

Gluten Parçalama Yeteneğine Sahip Starter Kültür Geliştirme Çalışmaları

Pelinnaz Bilgin

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Ekim 2023

Studies on Developing Starter Cultures with Gluten Degrading Ability

Pelinnaz Bilgin

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Biology

October 2023

Gluten Parçalama Yeteneğine Sahip Starter Kültür Geliştirme alışmaları

Pelinnaz Bilgin

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Eğitim ve ğretim Yönetmeliği Uyarınca
Biyoloji Anabilim Dalı
Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Buket Kunduhoğlu

Ekim 2023

ONAY

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Pelinnaz Bilgin'in YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Gluten Parçalama Yeteneğine Sahip Starter Kültür Geliştirme Çalışmaları" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Buket Kunduhoğlu

İkinci Danışman : --

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye : Prof. Dr. Buket Kunduhoğlu

Üye : Prof. Dr. Mustafa Yamaç

Üye : Prof. Dr. Nalan Yılmaz Sarıözlü

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih
ve..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma Tümsek
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Buket KUNDUHOĞLU danışmanlığında hazırlamış olduğum “Gluten Parçalama Yeteneğine Sahip Starter Kültür Geliştirme Çalışmaları” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 12/10/2023

Pelinnaz BİLGİN

İmza

ÖZET

Buğday, insanlar için temel gıda maddelerindendir. Ancak, hassas bireylerde buğday bazlı ürünlerin tüketimine bağlı olarak çeşitli rahatsızlıklar ortaya çıkmaktadır. Buğday tüketimiyle ortaya çıkan bu hassasiyetten sorumlu bileşen glutendir. Gluten hassasiyetine sahip bireyleri tedavi edecek etkin bir tedavi yöntemi yoktur. Gluten hassasiyeti olan bireylerin, özellikle de çölyak hastası (ÇH) bireylerin, ömür boyu sürecektir glutensiz bir diyeti sürdürmesi gerekmektedir. Ayrıca, glutensiz ürünler genellikle tahıl olmayan bitkilerin nişastaları ya da unlarıyla üretildiğinden lezzet ve aroma açısından da tüketiciler tarafından tercih edilmemektedir. Bu nedenle bu çalışmada, klasik buğday ekmeği lezzetinde, ancak düşük gluten oranına sahip ekmek üretiminde kullanılabilecek “yeni bir ekşi maya bileşimi” eldesi amaçlanmıştır. Bu yeni ekşi maya ile, ÇH bireyler için uygun olmasa bile, gluten hassasiyeti olan bireylerce daha kolay tolere edilebilen, ekmek üretimi sağlanabilecektir. Bu amaçla, yerel üreticilerden toplanan ekşi maya örneklerinden laktik asit bakterileri (LAB) ve mayalar izole edilmiştir. Bu izolatlar, içinde tek azot kaynağı olarak gluten bulunan GUA besiyerine ekilmiş ve bu besiyerinde koloni gelişimi gözlemlendikten sonra, C.B.B. R-250 protein boyası kullanılarak gluten parçalama yetenekleri belirlenmiştir. Daha sonra, gluten parçalayabilen LAB ve maya izolatlarının fermentatif özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca bu izolatların/suşların birbirlerine karşı antagonistik etkileri birlikte üreme (coexistence) testi ile araştırılmıştır. Gluten parçalayan 11 LAB, 11 maya ve 6 stok LAB suşu seçilmiş ve yapılan testte hiçbirisi birbirine karşı antagonistik etkisi göstermemiştir. Sonuç olarak bu 28 izolat arasından fermentatif özellikleri açısından en iyi olan 2 LAB suşu ve 1 maya izolatı seçilerek, yeni bir “ekşi maya bileşimi” hazırlanmış ve bu ekşi maya ile buğday unu kullanılarak bir hamur yapılmıştır. Fermentasyonun başında ve sonunda yaş ve kuru gluten tayini, pH, aw, %kuru madde, toplam titrasyon asitliği (TTA), kabarma gücü gibi testler yapılarak kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, yeni ekşi maya bileşiminin fermentasyon sonunda, başlangıçtaki gluten miktarını %86,64 oranında düşürdüğü belirlenmiştir. Bu yeni ekşi maya bileşiminin klasik buğday ekmeği lezzetinde ve düşük gluten oranına sahip ekmek üretiminde starter kültür olarak kullanım potansiyeli bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Ekşi Maya, Laktik Asit Bakterileri, Maya, Gluten Parçalama, Gluten Hassasiyeti

SUMMARY

Wheat is at the forefront of staple foods for humans. However, consumption of wheat-based products may lead to discomfort in sensitive individuals. The component responsible for this sensitivity, emerging from wheat consumption, is gluten. There is no effective treatment for individuals with gluten sensitivity. Individuals with gluten sensitivity, especially those with Celiac Disease (CD), must maintain a gluten-free diet for their lifetime. Moreover, gluten-free products, often made with starches or flours of non-cereal plants, are not preferred by consumers because of their flavor and aroma. Therefore, this study aims to develop a "new sourdough starter" that can be used in the production of bread that has the flavor of traditional wheat bread, yet contains a lower gluten ratio. With this new sourdough, bread production may not be suitable for individuals with CD but can be more easily tolerated by those with gluten sensitivity will be possible. For this purpose, Lactic Acid Bacteria (LAB) and yeasts were isolated from sourdough samples collected from local producers. These isolates were inoculated into GUA medium, which contains gluten as the sole nitrogen source, and after observing colony development in this medium, their gluten-degrading abilities were determined using C.B.B. R-250 protein stain. Then, fermentative properties of LAB and yeast isolates capable of degrading gluten were identified. In addition, the antagonistic effects of these isolates/strains on each other were investigated using a coexistence test. 11 LAB, 11 yeast, and 6 stock LAB strains that can degrade gluten were selected, and none showed antagonistic effects against each other in the test. As a result, from among these 28 isolates, the top 2 LAB strains and 1 yeast isolate were selected in terms of their fermentative properties, and a new "sourdough starter" was prepared. The dough was then prepared using sourdough and, wheat flour. Initially, end of fermentation, various tests, such as fresh and dry gluten determination, pH, aw, % dry matter, TTA, leavening power, were conducted and compared with the control groups. To sum up, it has been determined that the new sourdough composition reduced the initial gluten content by 86.64% at the end of fermentation. This new sourdough composition has the potential to be used as a starter culture in the production of bread with classic wheat bread flavor and low gluten content.

Keywords: Sourdough, Lactic Acid Bacteria, Yeast, Gluten Degradation, Gluten Sensitivity

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında bana yol gösteren, desteğini her zaman hissettiğim bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Buket Kunduhoğlu' na,

Yaşamım boyunca olduğu gibi yüksek lisans tez çalışmalarım sırasında da benden hiçbir desteğini esirgemeyen, her zaman sevgilerini hissettiren ve kendimi oluşturma sürecinde en büyük destekçilerim olan canım ailemin değerli üyeleri annem Reyhan Bilgin'e, babam Kenan Bilgin'e, anneannem Gülbeyaz Sarsılmaz'a,

Yaşamımın her anında olduğu gibi çalışmamın da her anında yanımda olup gece gündüz bana yardım edip desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgisini daima hissettiren hep yanımda olan sevgili Yaşar Öztulum'a,

Tüm bu süreçte yardımları ve varlıklarıyla yanımda olan Betül Öztulum Tukay ve Arı Kutluğ Tukay'a,

içtenlikle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI.....	5
2.1. Ekşi Maya.....	5
2.2. Ekmek.....	5
2.3. Ekşi Mayalı Ekmek	6
2.4. Ekşi Mayalı Ekmeğin Tarihçesi	6
2.5. Ekşi Maya Mikrobiyotası	7
2.6. Laktik asit bakterileri.....	9
2.7. Mayalar.....	13
2.8. Ekşi Mayalı Ekmek Üretiminde Kullanılan Ekşi Maya Tipleri	14
2.9. Ekşi Maya Ekmeğinin Sağlıkla İlişkisi	17
2.10. Çölyak Hastalığı ve Gluten İlişkisi.....	18
2.11. Gluten ve Gliadin Parçalaması Yapan LAB'lar	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Materyal.....	21
3.1.1. İzolasyon Yapılan Ekşi Maya Örnekleri.....	21
3.1.2. Stok Laktik Asit Bakterileri.....	21
3.1.3. Gluten	22
3.1.4. Buğday Unu	22
3.1.5. Toz Ekmek Mayası	22
3.1.6. Toz Ekşi Maya.....	22
3.1.7. Steril İçme Suyu	22
3.1.8. Besiyerleri.....	23
3.1.8.1. MRS Agar	23

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
3.1.8.2. MRS yarı katı agarı	24
3.1.8.3. MRS broth	24
3.1.8.4. MRS durham broth.....	25
3.1.8.5. Mayalar için glukoz fermentasyonu besiyeri	25
3.1.8.6. Gluten agar (GUA).....	26
3.1.8.7. Gluten broth (GUB)	26
3.1.8.8. Gluten agar kontrol besiyeri (glutensiz).....	27
3.1.8.9. Malt ekstrakt agar (MEA)	27
3.1.8.10. Malt Ekstrakt Broth (MEB)	27
3.1.8.11. Sporulasyon besiyeri	28
3.1.8.12. Nutrient agar (NA)	28
3.1.9. Çözeltiler ve Boyalar	28
3.1.9.1. Peptonlu su	28
3.1.9.2. Gliserol çözeltisi (%20)	29
3.1.9.3. NaOH ve HCl çözeltisi	29
3.1.9.4. H ₂ O ₂ çözeltisi (%30)	29
3.1.9.5. Protein boyama çözeltisi	29
3.1.9.6. Boya uzaklaştırma çözeltisi	29
3.1.9.7. Kristal viyole.....	29
3.1.9.8. Lugol	30
3.1.9.9. Safranin	30
3.1.9.10. Malaşit yeşili	30
3.1.9.11. Fizyolojik tuzlu su (FTS)	30
3.1.9.12. Gluten tayini yıkama çözeltisi (%2).....	30
3.1.9.13. Derişik sodyum hidroksit çözeltisi (0,1 N NaOH).....	31
3.1.10. Cihazlar	31
3.2. Yöntem	32
3.2.1. Ekşi maya örneklerinden LAB ve maya izolasyonu, saflaştırma ve saf kültürlerin stoklanması	32
3.2.2. İzole edilen bakterilerden LAB olanlarının belirlenmesi	33
3.2.2.1. Gram boyama	33

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
3.2.2.2. Katalaz testi.....	34
3.2.2.3. Hareketlilik testi.....	34
3.2.2.4. Sporulasyon testi.....	35
3.2.3. LAB ve mayalar için yapılan testler	36
3.2.3.1. LAB ve maya izolatlarının asitleştirme kapasitesi.....	36
3.2.3.2. LAB ve maya izolatlarının glukozdan gaz üretimi	37
3.2.3.3. Gluten agar besiyeri kullanılarak LAB izolatlarının gluten parçalama yeteneğinin belirlenmesi	37
3.2.3.4. Birlikte üreme (coexistence) testi	38
3.2.4. Unun mikrobiyal yükü	40
3.2.5. Hamur verimi (HV) ayarlanması	40
3.2.6. Seçilen LAB ve maya izolatları ile yeni bir ekşi maya bileşimi hazırlama	41
3.2.6.1. Ekmek hamuru için seçilen izolat/ suşların hazırlanması	41
3.2.6.2. Ekmek hamurunun oluşturulması	42
3.2.6.3. Ticari kuru ekşi mayalı ekmek hamuru (kontrol grubu).....	42
3.2.6.4. Ticari normal mayalı ekmek hamuru (kontrol grubu)	43
3.2.6.5. Maya eklenmemiş hamur (kontrol grubu)	43
3.2.6.6. Oluşturulan hamurlara yapılan testler	43
3.2.6.7. Hamur kabarma gücü	43
3.2.6.8. Hamur ağırlığı.....	44
3.2.6.9. Hamur toplam titrasyon asitliği ve pH değişimi	44
3.2.6.10. Hamur su aktivitesi (aw).....	45
3.2.6.11. Hamur % kuru madde tayini	45
3.2.6.12. Hamur gluten tayini	46
3.2.7. Hamurların pişirilmesi (ekmek yapımı).....	47
3.2.8. Pişirilen hamurlara (ekmeklere) yapılan testler	48
3.2.8.1. Ekmek ağırlığı değişimi	48
3.2.8.2. Ekmek verimi (EV) ve pişirme kaybı (PK)	48
3.2.8.3. Ekmek raf ömrü	48
3.2.8.4. Ekmek toplam titrasyon asitliği ve pH değişimi	49
3.2.8.5. Ekmek dokusu.....	49

İÇİNDEKİLER

Sayfa

4. BULGULAR VE TARTIŞMA	50
4.1. Ekşi Maya Örneklerinden LAB ve Maya İzolasyonu, Saflaştırma ve Saf Kültürlerin Stoklanması	50
4.2. İzole Edilen Bakterilerden LAB Olanların Belirlenmesi	50
4.3. LAB ve Mayalar İçin Yapılan Testler	55
4.3.1. LAB ve maya izolatlarının gluten parçalama yeteneğinin belirlenmesi.....	55
4.3.2. Gluten parçalama yeteneğine göre seçilen LAB, maya izolatları ile LAB suşlarının asitleştirme kapasitesi ve glukozdan gaz üretimi sonuçları	64
4.3.3. Birlikte üreme (coexistence) testi	68
4.4. Hamur Oluşturmada Kullanılacak Unun Mikrobiyal Yüğü Sonuçları.....	73
4.5. Oluşturulan Hamurlara Uygulanan Testlerin Sonuçları.....	74
4.5.1. Hamur kabarma gücü.....	74
4.5.2. Hamur ağırlığı değışimi.....	82
4.5.3. Hamur toplam titrasyon asitliği ve pH değışimi.....	84
4.5.4. Hamur su aktivitesi (aw) değışimi.....	89
4.5.5. Hamur % kuru madde değışimi	91
4.5.6. Hamur gluten miktarı değışimi.....	93
4.6. Hamurların Pişirilmesi (ekmek yapımı)	97
4.7. Pişirilen Ekmeklere Uygulanan Test Sonuçları.....	98
4.7.1. Ekmek ağırlığı değışimi.....	98
4.7.2. Ekmek verimi (EV) ve pişirme kaybı (PK) sonuçları.....	99
4.7.3. Raf ömrü	101
4.7.4. Ekmek dokusu	102
4.7.5. Ekmek toplam titrasyon asitliği ve pH değışimi.....	103
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	107
KAYNAKLAR DİZİNİ	108

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Gluten parçalayan ve gluten parçalamayan kolonilerin farkı.....	38
3.2 Birlikte üreme testi şematik gösterimi	39
3.3 Su aktivitesi cihazı ve ölçümü.....	45
3.4 Kurutmadan önceki ve sonraki kuru madde analizi petrilere	46
3.5 Yaş ve kuru gluten parçalarının bulunduğu petrilere.....	47
3.6 Etüvde kurutulan gluten ve kuru madde petrilere.....	47
3.7 Etüvde pişirilen ekmekler	48
4.1 LAB izolatlarının hareketlilik sonuçları.....	54
4.2 Stok LAB suşlarının hareketlilik sonuçları	55
4.3 Gluten parçalayan LAB izolatları (1. paralel).....	62
4.4 Gluten parçalayan LAB izolatları (2. paralel).....	62
4.5 Gluten parçalayan LAB izolatları (3. paralel).....	62
4.6 Gluten parçalayan stok LAB suşları (1. paralel)	62
4.7 Gluten parçalayan stok LAB suşları (2. paralel).....	63
4.8 Gluten parçalayan stok LAB suşları (3. paralel).....	63
4.9 Gluten parçalayan maya izolatları (1. paralel)	63
4.10 Gluten parçalayan maya izolatları (2. paralel)	63
4.11 Gluten parçalayan maya izolatları (3. paralel)	63
4.12 Gluten eklenmemiş GUA besiyerinde boyama öncesi ve sonrası petrilere.....	64
4.13 LAB izolatlarının glukozdan gaz üretimi sonuçları	67
4.14 LAB suşlarının glukozdan gaz üretimi sonuçları.....	67
4.15 Mayalarının glukozdan gaz üretimi sonuçları.....	67
4.16 LAB izolatların birlikte üreme petrisi	71
4.17 Stok LAB suşlarının birlikte üreme petrisi	72
4.18 İzolat LAB'lar ile stok suş LAB'ların birlikte üreme petrisi	72
4.19 Mayaların birlikte üreme petrisi.....	72
4.20 İzolat LAB'lar ile mayaların birlikte üreme petrisi.....	73
4.21 Stok suş LAB'lar ile mayaların birlikte üreme petrisi	73
4.22 Hazırlanan hamurların kabarma gücü grafiği (mix: yeni ekşi maya bileşimi).....	80

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.23 Mix (yeni ekşi maya bileşimi) ile hazırlanan hamurlarının saatlik kabarma ölçümü sonuçları	80
4.24 Kültür ilave edilmemiş, sadece un ile hazırlanan (kontrol) hamurların saatlik kabarma ölçümü sonuçları	81
4.25 Ticari ekşi maya (kontrol) ile hazırlanan hamurların saatlik kabarma ölçümü sonuçları	81
4.26 Ticari maya (kontrol) ile hazırlanan hamurların saatlik kabarma ölçümü sonuçları ..	82
4.27 Hamur ağırlığı değişimi grafiği.....	84
4.28 Hamurlarda pH ve TTA değişimi grafiği.....	88
4.29 Hamurlarda pH ve TTA değişimi grafiği.....	90
4.30 Ekmek Hamurlarında kuru madde değişimi grafiği.....	91
4.31 Ekmek hamurlarında % kuru madde değişimi grafiği	93
4.32 Ekmek hamurlarında yaş gluten değişimi grafiği	96
4.33 Ekmek hamurlarında kuru gluten değişimi grafiği	96
4.34 Glutenin esnek yapısı	97
4.35 Mix hamuru ve ekmeği	97
4.36 Sadece un hamuru ve ekmeği.....	97
4.37 Ticari ekşi maya hamuru ve ekmeği	97
4.38 Ticari maya hamuru ve ekmeği.....	98
4.39 Ekmek hamurlarında ekmek ağırlığı değişim grafiği.....	99
4.40 Pişirilen ekmeklerin verim grafiği.....	100
4.41 Pişirilen ekmeklerin pişirme kaybı grafiği	101
4.42 Ekmeklerdeki küflenme	102
4.43 Ekmeklerin dokusu.....	103
4.44 Pişirilen ekmeklerin pH ve TTA değişim grafiği.....	106

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Kullanılan cihazlar	31
4.1 Ekşi maya örneklerinden izole edilen gram pozitif bakterilerin izolasyon kaynağı, hücre morfolojisi, aerobik/anaerobik koşullarda üremesi, katalaz enzimi varlığı testi sonuçları	51
4.2 Seçilen bakterilerin hareketlilik ve sporulasyon testi sonuçları	53
4.3 Ekşi maya örneklerinden izole edilen olası LAB'ların, stok LAB suşlarının ve ekşi maya örneklerinden izole edilen mayaların GUA besiyerinde gluten parçalama sonuçları	56
4.4 LAB izolatlarının ve stok LAB suşlarının MRS broth pH'ı üzerine etkisi	65
4.5 Mayaların MEB pH'ı üzerine etkisi	65
4.6 Gluten parçaladığı bilinen mayalar ve LAB'lar ile stokta bulunan LAB suşlarının izolasyon kaynağı, asitleştirme kapasitesi ve glukozdan gaz üretimi testi sonuçları..	66
4.7 LAB izolatlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki	68
4.8 Stok LAB suşlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki	69
4.9 Maya izolatlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki	69
4.10 Maya ve LAB izolatlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki	70
4.11 LAB izolatları ve stok LAB suşlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki	70
4.12 Maya izolatları ve stok LAB suşlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki.....	71
4.13 Undaki toplam aerobik bakteri ve maya-küf koloni sayıları.....	74
4.14 Undaki toplam aerobik bakteri ve maya-küf sayımı sonuçları (kob/g).....	74
4.15 Hazırlanan hamurların 0. Saat hamur kabarma gücü sonuçları	75
4.16 Hazırlanan hamurların 1. Saat hamur kabarma gücü sonuçları	75
4.17 Hazırlanan hamurların 2. Saat hamur kabarma gücü sonuçları	76
4.18 Hazırlanan hamurların 3. Saat hamur kabarma gücü sonuçları	76
4.19 Hazırlanan hamurların 4. Saat hamur kabarma gücü sonuçları	77
4.20 Hazırlanan hamurların 5. saat hamur kabarma gücü sonuçları	78

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.21 Hazırlanan hamurların 6. saat hamur kabarma gücü sonuçları	78
4.22 Hazırlanan hamurların 18. Saat hamur kabarma gücü sonuçları	79
4.23 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi ağırlık değerleri	83
4.24 Hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası ağırlık değerleri	83
4.25 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi TTA ve pH değerleri	85
4.26 Hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası TTA ve pH değerleri	85
4.27 Hamurların fermentasyon öncesi ortalama pH değerleri	85
4.28 Hamurların fermentasyon sonrası ortalama pH değerleri	86
4.29 Hamurların fermentasyon öncesi ortalama TTA değerleri	87
4.30 Hamurların fermentasyon sonrası ortalama TTA değerleri	87
4.31 Hamurların fermentasyon öncesi aw değerleri.....	89
4.32 Hamurların fermentasyon sonrası aw değerleri	89
4.33 Hamurların pişmiş aw değerleri	90
4.34 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi kuru madde miktarları	91
4.35 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi kuru madde miktarları	91
4.36 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi % kuru madde miktarları.....	92
4.37 Hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası % kuru madde miktarları.....	92
4.38 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi gluten miktarları	94
4.39 Hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası gluten miktarları	94
4.40 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi ortalama gluten miktarları	94
4.41 Hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası ortalama gluten miktarları	95
4.42 Hazırlanan hamurların pişme öncesi ağırlık değerleri	98
4.43 Pişirilen ekmeklerin ağırlık değerleri.....	99
4.44 Pişirilen ekmeklerin verimi	100
4.46 Hazırlanan ekmeklerin pişirme öncesi TTA ve pH değerleri	103
4.47 Pişirilen ekmeklerin ölçülen TTA ve pH değerleri	104
4.48 Hazırlanan ekmeklerin pişirme öncesi ortalama pH değerleri	104
4.49 Hazırlanan ekmeklerin pişirme öncesi ortalama TTA değerleri	104
4.50 Hazırlanan ekmeklerin pişirme sonrası ortalama pH değerleri	105
4.51 Hazırlanan ekmeklerin pişirme sonrası ortalama TTA değerleri	105

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

HCl	Hidroklorik asit
°C	Santigrat derece
C.B.B. R-250	Coomassie Brilliant Blue R-250
v/v	Hacim/hacim
kob	Koloni oluşturan birim
M	Molar
µl	Mikrolitre
NaOH	Sodyum hidroksit
g	Gram
O ₂	Oksijen
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
sn	Saniye
w/v	Ağırlık/hacim
KI	Potasyum iyodür

Kısaltmalar

EM	Ekşi Maya
ÇH	Çölyak Hastalığı
GUB	Gluten Broth
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
GUA	Gluten Agar
LAB	Laktik asit bakterisi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
TTA	Toplam Titrasyon Asitliği

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ekşi hamur ekmeği; tahıl unlarına su, tuz ve maya eklenerek endüstriyel veya geleneksel yöntemlerle hazırlanan ve ekşi hamur özü kullanılarak yoğrulan, şekillendirildikten sonra fermentasyona bırakılan ve pişirilen bir ekmek türüdür. Bu işlem, ekşi hamur ekmeği tekniğiyle gerçekleştirilmektedir ve çeşitli ekmek çeşitlerinin üretilmesine olanak sağlamaktadır (TGK, 2012). Ekşi hamur, yaklaşık 5000 yıldır kullanılan bir üründür. Buğday unu ve su karışımı, LAB ve maya ile fermente edilerek elde edilmektedir (Vogel, 2011). Ekşi hamurun ekmek yapımında kullanılması, ekmeğin yapısını, hacmini ve duysal kalitesini geliştirirken aynı zamanda ekmeğin fiziksel ve mikrobiyolojik olarak raf ömrünü de uzatmaktadır (Paramithiotis, 2005).

Homofermentatif LAB'lar, şekeri fermente ederek laktik asit üretmektedirler. Öte yandan, heterofermentatif LAB'lar, laktik asidin yanı sıra önemli miktarda karbondioksit (CO_2), etil alkol, asetik asit ve bazı uçucu bileşikler de üretebilmektedirler (Göçmen, 2001). Ekşi hamur mikrobiyotasının oluşturduğu ana metabolik aktiviteler: LAB'nin sağladığı asit oluşumu, hem maya hem de LAB'nin etkin rol aldığı aroma oluşumu, maya ve heterofermentatif LAB ile hamurun kabartılması şeklindedir (Coda, 2011).

Ekşi maya ekmeği, B1 vitamini, B12 vitamini, B6 vitamini, çinko, demir, E vitamini folat, fosfor, kalsiyum, magnezyum, manganez, potasyum, selenyum, riboflavin, niasin ve tiamin gibi maddeleri içermektedir. Üretimde ekşi mayanın kullanımı; ekmeğin aromasını, yapısını ve raf ömrünü olumlu yönde etkilemektedir. Maya ve laktik asit fermentasyon kombinasyonu, biyoaktif bileşiklerin oluşumunu da teşvik etmekte ve mineral biyoyararlanımını artırmaktadır (Gültekin, 2019; Capurso, 2021).

Unun kalitesi hamurun fiziksel, kimyasal ve teknolojik özelliklerini belirlemektedir (Elgün ve Ertugay, 1992). Ekmek yapımında, unun sağlam bir yapıda olmasının, ekmekteki protein miktarı ve ekmeğin kalitesiyle ilişkili olduğu genel olarak bilinmektedir. Ekmek yapımında genellikle sağlam yapıya sahip unlar tercih edilmektedir ve bunlar genellikle sert buğdaylardan elde edilen unlar olmaktadır. Sert buğday unları, yüksek protein ve gluten içeriğine sahip olduklarından ekmek hamurunun dayanıklılığını ve yapısal özelliklerini

artırmaktadır. Bu da ekmeklerin daha iyi kabarmasını ve daha tutarlı bir dokuya sahip olmasını sağlamaktadır (Penfield ve Campbell, 1990). Un kalitesini belirlemek için dikkate alınan faktörler arasında; fermentasyon toleransı, hamurun gaz oluşturma yeteneği, protein kalitesi, protein miktarı, renk, su absorpsiyon yeteneği, üniformite, yoğurma yer almaktadır. Bu kriterler, unun kalitesini değerlendirmek ve ekmeğin son kalitesini belirlemek için kullanılan önemli ölçütlerdir (Elgün ve Ertugay, 1992).

Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA, 2023) verilerine göre, Dünya çapında yıllık 800 milyon tona yakın buğday üretimi yapılmaktadır. Buğday, insanlar için temel gıda maddelerinin başında gelmektedir. Ancak buğday ve buğday bazlı ürünlerin artan tüketimi, insanlarda buğday tüketimine bağlı rahatsızlıkların artışına neden olmuştur. Buğday ve buğday bazlı ürünlerin tüketimiyle ilişkili hastalıkların başında çölyak hastalığı (ÇH) gelmektedir. Bunun dışında buğday alerjisi ve fırıncı astımı olarak bilinen, buğday proteinlerine karşı IgE antikorlarının üretimi ile karakterize edilen immünolojik reaksiyonlar da sıkça görülmektedir. Tahıl proteinlerinin tüketimine bağlı olarak insanlarda çölyak olmayan buğday duyarlılığı (NCWS) ve hassas bağırsak sendromu (IBS) gibi diğer hastalıklar da gözlenmektedir. Bu hastalıkların hem bağırsak hem de bağırsak dışı semptomları ÇH'ninkine benzer olabilmektedir. Buğday tüketimine bağlı olarak ortaya çıkan bu hastalıkların temelindeki sorumlu bileşenin gluten olduğu bilinmektedir (Sapone vd., 2015).

Buğdayda, gluten kompleksi olarak bilinen bir depo proteinine sahip olan iki protein grubu bulunmaktadır: Gliadin ve glutenin. Gluteninler, asidik ve bazik çözeltilerinde seyreltilerek çözünebilen proteinler iken, gliadinler %50-70 oranındaki alkolde çözünen proteinler olarak bilinmektedir (Biesiekierski, 2017).

Yapılan araştırmalar, çölyak hastalarında gliadin fraksiyonunun toksik, glutenin fraksiyonunun ise daha az toksik olduğunu ortaya koymuştur. Gliadinler arasında en toksik olanı α -gliadin fraksiyonudur, β - ve γ -gliadinler daha az toksisiteye sahipken, ω -gliadinler ise en az toksisiteye sahip olan gliadin fraksiyonudur (Türksoy, 2006). Gliadinin sindiriminin sebep olduğu bağırsıklık tepkisi, ince bağırsağın iltihaplanmasına ve bağırsak duvarlarındaki villusların tahrip olmasına yol açmaktadır. Villus atrofi nedeniyle besinlerin, vitaminlerin ve minerallerin emilimi bozulmaktadır (Green ve Cellier, 2007).

Ekmekçilikte kullanılan mayanın temel görevi, hamurun kabarmasını sağlamak için karbondioksit üretmektir (Penfield ve Campbell, 1990). Fırıncılıkta genellikle ekmek mayası olarak *Saccharomyces cerevisiae* kullanıldığı bilinmektedir (Giannone, 2010). *S. cerevisiae* türleri, basit şekerleri fermente ederek karbondioksit üretmektedir ve bu sayede hamurun kabarmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda, maya, fermentasyon sırasında oluşan diğer fermentasyon ürünleriyle etkileşime girmektedir. Böylece hamurun olgunlaşmasını ve aroma oluşumunu sağlamaktadır (Elgün ve Ertugay, 1992).

Gluten hassasiyeti olan, özellikle de ÇH bireylerin, ömür boyu sürecektir glutensiz bir diyetle uyum sağlaması gerekmektedir, çünkü gluten hassasiyetine yönelik herhangi bir etkin tedavi yöntemi yoktur. Ancak, birçok hazır gıda, çapraz kontaminasyon ve yetersiz gıda etiketlemesi nedeniyle eser miktarda da olsa tahıl unları dolayısıyla gluten içerdiğinden, glutensiz bir diyet ile yaşam sürdürmek oldukça zordur. Ayrıca ömür boyu sürecektir sıkı bir diyet, hastaları hem psikolojik hem de ekonomik yönden olumsuz etkilenmekte ve yaşam kalitelerini düşürmektedir. Glutensiz ürünler normal tüketici grupları için üretilen ürünlerden daha pahalı olduğu bilinmektedir (Kunduhoglu ve Hacıoglu, 2021). Bu nedenle, hipoalerjenik gıdalar üretmek için gıda işleme teknolojileri geniş çapta araştırılmıştır. Araştırmacılar, ekşi hamur veya ekşi hamurdan izole edilmiş mayalarla birlikte LAB kullanılarak yapılan fermentasyonun, hamurun organoleptik kalitesini ve besin profilini geliştirmekle birlikte alerjenitesini de etkileyebileceğini tespit etmişlerdir (Fu vd., 2020).

Bu bilgilerin ışığında bu tez çalışmasında, geleneksel yöntemlerle ekşi maya ekmeği üreten üreticilerden ekşi maya örnekleri alınarak bu örneklerden gluten parçalama yeteneğine sahip maya ve LAB izolasyonu yapılması amaçlanmıştır. Buna ek olarak, gluten parçalayan LAB ve mayalardan farklı ekşi maya kombinasyonları hazırlanarak gluten parçalama kabiliyeti en yüksek ekşi maya bileşimi belirlenmeye çalışılmıştır. Böylece, çölyak hastası bireyler için risk faktörünün yüksek olması nedeniyle uygun olmayacaksa dahi, çölyak olmayan buğday duyarlılığı olan ve hassas bağırsak sendromlu bireyler tarafından daha iyi tolere edilebilen unlu mamullerin üretiminde kullanılabilecek bir ekşi maya mikrobiyotasının seçimi mümkün olabilecektir. Bu amaçla, öncelikle maya ve LAB izolasyonu yapılmıştır. Daha sonra, maya ve LAB izolatlarının ve önceki çalışmalarda izole edilip moleküler yöntemler ile türleri belirlenen LAB suşlarının gluten parçalama yetenekleri belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda gluten parçalama aktivitesi yüksek olan izolatlar ve suşlar seçilerek, bunların birbirlerine karşı antagonistik etkileri araştırılmıştır.

Antagonistik etkinliği bulunmayan maya ve LAB izolatları arasından seçim yapılarak bunlardan yeni ekşi maya bileşimi hazırlanarak fermentatif özellikleri ve gluten parçalama yetenekleri belirlenmiştir. Hazırlanan ekşi maya bileşiminden hamur oluşturulmuştur. Oluşturulan hamurlarda fermentasyon sonrası; gluten miktarı, asitlik, kabarma gücü gibi testler yapılarak kontrol grupları ile karşılaştırılmıştır. Son aşamada oluşturulan hamurlardan hazırlanan ekmeklerin raf ömrü, pH ve TTA gibi değerleri incelenmiştir.



2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Ekşi Maya

Ekşi maya, un ve su karışımının fermentasyonu ile üretilen bir mayalama yöntemidir ve geleneksel olarak buğday ve çavdar unları ile ilgili olarak uzun bir geçmişe sahiptir. Ekşi mayanın doğru oranlarda kullanılması, üretilen ekmekte aroma, besin değerleri, doku, hacim ve lezzetinin artmasını sağlamaktadır. Aynı zamanda ekmeklerin raf ömrünü uzatmaktadır ve bayatlamasını geciktirmektedir. Ekşi mayanın istenmeyen küf ve bakterilerden korunmada olumlu etkileri olduğu gözlemlenmiştir. Bu olumlu etkiler; ekşi mayadaki bazı uçucu antimikrobiyal bileşiklerin üretiminden sorumlu bakterilerle, ekzopolisakkaritlerin üretimi, laktik asit fermentasyonu ve proteoliz ile ilişkilendirilmektedir (Moroni, 2009; Minervini vd., 2014; De Vuyst vd., 2014). Ekşi hamur mayası, içerisinde değişen oranlarda ve bileşimlerde homofermentatif LAB'ları, heterofermentatif LAB'ları ve mayaları içermektedir. Bu karışım uygun sıcaklıkta ve uygun süre boyunca bekletilerek ekşitilmesi sağlanmaktadır. Daha sonra belirli miktarda un ve su eklenerek mayanın beslenmesi sağlanmaktadır. Bu sürecin sonunda ekşi maya oluşmaktadır.

2.2. Ekmek

Türk Gıda Kodeksine göre ekmek, “buğday ununa; su, tuz, maya (*Saccharomyces cerevisiae*) gerektiğinde şeker, enzimler, enzim kaynağı olarak malt unu, vital gluten ve izin verilen katkı maddeleri ilave edilip bu karışımın tekniğine uygun olarak yoğrulması, şekillendirilmesi, fermentasyona bırakılması ve pişirilmesi ile yapılan ürün” olarak tanımlanmaktadır (TGK, 2012).

Ekmek yapımında un, su, tuz, maya kullanılmaktadır. Ekmekte kullanılan unlar oda şartlarında yaklaşık 3-4 hafta dinlendirilmelidirler ve unun ham protein miktarı yaklaşık %11 civarında olması gerekmektedir. Su miktarı toplam hamur kütle miktarının %40'ını oluşturmaktadır. Maya gelişiminin olması için ortamda yeteri kadar su bulunması gerekmektedir. Genelde orta sertlikteki sular tercih sebebi olmaktadır. Ekmek hamurunda sofr tuzu tercih edilmektedir. %2'lik tuz oranı fermentasyon hızına olumlu katkı sağlamaktadır. Fermentasyon hızı belirli bir sıcaklıkta kullanılan maya miktarına bağlıdır.

Fermentasyon için ideal maya miktarının %3 olduğu tespit edilmiştir. Tüm bu unsurlar daha kaliteli ekmek üretimini sağlamaktadır (İpek, 2017).

İyi bir ekmek hamurunda hamurun kabarması yüksek fermentasyon kabiliyeti olduğunu göstermektedir. Mayaların gelişme hızı ilk önce yavaş belirli bir süre geçtikten sonra hızlı çoğalması belirli bir seviyeye gelince tekrar yavaş en sonda durduğu bilinmektedir. Hamurun kuvvetli bir asitlik değerine sahip olması, geleneksel ekmeklerin raf ömrünü uzatmaktadır ve aynı zamanda süneye ve küflere karşı da koruyucu bir faktör olmaktadır.

2.3. Ekşi Mayalı Ekmek

Ekşi mayalı ekmekler, içerdiği maya ve LAB'ların simbiyotik ilişkisiyle gerçekleştirilen fermentasyona dayalı bir üründür (Paramithiotis vd., 2007).

Gelenekselleşmiş ekşi hamur ekmeği, geleneksel yöntemlerle üretildiğinde, hemen önceki gün hazırlanan ekmeğin hamurundan bir parçanın alınıp saklanması ve bu hamurun daha sonraki ekmeklerin yapımında kullanılması şeklinde gerçekleşmektedir. Ekşi hamur, un ve ekmek yapım ekipmanlarında bulunan LAB ve mayalar tarafından gerçekleştirilen fermentasyon ile oluşmaktadır (Brandt, 2007).

2.4. Ekşi Mayalı Ekmeğin Tarihçesi

Arkeolojik çalışmalar, Mısır'da M.Ö. 3000 yıllarında ekşi hamur ekmeğinin üretildiğini ve bu süreçte şarap yapımında kullanılan mayaların kullanıldığını ortaya koymuştur. Romalılar da eski çağlarda doğal fermentasyon yöntemiyle ekşi hamur yaparak ekmek üretmişlerdir. Ekşi hamur, Romalılar tarafından fermentasyon sürecinin sonrasında açık havada kurutularak ileriki zamanlarda ve başka yerlerde starter kültür olarak kullanılmıştır ve ekmek üretimi yöntemleri geliştirilmiştir (Catzeddu, 2011).

Fransa ve çevresinde hamurun mayalanması için Mısırlılar gibi şarap, sirke ve peynir mayası kullanılmıştır. Daha sonra bira mayasının keşfiyle birlikte bira mayası kullanımı da yaygınlaşmıştır (Cappelle vd., 2013). Herodot'un ifadesiyle; "Bütün insanlar gıdalarının

bozulmasından korkarken, Mısırlılar hamuru bozana kadar bir kenarda tutuyor ve meydana gelen değişimi memnuniyetle gözlemliyorlar.” Yunanlıların ekşi mayalı ekmek yapma konusunda bilgisiz olduklarına vurgu yapılmaktadır. Ancak tarihsel kaynaklara göre, M.Ö. 168 yılında Roma'da ekşi mayalı ekmek yapımına başlanmıştır ve Roma İmparatorluğu tarafından diğer Avrupa bölgelerine de ulaşmıştır. Bununla birlikte, 20.yüzyılın başlarında ekmek mayasının keşfedilmesi ve ekmek üretiminin çabucak yaygınlaşmasıyla birlikte, ekşi mayalı ekmek tüketimi azalmıştır (Carnevali vd., 2007).

2.5. Ekşi Maya Mikrobiyotası

Ekşi maya mikrobiyotası, genellikle *Saccharomyces cerevisiae* ile homofermentatif veya heterofermentatif LAB'lerden oluşmaktadır. *Saccharomyces cerevisiae*, ekmeğin kabarmasını sağlamak için karbondioksit üretirken, LAB'lar şekerleri laktik aside dönüştürerek ekşi tat oluşumunda rol oynamaktadır. Bu mikrobiyotik kombinasyon, ekşi hamurun karakteristik tat, aroma ve tekstürünü oluşturmaktadır. Ekşi hamurda yaklaşık 10^8 - 10^9 kob/g LAB ve 10^6 - 10^7 maya bulunmaktadır. Bu durumda, LAB ile maya arasındaki oran yaklaşık olarak 100:1 olarak bilinmektedir (Göçmen vd., 2006).

Unlar mikrobiyolojik olarak steril değildirler ve genellikle 10^4 - 10^6 kob/g aralığında bakteri ve maya içerebilmektedirler. Üretim sürecinde ısıtma işlemi tabi tutulmadığından, unların mikrobiyotasında büyük bir değişim olmamaktadır ve ekşi mayalı ekmek hamurunda kullanılan un, ekşi hamur fermentasyonunda mikrobiyal değişikliklere uğramaktadır (Rollan vd., 2010).

Ekşi mayalı ekmek hamurunun mikrobiyotası; mikrobiyolojik, çevresel ve kimyasal etkenler tarafından etkilenmektedir. Hamur verimi, kullanılan başlangıç kültürünün bileşimi ve miktarı, çoğaltma aşamalarının sayısı, fermentasyon süresi ve sıcaklığı gibi birçok değişken, ekşi hamur mikrobiyotasının oluşumunu etkileyebilmektedir. Bu faktörlerin sonucunda, ekşi hamurda çeşitli bakteriler dominant hale gelebilmektedir. Örneğin, asidik özelliklere sahip bir ekşi hamurda, düşük pH değerlerine dayanıklı *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus panis* ve *Weissella* gibi LAB'lar baskın olabilmektedir (Catzeddu vd., 2006). Ayrıca, mikrobiyotada kendiliğinden oluşan ve ortam koşullarına

bağımlı olmak üzere dominant hale gelen mikroorganizmaların yanı sıra, mikrobiyotada daha az miktarda bulunan ancak etkisi önemli olan maya ve bakteri türleri de bulunmaktadır. Bu grup içerisinde; *Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus pontis* ve *Lactobacillus reuteri* gibi LAB türleri ile *Candida milleri*, *Candida krusei* ve *Saccharomyces exiguus* gibi maya türleri bulunmaktadır (Paramithiotis vd., 2006).

Dünya genelinde yapılan ekşi mayalı ekmeklerin yapım koşulları, kullanılan hammaddeler ve çevresel etkenlerden kaynaklanan değişiklikler, değişik mikroorganizmaların baskın olduğunu göstermektedir. Örnek olarak, İtalyan tarzı çavdar ve buğday unuyla hazırlanan ekşi hamurlarda *L. sanfranciscensis*, *L. plantarum*, *L. alimentarius* gibi laktik asit bakterileri baskın olarak görülmektedir. Portekiz tarzı pizza hamurları ve ekşi mayalı ekmek hamurlarında *L. paracasei*; Alman tarzı çavdar ekşi hamurlarında *L. sanfranciscensis* ve *L. brevis*; Rus tarzı çavdar ekşi mayalı ekmek hamurlarında *L. plantarum*, *L. brevis* ve *L. fermentum*; Finlandiya tarzı çavdar ekşi hamurlarında *L. acidophilus*, *L. plantarum*; İsveç tarzı çavdar ekşi hamurlarında ise *L. fermentum* cinsi laktik asit bakterileri dominant olarak belirlenmiştir. Bu farklılıklar, bölgesel farklılıkların ve yerel mikrobiyota etkilerinin bir sonucu niteliğinde olmaktadır (Rosenquist ve Hansen, 2000; De Vuyst vd., 2002). Yüksek sıcaklıklar (48-50°C) ile fermente edilen ekşi mayalı ekmek hamurlarında dominant bakteri türü olarak genellikle *L. delbrueckii* gözlenmiştir. Türkiye'de ekşi mayalı hamur genellikle buğdaydan üretilen un kullanılarak hazırlanmaktadır. Türk tarzı ekşi hamurlarda ise genellikle *L. acetotolerans*, *L. acidophilus*, *L. amylophilus*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. sake*, gibi türlerin baskın olduğu belirlenmiştir (Menteş vd., 2004).

Ekşi hamurun mikrobiyotasında, belirli maya türleri ve hem heterofermentatif hem de homofermentatif LAB'lar arasında birbirini destekleyen bir ilişki bulunmaktadır (Paramithiotis vd., 2006). Bu ilişki, hamurun içerdiği fruktoz, maltoz vb. karbon kaynaklarına, pH ve sıcaklık değerlerine adapte olma yeteneğine bağımlı değişebilmektedir (Palomba, 2008). Ekşi mayalı hamur fermentasyonunda, simbiyotik ilişkide olan LAB ve maya faaliyetlerini devam ettirebilmesi için en önemli koşulların başında, karbon kaynağına rekabetçi olmayan ortamın sağlanması gelmektedir. Mikrobiyotasının kararlılığı, ortamdaki disakkarit ve monosakkaritlerin mikroorganizmalar tarafından nasıl fermente edildiğine

bağlı olmaktadır (Paramithiotis vd., 2007). Özet olarak ekşi mayalı hamur mikrobiyotasında maya ve LAB'ların simbiyotik ilişkisi bulunmaktadır.

2.6. Laktik asit bakterileri

Gıda endüstrisinin içeriğinde kullanılan mikroorganizmaların ve ürettikleri metabolitlerin ve bileşenlerin, insan sağlığına zarar vermeyen ve olumsuz etkileri bulunmayan özelliklere sahip olması gerekmektedir. Laktik asit bakterileri, Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization) ve Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization) gibi kuruluşlar tarafından “genel olarak güvenli” olarak kabul edilmiştir, kullanımı bakımından güvenli sınıfta yer almaktadır (Sağdıç ve Arıcı, 2010). LAB'lar, çeşitli türlere sahip olup basil, kok ve kokobasil gibi farklı morfolojilere sahip olmaktadır. Gram pozitif bakterilerdir ve hareket yetenekleri bulunmamaktadır. Spor oluşturma özellikleri de bulunmamaktadır. Katalaz testinde negatif sonuç vermektedirler (Gerekova vd., 2011; Mayo vd., 2010). Mikroaerofilik veya anaerobik koşullarda yaşayabilmektedirler. Asitlere karşı dayanıklıdır ve kuvvetli fermentasyon özelliklerine sahiptirler. Nitratları indirgeme yetenekleri bulunmamaktadır. Büyüme ve gelişmeleri için glukoz ve amonyumun yanı sıra bazı vitamin ve aminoasitlere ihtiyaç duymaktadırlar (Holzapfel vd., 2001).

LAB'lar canlı organizmalarla mutualistik bir ilişki kurabilme yeteneğine sahiptirler. Bu nedenle, doğada bitkiler, insanlar ve hayvanlar gibi canlı organizmalar üzerinde yaşamlarını sürdürebilmektedirler. Laktik asit bakterileri, bu canlılarda sindirim sistemi, cilt ve genital bölge gibi çeşitli bölgelerde bulunabilmektedirler. Örneğin, bağırsak mikrobiyotasında laktik asit bakterileri sindirim sürecine katkıda bulunarak besinlerin sindirimi ve emilimi üzerinde olumlu etkiler sağlamaktadırlar. Aynı zamanda, laktik asit bakterileri bazı hastalık yapıcı mikroorganizmaların çoğalmasını engellemesiyle bağışıklık sistemini destekleyerek ve enfeksiyonlara karşı koruyucu bir rol oynamaktadırlar (Holzapfel vd., 2001).

LAB'lar, fermentasyon metabolizmasına bağlı olarak heterofermentatif ve homofermentatif olarak iki gruba ayrılmaktadırlar. Homofermentatif LAB'lar, fermentasyon sırasında en yaygın olarak bulunan şeker olan maltozu laktik aside dönüştürmektedirler. Heterofermentatif LAB'lar ise laktik aside ek olarak CO₂, asetik asit, etanol vb. bileşenler

de üretilmektedirler. Ekşi hamur mikrobiyotasında, homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterilerinin varlığı, hamurun özelliklerini etkilemektedir. Örnek olarak, sentezlenen asetik asit ekşi hamurun daha sert yapıda olmasına yol açarken, laktik asit hamurun daha elastik yapıda olmasına destek olmaktadır (Corsetti ve Settanni, 2007). Sonuç olarak, ekmeğin yapısı ve aromatik profili, ekşi hamurun mikrobiyotasındaki LAB izolatları tarafından etkilenmektedir (Corsetti ve Settanni, 2007).

LAB'lar, fermente gıdaların üretiminde önemli bir rol oynayan asidik karakter ve enzimatik faaliyetlerle katkı sağlamaktadırlar. Endüstride sıklıkla kullanımı bilinen 6 LAB cinsi, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* ve *Pediococcus*, *Streptococcus* cinsleridir (Klaenhammer vd., 2002). LAB'lar, günlük tüketilen fermente gıdaların üretiminde sıkça kullanılan bir grup mikroorganizmadırlar. Bu bakteriler, özellikle ekşi hamur, peynir, turşu, yoğurt, zeytin gibi gıdaların üretim süreçlerinde aktif olarak yer almaktadırlar. Ekşi hamurun mayalanmasında ve yoğurdun fermentasyonunda LAB'lar önemli rol oynamaktadırlar. Aynı şekilde peynir yapımında da bu bakterilerin katkısı büyük olmaktadır. Zeytin ve turşu gibi fermente edilen gıdaların üretiminde de LAB'lar kullanılmaktadır. Bu bakteriler, bu gıdaların lezzetini, kıvamını ve dayanıklılığını artırmak için önemli metabolik süreçler gerçekleştirmektedirler (Leroy ve De Vuyst, 2004; Mayo vd., 2010).

LAB'lar, ekşi mayalı hamur fermentasyon sürecinde önemli bir rol oynamaktadır ve ekşi mayalı ekmeğin aroma, yapı ve tadına etki etmektedir. Bu bakteriler, proteolitik aktivite gösterebilmekte ve aynı zamanda uçucu aroma bileşenlerinin ve aroma öncü maddelerinin oluşumuna katkıda bulunabilmektedirler. Bazı LAB izolatlarının antimikrobiyal bileşikler üretebildiği de bilinmektedir. Ekşi maya ekmeğinin yapısal özellikleri, bayatlaması ve raf ömrü gibi faktörler üzerinde etkisi bulunan ekzopolisakkarit üretimi gibi birçok aktivite ile LAB'lar, ekşi mayalı ekmeğin kalite özelliklerine katkı sağlamaktadır (De Vuyst vd., 2005).

Ekşi hamurun içerisinde bulunan mikroorganizmaların keşfi 1900'lu yıllara kadar uzanmaktadır. Bu süre zarfında aşağı yukarı 12 LAB izolasyonu yapılmış olup çoğunluğu *Lactobacillus* cinsindendir. Şu ana dek 60'tan çok *Lactobacillus* türü tespit edilmiştir. Ekşi hamurda en sık belirlenen LAB'lar arasında *L. sanfranciscensis*, *L. plantarum* ve *L. brevis* bulunmaktadır (Gobbetti vd.,1999). En yoğun olarak bulunan LAB türleri şunlardır: *L.*

brevis, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. rossiae* ve *L. sanfranciscensis* (zorunlu heterofermentatif); *L. alimentarius*, *L. paralimentarius* ve *L. plantarum* (fakültatif heterofermentatif); *L. amylovorus* ve *L. delbrueckii* (zorunlu homofermentatif). Bu türler ekşi hamurun mikrobiyotasında sıklıkla bulunan türler arasındadır (Minervini vd., 2014). Laktik asit bakterilerinin ekşi hamurda bulunan çeşitlilik ve baskınlığı, hamurun içerisindeki un ve karbonhidratların fermentasyon süreciyle ilişkilidir. Un içindeki karbonhidratlar arasında en yüksek oranda bulunan tür, LAB'ların yaygınlığını belirleyebilmektedir ve farklı LAB türlerinin baskınlığını etkileyebilmektedir (De Vuyst vd., 2009).

Ekşi hamur mikrobiyotasında sıkça rastlanan bir takım LAB'lar ve özellikleri şu şekilde sıralanabilmektedir:

- ***Lactobacillus brevis***

Lactobacillus brevis, heterofermentatif fermentasyon özelliği gösteren bir LAB'dır. Bu bakteri, karbonhidrat metabolizması sırasında laktik asit dışında asetik asit, etil alkol vb. bileşikler de üretebilmektedir. Bu fermentasyon süreci sonucunda oluşan asetik asit, ekmeğe koruyucu özellikler kazandırmaktadır (Dinçer ve Çam, 1992). *Lactobacillus brevis*, basil şeklinde olan bir bakteri türüdür ve çoğunlukla uzunlukları 0.7-1 µm arasında değişkenlik göstermektedir. Bu bakterinin optimum gelişme sıcaklığı ise 20°C'dir (Kılıç, 2008).

- ***Lactobacillus plantarum***

Lactobacillus plantarum, fakültatif heterofermentatif özelliklere sahip LAB'dır ve Türk ağız tadına hitap eden aroma ve tat sağladığı bilinmektedir. Bu tür hızla asitleşme, ekşimsi tat ile aroma sağlama yeteneğine sahiptir. *Lactobacillus plantarum* bakterilerinin uzunlukları 3-8 µm, enleri 0.9-1.2 µm arasında değişmektedir ve kokobasil morfolojisine sahiptir. Optimum üreme sıcaklığı ise 30-35°C civarında değişmektedir (Dinçer vd., 1992).

- ***Lactobacillus sanfranciscensis***

Lactobacillus sanfranciscensis, heterofermentatif özelliklere sahip bir bakteri türüdür ve optimum olarak 30-35°C sıcaklıkta gelişirken, 15°C'de de büyüme gösterebilmektedir (Kılıç, 2008). *Lactobacillus sanfranciscensis*, ekşi hamurlardan sıkça izolasyonu yapılan ve ekşi mayalı hamur fermentasyonunda önemli bir rol oynayan bir

LAB'dır. Özellikle İtalyan tarzı ekşi hamurlarda ve homofermentatif LAB'lar ile birlikte ekmek üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır.

Ekşi hamur mikrobiyotasında genellikle maltozu kullanmayan mayalarla karşılıklı faydalı bir ilişki gösteren bazı mikroorganizmalar bulunmaktadır. Bu türler, birlikte aktivite göstererek özel uçucu bileşikler üretmektedirler ve bu bileşikler ekmeğin dokusal özelliklerini de etkilemektedirler (Angelis vd., 2007). Ekzopolisakkaritler, ürünün viskozitesini etkileyerek ürün özelliklerinde önemli bir rol oynamaktadırlar. Viskozite, bir ürünün yoğunluğu, kıvamı ve yapışkanlığı gibi özelliklerini belirlemektedir. Ekzopolisakkaritlerin üretimi, ürünün daha kıvamlı, daha kremamsı veya daha yapışkan olmasına katkıda bulunabilmektedir. Bu şekilde, ekzopolisakkaritler ürünün dokusal özelliklerini iyileştirerek daha istenilen bir sonuç elde edilmesini sağlamaktadır (Corsetti ve Settanni, 2007).

- ***Lactobacillus rossiae***

Lactobacillus rossiae, obligat heterofermentatif ve starter kültür olarak kullanılmaktadır (Di Cagno vd., 2007; Leroy ve De Vuyst, 2004). Ayrıca, *Lactobacillus rossiae* türünün *Lactobacillus durianis*, *Lactobacillus malefermentans* ve *Lactobacillus suebicus* türleriyle yakın ilişkide olduğu gözlenmiştir (Corsetti vd., 2005). Bu tür bakterilerin optimum gelişme sıcaklığı 45°C olmasına karşın, 15°C'de de gelişebildiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, bu bakteriler genellikle İtalyan tarzı ekşi mayalı hamur mikrobiyotasında yaygın olarak bulunmaktadır ve İtalyan ekşi hamurunun ortamına uyum sağladığı bilinmektedir (Settanni vd., 2006; Settanni vd., 2005).

- ***Weissella cibaria***

Weissella cibaria, heterofermentatif özellik gösteren, gram pozitif, katalaz enzimi bulunmayan ve spor oluşturmeyen bir türdür (Shin vd., 2007). Bu türün morfolojisi basil şeklinde olup; boyutları 1.5-2.0 µm uzunluğunda, 0.8-1.2 µm enindedir. İdeal gelişme sıcaklığı 15°C'dir. Bu türe ait bakteriler genellikle patojen olmazken, bazı türlerinin patojenik özellikler sergileyebileceği bilinmektedir (Tangüler ve Erten, 2006). *Weissella*

cibaria bakterilerinin Yunan tarzı ekşi mayalı ekmeklerin yapısı ve metabolit üretimini üzerinde etkileri bulunmaktadır (Paramithiotis vd., 2006).

2.7.Mayalar

Mayalar, ökaryotik mikroorganizmalardır (Tamang ve Fleet, 2009). Özellikle gıda sektörünün içerisinde, fermente gıdaların üretiminde *Saccharomyces* cinsi mayalar yoğun olarak kullanılmaktadır (Sicard ve Legras, 2011). Ayrıca, mayalarla gerçekleştirilmekte olan alkol fermentasyonu, bira ve şarapçılık alanında da büyük öneme sahiptir (Hardin vd., 2012). Mayalar, gıda endüstrisinde farklı alanlarda da kullanıldığı bilinmektedir.

Ekmek üretiminde çoğunlukla *Saccharomyces cerevisiae* izolatları kullanıldığı bilinmektedir. Bu izolatlar, ısıya karşı dayanıklı olma, yüksek sıcaklıklarda hızla çoğalma, enzim faaliyetlerini uzun süre boyunca sürdürebilme ve hamuru iyi kabartma yeteneklerini bulundurması gerekmektedir. Ekşi maya üretiminde ise mayalar, LAB'larla birlikte mikrobiyotada bulunmakta ve etkisi görülmektedir (Evren vd., 2006). Mayalar genel olarak ekşi maya mikrobiyotasında bulunurken, ekmek fermentasyonunda çalışan *S. cerevisiae* bilinen en yaygın maya türüdür. Ayrıca, ekşi hamurda *S. exiguus*, *C. krusei*, *P. norvegensis* gibi mayalar da tanımlanmıştır (Rehman vd., 2006). *S. cerevisiae* türüne bu kadar çok rastlanılmasının sebebi, normal ekmek mayası olarak bilinen ve kullanılan maya türü olmasıdır (Minervini vd., 2015). Maya, ekmek fermentasyonunda en yüksek CO₂ üreticisi olduğundan dolayı ekmek kabarmasından sorumludur (Corsetti ve Settanni, 2007).

Ekşi maya fermentasyonu sırasında, LAB'lar ve mayalar ortak bir mikrobiyota oluşturarak çeşitli etkileşimlerde bulunmaktadır. Bu etkileşimler sonucunda organik asitler üretilmektedir, uçucu bileşikler sentezlenmektedir ve proteolitik ile amilolitik aktiviteler gerçekleşmektedir. Bu süreç, ekşi hamurun dokusal ve duyuşal özelliklerinin gelişmesine, mikrobiyal aktivitenin yavaşlamasına ve dolayısıyla raf ömrünün artmasına katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, mayaların etkisiyle ekzopolisakkarit sentezi gerçekleşmektedir (Hammes ve Ganzle, 1998).

Ekşi mayanın yenilenmesi sürecinde, aşılama sırasında eklenen su ve un miktarları, fermentasyon sıcaklığı, fermentasyon süresi ve depo sıcaklığı gibi faktörlerin değişkenlik

göstermesi, LAB'lar ve mayaların türlerini etkileyebilmektedir. Bu değişkenler sonucunda LAB'lar veya mayaların sayısı birbirlerine antagonist etki yaratacak şekilde artabilmektedir. Mikroorganizmalar arasındaki tür değişkenliğini azaltmak ve maya-LAB oranını sabitlemek adına bu parametrelerin sabit tutulması önemlidir. Ayrıca, LAB izolatlarının ürettiği antimikrobiyal bileşikler, diğer mikroorganizmalar üzerinde antagonizma yaratabilmektedirler (Ganzle, 2003).

Steril olmayan un ve diğer besin maddeleri, ekşi hamur için olumsuz etki yaratabilmekte ve mikrobiyotayı değiştirebilmektedir. Ekşi mayanın mikrobiyotasında bulunan mayalar, yüksek karbonhidrat konsantrasyonları, LAB varlığı ve düşük pH gibi stresli ortam koşullarına dayanıklı olması gerekmektedir (De Vuyst vd., 2014).

Ekşi mayada *Saccharomyces* ve *Candida* cinslerine ait maya türleri sıkça görülmektedir. Ekşi mayada, Kline ve Sugihara (1971) tarafından ilk izolasyonu yapılabilen maya türü *Saccharomyces exiguus* (*Kazachstania exigua*) ve ilk izolasyonu yapılabilen bakteri türü ise *Lactobacillus sanfrancisco* (*L. sanfranciscensis*) olduğu bilinmektedir (Kline ve Sugihara, 1971). Bu iki mikroorganizma, ünlü bir ekşi mayalı ekmek olan San Francisco ekmeğinin aroma ve tadının temelini oluşturmaktadır.

Ekşi hamurun bileşiminde en yaygın bulunan maya türleri 1971'de tanımlanmış olup, bu türler *C. glabrata*, *C. humilis*, *K. exigua*, *P. kudriavzevii*, *S. Cerevisiae* ve *W. anomalus* olarak bilinmektedir (De Vuyst vd., 2017). İtalyan ekşi hamurlarında genellikle *S. cerevisiae* ve *C. humilis* bulunurken, Fransız organik ekşi hamurlarında *Kazachstania bulderi* ve *C. humilis*, Belçika kaynaklı ekşi mayalı hamurlarda ise *S. cerevisiae* ve *W. anomalus* yaygın olarak görülmektedir (De Vuyst vd., 2017).

2.8. Ekşi Mayalı Ekmek Üretiminde Kullanılan Ekşi Maya Tipleri

Ekmek üretiminde kullanılan ekşi hamur tipleri, üretim teknolojisine bağlı olarak 3 ana grupta sınıflandırılmaktadır (Rollan vd., 2010):

- Tip I Ekşi Mayası: Küçük işletmelerde kullanılan bu ekşi hamur, önceki üretimden ayrılan bir miktar ekşi hamurun kullanılmasıyla elde edilmektedir.

- **Tip II Ekşi Mayası:** Endüstriyel işletmelerde kullanılan yarı akışkan kıvamda olan bu ekşi hamur, daha kapsamlı bir üretim süreciyle elde edilmektedir.
- **Tip III Ekşi Mayası:** Yarı akışkan kıvamda olan bu ekşi maya, kurutularak kullanılan bir formda bulunmaktadır ve Tip II ekşi hamurunun kurutulmuş hali olarak da kullanılmaktadır.

Ekşi mayanın bulunmadığı şartlarda, un ve suyun doğal mikrobiyotası ile hamurun ekşimesine izin verilerek elde edilen ilk ekşi maya Tip 0 olarak tanımlanabilmektedir. Bu geleneğe bağlı olarak hazırlanan ilk ekşi hamur, un ilavesi, tazeleme, yenileme ve aşılama adı verilen bir dizi işlemle fermentasyon başlatmak için kullanılmaktadır. Aşılama işlemi, yaklaşık 6-24 saatlik bir fermentasyon süresi boyunca 5-10 kez tekrarlanabilmektedir. Aşılama işleminin hedefi, ekşi maya mikrobiyotasında bulunan mikroorganizmalar arasında en yüksek şekilde uyum sağlayan maya izolatlarının seçilmesi, hamurun asitleşme kapasitesi ve mayalanmasının geliştirilmesi ile optimize edilmesidir (De Vuyst vd., 2014).

Tip I Ekşi Maya: Tip I ekşi mayalar, geleneksel üretim yöntemiyle önceki günden fermentasyonu başlatılan ve diğer fermentasyonda doğal olarak bulunan mikroorganizmaları aktive etmek için kullanılan ekşi mayalardır (Messen ve Vuyst, 2002). Günlük gerçekleştirilen yenileme işlemi, 19-29°C aralığında yapıldığından mikroorganizmaların aktivitesi yüksek olmaktadır ve gaz üretimi ile kabarma işlemi iyi bir şekilde gerçekleşmektedir (Meroth vd., 2003; Palomba, 2008). Tip I ekşi mayalar genelde serttir ve hamur verimliliği yüksek değildir, genellikle 200,00'den azdır. Bu tip ekşi mayalar, bir önceki yapılan aşılamaдан arda kalan hamurun geri aşılama yoluyla kullanılmasıyla korunmaktadır ve devamlılığı sağlanmaktadır.

Tip I ekşi maya mikrobiyotası, kullanılan un çeşidi, aşıda kullanılan hamur mayasının oranı, fermentasyon sıcaklığı ve fermentasyon süresi gibi faktörlere bağlı olarak çeşitlilik gösterebilmektedir. Genellikle, Tip I ekşi mayada *Lactobacillus* cinsi mikroorganizmalar baskın olarak bulunmaktadır (De Vuyst vd., 2014; Ercolini vd., 2013).

Tip II Ekşi Maya: Endüstriyel taleplere etkin cevap verebilmek için ortaya çıkan Tip II ekşi mayalar, sıvı-yarı akışkan özellikte olup özellikle yüksek fermentasyon süresi, yüksek su içeriği ve yüksek sıcaklık ile karakterizedir (Minervini vd., 2011). Bu tip süreçlerde, yüksek fermentasyon süresi sayesinde devamlı olarak artmakta olan mikroorganizmalarla üretilen

Tip II ekşi mayalar daha güvenilir bir kullanıma sahiptir ve aynı zamanda hamurun asitlenmesinde kullanılmaktadırlar. Tip II ekşi mayalar, 30°C sıcaklıkta ve 2 ila 5 gün süren yüksek mikroorganizma izolatları aşılması ile fermentasyon süreciyle elde edilmektedir (Meroth vd., 2003). Bu tip ekşi mayalar, doğal mikrobiyota içeren un-su karışımına 100:1 maya/LAB oranında starter kültürü eklenerek tek bir aşamada üretilen ekşi maya çeşitleridir.

Tip II ekşi mayanın mikrobiyotasında, başlangıç kültürü olarak asit toleransı yüksek *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri* ve *Lactobacillus sanfranciscensis* gibi LAB türleri kullanılmaktadır (De Vuyst vd., 2014; Gaggiano vd., 2007).

Tip II ekşi maya fermentasyonu, kontrol edilebilen değişkenlerin tamamının biyoreaktörlerde gerçekleştirildiği bir süreçtir. Üretilen ekşi maya, soğutma, pastörizasyon ve tuz ilavesi vb. işlemlerden biri veya birkaçının kombinasyonu ile stabilize edilmektedir. Bu sayede CO₂ ve organik asit üretimi durdurulmaktadır ve ardından soğukta birkaç gün boyunca saklanarak endüstriyel olarak kullanılmaya uygun hale gelmektedir. Kolay kullanım, borularla taşınabilme ve üretim sırasında toz oluşturmama gibi avantajlar, tip II hamur mayasının endüstride genellikle kullanılmasının başlıca nedenleri arasında gösterilmektedir (Brandt, 2007; Chavan ve Chavan, 2011).

Tip II sıvı ekşi mayaların bir avantajı, proses sırasında aroma maddelerinde kayıp olmamasıdır, bu da ekmek kalitesi açısından olumlu bir etki yaratmaktadır. Sıvı mayanın endüstride kullanılmasıyla birlikte üretim maliyetinin düşmesi, kaliteli ve ince gözenekli ürünler elde edilmesi ve geç bayatlamayan yapıya sahip olunması gibi avantajlar ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, iş gücü, yer ve zaman tasarrufu sağlanmaktadır. Fermentasyon değişkenlerinin kontrolü, farklı çeşitlerde ekşi mayalı ekmek üretimi için katkı maddelerinin daha kolaylıkla eklenebilmesi vb. avantajlar da ekmeğin kalitesi için önemlidir (Carnevali vd., 2007; Demir vd., 2006).

Tip III Ekşi Maya: Tip III ekşi mayalar, geleneğe dayalı yöntemlerle üretilen ekşi mayaların kurutma işlemiyle elde edilen toz formundaki ekşi mayalardır (Meroth vd., 2003). Bu tip ekşi mayalar, ürünün kalitesinin değişmemesi nedeniyle fırıncılıkta yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kuru olmaları sayesinde rafta saklanabilme süreleri uzundur ve endüstriyel

açından yüksek oranda kullanışlı olmaktadır (Messens ve Vuyst, 2002). Kurutma teknolojileri hamurun pompalanabilir nitelikte olmasını gerektirdiği için genellikle hamur veriminin 200'den daha yüksek olması gerekmektedir (Brandt, 2007). Tip III ekşi maya, Tip I ve Tip II'ye kıyasla rafta uzun süre saklanabilme süresinin uzun olması, daha küçük hacim, sabit kalite ve depolama kolaylığı gibi avantajlara sahiptir. Tost ekmeği, waffle, San Francisco ekmeği ve Panettone gibi ürünlerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Corsetti, 2013; Decock ve Cappelle, 2005; Siepmann vd., 2018). Tip III ekşi mayada kullanılan başlangıç kültürleri, yüksek asitleştirme ve lezzet bileşenleri üretme yeteneğine sahiptirler. Bu tip ekşi mayalar genellikle *L. brevis*, *P. pentosaceus* veya *L. plantarum* gibi kurutma işlemine dirençli LAB türlerini içermektedir (Palomba, 2008).

2.9. Ekşi Maya Ekmeğinin Sağlıkla İlişkisi

Son zamanlarda, tüketicilerin doğal ve katkısız ürünlere olan ilgisinin artmasıyla birlikte, LAB'ların gıdalarda koruyucu olarak kullanımı da önemli ölçüde artmaktadır (Çon ve Gökalp, 2000). Ekşi maya mikrobiyotasında bulunan LAB'ların ürettiği laktik asit, asetik asit vb. organik asitlerin sentezi ve aroma bileşiklerinin üretimi gibi metabolik özellikler, LAB'ların başlangıç kültürü olaraktan kullanımının bir başka avantajıdır (Şimşek vd., 2006). Ekşi maya fermentasyonunda oluşan organik asitlerin pH değerini düşürmesi, yüksek asitlikte ortam yaratmaktadır ve bu şekilde ekmeklerde *Bacillus subtilis* gibi rop hastalığına neden olan mikroorganizmaların gelişimi engellenmektedir. Ayrıca, ekşi maya fermentasyonu sırasında fitik asidin parçalanması sonucu mineral biyoyararlılığının artması, ekşi mayanın insan sağlığı açısından başka bir avantajdır (Sıkılı ve Karapınar, 2002).

Geleneğe dayalı bir yöntem olan ekşi maya fermentasyonu, ilerleyen teknoloji ve tüketici taleplerine bağlı, son zamanlarda farklı şekillerde sıkça kullanılmaktadır. Ekşi maya fermentasyonu sonucunda elde edilen ekşi maya, son dönemde ekmek üretimi dışında; kraker, kek vb. tahıl bazlı ürünlerin hazırlanmasında da yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Arendt vd., 2007). Ekşi maya teknolojisi, doğal ürünlere olan tüketici ilgisinin artmasının da etkisiyle gıdaların lezzeti, içerik kalitesi, bekleme ömrü vb. özelliklerini artırmada önemli bir rol oynamaktadır (Salovaara, 1998).

2.10. Çölyak Hastalığı ve Gluten İlişkisi

Gluten, tahıllarda depo protein olarak bulunmaktadır ve genellikle etil alkolde çözünebilen polimerik gluteninler ve prolaminler olarak iki temel grupta incelenmektedirler. Buğdaydaki prolaminler; gliadinlerdir ve buğdayda depolanan proteinlerin %80-85 kadarını oluşturmaktadırlar. Gluten proteinleri, endospermdeki nişasta granülleri etrafında sürekli şekilde matriks oluşturmaktadırlar (Türksoy ve Özkaya, 2006).

Gluten proteinleri, su içerisinde çözünmeyen bir yapıya sahiptir. Polimerik gluteninler ve monomerik gliadinler şeklinde iki fraksiyondan oluşturmaktadırlar. Gliadinler, α , β , γ ve ω olmak üzere farklı türlerde bulunmaktadır. Yapılan araştırmalar, gliadin fraksiyonunun çölyak hastaları için toksik olduğunu, glutenin fraksiyonunun ise daha az toksik olduğunu göstermektedir. Özellikle α -gliadinler, gliadinler arasında en toksik olanlarıdır. β - ve γ -gliadinler, α -gliadinlere göre daha az toksik özellik gösterirken, ω -gliadinler toksisitesi en az olan gliadin fraksiyonudur (Türksoy ve Özkaya, 2006).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, LAB'lar tarafından üretilen ekzopolisakaritlerin, ekşi maya teknolojisiyle gluten içeren (özellikle buğday) ürünlerin kalitesini artırma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bu ekzopolisakaritler yüksek moleküler ağırlığa sahip polimerlerdir. Somun hacmi, raf ömrü ve bayatlama oranı gibi özellikler açısından, LAB'lar tarafından üretilen ekzopolisakaritler gluten içeren ve gluten içermeyen tahıl ürünlerinin geliştirilmesi adına ticari hidrokolloidlere doğal alternatifler sunmaktadır (Lynch vd., 2018).

Gluten enteropatisi veya ÇH, insanlarda sıkça görülmekte olan ve yaşam boyu sürmekte olan, besin kaynaklı otoimmün ince bağırsak hastalığıdır. ÇH, genellikle glutenin oral yoldan alınmasıyla tetiklenmekte ve CD4⁺ T hücrelerinin aracılığıyla, gıdaya duyarlı yaygın görülen bir enteropatidir (D'Arienzo vd., 2011). ÇH, çevresel ve genetik faktörlerin (MHC genleri) etkileşimiyle meydana gelen çok faktörlü bir hastalıktır. Genetik geçişi, hastalığa yatkınlık olarak gerçekleşmektedir. Buğday, çavdar, arpa vb. tahıllar gluten içermektedir (Güre, 2009).

Gluten hassasiyeti olan bireylerde, gluten içeren gıdaların tüketilmesiyle birlikte bağırsak mukozasında var olan gliadin peptidleriyle "İnsan Lökosit Antijenleri" sınıf II molekülleri birleştiklerinde alerjik reaksiyonlara neden olmaktadır. ÇH'nin klinik belirtilerine dayanarak doğru bir teşhis koymak için ilk testler; IgA ve IgG tipi antigliadin antikor, IgA tipi antiendomisiyum antikor ve transglutaminaz antikor testleridir. Bu test sonuçlarından en az birinin pozitif olması, ÇH şüphesini ortaya çıkarmaktadır. Sonraki adım, ince bağırsak biyopsisinin yapılmasıdır. Kesin ÇH teşhisi için yapılan tüm testlerin ve biyopsi sonucunun birbirini desteklemesi gerekmektedir (Ün ve Aydogdu, 2003; Ulusoy vd., 2002).

ÇH için günümüzde halen etkili bir medikal tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Tek tedavi seçeneği, ömür boyu gluten içermeyen bir diyetle beslenmektir. Medikal tedavi, glutensiz diyetin yanı sıra destek amacıyla uygulanabilmektedir. Çölyak hastalarında anemi belirtileri görülebilmektedir ve bu durumda demir takviyesi veya D vitamini desteği verilebilmektedir. Aynı şekilde, ÇH'ye bağlı olarak laktoz intoleransı gelişen bireylerin bir süre süt ve süt ürünlerinden uzak durmaları planlanmaktadır (Güre, 2009).

Gluten içermeyen diyetle tüketilmemesi gerekli başlıca gıdalar yulaf, çavdar, buğday ile bu bileşenlerden yapılan gıdalardır. Ayrıca, çapraz bulaşma endişesi taşıyan ürünlere de dikkat edilmesi gerekmektedir. Glutensiz ürünler için 1976 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından kabul edilen "Kodeks Standartları" bulunmaktadır. TGK'de (2012) ise 'Gluten İntoleransı Olan Bireylere Uygun Gıdalar Tebliği' ile ÇH tüketiciye sunulan gıdalarda gluten seviyesinin 20 mg/kg'dan fazla olmaması koşuluyla "glutensiz" ifadesinin kullanılabileceği belirtilmektedir.

2.11. Gluten ve Gliadin Parçalaması Yapan LAB'lar

ÇH ile ilişkili bağırsak mikrobiyotası kompleks bir ekosistemdir ve glutenin parçalanmasında rol oynayabilen enzimler aracılığıyla etkileşim göstermektedir. Bağırsak mikrobiyotasında bulunan *Bacteroides fragilis* izolatları, gliadin hidrolizini gerçekleştirme yeteneğine sahiptirler. Ancak, bazı izolatlar immünojenik peptidler üreterek bağırsak epitel hücrelerinin inflamatuvar sitokin üretimini tetikleyebilmektedir. Bu durum, bağırsak mikrobiyotasının ÇH patogenezinde rol oynayabileceğini göstermektedir (Sanchez vd.,

2012; Cristofori vd., 2020). Bağırsak mikrobiyotasının ÇH'nin gelişimi ve ilerlemesi üzerindeki tam mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılmamış olup, daha fazla araştırma gerekmektedir (Duar vd., 2015; M'hir vd., 2008).



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. İzolasyon Yapılan Ekşi Maya Örnekleri

LAB ve maya izolasyonu amacıyla kullanılan ekşi maya örnekleri ve temin edildikleri yerlere ait bilgiler:

- Bilecik, ev üretimi ekşi maya (E.M.)
- Eskişehir, Odunpazarı Tarihi Taş Fırını E.M.
- Eskişehir, Kara Fırın E.M.
- Eskişehir, Nar Fırın E.M.
- Kütahya, Şenerler Fırını E.M.
- Kütahya, Hanımeli Fırını E.M.
- Geyve, Yöresel Market E.M.
- Pelin, ev üretimi E.M.

3.1.2. Stok Laktik Asit Bakterileri

ESOGÜ Gıda Mikrobiyolojisi laboratuvarı bünyesinde geçmiş çalışmalarda, ekşi mayalar ve çeşitli unlardan izole edilmiş ve hizmet alımı aracılığıyla moleküler yöntemler kullanılarak türleri belirlenmiş olan 6 LAB suşu da çalışmaya eklenmiştir.

- SL16 – *Lactobacillus brevis*
- SL24 – *Lactocaseibacillus rhamnous*
- SL65 – *Lactobacillus brevis*
- SL68 – *Lactobacillus brevis*
- SL107 – *Lactobacillus pentosus*
- SL108 – *Lactobacillus plantarum*

3.1.3. Gluten

Maya ve LAB izolatlarının gluten parçalama testlerinde toz halde ve krem renginde olan buğday gluteni (Alfasol) kullanılmıştır.

3.1.4. Buğday Unu

Çalışmada kullanılmak üzere ulusal marketlerden 06 2230811 parti numaralı ve 5 kg paketlerde Efsane marka un temin edilmiştir. Herhangi bir işleme tabi tutulmaksızın aseptik koşullara dikkat edilerek kullanılmıştır.

3.1.5. Toz Ekmek Mayası

Çalışmada kullanılmak üzere ulusal marketlerden 10'ar gramlık paketlerde Dr. Oetker markalı instant kuru hamur mayası temin edilmiştir. Aseptik koşullarda steril tartım ekipmanları kullanılarak tartılmış ve kullanılmıştır.

3.1.6. Toz Ekşi Maya

Çalışmada kullanılmak üzere ulusal marketlerden 35'er gramlık paketlerde Dr. Oetker markalı ekşi kuru hamur mayası temin edilmiştir. Aseptik koşullarda steril tartım ekipmanları kullanılarak tartılmış ve kullanılmıştır.

3.1.7. Steril İçme Suyu

Çalışmada oluşturulan hamurların laboratuvar koşulları dışında oluşturulabilirliğini sağlamak ve geleneksel hamurlarla özdeşleşmesi amacıyla piyasadan temin edilen aşağıda firmanın etiketlediği analiz sonuçları verilen Buzdağı marka 19 litre depozitolu damacanada doğal mineralli su kullanılmıştır. Su kullanılmadan önce 500 ml besiyeri şişeleri içerisinde otoklav cihazında 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

Buzdağı Doğal Mineralli Su Analiz Sonuçları (Etiket)

Florür

<0,04 mg/l

Bikarbonat	48,60 mg/l
Klorür	2,60 mg/l
Sülfat	37,20 mg/l
Kalsiyum	17,30 mg/l
Magnezyum	6,10 mg/l
Potasyum	<0,50 mg/l
Sodyum	5,70 mg/l
Demir +2	<0,01 mg/l
pH	7,10
Toplam Minerilizasyon	118,05 mg/l

3.1.8. Besiyerleri

Araştırmada kullanılan bütün besiyerleri, içerdikleri malzemelerin distile suyla homojen bir görünüm elde edinceye kadar çözülerek, gerekli pH değerine ayarlandıktan sonra uygun sıcaklık ve sürede otoklav cihazında sterilize edilmiştir.

3.1.8.1. MRS Agar (*Lactobacillus* Agar acc. to De Man, Rogosa and Sharpe)

Distile su	1000 ml
Agar	15,00 g
D (+) glukoz	20,00 g
Di- Amonyum hidrojen sitrat	2,00 g
Et ekstraktı	10,00 g
K ₂ HPO ₄	2,00 g
Kazein peptonu	10,00 g
Maya ekstraktı	4,00 g
MgSO ₄	0,20 g
MnSO ₄	0,04 g
Sodyum asetat	5,00 g
Tween 80	1,00 g

Dehidre besiyeri içeriği, litre başına 68,20 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür ve homojenize edilmiştir. pH değeri 5,60 ± 0,20 olarak ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 121°C’de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.2. MRS yarı katı agarı

Distile su	1000 ml
Agar	5,00 g
D (+) glukoz	20,00 g
Di- Amonyum hidrojen sitrat	2,00 g
Et ekstraktı	10,00 g
K ₂ HPO ₄	2,00 g
Kazein peptonu	10,00 g
Maya ekstraktı	4,00 g
MgSO ₄	0,20 g
MnSO ₄	0,04 g
Sodyum asetat	5,00 g
Tween 80	1,00 g

Dehidre besiyeri içeriği, litre başına 59,24 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür ve homojenize edilmiştir. pH değeri $5,60 \pm 0,20$ olarak ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 121°C’de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.3. MRS broth (*Lactobacillus* Broth acc. to De Man Rogosa and Sharpe)

Distile su	1000 ml
D (+) glukoz	20,00 g
Di- Amonyum hidrojen sitrat	2,00 g
Et ekstraktı	8,00 g
K ₂ HPO ₄	2,00 g
Kazein peptonu	10,00 g
Maya ekstraktı	4,00 g
MgSO ₄	0,20 g
MnSO ₄	0,04 g
Sodyum asetat	5,00 g
Tween 80	1,00 g

Dehidre besiyeri içeriği, litre başına 52,20 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür ve homojenize edilmiştir. pH değeri $5,80 \pm 0,20$ olarak ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 121°C 'de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.4. MRS durham broth

Distile su	1000 ml
D (+) glukoz	20,00 g
Di- Amonyum hidrojen sitrat	2,00 g
Et ekstraktı	10,00 g
K ₂ HPO ₄	2,00 g
Kazein peptonu	10,00 g
Maya ekstraktı	4,00 g
MgSO ₄	0,20 g
MnSO ₄	0,04 g
Sodyum asetat	5,00 g
Tween 80	1,00 g

Dehidre besiyeri içeriği, litre başına 59,24 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür ve homojenize edilmiştir. pH değeri $5,60 \pm 0,20$ olarak ayarlanan besiyeri durham tüpü içeren tüplere dağıtılmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 121°C 'de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.5. Mayalar için glukoz fermentasyonu besiyeri

Distile su	1000 ml
D (+) glukoz	20,00 g
Maya ekstratı	20,00 g
Pepton	5,00 g

Dehidre besiyeri litresinde 45,00 g olacak şekilde distile su içerisinde eritildikten sonra ısıtılarak homojenize edilmiştir. Durham tüpü içeren tüplere dağıtılmıştır. pH değeri

6,00 olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 121°C’de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.6. Gluten agar (GUA)

Distile su	1000 ml
Agar	15,00 g
Na ₂ HPO ₄	22,96 g
Tween 80	1,00 g
Buğday gluteni	90,00 g
K ₂ HPO ₄	10,00 g
KH ₂ PO ₄	10,00 g
D (+) glukoz	20,00 g

Dehidre besiyeri içeriği, litre başına 168,96 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür. Buğday gluteni distile su içerisinde çözünemediğinden dolayı homojen bir görünüm elde edilememiştir. pH değeri 5,90 ± 0,20 oranında ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 116°C de 10 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.7. Gluten broth (GUB)

Distile su	1000 ml
Buğday gluteni	90,00 g
Tween 80	1,00 g
D (+) glukoz	20,00 g
K ₂ HPO ₄	10,00 g
KH ₂ PO ₄	10,00 g
Na ₂ HPO ₄	22,96 g

Dehidre besiyeri içeriği, litre başına 153,96 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür. Buğday gluteni distile su içerisinde çözünemediğinden dolayı homojen bir görünüm elde edilememiştir. pH değeri 5,90 ± 0,20 oranında ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 116°C’de 10 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.8. Gluten agar kontrol besiyeri (glutensiz)

Distile su	1000 ml
Agar	15,00 g
Na ₂ HPO ₄	22,96 g
Tween 80	1,00 g
K ₂ HPO ₄	10,00 g
KH ₂ PO ₄	10,00 g
D (+) glukoz	20,00 g

Dehidre besiyeri içeriği, litre başına 78,96 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür. Buğday gluteni distile su içerisinde çözünemediğinden dolayı homojen bir görünüm elde edilememiştir. pH değeri $5,90 \pm 0,20$ oranında ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 116°C’de 10 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.9. Malt ekstrakt agar (MEA)

Distile Su	1000 ml
Agar	15,00 g
Malt Ekstrakt Broth	20,00 g

Ticari toz halde temin edilen (Merck) dehidre besiyeri içeriği, litre başına 35,00 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür ve homojenize edilmiştir. pH değeri $5,40 \pm 0,20$ olarak ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 115°C’de 10 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.10. Malt Ekstrakt Broth (MEB)

Distile Su	1000 ml
Malt Ekstrakt Broth	20,00 g

Ticari toz halde temin edilen (Merck) dehidre besiyeri içeriği, litre başına 20,00 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür ve homojenize edilmiştir. pH değeri $5,40 \pm 0,20$

olarak ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 115°C’de 10 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.11. Sporulasyon besiyeri

Distile su	1000 ml
CaCl ₂	0,10 g
MnSO ₄	0,04 g
Nutrient agar	20,00 g

Dehidre besiyeri içeriği, litre başına 20,14 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür ve homojenize edilmiştir. pH değeri $5,80 \pm 0,20$ olarak ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 121°C’de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.8.12. Nutrient agar (NA)

Distile su	1000 ml
Agar	15,00 g
Nutrient Broth	8,00 g

Ticari toz halde temin edilen (Merck) dehidre besiyeri içeriği, litre başına 23,00 g olarak distile suya eklenerek çözülmüştür ve homojenize edilmiştir. pH değeri $7,00 \pm 0,20$ olarak ayarlanmıştır. Daha sonra otoklav cihazında 121°C’de 15 dk süreyle sterilize edilmiştir.

3.1.9. Çözeltiler ve Boyalar

3.1.9.1. Peptonlu su

1 litreye 15,00 g olacak şekilde ilave edilip distile su içerisinde eritilerek homojen hale getirilmiştir. Daha sonra otoklav cihazında 121°C’de 15 dk süreyle steril hale getirilmiştir.

3.1.9.2. Gliserol çözeltisi (%20)

Stoklanacak mikroorganizmaların üretilmesinde kullanılan besiyerinin hazırlanmasının akabinde, %20 oranında olacak şekilde gliserol eklenmiştir. Daha sonra otoklav cihazında gliserol eklemesi yapılan besiyerine uygun sıcaklık ve süreye uyarak sterilize edilmiştir. Steril olan kriyo tüplere 800 µl dağıtılarak hazırlanmıştır.

3.1.9.3. NaOH ve HCl çözeltisi

Besiyerlerinin pH değerlerini ayarlamak için derişik NaOH (sodyum hidroksit) ve HCl (hidroklorik asit) çözeltileri kullanılmıştır.

3.1.9.4. H₂O₂ çözeltisi (%30)

%30'luk H₂O₂ çözeltisi saf kimyasal solüsyon olarak kullanılmıştır.

3.1.9.5. Protein boyama çözeltisi

Coomassie brilliant blue R-250	5,00 g
Asetik asit	92 ml
Metanol	500 ml

Distile su ile 1 L' ye tamamlanmıştır.

3.1.9.6. Boya uzaklaştırma çözeltisi

Asetik asit	50 ml
Metanol	250 ml

Distile su ile 1 L' ye tamamlanmıştır.

3.1.9.7. Kristal viyole

Toz halde bulunan 5,00 g kristal viyole 1000 ml distile su içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Koyu renkli kimyasal cam şişesi içerisinde muhafazası sağlanmıştır.

3.1.9.8. Lugol

Toz haldeki 6,70 g potasyum iyodür (KI), 1000 ml distile suya çözülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiye 3,30 g ezilmiş iyot kristali eklenmiştir ve karıştırılarak oda sıcaklığında çözünmesi sağlanmıştır. Karışım homojen bir görünüm elde edinceye kadar karıştırma işlemi devam etmiştir. Elde edilen çözüm koyu renkli cam bir şişede muhafaza edilmiştir.

3.1.9.9. Safranin

Toz haldeki 5,00 g safranin, 100 ml %96'lık etil alkol içinde çözündürülmüştür. Ardından, elde edilen çözelti 900 ml distile suyla karıştırılmıştır. Karışım, koyu renkli cam bir şişede muhafaza edilmiştir.

3.1.9.10. Malasit yeşili

Toz haldeki 50,00 g malaşit yeşili 1000 ml distile su içinde çözündürülerek hazırlanmıştır.

3.1.9.11. Fizyolojik tuzlu su (FTS)

Fizyolojik tuzlu su hazırlanırken 1 litre saf su içerisinde 9,00 g NaCl çözölmüştür. Steril FTS ihtiyacı olan çalışmalarda otoklav cihazında 121°C sıcaklıkta 15 dk süreyle steril edilerek kullanılmıştır.

3.1.9.12. Gluten tayini yıkama çözeltisi (%2)

Gluten tayini testinde kullanılan yıkama çözeltisinin 1 litre distile suda 20,00 g NaCl pH'ı 5,95'e ayarlanmıştır. Ardından 7.54 g KH₂PO₄ ve 2.46 g NaHPO₄.2H₂O ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla homojen hale getirilmiştir. Çözelti günlük hazırlanmıştır.

3.1.9.13. Derişik sodyum hidroksit çözeltisi (0,1 N NaOH)

Toplam titrasyon asitliği tayini testinde kullanılan 0,1 N derişik NaOH çözeltisi hazırlanmasında 4,00 g NaOH tartılmıştır. Daha sonra üzerine kaynatılıp soğutulan saf sudan 50-100 ml yavaşça eklenmiştir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılmıştır. NaOH granülleri çözünmeye başladığında çözelti kaynamış soğumuş saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

3.1.10. Cihazlar

Aşağıda verilen çizelgede çalışma esnasında kullanılan cihazlar ve markaları listelenmiştir.

Çizelge 3.1 Kullanılan cihazlar

Cihaz	Markası
Soğutmalı etüv	Binder
Etüv	Binder
Etüv	Heraus
Anaerobik inkübatör	Heal Force
pH metre	İnoLab
Analitik terazi	Ohaus
Hassas terazi	Ohaus
Biyogüvenlik kabini	Esco
Biyogüvenlik kabini	Thermo
Isıtıcı	Labart
Isıtıcılı manyetik karıştırıcı	Heidolph
Isıtıcılı manyetik karıştırıcı	SH-3
Derin donduruculu buzdolabı (+4°C, -20°C)	Arçelik
Derin donduruculu buzdolabı (+4°C, -20°C)	Beko
Buzdolabı (+4°C)	Kirsch
Derin dondurucu (-86°C)	Haier
Otoklav	Alp
Mikropipetler	Eppendorf
Soğutmalı santrifüj	Hermle
Vortex	Velp

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekşi maya örneklerinden LAB ve maya izolasyonu, saflaştırma ve saf kültürlerin stoklanması

Ekşi maya örnekleri steril koşullar altında 10'ar g tartılarak, içinde 90 ml peptonlu su bulunan erlenlerde süspanse edilmiştir (10^{-1} 'lik dilüsyon). Daha sonra 9 ml peptonlu su bulunan tüpler ile 10^{-6} ' ya kadar seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan her bir örneğin her bir dilüsyonundan 100 µl MRS agar ve MEA besiyeri içeren petrilere aktarılmış, drigalski spatülü kullanılarak yüzeye yayma şeklinde ekim yapılmıştır. MRS agar petrilere 35°C 'de %5 CO_2 ortamında (anaerobik) 48 saat inkübe edilmiştir. MEA petrilere 28°C 'de aerobik koşullarda 48 saat etüvde inkübe edilmiştir (Bakırcı vd., 2017).

İnkübasyon sonunda MRS agar petrilерinden düzgün kenarlı, krem/beyaz renkli, toplu iğne başı büyüklüğünde olan koloniler olası LAB olarak seçilmiş ve her bir izolat iki MRS agar petrisine çizgi yöntemiyle ekilmiştir. İzolatların hem aerobik hem de anaerobik koşullarda üreme yeteneklerini kontrol etmek amacıyla, petrilерin birisi aerobik, diğeri anaerobik olarak inkübe edilmiştir. Aerobik koşullarda iyi bir üreme göstermeleri yapılacak olan diğeri testler için kolaylık sağlayacaktır. Petrilерin tümü 35°C 'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petrilерde üreme ve fiziksel görüntülerinin aynı koloniler (çap, renk gibi) gözlenmiştir. MEA petrilерinde farklı büyüklükte, şekilde ve renkte koloniler oluşmuştur. Bu koloniler seçilerek MEA petrilерine çizgi ekim yapılmıştır ve 28°C 'de aerobik koşullarda 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, petrideki örnek koloniler gözlenmiştir.

MRSA ve MEA petrilерinden birer koloni seçilerek, izole edildikleri besiyerleriyle hazırlanan yatık agar tüplerine inoküle edilmiştir. LAB izolatları 35°C 'de, maya izolatları ise 28°C 'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda, LAB izolatları bulunan tüplerden alınan örneklerden preparatlar hazırlanmış ve bölüm 3.2.2.1 de sunulan yöntemle gram boyamaları yapılmıştır. Maya izolatları ise metilen mavisi ile boyanarak saflıkları ve morfolojileri belirlenmiştir.

Mikroskopik inceleme sonucunda saf olduğu ve gram pozitif olduğu belirlenen LAB izolatları diğer testler için etiketlenmiştir ve %20 gliserollü MRS besiyeri içeren kriyo tüplere 3 paralel olarak aktararak stok kültürleri hazırlanmıştır. Bu stok kültürleri -20°C ile -86°C derin dondurucularda saklanmıştır. Mikroskopik inceleme sonucunda saf olduğu belirlenen maya izolatları ise %20 gliserollü MEB besiyeri içeren kriyo tüplere 3 paralel olarak aktararak stok kültürleri hazırlanmış ve yukarıda belirtilen koşullarda saklanmıştır.

Karışık olduğu belirlenen kültürleri saflaştırmak için MRS agar ve MEA besiyerlerine tek koloni düşürmek amacıyla çizgi ekimleri gerçekleştirilmiştir. Tek düşen koloniler, saflıkları kontrol edilerek yukarıda belirtilen yöntemle stok kültürleri hazırlanmıştır.

3.2.2. İzole edilen bakterilerden LAB olanlarının belirlenmesi

Ekşi maya örneklerinden izolasyonu yapılan bakteri izolatlarının LAB olup olmadığını belirlemek için gram boyama, katalaz, hareketlilik ve sporulasyon testleri yapılmıştır (Bakırcı ve Köse, 2017).

3.2.2.1. Gram boyama

İzolatların gram boyamasının yapılması için lamın alkol ile temizlenen yüzeyine damlalık yardımıyla bir damla distile su konulmuştur ve aseptik koşullar altında izolatın bulunduğu tüpten/petriden bir öze dolusu kültür alınmıştır. Alınan kültür, lam üzerine damlatılmış olan distile suyla karıştırılmıştır ve lamın yüzeyine yayılarak bakteri filmi oluşturulmuştur. Bakteri filmi oda sıcaklığında kurutulmuş ve ardından üç kez bek ateşinden geçirilerek fiksasyonu yapılmıştır.

Gram boyamaya hazırlanan preparata aşağıdaki işlemler uygulanmıştır:

Öncelikle preparatın üzeri kaplanacak şekilde kristal viyole boyası damlatılmış ve 1 dk bekletilmiş, boyanması sağlanmıştır. 1 dakikanın sonunda lam üzerindeki fazla boya dökülüp distile suyla yıkanması ile uzaklaştırılmıştır.

Fazla boyası uzaklaştırılan preparatın üzerine lugol çözeltisi damlatılmış ve 1 dk bekletildikten sonra dökülerek distile suyla yıkanmıştır.

Fazla boyası uzaklaştırılan preparatın üzeri 10 sn süreyle %96'lık etil alkol ile kaplanmış ardından distile su ile yıkanarak alkol uzaklaştırılmıştır.

Alkol uzaklaştırılan preparatın üzeri safranin boyası ile kaplanarak 30 sn boyanmıştır. Fazla boya dökülerek, preparat distile suyla yıkanmıştır.

Preparat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

Kuruyan preparat, immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta immersiyon objektifinde incelenmiştir. Mikroskoptaki inceleme sonucunda, mor-mavi renkte boyanmış olduğu görülen hücreler gram pozitif şeklinde değerlendirilmiş, pembe-kırmızı renkte boyanan hücreler ise gram negatif şeklinde değerlendirilmiştir. Aynı zamanda incelenen hücrelerin morfolojileri kok, basil ya da kokobasil olarak kaydedilmiştir. Gram pozitif olan bakteri izolatları diğer aşamalarda kullanılmak üzere ayrılmıştır ve saklanmıştır (Smith, 2005).

3.2.2.2. Katalaz testi

Seçilen bakteri izolatlarında katalaz enziminin varlığını belirlemek için katalaz testi uygulanmıştır. Bu test için 24-48 saatlik sıvı veya katı bir bakteri kültüründen steril bir tahta çubuk kullanılarak kültür alınmıştır. Alınan kültür temiz bir lam üzerine yerleştirilmiştir. Üzerine %30'luk hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatılmıştır. Hava kabarcığı oluşan kültürler katalaz pozitif (+) olarak değerlendirilmiştir. Hava kabarcığı gözlenmeyen kültürler ise katalaz negatif (-) olarak kabul edilmiştir. Katalaz testi için pozitif kontrol olarak *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* kullanılmıştır.

LAB'lar anaerobiktir (aerotolerant) bakteriler olup katalaz enzimini bulundurmamaktadırlar. Bu nedenle sadece katalaz negatif olan izolatlar olası LAB olarak ayrılmıştır ve diğer testler yapılmak üzere stoklanmıştır (Reiner, 2010).

3.2.2.3. Hareketlilik testi

Çalışmada iki farklı yöntem kullanılarak olası LAB izolatlarının hareketli olup olmadığı incelenmiştir. Bu yöntemler; asılı damla yöntemi ve yarı katı agar yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Asılı damla yöntemi için çukur lam kullanılmıştır. Bu testte olası LAB izolatları MRS broth besiyerinde aktifleştirilmişlerdir ve 18-24 saat inkübe edilen taze kültürlerden birer öze dolusu alınarak lamellerin orta noktasına yerleştirilmişlerdir. Lamelin dört köşesine toplu iğne başı kadar vazelin sürülmüştür. Lamin çukur kısmı lamel ile ortalanarak lamelin üzerine kapatılmış ve ters çevrilmiştir. Işık mikroskopunun 4x objektifi ile damla sınırı tespit edilmiştir ve daha sonra 40x objektife geçilerek damla içinde asılı kalan bakterilerin flagel hareketleri gözlemlenmiştir. LAB'nin hareketsiz olduğu bilindiği için sadece hareketsiz bakteriler olası LAB olarak değerlendirilmiştir.

Yarı katı agarda yapılan hareketlilik testi yönteminde ise bakteriler 18-24 saat inkübasyon ile MRS broth'ta aktiflenmiştir. Taze kültür brothlardan yarı katı MRS agarlara iğne öze yardımıyla ekim yapılmıştır. Sadece ekim çizgisi boyunca üreme varsa hareketsiz, çizginin dışında üreme varsa bakteriler hareketlidir. Sonuç olarak, LAB'nin hareketsiz olduğu bilindiğinden sadece hareketsiz izolatlar LAB olarak kabul edilmiştir.

3.2.2.4. Sporulasyon testi

Olası LAB izolatlarının spor oluşturabilme potansiyelini belirlemek adına sporulasyon besiyerinde üretilen kültürlerle malaşit yeşili kullanılarak spor boyaması yapılmıştır.

Spor oluşturmayan izolatların belirlenmesi amacıyla izolatlar önce sporulasyon besiyerine ekilmiştir ve 5 gün boyunca 35°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, petrilere üreyen kolonilerden birer öze dolusu kültür alınarak distile su damlatılan lama yayılmıştır. Kuruyan preparatlar bek alevinden üç defa geçirilmeleriyle preparatlar fiks edilmiştir. Ardından preparatlara %5 konsantrasyondaki malaşit yeşili boyası kullanılarak, boya azaldıkça ilave edilmesi yöntemiyle 5 dakika boyunca kesintisiz boyanmıştır ayrıca boyama sırasında kurummasını önlemek için lam üzerine kurutma kağıdı da eklenmiştir. Boyama süresi sonunda kurutma kağıtları alınmıştır ve preparatlar distile suyla yıkanmışlardır. Daha sonra preparatlar 30 sn boyunca safranin boyası ile boyanmış, fazla boya dökülmüştür ve preparatlar tekrar saf su ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar ışık mikroskopunda immersiyon objektifinde immersiyon yağı damlatılarak

incelenmiştir. Spor boyama sonucunda, spor oluşturmeyan LAB izolatlarının sporangiumlarının kırmızı, endosporlarının ise yeşil renkte görüldüğü belirlenmiştir.

LAB'lar spor oluşturmadiğı için sadece spor oluşturmeyan izolatlar sonraki testler için değerlendirilmiştir.

3.2.3. LAB ve mayalar için yapılan testler

Düşük gluten içerikli ekşi mayalı ekmek hamuru yapımı denemelerinde kullanılacak uygun “yeni ekşi maya bileşimini” belirlemek adına, LAB ve maya izolatlarının; asitleştirme kapasitesi, glukozdan gaz üretimi, gluten parçalama yeteneğı ve birbirleri ile üreyebilme testleri yapılmıştır.

3.2.3.1. LAB ve maya izolatlarının asitleştirme kapasitesi

Ekşi mayalı ekmeklerin en önemli karakteristik özelliğı “ekşi” olmasını sağlayan mikrobiyotasındaki organizmaların asit oluşturmamasından kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda mayaların LAB’lardan daha asidik ortamda ürediğı bilinmektedir. Asitleştirme kapasitesi yüksek olan LAB’ların ekşi mayalı hamur mikrobiyotasında bulunması kısa sürede hamur pH’ını mayalar için optimum seviyelere indirmesine yardımcı olmaktadır. Aynı zamanda asitleştirme kapasitesinin yüksek olması ve pH değerinin düşmesi ürünün raf ömrünün uzamasına ve küflenmesinin engellenmesine yardımcı olmaktadır (İpek, 2017)

İzolatların asitleştirme kapasitesinin belirlenmesi için pH metre kullanılmıştır. Uygun sıvı besiyerlerinde 2’şer tekrar aktiflenen 24 saatlik LAB ve maya izolatu kültür tüplerine pH metre daldırılmış, besiyerinin pH’ına göre % azalışı hesaplanmıştır. Bu değer asitleştirme kapasitesi ölçümü olarak kaydedilmiştir.

$$\% \text{ Asitleştirme} = [(\text{Besiyeri pH} - \text{Kültür pH}) / \text{Besiyeri pH}] \times 100$$

3.2.3.2. LAB ve maya izolatlarının glukozdan gaz üretimi

Glukozdan gaz üretimi testi, LAB ve maya izolatlarının glukoz fermentasyonu sonucunda CO₂ üretip üretmediklerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Durham tüpü konmuş MRS broth (LAB'lar için) ve glukoz fermentasyon broth (mayalar için) hazırlanmıştır.

İzolatlar 24 saat aktiflenmiştir. LAB ve maya kültürlerinin hücre yoğunluğu McFarland 0,5 standardına göre ($1,5 \times 10^8$ kob/ml) ayarlanmıştır. Bu izolatlardan ikişer tekrar olacak şekilde 50'şer µl alınarak hazırlanan besiyerlerine ekim yapılmıştır. Ekim işlemi tamamlandıktan sonra tüpler mayalar için 28°C'de, olası LAB'lar için 35°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda gaz çıkışı olup olmadığı, varsa miktarı Durham tüpleri aracılığıyla gözlemlenmiş ve sonuçlar kaydedilmiştir.

Glukoz fermentasyonu sonunda meydana getirdikleri metabolitlere göre LAB'lar iki gruba ayrılırlar. Fermentasyonu sonucunda sadece laktik asit üreten LAB'lar "homofermentatif", fermentasyon sonunda laktik aside ilaveten farklı ürünler (asetik asit, etanol, formik asit vb.) ve karbondioksit üreten LAB'lar "heterofermentatif" olarak sınıflandırılmaktadır.

3.2.3.3. Gluten agar besiyeri kullanılarak LAB izolatlarının gluten parçalama yeteneğinin belirlenmesi

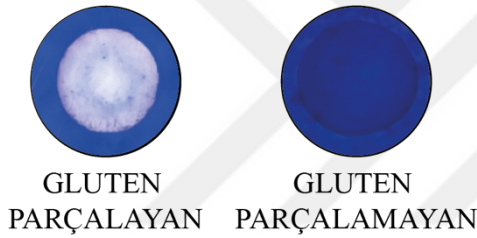
Bu test için gluten parçalama yetenekleri belirlenecek olan LAB izolat ve suşları MRS Broth besiyerinde 24 saat inkübasyon ile aktiflenmiştir.

Gluten parçalama yeteneklerini belirlemek amacıyla önce yapılacak testin ilk aşamasında besiyerine alışmaları amacıyla gluten broth besiyeri kullanılmıştır. Gluten agar besiyeri ise, gluten broth besiyerinin katı halidir.

İkişer kez aktiflenen LAB ve maya kültürlerinin (LAB'lar için MRSB, mayalar için MEB) yoğunlukları McFarland 0,5 standartına göre ayarlanmıştır. Ayarlanan yoğunluktaki kültürlerden 100'er µl alınarak gluten broth besiyerine inoküle edilmiş ve LAB'lar 35°C'de,

mayalar 28°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda gelişen kültürlerden 10'ar µl alınarak içinde gluten agar besiyeri bulunan petrilere damlatılarak ekim yapılmıştır. Petriler, LAB'lar 35°C'de, mayalar 28°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Çalışma her izolat için 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. İnkübasyon sonrasında her bir petri yüzeyi Coomassie Brilliant Blue R-250 protein boyası ile kaplanmıştır ve 5 dk bekletilerek boyanmıştır. Sürenin sonunda petrilere kalan boyanın fazlası dökülerek petriye boya uzaklaştırma çözeltisinden eklenmiştir ve 24 saat boyunca LAB'lar 35°C'de, mayalar 28°C'de etüvde bekletilmiştir. Koloni gelişimi gözlenen gluten agar besiyerinde, koloni tabanının boyanmaması, o izolatın gluteni parçaladığını göstermektedir (Şekil 3.1). Deneyin sonucunda, gluten parçalama yeteneği bulunan tüm izolatlar sonraki denemelerde kullanılmak üzere ayrılarak saklanmıştır.



Şekil 3.1 Gluten parçalayan ve gluten parçalamayan kolonilerin farkı

Gluten parçalama testinin güvenilirliğini test etmek için, gluteni parçaladığı belirlenen LAB ve mayalar, içeriğinde gluten bulunmayan gluten agar kontrol besiyerine ekilmiş ve aynı yöntemle boyanmıştır. Boyama sonucunda petri yüzeyinde gelişen koloni tabanlarının tamamen boyanmış olması beklenmektedir.

3.2.3.4. Birlikte üreme (coexistence) testi

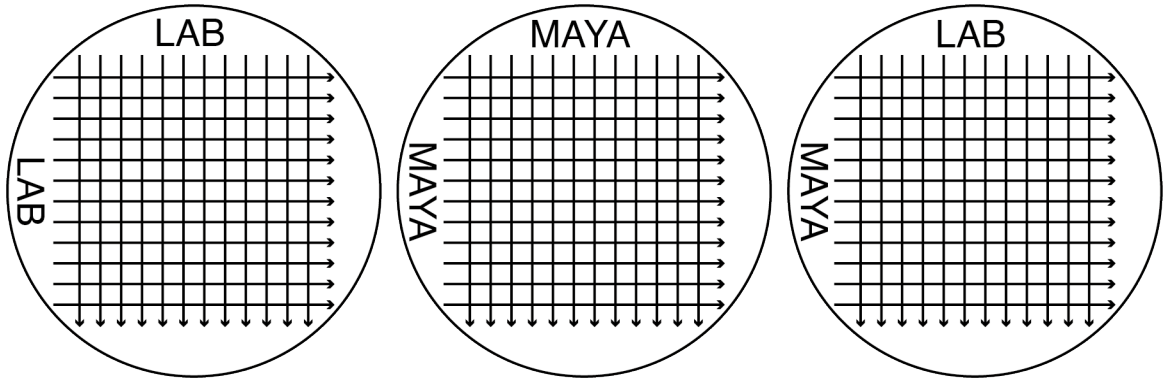
Gluten parçalayan LAB ve mayalar seçilerek bunlardan bir ekşi maya bileşimi hazırlanması amaçlandığından, gluten parçalayan izolatların birbirlerine antagonistik etki gösterip göstermediğini belirlemek üzere birlikte üreme testi gerçekleştirilmiştir.

Birlikte üreme testi için test edilecek izolatlar uygun broth besiyerlerinde aktiflenmiştir. Çalışma için 14 cm petrilerde MRSA (bakteri izolatları için) ve MEA (maya izolatları için) besiyerleri hazırlanmıştır.

Birlikte üreme testi LAB izolatları LAB izolatlarına, maya izolatları maya izolatlarına ve LAB izolatları ve maya izolatlarına karşı olacak şekilde tasarlanmıştır.

Bakteri ve maya izolatları yukarıda belirtilen uygun besiyerlerine steril ahşap çubuk çubuklar kullanılarak (bir petride en fazla 11 izolat olacak şekilde) çizgi ekim yöntemiyle ekilmiştir.

Antagonistik etkileri belirlenecek olan bir grup izolat birbirlerine temas etmeyen çizgiler halinde eşit aralıklarla ekilmiştir. Daha sonra bir grup izolat, aynı yöntemle, önceki ekim çizgilerini dik kesecek şekilde ekilmiştir. Ekim yöntemi Şekil 3.2’de şematize edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan MRSA petrileri 35°C’de 24 saat, MEA petrileri ise 28°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.2 Birlikte üreme testi şematik gösterimi

Maya ve LAB’ların birlikte üreme testini yapmak için her ikisinin iyi büyüyebileceği ortak besiyerini belirlemek için maya izolatlarının MRSA besiyerinde büyümesi kontrol edilmiştir. Maya izolatları MRSA petrilerine 10’ar ıl olacak şekilde ekilmiş, 35°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda maya izolatlarının MRSA besiyerinde iyi üredikleri gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, LAB ve maya izolatları arasındaki

antagonistik etkiyi belirlemek için MRSA besiyerinin uygun olduğuna karar verilmiştir. LAB izolatları ve maya izolatları steril ahşap çubuklar kullanılarak (bir petride en fazla 11 izolat olacak şekilde) yukarıda anlatıldığı şekilde ekilmiş, petriler 35°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.4. Unun mikrobiyal yükü

Çalışmada kullanılan unun mikrobiyal yükünün belirlenmesi oluşturulacak hamura inokule edilecek olan mikrobiyotaya oluşturabileceği etkilerin ön görülebilmesi adına yapılmıştır. NA petrileri un içerisindeki toplam bakteri sayımı ve MEA petrileri un içerisindeki maya-küf sayımı için kullanılmıştır.

Hamur oluşturmak için kullanılan ticari buğday ununun mikrobiyal yükünün ölçülebilmesi amacıyla un örneği aseptik koşullarda 10 g tartıldıktan sonra 90 g steril FTS ile karıştırılmıştır. Bu karışım serinin 10^{-1} dilüsyonu olmuştur. Karışımdan aseptik koşullarda 1 ml alınarak 9 ml steril FTS ile karıştırılmış ve 10^{-2} dilüsyonu hazırlanmıştır. Bu şekilde 10^{-5} dilüsyon hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonların her birinden 3’er petride NA besiyerine 3’er petride MEA besiyerine 1’er ml aktarılmış ve steril drigaski spatülü kullanılarak yüzeye yayma işlemi yapılmıştır. Ekim yapılan NA petrileri 35°C ve MEA petrileri 28°C’de öncelikle 24 saat inkübe edilmiş üreme görülmemesi sebebiyle inkübasyon 48 saate çıkartılmış ve yine üremenin çok az olması sebebiyle 72 saate çıkartılmıştır, ardından oluşan koloniler fotoğraflanmış ve sayılmıştır. Gramdaki toplam aerobik bakteri sayısı ve toplam maya-küf sayısı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

Koloni sayısı ortalaması X Seyreltme faktörü/ Pipetlenen hacim (ml)

3.2.5. Hamur verimi (HV) ayarlanması

Hamur verimi özellikle ekşi mayalı ekmek hamurlarında, hamurun performansını etkileyen önemli faktörlerden birisidir. Hamur verimi, hamur oluşturulmadan önce hesaplanan un ve su miktarına göre belirlenmektedir ve ideal hamur verimi değeri 200 olarak bilinmektedir (Örü, 2021). Hamur verimi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$HV = (\text{Kullanılan Un Miktarı} + \text{Kullanılan Su Miktarı}) / \text{Kullanılan Un Miktarı} \times 100$$

3.2.6. Seçilen LAB ve maya izolatları ile yeni bir ekşi maya bileşimi hazırlama

Çalışmanın bu aşamasında, LAB ve maya izolatlarının fermentatif özellikleri dikkate alınarak yeni bir ekşi maya bileşimi hazırlanması amaçlanmıştır. Bu amaçla öncelikle gluten parçalama yeteneği ve asitleştirme yeteneği yüksek LAB izolatları belirlenmiştir. Bunlar arasından da bir homofermentatif ve bir heterofermentatif LAB seçilmiştir. Mayalar arasından ise gluten parçalama yeteneği, asitleştirme yeteneği ve gaz oluşturma kapasitesi en yüksek olan izolat seçilmiştir (Fang vd., 2023; Örü ve Ertop, 2023). Böylece iki LAB ve bir maya izolatından oluşan yeni bir ekşi maya bileşimi (yeni bir starter kültür bileşimi) hazırlanmıştır. Bu ekşi maya bileşimi daha sonraki çalışmalarda ekmek hamuru yapımında starter kültür olarak kullanılmak üzere aşağıdaki yöntemlerle fermentasyona hazırlanmıştır. Ayrıca ticari ekşi maya, ticari *Saccharomyces cerevisiae* mayası ve sadece un kullanılarak kontrol fermentasyonları yürütülerek, yeni ekşi maya bileşimi ile yapılan fermentasyonlarla karşılaştırılmıştır. Tüm fermentasyon denemeleri en az üç tekrar olacak şekilde yürütülmüştür.

Yeni ekşi maya bileşimi ve kontrol serisi ile yapılan fermentasyon öncesi, hamur verimini 200'e ayarlamak için bölüm 3.2.5'te verilen HV formülü kullanılmıştır (Fang vd., 2023; Örü ve Ertop, 2023).

3.2.6.1. Ekmek hamuru için seçilen izolat/ suşların hazırlanması

Seçilen ve uygun sıvı besiyerlerinde 2 kez aktiflenen 24 saatlik LAB izolat ve suşları 15 ml MRSB, maya izolatları ise 5 ml MEB tüplerinde her birinden toplam 45 ml elde edilecek şekilde ekimleri yapılmıştır. Maya izolatları 28°C ve LAB izolatları 35°C sıcaklıkta 18 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonrası otoklav cihazında 121°C sıcaklıkta 15 dk steril edilen 50 ml hacmindeki kapaklı santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Önceden soğumaya bırakılan soğutmalı

santrifüj cihazında +4°C’de 3500 rpm hızında 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjlenen kültürlerin aseptik koşullarda süpernatant kısmı atılmış, pelete +4°C’de 25 ml steril FTS eklenmiş, homojen hale gelene kadar vorteks cihazı ile karıştırılmıştır. Homojen hale gelen pelet, FTS karışımı yeniden +4°C’de 3500 rpm hızında 10 dk santrifüj edilmiştir. Steril FTS ile yıkama işlemi toplam 2 kez tekrarlanmış son santrifüj ürününün süpernatantı atılmıştır.

Santrifüj ve yıkama işlemleri sonucunda elde edilen peletler +4°C’de 1’er ml steril FTS ile çözülmüştür. Önceden hazırlanmış +4°C’de steril FTS tüplerine hazırlanan bakteri ve maya süspansiyonlarından eklenerek her bir tüpün inokulum yoğunluğu Mc Farland 4 standardına ayarlanması sağlanmıştır. Kullanılmayan 1 ml FTS eklenmiş süspansiyonlar -20°C dondurucuda saklanmıştır. Elde edilen inokulum yoğunluğu Mc Farland 4 ayarlanan bakteri ve maya içerikli FTS tüpleri 30 dk içerisinde kullanılmak üzere +4°C buzdolabına kaldırılmıştır (Fang vd., 2023; Örü ve Ertop, 2023).

3.2.6.2. Ekmek hamurunun oluşturulması

İki LAB suşu ve bir maya izolatından oluşan yeni starter kültür bileşimi ile hamur yapmak için; öncelikle 100 ml steril içme suyu, 100 g buğday unu ve 2 g NaCl aseptik koşullarda, önceden hazırlanan 600 ml steril beherlere tartılmıştır. Bu şekilde yeni starter kültür bileşimi ile hazırlanan hamur sonraki bölümlerde, çizelge ve şekillerde ‘mix’, ‘mix hamur’ olarak ifade edilmiştir. Bu karışımın üzerine, seçilen iki LAB suşu ve bir maya izolatına ait kültür süspansiyonlarının her birinden 1 ml eklenmiştir. Karışım homojen bir hamur kıvamı alana kadar steril cam bagetler ile karıştırılmış ardından cam baget çıkartılıp üstü streç film ile kapatılmıştır. Oluşturulan hamur beherleri 25°C etüvde inkübasyona bırakılmıştır (Fang vd., 2023; Örü ve Ertop, 2023).

3.2.6.3. Ticari kuru ekşi mayalı ekmek hamuru (kontrol grubu)

Yukarıda tarif edilen şekilde (Bölüm 3.2.6.2) hazırlanan hamura %1 oranında (1 g) ‘ticari kuru ekşi maya’ eklenmiştir. Karışım homojen bir hamur kıvamı alana kadar steril cam bagetler ile karıştırılmış ardından cam baget çıkartılıp üstü streç film ile kapatılmıştır.

Oluşturulan hamur beherleri 25°C’de etüvde inkübasyona bırakılmıştır (Fang vd., 2023; Örü ve Ertop, 2023).

3.2.6.4. Ticari normal mayalı ekmek hamuru (kontrol grubu)

Bölüm 3.2.6.2’de anlatılan şekilde hamur hazırlanmış ve %1 oranında (1 g) ‘ticari kuru normal maya’ eklenmiştir. Karışım homojen bir hamur kıvamı alana kadar steril cam bagetler ile karıştırılmış ardından cam baget çıkartılıp üstü streç film ile kapatılmıştır. Oluşturulan hamur beherleri 25°C etüvde inkübasyona bırakılmıştır (Fang vd., 2023; Örü ve Ertop, 2023).

3.2.6.5. Maya eklenmemiş hamur (kontrol grubu)

Negatif kontrol için kullanılacak hamur yine Bölüm 3.2.6.2’de anlatılan şekilde hazırlanmış ancak karışıma herhangi maya veya bakteri eklenmemiştir. Karışım homojen bir hamur kıvamı alana kadar steril cam bagetler ile karıştırılmış ardından cam baget çıkartılıp üstü streç film ile kapatılmıştır. Oluşturulan hamur beherleri 25°C etüvde inkübasyona bırakılmıştır (Fang vd., 2023; Örü ve Ertop, 2023).

3.2.6.6. Oluşturulan hamurlara yapılan testler

Oluşturulan hamurlara kabarma gücü, ağırlık değişimi, toplam titrasyon asitliği, pH değişimi, su aktivitesi, gluten tayini ve kuru madde tayini testleri yapılmıştır.

Ticari mayalardan hazırlanan hamurlar en geç 6 saat sonunda kabarmayı bırakmış ardından inmiştir. Kendi starter kültür bileşimimizle hazırladığımız hamurun (mix hamur) kabarması ancak 18. saatten sonra durmuştur. Bu sebeple kontrol grupları 6 saat, mix hamurlar ise 18 saat fermentasyona bırakılmıştır. Örnek alma periyodu; 0 (başlangıç), 6 ve 18 saat olarak planlanmıştır.

3.2.6.7. Hamur kabarma gücü

Oluşturulan hamurların kabarma miktarlarını ölçmek amacıyla steril 600 ml aynı marka özdeş beherlerde inkübasyona bırakılan hamurlar kullanılmıştır. Her hamur örneği

için 3 paralel çalışma yapılmıştır. Hamurlar inkübasyona alınmadan önce beher üzerine seviyesi cam kalemi ile işaretlenmiş ve fotoğraflanmıştır. İnkübasyon süresince saat başı bu işleme devam edilmiştir, sadece mix beheri 6 saat inkübasyon sonrası 18. saatte ölçülmüştür. İnkübasyon sonunda beherlerdeki çizgiler, masaya sabitlenmiş bir cetvel yardımıyla milimetre olarak ölçülmüştür. Beherin masaya temas eden noktası 0 noktası olarak alınmıştır. Elde edilen sonuçlar not alınarak tablolaştırılmış, ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak grafikleri oluşturulmuştur (İpek, 2017).

3.2.6.8. Hamur ağırlığı

Hamurlar darası kaydedilmiş, steril, 600 ml, aynı marka beherlerde inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmada her hamur örneği için 3 beherde inkübasyon yapılmıştır. Hamurların bulunduğu beherler inkübasyona alınmadan önce (0. saat) ve 6 saatlik inkübasyon sonrası tartılmıştır. Sadece mix beheri 0, 6 ve 18 olmak üzere 3 farklı inkübasyon süresinde tartılmıştır. Tartım sonuçları beherlerin darasından çıkartılarak tablolaştırılmış, ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak grafikleri oluşturulmuştur (Gül vd., 2021).

3.2.6.9. Hamur toplam titrasyon asitliği ve pH değişimi

Oluşturulan hamurların toplam titrasyon asitliği (TTA) ve pH değerleri inkübasyon öncesi ve sonrası ölçülmüş, sadece mix hamurunun diğerlerinden farklı olarak 0, 6 ve 18. saat değerleri ölçülmüştür. Her hamur örneği için 3 ayrı beherde inkübasyon yapılmıştır.

Her beherden 10 g hamur örneği 100 ml saf su ile seyreltilerek 250 ml beherlere alınmıştır. Karışıma manyetik balık eklenerek manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılmaya başlanmıştır. Sıvının rengi süt beyazına yakın bir hal aldığı anda pH metre probu kontrollü biçimde behere daldırılmış, pH değeri not alınmıştır.

TTA ölçümüne başlamak için 100 ml'lik büret içerisine hazırlanan 0.1N NaOH doldurulmuştur. pH ölçümü için yukarıda anlatılan şekilde hazırlanan hamurların pH değerleri 8,4'e gelene kadar 0.1N NaOH çözeltisi titre edilmiştir. Titrasyon sonucunda sarf olan 0.1N NaOH miktarı not alınmıştır. Formül kullanılarak TTA hesaplanmıştır (Yıldız vd., 2021).

$$TTA = 0,1 \text{ N NaOH miktarı} / \text{Örnek Miktarı} \times 10$$

(Örnek miktarı bu çalışma için 10 g)

Elde edilen bulgular tablolaştırılmış, ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak grafikleri oluşturulmuştur.

3.2.6.10. Hamur su aktivitesi (aw)

Hamur örneklerinden inkübasyon öncesi ve sonrası örnekler alınmış, aw ölçüm cihazının plastik ölçüm kaplarının tabanını kaplayacak şekilde yayılmıştır. Cihaza örnekler sırayla ve tek tek yüklenmiş sonuçlar not alınmış, tablolaştırılmış, ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak grafikleri oluşturulmuştur.

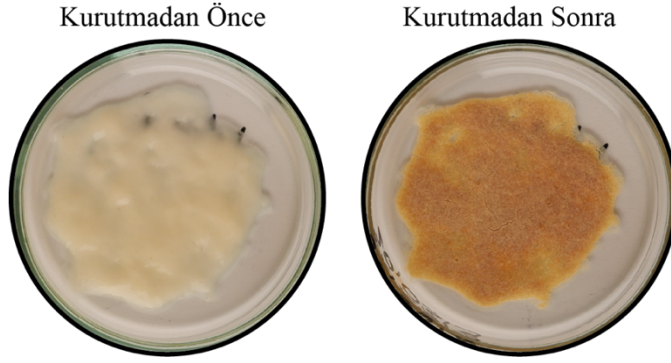


Şekil 3.3 Su aktivitesi cihazı ve ölçümü

3.2.6.11. Hamur % kuru madde tayini

Hamur örneklerinden inkübasyon öncesi ve inkübasyon sonrası (sadece mix hamuru 0, 6, 18. saat) örnekler alınmış ve analitik terazi ile daraları alınmış 5 cm çapındaki petriler içine 1'er g örnek tartılmıştır. Yaş örneklerin bulunduğu petriler 130°C etüvde sabit ağırlığa ulaşana dek kurutulmuştur. Sabit ağırlığa ulaşan petriler tartılmış ve kaydedilen daralarından çıkartılmıştır. Aşağıda verilen formül kullanılarak % kuru madde değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar tablolaştırılmış, ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak grafikleri oluşturulmuştur (Işıkalp, 2019).

$$\% \text{ kuru madde} = (\text{kuru ağırlık} / \text{örnek miktarı}) \times 100$$



Şekil 3.4 Kurutmadan önceki ve sonraki kuru madde analizi petrilere

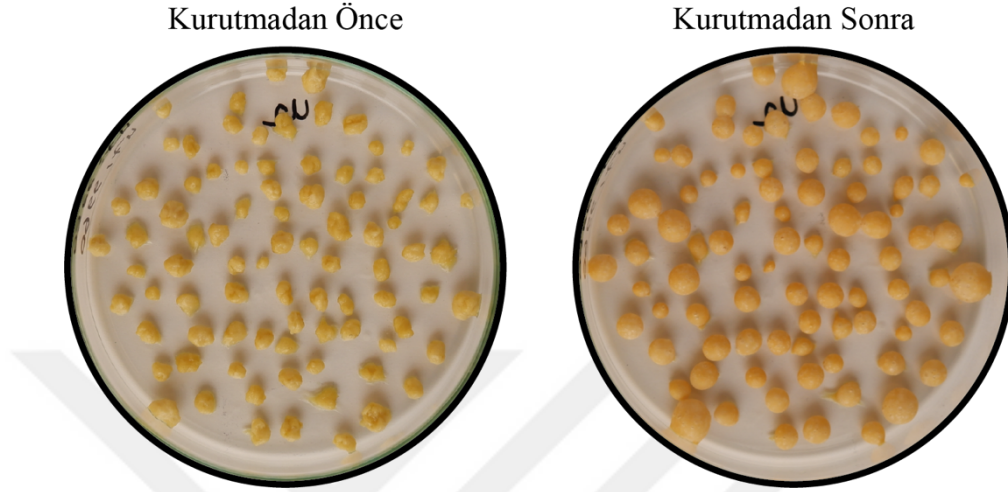
3.2.6.12. Hamur gluten tayini

Çalışmada glutenin suda çözünmemesi prensibine dayanan bir gluten tayini yöntemi kullanılmıştır (Anonim, 2008). Çalışma sırasında 3'er paralel olarak inkübasyona bırakılan hamur örneklerinin fermentasyon öncesi ve fermentasyon sonrası (mix hamuru için 6. saatte ara ölçüm yapılmıştır) yaş gluten tayini yapılmış sonrasında elde edilen gluten parçaları kurutularak kuru gluten miktarına ulaşılmıştır.

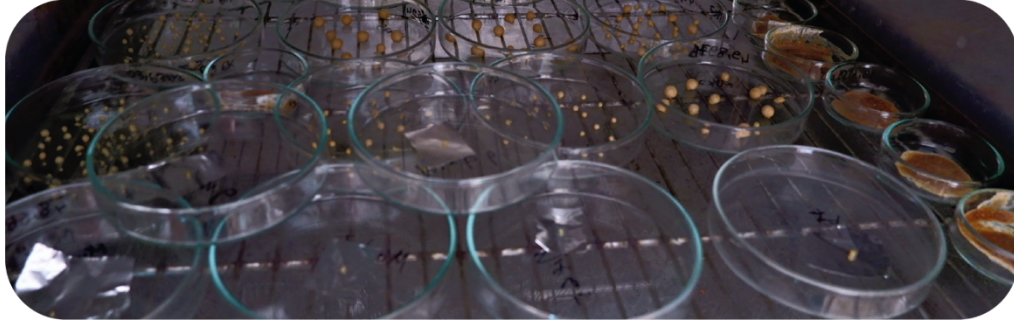
Gluten tayini yapılacak hamur örneklerinden 50'şer g alınarak 200 ml'lik beherlere alınmış, üzerlerine hazırlanan gluten tayini yıkama çözeltisinden (%2 NaCl içeren saf su) 27,5 ml aktarılmıştır. Elde edilen karışım yoğurularak homojen hale getirilmiş ve 50 dakika bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda hamurlu karışım ince porlu plastik süzgeç yardımıyla süzölmüştür. Süzgeçte kalan gluten parçaları toparlanmış ve çeşme suyu ile yıkanmaya başlanmıştır. Hamur 3 parmak arasında yassı hale getirilip nişastadan iyice uzaklaştırıldığında 2 dakikalık sayaç başlatılıp yıkamaya devam edilmiştir. Sürenin sonunda yıkama suyundan örnek alınarak lugol damlatılmış ve nişastanın tamamen uzaklaştığından emin olunmuştur. Lugol damlatıldığında mavi-mor renk oluşumu gözlenmesi durumunda yıkamaya devam edilmiştir.

Elde edilen esnek ve yapışkan sakız benzeri yapı hamur içerisindeki yaş gluteni oluşturmaktadır. Elde edilen yaş gluten minik parçalara ayrılarak analitik terazi kullanılarak darası kaydedilmiş 9 cm petrilere yayılmış, yine analitik terazi kullanılarak ölçölmüştür. Yaş ağırlığı ölçölen ve petri darası çıkartılarak net ağırlığı hesaplanan glutenler 130°C etüvde sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur. Kuruyan glutenlerin bulunduğu petrilere analitik

terazi kullanılarak yeniden ölçülmüş ve kaydedilen petri daraları çıkartılarak kuru gluten miktarı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar tablolastırılmış, ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak grafikleri oluşturulmuştur.



Şekil 3.5 Yaş ve kuru gluten parçalarının bulunduğu petriler



Şekil 3.6 Etüvde kurutulan gluten ve kuru madde petrileri

3.2.7. Hamurların pişirilmesi (ekmek yapımı)

Belirlenen süre ve sıcaklıklarda inkübasyona tabi tutulan hamurlar, darası kaydedilmiş alüminyum kaplara boşaltılmıştır. Her hamur türü için 3 tekrarlı çalışma yapılmıştır. İçinde hamur bulunan alüminyum kaplar etüve konmuş ve ekşi hamur ekmeği üreten fırıncılardan edinilen bilgiye göre 150°C'de 2 saat pişirilmiştir. Etüvden çıkartılan ekmekler diğer testler yapılmak üzere soğumaya bırakılmıştır.



Şekil 3.7 Etüvde pişirilen ekmekler

3.2.8. Pişirilen hamurlara (ekmeklere) yapılan testler

Piştirilen hamurların (ekmeklerin) oda sıcaklığına gelmesinin akabinde kalitesini ve özelliklerini belirlemek amacıyla ekmek ağırlığı değişimi, ekmek verimi ve pişirme kaybı, raf ömrü, toplam titrasyon asitliği ve pH değişimi, ekmek dokusu testleri yapılmıştır.

3.2.8.1. Ekmek ağırlığı değişimi

Pişmemiş hamur bulunan kaplar tartılmıştır ve kabın darası çıkartılarak kaydedilmiştir. Sonraki aşamada soğuyan ekmek de tartılmıştır ve kabın darası çıkartılarak kaydedilmiştir. Elde edilen bulgular tablo haline getirildikten sonra ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak grafikleri çizilmiştir (Yıldırım, 2020).

3.2.8.2. Ekmek verimi (EV) ve pişirme kaybı (PK)

Hazırlanan hamurlardan üretilen ekmeklerin verimi (EV) ve pişirme kaybı (PK) formüller kullanılarak bulunmuş, sonuçların ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak grafikleri çizilmiştir (Litwinek vd., 2023).

$$EV = \text{Ekmek Ağırlığı} / \text{Piştirilen Hamurun İçeriğindeki Un Miktarı} \times 100$$

$$PK = (\text{Piştirilen Hamurun İçeriğindeki Un Miktarı} - \text{Ekmek Ağırlığı}) / \text{Hamur Ağırlığı} \times 100$$

3.2.8.3. Ekmek raf ömrü

Ekmekler buzdolabı poşetlerine konmuş ve ağızları bağlı şekilde 25°C’de bekletilmiştir. Günlük olarak aynı saatte kontrol edilen ekmek örnekleri küflenene kadar

takip edilmiş, küflenene örnekler otoklav cihazı ile steril edilmiştir. Ekmekler küflenene kadar geçen süre, belirlenen koşullardaki raf ömrü olarak kaydedilmiştir.

3.2.8.4. Ekmek toplam titrasyon asitliği ve pH değişimi

Hazırlanan ekmek örneklerinin TTA ve pH değişimi ölçülebilmesi için katı halde olan ekmeklerden 5'er g tartılıp 100 ml beherlerde 50 ml distile su ile manyetik karıştırıcı yardımıyla çözülmüştür. Çözünme maksimum seviyeye ulaştığında pH metre probu behere daldırılmış ve pH değeri ölçülmüştür. Örneklerin pH ölçümü yapıldıktan sonra, TTA değerleri bölüm 3.2.6.9'da anlatılan şekilde belirlenmiştir.

3.2.8.5. Ekmek dokusu

Ekmek dokusu analizi için nicel bir yöntem bulunmaması sebebiyle pişip soğuyan ekmekler ortadan bıçak yardımı ile kesilerek dokusu incelenmiş ve fotoğraflanmıştır. Gözeneklerin büyüklüğü ve miktarı gözlenerek, kontrol amaçlı yapılan ekmeklerle karşılaştırılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Ekşi Maya Örneklerinden LAB ve Maya İzolasyonu, Saflaştırma ve Saf Kültürlerin Stoklanması

Çeşitli kaynaklardan elde edilen ekşi maya örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucunda 171 izolat elde edilmiştir. Bu izolatların 50'si gram pozitif bakteri, 43'ü gram negatif bakteri ve 78'i mayadır. İzole edilen gram pozitif bakterilerden 45'i basil formunda, 2'si kok formunda ve 3'ü koko-basil formundadır. LAB'lar gram pozitif olduğundan, diğer testler sadece 50 gram pozitif izolatına uygulanmıştır. İzolat numaralarının ilk karakteri olan L ve M harfleri izolatın olası LAB veya maya olduğunu belirtmek için, S harfi ise stok LAB suşlarını ayırmak için eklenmiştir.

4.2. İzole Edilen Bakterilerden LAB Olanların Belirlenmesi

Ekşi maya örneklerinden izole edilen 50 adet gram pozitif bakterinin LAB olup olmadığı; katalaz enzimi varlığı, aerobik/anaerobik koşullarda üreme, spor oluşturma ve hareketlilik testleri yapılarak belirlenmiştir. Çalışmanın ilerleyen aşamalarında LAB'larda olması gereken özellikleri (gram pozitif, katalaz enzimi bulundurmayan, spor oluşturmayan, hareketsiz) karşılayan izolatlar 'olası LAB' olarak değerlendirilmiştir, bu özellikleri karşılamayan izolatlar ise çalışmadan çıkarılmıştır. Bu amaçla öncelikle katalaz testi ve aerobik ve anaerobik koşullarda üreme testleri yapılmıştır. LAB'lar aerotolerant olduklarından her iki koşulda da üremeleri gerekmektedir.

Çizelge 4.1'de 50 gram + bakteri izolatının izolasyon kaynağı, hücre morfolojisi, katalaz testi, aerobik ve anaerobik koşullarda üreme testlerinden elde edilen sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 4.1 Ekşi maya örneklerinden izole edilen gram pozitif bakterilerin izolasyon kaynağı, hücre morfolojisi, aerobik/anaerobik koşullarda üremesi, katalaz enzimi varlığı testi sonuçları

İzolat No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Hücre Morfolojisi	Aerobik Üreme	Anaerobik Üreme	Katalaz Testi
L1	Yşr 10 ⁻⁴ 1	Geyve Yöresel Market	Basil	+	+	+
L2	Yşr 10 ⁻⁴ 2	Geyve Yöresel Market	Basil	+	+	-
L3	Yşr 10 ⁻⁴ 3	Geyve Yöresel Market	Basil	+	+	+
L4	Yşr 10 ⁻⁴ 5 1	Geyve Yöresel Market	Basil	+	+	+
L5	Kara 10 ⁻³ 1	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L6	Kara 10 ⁻³ 2	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L7	Kara 10 ⁻³ 3	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L8	Kara 10 ⁻³ 4	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L9	Kara 10 ⁻³ 5	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L10	Kara 10 ⁻⁴ 1	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L11	Kara 10 ⁻⁴ 2	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L12	Kara 10 ⁻⁴ 3	Eskişehir Kara Fırın	Kokobasil	+	+	+
L13	Kara 10 ⁻⁴ 4	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L14	Kara 10 ⁻⁴ 5	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L15	Kara 10 ⁻⁵ 1	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L16	Kara 10 ⁻⁵ 3	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L17	Kara 10 ⁻⁵ 4	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L18	Kara 10 ⁻⁵ 5	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L19	Kara 10 ⁻⁶ 1	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L20	Kara 10 ⁻⁶ 3	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L21	Kara 10 ⁻⁶ 5	Eskişehir Kara Fırın	Basil	+	+	-
L22	Nar 10 ⁻³ 1	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L23	Nar 10 ⁻³ 2	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L24	Nar 10 ⁻³ 3	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L25	Nar 10 ⁻³ 5	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L26	Nar 10 ⁻⁴ 1	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L27	Nar 10 ⁻⁴ 2	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L28	Nar 10 ⁻⁴ 3	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L29	Nar 10 ⁻⁴ 5	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-

Çizelge 4.1 Ekşi maya örneklerinden izole edilen gram pozitif bakterilerin izolasyon kaynağı, hücre morfolojisi, aerobik/anaerobik koşullarda üreme, katalaz enzimi varlığı testi sonuçları (devam)

İzolat No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Hücre Morfolojisi	Aerobik Üreme	Anaerobik Üreme	Katalaz Testi
L30	Nar 10 ⁻⁵ 2	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L31	Nar 10 ⁻⁵ 3	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L32	Nar 10 ⁻⁵ 5	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L33	Nar 10 ⁻⁶ 2	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L34	Nar 10 ⁻⁶ 5	Eskişehir Nar Fırın	Basil	+	+	-
L35	Bil 10 ⁻² 1	Bilecik Ev Üretimi	Basil	+	+	-
L36	Bil 10 ⁻³ 1	Bilecik Ev Üretimi	Basil	+	+	-
L37	Bil 10 ⁻³ 3	Bilecik Ev Üretimi	Basil	+	+	-
L38	Bil 10 ⁻³ 5	Bilecik Ev Üretimi	Basil	+	+	-
L39	Bil 10 ⁻⁴ 1	Bilecik Ev Üretimi	Basil	+	+	-
L40	Bil 10 ⁻⁴ 2	Bilecik Ev Üretimi	Basil	+	+	-
L41	Bil 10 ⁻⁴ 3	Bilecik Ev Üretimi	Basil	+	+	-
L42	Bil 10 ⁻⁴ 5	Bilecik Ev Üretimi	Basil	+	+	-
L43	Bil 10 ⁻⁶ 1	Bilecik Ev Üretimi	Basil	+	+	-
L44	Şen 10 ⁻² 1	Kütahya Şenerler Fırını	Kok	+	+	-
L45	Şen 10 ⁻² 2	Kütahya Şenerler Fırını	Kokobasil	+	+	-
L46	Şen 10 ⁻² 3	Kütahya Şenerler Fırını	Basil	+	+	-
L47	Han 10 ⁻² 2	Kütahya Hanımeli Fırını	Kokobasil	+	+	-
L48	Han 10 ⁻² 3	Kütahya Hanımeli Fırını	Kok	+	+	-
L49	Han 10 ⁻⁵ 2	Kütahya Hanımeli Fırını	Basil	+	+	-
L50	Han 10 ⁻⁶ 1	Kütahya Hanımeli Fırını	Basil	+	+	+

Geyve Yöresel marketten alınan ekşi maya örneğinden izole edilen 3 bakteri izolatu (L1, L3 ve L4); Eskişehir Kara fırından alınan ekşi maya örneğinden izole edilen 2 bakteri izolatu (L9, L12); Eskişehir Nar fırından alınan ekşi maya örneğinden izole edilen 2 bakteri izolatu (L29, L34); Kütahya Hanımeli fırınından alınan ekşi maya örneğinden izole edilen 3 bakteri izolatu (L48, L49 ve L50) katalaz testi sonucuna göre katalaz (+) olduğundan çalışmadan çıkartılmıştır. Çalışmaya gram (+), katalaz (-) olan, hem aerobik hem anaerobik

koşullarda üreme yeteneğine sahip 40 bakteri izolatu ile devam edilmiştir. Seçilen 40 bakteri izolatının spor oluşturma potansiyeli ve hareketliliği test edilmiştir.

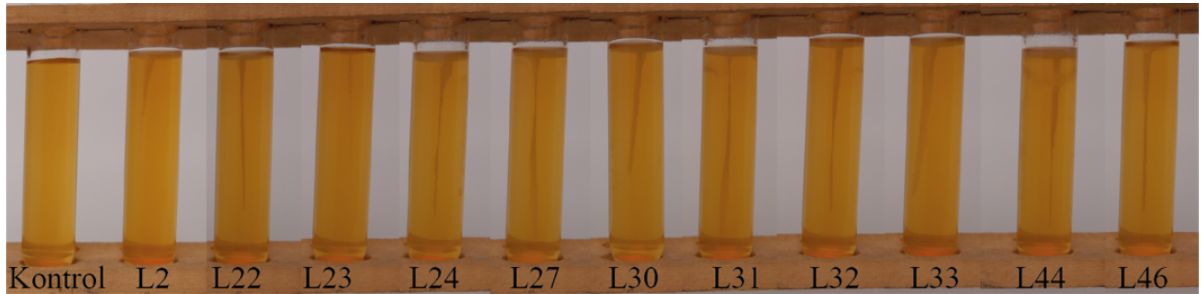
Çizelge 4.2 Seçilen bakterilerin hareketlilik ve sporulasyon testi sonuçları

İzolat No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Hareketlilik	Sporulasyon
L2	Yşr 10 ⁻⁴ 2	Geyve Yöresel Market	-	-
L5	Kara 10 ⁻³ 1	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L6	Kara 10 ⁻³ 2	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L7	Kara 10 ⁻³ 3	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L8	Kara 10 ⁻³ 4	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L10	Kara 10 ⁻⁴ 1	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L11	Kara 10 ⁻⁴ 2	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L13	Kara 10 ⁻⁴ 4	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L14	Kara 10 ⁻⁴ 5	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L15	Kara 10 ⁻⁵ 1	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L16	Kara 10 ⁻⁵ 3	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L17	Kara 10 ⁻⁵ 4	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L18	Kara 10 ⁻⁵ 5	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L19	Kara 10 ⁻⁶ 1	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L20	Kara 10 ⁻⁶ 3	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L21	Kara 10 ⁻⁶ 5	Eskişehir Kara Fırın	-	-
L22	Nar 10 ⁻³ 1	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L23	Nar 10 ⁻³ 2	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L24	Nar 10 ⁻³ 3	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L25	Nar 10 ⁻³ 5	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L26	Nar 10 ⁻⁴ 1	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L27	Nar 10 ⁻⁴ 2	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L28	Nar 10 ⁻⁴ 3	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L30	Nar 10 ⁻⁵ 2	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L31	Nar 10 ⁻⁵ 3	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L32	Nar 10 ⁻⁵ 5	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L33	Nar 10 ⁻⁶ 2	Eskişehir Nar Fırın	-	-
L35	Bil 10 ⁻² 1	Bilecik Ev Üretimi	-	-

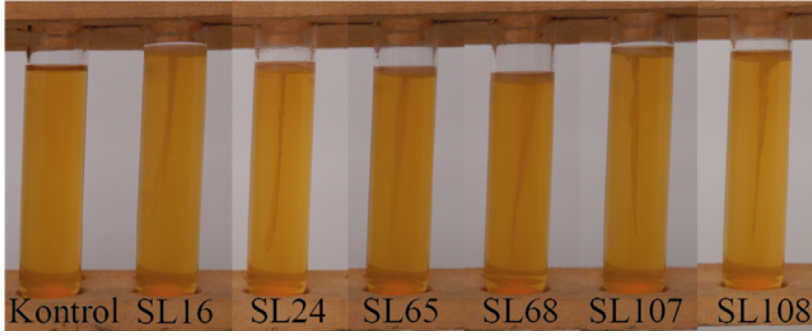
Çizelge 4.2 Seçilen bakterilerin hareketlilik ve sporulasyon testi sonuçları (devam)

İzolot No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Hareketlilik	Sporulasyon
L36	Bil 10 ⁻³ 1	Bilecik Ev Üretimi	-	-
L37	Bil 10 ⁻³ 3	Bilecik Ev Üretimi	-	-
L38	Bil 10 ⁻³ 5	Bilecik Ev Üretimi	-	-
L39	Bil 10 ⁻⁴ 1	Bilecik Ev Üretimi	-	-
L40	Bil 10 ⁻⁴ 2	Bilecik Ev Üretimi	-	-
L41	Bil 10 ⁻⁴ 3	Bilecik Ev Üretimi	-	-
L42	Bil 10 ⁻⁴ 5	Bilecik Ev Üretimi	-	-
L43	Bil 10 ⁻⁶ 1	Bilecik Ev Üretimi	-	-
L44	Şen 10 ⁻² 1	Kütahya Şenerler Fırını	-	-
L45	Şen 10 ⁻² 2	Kütahya Şenerler Fırını	-	-
L46	Şen 10 ⁻² 3	Kütahya Şenerler Fırını	-	-
L47	Han 10 ⁻² 2	Kütahya Hanımeli Fırını	-	-

Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1’ de görüldüğü gibi 40 bakteri izolatının da hareketsiz olduğu ve spor oluşturmadığı belirlenmiştir. Bu durumda 40 izolat olası LAB olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca önceden izole edilmiş 6 LAB suşunun da hareketliliği test edilmiştir, hepsinin hareketsiz olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.1 LAB izolatlarının hareketlilik sonuçları



Şekil 4.2 Stok LAB suşlarının hareketlilik sonuçları

4.3. LAB ve Mayalar İçin Yapılan Testler

İzole edilen LAB ve mayalar ile stokta bulunan LAB suşlarından çalışmamıza uygun olanlarının seçilebilmesi amacıyla gluten parçalama yeteneği, glukozdan gaz oluşturma ve birlikte üreme testleri yapılmıştır.

4.3.1. LAB ve maya izolatlarının gluten parçalama yeteneğinin belirlenmesi

Çalışmaya devam edilmesine karar verilen, temel testleri tamamlanan 40 olası LAB ve 78 adet maya izolatının ve stoktaki türü belli 6 LAB suşunun gluten proteinini parçalama yetenekleri, içinde tek azot kaynağı olarak gluten bulunan GUA besiyerinde belirlenmiştir. Yüzeyinde LAB/maya üremiş plaklar C.B.B. R-250 protein boyası ile boyandıktan sonra boya uzaklaştırması yapılmış ve petriler, koloni tabanlarında boyanmamış alanların (dekolorize alanlar) varlığı açısından incelenmiştir. Dekolorize alanlar büyüklüklerine göre derecelendirilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Ekşi maya örneklerinden izole edilen olası LAB'ların, stok LAB suşlarının ve ekşi maya örneklerinden izole edilen mayaların GUA besiyerinde gluten parçalama sonuçları

İzolat No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Gluten Parçalama
L2	Yşr 10 ⁻⁴ 2	Geyve Yöresel Market	+++
L5	Kara 10 ⁻³ 1	Eskişehir Kara Fırın	-
L6	Kara 10 ⁻³ 2	Eskişehir Kara Fırın	-
L7	Kara 10 ⁻³ 3	Eskişehir Kara Fırın	-
L8	Kara 10 ⁻³ 4	Eskişehir Kara Fırın	-
L10	Kara 10 ⁻⁴ 1	Eskişehir Kara Fırın	-
L11	Kara 10 ⁻⁴ 2	Eskişehir Kara Fırın	-
L13	Kara 10 ⁻⁴ 4	Eskişehir Kara Fırın	-
L14	Kara 10 ⁻⁴ 5	Eskişehir Kara Fırın	-

+++ : koloni zeminin 3/3'ü boyanmamış

++ : koloni zemininin 2/3'ü boyanmamış

+: koloni zemininin 1/3'ü boyanmamış

-: koloni zemininin tamamı boyanmış

Çizelge 4.3 Ekşi maya örneklerinden izole edilen olası LAB'ların, stok LAB suşlarının ve ekşi maya örneklerinden izole edilen mayaların GUA besiyerinde gluten parçalama sonuçları (devam)

İzolot No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Gluten Parçalama
L15	Kara 10 ⁻⁵ 1	Eskişehir Kara Fırın	-
L16	Kara 10 ⁻⁵ 3	Eskişehir Kara Fırın	-
L17	Kara 10 ⁻⁵ 4	Eskişehir Kara Fırın	-
L18	Kara 10 ⁻⁵ 5	Eskişehir Kara Fırın	-
L19	Kara 10 ⁻⁶ 1	Eskişehir Kara Fırın	-
L20	Kara 10 ⁻⁶ 3	Eskişehir Kara Fırın	-
L21	Kara 10 ⁻⁶ 5	Eskişehir Kara Fırın	-
L22	Nar 10 ⁻³ 1	Eskişehir Nar Fırın	+
L23	Nar 10-3 2	Eskişehir Nar Fırın	+
L24	Nar 10-3 3	Eskişehir Nar Fırın	++
L25	Nar 10-3 5	Eskişehir Nar Fırın	-
L26	Nar 10-4 1	Eskişehir Nar Fırın	-
L27	Nar 10-4 2	Eskişehir Nar Fırın	+
L28	Nar 10-4 3	Eskişehir Nar Fırın	-
L30	Nar 10-5 2	Eskişehir Nar Fırın	+
L31	Nar 10-5 3	Eskişehir Nar Fırın	+
L32	Nar 10-5 5	Eskişehir Nar Fırın	++
L33	Nar 10-6 2	Eskişehir Nar Fırın	+
L35	Bil 10 ⁻² 1	Bilecik Ev Üretimi	-
L36	Bil 10 ⁻³ 1	Bilecik Ev Üretimi	-
L37	Bil 10 ⁻³ 3	Bilecik Ev Üretimi	-
L38	Bil 10 ⁻³ 5	Bilecik Ev Üretimi	-
L39	Bil 10 ⁻⁴ 1	Bilecik Ev Üretimi	-
L40	Bil 10 ⁻⁴ 2	Bilecik Ev Üretimi	-
L41	Bil 10 ⁻⁴ 3	Bilecik Ev Üretimi	-

+++ : koloni zeminin 3/3'ü boyanmamış

++ : koloni zemininin 2/3'ü boyanmamış

+: koloni zemininin 1/3'ü boyanmamış

-: koloni zemininin tamamı boyanmış

Çizelge 4.3 Ekşi maya örneklerinden izole edilen olası LAB'ların, stok LAB suşlarının ve ekşi maya örneklerinden izole edilen mayaların GUA besiyerinde gluten parçalama sonuçları (devam)

İzolot No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Gluten Parçalama
L42	Bil 10 ⁻⁴ 5	Bilecik Ev Üretimi	-
L43	Bil 10 ⁻⁶ 1	Bilecik Ev Üretimi	-
L44	Şen 10 ⁻² 1	Kütahya Şenerler Fırını	+++
L45	Şen 10 ⁻² 2	Kütahya Şenerler Fırını	-
L46	Şen 10 ⁻² 3	Kütahya Şenerler Fırını	+++
L47	Han 10 ⁻² 2	Kütahya Hanımeli Fırını	-
SL 16	<i>L. brevis</i>	Ekşi Maya	+
SL 24	<i>L. rhamnous</i>	Kızıltan Unu	++
SL 65	<i>L. brevis</i>	Siyez Unu	+++
SL 68	<i>L. brevis</i>	Siyez Unu	++
SL 107	<i>L. pentosus</i>	Siyez Unu	+++
SL 108	<i>L. plantarum</i>	Siyez Unu	+
M1	Yşr 10 ⁻² 1	Geyve Yöresel Market	+
M2	Yşr 10 ⁻² 2	Geyve Yöresel Market	+++
M3	Yşr 10 ⁻² 3	Geyve Yöresel Market	++
M4	Yşr 10 ⁻² 4	Geyve Yöresel Market	+
M5	Yşr 10 ⁻² 5	Geyve Yöresel Market	+
M6	Yşr 10 ⁻³ 1	Geyve Yöresel Market	+
M7	Yşr 10 ⁻³ 2	Geyve Yöresel Market	++
M8	Yşr 10 ⁻³ 3	Geyve Yöresel Market	+++
M9	Yşr 10 ⁻³ 4	Geyve Yöresel Market	+
M10	Yşr 10 ⁻³ 5	Geyve Yöresel Market	+
M11	Pln 10 ⁻² 1	Pelin Ev Üretimi	+
M12	Pln 10 ⁻² 2	Pelin Ev Üretimi	+
M13	Pln 10 ⁻² 3	Pelin Ev Üretimi	-
M14	Pln 10 ⁻² 4	Pelin Ev Üretimi	+

+++ : koloni zeminin 3/3'ü boyanmamış

++ : koloni zemininin 2/3'ü boyanmamış

+: koloni zemininin 1/3'ü boyanmamış

- : koloni zemininin tamamı boyanmış

Çizelge 4.3 Ekşi maya örneklerinden izole edilen olası LAB'ların, stok LAB suşlarının ve ekşi maya örneklerinden izole edilen mayaların GUA besiyerinde gluten parçalama sonuçları (devam)

İzolot No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Gluten Parçalama
M15	Pln 10 ⁻² 5	Pelin Ev Üretimi	++
M16	Pln 10 ⁻³ 1	Pelin Ev Üretimi	++
M17	Pln 10 ⁻³ 2	Pelin Ev Üretimi	+
M18	Pln 10 ⁻³ 3	Pelin Ev Üretimi	+
M19	Pln 10 ⁻³ 4	Pelin Ev Üretimi	+
M20	Pln 10 ⁻³ 5	Pelin Ev Üretimi	+
M24	Nar 10 ⁻² 1	Eskişehir Nar Fırın	+
M25	Nar 10 ⁻² 3	Eskişehir Nar Fırın	+
M26	Nar 10 ⁻² 4	Eskişehir Nar Fırın	++
M27	Nar 10 ⁻² 5	Eskişehir Nar Fırın	+
M28	Nar 10 ⁻³ 1	Eskişehir Nar Fırın	+
M29	Nar 10 ⁻³ 2	Eskişehir Nar Fırın	+
M30	Nar 10 ⁻³ 3	Eskişehir Nar Fırın	-
M31	Nar 10 ⁻³ 4	Eskişehir Nar Fırın	++
M32	Nar 10 ⁻³ 5	Eskişehir Nar Fırın	+
M33	Nar 10 ⁻⁴ 1	Eskişehir Nar Fırın	+
M34	Nar 10 ⁻⁴ 3	Eskişehir Nar Fırın	-
M35	Nar 10 ⁻⁴ 4	Eskişehir Nar Fırın	+
M36	Bil 10 ⁻² 1	Bilecik Ev Üretimi	++
M37	Bil 10 ⁻² 2	Bilecik Ev Üretimi	++
M38	Bil 10 ⁻² 3	Bilecik Ev Üretimi	+++
M39	Bil 10 ⁻² 4	Bilecik Ev Üretimi	++
M42	Bil 10 ⁻³ 2	Bilecik Ev Üretimi	++
M44	Bil 10 ⁻³ 4	Bilecik Ev Üretimi	+
M45	Bil 10 ⁻⁴ 1	Bilecik Ev Üretimi	+
M47	Bil 10 ⁻⁵ 1	Bilecik Ev Üretimi	++

+++ : koloni zeminin 3/3'ü boyanmamış

++ : koloni zemininin 2/3'ü boyanmamış

+: koloni zemininin 1/3'ü boyanmamış

-: koloni zemininin tamamı boyanmış

Çizelge 4.3 Ekşi maya örneklerinden izole edilen olası LAB'ların, stok LAB suşlarının ve ekşi maya örneklerinden izole edilen mayaların GUA besiyerinde gluten parçalama sonuçları (devam)

İzolot No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Gluten Parçalama
M49	Şen 10 ⁻² 1	Kütahya Şenerler Fırını	+
M50	Şen 10 ⁻² 2	Kütahya Şenerler Fırını	+
M51	Şen 10 ⁻² 3	Kütahya Şenerler Fırını	+
M52	Şen 10 ⁻² 4	Kütahya Şenerler Fırını	+
M53	Şen 10-3 1	Kütahya Şenerler Fırını	+
M54	Şen 10-3 2	Kütahya Şenerler Fırını	+++
M55	Şen 10-4	Kütahya Şenerler Fırını	+
M56	Şen 10-5	Kütahya Şenerler Fırını	-
M57	OPTF 10-3 1	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	+
M58	OPTF 10-3 2	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	++
M59	OPTF 10-3 3	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	+
M60	OPTF 10-3 4	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	++
M61	OPTF 10-3 5	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	+
M62	OPTF 10 ⁻⁴ 1	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	++
M63	OPTF 10 ⁻⁴ 2	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	++
M64	OPTF 10 ⁻⁴ 3	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	++
M65	OPTF 10 ⁻⁴ 4	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	+
M66	OPTF 10 ⁻⁴ 5	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	++
M67	OPTF 10 ⁻⁵ 1	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	+
M68	OPTF 10 ⁻⁵ 2	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	+
M69	OPTF 10 ⁻⁶ 1	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	+
M70	OPTF 10 ⁻⁶ 2	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	+
M71	Han 10 ⁻² 1	Kütahya Hanımelî Fırını	+++
M72	Han 10 ⁻² 2	Kütahya Hanımelî Fırını	+
M73	Han 10 ⁻² 3	Kütahya Hanımelî Fırını	+
M74	Han 10 ⁻² 4	Kütahya Hanımelî Fırını	-

+++ : koloni zeminin 3/3'ü boyanmamış

++ : koloni zemininin 2/3'ü boyanmamış

+: koloni zemininin 1/3'ü boyanmamış

- : koloni zemininin tamamı boyanmış

Çizelge 4.3 Ekşi maya örneklerinden izole edilen olası LAB'ların, stok LAB suşlarının ve ekşi maya örneklerinden izole edilen mayaların GUA besiyerinde gluten parçalama sonuçları (devam)

İzolat No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Gluten Parçalama
M75	Han 10 ⁻³ 1	Kütahya Hanımeli Fırını	+
M76	Han 10 ⁻³ 2	Kütahya Hanımeli Fırını	+
M77	Han 10 ⁻⁴	Kütahya Hanımeli Fırını	++
M78	Han 10 ⁻⁵	Kütahya Hanımeli Fırını	+

+++ : koloni zeminin 3/3'ü boyanmamış

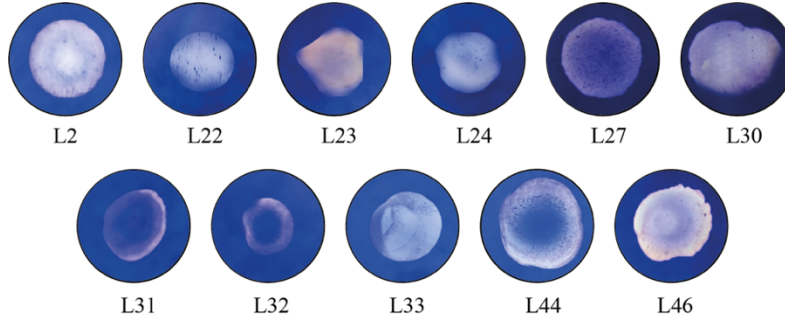
++ : koloni zemininin 2/3'ü boyanmamış

+: koloni zemininin 1/3'ü boyanmamış

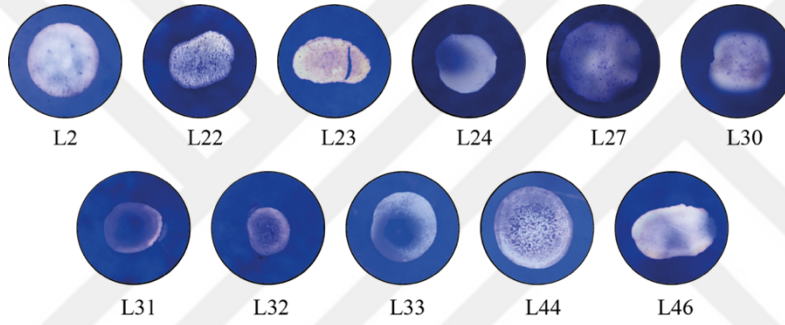
-: koloni zemininin tamamı boyanmış

GUA besiyerinde tek azot kaynağı olarak gluten proteini bulunmaktadır. GUA plaklarına protein boyası yapıldıktan sonra, gelişen kolonilerin tabanında boyanmayan alanların olması, bakterinin/mayanın gluteni parçaladığını göstermektedir. Gluten parçalama yetenekleri açısından test edilen 40 olası LAB izolatından 11 tanesinin farklı seviyelerde gluten proteinini parçaladığı anlaşılmıştır. Bu izolatlar Geyve Yöresel Marketten alınan ekşi maya örneğinden izole edilen L2; Eskişehir Nar Fırından alınan ekşi maya örneğinden izole edilen L22, L23, L24, L27, L30, L31, L32, L33; Kütahya Şenerler Fırınından alınan ekşi maya örneğinden izole edilen L44 ve L46 izolatlarıdır. Stoktaki LAB suşlarından SL65 ve SL107 suşlarının gluteni çok iyi derecede parçaladığı koloni zemininin 3/3'ünün boyanmamış olduğu görülmüş, SL24 ve SL68 suşlarının gluteni iyi parçaladığı koloni zemininin 2/3'ünün boyanmamış olduğu ve SL16 ve SL108 suşlarının koloni zemininin 1/3'ünün boyanmamış olduğu görülmüştür (Şekil 4.3- 4.8). Stoklanan 69 maya izolatından 5 izolatın gluten parçalamadığı; 41 izolatın koloni zemininin 1/3'ünün boyanmamış olduğu, 18 izolatın koloni zemininin 2/3'ünün boyanmamış olduğu, 5 izolatın koloni zemininin 3/3'ünün boyanmamış olduğu ve bu veriler ışığında toplam 64 maya izolatının gluten parçaladığı belirlenmiştir. Buna göre koloni zemininin 3/3'ünün boyandığı 5 maya izolatının tamamı (M2, M8, M38, M54, M71) ile koloni zemininin 2/3'ünün boyandığı maya izolatlarından farklı izolasyon kaynaklardan olacak şekilde 6 maya izolatı (M3, M39, M47, M62, M64, M77) olmak üzere toplam 11 maya izolatı seçilmiştir (Şekil 4.9-4.11). Seçilen izolat ve suşlar karakteristik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılacak testler için

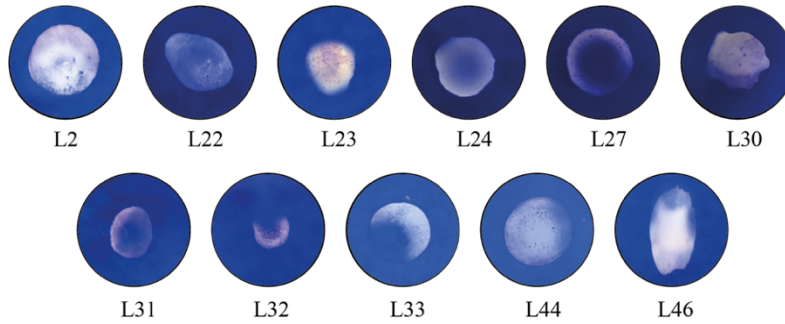
korunması amacıyla %20 gliserol içerikli MEB ve MRS içeren kriyo tüpler içerisinde -86°C’de ve -20°C’de dondurucularda stoklanmışlardır.



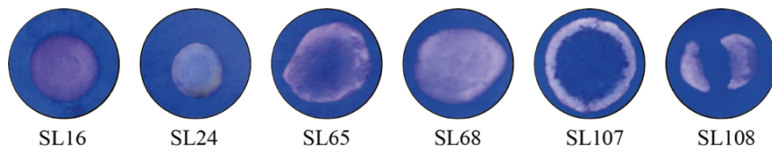
Şekil 4.3 Gluten parçalayan LAB izolatları (1. paralel)



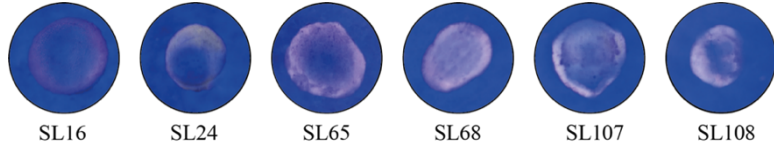
Şekil 4.4 Gluten parçalayan LAB izolatları (2. paralel)



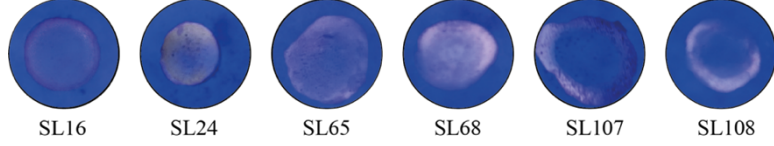
Şekil 4.5 Gluten parçalayan LAB izolatları (3. paralel)



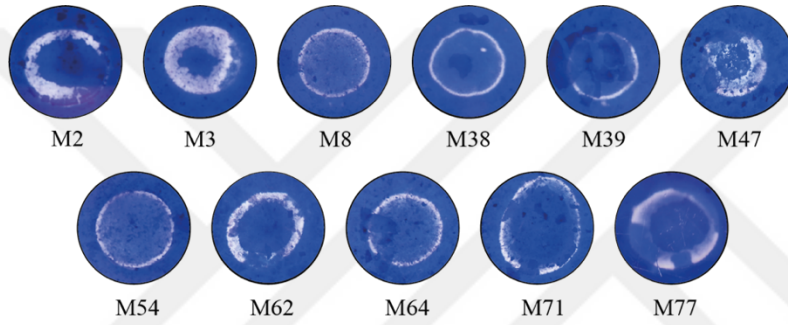
Şekil 4.6 Gluten parçalayan stok LAB suşları (1. paralel)



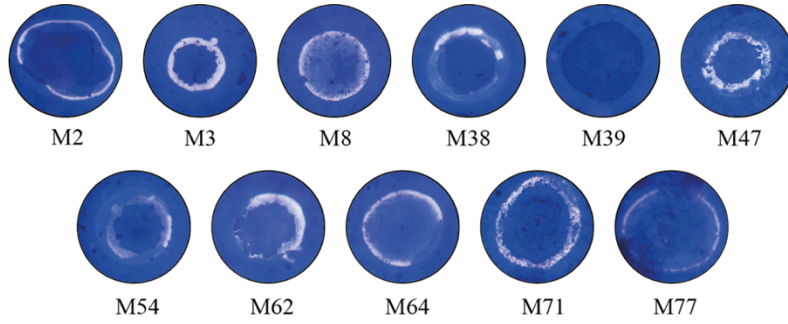
Şekil 4.7 Gluten parçalayan stok LAB suşları (2. paralel)



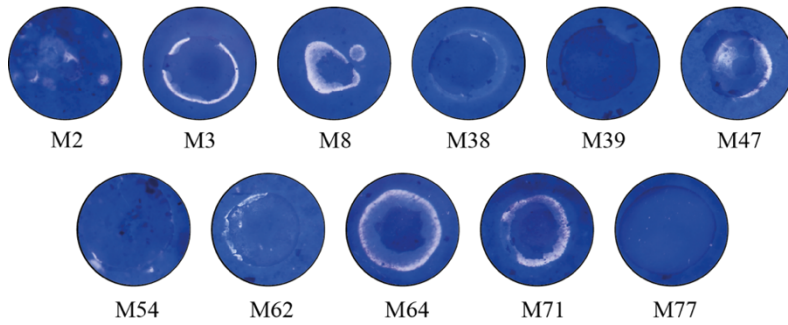
Şekil 4.8 Gluten parçalayan stok LAB suşları (3. paralel)



Şekil 4.9 Gluten parçalayan maya izolatları (1. paralel)

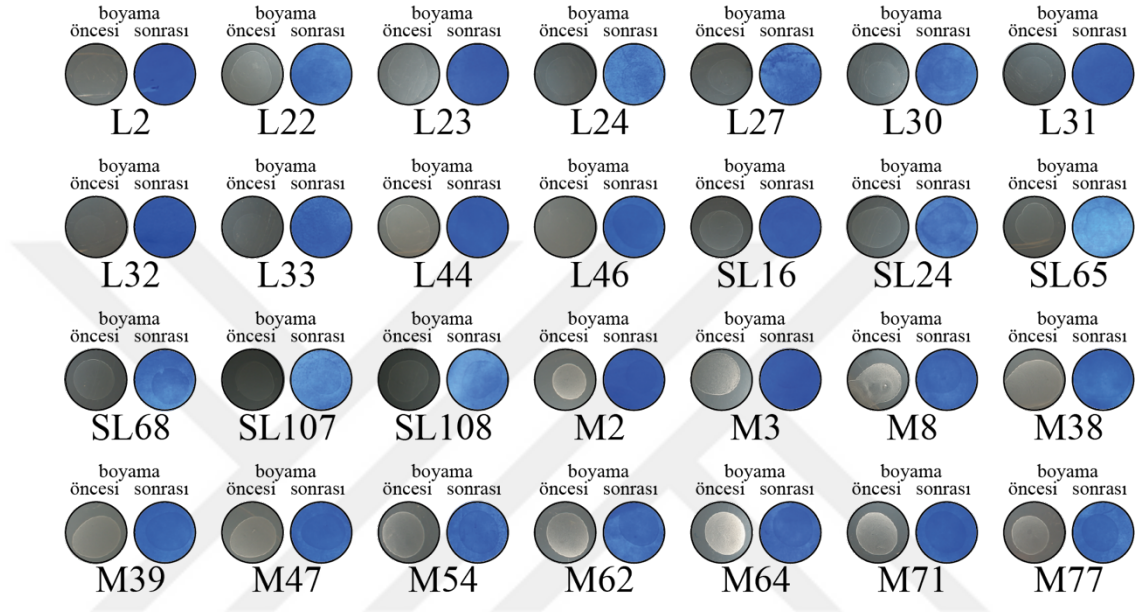


Şekil 4.10 Gluten parçalayan maya izolatları (2. paralel)



Şekil 4.11 Gluten parçalayan maya izolatları (3. paralel)

GUA besiyerinin güvenilirliğini test etmek için, GUA besiyerinden gluten çıkarılmış ve izolatlar ekilmiştir. Şekil 4.12’de görüldüğü gibi, inkübasyon sonrası koloniler gelişimi gözlenmiş ancak yapılan protein boyaması sonucunda, koloni tabanlarının tamamen boyandığı görülmüştür. Bu bulgular değerlendirildiğinde gluten parçalama testleri için kullanılan besiyeri güvenilirirdir.



Şekil 4.12 Gluten eklenmemiş GUA besiyerinde boyama öncesi ve sonrası petrilereki koloniler

4.3.2. Gluten parçalama yeteneğine göre seçilen LAB, maya izolatları ile LAB suşlarının asitleştirme kapasitesi ve glukozdan gaz üretimi sonuçları

Gluten parçalama yeteneklerine göre seçilen 11 LAB, 11 maya izolatı ve stok 6 LAB suşunun asitleştirme kapasitesini ölçmek için, izolat ve suşlar sıvı besiyerine ekilmiş ve pH’ları ölçülmüştür. Çalışma 3 paralelli şekilde gerçekleştirilmiş ve pH ortalamaları ve standart sapmaları Çizelge 4.4 ve 4.5’te, % değişimi Çizelge 4.6’da verilmiştir. MRS’ye ekilen LAB izolatları inkübasyon sonunda ortam pH’ını kontrole göre %31,49-% 7,66 oranında düşürmüştür. Stoktaki 6 LAB suşundan kontrol pH’larına ve son pH’larına bakıldığından en yüksek asitleştirme kapasitesi gösteren %31,99 ile SL24, en düşük asitleştirme kapasitesi gösteren %13,33 ile SL65 suşudur. Maya izolatları arasında en yüksek asitleştirme kapasitesi gösteren % 11,54 ile M3, en düşük asitleştirme kapasitesi gösteren %6,80 ile M2 izolatıdır.

Çizelge 4.4 LAB izolatlarının ve stok LAB suşlarının MRS broth pH'ı üzerine etkisi

LAB'ların Besiyeri pH değerine Etkisi (24 saat)					
İzolat No	1. Tüp pH	2. Tüp pH	3. Tüp pH	Ortalama	STD Sapma
Kontrol	6	6	6	6	0,00
L2	5,37	5,65	5,62	5,54	0,15
L22	4,05	4,13	4,16	4,11	0,05
L23	5,29	5,27	5,7	5,42	0,24
L24	4,55	4,5	4,54	4,53	0,02
L27	4,53	4,55	4,5	4,52	0,02
L30	4,44	4,42	4,43	4,43	0,01
L31	4,38	4,37	4,4	4,38	0,01
L32	4,41	4,4	4,37	4,39	0,02
L33	4,41	4,41	4,41	4,41	0,00
L44	4,73	4,74	4,75	4,74	0,01
L46	4,8	4,77	4,85	4,8	0,04
SL 16	5,17	5,17	5,15	5,16	0,01
SL 24	4,13	4,08	4,04	4,08	0,04
SL 65	5,27	5,2	5,14	5,2	0,06
SL 68	5,17	5,13	5,13	5,14	0,02
SL 107	4,04	4,12	4,12	4,09	0,04
SL 108	4,15	4,1	4,2	4,15	0,05

Çizelge 4.5 Mayaların MEB pH'ı üzerine etkisi

Mayaların Besiyeri pH değerine Etkisi (24 saat)					
İzolat No	1. Tüp pH	2. Tüp pH	3. Tüp pH	Ortalama	STD Sapma
Kontrol	4,85	4,85	4,85	4,85	0,00
M2	4,51	4,55	4,5	4,52	0,02
M3	4,33	4,3	4,26	4,29	0,03
M8	4,31	4,31	4,29	4,3	0,01
M38	4,37	4,35	4,34	4,35	0,01
M39	4,38	4,37	4,37	4,37	0,01
M47	4,4	4,33	4,35	4,36	0,03
M54	4,4	4,41	4,34	4,38	0,03
M62	4,45	4,47	4,46	4,46	0,01
M64	4,44	4,51	4,48	4,47	0,03
M71	4,49	4,47	4,47	4,47	0,01
M77	4,44	4,47	4,49	4,46	0,02

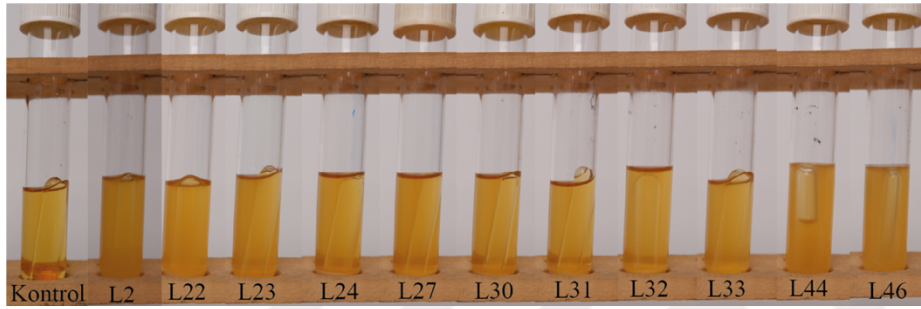
Çizelge 4.6 Gluten parçaladığı bilinen mayalar ve LAB'lar ile stokta bulunan LAB suşlarının izolasyon kaynağı, asitleştirme kapasitesi ve glukozdan gaz üretimi testi sonuçları

İzolat No	İzolasyon Kodu	İzolasyon Kaynağı	Asitleştirme Kapasitesi	Glukozdan Gaz Üretimi
L2	Yşr 10 ⁻⁴ 2	Geyve Yöresel Market	% 7,66	Homofermentatif
L22	Nar 10 ⁻³ 1	Eskişehir Nar Fırın	% 31,49	Homofermentatif
L23	Nar 10 ⁻³ 2	Eskişehir Nar Fırın	% 9,66	Homofermentatif
L24	Nar 10 ⁻³ 3	Eskişehir Nar Fırın	% 24,49	Homofermentatif
L27	Nar 10 ⁻⁴ 2	Eskişehir Nar Fırın	% 24,66	Heterofermentatif
L30	Nar 10 ⁻⁵ 2	Eskişehir Nar Fırın	%26,16	Homofermentatif
L31	Nar 10 ⁻⁵ 3	Eskişehir Nar Fırın	% 26,99	Homofermentatif
L32	Nar 10 ⁻⁵ 5	Eskişehir Nar Fırın	%26,83	Homofermentatif
L33	Nar 10 ⁻⁶ 2	Eskişehir Nar Fırın	%26,49	Heterofermentatif
L44	Şen 10 ⁻² 1	Kütahya Şenerler Fırını	% 20,99	Heterofermentatif
L46	Şen 10 ⁻² 3	Kütahya Şenerler Fırını	% 19,99	Heterofermentatif
SL 16	<i>L. brevis</i>	Ekşi Maya	% 13,99	Heterofermentatif
SL 24	<i>L. rhamnous</i>	Kızıltan Unu	% 31,99	Homofermentatif
SL 65	<i>L. brevis</i>	Siyez Unu	% 13,33	Heterofermentatif
SL 68	<i>L. brevis</i>	Siyez Unu	% 14,33	Heterofermentatif
SL 107	<i>L. pentosus</i>	Siyez Unu	% 31,83	Homofermentatif
SL 108	<i>L. plantarum</i>	Siyez Unu	% 30,83	Homofermentatif
M2	Yşr 10 ⁻² 2	Geyve Yöresel	6,80%	+
M3	Yşr 10 ⁻² 3	Geyve Yöresel	11,54%	+++
M8	Yşr 10 ⁻³ 3	Geyve Yöresel	11,34%	++
M38	Bil 10 ⁻² 3	Bilecik Ev Üretimi	10,30%	++
M39	Bil 10 ⁻² 4	Bilecik Ev Üretimi	9,89%	++
M47	Bil 10 ⁻⁵ 1	Bilecik Ev Üretimi	10,10%	+++
M54	Şen 10 ⁻³ 2	Kütahya Şenerler Fırını	9,69%	++
M62	OPTF 10 ⁻⁴ 1	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	8,04%	++
M64	OPTF 10 ⁻⁴ 3	Odunpazarı Tarihi Taş Fırını	7,83%	++
M71	Han 10 ⁻² 1	Kütahya Hanımeli Fırını	7,83%	++
M77	Han 10 ⁻⁴	Kütahya Hanımeli Fırını	8,04%	+++

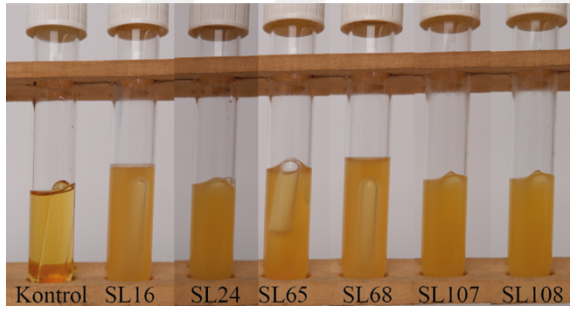
+++ : çok iyi ++ : iyi + : az - : yok

Yapılan testlerden elde edilen sonuçlara göre; 11 LAB izolatından L2, L22, L23, L24, L30, L31, L32 homofermentatif; L27, L33, L44 heterofermentatifir (Şekil 4.13). Stoktaki 6 LAB suşundan SL24, SL107, SL108 homofermentatif; SL16, SL65, SL68 heterofermentatifir (Şekil 4.14).

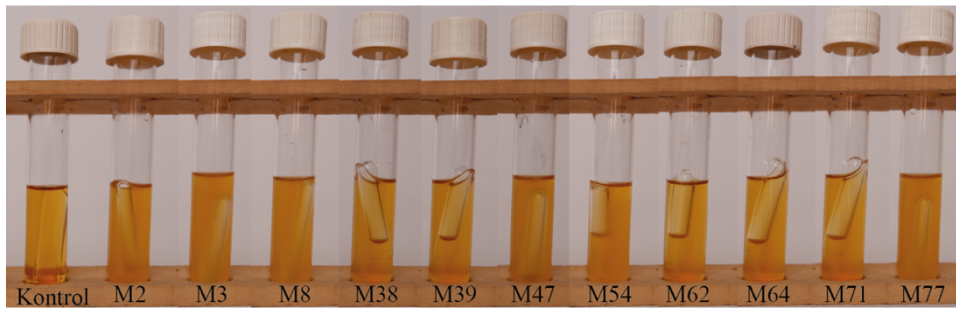
Maya izolatlarından M3, M47, M77 çok iyi, M8, M38, M39, M54, M62, M64, M71 iyi, M2 az glukozdan gaz ürettiği görülmüştür (Şekil 4.15).



Şekil 4.13 LAB izolatlarının glukozdan gaz üretimi sonuçları



Şekil 4.14 LAB suşlarının glukozdan gaz üretimi sonuçları



Şekil 4.15 Mayaların glukozdan gaz üretimi sonuçları

4.3.3. Birlikte üreme (coexistence) testi

Daha sonraki çalışmalarda yeni ekşi maya bileşimi hazırlamak amacıyla kullanılacakları için, LAB izolatlarının, stok LAB suşlarının ve maya izolatlarının birbirlerinin gelişimi/üremesi üzerine olumsuz etki göstermemesi gerekmektedir. Bu nedenle öncelikle LAB izolatları (Çizelge 4.7), stok LAB suşları (Çizelge 4.8) ve maya (Çizelge 4.9) izolatları birbirlerine karşı denenmiştir. Bunun sonucunda hiçbir bakteri ya da maya diğerine karşı antagonistik etkili olmamıştır. Sonraki aşamada mayalarla LAB'ların birbirine karşı antagonistik etkisi test edilmiştir (Çizelge 4.10 ve 11).

Çizelge 4.7 LAB izolatlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki

MRSA Besiyeri											
	L46	L44	L33	L32	L31	L30	L27	L24	L23	L22	L2
L46	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L44	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L33	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L32	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L31	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Antagonistik etki yok (birlikte üreme +)

Çizelge 4.8 Stok LAB suşlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki

MRSA Besiyeri						
	SL 108	SL 107	SL 68	SL 65	SL 24	SL 16
SL 16	+	+	+	+	+	+
SL 24	+	+	+	+	+	+
SL 65	+	+	+	+	+	+
SL 68	+	+	+	+	+	+
SL 107	+	+	+	+	+	+
SL 108	+	+	+	+	+	+

+: Antagonistik etki yok (birlikte üreme +)

Çizelge 4.9 Maya izolatlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki

MEA Besiyeri											
	M77	M71	M64	M62	M54	M47	M39	M38	M8	M3	M2
M77	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M71	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M64	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M62	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M54	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M47	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M39	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M38	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Antagonistik etki yok (birlikte üreme +)

Çizelge 4.10 Maya ve LAB izolatlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki

MRSA Besiyeri											
	L46	L44	L33	L32	L31	L30	L27	L24	L23	L22	L2
M77	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M71	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M64	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M62	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M54	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M47	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M39	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M38	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Antagonistik etki yok (birlikte üreme +)

Çizelge 4.11 LAB izolatları ve stok LAB suşlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki

MRSA Besiyeri											
	L46	L44	L33	L32	L31	L30	L27	L24	L23	L22	L2
SL 16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SL 24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SL 65	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SL 68	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SL 107	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SL 108	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Antagonistik etki yok (birlikte üreme +)

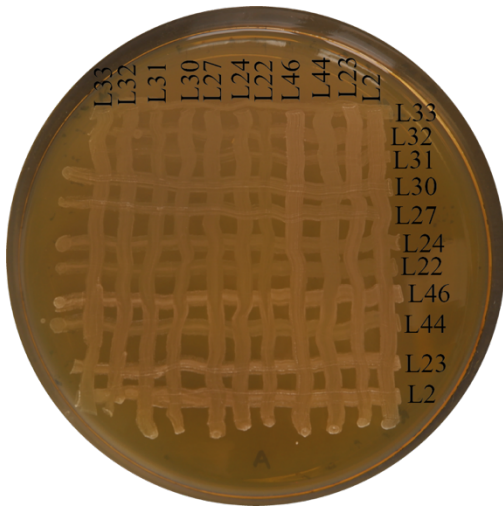
Sonuç olarak, gluten parçalama yeteneklerine göre seçilen 11 LAB izolatı ve 6 stok LAB suşunun birlikte üreyebildiği, birbirlerine antagonistik bir etkide bulunmadıkları görülmüştür. Dolayısı ile yeni ekşi maya bileşimi oluşturmak amacıyla tüm LAB ve mayaların birlikte kullanım potansiyeli bulunmaktadır.

Çizelge 4.12 Maya izolatları ve stok LAB suşlarının birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etki

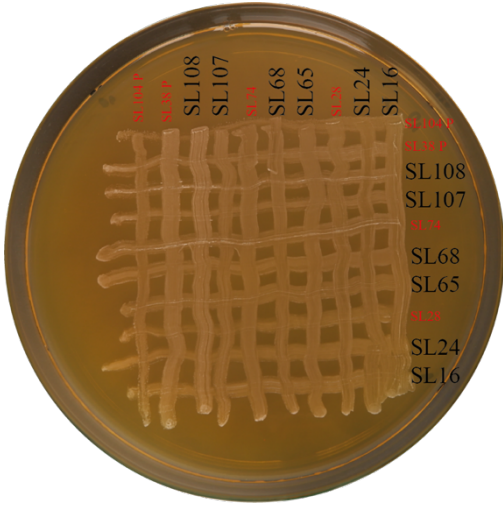
MRSA Besiyeri											
	M77	M71	M64	M62	M54	M47	M39	M38	M8	M3	M2
SL 16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SL 24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SL 65	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SL 68	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SL 107	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SL 108	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+: Antagonistik etki yok (birlikte üreme +)

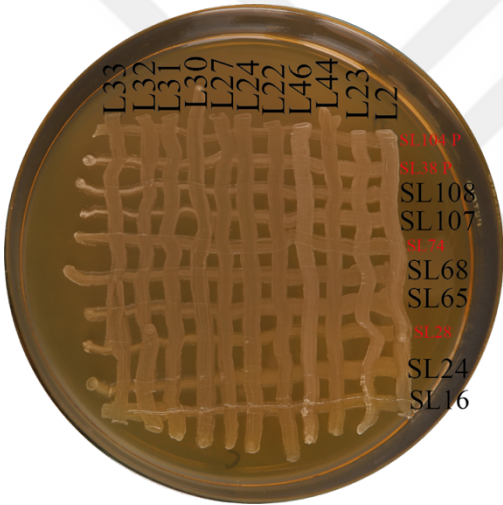
LAB izolatları, stok LAB suşları ve mayaların birlikte üreme testine ilişkin petri fotoğrafları Şekil 4.16-21’de verilmiştir. Birbirini kesen ekim çizgileri boyunca, kesişen noktalarda inhibisyon zonlarının görülmemesi bir arada üreyebildiklerini başka bir deyişle aralarında antagonizma olmadığını göstermektedir.



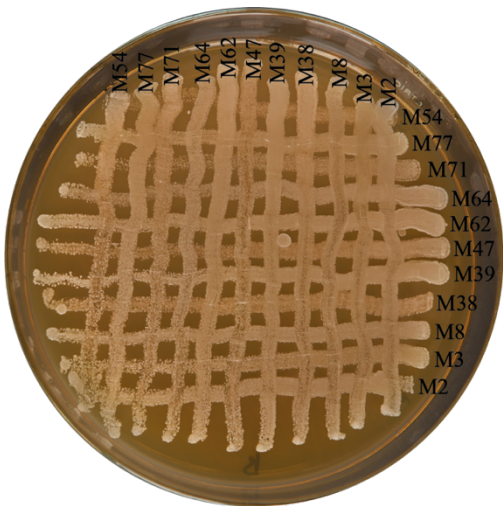
Şekil 4.16 LAB izolatların birlikte üreme petrisi



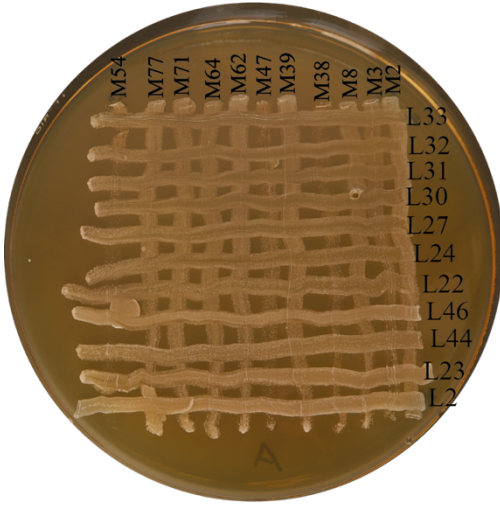
Şekil 4.17 Stok LAB suşlarının birlikte üreme petrisi



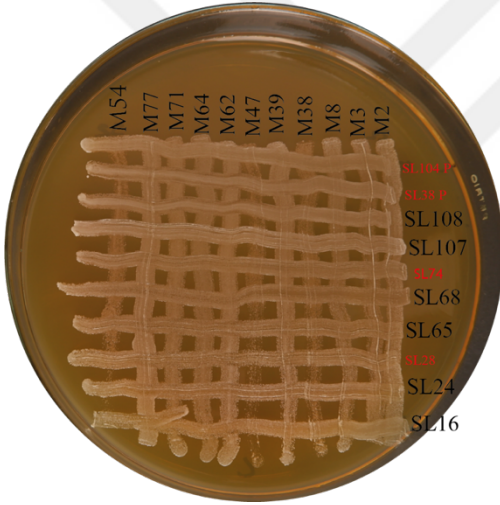
Şekil 4.18 İzolat LAB'lar ile stok suş LAB'ların birlikte üreme petrisi



Şekil 4.19 Mayaların birlikte üreme petrisi



Şekil 4.20 İzolat LAB'lar ile mayaların birlikte üreme petrisi



Şekil 4.21 Stok suş LAB'lar ile mayaların birlikte üreme petrisi

4.4. Hamur Oluşturmada Kullanılacak Unun Mikrobiyal Yükü

Hamur oluşturmada kullanılacak ticari buğday ununun mikrobiyal yükünü belirlemek için toplam aerobik bakteri ve maya-küf sayımı yapılmıştır (Çizelge 4.13). Undaki toplam aerobik bakteri sayısı $3,3 \times 10^3$ kob/g, toplam maya-küf sayısı ise $1,9 \times 10^3$ kob/g olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.13 Undaki toplam aerobik bakteri ve maya-küf koloni sayıları

1. Petri			2. Petri			3. Petri		
MEA		NA	MEA		NA	MEA		NA
Maya	Küf	Bakteri	Maya	Küf	Bakteri	Maya	Küf	Bakteri
13	2	21	31	1	41	6	3	36

Çizelge 4.14 Undaki toplam aerobik bakteri ve maya-küf koloni sayıları (kob/g)

TOPLAM	
Aerobik Bakteri Sayısı	Maya-Küf Sayısı
$3,3 \times 10^3$ kob/g	$1,9 \times 10^3$ kob/g

4.5. Oluşturulan Hamurlara Uygulanan Testlerin Sonuçları

Oluşturulan hamura; hamur kabarma gücü, hamur ağırlığı değişimi, hamur TTA ve pH değişimi, hamur su aktivitesi (aw) değişimi, hamur % kuru madde değişimi, hamur gluten miktarı değişimi testleri yapılmıştır. Yapılan testlerin tamamı 3 tekrar olacak şekilde düzenlenmiştir.

4.5.1. Hamur kabarma gücü

Hamur kabarma gücü deneyleri 25°C’de etüvde yapılmış; un, ticari maya, ticari ekşi maya hamurları 6 saat, mix hamuru ise 18 saat fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon süreleri ortalama olarak kabarmanın sonlandığı zaman dilimine göre (6, 12, 18, 24 saat) belirlenmiştir. Aşağıda verilen çizelgeler (Çizelge 4.15-22) incelendiğinde; sadece undan hazırlanan hamur örneği kabarma göstermemiştir, ticari mayadan hazırlanan hamur ilk 5 saatinde kabarmıştır ve 6. saatte inmeye başlamıştır, ticari ekşi mayadan hazırlanan hamur ise en yüksek kabarma seviyesine 6. saatte ulaşmıştır. Seçilen LAB’lar ve bir maya izolatından oluşan yeni ekşi maya bileşimi (mix) başka bir deyişle kontrollü mikrobiyota, ise ilk 3 saat kabarma göstermemişken, 4. saatte kabarma başlamıştır ve 18. saatinde en yüksek seviyesine ulaşmıştır.

Çizelge 4.15 Hazırlanan hamurların 0. Saat hamur kabarma gücü sonuçları

0. Saat					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	31 mm	31 mm	31 mm	31 mm	0 mm
Maya	29 mm	29 mm	30 mm	29,3 mm	0,057 mm
Ekşi Maya	32 mm	30 mm	34 mm	32 mm	0,2 mm
Mix	32 mm	32 mm	32 mm	32 mm	0 mm

Çizelge 4.15'te eşit miktarda un, su, tuz içerikli farklı mayalar ile hazırlanan hamurların özdeş beherlerde başlangıç hacimleri milimetre cinsinde verilmiştir. Hacimlerdeki ortalama 1,25 mm (%4,3) fark hamur oluşturulurken yapılan karıştırma işlemi sırasında cam baget yüzeyine tutunan eser miktardaki hamur ve hamurlara eklenen maya miktarlarının farklı gramajlarda olması sebep olmuştur, ancak deneyi etkileyecek miktarda bir değişim olmamıştır.

Çizelge 4.16 Hazırlanan hamurların 1. Saat hamur kabarma gücü sonuçları

1. Saat					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	31 mm	31 mm	31 mm	31 mm	0 mm
Maya	50 mm	42 mm	40 mm	44 mm	5,29 mm
Ekşi Maya	32 mm	33 mm	34 mm	33 mm	0,99 mm
Mix	32 mm	32 mm	32 mm	32 mm	0 mm

Çizelge 4.16'da hazırlanan hamurların 25°C'de (oda sıcaklığı) etüvde 1 saatlik inkübasyonun sonunda ölçülen kabarma değerleri verilmiştir. Değerler analiz edildiğinde sadece undan hazırlanan hamurda, ticari ekşi maya kullanılarak hazırlanan hamurda ve mix hamurunda 0 mm (%0) değişim gözlenirken; ticari maya ile hazırlanan hamurda 14 mm (%50,17) artış gözlenmiştir.

İpek (2017) ekşi hamurla yapmış olduğu çalışma sonucunda, kabarma gücünün 1.saatın sonunda %76,9 - %111,5 arasında değiştiğini gözlemlemiştir. Çalışmamızdaki hamurlara göre yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.17 Hazırlanan hamurların 2. Saat hamur kabarma gücü sonuçları

2. Saat					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	31 mm	31 mm	31 mm	31 mm	0 mm
Maya	81 mm	63 mm	63 mm	69 mm	10,39 mm
Ekşi Maya	32 mm	33 mm	34 mm	33 mm	0,99 mm
Mix	32 mm	32 mm	32 mm	32 mm	0 mm

Çizelge 4.17’de hazırlanan hamurların 25°C’de (oda sıcaklığı) etüvde 2 saatlik inkübasyonun sonunda ölçülen kabarma değerleri verilmiştir. Değerler analiz edildiğinde sadece undan hazırlanan hamurda, ticari ekşi maya kullanılarak hazırlanan hamurda ve mix hamurunda 0 mm (%0) değişim gözlenirken; ticari maya ile hazırlanan hamurda 1. saate göre 25 mm (%56,81), başlangıca göre 39,7 mm (%135,49) artış gözlemlenmiştir.

İpek (2017) ekşi hamurla yapmış olduğu deneysel çalışma sonucunda kabarma gücünün 2.saatin sonunda %120 ile %152,7 arasında değiştiğini gözlemlemiştir. Çalışmamızdaki ticari maya ile hazırlanan hamurlara göre artışının %135,49 olduğundan %120 ile %152,7 arasında olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.18 Hazırlanan hamurların 3. Saat hamur kabarma gücü sonuçları

3. Saat					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	31 mm	31 mm	31 mm	31 mm	0 mm
Maya	81 mm	75 mm	73 mm	76,33 mm	4,16 mm
Ekşi Maya	38 mm	39 mm	38 mm	38,33 mm	0,57 mm
Mix	32 mm	32 mm	32 mm	32 mm	0 mm

Çizelge 4.18’de hazırlanan hamurların 25°C’de (oda sıcaklığı) etüvde 3 saatlik inkübasyonun sonunda ölçülen kabarma değerleri verilmiştir. Değerler analiz edildiğinde sadece undan hazırlanan hamurda ve mix hamurunda 0 mm (%0) değişim gözlenirken; ticari maya ile hazırlanan hamurda 2. saatine göre 7,33 mm (%10,62) başlangıca göre 47 mm (%160,24), ticari ekşi maya kullanılarak hazırlanan hamurda 2. saatine ve başlangıcına göre 6,33 mm (%19,78) artış gözlenmiştir.

İpek (2017) ekşi hamurla yapmış olduğu deneysel çalışma sonucunda kabarma gücünün 3.saatın sonunda %132,7 ile %163,5 arasında değiştiğini gözlemlemiştir. Çalışmamızdaki ticari maya ile hazırlanan hamurlara göre artışının %160,24 olduğundan %132,7 ile %163,5 arasında olduğu görülmüştür. Ticari ekşi maya kullanılan hamurlara göre ise yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.19 Hazırlanan hamurların 4. Saat hamur kabarma gücü sonuçları

4. Saat					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	31 mm	31 mm	31 mm	31 mm	0 mm
Maya	81 mm	75 mm	73 mm	76,33 mm	4,16 mm
Ekşi Maya	43 mm	45 mm	54 mm	47,33 mm	5,85 mm
Mix	35 mm	35 mm	35 mm	35 mm	0 mm

Çizelge 4.19’da hazırlanan hamurların 25°C’de (oda sıcaklığı) etüvde 4 saatlik inkübasyonun sonunda ölçülen kabarma değerleri verilmiştir. Değerler analiz edildiğinde sadece undan hazırlanan hamurda ve ticari maya ile hazırlanan hamurda inkübasyonun 3. Saatine göre 0 mm (%0) değişim gözlenirken; ticari ekşi maya ile hazırlanan hamurda inkübasyonun 3. saatine göre 9 mm (%23,48) başlangıca göre 15,33 mm (%47,90) artış gözlenmiştir. Mix hamurunda inkübasyonun 3. saatine ve başlangıcına göre 3 mm (%9,37) artış göstermiştir.

Çizelge 4.19’a bakıldığında ticari maya ile hazırlanan hamurun kabarmasının 3. saat sonunda durduğu ve mix hamurunun kabarmasının gözle görülür seviyede başladığı görülmektedir.

İpek (2017) ekşi hamurla yapmış olduğu deneysel çalışma sonucunda kabarma gücünün 4.saatın sonunda %135,4 ile %166,2 arasında değiştiğini gözlemlemiştir. Çalışmamızdaki ticari ekşi maya kullanılan hamurlara göre ise yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.20 Hazırlanan hamurların 5. saat hamur kabarma gücü sonuçları

5. Saat					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	31 mm	31 mm	31 mm	31 mm	0 mm
Maya	75 mm	75 mm	73 mm	74,33 mm	1,15 mm
Ekşi Maya	52 mm	54 mm	54 mm	53,33 mm	1,15mm
Mix	35 mm	35 mm	35 mm	35 mm	0 mm

Çizelge 4.20’de hazırlanan hamurların 25°C’de (oda sıcaklığı) etüvde 5 saatlik inkübasyonun sonunda ölçülen kabarma değerleri verilmiştir. Değerler analiz edildiğinde sadece undan hazırlanan hamurda ve mix hamurunda inkübasyonun 4. saatine göre 0 mm (%0) değişim gözlenirken; ticari ekşi maya ile hazırlanan hamurda inkübasyonun 4. saatine göre 9 mm (%23,48) başlangıcına göre 21,33 mm (%66,65) artış gözlenmiştir. Ticari maya ile hazırlanan hamurda ise inkübasyonun 4. saatine göre 2 mm (%2,62) düşüş gözlenmiştir.

Çizelge 4.21 Hazırlanan hamurların 6. saat hamur kabarma gücü sonuçları

6. Saat					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	31 mm	31 mm	31 mm	31 mm	0 mm
Maya	69 mm	69 mm	69 mm	69 mm	0 mm
Ekşi Maya	52 mm	61 mm	54 mm	55,66 mm	4,72 mm
Mix	35 mm	35 mm	35 mm	35 mm	0 mm

Çizelge 4.21’de hazırlanan hamurların 25°C’de (oda sıcaklığı) etüvde 6 saatlik inkübasyonun sonunda ölçülen kabarma değerleri verilmiştir. Değerler analiz edildiğinde sadece undan hazırlanan hamurda ve mix hamurunda inkübasyonun 5. saatine göre 0 mm (%0) değişim gözlenirken; ticari ekşi maya ile hazırlanan hamurda inkübasyonun 5. saatine göre 2,33 mm (%4,36) başlangıca göre 23,66 mm (%73,93) artış gözlenmiştir. Ticari maya ile hazırlanan hamurda ise inkübasyonun 4. saatine göre 2 mm (%2,62) düşüş gözlenmiştir.

Çizelge 4.22 Hazırlanan hamurların 18. saat hamur kabarma gücü sonuçları

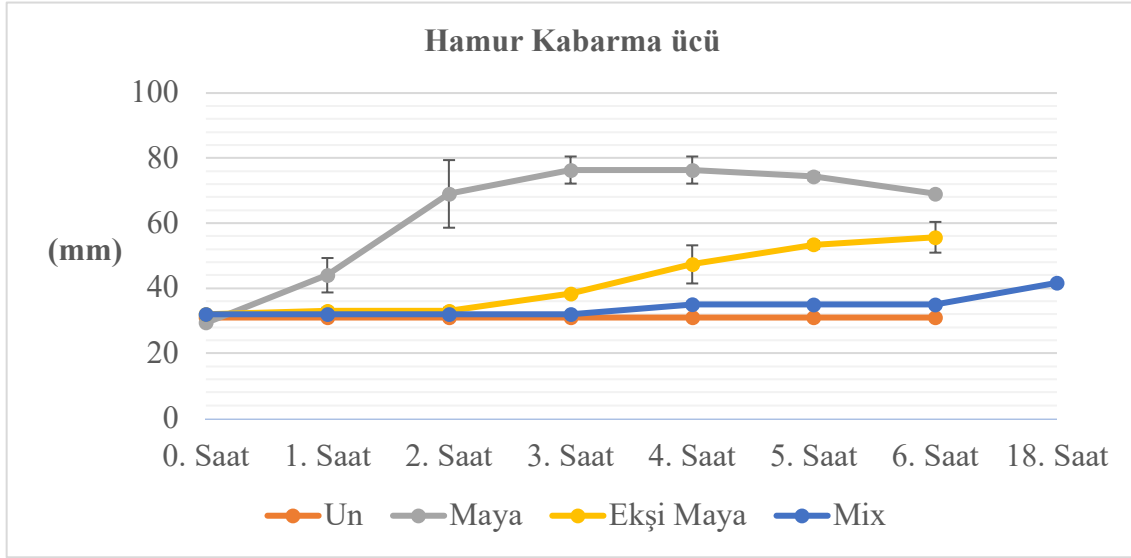
18. Saat					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	-	-	-	-	-
Maya	-	-	-	-	-
Ekşi Maya	-	-	-	-	-
Mix	42 mm	41 mm	42 mm	41,66 mm	0,57 mm

-. 18.saatte örnekleme yapılmadı

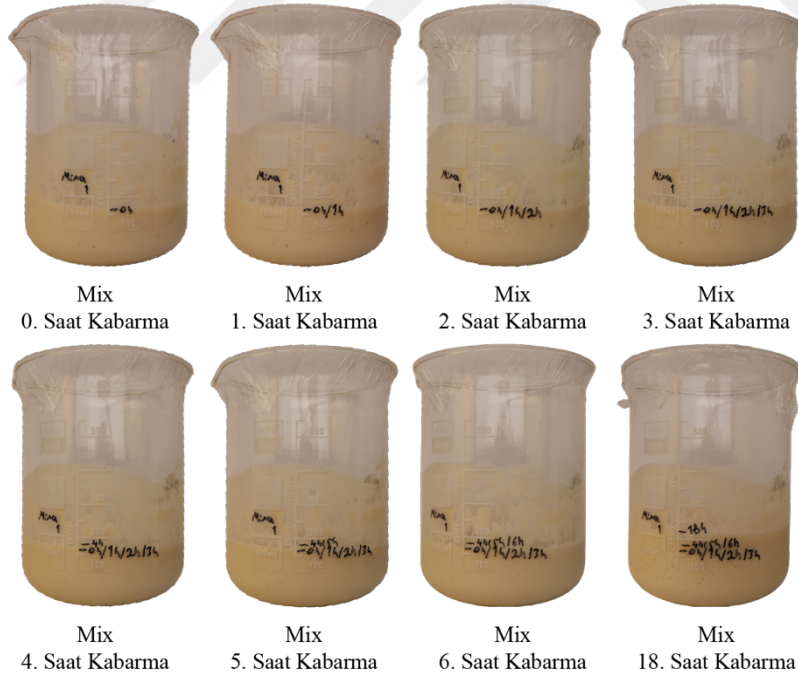
Çizelge 4.22’de mix hamurunun 25°C’de (oda sıcaklığı) etüvde 18 saatlik inkübasyonun sonunda ölçülen kabarma değerleri verilmiştir. Diğer hamurların kabarma değerleri 6 saatlik inkübasyonda sabitlenmesi ve düşmeye başlaması sonucunda sadece mix hamurunun inkübasyonu 18 saate çıkartılmıştır. Değerler analiz edildiğinde mix hamurunda inkübasyonun 6. saatine göre 6,67 mm (%19,05) başlangıcına göre ise 9,67 mm (%30,21) artış gözlenmiştir.

Örneklenen hamurların kabarma güçlerindeki değişim Şekil 4.22’de görülmektedir. Grafikteki veriler değerlendirildiğinde sadece un ile hazırlanan hamurun hiç kabarmadığı, ticari maya ile hazırlanan hamurun hızla kabardıktan kısa süre sonra inmeye başladığı, ticari ekşi maya kullanılarak hazırlanan hamurun normal mayaya göre daha yavaş ve daha az kabardığı, mix hamurunun ise diğer iki maya çeşidinden çok daha yavaş ve daha az kabardığı görülmüştür. Bu veriler fermentasyon hızı ile doğru orantılıdır. Bu sebeple fermentasyon hızı hızlıdan yavaşa doğru ticari maya, ticari ekşi maya ve mix hamuru şeklinde sıralanabilmektedir. Sadece undan oluşturulan hamurda ise fermentasyon gerçekleşmediği değerlendirilmiştir.

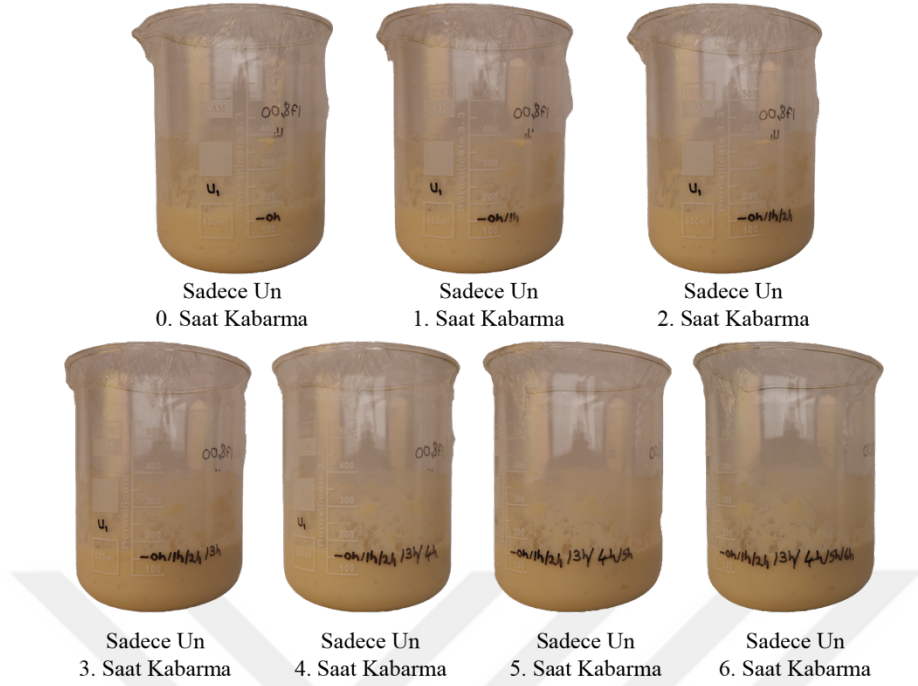
Hamur kabarma gücü deneylerinde kullanılan ve fermentasyon süresince kabarma ölçümleri yapılan beherlerin fotoğrafları Şekil 4.23-26’da verilmiştir.



Şekil 4.22 Hazırlanan hamurların kabarma gücü grafiği (mix: yeni ekşi maya bileşimi)



Şekil 4.23 Mix (yeni ekşi maya bileşimi) ile hazırlanan hamurlarının saatlik kabarma ölçümü sonuçları



Şekil 4.24 Kültür ilave edilmemiş, sadece un ile hazırlanan (kontrol) hamurların saatlik kabarma ölçümü sonuçları



Şekil 4.25 Ticari ekşi maya (kontrol) ile hazırlanan hamurların saatlik kabarma ölçümü sonuçları



Şekil 4.26 Ticari maya (kontrol) ile hazırlanan hamurların saatlik kabarma ölçümü sonuçları

4.5.2. Hamur ağırlığı değişimi

Hamur ağırlığı değişimi fermentasyon sırasında gerçekleşen metabolik aktiviteler sonucu harcanan ve yan ürünlere (CO_2 gibi) dönüştürüldükten sonra hamurdan uzaklaşan moleküllerin kaybından kaynaklanan ağırlık kayıplarını belirtmektedir. Bir miktar nem kaybı da yaşanmaktadır, hamurlardaki nem kaybı bölüm 4.7.4 ve 4.7.5’de yapılan analizlerde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.23’te hazırlanan dört farklı hamurun fermentasyon öncesi hassas terazi kullanılarak tartılması sonucu elde edilen değerler verilmiştir. Değerlerdeki ortalamada 1,37 g (%0,68) farka hamur oluşturulurken yapılan karıştırma işlemi sırasında cam baget yüzeyine tutunan eser miktardaki hamur ve hamurlara eklenen maya miktarlarının farklı gramajlarda olması sebep olmuştur, deneyin sonuçlarına bir etkisi bulunmamaktadır.

Çizelge 4.23 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi ağırlık değerleri

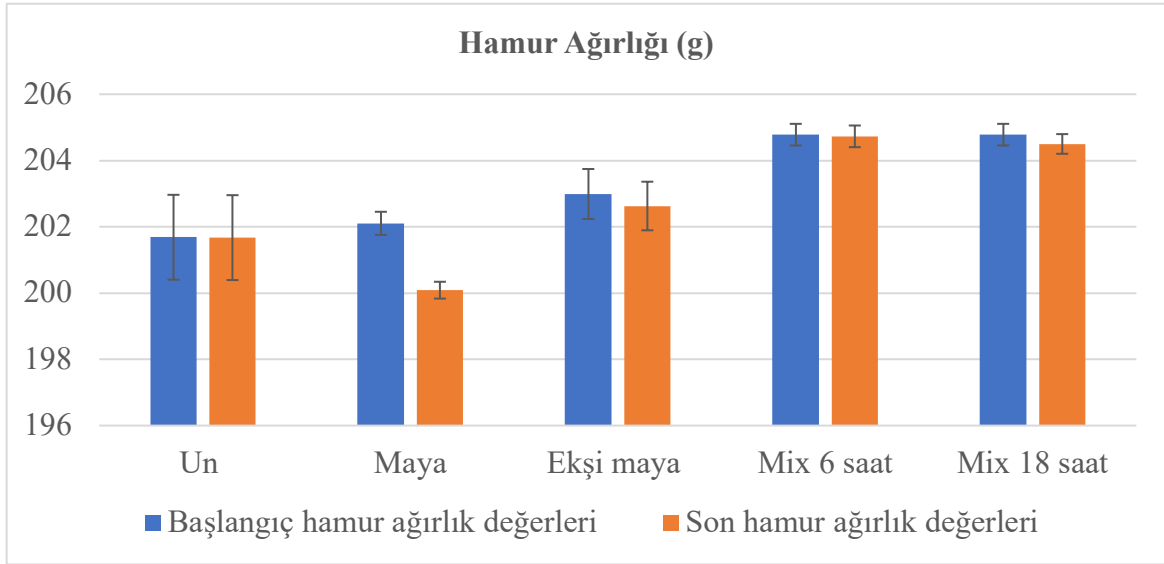
Fermentasyon Öncesi Hamur Ağırlık Değerleri					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD sapma
Un	200,37 g	201,75 g	202,93 g	201,68 g	1,28 g
Maya	202,32 g	202,29 g	201,7 g	202,10 g	0,34 g
Ekşi Maya	202,12 g	203,4 g	203,45 g	202,99 g	0,75 g
Mix	205,15 g	204,53 g	204,66 g	204,78 g	0,32 g

Çizelge 4.24'te un, ticari maya ve ticari ekşi mayalı hamurun 6 saatlik fermentasyon sonrası, mix hamurunun ise hem 6 saatlik hem de 18 saatlik fermentasyon sonrasında alınan hamur ağırlıkları verilmiştir. Çizelge 4.24'te değerler analiz edildiğinde; 6 saatlik fermentasyon sonucunda sadece undan hazırlanan hamurda 0,01 g (%0,005), ticari maya ile hazırlanan hamurda 2,02 g (%0,99), ticari ekşi maya kullanılarak hazırlanan hamurda 0,37 g (%0,18), mix hamurunda 0,05 g (%0,02) ve mix hamurunun 18 saatlik fermentasyon sonucuna 0,28 g (%0,13) düşüş gözlenmiştir.

Çizelge 4.24 Hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası ağırlık değerleri

Fermentasyon Sonrası Hamur Ağırlık Değerleri					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD sapma
Un	200,36 g	201,74 g	202,92 g	201,67 g	1,28 g
Maya	199,95 g	200,38 g	199,93 g	200,08 g	0,25 g
Ekşi Maya	201,78 g	203,02 g	203,08 g	202,62 g	0,73 g
Mix 6 saat	205,1 g	204,48 g	204,61 g	204,73 g	0,32 g
Mix 18 saat	204,84 g	204,29 g	204,37 g	204,50 g	0,29 g

Şekil 4.27'de hazırlanan hamurlardaki ağırlık değişimleri verilmiştir. Grafiğe ve verilere bakıldığında en yüksek değişim ticari maya kullanılarak hazırlanan hamurda olmuştur. En düşük değişim ise sadece undan hazırlanan hamurunda gözlenmiştir. Hamurlardaki ağırlık değişim açısından ağırlığı en çok azalandan en az azalana sıralandığında sıralama ticari mayalı hamur, ticari ekşi mayalı hamur, mix hamuru ve sadece undan hazırlanan şeklinde sıralanmaktadır. Sadece undan hazırlanan hamurdaki değişimin %0,01'in altında olması bir fermentasyon söz konusu olmadığı ve diğer hamurlardaki ağırlık değişiminin doğrudan fermentasyon kaynaklı olduğunu doğrulamaktadır.



Şekil 4.27 Hamur ağırlığı değişimi grafiği

4.5.3. Hamur toplam titrasyon asitliği ve pH değişimi

Çalışmada hazırlanan hamurlarda, özellikle ekşi mayalı ekmeklerde önemli bir kriter olan hamurun asidik olması ve bu asitlik derecesini muhafaza etme yeteneğinin yüksek olması beklenmektedir. unda ve çeşitli türlerde maya içeren hamurlarda fermentasyon öncesi ve sonrası yapılan TTA ve pH ölçümlerinin sonuçları Çizelge 4.25-30'da verilmiştir.

Karakteristik bir hamurda pH değerleri 4,7-5,4 arasında değişim gösterdiği yüksek asitlik değerine sahip hamurun raf ömrüne olumlu etkisi olduğunu bildirmiştir. Bir hamurun asitlik değeri sadece pH ile değerlendirilmez, toplam titrasyon asitliği de değerlendirilmesi gerekmektedir. Mayalar asitli ortamlarda çalışmayı tercih etmektedirler. pH 4 değerinin altına düştüğünde fermentasyon hızı düşmektedir, pH 4-6 arasında fermentasyon hızı optimum seviyede olmaktadır (İpek, 2017).

Çizelge 4.25 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi TTA ve pH değerleri

Toplam Titrasyon Asitliği ve pH İnkübasyon Öncesi Değerleri						
Örnek	1. Beher pH	1. Beher TTA	2. Beher pH	2. Beher TTA	3. Beher pH	3. Beher TTA
Un	7,05	1,2 g/ml	7,12	0,8 g/ml	7	1 g/ml
Maya	6,91	1,6 g/ml	6,73	1,8 g/ml	6,57	2 g/ml
Ekşi Maya	6,76	1,5 g/ml	6,7	1,3 g/ml	6,64	1,5 g/ml
Mix	6,99	0,8 g/ml	6,96	1,1 g/ml	6,83	1,1 g/ml

Çizelge 4.25'te her bir hamur örneğinin 3 paralel yapılan çalışmada 25°C etüvde inkübasyona bırakılmadan önce ölçülen TTA ve pH değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.26 Hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası TTA ve pH değerleri

Toplam Titrasyon Asitliği ve pH İnkübasyon Sonrası Değerleri						
Örnek	1. Beher pH	1. Beher TTA	2. Beher pH	2. Beher TTA	3. Beher pH	3. Beher TTA
Un	7	1 g/ml	7,05	1,1 g/ml	6,93	1,1 g/ml
Maya	5,96	3,2 g/ml	5,98	3,1 g/ml	5,96	3,5 g/ml
Ekşi Maya	6,36	2,9 g/ml	6,37	2,8 g/ml	6,38	3,3 g/ml
Mix 6 saat	6,7	1,3 g/ml	6,7	1,2 g/ml	6,64	1,1 g/ml
Mix 18 saat	5,15	4,3 g/ml	5,34	3,8 g/ml	5,25	4,5 g/ml

Çizelge 4.26'da her bir hamur örneğinin 3 paralel yapılan çalışmada 25°C etüvde 6 saat (mix hamuru için 6 ve 18 saat) inkübasyondan sonra ölçülen TTA ve pH değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.27 Hamurların fermentasyon öncesi ortalama pH değerleri

İnkübasyon Öncesi Ortalama pH Değerleri				
Örnek	Un	Maya	Ekşi Maya	Mix
Ortalama	7,06	6,74	6,7	6,9
STD Sapma	0,05	0,14	0,05	0,07

Çizelge 4.27'de hamur örneklerinin fermentasyon öncesinde ölçülen pH değerlerinin ortalamaları verilmiştir. Veriler değerlendirildiğinde fermentasyon öncesinde hamurların

düşük asitlikte oldukları gözlenmiştir. Sadece un ile oluşturulan hamur ile karşılaştırıldığında hamur içerisine eklenen mayaların hamura eklendiği anda az miktarda asitlik oluşturduğu görülmektedir.

İpek (2017) yaptığı çalışmada ekşi hamurun fermentasyon öncesi pH değeri 5,0-6,2 aralığında değişim göstermektedir. Çalışmamızda ortalama pH değerleri 6,7-7,06 arasında değişmektedir, İpek (2017) çalışmasına göre pH değerlerimizin yüksek olduğu görülmüştür.

Martinez vd. (1990) buğday unu ile hazırlamış oldukları ekşi hamur örneklerinde fermentasyon öncesi pH değerlerinin 4,92-5,33 arasında değişim gösterdiğini göstermişlerdir. Çalışmamızın pH değerleri buna göre yüksek olduğu görülmüştür.

Karaman (2017) yaptığı çalışmada fermentasyon öncesi ekşi hamur örnekleri pH değerlerinin 6.42-6.61 aralığında değişim göstermektedir. Çalışmamızda ortalama pH değerleri 6,7-7,06 arasında değişmektedir, Karaman (2017) çalışmasına göre pH değerlerimizin yüksek olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.28 Hamurların fermentasyon sonrası ortalama pH değerleri

İnkübasyon Sonrası Ortalama pH Değerleri					
Örnek	Un	Maya	Ekşi Maya	Mix 6 saat	Mix 18 saat
Ortalama	7	6	6,4	6,7	5,25
STD Sapma	0,05	0,009	0,008	0,03	0,08

Çizelge 4.28’de hamur örneklerinin 6 saatlik (mix 6 ve 18 saat) fermentasyonu sonrasında ölçülen pH değerlerinin ortalamaları verilmiştir. Veriler değerlendirildiğinde fermentasyon öncesine kıyasla pH seviyesinin sadece un kullanılarak hazırlanan hamurda 0,06 birimlik (%0,84), ticari maya ile oluşturulan hamurda 0,74 birimlik (%10,97), ticari ekşi maya ile hazırlanan hamurda 0,3 birimlik (%4,47), mix hamuru 0,2 birimlik (%2,89) ve mix hamuru 18 saat fermentasyonunda 1,65 birimlik (%23,91) azalma gözlenmiştir. Bu değerlere göre fermentasyon sırasında hamurun asitliğini arttırma derecesine göre büyükten küçüğe mix hamuru (18 saatlik), ticari maya, ticari ekşi maya, mix hamuru ve sadece undan oluşturulan hamur şeklinde sıralanmaktadır.

Karaman (2017) çalışmasında ekşi hamur örneklerinde fermentasyonun sonunda mikrobiyal gelişime bağlı olarak pH değerleri 3.96-5.07 arasında değişim göstermiştir. Çalışmamıza göre pH değerlerinin düşük olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.29 Hamurların fermentasyon öncesi ortalama TTA değerleri

İnkübasyon Öncesi Ortalama TTA Değerleri				
Örnek	Un	Maya	Ekşi Maya	Mix
Ortalama	1 g/ml	1,8 g/ml	1,4 g/ml	1 g/ml
STD Sapma	0,16 g/ml	0,16 g/ml	0,09 g/ml	0,14 g/ml

Çizelge 4.29'da hamur örneklerinin fermentasyon öncesinde ölçülen toplam titrasyon asitliği değerlerinin ortalamaları verilmiştir. Veriler değerlendirildiğinde fermentasyon öncesinde hamurların TTA değerlerinin düşük olduğu gözlenmiştir.

Martinez vd. (1990) buğday unuyla hazırladıkları ekşi hamur örneklerinde fermentasyon öncesi TTA'ya ait değerlerin 3,38-5,13 g/ml arasında değişim gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Çalışmamızın TTA değerleri 1-1,8 g/ml arasında değişim gösterdiğinden dolayı Martinez vd. (1990) yaptığı çalışmaya göre düşük olduğu görülmüştür.

Karaman (2017) çalışmasında ekşi hamur örneklerinin TTA değerleri fermentasyon öncesi 0.88-1.15 ml aralığında olduğunu gözlemlemiştir. Çalışmamızın TTA değerleri 1-1,8 g/ml arasında değişim gösterdiğinden dolayı Karaman (2017) yaptığı çalışmaya göre örtüştüğü görülmüştür.

Çizelge 4.30 Hamurların fermentasyon sonrası ortalama TTA değerleri

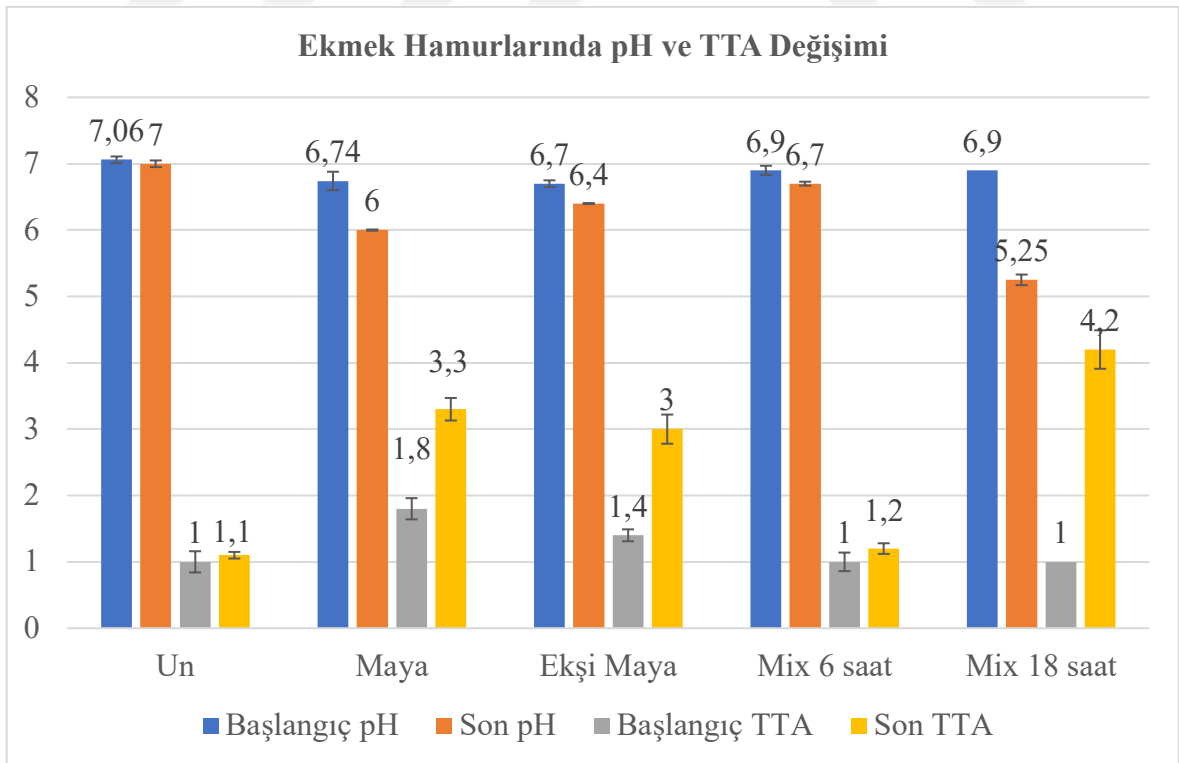
İnkübasyon Sonrası Ortalama TTA Değerleri					
Örnek	Un	Maya	Ekşi Maya	Mix 6 saat	Mix 18 saat
Ortalama	1,1 g/ml	3,3 g/ml	3 g/ml	1,2 g/ml	4,2 g/ml
STD Sapma	0,05 g/ml	0,17 g/ml	0,22 g/ml	0,08 g/ml	0,29 g/ml

Çizelge 4.30'da hamur örneklerinin 6 saatlik (mix 6 ve 18 saat) fermentasyonu sonrasında ölçülen toplam titrasyon asitliği değerlerinin ortalamaları verilmiştir. Veriler değerlendirildiğinde fermentasyon öncesine kıyasla TTA seviyesinin sadece un kullanılarak hazırlanan hamurda 0,1 g/ml (%10), ticari maya ile oluşturulan hamurda 1,5 g/ml (%83,33), ticari ekşi maya ile hazırlanan hamurda 1,6 g/ml (%114,28), mix hamuru 0,2 g/ml (%20) ve

mix hamuru 18 saat fermentasyonunda 3,2 g/ml (%220) azalma gözlenmiştir. Bu değerlere göre fermentasyon sırasında hamurun toplam titrasyon asitliğini artırma derecesine göre büyükten küçüğe mix hamuru (18 saatlik), ticari ekşi maya, ticari maya, mix hamuru ve sadece undan oluşturulan hamur şeklinde sıralanmaktadır.

Karaman (2017) çalışmasında ekşi hamur örneklerinin TTA değerleri fermentasyon sonrasında 2.98-6.85 ml aralığında gözlemlenmiştir. Çalışmamızın TTA değerleri 1,1-4,2 g/ml arasında değişim gösterdiğinden dolayı Karaman (2017) yaptığı çalışmaya göre düşük olduğu görülmüştür.

Şekil 4.28’de hazırlanan ekmek hamurlarının fermentasyon öncesi ve sonrası pH ve TTA değerleri verilmiştir. Mix 18 saat verisi dışında tüm veriler 6 saatlik fermentasyon sonucu elde edilmiştir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde ticari maya ve ticari ekşi mayanın daha kısa sürede düşük pH değerine sahip bir hamur oluşturmalarına rağmen mix hamuru daha uzun sürede ancak daha kalıcı bir asitlik oluşturduğu TTA değerleri de dikkate alınarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.28 Hamurlarda pH ve TTA değişimi grafiği

4.5.4. Hamur su aktivitesi (aw) değişimi

Hazırlanan hamurlardaki su aktivitesi fermentasyon başlangıcında, fermentasyonun 6. Saatinde (mix hariç sonlandığında, mix 18 saatte sonlandırılmış ve ölçüm alınmıştır) ve ekmek haline geldiğinde yani pişirildiğinde ölçölmüştür. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.31-33’de verilmiştir.

Çizelge 4.31 Hamurların fermentasyon öncesi aw değerleri

Su Aktivitesi (aw) Başlangıç Değerleri					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD sapma
Un	0,996	0,996	0,998	0,997	0,0011547
Maya	0,995	0,985	0,990	0,990	0,005
Ekşi Maya	0,994	0,990	0,991	0,992	0,00208167
Mix	0,996	0,997	0,994	0,996	0,00152753

Çizelge 4.31’de hazırlanan hamurların 25°C sıcaklıkta etüvde inkübasyona bırakılmadan önceki su aktivitesi değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.32 Hamurların fermentasyon sonrası aw değerleri

Su Aktivitesi (aw) Son Değerleri					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD sapma
Un	0,996	0,994	0,993	0,994	0,00152753
Maya	0,984	0,984	0,978	0,982	0,0034641
Ekşi Maya	0,971	0,981	0,984	0,9786	0,00680686
Mix 6 saat	0,997	0,994	0,994	0,995	0,00173205
Mix 18 saat	0,986	0,994	0,991	0,990	0,00404145

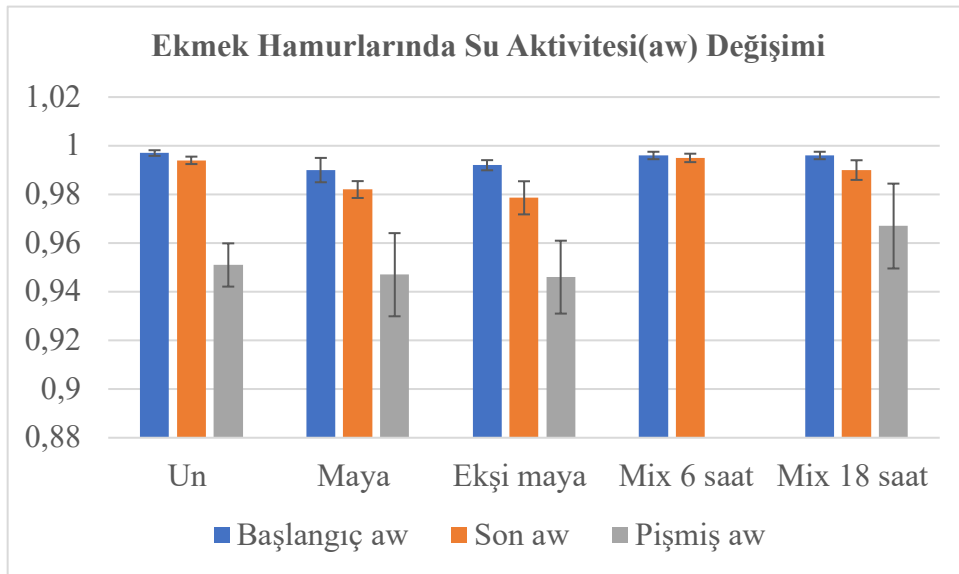
Çizelge 4.32’de hazırlanan hamurların 25°C sıcaklıkta etüvde 6 saat (mix 6 ve 18 saat) inkübasyonundan sonraki su aktivitesi değerleri verilmiştir. Değerler incelendiğinde hazırlanan hamurlardan sadece un kullanılarak hazırlanan hamurda 0,003 aw (%0,30), ticari maya ile hazırlanan hamurda 0,008 aw (%0,80), ticari ekşi maya ile hazırlanan hamurda 0,0134 aw (%1,34), mix hamurunda 0,001 aw (%0,10) ve mix 18 saat hamurunda 0,006 aw (%0,60) azalma gözlenmiştir. Fermentasyon sırasında su aktivitesi düşüş oranlarına göre hamurlar ticari ekşi mayalı hamur, ticari mayalı hamur, mix 18 saat hamuru, sadece un kullanılarak hazırlanan hamur ve mix (6 saat) hamuru şeklinde sıralanabilmektedir.

Çizelge 4.33 Hamurların pişmiş aw değerleri

Su Aktivitesi (aw) Pişmiş Değerleri					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD sapma
Un	0,944	0,961	0,948	0,951	0,00888819
Maya	0,965	0,931	0,945	0,947	0,01708801
Ekşi Maya	0,963	0,934	0,942	0,946	0,01497776
Mix 18 saat	0,947	0,975	0,979	0,967	0,0174356

Hamurların 25°C sıcaklıkta etüvde 6 saat (mix 18 saat) inkübasyonu ardından pişirilerek ekmek haline getirilmesi sonucu ölçülen su aktivitesi değerleri Çizelge 4.33’de verilmiştir. Değerler incelendiğinde pişirilen ekmeklerden pişmeden önceki hamur haline göre sadece un ile oluşturulan ekmekte 0,043 aw (%4,32), ticari maya ile hazırlanan ekmekte 0,035 aw (%3,56), ticari ekşi maya ile hazırlanan ekmekte 0,0326 aw (%3,33), mix ekmeğinde 0,023 aw (%2,32) azalma gözlenmiştir. Pişme işlemi sırasında su aktivitesi düşüş oranlarına göre ekmekler sadece un kullanılarak hazırlanan ekmek, ticari mayalı ekmek, ticari ekşi mayalı ekmek, mix 18 saat ekmeği şeklinde sıralanabilmektedir.

Ekmek hamurlarının fermentasyon öncesi, fermentasyon sonrası ve pişme sonrası su aktivitesi değişimleri Şekil 4.29’da verilmiştir.



Şekil 4.29 Hamurlarda pH ve TTA değişimi grafiği

4.5.5. Hamur % kuru madde değişimi

Hamurların 25°C sıcaklıkta etüvde inkübasyona bırakılmadan önceki ve sonraki kuru madde miktarları sırasıyla Çizelge 4.34'te ve Çizelge 4.35'te verilmiştir.

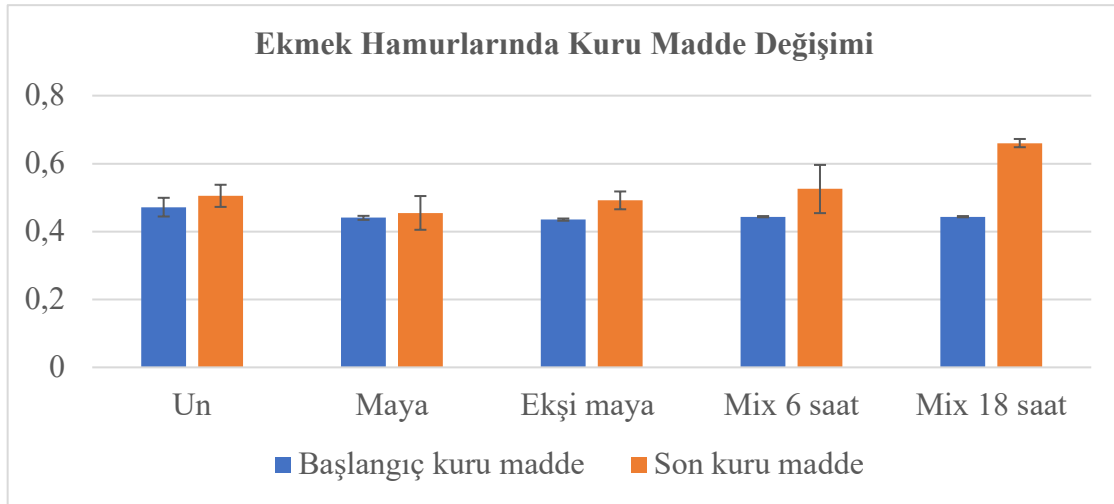
Çizelge 4.34 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi kuru madde miktarları

Hamur Kuru Madde Tayini Başlangıç Değerleri (1g)					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	0,4429 g	0,4977 g	0,4745 g	0,4717 g	0,0275 g
Maya	0,4437 g	0,4435 g	0,4334 g	0,4402 g	0,0058 g
Ekşi Maya	0,4346 g	0,4384 g	0,4319 g	0,4349 g	0,0032 g
Mix	0,4454 g	0,4418 g	0,4437 g	0,4436 g	0,0018 g

Çizelge 4.35 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi kuru madde miktarları

Hamur Kuru Madde Tayini Son Değerleri (1g)					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	0,4696 g	0,5337 g	0,5118 g	0,5050 g	0,0325 g
Maya	0,5121 g	0,4264 g	0,4257 g	0,4547 g	0,0496 g
Ekşi Maya	0,5193 g	0,4671 g	0,4886 g	0,4916 g	0,0262 g
Mix 6 saat	0,4611 g	0,5127 g	0,6014 g	0,5250 g	0,0709 g
Mix 18 saat	0,6466 g	0,6697 g	0,6646 g	0,6603 g	0,0121 g

Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi ve sonrası kuru madde miktarlarındaki değişim Şekil 4.30'da verilmiştir.



Şekil 4.30 Ekmek Hamurlarında kuru madde değişimi grafiği

Çizelge 4.36’da hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi % kuru madde değerleri verilmiştir. Değerler incelendiğinde fermentasyon öncesinde sadece undan oluşturulan hamurun %47,17’si kuru madde, %52,83’ü yaş madde; ticari mayadan oluşturulan hamurun %44,02’si kuru madde, %55,98’i yaş madde; ticari ekşi mayadan oluşturulan hamurun %43,49’u kuru madde, %56,51’i yaş madde; mix hamurunun %44,36’sı kuru madde, %55,64’ yaş madde olduğu gözlenmektedir.

Çizelge 4.36 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi % kuru madde miktarları

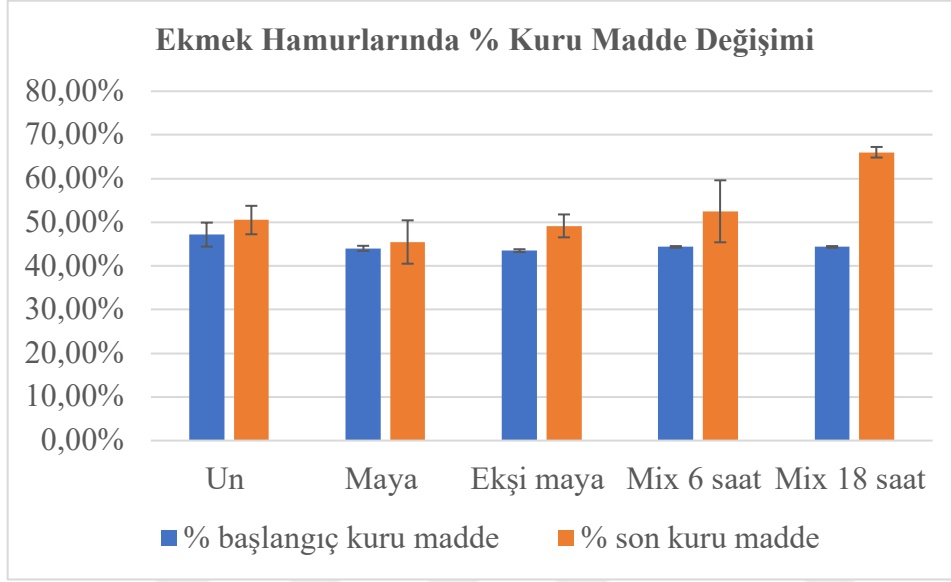
% Kuru Madde Tayini Başlangıç Değerleri (1g)					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	%44,29	%49,77	%47,45	%47,17	%2,75
Maya	%44,37	%44,35	%43,34	%44,02	%0,58
Ekşi Maya	%43,46	%43,84	%43,19	%43,49	%0,32
Mix	%44,54	%44,18	%44,37	%44,36	%0,18

Çizelge 4.37’de hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi % kuru madde değerleri verilmiştir. Değerler incelendiğinde fermentasyon öncesinde sadece undan oluşturulan hamurun %50,50’si kuru madde, %49,50’si yaş madde; ticari mayadan oluşturulan hamurun %45,47’si kuru madde, %54,53’ü yaş madde; ticari ekşi mayadan oluşturulan hamurun %52,50’si kuru madde, %50,84’ü yaş madde; mix hamurunun (6 saat) %52,50’si kuru madde, %47,50’si yaş madde; 18 saatlik mix hamurunun %66,03’ü kuru madde, %33,97’si yaş madde olduğu gözlenmektedir.

Çizelge 4.37 Hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası % kuru madde miktarları

% Kuru Madde Tayini Son Değerleri (1g)					
Örnek	1. Beher	2. Beher	3. Beher	Ortalama	STD Sapma
Un	%46,96	%53,37	%51,18	%50,50	%3,25
Maya	%51,21	%42,64	%42,57	%45,47	%4,96
Ekşi Maya	%51,93	%46,71	%48,86	%49,16	%2,62
Mix 6 saat	%46,11	%51,27	%60,14	%52,50	%7,09
Mix 18 saat	%64,66	%66,97	%66,46	%66,03	%1,21

Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi ve sonrası kuru madde miktarlarındaki değişim yüzde cinsinden verilmiştir (Şekil 4.31). Işıkalp (2019) ekşi hamur örnekleriyle yaptığı çalışmada kuru madde ağırlığını % 54.34 ile % 60.27 arasında bulmuştur. Çalışmamızdaki değerler ile örtüşmektedir.



Şekil 4.31 Ekmek hamurlarında % kuru madde değişimi grafiği

4.5.6. Hamur gluten miktarı değişimi

Hazırlanan hamurlardaki gluten miktarı değişimi fermentasyon öncesi ve 25°C sıcaklıkta 6 saatlik (mix 6 ve 18 saat) fermentasyon sonrası ölçümler yapılarak tespit edilmiştir. Örneklerdeki yaş ve kuru gluten miktarları aşağıdaki çizelgelerde (Çizelge 4.38-41) sunulmuştur. Değerler analiz edilirken hata payını azaltmak amacıyla kuru gluten miktarı dikkate alınmıştır.

Çizelge 4.38’de 3 paralel hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi ölçülen yaş ve kuru gluten miktarları verilmiştir.

Çizelge 4.38 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi gluten miktarları

Fermentasyon Öncesi Gluten Miktarı Tayini Testi (50g örnek)						
	1. Beher		2. Beher		3. Beher	
Örnek	Yaş	Kuru	Yaş	Kuru	Yaş	Kuru
Un	0,7780 g	0,3424 g	0,2788 g	0,1617 g	0,3407 g	0,1825 g
Maya	0,8459 g	0,5585 g	0,8193 g	0,6967 g	0,5169 g	0,2747 g
Ekşi Maya	0,3788 g	0,1349 g	0,8064 g	0,2935 g	0,473 g	0,169 g
Mix	0,7959 g	0,2954 g	0,8346 g	0,3109 g	0,9239 g	0,3351 g

Çizelge 4.39’da 3 paralel hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası ölçülen yaş ve kuru gluten miktarları verilmiştir.

Çizelge 4.39 Hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası gluten miktarları

Fermentasyon Sonrası Gluten Miktarı Tayini Testi (50g örnek)						
	1. Beher		2. Beher		3. Beher	
Örnek	Yaş	Kuru	Yaş	Kuru	Yaş	Kuru
Un	0,2001 g	0,1559 g	0,1883 g	0,1587 g	0,3407 g	0,1892 g
Maya	0,8062 g	0,5192 g	0,7601 g	0,5579 g	0,7024 g	0,2655 g
Ekşi Maya	0,2420 g	0,0803 g	0,2814 g	0,1019 g	0,4456 g	0,1572 g
Mix 6 saat	0,2626 g	0,0919 g	0,2532 g	0,0898 g	0,5814 g	0,2046 g
Mix 18 saat	0,0367 g	0,026 g	0,0792 g	0,0789 g	0,0259 g	0,0208 g

Çizelge 4.40’da hazırlanmış olan hamurların fermentasyon öncesi ortalama gluten miktarları verilmiştir. Değerler incelendiğinde hamur içine eklenen mayanın fermentasyon öncesi gluten miktarına etki ettiği gözlemlenmiştir. Bu verilere dayanarak fermentasyon öncesi en yüksek gluten miktarı ticari maya ile oluşturulan hamurda bulunurken en düşük gluten miktarı ise ticari ekşi mayalı hamurda ölçülmüştür.

Çizelge 4.40 Hazırlanan hamurların fermentasyon öncesi ortalama gluten miktarları

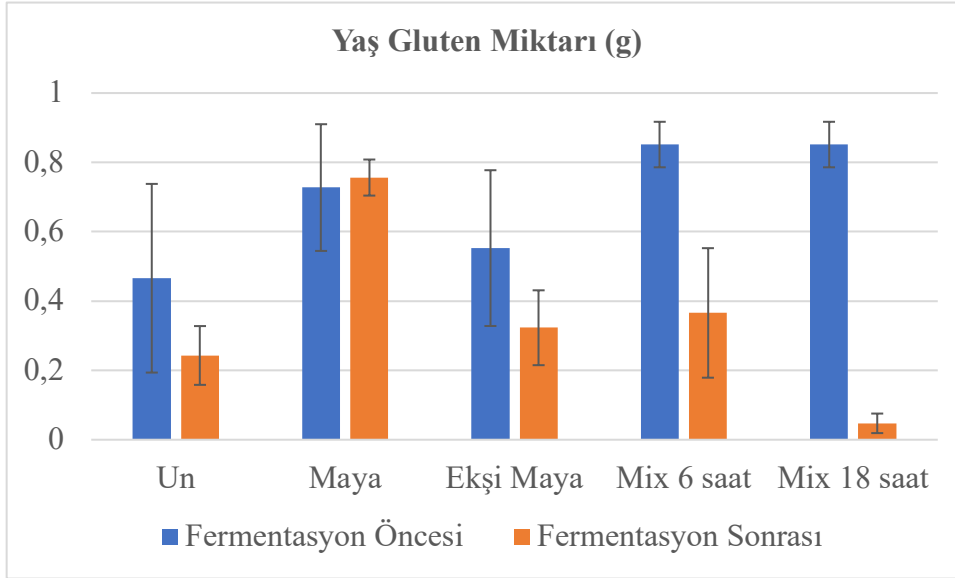
Fermentasyon Öncesi Gluten Tayini (50 g örnek)				
	Yaş		Kuru	
Örnek	Ortalama	STD Sapma	Ortalama	STD Sapma
Un	0,4658 g	0,2721 g	0,2288 g	0,0988 g
Maya	0,7273 g	0,1827 g	0,5099 g	0,2151 g
Ekşi Maya	0,5527 g	0,2246 g	0,1991 g	0,0834 g
Mix	0,8514 g	0,0656 g	0,3138 g	0,0200 g

Çizelge 4.41’de hazırlanan hamurların 6 saatlik (mix 6 ve 18 saat) fermentasyon sonrası yaş ve kuru gluten miktarları verilmiştir. Veriler kuru gluten miktarları üzerinden incelendiğinde sadece un ile hazırlanan hamurda 0,061 g (%26,61), ticari maya kullanılarak hazırlanan hamurda 0,062 g (%12,23), ticari ekşi maya kullanılarak hazırlanan hamurda 0,086 g (%43,19), mix (6 saatlik) hamurunda 0,1851 g (%58,98) ve mix 18 saatlik hamurda 0,2719 g (%86,64) düşüş gözlenmiştir. Hamurlardaki gluten miktarının düşüşü en fazla düşenden en az düşene mix 18 saatlik hamur, mix (6 saatlik) hamur, ticari ekşi mayalı hamur, sadece undan oluşturulan hamur ve ticari mayadan oluşturulan hamur şeklinde sıralanmaktadır. Bu durumda gluten parçalama yeteneği en yüksek maya laboratuvar koşullarında hazırlanan mikrobiyota kontrollü mix ekşi mayalı ekmek mayası olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.41 Hazırlanan hamurların fermentasyon sonrası ortalama gluten miktarları

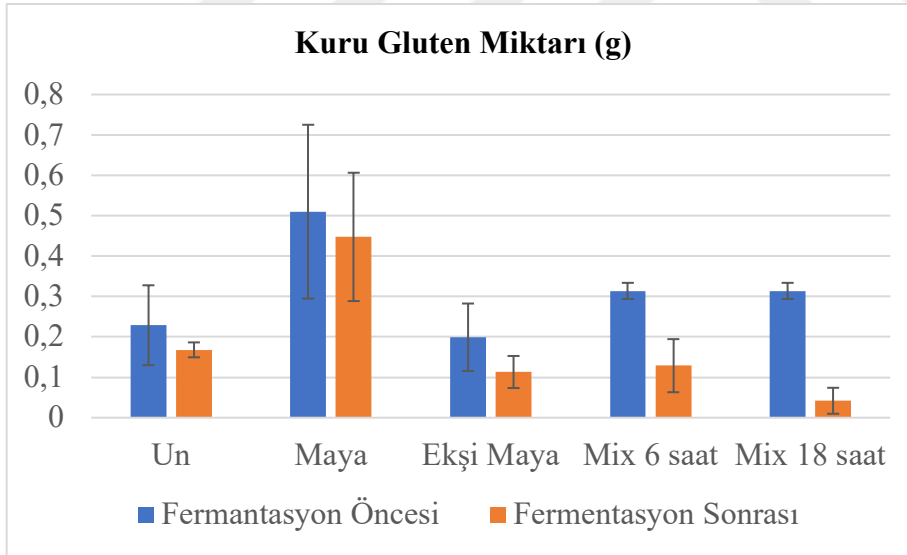
Fermentasyon Sonrası Gluten Tayini (50 g örnek)				
	Yaş		Kuru	
Örnek	Ortalama	STD Sapma	Ortalama	STD Sapma
Un	0,2430 g	0,0847 g	0,1679 g	0,0184 g
Maya	0,7562 g	0,0520 g	0,4475 g	0,1588 g
Ekşi Maya	0,3230 g	0,1079 g	0,1131 g	0,0396 g
Mix 6 saat	0,3657 g	0,1868 g	0,1287 g	0,0656 g
Mix 18 saat	0,0472 g	0,0281 g	0,0419 g	0,0321 g

Şekil 4.32’de hazırlanan hamurların yaş gluten miktarındaki değişim verilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere en fazla değişim mix hamurlarında gerçekleşmiştir. Ticari mayada görülen yükselme gluten parçası kurutulduğunda yerini azalmaya bırakmaktadır. Yıkama sırasında gluten üzerinde kalan su damlaları sebebiyle yaş gluten miktarları kuru gluten miktarı kadar güvenilir değildir.



Şekil 4.32 Ekmek hamurlarında yaş gluten değişimi grafiği

Şekil 4.33'te hazırlanan hamurların kuru gluten miktarındaki değişim verilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere en fazla değişim mix hamurlarında gerçekleşmiştir.



Şekil 4.33 Ekmek hamurlarında kuru gluten değişimi grafiği

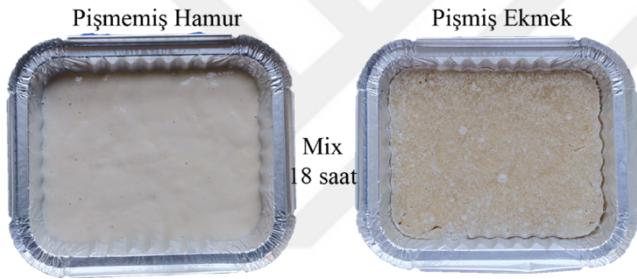
Hamurlar yıkandıktan sonra geriye kalan esnek gluten yapısı Şekil 4.34'te görülmektedir.



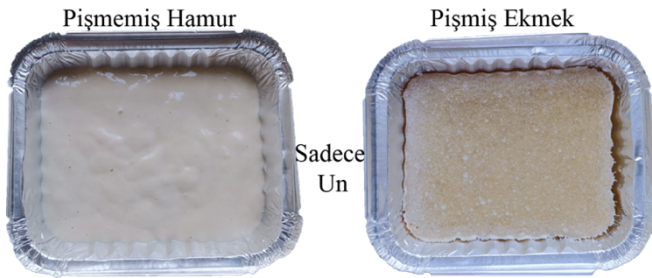
Şekil 4.34 Glutenin esnek yapısı

4.6. Hamurların Pişirilmesi (ekmek yapımı)

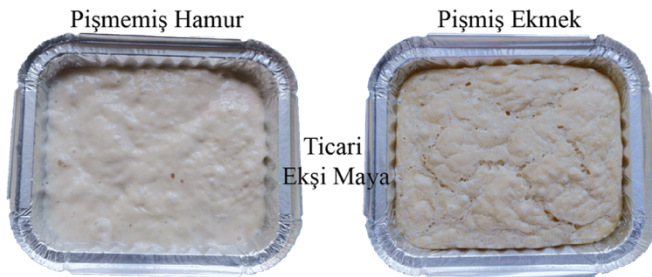
Oluşturulan hamurlar etüvde 150°C’de 2 saat pişirilerek ekmek haline getirilmiştir (Şekil 4.35-38). Elde edilen ekmekler ilgili testler yapılmak üzere soğumaya bırakılmıştır.



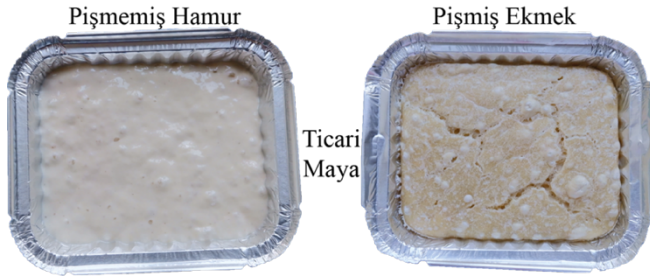
Şekil 4.35 Mix hamuru ve ekmeği



Şekil 4.36 Sadece un hamuru ve ekmeği



Şekil 4.37 Ticari ekşi maya hamuru ve ekmeği



Şekil 4.38 Ticari maya hamuru ve ekmeği

4.7. Pişirilen Ekmeklere Uygulanan Test Sonuçları

4.7.1. Ekmek ağırlık değişimi

Ekmek ağırlık değişimi 25°C sıcaklıkta 6 saat (mix dışındakiler) ya da 18 saat (mix için) fermentasyona bırakılan hamurların pişirilmesi ile oluşturulan ekmeklerin hassas terazi kullanılarak yapılan ölçümleri değerlendirilerek bulunmuştur. Pişirme öncesi ve sonrası ekmek ağırlık değerleri sırasıyla Çizelge 4.42 ve Çizelge 4.43’de görülmektedir.

Çizelge 4.42 Hazırlanan hamurların pişme öncesi ağırlık değerleri

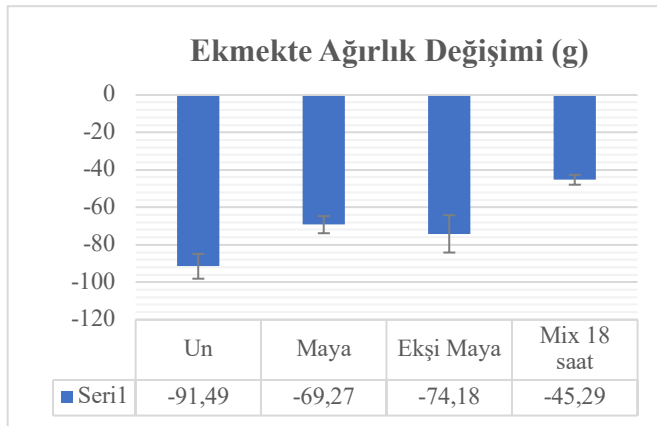
Pişme Öncesi Ekmek Ağırlık Değerleri					
Örnek	1. Kap	2. Kap	3. Kap	Ortalama	STD sapma
Un	200,53 g	201,65 g	201,07 g	201,08 g	0,56 g
Maya	202,23 g	202,2 g	192,8 g	199,07 g	5,43 g
Ekşi Maya	202,08 g	203,09 g	203,44 g	202,87 g	0,70 g
Mix 18 saat	200 g	200 g	200 g	200 g	0,71 g

Ekmekler pişirilmeden önce alüminyum kaplara alınması sırasında fermentasyonun gerçekleştiği cam beherlere yapıştığı için kaba aktarılamayan, kayıp olan hamur miktarının çalışmayı etkilememesi amacıyla kaplar pişirmeye gönderilmeden önce daraları çıkartılarak tartımları yapılmıştır. Tartımlardaki ortalama 1,63 g (%0,81) fark %1’in atında olması sebebiyle deney güvenilirliğine bir etkisi olmamıştır.

Çizelge 4.43 Pişirilen ekmeklerin ağırlık değerleri

Pişmiş Ekmek Ağırlık Değerleri					
Örnek	1. Kap	2. Kap	3. Kap	Ortalama	STD sapma
Un	112,59 g	102,52 g	113,67 g	109,59 g	6,14 g
Maya	133,69 g	128,03 g	127,68 g	129,80 g	3,37 g
Ekşi Maya	132,31 g	117,49 g	136,26 g	128,68 g	9,89 g
Mix 18 saat	157,31 g	154,79 g	152,03 g	152,03 g	2,64g

Şekil 4.39’da pişme öncesi ve sonrası ağırlık değerlerine göre hesaplanmış ağırlık değişimleri verilmiştir. İki veri grubu birlikte değerlendirildiğinde pişme işlemi sonrasında; sadece undan oluşturulan ekmeğin ağırlığı 91,49 g (%45,49), ticari maya kullanılarak hazırlanan ekmeğin ağırlığı 69,27 g (%34,79), ticari ekşi maya kullanılarak hazırlanan ekmeğin ağırlığı 74,18 g (%36,57), 18 saatlik mix hamurundan oluşturulan ekmeğin ağırlığı 45,29 g (%23,98) azalmıştır. Bu veriler ışığında pişme sırasında ağırlık kaybı en yüksek olan ekmekten en az olan ekmeğe sadece undan hazırlanan ekmek, ticari ekşi maya kullanılarak hazırlanan ekmek, ticari maya kullanılarak hazırlanan ekmek ve 18 saatlik mix hamurundan oluşturulan ekmek şeklinde sıralanmaktadır.



Şekil 4.39 Ekmek hamurlarında ekmek ağırlığı değişim grafiği

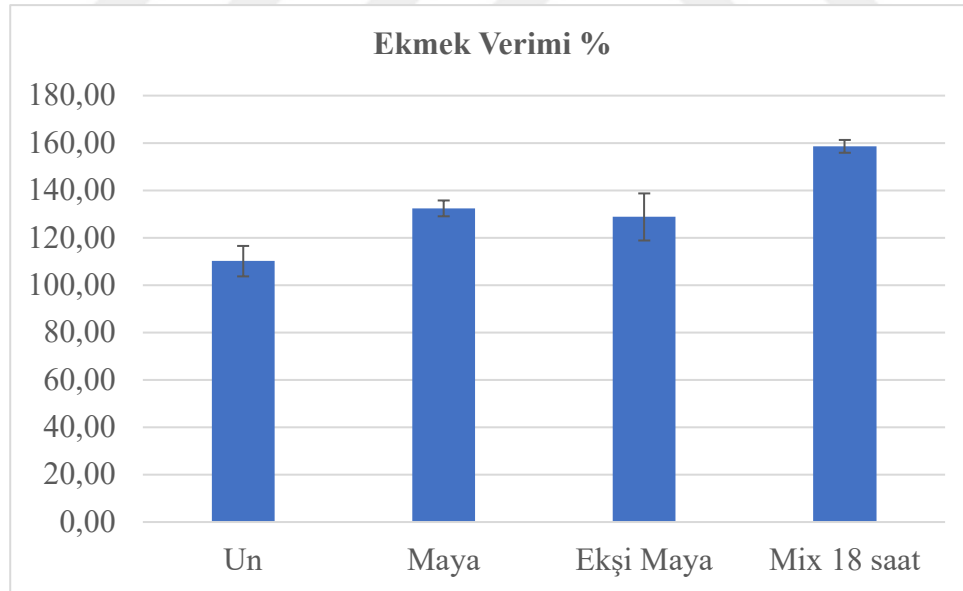
4.7.2. Ekmek verimi (EV) ve pişirme kaybı (PK) sonuçları

Ekmek verimi ve pişirme kaybı analizleri sadece undan oluşturulan hamurun, ticari mayadan oluşturulan hamurun, ticari ekşi mayadan oluşturulan ekmek hamurunun 6 saatlik; mix hamurunun 18 saatlik fermentasyon sonucu pişirilen ekmeklerine yapılmıştır.

Çizelge 4.44 ve Şekil 4.40'ta hazırlanan hamurlardan pişirme yoluyla elde edilen ekmeklerin hesaplanan ekmek verimleri verilmiştir. Yapılan ölçümler ışığında en verimli ekmek hazırlamış olduğumuz mikrobiyota kontrollü ekşi mayalı ekmek (mix) ekmeği olmuştur. En verimsiz ekmek sadece undan oluşturulan hamurun ekmeği olmuştur. Ticari maya kullanılarak oluşturulan ekmek ve ticari ekşi mayalı ekmek ise birbirine çok yakın değerlere sahip olup 3,62 birim farkla ticari maya kullanılarak hazırlanan ekmek daha yüksek verimli ölçülmüştür.

Çizelge 4.44 Pişirilen ekmeklerin verimi

Ekmek Verimi (%)					
Örnek	1. Kap	2. Kap	3. Kap	Ortalama	STD sapma
Un	113,43	102,72	114,22	110,12	6,42
Maya	134,21	128,54	134,44	132,40	3,34
Ekşi Maya	132,92	117,44	135,97	128,78	9,93
Mix 18 saat	161,24	158,66	155,83	158,58	2,7



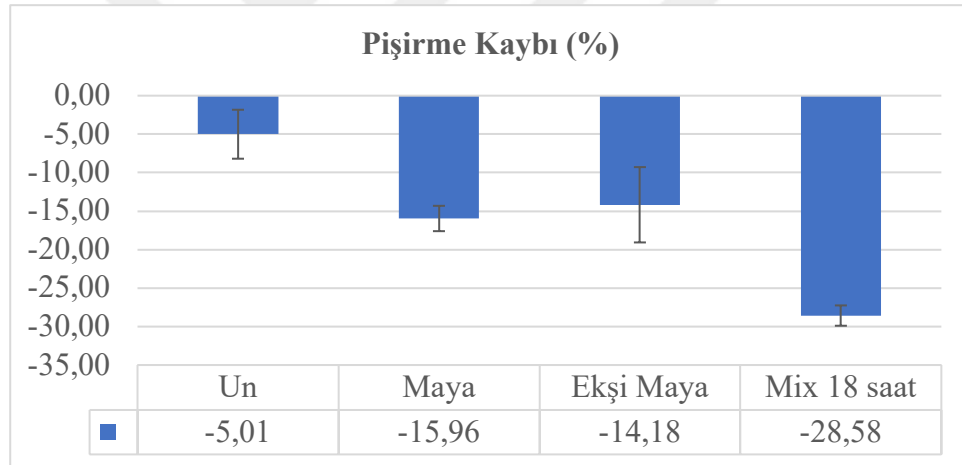
Şekil 4.40 Pişirilen ekmeklerin verim grafiği

Hamurların pişirilmesinden sonra yapılan ölçümler sonrası hesaplanan pişirme kaybı değerleri Çizelge 4.45 ve Şekil 4.41'de verilmiştir. Yapılan ölçümler ışığında pişirme kaybı en fazla olan ekmek mix ekmeği olmuştur. En az pişirme kaybı ölçülen ekmek sadece undan oluşturulan hamurun ekmeği olmuştur. Ticari maya kullanılarak oluşturulan ekmek ve ticari

ekşi mayalı ekmek ise yine birbirine çok yakın değerlere sahip olup 1,78 birim farkla ticari maya kullanılarak hazırlanan ekmekte daha yüksek pişirme kaybı ölçülmüştür.

Çizelge 4.45 Pişirilen ekmeklerin pişirme kaybı

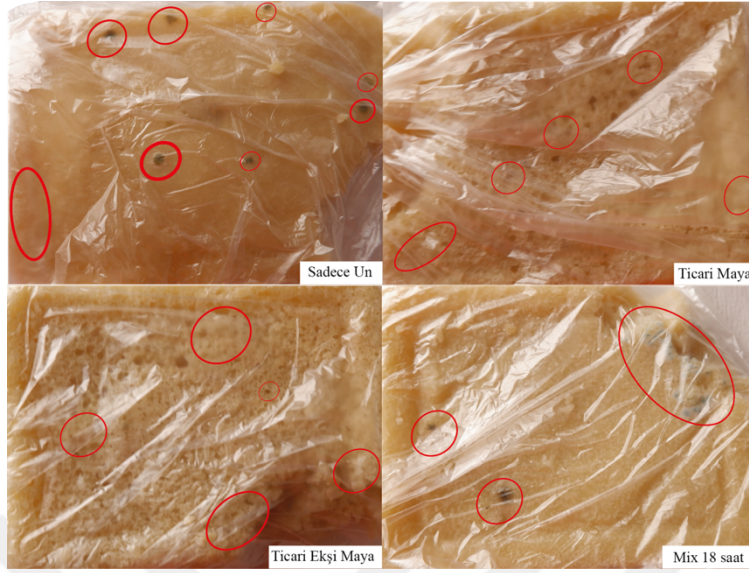
Pişirme Kaybı (%)					
Örnek	1. Kap	2. Kap	3. Kap	Ortalama	STD sapma
Un	-6,65	-1,34	-7,04	-5,01	3,18
Maya	-16,85	-14,06	-16,97	-15,96	1,64
Ekşi Maya	-16,22	-8,59	-17,72	-14,18	4,89
Mix 18h	-29,88	-28,62	-27,24	-28,58	1,32



Şekil 4.41 Pişirilen ekmeklerin pişirme kaybı grafiği

4.7.3. Raf ömrü

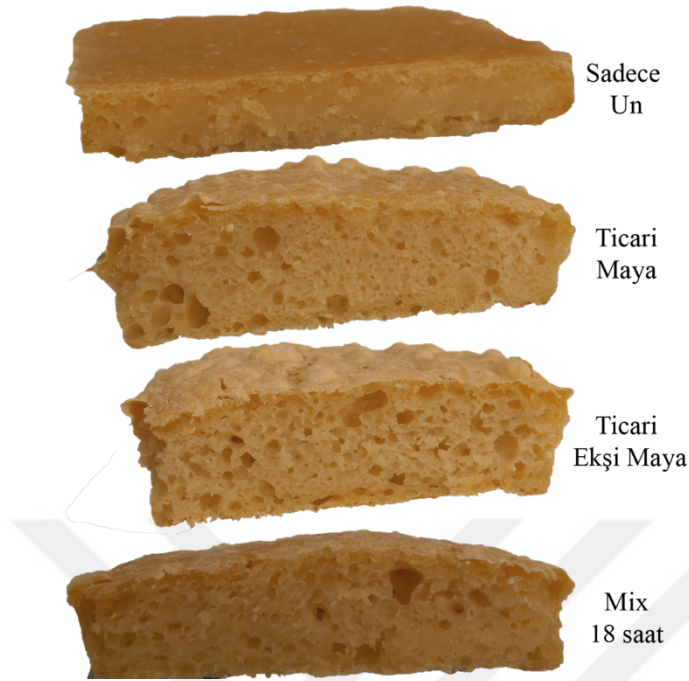
Çalışma sırasında raf ömrü ölçümü sadece oda sıcaklığında (25°C) karanlık etüv koşullarında yapılmıştır. Etüvde bekletilen ekmek örneklerinin hiçbirinde 1. 2. ve 3. günde küf oluşumu gözlenmemiştir, 4. gün kontrolünde 3'er paralel 4 hamur çeşidinin (toplam 12) tamamında küflenme gözlemlenmiştir (Şekil 4.42). Elde edilen bulgular ışığında tüm ekmeklerin raf ömrünün aynı (3 gün) olduğu belirlenmiştir. Küflenme örnekleri herhangi bir kontaminasyon ihtimaline karşın poşetlerinden çıkartılmadan fotoğraflanmış ve otoklavlanarak laboratuvarından uzaklaştırılmıştır.



Şekil 4.42 Ekmeklerdeki küflenme

4.7.4. Ekmek dokusu

Oluşturulan hamurlardan pişirilen ve oda sıcaklığına soğutulan ekmekler doku incelemesi yapılması amacıyla bıçak yardımıyla ikiye bölünmüştür. Orta iç kısmı incelendiğinde sadece un ile hazırlanan ekmeğin neredeyse hiç gözeneği görülmezken ticari maya ile hazırlanan ekmek ve mix ekmeğinin birbirine yakın derecede ama ticari ekşi maya ekmeğinden daha az gözenek gözlenmiştir. Değerlendirilen ekmeklerin doku fotoğrafları Şekil 4.43’ de verilmiştir.



Şekil 4.43 Ekmeklerin dokusu

4.7.5. Ekmek toplam titrasyon asitliği ve pH değişimi

Çalışmada hazırlanan özellikle mix hamurlarından pişirme yoluyla elde edilen ekmeklerde ekmeğin asidik olması ve bu asitlik derecesini muhafaza etme yeteneğinin yüksek olması istenmektedir. Bunları sağlayıp sağlamadığını ölçümlemek için yapılan TTA ve pH değişimi testlerinin sonuçları aşağıda sıralanmıştır (Çizelge 4.46-51).

Çizelge 4.46 Hazırlanan ekmeklerin pişirme öncesi TTA ve pH değerleri

Ekmek Toplam Titrasyon Asitliği ve pH Pişme Öncesi Değerleri						
Örnek	1. Beher pH	1. Beher TTA	2. Beher pH	2. Beher TTA	3. Beher pH	3. Beher TTA
Un	7	1 g/ml	7,05	1,1 g/ml	6,93	1,1 g/ml
Maya	5,96	3,2 g/ml	5,98	3,1 g/ml	5,96	3,5 g/ml
Ekşi Maya	6,36	2,9 g/ml	6,37	2,8 g/ml	6,38	3,3 g/ml
Mix	5,15	4,3 g/ml	5,34	3,8 g/ml	5,25	4,5 g/ml

Çizelge 4.46’da her bir hamur örneğinden 3 paralel yapılan çalışmada 25°C sıcaklıkta 6 saat (mix 18 saat) etüvde inkübasyon sonrasında ölçülen TTA ve pH değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.47 Pişirilen ekmeklerin ölçülen TTA ve pH değerleri

Ekmek Toplam Titrasyon Asitliği ve pH Pişme Sonrası Değerleri						
Örnek	1. Beher pH	1. Beher TTA	2. Beher pH	2. Beher TTA	3. Beher pH	3. Beher TTA
Un	7,4	0,2 g/ml	7,44	0,2 g/ml	7,42	0,2 g/ml
Maya	6,22	0,6 g/ml	6,31	0,8 g/ml	6,28	0,6 g/ml
Ekşi Maya	6,31	0,8 g/ml	6,3	1 g/ml	6,41	0,9 g/ml
Mix 18 saat	5,22	1,1 g/ml	5,25	1,5 g/ml	5,22	1,2 g/ml

Çizelge 4.48 Hazırlanan ekmeklerin pişirme öncesi ortalama pH değerleri

Pişme Öncesi Ekmek Ortalama pH Değerleri				
Örnek	Un	Maya	Ekşi Maya	Mix 18 saat
Ortalama	7	6	6,4	5,25
STD Sapma	0,05	0,009	0,008	0,08

Çizelge 4.48’de gösterilen ekmeklerin pişme öncesinde ölçülen pH değerlerinin ortalamalarına göre pişme öncesinde; sadece undan ekmeğin nötr pH, ticari maya ve ticari ekşi mayadan ekmeğin mix ekmeğine göre daha düşük asitlikte olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.49 Hazırlanan ekmeklerin pişirme öncesi ortalama TTA değerleri

Pişme Öncesi Ekmek Ortalama TTA Değerleri				
Örnek	Un	Maya	Ekşi Maya	Mix 18 saat
Ortalama	1,1 g/ml	3,3 g/ml	3 g/ml	4,2 g/ml
STD Sapma	0,05 g/ml	0,17 g/ml	0,22 g/ml	0,29 g/ml

Çizelge 4.49’da ekmek örneklerinin pişmeden önce ölçülen toplam titrasyon asitliği değerlerinin ortalamaları verilmiştir.

Çizelge 4.50 Hazırlanan ekmeklerin pişirme sonrası ortalama pH değerleri

Pişmiş Ekmek Ortalama pH Değerleri				
Örnek	Un	Maya	Ekşi Maya	Mix 18 saat
Ortalama	7,42	6,27	6,34	5,23
STD Sapma	0,02	0,04	0,06	0,01

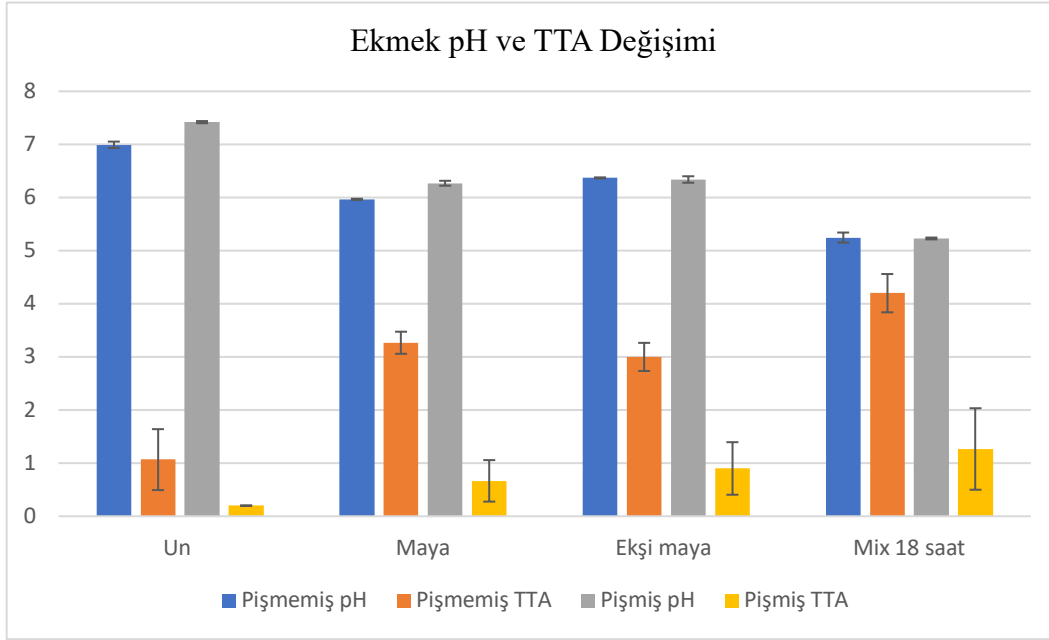
Çizelge 4.50’da hamur örneklerinin 6 saatlik (mix 18 saat) fermentasyonu sonrasında pişirildiğinde oluşan ekmekte ölçülen pH değerlerinin ortalamaları verilmiştir. Veriler değerlendirildiğinde pişme öncesine kıyasla pH seviyesinin sadece un kullanılarak hazırlanan hamurdan üretilen ekmekte 0,42 birimlik (%5,99), ticari maya ile oluşturulan hamurdan üretilen ekmekte 0,27 birimlik (%4,49), ticari ekşi maya ile hazırlanan hamurdan üretilen ekmekte 0,06 birimlik (%0,93) artış ve 18 saatlik mix hamurundan oluşturulan ekmekte 0,2 birimlik (%0,38) azalma gözlenmiştir.

Çizelge 4.51 Hazırlanan ekmeklerin pişirme sonrası ortalama TTA değerleri

Pişmiş Ekmek Ortalama TTA Değerleri				
Örnek	Un	Maya	Ekşi Maya	Mix 18 saat
Ortalama	0,20 g/ml	0,66 g/ml	0,90 g/ml	1,26 g/ml
STD Sapma	0,00 g/ml	0,39 g/ml	0,49 g/ml	0,76 g/ml

Çizelge 4.51’de hamur örneklerinin 6 saatlik (mix 18 saat) fermentasyonu sonrasında pişirildiğinde oluşan ekmekte ölçülen toplam titrasyon asitliği değerlerinin ortalamaları verilmiştir. Veriler değerlendirildiğinde pişirme öncesine kıyasla TTA seviyesinin sadece un kullanılarak hazırlanan hamurdan üretilen ekmekte 0,90 g/ml (%81,81), ticari maya ile oluşturulan hamurda 2,64 g/ml (%79,99), ticari ekşi maya ile hazırlanan hamurda 2,1 g/ml (%69,96) ve 18 saatlik mix hamurundan oluşturulan ekmekte 2,94 g/ml (%69,99) azalma gözlenmiştir.

Ekmeklerde pişme öncesi ve sonrası meydana gelen pH ve TTA farkları Şekil 4.44’te verilmiştir.



Şekil 4.44 Pişirilen ekmeklerin pH ve TTA değişim grafiği

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Genetik yatkınlığı olan kişilerde daha yüksek oranda görülen bir otoimmün hastalık olan Çölyak hastalarına henüz bir tedavi yöntemi bulunamamıştır. Çölyak hastalarına fayda sağlanamasa bile çölyak olmayan buğday duyarlılığı ve/veya hassas bağırsak sendromu olan bireylerde semptomların giderilmesi ya da azaltılmasına yönelik olarak ekşi maya mikrobiyotası seçimi umut vaadeci bir seçenek oluşturmuştur. Bu sebepten yürütülen çalışmada, çeşitli kaynaklardan alınan ekşi maya örneklerinden izole edilen maya izolatları, LAB izolatlarının ve stokta bulunan bazı LAB suşlarının gluten parçalama yetenekleri belirlenmiştir. Gluten parçalama yetenekleri olan LAB ve mayalardan seçilenler ile yeni bir ekşi maya bileşimi oluşturulmuş ve mikrobiyota kontrollü ekşi mayalı ekmek hamurundan ekmek üretilmiştir. Bu yeni ekşi maya bileşiminin, daha sonraki düşük glutenli ekmek üretimi denemeleri için starter kültür olma potansiyeli bulunmaktadır.

Çalışmanın başlangıcında farklı yörelerden, geleneksel yöntemlerle ekşi maya ekmeği üreten 8 üreticiden ekşi maya örnekleri temin edilmiştir. Bu ekşi maya örneklerinden LAB ve maya izolasyonu yapılmıştır. LAB izolatları ve maya izolatlarının gluten parçalama yetenekleri içinde tek azot kaynağı olarak gluten bulunan GUA besiyerlerinde belirlenmiştir. GUA’da iyi bir koloni gelişimi görüldüğünde, plaklar protein boyası ile boyanmış ve LAB ve maya kolonilerinin tabanlarında dekolorizasyon yani boya giderimi olup olmadığı gözlenmiştir. Boya giderimi olması gluten proteininin parçalandığını göstermiştir. Gluten parçalayan 11 LAB izolatı, 11 maya izolatı ve 6 LAB suşu seçilmiş ve birlikte büyüme testi yapılmıştır. Test sonunda bunların hiçbirinin birbirine karşı antagonistik etki göstermediği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, düşük glutenli ekmek elde etmede, bu çalışmada hazırlanan yeni ekşi maya bileşiminin (starterin) piyasadan temin edilebilecek mayalardan daha başarılı olduğu belirlenmiştir. Bu yeni starterin, gluten hassasiyeti ve/veya hassas bağırsak sendromuna sahip bireylerin daha kolay tolere edebileceği ekmeklerin üretiminde kullanım potansiyeli bulunmaktadır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Angelis, M.D., Cagno, R.D., Gallo, G., Curci, M., Siragusa, S., Crecchio, C., Parente, E., Gobbetti, M. (2007). *Molecular and functional characterization of Lactobacillus sanfranciscensis strains isolated from sourdoughs*. International Journal of Food Microbiology, 114:69-82. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.036>
- Anonim, (2008). *Buğday ve Buğday Unu, Gluten İçeriği, Bölüm 1: Elle yıkama metodu ile yaş gluten tayini, TS EN ISO 21415-1*.
- Arendt, E.K , Ryan, L.A.M., Dal Bello, F., (2007). *Impact of Sourdough on the Texture of Bread*. Food Microbiology, 24(2):165-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.011>
- Bakırcı, F., Köse, E., (2017). *Ekşi Hamurlardan Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu ve Tanımlanması*. Akademik Gıda, 15(2):149-154. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.333670>
- Biesiekierski J., (2019). *What is Gluten*. 32(S1):78-81. <https://doi.org/10.1111/jgh.13703>
- Brandt, M.J., (2007). *Sourdough Products for Convenient Use in Baking*. 24:161-164. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.010>
- Cappelle, S., Guylaine, L., Gänzle, M. G., Gobbetti, M., (2013). *History and Social Aspects of Sourdough*. In: Handbook on Sourdough Biotechnology (Eds: M. Gobbetti, M. Gänzle), Springer New York, 1-9s.
- Capurso, C., (2021). *Whole-Grain Intake in the Mediterranean Diet and A Low Protein to Carbohydrates Ratio Can Help to Reduce Mortality from Cardiovascular Disease, Slow Down the Progression of Aging, and to Improve Lifespan*. 13(8):2540. <https://doi.org/10.3390/nu13082540>
- Carnevali, P., Ciati, R., Leporati, A., Paese, M., (2007). *Liquid Sourdough Fermentation: Industrial Application Perspectives*. Food Microbiology, 24:150-154. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.009>
- Catzeddu, P., (2011). *Sourdough Breads, In: Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention*. Eds: V.R Preedy, R.R. Watson Academic Press, San Diego, 37-46s.
- Catzeddu, P., Mura, E., Parente, E., Sanna, M., Farris, G.A., (2006). *Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria from Sourdoughs Breads Produced in Sardinia (Italy) and Multivariate Statistical Analyses of Results*. Systematic and Applied Microbiology, 29:138-144 <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01874.x>
- Chavan R.S., Chavan S.R., (2011). *Sourdough Technology-A Traditional Way For Wholesome Foods: A Review*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 10(3):69–182. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00148.x>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Coda, R., Di Cagno, R., Rizzello, C.G., Nionelli, L., Edema, O.M., Gobbetti, M., (2011). *Utilization of African Grains for Sourdough Bread Making*. Journal of Food Science 76(6):329-35. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02240.x>
- Corsetti, A., (2013). *Technology of Sourdough Fermentation and Sourdough Applications*. In: Handbook on Sourdough Biotechnology (Eds: M. Gobbetti, M. Gänzle), Springer New York, p: 85-103.
- Corsetti, A., Settanni, L., (2007). *Lactobacilli in Sourdough Fermentation*. Food Research International, 40: 539-558. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.11.001>
- Corsetti, A., Settanni, L., Van Sinderen, D., Felis, G. E., Dellaglio, F., Gobbetti, M., (2005). *Lactobacillus rossii sp. nov., Isolated from Wheat Sourdough*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 55(1):35-40. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.63075-0>
- Cristofori, F., Francavilla, R., Capobianco, D., Dargenio, V.N., Filardo, S., Mastromarino, P., (2020). *Bacterial-Based Strategies to Hydrolyze Gluten Peptides and Protect Intestinal Mucosa*. Frontiers in Immunology, 11:567801. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.567801>
- Çon, A.H., Gökalp, H.Y., (2000). *Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Metabolitleri ve Etki Şekilleri*. Türk Mikrobiyoloji Cemiyet Dergisi, 30:180-190. https://www.tmc.dergisi.org/pdf/pdf_TMC_199.pdf
- D'ariento, R., Stefanile, R., Maurano, F., Mazzarella, G., Ricca, E., Troncone, R., Rossi, M., (2011). *Immunomodulatory Effects of Lactobacillus casei Administration in A Mouse Model of Gliadin-Sensitive Enteropathy*. Scandinavian Journal of Immunology, 74(4): 335-341. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2011.02582.x>
- De Vuyst L., Van Kerrebroeck, S., Leroy, F., (2017). *Microbial Ecology and Process Technology of Sourdough Fermentation*. In: Advances in Applied Microbiology, (eds: S. Sariaslani, G. M. Gadd), Academic Press, 49-160. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2017.02.003>
- De Vuyst, L., Neysens, P., (2005). *The Sourdough Microflora: Biodiversity and Metabolic Interactions*. Trends in Food Science & Technology, 16, 4356. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.012>
- De Vuyst, L., Schrijvers V., Paramithiotis, Hoste, B., Vancanneyt M., Swings, J., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., Messens, W., (2002). *The Biodiversity of Lactic Acid Bacteria in Greek Traditional Wheat Sourdoughs is Reflected in Both Composition and Metabolite Formation*. Applied and Environmental Microbiology, 68:6059-6069. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.6059-6069.2002>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., Harth, H., Huys, G., Daniel, H. M., Weckx, S., (2014). *Microbial Ecology of Sourdough Fermentations: Diverse or Uniform*. Food Microbiology, 37:11-29. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.002>
- De Vuyst, L., Vrancken G., Ravyts F., Rimaux T., Weckx S., (2009). *Biodiversity, Ecological Determinants and Metabolic Exploitation of Sourdough Microbiota*. Food Microbiology, 26:666–675. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.012>
- Decock, P., Cappelle, S., (2005). *Bread Technology and Sourdough Technology*. Trends in Food Science & Technology, 16: 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.04.012>
- Demir, K.M., Elgün, A., Bilgiçli, N., (2006). *Sıvı ferment yöntemiyle ekmek üretiminde kullanılan maya (Saccharomyces cerevisiae) performansına katkı maddeleri ve ortam şartlarının etkisi*. Gıda, 31(6): 303-310. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/issue/6798/91418>
- Di Cagno, R., De Angelis, M., Gallo, G., Settanni, L., Berloco, M.G., Siragusa, S., Parente, E., Corsetti, A., Gobbetti, M., (2007). *Genotypic and Phenotypic Diversity of Lactobacillus rossiae Strains Isolated from Sourdough*. Journal of Applied Microbiology, 103(4): 821-835. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03389.x>
- Dinçer, A., Çam, G., (1992). *Ekmek Üretiminde Starter Kültür Kullanımı ve Ekşi Hamur Fermantasyonu*. Gıda Mühendisliği Kongresi, İzmir, s: 104-109.
- Duar, R. M., Clark, K. J., Patil, P. B., Hernández, C., Brüning, S., Burkey, T. E., Walter, J., (2015). *Identification and Characterization of Intestinal Lactobacilli Strains Capable of Degrading Immunotoxic Peptides Present in Gluten*. Journal of Applied Microbiology, 118(2), 515-527. <https://doi.org/10.1111/jam.12687>
- Elgün, A., Z. Ertugay, (1992). *Tahıl İşleme Teknolojisi*, Atatürk Üniversitesi Yayınları, No: 718, 376 s, Erzurum.
- Ercolini D., Pontonio E, De Filippis F., Minervini F., La Stora A., Gobbetti M., Di Cagno R., (2013). *Microbial Ecology Dynamics During Rye and Wheat Sourdough Preparation*. Applied and Environmental Microbiology, 79 (24), 7827-7836. <https://doi.org/10.1128/AEM.02955-13>
- Evren, M., Anıl, M., Koca, A.F., (2006). *Pres-Yaş Ekmek Mayasının Toplam Maya Sayısı ve Gaz Üretim Gücü Üzerine Depolama Sıcaklığı ve Süresinin Etkisi*. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, O.M.Ü Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Bolu, 685-688.
- Fang, L., Wang, W., Dou, Z., Chen, J., Meng, Y., Cai, L., (2023). *Effects of Mixed Fermentation of Different Lactic Acid Bacteria and Yeast on Phytic Acid Degradation and Flavor Compounds in Sourdough*. LWT - Food Science and Technology, 174:114438. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114438>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Fu W., Xue W., Liu C., Tian Y., Zhang K., Zhu Z., (2020). *Screening of Lactic Acid Bacteria and Yeasts from Sourdough as Starter Cultures for Reduced Allergenicity Wheat Products*. Foods, 9: 751. <https://doi.org/10.3390/foods9060751>
- Gaggiano, M., Cagno, D. R., Angelis, M. D., Arnault, P., Tossut, P. Fox, P. F., Gobbetti, M., (2007). *Defined Multi-Species Semi-Liquid Ready-To-Use Sourdough Starter*. Food Microbiology, 24, 15-24. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.04.003>
- Ganzle, M.G., (2003). *Starterkulturen für fermentierte Fleischerzeugnisse*. Lebensmittelmikrobiologie, 2(24): 46-48.
- Gerekova, P., Petrulakova, Z., Sturdik, E., (2011). *Importance of Lactobacilli for Bread Making Industry*. Acta Chimica Slovaca, 4:118-135.
- Giannone, V., Longo, C., Damigella, A., Raspagliesi, D., Spina, A., Palumbo, M., (2010). *Technological Properties of Bake Yeasts in Durum Wheat Semolina Dough*. Journal of Indian Microbiology and Biotechnology, 37:371–379. <https://doi.org/10.1007/s10295-009-0682-0>
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Arnaut, P., Tossut, P., Corsetti, A., Lavermicocca, P., (1999). *Added Pentosans in Breadmaking: Fermentations of Derived Pentoses by Sourdough Lactic Acid Bacteri*. Food Microbiology, 16(4):409-418. <https://doi.org/10.1006/fmic.1998.0254>
- Göçmen, D., (2001). *Ekşi Hamur ve Laktik Starter Kullanımın Ekmekte Aroma Oluşumu Üzerine Etkileri*. Gıda, 26(1):13-16.
- Göçmen, D., Gürbüz, O., Kumral, Y., Dağdelen, A.F., (2006). *Ekmek Üretiminde Laktik Starter Uygulamasının Proteinlerin Elektroforetik Özellikleri Üzerine Etkisi*. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu. Proje No: TOVAG 1050O004.
- Green, P.H., Cellier, C., (2007). Celiac disease. New England Journal of Medicine; 357(17): 1731–1743. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.med.57.051804.122404>
- Gül, H., Acun, S., Hayıt, F., Şirikçi, B., (2021). *Geleneksel Ekşi Mayalı Isparta Ekmeğinin Bazı Kalite Karakteristikleri Açısından Değerlendirilmesi*. Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(1):34-45. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/1679961>
- Gültekin F., Akın S., Elgün A., (2019). *Ekmek Hakkında Güncel Bir Değerlendirme: Sağlık Etkileri, Gıda Katkı Maddeleri ve Helallik Sorunu*. Akademik Platform Helal Yaşam Dergisi. 1(1), 17-30. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/apjhls/issue/46548/455145>
- Güre, S., (2009). *Ekşi Hamurlardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Gluten Üzerine Proteolitik Etkilerinin İncelenmesi*. [Doktora Tezi, SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü].

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Hammes, W.P., Ganzle, M.G., (1998). *Sourdough Breads and Related Products*, In: *Microbiology of Fermented Foods*, Springer US, 199-216s. <https://doi.org/10.12691/jaem-4-2-3>
- Hardin, J., Bertoni, G., Kleinsmith, L.J., (2012). *Becker's World of the Cell*. Pearson Education, San Francisco, 914s.
- Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., Schillinger, U., (2001). *Taxonomy and Important Features of Probiotic Microorganisms in Food and Nutrition*. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73 (2): 365-373. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.365s>
- Işıkalp, H., (2019). *Farklı Yörelerde Kullanılan Ekşi Hamurlarda Laktik Asit Bakterilerinin ve Mayaların Belirlenmesi Özellikleri*. [Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü]. https://acikbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/125984/yokAcikBilim_10276412.pdf?sequence=-1
- İpek, Ö., (2017). *Türkiye'deki Değişik Yörelere Sağlanan Ekşi Hamurdan İzole Edilen Ekmek Mayalarının Teknolojik Özellikleri*. [Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü]. https://teav.ankara.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/20.500.12575/33767/Ozlem_Ipek.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Karaman, K., (2017). *Ekşi Hamurdan Fitaz Aktivitesi Yüksek Maya ve Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Bu İzolatların Tam Buğday Ekmeği Üretiminde Kullanılması*. [Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Kılıç, S., (2008). *Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 542, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, s 451.
- Klaenhammer, T.R., Altermann, E., Arigoni, F., Bolotin, A., Breidt, F., Broadbent, J., Cano, R., Chaillou, S., Deutscher, J., Gasson, M., van de Guchte, M., Guzzo, J., Hartke, A., Hawkins, T., Hols, P., Hutkins, R., Kleerebezem, M., Kok, J., Kuipers, ... Siezen, R., (2002). *Discovering Lactic Acid Bacteria by Genomics*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82: 29–58.
- Kline, L., Sugihara, T. F., (1971). *Microorganisms of The San Francisco Sour Dough Bread Process: II. Isolation and Characterization of Undescribed Bacterial Species Responsible For The Souring Activity*. *Applied Microbiology*, 21 (3): 459-465. <https://doi.org/10.1128/am.21.3.459-465.1971>
- Kunduhoglu B., Hacıoglu S., (2021). *Probiotic Potential and Gluten Hydrolysis Activity of Lactobacillus brevis KT16-2*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13: 720–733. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09723-x>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Leroy, F., De Vuyst, L., (2004). *Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for the Food Fermentation Industry* 15(2): 67-78. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
- Litwinek, D., Gumul, D., Lukasiewicz, M., Zieba, T., Kowalski, S., (2023). *The Effect of Red Potato Pulp Preparation and Stage of Its Incorporation Into Sourdough or Dough on the Quality and Health-Promoting Value of Bread*. *Functional Foods: Bioactivity and Potential Health Effects*. *Applied Science*, 13(13): 7670 <https://doi.org/10.3390/app13137670>
- 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: 52-61. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.012>
- M'hir, S., Aldric, J. M., El-Mejdoub, T., Destain, J., Mejri, M., Hamdi, M., Thonart, P., (2008). *Proteolytic Breakdown of Gliadin by Enterococcus faecalis Isolated from Tunisian Fermented Dough*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(12): 2775-2781. <http://dx.doi.org/10.1007/s13213-011-0363-x>
- Martinez-Anaya, M.A., Pitarch, B., Bayarri, P., Benedito de Barber, C., (1990). *Microflora of the Sourdoughs of Wheat Flour Bread*. *Cereal Chemistry*, 67(1):85-91.
- Mayo, B., Aleksandrak-Piekarczyk, T., Fernández, M., Kowalczyk, M., Álvarez-Martín, P., Bardowski, J., (2010). *Updates in the Metabolism of Lactic Acid Bacteria* (F., Mozzi, R.R., Raya, G.M. Vignolo, Editors), *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*, Wiley-Blackwell, Iowa, USA, p 333.
- Menteş, Ö., Akçelik, M., Ercan, R., (2004). *Türkiye’de Üretilen Ekşi Hamurlardan Lactobacillus Suşlarının İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Bu Suşların Temel Endüstriyel Özellikleri*. *Gıda*, 29 (5):347-355.
- Meroth, C.B., Hammes, W.P., Hertel, C., (2003). *Identification and Population Dynamics of Yeasts in Sourdough Fermentation Processes by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69:7453-7461. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7453-7461.2003>
- Messens, W., De Vuyst, L., (2002). *Inhibitory Substances Produced by Lactobacilli isolated From Sourdoughs- a Review*. *International Journal of Food Microbiology*, 72(1): 31-43. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(01\)00611-0](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00611-0)
- Minervini, F., De Angelis, M., Di Cagno, R., Gobbetti, M., (2014). *Ecological Parameters Influencing Microbial Diversity and Stability of Traditional Sourdough*. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 136-46. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.021>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Minervini, F., Di Cagno, R., Lattanzi, A., De Angelis, M., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S., Gobbetti, M., (2011). *The Lactic Acid Bacteria and Yeast Microbiota of 19 Sourdoughs Used for the Manufacture of Traditional/Typical Italian Breads: Interactions Between Ingredients and Microbial Species Diversity*. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(4): 1251–1264. <https://doi.org/10.1128%2FAEM.07721-11>
- Minervini, F., Lattanzi, A., De Angelis, M., Celano, G., Gobbetti, M., (2015). *House Microbiotas as Sources of Lactic Acid Bacteria and Yeasts in Traditional Italian Sourdoughs*. *Food Microbiology*, 52: 66-76. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.06.009>
- Moroni, A.V., Dal Bello, F., Arendt, E.K., (2009). *Sourdough in Gluten-Free Bread-Making: An Ancient Technology to Solve a Novel Issue?* *Food Microbiology*, 26(7): 676-684. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.001>
- Örü, F., Ertop, M.H., (2023). *Siyez Kepeği Ekşi Hamur Optimizasyonunun Ekmeğin Kalite ve Biyoaktif Nitelikleri Üzerine Etkileri*. *Gıda*, 48(1):209-226. <https://doi.org/10.15237/gida.GD22121>
- Örü, F., Ertop, M.H., (2021). *Siyez ve Ekmeklik Buğday Kepeğinin Ekşi Hamur Üretiminde Kullanım Olanığının Değerlendirilmesi*. *Gıda*, 46 (2):396-407. <https://doi.org/10.15237/gida.GD20087>
- Palomba, S., (2008). *Sourdoughs for Sweet Baked Products: Microbiology, Characterization, Screening and Study of Exopolysaccharides Produced by Microbial Strains*. Doctora Thesis, Universty Degli Studi Di Napoli Federico.
- Paramithiotis, S., Chouliaras, Y., Tsakalidou, E., Kalantzopoulos, G., (2005). *Application of Selected Starter Cultures For The Production of Wheat Sourdough Bread Using A Traditional Three-Stage Procedure*. *Process Biochemistry* 40: 2813-2819.g. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.12.021>
- Paramithiotis, S., Gioulatos, S., Tsakalidou, E., Kalantzopoulos, G., (2006). *Interactions Between Saccharomyces cerevisiae and Lactic Acid Bacteria in Sourdough*. *Process Biochemistry*, 41:2429-2433. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.07.001>
- Paramithiotis, S., Sofou, A., Tsakalidou, E., Kalantzopoulos, G., (2007). *Flour Carbohydrate Catabolism and Metabolite Production By Sourdough Lactic Acid Bacteria*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23: 1417-1423. <http://dx.doi.org/10.1007/s11274-007-9384-9>
- Penfield, M.P., Campbell, A.M., (1990). *Yeast Breads*. In: *Experimental Food Science*, 3rd ed. (Editors: Penfield M.P., Taylor S., Campbell A.M.) Academic Press, Orlando, FL, p 418– 441.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Rehman, S., Paterson, A., Piggott, J. R., (2006). *Flavour in Sourdough Breads: A Review*. Trends in Food Science and Technology, 17: 557-566. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.03.006>
- Reiner, K., (2010). *Catalase test protocol*. American Society for Microbiology.
- Rollan G., Gerez, C.L., Dallagnol, A.M., Torino, M.I., Font, G., (2010). *Update in Bread Fermentation by Lactic Acid Bacteria. Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, (Ed: Mendez-Vilas, A.) Formatex, İspanya, s. 1168-1174. ISBN-13: 978- 84-614-6195-0
- Rosenquist, H., Hansen, A., (2000). The Microbial Stability of Two Bakery Sourdoughs Made From Conventionally and Organically Grown Rye. Food Microbiology, 17:241- 250. <https://doi.org/10.1006/fmic.1999.0313>
- Sağdıç, O., Arıcı, M., (2010). *Gıda Fermentasyonunda Kullanılan Mikroorganizmalar*. Gıda Mikrobiyolojisi Kitabı (Editör: Osman Erkmen), Efil Yayınevi, 1. Basım, 21. Bölüm, Ankara, 407-426.
- Salovaara, H., (1998). *Lactic Acid Bacteria In Cereal-Based Products*. Lactic Acid Bacteria Microbiology and Functional Aspects, 2nd Edition, Ed: S., Salminen, A., Vonwright. Marcel Dekker Inc. Newyork, USA, 115-137.
- Sanchez, E., Laparra J.M., Sanz, Y., (2012). *Discerning The Role of Bacteroides fragilis in celiac Disease Pathogenesis*. Applied Environmental Microbiology, 78:6507–6015. <https://doi.org/10.1128/aem.00563-12>
- Sapone, A., Leffler, D.A., Mukherjee, R., (2015). *Non-Celiac Gluten Sensitivity, Where Are We Now In 2015?* Practical Gastroenterol, 39 (40), 43–48.
- Settanni, L., Valmorri, S., Van Sinderen, D., Suzzi, G., Paparella, A., Corsetti, A., (2006). *Combination of Multiplex PCR PCR-DGGE For Monitoring Common Sourdough-Associated Lactobacillus Species*. Applied and Environmental Microbiology.72, 3793-379. <https://doi.org/10.1128/aem.72.5.3793-3796.2006>
- Settanni, L., Van Sinderen, D., Rossi, J., Corsetti, A., (2005). *Rapid Differentiation and In Situ Detection of 16 Sourdough Lactobacillus Species By Multiplex PCR*. Applied and Environmental Microbiology, 71(6), 3049-3059. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.3049-3059.2005>
- Shin, J. H., Kim, D. I., Kim, H. R., Kim, D. S., Kook, J. K., Lee, J. N., (2007). *Severe Infective Endocarditis of Native Valves Caused By Weissella Confusa Detected Incidentally On Echocardiography*, Journal of Infection, 54(3), E149-E151. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2006.09.009>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Sıkılı, Ö. H., Karapınar, M., (2002). *Ekşi Maya Ekmeğinin Mikroflorası ve Aromatik Karakteristikleri*. Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, 13-18 Mayıs 2002, İzmir, 165-175s.
- Sicard, D, Legras, JL., (2011). *Bread, Beer And Wine: Yeast Domestication In The Saccharomyces Sensu Stricto Complex*. Comptes Rendus Biologies, 334(3): 229-236. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.12.016>
- Siepmann, F. B, Ripari V, Waszczynskyj N, Spier MR., (2018). *Overview of Sourdough Technology: From Production To Marketing*. Food Bioprocess Technology 11(2):242–270. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-017-1968-2>
- Smith, A., Hussey, M., (2005). *Gram Stain Protocols*. American Society for Microbiology
- Şimşek, Ö., Çon, A. H., Tulumoglu, Ş., (2006). *Isolating Lactic Starter Cultures With Antimicrobial Activity For Sourdough Processes*. Food Control, 17:26327. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.011>
- Tamang, J. P., Fleet G. H., (2009). *Yeasts Diversity in Fermented Foods and Beverages Yeast Biotechnology*. Diversity and Applications p 169-198. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4020-8292-4_9
- Tangüler, H., Erten H., (2006). *Gıdalarda Bulunan Önemli Bir Laktik Asit Bakterisi: Weissella*. 9.Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu, Türkiye, s 179- 182.
- TGK (Türk Gıda Kodeksi), (2012)., Resmi Gazete Tarihi: 04.01.2012 Resmi Gazete Sayısı: 28163 Türk Gıda Kodeksi Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği.
- Türksoy, S., Özkaya, B., (2006). *Gluten ve Çölyak Hastalığı*. 9.Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu, Türkiye, 807-810.
- Ulusoy, M., Feyizoglu, H., Turan, M., Yılmaz, M., Yigit, N., Gürkan, Y., Kuyubası, Z., (2002). *Gluten Sensitif Enteropati*. Güncel Gastroenteroloji, 6/3: 151-158.
- USDA. Wheat Outlook: June 2023, Erişim tarihi: 20.06.2023, <https://www.ers.usda.gov/webdocs/outlooks/106713/whs-23f.pdf?v=901.4>
- Ün, C., Aydogdu, S., (2003). *Çölyak Hastalığının Moleküler Genetik Temelleri*. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 46: 75-79. <https://doi.org/10.18069/firatsbed.860928>
- Vogel, R.F., Pavlovic, M., Eehrmann, M.A., Wiezer, A., Liesegang, H., Offschanka, S., Voget, S., Angelov, A., Böcker, G., Liebl, W., (2011). *Genomic Analysis Reveals Lactobacillus sanfranciscensis As A Stable Element In Traditional Sourdoughs*. Microbial Cell Factories, 10(Suppl 1):S6.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Yıldırım, R., (2020). *Ekşi Hamurdan İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların Fitaz Aktivitelerinin Belirlenmesi*. [Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü].<http://dspace.yildiz.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/1/13111/4485.pdf?sequence=1>
- Yıldız, B., Çakıcı, A., Uslu, D., Uslu, H., (2021). *Ekmek Üretiminde Ekşi Maya Üzerine Taze Meyvelerin Kullanımının Etkisi*. NÖHÜ Mühendislik Bilimleri Dergisi, 2564-6605. <https://doi.org/10.28948/ngumuh.756207>

