



**SİYAH NOHUT MAYASI İLE FERMENTE EDİLEN HAMURLARDA
EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİMİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANIL ALPER

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
NİSAN - 2022**

**SİYAH NOHUT MAYASI İLE FERMENTE EDİLEN
HAMURLARDA EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİMİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANIL ALPER

ORCID ID: 0000-0003-0228-5604

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. AYLİN ALTAN METE
ORCID ID: 0000-0002-8042-5644**

**MERSİN
NİSAN - 2022**

ÖZET

SİYAH NOHUT MAYASI İLE FERMENTE EDİLEN HAMURLARDA EKZOPOLİSAKKARİT ÜRETİMİNİN İNCELENMESİ

Son yıllarda, çeşitli endüstriyel uygulamalar için doğal polimerlere olan talebin artması, mikroorganizmaların ekzopolisakkarit (EPS) üretimine olan ilginin artmasına neden olmuştur. Ekzopolisakkaritler, tıpkı hidrokolloidler gibi hem glutenli hem de glutensiz ürünlerin geliştirilmesinde, özellikle de glutensiz ürünlerin üretimi ile ilgili zorlukların ortadan kaldırılmasında büyük önem taşımaktadır. Nohut mayası, ekmeğe kendi aromasını veren, lezzetini arttıran ve sahip olduğu mikrofloradan dolayı unlu mamullerde bayatlamayı geciktirici geleneksel bir maya çeşididir. Nohut mayasının üretiminde; ülkemizde bölgesel olarak bilinen fakat içerdiği besin değerleri nedeniyle gıdalarda yaygın olarak kullanılmaya potansiyeline sahip bir ürün olan siyah nohut kullanılmıştır. Bu amaçla çalışmada öncelikle nohut mayasının hazırlanmasında kullanılan nohutların partikül boyutu, nohut-su oranı, kullanılan su kaynağı ve su sıcaklığı, fermantasyon sıcaklığı ve süresi parametrelerinin siyah nohut mayasının fiziksel özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Siyah nohut mayası, 37°C'de 18 saat fermente edilmiş ve hamurların hazırlanmasında kullanılmıştır. Hamurların üretimi için tepki yüzey yöntemi ile merkezi kompozit tasarımı kullanılarak üç değişken ve beş düzeyde deney tasarımı oluşturulmuştur. Fermantasyon sıcaklığı (25°C, 35°C), sakkaroz miktarı (%5, %15) ve hamur verimi (200, 300) parametreleri bağımsız değişkenler olarak, pH, toplam titrasyon asitliği (TTA) ve EPS miktarları yanıt olarak seçilmiştir. Hamurların fermantasyon süresi sabit tutulmuştur. Deney tasarımında verilen değerler kullanılarak hamur üretimleri gerçekleştirilmiştir. En yüksek EPS verimine sahip hamurda ve kullanılan nohut mayasında laktik asit bakteri sayısı belirlenmiştir. Ayrıca, siyah nohut mayasının mikrobiyotasını ve hamurda üretilen EPS'nin hangi mikrobiyal çeşitlilikten kaynaklandığını belirlemek için metagenomik analizler uygulanmıştır. Üretilen EPS, Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektrofotometresi kullanılarak karakterize edilmiştir.

Çalışmada, pH, TTA ve EPS miktarı yanıtlarının tümü için önerilen modeller anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Fermantasyon sıcaklığı ve hamur verimi (HV)'nin EPS miktarını önemli derecede etkilediği ($p < 0.05$), buna karşın sakkaroz miktarının EPS miktarı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı ($p > 0.05$) görülmüştür. En yüksek EPS verimine sahip hamurun fermantasyon sıcaklığının 25°C, sakkaroz miktarının %15 ve HV'nin 200 olduğu belirlenmiştir. Üretilen hamurun pH değeri 4.93, TTA değeri %1.73 (laktik asit) ve EPS miktarı % 2.64 bulunmuştur. Yapılan metagenomik analizlerde, siyah nohut mayasında ve hamurda mikrobiyal çeşitliliğin oldukça fazla ve maya yoğunlukta olduğu görülmüştür. Yapılan ITS analizlerinde, nohut mayasında baskın cinsler *Kluyveromyces* ve *Saccharomyces*, hamurda ise *Aspergillus* olarak tanımlanmıştır. Yapılan 16S rRNA analizlerinde, hamurda tanımlanan baskın türler arasında LAB cinsine ait *Lactobacillus (L.) delbrueckii* türünün nohut mayasında tanımlanan baskın türler arasında olmadığı, fermantasyon sonucu miktarının arttığı belirlenmiştir. FTIR sonucu ise dondurularak kurutulmuş ürünün polisakkarit olduğunu doğrulamıştır.

Anahtar Kelimeler: Siyah nohut, nohut mayası, ekzopolisakkarit, metagenom.

Danışman: Doç. Dr. Aylin ALTAN METE, Mersin Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF EXOPOLYSACCHARIDE PRODUCTION IN DOUGHS FERMENTED WITH BLACK CHICKPEA YEAST

In recent years, the increasing demand for natural polymers for various industrial applications has led to an increased interest in the production of exopolysaccharide (EPS) by microorganisms. Exopolysaccharides, like hydrocolloids, are of great importance in the development of both gluten-containing and gluten-free products, especially in eliminating the difficulties associated with the production of gluten-free products. Chickpea yeast is a traditional type of yeast that gives bread its own aroma, enhances its flavor and delays staling in bakery products due to its microflora. In the production of chickpea yeast; black chickpea, which is a regionally known product in our country but can potentially be used in a wide variety of foods due to its nutritional values, was used. For this purpose, the effects of particle size, chickpea-water ratio, water source and water temperature, fermentation temperature and time parameters on the physical properties of chickpea yeast were investigated. Black chickpea yeast was fermented at 37°C for 18 hours and used in the preparation of doughs. Three variables and five levels of experimental design were created by using the reaction surface method and the central composite design for the production of doughs. Fermentation temperature (25°C, 35°C), sucrose amount (5%, 15%) and dough yield (200, 300) parameters were chosen as independent variables, pH, total titration acidity (TTA) and EPS content were selected as response. The fermentation time of the doughs was kept constant. Dough samples were produced according to the experimental design and the dough with the highest EPS yield was determined. The number of lactic acid bacteria was determined in dough with the highest EPS yield and in the chickpea yeast. In addition, metagenomic analyzes were applied to determine the microbiota of black chickpea yeast and from which microbial diversity the EPS produced in the dough originated. The produced EPS was characterized using Fourier transform infrared (FTIR) spectrophotometer.

The models found for all responses, pH, TTA and EPS content were significant ($p < 0.05$). Fermentation temperature and dough yield (HV) significantly affected EPS content ($p < 0.05$), but sucrose content had no significant effect on EPS content ($p > 0.05$). The dough with the highest yield of EPS was obtained at fermentation temperature of 25°C, 15% sucrose content and 200 HV. The pH value of the dough produced was 4.93, the TTA value was 1.73% (lactic acid) and the EPS amount was 2.64%. In the metagenomic analysis, microbial diversity was found to be quite high in black chickpea yeast and dough, and this was mostly yeast. In the ITS analysis, the dominant genera were *Kluyveromyces* and *Saccharomyces* in chickpea yeast and *Aspergillus* in dough. In the 16S rRNA analysis, the dominant species identified in the dough was *Lactobacillus (L.) delbrueckii* belonging to the LAB genus. It was not among the dominant species identified in chickpea yeast and its amount increased as a result of fermentation. The FTIR results confirmed that the freeze-dried product was a polysaccharide.

Keywords: Black chickpea, chickpea yeast, exopolysaccharide, metagenome.

Advisor: Assoc. Prof. Aylin ALTAN METE, Department of Food Engineering, Mersin University, Mersin.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam sürecinde bilgi birikimi ve tecrübesiyle yol gösteren, sabrını, ilgisini ve desteğini esirgemeyen, değerli danışman hocam Doç. Dr. Aylin ALTAN METE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimimi aldığım Mersin Üniversitesi'ne, tez çalışmam sırasında sağladıkları laboratuvar imkânlarından dolayı Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı sayın Prof. Dr. H. İbrahim EKİZ'e, Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerine ve bölüm çalışanlarına teşekkür ederim.

2019-2-TP2-3586 numaralı araştırma projesi ile tez çalışmamı destekleyen Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP)'ne teşekkür ederim.

Çalışmalarımın laboratuvar uygulamalarında, gerekli cihazı kullanma imkânı tanıyan Çevre Mühendisliği Bölüm Başkanı sayın Prof. Dr. M. Ali MAZMANCI'ya ve cihazı kullanmamda yardımcı olan Dr. Öğretim Üyesi Yasin ÖZAY'a teşekkür ederim.

Aynı ekipte olmaktan mutluluk duyduğum, zamanla arkadaşlığımızın güzel dostluklara dönüştüğü, Elif ATAY ve Meryem YILMAZ'a tez sürecimin her aşamasında gösterdikleri ilgi, destek ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Aynı süreçte çalışmalarımızı yürüttüğümüz arkadaşlarım Bihter İŞYARAN, Çağla BAKAÇHAN, Koray YARIM ve Yalım Koray USLU'ya desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Sadece bir telefon kadar uzakta olduğumu bildiğim sevgili arkadaşım Pınar ÇAKIRTAŞ'a her zaman olduğu gibi bu süreçte de motive edici sözleri ve desteği için teşekkür ederim.

Hayatımın her anında varlıklarıyla bana güç veren, sevgilerini ve desteklerini her daim yürekten hissettiğim sevgili annem Zeynep TUNÇER'e ve sevgili babam Ümit TUNÇER'e, ablaları olmaktan gurur duyduğum sevgili kardeşlerim M. Kemal TUNÇER'e ve Umutcan TUNÇER'e destekleri için sonsuz teşekkür ederim.

Bu süreci birebir benimle yaşayan, gerektiğinde benimle koşturan, en stresli zamanlarımda desteğiyle bana güç veren, en iyi arkadaşım, sevgili eşim M. Furkan ALPER'e anlayışı, sabrı ve desteği için sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. Fermantasyon	3
2.1.1. Laktik Asit Fermantasyonu	5
2.1.2. Ekzopolisakkaritler	7
2.1.2.1. Ekzopolisakkaritlerin Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları	10
2.2. Mayalar	13
2.2.1. Ticari Mayalar	13
2.2.2. Doğal veya Geleneksel Mayalar	14
2.2.2.1. Ekşi Maya	14
2.2.2.2. Nohut Mayası	16
2.3. Nohut	18
2.3.1. Siyah Nohut	18
2.4. Hamurlarda Ekzopolisakkarit Üretimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM	22
3.1. Materyal	22
3.2. Siyah Nohut Mayası	22
3.2.1. Nohut Mayasının Hazırlanması	22
3.2.1.1. Nohutların Partikül Boyutu	22
3.2.1.2. Nohut-Su Oranı	23
3.2.1.3. Su Kaynağı ve Su Sıcaklığı	23
3.2.1.4. Fermantasyon Sıcaklığı ve Fermantasyon Süresi	23
3.2.2. Nohut Mayasında pH Ölçümü	23
3.3. Deney Tasarımı	24
3.4. Hamurlara Uygulanan Analizler	25
3.4.1. pH	25
3.4.2. Kuru Madde Miktarı	25
3.4.3. Toplam Titrasyon Asitliği (TTA)	26
3.4.4. Ekzopolisakkaritlerin Hamurlardan İzolasyonu	26
3.5. Nohut Mayasında ve EPS Verimi En Yüksek Hamurda Uygulanan Mikrobiyolojik Analizler	27
3.5.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı (TMAB)	27
3.5.2. Laktik Asit Bakterisi Sayımı (LAB)	27
3.6. Nohut Mayasında ve EPS Verimi En Yüksek Hamurda Uygulanan Metagenom Analizleri	28
3.6.1. 16S rRNA Analizi	28
3.6.1.1. Nohut Mayası ve Hamur Örneklerinin DNA İzolasyonu	28
3.6.1.2. PCR	28
3.6.1.3. İndeks PCR	29
3.6.1.4. Kütüphane Miktar Tayini, Normalizasyon ve Birleştirilmesi	29
3.6.1.5. Novaseq Okuması	30
3.6.1.6. Okuma Sonuçları ve Analizi	30

	Sayfa
3.6.2. ITS Analizi	30
3.6.2.1. Nohut Mayası ve Hamur Örneklerinin DNA İzolasyonu	31
3.6.2.2. PCR	31
3.6.2.3. İndeks PCR	32
3.6.2.4. Kütüphane Miktar Tayini, Normalizasyon ve Birleştirilmesi	32
3.6.2.5. Novaseq Okuması	32
3.6.2.6. Okuma Sonuçları ve Analizi	32
3.7. Azaltılmış Toplam Yansıtmalı-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometre Analizi (ATR-FTIR)	32
3.8. İstatiksel Analiz	32
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	34
4.1. Siyah Nohut Mayası	34
4.1.1. Siyah Nohut Mayasında pH Ölçümü Sonuçları	38
4.2. Hamurlara Uygulanan Analizlerin Sonuçları	38
4.2.1. pH	38
4.2.2. Toplam Titrasyon Asitliği (TTA)	40
4.2.3. Ekzopolisakkarit Miktarı	42
4.3. Nohut Mayasında ve EPS Verimi En Yüksek Hamurda Uygulanan Mikrobiyolojik Analizlerin Sonuçları	45
4.3.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı (TMAB)	45
4.3.2. Laktik Asit Bakterisi Sayımı (LAB)	47
4.4. Nohut Mayasında ve EPS Verimi En Yüksek Hamurda Uygulanan Metagenom Analizlerinin Sonuçları	48
4.4.1. 16S rRNA Sonuçları	48
4.4.1.1. Nohut Mayası	48
4.4.1.2. Hamur	51
4.4.2. ITS Sonuçları	53
4.4.2.1. Nohut Mayası	53
4.4.2.2. Hamur	57
4.5. Azaltılmış Toplam Yansıtmalı-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometre Analizi (ATR-FTIR) Sonuçları	60
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	62
KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	79

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Ekzopolisakkaritlerin gıda endüstrisindeki uygulamaları	11
Tablo 2.2. Ticari ekmek mayalarının bileşimleri ve raf ömürleri	14
Tablo 3.1. Merkezi kompozit tasarımı proses değişkenleri	24
Tablo 3.2. Deney tasarımı	25
Tablo 4.1. Farklı boyutlarda nohutların siyah nohut mayasına etkileri	35
Tablo 4.2. Nohut-su oranının siyah nohut mayasına etkileri	36
Tablo 4.3. Su kaynağının siyah nohut mayasına etkileri	37
Tablo 4.4. pH verilerinin ikinci dereceden modele ait ANOVA sonuçları	38
Tablo 4.5. TTA verilerinin ikinci dereceden modele ait ANOVA sonuçları	40
Tablo 4.6. EPS verilerinin ikinci dereceden modele ait ANOVA sonuçları	43
Tablo 4.7. Nohut mayasında ve en yüksek EPS verimine sahip hamurda toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı (TMAB) sonuçları	46
Tablo 4.8. Nohut mayasında ve en yüksek EPS verimine sahip hamurda laktik asit bakterisi sayımı (LAB) sonuçları	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Ham maddeden fermente gıdaya kadar geçen sürede fermente gıdada gerçekleşen dönüşümler	3
Şekil 2.2. Homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit fermantasyonları	7
Şekil 2.3. Homopolisakkaritlerin ve heteropolisakkaritlerin zincir tiplerini gösteren şematik gösterim	9
Şekil 2.4. Ekzopolisakkaritlerin sınıflandırılması	10
Şekil 2.5. Ekşi mayanın dokusunu, aromasını ve raf ömrünü etkileyen hamurdaki temel değişiklikler	15
Şekil 2.6. Nohut Mayası	17
Şekil 2.7. Koçbaşı nohut ve siyah nohut	19
Şekil 3.1. Siyah nohut unu	22
Şekil 3.2. EPS'lerin 3 saat inkübasyondan sonra görünümü	26
Şekil 3.3. Hamurlardan elde edilen EPS'ler	27
Şekil 4.1. Farklı boyutlarda koçbaşı nohut ve siyah nohut ile hazırlanan nohut mayaları	35
Şekil 4.2. Farklı koçbaşı ve siyah nohut-su oranları ile hazırlanan nohut mayaları	36
Şekil 4.3. Farklı su kaynakları ile hazırlanan koçbaşı nohut ve siyah nohut mayaları	37
Şekil 4.4. Hamur verimi ve sıcaklığın, sabit sakkaroz miktarında (%10) pH değerine etkisinin tepki yüzey grafiği	39
Şekil 4.5. Sıcaklık ve sakkaroz miktarının, sabit hamur veriminde (250) TTA değerine etkisinin tepki yüzey grafiği	41
Şekil 4.6. Sakkaroz miktarı ve hamur veriminin, sabit sıcaklıkta (30°C) TTA değerine etkisinin tepki yüzey grafiği	42
Şekil 4.7. Hamur verimi ve sıcaklığın, sabit sakkaroz miktarında (%10) EPS miktarına etkisinin tepki yüzey grafiği	44
Şekil 4.8. Nohut mayasının 16S rRNA analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	49
Şekil 4.9. Nohut mayasının 16S rRNA analiz sonucunun tür düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	50
Şekil 4.10. Hamurun 16S rRNA analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	52
Şekil 4.11. Hamurun 16S rRNA analiz sonucunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	53
Şekil 4.12. Hamurun 16S rRNA analiz sonucunun tür düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	53
Şekil 4.13. Nohut mayasının ITS analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	54
Şekil 4.14. Nohut mayasının ITS analiz sonucunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	55
Şekil 4.15. Nohut Mayasının ITS analiz sonucunun tür düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	56
Şekil 4.16. Hamurun ITS analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	57
Şekil 4.17. Hamurun ITS analiz sonucunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	58
Şekil 4.18. Hamurun ITS analiz sonucunun tür düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı	59
Şekil 4.19. Dondurularak kurutulmuş EPS, ticari dekstran ve ticari pullulanın FTIR spektrumları	61

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltma/Simge	Tanım
16S rRNA	16S ribozomal ribonükleik asit
a:h	Ağırlık:Hacim
ANOVA	Tek yönlü varyans analizi
ATP	Adenozin trifosfat
ATR-FTIR	Azaltılmış toplam yansıtma-Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometre
BP	Bifosfat
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
CO ₂	Karbondioksit
CV	Varyasyon katsayısı (%)
EPS	Ekzopolisakkarit
<i>F</i> -değeri	Beklenen ve gözlenen değerlerin uyumu
g	Gram
ha	Hektar
HeP/HePS	Heteropolisakkarit/Heteropolisakkaritler
HoP/HoPS	Homopolisakkarit/Homopolisakkaritler
HV	Hamur verimi
ITS	Internal transcribed spacer
kob	Koloni oluşturan birim
LAB	Laktik asit bakterisi
LDH	Laktat dehidrogenaz
MRS	de Man Rogosa Sharpe
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotidi- indirgenmiş hal
P	Fosfat
PCA	Plate count agar
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase chain reaction)
<i>p</i> -değeri	Olasılık değeri
R ²	Belirlilik katsayısı
R ² _{adj}	Düzeltilmiş belirlilik katsayısı
TMAB	Toplam mezofilik aerobik bakteri
TTA	Toplam titrasyon asitliği

1. GİRİŞ

Gıda tüketiminde, unlu mamullerin tüketimi tüm dünyada önemli bir paya sahiptir. Strateji ve Bütçe Başkanlığı (2007-2013) Gıda Sanayi Özel İhtisas Komisyonu raporuna göre gıda sanayisinin %65'ini un ve unlu mamuller oluşturmaktadır (SBB, 2021a). Yine Strateji ve Bütçe Başkanlığı (2019-2023) Tarım ve Gıdada Rekabetçi Üretim Özel İhtisas Komisyonu raporuna göre Gıda ve İçecek Sanayinde en fazla işletmenin fırın ve unlu mamuller imalatında olduğu belirtilmiştir (SBB, 2021b).

Unlu mamuller, mayalı ve mayasız olmak üzere iki şekilde üretilmektedir. Mayalı ürünlerde yaş maya (*Saccharomyces cerevisiae*), aktif kuru maya ve instant maya gibi ticari mayalar ile ekşi ve tatlı doğal mayalar kullanılmaktadır (Çebi, 2009). En eski biyoteknolojik ürünlerden biri olan ekşi hamur, modern fırıncılıkta ticari mayanın alternatifidir. Ekşi hamur, ekmeğin hamurunun hazırlanmasında, teknolojik özelliklerin (örneğin; geliştirilmiş hamur işlenebilirliği), besinsel özelliklerin (örneğin; fitat hidrolizi yoluyla), organoleptik özelliklerin (örneğin; ekmeğin hacmi, kırıntı dokusu ve tadı) ve depolama özelliklerinin (raf ömrü) desteklenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Ekşi hamur taze olarak fırınlarda üretilmekte veya ticari tedarikçilerden (canlı, sıvı ekşi hamur veya kurutulmuş, fermente olmayan ekşi hamur) temin edilebilmektedir (De Vuyst ve Neysens, 2005; Arıcı vd., 2018). Tatlı maya olarak bilinen nohut mayası ise ekşi hamur gibi, ekmeğe kendine özgü aromasını veren geleneksel bir maya çeşididir. Nohut mayası, ülkemizde başta Ege ve Akdeniz Bölgesi olmak üzere farklı yörelerde ekmeğin, simit, poğaç vb. unlu mamullerin üretiminde, Yunanistan'da ise "eftazymo" olarak bilinen nohut ekmeğinin üretiminde kullanılmaktadır (Hatzikamari vd., 2007a; Kasım, 2014).

Nohut (*Cicer arietinum L.*) protein, diyet lifi, karbonhidratlar, folat ve eser mineraller (Fe, Mo, Mn) açısından zengin, özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde olmak üzere dünyadaki en eski ve en çok tüketilen baklagillerden biridir (Alajaji ve El-Adawy, 2006; Aguilar vd., 2015). Nohut (*Cicer arietinum L.*), desi ve kabulü tipi olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Desi tipi nohutların rengi sarıdan siyaha kadar değişmektedir. Tohumları daha küçük ve daha pürüzlü bir yüzeye sahiptirler. Kabulü tipi nohutların rengi ise daha açık ve tohumları daha büyüktür (Singh vd., 1991). Siyah nohut, kabuğu siyah, içi sarı, küçük taneli bir nohut çeşididir. Küçük boyutlu ve dış kabuk rengi koyu olduğu için görüntü itibarıyla desi tipi nohut grubunda yer almaktadır.

Nohut mayasının ekmeğin üretiminde kullanımı, ekmeğın somun hacmini artırarak, ekmeğın bayatlamasının geciktirmekte ve ekmeğın besinsel özelliklerini zenginleştirmektedir (Sayaslan ve Şahin, 2018). Nohut mayasının ve hamurunun sahip olduğu mikroflora (laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri vb.) fermentasyon boyunca pH'ı düşürerek asitliği arttırmakta, ortamda istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesini önleyerek hamura belirgin bir tat ve aroma vermektedir (Baykara, 2006).

Laktik asit bakterileri, şekerleri, proteinleri, yağları ve organik asitleri tipik aroma ve tat bileşenlerine dönüştürmektedir. Laktik asit bakteri suşları, ekzopolisakkaritlerin sentezi yoluyla fermente ürünlerin yapısını ve viskozitesini iyileştirmeye katkıda bulunmaktadır (Ruas-Madiedo vd.,

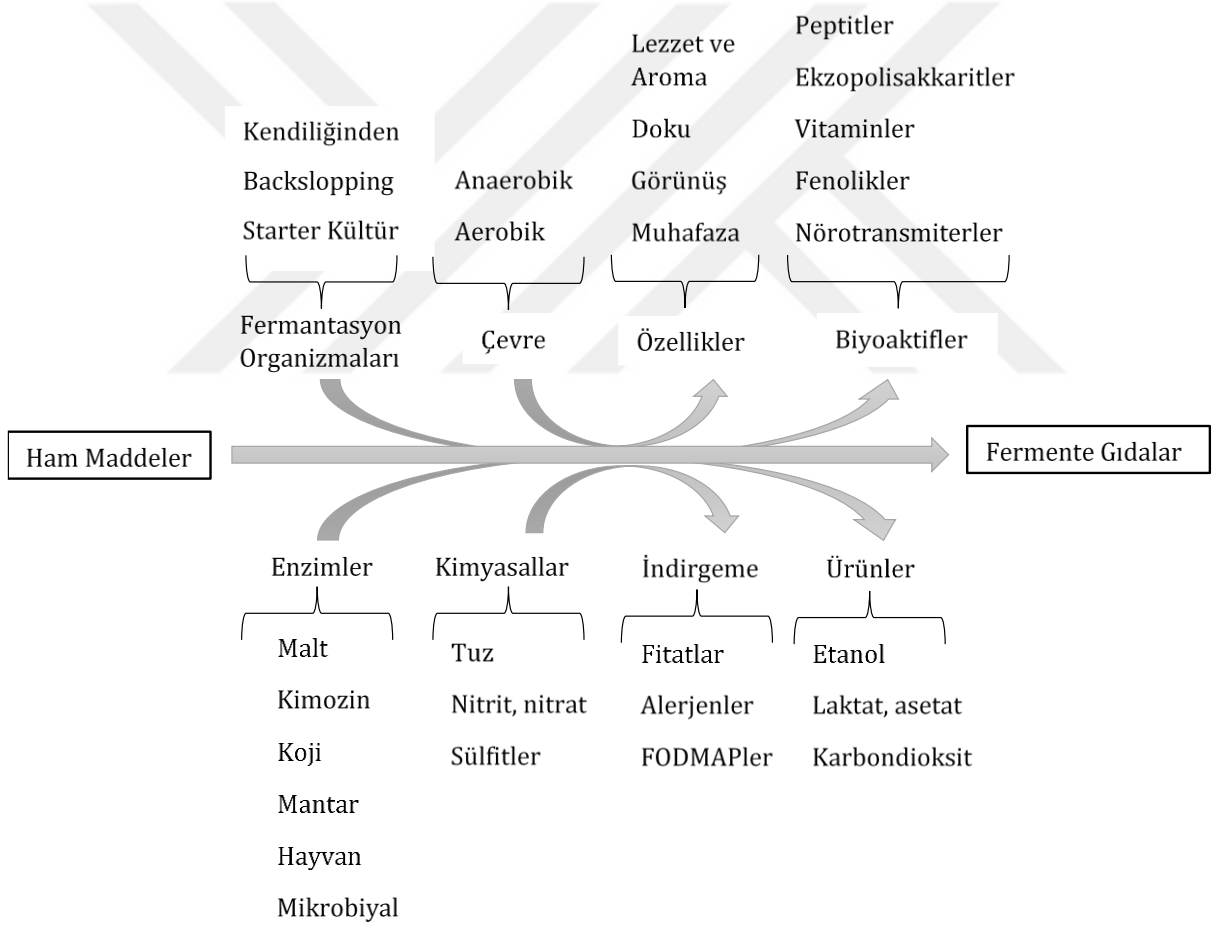
2002). Ekzopolisakkaritler, mikroorganizmalar tarafından salgılanan, ticari olarak kullanılan hidrokolloidlere alternatif, temiz etiketli polimerlerdir. Ekzopolisakkaritlerin hamur ve ekmek için sağladığı yararlı etkileri; hamurun su emilimini arttırması, daha iyi hamur reolojisi sağlaması, ekmek yapısının korunması, somun hacmi ile ekmek içi yumuşaklığın artması ve ekmek bayatlamasını geciktirerek ekmeğin raf ömrünün uzamasına katkı sağlamaktır (Lynch vd., 2018). Mikroorganizmaların ürettiği ekzopolisakkarit miktarı ve türü, mikrobiyal çeşitliliğe göre değişkenlik göstermektedir. Bununla birlikte, bu bileşiklerin veriminde kritik rol oynayan fizikokimyasal faktörler, pH, fermantasyon sıcaklığı ve süresi ile ortam bileşenleridir (karbon, azot ve katyon kaynakları) (Nwodo vd., 2012).

Yapılan tez çalışması kapsamında, öncelikle siyah nohut mayasının üretim koşullarını belirlemek için farklı parametreler kullanılarak fermantasyonlar gerçekleştirilmiş ve fiziksel özellikler değerlendirilmiştir. Üretim koşulları belirlenen siyah nohut mayası kullanılarak hazırlanan hamurlarda; fermantasyon sıcaklığı, sakkaroz miktarı ve hamur verimi (HV) değişkenlerinin, pH, TTA ve EPS miktarı yanıtları üzerindeki etkilerinin anlamlı olup olmadığı istatistiksel olarak yorumlanmıştır. Ardından en yüksek EPS verimine sahip hamur belirlenmiş ve yeniden üretimi gerçekleştirilmiştir. En yüksek EPS verimine sahip hamurda ve üretiminde kullanılan siyah nohut mayasında mikrobiyolojik ve metagenomik analizler yapılmıştır. Böylelikle üretilen EPS'nin hangi mikrobiyal çeşitlilikten kaynaklandığı yorumlanmıştır. Son olarak üretilen EPS'nin karakterizasyonu için ATR-FTIR analizi uygulanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. Fermantasyon

Fermente gıdaların üretimi, bilinen en eski gıda işleme teknolojilerinden biridir. Geçmişten günümüze kullanılan fermantasyon işleminde, gıdaları fermente etmekteki asıl amaç gıdaları korumaktır. Bununla birlikte, özellikle Batı Dünyasında son zamanlarda yaygın olarak kullanılan birçok alternatif gıda koruma teknolojisinin geliştirilmesiyle, fermantasyonun bu özelliği geri planda kalmıştır. Bu nedenle günümüzde fermente ürünlerin raf ömrünün yanı sıra, ürünlerin benzersiz tadı, aroması ve dokusu tüketiciler tarafından beğenildiği için fermente gıdaların üretimi oldukça önemlidir (Caplice ve Fitzgerald, 1999). Fermente gıdaların üretimi sırasında gerçekleşen dönüşümler Şekil 2.1.'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Ham maddeden fermente gıdaya kadar geçen sürede fermente gıdaya gerçekleşen dönüşümler (Marco vd., 2017).

Hammaddeler, ilgi çekici ve arzu edilen gıdaların üretimi için belirli koşullarda fermente edilmektedir. Fermantasyon işlemi sırasında, sağlık açısından faydalı ve yeni bileşikler oluşurken, sağlığı olumsuz etkileme potansiyeline sahip bileşikler ortadan kalkmaktadır (Marco vd., 2017).

Mikroorganizmaların biyolojik aktivitesi, gıda ürünlerinde patojenik mikrofloranın büyümesini ve hayatta kalmasını engelleyerek koruyucu etkiye sahip bir dizi metabolit üretmektir (Borresen vd., 2012).

Fermantasyon, hammaddelerin çevre koşullarının etkisiyle kendiliğinden fermantasyonu, yeni bir hammaddeyi aşılama için bitmek üzere olan fermente gıda ürününün bir kısmının kullanılması (backslopping) ile veya bir starter kültürün hammadedeye aşılması ile olmaktadır (Vuyst ve Leroy, 2020).

Fermente gıdalar, dünya çapında çeşitli üretim teknikleri ile çeşitli mikroorganizmalar ve hammaddeler kullanılarak üretilmektedir (Blandino vd., 2003). Gıda fermantasyonlarında yer alan yaygın mikroorganizma grupları bakteriler, mayalar ve küflerdir (Ray ve Joshi, 2014). Her fermente gıdada gelişen bakteri florasının türü, pH, sıcaklık, su aktivitesi, tuz konsantrasyonu ve gıda matrisinin bileşimine bağlı olarak değişmektedir (Blandino vd., 2003). Fermente gıdalarda en sık bulunan mikroorganizmalar, laktik asit bakterileridir (LAB) (Ray ve Joshi, 2014). Laktik asit bakterileri, gıdalarda yaygın olarak görülmeleri ve kullanım geçmişlerinin geçmiş yıllara dayanması nedeniyle insan tüketimi için GRAS (generally recognised as safe) yani “Genel olarak güvenli olarak tanınan” kategorisinde kabul edilmektedir (Kwon vd., 2014; Ray ve Joshi, 2014).

Gıdaların fermantasyon yoluyla korunması, fermantasyonun son ürünlerinden olan organik asitler, karbondioksit (CO₂) ve alkolü oluşturmak için karbonhidratların ve ilgili türevlerinin oksidasyonu ilkesine bağlıdır. Hamurun fermantasyonu sırasında hamurda meydana gelen en önemli olay mayanın karbonhidratları kullanması sonucu CO₂ ve alkol açığa çıkmasıdır. Oluşan CO₂, hamurun içinde birikerek hamurun kabarmasını sağlamaktadır. Organik asitler, alkoller, aldehitler ve ketonlar gibi açığa çıkan çok sayıda bileşik ise son ürünün aromasını ve tadını etkileyerek, başta ekmek olmak üzere unlu mamullerin tüketiciler tarafından en çok talep gören gıdalar olmasını sağlamaktadır (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Kalkışım vd., 2012). Mayaların ve laktik asit bakterilerinin ürettiği asitler, hamurda az miktarda birikmelerine rağmen, hamurun lezzetine ve reolojisine önemli katkılar sağlamaktadır. Örneğin, düşük pH, glutenin su bağlama kapasitesini ve şişmesini geliştirerek hamuru daha elastik ve esnek hale getirmektedir (Hutkins, 2006).

Unlu mamullerde kullanılan mayalar için temel gereksinimler, kısa bir gecikme fazına (lag fazı) sahip olmak ve hamurda hızlı bir şekilde karbondioksit üretmektir. Sert yapıda ve ağır bir hamurun süngerimsi, elastik ve gözenekli bir malzemeye dönüştürülmesinden esas olarak sorumlu olan CO₂, ekmek fermantasyonunun en belirgin ve en önemli son ürünüdür. Hamurun içindeki CO₂ gazının bir kısmı, gluten proteinlerinin esnemesine neden olmaktadır. Böylelikle CO₂ gazının çoğu hamurda tutulmakta ve hamurun matrisi içinde hapsolmektedir. Bu süreç mayalanma olarak bilinmektedir. Tutulan CO₂ hamurda toplanarak homojen olmayan, heterojen bir şekilde dağılan büyük düzensiz gaz hücrelerini oluşturmaktadır. Bu, fermantasyon sırasında hamurların yoğrulma nedenlerinden biridir. Hamurların yoğrulması gazı yeniden dağıtmakta ve daha küçük, daha düzenli ve eşit olarak dağılmış gaz hücrelerini oluşturmaktadır. Bu işlemden sonra gazın yaklaşık %45'i kaybolmaktadır. Ancak yoğrulma esnasında hamurun yeniden karıştırılması, maya hücrelerinin ve şekerlerin hamur içinde

yeniden dağılmasına neden olmaktadır. Böylece mayaya daha fazla substrat sağlanmakta ve bir miktar daha CO₂ oluşabilmektedir (Hutkins, 2006).

Fermente hamurlarda, gaz üretimi ile gaz tutmayı birbirinden ayırmak önemlidir. Gaz üretimi, maya fermantasyonunun doğal bir sonucu olarak karbondioksit gazı oluşumunu ifade etmektedir. Hamurdaki maya hücrelerinin canlı kalması ve maya için yeterli substrat olması koşuluyla gaz üretimi devam etmekte, ancak hamurun genişmesi karbondioksit gazının hamurda tutulmasıyla gerçekleşmektedir. Hamurun işlenmesi ve pişirilmesi aşamalarından fırına girme sürecine kadar üretilen CO₂ gazında kayıplar olmaktadır. Hamurda tutulacak oran, hamurun içinde genişleyen gazın tutunabileceği uygun bir gluten matrisinin geliştirilmesine bağlıdır. Bu nedenle, hamurlarda gaz tutulması, meydana gelen hamur gelişiminin derecesi ile yakından bağlantılıdır ve bu nedenle, zorunlu olarak birbirinden bağımsız olmayan çok sayıda bileşenden ve işleme parametresinden etkilenecektir (Cauvain, 1998).

Gıda fermantasyonu, üretilen birincil metabolitlere göre birkaç alt kategori içermektedir:

- (a) birincil ürünlerin etanol ve CO₂ olduğu ve mayalar tarafından yürütülen alkol fermantasyonu,
- (b) birincil ürünün asetik asit olduğu ve *Acetobacter* cinsi bakteriler tarafından yürütülen asetik asit fermantasyonu,
- (c) laktik asidin ana metabolik ürün olduğu ve laktik asit bakterilerinin (LAB) fermente edici mikroorganizmalar olduğu laktik asit fermantasyonu,
- (d) proteinli substratların farklı *Bacillus* ve *Fungi* türleri ile amonyak veya alkali fermantasyonu.

Bu fermantasyon çeşitlerinin ortak yönleri, mikroorganizmaların, ekzojen oksitleyici ajanların yokluğunda organik bileşiklerden enerji elde etmek için kendi metabolik yollarını kullanmalarıdır. Bu kapsamda, organik bileşikler içeren herhangi bir hammadde, ilgili karbon kaynaklarının bozunması için gerekli enzimatik sistemlere sahip mikroorganizmalar tarafından fermente edilebilir (Tsafarakidou vd., 2020).

2.1.1. Laktik Asit Fermantasyonu

Laktik asit fermantasyonu, birçok hayvansal ve bitkisel gıdanın ve içeceğin hijyen, reoloji, duyuusal ve raf ömrü özelliklerini sağlamak ve fonksiyonel/besin değerlerini geliştirmek için en geleneksel, doğal, sürdürülebilir ve etkili yöntemdir (Gobbetti vd., 2019).

Laktik asit, kimyasal sentez veya karbonhidrat fermantasyonu yoluyla üretilmektedir ve her iki yöntemde geçmişte laktik asidin ticari üretimi için kullanılmıştır (Datta ve Henry, 2006). Ticari ölçekli laktik asit fermantasyonu proseslerinde genellikle glikoz veya sakkaroz, maliyet, ulaşılabilirlik, saflık ve ürün geri kazanım kolaylığı nedeniyle tercih edilen ham maddelerdir. Amerika Birleşik Devletleri'nde, mısırın yaş öğütme işleminde üretilen asit veya enzimle hidrolize edilmiş mısır nişastasından elde edilen glikoz, ticari ölçekli işlemler için hammadde kaynağı olmuştur. Başta Avrupa

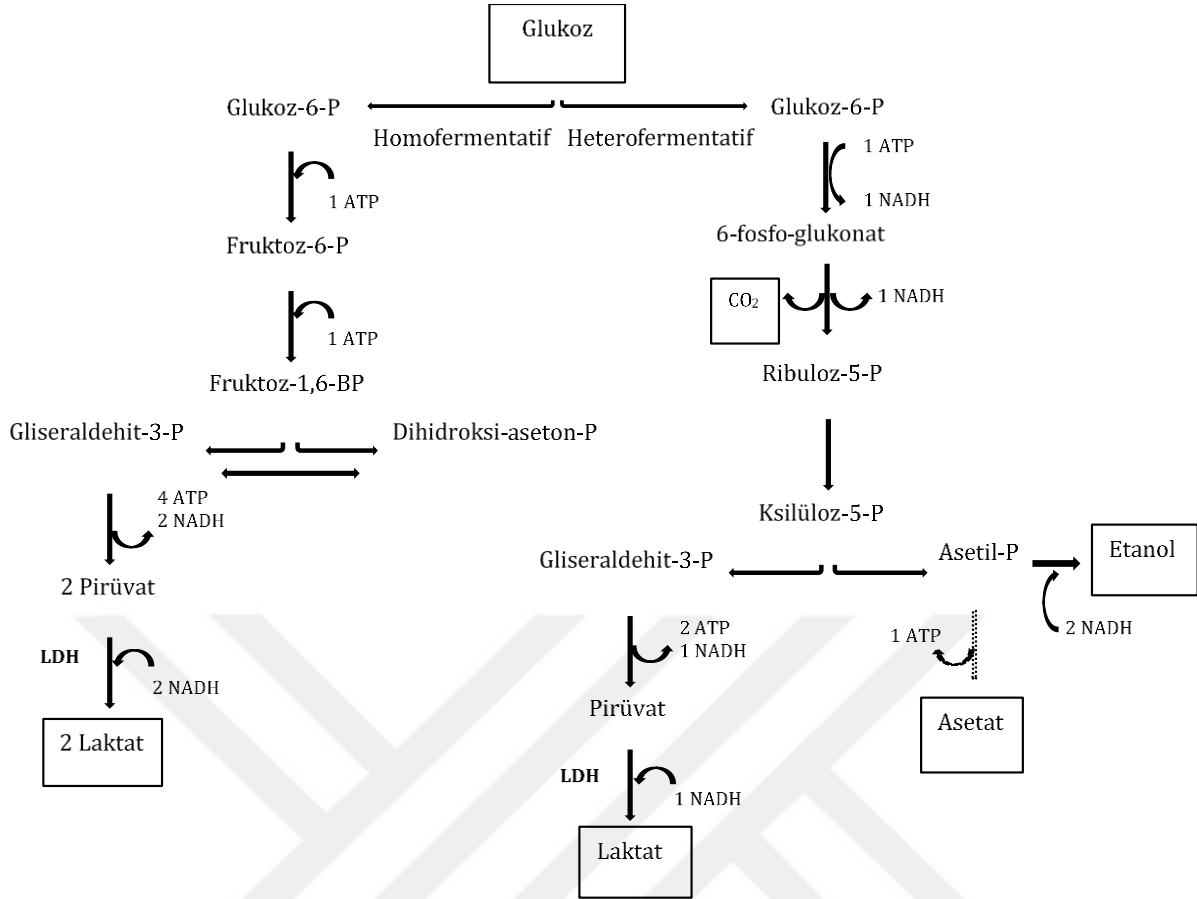
ve Brezilya olmak üzere diğer ülkelerdeki üreticiler, bu bölgelerde maliyet ve bulunabilirlik açısından sakkaroz (kamış veya pancar şekeri) kullanmayı tercih etmişlerdir (Litchfield, 1996).

Laktik asit bakterileri, gıda endüstrisinde, et, süt ve sebze gibi gıdaların fermantasyonunda, mayalar ise şarap, bira gibi bazı alkollü içeceklerin üretiminde ve ekmeğin mayalanmasında önemli rol oynamaktadırlar (Ünlütürk ve Akbulut, 1984; Canbaş, 1986; Ross vd., 2002).

Laktik asit bakterileri, gram pozitifler: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, *Tetragenococcus* ve *Weissella*. LAB, solunum yoluyla ATP sentezleyemeyen ve şekerlerin fermantasyonunda son ana ürün olarak açığa çıkan, çubuk görünümüne sahip laktobasiller ve karnobakteriler dışında koklardır. LAB'ların çoğu fakültatif anaerobiktirler, katalaz negatiftirler, hareketsizdirler ve spor oluşturmazlar (Hofvendahl ve Hahn-Hägerdal, 2000). Laktik asit bakterileri genellikle mezofilitirler, ancak 5°C kadar düşük veya 45°C kadar yüksek sıcaklıklarda büyüyebilir. Benzer şekilde, suşların çoğu pH 4.0-4.5'te büyürken, bazıları pH 9.6'da, bazıları pH 3.2'de aktiflerdir. Asit toleransları onlara diğer bakterilere göre rekabet avantajı sağlamaktadır. Suşlar genellikle zayıf proteolitik ve lipolitikler ve büyümeleri için pürin ve pirimidin bazları, amino asitler ve B vitaminleri gerekmektedir (Litchfield, 1996; Caplice ve Fitzgerald, 1999; Hofvendahl ve Hahn-Hägerdal, 2000).

LAB türlerinin koruyuculuğu, besin rekabeti ve bakteriyel inhibitör üretimi ile patojenik mikroorganizmaların büyümesini bloke etme yeteneklerinden gelmektedir. İnhibitörlerin bazıları organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosinlerdir. Bir dizi LAB suşu, antimikrobiyal bileşik olan bakteriyosin üretmektedir. Fermente gıdalarda bakteriyosinin varlığı, hücre duvarı biyosentezinin interferansına ve patojenik mikroorganizmaların, özellikle de endospor oluşturan gram pozitif bakterilerin hücre duvarlarında gözeneklerin oluşmasına neden olmaktadır (Borresen vd., 2012).

Laktik asit fermantasyonu sırasında glikolizden elde edilen piruvat molekülleri laktata dönüştürülmektedir. Laktik asit bakterileri, esas olarak şekerlerden laktat üretme kabiliyetine sahip, fermantasyonlarının son ürününe göre homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterilerinden oluşmaktadır. (Chilton vd., 2015). Homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit fermantasyonları Şekil 2.2.'de verilmiştir.



Şekil 2.2. Homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit fermantasyonları. LDH= laktat dehidrogenaz, P=Fosfat, BP=Bifosfat, NADH=nikotinamid adenin dinükleotidi- indirgenmiş hal, ATP= adenozin trifosfat, CO₂=Karbondioksit (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Hofvendahl ve Hahn-Hägerdal, 2000).

Homofermentatif laktik asit bakterileri, glikoz fermantasyonunun ana ürünü olan laktik asiti üretirler. Homofermentatif laktik asit bakterileri, aldolaz enzimine sahiptirler ve heterofermentatif laktik asit bakterilerine kıyasla glikozu doğrudan laktik aside fermente edebilirler. Heterofermentatif laktik asit bakterileri ise laktik asidin yanı sıra, glikoz fermantasyonundan karbondioksit, asetik asit ve etanol olmak üzere birçok ürün üretirler. Bu lezzet artırıcı ürünlerden dolayı heterofermentatif laktik asit bakterileri süt endüstrisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Carr vd., 2002).

2.1.2. Ekzopolisakkaritler

Ekzopolisakkaritler, arke, maya, bakteri ve küf gibi çeşitli organizma grupları tarafından üretilmektedir. Ekzopolisakkaritlerin fiziksel, kimyasal, biyolojik ve reolojik özellikleri besin yükü, karbon kaynağı, sıcaklık, pH ve mikroorganizmaların doğasına göre değişmektedir (Ergene ve Avcı, 2016; Thakur vd., 2018).

Laktik asit bakterilerinin ürettiği mikrobiyal polisakkaritler, hücreye olan konumlarına göre sınıflandırılmaktadır. Hücreler arası polisakkaritler, karbon veya enerji kaynağı olarak kullanıldıkları

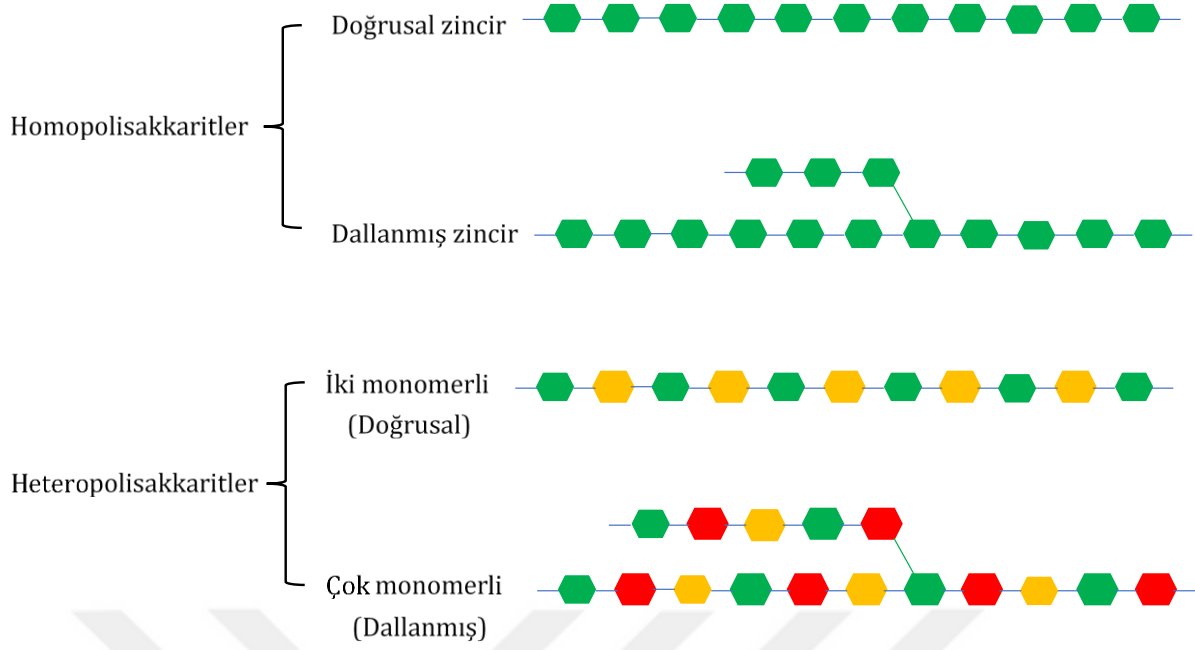
hücrelerin ayrılmaz parçalarıdır. Bu da hücreler arası polisakkaritlerin hücre biyokütlesinden ayrılmasını ve izole edilmesini zorlaştırmaktadır. Hücre duvarının dışında üretilen veya tamamen çevre ortama salınan polisakkaritler ise ekzosellüler, hücre dışı polisakkaritleri veya ekzopolisakkaritler olarak bilinmektedir. Ekzopolisakkaritler, minimum kontaminasyonla hücrelerden kolayca izole edilebilirler (Ruas-Madiedo vd., 2002; Daba vd., 2021).

Ekzopolisakkaritler, gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılan hidrokolloidlere en doğal alternatiflerdir. Hidrokolloidler, tamamen veya kısmen çözünebilen, kolay bir şekilde dağılabilen ve suda şişmeye eğilimli, çeşitli uzun zincirli polimerler grubudur. Yapısında bulunan birçok hidroksil grubu, hidrokolloidleri hidrofilik hale getiren suya bağlanma afinitelerini belirgin bir şekilde arttırmaktadır. Hidrokolloidlerin gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmasının başlıca nedenleri, su ile bağlanması ve gıdaların duyuşsal özelliklerini geliştirmeye yardımcı olmasıdır (Li ve Nie, 2016). Karragenan, gellan, ksantan, guar zamkı, keçiyoynuzu zamkı, karaya zamkı, pektinler, aljinik asit ve sodyum aljinat gıdalarda kullanılan hidrokolloidlerden bazılarıdır (Hansen, 1994). Hidrokolloidler gıdalarda stabilizasyon için, jelleşme için, kıvam arttırıcı, kabarmaya yardımcı ve nem tutucu madde olarak kullanılmaktadırlar (Houben vd., 2012; Li ve Nie, 2016).

Hidrokolloidlerin unlu mamullerde kullanımı, hamur stabilitesini olumlu yönde etkilemekte ve su emme kapasitesini arttırmaktadır (Rosell vd., 2001; Kohajdová ve Karovičová, 2008). Ayrıca hidrokolloidler, ürünleri stabilize etme ve yapılarını iyileştirme özelliklerinden dolayı glutensiz ürünlerin üretiminde gluten ikame maddesi olarak kullanılmaktadır (Gambuś vd., 2007; Lazaridou vd., 2007; Sciarini vd., 2010; Sabanis ve Tzia, 2011; Mir vd., 2016). Kimyasal yapıları polisakkaritlere benzemektedir. Glutensiz ürünlerde kullanılan hidrokolloidler, bitkilerden ve bitki tohumlarından (pektin, keçiyoynuzu zamkı ve guar zamkı) veya kimyasal sentetik kaynaklardan elde edilmektedirler. Ancak bakteriler tarafından üretilen ekzopolisakkaritler gibi hidrokolloid benzeri moleküllerde mevcuttur (Houben vd., 2012; Valerio vd., 2020). Ekzopolisakkaritlerin laktik asit bakterileri tarafından yerinde sentezlenmesi (in situ), ilave katkı maddesi kullanımını engelleyerek maliyetin düşürülmesine olanak tanımakta ve tüketicilerin “temiz etiketli” gıda talebini karşılamaktadır (Galle ve Arendt, 2014).

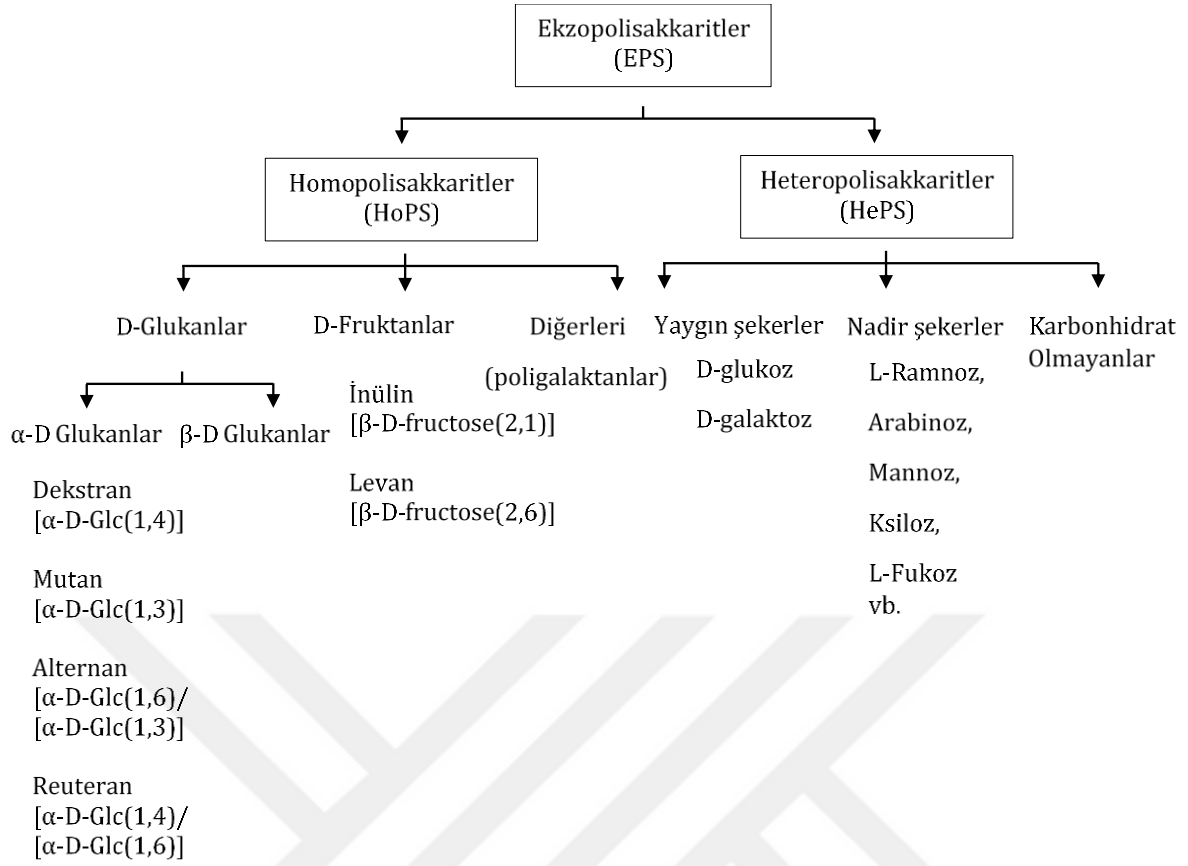
Bakteriler tarafından üretilen ekzopolisakkaritler, gıda ürünlerinde bağlayıcı ajan olarak, sağlık ve ilaç sektöründe farmasötik bileşenler olarak insan yaşamında oldukça önemli bir role sahiptirler (Malaka, 2021). Ayrıca, LAB tarafından üretilen bazı ekzopolisakkaritlerin tüketicilere immünomodülatör, antitümör, antibiyofilm ve antioksidan aktivite gibi sağlığa yararlı etkiler sağlayabileceği öne sürülmektedir (Wang vd., 2014).

EPS genellikle konumlarına bağlı olarak iki formda bulunmaktadır. Bunlar; bakteri yüzeyine sıkı sıkıya yapışan hücreye bağlı ekzopolisakkaritler (c-EPS) ve çevreleyen ortama salınan ekzopolisakkaritlerdir (r-EPS) (Wang vd., 2014).



Şekil 2.3. Homopolisakkaritlerin ve heteropolisakkaritlerin zincir tiplerini gösteren şematik gösterim (Daba vd., 2021).

Bakteriyel ekzopolisakkaritlerin çeşitliliği, ekzopolisakkaritlerin kimyasal yapıları, işlevsellikleri ve bağları ile kategorize edilmektedir. Ekzopolisakkaritlerin monomerik bileşime dayalı kimyasal yapısı incelendiğinde, ekzopolisakkaritler heteropolisakkaritler (HePS) ve homopolisakkaritler (HoPS) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Şekil 2.4.). Homopolisakkaritlerin çoğu nötr iken heteropolisakkaritlerin çoğu polianyondur. HoPS, bir tip monosakkarit (D-glikoz veya D-fruktoz) içermektedir. Başlıca HoPS, α -D-glukanlar, β -D-glukanlar ve fruktanlardır. Homopolisakkarit (HoP) grubuna ait polimerler arasında pullulan, curdlan, dekstran, selüloz, skleroglukan vb. bulunmaktadır. Curdlan ve selüloz, sırasıyla 1,3 β -glukan ve 1,4 β -glikosidik bağlarına sahip lineer homopolisakkarittir. Skleroglukan gibi dallı HoPS 1,3 β - ve 1,6 β -glikosidik bağa sahipken, pullulan 1,3 α - ve 1,6 α - bağına sahiptir. HePS ise iki veya daha fazla monosakkaritten oluşmakta ve tekrarlayan D-glukoz, D galaktoz, L-ramnoz vb. birimleri içermektedir (Rana ve Upadhyay, 2020, Prete vd., 2021).



Şekil 2.4. Ekzopolisakkaritlerin sınıflandırılması (Daba vd., 2021; Malaka 2021).

2.1.2.1. Ekzopolisakkaritlerin Gıda Endüstrisindeki Uygulamaları

Mikrobiyal EPS'ler, gıda bileşenleri ile etkileşimleri nedeniyle gıda işlemede, reolojik ve duyuşal gıda özelliklerinin iyileştirilmesine katkı sağlayan fonksiyonel etkilere sahiptir. EPS'ler monomer bileşimine, bağların tipine, yan zincirlerin sayısına ve uzunluğuna, moleküler ağırlığa bağlı olarak gıdaların viskoelastik özelliklerini farklı şekillerde değiştirebilirler. Ayrıca EPS'ler, ortam sıcaklığına, pH'ına ve iyonik gücüne bağlı olarak stabilizatör, kıvam arttırıcı veya emülgatör olarak işlev görmektedir. Suyu bağladıkları ve ürün içinde nemi tuttukları için katkı maddesi olarak kullanılan hidrokolloidlerin yerine veya kullanımını azaltmak için kullanılmaktadırlar (Abarquero vd., 2021). HoPS ve HePS tipi ekzopolisakkaritlerin bazı temsilcileri ve bunların gıda endüstrisindeki uygulamaları Tablo 2.1.'de listelenmiştir.

Tablo 2.1. Ekzopolisakkaritlerin gıda endüstrisindeki uygulamaları (Ateş ve Öner, 2017; Angelin ve Kavitha, 2020; Prete vd., 2021).

	EPS	Monomerik Birimler	Üreticiler	Endüstriyel Uygulamalar
HoPS	Dekstran	Glikoz	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> , <i>Lactobacillus parabuchneri</i>	Emülgatör ve stabilizatör, unlu mamullerde yumuşaklığın, ekmek içi dokusunun ve somun hacminin iyileştirilmesi, şekerlemelerde nem tutma ve viskozitenin iyileştirilmesi
	Alternan	Glikoz	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Leuconostoc citreum</i>	Şekerlemelerde tatlandırıcı, stabilizatör, emülgatör ve prebiyotikler
	Reuteran	Glikoz	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Fırıncılık sektörü
	Kurdlan	Glikoz	<i>Agrobacterium</i> spp., <i>Rhizobium</i> spp., <i>Cellulomonas</i> spp.	Starter kültür, jelleştirici ajan, immobilizasyon matrisi
	Pullulan	Glikoz	<i>Aureobasidium pullulans</i>	Kıvam arttırıcı, stabilize edici, tekstür iyileştirici, jelleştirici ajan
	Selüloz	Glikoz	Alfa-proteobakteriler, Beta-proteobakteriler, Gamma-proteobakteriler, gram-pozitif bakteriler	“Nata de coco” üretiminde jelleştirici ajan
	Levan	Fruktoz	<i>Halomonas smyrnensis</i> <i>AAD6^T</i> , <i>Zymomonas mobilis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Streptococcus mutans</i>	Kıvam arttırıcı, emülgatör, stabilizatör, kapsülleyici ajan, gıda ve yem katkı maddesi, osmoregülatör ve kriyoprotektör
İnülin	Fruktoz	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i>	Şeker ve yağ ikame maddesi, az yağlı süt ürünlerinde tekstür iyileştirici, kremsiliği arttırıcı	
HePS	Glikoz ve galaktoz		<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	Fonksiyonel gıdalarda ek gıda olarak, güçlü emülsifiye edici ve topaklaştırıcı ajan
	Arabinoz, mannoz, glikoz ve galaktoz		<i>Lactobacillus plantarum</i>	Çeşitli gıda maddelerinin tekstür ve reolojik özelliklerinin iyileştirilmesi
	Glikoz, arabinoz, galaktoz, mannoz ve ksiloz		<i>Bacillus tequilensis</i>	Stabilizatör ve kıvam arttırıcı
	Glikoz, mannoz, galaktoz, ramnoz ve az miktar fukoz		<i>Lactobacillus gasseri</i>	Antioksidan ajan, viskoz ajan ve antimikrobiyal ajan
	Arabinoz, ramnoz, fukoz, ksiloz, mannoz, fruktoz, galaktoz ve glikoz		<i>Lactobacillus plantarum</i>	Doğal antioksidan veya fonksiyonel katkı maddesi

Mantarların ürettiği ekzopolisakkaritler, yüksek değere sahip biyomoleküller olarak kabul edilmektedirler. Bu EPS'ler gıda, tıp, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde çeşitli uygulamalara sahiptirler. Mantarların ürettiği ekzopolisakkaritler arasında kitin, kitosan, pullulan, plöran, skleroglukan, şizofilan, lentinan, elsinan, grifolan vb. bulunmaktadır. Mantarlardan izole edilen bu ekzopolisakkaritler gıda dokusunu değiştirme, gıdadaki tadı ve besin değerini artırma yeteneğine sahiptir. Ayrıca immünomodülatör, antioksidan, antitümör ve antimikrobiyal özellikler gibi çeşitli özelliklere sahiptirler (Selvasekaran vd., 2021).

Ekzopolisakkaritler, çeşitli gıda sektörlerinde, özellikle fermente süt ürünleri, süt ürünleri içermeyen, fırıncılık ve et endüstrisi alanlarında çeşitli kullanımlara sahiptirler.

EPS, geleneksel olarak yoğurt, kefir, kültürlü krema, süt bazlı tatlılar ve peynir gibi çeşitli fermente süt ürünlerinin üretiminde kullanılmaktadır. EPS üreten LAB'nin, özellikle yağ içeriğinin azaltılmasının ürün özelliklerini olumsuz etkilediği yağı azaltılmış veya düşük yağlı ürünler söz konusu olduğunda, çeşitli gıdaların dokusal ve duyuşal özelliklerini iyileştirdiği bilinmektedir. Ayrıca EPS sinerezisi azaltabilir. Bu da süt ürünlerinin işlenmesinde avantaj sağlayan bir özelliktir (Korc ve Varga, 2021).

Et endüstrisinde, et ürünlerinin kalite özelliklerini geliştirmek için hidrokolloidler ve fosfatlar kullanılmaktadır. Ancak yapılan son araştırmalar, işleme sırasında yerinde EPS üretebilen LAB kullanımının ilginç bir alternatif olabileceğini ortaya koymaktadır (Loeffler vd., 2020). Et ürünlerinin tüketimi, yüksek yağ içeriği nedeniyle çoğu zaman insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerle ilişkilendirilmekte ve birçok hastalığın gelişmesine yol açmaktadır. Bu nedenle et ürünlerinde EPS uygulaması tüketicilerin sağlıklı ürün talebini karşılamak için bir alternatif olabilir (Celligoi vd., 2021).

Laktik asit bakterileri, şekerleri, proteinleri, organik asitleri ve yağları tipik aroma ve lezzet bileşenlerine dönüştürürler. Bazı laktik asit bakteri suşları, ekzopolisakkaritlerin sentezi ile fermente ürünlerin dokusunu ve viskozitesini geliştirmeye katkıda bulunurlar (Ruas-Madiedo vd., 2002). Ekzopolisakkaritler, fırıncılık endüstrisinde hamurun dokusunu, hacmini, reolojisini ve ekmeğin raf ömrünü iyileştirmek için kullanılan hidrokolloidler kullanım ihtiyacını değiştirme veya azaltma potansiyeline sahiptirler (Tieking ve Gänzle, 2005; Daba vd., 2021). Ticari hidrokolloidlere kıyasla, ekmeğin üretiminde hamurlara levan ilave edilmesi ekmeğin hacmini arttırmaktadır (Seitter vd., 2019). Dekstran kullanımının ise ekmeğin hacmi ve dokusu üzerinde büyük etkiye sahip olmasına rağmen, dekstran fırıncılık alanında yaygın olarak kullanılmamaktadır (Lacaze vd., 2007).

Buğday hamurunun laktik asit bakterileri (LAB) ile fermantasyonu sonucunda, hamur özellikleri ve ekmeğin kalitesi iyileşmektedir. Buna ek olarak, buğday kullanılarak üretilen ekmeğin ekşi hamur kullanımı ekmeğin dokusunu ve hacmini iyileştirmekte ve ekmeğin raf ömrünü uzatmaktadır. Ekmeğin gözlenen bu etkiler, organik asitlerin, aroma bileşiklerinin ve ekzopolisakkaritlerin üretimi dahil olmak üzere, ekşi hamur fermantasyonu sırasında LAB'nin metabolizması ile ilişkilendirilmektedir. Özellikle sakkaroz kullanılarak üretilen EPS, hamur reolojisini ve ekmeğin dokusunu iyileştirme potansiyeline sahiptir (Galle vd., 2012b). Glutensiz ekmeğin ise glutenin

yokluğundan kaynaklanan düşük su bağlama, kötü ekmek içi özellikleri, ekmek hacminde azalma ve zayıf stabilite gibi kusurlar, hamura EPS üreten LAB eklenerek ortadan kaldırılabilmektedir (Korczyk ve Varga, 2021).

2.2. Mayalar

Unlu mamüllerde kullanılan mayaların işlevleri:

- i. Maya, un ile karıştırılıp hamur haline getirildiğinde karbondioksit açığa çıkarmakta ve hamurun kabarmasına yardımcı olmaktadır.
- ii. Maya, unlu mamullerin doku ve lezzetini geliştirmektedir.
- iii. Maya, hamurun (gluten) karbondioksit gazının basıncı altında esnemesinde ve hamurun ürünlerin yapısını oluşturacak yeterli yumuşaklığa ulaşmasında büyük paya sahiptir (Ashokkumar, 2012).

2.2.1. Ticari Mayalar

Ekmek üretimi için kullanılan maya, genellikle basitçe fırıncı mayası olarak anılan *Saccharomyces cerevisiae*'dir. Hamurda bulunan fermente olabilen şekerleri ana ürünlere yani karbondioksit ve etanole dönüştürmektedir (Codina ve Voica, 2010).

Ticari ekmek mayası sıvı, kremi veya sıkıştırılmış (yaş pres) formlarda ve aktif kuru maya formunda tüketime sunulmaktadır (Tablo 2.2.). En çok kullanılan ticari ekmek mayası yaş pres ekmek mayasıdır. Aktif kuru maya, mayalama gücüne sahip canlı kurutulmuş maya hücrelerinden oluşurken, instant kuru maya genellikle kullanımdan önce rehidrasyon gerektirmeyen ince parçacıklardan oluşmaktadır. İnaktif kuru maya, aktif kuru mayadan farklı olarak, kabartma özelliği olmayan, fırınlamada hamur özelliklerinin kondisyonlanması veya karakteristik aroma gelişimi için kullanılan bir üründür (Bekatorou vd., 2006).

Mayanın ekmek yapımı için fermentatif aktivitesi, esas olarak, hamuru büyütme ve hacimli ekmek için gerekli olan gaz üretme kapasitesi ile belirlenmektedir. Genellikle %4 ile %8 arasında değişen nem içeriğine sahip aktif kuru maya, birkaç ay boyunca yüksek hacim verme gücünü koruyabilmektedir. Aktif kuru maya, yaş pres maya ile karşılaştırıldığında, daha az yer kapladığı için ve ağırlığı çok daha düşük olduğu için aktif kuru mayanın nakliyesi ve depolanması daha kolaydır (Gélinas, 2019).

Tablo 2.2. Ticari ekmekek mayalarının bileşimleri ve raf ömürleri (Kulp, 2003).

	Pres Maya	Krem Maya	Aktif Kuru maya		
			Regular	Protected	Instant
Nem (%)	70	82	7-8	5-6	4-5,5
Protein, kuru bazda	60	60	38-48	40-42	39-41,5
Raf Ömürleri					
Buzdolabında 2-4,5°C (35-40°F)	3-4 hafta	3-4 hafta	6 ay ^a / 1 yıl ^b	9 ay ^a	1 yıldan fazla ^b
Oda Sıcaklığında 21°C (70°F)	Hızlı bozulur	Hızlı bozulur	3 ay ^a / 1 yıl ^b	6 ay ^a	1 yıl ^a

a=vakum veya inert atmosfer altında paketlenmemiş variller veya torbalar, b=vakum veya inert atmosfer altında paketlenenler.

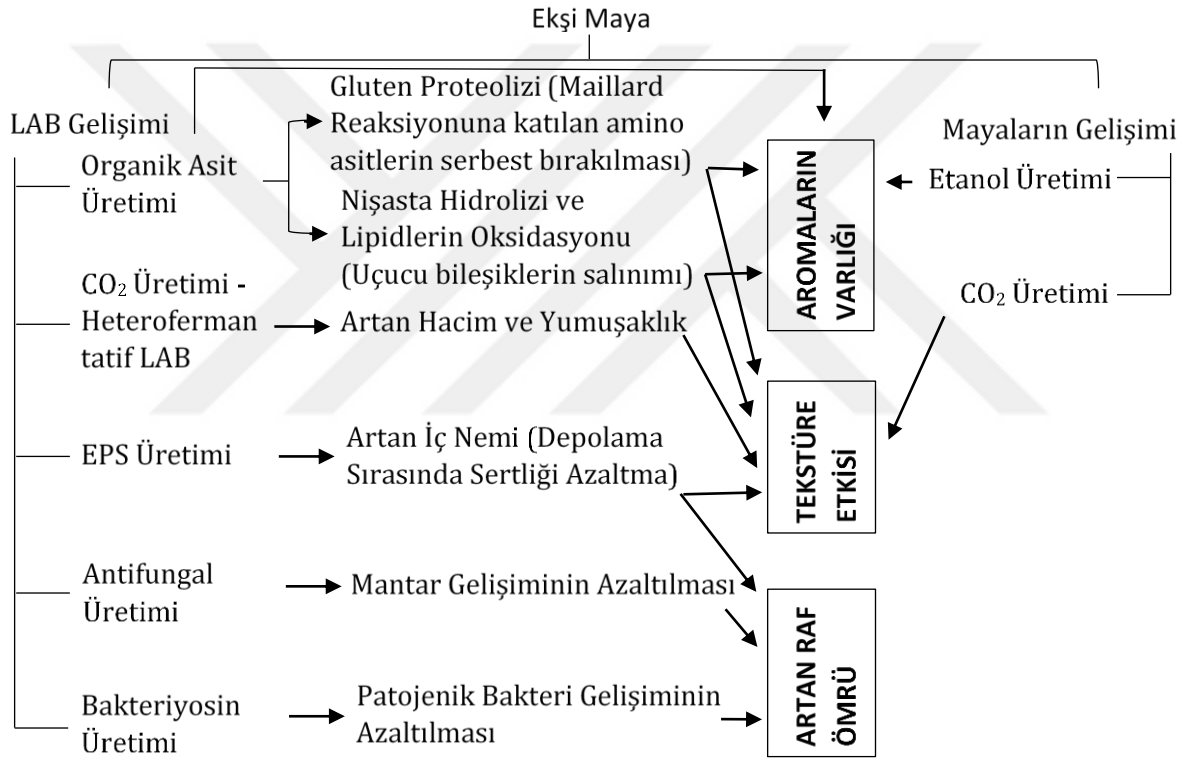
2.2.2. Doğal veya geleneksel Mayalar

2.2.2.1. Ekşi Maya

Ekşi hamur fermantasyonu, mayalı unlu mamüllerin duysal, yapısal, besinsel ve raf ömrü özellikleri üzerindeki etkisi nedeniyle üzerinde çalışılan ve yakın zamanda yeniden keşfedilen en eski gıda biyoteknolojilerinden biridir (Gobbetti vd., 2014). Geleneksel ekşi hamur üretiminde, başlangıçta unun bir kısmı, maya ve yeterli miktarda su mayalı kabarık hamur formuna ulaşmak için birkaç saat (genelde gece boyunca) fermantasyona bırakılmaktadır. Daha sonra mayalı kabarık hamur kalan un, su, tuz ve yağ ile uygun bir kıvama gelinceye kadar karıştırılmakta ve fırınlanmadan önce kısa bir süre son mayalanmaya bırakılmaktadır. Mayalı hamurun havadaki kontaminasyon yoluyla bakteriyel ekşimesiyle veya bir starter kültür olarak önceki hamurdan %2-5 mayalı hamur eklenmesiyle daha lezzetli bir ekmekek üretilmektedir (Paterson ve Piggott, 2006).

Tahıl fermantasyonu sırasında, tipik olarak orta sıcaklıklarda 24 saate kadar, mevcut mikroorganizmaların metabolik aktivitesi tahıl bileşenleri ile etkileşim halindedir. Laktik asit bakterileri, ortamın pH değerini 5'in altına düşürerek laktik asit ve asetik asit üretirler. Mayalar ise karbondioksit ve etanol üretirler. Mayalar ve laktik asit bakterileri arasındaki etkileşimler, ekşi mayanın

metabolik aktivitesi için önemlidir (Poutanen vd., 2009). Ekşi hamurlarda aroma-aktif bileşikler LAB ve mayalar tarafından ayrı ayrı ve birbirleriyle etkileşimleri yoluyla üretilmektedir (Damiani vd., 1996) (Şekil 2.5.). Ekşi hamurlarda genellikle heterofermentatif türler baskın olmakla birlikte, diğer gıda fermantasyonlarından farklı olarak hem homofermentatif hem de heterofermentatif LAB türleri bulunmaktadır (Dertli vd., 2016). Heterofermentatif LAB, esas olarak etil asetat, bazı alkoller ve aldehitler üretirken, homofermentatif LAB, diasetil ve diğer karbonilleri sentezlemektedir. İzo-alkoller ise maya fermantasyonlarının ürünleridir. Ancak izo-alkollerin ekmeğin lezzetine katkısı oldukça azdır (Damiani vd., 1996). Ekşi hamur fermantasyonunun mikrobiyotası, endojen (unun kimyasal ve enzim bileşimi) ve eksojen (sıcaklık, redoks potansiyeli, hamur verimi ve fermantasyon süresi) faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Gobbetti vd., 2008).



Şekil 2.5. Ekşi mayanın dokusunu, aromasını ve raf ömrünü etkileyen hamurdaki temel değişiklikler (Siepmann vd., 2018).

Ekşi maya fermantasyonu, fitik asit miktarını azaltarak ekmeğin besinsel özelliklerini geliştirmektedir. Ekşi hamur fermantasyonunda fitik asit miktarının azalması pH değişimi ile ilişkilendirilmektedir (Leenhardt vd., 2005). Fitik asit, moleküler yapısı nedeniyle anti-besinsel bir bileşiktir (Siepmann vd., 2018). Buğdaydaki fitik asidin varlığı, sindirim rahatsızlığı ve şişkinliğin başlıca nedenidir (Sakandar vd., 2019). Tahıllar, potasyum, fosfat, magnezyum ve çinko gibi mineraller bakımından zengin önemli besin kaynaklarıdır. Ancak minerallerden yararlanım, fitik asidin varlığı ile sınırlanmaktadır. Ekşi maya kullanımı ile fitik asit hidrolizini artırarak mineral

biyoyararlanımı arttırılabilmektedir. Ayrıca ekşi maya kullanımı, nişasta sindirilebilirliğini azaltarak, düşük glisemik indeksli ekmeklerin üretimine katkıda bulunmaktadır (Katina vd., 2005).

Ekşi mayalı ekmek yapımı eski bir biyoteknolojik yöntemdir ve birçok ülkede kullanımı için çeşitli protokoller uygulanmaktadır. Ekşi hamurlar uygulanan teknolojiye göre üç tipte gruplandırılmaktadır.

Tip I; bir önceki fermantasyonun bir kısmı kullanılarak yeniden başlatılan ekşi hamurdur. Genellikle, mayalı hamuru pişme aşamasına getirmek için 24 saat boyunca üç beslemeye dayanan üç aşamalı bir protokol uygulanmaktadır. Her adım, belirli bir hamur verimi, fermantasyon sıcaklığı ve süresi ile karakterize edilmektedir. Fermantasyonun üçüncü aşamasının son adımında, mayalama maddesi olarak ekşi hamur kullanılmaktadır. Bu nedenle ekşi hamur birçok mikrobiyal suşu içeren doğal bir starter kültür olarak kabul edilmektedir.

Tip II; 15-20 saatlik fermantasyon sürecinin ardından günlerce saklanarak elde edilen ekşi hamurlardır. Tip II ekşi hamurlar genellikle hamur mayalanması için uygun değildir, ancak hamurun asitliğini arttırarak ekşi mayalı unlu mamüllerin karakteristik özelliği olan aroma ve lezzet bileşikleri ile zenginleştirmek için ve hamur geliştirici olarak kullanılmaktadır. Tip II ekşi hamurlar genellikle sıvıdır (DY yaklaşık 200) ve 30°C'yi aşan kontrollü bir sıcaklıkta biyoreaktörler veya tanklar kullanılarak endüstriyel düzeyde üretilirler.

Tip III; hazırlandıktan sonra kurutulan/stabilize edilen Tip II sıvı ekşi hamurlar, tip III ekşi hamurlar olarak adlandırılır. Tip I ekşi hamurla karşılaştırıldığında kaliteleri daha sabit olduğundan ve daha az zaman aldığından endüstriyel düzeyde kullanılırlar (Corsetti, 2013).

2.2.2.2. Nohut Mayası

Nohut mayası, bir miktar kırılmış nohut ve suyun (distile su/çeşme suyu ve kaynatılmış 100 °C su/kaynatılmış ve 50 °C soğutulmuş su) belirli bir sıcaklıkta (32-42 °C aralığında) ve sürede (16-24 saat aralığında) fermantasyonu sonucu, nohut kırıklarının süzülerek uzaklaştırılmasıyla elde edilen köpüklü sıvıdır (Katsaboukis ve Mallidis, 1996; Hatzikamari vd., 2007a; Boyacı Gündüz, 2018; Gül vd., 2018; Aydın ve Çebi, 2019). Nohut mayası geleneksel bir maya çeşidi olduğu için yapımında kullanılan hammaddeler (tuz, sakkaroz vb.) ve parametreler değişkenlik göstermektedir. Şekil 2.6 da görüldüğü gibi, fermantasyona bırakılan sıvının üzerinde 1-2 cm yüksekliğindeki köpük oluşumu, fermantasyonun gerçekleştiğini göstermektedir.



Şekil 2.6. Nohut Mayası

Ekşi mayanın yanı sıra fermente nohut sıvısı, geleneksel olarak ekmeğin yapımında kullanılan bir tür mayalama ürünüdür ve “tatlı maya” olarak bilinmekte, ondan yapılan ekmeğe ise “tatlı ekmeğin” adı verilmektedir. Son zamanlarda tüketicilerin sağlıklı beslenme alışkanlıklarına yönelmesi, yüksek besin içeriği nedeniyle tüketicilerin nohut ve nohut ürünlerine olan ilgilerini arttırmıştır. Bu nedenle, çeşitli geleneksel gıdaların hazırlanmasında nohut kullanımı giderek artmıştır. Nohut mayasından üretilen ekmeğin bunlardan biridir. Sağlıklı beslenme bilincine sahip tüketiciler arasında, karakteristik renk, tat ve dokularından dolayı geleneksel ekmeğin tüketimine yönelik talebin giderek arttığı görülmektedir. Unlu mamul tüketicileri için hem lezzetli hem de sağlıklı ürünler öncelik arz etmeye devam etmektedir. Bu nedenle fırıncılık sektörü, yeni, bilinçli tüketicileri çekebilmek için ürün yelpazesini genişletecek yenilikler yapmak zorundadır. Nohut mayalı ekmeğin geleneksel bir tat sunmada, üretimi sırasında daha fazla dikkat gerektirdiği için ve mayalanma süresinin daha uzun olması nedeniyle daha geniş bir endüstriyel üretim düzeyine ulaşamamıştır (Gül vd., 2018).

Türkiye, Makedonya ve Yunanistan gibi bazı Akdeniz ülkelerinde “nohut mayası” kullanılarak ekmeğin hamuru yapılmakta ve ekmeğin Trakya, Akdeniz ve Orta Anadolu'nun bazı yörelerinde evlerde ve fırınlarda ticari olarak üretilmektedir (Tangüler, 2014). Nohut tohumlarının suda fermantasyonu doğal bir süreçtir ve başka hiçbir katkı olmadan gelişen mikroflora, Yunanistan ve Kıbrıs'ta 'Eptazymo/Eftazymo' adı verilen geleneksel ekmeğin çeşidinin üretimi için kullanılan doğal bir starter kültürdür (Katsaboxakis ve Mallidis, 1996; Hatzikamari vd., 2007a). Ülkemizdeyse nohut mayası, ekmeğin, poğaçanın vb. unlu mamüllerin üretiminde kullanılmaktadır (Baykara, 2006; Narlıoğlu, 2013; Kasım, 2014; Demiray vd., 2015; Erginkaya vd., 2016; Gül vd., 2018; Sayaslan ve Şahin, 2018).

Beyaz buğday ekmeğinin yapımında nohut mayası kullanımı, somun hacmini ve yüksekliğini arttırırken, ekmeğinin nem içeriğini azaltmaktadır (Gül vd., 2018). Glutensiz ekmeğin kullanımını ise kısmen ekmeğinin hacmini arttırıcı ve bayatlamayı geciktirici etki göstermekte, ekmeğinin besleyicilik

değerini arttırmaktadır (Şahin vd., 2018). Nohut mayası ile yapılan ekmeklerin, ticari mayalar ile yapılan ekmeklere kıyasla kendine özgü farklı tat ve aroması nohut mayasında gelişen mikrofloradan kaynaklanmaktadır (Özkaya, 1992).

2.3. Nohut

Nohut (*Cicer arietinum* L.), Türkiye'nin güneydoğusunda ve Suriye'nin bitişiğinde ortaya çıktığına inanılan, kendi kendine tozlaşan eski bir baklagil mahsulüdür (Singh, 1997). Dünya'da yıllık nohut üretiminde başta 9 milyon 937 bin ton ile Hindistan, ikinci sırada yıllık 630 bin ton ile Türkiye ve üçüncü sırada ise yıllık 506 bin ton ile Rusya gelmektedir (FAO, 2021). 2019 verilerine göre, Türkiye'de nohut ekimi yapılan alan 520595 ha ve Türkiye'de nohutun yıllık üretimi 630 bin tondur (TUİK, 2021).

Besin değeri nedeniyle tüketicilerin nohuta olan talepleri giderek artmaktadır. Yarı kurak tropikler bölgelerde nohut, hayvansal proteinleri karşılayamayan veya tercihe göre vejeteryan olan bireylerin diyetlerinin önemli bir bileşenidir. Nohut, diğer bakliyalara kıyasla toplam kuru tohum kütlelerinin yaklaşık %80'i karbonhidrat ve protein olan önemli bir besin kaynağıdır. Nohut kolesterol içermez ve iyi bir diyet lifi, vitamin ve mineral kaynağıdır (Jukanti vd., 2021). Olağanüstü beslenme özellikleri, bu ürünü geliştirmekte olan ülkelerdeki insanlar için yüksek kaliteli bir protein kaynağı ve gelişmiş ülkelerde nutrasötik gıda işlevi gören bir gıda haline getirmektedir (Millán vd., 2015).

Nohut çeşitleri, desi ve kabuli olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Desi tipi nohutlar genellikle küçük ve koyu renkli olup, bitki kısımları genellikle pembe veya mor çiçekler taşıyan antosiyanin pigmentlidir. Desi tipi nohutların yüzeyleri, kabuli tipi nohutlara göre daha pürüzlüdür. Buna karşılık, kabuli tipi nohutlar genellikle açık renkli kabuklu ve büyük tohumludur. Bitkinin üst kısımları, beyaz çiçeklerle antosiyanin pigmentasyonu olmayan yeşil renklidir (Singh, 1991; Purushothaman vd., 2014). Dünya genelinde nohut üretiminin yaklaşık olarak %80'i desi tipi nohutlara aittir (Sönmez ve Kumlay, 2021). Kabuli türleri esas olarak Akdeniz ülkelerinde yetiştirilirken, desi türleri Hindistan alt kıtasında yetiştirilmektedir (Singh, 1991).

2.3.1. Siyah Nohut

Siyah nohut; yüksek lif içeriği, pişirilmesi ve hazırlanmasındaki zorluklar nedeniyle geçmişte daha çok hayvan beslemede kullanılmıştır. Günümüzde ise siyah nohutlarında dahil olduğu pigmentli nohutlar, içerdikleri yüksek diyet lifi, antosiyaninler ve karotenoidler gibi yüksek miktarda biyoaktif bileşikler ve yüksek düzeyde çoklu doymamış yağ asitleri nedeniyle besleyicilik anlamında değerli bakliyatlar olarak kabul edilebilirler (Summo vd., 2019).



Şekil 2.7. Koçbaşı nohut ve siyah nohut

Siyah nohut, yerel aksanlara göre “gara nohut, siyah nohut, mukaşer” gibi çeşitli yerel isimlerle anılmaktadır (Kahraman, 2019). Siyah nohut Türkiye’de Malatya, Hatay, Elazığ, Elazığ/Gezin, Diyarbakır/Dicle, Iğdır, Mardin gibi bölgelerde bazı çiftçiler tarafından üretilmekte, nüfusun belli bir kesimi tarafından tüketilmekte ve çok yüksek fiyatlara alıcı bulmaktadır. Siyah nohut tüketilirken ya kaynatılarak yemeğin içine konulmaktadır ya da belirli işlemlerden geçirildikten sonra yarmaca (Malatya bölgesi) veya mekaşer (Diyarbakır-Dicle bölgesi) olarak tüketilmektedir (Toğay vd., 2019).

Siyah nohutlar, açık renkli nohutlara kıyasla daha yüksek lif, daha düşük yağ ve daha az şeker içeriğine sahiptirler. Açık renkli ve siyah nohutlar, siyah nohutta biraz daha yüksek olan *in vitro* protein sindirilebilirliği dışında benzer beslenme özelliklerine sahiptirler (Rossi vd., 1984). Koyu renkli, yüksek renk yoğunluğuna sahip nohutların toplam polifenol ve flavanoid içerikleri ile antioksidan aktiviteleri açık renkli nohutlardan daha yüksektir. Bu nedenle, renkli nohutlar geleneksel rollerine ek olarak diyet proteinleri ve diyet lifleri içerdikleri için potansiyel olarak fonksiyonel gıda grubuna dahil edilebilirler (Segev vd., 2010). Ayrıca siyah nohut, iyi bir biyoaktif bileşik, özellikle izoflavon kaynağıdır (Dulce-María vd., 2021). Siyah nohut yüksek protein ve düşük yağ içeriğine sahip olmakla birlikte, kalsiyum, demir ve çinko açısından zengindir. Bu sayede beslenme programlarında yer alarak, hak ettiği yeri yeniden kazanması oldukça önemlidir (Toğay vd., 2019).

Siyah nohutun öğütülerek un haline getirilip ekmek formülasyonlarında kullanımı ile daha yüksek biyoaktif bileşik içeriğine ve gelişmiş antioksidan aktiviteye sahip ekmekler üretilmektedir. Unlu mamullere nohut unu eklemek, beslenme açısından etkili bir strateji ve baklagil tüketimini artırmak için ileriye doğru atılmış önemli bir adımı temsil etmektedir (Pasqualone vd., 2019).

2.4. Hamurlarda Ekzopolisakkarit Üretimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Kaditzky ve Vogel (2008) tarafından yapılan çalışmada, sakkarozdan gluklan sentezleyen *Lactobacillus reuteri* TMW 1.106 ile ekşi hamur fermantasyonunda yerinde (in situ) üretilen ekzopolisakkaritlerin verimleri, fermantasyon parametrelerinden DY, pH, sakkaroz içeriği ve fermantasyon substratı değişimleri ile incelenmiştir. Çalışmada, bir günlük fermantasyondan sonra, hamur verimi yüksek olan (daha yumuşak) hamurların EPS miktarları, hamur verimi daha düşük olan (daha sert) hamurlara göre daha yüksek bulunmuştur. Sıvı ortamda EPS sentezi için optimum olan pH'ın 4.7'lik sabit bir değere ayarlanmasıyla hamurda EPS üretiminin arttığı gözlenmiştir. Ayrıca fermantasyon sırasında kesikli-beslemeli sakkaroz ile EPS veriminin arttığı gözlenmiştir (Kaditzky ve Vogel 2008).

Vasilean ve arkadaşları (2010) tarafından yapılan çalışmada, laktik asit bakterilerinin altı starter suşunun ekşi hamurlarda HoPS üretme yetenekleri araştırılmıştır. MIUG koleksiyonundan dört starter suşu *Lactococcus lactis ssp. Lactis* (UGAL2), *Lactobacillus plantarum* (15GAL), *Weissella confusa* (UGAL1), *Lactobacillus brevis* (16GAL) ve iki hazır suş *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus brevis* (DIPROX MTTX) ve *Lactobacillus helveticus* (LH-B02) kullanılmıştır. Ayrıca herhangi bir starter olmadan kontrol ekşi hamurları hazırlanmıştır. Çalışmada, 15GAL ve 16GAL suşları dışında, test edilen diğer tüm laktik asit bakterilerinin, HoPS ürettiği belirlenmiş ve tam çavdar unu için HoPS seviyelerinin, 0.88 ila 1.75 mg/g arasında değiştiği bildirilmiştir (Vasilean vd., 2010).

Rühmkorf ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan çalışmada, *Lactobacillus animalis* TMW 1.971, *Lactobacillus reuteri* TMW 1.106 ve *Lactobacillus curvatus* TMW 1.624 için unların, hamur veriminin, hücre miktarının, sakkaroz konsantrasyonunun ve kesikli-beslemeli sakkarozun etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde, ekşi hamurlarda yüksek EPS verimi elde etmek için çeşitli parametreler kullanarak optimizasyon adımlarının uygulanması gerektiği vurgulanmıştır (Rühmkorf vd., 2012).

Wolter ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan çalışmada, buğday unu ve glutensiz unlardan (karabuğday, yulaf, kinoa ve teff) hazırlanan ekşi hamurlarda *Weissella cibaria* MG1 tarafından üretilen EPS miktarları belirlenmiştir. Ekşi hamurlar, hem sakkaroz olmadan hem de unun %10'luk kısmı sakkaroz ile değiştirilerek fermente edilmiştir. Organik asit üretimi, karbonhidratlar ve fermantasyon sırasındaki reolojik değişiklikler, sakkaroz eklenmemiş EPS negatif kontrol ile karşılaştırılmıştır. Karabuğday ve kinoa ekşi hamurlarında düşük miktarlarda oligosakkaritlere karşılık, yüksek miktarlarda EPS bulunmuştur. Buğday ekşi hamurlarında ise EPS üretimi olmamış ancak panoz serisi oligosakkaritler (PSO) tespit edilmiştir. Karabuğday, teff ve kinoa unlarındaki fermente edilebilir karbonhidratlar *Weissella cibaria* büyümesini desteklerken; yulaf ekşi mayasında suşun büyümediği gözlenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde *Weissella cibaria* MG1'in karabuğday, kinoa ve teff unu ile yapılan ekşi maya fermantasyonları için uygun bir starter kültür olduğu bildirilmiştir (Wolter vd., 2014).

Gezginc ve Kara (2018) tarafından yapılan çalışmada, EPS üreten *Lactobacillus plantarum* suşlarının eklenmesinin ekşi maya ve buğday ekmeği kalitesine etkisi belirlenmiştir. Ekşi hamurdan izole edilen 40 farklı *Lactobacillus plantarum*'un ekzopolisakkarit üretimleri incelenmiş ve 3 farklı

seviyede (düşük, orta, yüksek) EPS üreten izolatlar seçilmiştir. Ekmek yapımında farklı kalite özelliklerine sahip iki tip un, ticari maya ve seçilen EPS üretici suşlar kullanılarak on farklı hamur ve ekmek numunesi hazırlanmıştır. Panelistler tarafından yapılan duyuşal değerlendirmede ekşi mayalı ve EPS üretici suşlar ile hazırlanan ekmekler tercih edilmiştir. Çalışmada, EPS üreten *Lactobacillus plantarum* ve ekşi hamur kullanımının ekmek hacmi dışında ekmek kalite kriterleri üzerinde olumlu etkileri olduğu belirlenmiştir (Gezginc ve Kara, 2018).

Franco ve arkadaşları (2020) tarafından yapılan çalışmada, kinoa ununun kendiliğinden (herhangi bir starter kullanmadan) fermantasyonunun karakterize edilmesiyle ekzopolisakkarit üreten bakterilerin izolasyonu amaçlanmıştır. Bu amaçla, dört farklı tip kinoa kullanılarak hazırlanan 36 kinoa unu fermantasyonunun hamur verimi, mikrobiyota bileşimi ve fermantasyon biyokimyası belirlenmiştir. Fermantasyon biyokimyası, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) analizi, pH ölçümü ve titrasyon asitliği ile takip edilmiştir. Mikrobiyotadaki değişiklikler, deMann Rogosa ve Sharp 5 agar (MRS5), yeast mannitol agar (YMA) ve metagenetik analiz ile takip edilmiştir. Seçilen LAB izolatlarında EPS üretme yetenekleri araştırılmıştır. Çalışmada, fermantasyonda organik asitlerin üretimini pH'ı 4.0 ± 0.3 'e düşürdüğü belirlenmiştir. Mikrobiyotanın *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Pediococcus* ve *Weissella*'dan oluştuğu ve *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc citreum* ve *Weissella cibaria*'nın nişasta açısından zengin bir ortamda EPS üretebildiği bildirilmiştir. Ayrıca *Weissella cibaria* daha yüksek EPS verimine ve hızlı asitleştirme kinetiğine sahip olduğu için ve hamur pH'ını 4.0'ın altındaki değerlere düşürmeyi başardığı için kinoa ekşi mayasının üretiminde potansiyel bir aday olabileceği vurgulanmıştır (Franco vd., 2020).

Abedfar ve arkadaşları (2020) tarafından yapılan çalışmada, farklı seviyelerde mikrobiyal EPS içeren ve kendiliğinden fermente olan buğday kepeği ekşi hamurlarının reolojik, termal ve mikroyapısal özellikleri incelenmiştir. Çalışmada, baskın olan LAB'nin *Lactobacillus plantarum* olduğu, üretilen tüm ekşi hamur numunelerinin psödoplastik davranış gösterdiği ve en yüksek viskoziteye %1,5 EPS'de ulaşıldığı bildirilmiştir. Ayrıca %1 ve %2,5 EPS içeren hamurların kıvam katsayısı değerlerinin EPS içermeyen hamura göre önemli ölçüde düşük bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmada, buğday kepeği ekşi hamurunda mikrobiyal ekzopolisakkaritlerin varlığının hamurun reolojik, termal ve mikroyapısal özelliklerini önemli ölçüde değiştirdiği sonucuna varılmıştır (Abedfar vd., 2020).

Hamurlarda EPS üretimi ile ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde, hamurların kendiliğinden ve starter kültür kullanılarak fermantasyonunda EPS üretimi, EPS üretimini etkileyen parametreler ve EPS üretiminin son ürüne etkileri konularının üzerinde durulduğu görülmüştür. Yapılan tez çalışmasında starter kültür olarak kullanılan siyah nohut mayası ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olup bu çalışma ile siyah nohut mayası kullanılarak fermente edilen hamurlarda EPS üretimlerini etkileyen parametreler belirlenmiş, bağımsız değişkenler seçilmiş ve hamurların EPS üretimleri incelenmiştir. Üretilen EPS'lerin hangi mikrobiyal çeşitlikten kaynaklandığını belirlemek içinde siyan nohut mayası ve en yüksek EPS verimine sahip hamurda metagenomik analizler uygulanmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Siyah nohut, Okurlar Gıda Tarım San. Tic. Ltd. Şti 'den temin edilmiştir. Nohutların bir kısmı hamurların hazırlanmasında kullanılmak üzere değirmende un haline getirilmiş (Şekil 3.1.), kalan kısmı nohut mayası için ayrılmıştır. Siyah nohut mayası hazırlanırken kullanılan içme suyu ise yerel marketlerden temin edilmiştir.



Şekil 3.1. Siyah nohut unu

3.2. Siyah Nohut Mayası

3.2.1. Nohut Mayasının Hazırlanması

Tez çalışması kapsamında kullanılan siyah nohut, nohut mayası yapımında kullanılacak yeni bir hammadde olduğu için, koçbaşı nohut ile hazırlanan nohut mayasında kullanılan parametrelerden; nohutların partikül boyutu, nohut-su oranı, su kaynağı ve su sıcaklığı ile fermantasyon sıcaklığı ve fermantasyon süresi parametrelerinin siyah nohut mayasında meydana getirdiği fiziksel değişiklikler incelenmiştir. Fermantasyon sonunda, siyah nohut mayasında elde edilen fiziksel değişikliklerin kıyaslanabilir olması için siyah nohutlarla eş zamanlı olarak koçbaşı nohut kullanılarak nohut mayaları hazırlanmıştır. Sonuçlar, kavanozlardaki köpük oluşumu, görüntü ve koku parametreleri kıyaslanarak yorumlanmıştır. Tez çalışmasında, her kavanoz ve kapak steril edilerek kullanılmıştır (Halkman, 2005).

3.2.1.1. Nohutların Partikül Boyutu

Nohutların partikül boyutlarının belirlenebilmesi için 1mm'lik elek kullanılmıştır. Kullanılan nohut-su miktarı, kullanılan su kaynağı ve su sıcaklığı ile fermantasyon süresi ve sıcaklığı sabit tutularak, nohutlar üç farklı büyüklükte olacak şekilde; hiç kırılmadan, kırılan ve 1 mm eleğin üzerinde kalan nohutlar ve eleğin altında kalan nohutlar kullanılarak üç ayrı kavanoz hazırlanmıştır. Siyah nohutlarla eş zamanlı olarak, aynı parametrelerle, koçbaşı nohut kullanılarak da nohut mayaları hazırlanmıştır.

3.2.1.2. Nohut-Su Oranı

Su kaynağı ve su sıcaklığı ile fermantasyon süresi ve sıcaklığı sabit tutularak, 3.2.1.1'de belirlenen partikül boyutu ile 3 farklı kavanoz hazırlanmıştır. İlk kavanozda 50 g nohut ve 400 mL su (1:8; a:h), ikinci kavanozda 50 gram nohut ve 300 mL su (1:6; a:h), son kavanozda ise 50 g nohut ve 250 mL su (1:5; a:h) kullanılmıştır. Siyah nohutlarla eş zamanlı olarak, aynı parametrelerle, koçbaşı nohut kullanılarak da nohut mayaları hazırlanmıştır.

3.2.1.3. Su Kaynağı ve Su Sıcaklığı

Partikül boyutu, suyun sıcaklığı ile fermantasyon süresi ve sıcaklığı sabit tutularak, 3.2.1.2.'de belirlenen nohut-su oranı ile saf su, şişelenmiş su ve musluk suyu kullanılarak 3 kavanoz nohut mayası hazırlanmıştır. Siyah nohutlarla eş zamanlı olarak, aynı parametrelerle, koçbaşı nohut kullanılarak da nohut mayaları hazırlanmıştır.

3.2.1.4. Fermantasyon Sıcaklığı ve Fermantasyon Süresi

Partikül boyutu ve nohut-su miktarı sabit tutularak, 3.2.1.3.'te belirlenen su sıcaklığı ve kaynağı ile hazırlanan karışımlar, daha önceki çalışmalarda uygulanan 37°C'de 18 saat, 40°C'de 16 saat, ve 42°C'de 16 saat fermantasyon koşulları (Kasım, 2014; Boyacı Gündüz, 2018; Aydın ve Çebi, 2019) kullanılarak soğutmalı inkübatörde (ThermoStable IR-150, Daihan Scientific, Korea) fermente edilmiştir. Siyah nohutlarla eş zamanlı olarak, aynı parametrelerle, koçbaşı nohut kullanılarak da nohut mayaları hazırlanmıştır.

3.2.2. Nohut Mayasında pH Ölçümü

Hazırlanan nohut mayası karışımının fermantasyon öncesi ve sonrasında pH değerleri uygun elektroda sahip pH metre (S220-K, Mettler Toledo, Switzerland) ile ölçülmüştür. Ölçümler üç paralel halinde yapılmıştır.

3.3. Deney tasarımı

Hamurların hazırlanmasında, 3.2.'de belirlenen parametrelerle hazırlanan siyah nohut mayaları ve siyah nohut unu kullanılmıştır. Hamurlar, Tepki Yüzey Yöntemi ile merkezi kompozit tasarımı kullanılarak üç değişken ve beş düzeyde oluşturulan, Tablo 3.2.'de verilen deney tasarımındaki sakkaroz miktarları ve hamur verimleri kullanılarak hazırlanmıştır. Deney tasarımında kullanılan bağımsız değişkenler; fermantasyon sıcaklığı, sakkaroz miktarı (un bazında) ve HV'dir. Yapılan ön denemelerde 7 saati aşan fermantasyon sürelerinde üretilen hamurların formlarında bozulma gözlemlendiği için EPS üretimini etkileyen diğer bir bağımsız değişken olan fermantasyon süresinin sabit tutulmasına karar verilmiştir. Bu nedenle, hamurların fermantasyon sürelerinin 7 saat olmasına karar verilmiştir. Ayrıca, EPS veriminin genellikle uzun fermantasyon sürelerine bağlı olarak değiştiği (Kaditzky ve Vogel, 2008) ve hamur fermantasyonlarında EPS'nin ilk 24 saatlik fermantasyon süresinde oluştuğu düşünülürse (Rühmkorf vd., 2012), yapılan çalışmada nohut mayasının 18 saatlik fermantasyon süresine ek olarak hamurların 7 saatlik fermantasyon süresinin daha önce doğrulanan süreler içinde yeterli geldiği düşünülmüştür. Sakkaroz miktarının EPS oluşumu üzerindeki etkisini değerlendirmek için sakkaroz miktarı maksimum %15 seçilmiştir (Galle vd., 2012a; Galle vd., 2012b; Rühmkorf vd., 2012).

Hamur verimi, Eşitlik 3.1. kullanılarak hesaplanmıştır (Kaditzky ve Vogel, 2008).

$$HV = \frac{\text{Hamur Ağırlığı}}{\text{Un Ağırlığı}} \times 100 \quad (3.1.)$$

Design-Expert (versiyon 7.0, Statease Inc., Minneapolis, MN, USA) programı ile hazırlanan deney tasarımının proses değişkenleri ve deneme deseni Tablo 3.1. ve Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Merkezi kompozit tasarımı proses değişkenleri

		Değişken Düzey Kodları				
	Kod	-1.68	-1	0	+1	+1.68
Fermantasyon sıcaklığı (°C)	A	21.59	25	30	35	38.41
Sakkaroz miktarı (%)	B	1.59	5	10	15	18.41
Hamur verimi	C	165.91	200	250	300	334.09

Tablo 3.2. Deney tasarımı

DENEYME	Kod Değerleri			Gerçek Değerler		
	A	B	C	Sıcaklık (°C)	Sakkaroz miktarı (%)	Hamur verimi
1	0	0	0	30.00	10.00	250.00
2	-1	-1	+1	25.00	5.00	300.00
3	+1	-1	-1	35.00	5.00	200.00
4	0	0	0	30.00	10.00	250.00
5	0	0	0	30.00	10.00	250.00
6	0	0	0	30.00	10.00	250.00
7	+1	-1	+1	35.00	5.00	300.00
8	0	0	0	30.00	10.00	250.00
9	0	0	+1.68	30.00	10.00	334.09
10	-1.68	0	0	21.59	10.00	250.00
11	0	-1.68	0	30.00	1.59	250.00
12	+1.68	0	0	38.41	10.00	250.00
13	-1	-1	-1	25.00	5.00	200.00
14	-1	+1	-1	25.00	15.00	200.00
15	0	0	0	30.00	10.00	250.00
16	-1	+1	+1	25.00	15.00	300.00
17	0	0	-1.68	30.00	10.00	165.91
18	0	+1.68	0	30.00	18.41	250.00
19	+1	+1	+1	35.00	15.00	300.00
20	+1	+1	-1	35.00	15.00	200.00

3.4. Hamurlara Uygulanan Analizler

3.4.1. pH

Hazırlanan hamurların fermantasyon öncesi ve sonrasında pH değerleri uygun elektrotla sahip pH metre (S220-K, Mettler Toledo, USA) ile ölçülmüştür. Ölçümler üç paralel halinde yapılmıştır.

3.4.2. Kuru Madde Miktarı

Deneme deseninde (Tablo 3.2.) görüldüğü üzere, siyah nohut mayasıyla hazırlanan hamurların hamur verimleri farklıdır. Bu nedenle hamurların TTA değerleri ve EPS miktarlarının hesaplanması, kuru madde miktarları üzerinden yapılmıştır.

Hamurların nem içerikleri, nem tayin cihazı (Moisture Analyzer Excellence Plus HX204, Mettler Toledo, Switzerland) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler iki paralel halinde yapılmıştır. Kuru madde miktarları ise Eşitlik 3.2. kullanılarak hesaplanmıştır (Rundla vd., 2018).

$$\text{Kuru Madde Miktarı (\%)} = 100 - \text{Nem Miktarı} \quad (3.2.)$$

3.4.3. Toplam titrasyon asitliği (TTA)

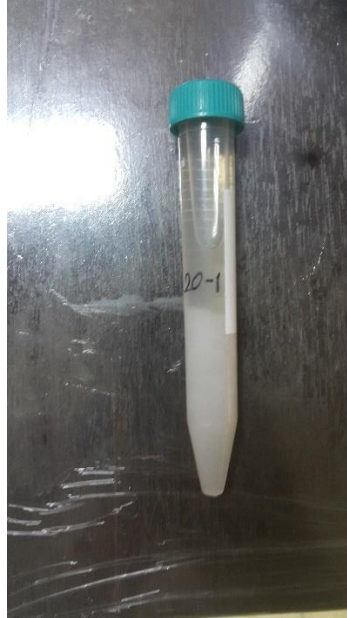
Hamurlar 7 saat fermentasyona tabi tutulduktan sonra, hamurlardan 10 gram alınarak 90 mL distile su içerisinde homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan karışımın pH 8.5 olana kadar 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir (Galle vd., 2012a). Toplam titrasyon asitliği, eşitlik 3.3. kullanılarak % laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (Hor vd., 2021). Sonuçlar, kuru madde bazında % (laktik asit) olarak verilmiştir. Ölçümler üç paralel halinde yapılmıştır.

$$\% \text{ (Laktik asit)} = \frac{V \times 0.009 \times 100}{m} \quad (3.3.)$$

Eşitlik 3.3'te, V: titrasyonda kullanılan 0.1 N NaOH çözeltisi (mL) ve m: titrasyonda kullanılan hamurun kuru madde miktarıdır(g).

3.4.4. Ekzopolisakkaritlerin Hamurlardan İzolasyonu

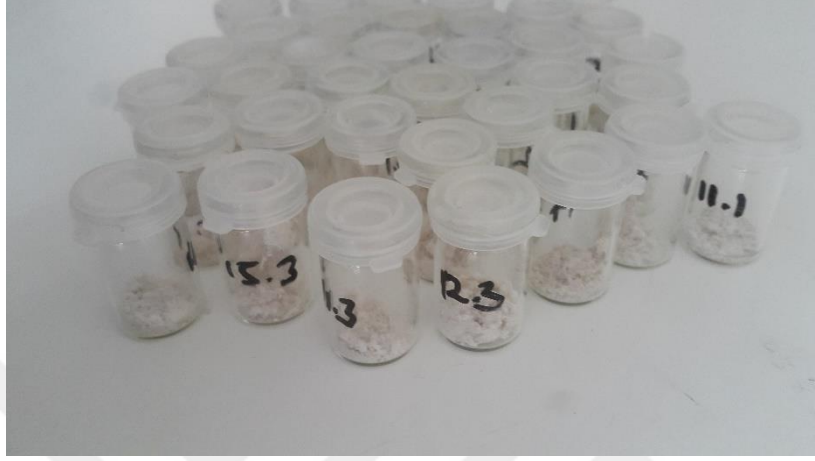
Hamurlardan ekzopolisakkarit elde edebilmek için öncelikle hamur:su oranı 2:1 (a:h) olacak şekilde karışım homojen hale getirilmiştir. Karışım 6000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant kısmı alınarak üzerine 2 katı hacmi kadar soğutulmuş %95 etanol eklenmiştir. Ardından 4°C'de 3 saat inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. EPS'lerin 3 saat inkübasyondan sonra görünümü

Karışım tekrar 4°C, 6000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra oluşan çökelti alınmıştır. Çökelti distile suda çözündürülüp, 4°C'de 24 saat diyalizasyona tabi tutulmuştur. Elde edilen EPS, bir gece

dondurulduktan sonra liyofilizatörde (Cryodos 50, Telstar, Spain) kurutulmuştur (Şekil 3.3.) (Korakli vd., 2001). EPS üretimleri üç paralel halinde yapılmıştır. EPS miktarları, gravimetrik yöntemle kuru madde bazında belirlenmiş (Galli vd., 2020) ve $(g \text{ EPS/g kuru madde}) \cdot 100$ olacak şekilde hesaplanmıştır. Hamurların EPS miktarları karşılaştırılmış, en yüksek EPS verimine sahip hamur belirlenmiştir.



Şekil 3.3. Hamurlardan elde edilen EPS'ler

3.5. Nohut Mayasında ve EPS Verimi En Yüksek Hamurda Uygulanan Mikrobiyolojik Analizler

3.5.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı (TMAB)

Toplam bakteri sayımı için peptonlu su ve nohut mayası ile 10^{-11} 'e kadar uygun seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonların ekimleri Plate Count Agar (PCA) içeren petri plakalarına dökme plak yöntemiyle yapılmıştır. Ekimler üç paralel halinde yapılmıştır. Ekimi yapılan petriler 30°C 'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 15-300 arasında koloni veren petrilerde sayım yapılmıştır (Halkman, 2005).

3.5.2. Laktik Asit Bakterisi Sayımı (LAB)

Laktik asit bakteri sayımı için peptonlu su ve nohut mayası ile 10^{-11} 'e kadar uygun seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonların ekimleri de Man Rogosa Sharpe Agar (MRS agar) içeren petri plakalarına dökme plak yöntemiyle yapılmıştır. Ekimler üç paralel halinde yapılmıştır. Ekimi yapılan petriler 30°C 'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Korakli vd., 2001). İnkübasyon sonunda 15-300 arasında koloni veren petrilerde sayım yapılmıştır (Halkman, 2005). Ekimler üç paralel halinde yapılmıştır.

3.6. Nohut Mayasında ve EPS Verimi En Yüksek Hamurda Uygulanan Metagenom Analizleri

3.6.1. 16S rRNA Analizi

En yüksek EPS verimine sahip hamur ve kullanılan nohut mayasının DNA izolasyonları, sekans analizleri ve biyoinformatik analizleri BM Laboratuvar Sistemleri A.Ş. (Ankara) tarafından yapılmıştır.

Metagenomik çalışmalar genellikle 1500 baz uzunluğunda ve dokuz değişken bölge içeren prokaryotik 16S ribozomal RNA (16S rRNA) geninin analiz edilmesiyle gerçekleştirilir. 16S rRNA'nın değişken bölgeleri, filogenetik sınıflandırmaların tür tespitinde kullanılan özel bölgelerdir. Bu bölgelerle, geniş mikrobiyal popülasyon aralığında her bir türün ayrı ayrı tespiti yapılabilmektedir.

3.6.1.1. Nohut Mayası ve Hamur Örneklerinin DNA İzolasyonu

İzolasyonu yapılacak örneklerin DNA miktarının ve kalitesinin metagenom çalışmaları için belli standartlara uygun olması gerekmektedir. DNA miktar tespiti, Victor 3 florometre cihazı kullanılarak çift zincirli floresan temelli Picogreen boyası ile yapılmıştır. Normal spektroskopik metodlarda, RNA kalıntıları veya diğer kontaminantlar konsantrasyonun normalden fazla görünmesine yol açmaktadırlar. Bunlar, yalnız çift zincirli DNA'ya bağlanan Picogreen boyası ile etkileşme göstermemekte ve bu sayede daha doğru sonuçlar elde edilmektedir.

Örneklerin DNA izolasyonunda EurX GeneMATRIX Tissue & Bacterial DNA Pürifikasyon kiti kullanılmıştır. İzolasyon, kit firmasının prosedürü kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.6.1.2. PCR

DNA izolasyonundan sonra, PCR ile gen çoğaltma yapılmaktadır. 16S rRNA geninin V3 ve V4 bölgeleri, tür tespitinde en sık kullanılan değişken bölgelerdir. Amplikon kütüphanesi hazırlığı sırasında yeni nesil dizileme okumasından önce, PCR ile örneğin V3 ve V4 bölgeleri çoğaltılmaktadır. Bu bölgelerin çoğaltılması için, yaklaşık 460 bazlık bir bölgeyi çoğaltan ileri ve geri yönlü primer dizileri aşağıda verilmiştir:

16S Çoğaltma PCR İleri Yönlü Gen Dizisi = 5'

TCGTCCGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG

16S Çoğaltma Geri Yönlü Gen Dizisi = 5'

GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC

PCR analizi için, toplamda 25 µL olacak şekilde, 2.5 µL microbial DNA (5 ng/µl), 12.5 µL 2X KAPA HotStart PCR Mix, 5 µL Forward Primer (1 µM) ve 5 µL Reverse Primer (1 µM) ve kullanılmıştır. Elde edilen örnekler için uygulanan PCR koşulları ise:

- 95°C'de 3 dakika,

- Takip eden 25 döngü için; 95°C’de 30 saniye, 55°C’de 30 saniye, 72°C’de 30 saniye,
- 72°C’de 5 dakikadır.

Ardından örnekler 4°C’de saklanmıştır.

PCR Ürün Temizliği;

Primer dimerler ve serbest primerler, AMPure XP (Beckman Coulter) manyetik boncuklar kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Uzaklaştırma işlemi iki aşamadan oluşmaktadır.

1. AMPure XP manyetik boncuktan her örneğe 20 µL eklenmiştir ve pipetlenmiştir. İstenilen PCR ürünleri için manyetik stand kullanılarak ürünlerin manyetik boncuklara tutunması sağlanmıştır.
2. Manyetik boncuk ekli örnekler, 200 µL %80’lik etanol ile 2 kere yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra saf PCR ürünü, 50 µL 10 Mm pH 8.5 Tris solüsyonunda saklanmıştır.

3.6.1.3. İndeks PCR

PCR ürünlerine, farklı örneklerin yeni nesil dizileme okunurken ayırt edilebilmesi ve tek okumada birden fazla örnekten sonuç alabilmek için özel baz dizileri (“indeks barkod” görevli) ve yeni nesil dizileme cihazında bulunan bağlanma bölgelerine PCR ürünlerinin tutunmasını sağlayan “adaptör” dizileri eklenmiştir. Bu işlemde Nextera XT indeks kiti kullanılmıştır. Her örneğe 2 indeks barkod bölgesi bağlanmıştır. Bu işlem için; toplamda 50 µl olacak şekilde, 10 µL su, 5 µL DNA, 5 µL Nextera XT İndeks Primer 2 (S5xx), 5 µL Nextera XT İndeks Primer 1(N7xx) ve 25 µL 2X KAPA HotStart PCR Mix kullanılmıştır. Elde edilen örnekler için uygulanan PCR koşulları ise:

- 95 ° C’de 3 dakika,
- Takip eden 8 döngü için; 95°C’de 30 saniye, 55°C’de 30 saniye, 72°C’de 30 saniye,
- 72°C’de 5 dakikadır.

Örnekler 4°C’de saklanmıştır.

PCR Ürün Temizliği 2;

Primer dimerler ve serbest primerler, AMPure XP (Beckman Coulter) manyetik boncuklar kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Uzaklaştırma işlemi iki aşamadan oluşmaktadır.

1. AMPure XP manyetik boncuktan her örneğe 56 µL eklenmiştir ve pipetlenmiştir. İstenilen PCR ürünleri için manyetik stand kullanılarak ürünlerin manyetik boncuklara tutunması sağlanmıştır.
2. Manyetik boncuk ekli örnekler, 200 µL %80’lik etanol ile 2 kere yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra saf PCR ürünü, 25 µL 10 Mm pH 8.5 Tris solüsyonunda saklanmıştır.

3.6.1.4. Kütüphane Miktar Tayini, Normalizasyon ve Birleştirilmesi

Illumina Novaseq 6000 cihazı kullanılarak yüksek kaliteye sahip verilere ulaşabilmek için optimum kümelenmeyi cihazdaki her akışkan hücrede sağlamak gerekmektedir. Bu sebeple

kütüphanelerin kantifikasyonu, daha hassas kütüphane miktar tayini için Real Time PCR tekniği (spektroskopi yerine) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Normalizasyon aşaması, kütüphaneler birleştirilmeden önce aynı oranda temsili için, manyetik boncuklar ile yapılmıştır. Her örnek, manyetik boncuklara ait kütüphaneye tutunma kapasiteleri benzer olduğu için kütüphaneler birleştirilince aynı oranda temsil edilmiştir.

3.6.1.5. Novaseq Okuması

Birleştirilmiş kütüphanenin akış hücresine (flow cell) eklenmesi Novaseq cihazında gerçekleştirilmiştir. Akış hücresinin içinde, kütüphanedeki adaptör dizilerine tamamlayıcı dizileri, yüzeye yapışık olan oligolar oluşturmaktadır. Köprü amplifikasyonu ile her fragmentin, klonlanmış kümeler halinde (clustering) ve ayrı çoğalması sağlanmıştır. Kalıp DNA, kümelenme bittikten sonra dizilenmeye hazır olmaktadır.

Her bazın tespiti, Illumina'nın "Sequencing by Synthesis" teknolojisiyle, DNA kalıbı üzerinde dizileme esnasında eklenirken yapılmıştır. Dizileme sırasında kullanılan dNTP'ler terminatör bağlı, özel tersinir dNTP'lerdir. Kullanılan bu dNTP'ler, özel kimyasal yapıları sayesinde her dizileme döngüsünde yanlış baz eklenme olasılığını ve hata payını düşürmektedir. Böylelikle her bazda elde edilen sonuç yüksek doğruluğa sahiptir.

Aynı zamanda, homopolimer DNA dizileri ya da kalıp DNA üzerinde tekrar eden bölgeler, okumanın bu noktalarda bitmesine ya da diğer dizileme tekniklerinde yanlış okumalara yol açmaktadır. Bu özel dNTP'ler ve Sequencing by Synthesis teknolojisi sayesinde tekrar bölgeleri ya da homopolimer DNA dizileri sıkıntısız okunmaktadır.

3.6.1.6. Okuma Sonuçları ve Analizi

Illumina Novaseq cihazı, okuma görüntülerini Novaseq Control Software programıyla işlemiştir. Real Time Analysis v1.18 programı ile bazlar tayin edilmiştir. Baz okumaları bcl2fastq (v1.8.4) programı kullanılarak FASTQ formatına çevrilmiştir. Spesifik olmayan adaptör dizilerini okuma sonuçlarından çıkartmak için Sickle ve Scythe (v0.994 BETA) programları kullanılmıştır. Temiz bir veri analizi için 36 bazdan kısa okuma sonuçları çıkartılmıştır. Biyoinformatik analiz ile örneklerin taksonomik sınıflandırılması, operasyonel taksonomik birim tespiti, referans dizilere göre hizalama ve türlerin benzerliklerine göre gruplandırılması gerçekleştirilmiştir.

3.6.2. ITS Analizi

En yüksek EPS verimine sahip hamur ve kullanılan nohut mayasının DNA izolasyonları, sekans analizleri ve biyoinformatik analizleri BM Laboratuvar Sistemleri A.Ş. (Ankara) tarafından yapılmıştır.

Metagenomik çalışmalar genellikle 700-900 baz uzunluğundaki prokaryotik Internal transcribed spacer (ITS) geninin analiziyle yapılmaktadır. ITS geni ökaryotik organizmalarda ITS1 ve ITS2 olmak üzere iki bölgeden oluşmaktadır. ITS2 gen bölgesinin uç kısımlarında çeşitli türlerde korunmuş ortak diziler belirlenerek aralarında bulunan değişken bölgeler, filogenetik sınıflandırmaların tür tespitinde kullanılmaktadır. Bu bölgelerle, geniş mikrobiyal popülasyon aralığında her bir türün ayrı ayrı tespiti yapılabilmektedir.

3.6.2.1. Nohut Mayası ve Hamur Örneklerinin DNA İzolasyonu

Nohut mayası ve hamur örneklerinin DNA izolasyonu, 3.6.1.1.'de verilen şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.6.2.2. PCR

DNA izolasyonundan sonra, PCR ile gen çoğaltma yapılmaktadır. Yeni nesil dizileme okumasından önce, ampikon kütüphanesi hazırlığında PCR ile örnekte bulunan ITS3 ve ITS4 bölgeleri çoğaltılmaktadır. Bu bölgelerin çoğaltılması için, yaklaşık 390 bazlık bir bölgeyi çoğaltan ileri ve geri yönlü primer dizileri:

ITS3 Çoğaltma PCR İleri Yönlü Gen Dizisi = 5'

TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG GCATCGATGAAGAACGCAGC

ITS4 Çoğaltma Geri Yönlü Gen Dizisi = 5'

GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGTCCTCCGCTTATTGATATGC

PCR analizi için, toplamda 25 µL olacak şekilde, 2.5 µL microbial DNA (5 ng/µL), 12.5 µL 2X KAPA HotStart PCR Mix, 5 µL Forward Primer (1 µM) ve 5 µL Reverse Primer (1 µM) kullanılmıştır. Elde edilen örnekler için uygulanan PCR koşulları ise:

- 95°C'de 3 dakika,
- Takip eden 25 döngü için; 95°C'de 30 saniye, 55°C'de 30 saniye, 72°C'de 30 saniye,
- 72°C'de 5 dakikadır.

Ardından örnekler 4°C'de saklanmıştır.

PCR Ürün Temizliği;

Primer dimerler ve serbest primerler, AMPure XP (Beckman Coulter) manyetik boncuklar kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Uzaklaştırma işlemi iki aşamadan oluşmaktadır.

1. AMPure XP manyetik boncuktan her örneğe 20 µL eklenmiştir ve pipetlenmiştir. İstenilen PCR ürünleri için manyetik stand kullanılarak ürünlerin manyetik boncuklara tutunması sağlanmıştır.
2. Manyetik boncuk ekli örnekler, 200 µL %80'lik etanol ile 2 kere yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra saf PCR ürünü, 50 µL 10 Mm pH 8.5 Tris solüsyonunda saklanmıştır.

3.6.2.3. İndeks PCR

İndeks PCR analizi, 3.6.1.3.'te verilen adımlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.6.2.4. Kütüphane Miktar Tayini, Normalizasyon ve Birleştirilmesi

Kütüphane miktar tayini, normalizasyon ve birleştirilmesi, 3.6.1.4.'te verilen şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.6.2.5. Novaseq Okuması

Novaseq okuması, 3.6.1.5.'te verilen şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.6.2.6. Okuma Sonuçları ve Analizi

Okuma sonuçları ve analizi, 3.6.1.6.'da verilen şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.7. Azaltılmış Toplam Yansıtma-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometre Analizi (ATR-FTIR)

En yüksek EPS verimine sahip hamura ait dondurularak kurutulmuş EPS ile ticari dekstran (Dextran from *Leuconostoc mesenteroides*, Sigma Aldrich) ve ticari pullulanın (Pullulan from *Aureobasidium pullulans*, Megazyme) kimyasal yapılarını belirlemek için, elmas kristale sahip ATR-FTIR spektrofotometresi (Jasco FT/IR-6700 Easton, USA) kullanılmıştır. Her spektrum, 400-4000 cm^{-1} aralığında ve 4 cm^{-1} spektral çözünürlükte 16 tarama ile kaydedilmiştir. ATR-FTIR analizi, Çukurova Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı (ÇÜMERLAB)'nda gerçekleştirilmiştir.

3.8. İstatiksel Analiz

Ekzopolisakkarit verimini etkileyen parametrelerden olan fermantasyon sıcaklığı, sakkaroz miktarı ve fermantasyon süresi parametreleri tepki yüzey yöntemi, kompozit merkezi tasarımı için proses değişkenleri olarak kullanılmış ve deneme deseni oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılan deneme deseninin belirlenmesinde, istatiksel analizde ve tepki yüzey grafiklerinin oluşturulmasında Design Expert (versiyon 7.0, Statease Inc., Minneapolis, MN, USA) programı kullanılmıştır. Programda ikinci dereceden (kuadratik) model kullanılmıştır. Oluşturulan modeller ve deneme deseni kullanılarak elde edilen yanıtlar ile bağımsız değişkenler arasındaki doğrusal, ikinci dereceden ve etkileşimli ilişkileri varyans analizi (ANOVA) kullanılarak açıklanmıştır. Elde edilen yanıtlar ile model uyumluluğu

belirlilik (regresyon) katsayısı, (R^2), düzeltilmiş belirlilik katsayısı (R^2_{adj}), F ve p değerleri, uyum eksikliği (Lack of fit), yeterli tahminleme (Adeq. Precision) ve varyasyon katsayısı (CV) ile belirlenmiştir.

İyi bir model, yanıtlardaki değişimin hepsini açıklamaktadır. Belirlilik (regresyon) katsayısı (R^2) bu kıstas için önemli bir değerdir. R^2 değeri her zaman 0 ile 1 arasında değişmektedir ve R^2 değeri 1'e ne kadar yakınsa, model o kadar güçlü ve modelin deneysel verilere uyumu o kadar iyi demektir (Pansuriya ve Singhal, 2010; Klinpratoom vd., 2015; Nuralın vd., 2017). R^2_{adj} değeri ise önemsiz model terimlerinin ortadan kaldırılmasından sonra R^2 için düzeltilmiş değerdir. R^2_{adj} değerinin R^2 değerinden oldukça küçük olması, modelde anlamlı olmayan birçok terimin bulunduğu anlamına gelmektedir. Bu nedenle, R^2_{adj} değerinin R^2 değerine yakın olması beklenmektedir (Belhachat vd., 2018). F değerinin yüksek ve buna karşın p değerinin de düşük olması modelin uygunluğunun arttığını göstermektedir. Yeterli tahminleme değeri ise sinyal (tepki)/gürültü (sapma) oranını ifade etmektedir (Kutluk, 2021). Önerilen modelin uyumluluğu için yeterli tahminleme değerinin 4'ten büyük olması beklenmektedir. Modelin uyumluluğu, yeterli tahminleme değeri 4'ten uzaklaştıkça daha da kuvvetlenmektedir (Belhachat vd., 2018; Kutluk, 2021). Varyasyon katsayısı (CV) değerinin ise 10'dan az olduğu durumlarda modelin tekrarlanabilir olduğu ve bu nedenle CV (%) değerinin %10'un altında ve daha düşük olduğu değerler, deneysel sonuçların daha güvenilir olduğunu göstermektedir (Belhachat vd., 2018).

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Siyah Nohut Mayası

Nohut mayası genellikle koçbaşı nohut ile yapılmakta olup, siyah nohut mayasının optimize edilmesinde koçbaşı nohut ile hazırlanan mayalarda kullanılan parametreler ayrı ayrı incelenmiştir. Bu kapsamda incelenen parametreler, kullanılan nohutların partikül boyutu, nohut-su oranı, su kaynağı ve su sıcaklığı ile fermantasyon sıcaklığı ve fermantasyon süresidir. Fermantasyon sonunda nohut mayalarının fiziksel özellikleri değerlendirilmiştir.

Nohutların partikül boyutlarının fermantasyona etkisi incelenirken, farklı boyutlardaki nohutların fermantasyon sonrasında köpük oluşumu, görüntü ve koku parametrelerine etkileri değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.1.'de verilmiştir. Farklı boyutlarda koçbaşı ve siyah nohutlar ile hazırlanan nohut mayalarının fermantasyon sonunda görüntüleri Şekil 4.1.'de verilmiştir. Hiç kırılmayan nohut ile gerçekleşen fermantasyonda, köpük oluşumu yok denecek kadar az olduğu için bu boyut kullanılarak hazırlanacak mayaların uzun fermantasyon sürelerine ihtiyaç duyacağı düşünülmektedir. Nohutların partikül boyutlarının değerlendirilmesinde 1mm'lik elek kullanılmıştır. 1 mm'lik eleğin altında kalan, un formuna yakın olan nohutta, fermantasyon sonunda oluşan köpükte un formunda parçacıklar olduğu ve oldukça bulanık bir formda olduğu gözlenmiştir. 1 mm'lik eleğin üstünde kalan iri nohut parçaları kullanılarak hazırlanan siyah nohut mayası sıvısının fiziksel özelliklerinin diğer parametrelerden daha iyi olduğu görülmüştür. Şekil 4.1. incelendiğinde, koçbaşı nohut kullanılarak hazırlanan nohut mayalarının ve aynı parametreler kullanılarak hazırlanan siyah nohut mayalarının benzer özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Parametreler değerlendirildiğinde, siyah nohut ile nohut mayası yapımında iri parçalar halinde kırılmış nohutların kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.1. Farklı boyutlarda koçbaşı nohut ve siyah nohut ile hazırlanan nohut mayaları

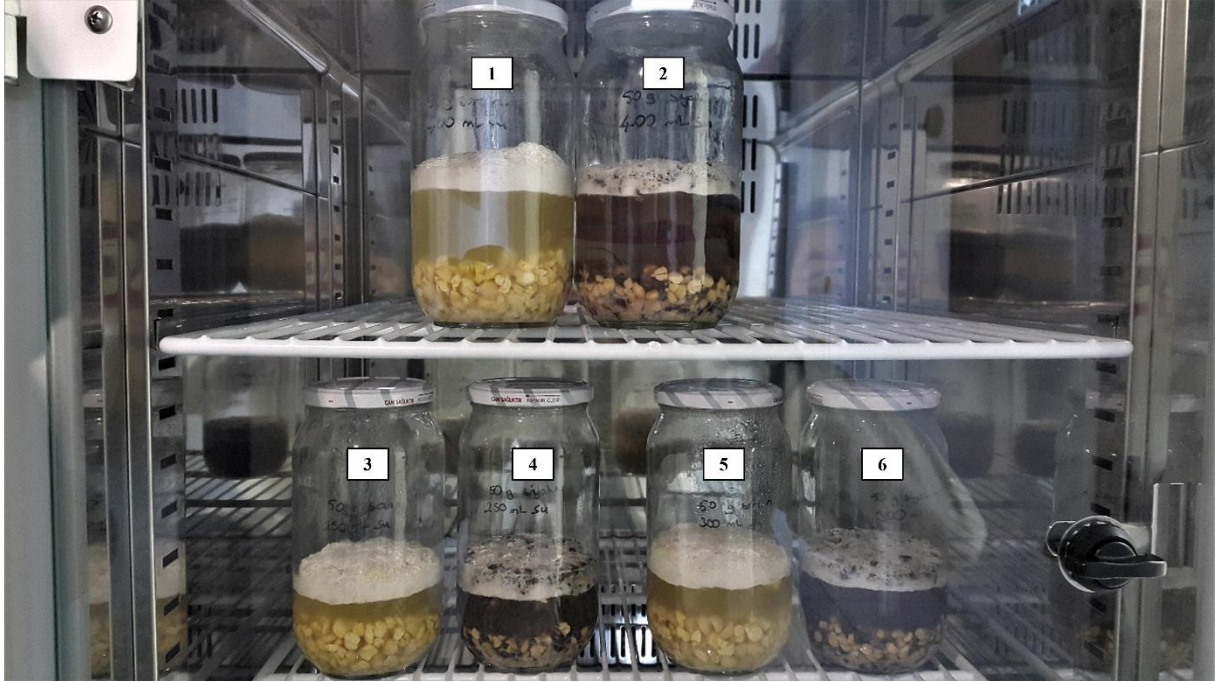
(1, 2: 1 mm eleğin altında kalan un formuna yakın nohutlar ile hazırlanan koçbaşı ve siyah nohut mayaları; 3, 4: 1 mm eleğin üstünde kalan nohutlar ile hazırlanan siyah ve koçbaşı nohut mayaları; 5, 6: kırılmamış(bütün) nohutlar ile hazırlanan siyah ve koçbaşı nohut mayaları)

Tablo 4.1. Farklı boyutlarda nohutların siyah nohut mayasına etkileri

Partikül Boyutu	Köpük Oluşumu	Görüntü	Koku
Hiç kırılmayan nohutlar	Merkezde:Yok Kenarda:0,1 cm	En az bulanıklığa sahip, üstten görünümde aralıklı köpükler mevcut	Belirgin bir koku yok
1 mm eleğin üstünde kalan nohutlar	Merkezde:1,4 cm Kenarda:1,4 cm	Bulanık, üstten görünümde homojen beyaz köpük mevcut	Mayanın kendine has nohut kokusu
1 mm eleğin altında kalan nohutlar	Merkezde: 1,4 cm, Kenarda: 1,4 cm	Çok bulanık, üstten görünümde köpük nohutun un formuyla karışmış ve rengi beyazdan kahverengiye dönmüş	Mayanın kendine has nohut kokusu

Nohut-su oranının fermantasyona etkisi incelenirken, nohut-su oranının fermantasyon sonrasında köpük oluşumu, görüntü ve koku parametrelerine etkileri değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.2.'de verilmiştir. Tablo 4.2.'de verilen köpük oluşumu parametresi sonuçları karşılaştırıldığında, en fazla köpüğün 1:5 (a:h) oranında hazırlanan nohut mayasında olduğu görülmektedir. Fakat koku parametresi sonuçları karşılaştırıldığında, 1:5 oranında hazırlanan nohut mayasının en kötü kokuya sahip olduğu görülmektedir. 1:6 ve 1:8 (a:h) oranlarında hazırlanan nohut mayalarında köpük

oluşumunun hemen hemen aynı miktarda olduğu gözlenmiştir. Koku parametresi sonuçları karşılaştırıldığında, 1:8 (a:h) oranında hazırlanan nohut mayasının kokusu daha iyi olduğu için siyah nohut ile nohut mayası yapımında 1:8 (a:h) oranının kullanılmasına karar verilmiştir. Şekil 4.2. incelendiğinde, koçbaşı nohut kullanılarak hazırlanan nohut mayalarının ve aynı parametreler kullanılarak hazırlanan siyah nohut mayalarının benzer özelliklere sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 4.2. Farklı koçbaşı ve siyah nohut-su oranları ile hazırlanan nohut mayaları

(1, 2: 1:8 (a:h) oran ile hazırlanan koçbaşı nohut ve siyah nohut mayaları; 3, 4: 1:5 (a:h) oran ile hazırlanan koçbaşı nohut ve siyah nohut mayaları; 5, 6: 1:6 (a:h) oran ile hazırlanan koçbaşı nohut ve siyah nohut mayaları)

Tablo 4.2. Nohut-su oranının siyah nohut mayasına etkileri

Nohut-Su Oranı	Köpük Oluşumu	Görüntü	Koku
1:5 (a:h)	Merkezde: 1,8 cm, Kenarda: 1,8 cm	Hafif bulanık	Kötü koku
1:6 (a:h)	Merkezde: 1,6 cm, Kenarda: 1,66 cm	Hafif bulanık	Mayanın kendine has, nohut kokusu
1:8 (a:h)	Merkezde: 1,6 cm, Kenarda: 1,63 cm	Hafif bulanık	Üç değişken içinde en iyi koku

Su kaynağının fermantasyona etkisi incelenirken, kullanılan suyun fermantasyon sonrasında köpük oluşumu, görüntü ve koku parametrelerine etkileri değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.3.'te verilmiştir. Tablo 4.3. incelendiğinde, şişelenmiş su ile hazırlanan nohut mayasının fermantasyon

sonunda daha iyi bir kokuya sahip olduğu görülmektedir. Köpük oluşumu parametresinin sonuçları karşılaştırıldığında, çeşme suyu ile hazırlanan nohut mayasının en fazla köpüğe sahip olduğu görülmektedir. Ancak çalışmada kullanılması planlanan çeşme suyu ile hazırlanan nohut mayalarında alınan her çeşme suyu örneğinin aynı içeriğe sahip olmayacağı düşünülerek, hazırlanan nohut mayalarının içeriklerinin daha stabil olması için şişelenmiş su kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 4.3. Farklı su kaynakları ile hazırlanan koçbaşı nohut ve siyah nohut mayaları (1, 2: saf su ile hazırlanan koçbaşı ve siyah nohut mayaları; 3, 4: çeşme suyu ile hazırlanan koçbaşı ve siyah nohut mayaları; 5, 6: şişelenmiş su ile hazırlanan koçbaşı ve siyah nohut mayaları)

Tablo 4.3. Su kaynağının siyah nohut mayasına etkileri

Su	Köpük Oluşumu	Görüntü	Koku
50 g nohut + 400 mL distile su	Merkezde: 1,6 cm, Kenarda: 1,73 cm	Hafif bulanık	Çeşme suyuna göre daha iyi
50 g nohut + 400 mL şişelenmiş su	Merkezde: 1,6 cm, Kenarda: 1,6 cm	Hafif bulanık	Çeşme suyuna göre daha iyi
50 g nohut + 400 mL çeşme suyu	Merkezde: 2,2 cm, Kenarda: 2,03 cm	Hafif bulanık	Nohut kokusu

Kasım (2014) tarafından yapılan çalışmada, nohut mayasının hazırlanmasında kaynatılmış su (100°C) kullanımının, nohutta bulunan mikrobiyal flora zarar vereceğine değinilmiştir (Kasım, 2014). Kullanılması planlanan suyun şişelenmiş su olması ve şişelenmiş suların üretiminde belirli prosedürlerin uygulanması, kaynatılma işlemine olan ihtiyacı ortadan kaldırmış böylelikle kullanılan suyun oda sıcaklığında olmasına karar verilmiştir.

Fermantasyon süresinin ve sıcaklığın fermantasyona etkisi incelendiğinde, 37°C’de 18 saat, 40°C’de 16 saat ve 42°C’de 16 saat fermente edilen nohut mayalarının üçünde de köpük oluşumu gözlenmiştir. Koku parametresinin sonuçları karşılaştırıldığında, 42°C’de 16 saat fermente edilen nohut mayasının en kötü kokuya sahip olduğu belirlenmiştir. Köpük oluşumu parametresi karşılaştırıldığında ise 37°C’de 18 saat fermantasyona bırakılan nohut mayasında, 40°C’de 16 saat fermantasyona bırakılan nohut mayasından daha fazla köpük gözleendiği için siyah nohut ile nohut mayası yapımında, 37°C’de 18 saatlik fermantasyonun kullanılmasına karar verilmiştir.

4.1.1. Siyah Nohut Mayasında pH Ölçümü Sonuçları

Siyah nohut mayaları, 4.34-4.43 pH aralığına ve benzer fiziksel özelliklere sahiptir.

4.2. Hamurlara Uygulanan Analizlerin Sonuçları

Hamurların kuru madde miktarları %30.16 ile %59.24 aralığında bulunmuştur.

4.2.1. pH

Deney tasarımında verilen bağımsız değişkenler; fermantasyon sıcaklığı, sakkaroz miktarı ve HV kullanılarak hazırlanan hamurların pH değişimleri incelenmiştir. Hamurların pH değerleri 4.32 ile 5.06 aralığında bulunmuştur. pH verileri için ikinci dereceden modele ait ANOVA sonuçları Tablo 4.4.’te verilmiştir.

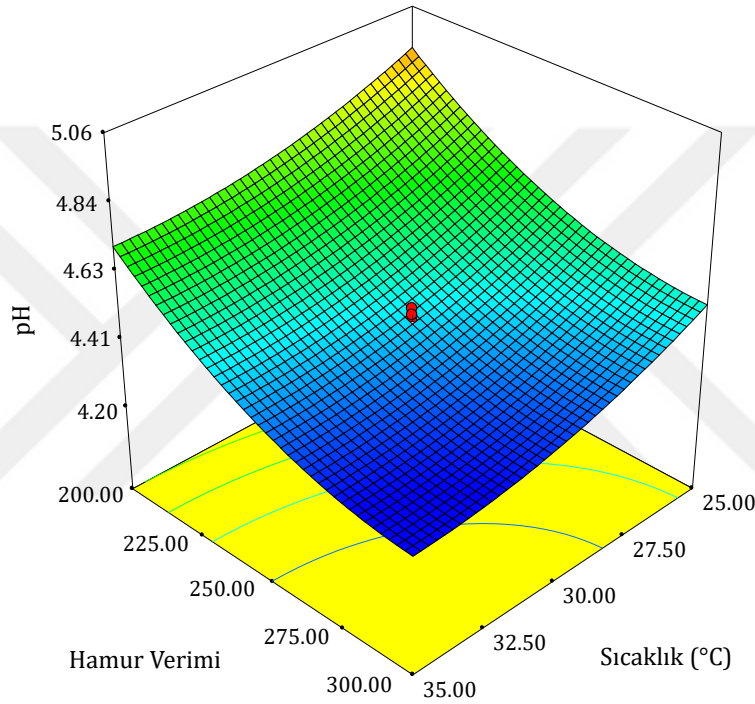
Tablo 4.4. pH verilerinin ikinci dereceden modele ait ANOVA sonuçları

pH		
Model terimi	F-değeri	p-değeri
Model	10.95	0.0004*
A	17.92	0.0017*
C	59.97	< 0.0001*
C ²	10.18	0.0042*
Uyum eksikliği	18.96	0.0029*
R ²	0.9079	
R ² adj	0.8249	
Yeterli Tahminleme	11.413	
CV (%)	2.12	
$pH=4.47-0.11*A-0.20*C+0.095C^2$		
A, Sıcaklık (°C); C, Hamur Verimi; *, $p<0.05$ ’de önemli		

Tablo 4.4.’te verilen ANOVA sonuçları incelendiğinde, önerilen modelin p değerinin 0.0004 olduğu görülmüş ve önerilen model anlamlı bulunmuştur. Fermantasyon sıcaklığı ve HV’nin pH

değerini önemli derecede etkilediği ($p<0.05$), buna karşın sakkaroz miktarının pH değeri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı ($p>0.05$) görülmüştür. Modelin pH yanıtı için uyum eksikliğinin önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Birbirlerine yakın değerlerde olması beklenen R^2 ve R^2 adj değerleri, 0.9079 ve 0.8249 olarak belirlenmiştir. Bunlara ek olarak, yeterli tahminleme değerinin 11.413 (Adeq Precision>4), CV değerinin 2.12 (CV<%10) olduğu görülmüştür.

Tablo 4.4.'te verilen model denklemine göre, sıcaklık ve HV'nin doğrusal (A ve C) olarak artması, pH değerini azaltmıştır ($p<0.05$). HV'nin ikinci dereceden etkisine (C^2) göre; HV arttıkça pH değerinin arttığı belirlenmiştir ($p<0.05$). pH'ın, fermantasyon sıcaklığı ve HV ile değişiminden elde edilen tepki yüzey grafiği Şekil 4.4.'te verilmiştir.



Şekil 4.4. Hamur verimi ve sıcaklığın, sabit sakkaroz miktarında (%10) pH değerine etkisinin tepki yüzey grafiği

HV, hamurun su aktivitesi ve asitliği üzerinde doğrudan etkilidir. Düşük HV'de gözlenen pH artışı, daha düşük su içeriği ve böylelikle ortamdaki organik asitlerin daha düşük difüzyonuyla ilgilidir (Valerio vd., 2020). Bu nedenle, çalışmada düşük hamur verimine sahip hamurların pH değerlerinin daha yüksek olması beklenmiştir. Şekil 4.4. incelendiğinde, düşük hamur verimine sahip (sert yapıda) hamurların pH değerlerinin, yüksek hamur verimine sahip (yumuşak yapıda) hamurların pH değerlerinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Ek olarak, fermantasyon sıcaklığı arttıkça, hamurların pH değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Bunun nedeni, düşük sıcaklıklarda fermente edilen hamurlarda asitleşme hızının yavaş olmasıdır. Fermantasyon sıcaklığı arttıkça asitlikte artacağından hamurların pH değerleri azalmaktadır (Tang vd., 2018).

4.2.2. Toplam titrasyon asitliği (TTA)

Fermentasyon sıcaklığı, sakkaroz miktarı ve HV değişkenleri kullanılarak hazırlanan hamurlara ait TTA değerlerinin değişimleri incelenmiştir. Hamurların TTA değerleri % (laktik asit) olarak hesaplanmıştır. Farklı HV'ne sahip hamurların TTA değerlerinin kendi aralarında kıyaslanabilmesi için hamurların % (laktik asit) değerleri kuru madde bazında hesaplanmıştır. Hamurların TTA değerleri %1.47 ve %3.10 aralığında bulunmuştur. TTA verileri için ikinci dereceden modele ait ANOVA sonuçları Tablo 4.5.'te verilmiştir.

Tablo 4.5. TTA verilerinin ikinci dereceden modele ait ANOVA sonuçları

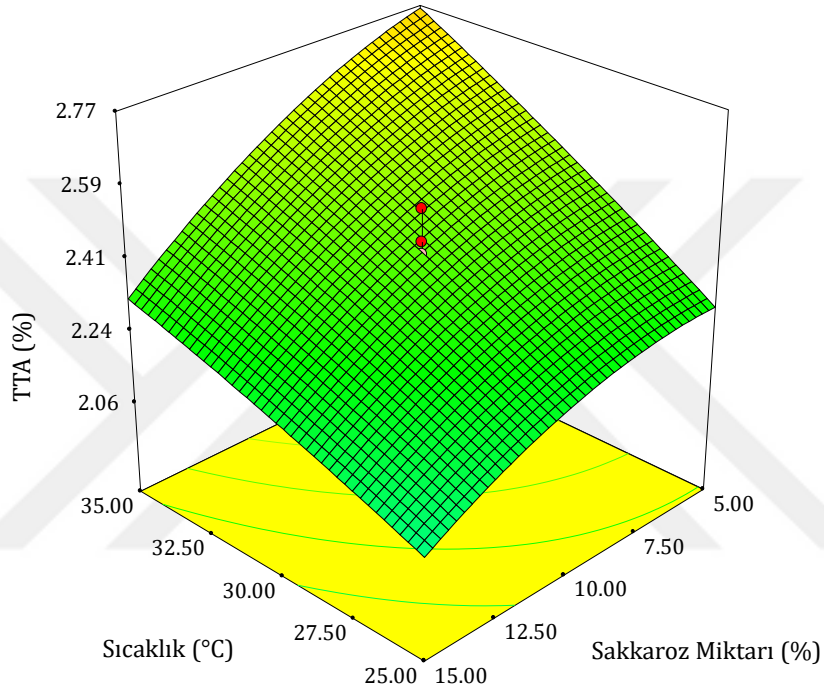
TTA (%)		
Model terimi	F-değeri	p-değeri
Model	64.15	< 0.0001*
A	80.30	< 0.0001*
B	69.30	< 0.0001*
C	371.23	< 0.0001*
B ²	8.95	0.0135*
C ²	44.14	< 0.0001*
Uyum eksikliği	1.82	0.2630 ^{ns}
R ²	0.9830	
R ² adj	0.9676	
Yeterli Tahminleme	31.687	
CV (%)	3.20	
TTA=2.44+0.18*A-0.17*B+0.38*C-0.058*B ² -0.13*C ²		
A, Sıcaklık (°C); B, Sakkaroz Miktarı (%); C, Hamur Verimi		
*, p<0.05'de önemli; ^{ns} , önemli değil (p>0.05)		

Tablo 4.5.'te verilen ANOVA sonuçları incelendiğinde, önerilen modelin “p değeri< 0.0001” olduğu görülmüş ve önerilen model anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerin tümünün (fermentasyon sıcaklığı, sakkaroz miktarı ve HV) TTA değerini önemli derecede etkilediği görülmüştür (p<0.05). Modelin TTA yanıtı için uyum eksikliğinin önemsiz olduğu belirlenmiştir (p>0.05). Uyum eksikliği değerinin önemsiz çıkması, ikinci dereceden modelin deneysel verilerle fazlasıyla uyumlu olduğunu göstermektedir. Birbirlerine yakın değerlerde olması beklenen R² ve R² adj değerleri, 0.9830 ve 0.9676 olarak belirlenmiştir. R² değerinin 1'e yakın olması, modelin güçlü olduğunu ve modelin deneysel verilerle uyumunun oldukça iyi olduğunu göstermiştir. Ayrıca R²_{adj} değerinin R² değerine yakın olması, anlamlı olmayan terimlerin önerilen modelde bulunmadığını göstermiştir. Bunlara ek olarak, yeterli tahminleme değerinin 31.687 (Adeq Precision>4), CV değerinin 3.20 (CV<%10) olduğu görülmüştür. Yeterli tahminleme değerinin 4'ten oldukça büyük olması da modelin uyumluluğunun ne kadar iyi olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.5.'te verilen model denklemine göre, sıcaklığın ve HV'nin doğrusal (A ve C) olarak artması, TTA değerini arttırmıştır (p<0.05). Sakkaroz miktarının doğrusal (B) olarak artması ise TTA

değerini azaltmıştır ($p<0.05$). Sakkaroz miktarı ve HV'nin ikinci dereceden etkisine (B^2 ve C^2) göre; sakkaroz miktarı ve HV arttıkça TTA değerinin azaldığı belirlenmiştir ($p<0.05$).

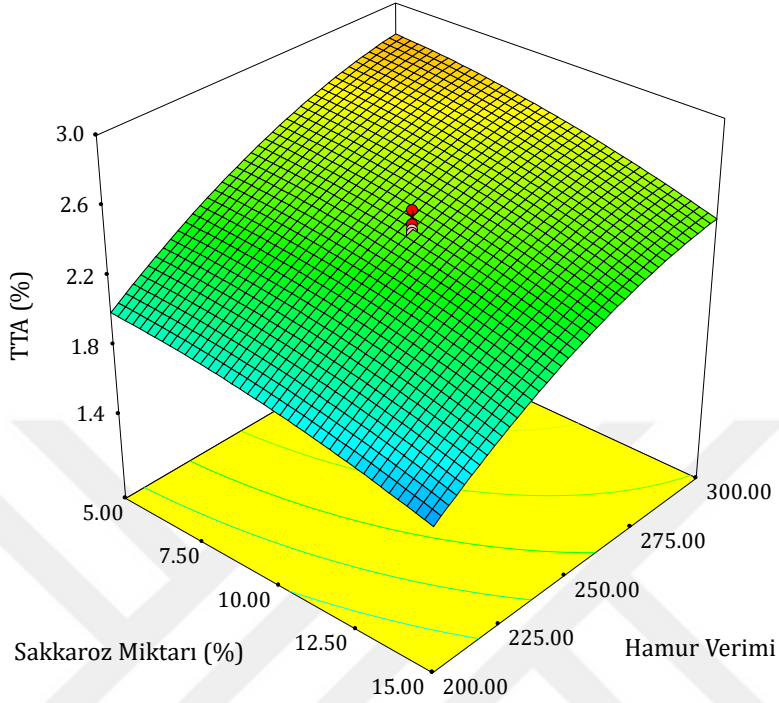
Tablo 4.4.'te verilen model denklemine göre, sıcaklık ve HV doğrusal (A ve C) olarak arttığında pH değerinin azaldığı; Tablo 4.5.'te verilen model denklemine göre, sıcaklık ve HV doğrusal (A ve C) olarak arttığında TTA değerinde arttığı görülmüştür. Sonuçlar değerlendirildiğinde, hamurların pH değerlerinin azaldıkça TTA değerlerinin arttığı belirlenmiştir. TTA'nın, fermantasyon sıcaklığı ve sakkaroz miktarı ile değişiminden elde edilen tepki yüzey grafiği Şekil 4.5.'te verilmiştir.



Şekil 4.5. Sıcaklık ve sakkaroz miktarının, sabit hamur veriminde (250) TTA değerine etkisinin tepki yüzey grafiği

Düşük fermantasyon sıcaklığı, hamurlarda asit oluşumunu geciktirmektedir. Bu nedenle, düşük sıcaklıklarda fermente edilen hamurların TTA değerlerinin, yüksek sıcaklıkta fermente edilen hamurlardan daha az olması beklenmektedir (Tang vd., 2018). Şekil 4.5.'te, düşük sıcaklıkta fermente edilen hamurların TTA değerlerinin beklendiği gibi, yüksek sıcaklıklarda fermente edilen hamurların TTA değerlerinden daha düşük olduğu görülmüştür. Buna ek olarak, sakkaroz miktarı arttıkça, hamurların TTA değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Galle ve arkadaşları (2012a) tarafından yapılan çalışmada, ekşi hamurlara EPS'nin yerinde üretimi için %15 sakkaroz eklendiği, *Weissella cibaria* ile fermente edilen ekşi hamurların haricinde, ekşi hamurların TTA değerlerinin sakkaroz ilavesiyle önemli ölçüde arttığı ($p < 0.05$), *Weissella cibaria* ile fermente edilen ekşi hamurlarda ise sakkaroz ilavesinin hiçbir büyük değişikliğe yol açmadığı ve hatta TTA'yı hafifçe azalttığı bildirilmiştir (Galle vd., 2012a). Sonuçlar değerlendirildiğinde, bulunan farklılıkların kullanılan hammaddelerin ve starter kültürlerin

farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. TTA'nın, sakkaroz miktarı ve hamur verimi ile değişiminden elde edilen tepki yüzey grafiği Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Sakkaroz miktarı ve hamur veriminin, sabit sıcaklıkta (30°C) TTA değerine etkisinin tepki yüzey grafiği

Şekil 4.6. incelendiğinde, yüksek hamur verimine sahip (yumuşak yapıda) hamurların TTA değerlerinin, düşük hamur verimine sahip (sert yapıda) hamurların TTA değerlerinden daha yüksek olduğu görülmüştür. HV ne kadar yüksek olursa, üretilen organik asitlerin çevreye daha iyi difüzyonu nedeniyle asitlenme o kadar hızlı gerçekleşir (Chavan ve Chavan, 2011).

4.2.3. Ekzopolisakkarit Miktarı

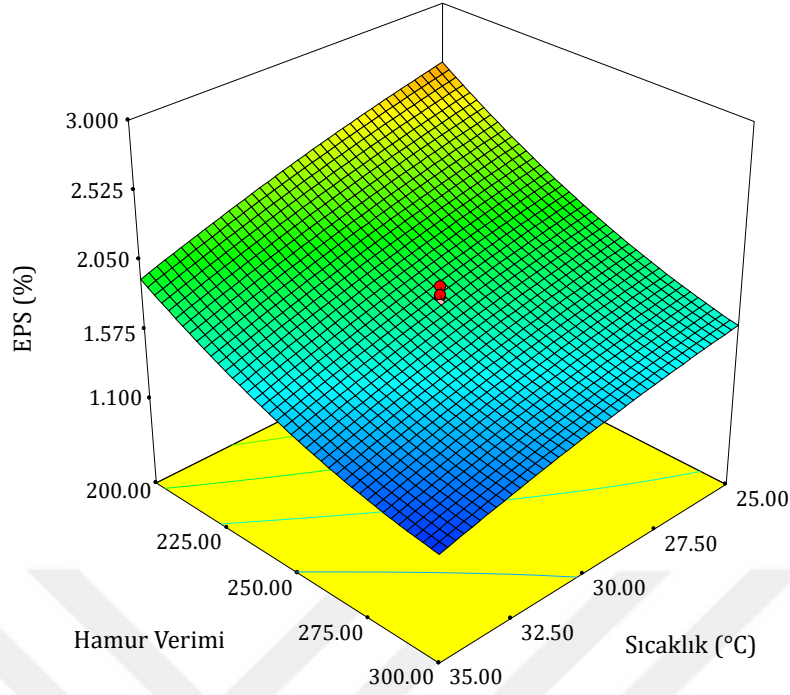
Fermantasyon sıcaklığı, sakkaroz miktarı ve HV değişkenleri kullanılarak hazırlanan hamurların EPS içerikleri %1.160 ve %2.87 aralığında bulunmuştur. Farklı HV'ne sahip hamurların EPS miktarlarının kendi aralarında kıyaslanabilmesi için hesaplama yaparken hamurların kuru madde ağırlıkları kullanılmıştır. EPS verileri için ikinci dereceden modele ait ANOVA sonuçları Tablo 4.6.'da verilmiştir. Tablo 4.6.'da verilen ANOVA sonuçları incelendiğinde, önerilen modelin " p değeri < 0.0001" olduğu görülmüş ve önerilen model anlamlı bulunmuştur. Fermantasyon sıcaklığı ve HV'nin EPS miktarını önemli derecede etkilediği ($p < 0.05$), buna karşın sakkaroz miktarının EPS miktarı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı ($p > 0.05$) görülmüştür. Modelin EPS yanıtı için uyum eksikliğinin önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p > 0.05$). Uyum eksikliği değerinin önemsiz çıkması, ikinci dereceden

modelin deneysel verilerle uyumlu olduğunu göstermektedir. Birbirlerine yakın değerlerde olması beklenen R^2 ve R^2_{adj} değerleri, 0.9503 ve 0.9057 olarak belirlenmiştir. Bunlara ek olarak, yeterli tahminleme değerinin 16.573 (Adeq Precision>4), CV değerinin 7.82 (CV<%10) olduğu görülmüştür. Yeterli tahminleme değerinin 4'ten büyük olması da önerilen modelin verilerle uyumlu olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.6. EPS verilerinin ikinci dereceden modele ait ANOVA sonuçları

EPS		
Model terimi	F-değeri	p-değeri
Model	21.26	< 0.0001*
A	48.31	< 0.0001*
C	122.15	< 0.0001*
C^2	10.18	0.0096*
Uyum eksikliği	0.65	0.6764 ^{ns}
R^2	0.9503	
R^2_{adj}	0.9057	
Yeterli Tahminleme	16.573	
CV (%)	7.82	
$EPS=1.77-0.26*A-0.42*C+0.12C^2$		
A, Sıcaklık (°C); C, Hamur Verimi		
*, $p<0.05$ 'de önemli; ^{ns} , önemli değil ($p>0.05$)		

Tablo 4.6.'da verilen model denklemine göre, sıcaklığın ve HV'nin doğrusal (A ve C) olarak artması, EPS miktarını azaltmıştır ($p<0.05$). HV'nin ikinci dereceden etkisine (C^2) göre; HV arttıkça EPS miktarının arttığı belirlenmiştir ($p<0.05$). EPS miktarının, HV ve fermantasyon sıcaklığı ile değişiminden elde edilen tepki yüzey grafiği Şekil 4.7.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Hamur verimi ve sıcaklığın, sabit sakkaroz miktarında (%10) EPS miktarına etkisinin tepki yüzey grafiği

Şekil 4.7. incelendiğinde, düşük hamur verimine sahip (sert yapıda) hamurların EPS miktarları, yüksek hamur verimine sahip (yumuşak yapıda) hamurların EPS miktarlarından daha yüksek olduğu görülmüştür. Rühmkorf ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan çalışmada, yüksek HV değerine sahip hamurların düşük EPS verimine sahip olduğu belirlenmiştir. Bunun nedeni, azalan ozmotik strese bağlanmıştır. Bu duruma da daha düşük HV değerine sahip (düşük su aktivitesi) olanların etkisinin, daha yüksek HV değerine sahip (yüksek su aktivitesi) olanların etkisinden daha fazla olduğuna değinilmiştir (Rühmkorf vd., 2012). Kaditzky ve Vogel (2008) tarafından yapılan çalışmada, HV arttıkça EPS miktarının arttığı belirlenmiştir (Kaditzky ve Vogel, 2008). Sonuçlar değerlendirildiğinde, HV ve EPS arasında bulunan artan-azalan ilişkisinin, Rühmkorf ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan çalışmayla benzerlik gösterdiği fakat Kaditzky ve Vogel (2008) tarafından yapılan çalışmadan farklı olduğu görülmüştür. Nedeninin kullanılan hammaddelerin ve parametrelerin farklı olmasından ve buna bağlı olarak ortamda baskın olan mikrobiyal çeşitliliğin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Fermentasyon sıcaklığı arttıkça, hamurların EPS miktarlarının azaldığı görülmüştür (Şekil 4.7). Tang ve arkadaşları (2018) tarafından yapılan çalışmada, sakkaroz katkılı ekşi hamurlarda, fermentasyon sıcaklığı azaldıkça EPS miktarının arttığı bildirilmiştir. Bunun, ortama hakim türün düşük fermentasyon sıcaklığında, stres direncini ve hücre canlılığını arttırmak için yüksek miktarda EPS üretmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmada, hücrelerin kuruma, düşük ve sıfırın altındaki sıcaklıklar ve hipertonik ortamlar gibi çevresel stresler altında kendini koruma biçimi olarak, EPS

oluşumunu tetiklediği belirtilmiştir (Tang vd., 2018). Fermantasyon sıcaklığı-EPS arasında bulunan artan-azalan ilişkisi, Tang ve arkadaşları (2018) tarafından yapılan çalışmayla benzerlik göstermiştir.

Sakkaroz miktarının, EPS miktarı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir. Rühmkorf ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan çalışmada, %3.75'ten %15'e kadar artan sakkaroz miktarı ile seçilen üç suş tarafından üretilen EPS miktarlarının arttığı belirlenmiştir. Fakat çalışmada, oluşan metabolitler ve ekşi hamurlarda bulunan kalıntı sakkaroz nedeniyle sakkaroz miktarının %7.5'i geçmemesi gerektiği, daha yüksek sakkaroz konsantrasyonlarında EPS üretiminin doyuma eğrisi izlediği belirtilmiştir. Yüksek sakkaroz konsantrasyonlarında EPS verimlerinin doygunluğunun, suşların büyümelerinin yüksek sakkaroz miktarlarında bozulması ile açıklanmıştır (Rühmkorf vd., 2012). Rühmkorf ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan çalışma ve mevcut çalışmada hammaddelerin farklı olmasından kaynaklı, %15'e kadar çıkan sakkaroz miktarının ortamda bulunan türlerin büyümesini baskıladığı, bu nedenle sakkaroz miktarının EPS miktarı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı düşünülmektedir.

4.3. Nohut Mayasında ve EPS Verimi En Yüksek Hamurda Uygulanan Mikrobiyolojik Analizlerin Sonuçları

4.3.1. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri Sayımı (TMAB)

TMAB, gıda maddelerinin genel hijyenik kalitesini ve mikrobiyolojik yükünü değerlendirmek için kullanılmaktadır. Ayrıca ürünün raf ömrü veya organoleptik özelliklerdeki değişiklikler ile ilgili değerlendirmeleri yapmak için kullanılmaktadır (Nosa-Obamwonyi ve Antai, 2018). En yüksek EPS verimine sahip hamurda ve kullanılan nohut mayasında TMAB sayımı sonuçları Tablo 4.7.'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, 18 saat sonunda nohut mayasında PCA agar kullanılarak yapılan TMAB sayımı sonucu 7.43 log kob/mL bulunmuştur. Sayımı yapılan nohut mayası kullanılarak hazırlanan hamurun (25°C, %15, 200) fermantasyon öncesi ($t=0$) TMAB sayımı sonucu 7.10 log kob/g, fermantasyon sonrası ($t=7$ saat) TMAB sayımı sonucu ise 8.95 log kob/g bulunmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, nohut mayası kullanılarak hazırlanan hamurun TMBA sayısının, nohut mayasının TMBA sayısından daha düşük olduğu ve TMBA sayısının 7 saat fermantasyon sonrası yükseldiği görülmüştür. Hamur hazırlanırken HV 200 olacak şekilde siyah nohut unu ve nohut mayası kullanılmıştır. Bu nedenle, nohut mayası kullanılarak hazırlanan hamurun TMBA sayısının, nohut mayasının TMBA sayısından daha düşük olduğu düşünülmektedir. Fermantasyon sonrasında hamurun TMBA sayısının artması ve bu sayımın nohut mayasının TMBA sayısından daha yüksek olmasının, hamurun 7 saat fermente edilmesi ve bu süreçte ortamdaki bakteri sayısının artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tablo 4.7. Nohut mayasında ve en yüksek EPS verimine sahip hamurda toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı (TMAB) sonuçları (*, saat; **, log kob/mL; ***, log kob/g)

Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB)		
Örnek	Zaman*	Sonuçlar
Nohut Mayası	18	7.43**
Hamur	0	7.10***
Hamur	7	8.95***

Katsabokakis ve Mallidis (1996) tarafından yapılan çalışmada, nohut mayalarının üretiminde nohut (20 g) ve suya (sterilize edilmiş musluk suyu, 200 mL) ek olarak tuz (%0.5) kullanılmıştır. Nohut mayaları 32°C, 37°C ve 42°C'de 30 saat fermente edilmiştir. Çalışmada, 30 saatlik fermantasyon süresinin, PCA agar kullanılarak yapılan toplam mezofilik aerobik bakteri sayısını önemli ölçüde etkilemediği görülmüştür. Verilen grafikler incelendiğinde, 37°C'de, 15. ve 20. saatler arasında yapılan toplam mezofilik aerobik bakteri sayımının yaklaşık olarak 8 log kob/mL olduğu görülmüştür (Katsabokakis ve Mallidis, 1996).

Hatzikamari ve arkadaşları (2007b) tarafından yapılan çalışmada, nohut (nohut ve su oranı; 2:10) ve su (kaynatılmış su) kullanılarak üretilen nohut mayası 37°C'de 18 saat ve hamur 37°C'de yaklaşık 2 saat fermente edilmiştir. Nohut mayası ve hamurunda, PCA agar kullanılarak yapılan mezofilik aerobik bakteri sayımları sırasıyla 7.94 log kob/ml ve 7.63 log kob/ml bulunmuştur (Hatzikamari vd., 2007b).

Kasım (2014) tarafından yapılan çalışmada, farklı nohut çeşitleri kullanılarak hazırlanan nohut mayalarının, PCA agar kullanılarak yapılan mezofilik aerobik bakteri sayımları 8.34-8.52 log kob/mL aralığında bulunmuştur (Kasım, 2014).

Boyacı Gündüz (2018) tarafından yapılan çalışmada, iki farklı zamanda, farklı fırınlardan toplanan 6 nohut mayası ve 6 nohut mayalı hamur örnekleri için PCA agar kullanılarak yapılan toplam mezofilik aerobik bakteri sayımları sırasıyla 3.45-7.11 ve 4.20-8.08 log kob/g aralığında bulunmuştur. Ayrıca, çalışmada nohut (koçbaşı çeşidi, 50 g) ve su (kaynatılıp 50°C'ye soğutulmuş musluk suyu, 400 mL) kullanılarak, laboratuvar koşullarında da nohut mayası ve hamurlarının üretimi yapılmıştır. Nohut mayaları 32°C ve 37°C'de olacak şekilde iki farklı sıcaklıkta 18'er saat ve hamurlarda aynı sıcaklıklarda 4'er saat fermente edilmiştir. Nohut mayalarının 32°C ve 37°C'de fermantasyonunda, PCA agar kullanılarak yapılan toplam mezofilik aerobik bakteri sayımları her iki sıcaklık içinde 9 log kob/mL'nin üzerinde bulunmuştur. Hamurların 32°C ve 37°C'de fermantasyonunda, PCA agar kullanılarak yapılan laktik asit bakteri sayımları sırasıyla 9.40 log kob/g ve 9.95 log kob/g bulunmuştur (Boyacı Gündüz, 2018).

Yapılan çalışmaların sonuçları ve bulduğumuz sonuçlar değerlendirildiğinde; sonuçların bir kısmının bizim sonuçlarımızla benzerlik gösterdiği bir kısmının farklılık gösterdiği görülmektedir. Bunun öncelikle nohut mayasının yapımında kullanılan nohut çeşitlerinin farklı olmasından ve uygulanan koşulların farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3.2. Laktik Asit Bakterisi Sayımı (LAB)

En yüksek EPS verimine sahip hamurda ve kullanılan nohut mayasında LAB sayımı sonuçları Tablo 4.8.'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, 18 saat sonunda nohut mayasında MRS agar kullanılarak yapılan LAB sayımı sonucu 7.34 log kob/mL bulunmuştur. Sayımı yapılan nohut mayası kullanılarak hazırlanan hamurun (25°C, %15, 200) fermantasyon öncesi (t=0) LAB sayımı sonucu 8.00 log kob/g, fermantasyon sonrası (t=7) LAB sayımı sonucu ise 8.88 log kob/g bulunmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, nohut mayası kullanılarak hazırlanan hamurun LAB sayısının, nohut mayasının LAB sayısından daha düşük olduğu ve LAB sayısının 7 saat fermantasyon sonrası yükseldiği görülmüştür. LAB sayımı sonuçları arasındaki ilişki, TMAB sayımı sonuçları arasındaki ilişkiyle benzer bulunmuştur. Bu nedenle LAB sayımı sonuçları arasındaki ilişkinin, hamur hazırlanırken nohut mayasına ek olarak siyah nohut unununda kullanılmasıyla ortamdaki LAB yoğunluğunun düşmesinden ve 7 saatlik fermantasyon sonrasında bakteri sayısının tekrar yükselmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tablo 4.8. Nohut mayasında ve en yüksek EPS verimine sahip hamurda laktik asit bakterisi sayımı (LAB) sonuçları (*, saat; **, log kob/mL; ***, log kob/g)

Laktik Asit Bakterisi (LAB)		
Örnek	Zaman*	Sonuçlar
Nohut Mayası	18	7.34 **
Hamur	0	7.00***
Hamur	7	8.88***

Hancıoğlu-Sıkılı (2003), Ege Bölgesinden toplanan nohut mayası ve hamurlarında LAB sayılarını sırasıyla 6.85-9.45 log kob/g ve 5.32-7.49 log kob/g aralığında bildirmiştir (Hancıoğlu-Sıkılı, 2003).

Çebi (2009) tarafından yapılan çalışmada, nohut mayası üretiminde nohut (koçbaşu çeşidi, 100 g) ve suya (kaynatılmış ve 50°C soğutulmuş, 350 mL) ek olarak tuz (1 g) kullanılmıştır. Nohut mayası 40°C'de 16 saat ve hamur 40°C'de 4 saat fermente edilmiştir. Çalışmada, MRS agarda yapılan LAB sayımları nohut mayası için 6.43 log kob/g, nohut mayası hamuru için 6.76 log kob/g bulunmuştur. Yapılan sayımlarda, MRS agarda M17 agara kıyasla daha fazla LAB sayıldığı ve bu nedenle nohut mayası ve nohut mayası hamurunda toplam LAB sayımı için MRS agarın daha uygun olduğu bildirilmiştir (Çebi, 2009).

Kasım (2014) tarafından yapılan çalışmada, nohut mayası üretiminde nohut (Hasanbey, Seçkin ve Menemen çeşitleri, 100 g) ve suya (60°C, 550 mL) ek olarak tuz (1.5 g) kullanılmıştır. Nohut mayası 42°C'de 16 saat ve hamur 42°C'de fermente edilmiştir. Nohut mayası örnekleri için MRS agar kullanılarak belirlenen laktik asit bakteri sayımları 6.98-7.38 log kob/mL aralığında bulunmuştur (Kasım, 2014).

Erginkaya ve arkadaşları (2015) tarafından yapılan çalışmada, nohut mayası üretiminde nohut (Meksika çeşidi, 75 g) ve su (kaynatılmış musluk suyu, 400 mL) ek olarak tuz (%0.05) ve un (6.5 g) kullanılmıştır. 37°C'de 18 saat fermente edilen nohut mayası ve yine aynı derecede 2 saat fermente edilen hamurlarda MRS agar kullanılarak belirlenen laktik asit bakteri sayımları sırasıyla 8.07 ve 5.60 log kob/g bulunmuştur (Erginkaya vd., 2015).

Boyacı Gündüz (2018) tarafından yapılan çalışmada iki farklı zamanda, farklı fırınlardan toplanan 6 nohut mayası ve 6 nohut mayalı hamur örnekleri için mMRS'de belirlenen muhtemel laktik asit bakteri sayımları sırasıyla 1.60-7.18 ve 4.30-6.89 log kob/g aralığında bulunmuştur (Boyacı Gündüz, C.P. 2018). Ayrıca, çalışmada nohut (koçbaşı çeşidi, 50 g) ve su (kaynatılıp 50°C'ye soğutulmuş musluk suyu, 400 mL) kullanılarak, laboratuvar koşullarında da nohut mayası ve hamurlarının üretimi yapılmıştır. Nohut mayaları 32°C ve 37°C'de olacak şekilde iki farklı sıcaklıkta 18'er saat ve hamurlarda aynı sıcaklıklarda 4'er saat fermente edilmiştir. Nohut mayalarının 32°C ve 37°C'de fermantasyonunda, mMRS agar kullanılarak yapılan laktik asit bakteri sayımları sırasıyla 5.70 log kob/g ve 5.35 log kob/g bulunmuştur. Hamurların 32°C ve 37°C'de fermantasyonunda, mMRS agar kullanılarak yapılan laktik asit bakteri sayımları sırasıyla 8.95 log kob/g, 9.07 log kob/mL bulunmuştur (Boyacı Gündüz, 2018).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde benzer ve farklı sonuçlar olduğu görülmüştür. Farklılığın nedenlerinin nohut mayası ve hamurlarının yapımında kullanılan hammaddelerin farklı olmasından, kullanılan nohut çeşitlerinin farklı olmasından, hamurların hamur verimlerinin farklı olmasından, fermantasyon sıcaklıklarının ve sürelerinin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.4. Nohut Mayasında ve EPS Verimi En Yüksek Hamurda Uygulanan Metagenom Analizlerinin Sonuçları

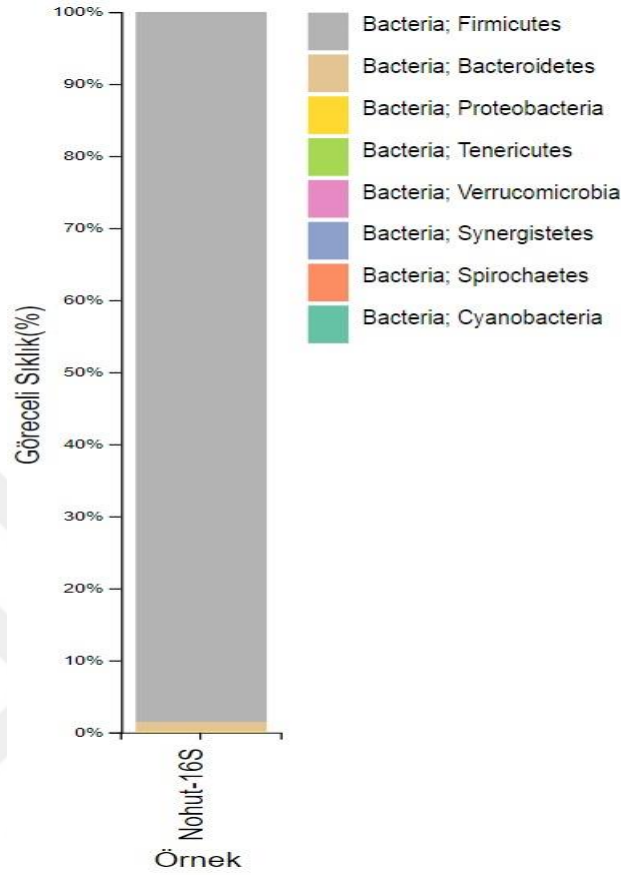
Birçok bakteri, maya, arke ve küf türlerinin mikrobiyel ekzopolisakkarit üretme yetenekleri bulunmaktadır. Ancak miktar ve çeşit olarak incelendiğinde en iyi EPS üreticilerinin bakteriler olduğu bilinmektedir (Ergene ve Avcı, 2016). Bu kapsamda hamurdan üretilen EPS'nin hangi mikrobiyal çeşitliliğe bağlı olduğunu belirlemek için hamurda 16S rRNA ve ITS çalışmaları yapılmıştır. Bunun yanı sıra, hamurun üretiminde kullanılan siyah nohut mayasının mikrobiyal çeşitliliğinin incelenmesi içinde aynı analizler nohut mayasına da uygulanmıştır.

4.4.1. 16S rRNA Sonuçları

4.4.1.1. Nohut Mayası

EPS verimi en yüksek hamurun üretiminde kullanılan nohut mayasında uygulanan 16S rRNA analizlerinin sonuçları alem düzeyinde incelendiğinde nohut mayasının tamamının (%100) bakterilerden

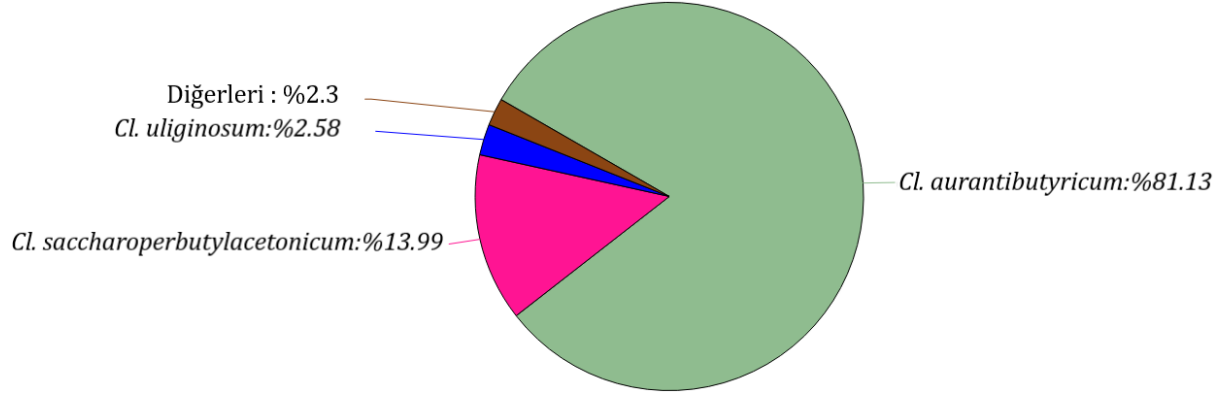
oluştığı görülmüştür. Nohut mayasının 16S rRNA analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı Şekil 4.8.'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Nohut mayasının 16S rRNA analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı

Şekil 4.8. incelendiğinde, nohut mayasında bulunan en baskın bakteri şubesinin *Firmicutes* (%98.520) olduğu, geri kalan kısmını *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Tenericutes*, *Verrucomicrobia*, *Synergistetes*, *Spirochaetes* ve *Cyanobacteria* şubelerinin oluşturduğu belirlenmiştir.

Nohut mayasının 16S rRNA analiz sonucunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı incelendiğinde, en fazla bakteri cinsinin *Firmicutes* şubesinde tanımlandığı görülmüştür. *Firmicutes* şubesine ait bakteri cinsleri yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa doğru; *Clostridium*, *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Faecalibacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lachnospira*, *Coprococcus*, *Phascolarctobacterium*, *Dialister*, *Blautia*, *Oscillospira* olarak tanımlanmıştır. *Bacteroidetes* şubesine ait bakteri cinsleri; *Prevotella*, *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Paraprevotella* olarak tanımlanmıştır. *Proteobacteria* şubesine ait bakteri cinsleri; *Sutterella*, *Succinivibrio* olarak tanımlanmıştır. *Verrucomicrobia* şubesine ait bakteri cinsi; *Prostheco bacter* olarak tanımlanmıştır. *Synergistetes* şubesine ait bakteri cinsi; *Aminiphilus* olarak tanımlanmıştır. *Spirochaetes* şubesine ait bakteri cinsi; *Treponema* olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.9. Nohut mayasının 16S rRNA analiz sonucunun tür düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı

Nohut mayasının 16S rRNA analiz sonucunun tür düzeyinde dağılımı Şekil 4.9.'da verilmiştir. Şekil 4.9. incelendiğinde yüksek yoğunlukta olan bakteri türleri *Clostridium (Cl.) aurantibutyricum*, *Cl. uliginosum* ve *Cl. saccharoperbutylacetonicum* olarak tanımlanmıştır. Grafikte diğerleri kısmında bulunan bakteri türlerinden *Lactobacillus* cinsine ait bakteri türü *Lactobacillus delbrueckii* olarak tanımlanmıştır.

Katsaboxakis ve Mallidis (1996) tarafından yapılan çalışmada, kırılmış nohut, su ve %0.5 (a:h) tuz kullanılarak hazırlanan ve üç farklı sıcaklıkta; 32°C, 37°C ve 42°C'de fermente edilen sıvıların mikrobiyolojisi incelenmiştir. Çalışmada, *Clostridium* türlerinin özellikle yüksek sıcaklıklarda ortamda hakim tür olduğu ve fermentasyon sonucu ortamda bütirik asit ve CO₂ gazı oluştuğu bildirilmiştir (Katsaboxakis ve Mallidis, 1996).

Erginkaya ve arkadaşları (2016) tarafından yapılan çalışmada, Meksika çeşidi nohut kullanılarak hazırlanan nohut fermentasyonunda maya ve laktik asit bakterileri dışında, ortama *Bacillus* ve *Clostridium* türlerinin hakim olduğu belirlenmiştir. Nohut mayasının kendine has kötü kokusunun pişirme ile kaybolduğunu ve kötü kokunun yerini ekmekek kokusunun aldığı bildirilmiştir. Çalışmada duyu analizi yapılmamakla birlikte çalışmanın devamında aerob ve anaerob spor yapan bakterilerle, laktik asit bakterilerinin ve mayaların tür bazında tanımlanmasının gerekliliği vurgulanmıştır (Erginkaya vd., 2016).

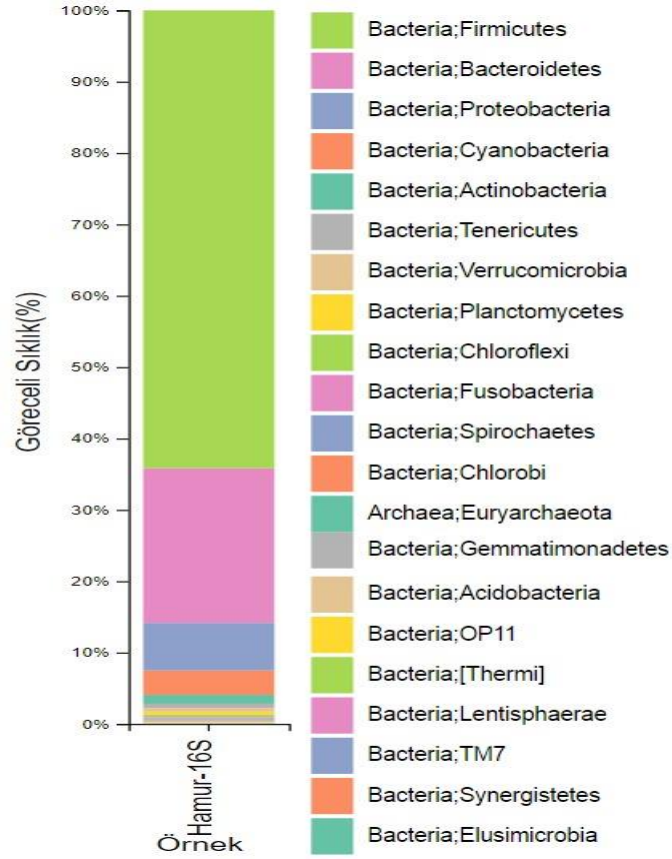
Hatzikamari ve arkadaşları (2007b) tarafından yapılan çalışmada, iki aşamalı geleneksel bir hamur üretimi sırasında ilk aşama olan nohut suyu ekstraktının fermentasyonunda, ortamda *Bacillus*, ardından *Clostridium* türlerinin yüksek seviyelere ulaştığını ve nohuttan serbest kalan bileşenleri gaz üretimi ile suya indirgediği bildirilmiştir. Fermentasyon sırasında ortamda ağırlıklı olarak *Bacillus cereus* ve *Cl. perfringens* türlerinin olduğu ve yapılan toksisite analizleri sonucu toksin üretmedikleri gözlemlenmiştir. Çalışmada, uygun şekilde pişirilen ekmeğın tüketilmesinde herhangi bir olası sağlık tehlikesinin öngörülmediği belirtilmiştir (Hatzikamari ve arkadaşları, 2007b).

Aydın ve Çebi (2019) tarafından yapılan çalışmada, mayalama ürünü olan fermente nohutlardan laktik asit bakterileri izole edilmiş ve fenotipik olarak tanımlanmıştır. Örneklerde baskın tür *Lactococcus lactis* (%90) olarak bulunurken, bu türü *Lactobacillus plantarum* (%6.7) ve *Lactobacillus brevis* (%3.3) türlerinin izlediği bildirilmiştir (Aydın ve Çebi, 2019).

Boyacı Gunduz ve arkadaşları (2020) tarafından yapılan çalışmada, nohut fermantasyonlarının LAB biyoçeşitliliği değerlendirilmiş ve seçilmiş starter kültür ile laboratuvar koşullarında nohut ekşi hamurunun üretimi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca çalışmada, bazı fırınlardan geleneksel nohut mayası ve hamuru örnekleri toplanmış ve mikrobiyolojik araştırmalar yapılmıştır. Tüm örneklerde ortama hakim tür *Clostridium perfringens*, ortama hakim LAB topluluğu *Weissella* olarak tanımlanmıştır. Özellikle, *Weissella confusa* ve *Weissella cibaria* türlerinin ortamdan izole edilen toplam LAB türlerinin sırasıyla %47,8 ve %12,4'ünü oluşturduğu belirtilmiştir. Ortamda bulunan diğer türler *Enterococcus lactis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Dextranum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici* ve *Streptococcus lutetiensis* olarak bildirilmiştir. Yüksek izolasyon sıklığı nedeniyle deneysel nohut ekşi hamurlarının üretiminde *Weissella confusa* suşu starter kültür olarak kullanılmıştır (Boyacı Gunduz vd., 2020).

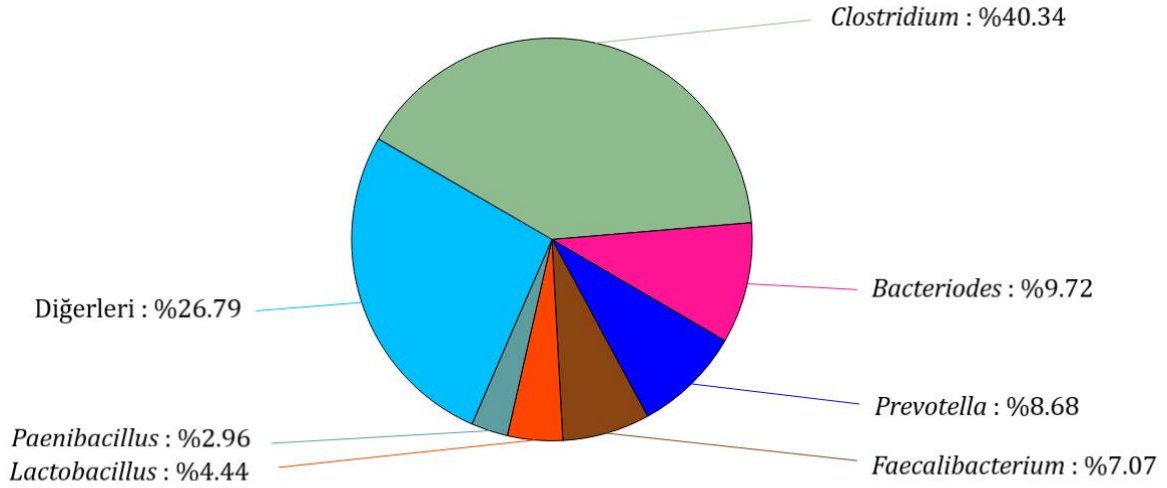
4.4.1.2. Hamur

EPS verimi en yüksek hamurda uygulanan 16S rRNA analizlerinin sonuçları alem düzeyinde incelendiğinde hamurun tamamına yakın kısmının bakterilerden (%99.886), geri kalan kısmının arkelerden (%0.114) olduğu görülmüştür. Hamura ait 16S rRNA analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı Şekil 4.10.'da verilmiştir. Şekil 4.10. incelendiğinde, hamurda bulunan en baskın bakteri şubesinin *Firmicutes* (%64.164) olduğu, geri kalan kısmını *Bacteriodes*, *Proteobacteria*, *Cyanobacteria*, *Actinobacteria*, *Tenericutes*, *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes*, *Chloroflexi*, *Fusobacteria*, *Spirochaetes*, *Chlorobi*, *Euryarchaeota*, *Gemmatimonadetes*, *Acidobacteria*, *OP11*, *Thermi*, *Lentisphaerae*, *TM7*, *Synergistetes* ve *Elusimicrobia* şubelerinin oluşturduğu belirlenmiştir.



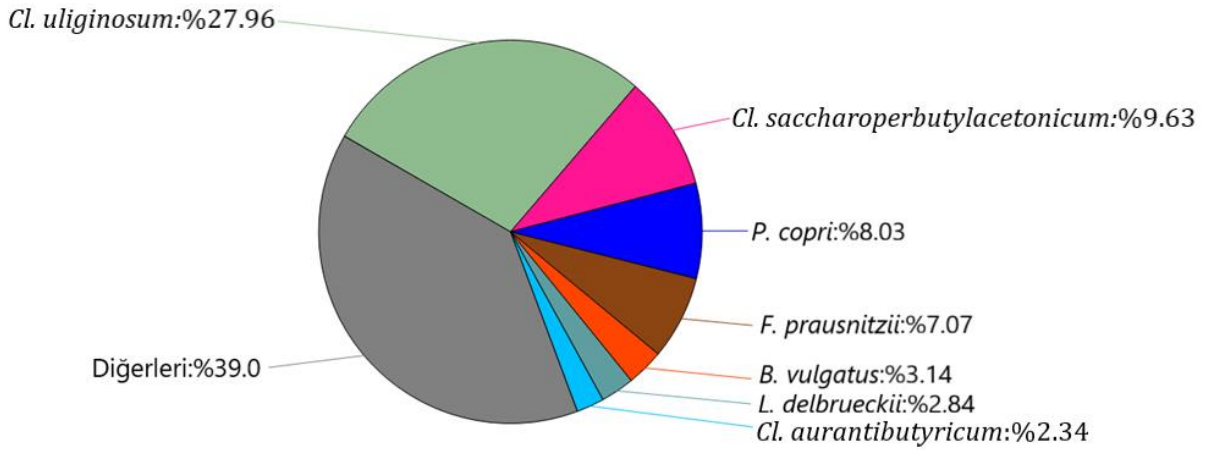
Şekil 4.10. Hamurun 16S rRNA analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı

Hamurun 16S rRNA analiz sonucunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı Şekil 4.11.'de verilmiştir. En fazla bakteri cinsinin *Firmicutes* şubesinde tanımlandığı belirlenmiştir. *Firmicutes* şubesine ait yüksek yoğunlukta olan bakteri cinsleri *Clostridium*, *Faecalibacterium*, *Lactobacillus* ve *Paenibacillus* olarak tanımlanmıştır. *Bacteroidetes* şubesine ait yüksek yoğunlukta olan bakteri cinsleri *Bacteriodes* ve *Prevotella* olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.11. Hamurun 16S rRNA analiz sonucunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı

Hamurun 16S rRNA analiz sonucunun tür düzeyinde dağılımı Şekil 4.12.'de verilmiştir. Şekil 4.12. incelendiğinde yüksek yoğunlukta olan bakteri türleri *Clostridium (Cl.) uliginosum*, *Cl. saccharoperbutylacetonicum*, *Prevotella (P.) copri*, *Faecalibacterium (F.) prausnitzii*, *Bacteriodes (B.) vulgatus*, *Lactobacillus (L.) delbrueckii* ve *Cl. aurantibutyricum* olarak tanımlanmıştır.

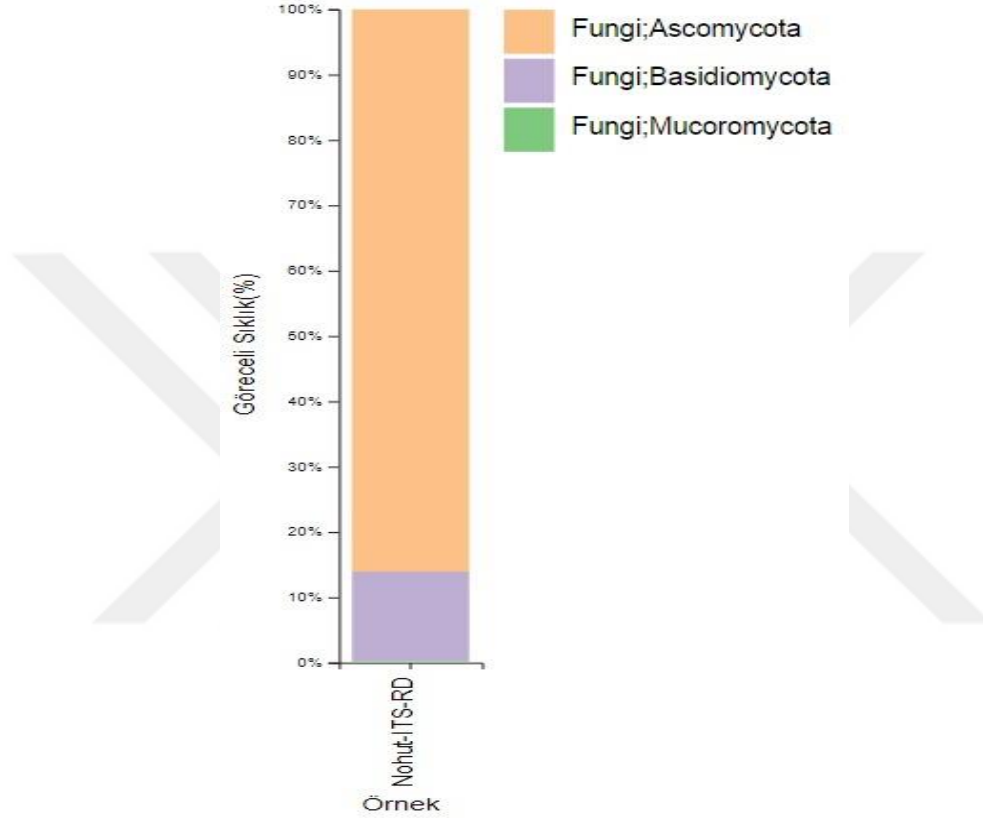


Şekil 4.12. Hamurun 16S rRNA analiz sonucunun tür düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı

4.4.2. ITS Sonuçları

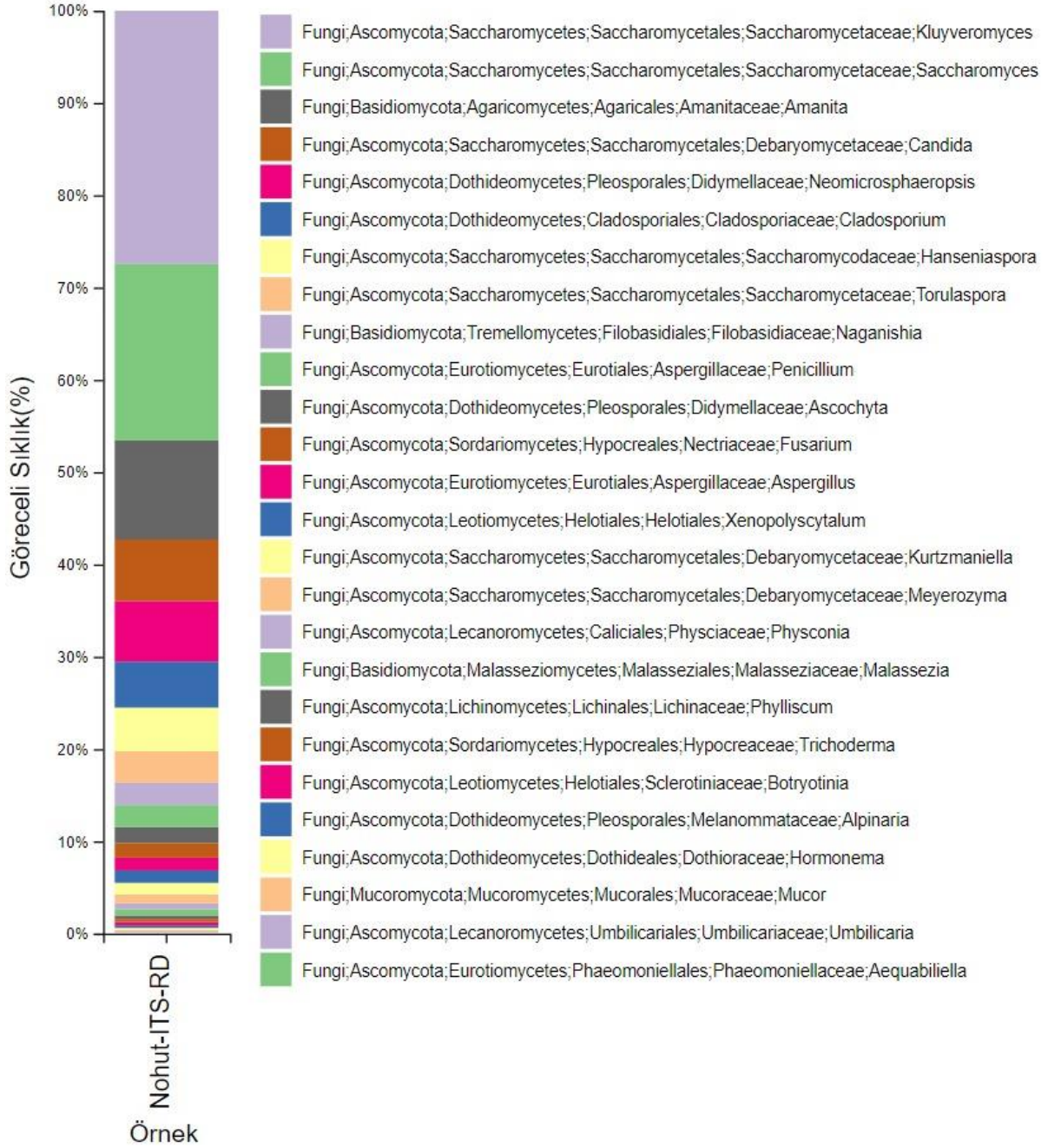
4.4.2.1. Nohut Mayası

EPS verimi en yüksek hamurda kullanılan nohut mayasına uyulanan ITS analizlerinin sonuçları alem düzeyinde incelendiğinde tamamının (%100) *fungi* olarak tanımlandığı görülmüştür. Nohut mayasının ITS analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı Şekil 4.13.'te verilmiştir. Şekil 4.13. incelendiğinde, nohut mayasında en baskın *fungi* şubesinin *Ascomycota* (%86.039) olduğu, geri kalanını *Basidiomycota* (%13.771) ve *Mucoromycota* (%0.190)'nın oluşturduğu belirlenmiştir.



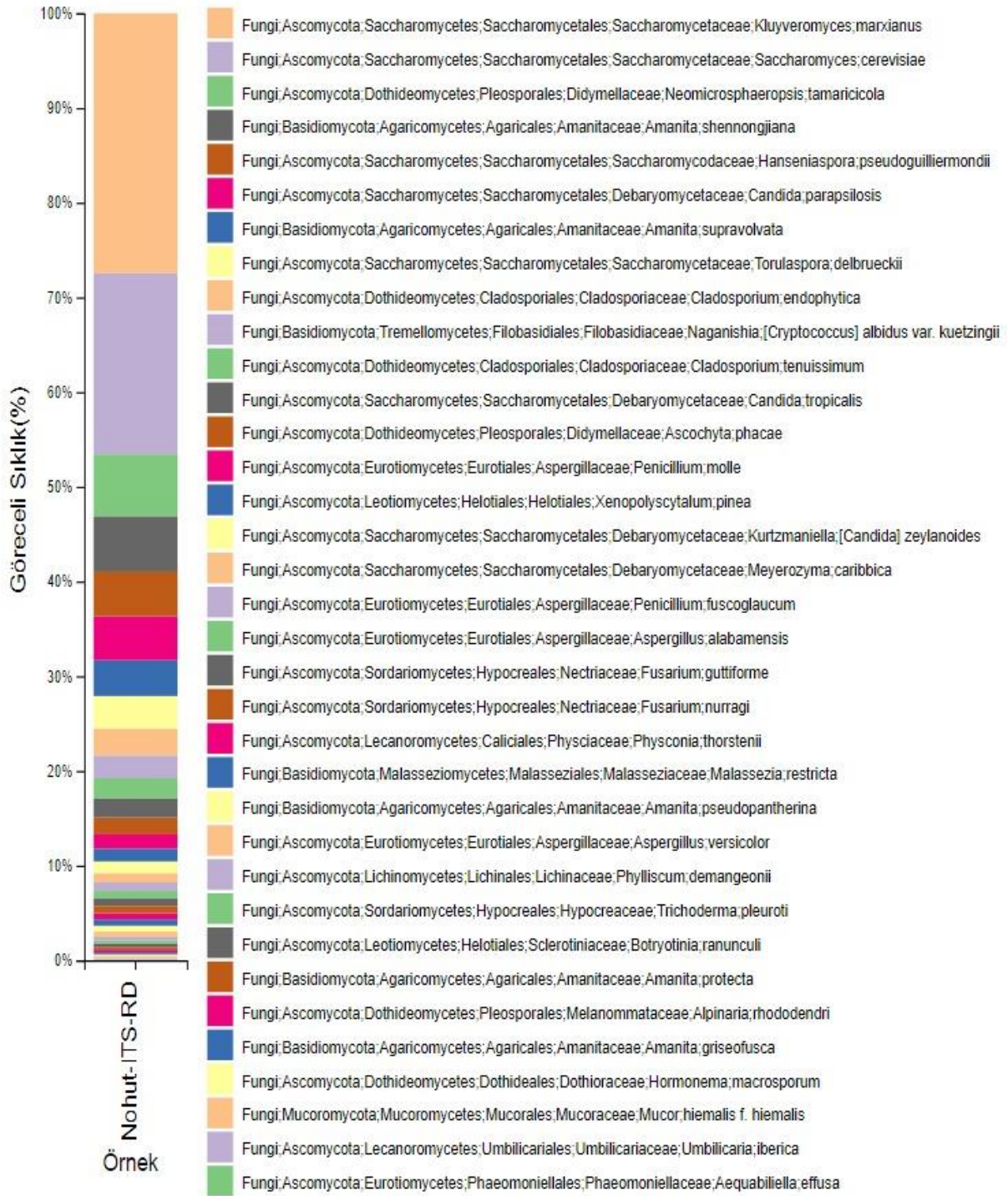
Şekil 4.13. Nohut mayasının ITS analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı

Nohut mayasının ITS analiz sonucunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı Şekil 4.14.'de verilmiştir. Şekil 4.14. incelendiğinde, en fazla bakteri cinsinin *Ascomycota* şubesinde tanımlandığı görülmüştür. *Ascomycota* şubesine ait bakteri cinsleri yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa doğru; *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Neomicrosphaeropsis*, *Cladosporium*, *Hanseniaspora*, *Torulaspora*, *Penicillium*, *Ascochyta*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Xenopolyscytalum*, *Kurtzmaniella*, *Meyerozyma*, *Physconia*, *Phylliscum*, *Trichoderma*, *Botryotinia*, *Alpinaria*, *Hormonema*, *Umbilicaria*, *Aequabiliella* olarak tanımlanmıştır. *Ascomycota* şubesini, içerdiği bakteri cinsi miktarıyla *Basidiomycota* şubesi izlemektedir. *Basidiomycota* şubesine ait cinsler yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa doğru; *Amanita*, *Naganishia* ve *Malassezia* olarak tanımlanmıştır. En az bakteri cinsine sahip *Mucoromycota* şubesinin ise *Mucor* cinsini içerdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.14. Nohut mayasının ITS analiz sonucunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı

Nohut mayasının ITS analiz sonucunun tür düzeyinde dağılımı Şekil 4.15.'te verilmiştir. Şekil 4.15. incelendiğinde nohut mayasında en baskın türler *Kluyveromyces marxianus* ve *Saccharomyces cerevisiae* olarak tanımlanmıştır.



Şekil 4.15. Nohut Mayasının ITS analiz sonucunun tür düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı

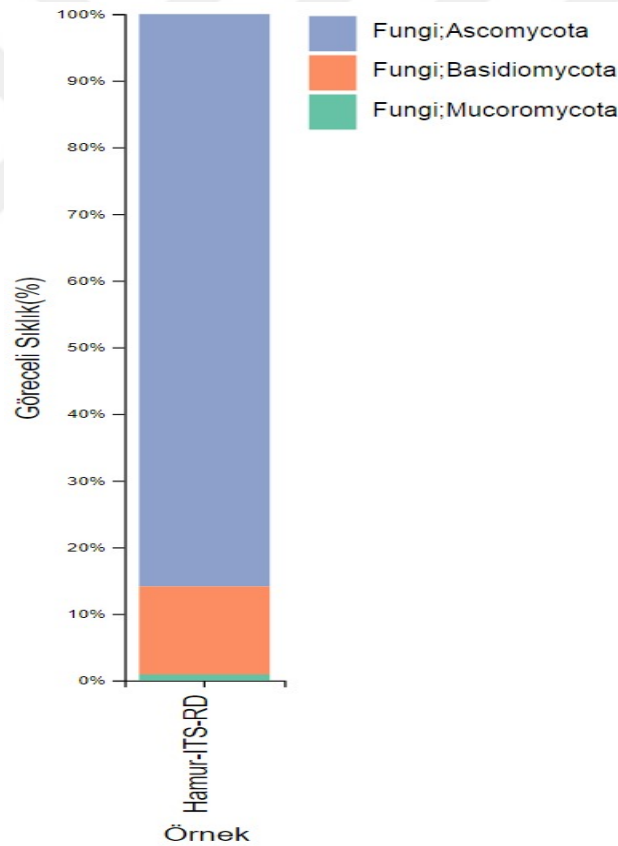
Hancıoğlu-Sıklı (2003) tarafından yapılan çalışmada, Türkiye’de toplanan nohut mayası ve hamurlarında sadece *S. cerevisiae* tanımlandığı bildirilmiştir (Hancıoğlu-Sıklı, 2003).

Boyacı Gündüz ve Erten (2022) tarafından yapılan çalışmada, üç ticari yerel fırından, 6 nohut mayası numunesi toplanmıştır. Ayrıca koçbaşı nohut kullanılarak laboratuvar ortamında da nohut mayası üretimleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmada en sık izole edilen maya türünün *S. cerevisiae* olduğu

ve laboratuvar ortamında üretimi gerçekleştirilen nohut mayasında ve toplanan 3 nohut mayası numunesinde maya tanımlanmadığı bildirilmiştir. Diğer toplanan üç nohut mayası numunesinin birinde *S. cerevisiae*, diğerinde *M. Guilliermondii* tanımlandığı bildirilmiştir. Sonuncu numunede ise *C. parapsilosis* en çok tanımlanan maya suşu olmakla birlikte, *S. cerevisiae*, *M. guilliermondii* ve *Cr. Albidosimilis* tanımlanan diğer türler olarak verilmiştir (Boyacı Gündüz ve Erten, 2022).

4.4.2.2. Hamur

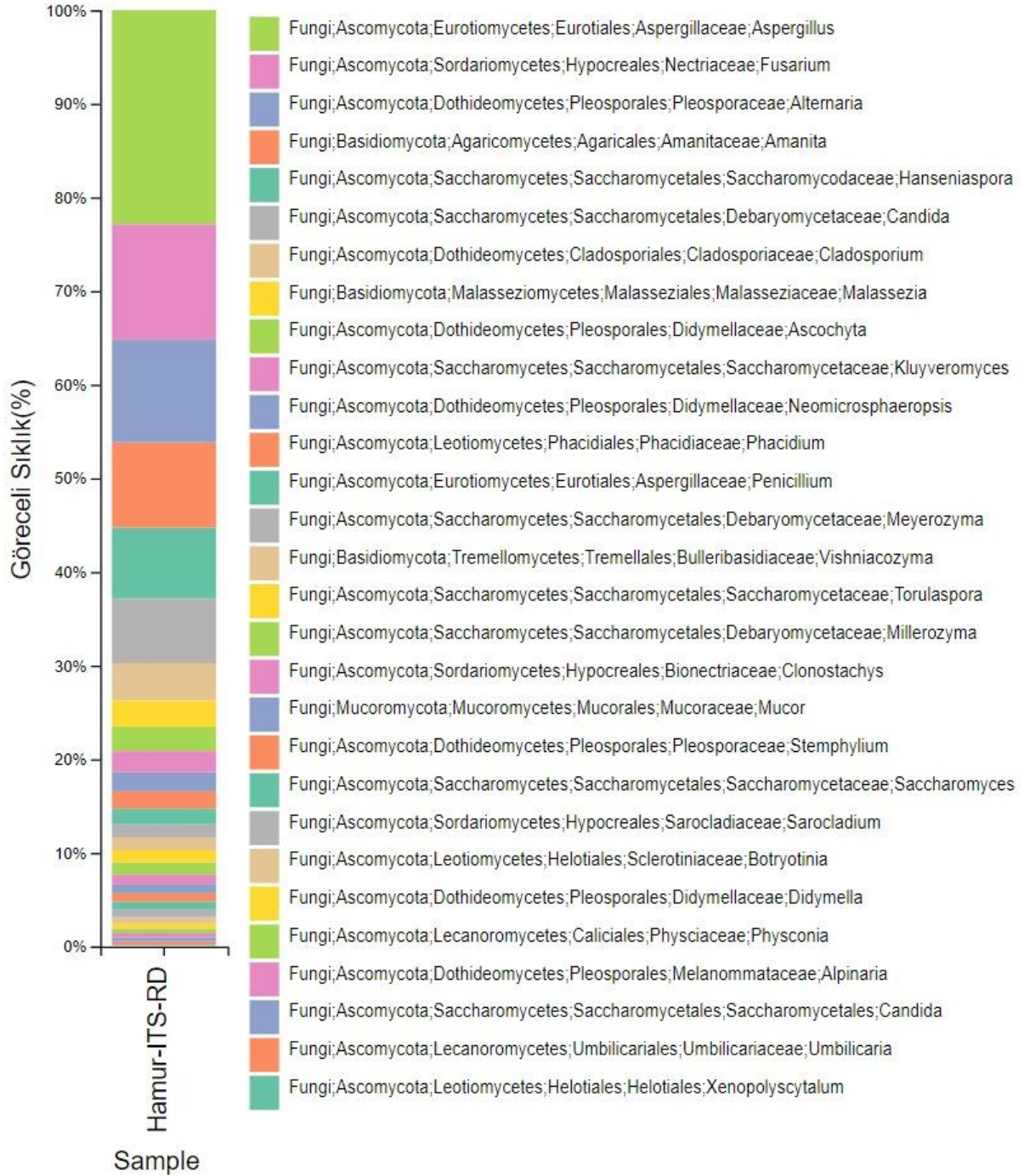
EPS verimi en yüksek hamura uygulanan ITS analizlerinin sonuçları alem düzeyinde incelendiğinde tamamının (%100) *fungi* olarak tanımlandığı görülmüştür. Sonuçlar şube düzeyinde incelendiğinde, hamurda en baskın *fungi* şubesinin *Ascomycota* (%85.868) olduğu, geri kalanını *Basidiomycota* (%13.196) ve *Mucoromycota* (%0.936)'nın oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 4.16).



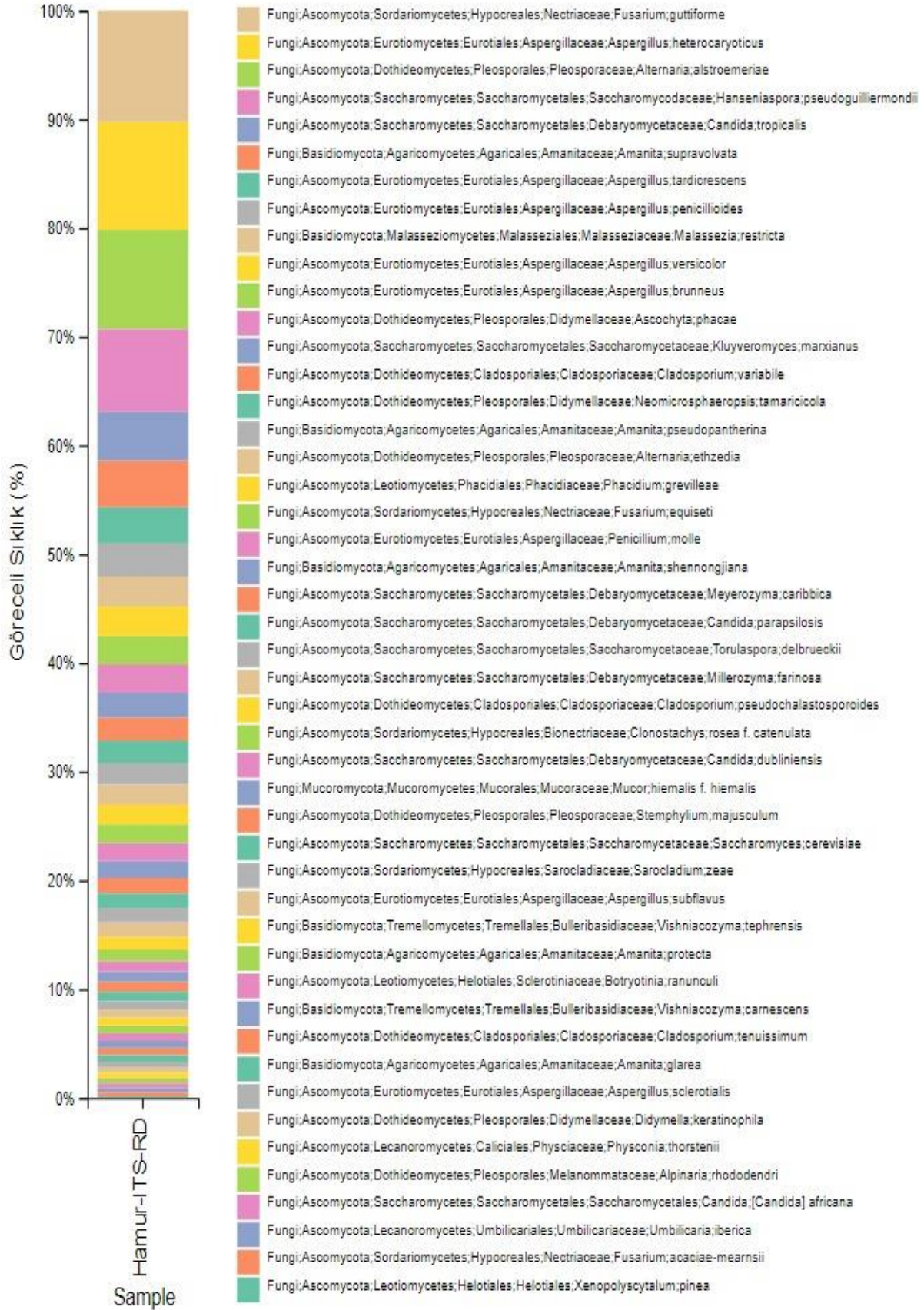
Şekil 4.16. Hamurun ITS analiz sonucunun şube düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı

Hamurun ITS analiz sonucunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı Şekil 4.17.'de verilmiştir. Şekil 4.17. incelendiğinde, en fazla bakteri cinsi *Ascomycota* şubesinde tanımlanmıştır. *Ascomycota* şubesine ait bakteri cinsleri yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa doğru; *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Hanseniaspora*, *Candida*, *Cladosporium*, *Ascochyta*,

Kluyveromyces, *Neomicrosphaeropsis*, *Phacidium*, *Penicillium*, *Meyerozyma*, *Torulaspota*, *Millerozyma*, *Clonostachys*, *Stemphylium*, *Saccharomyces*, *Sarocladium*, *Botryotinia*, *Didymella*, *Physconia*, *Alpinaria*, *Candida*, *Umblicaria*, *Xenopolyscytalum* olarak tanımlanmıştır. *Ascomycota* şubesini, içerdiği bakteri cinsi miktarıyla *Basidiomycota* şubesi izlemektedir. *Basidiomycota* şubesine ait cinsler *Amanita*, *Malassezia* ve *Vishniacozyma* olarak tanımlanmıştır. En az bakteri cinsine sahip *Mucoromycota* şubesinin ise *Mucor* cinsini içerdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.17. Hamurun ITS analiz sonucunun cins düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı



Şekil 4.18. Hamurun ITS analiz sonucunun tür düzeyinde yüksek yoğunluktan düşük yoğunluğa dağılımı

Hamurun ITS analiz sonucunun tür düzeyinde dağılımı Şekil 4.18.'de verilmiştir. Şekil 4.18. incelendiğinde nohut mayasında en baskın türler *Fusarium guttiforme* ve *Aspergillus heterocaryoticus* olarak tanımlanmıştır.

Boyacı Gündüz ve Erten (2022) tarafından yapılan çalışmada, üç ticari yerel fırından, 6 nohut hamuru numunesi toplanmıştır. Toplanan numunelerin birinde maya tanımlanmadığı, diğer beş numunenin üçünde *S. cerevisiae*'nin tespit edildiği bildirilmiştir. Kalan iki hamurdan birinde *S. cerevisiae* ve *M. guilliermondii*, diğerinde *M. Guilliermondii* baskın olmakla birlikte *S. cerevisiae*, *C. parapsilosis* ve *Pichia fermentans* türlerinin izole edildiği bildirilmiştir (Boyacı Gündüz ve Erten, 2022). Belirlenen türlerin, çalışmamızda belirlenen türlerden farklı olmasının en büyük nedenlerinden birinin kullanılan nohut çeşitlerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

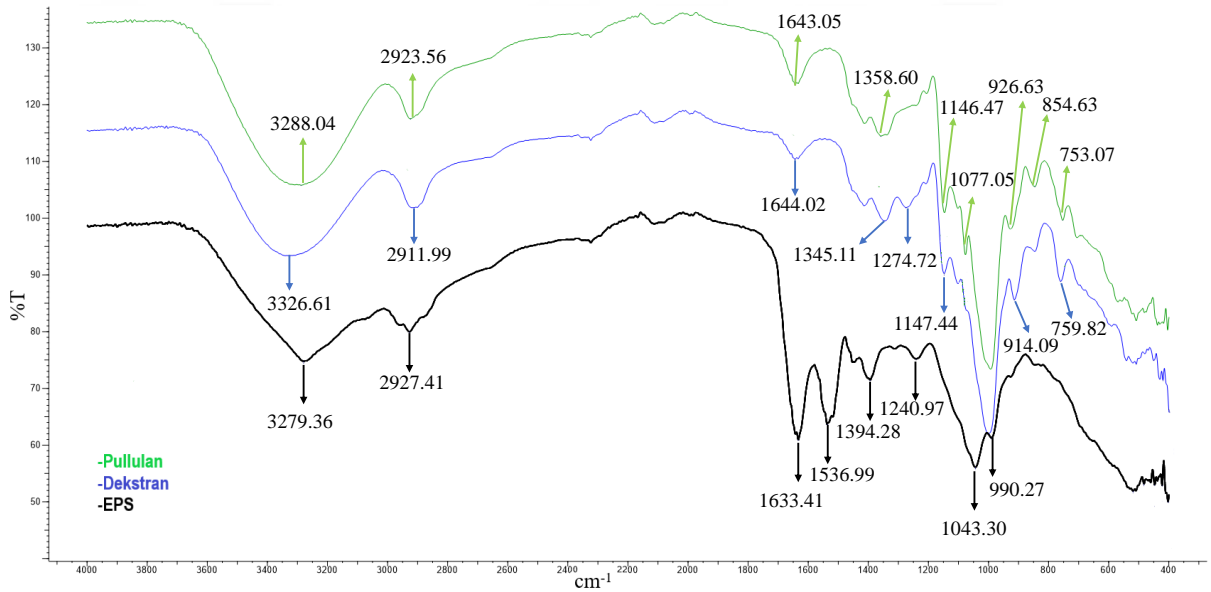
4.5. Azaltılmış Toplam Yansıtma-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrofotometre Analizi (ATR-FTIR) Sonuçları

FTIR, karmaşık karbonhidrat bileşiminin analiz edilmesi ve belirlenmesi amacıyla kullanılabilir (Lobo vd., 2021). Bu amaçla, EPS verimi en yüksek hamura ait dondurularak kurutulmuş EPS'de bulunan fonksiyonel grupları belirlemek için ATR-FTIR analizi yapılmıştır. Sonuçların ekzopolisakkarit yapısına benzerliğinin olup olmadığının yorumlanabilmesi için ticari dekstrana (Dextran from *Leuconostoc mesenteroides*, Sigma Aldrich) ve ticari pullulanada (Pullulan from *Aureobasidium pullulans*, Megazyme) ATR-FTIR analizi uygulanmıştır. Dondurularak kurutulmuş EPS, ticari dekstran ve ticari pullulana ait FTIR spektrumları Şekil 4.19'da verilmiştir.

Ticari pullulana ait FTIR spektrumunda 3288.04 cm^{-1} 'deki pikinde içinde bulunduğu geniş bant O-H gerilmesinden kaynaklanmaktadır. 2923.56 cm^{-1} 'de olan pik C-H gerilme titreşiminden, 1643.01 'de olan pik O-C-O gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. 1358.60 , 1146.57 ve 1077.05 cm^{-1} 'de görülen diğer karakteristik sinyaller, sırasıyla C-O-H gerilmesi, C-O-C gerilmesi, C-O gerilmesinden kaynaklanmaktadır. Polisakkaritlerdeki glukopiranozil birimlerinin konformasyonuna ilişkin bilgiler $1000\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde elde edilmektedir. (Singh vd., 2009). 854.63 cm^{-1} 'de gözlemlenen absorpsiyon, α -D-glukopiranozit birimlerinin α -konfigürasyonu olarak karakterize edilmektedir (Wang vd., 2014). Yaklaşık 854.63 ve 753.07 cm^{-1} 'deki absorpsiyonlar pullulanın $^4\text{C}_1$ sandalye formuna sahip olduğunu göstermektedir (Singh vd., 2009).

Ticari dekstrana ait FTIR spektrumunda, $3000\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki geniş pik, polisakkaritin hidroksil grubuna (O-H) karşılık gelirken, 2911.99 cm^{-1} ve 1644.02 cm^{-1} 'lik absorpsiyon bantları sırasıyla C-H gerilmesinden ve adsorbe edilmiş sudan kaynaklanmaktadır. Ayrıca 1147.44 , 914.09 ve 759.82 cm^{-1} pikleri, dekstranın karakteristik piklerine karşılık gelmektedir. Son olarak, 900 ve 1100 cm^{-1} arasındaki tepe noktası, polisakkarit glikosidik bağların C-O-C ve C-O gerilmesinden kaynaklanmaktadır (Charoenwongpaiboon, vd. 2021).

Dondurularak kurutulmuş EPS’de görülen 3000-3500 cm^{-1} arasındaki absorpsiyon bölgesi (3279.36 cm^{-1} ’de olan pik), polisakkarit yapısında yaygın olarak gözlenen şeker birimlerinin hidroksil gruplarından kaynaklanmaktadır. 2800 ve 3000 cm^{-1} arasındaki pik (2927.41 cm^{-1}) ise, örnekteki C-H’nin simetrik ve asimetrik bağlarından kaynaklanmaktadır (Hamidi vd., 2019). 1633.41 cm^{-1} ’de görülen pik asimetrik $-\text{COO}^-$ gerilmesinden, 1394.28 cm^{-1} ’de görülen pik ise simetrik $-\text{COO}^-$ gerilmesinden kaynaklanmaktadır (Moosavi-Nasab vd., 2010). FTIR spektrumunda 950-1200 cm^{-1} arasındaki bölge ekzopolisakkaritlerin parmak izi bölgeleri olarak bilinmektedir (Caccamo vd., 2020). C-O-C ve C-O gerilmeleri nedeniyle, 950–1200 cm^{-1} ’lik geniş bir spektrumda, 1043.30 cm^{-1} ’lik güçlü bir absorpsiyon görülmektedir ve bu pik, dondurularak kurutulmuş ürünün, bir polisakkarit olduğunu göstermektedir. Ayrıca bu güçlü pik, (1 → 6)-bağlı α -D glikoz birimlerinin varlığını göstermektedir (Aburas vd., 2020).



Şekil 4.19. Dondurularak kurutulmuş EPS, ticari dekstran ve ticari pullulanın FTIR spektrumları

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Tüketicilerin sağlıklı beslenme programlarına olan ilgisinin giderek artmasıyla, günümüzde unutulmaya başlanmış karakteristik tat ve dokulara sahip geleneksel ürünlere olan talep artmıştır. Tam da bu amaçla günümüzde geleneksel ürünlerin üretiminde farklı hammaddeler kullanılarak yeni lezzet ve yapıda ürünler geliştirilmektedir. Dünya’da en çok üretimi yapılan nohut tipi desi nohutken, Türkiye’de üretimi az olan bu nohutların gerek zengin besin değerleri gerekse yüksek antioksidan içerikleri nedeniyle gıdalarda kullanımı arttırılabilir. Bu nedenle çalışmamızda, geleneksel nohut mayasının üretiminde, yüksek besin içeriği ve biyoaktif bileşenlere sahip siyah nohut kullanılmıştır. Geleneksel nohut mayasının üretiminde kullanılan parametreler ve değerler siyah nohut mayasının parametrelerinin belirlenebilmesi için ayrı ayrı incelenmiş ve sonuçları değerlendirilmiştir. Belirlenen parametrelerle üretilen siyah nohut mayası, siyah nohut unu ile hazırlanan hamurlarda starter kültür olarak kullanılmıştır. Farklı fermantasyon sıcaklığı, şeker miktarı ve HV değerleri kullanılarak hazırlanan hamurlarda pH, TTA ve EPS miktarları ölçülmüş ve yanıtlar, değişkenler ve modeller arasındaki ilişki yorumlanmıştır. En yüksek EPS verimine sahip hamur belirlenmiştir. Dondurularak kurutulan EPS’nin hamurda bulunan hangi baskın mikrobiyal çeşitlilikten kaynaklandığının belirlenmesi için ve starter kültür olarak kullanılan siyah nohut mayasının mikrobiyal çeşitliliğinin belirlenebilmesi için metagenomik analizler ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Son olarak EPS’nin kimyasal yapısının belirlenebilmesi için ATR-FTIR analizi uygulanmıştır.

Çalışmada;

- Düşük hamur verimine sahip (sert yapıda) hamurların pH değerlerinin ve EPS miktarlarının, yüksek hamur verimine sahip (yumuşak yapıda) hamurlardan daha yüksek olduğu,
- Hamurların fermantasyon sıcaklığı arttıkça, pH değerlerinin ve EPS miktarlarının azaldığı, TTA değerlerinin arttığı,
- Hamurların içerdiği sakkaroz miktarı arttıkça, TTA değerlerinin azaldığı belirlenmiştir.

En yüksek EPS verimine sahip hamurun fermantasyon sıcaklığının 25 °C, sakkaroz miktarının %15 ve HV’nin 200 olduğu belirlenmiştir. Bu değerler kullanılarak yeniden üretimi yapılan hamurun pH değeri 4.93, TTA değeri %1.73 ve EPS miktarı % 2.64 bulunmuştur. FTIR analizi sonuçları ise dondurularak kurutulmuş ürünün polisakkarit olduğunu doğrulamıştır.

EPS verimi en yüksek hamur ve üretiminde kullanılan nohut mayasında mikrobiyolojik analizler uygulanmıştır. 18 saat sonunda nohut mayasında MRS agar kullanılarak yapılan LAB sayımı sonucu 7.34 log kob/mL bulunmuştur. Sayımı yapılan nohut mayası kullanılarak hazırlanan hamurun (25°C, %15, 200) fermantasyon öncesi (t=0) LAB sayımı sonucu 8.00 log kob/g, fermantasyon sonrası (t=7) LAB sayımı sonucu ise 8.88 log kob/g bulunmuştur. Yapılan sayımlar incelendiğinde, LAB miktarının fermantasyon ile arttığı belirlenmiştir.

Yapılan ITS analizlerinde, nohut mayasında baskın cinsler *Kluyveromyces* ve *Saccharomyces*, hamurda ise *Aspergillus* olarak tanımlanmıştır. Yapılan 16S rRNA analizlerinde, hamurda tanımlanan

baskın türler arasında LAB cinsine ait *L. delbrueckii* türünün nohut mayasında tanımlanan baskın türler arasında olmadığı, fermantasyon sonucu miktarının arttığı belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda, siyah nohut mayası ve siyah nohut unu kullanılarak üretilen hamurların mikrobiyal çeşitliliğinin fazla olduğu görülmüştür.



KAYNAKLAR

Abarquero, D., Renes, E., Fresno, J. M., Tornadijo, M. E. (2021). "Study of exopolysaccharides from lactic acid bacteria and their industrial applications: a review." *International Journal of Food Science & Technology*, Vol. 57, pp. 16-26.

Abedfar, A., Hosseinezhad, M. and Rafe, A. (2020). "Effect of microbial exopolysaccharide on wheat bran sourdough: Rheological, thermal and microstructural characteristics." *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 154, pp. 371-379.

Aburas, H., İspirli, H., Taylan, O., Yilmaz, M. T. and Dertli, E. (2020). "Structural and physicochemical characterisation and antioxidant activity of an α -D-glucan produced by sourdough isolate *Weissella cibaria* MED17." *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 161, pp. 648-655.

Aguilar, N., Albanell, E., Miñarro, B. and Capellas, M. (2015). "Chickpea and tiger nut flours as alternatives to emulsifier and shortening in gluten-free bread." *LWT-Food Science and Technology*, Vol. 62, No. 1, pp. 225-232.

Alajaji, S. A. and El-Adawy, T. A. (2006). "Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods." *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 19, No. 8, pp. 806–812.

Angelin, J. and Kavitha, M. (2020). "Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential." *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 162, pp. 853-865.

Arıcı, M., Özülkü, G., Yıldırım, R.M., Sağdıç O. and Durak M.Z. (2018). "Biodiversity and technological properties of yeasts from Turkish sourdough." *Food Science and Biotechnology*, Vol. 27, No. 2, pp. 499-508.

Ashokkumar, Y., (2012). *Textbook of Bakery and Confectionery*. Second Edition (Revised), PHI Learning Pvt. Ltd., Delhi, p. 244.

Ateş, Ö. and Öner, E. T. (2017). *Microbial xanthan, levan, gellan, and curdlan as food additives* (V.K. Gupta, H. Treichel, V. Shapaval, L.A. de Oliveira, and M.G. Tuohy, Editors). *Microbial Functional Foods and Nutraceuticals*, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, UK, p.149-173.

Aydın, F. and Çebi, K. (2019). "Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria From Fermented Chickpeas." Black Sea Journal of Agriculture, Vol. 2, No. 2, pp.79-85.

Baykara, P., (2006). Geleneksel nohut mayasının endüstriyel beyaz buğday unu ekmeği üretiminde kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye.

Bekatorou, A., Psarianos, C. and Koutinas, A.A. (2006). "Production of food grade yeast." Food Technol. Biotechnol., Vol. 44, No. 3, pp. 407-415.

Belhachat, D., Mekimene, L., Belhachat, M., Ferradji, A. and Aid, F. (2018). "Application of response surface methodology to optimize the extraction of essential oil from ripe berries of Pistacia lentiscus using ultrasonic pretreatment." Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plant, Vol. 9, pp. 132-140.

Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D. and Webb, C. (2003). "Cereal-based fermented foods and beverages." Food Research International, Vol. 36, No. 6, pp. 527-543.

Borresen, E. C., Henderson, A. J., Kumar, A., Weir, T. L. and Ryan, E. P. (2012). "Fermented foods: patented approaches and formulations for nutritional supplementation and health promotion." Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture, Vol. 4, No. 2, pp. 134-140.

Boyacı Gündüz, C.P. (2018). Molecular characterization of the predominant lactic acid bacteria and yeasts in the sourdough and chickpea fermentations and investigation of some lactic acid bacteria for potential starter culture usage, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, Türkiye.

Boyacı Gunduz, C. P. and Erten, H. (2022). "Yeast biodiversity in chickpea sourdoughs and comparison of the microbiological and chemical characteristics of the spontaneous chickpea fermentations." Journal of Food Processing and Preservation, Vol. 46, e16479.

Boyacı Gunduz, C. P., Gaglio, R., Franciosi, E., Settanni, L. and Erten, H. (2020). "Molecular analysis of the dominant lactic acid bacteria of chickpea liquid starters and doughs and propagation of chickpea sourdoughs with selected *Weissella confusa*." Food Microbiology, Vol. 91, 103490.

Caccamo, M. T., Gugliandolo, C., Zammuto, V. and Magazù, S. (2020). "Thermal properties of an exopolysaccharide produced by a marine thermotolerant *Bacillus licheniformis* by ATR-FTIR spectroscopy." International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 145, pp. 77-83.

Canbaş, A. (1986). “Bira, Şarap ve Yüksek Alkollü İçkilerin Üretiminde Mikroorganizmalar.” Gıda, Cilt 11, Sayı 5, ss. 283- 288.

Caplice, E. and Fitzgerald, G. F. (1999). “Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation.” International Journal of Food Microbiology, Vol. 50, No. 1-2, pp. 131-149.

Carr, F. J., Chill, D. and Maida, N. (2002). “The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey.” Critical Reviews in Microbiology, Vol., 28, No. 4, pp. 281–370.

Cauvain, S.P. (1998). Breadmaking Processes (S.P. Cauvain, L.S. Young, Editors), Technology of Breadmaking, Blackie Academic and Professional (Chapman and Hall), London, UK, p. 18-44.

Celligoi, M. A. P. C., Bersanetti, G. T., Baldo, C., da Silva, R. T. and Silveira, V. A. I. (2021). Exopolysaccharides in Fermented Foods and Their Potential Health Benefits (A. K. Rai, A. Appaiah, Editors). Bioactive Compounds in Fermented Foods, 1st Edition, CRC Press, New York, p. 159-184.

Charoenwongpaiboon, T., Wangpaiboon, K., Pichyangkura, R., Nepogodiev, S. A., Wonganan, P., Mahalapbutr, P. and Field, R. A. (2021). “Characterization of a nanoparticulate exopolysaccharide from *Leuconostoc holzapfelii* KM01 and its potential application in drug encapsulation.” International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 187, pp. 690-698.

Chavan, R. S. and Chavan, S. R. (2011). “Sourdough technology—a traditional way for wholesome foods: a review.” Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, Vol. 10, No. 3, pp. 169-182.

Chilton, S., Burton, J. and Reid, G. (2015). “Inclusion of Fermented Foods in Food Guides around the World.” Nutrients, Vol. 7, No. 1, pp. 390–404.

Codina, G.G. and Voica, D. (2010). “The influence of different forms of bakery yeast *Saccharomyces cerevisie* type strain on the concentration of individual sugars and their utilization during fermentation.” Romanian Biotechnol Lett., Vol. 15, No. 4, pp. 5417– 5422.

Corsetti, A. (2013). Technology of sourdough fermentation and sourdough applications (M. Gobbetti, M. G. Gänzle, Editors). Handbook on Sourdough Biotechnology, Springer, New York, p. 85–103.

Çebi, K. (2009). Nohut mayası ve hamurundan laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve identifikasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye.

Daba, G. M., Elnahas, M. O. and Elkhateeb, W. A. (2021). “Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications.” *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 173, pp. 79–89.

Damiani, P., Gobetti, M., Cossignani, L., Corsetti, A., Simonetti, M. S. and Rossi, J. (1996). “The sourdough microflora. Characterization of hetero- and homofermentative lactic acid bacteria, yeasts and their interactions on the basis of the volatile compounds produced.” *LWT-Food Science and Technology*, Vol. 29, No. 1-2, pp. 63-70.

Datta, R. and Henry, M. (2006). “Lactic acid: recent advances in products, processes and technologies — a review.” *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, Vol. 81, No. 7, pp. 1119–1129.

De Vuyst, L. and Neysens, P. (2005). “The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions.” *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 16, No. 1-3, pp. 43-56.

Demiray, E., Çelik, İ., Nogay, O. ve Tülek, Y. (2015). “Denizli Karahöyük Ekmeği Zıdır'ın Renk ve Tekstürel Özellikleri.” *Akademik Gıda*, Cilt 13, Sayı 3, ss. 223-228.

Dertli, E., Mercan, E., Arıcı, M., Yılmaz, M. T. And Sağdıç, O. (2016). “Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics.” *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 71, pp. 116–124.

Dulce-María, D. A., Adrián, C. R., Cuauhtémoc, R. M., Ada-Keila, M. N., Jorge, M. C., Erika, A. S. and Edith-Oliva, C. R. (2021). “Isoflavones from black chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts with antioxidant and antiproliferative activity.” *Saudi Journal of Biological Sciences*, Vol. 28, No. 1, pp. 1141-1146.

Ergene, E. and Avcı, A. (2016). “Mikrobiyel ekzopolisakkaritler.” *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, Cilt 20, Sayı 2, ss. 193-202.

Erginkaya, Z., Turhan, E. Ü. ve Özer, E. A. (2016). “Nohut mayalı ekmeğin üretimi ve hakim mikroflora.” *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 30, Sayı 1, ss. 89-99.

FAO. (2021). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> [Erişim Tarihi: 18.10.2021].

Franco, W., Pérez-Díaz, I. M., Connelly, L. and Diaz, J. T. (2020). “Isolation of exopolysaccharide-producing yeast and lactic acid bacteria from quinoa (*Chenopodium Quinoa*) sourdough fermentation.” *Foods*, Vol. 9, No., 3, 337.

Galle, S. and Arendt, E. K. (2014). “Exopolysaccharides from sourdough lactic acid bacteria.” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 54, No. 7, pp. 891–901.

Galle, S., Schwab, C., Dal Bello, F., Coffey, A., Gänzle, M. G. and Arendt, E. K. (2012a). “Influence of in-situ synthesized exopolysaccharides on the quality of gluten-free sorghum sourdough bread.” *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 155, No. 3, pp. 105-112.

Galle, S., Schwab, C., Dal Bello, F., Coffey, A., Gänzle, M. G. and Arendt, E. K. (2012b). “Comparison of the impact of dextran and reuteran on the quality of wheat sourdough bread.” *Journal of Cereal Science*, Vol. 56, No. 3, pp. 531–537.

Galli, V., Venturi, M., Coda, R., Maina, N. H. and Granchi, L. (2020). “Isolation and characterization of indigenous *Weissella confusa* for in situ bacterial exopolysaccharides (EPS) production in chickpea sourdough.” *Food Research International*, Vol. 138, 109785.

Gambuś, H., Sikora, M. and Ziobro, R. (2007). “The effect of composition of hydrocolloids on properties of gluten-free bread.” *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, Vol. 6, No. 3, pp. 61-74.

Gélinas, P. (2019). “Active Dry Yeast: Lessons from Patents and Science.” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol. 18, No. 4, pp. 1227–1255.

Gezginc, Y. and Kara, Ü. (2019). “The effect of exopolysaccharide producing *Lactobacillus plantarum* strain addition on sourdough and wheat bread quality.” *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, Vol. 11, No. 1, pp. 95-106.

Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Calasso, M., Archetti, G. and Rizzello, C. G. (2019). “Novel insights on the functional/nutritional features of the sourdough fermentation.” *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 302, pp. 103-113.

Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R. and Rizzello, C. G. (2008). Sourdough/lactic acid bacteria (E. K. Arendt, F. Dal Bello, Editors) Gluten-free Cereals Products and Beverages, 1st edition, Elsevier, Academic Press, USA, p. 267-288.

Gobbetti, M., Rizzello, C. G., Di Cagno, R. and De Angelis, M. (2014). "How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods." Food Microbiology, Vol. 37, pp. 30-40.

Gül, H., Hayıt, F., Acar, C., Kurt, N. and Dizlek, H. (2018). "Effects of chickpea-based leavening extract on physical, textural and sensory properties of white wheat bread." International Journal of Food Engineering, Vol. 14, No. 5-6, pp. 1-11.

Halkman, A. K. (2005). Merck gıda mikrobiyolojisi uygulamaları, Başak Matbaacılık, Ankara, Türkiye.

Hamidi, M., Kennedy, J. F., Khodaiyan, F., Mousavi, Z. and Hosseini, S. S. (2019). "Production optimization, characterization and gene expression of pullulan from a new strain of *Aureobasidium pullulans*." International Journal of Biological Macromolecules, Vol. 138, pp. 725-735.

Hancıoğlu-Sıkılı, Ö. (2003). Nohut mayasının mikrobiyolojik ve lezzet karakteristiklerinin araştırılması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye.

Hansen, P.M.T. (1994). Food hydrocolloids in the dairy industry (K. Nishinari, E. Doi, Editors) Food hydrocolloids: structures, properties and functions, Plenum Press, New York, p. 211-224.

Hatzikamari, M., Kyriakidis, D. A., Tzanetakis, N., Biliaderis, C. G. and Litopoulou-Tzanetaki, E. (2007a). "Biochemical changes during a submerged chickpea fermentation used as a leavening agent for bread production." European Food Research and Technology, Vol. 224, pp. 715-723.

Hatzikamari, M., Yiangou, M., Tzanetakis, N. and Litopoulou-Tzanetaki, E. (2007b). "Changes in numbers and kinds of bacteria during a chickpea submerged fermentation used as a leavening agent for bread production." International Journal of Food Microbiology, Vol. 116, No. 1, pp. 37-43.

Hofvendahl, K. and Hahn-Hägerdal, B. (2000). "Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources (1)." Enzyme and Microbial Technology, Vol. 26, No. 2-4, pp. 87-107.

Hor, P. K., Ghosh, K., Halder, S. K., Soren, J. P., Goswami, D., Bera, D., Singh, S. N., Dwivedi, S. K., Parua (Mondal), S., Hossain, M. and Mondal, K. C. (2021). "Evaluation of nutrient profile, biochemical

composition and anti-gastric ulcer potentialities of khambir, a leavened flat bread.” Food Chemistry, Vol. 345, 128824.

Houben, A., Höchstötter, A. and Becker, T. (2012). “Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production: an overview.” European Food Research and Technology, Vol. 235, pp. 195-208.

Hutkins, R.W. (2006). Microbiology and Technology of Fermented Foods, IFT Press, Blackwell Publishing, USA.

Jukanti, A. K., Gaur, P. M., Gowda, C. L. L. and Chibbar, R. N. (2012). “Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review.” British Journal of Nutrition, Vol. 108, No. S1, pp. 11-26.

Kaditzky, S. and Vogel, R. F. (2008). “Optimization of exopolysaccharide yields in sourdoughs fermented by lactobacilli.” European Food Research and Technology, Vol. 228, No. 2, pp. 291-299.

Kahraman, A. (2019). “Biodiversity of chickpea: black chickpea.” X International Agriculture Symposium, Agrosym 2019, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, pp. 408-411.

Kalkışım, Ö., Özdemir, M. ve Bayram, O. (2012). Ekmek Yapım Teknolojisi, SAGE Yayıncılık, Ankara, Türkiye.

Kasım, S. (2014). Ege Bölgesi’nde geleneksel olarak nohut mayası ile üretilen simit ekmeği yapımının optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Manisa, Türkiye.

Katina, K., Arendt, E., Liukkonen, K. H., Autio, K., Flander, L. and Poutanen, K. (2005). “Potential of sourdough for healthier cereal products.” Trends in Food Science & Technology, Vol. 16, No. 1-3, pp. 104-112.

Katsaboxakis, K. and Mallidis, K. (1996). “The microflora of soak water during natural fermentation of coarsely ground chickpea (*Cicer arietinum*) seeds.” Letters in Applied Microbiology, Vol. 23, No. 4, pp. 261-265.

Klinpratoom, B., Ontanee, A. and Ruangviriyachai, C. (2015). “Improvement of cassava stem hydrolysis by two-stage chemical pretreatment for high yield cellulosic ethanol production.” Korean Journal of Chemical Engineering, Vol. 32, No. 3, pp. 413-423.

Kohajdová, Z. and Karovičová, J. (2008). "Influence of hydrocolloids on quality of baked goods." *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, Vol. 7, No. 2, pp. 43-49.

Korakli, M., Rossmann, A., Gänzle, M. G. and Vogel, R. F. (2001). "Sucrose metabolism and exopolysaccharide production in wheat and rye sourdoughs by *Lactobacillus sanfranciscensis*." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 49, No. 11, pp. 5194-5200.

Korcz, E. and Varga, L. (2021). "Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Techno-functional application in the food industry." *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 110, pp. 375-384.

Kulp, K. (2003). Baker's yeast and sourdough technologies in the production of U.S. bread products (K. Kulp, K. Lorenz, Editors). *Handbook of Dough Fermentations*, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 101-148.

Kumar, Y., Sharanagat, V. S., Singh, L. and Mani, S. (2020). "Effect of germination and roasting on the proximate composition, total phenolics, and functional properties of black chickpea (*Cicer arietinum*)." *Legume Science*, Vol. 2, No. 1, e20.

Kutluk, T. (2021) "Mikroalg yağının lipaz katalizli hidroliz tepkimesine etki eden proses parametrelerinin istatistiksel yöntemle optimizasyonu." *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, Cilt 11, Sayı 1, ss. 111-125.

Kwon D.Y., Nyakudya, E. and Jeong, Y.S. (2014). *Fermentation: food products* (N.K. Van Alfen, Editor). *Encyclopedia of agriculture and food system*, Academic Press, Oxford, United Kingdom, p. 113-123.

Lacaze, G., Wick, M. and Cappelle, S. (2007). "Emerging fermentation technologies: development of novel sourdoughs." *Food Microbiology*, Vol. 24, No. 2, pp. 155-160.

Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N. and Biliaderis, C. (2007). "Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations." *Journal of Food Engineering*, Vol. 79, pp. 1033-1047.

Leenhardt, F., Levrat-Verny, M. A., Chanliaud, E. and Rémésy, C. (2005). "Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 53, No. 1, pp. 98-102.

Li, J. M. and Nie, S. P. (2016). "The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods." *Food Hydrocolloids*, Vol. 53, pp. 46–61.

Litchfield, J. H. (1996). "Microbiological Production of Lactic Acid." *Advances in Applied Microbiology*, Vol. 42, pp. 45–95.

Lobo, R. E., Figueroa, T., Navarro, D., Gómez, M. I., de Valdez, G. F. and Torino, M. I. (2021). "Techno-functional properties of HoPS from lactic acid bacteria of different origins as potential food additives." *Food Chemistry*, Vol. 356, 129627.

Loeffler, M., Hilbig, J., Velasco, L. and Weiss, J. (2020). "Usage of in situ exopolysaccharide-forming lactic acid bacteria in food production: Meat products—A new field of application?." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol. 19, No. 6, pp. 2932-2954.

Lynch, K.M., Coffey, A. and Arendt, E.K. (2018). "Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria: Their techno-functional role and potential application in gluten-free bread products." *Food Research International*, Vol. 110, pp. 52–61.

Malaka, R. (2021). "Bacterial exopolysaccharides production and their roles for human life." *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Vol. 788, No.1, 012109.

Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., Smid, E. J. and Hutkins, R. (2017). "Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond." *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 44, pp. 94–102.

Millán, T., Madrid, E., Cubero, J. I., Amri, M., Castro, P. and Rubio, J. (2015). *Chickpea* (M. De Ron Antonio, Editor). *Grain legumes*, Springer, New York, p. 85-109.

Mir, S. A., Shah, M. A., Naik, H. R. ve Zargar, I. A. (2016). "Influence of hydrocolloids on dough handling and technological properties of gluten-free breads." *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 51, pp. 49–57.

Moosavi-Nasab, M., Taherian, A. R., Bakhtiyari, M., Farahnaky, A. and Askari, H. (2010). "Structural and rheological properties of succinoglycan biogums made from low-quality date syrup or sucrose using *Agrobacterium radiobacter* inoculation." *Food and Bioprocess Technology*, Vol. 5, No. 2, pp. 638-647.

Narlıoğlu, G., (2013). Geleneksel nohut mayasının ve üretiminde kullanıldığı poğaçaların bazı özelliklerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, Türkiye.

Nosa-Obamwonyi, J.A. and Antai, S. (2018). “Physicochemical Properties and Bacteriological Profile of Wheat Flours Produced and (or) Sold in Calabar, Nigeria.” *Asian Research Journal of Agriculture*, Vol. 10, No. 2, pp. 1-11.

Nuralın, L., Tosun, A., Erol, F., Akgün, F. B. ve Gürü, M. (2017). “Süper kritik CO₂ özütlemesi ile iğde çekirdeklerinden quercetin miktarının yüzey cevap metodu ile optimizasyonu.” *Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, Cilt 32, Sayı 4, ss. 1233-1242.

Nwodo, U. U., Green, E. and Okoh, A. I. (2012). “Bacterial exopolysaccharides: functionality and prospects.” *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 13, No. 11, ss. 14002-14015.

Özkaya, B. (1992). Starter kültür olarak paket mayası eksi hamur mayası ve nohut mayasının hamurun reolojik özellikleri ve ekmegin kalitesine etkileri, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Ana Bilim Dalı, Erzurum, Türkiye.

Pansuriya, R. C. and Singhal, R. S. (2010). “Response surface methodology for optimization of production of lovastatin by solid state fermentation.” *Brazilian Journal of Microbiology*, Vol. 41, No. 1, pp. 164-172.

Pasqualone, A., De Angelis, D., Squeo, G., Difonzo, G., Caponio, F. and Summo, C. (2019). “The effect of the addition of Apulian black chickpea flour on the nutritional and qualitative properties of durum wheat-based bakery products.” *Foods*, Vol. 8, No. 10, 504.

Paterson, A. and Piggott, J. R. (2006). “Flavour in sourdough breads: a review.” *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 17. No. 10, pp. 557-566.

Poutanen, K., Flander, L. and Katina, K. (2009). “Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective.” *Food Microbiology*, Vol. 26, No. 7, pp. 693-699.

Purushothaman, R., Upadhyaya, H. D., Gaur, P. M., Gowda, C. L. L. and Krishnamurthy, L. (2014). “Kabuli and desi chickpeas differ in their requirement for reproductive duration.” *Field Crops Research*, Vol. 163, pp. 24-31.

Prete, R., Alam, M. K., Perpetuini, G., Perla, C., Pittia, P. and Corsetti, A. (2021). “Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides Producers: A Sustainable Tool for Functional Foods.” *Foods*, Vol. 10, No. 7, 1653.

Rana, S. and Upadhyay, L. S. B. (2020). “Microbial exopolysaccharides: Synthesis pathways, types and their commercial applications.” *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 157, pp. 577-583.

Ray, R. C. and Joshi, V. K. (2014). *Fermented foods: Past, present and future* (R. C. Ray, M. Didier, Editors). *Microorganisms and Fermentation of Traditional Foods*, CRC Press, London, Newyork, p. 1– 36.

Rosca, I., Petrovici, A. R., Peptanariu, D., Nicolescu, A., Dodi, G., Avadanei, M., Ivanov, I.C., Bostanaru, A.C., Mares, M. and Ciolacu, D. (2018). “Biosynthesis of dextran by *Weissella confusa* and its in vitro functional characteristics.” *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 107, pp. 1765-1772.

Rosell, C., Rojas, J.A. and Barber, C.B. (2001). “Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality.” *Food Hydrocolloids*, Vol. 15, pp. 75-81.

Ross, R.P., Morgan, S. and Hill, C. (2002). “Preservation and fermentation: past, present and future.” *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 79, pp. 3-16.

Rossi, M., Germondari, I. and Casini, P. (1984). “Comparison of chickpea cultivars: chemical composition, nutritional evaluation, and oligosaccharide content.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 32, No. 4, pp. 811-814.

Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J. and Zoon, P. (2002). “An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria.” *International Dairy Journal*, Vol. 12, No. 2-3, pp. 163-171.

Rundla, A., Mishra, A. A. and Shukla, R. N. (2018). “Studies on Physical and Organoleptic Properties of Osmotically Dehydrated Carrot (*Daucus carota* L.) Slices.” *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, Vol. 7, No. 9, pp. 2457-2468.

Rühmkorf, C., Jungkunz, S., Wagner, M. and Vogel, R. F. (2012). “Optimization of homoexopolysaccharide formation by lactobacilli in gluten-free sourdoughs.” *Food Microbiology*, Vol. 32, No. 2, pp. 286-294.

Sabanis, D. and Tzia, C. (2011). “Effect of hydrocolloids on selected properties of gluten-free dough and bread.” *Food Science and Technology International*, Vol. 17, No. 4, pp. 279–291.

Sakandar, H. A., Hussain, R., Kubow, S., Sadiq, F. A., Huang, W. and Imran, M. (2019). “Sourdough bread: A contemporary cereal fermented product.” *Journal of Food Processing and Preservation*, Vol. 43, No. 3, e13883.

Sayaslan, A. and Şahin, N. (2018). “Effects of fermented-chickpea liquor (chickpea yeast) on whole-grain wheat flour bread properties.” *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, Vol. 10, No. 2, pp. 183-192.

SBB. (2021a). Dokuzuncu Kalkınma Planı (2007-2013) Özel İhtisas Komisyonu Raporları, Gıda Sanayii Özel İhtisas Komisyonunun Raporu. 12.08.2021 tarihinde https://www.sbb.gov.tr/wp-content/uploads/2018/11/09_G%C4%B1daSanayii.pdf. adresinden erişildi.

SBB. (2021b). On Birinci Kalkınma Planı (2019-2023) Özel İhtisas Komisyonu Raporları, Tarım ve Gıdada Rekabetçi Üretim Özel İhtisas Komisyonu Raporu. 12.08.2021 tarihinde https://www.sbb.gov.tr/wp-content/uploads/2020/04/Tarim_ve_GidadaRekabetciUretimOzelIhtisasKomisyonuRaporu.pdf. adresinden erişildi.

Sciarini, L. S., Ribotta, P. D., León, A. E. and Pérez, G. T. (2010). “Effect of hydrocolloids on gluten-free batter properties and bread quality.” *International Journal of Food Science & Technology*, Vol. 45, No. 11, pp. 2306–2312.

Segev, A., Badani, H., Kapulnik, Y., Shomer, I., Oren-Shamir, M. and Galili, S. (2010). “Determination of polyphenols, flavonoids, and antioxidant capacity in colored chickpea (*Cicer arietinum* L.)” *Journal of Food Science*, Vol. 75, No. 2, pp. 115-119.

Seitter, M., Fleig, M., Schmidt, H. and Hertel, C. (2019). “Effect of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis* on the processing properties of wheat doughs.” *European Food Research and Technology*, Vol. 246, pp. 461–469.

Selvasekaran, P., Roshini, F., Angalene, L. A., Sunil, T. and Chidambaram, R. (2021). Fungal Exopolysaccharides: production and biotechnological industrial applications in food and allied sectors (A.N. Yadav, Editor). Recent Trends in Mycological Research, Springer, Switzerland, p. 311-358.

Siepmann, F. B., Ripari, V., Waszczynskyj, N. and Spier, M. R. (2018). "Overview of sourdough technology: From production to marketing." Food and Bioprocess Technology, Vol. 11, No. 2, pp. 242-270.

Singh, K. B. (1997). "Chickpea (*Cicer arietinum* L.)" Field Crops Research, Vol. 53, No. 1-3, pp. 161-170.

Singh, R. S., Saini, G. K. and Kennedy, J. F. (2009). "Downstream processing and characterization of pullulan from a novel colour variant strain of *Aureobasidium pullulans* FB-1." Carbohydrate Polymers, Vol. 78, No. 1, pp. 89-94.

Singh, U., Subrahmanyam, N. and Kumar, J. (1991). "Cooking quality and nutritional attributes of some newly developed cultivars of chickpea (*Cicer arietinum*)." Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 55, No. 1, pp. 37-46.

Sönmez, V. ve Kumlay, A. M. (2021). "Adıyaman Ekolojik Koşullarında Farklı Ekim Zamanlarında Bazı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinin Verim ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi." Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, Sayı 23, ss. 656-665.

Summo, C., De Angelis, D., Ricciardi, L., Caponio, F., Lotti, C., Pavan, S. and Pasqualone, A. (2019). "Nutritional, physico-chemical and functional characterization of a global chickpea collection." Journal of Food Composition and Analysis, Vol. 84, 103306.

Şahin, N., Koyuncu, M. ve Sayaslan, A. (2018). "Glutensiz Ekmekte Nohut Mayası Kullanımının Etkileri." Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, Cilt 22, No. 4, ss. 513-524.

Tang, X., Liu, R., Huang, W., Zhang, B., Wu, Y., Zhuang, J., Omedi, J. O., Wang, F. and Zheng, J. (2018). "Impact of in situ formed exopolysaccharides on dough performance and quality of Chinese steamed bread." LWT, Vol. 96, pp. 519-525.

Tangüler, H. (2014). "Traditional Turkish fermented cereal based products: Tarhana, boza and chickpea bread." Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, Vol. 2, No. 3, pp. 144-149.

Thakur, I. S., Kumar, M., Varjani, S. J., Wu, Y., Gnansounou, E. and Ravindran, S. (2018). “Sequestration and utilization of carbon dioxide by chemical and biological methods for biofuels and biomaterials by chemoautotrophs: opportunities and challenges.” *Bioresource Technology*, Vol. 256, pp. 478-490.

Tieking, M. and Gänzle, M.G. (2005). “Exopolysaccharides from cereal-associated lactobacilli.” *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 16, 79e84.

Toğay, Y., Toğay, N., ÇİĞ, F. and Akkoc, G. (2019). “Determination of some quality criteria and nutrient contents of local black chickpea genotypes growth in different locations.” *Applied Ecology and Environmental Research*, Vol. 17, No. 5, pp. 10575-10585.

Tsarakidou, P., Michaelidou, A. M., G. and Biliaderis, C. (2020). “Fermented Cereal-based Products: Nutritional Aspects, Possible Impact on Gut Microbiota and Health Implications.” *Foods*, Vol. 9, No. 6, 734.

TÜİK. (2021). <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=104&locale=tr>. [Erişim Tarihi: 18.10.2021].

Ünlütürk, A. ve Akbulut, N. (1984). “Ekmek Mayası Üretiminde Temel İlkeler.” *Gıda*, Cilt 9, Sayı 6, ss. 311-315.

Valerio, F., Bavaro, A. R., Di Biase, M., Lonigro, S. L., Logrieco, A. F. and Lavermicocca, P. (2020). “Effect of Amaranth and Quinoa Flours on Exopolysaccharide Production and Protein Profile of Liquid Sourdough Fermented by *Weissella cibaria* and *Lactobacillus plantarum*.” *Frontiers in Microbiology*, Vol. 11, 967.

Vasilean, I., Neagu, C., Aprodu, I. and Banu, I. (2010). “Production of Microbial Exopolysaccharides in Rye Sourdough.” *Bulletin UASVM Agriculture*, Vol. 67, No. 2, pp. 452-456.

Vuyst, L.D. and Leroy, F. (2020). “Functional role of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in cocoa fermentation processes.” *FEMS Microbiology Reviews*, Vol. 44, No. 4, pp. 432-453.

Wang, D., Ju, X., Zhou, D. and Wei, G. (2014). “Efficient production of pullulan using rice hull hydrolysate by adaptive laboratory evolution of *Aureobasidium pullulans*.” *Bioresource Technology*, Vol. 164, pp. 12-19.

Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M. and Dong, M. (2014). “Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810.” *International Journal of Biological Macromolecules*, Vol. 63, pp. 133–139.

Wolter, A., Hager, A. S., Zannini, E., Galle, S., Gänzle, M. G., Waters, D. M. and Arendt, E. K. (2014). “Evaluation of exopolysaccharide producing *Weissella cibaria* MG1 strain for the production of sourdough from various flours.” *Food Microbiology*, Vol. 37, pp. 44-50.

