekstraktı, 5 g L⁻¹ C₂H₃NaO₂ · 3H₂O, 3 g L⁻¹ amonyum klorid, 2,6 g L⁻¹ K₂HPO₄ · 3H₂O, 4 g L⁻¹ KH₂PO₄, 0,1 g MgSO₄ · 7H₂O, 0,05 g L⁻¹ MnSO₄ · 4H₂O, 0,5 g L⁻¹ sistein-HCl, 1 ml Tween 80 ve maya gelişimini engellemek için 0,1 g cycloheximide ile ayrıca % 0,1 oranında olacak şekilde (her bir vitamin 0,2 g L⁻¹ olacak şekilde, pH 5,8) kobalamin, folik asit, pantotenik asit, pridoksal fosfat ve tiamin).

De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Broth: 10,0 g L⁻¹ kazeinden elde edilen pepton; 8,0 g L⁻¹ et ekstraktı; 4,0 g L⁻¹ maya ekstraktı; 20,0 g L⁻¹ D (+) glukoz; 2,0 g L⁻¹ K₂HPO₄; 1,0 g L⁻¹ Tween 80; 2,0 g L⁻¹ di-amonyum hidrojen sitrat; 5,0 g L⁻¹ sodyum asetat; 0,2 g L⁻¹ MgSO₄; 0,04 g L⁻¹ MnSO₄.

Modifiye Brain Heart Infusion (MBHI) Broth: 37 g L⁻¹ BHI broth, 5 g L⁻¹ meat/beef ekstrakt, 5 g L⁻¹ peptone casein, 5 g L⁻¹ sodyum asetat, 1 g L⁻¹ Tween 80, 0,2 g L⁻¹ magnezyum sülfat heptahidrat, 30 g L⁻¹ süktroz

Dehidre besiyerleri damıtık su içinde ısıtılarak eritilmiş ve otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edilerek hazırlanmıştır. İlgili besiyerlerine ait katı ortamlar otoklav işleminden önce uygun besiyerine %1,5 (w/v) agar-agar ilave edilerek hazırlanmıştır.

2.2.2.2 Bakteriyal İzolasyon

LAB'nin izolasyonu için yukarıda tarif edildiği şekilde hazırlanan öğütülmüş tane ve su karışımlarını içeren ön fermentasyon sıvıları kullanılmıştır. Bu amaçla 10 mL fermentasyon sıvısı 90 mL FTS (Fizyolojik Tuzlu Su) ile steril bir homojenleştirme torbasına alınmıştır. 60 saniye boyunca bir pedallı blenderde homojenizasyon gerçekleştirilmiştir. Homojenize sıvıdan 10⁻⁵'e kadar dilüsyonlar hazırlanarak MRS5 agar üzerine 100 µL olacak şekilde yayma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Petriler anaerobik olarak 30 °C’de 48 saat inkübe edilmiştir. Petrilerde gelişen koloniler takiben basit bir morfolojik teste tabi tutulup farklı olduğu düşünülen olası LAB kolonileri, fenotipik tanımlama için ilgili besiyerine alınarak tekrar geliştirilmiştir. Sonrasında genotipik ayırım gerçekleştirilmiştir. Fenotipik ve genotipik tanımlama için aşağıdaki sıralama izlenmiştir;

- Koloni Morfolojisi:

İlk izolasyon için MRS5 katı besiyerinde gelişen koloniler birbirleri ile kıyaslanmış ve morfolojik yapılarına göre farklılık teşkil edenler seçilmiştir. Seçilen koloniler katı besiyerinde saflaştırma işlemine tabi tutulmuştur.

- Gram Boyama

Saf olduğu tahmin edilen koloniler öncelikle 18-24 saat sıvı besiyerlerinde geliştirilmiştir. Sonrasında MRS agar üzerine çizilerek 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Petriler içinden tek halde gözlemlenen kolonilerden seçilerek temiz bir lam üzerine damlatılmış 10 µL steril saf su içinde steril öze ile aktararak ince bir film tabakası halinde yayılmıştır. Alevden geçirilerek lam üzerine fiksasyonu sağlanmıştır. Fikse edilen bakteriler 1 dakika kristal viyole ile boyanmış ve saf sudan geçirilerek boya akıtıldıktan sonra 1 dk lügol çözeltisi ile boyanmıştır. Bu çözeltide saf su ile akıtıldıktan sonra 30 saniye etil alkolden geçirilmiş ve tekrar yıkanıp kurutulmuştur. Kuruyan lam üzerine immersiyon yağı damlatılarak ×100’lük objektife sahip ışık mikroskop altında incelenmiştir. Koyu mavi-mor renkli koloniler olası Gram (+) LAB olarak değerlendirilmiştir.

- Katalaz Testi

Gram boyamada seçilen mavi-mor koloniler tekrar katı besi yerlerine ekilerek inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında steril bir yüzeye alınan kolonilerin üzerine 1 damla %3’lük Bactident Catalase çözeltisi damlatılmış ve gaz çıkışı gözlemlenmiştir. Gaz çıkışı olmayan koloniler olası LAB türleri olarak değerlendirilmiştir.

- rep-PZR ile Genotipik Karakterizasyon

Ön fermentasyon sıvılarından izole edilen LAB suşlarının ayrımı için öncelikle rep-PZR analizi yapılmıştır (Sagdic vd., 2014). Seçilen olası LAB'ne ait kolonilere ait DNA'lar EcoSpin Bacterial Genomic DNA Kit (Erzurum, Türkiye) ile üretici protokolüne göre ekstrakte edildi ve genomik DNA'lar PZR reaksiyonlarında şablon olarak kullanılmıştır. DNA ayrımını takiben, 16S rRNA gen dizilimi ile tanımlama yapılmıştır. Bunun için 1,5 kb 16S rRNA'yı amplifiye etmek için AMP_F ve AMP_R primerleri (Baker vd., 2003) kullanıldı ve 1 µLDNA şablonu, 2,5 µl 10 x PZR tamponu, 0,75 µl 50 ile PZR reaksiyon karışımı hazırlandı. 0,75 µL 50 mM MgCl₂, 0,5 µL 10 mM dNTPs, 1,25 µL 20 mM primerler AMP_F ve AMP_R, 0,1 µL 5 U polimeraz (Promega) ve 25 µL'ye kadar ultra-steril H₂O ve PZR koşulu 94 °C 3 dk, 94 °C 45 s, 50 °C 30 s ve 72 °C 45 s ve 72 °C 10 dakikalık son uzatma ve 25 döngü olarak ayarlanmıştır. PZR ürünlerinin jel elektroforezinde kontrolü için konsantrasyonu %1 olan agaroz jeli 0,5 X Tris Borat EDTA (TBE) tamponu kullanılarak hazırlanmıştır. PZR ürünleri agaroz jele yüklemeden önce yükleme boyası olan DNA Loading Buffer (Bioline, İngiltere) ile renklendirilmiştir. Bu işlem için ilk olarak parafilm üzerine 2 µL yükleme boyasından konulup üzerine 10 µL örnek aktararak otomatik pipet aracılığı ile örnek ve boya birbirine karıştırılmış ve renklendirilen örnekler agaroz jele yüklenmiştir. TBE tamponu kullanılarak elektroforez işlemine bırakılmıştır. Elektroforez işleminin ardından jeller 1 mg L⁻¹'lik etidyum bromid çözeltisi içerisinde 30 dk bekletilerek jelde yüklü olan DNA parçacıklarının boyanması sağlanmıştır. Bu işlemin ardından jeller deiyonize su içerisinde kısa süre tutularak durulandıktan sonra UV-Transilluminatör kullanılarak UV ışık altında görüntülenmiştir. HyperLadder I (Bioline, İngiltere) her elektroforetik jelde DNA boyutlayıcısı olarak kullanılmıştır. Agaroz jel elektroforezi ile amplifikasyonun doğrulanmasının ardından 16S rRNA geni Medsantek (İstanbul, Türkiye) tarafından sekanslanmış ve sekansın NCBI veri tabanına benzerliğini %98-100 benzerlik kriteri ile belirlemek için ise BLAST algoritması kullanılmıştır.

2.2.3 EPS Üreticisi LAB'nin Seçimi, EPS İzolasyonu, Saflaştırılması ve Karakterizasyonu

2.2.3.1 LAB Türlerinin EPS Üretim Yeteneklerinin Belirlenmesi

Seçilen suşların EPS üretim yeteneklerinin hızlıca gözlemlenebilmesi için modifiye bir BHI besi yeri hazırlanmıştır. 5'er mL sıvı besiyeri ortamına 50'şer µL önceden MRS sıvı besiyerinde aktifleştirilmiş kültürler ilave edilmiş ve bir gece 30 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün cam tüplerin hepsinde gelişim gözlemlendi (Şekil 2.4) Seçilen suşların yapışkan madde üretimlerinin gözlemlenebilmesi için aynı besiyeri ortamı 15 g L⁻¹ agar ilavesi ile katı olarak hazırlanmış ve gelişen kültürlerden çizim yapılmıştır. Türlerin EPS üretimi için oksijen isteklerinin belirlenebilmesi için hem aerobik hem de anaerobik ortamda çalışılmıştır.

2.2.3.2 EPS İzolasyonu ve Saflaştırılması

Üretim yetenekleri tespit edilen türler yukarıda içeriği belirtilen sükroz ilaveli 250'şer mL modifiye BHI sıvı besiyerinde 48 saat 30 °C'de geliştirilerek EPS üretmeleri sağlanmıştır. EPS'lerin izolasyonu için izlenen yöntem şu şekildedir; 48 saatlik inkübasyon sonrası sıvı besiyerleri 6000 × rpm'de 4 °C'de 30 dk santrifüjlenerek çökelti kısmı uzaklaştırılmış ve sıvı kısma eşit miktarda soğuk saf etanol ilave edilerek bir gece 4 °C'de bekletilmiştir. Ertesi gün 6000 rpm 4 °C'de 20 dakika sıvı kısım santrifüjlenerek çökelti toplandı. Toplama çökelti çözünmeyi sağlayacak miktarda steril saf su ile çözdürüldü ve ilave edilen su miktarının iki katı kadar soğuk saf etanol eklenerek bir gece 4 °C'de bekletilmiştir. Son aşamada sıvı kısım yine 6000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi ve çökeltilere eşit miktarda olacak şekilde steril saf su ilave edilip çözündürme işlemi gerçekleştirilmiştir. Verimin hesaplanabilmesi için çözündürülmüş çökelti falkon tüplerine alınıp hepsi steril saf su ile eşit hacme tamamlanmıştır. Elde edilen EPS çözeltileri daha sonraki analizlerde kullanılmak üzere önce - 80 °C'de dondurulmuş ve sonrasında liofilizatör yardımıyla 3 günlük süreçte dondurularak kurutulup ve toz haline getirilmiştir. Sonraki analizlerde kullanılmak üzere - 80 °C'de dondurucuda saklanmıştır.

2.2.3.3 HPLC Analizi ile EPS Yapılarının Monosakkarit Kompozisyonunun Belirlenmesi

Liyofilize edilen EPS'lerin monosakkarit bileşimi, HPLC (Schimadzu) analizi ile belirlenmiştir. Bunun için önce liyofilize EPS 'den 10 mg/mL solüsyon hazırlanmış ve 800 µL solüsyon alınıp 218 µL %72 perklorik asit ilave edilerek solüsyon 95 °C'de 2 saat yakma işleme tabi tutulmuştur. Son olarak 500 µL 5M KOH ile nötralize edilmiştir. Numuneler daha sonra 12.000xg'de (4 °C'de 5 dakika) santrifüj edilerek oluşan tuz çökeltilmiş, 0,22 µm filtreden geçirildikten sonra monosakkarit bileşimini belirlemek için 20 µL örnek HPLC'ye verilmiştir. H₂O'nun hareketli fazı olarak 0,6 mL/dak akış hızı ve 85 °C kolon sıcaklığı ile bir CONCISE cARBoSep CHO 87 C kolonu ve RID-10A kırılma indisi detektörü kullanılmıştır. Standart şekerler olarak glukoz, galaktoz, maltoz ve fruktoz kullanılmış ve EPS yapısındaki her bir şekerin seviyesini belirlemek için her şeker için standart eğriler hazırlanmıştır. Bu eğrilerden EPS'lerin verimi ölçülmüştür.

2.2.3.4 EPS'lerin Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi ile Analizi

EPS'lerin kimyasal yapısını ortaya çıkarmak için izole edilmiş EPS'lerin hidrojen ve karbon spektrumları 400 MHz 'de (¹H, ¹³C) 25 °C'de NMR spektroskopisi ile belirlenmiştir. Bu amaçla yaklaşık 20 mg liyofilize EPS 500 µl D₂O içinde çözülmüş ve elde edilen solüsyondan 300 µl NMR tüpüne dökülerek Agilent 400 MHz NMR Sistemi ile analiz edilmiştir. EPS'lerin ¹H ve ¹³C spektrumları MestreNova yazılımı ile analiz edilmiştir (Yılmaz vd., 2022).

2.2.3.5 EPS'lerin Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile analizi

Seçilen EPS yapılarının fonksiyonel grupları, Perkin Elmer Spectrum 65 FTIR Spektrometresi ile belirlenmiştir. Bu amaçla örneklerin FTIR spektrumları 4000-400 cm⁻¹ bölgesinde iletim modunda taranmıştır. FTIR spektrumlarını elde etmek için 32 tarama ile 4 cm⁻¹ kızılötesi spektral çözünürlük uygulanmıştır (Aburas vd., 2020; Yılmaz vd., 2022)

2.2.3.6 EPS'lerin Termogravimetrik Analiz (TGA) ile Termal Özelliklerinin Belirlenmesi

TGA analizi için Aburas vd. (2020) tarafından uygulanan yöntem takip edilmiştir. Bu amaçla bir Perkin Elmer Simultaneous termal analiz cihazı STA 8000 kullanılmıştır. Seçilen EPS'lere Al_2O_3 potasında $10\text{ }^{\circ}C\text{ dk}^{-1}$ sıcaklıkta $25\text{ }^{\circ}C$ ile $1000\text{ }^{\circ}C$ arasında uygulanmıştır. Analiz, 100 mL/dk akış hızında bir hava atmosferinde gerçekleştirilmiş olup DTG analizine ait veriler, TGA verileri işlenerek elde edilmiştir.

2.2.3.7 EPS'lerin Termal Özelliklerinin Belirlenmesi

EPS'lerin termal Özellikleri bir Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC) cihazı ile (Perkin Elmer DSC 8000) $10\text{--}500\text{ }^{\circ}C$ sıcaklık aralığında $10\text{ }^{\circ}C\text{ dk}^{-1}$ ısıtma hızında yapılmıştır. EPS numunelerinin ($\sim 5\text{ mg}$) erime noktaları ve entalpi değişimlerini gözlemlemek için sızdırmaz bir alüminyum tava kullanılmış ve referans olarak boş tava tercih edilmiştir. (Aburas vd., 2020).

2.2.3.8 X-Işını Difraktometresi ile EPS'lerin Kristal Yapılarının Belirlenmesi

EPS'lerin kristal yapılarını belirlemek için XRD tekniği kullanılmıştır. Bu amaçla Bruker D8 Discover XRD kullanılmış olup cihazın numune bölümüne EPS numuneleri yerleştirilmiştir ve difraktogram elde etmek için Cu $K\alpha$ radyasyonu (Ni filtre, jeneratör ayarları: 40 kV , 40 mA) uygulaması ile Breg Brentano $\theta:2\theta$ geometrisi kullanılmıştır. Bunun için 2θ aralığında $0,03^{\circ}$ adım boyutu ile $5\text{--}90^{\circ}$ kırınım taraması uygulanmıştır (Çakic vd., 2016, Yılmaz vd., 2022).

2.2.4 EPS'lerin Fizikokimyasal ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi

2.2.4.1 EPS'lerin Suda Çözünürlük İndeksinin (SÇİ) Belirlenmesi

EPS'lerin suda çözünürlüğünün belirlenmesi Kavitate vd. (2020) yönteminin uygun şekilde modifiye edilmesi ile belirlenmiştir. Özetle 200 mg 'lık kurutulmuş EPS numunesi, 5 mL saf suda çözündürülmüştür ve homojen bir süspansiyon elde etmek için $40\text{ }^{\circ}C$ 'de su banyosunda 40 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra süspanse karışım 10 dakika boyunca 4000 x g 'de santrifüjlenmiş ve berrak kısım bir Petri kabına yerleştirilerek kuru katı ağırlığının tespiti için $105\text{ }^{\circ}C$ 'de 4 saat kurutulmuştur. Suda çözünürlük indeksi aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

- $S\check{C}\check{I}\text{ (\%)} = [(Berrak\ Sıvıdaki\ Kuru\ Katının\ Ağırlığı) / (Kuru\ Örnek\ Ağırlığı)] \times 100$

2.2.4.2 EPS'lerin Yağ ve Su Tutma Kapasitelerinin (YTK – STK) Tespiti

Yağ tutma kapasitesinin (YTK) belirlenmesi için ağırlığı bilinen bir santrifüj tüpüne 1 g liyofilize EPS tartılıp üzerine 10 mL yağ (Ayçiçek veya Zeytinyağı) ilave edilmiştir. Karışım 30 dakika beklemeye bırakılıp ve $3500 \times g$ 'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Berrak kısım atıldıktan sonra, kalıntı ile birlikte tüp tartılmış ve ağırlıktaki artış YTK olarak kaydedilmiştir (Devi vd., 2016). EPS numunelerinin su tutma kapasitelerini (STK) tespit etmek için 0,2 g örnek 10 mL distile suda çözündürülmüş ve 40 °C'de 10 dakika bekletilmiştir. Tamamen çözündürülmüş örnekler 14,000 g'de 30 dk santrifüj edilmiş ardından berrak kısım boşaltılmıştır. Çöken EPS miktarı kaydedilmiştir ve STK yüzdesi hesaplanmıştır.

- $YTK (mL/g) = \text{Islak kalıntının ağırlığı} - \text{Kuru örnek ağırlığı}$
- $STK (\%) = [(Su \text{ absorpsiyonundan sonra örnek ağırlığı}) / (\text{Toplam Kuru Ağırlık})] \times 100$

2.2.4.3 EPS'lerin Emülsiyon Stabilitesinin Belirlenmesi

Vidalı kapaklı bir cam tüp (100 mm x 13 mm) içindeki 2 mL EPS çözeltisine (%1, w/v) üç mL ay çiçek yağı ve zeytinyağı ilave edilerek 40 Hz'de 3 dakika vortekslenmiştir ve 25 °C'de sabit bir şekilde saklanmıştır. 1, 24 ve 168 saat sonra emülsiyon indeksi (EA1, EA24 ve EA168) aşağıda verildiği gibi belirlenmiştir:

- $EA (\%) = (he / ht) \times 100$ (he: emülsiyon yüksekliği; ht: tüm yükseklik)

2.2.4.4 EPS'lerin Sineresis Özelliklerinin Belirlenmesi

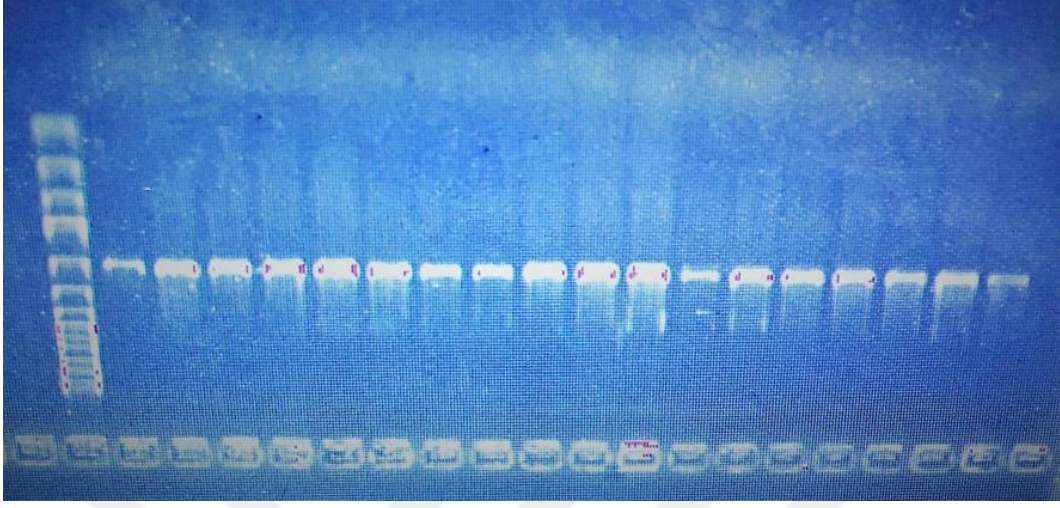
Sineresiz özelliğinin belirlenmesi için %2 'lik kalın nişasta çözeltisi hazırlanıp 10-15 dakika süre ile sıcak su banyosunda pişirilmiştir ve farklı konsantrasyonlarda EPS (%-0.5-1) bu karışıma ilave edilerek tamamen çözündürülmüş ve oda sıcaklığına gelene kadar karıştırılmıştır. Örnekler kapaklı plastik tüplere 10 mL olacak şekilde konulup dikey bir şekilde 4 °C'de 10 gün depolanmıştır. Sinersizin derecesi pozitif (%2 nişasta) kontrol ile bir gün ara ile ölçülmüştür. Hesaplama yükseklik değişimine göre yapılmıştır ($\Delta h/h_0$) (Devi vd., 2016).

2.3 Sonuçlar ve Tartışma

2.3.1 n Fermentasyon Sıvılarından LAB'nin İzolasyonu ve Genotipik Olarak Tanımlanması

Besinsel ve fizikokimyasal özelliklerini genişletmek için farklı tahıl ve baklagillerin fermente ürünler olarak kullanılmasına yönelik artan bir eğilim vardır. Bu tanelerin fermente ortamlarında teknolojik ve fonksiyonel amaçlar için kullanılabilecek LAB suşlarının araştırılması önemlidir. Bu açıdan bakıldığında, bu çalışmada farklı LAB türlerinin izolasyonu için başlangıç materyali olarak belirlenen tahıl ve baklagil unları kullanarak n fermentasyon sıvıları hazırlanmıştır. Bu ortamlardan toplamda 84 izolat olası LAB türü olarak belirlenmiştir (Tablo 2.1). Bu kolonilerin fenotipik olarak ayırımı için yapılan mikroskopik morfolojik farklılaşma testlerin sonucunda izole edilip saflaştırılan 84 izolattan 70'i Gram (+) Katalaz negatif sonuç veren olası LAB'leri olarak seçilmiştir. Seçilen bu suşlar içinden son bir morfolojik eleme ile 17 tanesi 16S rRNA geninin çoğaltılarak genotipik farklılıklarının tespiti için seçilmiştir. Seçilen 17 koloni saflaştırılıp PZR reaksiyonu kurularak 16S geni amplifiye edilmiş ve sekanslama işlemi hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. şekil 2.3'te 16S PZR amplifikasyonu sonrası agaroz jel görüntüsü gösterilmektedir. Buna göre buğday, çimlenmiş buğday, fasulye, nohut ve mercimek tanelerine ait n fermentasyon sıvılarında baskın suş *Weissella confusa* olarak belirlenmiştir. Buğday ve çimlenmiş fasulye örneklerinde *Leuconostoc mesenteriodes* suşları bulunurken, çimlenmiş buğday ve çimlenmiş nohut örneklerinde *Leuconostoc lactis* suşları bulunmuştur. Son olarak, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Weissella cibaria* ve *Lactococcus lactis* subsp *hordniae* suşları sırasıyla fasulye, nohut ve çimlenmiş mercimek n fermentasyon sıvılarında tespit edilmiştir. Bulgularımıza benzer şekilde Boyacı Gündüz vd. (2020), farklı bölgelerdeki fırınlardan temin edilen nohut tanelerinin n fermentasyon sıvılarında baskın türün *W. confusa* (%47,8) olduğunu ve bu türü *Enterococcus faecium* (%22,1) ve *W. cibaria*'nın (%12,4) izlediğini *Leu. mesenteriodes* ve *Levilactobacillus brevis* suşlarının ise minör seviyelerde olduğunu bildirmişlerdir. nceki araştırmalardan farklı olarak, çalışmamızda farklı tahıl ve baklagil unlarının n fermentasyon sıvılarında Enterokok rapor edilmediğine dikkat edilmelidir. Bildiğimiz kadarıyla bu çalışma, kuru fasulye tanelerinden izole edilen LAB türlerini bildiren ilk çalışmadır ve bu taneler *W. confusa*, *Leu. mesenteriodes* ve *L. plantarum* gibi önemli LAB türlerini

barındırmıştır. Seçilen tahıl ve baklagil tanelerinden izole edilerek tanımlanan LAB suşlarının 16S rRNA gen dizileri, Tablo 2.1’de erişim numaralarıyla GenBank'a işlenmiştir.



Şekil 2.3 16S PZR amplifikasyonu sonrası agaroz jel görüntüsü

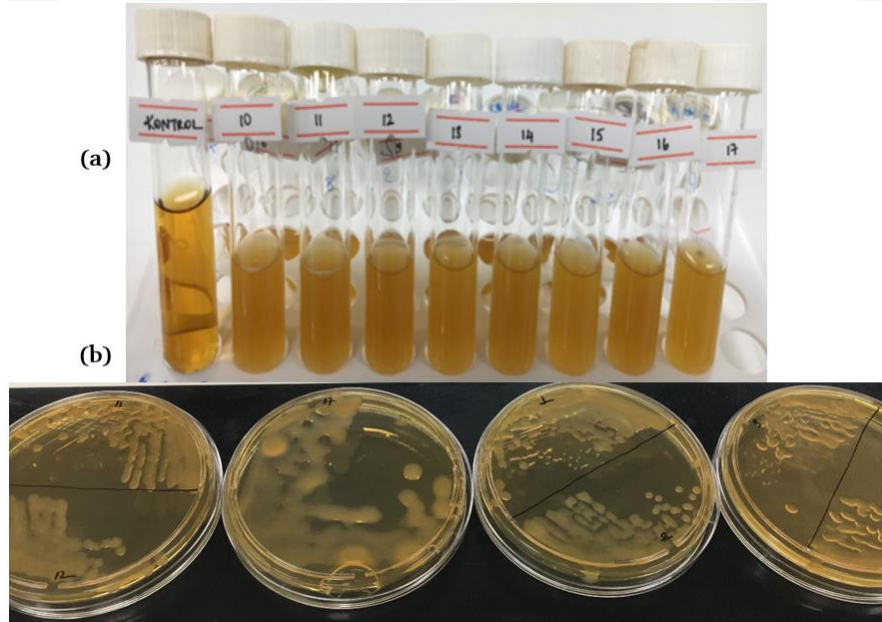
Tablo 2.1 LAB türleri ve GenBank erişim numaraları

İzolasyon Kaynağı	KOD	TÜR	GenBank Erişim Numarası
BUĞDAY	W-13	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	OM283573
	W-11	<i>Weissella confusa</i>	OM283569
	W-16	<i>Weissella confusa</i>	OM283574
Çimlenmiş BUĞDAY	GW-5	<i>Weissella confusa</i>	OM283568
	GW-6	<i>Leuconostoc lactis</i>	OM283567
KURU FASULYE	HB-4	<i>Weissella confusa</i>	OM283558
	HB-8	<i>Lactobacillus plantarum</i>	OM283570
	HB-11	<i>Weissella confusa</i>	OM283563
Çimlenmiş KURU FASULYE	GHB-7	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	OM283572
	GHB-8	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	OM283571
NOHUT	P-3	<i>Weissella cibaria</i>	OM283559
	P-5	<i>Weissella confusa</i>	OM283560
	P-9	<i>Weissella confusa</i>	OM283561
Çimlenmiş NOHUT	GP-7	<i>Leuconostoc lactis</i>	OM283566
YEŞİL MERCİMEK	L-4	<i>Weissella confusa</i>	OM283564
	L-6	<i>Weissella cibaria</i>	OM283562
Çimlenmiş YEŞİL MERCİMEK	GL-3	<i>Lactococcus lactis subsp. hordniae</i>	OM283565

2.3.2 LAB'nin EPS Üretim Yeteneklerinin Belirlenmesi

Tahıl bazlı LAB suşları, homopolimerik glukan tipi EPS üretimi için iyi kaynaklar olduğu bilinmektedir ve *Leuconostoc* spp. gibi bazı türler ana üreticiler arasındadır (Tieking vd., 2005). Bununla birlikte, filogenetik olarak *Leuconostoc* ve *Oenococcus* türleri ile akraba olan *Weissella* türleri de dekstran sentezleyen LAB'de son yıllarda dikkatleri üzerine çekmiştir. *Weissella* cinsine ait iki tür, *Weissella cibaria* ve *Weissella confusa*, yüksek dekstran verimleriyle bilinmektedir (Ahmed vd., 2012; Sasikumar vd., 2017). Çalışma kapsamında izole edilen tahıl bazlı bu LAB'leri de homopolimerik EPS üreticileri olabileceğinden, tüm izolatların EPS

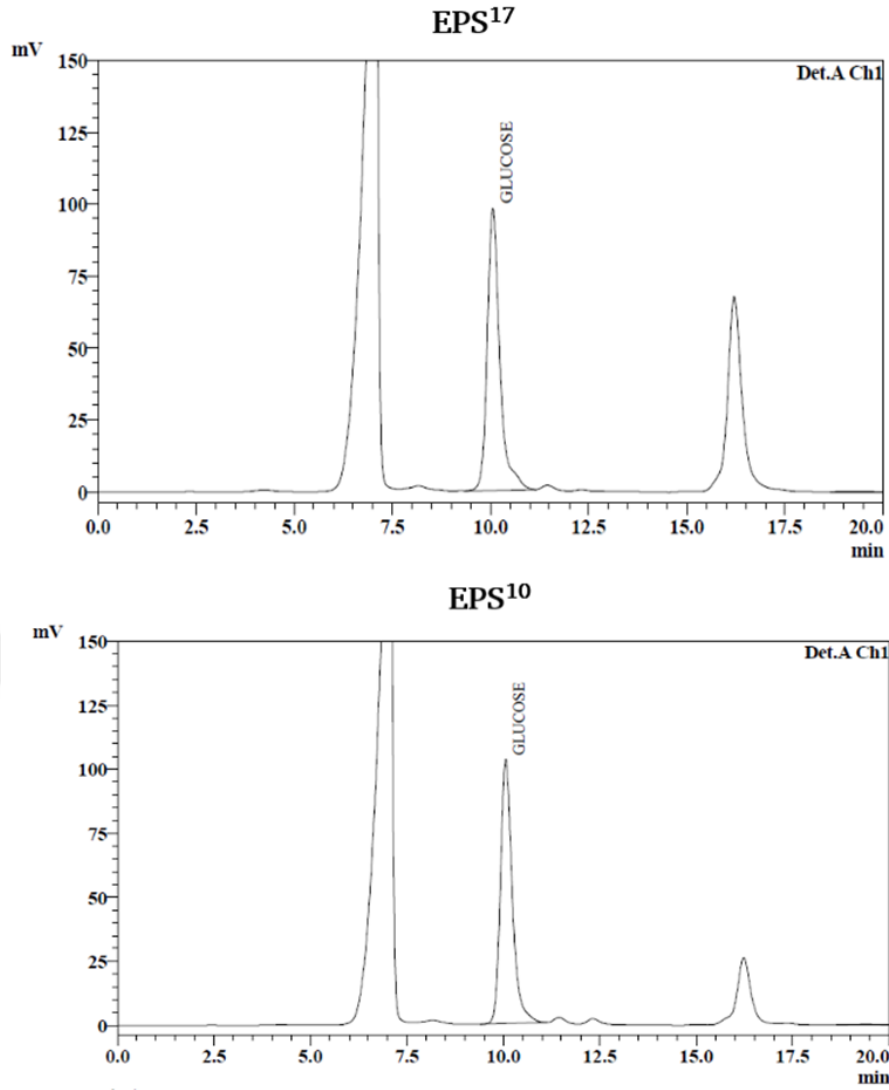
Üretim kabiliyetleri test edilmiştir. Öncelikli olarak izole edilen ve genotipik olarak tanımlanan LAB türleri, modifiye skrozlu BHI sıvı ve katı besiyerlerinde geliştirilmiş ve EPS retim kabiliyetleri kalitatif olarak belirlenmiştir. Seçilen 17 suştan 16'sı her iki ortamda da yapışkan bir yapı sergilediği ve EPS üretebildikleri kabul edilmiştir (şekil 2.4). EPS reticisi olduğu kalitatif olarak belirlenen bu suşların üretmiş olduğu EPS yapılarının kantitatif olarak belirlenebilmesi için HPLC analizi gerçekleştirilmiştir. Bu analiz ile EPS'lerin monosakkarit kompozisyonu açığa çıkartılmış ve üretim verimleri tespit edilmiştir. Sonuç olarak elde edilen EPS'lerin tamamının şeker monomeri olarak yalnızca glikoz içerdiği ve EPS'lerin glukan yapı gösterdiği tespit edilmiştir. EPS'lere ait HPLC kromatogramları şekil 2.5'te gösterilmiştir. EPS yapılarının glukoz oranları ise Tablo 2.2'te verilmiştir. Test edilen koşullar altında bu çalışmada izole edilen LAB suşlarının EPS verimleri 2,90 ile 6,64 g L⁻¹ arasında değişmiştir. Bu kapsamda çalışmanın bundan sonraki kısmında yüksek verim gösteren ve iyi EPS reticisi olduğu belirlenen *Weissella confusa* W-16 (EPS¹⁷) ve *Leuconostoc lactis* GW-6 (EPS¹⁰) türlerine ait EPS'lerin yapısı aydınlatılarak çalışmaya devam edilmiştir.



şekil 2.4 LAB'nin EPS retim yeteneklerinin kalitatif olarak belirlenmesi

Tablo 2.2 EPS üreticisi LAB'nin glukoz verimleri

Tür adı	Glukoz verimi (g/L glukoz)
<i>Leuconostoc mesenteriodes</i> W-13	4,94
<i>Weissella confusa</i> W-11	4,95
<i>Weissella confusa</i> W-16	6,54
<i>Weissella confusa</i> GW-5	5,23
<i>Leuconostoc lactis</i> GW-6	6,64
<i>Weissella confusa</i> HB-4	3,80
<i>Weissella confusa</i> HB-8	2,21
<i>Leuconostoc mesenteriodes</i> GHB-7	6,13
<i>Leuconostoc mesenteriodes</i> GHB-8	2,90
<i>Weissella cibaria</i> P-3	5,51
<i>Weissella confusa</i> P-5	3,17
<i>Weissella confusa</i> P-9	5,73
<i>Leuconostoc lactis</i> GP-7	6,19
<i>Weissella confusa</i> L-4	2,97
<i>Lactococcus lactis</i> GL-3	3,59



Şekil 2.5 Glukoz verimi en yüksek iki EPS için HPLC kromatogramı

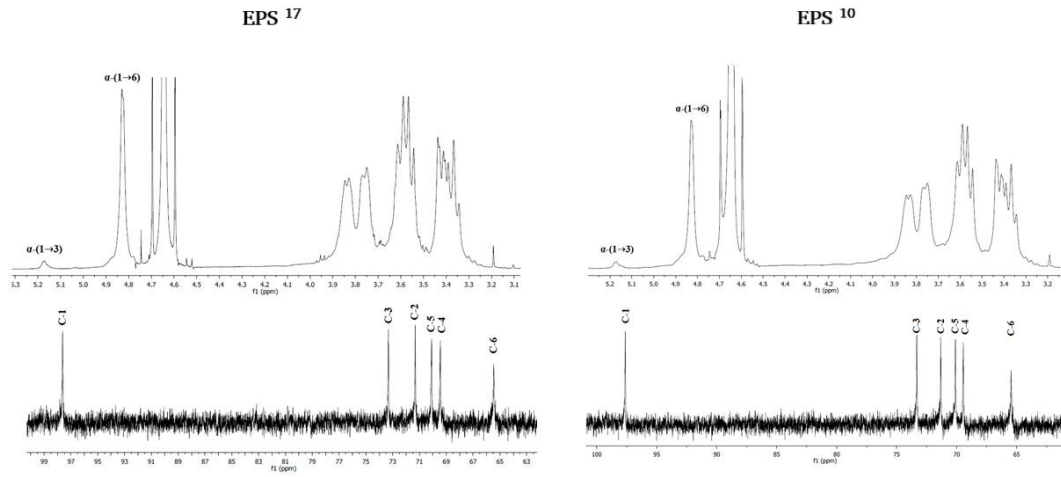
2.3.3 EPS'lerin NMR Spektroskopisi ile Analizi

Elde edilen EPS'lerin yapılarında, monosakkarit profillerinde monomer olarak sadece glukozun varlığı gösterildikten sonra seçilen iki çeşit EPS'ye ait glukan yapının ortaya çıkarılması için ¹H ve ¹³C analizleri uygulanmıştır. ¹H NMR spektrumuna ait grafikler genel olarak üç bölgeden oluşmaktadır; şeker kalıntılarının anomerik sinyallerini gösteren anomerik bölge (~4,5-5,5 ppm), C2-C6'ya proton bağlantılarını gösteren halka proton bölgesi (~3.1 – 4.5 ppm) ve alkil bölgesi (~1,2-2,3 ppm) (Rajoka vd., 2019; Wang vd., 2014). Şekil 2.6, EPS¹⁷ ve EPS¹⁰'a ait 3,1 – 5,3 ppm arasındaki bölgede glukan yapı için spektral rezonansları gösteren ¹H spektrumunu gösterilmiştir. ¹H spektrumlarının sonuçları incelendiğinde, 3,1 ppm ve 5,30 ppm arasındaki bölgede spektral rezonanslar tespit

edilmiştir. 4,6 – 5,2 ppm arasında glikozil kalıntılarının karakteristiklerini ifade eden anomerik sinyallerin olduğu görülmekte ve bu polisakkarit yapının varlığını doğrulamaktadır ve α -anomerik konformasyonunun meydana geldiğini düşündürmektedir (Abid vd.,2018, Rojaka vd., 2018). 4,70 ppm civarındaki yoğun pik, solventi ifade etmekle beraber 4.84 ppm’de yakınlarında rezonans veren pik α -(1→6) ve 5,17 ppm’de rezonans veren pik ise α -(1→6) α -D glukoz ünitelerine 3 pozisyonunda dallı α -(1→3) bağlarının varlığını belirtmektedir (Yılmaz vd., 2022, Aburas vd., 2020; Feng vd.,2018). 4,00 ppm ile 3,00 ppm arasında görülmekte olan pikler yapıdaki diğer proton yapılarını ifade etmektedir. Sonuç olarak EPS¹⁷ ve EPS¹⁰’un ana çekirdek yapısında α -(1→6) bağlı α -D-glikoz birimleri ve bu yapıya sırasıyla %1-3 ve %5-7 oranında α -(1→3) pozisyonunda bağlı α -D-glikoz birimlerinden oluştuğu ve dekstran tipinde homopolimerik gluklan yapıda olduğu tespit edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda *Weissella confusa* ve *W. cibaria* suşlarından ekstrakte edilen dekstran tipte EPS yapılarının ana zincirde (1→6) bağlantıları ile birlikte çok az miktarda (%2,4-3,3) (1→3) bağlantılı dal yapı bulundurduğu ifade edilmiştir (Ahmed vd.,2012, Bounaix vd., 2009). Aburas ve ark. (2020)’nın ekşi hamur kaynaklı *Weissella cibaria* MED17 tarafından sentezlenen α -D-glukan yapıdaki EPS karakterize ettikleri çalışmalarında benzer şekilde yapıda (1→6) ve (1→3) α -D-glukoz ünitelerinin sırasıyla %94,3 ve %5,7 olduğunu ifade etmişler ve bunun diğer *Weissella* türleri ile yapılan çalışmalarda karakterize edilen EPS yapıları ile benzerlik gösterdiğini ifade etmişleridir (Bounaix vd., 2009, Ahmed vd., 2012). *Leuconostoc mesenteroides* FT045B suşu tarafından sentezlenen EPS yapısında da %97,9 α -(1-6) ana zinciri üzerinde %2,1 oranında α -(1-3) dallanma yapısı olduğu tespit edilmiştir (Vettori vd., 2012). Yapısındaki dallanma noktalarında (1→3) bağlı α -D-glukoz birimlerini farklı oranlarda içerebilen ve teknolojik özellikleri bu dallanma derecesinden etkilenen dekstran yapının, bu çalışmada daha önce yapılan çalışmalara paralel olarak % 1-3 ve %5-7 oranlarında (1→3) bağlı α -D-glukoz birimlerinden oluştuğu belirlenmiştir.

EPS ‘lere ait ¹³C NMR spektrumlarının ¹H NMR spektrumları ile tespit edilen gluklan yapı ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. ¹³C NMR hem anomerik karbonları (~ 95-110 ppm) hem de anomerik olmayan karbonları (~ 50-85 ppm) tanımlamak için kullanılabilir (Zhao vd., 2019). Bu yapı için tipik kabul edilen spektrumlar daha önceki çalışmalarda da belirtildiği gibi, C-1, C-3, C-2, C-5, C-4’e

karşılık gelen sinyallerin $\sim 97,8$ ppm, $73,3$ ppm, $71,3$ ppm, $70,1$ ppm, $69,5$ ppm ve $65,5$ ppm olduğu tespit edilmiştir (Aburas vd., 2020, Diana vd., 2019). $97,8$ ppm’de görülen sinyal, Bubb tarafından açıklanan α - (1 $\rightarrow$ 6) bağlantısına ait 97 - 101 ppm aralığında olup bu yapının α - (1 $\rightarrow$ 6) bağlarına sahip olduğunu göstermektedir. 101 ppm ve 105 ppm arasında tepe noktası gösteren sinyallerin olmaması bu EPS’lerdeki glikozidik bağların β -konfigürasyonundan ziyade α -konfigürasyonunda olduğunu göstermektedir (Bubb, 2003, Vettori vd., 2012, Zhao vd., 2019). Sonuç olarak her iki grafiğe ait veriler, EPS ¹⁷ ve EPS ¹⁰ yapılarının, α -1 $\rightarrow$ 3 bağlı α -D-glukoz birimleri ile ardışık (1 $\rightarrow$ 6) bağlı α -D-glukopiranozil birimleri içeren glukan tipte lineer dekstran yapı gösterdikleri tespit edilmiştir.

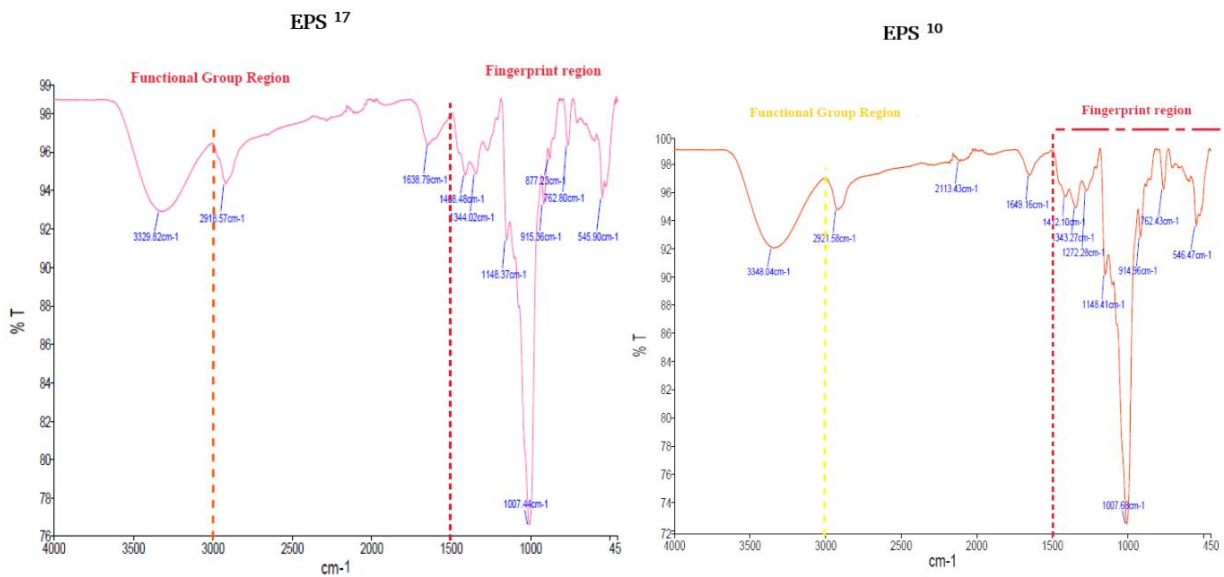


Şekil 2.6 EPS ¹⁷ ve EPS ¹⁰ için ¹H ve ¹³C NMR spektrumlarının gösterimi

2.3.4 EPS’lerin FTIR Spektroskopisi ile Yapısal Özelliklerinin Değerlendirilmesi

FTIR analizi, elde edilen EPS’lerin sahip olduğu monomerik birimler ve bağlantıları açısından fonksiyonel gruplarının doğal yapısını açığa çıkarmak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Şekil 2.7’de verilen FTIR grafiklerinde polisakkarit yapıların karakterizasyonu için önemli iki bölge mevcuttur; 1200 - 950 cm^{-1} şeker bölgesi veya fingerprint area ve 950 - 750 cm^{-1} anomerik bölge (Diana vd., 2019). Her iki EPS yapısı içinde 3000 - 3400 cm^{-1} bölgesinde gözlemlenen geniş bant hidroksil gruplarına ait gerilme titreşimini ifade etmektedir (İspirli vd.,2019, Miao vd., 2014, Kaviteka vd., 2016). Bu bölgenin devamında gözlemlenen 2900 – 2925 cm^{-1} ve 1630 – 1650 cm^{-1} aralıklarına denk gelen iki karakteristik pik şeker halkası

içerisinde yer alan C-H bağına ait gerilme titreşimlerini ve karboksil gruplarının varlığını işaret etmektedir (İspirli vd., 2019, Diana vd., 2019). EPS¹⁰ için 1412 cm⁻¹ ve 1343,27 cm⁻¹ ile EPS¹⁷ için 1408,48 cm⁻¹ ve 1344,02 cm⁻¹ gerilme titreşimleri karboksil grupları veya karboksilatlar için karakteristik pikler olup bu EPS'lerin asidik özellikte polisakkaritler olduğunu göstermektedir (Kaviteka vd., 2016). Her iki EPS yapısı için 1007 cm⁻¹ yakınlarında ortaya çıkan keskin pik C – O – C ve C – O gerilimleri sebebiyle gözlemlenmiş olup bu polimerin bir polisakkarit olduğunu ve aynı zamanda daha önce de belirtildiği gibi (1→6) bağlı α-D-glukoz birimlerinin varlığını ortaya çıkarmıştır (Aburas vd., 2020). Yaklaşık olarak 915 – 916 cm⁻¹ bandında görülen pik glikozil kalıntılarının piranoz formunu, 877 cm⁻¹ civarındaki pik ise glikozidik bağlantılarını ve α- konfigürasyona sahip yapının varlığını gösterirken 820 cm⁻¹ civarında pik gözlemlenmemesi α-(1→3) bağlantıları ile ilişkilendirilmektedir (Zhao vd.,2020, Kavitatek vd., 2016, Miao vd.,2014). Ayrıca 760 cm⁻¹ ve 520 cm⁻¹ yakınlarında gözlemlenen pikler glikozil grupları arasında glikozidik grupların varlığına dair kanıt sağlamıştır (Zhao vd., 2020). FTIR analizi sonucunda elde edilen veriler NMR sonuçları ile uyumlu olup seçilen iki EPS'in de dekstran yapıda (1 → 6) ve (1 → 3) bağlı α-D-glikoz birimlerine sahip olduğu doğrulanmıştır.



Şekil 2.7 EPS¹⁷ ve EPS¹⁰ için FTIR grafikleri

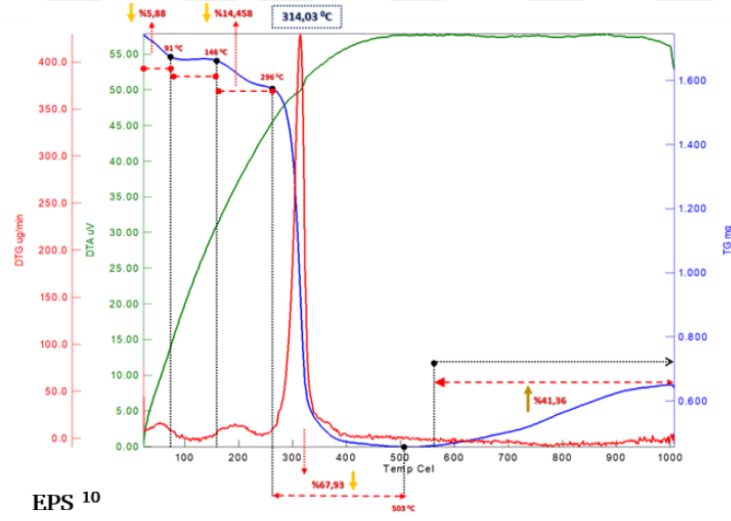
2.3.5 EPS'lerin TGA ve DSC ile Termal Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Hem uçucu hem de uçucu olmayan belirli bazı maddelerin, çeşitli karbonhidrat yapılarının termal bozunumu ile oluşabildiği bildirilmektedir (Botelho vd., 2014). EPS'lerin kimyasal özelliklerinin dışında termal özelliklerinin belirlenmesi, onların teknolojik uygulamalarda, özellikle de gıda uygulamalarında, kullanım imkanlarının değerlendirilmesi açısından önemlidir (Wang vd., 2010, İspirli vd., 2019, Yılmaz vd., 2022). Bu amaçla, EPS¹⁰ ve EPS¹⁷ için DSC ve TGA analizleri uygulanmıştır. Genellikle termal analizler sonucu elde edilen termogramlara incelendiğinde sıcaklık artışı ile birlikte görülen ilk olaylar jelatinleşme ve şişmedir. Sonrasında sıcaklık artışıyla beraber, dehidrasyon, piroliz ve bağlantıların yeniden düzenlenmesi olayları gerçekleşmekte olup bu olaylar sırasında polisakkaritlerdeki bağlantıların bozunuma uğraması ve yeni bağların oluşması, uçucu ve uçucu olmayan ürünlerin ortaya çıkmasına sebep olur (Fagerson, 1969, Botelho vd., 2014). Ekzopolisakkaritlerin termal özelliklerine bakıldığında, ısı absorpsiyonu ve emisyonunu ile polimer yapının deformasyonu veya kristal polisakkaritlerin erimesi gibi fiziksel değişimler gözlemlenir (Wang vd., 2010). Şekil 2.8'de yer alan TGA ve DTG kurvelerinde (Weight loss versus temperature) her iki EPS içinde sıcaklık artışıyla beraber 100 °C'nin hemen öncesinde, sırasıyla EPS¹⁰ ve EPS¹⁷, 91 °C ve 94 °C görülen ilk kademeli bozunuma bağlı olarak gözlemlenen %5,88 ve %4,55'lik kütle azalması nem kaybı ve buharlaşma ile ilişkilendirilmiştir. Yapıdaki karboksil grup içeriği ile hidrofobiklik arasında doğrudan bir ilişki vardır, EPS'lerdeki bu ilk ağırlık kaybı onların karboksil içeriği açısından zengin olduğunu ve su molekülleri ile etkileşiminin kuvvetli olduğunu göstermiştir (Nambiar vd., 2018, Rosca vd., 2018, Ahmed vd., 2013). Her iki EPS yapısı içinde 140 °C civarına kadar görülen ağırlık düşüşü yapının bozunumu ile ilişkilendirilmiştir (Ahmed vd., 2013). EPS yapılarındaki ana bozunum ise, sırasıyla EPS¹⁰ ve EPS¹⁷ için, 296 °C ve 290 °C civarında gözlemlenen ekzotermik pik ile başlayıp 503 °C (ana kütlenin %25,815'i kalana kadar) ve 479 °C'ye (ana kütlenin %22,43'ü kalana kadar) kadar keskin olarak devam etmiştir. Bu ana bozunumda maksimum kütle kaybı DTG kurvelerinde açıkça görüldüğü gibi, sırasıyla EPS¹⁰ EPS¹⁷, 314,3 °C ve 315,16 °C olarak belirlenmiştir. Ahmed vd., (2013) referans polimerler olarak ksantan gum ve keçi boynuzu gumı kullandığı çalışmada bu yapılar için degradasyon sıcaklıklarını sırasıyla, 282,65 °C ve

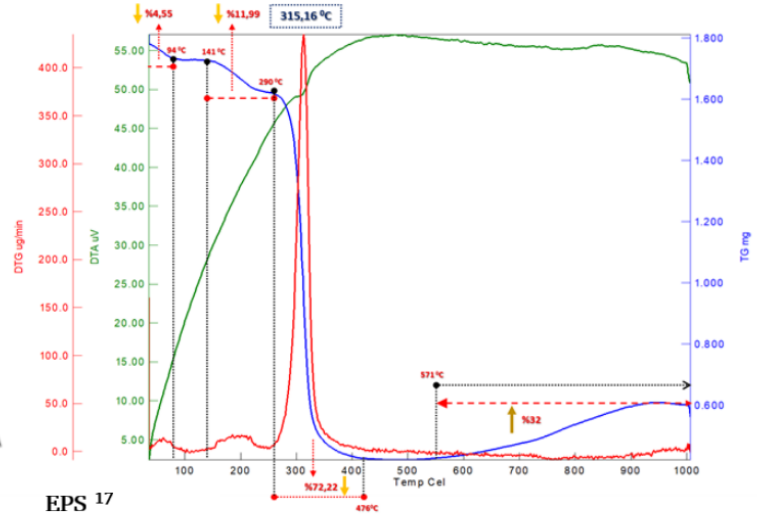
278,46 °C olduğunu ifade etmiştir. Ticari olarak kullanılan bu polimer yapılar ile elde edilen EPS'ler arasındaki termogravimetrik farklılık onların sahip oldukları farklı karbonhidrat bileşimleri ve moleküler yapıları ile ilişkilendirilebilir (Kaviteka vd., 2016). Bir başka çalışmada *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 tarafından lineer dekstran yapıda üretilen EPS'e ait termal özelliklere bakıldığında yapıdaki ana bozunumun 240 °C ile 400 °C (ana kütlenin %11,72'si kalana kadar) arasında görüldüğü ve maksimum kütle kaybının 313,8 °C'de ve *Leuconostoc lactis* L2 tarafından üretilen EPS yapısı için ise 256,1 °C ve 392,9 °C arasında ana bozunumun, maksimum kütle kaybının ise 290 °C'de gerçekleştiği bildirilmiştir (Zhaou vd., 2018, Jiang vd., 2020). Böylece EPS¹⁰ ve EPS¹⁷'nin ticari polimerlere ve benzer yapıdaki EPS'lere benzer fakat daha yüksek degradasyon sıcaklığına sahip olması ve kütle kaybının gerçekleştiği sıcaklık aralıklarının daha geniş olması sebebiyle yüksek sıcaklık gerektiren gıda uygulamalarında için güvenilir olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

2.3.6 EPS Yapılarının XRD Analizi ile Değerlendirilmesi

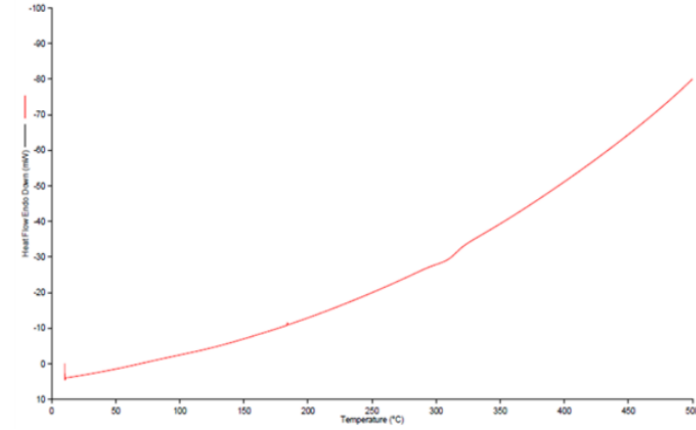
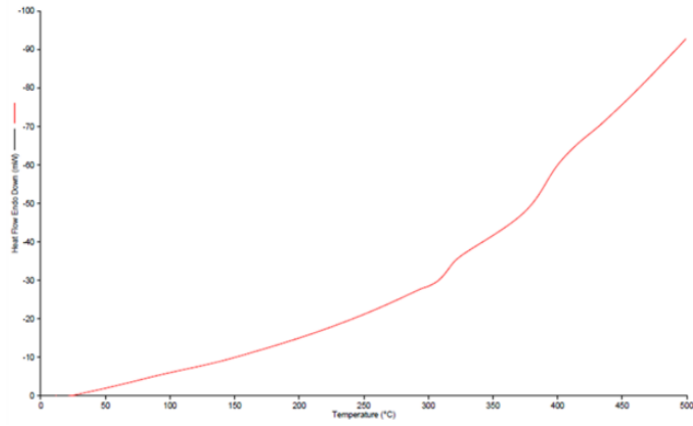
X-ışını kırınımı analizi saflaştırılmış EPS'lerin amorf ve kristal doğasını incelemek için kullanılmıştır. XRD analizine ait grafikte keskin tepe noktaları kristalin karakteri, geniş olanlar amorf karakteri ifade etmektedir. Termogravimetrik özelliklerin belirtildiği Şekil 2.8'de yer alan DTA grafiğinde görülen yayvan pik alanı da yapının amorf karakterde olduğunu desteklemiştir. Kristallik miktarı, keskin tepe noktalarının kırınım deseni ile geniş tepe noktaları arasındaki orantı ile hesaplanmaktadır (Jayamanohar vd., 2018). Şekil 2.9'da' EPS örneklerine ait XRD grafikleri incelendiğinde yaklaşık 2θ 20°'de geniş bir kırınım zirvesi gözlemlenmektedir bu da seçilen EPS'lerin yapısal olarak amorf özellik gösterdiğini ifade etmektedir (Yılmaz vd.,2022; Jia vd., 2019). Daha önce amorf özelliklere sahip dekstranlar rapor edilmiş ve bu özellik, yüksek düzeyde çözünürlük nedeniyle potansiyel olarak daha iyi biyolojik fonksiyonlar göstermek için pozitif bir fonksiyon olarak rapor edilmiştir (Aburas vd., 2020).



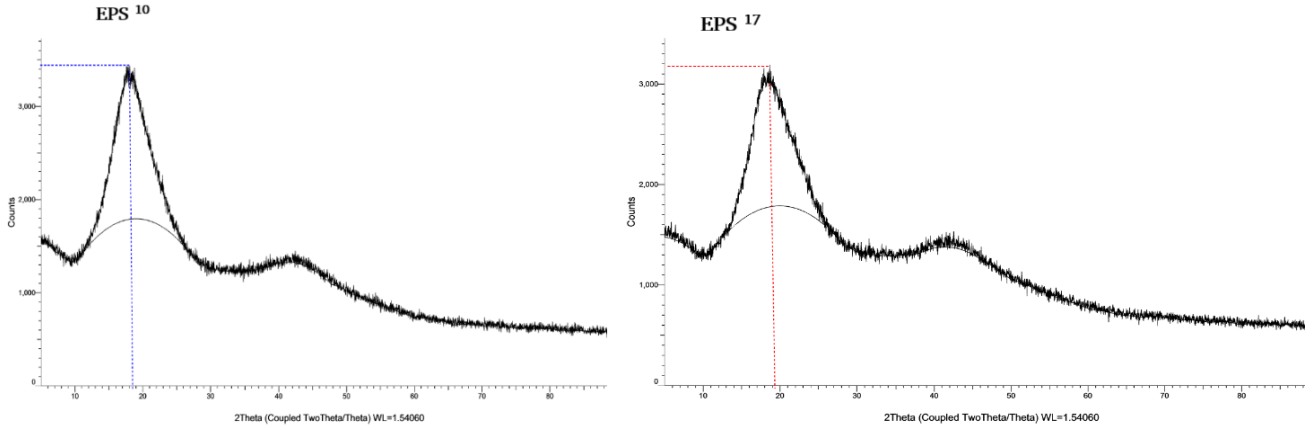
A



B



Şekil 2.8 EPS¹⁰ ve EPS¹⁷ için TGA DTG/DTA ve DSC grafikleri



Şekil 2.9 EPS ¹⁰ ve EPS ¹⁷ için XRD grafikleri

2.3.7 EPS Yapılarının Fizikokimyasal Özelliklerinin Değerlendirilmesi

EPS ¹⁰ ve EPS ¹⁷ için belirlenen fizikokimyasal özellikler Tablo 2.3 (a-b-c)'te belirtilmiştir. Tablo 1'de verilen verilere bakıldığında her iki EPS yapısının da %85 oranında suda çözünbilme özelliğinde olduğu belirlenmiştir. Bu değerin daha önce *Leuconostoc citreum* B-2 tarafından üretilen dekstran tipteki EPS için %80, *Leuconostoc lactis* KC117496 ve *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 tarafından sentezlenen EPS yapıları için ise %14,2 olarak ifade edilmiş olup çalışma ile elde edilen EPS yapılarının benzerlerinden daha yüksek oranda suda çözünbilme özelliği gösterdiği tespit edilmiştir (Ahmed vd.,2013; Saravanan & Shetty, 2016; Feng vd., 2018). EPS yapılarının su tutma kapasiteleri, EPS ¹⁷ için daha önce Feng vd. (2018) tarafından elde edilen EPS yapısı ile benzer şekilde %450 iken EPS ¹⁰ yapısı için bu değer çok daha yüksek olup % 600 şeklinde bulunmuştur. Ayrıca bu değerlerin Saravanan & Shetty, (2016)'nin yaptıkları çalışmada tanımladığı EPS yapısında elde edilen sonuçtan ($117 \pm 7,5$) da daha yüksek olduğu gösterilmiştir. EPS yapıların yağ tutma kapasitelerinin belirlenebilmesi için sıklıkla kullanılan iki bitkisel yağ tercih edilmiştir. Bu değerler 3,63 ml/g ile 4,87 ml/g arasında yer almaktadır. Daha önce Devi vd., (2016)'nin *Weissella confusa* KR780676 tarafından sentezlenen galaktan yapıdaki EPS için 5,09 mL/g, Trabelsi ve ark. (2018), *Lactobacillus* sp. Ca6, tarafından sentezlenen EPS yapısında, bu değerin %15,96 olduğunu bildirilmişlerdir.

EPS yapılarının emülsiyon yapıdaki stabilitelerinin belirlenebilmesi için yine ayçiçek ve zeytin yağı tercih edilmiştir. Stabiliteler 7 gün boyunca takip edilmiştir. Emülsiyon stabilitelerinin 7 günlük takip sonucunda yüksek oranda sabit kaldığı belirlenmiştir. Etkili bir emülgatör, oluşumundan 24 saat sonrasına kadar orijinal emülsiyon hacminin en az %50'sini muhafaza etme yeteneğine sahip olmalıdır. Tablo 2’de EPS yapılarının en az %56,45 emülsiyon aktivitesi ile başladığı bu değer ilk 24 saatte EPS¹⁷ yapısında herhangi bir düşüş görülmezken 168 saatlik sürede %1,80 oranında emülsiyon stabilitesinde düşüş gözlemlenmiştir. En yüksek düşüş ise %14,81 ile EPS¹⁷ yapısının zeytinyağı ile gösterdiği emülsiyon yapısında gözlemlenmiştir. EPS¹⁰'nun bitkisel yağlar ile yapmış olduğu emülsiyon yapılar bu süreçlerin sonunda stabilitelerini daha yüksek oranda korumuştur.

Sinerezis, gıdaların duyuusal ve fonksiyonel özelliklerini olumsuz yönde etkiler ve hidrokolloidlerin eklenmesi ile elde edilen sinersizin en aza indirilmesini sağlar. Nişasta, gıda endüstrisindeki geniş uygulama alanına sahip bir polisakkarit yapısıdır. Hazırlanan nişasta lapasına farklı konsantrasyonlarda EPS yapılarının ilavesi ile sinersizin derecesindeki değişim belirlenmiştir.

Tablo 2.1 EPS¹⁰ ve EPS¹⁷ için Fizikokimyasal Özellikler

	EPS ¹⁰	EPS ¹⁷
Suda Çözünürlülük	%85	%85
Su Tutma Kapasitesi	%60	%450
Yağ Tutma Kapasitesi- Ayç.Y	4,47 mL/g	4,87 mL/g
Yağ Tutma Kapasitesi- Zyt.Y	3,63 mL/g	3,81 mL/g

Tablo 2.2 EPS ¹⁰ ve EPS ¹⁷ için emülsiyon stabilite değerleri

Emülsiyon Stabilesi				
		1sa	24sa	168sa
EPS ¹⁰	Z. Yağı	%57,44	%55,50	%55,40
	Ayçiçek Yağı	%57,45	%55,44	%55
EPS ¹⁷	Z. Yağı	%57,44	%48,93	%48,93
	Ayçiçek Yağı	%56,52	%56,52	%55,50

Tablo 2.3 EPS ¹⁰ ve EPS ¹⁷ Sinersis özellikleri

Sinersis Özellikleri (cm)					
	24sa	72sa	120sa	168sa	240sa
EPS ¹⁰ - %0,5	65,47	63,09	61,90	57,14	55,421
EPS ¹⁰ -%1	72,09	68,23	67,46	65,06	61,44
EPS ¹⁷ -%0,5	67,07	57,31	55	53,75	52,5
EPS ¹⁷ -%1	68,29	65	65	65	65
KONTROL (%2)	42,85	42,85	42,85	42,68	42,68

YAĞI AZALTILMIŞ MAYONEZ ÜRETİMİ

3.1 Giriş

Günümüz yaşam şartları tüketici taleplerinin daha sağlıklı ürünleri tercih etmeleri yönünde değişmektedir. Günlük diyetle alınan gıdaların kalori değerleri ile obezite, kalp hastalığı, hipertansiyon, diyabet ve diğer kronik hastalıklar arasındaki ilişki ve bunların yüksek sağlık maliyetleri sebebiyle kalori alımının düşürülmesi önem kazanmıştır (Schädle vd., 2020). Kalori azaltılması genellikle gıdalarla alınan sindirilebilir nitelikteki şeker, nişasta ve sıvı ve/veya katı yağlar gibi karbonhidrat veya yağ gruplarının çıkartılması ile sağlanabilmektedir. Dolayısıyla bu tür kalori değeri azaltılmış ürünlere ilgi her geçen gün artmaktadır. Ancak bu bileşenlerin tüketiciler tarafından kabul edilen ürünlerin duyusal özelliklerini sağlamadaki rolleri çok büyüktür. Bu sebeple gıda işleme sistemleri bu bileşenlerin azaltılmasına bağlı olarak ortaya çıkan kayıpları azaltabilmek için alternatif bileşenler ve işleme yöntemleri ile sürekli olarak iyileştirme çalışmaları yapmaktadır (Andic vd., 2013; Chung vd., 2014).

Çoğu sağlıklı ürünün tüketiciler tarafından kabul edilebilirliği geleneksel ürünlere göre daha düşüktür. Örneğin hamurlar, soslar, peynirler tatlılar ve bazı içecekler gibi çoğu yüksek kalorili gıdalar, su içinde yağ emülsiyonları (O/W) olarak bulunur. Bu gıdaların kalori değerleri düşürülürken ortamdaki yağın miktarsal olarak azaltılması tam kalorili benzerlerinin sahip olduğu tat, doku ve görünümünden yoksun kalmalarına sebep olur (Chung & McClements, 2015). Bir gıdanın sahip olduğu fiziksel ve yapısal özellikler onun dokusu ve ağız hissi üzerinde etkilidir. Doku “gıdaların görme, işitme, dokunma ve kinestetik duyular aracılığıyla algılanabilen yapısal, mekanik ve yüzey özelliklerinin duyusal ve işlevsel yansıması” olarak ifade edilirken, Ağız hissi gıda maddesinin çiğnenmesi sırasında ağızda yer alan reseptörler ile tükürük sıvısı ile karışan ve yutulan yiyeceğin etkileşiminden kaynaklanan duyular olarak tanımlanır.

Mayonez, sahip olduğu özel aroması ve ağızda oluşturduğu kremsi dokusu sebebiyle dünya genelinde yaygın olarak tüketilen yarı katı bir su içinde yağ (O/W)

emülsiyonudur. Standart olarak üretilen bir mayonez %70-80 oranında yağ içermekte olup üründeki yağ, onun tüketiciler tarafından tercih edilmesine sebep olan lezzet, görünüm ve doku gibi özellikler için ana bileşendir. Değişen tüketici tercihleri doğrultusunda gıdalardaki yağ içeriğinin azaltılması ve aynı zamanda ürünlerin kalite özelliklerinin korunması gerekmektedir. Daha önce Bölüm 1’de ifade edildiği gibi mikrobiyal polisakkaritler olan EPS’ler işlevsellikleri, tekrarlanabilir fizikokimyasal özellikleri, istikrarlı maliyeti ve bol tedariki nedeniyle günümüzde endüstride tercih edilmektedir. Literatürde O/W emülsiyon yapıdaki önemli bir ürün olan mayonezin yağ içeriğini azaltabilmek için genellikle nişasta türevleri veya bazı bitkisel gumlar tek başlarına veya protein yapılarla kombine hidrokolloidler şeklinde yağ ikame edici ajanlar olarak kullanılmışlardır. Bu kapsamda tez çalışmamızın bu bölümünde, şimdiye kadar yapılan çalışmalardan farklı olarak Bölüm 2’de kimyasal özellikleri tanımlanmış olan *Leuconostoc lactis* GW-6 (EPS¹⁰) ve *Weissella confusa* W-16 türü tarafından sentezlenen (EPS¹⁷) ekzopolisakkaritler ile ısıtıl işlem uygulanarak elde edilen mikro partiküle peynir altı suyu proteininin (MWPI) oluşturduğu hidrokolloid yapının yağ ikamesi olarak kullanımı değerlendirilmiştir. Bu amaçla yağ oranı %50 oranında azaltılmış bir mayonez modelinin reolojik özellikleri ve yağ damlacıklarının etkileşim mekanizması gözlemlenmiştir.

3.2 Literatür Özeti

3.2.1 Yağ İkame Maddelerinin Sınıflandırılması

Yağ ikame maddeleri, gıdada yağın fiziksel ve duyuşal özelliklerini taklit edebilen maddelerdir ve ayrıca daha düşük kalori sağlarlar (Akbari vd.,2019). İdeal bir yağ ikamesi, ilave edildiği gıdada yağlama ve akış özelliklerini korur ve geliştirir, dildeki tat reseptörleri tarafından gıdanın algılanmasını ve emilimini artırır ve pürüzsüzlüğü geliştirir. Gıda ürünlerindeki yağ oranını azaltmak, yağı taklit etmek ve onun yerini almak veya tamamen yağı ortadan kaldırmak için kullanılan herhangi bir bileşen veya uygulama “Yağ ikamesi” terimi ile karşılık bulmaktadır (Peng & Yao, 2017; Rogers, 2019; O'Sullivan, 2016). Bir üründe yağı azaltabilmek için çeşitli yollar olmakla beraber ilk ve en basiti, alternatif bileşenler ile yağın uzaklaştırılmasıdır; örneğin hava (dondurmada hacim ve doku gelişimi) veya su (soslar) kullanımı veya daha az yağ kullanımı için atıştırılmalık ürünlerin üretiminde kızartma yerine fırınlama işleminin uygulanması, yağsız yoğurt üretiminde yağsız

süt kullanımı gibi. Diğer bir yöntem ise protein, karbonhidrat veya yağ bazlı olabilen yağ ikameleri, yağ taklitleri veya hacim arttırıcı maddeler ile yağın yer değiştirilmesidir (O'Sullivan, 2016). Yağ ikame maddeleri (Fat replacers) genellikle, *Yağ benzeri* ve *Yağ taklidi* maddeler olarak sınıflandırılır.

Yağ benzeri maddeler (Fat Substitue): katı ve sıvı yağların kimyasal ve fiziksel özelliklerini taklit edebilen, üründeki yağı ağırlık bazında değiştirmek için kullanılan bileşenlerdir, enzim modifiyeli sıvı ve katı yağlar ile üretilebilir veya kimyasal olarakta sentezlenebilirler. En yaygın yağ ikamecileri olarak “olestra” (OleanTM), esterleştirilmiş propoksilatlanmış gliserol, sorbitolün yağ asidi esterleri ve sorbitol anhidritler gibi yağ bazlı sakaroz poliestерleri örnek olarak verilebilir. Bu bileşenler sindirim enzimleri tarafından uygulanan hidroliz işlemine karşı dirençlidirler.

Yağ taklidi maddeler (Fat Mimetics): üründeki yağın yerini alarak onun geliştirdiği duyuşal özelliklerini taklit edebilen, çoğunlukla protein ve/veya karbonhidrat bazlı bileşikler olup arzu edilen işlevsel özelliklerin sağlanabilmesi için yüksek su içeriğine ihtiyaç duyarlar. Yapısal olarak çoğunlukla yüksek hacimde su bağlayabildikleri için gıdalarda kullanılan katı ve sıvı yağlara göre daha düşük kalorifilik değere sahiptirler. Sahip oldukları özellikleri sebebiyle bazı durumlarda gıdaların işleme özelliklerini sınırlandırabilirler, kızartılmış veya suda çözünabilir aroma bileşenlerine sahip ürünlerde kullanılamazlar (Rogers, 2018; O'Sullivan, 2016). Ancak halihazırda kullanılmakta olan ticari yağ ikame maddeleri bu ideal özelliklerin tümünü aynı anda sağlamakta yetersiz kalmaktadır. Bu sebeple her ürün için bu bileşenlerin tek tek veya kombine olarak optimum miktarlarının belirlenmesi gerekmektedir. Yağ ikame maddeleri farklı özelliklere ve etki biçimlerine sahip olmakla beraber Bazı araştırmacılar bu ürünleri elde edildikleri kaynağa göre *üç gruba ayırırlar; yağ, protein veya karbonhidrat* kaynaklı bileşenler (Schädle vd.,2020; Chavan vd.,2016).

Protein yapıda yağ ikame maddeleri yağın üründeki özelliklerini taklit edebilmek için hayvan veya bitki proteinlerinden elde edilmektedir. Gıda endüstrisinde potansiyel uygulamaları az yağlı süt ve et ürünleri, yağ ve fırıncılık mamulleridir. Bu ürünlerde yaklaşık %75-100 oranında ikame özelliği gösterebilirler (Yashini vd.,2021). Proteinler çözünürlük, viskozite, su bağlama, emülsifikasyon, jelleşme, yağ ve aroma bağlama, köpürme ve dokusal özellikler gibi gıdalar için önemli bazı

fonksiyonel özelliklere sahiptirler. Bu özellikleri ile gıdalarda yağ ikamecisi olarak sıklıkla kullanılmaktadırlar. Ayrıca Protein bazlı yağ ikameleri, yağ ikame miktarı ve oluşturduğu lezzet etkileşimleri açısından karbonhidrat bazlı olanlara göre bazı avantajlara sahiptir. Bunlar; (i) besinsel ve fonksiyonel özelliklerin iyileştirilerek kaliteyi geliştir, (ii) gıdalarda kolesterol, yağ içeriği ve kalori yoğunluğunu azaltır (iii) kısmen veya tamamen sindirilebilirler ve emilen protein içeriğini arttırmak ve (iv) Mikro partiküle proteinler (MPP) tam kalorili yağların kalorisinin yaklaşık üçte birine sahiptir.

Proteinlerin bir gıda ürünüde bu işlevsel özelliklerini gösterebilmesi, gıdanın bileşimine, işleme yöntemlerine, kullanılan katkı maddelerine ve ortamın pH değerine bağlı olarak etkilenebilir (Yashini vd., 2021; Schirle-Keller et. al.,1994; Singer, 1996). Hayvansal kaynaklı protein bazlı yağ ikameleri genellikle peynir altı suyu proteinlerinden elde edilir. Bu protein süt endüstrisi tarafından fraksiyonlara ayrılarak gıda bileşeni olarak yeniden değerlendirilen bir yan üründür. Peynir altı suyundan ticari olarak üretimi sırasında ne kadar konsantre edildiğine bağlı olarak iki farklı ürün elde edilir; %50-%75 oranında protein içeren Protein konsantresi (WPC) ve > %90 protein oranına sahip Whey protein İzolatı (WPI). Proteinler küresel yapıya sahip olup partikül boyutları ağızda oluşturduğu his bakımından önemlidir. Genellikle 0.1-0.2 µm boyutuna sahip partiküller ağızda kremsi bir his oluştururken daha büyük partiküller (3 µm'den büyük) kumlu dokunun hissedilmesine sebep olur. Whey proteinleri ısıtılma işlemi ile kolayca mikro partiküle olurlar ve açık ağ dizilerinde 0,1-0.2 µm çapında küresel partiküller oluştururlar. Bu partiküller “ball-bearing” özelliği gösterdiklerinden sıvı ya da yarı katı özellikte gıda yapılarında sulu faza dağıldıklarında ağızda kremsi his oluşturabilirler (Liu vd.,2016a; Rogers, 2018). Ekstrüzyon ile pıhtılaştırılmış WPI de mikro partiküle proteinlerden oluşur. Bu tür partiküller gıda matrisinde kolaylıkla dağılarak yağın tamamının veya bir kısmının yerini alabilir (Yashini vd., 2021; Akbari vd., 2019; Goff, 2016).

Karbonhidratların sahip olduğu moleküler çeşitlilik onların formülasyonlarının çeşitli yöntemlerle değiştirilerek yağ ikamesi olarak istenilen özellikleri karşılayabilecek yapıyı kazanmalarına olanak verir. Nişasta, maltodekstrin, çeşitli gumlar ve diyet lifleri yağ ikamesi olarak kullanılan polisakkarit yapıda bileşenlerdir (Peng & Yau, 2017; De Souza vd., 2015).

Nişasta bazlı yağ ikameleri modifiye ya da prejelatinize nişastalar şeklindeyir. Doğal, çapraz bağlı ve modifiye nişasta bazlı yağ ikame maddeleri, mayonez dondurulmuş tatlılar peynir, sosis, yoğurt dahil olmak üzere çok şeşitli ürünlerde kullanılmaktadır. Nişasta sahip olduğu yapısal özellikleri sebebiyle, süt ürünlerindeki yağ kürecikleri, salata soslarındaki yağ emülsiyonları ve et ürünlerindeki kaslar arası yağlar gibi farklı formlardaki yağ bileşenlerinin yerini alabilmektedir. Nişasta granülleri yağ kristalleri veya yağ emülsiyon damlacıkları ile aynı büyüklükte olduğundan lipid damlacıklarının verdiği ağız hissini taklit edebilir (McClements vd., 2017). Ayrıca ürün veriminin, su tutma kapasitesinin ve jel sertliğinin artmasına, akış davranışlarının geliştirilmesine (örn. viskozite); ve duyusal niteliklerin ayarlanmasına (düşük yağlı salata sosu gibi sıvı formülasyonlarda kremsilikte bir artış) yardımcı olurlar (Rogers, 2019; Peng & Yau, 2017).

Nişastanın enzimler veya asitler ile kısmi olarak hidrolize edilmesi ile elde edilen ve düşük polimerizasyon derecesinde (DP) α -D gluklan yapılar maltodekstrinler olarak isimlendirilmektedir. Genellikle dekstrozu eşdeğeri (DE) değerlerine göre sınıflandırılmakla beraber DE değerlerin 20'den düşüktür. Tipik olarak DE değeri 2-4 arasında olan düşük DE'li maltodekstrinler yağ ikamesi olarak tercih edilmektedir (Psimouli & Oreopoulou 2013). Düşük DE değerli maltodekstrinler, 1–3 μ m çapında düzensiz şekilli mikrojeller oluşturarak emülsiyon veya kristal benzeri yağ parçacıklarına benzer boyut sergiler, doku gelişimine yardımcı olurlar ve koyulaştırma uygulamalarında yüksek jelleşme sergilerler. Böylece gıdalarda yağ benzeri davranış ve özelliklere katkıda bulunurlar (Kasapis vd., 1993; Chronakis 1997; Loret vd., 2004). Gıdalarda yağ ikame edici olarak özellikle unlu mamuller (kek veya kurabiye), süt ürünleri (dondurma, peynir), emülsiyon sosisler, salata sosları ve katı yağlarda kullanılmaktadır (Peng & Yau, 2017).

Gumlar ve lifler, farklı moleküler yapılara (glikozidik bağlar veya yapısal birimler) ve fiziksel özelliklere sahip olan bitkilerden ve bakterilerden izole edilebilen polisakkaritlerdir. Bu bileşenler sindirilemedikleri için gıdaya ek bir kalori getirmezken prebiyotik etki gibi artı bir değer sağlayabilirler. Gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan gumlar arasında guar gum, keğiboynuzu gumı, ksantan gum, karragenan, aljinat ve pektin yer alırken başlıca lif türleri ise selüloz, tahıl kepeği, inülin ve β -glukandır. Bu yapıların türevleri genellikle koyulaştırıcı, emülsifiye

edici ve tekstür geliştiriciler olarak gıda uygulamalarında yer alırlar. (Saha & Bhattacharya 2010). Yapılan çoğu çalışmada, gumlar gibi polisakkarit yapıda bileşiklerin ya aktif yüklü grupları koruyarak ya da yapıda viskozite artışını sağlayarak moleküller arası çarpışma oranını azalttığı ve mikro partiküle proteinler arası etkileşim ve birleşimi engelleyebildiği bildirilmiştir. Polisakkaritlerin yapıda büyük miktarlarda suyu bağlayabilme özellikleri vardır. Bu sebeple ağızda kremi ve kayganlık hissini geliştirebilirler (Sun vd., 2018; Sun, vd., 2015). Gum ve lifler yapısal olarak yağlar ile benzerlik göstermezler. Onların etkinliği proteinler, nişastalar ve emülsiyon damlacıkları gibi diğer gıda bileşenleri ile hidrojen bağları ve hidrofobik veya elektrostatik etkileşimler aracılığı ile oluşturdukları interaksiyonlar ve çapraz bağlar sayesinde ortaya çıkmaktadır. Bu etkileşimler, karakteristik doku ve ağız hissi gelişimine katkı sağlarlar (Ognean vd., 2006). Gumlar ve selüloz dışındaki lifler genellikle doğal formlarında kullanılmaktadır. Bu bileşenlerin yağ ikame kabiliyetleri esas olarak kimyasal bileşimleri ve yapısal özellikleri ile belirlenir. Örneğin Ksantan gum, yüklü trisakarit dalları olan selüloz omurgasına sahiptir ve sulu çözeltileri gıdalara benzersiz reolojik özellikler kazandırabilmektedir. Tüketiminde kolay akış gerektiren salata sosu veya yoğurt gibi ürünlerde sahip olduğu yüksek depolama stabilitesi sebebiyle tercih edilmektedir. Yapısal olarak sahip olduğu farklılıklar sebebiyle üç farklı formu olan karragenanlar (κ , ι ve λ) ise gıda uygulamalarında sinersizi azaltmak ve dokuyu iyileştirmek için kullanılmaktadır (Peng & Yau, 2017).

Gıdalarda istenilen kalite kriterlerini elde edebilmek için gum ve lif yapıları genellikle kendi cinsinden olan veya nişasta ve protein gibi diğer yağ ikame ediciler ile formüle edilmektedirler (Javidi vd., 2016). Örneğin, bir yağı azaltılmış mayonez denemesinde guar gum ve ksantan gum, narenciye lifi karıştırılmış ve yağ emülsiyonlaştırma işlevi ile istenilen duyu kaliteyi sağlamıştır (Su ve ark. 2010). Diğer taraftan guar gum ve fesleğen tohumu gumu ile yapılan başka bir çalışmada bu karışımının tek başına guar gumdan daha iyi kremsilik verdiği az yağlı dondurma örneği için gösterilmiştir (Javidi vd., 2016). En yaygın yağ mimetikleri olarak kullanılan yapılar ise polisakkarit ve protein hidrokolloid grupları olarak karşımıza çıkmaktadır. Hidrokolloidler, doğada bol miktarda bulunan suda çözünür, doğal olarak oluşan bir polimer grubudur. Yağın emülsiyon kalitesini belirlemede oynadığı çoklu roller nedeniyle, farklı gumların kombine olarak

kullanımı yağı azaltılmış ürünlerde doku özelliklerinin iyileştirebilmesi için belirli işlevsellikler ve yeni reolojik özellikler kazandırılması açısından önemlidir (Ma ve Boye, 2013).

3.2.2 Yağ İkame Ediciler Olarak Hidrokolloidlerin İşlevsel Özellikleri

Gıdalarda, gıda kolloidleri ve emülsiyonları alanında yaygın olarak tercih edilen protein ve polisakkarit yapıdaki yağ ikameleri önemli fonksiyonlara sahiptirler. Yağı azaltılmış ürünlerin tasarımında karşılaşılan ana engel yağın üründe geliştirdiği tüm fonksiyonel özellikleri taklit edebilecek yağ ikame maddelerinin tespitidir. Bu iki grup tek başlarına veya kombine olarak kullanılarak yağı azaltılmış ürünlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirebilmektedir. Protein ve polisakkarit gruplarının birleştirilmesi, onların ayrı ayrı sahip oldukları özelliklerin bir araya getirilmesini ve böylece multi-fonksiyonel yapıların oluşturulabilmesine olanak sağlar (Jindal & Khatyar, 2018; Razavi & Behrouzian, 2018). Polisakkarit yapıların oluşturduğu hidrokolloidler bazı önemli fonksiyonel özelliklere sahiptirler. Polisakkarit yapılar molekülün büyüklüğüne, sahip olduğu özel konfigürasyonlara ve elektrik yüklerine bağlı olarak moleküler kolloidler oluşturabilirler. Özellikle yüksek molekül ağırlıklı polimerler suda çözünürlük özelliğine bağlı olarak sulu çözeltiler oluşturma veya suda dağılmış kolloidal sistemler oluşturabilme yeteneğine sahiptirler. Yüksek molekül ağırlığı ile birlikte sahip olduğu kimyasal yapısı ile esnek ve hidrofilik bir karakter gösteren polimerler ise kalınlaştırma yetenekleri ile emülsifiye edici, stabilize edici, yapı koruyucu ve viskozite geliştirici özellik sergilerler (Sikora vd., 2008). Jelleşme özellikleri ise bu polimer yapıların hidrojen bağları, Van der Waals kuvvetleri, iyonik köprüler, kovalent kuvvetler veya dolaşık zincirlerle diğer protein ve/veya polisakkarit moleküllerle oluşturduğu ağlar sayesinde gerçekleşir. Moleküller arası bu tür etkileşimlerin sonucunda sıvı faz içerisinde immobilize edilmiş az çok kararlı 3D bir ağ yapısı oluşturulur. Jelin dokusu ve kararlılığı bağlantı bölgelerindeki moleküllerin sayısı ile ilişkilidir. Bu bölgelerdeki molekül sayısı arttıkça jelin dokusu sertleşir (Stewart vd., 2014). Polimerlerin sağladığı bir işlevsel özellik ise yüzey etkinliğidir. Bu özellik polimerlerin sahip olduğu suyun bağlandığı hidrofilik kısımlar ile yağ veya havanın bağlandığı hidrofobik kısımlar ile ilişkilidir. Bu moleküler yapılar sayesinde ince film kaplamalar oluşturabilme, su ve/veya yağ küreciklerini stabilize etme ve böylece stabil gıda emülsiyonları ve köpük sistemleri oluşturabilirler.

Özellikle köpük sistemlerde su içinde, sulu emülsiyonlarda veya yağ küreciklerinde hava kabarcıklarının dağılımını sağlarlar. Yüksek viskoziteli ağ sistemlerinde, dağılmış parçacıkların hareketliliğini azaltırlar ve kabarcık veya küreciklerin temasını ve toplanmasını engelleyerek stabilizasyonu sağlarlar (Bortnowska vd., 2014)

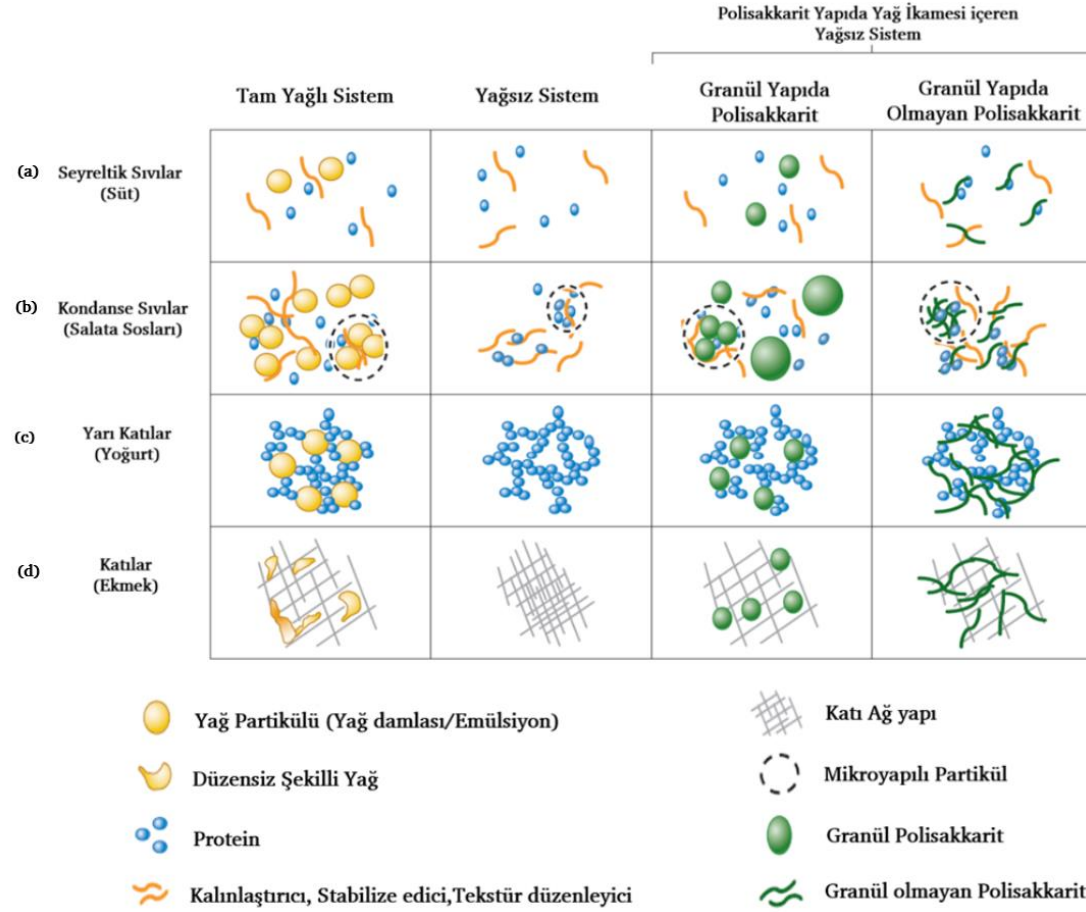
3.2.3 Polisakkaritlerin Olası Yağ İkame edici Mekanizması

Polisakkarit yapıda yağ ikame maddeleri, tam yağlı gıdaların sahip olduğu dokusal ve duyuşsal özellikleri sağlayabilmek adına yağsız veya yağı azaltılmış gıdalarda kullanılmaktadır. Bu yapıların gıda matrisindeki işlevsellikleri Şekil 3.1'de gösterilmektedir.

- (a) Süt gibi seyreltik sıvılarda sulu fazda yağlar, proteinler ve diğer kolloidal moleküller iyi bir dispersiyon sergilerler. Bu fazda yağ molekülleri emülsiyon veya yağ-yapı benzeri parçacıklar halinde stabilize edilirler. Yağın sistemden çıkarılması partikül-partikül etkileşimini azaltır. Bu durum ise ağız hissinin incelmeye sebep olur. Yağ parçacıklarına benzer yapı gösteren granül yapıda yağ ikame maddeleri ayrı ayrı dağılarak yapıda yer alan diğer kolloidal parçacıklar ile etkileşime girebilir. Granül yapıda olmayanlar ise yağ partiküllerini taklit edemezler ancak tam yağlı sistemdeki hissiyatı vermek için proteinler gibi diğer kolloidal bileşenlerle etkileşime girerler.
- (b) Salata sosu veya mayonez gibi daha konsantre ortamlarda sulu fazda kolloidal parçaların hareketleri kısıtlıdır. Bu tür sistemlerde parçacıklar herhangi bir deformasyondan önce kalıcı ve geçici mikro yapılar oluşturmak üzere birbirleri ile etkileşim kurmuşlardır. Yağlar yapıda ya bireysel parçacıklar halinde ya da pıhtılaşma birimlerinin parçacıkları şeklinde yer alırlar. Gıda matrisinde yağ moleküllerinin azaltılması muhtemelen bu mikro yapıli birimlerin bileşimini, boyutunu, şeklini ve içeriğini değiştirerek genel anlamda gıdaların özelliklerini etkiler. Polisakkarit yapılar bu tür konsantre ortamlarda hem büyük boyutlarda mikro yapıli parçacıklar üretirler hem de deformasyon sırasında yağ parçacıklarına benzer şekilde jelleşme kümelenme eğilimi sergilerler.
- (c) Yarı katı gıda ortamlarında (yoğurt vb.) yağ protein matrisinde heterojenliği artırır. Yağ protein ağı içine dahil olduğunda protein molekülleri arasındaki etkileşimi kısıtlar ve yapının esnekliğini azaltır. Tamamen yağsız sistemlerde ise proteinler arasında gelişen çapraz bağların yoğunluğunun artmasına bağlı

olarak güçlü jel yapı gözlemlenir. Yarı katı ortamlarda polisakkaritler yağlara benzer şekilde protein matrisinde çapraz bağlar arasına yerleşerek dokunun daha yumuşak hale gelmesine yardımcı olurlar. Böylece ağızda kremsi ve kalın bir his oluşmasını sağlarlar.

- (d)** Katı gıda ortamlarında (ekmek, kek vb.) yağ molekülleri sadece emülsiyon yapılar halinde değil aynı zamanda bu ağ ortamında boşlukları dolduran dağılmış veya sürekli fazlar olarakta bulunabilirler. Yağın sistemden çıkartılması hamurdaki daha fazla yoğunlukta protein ağı oluşumuna sebep olurken ortamda yağın varlığı bu etkileşimi azalttığından yumuşak dokuların oluşumunu sağlar. Polisakkarit yağ ikameleri bu protein-protein etkileşimini azaltmak amacıyla yapıya ilave edilir. Ancak polisakkaritler erime (fırınlanma aşaması) ve kristalleşme (soğuma aşaması) karakteristiklerine bağlı olarak yağ ile aynı etkiyi gösteremeyebilir. Bu durum ise ürünlerin gevrek dokusu ve kremsi hissini etkileyebilir (Peng & Yau, 2017)



Şekil 3.1 Farklı gıda sistemlerinde çeşitli polisakkaritlerin yağ ikame mekanizmaları (Peng & Yau, 2017)

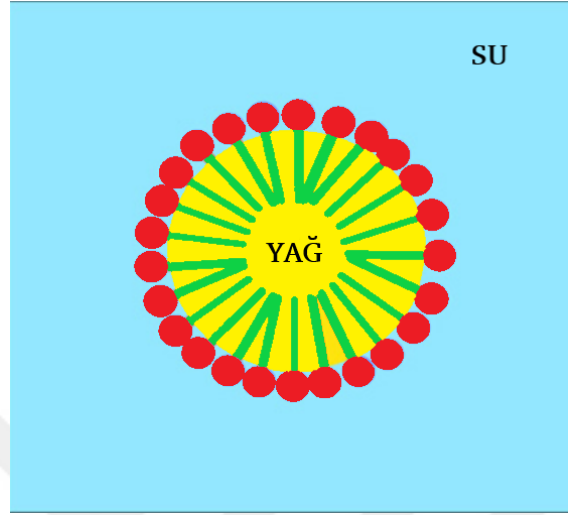
3.2.4 Mayonez Bileşimi ve Üretimi

Mayonez, yağ, yumurta sarısı, sirke veya limon suyu ve başta hardal olmak üzere çeşitli baharatlardan oluşan yarı kararlı bir emülsiyon sistemdir. Dokusu kalın ve kremsi bir sos olup rengi beyaz, krem veya soluk sarıdır. Özel beslenme gereksinimleri olan tüketiciler için az yağlı veya yumurta içermeyen mayonez benzeri ürünler mevcuttur (Liu vd., 2007; Gaonkar vd., 2010; Moustafa vd., 1995). Mayonez, geleneksel anlamda yüzey aktif madde olarak yumurta sarısının kullanıldığı toplam yağ içeriği %65-80 olan bir suda yağ (O/W) emülsiyonudur. Emülsiyon, yağın, yumurta sarısı, sirke, baharatlar ve diğer katkılardan oluşan bir ön karışıma yavaşça ilave edilmesi ile elde edilir (Sun vd., 2018; Mirzanajafi-Zanjani vd., 2019; Kerkhofs vd., 2011).

Mayonez tipi emülsiyonlar yüksek oranda yağ içermelerine rağmen (genellikle % 80'den fazladır), O/W olarak kalmaya devam ederler. İç fazın sahip olduğu yüksek hacim bu tür emülsiyonlarda daha yüksek viskozite ile sonuç verir. Bu tür emülsiyon sistemler en iyi şekilde hidrofilik yüzey aktif maddelerinin kullanımı ile elde edilir. Yüzey aktif madde öncelikle su fazına eklenir ve sonra uygun miktarda yağ ile karıştırılarak ilk ham emülsiyon oluşturulur. Daha sonra bir kolloid öğütücünden veya homojenleştiriciden geçirilerek istenilen yüksek hacimli doku elde edilir. Bu tip emülsiyonlar, yüksek oranda yağ içeren ürünün dış fazında ise suda çözünür aromaların kullanılmasına izin verir (Razavi & Behrouzian, 2018).

Yüzey aktif maddeler (Surfaktanlar) birbirleri ile karışmayan maddelerin yüzey sınırları boyunca kendilerini absorbe ederek temas ettikleri bu yüzeylerin özelliklerini değiştirirler ve onları birbirleri ile karışabilir hale getirirler. Onların bu özellikleri sahip oldukları moleküler yapıları ile ilişkilidir. Bu moleküller, sıvı ve katı yağlar veya benzer uzun zincirli bileşikler ile afiniteye sahip bir hidrokarbon zinciri ile su ve sulu çözeltiler tarafından çekilebilen bir polar gruptan oluşan organik veya organometalik moleküllerdir. *Gıdalarda kullanılan surfaktanlar çok çeşitli işlevlere sahip olmakla beraber esas olarak şu şekilde sınıflandırılabilir; (i) Dispersiyon sağlama, (ii) kompleks oluşturma, (iii) kristalleşme kontrolü, (iv) nem sağlama ve (v) yağ hissi.* Dispersiyon ajanları olarak, emülsifiye etme, köpük sağlama ve süspanse etme görevlerini üstlenirler. Emülsifiye edici olarak yapıda yer aldıklarında birbirine karışmayan iki sıvıyı biri diğerinin içinde dağılmış olan sonlu kürecikler haline getirirler. İç faz (süreksiz veya dağılmış) küreciklere

bölünmüş sıvıdır, dış faz (sürekli veya dağılmamış) ise bu kürecikleri çevreleyen sıvıdır. Gıdalarda çoğunlukla su içinde yağ emülsiyonu olan yağın iç faz suyun dış faz olduğu tipte emülsiyonlar görülür ve bunlara su içinde yağ emülsiyonları (O/W) denir (Razavi & Behrouzian, 2018) (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 O/W emülsiyonunun emülgatör stabilizasyonu

3.2.5 Mayonez Emülsiyonunda Bileşenlerin İşlevleri

Mayonez üretiminde kullanılan bileşenler fiziksel ve kimyasal olarak birbirleri ile etkileşimdedirler ve son ürün kalitesi üzerinde etkilidirler. Özellikle yağı azaltılmış bir ürün eldesinde tüketicilerin istekleri doğrultusunda formülasyonun yeniden belirlenmesi için bileşenlerin sistemdeki fonksiyonlarının bilinmesi önemlidir. Yağ, yapısında açilgliserol, fosfolipit ve yağ asidi molekülleri bulunduran kompleks bir bileşendir. Ürünlerin yapısı, dokusu, görünümü, aroması gibi pek çok özelliği üzerinde etkilidir. Bu etkilerini, viskozite ve tutunma, parlaklık, kayganlık, aroma yoğunluğunu sağlama şeklinde göstermektedir. Mayonez formülasyonunda yaygın olarak kullanılan yağ türleri arasında soya fasulyesi, kanola ve ayçiçek yağı ve bazen pamuk tohumu ve zeytinyağıdır (Martin vd., 2000; Mirzanajafi-Zanjani vd.,2019). Yağ, vitaminler, antioksidan maddeler ve surfaktanlar gibi bileşenlerin çözücü ortamıdır. Aynı zamanda bu bileşen lezzet algısı ile de ilişkili olduğundan son ürünün kalitesini önemli ölçüde etkileyebilir. Bu sebeple tek bir bileşen yağın tüm bu özelliklerini karşılayamadığı için ikame edilmesi zordur (Ma&Boye,2013)

Sirke emülsiyon yapının oluşmasında etkili olan pH değerinin ayarlanmasından sorumlu esas bileşendir. Mayonezin stabilitesi ve viskoelastik yapısı, pH değeri yumurta sarısı proteinlerinin izoelektronik noktasına ulaştığında, proteinlerin yüzey yükünün azaldığı bir dereceye kadar, en yüksek değerindedir. Eğer proteinler yüksek oranda yüklü ise proteinlerin flokülasyonu gerçekleşmez (Depree & Savage, 2001). Mikrobiyolojik açıdan ise taze bir bütün yumurta için 60 ml, yumurta akı için 40 ml ve sarısı için ise 20 ml sirke *Salmonella* riski içermeyen bir mayonez üretimi için önerilmektedir (Xiong, Xie ve Edmondson, 2000; Mirzanajafi-Zanjani vd.,2019).

Tuzun formülasyondaki önemi şu üç sebepten dolayı önemli olarak kabul edilebilir; (i) yumurta sarısı granüllerinin dağılmasına yani ortamda daha fazla oranda surfaktan madde olmasını sağlaması, (ii) proteinlerin yüklerini nötralize ederek yağ damlacıklarının yüzeyinde kolayca adsorbe olmasını sağlamak, (iii) yağ damlacıklarının birbirlerine yaklaşmasını sağlayarak daha güçlü etkileşimlerin gerçekleşmesine yardımcı olmak (Depree & Savage, 2001; Mirzanajafi-Zanjani vd.,2019).

Yumurta, jelleştirme, çırpma ve emülsifiye etme özellikleriyle bilinen gıdalar için önemli protein yapıda bir bileşendir. Yağ- su emülsiyon ortamında proteinlerin adsorbe edilmesi iki basamakta gerçekleşir; (i) doğal protein molekülleri arayüzeyde yayılır ve nüfuz eder, (ii) bu adsorbe bileşenler en düşük düzeyde enerji seviyesinde kalabilmek için bir araya gelerek yeniden düzenlenirler. Mayonez üretiminde protein kaynağı olarak yumurta; sıvı, donmuş veya kurutulmuş halde yumurta sarısı veya tüm yumurta halinde kullanılmaktadır. Kullanıldıkları forma göre gösterdikleri performans değişmektedir. Tüm yumurta, yumurta sarısına göre daha katı bir doku oluşumuna sebep olur. Bu durumun olası sebebi, arayüzeyde denatüre olmuş yumurta albüminin varlığı sulu fazda bir matris oluşturur ve bu da daha fazla emülsifikasyon özellik anlamına gelir. Yumurta sarısı ise sistemde apolipoproteinler ile hidrofobik reaksiyona girerek ve uzun zincirli doymuş trigliseritlerin yağ fazına bağlayarak yağ damlacıklarının etrafında güçlü bir zar oluşturur ve yapay bir krem emülsiyon formunun stabilizasyonunu sağlar (Ma & Boye, 2013).

Gumlar (Polisakkarit makromoleküller), kıvam verici grubuna dahildir. Gıda sistemlerinde sistemin hareketini azaltıcı kalınlaştırıcı özellik geliştiren, yağ ayrılmasını önlemek için sürekli fazda viskoz ve düzenli ağ yapısı oluşturarak uzun süreli emülsiyon stabilitesi sağlayan bileşenlerdir. Arap gumu ve propilen glikol (PGA) dışında diğer gumlar hidrofilik yapıdadır. Polisakkarit yapıda olan gumlar çok sayıda şeker veya oligosakkarit yan dallarından oluşan uzun polisakkarit zincirleridir ve bu dallı yapıları onların suda çözünürlüğüne katkıda bulunmaktadır. Bu gumların emülsiyonların viskozitesini arttırma yetenekleri esas olarak, molekül ağırlıklarına, dallanma derecelerine, moleküler konformasyonlarına ve esnekliklerine bağlıdır (Huang vd., 2001). Mayonez üretiminde gumlar yapıya, emülsiyon stabilitesinin sağlanması, dökülebilirliğin kontrolü, yapışma özelliklerinin iyileştirilmesi ve diğer katı parçacıkların süspansiyonu için eklenmektedir (Ma ve Barbosa-Canovas 1995). Bu işlevsel ve fonksiyonel özellikleri, elektrostatik ve polimerik sterik etkileşimler, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve katyon aracılı çapraz bağlanmalar ile damlacıkları birleşmeye karşı stabilize ederek gerçekleştirmektedirler.

3.3 Materyal Metot

3.3.1 Yağı Azaltılmış Mayonez Üretimi

Materyal: Ayçiçek yağı (Sırma), yumurta sarısı tozu (Kalipso Kimya, Türkiye), sirke (Kühne Elma Sirkesi, Türkiye), Peynir altı suyu proteini (Hardline Whey 3 Matrix- % 80,3 Protein) (WPI) tuz, şeker, sodyum benzoat (Tito- E211) ve EPS kullanılmıştır.

Yöntem: EPS ve WPI kompleks oluşturması amacıyla manyetik karıştırıcılı bir su banyosunda su içinde 80 °C, 15 dakika karıştırılarak çözündürülmüştür. Çözelti oda sıcaklığına (25 °C) soğutulduktan sonra yumurta sarısı, sirke, tuz, şeker ve sodyum benzoat ilave edilerek tüm bileşenler çözünene kadar karıştırılmıştır. (Tüm mayonez örneklerinin hazırlanmasında 4 g yumurta sarısı, 4 g sirke, 1,1 g tuz, 0,5 g şeker ve 0,1 g sodyum benzoat kullanılmıştır.) Mayonezlere ait hazırlanan bu sulu fazlar yüksek hızlı dispersiyon ünitesinde (Ultra Turrax, Daihan, HG15D, G. Kore) Tablo 3.1’de belirtilen miktarlarda ayçiçek yağı ile oda sıcaklığında (25 °C) 10.000 rpm’de 3 dakika karıştırılmıştır. Kontrol örnekler olarak tam yağlı (80 g sıvı yağ/100 g mayonez) ve az yağlı (40 g sıvı yağ/100 g mayonez) mayonez örnekleri

olarak WPI ve EPS yerine ksantan gum (XG) ile hazırlanmıştır. Mayonez karışımlarına eklenecek olan EPS-WPI oranları reolojik özelliklerinin değerlendirildiği ön denemeler sonucunda belirlenmiştir. Buna göre kombinasyonlar %1-3-5 EPS ve %3-5-10 WPI olacak şekilde ayarlanmıştır.

Tablo 3.1 Mayonez formülasyonları

	Yağ	Yumurta Sarısı	EPS-WPI	Sirke	Tuz	Şeker	Potasyum Sorbat
%100 Yağlı	40 g	4 g	XG (%0,4)	4 g	1,1 g	0,5 g	0,1 g
%50 Yağlı	20 g	4 g	20 g	4 g	1,1 g	0,5 g	0,1 g

3.3.2 EPS ve EPS-WPI Çözeltilerinin FTIR Spektroskopisi Analizi

EPS ve WPI-EPS çözeltilerine ait fonksiyonel grupların değişimin açığa çıkartılması amacıyla, FTIR Spektrometresi (Perkin Elmer Spectrum 65, ABD) kullanılmıştır. Bu amaçla optimum nokta olarak tespit edilen örneğin (% 2 EPS-%5 WPI) FTIR spektrumları 4000–400 cm^{-1} bölgesinde iletim modunda tarandı. FTIR spektrumlarını elde etmek için 32 tarama ile 4 cm^{-1} kızılötesi spektral çözünürlük uygulanmıştır.

3.3.3 Mayonez Örneklerinin Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Yağı %50 oranında azaltılmış olan mayonez örneklerinin akış davranışı özelliklerini (dinamik reolojik özellikler, tiksotropik özellikler (3-ITT)) ve emülsiyon stabilitesini (25 °C 'de mayonezlerin emülsiyon stabilitesi (termal döngü testi)) belirleyebilmek amacıyla sıcaklık kontrollü bir reometre (MCR 302; Anton Paar, Avusturya) kullanılmıştır.

Mayonezlerin akış davranışı reolojik özellikleri, paralel bir plaka konfigürasyonu ve 0-100 kayma hızı (1/s) aralığında reometre probu ile numune plakası arasında 0,5 mm'lik bir mesafe kullanılarak ölçülmüştür. Kayma hızına karşılık gelen kayma gerilimi değerleri ölçülmüştür. Akış davranışı ve reolojik özelliklerin parametrelerini değerlendirmek için Power Law modeli ve doğrusal olmayan regresyon kullanılmıştır.

Denklem 1: $\tau = K\gamma^n$

(τ : kayma gerilimini (Pa), K: kıvamlılık indeksini (Pa·s⁻ⁿ), γ : kayma hızını (1/s) n: akış davranış indeksi)

Numunelerin dinamik reolojik analizini yapmak için paralel bir plaka konfigürasyonu kullanılmış olup doğrusal viskoelastik bölgeyi (LVR) değerlendirmek için, ilk önce %0,1'lik bir gerinim değeri ile genlik süpürme testi yapılmıştır. LVR'de frekans tarama testi 0.1–10 Hz. ve 0.1–64 (ω) açısal hız aralıklarında gerçekleştirilmiştir. Açısal hız ve frekansa ek olarak, depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G'') hesaplandı. Parametreleri değerlendirmek için Power Law modeli ve doğrusal olmayan regresyon kullanılmıştır.

Denklem 2: $G' = K'(\omega)^{n'}$

Denklem 3: $G'' = K''(\omega)^{n''}$

(G' : depolama modülü (Pa), G'' : kayıp modülü (Pa), ω : açısal hız (1/s) K' , K'' : tutarlılık indeksi, n' : akışı davranış indeksi) (Yoo & Rao, 1996).

Mayonez numuneleri için, 3ITT reolojik özelliklerinin sırasıyla sabit kesme hızı 0,5/s ve değişken kesme hızı 150/s olduğu tahmin edilmiştir. Değerler seçilirken numunelerin LVR'si dikkate alınmış ve numunelerin LVR'si 50 s-1'de bitmiştir. 1. zaman aralığında mayonez örnekleri 100 s çok düşük kayma hızına (0.5/s) maruz bırakılmıştır. 2. zaman aralığında 150/s 40 s için belirlenen kesme kuvvetine tabi tutulmuştur. 3. zaman aralığında, 2. zaman aralığındaki dinamik reolojik davranış, 1. zaman aralığında numuneler düşük kesme hızına maruz bırakılarak test edilmiştir. Mayonez örneklerinin viskoelastik katı yapısında (G) değişiklik olduğu gözlenmiştir. Mayonez örneklerinin 3. zaman aralığındaki davranışı, ikinci dereceden bir yapısal kinetik model ($n=2$) kullanılarak modellenmiştir:

Denklem 4: $\left[\frac{G' - G_e}{G_0 - G_e} \right]^{1-n} = (n-1)kt + 1$

(G' : depolama modülü (Pa), k: tiksotropik hız sabiti, G_0 : üçüncü zaman aralığındaki bir ilk depolama modal değeri (Pa) ve G_e : denge depolama modülü)

Termal döngü testi, yapısal değişiklikleri belirleyerek ve üretim, dağıtım, depolama ve nakliye sırasındaki sıcaklık farklılıklarını simüle ederek emülsiyonun

kararlılığını kısa sürede değerlendirmek için uygun bir yöntemdir. Emülsiyonlar farklı sayıda termal döngüye tabi tutulur. Döngüden döngüye modüllerin değişimi, termal stresin uygulanmasının neden olduğu yapısal veya morfolojik değişiklikleri ifade eder. Termal döngü testi, salata sosu ve mayonez gibi su emülsiyonlarında yağ stabilitesini tahmin etmek için hızlı bir araç olarak kullanılabilir. Tekin vd., (2020) ilk olarak, yüksek sıcaklıklarda (23 ila 45 °C) ve düşük sıcaklıklarda (5 ila 23 °C) on bir termal döngüye tabi tutulan su içinde yağ emülsiyonlarının fiziksel stabilitesinin belirlenmesinde termal döngü testinin kullanıldığını bildirmiştir. Gerinim değeri ve açısal frekans (ω) sırasıyla %0,5 ve 10 Hz olarak düzenlenmiştir. Soğutma ve ısıtma hızları 11 K/dk olarak ayarlanmış ve dahili döngü kullanılarak, reometre yazılımı ile tüm döngülerin maksimum noktaları belirlenmiştir. Mayonezin ısı kararlılığını gözlemlemek için Denklem (5) kullanılarak her bir döngünün maksimum değeri birinci döngünün değerine bölünerek G^* değerleri için bağıl yapısal değişim değeri (Δ) hesaplanmıştır (Karasu vd., 2015).

Denklem 5:
$$\Delta = \frac{G'_{\max}(G''_{\max}),i}{G'(G''),i}$$

3.3.4 Mayonez Örneklerinin Oksidatif Özelliklerinin Belirlenmesi

Mayonez örneklerinin (Aksoy, Tekin-Cakmak, Karasu ve Aksoy, 2021) oksidatif stabilitesini belirlemek için OXITEST Cihazı (Velp Scientifica, Usmate, MB, İtalya) kullanılmıştır. Oksidatif stabilite analizine başlamadan önce tüm numuneler 20 g olarak tartılmıştır. Cihaz sıcaklığı ve oksijen basıncı sırasıyla 90 °C ve 6 bar olarak ayarlanmıştır. Örneklerin oksidatif stabilite değerlerini yorumlamak için OXITEST (Velp, İtalya) sistemi tarafından elde edilen indüksiyon periyodu (IP) değeri kullanılmıştır.

3.3.5 İstatistiksel analiz

Tüm analitik ölçümler ikişer paralel halinde yapılmıştır. Sonuçlar aritmetik ortalama değerlerine $\pm$ yarı sapma aralıkları olarak ifade edilmiştir. Elde edilen veriler tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Farklılıklar, $p < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

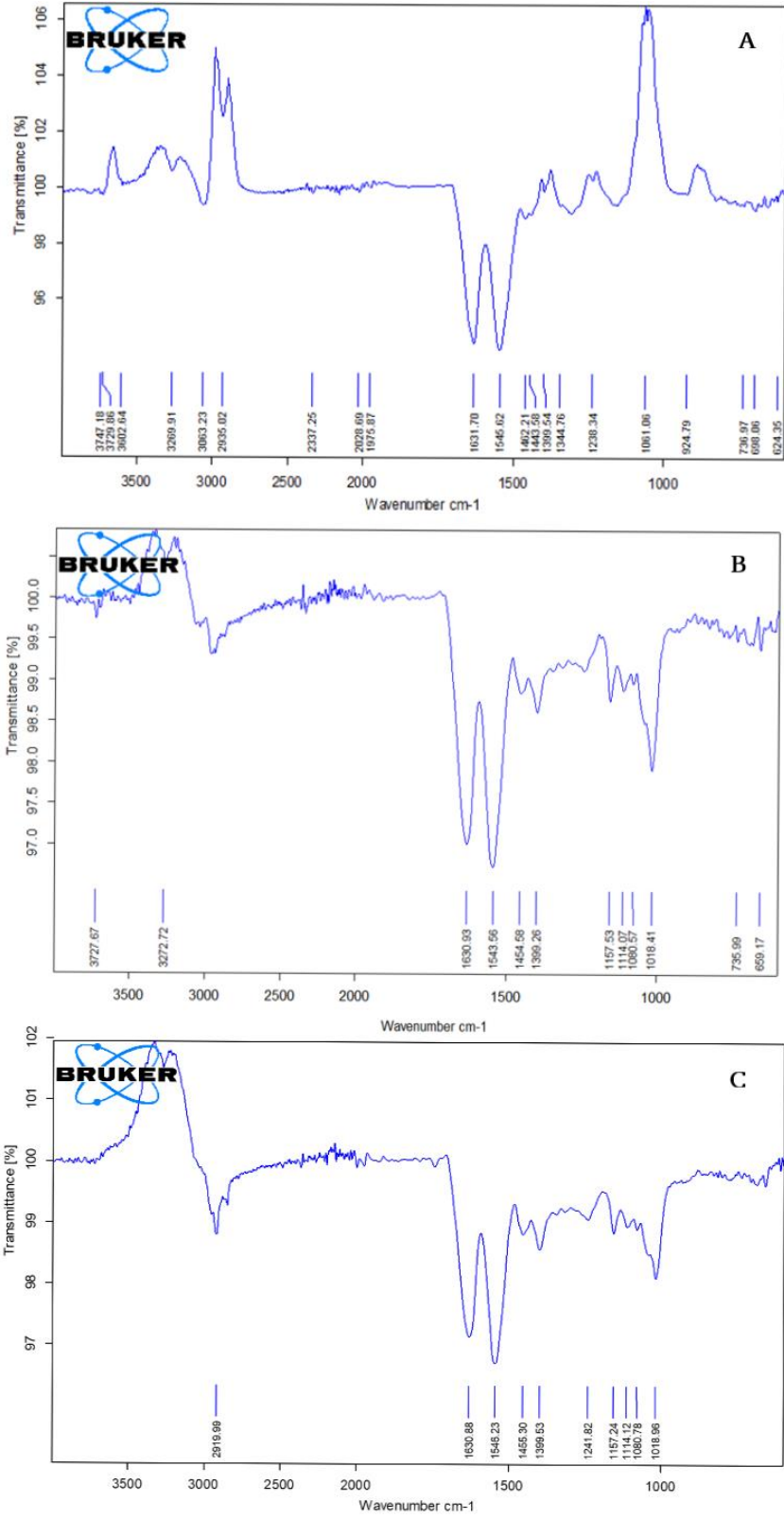
3.4 Sonuçlar ve Tartışma

3.4.1 EPS- EPS-WPI çözeltilerinin FTIR Spektroskopisi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

WPI-EPS etkileşiminin kullanıldığı mayonez formülasyonunda fonksiyonel gruplara ait değişimler FTIR analizi ile açığa çıkartılmıştır. Şekil 3.3'te %2 EPS¹⁰ %5 WPI, %2 EPS¹⁷- %5 WPI ve % 5 oranında WPI içeren sulu çözeltilere ait grafikler gösterilmiştir. Protein yapılarının FTIR grafikleri üç absorpsiyon bandına sahiptir (Amid A -Amid I-Amid II bantları). Amid A bandı, 3300 cm⁻¹ civarında N-H gerilme titreşimi ile bağlantılı olarak bantlar oluşturur, ancak güçlü su absorpsiyonu nedeniyle, 3000 ve 4000 cm⁻¹ arasındaki Amid A bantları tanımlamada nadiren kullanılır. EPS¹⁰ ve EPS¹⁷ için 3000–4000 cm⁻¹ bandındaki titreşimler Şekil 3.3 A-B'de gösterilmiştir. EPS'lerin yapıya eklenmesinden önce ve sonra 3269,91 ve 3272,72 cm⁻¹ civarında benzer pikler gözlenmiş ve bu piklerin protein yapısındaki N-H yapılarına ait olduğu düşünülmüştür. EPS ilavesi öncesi 3269,91 civarında gözlemlenen keskin pikler daha sonra 2919,99 cm⁻¹ civarına kaymıştır. Bu piklerin protein yapısındaki N-H yapılarına ait olduğu düşünülmektedir. Bölüm 2'de EPS yapılarının FTIR grafiklerine bakıldığında EPS¹⁷ için 3329,82 cm⁻¹'de EPS¹⁰ için 3348,04 cm⁻¹ gözlemlenen pikler kaybolmuştur. EPS yapılarındaki bu değişiklik, su ile bağlı H ve WPI'ye bağlı olarak OH gruplarının kaybı ile ilişkilendirilirken protein yapı için, N-H bağlarının sıcaklığın etkisi ile denatüre olması ile ilişkilendirilebilir (Kavitate vd., 2016). Peptit yapısında karbonil gruplarının titreşiminden kaynaklanan Amid I bandı 1660 cm⁻¹ civarında gözlemlenmektedir ancak bu bantlar yapıda su sinyallerinin varlığı sebebiyle 1560-1725 cm⁻¹ aralığında görülebilmektedir. Özellikle %5 WPI sulu çözeltisine ait grafikte yer alan 1631,70 cm⁻¹ ile 1545,62 cm⁻¹ ile Şekil A'de yer alan 1630,93 ile 1543.56 cm⁻¹ üzerindeki bantlar whey proteinlerinin yapısını karakterize eden bantlardır. 1631,70-1630,93 Amid I grubu proteinlerin (-CO-NH₂) karakteristik bantlarını ifade ederken, 1540 civarındaki bantlar Amid II (-CO-NH) yapısını göstermektedir (Paulsen vd.,2016, Gbbasi vd., 2012). Şekil B'de 1200-1000 cm⁻¹ aralığında belirgin hale gelen 1157,53- 1114,07 – 1018,41 cm⁻¹ civarlarında görülen pikler karakteristik sakkarit tepeleri ile ilişkilendirilmiş olup çözeltide var olan polisakkarit karakterde EPS yapıları ile ilişkilendirilmiştir. 1157,53 cm⁻¹ bandı ile daha tanımlanmış olan EPS yapılarındaki 1148,41 cm⁻¹

civarında gözlemlenen bantlar ile örtüşmekte olup glikozidik köprüdeki C–O–C titreşimini ifade etmektedir (Zhao vd.,2019, Diana vd., 2019). 1018,41 cm⁻¹ gözlemlenen bantlar ise 1007 cm⁻¹ yakınlarında ortaya çıkan keskin pik (C – O – C ve C – O) gerilimleri ile benzerdir. Bu pikler yapıda bulunan polisakkarit bileşenlerin varlığını ortaya çıkartmıştır (Aburas vd., 2020, Yalmanci vd., 2022).





Şekil 3.3 %5 WPI (A), WPI ve %2 EPS ¹⁰- % 5 WPI (B), %2 EPS ¹⁷- %5 (C) sulu çözeltileri için FTIR grafikleri

3.4.2 Mayonez Örneklerinin Reolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

3.4.2.1 Mayonez Örneklerinin Akış Davranış Özellikleri

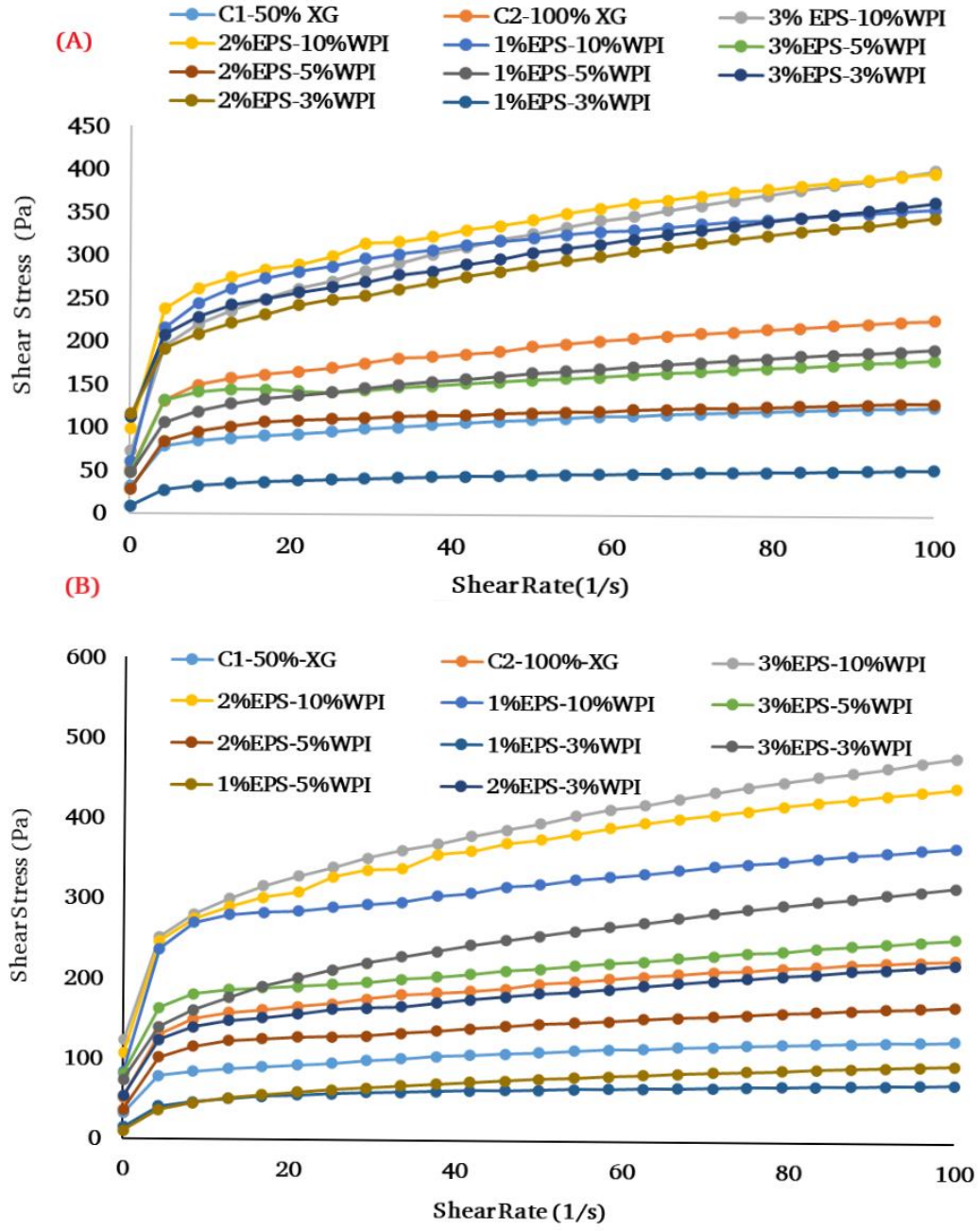
EPS¹⁰, EPS¹⁷ ve WPI kombinasyonlarını farklı konsantrasyonlarda içeren az yağlı mayonezlere ait akış davranış eğrileri Şekil 3.4 (A – B)'de gösterilmiştir. Şekil 3.4 A'da EPS¹⁷ ile Şekil 3.4 B'de ise EPS¹⁰ ile hazırlanan numunelerin kayma gerilmesi ve viskozite değerleri, kayma hızı değişimine karşı incelenmiştir. Kesme hızı arttıkça, kesme gerilmesi artar ve kurucu moleküllerin artan hizalanmasıyla bağlantılı olarak kesme-inceltme davranışında viskozite azalır (Rha, 1975). Başka bir deyişle, mayonez numuneleri, tüm mayonezler için tipik olan kesme inceltmeli akış davranış özellikleri göstermiştir (Al Khatib, 2006). Mayonez örneklerinin sabit kesme akış karakteristiği arasında sayısal bir değerlendirme yapmak için Power-law modeli uygulanmıştır. Tüm mayonezlerin reolojik özellikleri, yüksek regresyon katsayısına (EPS¹⁰- R²:0,979-0,999 ve EPS¹⁷ R²:0,983-1,000) sahip Power-law modelinin uyum parametrelerine göre elde edilmiştir. Modelin hesaplanan parametreleri (K ve n değerleri) Tablo 3.2 (A – B)'de gösterilmiştir. Tablo 3.2- A incelendiğinde, EPS¹⁷ ile hazırlanan örneklerin K değerlerinin 20,05-169,13 Pa.sn arasında, n değerlerinin ise 0,133 ile 0,383 arasında değiştiği görülmüştür. Tüm mayonez örnekleri Newtonian olmayan sıvıdır ve n<1 nedeniyle psödoplastik davranış gösterir. Az yağlı örnekler arasında en yüksek K (169,13 Pa.sn) değeri %2 EPS¹⁷-%10 WPI ile formüle edilmiş mayonez örneğinde belirlenmiştir. %1 EPS¹⁷-%5 WPI, %3 EPS¹⁷-%3 WPI, %2 EPS¹⁷-%3 WPI ve %1 EPS¹⁷-%3 WPI içeren numuneler dışında EPS-WPI içeren az yağlı mayonezler %0,4 ksantan sakızı içeren düşük yağlı kontrol numunesinden daha düşük n değerleri ile daha yüksek kesme inceltmesi davranışı göstermiştir. Ayrıca, %3 EPS¹⁷- %10 WPI, %2 EPS¹⁷- %10 WPI, %1 EPS¹⁷- %10 WPI ve %3 EPS¹⁷- %5 WPI içeren düşük yağlı numuneler, tam yağlı kontrol örneğinden daha yüksek K değerleri ve daha küçük n değerleri sergilemiştir. Tablo 3.2- B'de ise EPS¹⁰ ile hazırlanan mayonez örneklerine ait K değerlerinin 24,529 Pa.sn ile 174,403 Pa.sn arasında ve n değerlerinin 0,166 ile 0,304 arasında değişmesi mayonez örneklerinin tamamının psödoplastik davranış gösterdiğini göstermektedir (n<1).

%1 EPS¹⁰- %3 WPI içeren numune dışında, diğer EPS¹⁰- WPI içeren düşük yağlı mayonezler, %0,4 ksantan zamkı içeren düşük yağlı kontrol numunesine göre daha

düşük n değerleri ile daha yüksek kesme incilmesi davranışı gösterdi. Ayrıca, %3 EPS¹⁰- %10 WPI, %2 EPS¹⁰-%10 WPI, %1EPS¹⁰- %10 WPI, %3 EPS¹⁰- %5 WPI ve %3 EPS¹⁰- %3 WPI içeren düşük yağlı numuneler tam yağ kontrol numunesinden daha yüksek K değerleri ve daha düşük n değerleri göstermiştir. Az yağlı örnekler arasında en yüksek K (174,403 Pa.sn) değeri %3 EPS¹⁰- %10 WPI ile formüle edilmiş mayonez örneğinde belirlenmiştir.

Mayonez ve salata sosları gibi yağ/su emülsiyonlarında yağ oranının düşmesi kıvam değerinde önemli düşüslere neden olur. Bu azalmanın telafisi, düşük yağlı ürünler için önemlidir (Li vd., 2012). Mayonez örneklerinde yağ içeriğinin azalmasıyla birlikte K değerinde önemli bir düşüş gözlenmiştir. Düşük yağlı örneklerle EPS ve WPI eklenmesiyle, K değerleri tüm konsantrasyonlar için önemli ölçüde artmıştır ($p<0,05$). Li, Kim ve Yoon (2012), farklı yağ içeriklerine sahip mayonezlerin reolojik özelliklerini incelemiş ve daha yüksek yağ içeriğinin daha yüksek K değerlerine ve daha düşük n değerlerine neden olduğunu bildirmiştir.

Chanchan Sun vd., (2018), pektin ve WPI etkileşimi ile yaptıkları mayonez çalışmasında benzer sonuçları bulmuş ve bunun, mekanik enerjinin protein agregalarının parçalanmasına ve ardından daha küçük olanlarla yeniden toplanmasının bir sonucu olabileceğini bildirmiştir. Az yağlı ve yağsız mayonezlerde pektin ağının varlığı, aşağı eğrilerde daha düşük n değerlerine neden olarak önemli protein toplanmasını önlemiştir. Bu nedenle, EPS'nin bu çalışma için protein agregasyonunun inhibisyonunu sağladığı açıklanabilir. Protein-polisakkarit agregaları veya partikülleri, yağ taklitçileri olarak potansiyel uygulamalara sahiptir ve WPI-EPS kompleksi, az yağlı mayonezlerde kullanılabilecek olan potansiyel yağ mimetiği olarak değerlendirilebilir. (Chung vd., 2013).



Şekil 3.4 Az yağlı mayonezlerin akış davranış reolojik özellikleri

Tablo 3.2 Az yağlı mayonezlerin akış davranış reolojik özellikleri

(A)	K	n	R ²
K1-50%-XG	54,41±0,93	0,181±0,001	0,995±0,000
K2-100%- XG	93,14±0,71	0,193±0,002	0,996±0,001
%3 EPS ¹⁷ - %10 WPI	124,10±1,21	0,251±0,006	0,997±0,000
%2 EPS ¹⁷ - %10 WPI	169,13±0,15	0,187±0,003	0,995±0,000
%1EPS ¹⁷ - %10 WPI	161.31±2,07	0,177±0,002	0,990±0,005
%3 EPS ¹⁷ - %5 WPI	98.33±4.01	0,133±0,004	0,988±0,001
%2 EPS ¹⁷ - %5 WPI	63.74±1,32	0,160±0,004	0,983±0,004
%1 EPS ¹⁷ - %5 WPI	20,355±3,622	0,220±0,041	0,998±0,001
%3EPS ¹⁷ - %3 WPI	22,039±0,161	0,383±0,002	1,000±0,000
%2 EPS ¹⁷ - %3 WPI	21,878±0,341	0,385±0,001	1,000±0,000
%1 EPS ¹⁷ - %3WPI	20,05±0,04	0,216±0,001	0,998±0,000
(B)	K	n	R ²
%3 EPS ¹⁰ - %10 WPI	174,403±0,891	0,214±0,002	0,996±0,001
%2 EPS ¹⁰ - %10 WPI	173,363±0,378	0,201±0,000	0,998±0,000
%1 EPS ¹⁰ - %10 WPI	172,354±1,070	0.166±0,005	0,979±0,002
%3 EPS ¹⁰ - %5 WPI	108,860±13,531	0,175±0,024	0,988±0,003
%2 EPS ¹⁰ - %5 WPI	91,172±2,147	0,186±0,007	0,992±0,003
%1 EPS ¹⁰ - %5 WPI	55,529±1,229	0,304±0,004	0,999±0,001
%3 EPS ¹⁰ - %3 WPI	107,088±14,887	0,234±0,030	0,995±0,000
%2 EPS ¹⁰ - %3 WPI	84,553±5,380	0,202±0,016	0,997±0,002
%1 EPS ¹⁰ - %3 WPI	41,888±0,958	0,188±0,001	0,994±0,001

3.4.2.2 Mayonez Örneklerinin Dinamik Viskoelastik Özellikleri (Frekans Tarama Testi)

Şekil 3.5 (A – B), frekansın (0-62,5 rad/sn) bir fonksiyonu olarak depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G'') tarafından tanımlanan lineer viskoelastik bölgeyi gösteren stres taramasına ait verileri göstermektedir. Şekil 3.5 (A – B), hem G' hem de G'' büyüklüğü frekansla birlikte artmıştır. Ayrıca, tüm numunelerin G'' 'si tüm frekans aralığında G' 'den daha büyüktür, bu da tüm numunelerin geleneksel mayonez gibi katı benzeri bir davranışa sahip olduğu anlamına gelmektedir (Harrison & Cunningham, 1985). Genel olarak, daha yüksek yağ içeriğine sahip emülsiyonlar aynı zamanda daha yüksek G' değerlerine sahiptir (Ma & Barbosa-

Canovas, 1995). Ancak Şekil 3.5 (A – B) 'te görüldüğü gibi mayonezlerin jel yapısı formülasyona yağ yerine EPS-WPI kompleksinin ilavesi ile dengelenmiştir. Özellikle %10 WPI ve %1- 2- 3 EPS içeren düşük yağlı numune yüksek yağlı kontrol numunesine göre çok daha yüksek G' değerleri göstermiştir. Yağlı kontrole göre %2 ve %3 EPS-%3WPI ve %2 ve %3 EPS-%5WPI ile daha yüksek G' değerleri elde edilmiştir. Sun vd., (2018), mikropartikül peynir altı suyu proteini (MWP) ve yüksek metoksi pektin bazlı yağ mimetiğinden ile ürettikleri mayonezlerin reolojik özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, %80 yağlı tam yağlı kontrol numunesinin %16 yağ içeriğini %14 MWP ve %2 pektin ile ikame edebilmişler ve az yağlı mayonez numunesinin yağlı kontrol numunesinden daha düşük jel özellikleri gösterdiği sonucuna varmışlardır. Bu çalışmadan yola çıkarak mayonez örneklerinde EPS ve WPI kompleksinin yağ ikamesi olarak kullanılmasının daha etkili olduğu söylenebilir. Mayonez örneklerinin viskoelastik parametreleri Power-Law modeli kullanılarak hesaplanmıştır (Tablo 3.3 A- B). Tablo 3. 3- A 'da EPS¹⁷ örnekleri için K' ve K" değerleri sırasıyla 73,81-1172,51 ve 26,90-231,74 Pa.sn aralığında yer alırken, n' ve n" değerleri sırasıyla 0,117-0,270 ve 0,117-0,280 aralığında bulunmuştur (sırasıyla R²=0,994-0,999 ve R²=0,917-0,992). Tablo 3. 3 – B' de ise, EPS¹⁰ örneklerinin K' ve K" değerleri sırasıyla 219,99-1361,48 ve 42,41-212,95 Pa.sn aralığında yer alırken, n' ve n" değerleri sırasıyla 0,118-0,224 ve 0,158-0,290 aralığında bulundu (R²=0,99). Tüm mayonez örneklerinde K' değerinin K" değerinden yüksek çıkması elastik katı karakterin viskoz karaktere baskın olduğunu göstermektedir. %3 EPS¹⁰⁻¹⁷- %10 WPI, %2 EPS¹⁰⁻¹⁷-%10 WPI, %1 EPS¹⁰⁻¹⁷-%10 WPI, %3 EPS¹⁰⁻¹⁷-%5 WPI, %2 EPS¹⁰⁻¹⁷-%5 WPI, %1 EPS¹⁰⁻¹⁷ %3 EPS içeren düşük yağlı numuneler % 5 WPI ve %2 EPS¹⁰⁻¹⁷-%3 WPI, tam yağlı kontrol numunesinden daha yüksek K' ve K" değerlerine sahiptir. Yani EPS-WPI ile hazırlanan tüm düşük yağlı numuneler, düşük yağlı kontrol numunesinden daha yüksek K' ve K" değerlerine sahiptir. Bu durumda EPS ve WPI kompleksinin farklı miktarlardaki sinerjistik etkisinin düşük yağlı mayonez numunelerinin viskoelastik davranışı üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

3.4.2.3 Mayonez Örneklerinin 3ITT Reolojik Özellikleri

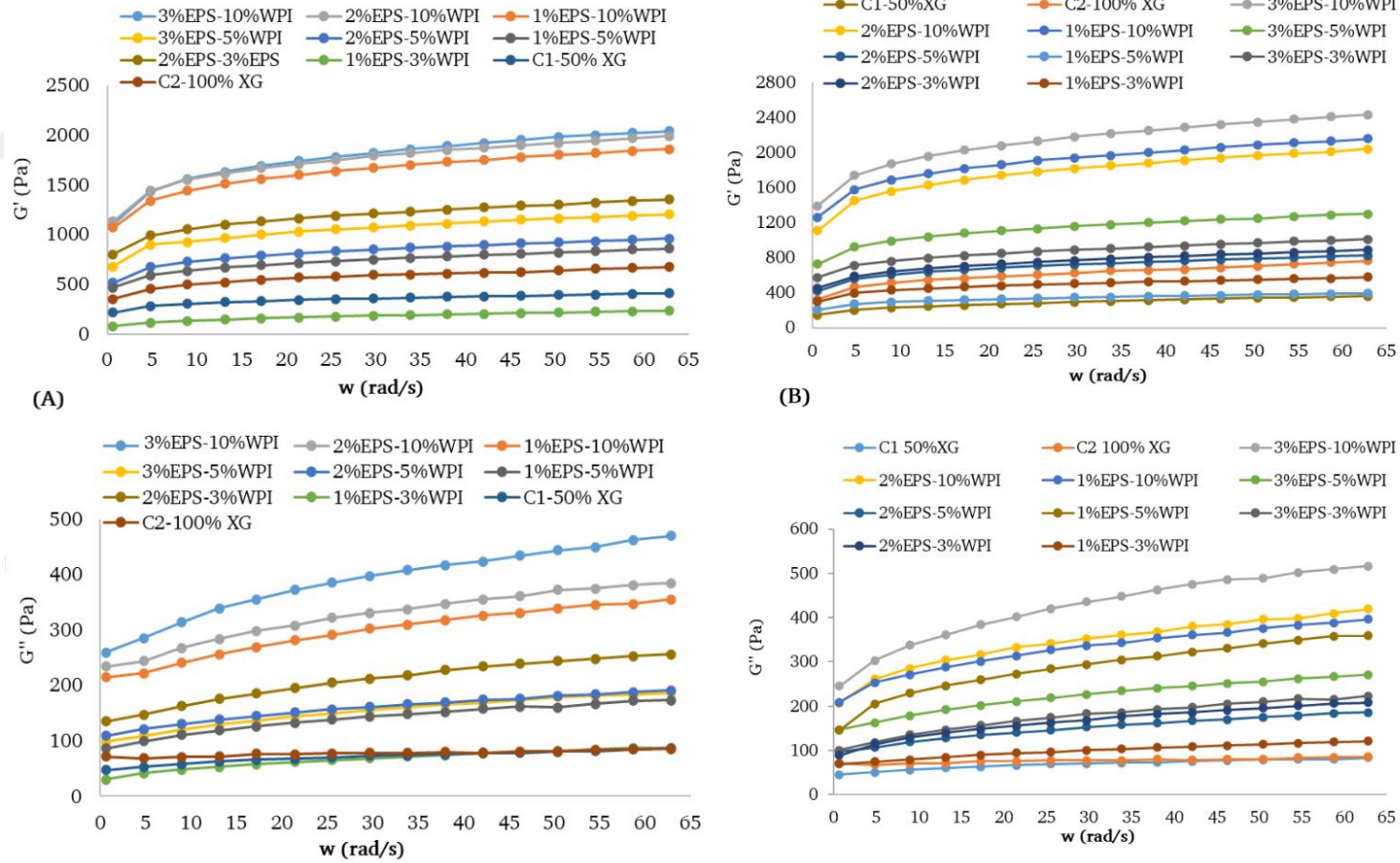
Gıdaya uygulanan ani bir kuvvet veya deformasyonun gıdanın reolojik özellikleri üzerindeki etkisini gösteren önemli bir test olan 3-ITT, günlük hayatta gıda üzerindeki sallama, sıkma gibi hareketlerin etkisini simüle edebilmektedir (Toker, vd., 2015). Şekil 3.6 (A – B), mayonez örneklerinin G' değerindeki zaman içindeki değişimi göstermektedir. Şekil 3'te görüldüğü gibi ani bir deformasyon sonucu numunenin toparlanma derecesi uygulanan kayma hızına yani deformasyon değerine bağlı olarak değişmektedir. Deformasyon değeri arttıkça her numunenin kendini toparlama yeteneğinin azaldığı görülmektedir. Yani daha yüksek kesme hızına maruz kalan numuneler daha fazla yapısal deformasyona uğramasına rağmen ürünün G' değerinde küçük bir düşüş gözlenmiş ve tekrar başlangıç G' değerine ulaşılması mümkün hale gelmiştir.

Tablo 3.3 (A) Az yağlı mayonezlerin dinamik reolojik özelliklerin Power Law parametreleri

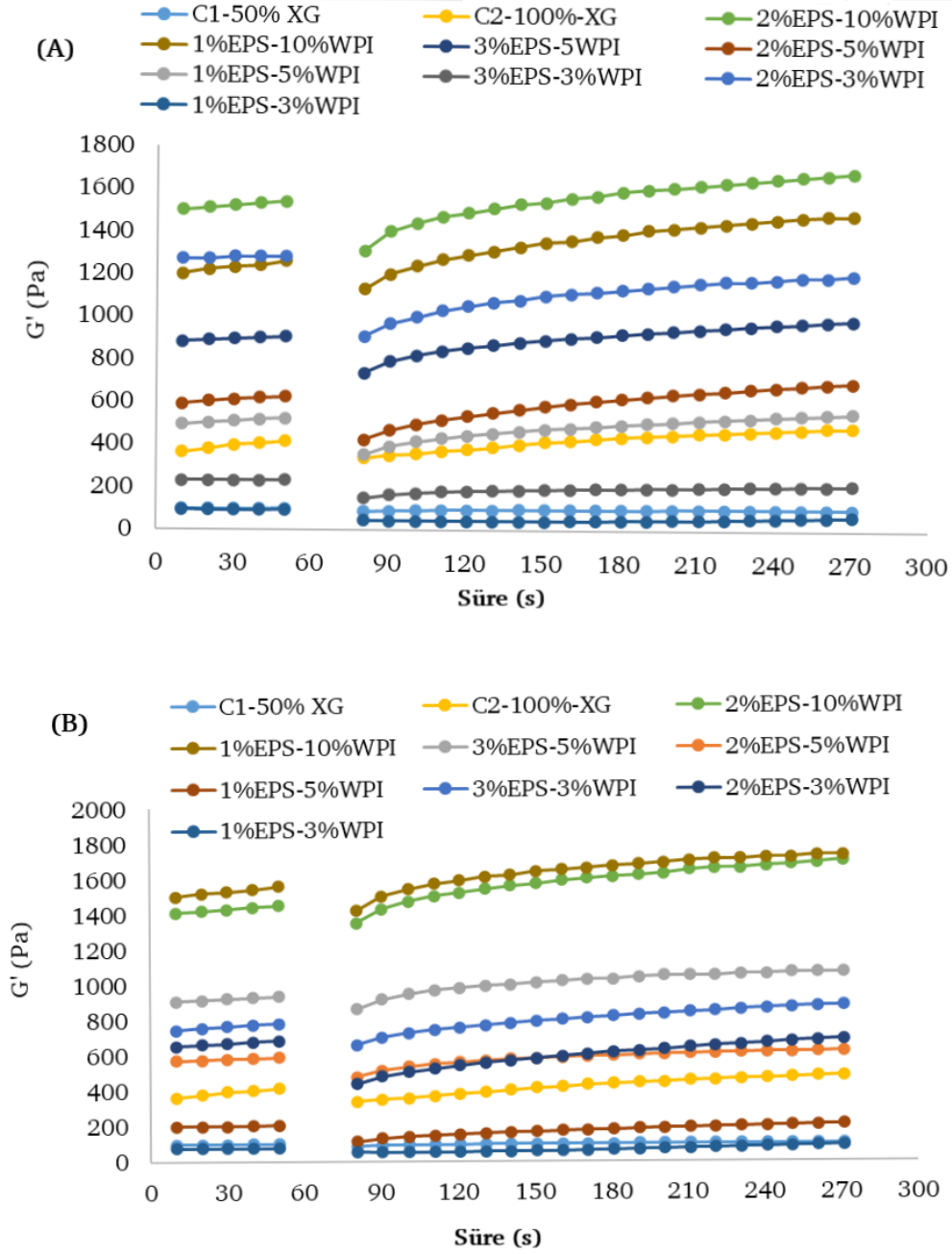
(A)	K'	n'	R ²	K''	n''	R ²
K1-%50-XG	219,99±3,50	0,141±0,000	0,997±0,000	42,41±0.62	0,158±0,000	0,975±0,001
K2-%100-XG	350,26±12,50	0,166±0,022	0,994±0,002	65,52±1,24	0,062±0,014	0,917±0,005
%3 EPS¹⁷- %10 WPI	1172,51±18,62	0,139±0,003	0,998±0,001	231,74±1,13	0,163±0,002	0,981±0,009
%2 EPS¹⁷- %10 WPI	1160,25±20,22	0,126±0,002	0,999±0,000	206.19±0,81	0,142±0,000	0,950±0,004
%1 EPS¹⁷- %10WPI	1092,75±13,23	0,125±0,002	0,999±0,000	188,21±1,50	0,117±0,002	0,947±0,000
%3 EPS¹⁷- %5 WPI	704,68±7,47	0,134±0,011	0,997±0,001	126,95±1,36	0,137±0,001	0,964±0,003
%2 EPS¹⁷- %5 WPI	538,79±4,71	0,136±0,012	0,998±0,000	98,31±0,93	0,151±0,001	0,966±0,004
%1 EPS¹⁷- %5 WPI	497,09±25,39	0,135±0,005	0,995±0,000	78,22±1,56	0,189±0,001	0,976±0,000
%3 EPS¹⁷- %3 WPI	156,899±1,12	0,226±0,007	0,997±0,001	43,899±0,31	0,269±0,002	0,985±0,003
%2 EPS¹⁷- %3 WPI	81,73±11,26	0,117±0,000	0,996±0,000	36,31±1,34	0,185±0,002	0,962±0,002
%1 EPS¹⁷- %3 WPI	73,81±0,54	0,270±0,011	0,995±0,000	26,90±2,03	0,280±0,009	0,992±0,001

Tablo 3.3 (B) Az yağlı mayonezlerin dinamik reolojik özelliklerin Power Law parametreleri

(B)	K'	n'	R ²	K''	n''	R ²
%3 EPS ¹⁰ - %10 WPI	1361,48±69,06	0,125±0,000	0,997±0.001	212,95±1,33	0,199±0,007	0,992±0,000
%2 EPS ¹⁰ - %10 WPI	1167,38±12,49	0,132±0,001	0,999±0.000	201,26±0,80	0,169±0,011	0,990±0,001
%1 EPS ¹⁰ - %10 WPI	1307,21±31,05	0,118±0,010	0,998±0.005	190,86±0,65	0,129±0,008	0,916±0,010
%3 EPS ¹⁰ - %5 WPI	746,77±3,87	0,132±0,002	0,998±0.000	130,09±0,27	0,170±0,002	0,970±0,001
%2 EPS ¹⁰ - %5 WPI	439,10±2,10	0,149±0,001	0,998±0.000	84,08±1,18	0,182±0,000	0,964±0,005
%1 EPS ¹⁰ - %5 WPI	288,15±5,70	0,224±0,007	0,994±0.000	62,70±0,32	0,290±0,002	0,988±0,000
%3 EPS ¹⁰ - %3 WPI	588,80±7,58	0,130±0,001	0,994±0.000	87,42±0,02	0,222±0,004	0,980±0,000
%2 EPS ¹⁰ - %3 WPI	458,81±3,86	0,155±0,002	0,996±0.000	83,11±1,13	0,216±0,003	0,988±0,000
%1 EPS ¹⁰ - %3 WPI	285,10±28,92	0,147±0,004	0,997±0.001	55,24±5,00	0,169±0,012	0,963±0,009



Şekil 3.5 Az yağlı mayonezlerin viskoelastik davranış özellikleri



Şekil 3.6 Az yağlı mayonezlerin 3 ITT davranış özellikleri

3.4.2.4 Mayonez Örneklerinin Emülsiyon Stabilitelerinin Değerlendirilmesi

Mayonez, yüksek yağ içeriğine (%70-80) sahip bir O/W emülsiyondur. Bu nedenle termodinamik olarak kararsızdır ve yağ ve su fazları arasındaki uygun olmayan temas nedeniyle zamanla bozulma eğilimindedir (Depree & Savage, 2001; McClements vd., 2005). Gıda endüstrisi, kinetik olarak kararlı emülsiyonlar üretmek için, yapılarında hem hidrofilik hem de hidrofobik gruplara sahip olan ve birbirleriyle karışmayan iki sıvının emülsiyonunu stabilize eden emülgatörleri tercih

etmektedir. Emülgatörler arayüzey gerilimini azaltır ve bu nedenle çok kararlı mayonez üretiminde önemli bir rol oynar (McClements vd., 2005). Mikrobiyal EPS'ler, yeni işlevsellikleri, tekrarlanabilir fizikokimyasal özellikleri, istikrarlı maliyetleri ve bol tedarikleri nedeniyle günümüzde endüstride tercih edilmektedir. Çalışma kapsamında yapılan ön denemelerde EPS'lerin düşük konsantrasyonlarda tek başlarına kullanılmaları ile yeterli stabilite sağlanamadığı tespit edildiğinden WPI ile oluşturulan kompleks yapı yağ ikamecisi olarak tercih edildi. Sistem içerisinde WPI partikülleri, yağ damlacıklarının yüzeyinde hidrofobik etkileşimle adsorbe edilebilir ve az yağlı mayonezlerde kalın ve viskoz filmler oluşturur. Bu nedenle, WPI'nin tekdüze parçacık boyutu, emülsiyonların stabilitesi için çok önemlidir (Chanchan Sun vd., 2018). Az yağlı mayonezlerde EPS'nin ise yağ damlacıklarının topaklanmasını önlemek ve değişen emülsiyon reolojisi sağlamak için arayüzey proteinlerinin etrafında kaplamalar oluşturduğu düşünülmektedir. Emülsiyon stabilitesi düşük olan mayonezlerde depolama sırasında yüzeyde faz ayrışması gözlemlendiğinden emülsiyon stabilitesi mayonez numunelerinin en önemli kalite parametrelerinden biridir. Tekin ve ark. (2020), emülsiyon stabilitesi için, G^* 'deki değişikliklere dayalı olarak bir termal döngü testi oluşturmuşlar ve G^* 'deki yüksek değişikliklerin, termal olarak indüklenen döngülerde emülsiyon kararsızlığı gösterdiğini bildirmişlerdir. Şekil 3.7 (a – b), sırasıyla 10 farklı döngü uygulayarak mayonez numuneleri için düşük sıcaklıkta (5-23 °C) ve yüksek sıcaklıkta (25–45 °C) uygulanan döngü testlerinde G^* değerlerindeki değişiklikleri göstermektedir. Şekil 3.7 (a -b)- (A), görüldüğü gibi %2 EPS¹⁷⁻¹⁰ ve %5 WPI kompleksi yapıya katı özellik sağlamış ve az yağlı mayonezlerin fiziksel stabilitesini geliştirmiştir. Bu sonuçlar, numunelerin düşük sıcaklıklarda termal stres yaşarken yüksek bir fiziksel kararlılığa sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, yüksek yağlı mayonez numuneleri, 75 dakika sonra emülsiyon kararsızlığını açıklayan G^* 'de en yüksek değişikliklere sahip olduğu görülmüştür. Şekil-3.7 (a-b)- (B) ise yüksek sıcaklıklı termal döngü testi sırasındaki değişimler gösterilmiştir. Görüldüğü gibi az yağlı mayonez örneklerine %2 EPS¹⁷⁻¹⁰ ve %5 WPI ilavesi fiziksel bir stabilite sağlamıştır.

3.4.2.5 Mayonez Örneklerinin Oksidatif Stabilitelerinin Değerlendirilmesi

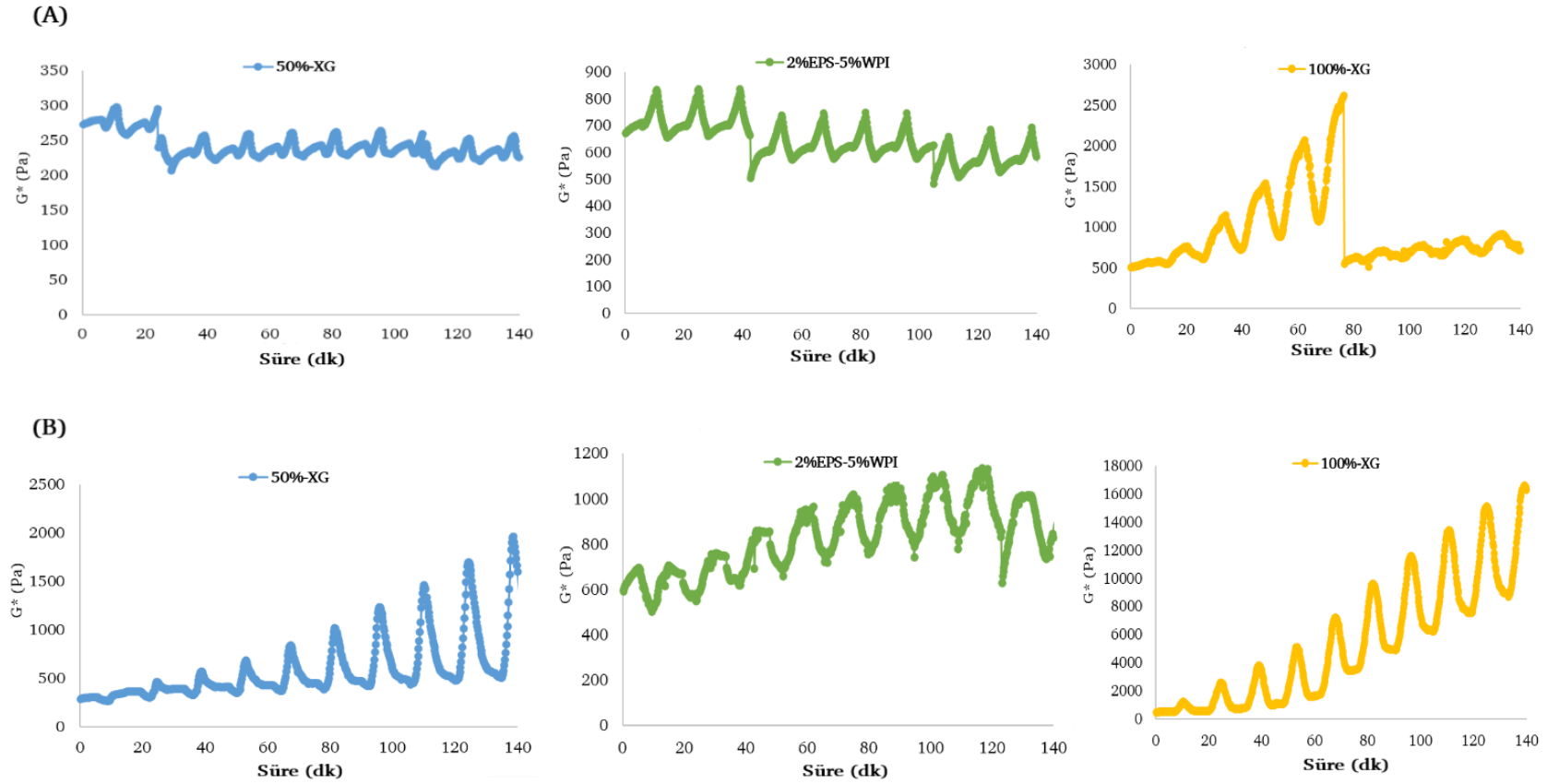
Mayonez örneklerinin oksidatif stabiliteleri OXITEST cihazı ile 90 °C'de belirlenmiş ve örneklerin indüksiyon periyodu (IP) değerleri Tablo 3.4 'te verilmiştir. Düşük yağlı kontrol numunesi, tam yağlı kontrol numunesi ve %2 EPS-%5 WPI içeren düşük yağlı numune için sırasıyla IP değerleri EPS ¹⁷ için 5:17 sa, 7:27 sa ve 5:39 sa ve EPS ¹⁰ için 5:17 sa, 7:27 sa ve 5:51 sa olarak tespit edilmiştir. Az yağlı kontrol numunesi en düşük IP değerine sahipken, tam yağlı kontrol numunesi en yüksek IP değerine sahiptir. Bu, O/W emülsiyonlarında yağ fazı/hacim oranının lipit oksidasyonunu etkilemesi gerçeğiyle açıklanabilir. Her iki EPS-WPI kompleksi için de %2 EPS- %5 WPI oranını içeren az yağlı numunelerin IP değerleri, XG ile hazırlanan az yağlı kontrol numunesinden daha yüksek olarak belirlenmiştir. Bu durumun WPI ve EPS'nin antioksidan içerikleri ile ilişkili olması beklenmektedir. Peynir altı suyu proteinlerinin antioksidan aktivitesinin kaynağı, muhtemelen sülfidril ve sülfidril olmayan amino asitler tarafından serbest radikal temizlemenin yanı sıra bazı sınırlı geçiş metali şelasyonundan kaynaklanmaktadır (Tong, Sasaki, McClements, & Decker, 2000). Ayrıca çalışmalar EPS'nin antioksidan özelliklere de sahip olduğunu göstermektedir. Nu sebeple az yağlı mayonez örneklerinde oksidatif stabilitesinin geliştirilmesine katkı sağlamış oldukları düşünülmektedir (Aburas vd., 2020; Wang vd., 2014; Xu vd., 2019).

Tablo 3.4 Az yağlı mayonezlerin IP değerleri

Örnek	IP (sa)	Örnek	IP (sa)
K-1-50%-XG	5:17	2%EPS ¹⁷ - 5%WPI	5:39
K-2-100%-XG	7:27	2%EPS ¹⁰ -5%WPI	5:51

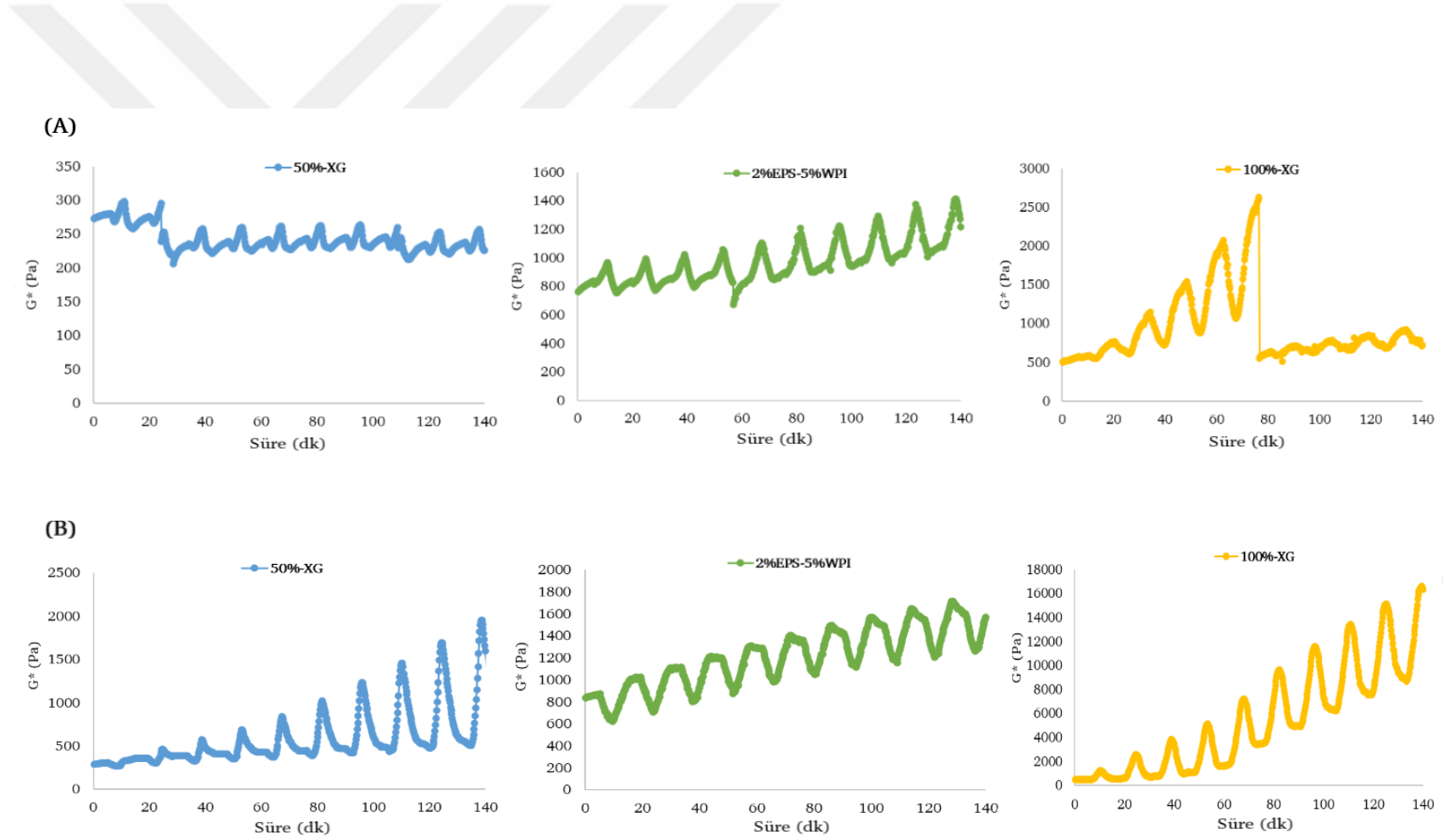
3.5 Genel Değerlendirmeler

tüketici talepleri sağlıklı ürünleri tercih etme yönelimindedir bu nedenle kalori alımının düşürülmesi son zamanlarda önem arz etmektedir. Ancak kalori azaltımı duyusal özellikleri etkilemekte ve sağlıklı ürünlerin kabul edilebilirliği geleneksel ürünlere göre daha azdır. Bu durum, gıda işleme sistemlerinin alternatif bileşenler ve işleme yöntemleri kullanarak kayıpları azaltma çalışmalarına yöneltmiştir. Bu çalışmada mayonezde mikrobiyal polisakkaritlerin (EPS'ler) yağ ikamesi olarak kullanılmasının ürünün lezzet, görünüm ve doku gibi özelliklerini geliştirebildiği ve bu bağlamda, *Leuconostoc lactis* GW-6 (EPS¹⁰) ve *Weissella confusa* W-16 (EPS¹⁷) tarafından üretilen ekzopolisakkaritlerin, peynir altı suyu proteinleri ile kombinasyonunun yağ ikamesi olarak değerlendirilebileceği açığa çıkarılmıştır.



Şekil 3.7 Az yağlı mayonezlere (EPS¹⁷) ait emülsiyon stabilite grafikleri ; (A) Düşük sıcaklık termal döngü testi,

(B) Yüksek sıcaklık termal döngü testi



Şekil 3.8 Az yağlı mayonezlere (EPS¹⁰) ait emülsiyon stabilite grafikleri ; (A) Düşük sıcaklık termal döngü testi,

(B) Yüksek sıcaklık termal döngü testi

4

GLUTENSİZ KEK ÜRETİMİ

4.1 Giriş

Günümüzde sanayileşmiş toplumlarda gıda tüketiminin özellikle üç ana eğilimden etkilendiği öne sürülmektedir: sağlık sorunları, sürdürülebilirlik ve rahatlık. Gıda ve yaşam tarzı ile ilgili olarak artan hastalıklar (örneğin diyabet, obezite vb.) ve belirli gıda ürünlerine veya gluten gibi bileşenlere karşı alerjiler ve intoleranslar önemli sağlık sorunları olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu faktörler, tüketicileri daha ileri yaşlarda sağlıklı yaşam tarzlarını destekleyen ve belirli hastalık riskini azaltan sağlıklı gıda ürünlerine daha fazla ilgi duymaya teşvik etmiştir (Asioli vd.,2017). Diğer taraftan tüketiciler açısından sağlıklı gıda kavramı daha az katkı maddesi ve kimyasal bileşen içeren “temiz etiketli” ürünler ile de ilişkilendirilmektedir. Tüketicilerin sahip olduğu bu farkındalık göz önüne alındığında, gıda güvenliğinin sağlanması ve aynı zamanda tüketicilerin temiz etiketli gıda taleplerinin karşılanması için doğal maddeler üzerinde yapılan çalışmalar giderek önemini arttırmaktadır (Moradi vd,2021).

Çölyak ve gluten intoleransı olan hastalar için uygulanan en etkili tedavi glutensiz bir diyetdir. Glutensiz ürünler çoğunlukla düşük bir besin değerine sahiptirler. Yapısında gluten bulunmayan tahıllar ile elde edilen son ürün gluten ağ tabakasının yokluğuna bağlı olarak yapısal, tekstürel, ağız hissi ve bayatlama derecesi açısından glutenli ürünlere göre yetersiz kalmaktadır. Gluten ağ yapısına ikame olarak ksantan, karragenan ve agar gibi hidrokolloidler unlu mamullerde sıklıkla kullanılmaktadır. İstenilen yapıyı elde etmek için kullanılan bu hidrokolloidler veya gumların ise ürün etiketlerinde katkı maddesi olarak belirtilmelerini gerektirmektedir. Bu durum ise daha doğal ürünleri talep eden tüketiciler için negatif bir bakış açısı oluşturmaktadır. Son zamanlarda ise EPS üreten LAB’nin ve metabolitlerinin glutensiz ürünlerde kullanımı oldukça dikkat çekmektedir (Lynch vd, 2018; Wolter vd.,2014).

Çalışmanın bu kısmında, daha önce Bölüm 2’de izole edilmiş ve tanımlanmış olan *Leuconostoc lactis* GW-6 suşu tarafından üretilen EPS¹⁰’nin glutensiz ürünlerde yapı geliştirici bir ajan olarak kullanım imkanları glutensiz nohut unu ile yapılmış kekelerin yapısal karakteristikleri üzerinden değerlendirilmiştir.

4.1.1 Gluten ve Oluşturduğu Ağ Yapının Önemi

Ekmeklik buğdaydan (*Triticum aestivum* L.) elde edilen proteinler iki gruba ayrılırlar: (1) suda çözünür proteinler olarak adlandırılan ve toplam proteinlerin %15’ini oluşturan albüminler ve globülinler ve (2) suda çözünmeyen, ağ oluşturucu, depolama proteinleri olan ve toplam protein içeriğinin %85’ini oluşturan gliadinler (prolamin) ve gluteninler (glutelin) (Brites vd.,2018).

Gluten, normal diyetin bir parçası olarak bol miktarda (kişi/gün başına 10-20 g) tüketilen buğday tanesinin ana depo proteinine verilen isimdir (Bascunan vd., 2017). Gluten, tanelerin endospermünde biriken çok sayıda farklı proteinin karmaşık bir karışımıdır. Çimlenme aşamasında taneye nitrojen ve amino asit sağlamak biyolojik görevidir. Bu sebeple glutamin ve prolin içerikleri ile karakterize edilen aminoasitlerce zengindir (Wieser, 2008). Gluten undan su ile yıkandığında ayrılabilen sert ve yapışkan bir proteindir. Kurutulduğunda yapısı yaklaşık olarak %80 oranında protein içerir. Gluten protein matriksine sıkı sıkıya bağlı karbonhidrat ve lipitler bileşenleri de bu yapıda bulunurlar. Gluten proteinleri sulu alkollerde çözünme durumlarına göre iki yapıdan oluşur bunlar; çözünür yapıda olan, düşük molekül ağırlıklı (25-55 kDa) gliadinler (prolaminler) ve çözünmez yapıda olan yüksek molekül ağırlıklı (2000 kDa) çok proteinli gluteninlerdir. Bu proteinlerin molekül içi veya moleküller arası disülfid bağları oluşturma yetenekleri, onların çözünürlüklerini etkiler. Gliadinler esas olarak molekül içi disülfid bağları ile monomerdir, gluteninler ise hem molekül içi hem de moleküller arası disülfid bağları ile birbirine bağlanan polipeptit zincirlerinden oluşur. Gluten protein yapısının geneline hidrofobik aminoasitler ve özellikle protein şeritleri arasında hidrojen bağları oluşturma kabiliyetinde olan glutaminler hakimdir (Koidos, 2016; Balakireva ve Zamyatnin, 2016).

Gluten proteinleri, buğday ununun su ile karıştırılması üzerine bir ağ oluşturur ve bu yapı için buğday unu hamurunun viskoelastik özelliklerinin gelişimine katkı sağlar. Glutenin ve gliadin proteinlerinin sahip oldukları yapısal farklılıklar hamur oluşumu sırasında onlara farklı işlevler sağlar. Genel olarak glutenin proteinlerinin

hamura yapışkanlık ve elastikiyet sağlayan polimerik protein ağını oluştururken gliadinler ise glutenin ağını plastikleştirici olarak işlev görür ve hamur viskozitesine ve uzayabilirliğine katkıda bulunur (Delcour vd.,2012).

Su ve unun birleşimi ile oluşan hamurun karıştırılması ile gluten ağının oluşumunu için farklı tipte reaksiyonlar ve etkileşimler gerçekleşmektedir. Glutenin polimerleri arasındaki moleküller arası disülfid (SS) bağları bu açıdan anahtardır. Serbest tiyol (SH) gruplarının, glutenin agregatlarının moleküler ağırlığını artıran SS bağlarına oksidasyonu ve ayrıca SH-SS değişim reaksiyonları, karıştırma sırasında üç boyutlu bir gluten ağı oluşturmak için son derece önemlidir. Moleküller arası gerçekleşen izopeptit bağları, ditirozin bağları, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler, iyonik interaksiyonlar ayrıca gluten ağının oluşumunda etkilidirler (Ooms & Delcour, 2019).

Glutenin molekülü tamamen hidratlandığında kaba, lastiksi bir yapı oluştururken gliadin viskoz, sıvı bir kütle oluşturur. Bu sistemde gluten, iki bileşenin uç noktalarını birleştiren yapışkan, elastik ve viskoz özellikler sergiler.

Oluşan ağ yapı nişasta granülleri ve lif parçalarını çevreleyen, hamurun genişletilebilirlik, esneme direnci, gaz tutma yeteneği gibi önemli özelliklerini belirleyen ana oluşumdur. Ağ yapısının oluşum derecesi ürünlerin özelliklerine göre değişmekle beraber (Kek için ekmeğe göre daha az gluten yapısı istenir) genel olarak fırıncılık ürünlerinde hacim, doku ve görünümün gelişimi için önemlidir. Hamur sisteminde glutenin olmaması, daha sıvı bir hamurun oluşmasıyla beraber, ufalanan doku, zayıf yapı, solgun renk gibi kalite kusurlarının ortaya çıkmasına sebep olur (Matos & Rosell, 2013; Ooms & Delcour, 2019).

4.1.2 Glutensiz Kekler

Kekler, genellikle tatlı bir tat, yumuşak doku, hoş aroma ve lezzet ile karakterize edilen tatlı atıştırılabilirler olarak tüketilen özel unlu mamullerdir. Kekler formülasyonlarına göre değişiklik göstermekle beraber, ana bileşenler olarak un, yağ, şeker ve yumurta içermektedirler. Seçilen malzemeler kekin hacmi, doku ve şekli üzerinde etkilidir ve arzu edilen yeme kalitesi yüksek hacim, hafif, açık ve ince bir doku gerektirir. Bununla beraber karıştırma ve pişirme aşamaları da son ürün kalitesi açısından önemlidir. Kek matrisi katı bir köpük sistemi olarak görülebilir. Sahip oldukları karakteristik havalandırılmış yapıları karıştırma ve pişirme sırasında hamura dahil edilen kabarcıklar ile elde edilir.

Bu kabarcıklar son üründe birbirine bağlı gaz hücreleri haline gelir (Zoumpopoulou & Tsakalidou, 2019; Brites vd., 2018).

Kekler, bileşime ve/veya üretim yöntemine göre, yüksek oranlı kekler ($\text{şeker/un} > 1$) ve düşük oranlı kekler ($\text{şeker/un} \leq 1$) veya kısaltılmış (shortened) kekler (kabartma tozu veya soda gibi yağ ve kabartma maddeleri içeren nemli, yumuşak ve kadifemsi yapıda) ve kısaltılmamış (unshortened) kekler (yağsız ve çırpılmış yumurta ve buharda hapsolmuş hava ile mayalanmış angel veya pandispanya kekler) olarak sınıflandırılabilir (Wilderjans vd., 2013).

Tüketiciler için ideal bir kek, süngerimsi yapıda, nemli ve yumuşak bir kırıntı içeriğine sahip, çiğnenebilir ve yüksek hacimli olmalıdır. Keklerin kalitesi genellikle yapıya homojen hava girişi, havanın matris içinde tutulması, kabarcıkların stabilitesi ve karıştırma sırasında konveksiyon akımların oluşumu ile ilişkilidir (Bhaduri, 2013).

Glutensiz keklerin kalite özelliklerini değerlendirmek için kullanılan bazı parametreler; (i) hamurun özgül ağırlığının belirlenmesi: kek hamurunun ağırlığının eşit hacimdeki damıtılmış suyun ağırlığına bölünmesiyle belirlenir ve karıştırma sırasında dahil edilen hava miktarını gösterir (ii) kek hacmi: kek hacminin (tohum yer değiştirmesi) kek ağırlığına bölümü ile belirlenir (iii) simetri ve tekdüzellik indeksleri: American Association of Cereal Chemists International (AACCI) yöntemine (10-91.01) göre plastik bir ölçüm şablonu kullanılarak belirlenen hacim; (iv) nem içeriği: AACCI yöntemi (44-15.02) ile değerlendirilir; (v) su aktivitesi: Aqualab gibi aparatlar kullanılarak ölçülür; (vi) Doku analizi: TA-XT2 tekstür analiz cihazı kullanılarak enstrümantal olarak kırıntı dokusu

belirlenir (vii) Renk ölçümü: bir kolorimetre kullanılarak örneklerin enstrümantal renk parametreleri (genellikle L*, a* ve b* veya L*, C ve h) belirlenir; (viii) gaz hücresi yapısı: görüntü analizi yoluyla tespit edilir (AACCI, 2010). Ayrıca bu enstrümantal analizlere ek olarak duyu analizler ile de tüketici kabul testleri gerçekleştirilir (Brites vd., 2018).

4.1.3 Glutensiz Kek Formülasyonları

Glutensiz gıdalar konvansiyonel ürünlerle karşılaştırıldığında bazı eksiklikleri olduğu bilinmektedir. Bu sebeple doku, ağızda kabul edilebilirlik, tatmin edici tat ve daha uzun raf ömrüne sahip glutensiz ürünlerin eldesine yönelik çalışmalara odaklanılmıştır. Bu çalışmalar, özellikle unlu mamuller söz konusu olduğunda glutenin viskoelastik özelliklerini taklit etmek amacıyla çeşitli bileşenlerin ve katkı maddelerinin kullanılmasını kapsamaktadır (Wang vd., 2017).

Unlu mamullerin kalite ve teknolojik özelliklerine büyük oranda katkı sağlayan esas bileşenlerden biri yapısal protein olarak isimlendirilen glutendir (Naqash ve ark., 2017). Gluten yapısı hamura, uzayabilirlik, elastikiyet, yapışkanlık ve su tutma kapasitesi gibi önemli teknolojik ve yapısal özellikler sağladığından ikame edilmesi zor bir bileşendir (Deora vd., 2014). Gluten içeren buğday unu su ile karıştırıldığında protein ve nişasta molekülleri başta olmak üzere hamur bileşenlerinde çeşitli etkileşimler gerçekleşir (Ortolan & Steel, 2017). Moleküler etkileşimler ile oluşan kompleks protein ağı, genişleyen gaz kabarcıklarını yakalayarak pişirme öncesi hamurun hacim olarak düzgün bir şekilde genişlemesine yardımcı olur (Drabinska vd., 2016). Bu protein ağının oluşmadığı durumlarda hamur viskozitesinde incelmeye gerçekleşir. Bir protein ağının olmadığı glutensiz ürünlerde kırıntıdan kabağın nem emiliminin artışına bağlı olarak ufalanarak parçalanarak bir doku oluşur ve kuru bir ağız hissi ile tatmin edici olmayan tat gelişimine sebep olur. Bu durum nişasta retrogradasyonu ile de ilişkili olup glutensiz ürünlerde hızlı bayatlama ve kısa raf ömrü ile sonuçlanır (Houben vd., 2012; Ahlborn vd., 2005).

Glutensiz olarak üretilen ürünlere bakıldığında çoğunlukla, doğal veya modifiye nişasta ile yapı oluşturma ve su bağlama gibi işlevsel özelliklere sahip olan hidrokolloid yapılar kullanılmaktadır. Jelin fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek için genellikle mısır, patates, pirinç ve fasulye gibi nişastalar kullanılır. Gıdalar ve hidrokolloidler, jelleştirme, koyulaştırma, buğday ununa benzeyen şekilde su tutma

ve doku iyileştirme işlevleri için glutensiz ürün formülasyonlarında kullanılır. Bu yapılar tohumlar, meyveler, bitki özleri, deniz yosunları ve mikroorganizmalar gibi çok çeşitli kaynaklardan elde edilen polisakkaritler veya proteinlerdir.

Un; Glutensiz ürünlerin üretiminde en sık kullanılan biri yumuşak tadı, beyaz rengi, hipoallerjenik yapısı ve sindirilebilirliği sebebiyle pirinç unudur. Ancak sahip olduğu düşük prolamin içeriğiyle zayıf özgül hacim ve yoğunluk gösterir. Hidrofobik yapıları nedeniyle, pirinç proteinleri çözünmez ve prova sırasında üretilen karbondioksiti tutmak için gerekli viskoelastik hamuru oluşturamaz (Rosell & Marco, 2008; Stantiall & Serventi, 2018). Sıklıkla tercih edilen diğer bir un ise mısır unudur. Mısır unu yapısında baskın olarak zein proteinlerini içerir ve bu proteinler yüksek sıcaklıklarda su ile birleştiğinde viskoelastik hamur yapısı geliştirebilirler. Pişirme sırasında camsı geçiş sıcaklığı aşıldığında zein proteinlerinin agregasyon ve çapraz bağlanma eğilimi artar, proteinlerin sahip olduğu β -sheet ikincil yapıları geniş ve lifli protein ağının gelişimini teşvik ederek gluten benzeri bir sistemin oluşumunu sağlar (Mejia vd., 2012). Son zamanlarda tercih edilen pseudotahıllardan olan kinoa ve karabuğday unu yapılarındaki doğal emülgatörlerinde varlığı ile ilişkili olarak yumuşak iç doku sağlamaları sebebiyle üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Çai, sorgum ve tefften elde edilen diğer glutensiz unlar glutensiz kek ürünlerinin üretiminde kullanılmıştır (Bhaduri & Navder, 2014; Marston vd., 2014; Rothschild vd., 2015; Tess vd., 2015; Gohara vd., 2016).

Nişasta; doğal veya modifiye formları ile kullanılan nişastalar glutensiz ürünlere jelleştirme, koyulaştırma, yapışma, nem tutma, stabilize etme ve tekstür oluşturma gibi fiziko-fonksiyonel özellikler kazandıran esnek yapılı bileşenlerdir (Giuberti & Gallo, 2017). Genellikle pirinç, manyok, patates ve mısırdan elde edilmektedirler. Kimyasal, enzimatik, mekanik veya fiziksel işlemlerle doğal nişastalardan elde edilen modifiye nişastalarda doğal nişastalar ile karşılaşılan sorunları elemine etmek için tercih edilmektedir (Houben vd., 2012; Ohimain, 2015).

Nişasta granülleri sahip olduğu yapısal özellikler sebebiyle suda ısıtım işlemi sırasında hidrata olarak şişmeye başlar ve macun benzeri yapı gösterir. Bu durum nişastanın jelatinizasyonu olarak isimlendirilir. Jelatinizasyon ile oluşan bu macun benzeri yapı hava kabarcıklarını tutabilen bir matris gibi davranarak glutensiz

ürünlerde önemli fiziko-fonksiyonel özellik sağlar. Soğuma işlemi ile birlikte nişasta zincirleri yeniden bir düzenlenme aşamasına (retrograsayon) girerek kısmen düzenli ve kristalli bir yapı oluşturur. Bu süreç nişasta yapısının sıkılığı ve sertliği ile ilişkili olup ürünlerin bayatlaması üzerinde etkilidir (Wang vd., 2015; Horstmann vd., 2017).

Diyet Lifleri; bağırsak mikrobiyotası tarafından kısmı veya tam olarak fermente edilebilen sindirime dirençli bitki kaynaklı gıdaların yenilebilir kısımları, polisakkaritler ve oligosakkaritler olarak tanımlanabilir. Glutensiz ürünlerde, doku gelişimi ile duysal özelliklerin ve raf ömrünün iyileştirilmesi için tercih edilir. Bu nitelikleri, su bağlama kapasiteleri, jel oluşturabilme kabiliyetleri, yağ taklidi olabilme gibi fonksiyonları ile gerçekleştirirler (Tsatsaragkou vd., 2016). Buğday unu içermeyen bu ürünler lif oranı açısından fakir olduklarından nişasta ile formüle edilen sistemlerde varlıkları ürünlerin besinsel değerlerine katkı sağlayabilmektedir (Sabanis vd., 2009; Alvarez-Jubete vd., 2010). Endüstride kullanılan, farklı parçacık boyutuna, çözünürlüğe, hidrasyon özelliğine ve viskoziteye sahip diyet lifleri mevcuttur. İnülin, oligofruktoz ve dirençli nişasta gibi prebiyotikler glutensiz ürünlerde tercih edilen fonksiyonel diyet lifleridir (Wang vd., 2017). Psyllium tohumları, şeker pancarı, yulaf, bezelye ve bambudan elde edilen liflerde jelleştirme, kalınlaştırma ve dengeleyici özellik sağlama ve doku iyileştirme özellikleri sebebiyle kullanılmaktadır (Gao vd., 2017). Glutensiz ürünlerde kullanılan kinoa ve amaranth gibi pseudotahıllar sahip oldukları yüksek pektik madde ve ksiloglukan içerikleri sebebiyle gluten ikamesi olarak önemlidirler (Lamothe vd., 2015).

Protein bazlı bileşenler; Glutensiz ürünler, protein içerikleri açısından zengin değillerdir bu sebeple yapıya gluten benzeri ağ yapabilme yeteneğine sahip protein bazlı bileşenlerin ilave edilmesi önemlidir. Süt ve yumurta gibi hayvansal kökenli protein kaynaklarının yanı sıra bitkisel kaynaklı proteinler de sıklıkla kullanılmaktadır (Houben vd., 2012). Emülgatör özellik gösteren ve iyi birer stabilizatör olan kazeinatlar, jel oluşturabilme yeteneğine sahip peynir altı suyu konsantreleri ve su tutma kapasiteleri yüksek olan yağsız süt tozları ile süt protein izolatları glutensiz ürünlerde yaygın olarak kullanılan süt proteinleridir (Stathopoulos, 2008; Kenny vd., 2000). Glutensiz ürünlerde bu protein kaynaklarının kullanımı hamur viskozitesine katkıda bulunur, pişirme sırasında

termal pıhtılaşmaya bağı olarak gaz hücrelerinin oluşumunu ve stabilizasyonunu destekler ve hacim ve doku gelişimine katkıda bulunurlar (Nozawa vd., 2016). Süt proteinleri şişme özellikleri ile istenilen ağ yapısını oluştururlar ve yapısal maddeler olarak hareket ederek ürünlerin tadına, kabul edilebilirliğine ve raf ömrüne yardımcı olabilir aynı zamanda sahip oldukları lizin, metiyonin ve triptofan gibi esansiyel amino asitler açısından da ürünlerin besin değerlerinin artırılmasına katkıda bulunurlar (Blanco vd., 2011; Krupa-Kozak vd., 2013). Diğer bir hayvansal protein kaynağı olan yumurtanın hem sarısı hem de akı sahip olduğu yüzey aktivitesi ve emülsifiye edici özellikleri ile gazın tutulmasına yardımcı olurken, ısı ile pıhtılaşabilen yumurta akı kırıntı iyi bir şekil geliştirilmesinde etkilidir (Schober, 2009). Yumurta albümini ekmeklerde hacim gelişimine yardımcı olurken makarnada ise tekstürün geliştirilmesine katkı sağlayabilmektedir (Ziobro vd., 2016; Deora vd., 2014). Bitkisel protein kaynakları açısından ise son zamanlarda, bezelye, soya fasulyesi, acı bakla ve keçiyoynuzu gibi kaynaklar dikkat çekmektedirler (Foschia vd., 2017).

Enzimler; sahip oldukları aktivitelere bağı olarak protein ağını geliştirmek, nişasta retrogradasyonunu azaltmak, kırıntı yumuşaklığını ve raf ömrünü arttırmak için glutensiz ürünlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Siklodekstrin glikosiltransferaz (CGTase, EC.2.4.1.19), transglutaminaz (TGase, EC. 2.3.2.13) ve glukoz oksidaz (GO, EC. 1.1.3.4) sıklıkla tercih edilen enzimlerdendir (Houben vd.,2012).

Glutensiz hammaddelerde fermentasyon ve fırınlama sırasında proteinlerin ağ oluşturma ve elastik benzeri yapı sergileme davranışları genellikle kısıtlıdır. Bu sebeple oluşan gazları tutabilme yetenekleri yoktur (Drabinska vd., 2016). Bu ürünlerde glutenin sahip olduğu işlevselliği sağlayabilmek için önerilen yol yapıda proteinler arası bağlantıların kurulmasını yardımcı olacak çapraz bağlayıcı enzimlerin kullanımıdır (Wang vd., 2017). Son ürün kalitesini geliştirebilmek için protein ve nişasta değıştirici enzimler ile bu özelliklerin gelişiminin teşvik edilmesi sağlanmaktadır (Renzetti & Rosell, 2016)

Transglutaminaz (TGase; γ -glutamyltransferaz; EC 2.3.2.13), belirli proteinlerde peptite bağı glutamin kalıntılarının γ -karboksiamid grubu ile peptite bağı lisin kalıntılarının ϵ -amino grubu dahil olmak üzere çeşitli birincil aminler arasındaki bir açıl transfer reaksiyonunu katalize eder. Böylelikle gelişen protein ağı glutensiz ürün hamurunun viskoelastik karakteristiklerini değiştir ve hamurun reolojik ve işlenme özelliklerinin gelişimine katkı sağlar (Deora vd., 2014). Glikozoksidaz (GO; EC 1.1.3.4), oksijen varlığında aktivite gösteren bir enzimdir. Ortamda oksijen olması durumunda β -D-glikozun oksidasyonunu katalize eder ve D-glukonik asit ile bir hidrojen peroksit molekülünün (H_2O_2) açığa çıkmasını sağlar. Oluşan H_2O_2 molekülü suda çözünebilen pentozan moleküllerinin jelleşmesini destekler ve proteinlerin tiyol grupları ile etkileşime girerek hamurun reolojik özellikleri üzerinde etkili olan disülfit bağlarının gelişimini sağlar (Renzetti ve Rosell, 2016). Siklodekstrin glikosiltransferaz (CGTase, EC.2.4.1.19) ve α -amilaz ise nişastayı hidrolize edebilen enzimler olarak, amilopektinin depolama sırasında geri dönüş yeteneğini azaltarak glutensiz ürünlerin raf ömrünün uzatılmasına katkı sağlar. CGTase, nişasta molekülünde α -(1-4) bağlarının bölünmesini sağlar ve bu reaksiyon sonucunda lipitler ve hidrofobik proteinler ile kompleks oluşturabilen fragmentler ortaya çıkar. Bu ise glutensiz hamuru emülsifiye eder, oluşan yapılar gaz tutulma özelliğini ve kırıntı yapısını geliştirir (Rosell, 2009).

Hidrokolloid yapılar, glutensiz ürünlere farklı işlevsel özellikler kazandırarak onların yapısal özelliklerini geliştirebilen, bitkisel, hayvansal veya mikrobiyal kaynaklı, çeşitli kimyasal yapılara sahip, suda çözünür nitelikte bileşenlerdir (Mir vd., 2015). Gıdalarda kullanılan hidrokolloid yapılar; *alglerden* (agar-agar, karregenalar, aljinatlar), *bakterilerden* (Ksantan gum, dekstran), *bitkilerden* (pektin, β -glukan), *bitki özlerinden* (guar gum, keçiyoynuzu gumu), *bitki salgılarından* (arap zımkı) elde edilenler ya da kimyasal veya biyokimyasal olarak sentezlenmiş *selüloz türevleri* olarak *hidroksipropil-metilselüloz (HPMC)*, *karboksi-metilselüloz (CMC)* ve *metilselüloz (MC)* şeklinde gruplandırılabilir. Bu bileşenler yüksek molekül ağırlığına ve su tutma kapasitesine sahiptir. Glutensiz ürünlere gluten ağını simüle etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu işlevini sulu sistemlerde jel oluşturup yapının viskoelastik özelliklerini geliştirerek sağlarlar. Viskoelastik yapının gelişimi, polisakkaritlerin molekülleri arası ilişkileri üzerinde

etkili olan zincir yapısı ve konformasyonuna bağlıdır (Tsatsaragkou vd, 2016; Brites vd., 2018). Hidrokolloidler, su tutma kabiliyetlerine bağlı olarak viskozitenin artışı ve gaz tutma kapasitesinin gelişimini sağlar. Selüloz türevi olanlar, sahip oldukları hidrofobik gruplar ile hamurun polar olmayan fazına etki ederler ve bu gaz hücrelerinin sınırları dahilinde bir ara yüz aktivitesi ile sonuçlanır ve pişirme sırasında bir ağ oluşturur. Gelişen bu ağ yapısı, hamurun viskozitesini artırır ve hücre duvarlarını genişleterek hacmin gelişimine katkı sağlar. Selüloz türevi yapılar glutensiz ürünlerde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Diğer hidrokolloidler de benzer bir sistem ile hamur yapısını geliştirebilirler ancak etkinlikleri selüloz yapılara göre daha azdır (Demirkesen vd., 2014; Brites vd., 2018).

Emülgatörler, genel tanım olarak birbirleri ile karışmayan fazlar arasında etkileşime izin veren hidrofilik veya hidrofobik uçlara sahip olan bileşenlerdir. Böylece yüzey gerilimini azaltır, farklı hamur bileşenleri ile etkileşime girerek gluten ağını güçlendirir ve daha kararlı bir hamur sistemi oluşumuna yardımcı olurlar (Aguilar vd., 2015). Glutensiz formülasyonlarda sıklıkla kullanılan emülgaör bileşenler; lesitin, mono- ve digliseritlerin diasetil tartarik asit esterleri (DATEM), damıtılmış monogliseritler ve sodyum stearoil laktilat (SSL). Lesitin önemli bir bileşen olup, hamur yapısını güçlendirmek, una yumuşaklık sağlamak, su tutma kapasitesini iletirmek ve retrogradasyonu azaltarak raf ömrünü geliştirmek için kullanılmaktadır (Purhagen vd., 2012).

Sonuç olarak, glutensiz ürünlerde kullanılan makromoleküller (nişastalar, proteinler, hidrokolloidler) ve diğer yardımcı katkıları hamurların işlenebilirliğini geliştirerek son ürün kalitesine katkı sağlamaktadır.

4.2 Materyal Metot

4.2.1 Glutensiz Kek Üretimi

Materyaller: Buğday unu (Yeğenler Çok amaçlı Buğday Unu,Türkiye), Nohut unu (İpek Değirmen Glutensiz Nohut Unu) şeker, tuz (sodyum klorür), UHT tam yağlı süt (Birşah Süt % 3,1 yağlı), rafine ayçiçek yağı (Sırma), sodyum hidrojen karbonat, Whey Protein İsolat (WPI) (Hardline Whey 3 Matrix- % 80,3 Protein) ve Ksantan gum (Tito).

Yöntem: Kek hamurları Herranz vd., 2016 (Tablo 4.1) tarafından kullanılan formülasyonda değişiklikler yapılarak hazırlanmıştır. Kontrol grupları olarak gluten yapısına sahip %100 buğday unu (BU) ve gluten yapısı içermeyen %100 nohut unu (NU) kullanılmıştır. Bu gruplar nohut unu kullanılarak oluşturulan 4 farklı hidrokolloid kombinasyonunu içeren kekler ile karşılaştırılmıştır. Test grupları; 1. GRUP: *Leuconostoc lactis* GW-6 (EPS¹⁰) cinsi tarafından üretilerek saflaştırılan ve liyofilize edilen EPS; 2. GRUP: glutensiz ürünlerde sıklıkla kullanılan XG; 3. GRUP: WPI-EPS kompleksinden oluşan hidrokolloid yapı; 4. GRUP: WPI-XG kompleksinden oluşan hidrokolloid yapıyı içerecek şekilde belirlenmiştir. WPI ile EPS ve XG kompleksi oluşturmak için, Bölüm 3'te belirtildiği gibi manyetik karıştırıcıda 85°C'de 15 dakika süt içinde karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yumurta, şeker ve tuz önce Kitchen Aid mikserinde yüksek devirde 3 dakika çırpılmış, ardından sıvı malzemeler ilave edilerek, un ilavesi ile hamur oluşturulmuştur. Hamurlar 50'şer gramlık 12'li kek kalıplarına paylaştırılarak önceden 200 °C 'ye ısıtılmış fırında 30 dakika pişirilmiştir. 1 saat oda sıcaklığında soğumaya bırakılan kekler daha sonraki analizler için nem geçirmez uygun kaplarda saklanmıştır.

Tablo 4.1 NU bazlı glutensiz kek formülasyonları
(Biyopolimer miktarları 100 g süt üzerinden hesaplanmıştır)

KEK	%100 BU	%100 NU	%3 EPS	%3EPS- %5 WPI	% 1 XG	%1 XG- 5 WPI
UN	155	130	128,5	126	129,5	127
WPI	0	0	0	2,5	0	2,5
EPS	0	0	1,5	1,5	0	0
XG	0	0	0	0	0,5	0,5
YUMURTA	100	100	100	100	100	100
ŞEKER	100	100	100	100	100	100
TUZ	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
SÜT	50	50	50	50	50	50
YAĞ	46	46	46	46	46	46
K. TOZU	10	10	10	10	10	10
Kuru Toplam	461,75	436,75	436,75	436,75	436,75	436,75

4.2.2 Glutensiz Kek Hamurlarının Reolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Kek hamurunun reolojik davranışı, reometre probu ile numune plakası arasında 0,5 mm boşluk bulunan paralel plaka (çap: 50 mm) ile donatılmış sıcaklık kontrollü gerinim reometresi kullanılarak ölçülmüştür. Akış davranışı için 0,1 ile 100 s⁻¹ arasında değişen kayma hızları için kayma gerilmesi değerleri kaydedilmiştir. Akış davranışı reolojik özelliklerinin parametrelerini değerlendirmek için Power Law modeli ve doğrusal olmayan regresyon kullanılmıştır. Numunelerin dinamik reolojik analizini (3 ITT) yapmak için paralel bir plaka konfigürasyonu kullanılmış olup doğrusal viskoelastik bölgeyi (LVR) değerlendirmek için sırasıyla sabit kesme hızı 0,5/s ve değişken kesme hızı 150/s olduğu kabul edilmiştir. Değerler seçilirken numunelerin LVR'si dikkate alınmış ve numunelerin LVR'si 50 s⁻¹'de bitmiştir. 1. zaman aralığında numuneler 100 s çok düşük kayma hızında (0,5/s) maruz bırakılmıştır. 2. zaman aralığında 150/s 40 s için belirlenen kesme kuvvetine tabi tutulmuştur. 3. zaman aralığında, 2. zaman aralığındaki dinamik reolojik davranış, 1. zaman aralığında numuneler düşük kesme hızına maruz bırakılarak test edilmiştir (Toker vd., 2015).

4.2.3 Glutensiz Keklerin Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Keklerin ağırlıkları ve hacimleri pişirmeden 1 ve 24 saat sonra belirlenmiştir. Ağırlık ölçümü için laboratuvar tipi hassas teraziler kullanılmıştır. Kekler tartıldıktan sonra 1. ve 24. saatlerde kolza tohumu kullanılarak kolza yer değiştirme yöntemi ile hacimleri belirlenmiştir. Ürünün hacmi, doğrudan 400 mL'lik kalibre edilmiş bir kaptan her bir kek varlığında ve yokluğunda kolza tohumu seviyesindeki farkla belirlendi. Spesifik hacim ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$), kek hacmi ve ağırlığı arasındaki oranla değerlendirilmiştir. Kek iç doku nemi tayini 1. ve 24. saatlerde bir nem tayin cihazı (RADWAG MA 50.R Nem Tayin Cihazı) kullanılarak belirlenmiştir. Keklerin renk özellikleri Chroma Meter CR-400 renk cihazı ile iç renk ve kabuk rengi olarak kaydedilmiştir.

4.2.4 Glutensiz Keklerin Tekstürel Özelliklerinin Belirlenmesi

Kek numuneleri soğutulduktan sonra, kekin merkezinden ($2,5 \text{ cm} \times 2,5 \text{ cm} \times 2,5 \text{ cm}$) kübik kek numuneleri kesilmiştir. Sertlik (N), Esneklik ve Yapışkanlık özellikleri, 5 kg yük hücresi ve çapı 36 mm olan silindirik sıkıştırma ile bir doku analiz cihazı (TA.XT2 Plus, İngiltere) kullanılarak doku profili analizi (TPA) ile ölçülmüştür. Kek numuneleri test ünitesine üst üste iki dilim olacak şekilde yerleştirilmiştir. Ön test ve test hızı sırasıyla 5.0 mm/s ve 1 mm/s olarak ayarlanmıştır. Sıkıştırma %30 ve tetik tipi otomatik kuvvet 5 g, birinci ve ikinci sıkıştırma arasındaki aralık süresi ise 5 s olarak belirlenmiştir (Yıldırım-Mavis vd., 2019)

4.3 Sonuçlar ve Tartışma

4.3.1 Glutensiz Kek Hamurlarının Reolojik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Gıdalarda kullanılan hidrokolloidler, sistemin reolojisini yani akış davranışını (viskozite) ve mekanik katı özelliği (doku) değiştirebilme yeteneğindedir. Kek hamuru un ve çeşitli bileşenlerin karışımından oluşan kompleks bir sistemdir. Hamurun viskoelastik davranışı, hamur içinde hava kabarcığı tutmak ve kek yapısını oluşturmak için önemlidir (Itthivadhanapong vd., 2016). Kek hamurlarının akış davranışı reolojik özellikleri Şekil 4.1 (A) 'de gösterilmiştir. İncelenen kesme hızı aralığı kapsamında; kesme gerilimi ve kayma gerilimi oranı değerleri Power

Law denkleminde iyi uymaktadır ($R^2 = \pm 1$). Tablo 4.2 de görüldüğü üzere hamur örneklerinin akış indeksi (n) 0, 44 ile 0,53 aralığında yer almaktadır ve bütün örnekler shear thinning (pseudoplastic) özellik göstermektedir. EPS¹⁰ ve XG eklenmiş örnekler kontrol grubu örneklerine göre daha düşük n değerleri sergilemişlerdir. Tablo 4.2’ de yer alan diğer bir değer consistency index (K) 65,96 Pa sn ile 309,28 Pa sn aralığında değişmektedir. Kontrol grupları kendi arasında kıyaslandığında BU NU’na göre daha düşük K değeri göstermektedir. NU ile yapılan hamur örnekleri değerlendirildiğinde ise XG, XG-WPI örneklerinde K değeri çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir. K değeri gıdalardaki viskoz davranışın göstergesidir. Kontrol grupları arasında NU içeren hamurun daha viskoz özellik göstermesi nohut ununun sahip olduğu yüksek protein içeriği ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Gomez vd., 2008). Bozdogan vd. (2019) ve Turkut vd. (2016) protein ve lif açısından zengin kinoa unu ile yapmış oldukları glutensiz hamur çalışmalarında da benzer şekilde buğday ununa göre daha düşük n ve daha yüksek K değerleri bulmuşlardır.

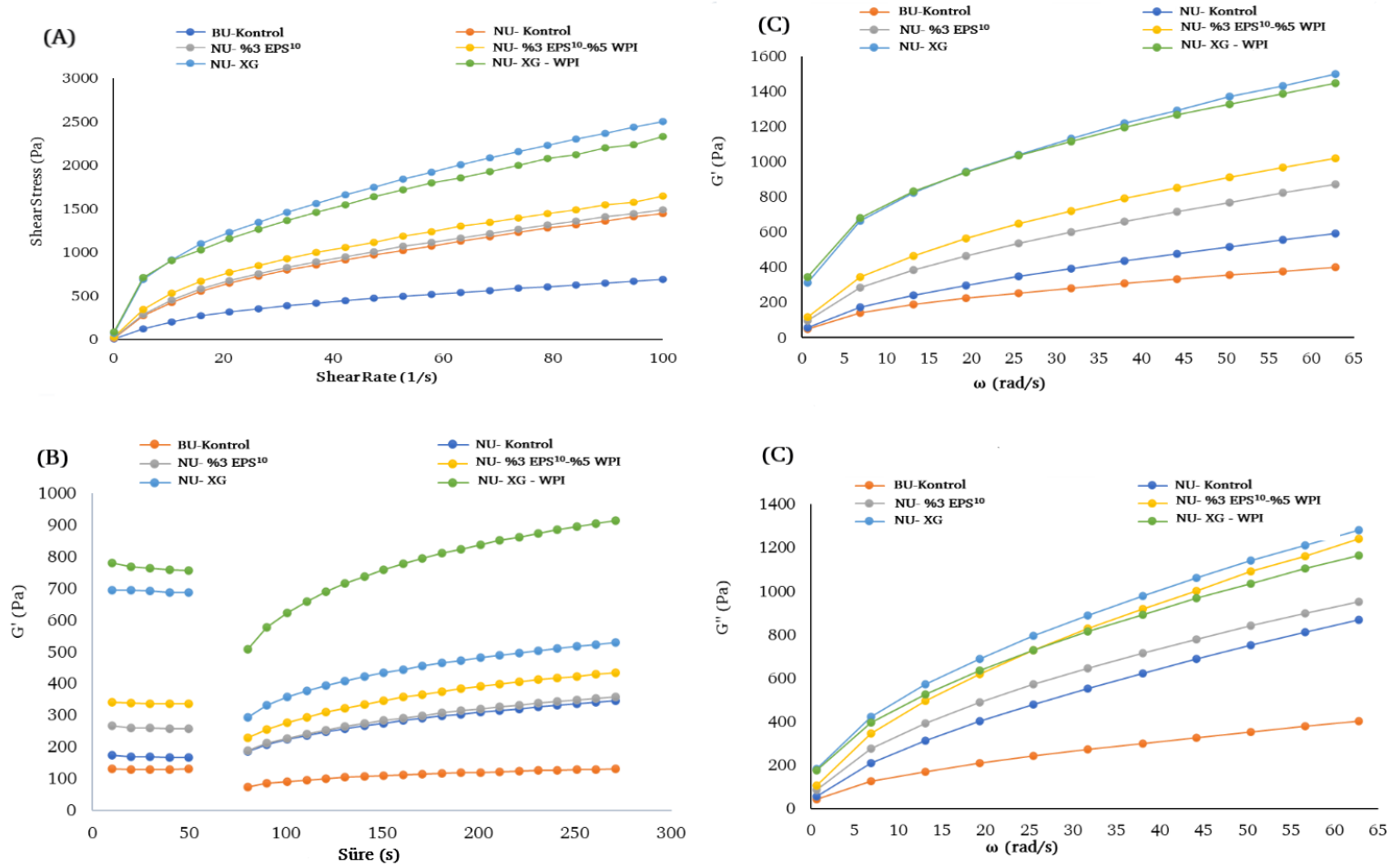
Hamurların reolojik özellikleri üzerinde hidrokolloid yapıların etkisini tespit etmek için, dinamik salınım ve akış davranış analizi gerçekleştirilmiştir. Dinamik reolojik ölçümlerden, sistemin elastik yanıtıyla ilgili elastik (veya depolama) modülü G' , ve sistemin viskoz yanıtıyla ilgili viskoz (veya kayıp) modülü G'' değerlendirilmiştir (Şekil 4.1 (B-C)). Frekans taraması boyunca G' , G'' den çok daha yüksek olduğu için tüm hamurların elastik veya jel benzeri davranış gösterdiği tespit edilmiştir. Literatürde karabuğday, pirinç ve mısır unu ile hazırlanan glutensiz hamur örneklerinde de benzer şekilde elastik modülünün, kayıp modülünden daha büyük olduğu gözlemlenmiştir (Kowalczewski vd.,2019; Singh vd., 2015; Pruska-Kedzior et al., 2008). $G' = K' (\omega)^n$ ve $G'' = K'' (\omega)^n$ eşitliğinde G' ve G'' ile K' ve K'' arasında doğrusal ilişkiye bağlı olarak Tablo 4.2’de verilere bakıldığında kontrol gruplarına göre EPS10 ve XG hidrokolloid yapılarını içeren örneklerde bu değerlerin önemli oranda artış sergilediği görülmüştür. NU kontrol örneği dışında tüm örneklerde $K' > K''$ olması yapının elastik özelliklerinin viskoz özelliklerine baskın olduğunu göstermektedir. G' (elastik /depolama modülü) K' değerlerine ve G'' (viskoz/kayıp Modülü) K'' değerlerine bağlı olarak değerlendirildiğinde; örnekler için bu değerler sırasıyla 59,66- 355,94 ve 46,39-153,48 geniş aralığında yer almaktadır. Kontrol gruplar kendi aralarında kıyaslandığında elastik özellikleri

birbirlerine yakın olup BU için bu değer çok az yüksektir. Tablo 4.2 'de ki verilere bakıldığında EPS10, XG ve bunların WPI ile kombine edildiği tüm örneklerde kontrol NU örneğine göre her iki değerde de artış gözlemlenmiştir. Buna göre EPS10 ve XG'nin hem tek başlarına hem de WPI kompleksi ile oluşturdukları hidrokolloid sistemin hamurun elastik ve viskoz özelliklerini geliştirebildiği tespit edilmiştir. İspirli vd., (2020) EPS üreticisi *Limosilactobacillus reuteri* E81 ile yaptıkları ekşi hamur çalışmasında hamur sistemi içerisinde üretilen glukan tipte EPS yapısının benzer şekilde hamurun katı benzeri elastik bir yapı geliştirmesine yardımcı olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada glutensiz unlar (karabuğday, yulaf, kinoa ve teff) kullanılarak *Weissella cibaria* MG1 ile hamur sistemi içerisinde dekstran tipte EPS üretimi sağlanmış. Sonuçta EPS'nin miktarına bağlı olarak hamur reolojisini etkilediği ve katı elastik benzeri bir yapı sergilediği gösterilmiştir (Wolter vd., 2014). XG örneklerinde K' ve K'' değerlerindeki artışın oransal olarak daha yüksek olması bu bileşen ile yapılan önceki çalışmalarla uyumludur (Lazaridou vd., 2007; Shittu vd., 2009). Benkadri vd. (2020) XG ve Locust Bean Gum ile yaptıkları çalışmada benzer şekilde XG örneklerinin yüksek elastikiyetinin XG'nin sert ve düzenli zincir konformasyonundan dolayı hidrokolloid yapıda düşük kesme hızlarında sahip olduğu zayıf jel özellikleri ve yüksek viskozite değerleri ile ilişkilendirmişlerdir. G' G'' oranı, başka birçok önemli parametreye yol açar kuvvet ve deformasyon arasındaki faz farkının doğrudan bir indeksini sağlayan; $\tan \delta = G''/G'$. Kayıp modülü ile depolama modülü arasındaki ilişkiyi gösteren Tan delta, bir viskoelastik malzemede viskoz ve elastik özelliklerin nispi oranının bir ölçümünü sağlar. Tan δ değerinin daha düşük olması daha güçlü daha elastik ve daha time stabil hamur karakterini gösterir (Fiszman vd., 2013). Sonuç olarak Tablo 4.2'de görüldüğü üzere yüksek G' ve G'' değerleri, daha düşük frekans bağımlılığı anlamına gelen düşük n' ve n'' değerleri ve düşük $\tan \delta$ değerleri hamur yapısının daha güçlü, elastik ve daha kararlı olduğunu yansıtmaktadır (Herranz vd., 2016).

4.3.2 Glutensiz Kekelerin Fizikokimyasal Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Pişen keklerin fizikokimyasal özellikleri Tablo 4.3 'te gösterilmiştir. Pişirme sonrası yapılan ilk ölçümde en yüksek ağırlık kaybı (%) EPS¹⁰ ve EPS¹⁰-WPI kompleksini içeren örneklerde görülmüştür. %100 BU ve %100 NU içeren kekler arasında 1. saatte ağırlık kaybı arasında önemli bir farklılık yok iken 24. saatte

nohut unlu keklerde kayıp daha fazla gerçekleşmiştir. Ancak 1. ve 24. saat sonrasında örneklerde meydana gelen ağırlık kaybı önemli değildir. Sonuç olarak %100 BU ve %1 XG içeren kekler en yüksek performansı gösterirken EPS¹⁰, EPS¹⁰-WPI ve XG-WPI kompleksini içeren örnekler kontrol NU keklerin performansında artış sağlayabilmişlerdir. Bu durum hamura katılan hidrokolloid yapıların yüksek su bağlama kapasiteleri ile ilişkili olarak serbest suyun buharlaşmasını engellemeleri ile ilişkilendirilmiştir (Singh vd., 2015). Pişirme işleminden 1 saat sonra, %100 BU, %1 XG ve %1 XG- %5 WPI içeren kek örnekleri diğerlerine göre daha hızlı çökmüştür, ancak 24 saat sonunda tüm örnekler hacimlerini muhafaza ederek stabilize olmuşlardır. En düşük düşme değerini EPS¹⁰ içeren örnekler göstermiştir. Keklerin özgül hacimlerindeki değişimler arasında önemli farklılıklar saptanmamıştır. En yüksek değere % 100 BU sahiptir. Buna karşılık kontrol NU ile diğer örnekler karşılaştırıldığında özgül hacim değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Bu durum yapıya ilave edilen bu hidrokolloidlerin hamurun viskoelastik özelliklerini geliştirerek son kek hacmini arttırdığını göstermiştir. Diğer taraftan nohut unundan yapılan kek örneklerinin buğday ununa göre daha düşük özgül hacme sahip olması nohutunun sahip olduğu yüksek lif içeriğine bağlı olarak pişirme sırasında protein ağını geliştirmek için daha az nişasta-su kompleksinin oluşması ve bunda daha düşük kek hacmine sebep olması ile ilişkilendirilmiştir (Martinez-Cervera vd., 2011; Herranz vd.,2016).



Şekil 4.1 Hamur örneklerinin reolojik özellikleri. (A): Akış davranış özellikleri; (B) 3 ITT; (C) Viskoelastik davranış özellikleri

Tablo 4.1 Hamur örneklerinin reolojik özelliklerine ait parametreler

	K	n	R²	K'	n'	R²	K''	n''	R²
BU-Kontrol	65,96±1,39	0,51±0,00	1,00±0,00	61,55±5,86	0,45±0,02	1,00±0,00	46,39±2,65	0,54±0,00	1,00±0,00
NU-Kontrol	126,80±2,05	0,53±0,00	1,00±0,00	59,66±3,05	0,55±0,01	1,00±0,00	61,62±1,96	0,64±0,00	1,00±0,00
NU-%3 EPS¹⁰	134,22±1,51	0,52±0,00	1,00±0,00	105,51±2,93	0,51±0,01	1,00±0,00	94,42±0,92	0,56±0,00	1,00±0,00
NU-%3 EPS¹⁰- %5 WPI	164,74±0,37	0,50±0,01	1,00±0,00	121,19±11,01	0,51±0,02	1,00±0,00	107,56±5,20	0,58±0,00	1,00±0,00
NU-XG	308,20±1,44	0,45±0,00	1,00±0,00	324,37±0,00	0,37±0,00	1,00±0,00	160,92±0,00	0,50±0,00	1,00±0,00
NU-XG-WPI	309,28±1,10	0,44±0,01	1,00±0,00	355,94±1,63	0,33±0,00	1,00±0,00	153,48±3,22	0,49±0,00	1,00±0,00

*BU: Buğday unu kontrol NU: Nohut unu

Tablo 4.2 Glutensiz keklerin fizikokimyasal özellikleri

Örnek	Özgül Hacim (24 saat) (cm ³ g ⁻¹)	Piştirme sonrası kek ağırlığı (g)	Piştirme Sonrası Ağırlık kaybı (%)	1 saat Sonra Ağırlık Kaybı (%)	24 saat sonra Ağırlık Kaybı (%)	1 saat Sonra çökme miktarı (mm)	24 saat sonra çökme miktarı (mm)	1 saat sonra nem (%)	24 saat sonra nem (%)
%100 BU	2,87±0,012 ^a	45,6±0,1 ^a	8,8±0,28 ^c	1,2±0,14 ^a	0,84±0,11 ^a	13±0,00 ^a	13±0,00 ^a	20±0,002 ^e	25,88±0,0008 ^b
%100 NU	2,25±0,007 ^c	45,8±0,2 ^a	8,4±0,42 ^c	1,4±0,14 ^a	2,8±0,7 ^a	10±0,00 ^c	10±0,00 ^c	26,97±0,009 ^c	24,59±0,0003 ^c
%3 EPS ¹⁰	2,26±0,01 ^c	44,6±0,07 ^b	10,8±0,14 ^b	0,6±0,56 ^a	1±0,56 ^a	10±0,00 ^c	10±0,00 ^c	27,92±0,0002 ^b	23,80±0,0001 ^e
%3 EPS ¹⁰ %5WPI	2,790±0,009 ^b	44±0,14 ^b	12±0,28 ^a	1,8±0,1 ^a	2±0,56 ^a	12±7,07 ^b	12±0,00 ^b	26,99±0,0007 ^c	25,24±0,0008 ^d
%1 XG	2,88±0,0045 ^a	45,4±0,28 ^a	9,2±0,56 ^c	0,2±0,7 ^a	0,6±0,7 ^a	13±0,00 ^a	13±0,00 ^a	25,74±0,0004 ^d	25,10±0,0009 ^c
%1 XG %5 WPI	2,86±0,0044 ^a	46,1±0,2 ^a	7,8±0,42 ^d	1,28±0,35 ^a	1,6±0,28 ^a	13 ^a	13±0,00 ^a	30,35±0,0001 ^a	29,63±0,0002 ^a

Değerler ortalama (n=9) standart sapma olarak verilmiştir. a–e Aynı sütundaki farklı harfler, Tukey çoklu karşılaştırma testine göre örnekler arasında önemli farklılıklar (P <0,05) anlamına gelir. BU, buğday unu; NU, nohut unu; WPI, peynir altı suyu proteini; XG, ksantan sakızı

4.3.3 Glutensiz Keklerin Tekstürel Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Kek örneklerine ait TPA sonuçları Tablo 4.4' te gösterilmiştir. Kontrol grupları açısından yapılan ilk değerlendirmeye göre %100 NU içeren grup BU'na göre daha yüksek oranda sertlik değerine sahiptir. Bu durum NU'nun sahip olduğu yüksek protein içeriğine bağlı olarak sıkıştırma için gereken kuvvetin artması ile ilişkilendirilmiştir (Alvarez vd.,2017). NU hamur yapısına ilave edilen EPS10, XG, EPS10-WPI ve XG-WPI hidrokoloid bileşenleri kek yapısını geliştirerek sertlik değerlerini önemli ölçüde düşürmüştür. Hidrokoloid yapıda polisakkaritler ve protein bileşikler, son üründe istenilen dokunun sağlanması için gluten ikamesi olarak kullanılabilen tipik bileşenlerdir (Ziobro vd., 2013; Sumnu vd., 2010). Elde edilen bu son değerler özellikle mikrobiyal yapıdaki polisakkaritlerin gluten yapısına sahip olan BU kontrol ile benzer özellikte doku geliştirilebildiğini göstermektedir. Esneklik ve yapışkanlık kek ve benzeri ürünlerin kalitesi açısından önemli olan iki özelliktir. Esneklik, örneğe uygulanan ilk sıkıştırmanın sonu ile ikinci sıkıştırmanın başlangıcı arasında yüksekliğin geri kazanılabilirliğini ifade etmektedir. Bu değer yüksekliği ile ürünün kalitesi arasında doğrusal bir ilişki vardır. Yapışkanlık ise duyuşal ufalanma ve yoğunluk ile ilgili bilgi verir. Yiyecek parçasını çiğnemek için gereken enerji ile ilişkilidir (Fiszman vd. 2013). Gluten yapısına sahip buğday kontrol örneğine göre tüm örneklerde esneklik değeri azalmıştır. Herranz vd., (2016) NU bazlı olarak yaptıkları bir çalışmada farklı oranlarda biyopolimerleri yapıya ilave ettiklerinde benzer şekilde esnek değerinde düşüş gözlemlenmiştir. Bu durum kek yapısında hava kabarcıklarının azalması ve daha yoğun bir matrisin meydana gelmesi ile ilişkilendirilmiştir (Baixauli vd., 2008; Alvarez vd.,2017). 3 günlük depolama sonucunda esneklik değerlerindeki düşüş tüm örnekler için devam ederken yapıda en az değişimin EPS¹⁰-WPI kompleksini içeren kek örneklerinde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2).

4.3.4 Glutensiz Keklerin Renk Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Kek örneklerinin kabuk ve iç kısım renk sonuçları Tablo 4.5'te gösterilmiştir. L ve a* değerleri açısından kabuk renkleri istatistiksel açıdan birbirinden farklıdır, b* değerlerinde ise EPS ve EPS-WPI kompleksini içeren gruplar aynı olup bu gruplar ve diğerlerinin farklılığı anlamlıdır. Bu durumda parlaklık L* değeri açısından en düşük değeri ve kızarıklık a* değeri açısından en yüksek değeri EPS¹⁰-WPI kompleksini içeren kek örneği göstermiştir. Test edilen numunelerde sarının baskın

olduğunu ifade eden b^* parametresi açısından kek numuneleri değerlendirildiğinde ise kontrol nohut unlu örnek en yüksek değere sahiptir. Örneklerin iç yapılarının L^* değerlerine bakıldığında BU-Kontrol, NU-Kontrol ve EPS içeren örnekler arasında istatistiksel olarak fark yoktur. Diğer gruplar birbirlerinden farklı olup en yüksek L değeri yine benzer şekilde EPS¹⁰-WPI içeren kek numunesindedir. Kırmızılık açısından a^* değeri en yüksek olan örnek yalnızca EPS¹⁰ içeren örnektir. Buğday kontrol ve XG ilave edilmiş örnekler negatif a^* değerleri sergilemişlerdir. NU-Kontrol ve EPS içeren örneklerin a^* değerleri açısından birbirleri arasında istatistiksel fark yok iken EPS-WPI değeri açısından farklılık göstermektedir. b^* değerleri açısından tüm örnekler istatistiksel olarak birbirlerinden farklıdır. Nohut kontrol örneği kabukta olduğu gibi b^* değeri açısından en yüksek değere sahiptir. Bu durum nohut ununun taneden gelen renk özellikleri ile ilişkilendirilmiştir. Yapıya eklenen hidrokolloidler kabuk kısmında L^* ve b^* değerlerinde düşüşe a^* değerlerinde ise artışa sebep olmuştur. İç kısımda ise bu durum tüm örnekler için L^* değerlerinde artış ile sonuçlanırken, a değerleri XG örnekleri açısından kırmızılık değerini arttırırken hala sonuçlar negatiftir. %3 EPS¹⁰ içeren örnek nohut kontrol ile benzer iken EPS-WPI kompleksinde a^* değeri önemli ölçüde düşüş göstermiştir.

4.4 Genel Değerlendirmeler

Çölyak olan hastalar için uygulanan en etkili tedavi glutensiz bir diyetdir. Yapısında gluten bulunmayan tahıllar ile elde edilen son ürün gluten ağ tabakasının yokluğuna bağlı olarak yapısal, tekstürel, ağız hissi ve bayatlama derecesi açısından problemler gelişmektedir. Gluten ağ yapısına ikame olarak ksantan, karragenan ve agar gibi hidrokolloidler unlu mamullerde sıklıkla kullanılmaktadır. İstenilen yapıyı elde etmek için kullanılan bu hidrokolloidler veya gumların ise ürün etiketlerinde katkı maddesi olarak belirtilmelerini gerektirmektedir. Bu durum ise daha doğal ürünleri talep eden tüketiciler için negatif bir bakış açısı oluşturmaktadır. Hidrokolloidlerin ve EPS üreten LAB'lerin glutensiz ürünlerde yapı geliştirici olarak kullanılmasının ise dikkat çekici olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma sonucunda, *Leuconostoc lactis* GW-6 suşu tarafından üretilen EPS¹⁰'nun glutensiz nohut unu ile yapılan keklerin yapısal karakteristiklerini geliştirmedeki potansiyel bileşenler olduğu açığa çıkarılmıştır.

Tablo 4.3 Glutensiz keklerin tekstürel özellikleri

	Sertlik (g)		Yapışkanlık (g.dk)		Esneklik	
	0 Gün	3 Gün	0 Gün	3 Gün	0 Gün	3 Gün
BU KNTRL	574,610±3,2 ^d	1085,880±2,6 ^b	0,729±0,007 ^a	0,605±0,007 ^a	0,953±0,008 ^a	0,859±0,01 ^a
NU KNTRL	709,81±0,29 ^e	1057,500±0,7 ^d	0,624±0,003 ^{bc}	0,575±0,004 ^{ab}	0,861±0,03 ^{bc}	0,773±0,005 ^{bc}
%3 EPS	588,060±2,9 ^b	1136,405±1,3 ^a	0,595±0,004 ^c	0,605±0,007 ^a	0,818±0,004 ^c	0,759±0,02 ^c
%3 EPS- %5 WPI	595,735±3,1 ^a	1018,239±2,1 ^e	0,630±0,004 ^b	0,545±0,01 ^{ab}	0,817±0,003 ^c	0,807±0,002 ^b
%1 XG	557,473±1,8 ^e	1066,478±1,6 ^c	0,685±0,06 ^{ab}	0,570±0,01 ^{ab}	0,869±0,004 ^b	0,777±0,009 ^{bc}
%1 XG- %5 WPI	573,423±4,4 ^d	942,261±2,5 ^f	0,746±0,01 ^a	0,563±0,04 ^a	0,905±0,02 ^b	0,866±0,03 ^a

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. a-f aynı sütundaki farklı harfler, örnekler arasında önemli farklılıklar ($P < 0.05$) anlamına gelir Tukey çoklu karşılaştırma testine göre. BU: buğday unu; NU: nohut unu; WPI: peynir altı suyu proteini; XG: ksantan sakızı

Tablo 4.4 Glutensiz keklerin renk özellikleri

	KABUK			İÇ		
	L	a	b	L	a	b
BU-KNTRL	59,956±1,4 ^b	7,186±0,05 ^d	31,933±0,06 ^b	63,783±0,38 ^d	-0,55	22,373±0,7 ^e
NU-KNTRL	63,233±0,5 ^a	6,83±0,7 ^d	33,646±0,2 ^a	63,82±0,6 ^d	1,04±0,03 ^a	32,68±0,7 ^a
%3 EPS¹⁰	53,946±0,5 ^d	12,696±0,1 ^{bc}	25,61±0,9 ^d	64,07±0,6 ^d	1,046±0,04 ^a	28,473±0,2 ^d
%3 EPS¹⁰- %5 WPI	51,98±0,4 ^e	13,72±0,2 ^a	23,723±0,09 ^d	69,94±0,1 ^a	0,16±0,04 ^b	29,883±0,03 ^{bc}
%1 XG	52,903±0,6 ^{de}	12,98±0,6 ^{ab}	23,546±0,5 ^e	68,593±0,9 ^b	-0,033	30,586±1,1 ^b
%1 XG- %5 WPI	57,853±0,6 ^c	11,98±0,7 ^c	28,066±0,2 ^c	65,62±0,6 ^c	-0,21	29,053±0,6 ^{cd}

Aynı sütunda farklı bir harfin izlediği ortalama ± standart sapma değerleri, a-e aynı sütundaki farklı harfler Duncan'ın çoklu aralık testine göre önemli ölçüde farklıdır (p<0,05).



Şekil 4.2 Buğday ve nohut unuyla yapılmış kek örnekleri

5 SONUÇLAR

GRAS statüleri ile bilinen LAB'leri gıdalar için önemli olup çok çeşitli fermentasyon ortamlarından izole edilebilmekte olup ortam şartlarındaki farklılıklarla ilişkili olarak önemli tekno-fonksiyonel özelliklere sahip olan ekzopolisakkaritlerin üretebilmektedirler. Bu tez kapsamında çimlenmiş ve çimlenmemiş tahıl ve baklagil unlarından LAB suşları izole edilerek tanımlanmış ve EPS üretim özellikleri belirlenmiştir.

Bu çalışmada izole edilen tüm LAB suşları, farklı seviyelerde EPS üretmiştir. EPS¹⁰ ve EPS¹⁷, 17 LAB suşu arasında en yüksek verimde üretilen EPS yapılarıydı bu sebeple yapısal olarak karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. NMR analizi ile tespit edilen EPS¹⁰ ve EPS¹⁷ için sırasıyla %9,2 ve %6,9 seviyelerinde (1 → 3)-bağlı α -D-glikoz birimleri ile dekstran üretti ve FTIR spektrumları, dekstran yapısını doğrulamıştır. Her iki dekstranın da XRD analizi ile belirlenen doğası gereği amorf olduğu ve daha da önemlisi dekstranların hem DSC hem de TGA analizi ile 300 °C 'ye kadar yüksek düzeyde termal kararlılık göstermesi, gıda işlemede yüksek termal uygulamalar için uygun olduklarını göstermiştir. Bu dekstranlar, karşılık gelen başlatıcı kültürlerle katkı maddeleri veya yerinde üretilen polimerler olarak potansiyel uygulama bulabilir. Yapısal karakterizasyonları yapılan EPS'lerin gıdalarda kullanım imkanlarının değerlendirilmesi için mayonez ve glutensiz kek uygulaması gerçekleştirilmiştir.

Mayonez çalışması kapsamında peynir altı suyu proteini izolatu (WPI) ile dekstran yapıları ekzopolisakkarit (EPS) kompleksinin yağ ikame edici özelliğinin değerlendirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda WPI-EPS kompleksleri hazırlanmış ve yağ oranı %50 azaltılmış mayonez formülasyonlarına eklenmiştir. Kontrol numunesi olarak XG ile hazırlanan tam yağlı ve az yağlı (%50) mayonezler kullanılmıştır. Numunelerin reolojik özellikleri, akış davranışı, frekans taraması ve 3-ITT reolojik özellikleri kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır. Numunelerin emülsiyon stabilitesini belirlemek için termal döngü testi uygulanmış, oksidatif stabilite OXITEST ile test edilmiş ve IP değerleri karşılaştırılmıştır. Örneklerin K değerleri 20,05-169,13 Pa.sn arasında, n değerleri ise 0,133 ile 0,383 arasında değişmiş ve tüm örnekler Newtonian olmayan sıvı olup ve $n < 1$ nedeniyle

psödoplastik davranış göstermiştir. Tüm numunelerin G'' değeri G' değerinden büyüktür. Bu, viskoelastik davranışlarını gösteren, geleneksel mayonez gibi katı benzeri bir davranışa sahip oldukları anlamına gelmektedir. Mayonez örneklerinin viskoelastik parametreleri Power-Law modeli kullanılarak hesaplanmıştır. Örneklerin K' ve K'' değerleri sırasıyla 73,81-1172,51 ve 26.90-231,74 Pa sⁿ aralığında, n' ve n'' değerleri ise sırasıyla 0,117-0,270 ve 0,117-0,280 aralığında bulunmuştur. Tüm mayonez örneklerinde K' değerinin K'' değerinden yüksek çıkması elastik katı karakterin viskoz karaktere baskın olduğunu göstermiştir. %2 EPS¹⁷ ve %5 WPI kompleksi, az yağlı mayonezde sağlam bir yapı sağlamış ve fiziksel stabiliteyi geliştirmiştir. Sonuçlar, numunelerin düşük ve yüksek sıcaklıklarda termal strese maruz kaldıklarında yüksek bir fiziksel kararlılığa sahip olduğunu göstermiştir. %2 EPS¹⁷⁻¹⁰ ve %5 WPI etkileşimi, az yağlı mayonezde sağlam bir yapı sağlamış ve fiziksel stabiliteyi geliştirmiştir. Sonuç olarak, elde edilen veriler, WPI ve EPS¹⁷⁻¹⁰ kompleksleri, yağı azaltılmış mayonez numunelerinde reolojik özellikleri, emülsiyon stabilitesini ve oksidatif stabiliteyi önemli ölçüde iyileştirdiği için yağ ikamesi olarak kullanılabileceğini ortaya çıkarılmıştır.

Diğer gıda uygulaması olarak glutensiz kek denmesi gerçekleştirilmiştir. EPS'lerin yapısal karakterizasyonları ile açığa çıkan TGA ve DSC sonuçlarına göre onların ısıl dayanıklılıklarının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu kapsamda çalışmanın bu kısmında, *Leuconostoc lactis* GW-6 suşu tarafından üretilen EPS¹⁰'nin glutensiz ürünlerde yapı geliştirici bir ajan olarak kullanım imkanları değerlendirilmiştir. Hamurların reolojik özellikleri ve pişmiş keklerin fizikokimyasal ve tekstürel özellikleri belirlenmiştir. Sonuç olarak EPS yapısının XG ile benzer ancak ona göre daha düşük yapı geliştirebilme özelliğinde olduğu ortaya çıkarılmıştır.

- Abid, Y., Casillo, A., Gharsallah, H., Joulak, I., Lanzetta, R., Corsaro, M. M., & Azabou, S. (2018). Production and structural characterization of exopolysaccharides from newly isolated probiotic lactic acid bacteria. *International journal of biological macromolecules*, 108, 719-728. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.155>
- Aburas, H., İspirli, H., Taylan, O., Yilmaz, M.T., & Dertli, E. (2020). Structural and physicochemical characterisation and antioxidant activity of an α -D-glucan produced by sourdough isolate *Weissella cibaria* MED17. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, 648-655. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.030>.
- Aguilar, N., Albanell, E., Minarro, B., Capellas, M., 2015. Chickpea and tiger nut flours as alternatives to emulsifier and shortening in gluten-free bread. *LWT—Food Sci. Technol.* 62, 225–232.
- Ahlborn, G. J., Pike, O. A., Hendrix, S. B., Hess, W. M., & Huber, C. S. (2005). Sensory, mechanical, and microscopic evaluation of staling in low-protein and gluten-free breads. *Cereal chemistry*, 82(3), 328-335.
- Ahmed, R. Z., Siddiqui, K., Arman, M., & Ahmed, N. (2012). Characterization of high molecular weight dextran produced by *Weissella cibaria* CMGDEX3. *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 441-446. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.05.063>.
- Ahmed, Z., Wang, Y., Anjum, N., Ahmad, A., & Khan, S.T. (2013). Characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir—Part II. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 343-350. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.06.009>
- Ahmed, Z.; Wang, Y.; Anjum, N.; Ahmad, H.; Ahmad, A.; Raza, M. Characterization of New Exopolysaccharides Produced by Coculturing of *L. kefiranofaciens* with Yoghurt Strains. *Int. J. Biol. Macromol.* 2013, 59, 377–383.
- Akbari, M., Eskandari, M. H., & Davoudi, Z. (2019). Application and functions of fat replacers in low-fat ice cream: A review. *Trends in food science & technology*, 86, 34-40.
- Akbarzadeh, A., Rezaei-Sadabady, R., Davaran, S., Joo, S. W., Zarghami, N., Hanifehpour, Y., & Nejati-Koshki, K. (2013). Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale research letters*, 8(1), 1-9.
- Aksoy, F. S., Tekin-Cakmak, Z. H., Karasu, S., & Aksoy, A. S. (2021). Oxidative stability of the salad dressing enriched by microencapsulated phenolic extracts from cold-pressed grape and pomegranate seed oil by-products evaluated using OXITEST. *Food Science and Technology*, 42.
- Ale, E. C., Perezlindo, M. J., Pavón, Y., Peralta, G. H., Costa, S., Sabbag, N., Bergamini, C., Reinheimer, J. A., Binetti, A.G., 2016. “Technological, rheological and sensory characterizations of a yogurt containing an

- exopolysaccharide extract from *Lactobacillus fermentum* Lf2, a new food additive”, *Food Research International* 90 (2016) 259–267
- Alvarez, M. D., Herranz, B., Jiménez, M. J., & Canet, W. (2017). End-product quality characteristics and consumer response of chickpea flour-based gluten-free muffins containing corn starch and egg white. *Journal of texture studies*, 48(6), 550-561
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E.K., Gallagher, E., 2010. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends Food Sci. Technol.* 21, 106–113.
- Andiç, S., Boran, G., & Tunçtürk, Y. (2013). Effects of Carboxyl Methyl Cellulose and Edible Cow Gelatin on Physico-chemical, Textural and Sensory Properties of Yoghurt. *International Journal of Agriculture & Biology*, 15(2).
- Angelin, J., Kavitha, M. 2020. “Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential”, *International Journal of Biological Macromolecules* 162 (2020) 853–865
- Asioli, D., Aschemann-Witzel, J., Caputo, V., Vecchio, R., Annunziata, A., Næs, T., & Varela, P. (2017). Making sense of the “clean label” trends: A review of consumer food choice behavior and discussion of industry implications. *Food Research International*, 99, 58-71.
- Baixauli, R., Sanz, T., Salvador, A. & Fiszman, S.M. (2008). Muffins with resistant starch: baking performance in relation to the rheological properties of the batter. *Journal of Cereal Science*, 47, 502–509.
- Baker, G.C., Smith, J.J., and Cowan, D.A., 2003. “Review and Re-analysis of Domain-Specific 16S Primers. *Journal of Microbiological methods*”. 55.3: 541-555.
- Balakireva, A.V., Zamyatnin, A.A., 2016. Properties of gluten intolerance: gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. *Nutrients* 8, 644.
- Barros, C. P., Guimaraes, J. T., Esmerino, E. A., Duarte, M.C., Silva, M. C., Silva, R., Ferreira, B. M., Sant’Ana, A. S., Freitas, M. Q., Cruz, A. G., 2020. “Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products”, *Current Opinion in Food Science* 2020, 32:1–8.
- Baruah, R., Maina, N. H., Katina, K., Juvonen, R., & Goyal, A. (2017). Functional food applications of dextran from *Weissella cibaria* RBA12 from pummelo (*Citrus maxima*). *International journal of food microbiology*, 242, 124-131.
- Bascunan, K.A., Vespa, M.C., Araya, M., 2017. Celiac disease: understanding the gluten-free diet. *Eur. J. Nutr.* 56, 449–459.
- Benkadri, S., Salvador, A., Sanz, T., & Nasreddine Zidoune, M. (2020). Optimization of xanthan and locust bean gum in a gluten-free infant biscuit based on rice-chickpea flour using response surface methodology. *Foods*, 10(1), 12.
- Bertsch, A., Roy, D., & LaPointe, G. (2019). Enhanced exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* in co-culture with *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Sciences*, 9(19), 4026.

- Bewley, J.D., 2001. Seed germination and reserve mobilization. In: Encyclopedia of Life Sciences. Nature Publishing Group Retrieved from. <http://www.els.net>.
- Bhaduri, S. & Navder, K.P. (2014). Freeze dried blueberry powder fortification improves the quality of gluten free snacks. *Journal of Food Processing & Technology*, 5, 396.
- Bhaduri, S. (2013). A comprehensive study on physical properties of two gluten-free flour fortified muffins. *Journal of Food Processing & Technology*, 4(7), Article 100251.
- Blanco, C.A., Ronda, F., Pérez, B., Pando, V., 2011. Improving gluten-free bread quality by enrichment with acidic food additives. *Food Chem.* 127, 1204–1209
- Bortnowska, G., Balejko, J., Tokarczyk, G., Romanowska-Osuch, A., Krzemińska, N., 2014. Effects of pregelatinized waxy maize starch on the physicochemical properties and stability of model low-fat oil-in-water food emulsions. *Food Hydrocolloids* 36, 229–237.
- Botelho, P. S., Maciel, M. I., Bueno, L. A., Maria de Fátima, F. M., Marques, D. N., & Silva, T. M. S. (2014). Characterisation of a new exopolysaccharide obtained from of fermented kefir grains in soymilk. *Carbohydrate polymers*, 107, 1-6.
- Bounaix, M.S., Gabriel, V., Morel, S., Robert, H., Rabier, P., Remaud-Simeon, M., Gabriel, B., Fontagne -Faucher, C. 2009. “Biodiversity of Exopolysaccharides Produced from Sucrose by Sourdough Lactic Acid Bacteria”, *J. Agric. Food Chem.* 2009, 57, 10889–10897 10889
- Boyaci Gunduz, P.C., Gaglio, R., Franciosi, E., Settanni, L., Erten, H. 2020. “Molecular analysis of the dominant lactic acid bacteria of chickpea liquid starters and doughs and propagation of chickpea sourdoughs with selected *Weissella confusa*”, *Food Microbiology* 91 (2020) 103490
- Bozdogan, N., Kumcuoglu, S., & Tavman, S. (2019). Investigation of the effects of using quinoa flour on gluten-free cake batters and cake properties. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 683-694.
- Brites, L. T., Schmieles, M., & Steel, C. J. (2018). Gluten-free bakery and pasta products. *Alternative and replacement foods*, 385-410.
- Broadbent, J. R., McMahon, D. J., Oberg, C. J., & Welker, D. L. (2001). Use of exopolysaccharide-producing cultures to improve the functionality of low fat cheese. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 433-439.
- Brunchi, C. E., Morariu, S., & Bercea, M. (2014). Intrinsic viscosity and conformational parameters of xanthan in aqueous solutions: salt addition effect. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, 512-519.
- Bubb, W.A. (2003). NMR spectroscopy in the study of carbohydrates: Characterizing the structural complexity. *Concepts in Magnetic Resonance Part A: An Educational Journal*, 19(1), 1-19. DOI 10.1002/cmr.a.10080.
- Cakić, M., Glišić, S., Nikolić, G., Nikolić, G.M., Cakić, K., & Cvetinov, M. (2016). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of dextran sulphate

- stabilized silver nanoparticles. *Journal of Molecular Structure*, 1110, 156-161.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.01.040>.
- Castellane, T. C. L., Persona, M. R., Campanharo, J. C., & de Macedo Lemos, E. G. (2015). Production of exopolysaccharide from rhizobia with potential biotechnological and bioremediation applications. *International journal of biological macromolecules*, 74, 515-522.
- Castro-Bravo, N., Wells, J. M., Margolles, A., & Ruas-Madiedo, P. (2018). Interactions of surface exopolysaccharides from *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* within the intestinal environment. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2426.
- Chavan, R. S., Khedkar, C. D., & Bhatt, S. (2016). Fat replacer.
- Chronakis, I. S. (1997). Structural–functional and water-holding studies of biopolymers in low fat content spreads. *LWT-Food Science and Technology*, 30(1), 36-44.
- Chung, C., & McClements, D. J. (2015). Structure and texture development of food-emulsion products. In *Modifying food texture* (pp. 133-155). Woodhead Publishing.
- Chung, C., Degner, B., & McClements, D. J. (2014). Development of Reduced-calorie foods: Microparticulated whey proteins as fat mimetics in semi-solid food emulsions. *Food research international*, 56, 136-145.
- Cirrincone, S.; Breuer, Y.; Mangiapane, E.; Mazzoli, R.; Pessione, E. 'Ropy' Phenotype, Exopolysaccharides and Metabolism: Study on Food Isolated Potential Probiotics LAB. *Microbiol. Res.* 2018, 214, 137–145.
- Cuevas-González, P. F., Liceaga, A. M., & Aguilar-Toalá, J. E. (2020). Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food research international*, 136, 109502.
- De Souza, R. J., Mente, A., Maroleanu, A., Cozma, A. I., Ha, V., Kishibe, T., ... & Anand, S. S. (2015). Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Bmj*, 351.
- Deep, G., Hassan, A. N., Metzger, L., 2012. "Exopolysaccharides modify functional properties of whey protein concentrate", *J. Dairy Sci.* 95 :6332–6338
- Delcour, J. A., Joye, I. J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., & Lagrain, B. (2012). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual review of food science and technology*, 3(1), 469-492
- Demirkesen, I., Kelkar, S., Campanella, O.H., Sumnu, G., Sahin, S., Martin Okos, M., 2014. Characterization of structure of gluten-free breads by using x-ray microtomography. *Food Hydrocoll.* 36, 37–44.
- Deora, N. S., Deswal, A., & Mishra, H. N. (2014). Alternative approaches towards gluten-free dough development: Recent trends. *Food engineering reviews*, 6, 89-104.
- Depree, J. A., & Savage, G. P. (2001). Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology*, 12(5-6), 157-163

- Dertli, E. 2016a. “Fermente Ürünlerden (Ekşi hamur ve Yoğurt) İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinde Homopolimerik ve Heteropolimerik Ekzopolisakkarit (EPS) Üreten Türlerin Moleküler Metotlar ile Açığa Çıkarılması”, 3001-Başlangıç AR-GE Projeleri Destekleme Programı
- Dertli, E., Mayer, M. J., & Narbad, A. (2015). Impact of the exopolysaccharide layer on biofilms, adhesion and resistance to stress in *Lactobacillus johnsonii* FI9785. *BMC microbiology*, 15(1), 1-9.
- Devi, P.B., Kavitha, D., Shetty, P. H. 2016. “Physico-chemical characterization of galactan exopolysaccharide produced by *Weissella confusa* KR780676”, *International Journal of Biological Macromolecules* 93 (2016) 822–828
- Diana, C.R., Humberto, H.S., & Jorge, Y.F. (2019). Structural characterization and rheological properties of dextran produced by native strains isolated of *Agave salmiana*. *Food Hydrocolloids*, 90, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.052>
- Díaz-Montes, E. (2021). Dextran: sources, structures, and properties. *Polysaccharides*, 2(3), 554-565.
- Donkor, O.N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., Vasiljevic, T., 2012. Germinated grains - sources of bioactive compounds. *Food Chem.* 135, 950–959.
- Donot, F.; Fontana, A.; Baccou, J.C.; Schorr-Galindo, S. Microbial Exopolysaccharides: Main Examples of Synthesis, Excretion, Genetics and Extraction. *Carbohydr. Polym.* 2012, 87, 951–962.
- Drabińska, N., Zieliński, H., & Krupa-Kozak, U. (2016). Technological benefits of inulin-type fructans application in gluten-free products—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 149-157.
- Du, R., Pei, F., Kang, J., Zhang, W., Wang, S., Ping, W., ... & Ge, J. (2022). Analysis of the structure and properties of dextran produced by *Weissella confusa*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 204, 677-684.
- Du, R., Xing, H., Yang, Y., Jiang, H., Zhou, Z., & Han, Y. (2017). Optimization, purification and structural characterization of a dextran produced by *L. mesenteroides* isolated from Chinese sauerkraut. *Carbohydrate Polymers*, 174, 409-416.
- Fagerson, I. S. (1969). Thermal degradation of carbohydrates; a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(4), 747-750.
- Farris, S., & Piergiovanni, L. (2008). Effects of ingredients and process conditions on ‘Amaretti’ cookies characteristics. *International journal of food science & technology*, 43(8), 1395-1403.
- Feng, F., Zhou, Q., Yang, Y., Zhao, F., Du, R., Han, Y., & Zhou, Z. (2018). Characterization of highly branched dextran produced by *Leuconostoc citreum* B-2 from pineapple fermented product. *International journal of biological macromolecules*, 113, 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.119>.
- Ferreira, A. R., Alves, V. D., & Coelho, I. M. (2016). Polysaccharide-based membranes in food packaging applications. *Membranes*, 6(2), 22.

- Foschia, M., Horstmann, S.W., Arendt, E.K., Zannini, E., 2017. Legumes as functional ingredients in gluten-free bakery and pasta products. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 8, 75–96.
- Galle, S., Arendt, E.K. 2014. “Exopolysaccharides from Sourdough Lactic Acid Bacteria”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54:7, 891-901, DOI:10.1080/10408398.2011.617474
- Gao, Y., Janes, M.E., Chaiya, B., Brennan, M.A., Brennan, C.S., Prinyawiwatkul, W., 2017. Gluten free bakery and pasta products: prevalence and quality improvement. *Int. J. Food Sci. Technol.* 53, 19–32.
- Gaonkar, G., Koka, R., Chen, K., Campbell, B., 2010. Emulsifying functionality of enzyme-modified milk proteins in o/w and mayonnaise-like emulsions. *Afr. J. Food Sci.* 4, 016–025.
- Gbassi, G., Yolou, F., Sarr, S., Atheba, P., Amin, C. & Ake, M. (2012). Whey proteins analysis in aqueous medium and in artificial gastric and intestinal fluids. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6, 1828–1837.
- Gentès, M. C., Turgeon, S. L., & St-Gelais, D. (2016). Impact of starch and exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria on the properties of set and stirred yoghurts. *International Dairy Journal*, 55, 79-86.
- Giuberti, G., & Gallo, A. (2018). Reducing the glycaemic index and increasing the slowly digestible starch content in gluten-free cereal-based foods: A review. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(1), 50-60.
- Goff, H. D. (2016). Milk proteins in ice cream. *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1B: Proteins: Applied Aspects*, 329-345.
- Gohara, A.K., Souza, A.H., Rotta, E.M. et al. (2016). Application of multivariate analysis to assess the incorporation of omega-3 fatty acid in gluten-free cakes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 27, 62–69.
- Gómez, M., Oliete, B., Rosell, C. M., Pando, V., & Fernández, E. (2008). Studies on cake quality made of wheat–chickpea flour blends. *LWT-Food Science and Technology*, 41(9), 1701-1709.
- Heinze, T., Liebert, T., Heublein, B., & Hornig, S. (2006). Functional polymers based on dextran. *Polysaccharides II*, 199-291.
- Herranz, B., Canet, W., Jiménez, M. J., Fuentes, R., & Alvarez, M. D. (2016). Characterisation of chickpea flour-based gluten-free batters and muffins with added biopolymers: rheological, physical and sensory properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(5), 1087-1098.
- Holzapfel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., & Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2), 365s-373s.
- Horstmann, S.W., Lynch, K.M., Arendt, E.K., 2017. Starch characteristics linked to gluten-free products. *Foods* 6, 29.
- Houben, A., Höchstötter, A., & Becker, T. (2012). Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: an overview. *European Food Research and Technology*, 235, 195-208.

- Huang, X., Kakuda, Y., & Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food hydrocolloids*, 15(4-6), 533-542.
- Hung, P.V., Maeda, T., Yamamoto, S., Morita, N., 2012. Effects of germination on nutritional composition of waxy wheat. *J. Sci. Food Agric.* 92, 667–672.
- Imeson, A. (2010). Food stabilizers, thickeners and gelling agents. 978.
- Itthivadhanapong, P., Jantathai, S., & Schleining, G. (2016). Improvement of physical properties of gluten-free steamed cake based on black waxy rice flour using different hydrocolloids. *Journal of food science and technology*, 53(6), 2733-2741.
- İspirli, H., Özmen, D., Yılmaz, M. T., Sağdıç, O., & Dertli, E. (2020). Impact of glucan type exopolysaccharide (EPS) production on technological characteristics of sourdough bread. *Food Control*, 107, 106812.
- İspirli, H., Yüzer, M. O., Skory, C., Colquhoun, I. J., Sağdıç, O., & Dertli, E. (2019). Characterization of a glucansucrase from *Lactobacillus reuteri* E81 and production of malto-oligosaccharides. *Biocatalysis and Biotransformation*, 37(6), 421-430. DOI: 10.1080/10242422.2019.1593969
- Javidi, F., Razavi, S. M., Behrouzian, F., & Alghooneh, A. (2016). The influence of basil seed gum, guar gum and their blend on the rheological, physical and sensory properties of low fat ice cream. *Food Hydrocolloids*, 52, 625-633.
- Jayamanohar, J., Devi, P. B., Kavitha, D., Rajendran, S., Priyadarisini, V. B., & Shetty, P. H. (2018). Characterization of α -D-glucan produced by a probiont *Enterococcus hirae* KX577639 from feces of south Indian Irula tribals. *International journal of biological macromolecules*, 118, 1667-1675. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.015>.
- Jia, M., Chen, J., Liu, X., Xie, M., Nie, S., Chen, Y., & Yu, Q. (2019). Structural characteristics and functional properties of soluble dietary fiber from defatted rice bran obtained through *Trichoderma viride* fermentation. *Food Hydrocolloids*, 94, 468-474. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.047>
- Jiang, J., Guo, S., Ping, W., Zhao, D., & Ge, J. (2020). Optimization production of exopolysaccharide from *Leuconostoc lactis* L2 and its partial characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 630-639. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.101>
- Jindal, N., & Khatkar, J. S. (2018). Microbial polysaccharides in food industry. In *Biopolymers for food design* (pp. 95-123). Academic Press.
- Jolly, L.; Vincent, S.J.F.; Duboc, P.; Neeser, J.R. Exploiting Exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek Int. J. Gen. Mol. Microbiol.* 2002, 82, 367–374.
- Juvonen, R., Honkapää, K., Maina, N. H., Shi, Q., Viljanen, K., Maaheimo, H., ... & Lantto, R. (2015). The impact of fermentation with exopolysaccharide producing lactic acid bacteria on rheological, chemical and sensory properties of pureed carrots (*Daucus carota* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 207, 109-118.

- Karasu, S., Toker, O. S., Yilmaz, M. T., Karaman, S., & Dertli, E. (2015). Thermal loop test to determine structural changes and thermal stability of creamed honey: Rheological characterization. *Journal of Food Engineering*, 150, 90-98.
- Kasapis, S., Morris, E. R., Norton, I. T., & Gidley, M. J. (1993). Phase equilibria and gelation in gelatin/maltodextrin systems—Part II: Polymer incompatibility in solution. *Carbohydrate Polymers*, 21(4), 249-259.
- Kenny, S., Wehrle, K., Stanton, C., Arendt, E.K., 2000. Incorporation of dairy ingredients into wheat bread: effects on dough rheology and bread quality. *Eur. Food Res. Technol.* 210, 391–396.
- Kerkhofs, S., Lipkens, H., Velghe, F., Verlooy, P., Martens, J.A., 2011. Mayonnaise production in batch and continuous process exploiting magnetohydrodynamic force. *J. Food Eng.* 106, 35–39.
- Koidis, A. (2016). Developing food products for consumers on a gluten-free diet. *Developing food products for consumers with specific dietary needs*, 201-214.
- Komlenić, D. K., Slaćanac, V., & Jukić, M. (2012). Influence of acidification on dough rheological properties. *Rheology*, Dr. Juan De Vicente (Ed.), 265-292
- Kothari, D., Das, D., Patel, S., & Goyal, A. (2014). *Dextran and food application. Polysaccharides*. Springer.
- Kowalczewski, P. Ł., Walkowiak, K., Masewicz, Ł., Bartczak, O., Lewandowicz, J., Kubiak, P., & Baranowska, H. M. (2019). Gluten-free bread with cricket powder—mechanical properties and molecular water dynamics in dough and ready product. *Foods*, 8(7), 240.
- Krupa-Kozak, U., Baćczek, N., Rosell, C.M., 2013. Application of dairy proteins as technological and nutritional improvers of calcium-supplemented gluten-free bread. *Nutrients* 5, 4503–4520.
- Lamothe, L.M., Srichuwong, S., Reuhs, B.L., Hamaker, B.R., 2015. Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans. *Food Chem.* 167, 490–496.
- Laws, A., Gu, Y., & Marshall, V. (2001). Biosynthesis, characterisation, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Biotechnology advances*, 19(8), 597-625.
- Lazaridou, A.; Duta, D.; Papageorgiou, M.; Belc, N.; Biliaderis, C.G. Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *J. Food Eng.* 2007, 79, 1033–1047.
- Leroy, F.; De Vuyst, L. Advances in Production and Simplified Methods for Recovery and Quantification of Exopolysaccharides for Applications in Food and Health. *J. Dairy Sci.* 2016, 99, 3229–3238.
- Liptáková, D., Matejčková, Z., Valík, L. (2017). Lactic Acid Bacteria and Fermentation of Cereals and Pseudocereals. *Fermentation Processes*, Chapter 12. <http://dx.doi.org/10.5772/65459>
- Liu, H., Xu, X.M., Guo, S.D., 2007. Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *LWT Food Sci. Technol.* 40, 946–954

- Liu, K., Stieger, M., van der Linden, E., & van de Velde, F. (2016b). Effect of microparticulated whey protein on sensory properties of liquid and semi-solid model foods. *Food Hydrocolloids*, 60, 186-198.
- Liu, K., Tian, Y., Stieger, M., van der Linden, E., & van de Velde, F. (2016a). Evidence for ball-bearing mechanism of microparticulated whey protein as fat replacer in liquid and semi-solid multi-component model foods. *Food Hydrocolloids*, 52, 403-414.
- Loret, C., Meunier, V., Frith, W. J., & Fryer, P. J. (2004). Rheological characterisation of the gelation behaviour of maltodextrin aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*, 57(2), 153-163.
- Lynch, K. M., Coffey, A., Arendt, E.K. 2018. "Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria: Their techno-functional role and potential application in gluten-free bread products", *Food Research International* 110 (2018) 52–61
- Ma, L., & Barbosa-Cánovas, G. V. (1995). Rheological characterization of mayonnaise. Part I: Slippage at different oil and xanthan gum concentrations. *Journal of food engineering*, 25(3), 397-408.
- Ma, Z., & Boye, J. I. (2013). Advances in the design and production of reduced-fat and reduced-cholesterol salad dressing and mayonnaise: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 648-670.
- Mariod, A. A., & Fadul, H. (2013). Gelatin, source, extraction and industrial applications. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 12(2), 135-147.
- Marston, K., Khouryieh, H. & Aramouni, F. (2014). Evaluation of sorghum flour functionality and quality characteristics of glutenfree bread and cake as influenced by ozone treatment. *Food Science and Technology International*, 21, 631–640.
- Martin, J. M., Atichels, & Wil, K. (2000). Mayonnaise, dressings mustard, mayonnaise-based salads, and acid sauces. In B. M. Lund, T. C. Baird-Parker, & G. W. Gould (Eds.), *The microbiological safety and quality of food* (pp. 807–830). Gaithersburg, USA: Aspen Publishers
- Martínez-Cervera, S., de la Hera, E., Sanz, T., Gómez, M., & Salvador, A. (2012). Effect of using erythritol as a sucrose replacer in making Spanish muffins incorporating xanthan gum. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 3203-3216.
- Matos, M.E., Rosell, C.M., 2013. Quality indicators of rice based gluten free bread-like products: relationships between dough rheology and quality characteristics. *Food Bioprocess. Technol.* 6, 2331–2341.
- McClements, D. J., Chung, C., & Wu, B. C. (2017). Structural design approaches for creating fat droplet and starch granule mimetics. *Food & function*, 8(2), 498-510.
- Mejia, C. D., Gonzalez, D. C., Mauer, L. J., Campanella, O. H., & Hamaker, B. R. (2012). Increasing and stabilizing β -sheet structure of maize zein causes improvement in its rheological properties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(9), 2316-2321.

- Mende, S., Rohm, H., Jaros, D. 2020. "Lactic Acid Bacteria: Exopolysaccharides", Reference Module in Food Science
- Mende, S.; Krzyzanowski, L.; Weber, J.; Jaros, D.; Rohm, H. Growth and Exopolysaccharide Yield of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* DSM 20081 in Batch and Continuous Bioreactor Experiments at Constant PH. *J. Biosci. Bioeng.* 2012, 113, 185–191
- Miao, M., Bai, A., Jiang, B., Song, Y., Cui, S.W., & Zhang, T. (2014). Characterisation of a novel water-soluble polysaccharide from *Leuconostoc citreum* SK24. 002. *Food Hydrocolloids*, 36, 265-272. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.10.014>.
- Miao, M., Ma, Y., Huang, C., Jiang, B., Cuia, S. W., Zhang, T. 2015. "Physicochemical properties of a water soluble extracellular homopolysaccharide from *Lactobacillus reuteri* SK24.003", *Carbohydrate Polymers* 131 (2015) 377–383
- Mir, N.A., Gul, K., Riar, C.S., 2015. Technofunctional and nutritional characterization of gluten-free cakes prepared from water chestnut flours and hydrocolloids. *J. Food Process. Preserv.* 39, 978–984.
- Mirzanajafi-Zanjani, M., Yousefi, M., & Ehsani, A. (2019). Challenges and approaches for production of a healthy and functional mayonnaise sauce. *Food science & nutrition*, 7(8), 2471-2484.
- Monsan, P., Bozonnet, S., Albenne, C., Joucla, G., Willemot, R. M., & Remaud-Siméon, M. (2001). Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 11(9), 675-685.
- Montemurro, M., Pontonio, E., Gobbetti, M., & Rizzello, C. G. (2019). Investigation of the nutritional, functional and technological effects of the sourdough fermentation of sprouted flours. *International Journal of Food Microbiology*, 302, 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.005>.
- Moradi, M., Kousheh, S. A., Razavi, R., Rasouli, Y., Ghorbani, M., Divsalar, E., ... & Ibrahim, S. A. (2021). Review of microbiological methods for testing protein and carbohydrate-based antimicrobial food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 111, 595-609.
- Moradi, M., Mardani, K., Tajik, H., 2019a. "Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models", *LWT - Food Science and Technology* 111 (2019) 457–464
- Moradi, M., Tajik, H., Mardani, K., Ezati, P., 2019b. "Efficacy of lyophilized cell-free supernatant of *Lactobacillus salivarius* (Ls-BU2) on *Escherichia coli* and shelf life of ground beef", *Vet. Res. Forum* 10 (2019) 193–198.
- Moustafa, A. (1995). Salad oil, mayonnaise, and salad dressings. In *Practical handbook of soybean processing and utilization* (pp. 314-338). AOCS Press.
- Nambiar, R.B., Sellamuthu, P.S., Perumal, A.B., Sadiku, E.R., Phiri, G., & Jayaramudu, J. (2018). Characterization of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* HM47 isolated from human breast milk. *Process Biochemistry*, 73, 15-22. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.07.018>

- Naqash, F., Gani, A., Gani, A., & Masoodi, F. A. (2017). Gluten-free baking: Combating the challenges-A review. *Trends in Food Science & Technology*, 66, 98-107.
- Nataraj, B. H., Ali, S. A., Behare, P. V., Yadav, H., 2020. "Postbiotics parabiotics: the new horizons in microbial biotherapy and functional foods", *Microb Cell Fact* (2020) 19:168
- Nozawa, M., Ito, S., Arai, E., 2016. Effect of ovalbumin on the quality of gluten-free rice flour bread made with soymilk. *LWT—Food Sci. Technol.* 66, 598–605.
- O’Sullivan, M. G. (2016). *Low-fat Foods: Types and Manufacture*.
- Oerlemans, M. M., Akkerman, R., Ferrari, M., Walvoort, M. T., & de Vos, P. (2021). Benefits of bacteria-derived exopolysaccharides on gastrointestinal microbiota, immunity and health. *Journal of functional foods*, 76, 104289.
- Ognean, Claudia Felicia, Neli Darie, and M. Ognean. "Fat replacers: review." *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 12, no. 2 (2006): 433-442.
- Ohimain, E.I., 2015. Recent advances in the production of partially substituted wheat and wheatless bread. *Eur. Food Res. Technol.* 240, 257–271.
- Ooms, N., & Delcour, J. A. (2019). How to impact gluten protein network formation during wheat flour dough making. *Current opinion in food science*, 25, 88-97.
- Ortolan, F., & Steel, C. J. (2017). Protein characteristics that affect the quality of vital wheat gluten to be used in baking: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(3), 369-381.
- Peng, X., & Yao, Y. (2017). Carbohydrates as fat replacers. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8, 331-351.
- Perri, G., Calabrese, F. M., Rizzello, C.G., Angelisa, M.D., Gobbetti, M., Calasso, M. 2020." Sprouting process affects the lactic acid bacteria and yeasts of cereal, pseudocereal and legume flours", *LWT - Food Science and Technology* 126 (2020) 109-314
- Perri, G., Coda, R., Rizzello, C. G., Celano, G., Ampollini, M., Gobbetti, M., ... & Calasso, M. (2021). Sourdough fermentation of whole and sprouted lentil flours: In situ formation of dextran and effects on the nutritional, texture and sensory characteristics of white bread. *Food Chemistry*, 355, 129638.
- Petry, S.; Furlan, S.; Crepeau, M.J.; Cerning, J.; Desmazeaud, M. Factors Affecting Exocellular Polysaccharide Production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Grown in a Chemically Defined Medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000, 66, 3427–3431.
- Pham, P.L.; Dupont, I.; Roy, D.; Lapointe, G.; Cerning, J. Production of Exopolysaccharide by *Lactobacillus rhamnosus* R and Analysis of Its Enzymatic Degradation during Prolonged Fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000, 66, 2302–2310.

- Poulsen, N.A., Eskildsen, C.E., Akkerman, M. et al. (2016). Predicting hydrolysis of whey protein by mid-infrared spectroscopy. *International Dairy Journal*, 61, 44–50.
- Pruska-Kędzior, A., Kędzior, Z., Gorący, M., Pietrowska, K., Przybylska, A., & Szychalska, K. (2008). Comparison of rheological, fermentative and baking properties of gluten-free dough formulations. *European Food Research and Technology*, 227(5), 1523-1536.
- Psimouli, V., & Oreopoulou, V. (2013). The effect of fat replacers on batter and cake properties. *Journal of Food Science*, 78(10), C1495-C1502.
- Purhagen, J.K., Sjøo, M.E., Eliasson, A.C., 2012. The anti-staling effect of pregelatinized flour and emulsifier in gluten-free bread. *Eur. Food Res. Technol.* 235, 265–276
- Rabha, B.; Nadra, R.-S.; Ahmed, B. Effect of Some Fermentation Substrates and Growth Temperature on Exopolysaccharide Production by *Streptococcus thermophilus* BN1. *Int. J. Biosci. Biochem. Bioinform.* 2012, 2, 44–47.
- Rajoka, M.S.R., Jin, M., Haobin, Z., Li, Q., Shao, D., Jiang, C., & Hussain, N. (2018). Functional characterization and biotechnological potential of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from human breast milk. *Lwt*, 89, 638-647. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.034>
- Rani, R. P., Anandharaj, M., Ravindran, A.D. 2018. “Characterization of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus gasseri* FR4 and demonstration of its in vitro biological properties”, *International Journal of Biological Macromolecules* 109 (2018) 772–783
- Razavi, S. M., & Alghooneh, A. (2020). Understanding the physics of hydrocolloids interaction using rheological, thermodynamic and functional properties: A case study on xanthan gum-cress seed gum blend. *International journal of biological macromolecules*, 151, 1139-1153.
- Razavi, S. M., Alghooneh, A., & Behrouzian, F. (2018). Thermo-rheology and thermodynamic analysis of binary biopolymer blend: A case study on sage seed gum-xanthan gum blends. *Food Hydrocolloids*, 77, 307-321.
- Renzetti, S., Rosell, C.M., 2016. Role of enzymes in improving the functionality of proteins in non-wheat dough systems. *J. Cereal Sci.* 67, 35–45.
- Rogers, M. A. (2019). *Encyclopedia of food chemistry: fat replacers*.
- Rosca, I., Petrovici, A. R., Peptanariu, D., Nicolescu, A., Dodi, G., Avadanei, M., & Ciolacu, D. (2018). Biosynthesis of dextran by *Weissella confusa* and its In vitro functional characteristics. *International journal of biological macromolecules*, 107, 1765-1772. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.048>.
- Rosell, C.M., Marco, C., 2008. Rice. In: Arendt, E.K., Dal Bello, F. (Eds.), *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. Elsevier, USA.

- Rothschild, J., Rosentrater, K.A., Onwulata, C. et al. (2015). Influence of quinoa roasting on sensory and physicochemical properties of allergen-free, gluten-free cakes. *International Journal of Food Science & Technology*, 50, 1873–1881.
- Ruas-Madiedo, P., & De Los Reyes-Gavilán, C. G. (2005). Invited review: methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Journal of dairy science*, 88(3), 843-856.
- Sabanis, D., Lebesi, D., Tzia, C., 2009. Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of glutenfree bread. *LWT-Food Sci. Technol.* 42, 1380–1389.
- Sagdic, O., Ozturk, I., Yapar, N., & Yetim, H. (2014). Diversity and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from gilaburu, a traditional Turkish fermented European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit drink. *Food Research International*, 64, 537-545.
- Saha, D., & Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *Journal of food science and technology*, 47, 587-597.
- Saravanan, C., & Shetty, P. K. H. (2016). Isolation and characterization of exopolysaccharide from *Leuconostoc lactis* KC117496 isolated from idli batter. *International journal of biological macromolecules*, 90, 100-106.
- Sasikumar, K., Vaikkath, D.K., Devendra, L., & Nampoothiri, K.M. (2017). An exopolysaccharide (EPS) from a *Lactobacillus plantarum* BR2 with potential benefits for making functional foods. *Bioresource technology*, 241, 1152-1156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.075>
- Schädle, C. N., Eisner, P., & Bader-Mittermaier, S. (2020). The combined effects of different fat replacers and rennet casein on the properties of reduced-fat processed cheese. *Journal of dairy science*, 103(5), 3980-3993.
- Schirle-Keller, J. P., Reineccius, G. A., & Hatchwell, L. C. (1994). Flavor interactions with fat replacers: effect of oil level. *Journal of food science*, 59(4), 813-815.
- Schober, T. J. (2009). Manufacture of gluten-free specialty breads and confectionery products. *Gluten-free food science and technology*, 130-180.
- Shittu, T.A.; Aminu, R.A.; Abulude, E.O. Functional effects of xanthan gum on composite cassava-wheat dough and bread. *Food Hydrocolloid*. 2009, 23, 2254–2260.
- Sikora, M., Badrie, N., Deisingh, A. K., & Kowalski, S. (2008). Sauces and dressings: a review of properties and applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(1), 50-77.
- Singer, N. (1996). Microparticulated proteins as fat mimetics. *Handbook of fat replacers*.
- Singh, J.P., Kaur, A., Shevkani, K. & Singh, N. (2015). Influence of jambolan (*Syzygium cumini*) and xanthan gum incorporation of the physicochemical and sensory properties of gluten-free eggless rice muffins. *International Journal of Food Science & Technology*, 50, 1190–1197.

- Sousa, A. M., Borges, J., Silva, A. F., & Gonçalves, M. P. (2013). Influence of the extraction process on the rheological and structural properties of agars. *Carbohydrate polymers*, 96(1), 163-171.
- Soyuçok, A., Ekiz, T., Kılıç, G. 2016. “Ekzopolisakkaritlerin Özellikleri ve Gıda Sanayindeki Önemi”, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi TARGİD Özel Sayı* 332-344 2016
- Stantiall, S. E., & Serventi, L. (2018). Nutritional and sensory challenges of gluten-free bakery products: a review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 69(4), 427-436.
- Stathopoulos, C.E., 2008. Dairy-based ingredients. In: Arendt, E.K., Dal Bello, F. (Eds.), *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. Elsevier, USA.
- Stewart, M.B., Gray, S.R., Vasiljevic, T., Orbell, J.D., 2014. Exploring the molecular basis for the metal-mediated assembly of alginate gels. *Carbohydr. Polym.* 102, 246–253.
- Sumnu, G., Koksel, F., Sahin, S., Basman, A., & Meda, V. (2010). The effects of xanthan and guar gums on staling of gluten-free rice cakes baked in different ovens. *International journal of food science & technology*, 45(1), 87-93.
- Sun, C., Liu, R., Liang, B., Wu, T., Sui, W., & Zhang, M. (2018). Microparticulated whey protein-pectin complex: A texture-controllable gel for low-fat mayonnaise. *Food Research International*, 108, 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.036>
- Sun, L., Chen, W., Liu, Y., Li, J., & Yu, H. (2015). Soy protein isolate/cellulose nanofiber complex gels as fat substitutes: rheological and textural properties and extent of cream imitation. *Cellulose*, 22, 2619-2627.
- Tang, X., Liu, R., Huang, W., Zhang, B., Wu, Y., Zhuang, J., ... & Zheng, J. (2018). Impact of in situ formed exopolysaccharides on dough performance and quality of Chinese steamed bread. *LWT*, 96, 519-525.
- Taylan, O., Yilmaz, M. T., Dertli, E., 2019. “Partial characterization of a levan type exopolysaccharide (EPS) produced by *Leuconostoc mesenteroides* showing immunostimulatory and antioxidant activities”, *Int. J. Biol. Macromol.* 136 (2019) 436–444,
- Tekin, Z. H., Avci, E., Karasu, S., & Toker, O. S. (2020). Rapid determination of emulsion stability by rheology-based thermal loop test. *LWT*, 122, 109037.
- Tess, M., Bhaduri, S., Ghatak, R. & Navder, K. (2015). Physical, textural and sensory characteristics of gluten free muffins prepared with teff flour (*Eragrostis tef* (ZUCC) Trotter). *Journal of Food Processing & Technology*, 6, 490.
- Ticking, M., Kaditzky, S., Valcheva, R., Korakli, M., Vogel, R. F., & Gänzle, M. G. (2005). Extracellular homopolysaccharides and oligosaccharides from intestinal lactobacilli. *Journal of applied microbiology*, 99(3), 692-702. doi:10.1111/j.1365-2672.2005.02638.
- Toker, O. S., Karasu, S., Yilmaz, M. T., & Karaman, S. (2015). Three interval thixotropy test (3ITT) in food applications: A novel technique to determine structural regeneration of mayonnaise under different shear conditions. *Food Research International*, 70, 125-133.

- Trabelsi, I., Ktari, N., Triki, M., Bkhairia, I., Slima, S. B., Aydi, S. S., Aydi, S., Abdeslamf, A., Salah, R. B., 2018. "Physicochemical, techno-functional, and antioxidant properties of a novel bacterial exopolysaccharide in cooked beef sausage", *International Journal of Biological Macromolecules* 111 (2018) 11–18
- Tsatsaragkou, K., Protonotariou, S., Mandala, I., 2016. Structural role of fibre addition to increase knowledge of non-gluten bread. *J. Cereal Sci.* 67, 58–67.
- Turkut, G. M., Cakmak, H., Kumcuoglu, S., & Tavman, S. (2016). Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. *Journal of Cereal Science*, 69, 174-181.
- Tükenmez, Ü., Aslim, B. 2018. "Probiyotik Kaynaklı, Muhtemel Prebiyotik Özelliğe Sahip Ekzopolisakkarit (EPS)'lerin Biyolojik ve Fonksiyonel Özellikleri" *SDÜ Tıp Fak. Derg.* 2018:25(4):487-497
- Vaningelgem, F.; Zamfir, M.; Mozzi, F.; Adriany, T.; Vancanneyt, M.; Swings, J.; De Vuyst, L. Biodiversity of Exopolysaccharides Produced by *Streptococcus thermophilus* Strains Is Reflected in Their Production and Their Molecular and Functional Characteristics. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004, 70, 900–912.
- Vettori, M.H.P.B., Franchetti, S.M.M., & Contiero, J. (2012). Structural characterization of a new dextran with a low degree of branching produced by *Leuconostoc mesenteroides* FT045B dextranase. *Carbohydrate polymers*, 88(4), 1440-1444. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.02.048
- Wang, J., Zhao, X., Yang, Y., Zhao, A., Yang, Z. 2015. "Characterization and bioactivities of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW32", *International Journal of Biological Macromolecules* 74 (2015) 119–126
- Wang, K., Lu, F., Li, Z., Zhao, L., Han, C., 2017. Recent developments in gluten-free bread baking approaches: a review. *Food Sci. Technol.* 37, 1–9.
- Wang, K., Niu, M., Song, D., Song, X., Zhao, J., Wu, Y., Lu, B., Niu, G., 2020. "Preparation, partial characterization and biological activity of exopolysaccharides produced from *Lactobacillus fermentum* S1", *Journal of Bioscience and Bioengineering* VOL. 129 No. 2, 206e214, 2020,
- Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q., Wang, S., 2015. Starch retrogradation: a comprehensive review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 14, 568–585.
- Wang, Y., Ahmed, Z., Feng, W., Li, C., & Song, S. (2008). Physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirianofaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(3), 283-288.
- Wieser, H., 2008. Detection of gluten. In: Arendt, E.K., Dal Bello, F. (Eds.), *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. Elsevier, USA.
- Wilderjans, E., Luyts, A., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2013). Ingredient functionality in batter type cake making. *Trends in food science & technology*, 30(1), 6-15.

- Wolter, A., Hager, A. S., Zannini, E., Czerny, M., & Arendt, E. K. (2014). Influence of dextran-producing *Weissella cibaria* on baking properties and sensory profile of gluten-free and wheat breads. *International journal of food microbiology*, 172, 83-91.
- Xing, H., Du, R., Zhao, F., Han, Y., Xiao, H., & Zhou, Z. (2018). Optimization, chain conformation and characterization of exopolysaccharide isolated from *Leuconostoc mesenteroides* DRP105. *International journal of biological macromolecules*, 112, 1208-1216.
- Xiong, R., Xie, G., & Edmondson, A. S. (2000). Modelling the pH of mayonnaise by the ratio of egg to vinegar. *Food Control*, 11(1), 49-56.
- Xu, M., Jin, Z., Simsek, S., Hall, C., Rao, J., Chen, B. 2019. "Effect of germination on the chemical composition, thermal, pasting, and moisture sorption properties of flours from chickpea, lentil, and yellow pea", *Food Chemistry* 295 (2019) 579–587
- Yalmanci, D., İspirli, H. & Dertli, E. (2022). Identification of lactic acid bacteria (LAB) from pre-fermented liquids of selected cereals and legumes and characterization of their exopolysaccharides (EPS). *Food Bioscience*, 50, 102014
- Yan, M., Wang, B., Xu, X., Chang, P., Hang, F., Wu, Z., You, C., Liu, Z., 2018. "Molecular and Functional Study of a Branching Sucrase-Like Glucansucrase Reveals an Evolutionary Intermediate between Two Subfamilies of the GH70 Enzymes", *Appl Environ Microbiol* 84:e02810-17.
- Yang, Y., Feng, F., Zhou, Q., Zhao, F., Du, R., Zhou, Z., Han, Y. 2018. "Isolation, purification and characterization of exopolysaccharide produced *Leuconostoc pseudomesenteroides* YF32 from soybean paste", *International Journal of Biological Macromolecules* 114 (2018) 529–535
- Yashini, M., Sunil, C. K., Sahana, S., Hemanth, S. D., Chidanand, D. V., & Rawson, A. (2021). Protein-based fat replacers—a review of recent advances.
- Yılmaz, M. T. 2014. "Ekzopolisakkarit (EPS) üreten laktik asit bakterilerinin bazı gıdaların tekstürel, reolojik ve mikroyapısal özelliklerine etkisi", TÜBİTAK 1001, Proje No:112O169
- Yildirim-Mavis, C., Yilmaz, M. T., Dertli, E., Arici, M., & Ozmen, D. (2019). Non-linear rheological (LAOS) behavior of sourdough-based dough. *Food Hydrocolloids*, 96, 481-492
- Yilmaz, M. T., İspirli, H., Taylan, O., Taşdemir, V., Sagdic, O., & Dertli, E. (2022). Characterisation and functional roles of a highly branched dextran produced by a bee pollen isolate *Leuconostoc mesenteroides* BI-20. *Food Bioscience*, 45, 101330. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101330>
- Yoo, B. & Rao, M. (1996). Creep and dynamic rheological behavior of tomato concentrates: effect of concentration and finisher screen size. *Journal of Texture Studies*, 27, 451–459.
- Zhang, R., & Edgar, K. J. (2014). Properties, chemistry, and applications of the bioactive polysaccharide curdlan. *Biomacromolecules*, 15(4), 1079-1096.
- Zhao, D., Jiang, J., Du, R., Guo, S., Ping, W., Ling, H., & Ge, J. (2019). Purification and characterization of an exopolysaccharide from *Leuconostoc lactis* L2.

- International journal of biological macromolecules, 139, 1224-1231.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.114>
- Zhou, Q., Feng, F., Yang, Y., Zhao, F., Du, R., Zhou, Z., & Han, Y. (2018). Characterization of a dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 from homemade wine. International journal of biological macromolecules, 107, 2234-2241.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.098>.
- Zhou, Y., Cui, Y., & Qu, X. (2019). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review. Carbohydrate polymers, 207, 317-332
- Zhu, Y., Wang, C., Jia, S., Wang, B., Zhou, K., Chen, S., Yang, Y., Liu, S. 2018. "Purification, characterization and antioxidant activity of the exopolysaccharide from *Weissella cibaria* SJ14 isolated from Sichuan paocai", International Journal of Biological Macromolecules 115 (2018) 820–828
- Ziobro, R., Juszczak, L., Witczak, M., Korus, J., 2016. Non-gluten proteins as structure forming agents in gluten free bread. J. Food Sci. Technol. 53, 571–580.
- Živković, M., Miljković, M. S., Ruas-Madiedo, P., Markelić, M. B., Veljović, K., Tolinački, M., ... & Golić, N. (2016). EPS-SJ exopolysaccharide produced by the strain *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* BGSJ2-8 is involved in adhesion to epithelial intestinal cells and decrease on *E. coli* association to Caco-2 cells. Frontiers in microbiology, 7, 286.,
- Zoumpopoulou, G., & Tsakalidou, E. (2019). Gluten-free products. In The Role of Alternative and Innovative Food Ingredients and Products in Consumer Wellness (pp. 213-237). Academic Press.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Investigation of The Effect of Germination and Fermentation Process Applied to Cereal and Legume Grains on Microbial Flora

III. International Agricultural, Biological & Life Science Conference, Edirne, Turkey, 1-3 September, 2021

Makaleler

1. **Yalmanci**, D., Dertli, E., Tekin-Cakmak, Z. H., & Karasu, S. (2023). The stabilisation of low-fat mayonnaise by whey protein isolate-microbial exopolysaccharides (*Weissella confusa* W-16 strain) complex. *International Journal of Food Science & Technology*, 58(3), 1307-1316. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16287>
2. **Yalmanci**, D., Dertli, E., Tekin-Cakmak, Z. H., & Karasu, S. (2023). Utilization of exopolysaccharide produced by *Leuconostoc lactis* GW-6 as an emulsifier for low-fat mayonnaise production. *International Journal of Biological Macromolecules*, 226, 772-779. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.12.069>
3. **Yalmanci**, D., İspirli, H., & Dertli, E. (2022). Identification of Lactic Acid Bacteria (LAB) from pre-fermented liquids of selected cereals and legumes and characterization of their exopolysaccharides (EPS). *Food Bioscience*, 50, 102014. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102014>

