

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Burcu ÖZEL

**YARI SÜREKLİ SİSTEMDE TARHANA HAMURU ÜRETİMİ İÇİN AŞILAMA
MATERYALİ FERMANTASYONUNUN OPTİMİZASYONU**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA-2021

ÖZ
DOKTORA TEZİ

**YARI SÜREKLİ SİSTEMDE TARHANA HAMURU ÜRETİMİ İÇİN
AŞILAMA MATERYALİ FERMANTASYONUNUN OPTİMİZASYONU**

Burcu ÖZEL

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Danışman: Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
Yıl: 2021, Sayfa: 132

Jüri: Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU
Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON
Prof. Dr. Remziye YILMAZ
Doç. Dr. Enes DERTLİ

Bu çalışmada fermente edilmiş tarhana hamurlarından yeni hazırlanmış taze tarhana hamurlarına ardışık pasajlamalar yapılarak, tarhana hamur fermantasyonunun optimizasyonu amaçlanmıştır. Çalışmada fermantasyondan sorumlu hamur mikrobiyotasının stabilitesi hamurlara yapılan pasajlamalar boyunca değerlendirilmiştir. Sonuçta fermantasyon sıcaklığı ve pasajlamada kullanılan fermente hamurun pH değeri fermantasyondan sorumlu mikrobiyota üzerinde etkili bulunurken; pasajlama oranlarının etkisi sınırlı kalmıştır. Tüm hamur gruplarında pasaj sayısındaki artışa bağlı olarak pasajlar arası beklenen süre sabitlenmiştir. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında üretilen organik asit ve toplam uçucu bileşen konsantrasyonları da uygulanan farklı fermantasyon koşullarından etkilenmiştir. Pasajlar arasında mikrobiyal stabilitenin en erken kazanılması, hamurların yeterli asitlik derecesine, zengin uçucu bileşen çeşitliliği ve konsantrasyonuna sahip olmasından dolayı optimum fermantasyon parametreleri; 25°C fermantasyon sıcaklığında 3,70 pH değerindeki fermente hamur ile tüm oranlarda yapılan pasajlamalar olarak önerilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen kazanımlar ile ülkemizde endüstriyel anlamda hâlen spontan fermantasyon ile gerçekleştirilen tarhana hamur fermantasyonları kontrollü şekilde yürütülebilecektir.

Anahtar kelimeler: Tarhana, Fermantasyon, Pasajlama, Metagenom, PZR-DGGE

ABSTRACT
PhD. THESIS

**OPTIMIZATION OF THE FERMENTATION OF INOCULATION
MATERIAL FOR THE PRODUCTION OF TARHANA DOUGH IN A SEMI-
CONTINUOUS SYSTEM**

Burcu ÖZEL

**CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING**

Supervisor: Prof. Dr. Hüseyin ERTEN

Year: 2021, Pages: 132

Jury : Prof. Dr. Hüseyin ERTEN

Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU

Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

Prof. Dr. Remziye YILMAZ

Assoc. Prof. Dr. Enes DERTLİ

In this study, it was aimed to optimize tarhana dough fermentation by making consecutive passages from fermented tarhana dough in order to prepare fresh tarhana dough. The stability of the dough microbiota responsible for the fermentation was evaluated during the passages to the doughs. Fermentation temperature and pH value of fermented dough used in passage were found to be effective on microbiota responsible for fermentation, while the effect of passage rates was limited. The inter-passage fermentation time was fixed depending on the increase of the passage numbers in all dough groups. Composition of organic acid and total volatile component produced during tarhana dough fermentation were also affected by different fermentation conditions. According to the executed passage numbers, using fermentation temperature of 25 °C and pH 3.70 under different fermentation ratios provided the fastest microbial stability to the dough with the sufficient acidity level and rich concentration of volatile compounds. According to the findings obtained from this study, tarhana dough fermentations, which are still performed by spontaneous fermentation in Turkey, can be carried out by a controlled manner.

Key words: Tarhana, Fermentation, Backslopping, Metagenome, PCR-DGGE

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Tarhana ülkemizde çok eskiden beri bilinen ve özellikle Anadolu insanının yaz mevsiminde kış mevsiminde tüketmek amacıyla hazırladığı ve tükettiği geleneksel fermente ürünlerimizden birisidir. Ülkemizde yöresel ve kültürel alışkanlıklar ile üretilmekte ve oldukça yaygın bir şekilde tüketilmektedir. Ayrıca bebeklerin de ilk gıdası kıymetindedir. Son yıllarda hazır çorbalara olan tüketici talebinin artması ile beraber tarhananın endüstriyel üretimi de artmıştır. Tarhananın endüstriyel üretimi evsel ölçekte yürütülüp geleneksel ve yöresel alışkanlıklara göre yapılmaktadır. Buna göre öncelikle tarhana bileşenleri olan un, yoğurt ve sebzeler karıştırılarak hamur hazırlanır, sonrasında bu hamur fermantasyona bırakılır ve yörelere göre değişmekle birlikte belirli sürelerde fermente edilir. Son aşamada ise fermente hamur kurutulur ve isteğe bağlı olarak öğütülür. Endüstriyel ölçekte gerçekleştirilen üretimlerde her yeni üretim partisinin fermantasyonu hamur formülasyonunda bulunan ham maddelerden gelen mikrobiyota ile spontane şekilde yürütülür. Dolayısıyla her yeni üretim partisine ait tarhana hamur fermantasyonu farklı mikrobiyal konsorsiyumlar ile yürütülmektedir. Fermantasyondan sorumlu bu mikrobiyotanın her partide değişken olmasının sonucunda üretimler arasında hem mikrobiyolojik hem de son ürün kalite özellikleri bakımından farklar görülmektedir. Oysaki endüstriyel üretimlerde son üründe her yönden standardizasyonun sağlanmış olması tüketici beğenisi açısından oldukça önemlidir.

Yukarıda tanımlanan ve bu tezin konusunu oluşturan sorun çerçevesinde hem mikrobiyolojik hem de son ürün kalite özellikleri bakımından her zaman aynı özellikleri gösteren tarhana üretimi için tarhana hamur fermantasyonunun optimize edilmesi gerekir. Söz konusu optimizasyon ile hamurdaki mikrobiyotanın her yeni üretimde aynı olması sağlanabilir. Tarhana hamur fermantasyonunun optimizasyonu eski bir biyoteknolojik teknik olan pasajlama ile mümkündür. Bu teknik kapsamında bir önceki üretime ait fermente hamur, yeni hazırlanmış taze hamura aşılama materyali olarak inoküle edilir. Böylece yeni hazırlanmış taze hamurun

fermantasyonu, bir önceki üretime ait hamurdan gelen baskın ve aktif mikrobiyota ile sürdürülmüş olur. Bu uygulama her yeni üretim partisinin hamuruna uygulandığı takdirde tüm partilerin tarhana hamurları aynı mikrobiyota ile fermente edilmiş olur.

Bu tezin amacı; fermente edilmiş tarhana hamurlarını yeni hazırlanmış taze tarhana hamurlarında aşılama materyali olarak kullanıp, her yeni partinin hamur fermentasyonunun pasajlar boyunca aynı, aktif ve stabil mikrobiyota ile gerçekleştirilmesini sağlayarak, tarhana hamur fermentasyonunu optimize etmektir. Bu amaçla belli pH değerine ulaşmış fermente tarhana hamuru, yeni hazırlanmış taze tarhana hamuruna farklı oranlarda pasajlanmış ve söz konusu uygulama çalışma kapsamında yer alan hamurlarda 7 defa tekrarlanmıştır. Bu çalışmada tarhana hamur fermentasyonunun optimizasyonu için kullanılan parametreler sırasıyla; fermentasyon sıcaklığı, pasajlamada kullanılan fermente hamurun (aşılama materyali) pH değeri ve yeni hazırlanmış taze tarhana hamurlarına yapılacak olan pasajlama oranı olmuştur. Söz konusu parametrelerin sayısal değerleri ise sırasıyla; 25 ve 30°C sıcaklık, $3,70 \pm 0,05$ ve $4,00 \pm 0,05$ pH değeri ve %5, %10, %15 pasajlama oranları şeklindedir.

Tarhana hamurlarında farklı oranlarda yapılan pasajlama, hamur pH değerinin çalışma deseninde yer alan hedef pH değerine ulaşması için gereken fermentasyon süresinin kısaltılması açısından etkili olmamıştır. Ancak pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında pasajlar arası beklenen süre ileri pasaj sayılarında sabitlenmiştir. Söz konusu sabitlenen fermentasyon süreleri her hamur grubunda uygulanan farklı fermentasyon parametrelerine göre değişmiştir.

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarından hedef pH değerine ulaştıklarında alınan hamur örneklerinde belirlenen asitlik dereceleri hamur grupları arasında farklı bulunurken, aynı hamur grubunun farklı pasaj sayılarına ait hamurlarda benzer bulunmuştur. Özellikle 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurların asitlik derecelerinin henüz 10,00 değerine ulaşamadıkları görülmüştür.

Tüm hamur gruplarının farklı pasaj sayılarına ait hamurlarında belirlenen LAB, TMAB ve maya küf hücre sayıları birbirlerine yakın değerlerde bulunmuştur. Ancak her hamur grubunun kendi arasında olacak şekilde farklı pasaj sayılarına ait hamurlarında LAB, TMAB ve maya-küf hücre sayıları bakımından istatistiksel farklar bulunmuştur ($p<0,05$).

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamur fermentasyonlarının ileri pasaj sayılarında hamur mikrobiyotasının stabil ve benzer olduğu görülmüştür. Kültüre bağımlı ve kültürden bağımsız tanımlama analizlerinin ortak sonucu olarak; tarhana hamur fermentasyonlarında farklı oranlarda pasajlama yapılmasının hamur mikrobiyotası üzerinde etkisi sınırlı olmuştur. Diğer yandan; pasajlamada kullanılan fermente tarhana hamurunun pH değeri ve fermentasyon sıcaklığı ise hamurlardaki mikrobiyota çeşitliliğini önemli derecede etkilemiştir. Çalışmada yer alan tüm hamur gruplarında ortak ve baskın LAB biyotası; *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *Levilactobacillus brevis* ve *Companilactobacillus alimentarius* türleri olarak belirlenmiş, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* türleri ise sadece 30°C’de gerçekleştirilen fermentasyonlarda tanımlanmıştır. Bahsedilen LAB türlerinin dışında 25°C sıcaklıkta fermente edilen hamur gruplarında *Leuconostoc citreum* ve *Lacticaseibacillus casei*, 30°C sıcaklıkta fermente edilen hamur gruplarında ise *Lactiplantibacillus fabifermentans* ve *Limosilactobacillus fermentum* türleri belirlenmiştir. Pasajlamada kullanılan fermente hamurun pH değeri, tarhana hamur fermentasyonundan sorumlu maya mikrobiyotasını da etkilemiştir. Tüm hamur gruplarında var olduğu belirlenen tek ortak maya türü ise *Candida humilis* olarak belirlenmiş, bunun dışında hamur mikrobiyotasında fermentasyondan sorumlu diğer maya türleri; 25°C sıcaklıkta fermente edilen hamur gruplarında *Pichia kluyveri*, *Kazachstania bulderi* ve *Pichia membranifaciens*, 30°C sıcaklıkta fermente edilen hamur gruplarında ise ayrıca *Saccharomyces cerevisiae* türleri olarak belirlenmiştir.

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının laktik ve asetik asit miktarları ardışık pasaj sayılarına ait hamurlarında birbirine yakın değerlerde

bulunmuştur. Ayrıca çalışmada hamurlara uygulanan farklı fermantasyon sıcaklığı ve farklı pH değerinde fermente tarhana hamuru ile pasajlama yapılması, örneklerde belirlenen toplam uçucu bileşen konsantrasyonları üzerinde de etkili bulunmuştur. Tüm hamur grupları içerisinde toplam uçucu bileşen konsantrasyonu en yüksek olan grup 25°C sıcaklıkta 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile %5 oranında pasajlanan hamur grubu (97688,7 µg/kg) olmuştur. Pasajlamada kullanılan fermente tarhana hamurlarının pH değerleri ve fermantasyon sıcaklıkları, hamurlardaki uçucu bileşenlerin çeşit ve konsantrasyon bakımından gruplandırılmasında ayırıcı etkenler olmuştur. Hamurlara uygulanan farklı pasajlama oranlarının uçucu bileşen profili üzerine anlamlı bir etki oluşturmadığı belirlenmiştir.

Pasajlar arasında mikrobiyal stabilitenin en erken kazanılması, hamurların yeterli asitlik derecesine, zengin uçucu bileşen çeşitliliğine ve konsantrasyonuna sahip olmasından dolayı optimum fermantasyon parametreleri; 25°C fermantasyon sıcaklığında 3,70 pH değerindeki fermente hamur ile tüm oranlarda yapılan pasajlamalar olarak önerilmiştir. Çalışmada önerilen parametreler ile fermente edilen hamurlar endüstriyel tarhana üretimlerinde aşılama materyali olarak kullanılması halinde tarhana üretiminde standardizasyon sağlanabilecektir.

TEŞEKKÜR

Tezimin her anında değerli fikirlerini ve bilgi birikimlerini benden esirgemeyen, beni yönlendiren ve cesaretlendiren sayın danışmanım Prof. Dr. Hüseyin ERTEN ve sayın eş danışmanım Prof. Dr. Ömer ŞİMŞEK'e, kıymetli jüri üyelerim sayın Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON, Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU, Prof. Dr. Remziye YILMAZ ve Doç. Dr. Enes DERTLİ'ye, sevgili yol arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Halil İbrahim Kaya, Gıda Yüksek Mühendisleri Elif Taşdelen ve Tülin Yılmaz, Araş. Gör. Dr. Bilal Ağırman'a ve aroma analizlerimde yardımlarını aldığım Araş. Gör. Dr. Nilgün Özdemir'e teşekkür ederim.

Katkılarından dolayı Tez İzleme Komitesi Üyeleri'ne, çalışmamın gerçekleşmesinde maddi desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi'ne (Proje no: FDK-2017-7769) teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasını, iyi ve kötü her anımda yanımda hissettiğim, maddi manevi destekçim biricik eşime, bugünlere gelmemde emeği geçen, beni büyüten, okutan aileme, moral kaynağım olan tüm arkadaşlarıma ve iki gözümün nuru, hayat enerjim sevgili kızım İpek'e adıyorum.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET.....	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
2.1. Tarhananın Tanımı ve Tarihçesi.....	5
2.2. Tarhana Çeşitleri.....	6
2.2.1. Un Tarhanası.....	8
2.2.2. Göce Tarhanası.....	8
2.2.3. İrmik Tarhanası.....	8
2.2.4. Karışık Tarhana.....	8
2.3. Tarhananın Kimyasal Bileşimi ve Besleyici Değeri.....	9
2.4. Tarhana Hamuru Fermantasyonunun Mikrobiyotası.....	12
2.4.1. Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri.....	14
2.4.2. Mayaların Genel Özellikleri.....	20
2.5. Tarhananın Aromatik Karakteristiği.....	21
2.6. Tarhana Üretim Yöntemleri.....	25
2.7. Pasajlama Tekniği.....	27
3. MATERYAL VE METOT.....	33
3.1. Tarhana Hamurlarının Hazırlanması ve Fermantasyonu.....	33
3.2. Tarhana Hamurlarında pH ve Toplam Titrasyon Asitliği Analizi.....	34
3.3. Tarhana Hamurlarında Mikrobiyolojik Analizler.....	35

3.4. Tarhana Hamurlarında PZR-DGGE Analizi.....	35
3.5. Tarhana Hamurlarında Kültüre Bağımlı LAB tanımlama analizi.....	37
3.6. Tarhana Hamurlarında Metagenom Analizi.....	38
3.7. Tarhana Hamurlarında Organik Asit Analizi.....	40
3.8. Tarhana Hamurlarında Uçucu Aroma Bileşen Analizi.....	41
3.9. İstatiksel Analizler.....	42
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	45
4.1. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının pH Değişimleri.....	45
4.2. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının Asitlik Dereceleri.....	54
4.3. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının Mikrobiyolojik Özellikleri.....	57
4.4. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarındaki LAB ve Maya Tür Çeşitliliğine Pasajlamanın Etkisi.....	65
4.5. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının LAB ve Maya Tür Çeşitliliği.....	72
4.6. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının Organik Asit İçeriği.....	82
4.7. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının Uçucu Bileşen İçeriği.....	87
5. SONUÇ.....	101
KAYNAKÇA.....	105
ÖZGEÇMİŞ.....	123
EKLER.....	125
Ek 1 Tüm gruplara ait hamurlarda belirlenen laktik ve asetik asit konsantrasyonları (mg/100g).....	127
Ek 2 Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında belirlenen uçucu bileşenlerin isimleri ve konsantrasyonları (µg/kg).....	128

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 2.1. Türkiye’de tüketilen tarhana eşitleri.....	7
Çizelge 2.2. Tarhanada tanımlanan LAB türlerinin yeni simlendirmeleri.....	16
Çizelge 2.3. Şekerleri fermente etme özelliklerine göre bazı LAB türleri.....	17
Çizelge 2.4. Endüstride direkt üretim metodu ile tarhana üretiminde gereken bileşenler.....	26
Çizelge 2.5. Endüstride ekşi hamur üretim metodu ile tarhana üretiminde gereken bileşenler.....	27
Çizelge 3.1. Hamur gruplarında kullanılan fermentasyon parametreleri.....	34
Çizelge 3.2. PZR-DGGE analizinde %25, %30, %50 ve %60’lık denatüre çözeltinin hazırlanmasında kullanılan temel bileşenler ve oranları....	36
Çizelge 4.1. 25°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasajlama zamanları ve fermentasyon boyunca hamurların pH değişimleri.....	47
Çizelge 4.2. 25°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasajlama zamanları ve fermentasyon boyunca hamurların pH değişimleri.....	49
Çizelge 4.3. 30°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasajlama zamanları ve fermentasyon boyunca hamurların pH değişimleri.....	51
Çizelge 4.4. 30°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasajlama zamanları ve fermentasyon boyunca hamurların pH değişimleri	53
Çizelge 4.5. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının asitlik dereceleri	55
Çizelge 4.6. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının asitlik dereceleri.....	56

Çizelge 4.7. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarında belirlenen LAB hücre sayıları (log kob/g).....	60
Çizelge 4.8. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarında belirlenen LAB hücre sayıları (log kob/g).....	61
Çizelge 4.9. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarında belirlenen TMAB ve maya-küf hücre sayıları (log kob/g)	62
Çizelge 4.10. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarında belirlenen TMAB ve maya-küf hücre sayıları (log kob/g).....	63
Çizelge 4.11. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında 16S rDNA analizi ile tanımlanan türler.....	78
Çizelge 4.12. Tüm grupların son pasaj hamurlarında belirlenen laktik ve asetik asit miktarları bağlı olarak hesaplanan fermentasyon katsayıları.....	86
Çizelge 4.13. Pasajlanarak fermente edilen tarhanalarda belirlenen uçucu bileşenler.....	90

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1. LAB’nde görülen metabolik öngüler.....	19
Şekil 3.1. Laktik asit standart ğrisi.....	41
Şekil 3.2. Asetik asit standart ğrisi.....	41
Şekil 4.1. 25°C sıcaklıkta 3,70±0,05 pH değeriindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda LAB çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri.....	66
Şekil 4.2. 25°C sıcaklıkta 4,00±0,05 pH değeriindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda LAB çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri.....	66
Şekil 4.3. 30°C sıcaklıkta 3,70±0,05 pH değeriindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda LAB çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri.....	68
Şekil 4.4. 30°C sıcaklıkta 4,00±0,05 pH değeriindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda LAB çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri.....	68
Şekil 4.5. 25°C sıcaklıkta 3,70±0,05 pH değeriindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda maya çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri.....	70
Şekil 4.6. 25°C sıcaklıkta 4,00±0,05 pH değeriindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda maya çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri	70
Şekil 4.7. 30°C sıcaklıkta 3,70±0,05 pH değeriindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda maya çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri	71
Şekil 4.8. 30°C sıcaklıkta 4,00±0,05 pH değeriindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda maya çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri	71

Şekil 4.9. Hamurlarda metagenomik analizi ile tanımlanan LAB türleri.....	75
Şekil 4.10. 16S rDNA tanımlaması için toplanan izolatlardan elde edilen GTG5 profillerinin benzerliklerine göre kümelendirilmiş hali.....	76
Şekil 4.11. 16S rDNA tanımlaması için toplanan izolatlardan elde edilen GTG5 profillerinin benzerliklerine göre kümelendirilmiş hali.....	77
Şekil 4.12. Hamurlarda metagenomik analizi ile tanımlanan maya türleri.....	80
Şekil 4.13. Tüm hamur gruplarının son iki pasajına ait örneklerinde belirlenen laktik asit miktarları (mg/100g).....	84
Şekil 4.14. Tüm hamur gruplarının son iki pasajına ait örneklerinde belirlenen asetik asit miktarları mg/100g).....	86
Şekil 4.15. Tüm hamurlarda belirlenen toplam uçucu bileşen konsantrasyonları.....	89
Şekil 4.16. Tarhana hamurlarında uçucu bileşik profillerinin ısı haritası.....	92
Şekil 4.17. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının aromatik profili ile fermantasyon parametreleri arasındaki ilişkiyi gösteren PCA analizi.....	94
Şekil 4.18. Uçucu aroma bileşikleri ve fermantasyon parametreleri arasındaki kısmi en küçük kareler regresyon (PLS-R) grafiği.....	95

SİMGELER VE KISALTMALAR

yy	: Yüzyıl
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
µg	: Mikrogram
g	: Gram
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
M	: Molarite
mM	: Milimolar
N	: Normalite
dk	: Dakika
sn	: Saniye
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
cm	: Santimetre
nm	: Nanometre
ml	: Mililitre
ppm	: Milyonda bir
V	: Volt
kob	: Koloni oluşturan birim
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
DGGE	: Denatüre edici gradiyent jel elektroforezi
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
GCMS	: Gaz kromatografisi kütle spektrofotometresi
SPME	: Katı faz mikroekstraksiyon tekniği
DNA	: Deoksiribonükleik asit
rDNA	: Ribozomal deoksiribonükleik asit
OTU	: Operasyonel taksonomik kümeleme

APS : Amonyum per sülfat
TEMED : Tetrametiletilendiamin
LAB : Laktik asit bakterileri
PCA : Plate counte agar
TMAB : Toplam mezofilik aerobik bakteri
DRBC : Dichloran rose bengal chloramphenicol agar
MRS : De man, rogosa and sharpe agar
NaOH : Sodyum hidroksit
HClO₄ : Hidroperklorik asit
PCA : Temel bileşen analizi
PLS-R : En küçük kareler regresyon

1. GİRİŞ

Her ülkenin kendi kültürü ile özdeşleşmiş geleneksel fermente gıdaları mevcuttur. Orta Asya'dan Anadolu'ya tarihsel süreç içinde gelişerek ulaşmış olan tarhana da ülkemiz için önemli örneklerden birisidir. Hazır çorbalara ve geleneksel gıdalara artan ilgi ve çalışma hayatının yoğunluğu nedeniyle evsel üretiminin yapılamaması son yıllarda tarhananın endüstriyel ölçekte üretimini artırmıştır. Nitekim Türkiye genelinde endüstriyel tarhana üretici sayısı 200'ün üzerine çıkmıştır ve bu sayı hızla yükselmeye devam etmektedir.

Geleneksel ve mevcut endüstriyel üretimlerde tarhana fermantasyonu kesikli proseslerle gerçekleştirilmektedir. Tarhananın endüstriyel üretiminde hazırlanan hamur açık teknelere doldurulduktan sonra üzeri ıslak bir bez ile örtülür ve oda koşullarında bekletilerek fermantasyonu gerçekleştirilir. Fermantasyon süresince hamur düzenli aralıklarla karıştırılır ve yeterli asitlenmenin gerçekleşmesi için beklenir. Türk Standartları Enstitüsü TS2282'ye göre tarhana hamurunda %67'lik etil alkole geçen asitlik değerinin 10-35 aralığında olması istenir. Buna göre tarhana fermantasyonunun süresi 10-35 asitlik aralığına ulaşınca kadardır. Yeterli asitlik sağlandıktan sonra fermantasyon sonlandırılır. Bir sonraki tarhana üretimi sıralanan bu süreçlerin tekrarıyla yürütülür. Endüstriyel ölçekte her yeni tarhana partisinin fermantasyonu spontane yapılan şans inokülasyonu ile gerçekleştirilir. Bu yüzden üretimler arasında hem mikrobiyolojik hem de son ürün kalite özellikleri bakımından farklar görülebilmektedir. Bu durum tüketici beğenisini olumsuz etkilemektedir. Diğer yandan fermantasyon başında başlatıcı mikrobiyotanın yeterli sayıda bulunmaması fermantasyon süresinin uzamasına dolayısıyla üretimde zaman ve enerji kayıplarına da neden olmaktadır.

Tarhananın gerek kimyasal gerek mikrobiyolojik özelliklerinin oluşmasında üç önemli husus bulunmaktadır. Bunlardan birincisi hamur bileşiminde yer alan ham madde çeşitliliği, ikincisi hamur fermantasyonu ve sonuncusu ise fermantasyon sonrası uygulanan (kurutma, öğütme vb.) teknolojik işlemlerdir. Endüstriyel

üretimlerde her zaman standart ve arzu edilen özellikteki tarhananın üretilmesi için öncelikle formülasyonda yer alan ham madde çeşitliliğine dikkat edilmelidir. Örneğin üretimlerde kullanılacak un, yoğurt vb. gibi bileşenlerin tekrarlanan üretimler süresince aynı kalite ve mikrobiyolojik özelliklerde olması gerekir. Çünkü hamuru oluşturan ham maddelerin mikrobiyolojik özellikleri hamur fermantasyonunda aktif rol oynayan mikrobiyota kompozisyonunu doğrudan etkilemektedir. Ham maddede gerekli hassasiyetin sağlanmasından sonra dikkat edilecek ikinci husus ise tarhana hamur fermantasyonunun optimize edilmesidir. Çünkü tarhananın kimlik özelliklerinin oluşmasında en önemli üç basamaktan bir diğeri de hamurun fermantasyonudur. Hamur fermantasyonundan sorumlu mikrobiyota çeşitli LAB ve maya türlerinden oluşur. Söz konusu mikrobiyota fermantasyonda uygulanan parametrelere ve az önce bahsedilen ham madde çeşitliliğine göre üretimler arasında değişkenlik gösterebilir. Oysa endüstriyel üretimlerde ürünün standardize edilmiş şekilde üretilmesi önem arz eder. Ham madde çeşitliliğinin kontrollü şekilde kullanılması hâlinde hamur fermantasyonundaki mikrobiyota da eski bir biyoteknolojik uygulama olan pasajlama ile stabilize edilebilir. Pasajlama uygulamasında bir önceki üretimden alınan sağlıklı ve aktif mikrobiyota içeren fermente hamur, fermantasyon başlatılmadan önce taze hazırlanmış hamura aşılama materyali olacak şekilde ilave edilir. Böylece yeni hazırlanmış taze tarhana hamurunun fermantasyonu yüksek sayıda aktif, canlı ve stabil mikrobiyota ile başlatılmış olur. Böylece tarhana üretiminde önemli olan hamur fermantasyonu basamağı da kontrollü şekilde, sürekli aynı konsorsiyumlar tarafından yürütülmüş olur. Bilindiği gibi tarhananın kendine has çoğu duyuşal özelliği (organoleptik, aromatik, asitlik özellikleri vb.) mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen fermantasyon basamağında oluşmaktadır. Dolayısıyla hamur fermantasyonunun optimizasyonu dolaylı yoldan tarhananın söz konusu duyuşal özelliklerini de büyük oranda optimize edecektir.

Geçmişten geleceğe uzanan geleneksel gıdamız olan tarhananın hamur fermantasyonunun optimizasyonu ile endüstriyel tarhana üretimlerinde kullanılmak

üzere bir aşılama materyali geliştirilmiş olunacaktır. Söz konusu aşılama materyalinin kullanımı hâlen uygulaması devam eden şans inokülasyonlarının tarhana üretiminde neden olduğu sorunları ortadan kaldıracak, endüstriyel tarhana üretimine yeni bir uygulama sağlanmış olunacaktır.





2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Tarhananın Tanımı ve Tarihçesi

Tarhana, buğday unu, yoğurt, ekşi hamur ile çeşitli sebze ve baharatların (domates, kırmızı biber, soğan, nane, tuz vb.) karıştırılıp, fermente ((laktik asit bakterileri (LAB) ve mayalar vasıtasıyla) edildikten sonra kurutulması ile elde edilen geleneksel fermente bir üründür. Türk Standartları Enstitüsü (TSE) ise tarhanayı “buğday unu veya kırması veya irmik veya bunların karışımı ile yoğurt, biber, tuz, soğan, domates, tat ve koku verici, sağlığa zararsız bitkisel maddelerin (dere otu, nane, tarhana otu, vb.) karıştırılıp yoğrulduktan ve fermente edildikten sonra kurutulması, öğütülmesi ve elenmesiyle elde edilen bir gıda maddesi” olarak tanımlamaktadır (Anonymous, 2002). Tarhana yurdumuzda daha çok çorba olarak tüketilmekle birlikte değişik yörelerde tüketim alışkanlıkları ve farklı üretim tekniğine bağlı olarak topak veya plaka halinde üretilip kurutulduktan sonra çerez gibi de tüketilebilmektedir (Erbaş, 2003).

Bugüne kadar yaşamış her toplumun kültürel özelliklerini ve yöresel geleneklerini yansıtan kendine özgü beslenme ve mutfak kültürleri olmuştur. Belirli bir yöreye ait gibi görülen bazı ürünler başka yörelerde aynı ya da başka isimlerle içeriği biraz değiştirilerek üretilmekte ve tüketilmektedir. Türkler de tarih boyunca çeşitli uygarlıklardan etkilenerek zengin bir yemek kültürüne sahip olmuşlardır. Tarhana da bu zengin yemek kültürünün önemli bir parçasıdır. İncelenen tarihi eserlerde geçmişi hakkında kesin bir kayda rastlanılmamış olmasına rağmen tarhananın Orta Asya’dan göç eden Türklerle Anadolu’ya geldiği ve buradan da Yakın Doğu ülkelerine yayıldığı tahmin edilmektedir (Siyamoğlu, 1961). Yemek kitabı yazarı Maria Johnson tarafından tarhananın menşei hakkında iki önemli teori belirtilmiştir. Yazar, ilk teorisinde tarhananın özellikleri bakımından Çinlilerin buharda pişmiş veya haşlanmış hamur işlerine benzerliğini vurgulamaktadır. Eserinde Çin kültürü ile çok yakın ilişkisi olan Türklerin tarhanayı da benzer biçimde hazırladığını ve bu yiyeceğin Türklerle birlikte Orta Asya’dan İstanbul’a kadar

geldiğini ve oradan da Osmanlı İmparatorluğu yolu ile Orta Doğu'ya, Balkanlar'a ve diğer Doğu Avrupa ülkelerine yayıldığını belirtmiştir. Yazarın tarhananın menşei hakkında ortaya sürdüğü diğer teorisine göre ise ortada hiç Çin etkisi yoktur. Yazar, eserinde bazı göçebe Türk kavimlerinin 6. ve 7. yüzyıllarda (yy.) yerleşik bir düzeni benimseyip buğday yetiştiriciliğine geçtiğine dikkat çekerek, bunların da tarhana üretiminde kullanıldığını belirtmiştir (Güler, 1993).

Çeşitli tarihi eserlerde tarhana hakkında farklı bilgiler yer almaktadır. Örneğin, Divan-ı Lügat-it Türk'te tarhanayı kasteden yalnızca “tar” kelimesine rastlanmıştır. Eserde “tar” kelimesi yazdan kış için toplanıp saklanan bir çeşit yoğurt, olarak açıklanmaktadır (Atalay, 1991). 16. yy. 'da yaşamış olan Mütercim Asım Efendi'nin “Burhan'ı Katı” adlı eserinde İran'da yapılan tarhana anlatılmaktadır. Tarhananın Türkiye'de “terhuvane” veya “terhane” adı ile bulunduğu birkaç çeşidinin olduğu belirtilmektedir. Bir çeşidinin tarifi şöyle verilmiştir: Bir miktar hurde bulguru edviyeyi hare ile gereği gibi kaynatıp tamamen kıvamını bulduktan sonra üzerine biraz koruk suyu veyahud süd döküp yoğururlar, küçük küçük yumak kesip iktiza ettikçe kaynadup tenavül ederler (Siyamoğlu, 1961). 17. yy. 'da yaşamış olan Evliya Çelebi'nin “Seyahatname” adlı eserinde tarhana hanlarından bahsedilmektedir (Yücecan ve ark, 1988).

2.2. Tarhana Çeşitleri

Anadolu kültürünün değişmez lezzet unsurlarından olan tarhananın yapımı ve içeriği bölgeden bölgeye hatta yöreden yöreye farklılık göstermektedir (Gök ve ark, 2017). Bu farklılıklar incelendiğinde zengin bir tablo ortaya çıkmaktadır. Türkiye'de yöresel olarak üretilen birçok tarhana çeşidi bulunmaktadır. Çizelge 2.1.'de söz konusu yöresel tarhanalarımızdan bazılarının bölgelere ve illere göre dağılımları görülmektedir (Coşkun, 2014).

Çizelge 2.1. Türkiye’de tüketilen tarhana çeşitleri (Coşkun, 2014)

Tarhana ismi	İlgili bölge
<i>Un tarhanası</i>	<i>Ege Bölgesi</i>
<i>Göce tarhanası (top tarhana)</i>	<i>Ankara, Maraş, Muğla, Aydın</i>
<i>Top tarhana</i>	<i>Isparta</i>
<i>Trakya tarhanası</i>	<i>Kırklareli, Edirne, Tekirdağ</i>
<i>Ak tarhana</i>	<i>Kütahya</i>
<i>Süt tarhanası</i>	<i>Çanakkale</i>
<i>Üzüm tarhanası</i>	<i>Tokat</i>
<i>Tatlı tarhana</i>	<i>Malatya</i>
<i>Beyşehir tarhanası</i>	<i>Konya</i>
<i>Göçmen tarhanası</i>	<i>Marmara Bölgesi</i>
<i>Yaş tarhana</i>	<i>Kastamonu, Eskişehir, Çankırı</i>
<i>Uşak tarhanası</i>	<i>Uşak</i>
<i>Pancarlı tarhana</i>	<i>Kastamonu</i>
<i>Gediz tarhanası</i>	<i>Kütahya</i>
<i>Kıymalı tarhana</i>	<i>Trakya Bölgesi</i>
<i>Et tarhanası</i>	<i>Karaman</i>
<i>Erik tarhanası</i>	<i>Antalya</i>
<i>Kızılıcık (kiren) tarhanası</i>	<i>Kastamonu, Kütahya, Bolu, Bursa, Zonguldak</i>

TSE’ye göre ise tarhana; un, göce, irmik ve karışık tarhana olmak üzere 4 farklı çeşide ayrılmıştır. Bu çeşitler oluşturulurken tarhana üretiminde ham madde olarak buğday unu, buğday yarması veya irmikten hangisinin tercih edildiği belirleyici olmuştur (Anonymous, 2002).

2.2.1. Un Tarhanası

Daha çok Ege Bölgesi’nde üretilen un tarhanası, halk arasında harç olarak adlandırılan domates, biber, soğan ve aroma verici otların kaynatılması ile elde edilen sebze karışımının soğutulduktan sonra yoğurt ve un ile karıştırılması ile hazırlanan hamurun farklı sürelerde fermantasyona bırakılması sonucu elde edilen

bir üründür. İzmir ve Manisa çevresinde hamur fermentasyonu süresince su, süt veya yoğurt ile sabah akşam yoğurulmaktadır. Fermentasyon sonunda ufak parçalar haline getirilen hamur bir çarşaf üzerine serilerek güneşte kurutulur, elekten geçirilip inceltildikten sonra tekrar kurutulur ve bu şekilde elde edilen un tarhanası yaklaşık iki sene bozulmadan muhafaza edilebilir (Siyamoğlu, 1961; Anonymous, 1981). Un tarhanasından farklı olarak Uşak tarhanası'nda ise hamur bileşiminde yer alan hammaddeler pişirilmeden karıştırılır ve elde edilen hamur uzun süre (yaklaşık 21 gün) fermentasyona bırakılır.

2.2.2. Göce Tarhanası

Göce tarhanası Ankara, Maraş, Muğla ve Aydın yörelerinde yaygındır. Göce tarhanasının üretiminde buğday yarması çiğ olarak veya az su ve tuz ile pişirilip ılık halde bol miktarda yağlı veya yağsız torba yoğurdu ile karıştırılıp fermentasyona bırakılmaktadır. Süre sonunda hamur iri parçalar halinde çarşaf üzerine serilerek kurutulmaktadır. Elde edilen bu tarhana bazı bölgelerde “top tarhana” olarak da anılmaktadır (Siyamoğlu, 1961; Anonymous, 1981).

2.2.3. İrmik Tarhanası

İrmik tarhanası; buğday ile buğday kırmısı kullanılmaksızın irmik ile beraber yoğurt, biber, tuz, soğan, domates, tat ve aroma sağlayan çeşitli bitkisel besinlerle hazırlanan hamurun yoğrulup fermente edilmesinden sonra kurutulup elenmesiyle elde edilen bir tarhana çeşididir (Özçam, 2012).

2.2.4. Karışık Tarhana

Karışık tarhana; buğday unu, buğday kırmısı ve irmikten en az ikisiyle hazırlanır. Yoğurt, biber, soğan, domates, tuz, çeşitli lezzet ve aroma verici bitkilerin karıştırılıp yoğrulmasından sonra fermentasyona bırakılarak kurutma, öğütme ve eleme süreçleriyle hazırlanan bir tarhana türüdür (Esimek, 2010).

Türkiye'nin dışında Dünya'nın farklı yerlerinde de sevilerek tüketilen tarhananın geleneklere ve tüketim alışkanlıklara bağlı olarak bileşiminde küçük bazı farklılıklar olabilmektedir (Yücecan ve ark, 1988; Temiz ve Pirkul, 1990). Mısır'da 'kishk' adıyla bilinen tarhana, ekşi süt-buğday karışımına haşlanmış tavuk ilave edilerek, Irak'taki 'kışk' ise süt-ekşi hamur karışımına şalgam ilavesiyle hazırlanmaktadır. Yunanistan'da 'trahanos' koyun ve keçi sütünden laktik asit fermentasyonu vasıtasıyla oluşan lor peyniri ve buğday unundan üretilir (Yurddaş, 2003). Macaristan'da tarhana, beyaz unun kaldırabileceği sayıda yumurta ile karıştırılarak hazırlanır. Finlandiya'nın 'talkuna'sında ise yulaf, arpa, çavdar gibi diğer hububat unları ile bezelye unu karıştırılır, çok az tuz ilave edilip fermente edildikten sonra fırınlanıp kurutulur (Siyamoğlu, 1961).

2.3. Tarhananın Kimyasal Bileşimi ve Besleyici Değeri

Tarhana üretiminde kullanılan ham maddeler ve miktarları geleneksel alışkanlıklara bağlı olarak farklılıklar göstermesine rağmen; TS 2282 Tarhana Standartı'nda tarhananın genel kimyasal bileşimi şöyle belirtilmiştir: protein miktarı kuru maddede en az %12, rutubet miktarı en çok %10, tuz miktarı kuru maddede en çok %10, %67'lik etil alkole geçen asitlik derecesi 10-35, (100 g tarhana için sarf edilen 1 M NaOH hacmi), külün %10'luk hidroklorik asitte çözünmeyen kısmı (tuz hariç) en çok %0,2 olmalıdır (Anonymous, 2004). Ayrıca duyuusal özellikler açısından tarhanalar kendilerine özgü tat, koku ve görünüşte ve sarımtırak kırmızı renkte olmalı, kirlenmiş, bozulmuş olmamalı, içinde yabancı organik madde ve gözle görülebilen küf, gıda maddeleri tüzüğünde izin verilenlerin dışında sağlığa zararsız da olsa yabancı madde bulunmamalıdır (Anonymous, 2004).

Tarhana 3,3-5,0 aralığında değişen düşük pH değerine sahiptir. Ayrıca kurutma işlemi sonrasında da % 6-10 aralığında değişen düşük nem içeriği özelliği gösterir. Bahsedilen bu özellikler tarhanaya uzun raf ömrü özelliği kazandırmaktadır (İbanoğlu ve ark, 1999; Dağlıoğlu, 2000; Blandino ve ark, 2003; Özdemir ve ark, 2007). Protein değeri yüksek, sindirimi kolay olan tarhana özellikle bebekler, yeme

güçlüğü çeken kişiler, okul çağındaki çocuklar gibi protein gereksinimi yüksek olan kişiler için oldukça yararlı bir gıdadır.

Türkiye'nin hemen hemen her bölgesinde üretilen tarhananın bileşiminde kullanılan ham maddelerin çeşit ve miktarlarındaki değişiklikler tarhanaların bileşimlerinin de farklı olmasına neden olmaktadır. Tamer ve ark (2007), çalışmalarında Türkiye'nin farklı bölgelerinden 21 tarhana örneği toplamış ve kimyasal özellikleri açısından incelemişlerdir. Yapılan analizlerin sonucunda; tarhanaların nem, kül, tuz içerikleri sırasıyla; % 9,35 - 66,40, % 1,36 - 9,40, % 0,62- 9,01, protein, yağ, asitlik dereceleri ise sırasıyla; % 6,77 - 28,55, % 0,48 - 15,78, 1,7 - 40,7 aralıklarında olduğunu belirtmişlerdir.

Tarhana üretiminde kullanılan malzemelerin miktarları ve çeşitleri değiştirilmek suretiyle tarhananın besinsel içeriği ve duyuşal özellikleri kontrol edilebilmektedir (İbanoğlu ve ark, 1999). Farklı araştırmacılar tarafından tarhananın besin değerini artırmak için farklı un çeşitleri (soya unu, mısır unu, buğday unu, buğday rüşeymi, buğday kepeği, pirinç unu), farklı yoğurt tipleri (torba yoğurdu, işletme tipi yoğurt, soya yoğurdu), peynir altı suyu, soya protein konsantresi, kuru protein, tuz gibi malzemeler farklı oranlarda formülasyona katılıp, tarhana üretimleri yapılmış ve bu ürünlerde kimyasal, besinsel ve duyuşal özellikler incelenmiştir (Koç ve Özçira, 2019; O'Callaghan ve ark, 2019; Arslan-Tontul ve ark, 2018; Demir ve ark, 2017; Temiz ve Tarakçı, 2017; Kumral, 2015; Bayrakçı ve Bilgiçli, 2015; Kilci ve Göçmen, 2014; Magala ve ark, 2013; Bilgiçli, 2009; Bilgiçli ve İbanoğlu, 2007; Bilgiçli ve ark, 2006; Erkan ve ark, 2006; Tarakçı ve ark, 2004; Köse ve Çağındı, 2002; Çopur ve ark, 2001; Güler ve Konar, 1999; İbanoğlu ve ark, 1999; Temiz ve Pirkul, 1990;).

Koç ve Özçira (2019), tarafından yapılan çalışmada tarhanaların hamur formülasyonunda buğday ununun buğday rüşeymi ile beraber kullanılmasının son ürünün besleyicilik değerini %50 oranında artırdığı rapor edilmiştir.

O'Callaghan ve ark (2019), ise hamur bileşimine sırasıyla %60 oranında fermente süt ve %80 oranında bulgur ilavesi yapmış ve tarhanaların protein ve yağ

konsantrasyonlarının Dünya Gıda Programı tarafından belirlenen zenginleştirilmiş gıda formülleri standartına uygunluk gösterdiğini belirtmişlerdir.

Arslan-Tontul ve ark (2018), tarhana üretiminde ham madde olan yoğurt yerine kefir kullanımının hamurdaki LAB'nin sayısını artırdığını bildirmişlerdir. Yoğurt ile hazırlanan tarhana hamurunda LAB sayısı 7,45 log kob/g olarak belirlenirken, kefir ile hazırlanmış hamurlarda söz konusu değerler 7,87 log kob/g'a yükselmiştir. Tarhana hamuru bileşiminde buğday ununun yerine kinoa ununun kullanıldığı bir başka çalışmada ise glütensiz tarhana üretimi için kinoa ununun buğday ununa alternatif olabileceği vurgulanmış, farklı kinoa konsantrasyonları (%40, %50 ve %60) ile hazırlanmış glütensiz tarhana çorbalarında besleyici ve duyuusal özelliklerin geliştiği rapor edilmiştir (Demir ve ark, 2017).

Temiz ve Tarakçı (2017), tarhana hamuru bileşimine kiraz pulpu ilavesinin son üründe uçucu aromatik bileşen ve mineral madde içeriğini zenginleştirdiğini bildirmişlerdir. Tarhananın besinsel değerini artırmaya yönelik yapılan bir başka çalışmada ise hamur formülasyonunda kepekli buğday ve nohut unları kullanılmıştır. Söz konusu çalışmadaki dikkat çeken sonuç; tarhana hamurlarında kullanılan un tipinin hamurlardaki fitik asit içeriği üzerindeki etkisi olmuştur. Buğday unu ile hazırlanmış tarhanalara nazaran nohut unu ve kepekli buğday unu ile hazırlanmış tarhanalarda daha yüksek belirlenen fitik asit içeriği kanseri önlemesi adına umut verici olmuştur (Kumral, 2015).

Kilci ve Göçmen (2014), tarhana hamurunda buğday unu yerine yulaf unu kullanıldığında son üründe mineral ve fenolik asit içeriğinde artışlar olduğunu belirlemiştir. Hamur formülasyonunda %40 yulaf unu içeren tarhana örneklerinde potasyum ve kalsiyum içeriği yulaf unu içermeyen kontrol grubuna nazaran iki kat daha fazla bulunmuştur. Yulaf unu ile hazırlanan tarhana hamurları fermentasyon sonunda ferulik asit, vanilik asit ve şırıngik asitçe daha zengin bulunmuştur.

Bir başka çalışmada ise hamur formülasyonunda kullanılan yoğurt ve tuz miktarı değiştirildiğinde son üründe duyuusal özelliklerin olumsuz etkilendiği rapor edilmiştir (Magala ve ark, 2013).

Tarakçı ve ark (2004), tarhana formülasyonunda mısır unu ve peynir altı suyu, Bilgiçli (2009), karabuğday unu kullanmışlar ve sonuçta geleneksel ham maddelerin yerine bunların da kullanılabileceği ve besleyici özelliklerde zenginlik sağlandığı görüşüne varmışlardır.

Cankurtaran ve ark (2020), tarhana formülasyonunda buğday unu yerine gölevez bitkisi ve yer elması karışımından elde ettikleri unu kullanmışlar, tahıl ve kök sebze dayalı fonksiyonel bir ürün geliştirmeyi amaçlamışlardır. Çalışmalarının sonunda söz konusu formülasyon ile tarhanadaki kül, mineral, fenolik madde miktarlarında ve antioksidan aktivitede artış olurken protein içeriğinde azalma olduğunu rapor etmişlerdir.

Farklı diyet lifi kaynakları ile tarhananın besin değerini geliştirmeye yönelik yapılan bir başka çalışmada ise formülasyona %5, 10 ve 15 şeklinde üç farklı oranda mısır ve pirinç kepekleri ilave edilmiştir (Aktaş ve Akın, 2020). %15 pirinç kepeği ilaveli tarhanaların besin değerinde artış bulunmuş; kül, protein, yağ içeriği, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği sırasıyla; %3,64, %16,39, %6,91, %59,40 ve 142,4 mg/100 g şeklinde olmuştur.

2.4. Tarhana Hamuru Fermantasyonunun Mikrobiyotası

Tarhana hamuru fermentasyonunda LAB ile mayaların mikrobiyal aktivitesi önemli rol oynar. Bunlardan LAB asit üretimi ile asitliğin artışından, mayalar ise CO₂ ve alkol üretimi ile hamurun kabarmasından ve tarhanada kendine özgü aromatik yapının gelişmesinden sorumludurlar. Ham maddelerden gelen çeşitli mikroorganizmalar fermentasyonun başında hamurda çoğunluğu oluştururken, fermentasyonun ilerlemesiyle hamur mikrobiyotasında sadece asit üreticisi LAB ile aside toleranslı olan mayalar bulunur.

Bugüne dek tarhananın hamur fermentasyonunun mikrobiyotasının araştırıldığı birçok çalışma yapılmıştır (Bellici ve ark, 2019; Vasiee ve ark, 2018; Şimşek ve ark, 2017; Bozoudi ve ark, 2017; Özel ve ark, 2015; Settanni ve ark, 2011; Şengün ve ark, 2009).

Tarhanadan izole edilen LAB'nin moleküler yöntemler kullanılarak tanımlandığı ilk çalışmada toplamda 226 adet Gram pozitif, katalaz negatif izolattan tespit edilen türlerin yüzdesel dağılımı *Pediococcus acidilactici* (%27), *Streptococcus thermophilus* (%19), *Lactobacillus fermentum* (%19), *Enterococcus faecium* (%12), *Pediococcus pentosaceus* (%7), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (%5), *Weissella cibaria* (%4), *Lactobacillus plantarum* (%2), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (%2), *Leuconostoc citreum* (%2), *Lactobacillus paraplantarum* (%1) ve *Lactobacillus casei* (%0,5) şeklinde olmuştur (Şengün ve ark, 2009).

Settanni ve ark (2011), çalışmalarında benzer şekilde tarhana hamurlarında fermantasyondan sorumlu LAB olarak *Lb. plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *P. acidilactici* türlerini, maya olarak *Saccharomyces cerevisiae* türünü tespit ettiklerini rapor etmişlerdir.

Şimşek ve ark (2017), ticari amaçla üretilen tarhanaların ev yapımı tarhanalara kıyasla *Lactobacillus spp.* cinsinden daha zengin olduğunu, ev yapımı tarhanalarda baskın türün *Lb. plantarum* iken, ticari tarhanalarda *Lb. brevis* ve *Lactobacillus alimentarius* türleri olduğunu bildirmişlerdir.

Özel ve ark (2015), ise ticari amaçla üretilen tarhana hamurlarında maya florasının *Pichia kudriavzevii*, *Candida humilis* ve *Candida glabrata* türlerinden; ev yapımı tarhana hamurlarının ise *S. cerevisiae*, *P. kudriavzevii* ve *Kluyveromyces marxianus* türlerinden oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Kıbrıs'a özgü tarhana hamurlarında fermantasyondan sorumlu mikrobiyotanın *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lb. casei/paracasei*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Leuconostoc mesenteroides* LAB türleri ile *Saccharomyces unisporus* ve *K. marxianus* maya türlerinden oluştuğu bildirilmiştir (Bozoudi ve ark, 2017).

Vasiee ve ark (2018), İran Bölgesi'ne özgü tarhana hamurlarında baskın LAB mikrobiyotasını *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum*, *Lb. pentosus*, *Lb. brevis* ve *Lactobacillus diolivorans* türlerinin oluşturduğunu rapor etmişler, aynı hamurlarda

azınlıkta da olsa *E. faecium* ve *E. faecalis*, *Leu. citreum* ve *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus* türlerinin de var olduğunu rapor etmişlerdir.

Son olarak Bolu Bölgesi'nde ekşi tarhana da olarak bilinen kızılıcık tarhanasında yapılan araştırmada fermantasyondan sorumlu maya mikrobiyotası *Hanseniaspora uvarum*, *S. cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Candida kefyr*, *Cyberlindnera fabianii* ve *Candida parapsilosis* olarak bildirilmiştir (Bellici ve ark, 2019).

2.4.1. LAB'nin Genel Özellikleri

LAB doğada çok yaygın oluşları ve bazı fermente gıdaların üretim ve olgunlaştırılmasında teknolojik açıdan önemli rol oynamaları nedeni ile gıda teknolojisinde büyük önem taşımaktadır. Söz konusu bakteriler fermente et, süt, tahıl, meyve ve sebze ürünlerinin hazırlanması ve muhafaza edilmesinde sıklıkla kullanılmaktadırlar (Sanchez ve ark, 2000).

Morfolojik açıdan çok değişken özellik gösteren (kısa veya uzun çomak veya kok şekilli) LAB, fizyolojik açıdan oldukça benzer özellik göstermektedirler. Gram (+), katalaz negatif (düşük oranda şeker ihtiva eden ortamda pseudokatalaza sahip suşlar görülebilir), spor oluşturmayan (*Sporolactobacillus inulinus* hariç), *Pediococcus* cinsi hariç tek düzlemde bölünen hareketsiz, çubuk veya kok şeklinde bakteriler olarak tanımlanmaktadır. Mutlak fermentatifirler ve asıl fermantasyon ürünü olarak laktik asit üretmektedirler. Doğal habitatları süt ve süt mamülleri, işlenmemiş, taze veya çürümüş bitkiler, insan ve hayvanların bağırsak mukoza ve içerikleridir (Wood ve Holzapfel, 1995; Kleerebezem ve ark, 2010).

LAB , termofil olanlar hariç, genellikle 5-33°C arasındaki sıcaklıklarda gelişebilmektedirler. Optimum gelişim gösterebilmeleri için gerekli pH değerleri ise 5,50-5,80 arasında değişmektedir. Patojen özellik göstermezler. Aksine oluşturdıkları antimikrobiyal özellikteki maddeler sayesinde saprofit ve patojen bakterilerin gelişmelerini engellemektedirler (Kılıç, 2008).

LAB'nin ait olduğu altı familya vardır. Familyaların isimleri sırasıyla *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae* ve *Streptococcaceae* şeklindedir. İlk kez 1901'de tanımlanan *Lactobacillus* cinsi son yıllarda çok hızlı bir şekilde genişlemeye devam etmektedir. Yakın zamana kadar söz konusu cinsin 250'den fazla türden oluştuğu kabul edilirken; 2019'da çok sayıda tür üzerinde yapılan tüm genom dizisi analizi cinsin üyelerinin filogenetik olarak *Pediococcus*, *Fructobacillus*, *Paralactobacillus* ve *Leuconostoc* gibi diğer cinslerle iç içe geçtiğini ve cinsin heterojenliğinin bakteri taksonomisinde neredeyse görünmez olduğunu ortaya koymuştur. Daha önce *Lactobacillus* cinsine atanmış ancak şimdi yeni bir cins adıyla anılan 250 farklı türün içerisinde tarhana mikrobiyotasında yer alan türlerin eski ve yeni isimlendirmeleri Çizelge 2.2'de verilmiştir. Son birkaç yıla kadar LAB; *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* olmak üzere on iki cins olarak kabul edilmekte idi. Ancak Zheng ve ark (2020), yaptıkları çalışma ile söz konusu sınıflandırmaların yenilenmesini önermiştir. Çalışmalarındaki polifazik yaklaşıma dayanarak, *Lactobacillus* cinsinin, *Lactobacillus delbrueckii* grubu, *Paralactobacillus* olarak anılan konakçıya uyarlanmış organizmaları içeren değiştirilmiş *Lactobacillus* cinsi dahil 25 cinsle yeniden sınıflandırılması önerilmiştir. Diğerleri ise sırasıyla; *Holzappelia*, *Amylolactobacillus*, *Bombilactobacillus*, *Companilactobacillus*, *Lapidilactobacillus*, *Agrilactobacillus*, *Schleiferilactobacillus*, *Loigolactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Latilactobacillus*, *Dellaglioia*, *Liquorilactobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Paucilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Fructilactobacillus*, *Acetilactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Levilactobacillus*, *Secundilactobacillus* ve *Lentilactobacillus* şeklindedir.

Çizelge 2.2. Tarhanada tanımlanan LAB türlerinin yeni isimlendirmeleri (Zheng ve ark, 2020)

Eski isimlendirme	Yeni isimlendirme
<i>Lactobacillus alimentarius</i>	<i>Companilactobacillus alimentarius</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus fabifermentans</i>	<i>Lactiplantibacillus fabifermentans</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum</i>
<i>Lactobacillus paraplantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus paraplantarum</i>
<i>Lactobacillus pentosus</i>	<i>Lactiplantibacillus pentosus</i>
<i>Lactobacillus diolivorans</i>	<i>Lentilactobacillus diolivorans</i>
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis</i>

LAB'nin alt grupları arasındaki en önemli fark şekerlerin fermantasyonu sonucunda oluşan ürünlerden kaynaklanmaktadır. Genel olarak heksoz ve pentozları metabolize etme özelliklerine göre *Lactobacillus* türleri üç gruba ayrılmaktadır (Madigan ve Martinko, 2010). Bunlar sırasıyla homofermantatif laktobasiller, fakültatif heterofermantatif laktobasiller ve obligat heterofermantatif laktobasillerdir.

Homofermantatif laktobasil grubunda yer alan türler heksoz şekerlerin hemen hemen tamamını Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) glikolitik yolunu kullanarak parçalar ve yalnızca ya da baskın olarak laktik asit oluştururlar. Pentozları (ribozlar) ve glukonatları fermente edemezler. Glukoz ve glukonattan gaz oluşturmazlar. Gelişmek için tiyamine gerek duymazlar. Bu grubun türlerinden bazıları peynir, yoğurt gibi fermente ürünlerde starter kültür olarak kullanılırlar. 15-45°C arasındaki sıcaklıklarda gelişmektedirler. Aldolaz aktivitesine sahiptirler. D, L veya DL formunda laktik asit oluşturmaktadırlar (Kılıç, 2008).

Fakültatif heterofermantatif laktobasil türleri heksozları EMP yoluna göre, pentozlar ve diğer bazı substratları ise fosfoketolaz enzim aktivitesine dayalı metabolik yola göre parçalarlar. Sonuçta, laktik asitin yanı sıra tipik olarak asetik asit ve etanol da oluştururlar. Birkaç türü geleneksel fermente ürünlerin ve silaj

yemlerinin üretiminde kullanılır. 25-35°C arasındaki sıcaklıklarda gelişmektedirler (Kılıç, 2008).

Obligat heterofermantatif laktobasil türleri ise heksozları yalnızca fosfoketolaza dayalı metabolik yolla parçalarlar, laktik asit ve önemli miktarda asetik asit ve/veya etanol ve CO₂ oluştururlar. Glukonatlardan gaz, fruktozdan mannitol oluşturmaktadırlar. Gelişmelerinde tiyamine gereksinim duyarlar. Aldolaz aktivitesi göstermezler. DL formunda laktik asit üretmektedirler. 15-45°C arasındaki sıcaklıklarda gelişimleri türlere göre değişiklik göstermektedir. Heksozlardan CO₂ üretimi bu mikroorganizmaların belli başlı karakteristiğidir (Kılıç, 2008; Tangüler, 2010). Çizelge 2.3’de LAB’nin söz konusu alt gruplarına ait bazı türler listelenmiştir.

Çizelge 2.3. Şekerleri fermente etme özelliklerine göre bazı LAB türleri (Lahtinen ve ark, 2012)

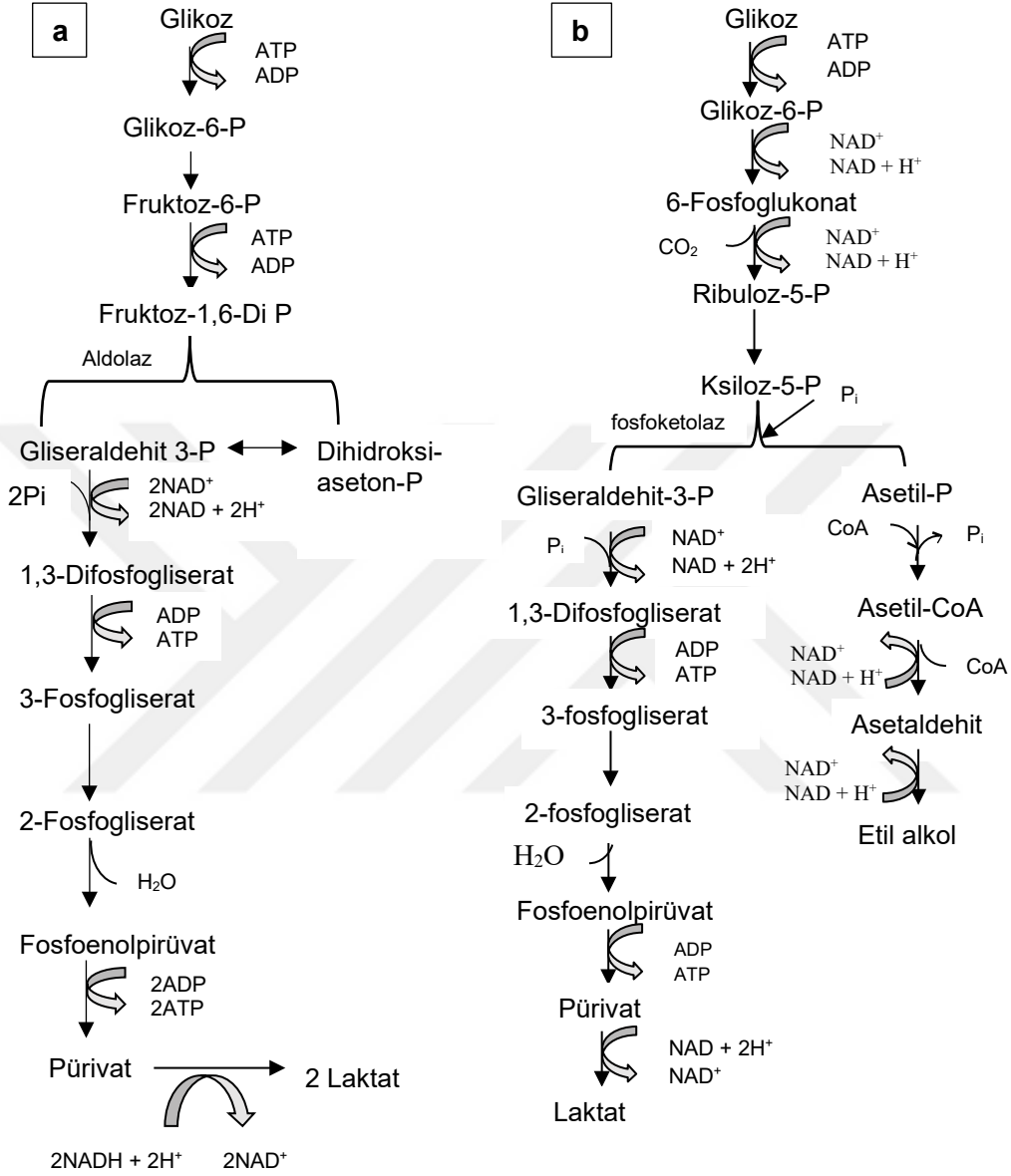
Homofermantatif LAB	Fakültatif Heterofermantatif LAB	Obligat Heterofermantatif LAB
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lb. alimentarius</i>	<i>Lb. brevis</i>
<i>Lb. delbrueckii</i>	<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. buchneri</i>
<i>Lb. helveticus</i>	<i>Lb. paracasei</i>	<i>Lb. fermentum</i>
<i>Lb. farciminis</i>	<i>Lb. curvatus</i>	<i>Lb. reuteri</i>
<i>Lb. bovis</i>	<i>Lb. sakei</i>	<i>Lb. fructivorans</i>
<i>Lb. gasserii</i>	<i>Lb. paralimentarius</i>	<i>Lb. pontis</i>
<i>Lb. jensenii</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. sanfranciscensis</i>
<i>Lb. salivarius</i>	<i>Lb. pentosus</i>	<i>Leu. mesenteroides</i>

LAB gelişme ortamında buldukları şeker birimlerini permeaz enzimi veya PEP-PTS hücre duvarı transfer sistemi ile hücre içerisine alır. Bu aşamadan sonra homofermantatif yolda fruktoz-1,6-difosfat (FDP) *Leuconostoc*, *Oenococci*, *Weissella* ve grup III *Laktobasilluslar* hariç diğer tüm LAB’nde FDP aldolaz enzimi ile dihidrokso asetonfosfat ve gliseraldehit 3-fosfata parçalanır. Ardından gliseraldehit 3-fosfat substrat seviyesinde fosforilasyonla pürivik asite kadar indirgenir. Normal koşullarda pürivik asit redoks dengesinin sağlanması için laktik

aside dönüştürülür. Böylece EMP yolu ile homofermantatif fermantasyonla glukozdan laktik asit üretilir (Axelsson, 2004).

Heterofermantatif metabolik yolu ise heksoz monofosfat (HMP) ya da 6-fosfoglukonat/fosfoketolaz (6-PG/PK) olarak da adlandırılmaktadır. Bu katabolik yolda 6-fosfoglukonat dekarboksilasyonla oluşturulur, ardından ribuloz 5-fosfat ve ksuloz 5- fosfattan fosfoketolaz enzim aktivitesi ile gliseraldehit 3-fosfat ve asetilfosfat üretilir. Gliseraldehit 3-fosfattan glikolizde olduğu gibi laktik asit üretimi devam ederken, diğer yandan da asetilfosfat, asetil koenzim A ve asetaldehit üzerinden etanole dönüştürülür. Sonuç olarak heterofermantatif yol ile LAB fermente gıdalarda laktik asit ile birlikte ikinci ana organik asit olan asetik asidin üretimi de bu şekilde gerçekleşir (Şekil 2.1) (Axelsson, 2004).

Bazı özel koşullarda, özellikle stres durumunun varlığında LAB pürivik asiti laktik asite indirgemenin dışında alternatif yolları tercih edebilirler. Konuyla ilişkili olarak örneğin, anaerobik koşul altında *Lb. casei* ve *Lactococcus lactis*'in gelişme ortamında besin sınırlaması olduğunda pürivik asit format-liyaz enzimi ile birlikte formik asit ve asetil koenzim A'ya çevrilmektedir. Asetil koenzim A'dan ise asetilfosfat ve asetik asit oluşturulmaktadır. Diğer taraftan ortamda oksijenin olması durumunda yine pürivik asit pürivat oksidaz enzimi ile sırasıyla asetil fosfat ve asetik asite dönüştürülebilmektedir. Ortamda dış elektron alıcısı olarak sitratın bulunması durumunda ise sitrat liyazın etkisiyle oksalaasetat ve asetat üretilmekte ve buradan süksinik veya fumarik asit oluşturulmaktadır. Bu reaksiyonla HMP yolu için gerekli olan NADH'den NAD⁺ üretilmektedir (Axelsson, 2004).



Şekil 2.1. LAB’nde görülen metabolik döngüler, a: homofermantatif döngü, b: heterofermantatif döngü

2.4.2. Mayaların Genel Özellikleri

Tarhana ekosisteminin mikrobiyotasında LAB'nden sonra ikinci önemli grubu mayalar oluşturur. Mayalar ökaryot hücre yapısına sahip, yuvarlak, oval ve silindir biçiminde tek hücreli mikroorganizmalardır. Funguslara dahil olan küflerden miselyum oluşturmamaları ile ayrılırlar. Boyutları türlere ve kültür koşullarına göre değişmek üzere 2-10 x 3-16 µm arasında değişmektedir. Fizyolojik olarak aerobik veya fakültatif anaerob özelliğe sahip olan maya türleri içerisinde zorunlu anaerobik (obligat) olarak bilinen tür yoktur. Mayalar özellikle bağ-bahçe toprakları ve bitkiler olmak üzere tabiatta çok yaygın olarak bulunurlar (Deak, 2008).

Mayalar bölünerek üreyen *Schizosaccharomyces* ve kısa saplardan tomurcuklanan *Sterigmatomyces* ve *Fellomyces* cinsleri hariç, çoğunlukla vejetatif olarak tomurcuklanma ile üreyen tek hücreli funguslar olarak tanımlanırlar. Mayaların vejetatif üreme yanında eşeyli üreme yeteneği de bulunmaktadır. Eşeyli üreme askospor ile gerçekleştirilir ve bu tür üreme gerçekleştiren mayalar “ascomycetous” mayalar olarak adlandırılırlar (Deak ve Beuchat, 1996; Esen, 2008).

Fermente gıdalarda bulunan mayalar laktik asidi kullanarak, proteolizden kaynaklanan alkali metabolizma ürünleri ile pH'yı yükselterek veya ürettikleri pantotenik asit, niasin, riboflavin ve biotin ile bunlara ihtiyaç duyan mikroorganizmaların gelişimini desteklemektedirler. Bazı mayalar sahip oldukları lipolitik ve proteolitik aktivite ile serbest amino asitler, yağ asitleri ve esterler gibi aroma oluşumuna öncülük eden maddelerin meydana gelmesinde de büyük rol oynamaktadırlar (Lenoir, 1984; Suzzi ve ark, 2001; Wyder, 2001; Ferreira ve Viljoen, 2003; Kesenkaş ve Akbulut, 2006).

Dünya çapında gıda endüstrisinde *Saccharomyces*, *Candida* ve *Kluyveromyces* cinslerine dahil olan bazı üyelerinden yararlanılmaktadır. Mayaların endüstriyel önem taşımalarındaki en büyük etken mayaların glukoz fermantasyonudur. Oksijen yokluğunda fakültatif anaerobik mayalar alkol fermantasyonu ile 1 molekül glukozdan 2 molekül etil alkol ve 2 molekül CO₂ oluştururlar.

Alkol fermentasyonu üç kimyasal reaksiyon sonucu oluşur. Bu reaksiyonlar glikoliz, pürivik asidin dekarboksilasyonu ve asetaldehitin indirgenmesidir. İlk aşamada glikoliz ile heksozlar pürivik aside dönüşür. İkinci aşamada pürivik asit bir molekül CO₂ kaybederek asetaldehide dönüşür. Son aşamada asetaldehit molekülüne 1 hidrojen atomu bağlanır ve indirgenen asetaldehitten etil alkol oluşur. Diğer taraftan mayaların aerobik yolu ise glikoliz sonucunda meydana gelen pürivik asidin CO₂ ve H₂O'ya kadar parçalanması ile sürer (Soyuduru, 2007).

Gıda endüstride çok eski tarihlerden bu yana ekmek, bira, şarap, etil alkol ve diğer alkollü içkilerin üretiminde mayalardan yararlanılmaktadır. Günümüzde ise mayalar; vitamin, enzim, pigment ve probiyotik ürünler ile gıda ve yemler için spesifik katkıların, ilaç endüstrisi için biyokimyasal maddelerin eldesinde büyük önem taşımaktadırlar (Wyder, 2001; Gürsoy ve Kınık, 2002; Kesenkaş ve Akbulut, 2006). Bununla birlikte, mayalar proteince zengin organizmalar oldukları için tek hücre proteini üretiminde kullanılan değerli mikroorganizmalardır (McNeil ve Harvey, 2008).

Mayaların bazı türleri kuvvetli fermentasyon özelliği gösterirken bazıları zayıf fermentasyon özelliği göstermektedir. *S. cerevisiae* ticari ölçekte göstermiş olduğu fermentasyon verimliliği ile en fazla tercih edilen maya türüdür. Bundan dolayı *S. cerevisiae*'nin gıda fermentasyonunda kullanımı çok yaygındır (Hong ve Nielsen 2012; Dağışan, 2012; Vaughan-Martini ve Martini, 2011).

2.5. Tarhananın Aromatik Karakteristiği

Tarhananın karakteristik tat/aromasında LAB tarafından sentezlenen laktik asit başta olmak üzere pürivik, okzalik, ve süksinik asit gibi uçucu olmayan organik asitler ile asetaldehit, aseton, diasetil gibi karbonil bileşikler önemli yere sahiptir (Tekgül ve ark, 2020; Özdemir ve ark, 2019; Arslan-Tontul ve ark, 2018; Temiz ve Tarakçı, 2017; Georgala ve ark, 1995; Beskhova ve ark, 1998; Tamime ve Robinson, 1999). Bunların yanı sıra aromanın oluşmasında bazı uçucu yağ asitleri (formik, asetik, bütirik veya propiyonik asit), aldehytler, ketonlar, alkoller, laktonlar ve sülfür

bileşenleri gibi uçucu bileşenlerin de rolü bulunmaktadır. Fakat bu bileşenlerden laktik asit ve karbonil bileşiklerinin tarhananın tat/aroma dengesinin oluşumundaki rolü birincil öneme sahiptir (Fernandez-Garcia ve McGregor, 1994; Beskhova ve ark, 1998). Asetik asit ise hem güçlü bir aroma oluşumunu sağlamakta hem de diğer aroma bileşenlerinin etkisini artırmaktadır (Kılıç, 2008).

Organik asitler yapıları karbon iskeletine dayanan, gıdalarda ya doğal olarak ya da fermantasyon yoluyla üretilen bileşiklerdir. Tarhana fermantasyonu LAB ve mayaların mikrobiyal faaliyetleri sonucu gerçekleşir. Dolayısıyla tarhanada organik asit üretimi LAB ve mayaların karbonhidrat metabolizması ile yakından ilişkilidir.

Fermente gıdaların mikrobiyotasında yer alan mayaların da organik asit birikimine katkısı bulunmaktadır. Maya türlerinin karbon metabolizmaları birbirine oldukça benzerdir. Fakültatif fermantatif maya hücrelerinde enerji üretmek için öncelikle şeker birimleri (glukoz, fruktoz, galaktoz ve mannoz) kullanılır. Bunların ortamda bulunmaması durumunda ise poliol, alkol, organik asit ve aminoasitler de karbon kaynağı olarak tercih edilebilir. Maya hücrelerinde şekerlerin katabolizmasında glikoliz ve pentoz fosfat yolu ile Krebs ve glioksilat çevrimi takip edilir. Söz konusu bu metabolik iz yolların sonucunda süksinik, sitrik, fumarik, malik ve asetik asit gibi organik asitler üretilir (Flores ve ark, 2000).

Tipik bir maya hücresinde glukoz hücre içerisine fosforile edilerek alınır. Daha sonra glukoz 6-fosfat aynen LAB’nde olduğu gibi ya glikoliz ile ya da pentoz fosfat yolu üzerinden pürivik aside indirgenir. Bu aşamadan sonra pürivik asit asetaldehit üzerinden son ürün etanole çevrilmektedir. Ancak bu yol üstünde asetaldehitten asetat üretimi de söz konusudur. Diğer taraftan pürivik asite karbondioksit ilave edilerek okzalasetat oluşturulmakta ve glioksilat döngüsü başlatılmaktadır. Bu döngü ile birlikte Krebs döngüsüne de katılan süksinik ve malik asit çıkışı olmaktadır (Barnett ve ark, 2000).

Aerobik koşullarda mayaların geliştirilmesi durumunda ve özellikle düşük oranda glukoz varlığında Pastör etkisi ile pürivik asidin yönü Krebs döngüsüne yönelmektedir. Böylece maya hücreleri düşük karbon kaynağı ile daha yüksek enerji

üretimini sağlar. Krebs döngüsünün başlangıcında asetil koenzim A oluşturulmakta bu bileşik de okzalasetik aside katılarak altı karbonlu sitrik asit oluşturulmaktadır. Sırasıyla izositrat, α -ketoglutarat, süksinat, fumarat ve malat oluşturularak döngü tamamlanır. Böylece Krebs döngüsü ile birlikte sitrik, fumarik, süksinik gibi fermente gıdalarda bulunan çeşitli organik asitlerin üretimi mümkündür. (Barnett ve ark, 2000).

Tarhana formülasyonundaki ham madde çeşitliliğinin (ekşi hamur, un, domates, nane, soğan, kırmızıbiber, yoğurt) fazla ve hamur mikrobiyotasının da karmaşık oluşundan ötürü uçucu bileşen içeriğince oldukça zengin bir fermente üründür. Söz konusu uçucu bileşen içeriği fermantasyon sürecindeki mikrobiyal faaliyetler ve bileşime giren ham maddelere göre şekillenmektedir. Diğer yandan tarhana üretiminde uygulanan teknolojik işlemlerdeki farklılık da tarhanada uçucu bileşen içeriği üzerine etkili olmaktadır (Özdemir, 2016). Özetle; tarhanada uçucu bileşenlerin varlığı üç temel dayanağa dayandırılabilir. Bunlardan birincisi ham madde çeşitliliği, ikincisi hamur fermantasyonu ve üçüncüsü kurutma aşamasıdır.

Tarhananın aromatik profilini oluşturan uçucu bileşenler ile ilgili yapılmış çalışma sayısı sınırlıdır. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda da tarhanada belirlenen aroma bileşiklerinin çeşitli aldehitler, esterler, ketonlar, alkoller, terpenler, furanlar, fenoller, kükürtlü bileşikler ve asitler olduğu rapor edilmiştir (Tekgül ve ark, 2020; Özdemir ve ark, 2019; Arslan-Tontul ve ark, 2018; Temiz ve Tarakçı, 2017; Carpino ve ark, 2010; Göçmen ve ark, 2004).

Tekgül ve ark (2020), rüşeym ilaveli tarhanalarda aromadan sorumlu 63 farklı uçucu bileşen bulunduğunu ve bu bileşenler içerisinde baskın grubun terpen ve terpenoid yapıda uçucu bileşenler olduğunu bildirmişlerdir. Toplam uçucu bileşenlerdeki baskın grup açısından söz konusu terpen ve terpenoidleri alkoller, aldehitler, esterler ve ketonlar takip etmiştir. Aynı çalışmada tarhana örneklerinde en çok belirlenen uçucu bileşenler sırasıyla; karvon, limonen, karyofilen, nonanoik asit, oktanoik asit, asetik asit, propanoik asit, hekzanoik asit, 2-asetilpirol, linalool,

sitronellol, maltol, feniletil asetat, benzilfenil etil, 2-heptenal-(E), nonanal, 5-metil-2-fenil-2-hekzenal, 3-okten-2-on, junipen ve trans-karveol olmuştur.

Özdemir ve ark (2019), tarhanada oluşan aromatik profilin tarhana üretiminde kullanılan starterlerle ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında fermantasyondan sorumlu mikrobiyotanın aroma profili üzerinde doğrudan etkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Söz konusu çalışmada tarhana hamuru aroması üzerine etkili bakteri suşlarının *Lb. farciminis*, *Lb. casei* ve *Lb. alimentarius*; maya suşlarının *P. kudriavzevii* ve *C. humilis* olabileceği sonucuna varılmıştır.

Arslan-Tontul ve ark (2018), kefir ilaveli yaş tarhanalarda 72 farklı uçucu bileşen tespit etmişlerdir. Hekzadekanoik ve 9,12-oktadekadienoik asit en çok belirlenen uçucu bileşenler olmuştur. Çalışmada fermantasyona bağlı olarak tarhanalarda p-simen, karvon ve fitol konsantrasyonları azalırken; estragol, germakren D, trans-2,4, dekadienal ve etil oleat konsantrasyonları artmıştır.

Temiz ve Tarakçı (2017), karayemiş ilaveli tarhanaların aromatik profilinde 35 farklı uçucu bileşen tespit etmiştir. Söz konusu uçucu bileşenler içerisinde oktanoik asit, benzaldehit, fenilmetanal, 6-metil-5-hepten-2-on, oktadekan, n-oktadekan, etil kaprilat, benzenmetanol ve benzil alkol en yüksek konsantrasyonlarda belirlenebilen çeşitler olmuştur.

Carpino ve ark (2010), Kıbrıs'a özgü tarhanaların güneşte ve fırında kurutulmuş örneklerinin aromatik profilleri arasında önemli fark olduğunu bildirmişler, güneşte kurutulan tarhanaların uçucu bileşence daha zengin olduğunu vurgulamışlardır. Güneşte kurutulmuş tarhanalarda uçucuların toplam profili farklı 14 aldehit, 8 asit, 7 alkol, 5 ester ve 4 keton iken; fırında kurutulmuş tarhanalarda bu durum 12 aldehit, 3 asit, 4 alkol, 2 ester ve 2 keton şeklinde olmuştur. Güneşte kurutulmuş tarhanalarda belirlenen uçucu bileşenlerden başlıcaları ise heptanoik asit, nonanoik asit, undekanoik asit, tetradekanoik asit, n-hekzadekanoik asit, heptanol, (Z) -2-okten-1-ol, nonanol, 2-metil-1-penten-3-ol, benzaldehit, oktanal, 4-etil-benzaldehit, tetradekanal, asetik asit-2-feniletil ester, dodekanoik asit etil ester, tetradekanoik asit etil ester, 2-nonanon, 3-nonen-2-on ve 2-dekanon olmuştur.

Göçmen ve ark (2004), vakum altında kurutulan tarhanalarda 41 farklı uçucu bileşen belirlerken; güneşte kurutulan tarhanalarda sadece 23 farklı uçucu bileşen olduğunu rapor etmişlerdir. Vakum altında kurutulan tarhanalarda çeşitlilik; farklı 17 aldehit, 6 ester, 4 keton, 7 alkol, 2 terpen, 1 fenol, 1 furan, 1 sülfürlü bileşik, 1 asit ve 1 diğer uçucu bileşenden oluşurken; güneşte kurutulan tarhanalarda söz konusu durum, farklı 10 aldehit, 3 ester, 3 keton, 5 alkol, 1 sülfürlü bileşik ve 1 diğer uçucu bileşen şeklinde olmuştur. Nitekim; tarhanalarda uygulanan kurutma teknikleri örneklerde belirlenen toplam uçucu bileşen konsantrasyonunu da etkilemiş, uçucu bileşen çeşitliliği vakum altında kurutulan tarhanalarda daha fazla olsa da toplam uçucu bileşen konsantrasyonu güneşte kurutulan tarhanalarda daha fazla bulunmuştur.

2.6. Tarhana Üretim Yöntemleri

Türkiye’de özellikle çocukların ve yaşlıların beslenmesinde yaygın olarak kullanılan tarhana genellikle ekonomik olmasından dolayı evlerde üretilmektedir. Ancak şehirleşme ve iş hayatının yoğunlaşması sebebi ile tarhananın hazır çorba olarak ticari üretiminde artış olmuş ve yarı hazır gıda maddesi olarak marketlerdeki yerini almıştır (Erbaş, 2003).

Tarhananın üretiminde yapıldığı yöreye ait olanak ve alışkanlıklarına bağlı olarak ham madde ve miktarları değişiklik gösterdiği için standart bir üretim metodu yoktur (İbanoğlu ve ark, 1999). Geleneksel üretim ile özellikle ev ölçeğinde gerçekleştirilen tarhana üretiminde esas olan dört aşama bulunmaktadır. Bunlar sırasıyla; karışıma girecek tüm malzemelerin temizlenip hazırlanması, hamurun hazırlanması, hamurun fermantasyona bırakılması ve son olarak hamurun kurutulmasıdır. Fermantasyondan sonra tarhana genellikle güneşte kurutulmaktadır (Özdemir ve ark, 2007).

Modern teknolojinin kullanıldığı endüstriyel tarhana üretiminde ise iki farklı yöntem kullanılır. Bunlardan birincisi; düz/doğrudan metot (direkt üretim metodu), ikincisi ise ekşi hamur metodu (in direkt üretim metodu)’dur.

Doğrudan üretim metodunda Çizelge 2.4’de verilen tüm ham maddeler karıştırılır, elde edilen hamur 15 dk boyunca 50 rpm devirde yoğurulur, 35°C’de 5 gün fermantasyona bırakılır, 55°C’de 28 saat boyunca nem oranı %10’a düşene kadar fırında kurutulur, 800 mm’nin altındaki irilikte öğütülür.

Çizelge 2.4. Endüstride direkt üretim metodu ile tarhana üretiminde gereken bileşenler (Özdemir ve ark, 2007; Dağlıoğlu, 2000)

Bileşenler	Miktar
<i>Buğday unu</i>	100,0
<i>Durum buğday irmiği</i>	37,5
<i>Yoğurt</i>	60,0
<i>Soğan</i>	37,5
<i>Domates salçası</i>	7,5
<i>Kırmızı biber salçası</i>	7,5
<i>Mercimek unu</i>	5,5
<i>Ayçiçek yağı</i>	1,5
<i>Tuz</i>	5,0
<i>Maya kaynağı</i>	20,0
<i>Sitrik asit</i>	1,0

İkinci yöntem olan ekşi hamur metodu ise her biri farklı formül içeren 3 aşamadan oluşmaktadır (Çizelge 2.5). Ekşi hamur metodunda üç ayrı formülün dengeli bir şekilde hazırlanması gerekmektedir. Formül 1’deki tüm bileşenler karıştırılıp yoğrulduktan sonra tepsilerde fermantasyona tabi tutulur. Formül 2’deki bileşenler karıştırılıp yoğrulduktan sonra belirli bir nem seviyesine kadar kurutulur. Son olarak formül 3’teki bileşenler karıştırılıp yoğrularak son hamur hazırlanmış olur ve bu haliyle kurutulduktan sonra belirli parçacık boyutuna kadar indirgenir (Dağlıoğlu, 2000).

Çizelge 2.5. Endüstride ekşi hamur metodu ile tarhana üretiminde gereken bileşenler
(Özdemir ve ark, 2007; Dağlıoğlu, 2000)

Formül 1	Formül 2	Formül 3
100 birim un	100 birim formül 1	100 birim formül 1
50 birim buğday irmiği	60 birim un	125 birim formül 2
80 birim yoğurt	30 birim irmik	6 birim domates salçası
10 birim domates salçası	4,8 birim domates salçası	6 birim biber salçası
10 birim biber salçası	4,8 birim biber salçası	
50 birim soğan	6 birim tuz	
7 birim mercimek çorbası	4 birim nişasta	
7 birim tuz	0,4 birim sitrik asit	
1,5 birim sıvıyağ		
0,4 birim sitrik asit		

2.7. Pasajlama Tekniği

Pasajlama; fermente gıdalarda geleneksel bir uygulama şekli olup günümüzde de sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Pasajlamada fermantasyon başında bir önceki üretimdeki baskın, stabil ve aktif mikrobiyota yeni üretime inoküle edilir. Böylece yeni hazırlanan karışımda fermantasyon yüksek sayıda aktif, canlı ve stabil mikroorganizma ile başlatılır. Ayrıca tüm fermantasyon çevrimlerinde aynı mikrobiyal konsorsiyumlar bulunduğu standart ve arzu edilen özelliklere sahip tekrarlanabilir üretimler gerçekleştirilebilmektedir.

Pasajlama tekniği ekşi hamur ekmeği başta olmak üzere birçok farklı fermente gıdanın üretilmesinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Pasajlanarak üretilen geleneksel fermente gıdalara ekşi hamur, kasava, idli, mabisi, dahi, tairu, ergo, come şeklinde birçok örnek verilebilir. Birçok farklı çalışmada pasajlama uygulamasının son ürünün fermantasyon özelliklerine olan etkileri araştırılmış, pasajlama uygulamasının mikrobiyota kompozisyonu, ürün stabilitesi, aroma ve organoleptik özellikleri üzerindeki etkileri incelenmiştir (Baruzzi ve ark, 2002; Moran ve ark, 2006; Vrancken ve ark, 2010; Vrancken ve ark, 2011; Vogelmann ve Hertel, 2011; Vera ve ark, 2012; De Vuyst ve ark, 2014; Bessmeltseva ve ark, 2014; Shrivastava ve ark, 2015; Rodriguez ve ark, 2016; Harth ve ark, 2016; Van

Kerrebroeck ve ark, 2016; Coda ve ark, 2017; De Vuyst ve ark, 2017; Saubade ve ark, 2018; Harth ve ark, 2018; Oshiro ve ark, 2019).

İdli; zengin besleyici değeri, ekşi tadı ve iştah açıcı aroması ile bilinen Hindistan'da çokça tüketilen fermente bir tahıl ürünüdür. İdli fermantasyonunda da ekşi hamurda olduğu gibi asitlenme ve kabarma en önemli iki değişikliklerdir. Fermantasyon süresi 12 ila 14 saat arasında değişen idlinin söz konusu bu uzun fermantasyon süresinin kısaltılması büyük ölçekli üretimlerde daha yüksek ürün kapasitesinin sağlanabilmesi açısından önem arz eder. Shrivastava ve Ananthanarayan (2015), taze hazırlanmış idli hamurunu %10, %25 ve %50 oranlarında fermente idli ile karıştırmış ve fermantasyonda sürekli pasajlama yaparak idlinin fermantasyon süresini 12 saatten 3 saate kadar düşürmüştür. Çalışmada herhangi bir pasajlamanın yapılmadığı idli kontrol grubunda pH 5,88 değerinden 4,33 değerine fermantasyonun 12. saatinde düşerken, pasajlama yapılan gruplarda aynı pH değerine yalnızca 3. saat sonunda ulaşılmıştır.

Rodriguez ve ark (2016), amaran tahılından elde edilen undan hazırlanan ekşi hamur örneklerini 30°C'de 10 gün boyunca gün aşırı pasajlamıştır. Her pasaj sonrasında toplanan fermente hamur örneklerinde yapılan DGGE analizleri ilk pasajlamadan itibaren tüm hamur örneklerinde baskın LAB türünün *Lb. plantarum* olduğunu göstermiştir. Çalışmada pasajlama uygulaması ile hamurdaki floranın stabilite kazandığı rapor edilmiştir.

Vrancken ve ark (2010), Belçika bölgesinde toplanan 21 ekşi hamur örneğini 10 gün boyunca pasajlayarak fermente etmiş, fermente hamurlarda maya tür çeşitliliğinin değişimini araştırmışlardır. Hamurlardan toplanan toplam 127 maya izolatında baskın olan türler; *S. cerevisiae*, *W. anomalus* ve *C. glabrata* olmuştur. Bu çalışma ile ekşi hamur fermantasyonlarında pasajlamanın LAB türlerinin yanı sıra maya florasını da kararlı hale getirdiği ortaya konulmuştur.

Fermente gıdaların üretiminde uygulanan fermantasyon parametreleri son ürünün mikrobiyota kompozisyonunu önemli ölçüde etkiler. Bu parametreler sırasıyla fermantasyon sıcaklığı, pH değeri, fermantasyon süresi, redoks potansiyeli,

su aktivitesi, hamur verimi, hamur pasajlama sıklığı ve başlangıç hamurunun havalandırılması şeklinde sıralanabilir (Corsetti, 2013; De Vuyst ve Neysens, 2005; De Vuyst ve ark, 200; Ganzle ve ark, 2007; Gobbetti ve ark, 2005; Hammes ve ark, 2005; Minervini ve ark, 2014; Van Kerrebroeck ve ark, 2016).

Fermente ürün üretiminde uygulanan sıcaklık üründeki mikrobiyal kompozisyon üzerinde kilit rol görevindedir. Düşük sıcaklıklar ekşi hamurda heterofermantatif LAB türlerinin gelişimini teşvik eder iken; yüksek sıcaklıklarda homofermantatif türler baskındır. Maya türlerinin ideal gelişimleri ise düşük fermantasyon sıcaklıklarında gerçekleşir.

Harth ve ark (2018), tarafından fırın ve laboratuvar koşullarında tef unundan spontane ekşi hamur fermantasyonları yapılmıştır. Her iki hamur grubuna da 10 gün boyunca 24 saatte bir pasajlama yapılmış, laboratuvar grubu hamurlarında 30°C fermantasyon sıcaklığı uygulanırken fırın grubu hamurlarında sıcaklık 18-23°C arasında değişmiştir. Her iki hamur grubunda da hamur pH değeri 5. pasajlamadan sonra 4,00'ün altına düşmüştür. Laboratuvar grubu hamurlarda 5. pasajdan son pasaja kadar süregelen adaptif LAB mikrobiyotası *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum*, *Lactobacillus sanfranciscensis*, *W. cibaria* türlerinden oluşmuştur. Söz konusu hamur grubunda 5. pasajdan itibaren tüm pasajlarda baskın olan maya türü ise *S. cerevisiae* olmuştur. Aynı pasaj sayısından itibaren fırın grubu hamurlarında ise *Lb. brevis*, *Lb. helveticus*, *Lb. plantarum*, *Lb. sanfranciscensis* ve *P. pentosaceus* LAB türleri ve *K. exigua* maya türünün baskın olduğu rapor edilmiştir. Görüldüğü gibi fermantasyon parametrelerindeki değişimle beraber hamurlarda fermantasyondan sorumlu mikrobiyota da çeşitlilik göstermiştir. Vogelmann ve Hertel (2011), 25-30°C'de gerçekleştirdikleri ekşi hamur fermantasyonunda hamurda baskın LAB türü olarak *Lb. sanfranciscensis* bulmuştur. Aynı çalışmada 25-30°C'de hamurda tek baskın maya türü olan *C. humilis*, sıcaklık 35°C'yi aştığında gelişme göstermemiştir.

Vrancken ve ark (2010), ise pasajlanarak fermente edilen ekşi hamurlarda 30 ve 37°C'de baskın türün *Lb. fermentum* olduğunu; 23°C'de ise *Leu. citreum* olduğunu bildirmişlerdir.

Bessmeltseva ve ark (2014), ise ekşi hamurda uygulanan farklı fermantasyon sıcaklıklarının hamurda LAB tür sayısını ve dağılımını etkilediğini bildirmişlerdir. Söz konusu araştırmacılar ilk pasajlamalarda 30°C’de yapılan fermantasyonlarda hamurdaki LAB tür çeşitliliğini 23°C’ye nazaran fazla bulmuşlardır. Lâkin çalışmalarında ekşi hamura yaptıkları 56. pasaj sonunda hamurlarda baskın LAB biyotası aynı türlerden oluşmuş, yalnız oransal dağılımları farklılık göstermiştir. Aynı çalışmada maya florası 30°C’de *S. cerevisiae* ve *Candida krusei*’den oluşur iken; 20°C’de bu türlerin yerini *Kazachstania unispora* almıştır.

Menezes ve ark (2020), ise ekşi hamurda *Pseudomonas* ve *Enterobacteriaceae* gibi bakteri gruplarının inhibisyonu için ideal fermantasyon sıcaklığını 21°C olarak önermişlerdir. Çalışmalarında 21°C fermantasyon sıcaklığında hamura yapılan 4. pasajlamadan sonra mikrobiyotada baskın LAB türünün *Lb. farciminis* olduğunu rapor etmişlerdir.

Fermantasyon ortamının pH değeri, fermente ürünün mikrobiyotasını doğrudan etkileyen bir diğer parametredir. Fermantasyon başında ortamın pH’sı hamur mikrobiyotasının gelişimini etkilerken; fermantasyon ilerledikçe de gelişen ve çoğalan mikrobiyota hamur pH’sını hızla değiştirmektedir. Düşük pH değerlerinde hamurda sadece asit tolerant laktobasiller baskın olurken; yüksek pH değerlerinde hamurda çeşitlilik artar ve pediokoklar, laktokoklar, lökonostoklar ve weisellalar da bulunur (DeVuyst ve ark, 2014).

Robert ve ark (2009), Tip 1 ekşi hamurunda *P. pentosaceus*, *Leuconostoc* ve *Weissella* türlerinin pH 4,00’ün üzerinde adapte olduğunu, Brandt ve ark (2004), ekşi hamurda *Lb. sanfranciscensis* adaptasyonu için ideal pH’nın 5,00 olduğunu rapor etmişlerdir.

Vogelmann ve Hertel (2011), çalışmalarında *Lb. sanfranciscensis* türünün 3,80 pH’nın altında gelişmediğini vurgulamışlardır.

Van der Meulen ve Scheirlinck (2007), Vrancken ve ark (2011), Weckx ve ark (2010), çalışmalarında ortak sonuç olarak; pasajlama yapılan ekşi hamur

fermantasyonlarında *Lb. fermentum* türünün hamurda 4,00 pH değerinin altında gelişim gösteren tek tür olarak bildirilmiştir.

Van Kerrebroeck ve ark (2016), fermentasyon boyunca ekşi hamur pH'sının 4,00'de kontrol altında tutulmasının hamurda mikrobiyal topluluk dinamiğini etkilemediğini fakat metabolit kinetiğini etkilediğini belirtmişlerdir.

Fermentasyonda uygulanan pasajlama oranı da fermente ürün üzerinde sıcaklık ve pH değeri kadar etkili bir diğer parametredir. Fermentasyon öncesi hamura yapılan pasajlama oranı hamurun direk başlangıç pH değerini değiştirir. Ayrıca fermente hamurdan yapılan pasajlamanın oranı yeni hamurun su aktivitesini de değiştirmektedir. Bu da hamurun mikrobiyotasındaki türlerin gelişimi üzerine etkili olmaktadır (De Vuyst ve ark, 2014; Brandt ve ark, 2004).

Brandt ve ark (2004), ekşi hamur fermentasyonunda %2-5 arasında değişen pasajlama oranlarının hamur mikrobiyotasındaki stabiliteyi etkilemediğini, %50 oranında ise hamurdaki laktobasillerin gelişimini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Tef unundan yapılmış ekşi hamur fermentasyonlarında uygulanan 10 pasaj boyunca hamur mikrobiyotasına ait PZR-DGGE profillerinde izlenen tür sayısı ve çeşitliliği uygulanan fermentasyon parametrelerine bağlı olarak değişiklik göstermiştir (Harth ve ark, 2018). 18-23°C sıcaklıkta fermente edilen fırın grubu hamurları ile 30°C sıcaklıkta fermente edilen laboratuvar grubu hamurlarına ait PZR-DGGE profilleri birbirinden farklı olmuştur. LAB profili açısından 7. pasaja kadar birbirinden farklı tür ve sayıda bant profili ortaya koyan söz konusu hamur gruplarının ikisinde de farklı türler olmak kaydı ile 7. pasajdan son pasaja kadar LAB florasını temsil eden sadece 1 bant izlenmiştir. Çalışmada yer alan hamur gruplarında yer alan maya profili ise her iki grupta da 2. pasajdan itibaren fermentasyon boyunca izlenmiş, lakin her iki grupta izlenen bantların farklı maya türleri olduğu rapor edilmiştir.

Arpa unundan yapılmış ekşi hamurların fermente edilmesinde uygulanan sıcaklık 17-22°C'den 30°C'ye yükseldiğinde hamurlarda izlenen LAB florasına ait PZR-DGGE bant profillerinde çeşitlilik artmış, maya profilleri ise benzerlik

göstermiştir (Harth ve ark, 2016). Çalışmada hamurlara 10 pasaj yapılmış, tüm hamur gruplarının son 3 pasajında hamur florası benzer bant profilleri göstermiş, ve fermantasyon söz konusu bu adaptif türler ile yürütülmüştür.



3. MATERYAL ve METOT

3.1. Tarhana Hamurlarının Hazırlanması ve Fermantasyonu

Tarhana hamurunun hazırlanmasında %40 oranında buğday unu (Tip 550, ticari buğday unu, Söke mavisi, Aydın, Türkiye), %16 oranında yoğurt (kuru madde oranı %13, tam yağlı, Pınar yoğurt, İzmir, Türkiye), %20 oranında kapyra kırmızı biber (*Capsicum annuum L.*, mevsim sebzesi), %12 oranında kuru soğan, %10 oranında domates, %0,5 oranında kuru nane (Bağdat baharat, Ankara, Türkiye), %0,5 oranında ekşi hamur ve son olarak %1,0 oranında tuz (Horoz tuz, Denizli, Türkiye) kullanılmıştır (Şimşek ve ark, 2017). Öncelikle biber, soğan ve domates öğütücünden (Arzum, Prokit 444) geçirilerek inceltilmiş, geri kalan ham maddeler de eklendikten sonra elde edilen karışım spiral mikserde (Gülsa, A model) homojen hale gelene dek yoğurulmuştur. Formülasyonda bulunan ekşi hamur un ve su kullanılarak 200 hamur verimi ile hazırlanmış ve 16 saat boyunca 30°C’de inkübe edildikten sonra (yaklaşık 10^9 kob/g) tarhana hamuru karışımına inoküle edilmiştir. Bu şekilde 5’er kg hazırlanan tarhana hamurları Çizelge 3.1’de belirtilen çalışma deseninde yer alan fermantasyon sıcaklıkları ile fermente edilmiştir. Hamurun pH değeri çalışma deseninde yer alan değere ulaştığında fermantasyon sonlandırılmış ve buradan alınan fermente hamur yeniden hazırlanmış tarhana hamuruna farklı oranlarda (%5, %10 ve %15) pasajlanmıştır. Her pasajlama öncesinde fermente hamurlardan ileri analizler için örnekler alınmıştır. Alınan örnekler -20°C’de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. Hamur gruplarında kullanılan fermantasyon parametreleri

Fermantasyon sıcaklığı (°C)	Pasajlamada kullanılan fermente hamur pH değeri	Hamur pasajlama oranı (%)
25	3,70 ± 0,05	5
25	3,70 ± 0,05	10
25	3,70 ± 0,05	15
25	4,00 ± 0,05	5
25	4,00 ± 0,05	10
25	4,00 ± 0,05	15
30	3,70 ± 0,05	5
30	3,70 ± 0,05	10
30	3,70 ± 0,05	15
30	4,00 ± 0,05	5
30	4,00 ± 0,05	10
30	4,00 ± 0,05	15

3.2. pH ve Toplam Titrasyon Asitliği Analizi

Fermantasyon boyunca tarhana hamurlarında pH ölçümü dijital pH metre (Hanna Instruments, HI 8314) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla hamur örnekleri pH ölçümü yapılmadan önce iyice karıştırılmış ve hamurdan 5 g örnek alınarak 50 ml saf su ile homojenize edilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında dijital pH metrenin probu sulandırılmış karışımın içine daldırılmış ve bu şekilde hamurun pH değeri belirlenmiştir (İbanoğlu ve ark, 1999).

Tarhana hamurlarının asitlik derecesi tayini ise; TSE Tarhana Standartı'na (Anonymous, 2002) göre yapılmış ve 10 g tarhanadaki serbest asitleri nötralize etmek için kullanılan 0,1 M NaOH' ın hacmi (ml) "asitlik sayısı" olarak verilmiştir. Bu amaçla 10 g tarhana örneği tartılmış, üzerine 50 ml %67'lik etil alkol eklendikten sonra 5 dk süreyle homojenize edilmiş ve çalkalanmıştır. Bu karışım daha sonra kaba filtre kağıdından süzülüş, süzüntüden 10 ml alınarak üzerine 2-3 damla fenolftaleyn indikatörü eklenmiş ve 0,1 M NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Sonuçlar harcanan NaOH çözeltisi miktarı 5 ile çarpılarak asitlik derecesi cinsinden verilmiştir (Anonymous, 2004).

3.3. Mikrobiyolojik Analizler

10 g tarhana hamuru örneği 90 ml peptonlu fizyolojik tuzlu su ile homojenizatörde (Seward Medical, London, UK) 1,5 dk homojenize edilmiştir. Daha sonra uygun dilüsyonlardan %0,01 siklohekzimid ilave edilen MRS agar (De Man Rogosa Sharpe Agar; Merck 1.10660) ve M17 agar (%0,5 glukoz; Merck 1.15108) ortamında LAB sayımı (Meroth ve ark, 2003), PCA agar (Plate Count Agar, Merck 1.05463) ortamında da toplam mezofil aerob bakteri (TMAB) sayımı 30°C’de 48 saat inkübasyon sonunda tespit edilmiştir. Tarhana hamurundaki maya ve küf sayımı DRBC agar (Dichloran Rose Bengal Chlortetracycline Agar, Merck, 1.00046) ortamında 28-30°C’de 48 saat inkübasyon sonunda belirlenmiştir (Meroth ve ark, 2003; Özel, 2012).

3.4. Tarhana Hamurlarında PZR-DGGE Analizi

Fermantasyonlardan toplanan tarhana hamurlarındaki LAB ve maya çeşitliliğinin değişimi Polimeraz Zincir Reaksiyonu sonrası Denatüre Gradient Jel Elektroforezi (PZR-DGGE) analizi ile izlenmiştir. Tarhana hamurundan mikrobiyal genomik DNA izolasyonu Picther ve ark (1989), tarafından bildirilen yöntemle gerçekleştirilmiştir. Kısaca 10 g tarhana örneği 90 ml peptonlu fizyolojik tuzlu suda iyice homojenize edilmiş, takiben bu homojenizattan alınan 50 ml örnek 1000 g’de 5 dk santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatant başka bir tüpe alınmış ve 5000 g’de 15 dk santrifüj işlemi uygulanarak üst faz uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan hücre pelletleri yıkanarak ileri çalışmalar için -20°C’de muhafaza edilmiştir.

DNA ekstraksiyonunda LAB’ların hücre duvarının parçalanması için 50 mg lizozim (L6876, Sigma-Aldrich), mayaların hücre duvarının parçalanması için ise 0,08 mg litikaz (L2524, Sigma-Aldrich) enzimi kullanılmıştır. Bakteri ve mayaların genomik DNA ekstraksiyonu için ise DNA izolasyon kitleri (Invitrogen ve BioRad) kullanılmıştır.

PZR-DGGE analizinde, LAB için %25-50; mayalar için ise %30-60 oranlarında üre-formamid içeren gradiyent poliakrilamid jel kullanılmıştır. Bu

oranlarda 100 ml hacminde poliakrilamid jellerin hazırlanmasında kullanılan temel kimyasal bileşenlerin miktarları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. PZR-DGGE analizinde %25, %30, %50 ve %60’lık denatüre çözeltinin hazırlanmasında kullanılan temel bileşenler ve oranları (Fischer ve Lerman, 1983)

Materyal	Denatüre Çözeltinin Bileşimi			
	%25	%30	%50	%60
%40 Akrlamid/Bis (37.5:1) (ml)	20	20	20	20
50*TAE tampon (ml)	2	2	2	2
Formadid (ml)	10	12	20	24
Üre (g)	10,5	12,6	21	25,2
Steril saf su (ml)	57,5	53,4	37	28,8
Toplam hacim (ml)	100	100	100	100

Çizelge 3.2’de belirtilen bileşenler kullanılarak 100 ml olarak hazırlanan çözeltinin jelleşmesi için çözeltiye 0,1 g/ml’lik amonyum persülfatdan (APS) 815 µl ve diğer jelleşme ajanı olan tetrametilendiaminden (TEMED) de 63 µl ilave edilmiş ve karışım hızlıca gradiyent poliakrilamid jel hazırlanma sisteminin (Gradient Former Bio Rad) haznesine konulmuştur. Buradan cam plakalara dolum yapılarak gradiyent jel hazırlanmıştır. Polimerleşen jeller +4°C’de bir gece bekletildikten sonra sıcaklık kontrollü dikey elektroforez (Thermo) sisteminde kullanılmıştır.

PZR-DGGE analizinde LAB ribozomun V3 bölgesi, mayalarda ise 28S bölgeleri çoğaltılmıştır. Bu amaçla bakteri hücrelerin ribozomal bölgesine homolog olan bölgelerin çoğaltılmasında F338 ön primeri (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 3' terminal ucuna GC DNA kıskacı (5'-CGCCCGCCGCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGG CACGGGGG-3') takılarak ve 518R geri yöndeki primer (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') ile kullanılmıştır (Van der Meulen ve ark, 2007; Tu ve ark, 2010). Benzer şekilde mayalarda ise 28S bölgesinin çoğaltılmasında; U1 ve U2 (5'-GTGAAATT GTTGAAAGGGAA-

3'+GC kıskacı ve 5'-GACTCCTTGGTCCGTGTT-3') primerlerinden faydalanılmıştır (Sandhu ve ark, 1995; Meroth ve ark, 2003; Vogelmann ve ark, 2009).

PZR karışımının hazırlanmasında master mixden (5*FIREPolR Master Mix/ SOLIS Bio Dyne) 8 µl, primerlerden 1 µl, DNA'dan 2µl kullanılmış, toplam hacim 40 µl olacak şekilde steril ultra su ile tamamlanmıştır. Bakteriler için uygulanan PZR programında 95°C 5 dk ön denatürasyon, 30 çevrim 95°C 30 sn, 55°C 45 sn, 72°C 1 dk ve son olarak 72°C 10 dk; mayalar için ise 94°C 5 dk ön denatürasyon, 35 çevrim 94°C 30 sn, 56°C 45 sn, 72°C 1 dk ve son olarak 72°C 7 dk sıcaklık ve süre kombinasyonları uygulanmıştır. 16S rDNA ve 28S rDNA PZR ürünleri sırasıyla %25-50 ve %30-60 denatürant (7M üre ve %40 formadit) içeren %8'lik gradiyent poliakrilamid jelde 15 dk 50 V ve 4 saat 150 V akımda 60°C sabit sıcaklıkta yürütülmüştür. Jeller son aşamada etidyum bromid (50 µl/1000 ml) ile boyanarak UV altında görüntülenmiştir (Miambi ve ark, 2003; Van der Meulen ve Scheirlinck, 2007; Lacumin ve ark, 2009; Oguntinyinbo ve Dodd, 2010; Tu ve ark, 2010).

3.5. Tarhana Hamurlarında Kültüre Bağımlı Tanımlama Analizi

Çizelge 3.1'de yer alan çalışma desenine uygun gerçekleştirilen fermantasyonlarda yapılan son pasaj sayılarına ait (7. pasaj) tarhana hamurlarından LAB izolasyonu yapılmıştır. MRS ve M17G (%0,05) agar ortamından steril öze yardımıyla yaklaşık 20'şer adet toplanan LAB kolonilerinden benzer olanların ayıklanması amacıyla (GTG)₅ tiplendirilmesi yapılmıştır. Bunun için öncelikle söz konusu izolatlardan genomik saflaştırma kiti (Invitrogen) kullanılarak gDNA elde edilmiş, daha sonra her bir izolatın gDNA'sı kalıp olarak kullanılarak LAB için (GTG)₅ (5-GTGGTGGTGGTGGT-3) primeri ile tekrar serileri PZR (Techne, UK) ile çoğaltılmıştır (Groenewald ve ark, 2008; Scheirlinck ve ark, 2008). Bu tekrar serilerinin çoğaltılmasında her bir suş için 20 µl'lik PZR karışımı kullanılmıştır. Bu karışımın hazırlanmasında 4 µl master mix (5*FIREPol^R Master Mix/ SOLIS Bio Dyne), 0,75 µl primer, 2 µl DNA ve toplam hacim 20 µl olacak şekilde steril ultra

saf su kullanılmıştır. PZR protokolü; 95 °C 3 dk ön denatürasyon, 30 çevrim 95 °C 1 dk, 45 °C 30 sn, 72 °C 5 dk ve 72 °C 10 dk süre kombinasyonları şeklinde uygulanmıştır. PZR ürünleri %0,8'lik agaroz jelde yürütülerek jel görüntüleme sisteminde (Vilber Lourmat) oluşan bant profilleri izlenmiştir. (GTG)₅ profil farklılığı esasına göre izolatların bantları arasındaki benzerlik, Bionumerics Gelcompare II Software (Applied Maths, SintMartens-Latem, Belgium) yardımıyla %2,5 tolerans ve %1 optimizasyon yapılarak Dice benzerlik katsayısı ile hesaplanmıştır. Kümeleme analizi ile de dendrogramlar oluşturulmuştur. Her kümeden temsili birer suş seçilmiş ve 16S rRNA geninin 1464 bp bölümü iki farklı primer çifti (529F-1491R ve 27F-780R) kullanılarak PZR ile çoğaltılmıştır. Doğru büyüklükte ve saflıktaki PZR fragmentlerin PZR saflaştırma kiti (Fermentas) ile temizliği yapıldıktan sonra, RefGen Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji A.Ş. (Ankara Üniversitesi Teknoloji Geliştirme Bölgesi, Ankara) tarafından DNA dizi analizi yapılmıştır. Çalışmada bakterilerden elde edilen fragmentlerin DNA dizileri EMBL veri tabanında taranarak nihai tanımlaması yapılmıştır. NCBI veri tabanı kullanılarak yapılan karşılaştırma analizinde suşların tanımlanması için %97 benzerlik eşik değeri olarak kullanılmıştır (Özel, 2012).

3.6. Tarhana Hamurlarında Metagenom Analizi

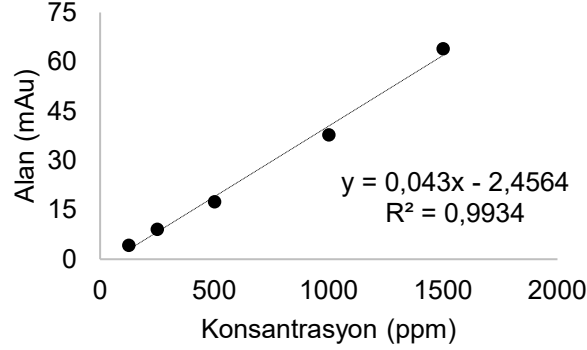
Son pasaj sayılarına ait hamur örneklerindeki LAB ve maya çeşitliliği ve prevalansı 16S ve 18S rRNA geni etiket kodlu MiSeq tabanlı (Illumina, CA, USA) yüksek performanslı sekanslama tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Bunun için öncelikle hamur örneklerindeki bakteriyel genomik DNA izolasyonu kiti (EurX GeneMATRIX) protokolüne uygun şekilde elde edilmiştir. DNA miktar tespiti floresan temelli çift zincirli picogreen boyası kullanılarak florometrede (Victor 3) ölçülmüştür. Yeni nesil dizileme okumasından önce amplikon kütüphanesi hazırlığı sırasında iki aşamalı PZR protokolü ile 16S rDNA'nın V3 ve V4 bölgeleri çoğaltılmıştır. İlk PZR adımı Illumina 16S metagenomik dizileme kütüphanesi hazırlık protokolü takip edilerek 25 µl toplam hacimde, 2,5 µl kalıp DNA (5 ng/µl),

5 µl 16SV3F (5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3'), 5 µl 16SV3R (5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3') spesifik primerleri ve 12,5 µl 2x KAPA Hi-Fi HotStart PZR Mix (Kapabiosystems, Wilmington, Massachusetts, USA) ile hazırlanmıştır. PZR reaksiyonları aşağıdaki program kullanılarak PeqSTAR PZR cihazı (Peqlab Biotechnology, Erlangen, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir: 3 dk boyunca 95°C'de başlangıç denatürasyonu, takip eden 25 döngü için 95°C'de 30 sn, 55°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn ve son olarak 72°C'de 5 dk sıcaklık ve süre kombinasyonları uygulanmıştır. PZR ürünleri, AMPure XP (Beckman Coulter) manyetik boncuklar kullanılarak primer dimerler ve serbest primerlerden temizlenmiştir. Daha sonra Nextera XT İndeks kiti (Illumina) kullanılarak yapılan ikinci PZR adımında her örneğe 2 indeks barkod bölgesi bağlanmıştır. Bu amaçla 50 µl toplam hacim olacak şekilde; 5 µl kalıp DNA, 5 µl Nextera XT İndeks primer 1 (N7xx), 5 µl Nextera XT İndeks primer 2 (S5xx), 25 µl 2X KAPA Hi Fi HotStart PZR mix ve 10 µl steril ultra saf su kullanılmıştır. PZR protokolü olarak 95°C'de 3 dk ön denatürasyon, takip eden 8 döngü için 95°C'de 30 sn, 55°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn ve son olarak 72°C'de 5 dk sıcaklık ve süre kombinasyonları uygulanmıştır. İndeks PZR ürünlerinin temizliği de yine AMPure XP (Beckman Coulter) manyetik boncuklar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir numunenin DNA konsantrasyonu 10 mM Tris (pH 8.5) ile 4 nM'ye ayarlanmış ve seyreltilmiş DNA numunelerinden 5'er µl alınarak kütüphanelerin birleştirilmeden önce eşit oranda temsili için kullanılmıştır. Metagenom çalışmaları için Illumina talimatlarını takiben 16S rRNA genine dayalı metagenom dizilemesi Miseq Illumina'da gerçekleştirilmiştir. Illumina MiSeq cihazında bulunan MiSeq Control Software v2.2 programıyla okuma görüntüleri işlenmiş ve Real Time Analysis. v1.18 programı kullanılarak bazlar tayin edilmiştir. Son olarak baz okumaları bcl2fastq (v1.8.4) programıyla FASTQ formatına çevrilmiştir. Okuma sonuçlarından spesifik olmayan adaptör dizilerini çıkartmak için Scythe (v0.994 BETA) ve Sicklet programları kullanılmıştır. Son olarak; %97'den daha fazla benzerlik gösteren özdeş

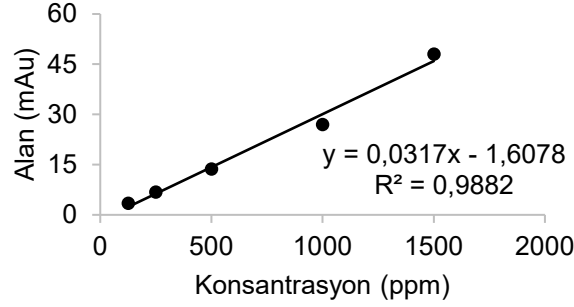
diziler operasyonel taksonomik birimlere (OTU) kümelenmiştir. Nitekim örnekler arasındaki benzerlikler kütüphanede biriktirilen OTU'lar, Chao1 zenginliği ve İnverse Simpson indeks eğrisi ile değerlendirilmiştir.

3.7. Tarhana Hamurlarında Organik Asit Analizi

Tarhana hamurundan organik asitlerin ekstraksiyonu için 10 g örnek 90 ml distile su ile homojenizatör kullanılarak 3 dk boyunca homojenize edilmiştir. Homojenizattan 10 ml alınarak üzerine 5 ml 0,1 mmol/L HClO_4 çözeltisinden ilave edilip karıştırılmıştır. Karışım 4000 g'de 15°C'de 15 dk süreyle santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatant 1 mmol/L HClO_4 ile pH 7,0 olacak şekilde ayarlanmış ve ardından 25 ml'ye tamamlanmıştır. Takiben 5 ml örnek katı faz ekstraksiyon kolonundan (Grace Pure™ SPE Cation-X, Maryland, ABD) geçirilmiştir. Bunun için katyonik kolon kullanılmıştır. Kolon 5 ml metanol ile şartlandırılmış ve ardından örnekler yüklenerek kolondan geçirilmiştir. Kolondan geçen elüat 0,45 µm selüloz filtreden geçirilmiş ve HPLC'ye yüklenmiştir. Hamur örneklerinin organik asit analizinde Shimadzu (Thermo, Ultimate 3000) marka DAD detektör ve Shim-pack 150 mm, 4,6 mm iç çaplı ODS-3 kolon kullanılmıştır. Cihaz 0,7 ml/dk izokratik akış hızında, 65°C fırın sıcaklığında, 210-280 nm dalga boyunda ve 20 µl örnek enjekte edilerek çalıştırılmıştır. Hareketli faz (10 mM HClO_4) örnek ve standart çözeltiler cihaza verilmeden önce 0,45 µm naylon disk filtreden geçirilmiştir. Örneklerdeki organik asit miktarlarını belirlemek için laktik ve asetik asidin 5 farklı konsantrasyonda (125, 250, 500, 1000, 1500 ppm) standart çözeltileri hazırlanmış ve lineer regresyon eğrileri çıkarılmıştır. Standart kromatogramlarında alıkonma süreleri belirlenen organik asitler tarhana hamuruna ayrı ayrı eklenmiş ve örnek kromatogramlarında alıkonma süreleri dikkate alınarak tanımlama yapılmıştır (Yazıcı, 2016).



Şekil 3.1. Laktik asit standart eğrisi



Şekil 3.2. Asetik asit standart eğrisi

3.8. Tarhana Hamurlarında Uçucu Aroma Bileşen Analizi

Hamurlardaki uçucu aroma bileşikler katı faz mikro ekstraksiyon teknolojisi (SPME) kullanılarak Gaz Kromatografisi-Kütle spektroskopisi (GC-MS; QP2010 (Shimadzu; Japonya) ile belirlenmiştir. Aroma bileşiklerin tespitinde Plessas ve ark (2008), tarafından uygulan yöntem modifiye edilmiştir. SPME analizlerinin her biri için 2 g tarhana örneği 20 ml'lik bir vial alınmış ve SPME enjektörü vial septumundan içeriye sokulmuştur. 2 g numune tarhana örneğine 1 g NaCl ve 2.5 µL iç standart (4 metil-2-pentanol) eklenmiş SPME şişesine alınmıştır. Daha sonra vial 55°C'deki su banyosuna daldırılmış ve SPME elyafı (2 cm-50/30 mm DVD/Carboxen/PDMS Stable Flex Supelco, Bellefonte, PA, ABD) 55 dk headspace işlemine maruz bırakılmıştır. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra elyaf

splitsiz modda 10 dk uçucuların termal desorpsiyonu için 250°C'ye ayarlanan gaz kromatografisinin injeksiyon bölümüne yerleştirilmiştir. GC-MS cihazında aroma bileşenlerinin analizinde polar stabil mum kolonu (60 m uzunluk x 0.32 mm) id x 0.25 µm kalınlık, Restek, ABD) kullanılmıştır. Modifiye GC-MS program şu şekilde uygulanmıştır: 40°C'de 1 dk bekletme, dakikada 7°C'lik artışlarla 100°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 5 dk bekletme, dakikada 4°C artışlarla 130°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 1 dk bekletme, dakikada 2°C artışlarla 180°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 1 dk bekletme, dakikada 15°C artışlarla 250°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 4 dk bekletmedir. Taşıyıcı gaz helyum ve akış oranı 3 ml/dk olarak uygulanmıştır.

Gaz kromatografisinde alıkonma indeksleri ile elde edilen uçucu bileşiklerin piklerinin tanımlanması ve kütle spektrumları MS'deki kütüphanelerin (Wiley 6 ve FFNSC; Flavours and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds) ile karşılaştırılarak tanımlanmıştır. Lineer alıkonma indeksleri alkan serisi (C7-C30) enjeksiyonu ile hesaplanmıştır. Bileşiklerin pik alanları, iç standardın pik alanına göre µg / kg cinsinden hesaplanmıştır.

3.9. İstatiksel Analizler

Pasajlanarak fermente edilen tarhanaların mikrobiyolojik ve kimyasal analiz sonuçlarındaki farklılıklar ($p < 0,05$) tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak Minitab Statistical Software v.19.1.1 (Minitab Inc., State College, PA, ABD)'de istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve %95 güven düzeyinde Tukey's testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Hamurlarda belirlenen farklı uçucu aroma bileşikleri ile fermantasyon parametreleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmede XLSTAT yazılımında yer alan (sürüm 2020.3.1.3, Addinsoft, Paris, Fransa), ısı haritası (Center: Yes, Reduce: Yes, Color Scale: Red to green through black, Color calibration: Automatic (Min: -1/ Max: 1), Chart scaling factor: Width: 2 / Height: 1), kısmi en küçük kareler (PLS-R) regresyon modeli (Algorithm: Fast, Stop Conditions: Fixed Number=4, Cross-validation: Jackknife (LOO), Variables: Center: Yes / Reduce: Yes, Confidence

interval (%): 95), temel bileşen analizi (PCA Type:Correlation, Filter Factors Maximum Number=5, Standardisation: (n), Type of Biplot: Distance Biplot / Coefficient = Automatic) kullanılmıştır.





4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA**4.1. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının pH Değişimleri**

Bu çalışmada Çizelge 3.1’de belirtilen deneme desenine uygun parametrelerde gerçekleştirilen fermentasyonlarda tarhana hamurları, deneme deseninde belirtilmiş pH değerindeki fermente tarhana hamurları ile toplamda 7 defa pasajlanmıştır. Fermentasyon boyunca her hamur grubunun pH değeri eşzamanlı ölçülerek takip edilmiş, çalışma deseninde yer alan hedef pH değerine ulaşan hamurlardan yeni hazırlanmış taze tarhana hamurlarına pasajlamalar yapılmıştır. Çizelge 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4’de fermentasyon gruplarına ait hamurlarda yapılan pH ölçümlerinin sonuçları ayrıntılı şekilde verilmiştir.

25°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerine ulaşınca dek fermente edilmek için hazırlanan taze tarhana hamurlarının fermentasyon başlangıcında pH değeri 4,90 olarak ölçülmüştür. Fermentasyonun başlatılmasından 4 gün sonra tarhana hamurlarının pH değeri 3,69’a ulaşmış ve bu tarhana hamurlarından yeni hazırlanmış taze tarhana hamurlarına ilk pasajlama yapılmıştır. 3,69 pH değerine sahip fermente tarhana hamurundan yeni hazırlanmış taze tarhana hamurlarına %5, %10 ve %15 şeklinde farklı oranlarda yapılan pasajlamalardan dolayı 1. pasajlamanın başında tarhana hamurlarının pH değerleri birbirinden farklı olmuştur. %5, 10, 15 pasajlama oranları ile yapılan pasajlama ile söz konusu hamurların pH değerleri sırasıyla 4,64, 4,56 ve 4,28 şeklinde olmuştur. Pasajlama oranlarına bağlı olarak tarhana hamurlarında benzer pH değeri farklılığına yapılan her yeni pasajlamanın başında rastlanılmıştır. 25°C sıcaklıkta fermentasyonuna devam edilen tarhana hamurlarından pH değeri $3,70 \pm 0,05$ ’ e her ulaştığında, bir sonraki taze tarhana hamurunun fermentasyonunda aşılama materyali olarak kullanılmak üzere hamur alınmıştır. Söz konusu koşullarda gerçekleştirilen fermentasyonlarda pasajlama yapılması için beklenen süre 1. pasaja kadar 3 gün, 1. pasajlama için 3 gün, 2.

pasajlama için 4 gün, 3. pasajlama için 3 gün ve 4. pasajlamadan itibaren son pasajlamaya kadar 4 gün şeklinde olmuştur (Çizelge 4.1).

Tarhana hamurlarında farklı oranlarda yapılan pasajlama, hamur pH değeriinin 3,70'e ulaşması için gereken fermentasyon süresi açısından etkili olmamıştır. Yani pasajlama oranındaki artış fermentasyon süresinin kısaltılması üzerine etkili olmamıştır.



Çizelge 4.1. 25°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasajlama zamanları ve fermantasyon boyunca hamurların pH değişimleri

<u>P.</u>	<u>Gün</u>	<u>Pasajlama oranı</u>			<u>P.</u>	<u>Gün</u>	<u>Pasajlama oranı</u>		
		<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>			<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>
Baş.	0.	4,90	4,90	4,90	4.p	17.	3,76	3,75	3,75
	1.	4,20	4,20	4,20	5.p	17.	4,79	4,70	4,60
	2.	3,86	3,86	3,86		18.	4,20	4,23	4,28
	3.	3,72	3,72	3,72		19.	3,87	3,89	3,90
Bitiş	4.	3,69	3,69	3,69		20.	3,82	3,86	3,83
1.p	4.	4,64	4,56	4,28	5.p	21.	3,75	3,76	3,73
	5.	4,12	4,02	3,97	6.p	21.	4,80	4,72	4,59
	6.	3,85	3,80	3,83		22.	4,25	4,15	4,10
1.p	7.	3,75	3,77	3,76		23.	3,95	3,96	3,93
	2.p	7.	4,87	4,84		24.	3,86	3,84	3,83
	8.	4,14	4,21	4,10	6.p	25.	3,79	3,79	3,80
	9.	3,91	3,92	3,89	7.p	25.	4,70	4,46	4,50
	10.	3,90	3,94	3,95		26.	4,18	4,19	4,05
2.p	11.	3,71	3,70	3,73		27.	3,89	3,85	3,88
3.p	11.	4,78	4,68	4,67		28.	3,83	3,84	3,82
	12.	4,27	4,09	4,11	7.p	29.	3,75	3,76	3,76
	13.	3,93	3,88	3,88					
3.p	14.	3,70	3,70	3,69					
4.p	14.	4,86	4,70	4,57					
	15.	4,45	4,53	4,25					
	16.	3,87	3,85	3,88					

*Baş: başlangıç, p: pasaj

25°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerine ulaşınca dek fermente edilmek için hazırlanan taze tarhana hamurlarının fermantasyon başlangıcında pH değeri 4,82 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2). Fermantasyonun başlatılmasından 2 gün sonra

4,06 pH değerine ulaşan tarhana hamurlarından yeni hazırlanmış taze tarhana hamurlarına ilk pasajlama yapılmıştır. 4,06 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan yeni tarhana hamurlarının yapılan pasajlama sonrası pH değerleri burada da farklı pasajlama oranlarından etkilenmiştir. Birinci pasajlamanın yapılması ile hamurlarda pH değerleri %5, 10 ve 15 oranlarında pasajlanan hamurlarda sırasıyla 4,72, 4,67 ve 4,57 olmuştur (Çizelge 4.2). Söz konusu pasajlama oranlarındaki farklılık hamur gruplarının pasajlama öncesi ulaşmaları gereken pH değeri için gerekli sürelerde bir değişiklik meydana getirmemiştir. 25°C sıcaklıkta fermente edilen ve $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının $4,00 \pm 0,05$ pH değerine ulaşması ilk 2 pasajlamada 2'şer günde, 3. pasajlamadan itibaren son pasaja kadar 1'er günde gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.2. 25°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasajlama zamanları ve fermantasyon boyunca hamurların pH değişimleri

<u>P.</u>	<u>Gün</u>	<u>Pasajlama Oranı</u>		
		<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>
<i>Başlangıç</i>	0.	4,82	4,82	4,82
	1.	4,67	4,67	4,67
<i>Bitiş</i>	2.	4,06	4,06	4,06
1.p	2.	4,72	4,67	4,57
	3.	4,41	4,46	4,35
1.p	4.	3,96	3,92	3,90
2.p	4.	4,78	4,60	4,56
2.p	5.	4,02	3,99	3,92
3.p	5.	4,65	4,58	4,48
3.p	6.	4,05	3,98	3,95
4.p	6.	4,70	4,58	4,55
4.p	7.	3,96	4,01	4,02
5.p	7.	4,72	4,60	4,52
5.p	8.	4,02	4,07	4,03
6.p	8.	4,70	4,61	4,53
6.p	9.	4,00	4,03	3,98
7.p	9.	4,69	4,65	4,50
7.p	10.	4,01	4,07	4,03

*p: pasaj

30°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerine ulaşıncaya dek fermente edilmek için hazırlanan taze tarhana hamurlarının fermantasyon başlangıcında pH değeri 4,81 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3). Fermantasyonun başlatılmasından 48 saat sonra 3,74 pH değerine ulaşan tarhana hamurlarından yeni hazırlanmış taze tarhana hamurlarına ilk pasajlama yapılmıştır. 3,74 pH değerindeki fermente tarhana hamuru

ile pasajlanan yeni tarhana hamurlarının yapılan pasajlama sonrası pH değerleri burada da önceki gruplarda olduğu gibi farklı pasajlama oranlarından etkilenmiştir. Birinci pasajlamanın yapılması ile hamurlarda pH değerleri %5, 10 ve 15 oranlarında pasajlanan hamurlarda sırasıyla 4,80, 4,74 ve 4,55 olmuştur. Söz konusu farklılık hamur gruplarının pasajlama öncesi ulaşmaları gereken pH değeri için gerekli sürelerde bir değişiklik meydana getirmemiştir.

30°C sıcaklıkta fermente edilen tarhana hamurlarının pH değişimi 25°C grubu hamurlarına kıyasla daha hızlı gerçekleşmiştir. Burada fermentasyon sıcaklığındaki artışın hamurdaki pH değişimini hızlandırdığı göze çarpmaktadır. Bu nedenle çalışılan hedef pH değerinin hamur gruplarında salınmasının önüne geçmek için bu grubun hamurlarında pH ölçümleri 3,70 pH grubu hamurlarına nazaran daha sık periyotlarda yapılmıştır. Nitekim hedef pH değerine ulaşılan fermentasyon süreleri Çizelge 4.3’de saat cinsinden ayrıntılı verilmiştir.

30°C sıcaklıkta fermente edilen ve $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının $3,70 \pm 0,05$ pH değerine ulaşması birinci pasajlamada 45 saat, ikinci pasajlamada 35 saat, üçüncü pasajlamada 39 saat, dördüncü pasajlamada 30 saat ve son üç pasajlama adımında 24 saat olmuştur. İleri pasajlar arasında geçen sürenin kısılması hamur mikrobiyotasının fermentasyon koşullarına adaptasyon sağladığını ve stabil mikrobiyota ile yürütülen fermentasyonların daha hızlı gerçekleştiğini göstermiştir.

Çizelge 4.3. 30°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasajlama zamanları ve fermantasyon boyunca hamurların pH değişimleri

		<u>Pasajlama oranı</u>		
<u>P.</u>	<u>Gün/Saat</u>	<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>
Başlangıç	0.	4,81	4,80	4,81
Bitiş	2./48.	3,75	3,74	3,74
1.p		4,80	4,74	4,55
1.p	4. /93.	3,73	3,76	3,74
2.p		4,73	4,63	4,50
2.p	6. /128.	3,77	3,73	3,70
3.p		4,88	4,75	4,60
3.p	7. /167.	3,75	3,74	3,70
4.p		4,80	4,65	4,60
4.p	9. /197.	3,70	3,75	3,72
5.p		4,74	4,64	4,53
5.p	10. /221.	3,75	3,73	3,72
6.p		4,65	4,55	4,53
6.p	11. /245.	3,74	3,77	3,77
7.p		4,60	4,58	4,45
7.p	12. /268.	3,78	3,72	3,70

*p: pasaj

30°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerine ulaşınca dek fermente edilmek için hazırlanan taze tarhana hamurlarının fermantasyon başlangıcında pH değeri 4,80 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4). 30°C sıcaklıkta fermente edilen ve $4,00 \pm 0,05$ pH

değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının $4,00 \pm 0,05$ pH değerine ulaşması birinci pasajlamada 18,5 saat, ikinci ve üçüncü pasajlamada 22 saat, dördüncü ve beşinci pasajlamada 19 saat ve altıncı pasajlamada 18 saat, yedinci pasajlamada ise 20 saat olmuştur.

30°C’de gerçekleştirilen tarhana hamuru fermantasyonlarında 25°C’ye kıyasla hedef pH değerine daha kısa sürede ulaşılmıştır. 30°C sıcaklıkta fermente edilen tarhana hamurlarında ileri pasajlamalar arasında beklenen süre ilk pasajlara nazaran daha da kısalmıştır. 25°C sıcaklıkta fermente edilen tarhana hamurlarında ise söz konusu süredeki kısalma sadece 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan grupta izlenmiştir. Benzer şekilde Shrivastava ve Ananthanarayan (2015), geleneksel bir gıda olan idli hamuru fermantasyonunda pasajlama uygulayarak arzu edilen asitlenmenin oluşması için beklenen süreyi 12 saatten 3 saate kadar düşürmüşlerdir. Nout ve ark (1996), bizim çalışmamıza benzer şekilde bir başka geleneksel fermente gıda olan kenkeyin oluşması için gereken fermantasyon süresini fermantasyonda pasajlama uygulayarak 3-4 günden 12 saate kadara düşürmüşlerdir.

Çizelge 4.4. 30°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasajlama zamanları ve fermantasyon boyunca hamurların pH değişimleri

<i>P.</i>	<i>Gün/Saat</i>	<i>Pasajlama oranı</i>		
		<i>%5</i>	<i>%10</i>	<i>%15</i>
<i>Başlangıç</i>	<i>0</i>	<i>4,80</i>	<i>4,80</i>	<i>4,80</i>
<i>Bitiş</i>	<i>1. /24.</i>	<i>4,08</i>	<i>4,08</i>	<i>4,08</i>
<i>1. p</i>		<i>4,75</i>	<i>4,65</i>	<i>4,51</i>
<i>1. p</i>	<i>2. /42,5.</i>	<i>4,19</i>	<i>4,06</i>	<i>3,96</i>
<i>2. p</i>		<i>4,79</i>	<i>4,63</i>	<i>4,50</i>
<i>2. p</i>	<i>3. /64,5.</i>	<i>4,09</i>	<i>3,98</i>	<i>4,00</i>
<i>3. p</i>		<i>4,76</i>	<i>4,65</i>	<i>4,59</i>
<i>3. p</i>	<i>4. /86,5.</i>	<i>4,13</i>	<i>4,13</i>	<i>4,14</i>
<i>4. p</i>		<i>4,78</i>	<i>4,70</i>	<i>4,65</i>
<i>4. p</i>	<i>5. /105,5.</i>	<i>4,08</i>	<i>4,09</i>	<i>4,06</i>
<i>5. p</i>		<i>4,65</i>	<i>4,52</i>	<i>4,49</i>
<i>5. p</i>	<i>6. /124,5.</i>	<i>4,04</i>	<i>3,98</i>	<i>4,01</i>
<i>6. p</i>		<i>4,60</i>	<i>4,50</i>	<i>4,45</i>
<i>6. p</i>	<i>6. /142,5.</i>	<i>4,00</i>	<i>4,02</i>	<i>3,95</i>
<i>7. p</i>		<i>4,56</i>	<i>4,44</i>	<i>4,31</i>
<i>7. p</i>	<i>7. /162,5.</i>	<i>3,96</i>	<i>3,97</i>	<i>3,86</i>

*p: pasaj

4.2. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının Asitlik Dereceleri

Çalışmada istenilen pH değerine ulaşmış fermente tarhana hamurlarından yeni hazırlanmış taze tarhana hamurlarına pasajlama yapılmadan hemen önce hamurların asitlik dereceleri belirlenmiş ve elde edilen veriler Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'da paylaşılmıştır. Tüm fermentasyon gruplarında fermente edilmek için hazırlanan başlangıç tarhana hamurlarının fermentasyon başlangıcında asitlik dereceleri % laktik asit cinsinden en düşük 7,15 ve en yüksek 8,50 şeklinde bulunmuştur. Söz konusu hamurların düşük asitlik dereceleri fermentasyon henüz başlatılmadığından beklenen bir durumdur. Fermentasyonun başlatılması ile beraber tüm hamur gruplarında asitlik dereceleri yükselmiştir. 25°C 3,70±0,05 pH grubunda farklı oranlarda yapılan pasajlamalarda belirlenebilen en yüksek asitlik derecesi 17,75 olmuştur. Söz konusu asitlik değerine bu gruba ait hamurlarda %5 oranında yapılan 7. pasajlamadan 3 gün sonra ulaşılmıştır. 25°C 4,00±0,05 pH grubunda farklı oranlarda yapılan pasajlamalarda belirlenebilen en yüksek asitlik derecesi ise 9,50 olmuş ve bu değer farklı oranlarda farklı pasaj sayılarında da görülmüştür. 30°C 3,70±0,05 pH grubunda hamurlarda belirlenen en yüksek asitlik derecesi 18,25 olmuş ve hamurlara %5 oranında yapılan 3. pasajlamadan 39 saat sonra belirlenmiştir. 30°C 4,00±0,05 pH grubunda söz konusu pasaj sayısında en yüksek asitlik derecesi %5 oranında pasajlanan hamur grubunda 9,50 olarak bulunmuştur. Tüm grupların hamurlarına yapılan birinci pasajlamanın sonunda hamurlarda belirlenen asitlik derecelerindeki düzenli artış istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Her grubun kendi arasında yapılan istatiksel analizler sonunda aynı pasaj sayısına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurlar arasında ve aynı oranlarda pasajlanan hamurların farklı pasaj sayıları arasında asitlik dereceleri bakımından farklılıklar bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.5. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının asitlik dereceleri

25°C 3,70±0,05 pH

<u>Pasaj sayısı</u>	<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>
<i>Başlangıç</i>	7,50±0,03 ^{Af}	7,60±0,05 ^{Ad}	7,45±0,07 ^{Ad}
1. p sonu	16,15±0,07 ^{Ae}	16,10±0,04 ^{Ab}	16,12±0,15 ^{Ac}
2. p sonu	16,80±0,80 ^{Ac}	15,55±0,00 ^{Bc}	16,15±0,21 ^{ABc}
3. p sonu	16,50±0,11 ^{Bd}	15,95±0,05 ^{Cb}	17,01±0,13 ^{Ab}
4. p sonu	17,15±0,10 ^{Ab}	16,20±0,08 ^{Cb}	16,89±0,11 ^{Bb}
5. p sonu	17,10±0,09 ^{Bb}	17,20±0,15 ^{ABab}	17,55±0,22 ^{Aa}
6. p sonu	17,25±0,06 ^{ABb}	17,17±0,20 ^{Ba}	17,50±0,04 ^{Aa}
7. p sonu	17,75±0,05 ^{Aa}	17,25±0,12 ^{Ba}	17,18±0,05 ^{Ba}

25°C 4,00±0,05 pH

<u>Pasaj sayısı</u>	<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>
<i>Başlangıç</i>	7,56±0,08 ^{Ac}	7,45±0,05 ^{Ad}	7,15±0,02 ^{Bd}
1. p sonu	9,50±0,20 ^{Aa}	9,22±0,15 ^{Ab}	8,15±0,11 ^{Bbc}
2. p sonu	8,75±0,11 ^{Bb}	9,80±0,25 ^{Aa}	8,15±0,16 ^{Cbc}
3. p sonu	8,50±0,12 ^{ABb}	8,85±0,13 ^{Ac}	8,05±0,30 ^{Bc}
4. p sonu	8,50±0,10 ^{Bb}	9,50±0,11 ^{Aab}	8,50±0,21 ^{Bab}
5. p sonu	8,80±0,04 ^{Bb}	9,50±0,04 ^{Aab}	8,80±0,09 ^{Ba}
6. p sonu	8,50±0,17 ^{Ab}	8,60±0,00 ^{Ac}	8,70±0,04 ^{Aa}
7. p sonu	9,25±0,21 ^{Aa}	9,35±0,06 ^{Aab}	8,27±0,02 ^{Bbc}

Büyük harfler her grubun kendi içinde aynı pasajına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Küçük harfler ise her grubun kendi arasında aynı oranlarda pasajlanan hamurlarının farklı pasaj sayıları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Her grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde aynı satırda büyük harflerle (A, B, C....) ve aynı sütunda küçük harflerle (a, b, c,....) gösterilen değerler birbirinden farklıdır (p<0,05).

Çizelge 4.6. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının asitlik dereceleri

30°C 3,70±0,05 pH

<u>Pasaj sayısı</u>	<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>
Başlangıç	8,50±0,05 ^{Ac}	7,75±0,03 ^{Bd}	7,15±0,11 ^{Ce}
1. p sonu	17,15±0,07 ^{Ab}	17,22±0,14 ^{Ab}	17,24±0,17 ^{Abc}
2. p sonu	18,15±0,20 ^{Aa}	16,20±0,21 ^{Cc}	17,10±0,15 ^{Bc}
3. p sonu	18,25±0,14 ^{Aa}	17,25±0,11 ^{Bb}	18,10±0,08 ^{Aa}
4. p sonu	17,15±0,08 ^{Ab}	15,75±0,31 ^{Bc}	17,50±0,15 ^{Ab}
5. p sonu	17,10±0,17 ^{Ab}	17,15±0,08 ^{Ab}	16,55±0,04 ^{Bd}
6. p sonu	17,20±0,12 ^{Bb}	18,10±0,11 ^{Aa}	17,45±0,14 ^{Bbc}
7. p sonu	16,99±0,08 ^{Ab}	17,05±0,20 ^{Ab}	17,06±0,20 ^{Ac}

30°C 4,00±0,05 pH

<u>Pasaj sayısı</u>	<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>
Başlangıç	7,70±0,15 ^{Ac}	7,70±0,11 ^{Ad}	6,70±0,22 ^{Be}
1. p sonu	9,50±0,22 ^{Aa}	8,80±0,20 ^{Bab}	8,01±0,10 ^{Ccd}
2. p sonu	8,75±0,10 ^{Bb}	8,80±0,06 ^{ABab}	8,95±0,07 ^{Aa}
3. p sonu	8,80±0,21 ^{Ab}	8,82±0,20 ^{Aab}	7,85±0,15 ^{Bd}
4. p sonu	8,10±0,12 ^{Cc}	8,55±0,07 ^{Bb}	8,95±0,07 ^{Aa}
5. p sonu	8,80±0,10 ^{Ab}	8,85±0,14 ^{Ab}	8,90±0,13 ^{Aa}
6. p sonu	8,92±0,08 ^{Ab}	8,98±0,07 ^{Aa}	8,48±0,09 ^{Bb}
7. p sonu	8,70±0,13 ^{Ab}	8,05±0,12 ^{Bc}	8,20±0,10 ^{Bbc}

Büyük harfler her grubun kendi içinde aynı pasaj sayısına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Küçük harfler ise her grubun kendi arasında aynı oranlarda pasajlanan hamurların farklı pasaj sayıları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Her grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde aynı satırda büyük harflerle (A, B, C,....) ve aynı sütunda küçük harflerle (a, b, c,....) gösterilen değerler birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

Farklı pH değerlerine ulaşıncaya dek farklı sıcaklıklarda fermente edilen ve ardışık şekilde pasajlanan tarhana hamurlarının asitlik dereceleri, literatürde yer alan aynı pH değerine sahip tarhana hamurlarının asitlik dereceleri ile birbirine yakın veya benzer bulunmuştur. Özel (2012), tarafından yapılan araştırmada 3,73 pH

değerine sahip işletme tipi tarhana hamurlarının asitlik derecesi ortalama 11,25 olarak belirlenmiştir. Aynı çalışmada 3,70 pH değerine sahip ev tipi tarhana hamurlarında ise asitlik derecesi ortalama 18,45 olarak belirlenmiştir. Özdemir (2016), tarafından yapılan tez çalışmasında ise bizim çalışmamızla benzer olarak ev tipi Uşak tarhana hamurlarının 3,78 pH değerinde iken 14,90 asitlik derecesine sahip olduğu, işletme tipi Uşak tarhana hamurlarının ise söz konusu pH değerinde 16,65 asitlik derecesine sahip olduğu rapor edilmiştir. Settanni ve ark (2011), yaptıkları çalışmada bizim çalışmamıza benzer olarak 30°C sıcaklıkta fermente ettikleri tarhana hamurlarında pH ve asitlik değerlerini ölçmüş, hamurda fermentasyonun 2. gününde pH değeri 3,73 olarak ölçülmüş ve hamurdaki asitlik değeri 7,59 olarak rapor edilmiştir.

4.3. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının Mikrobiyolojik Özellikleri

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında belirlenen LAB sayısı Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8’de verilmiştir. 25°C 3,70±0,05 pH grubunda fermente edilmek için hazırlanan tarhana hamurlarının fermentasyon başlangıcında en düşük 7,00 ve en yüksek 7,29 log kob/g LAB içerdiği belirlenmiştir. Söz konusu değerler fermentasyonun başlatılmasından sonra yapılan her pasajlamanın sonunda alınan hamur örneklerinde 9,00 log kob/g’ın üzerine yükselmiştir. Bu grubun hamurları içerisinde en yüksek LAB sayısı (9,90 log kob/g) %5 oranında yapılan ikinci pasajlamanın sonunda belirlenmiştir. Yapılan ardışık pasajlamalar sonrasında hamurlarda belirlenen LAB sayıları çoğunlukla benzer bulunsun da, bazı pasajlama sayılarında istatistiksel anlamda farklı bulunanlar da olmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.7). 25°C, 3,70±0,05 pH grubunda tarhana hamurlarındaki TMAB sayısı ise LAB sayısına göre kısmen yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.9). Bu grubun hamurlarında belirlenen en yüksek TMAB değeri %15 oranında yapılan üçüncü pasajlamanın sonunda 9,65 log kob/g şeklinde olmuştur. Ancak söz konusu gruba ait hamurların içerdiği maya hücresi sayısı LAB hücre sayısına göre oldukça düşük tespit edilmiştir

(Çizelge 4.9). Fermente edilmek için hazırlanan başlangıç tarhana hamurlarının fermantasyon başlangıcında maya sayıları en düşük 3,15 ve en yüksek 3,45 log kob/g şeklinde olmuştur. Fermantasyonun başlatılmasından sonra yapılan her pasajlamanın sonunda alınan hamur örnekleri içerisinde en yüksek maya hücre sayısı ise 6,89 log kob/g şeklinde belirlenmiştir.

25°C, $4,00 \pm 0,05$ pH grubunda fermente edilmek için hazırlanan başlangıç tarhana hamurlarının fermantasyon başlangıcında en düşük 7,10 ve en yüksek 7,25 log kob/g LAB içerdiği belirlenmiştir. Bu grup içerisinde farklı oranlarda pasajlanan tarhana hamurlarının LAB sayıları benzer seviyelerde bulunurken, belirlenebilen en yüksek LAB sayısı 9,36 log kob/g olmuştur (Çizelge 4.7). Bu gruba ait hamurların TMAB sayıları; LAB sayısına göre kısmen yüksek, maya sayıları ise düşük bulunmuştur. Hamurlar içerisinde en yüksek TMAB sayısı 9,85 log kob/g, maya sayısı ise en yüksek 6,75 log kob/g değerinde belirlenmiştir. Farklı oranlarda pasajlanan hamurların TMAB ve maya sayıları başlangıç hamurları hariç farklı pasaj sayılarında da benzer seviyelerde bulunmuştur (Çizelge 4.9).

30°C, $3,70 \pm 0,05$ pH grubunun başlangıç tarhana hamurlarında belirlenen LAB sayısı en yüksek 8,15 ve en düşük 5,74 log kob/g olmuştur (Çizelge 4.8). Bu grubun hamurlarında da diğer grupların hamurlarında olduğu gibi aynı pasajlama oranlarının farklı pasaj sayılarına ait örneklerdeki LAB içeriği benzer seviyelerde bulunmuştur. Fermantasyonda farklı pasajlama oranlarının kullanılması hamurlardaki LAB içeriğini önemli seviyelerde değiştirmemiştir. Lâkin söz konusu grubun bazı hamurlarında aynı pasajlama oranına ait farklı pasaj sayılarındaki hamurlar ile aynı pasaj sayısındaki farklı oranlarda yapılan pasajlamaların hamurlarına yapılan istatistiksel karşılaştırmalarda LAB sayısı bakımından farklılıklar olduğu görülmüştür (Çizelge 4.8). Bu grubun hamurlarında (başlangıç hamuru hariç) belirlenen TMAB sayısı farklı pasaj oranları ve pasaj sayılarında azalma ve artışlar gösterse de, bu durum istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Çizelge 4.10). Yani; hamurlara farklı oranlarda yapılan pasajlamanın TMAB sayısı üzerinde herhangi bir etkisi bulunmamıştır ($p > 0,05$). Aynı grubun hamurlarında maya sayısı

bakterilere kıyasla daha düşük bulunmuştur. Hamurlarda belirlenen en yüksek maya sayısı 6,12 log kob/g değerinde olur iken; aynı pasaj sayısına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurlar arasında istatistiki açıdan farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 4.10).

Son olarak 30°C, $4,00\pm0,05$ pH grubuna ait hamurlarında bulunan LAB sayısı en yüksek 9,04 ve en düşük 8,06 log kob/g değerinde olmuştur (Çizelge 4.8). Aynı grubun hamurlarında belirlenen en yüksek TMAB sayısı 9,04 log kob/g ve maya sayısı ise 6,02 log kob/g olmuştur (Çizelge 4.10). Lâkin aynı sıcaklıkta $3,70\pm0,05$ pH'da yapılan pasajlamaya göre $4,00\pm0,05$ pH'da yapılan pasajlamalarda toplanan hamurların daha düşük bakteri içerdiği belirlenmiştir. Bu farklılık istatistiki olarak da önemli bulunmuştur ($p<0,05$).

Çizelge 4.7. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarında belirlenen LAB hücre sayıları (log kob/g)

		<u>MRS Agar</u>				<u>M17G Agar</u>		
<u>Pasaj sayısı</u>		<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>	<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>	
25°C 3,70±0,05 pH	Başlangıç	7,00±0,15 ^{Bd}	7,26±0,02 ^{Ab}	7,29±0,03 ^{Ab}	7,28±0,15 ^{Ae}	7,10±0,10 ^{Ab}	7,05±0,10 ^{Ab}	
	1.p sonu	9,00±0,02 ^{Ab}	9,00±0,02 ^{Aa}	9,14±0,05 ^{Aa}	9,22±0,10 ^{Aab}	9,15±0,04 ^{Aa}	9,03±0,05 ^{Aa}	
	2.p sonu	9,90±0,04 ^{Aa}	9,13±0,02 ^{Ba}	9,07±0,03 ^{Ba}	9,07±0,03 ^{Abc}	9,14±0,01 ^{Aa}	9,11±0,02 ^{Aa}	
	3.p sonu	9,45±0,20 ^{Aab}	9,21±0,08 ^{Aa}	9,15±0,01 ^{Aa}	9,00±0,00 ^{Accd}	9,05±0,05 ^{Aa}	9,12±0,01 ^{Aa}	
	4.p sonu	8,32±0,16 ^{Bc}	9,26±0,05 ^{Aa}	9,32±0,10 ^{Aa}	9,33±0,05 ^{Aa}	9,23±0,02 ^{Aa}	9,17±0,06 ^{Aa}	
	5.p sonu	9,02±0,05 ^{Ab}	9,10±0,15 ^{Aa}	9,17±0,08 ^{Aa}	8,93±0,10 ^{Ad}	9,14±0,15 ^{Aa}	9,07±0,05 ^{Aa}	
	6.p sonu	9,09±0,01 ^{Ab}	9,19±0,50 ^{Aa}	9,13±0,02 ^{Aa}	9,22±0,01 ^{Aab}	9,04±0,05 ^{Aa}	9,13±0,02 ^{Aa}	
	7.p sonu	9,15±0,40 ^{Ab}	9,15±0,35 ^{Aa}	9,18±0,18 ^{Aa}	9,21±0,03 ^{Aabc}	9,11±0,00 ^{Aa}	9,16±0,05 ^{Aa}	
25°C 4,00±0,05 pH	Başlangıç	7,22±0,10 ^{Ab}	7,10±0,10 ^{Ab}	7,11±0,15 ^{Ab}	7,25±0,02 ^{Ad}	7,15±0,09 ^{Ac}	7,10±0,05 ^{Ac}	
	1.p sonu	9,22±0,05 ^{Aa}	9,23±0,06 ^{Aa}	9,32±0,20 ^{Aa}	9,10±0,01 ^{Ac}	9,02±0,12 ^{Ab}	9,00±0,07 ^{Ab}	
	2.p sonu	9,07±0,10 ^{Aa}	9,23±0,08 ^{Aa}	9,07±0,05 ^{Aa}	9,20±0,05 ^{Abc}	9,14±0,04 ^{Aab}	9,11±0,02 ^{Aab}	
	3.p sonu	9,00±0,02 ^{Aa}	9,21±0,01 ^{Aa}	9,15±0,05 ^{Aa}	9,36±0,08 ^{Aa}	9,25±0,02 ^{ABa}	9,12±0,12 ^{Bab}	
	4.p sonu	9,23±0,13 ^{Aa}	9,26±0,07 ^{Aa}	9,32±0,06 ^{Aa}	9,25±0,06 ^{Aab}	9,15±0,15 ^{Aab}	9,28±0,11 ^{Aa}	
	5.p sonu	9,03±0,12 ^{Ba}	9,10±0,05 ^{ABa}	9,27±0,04 ^{Aa}	9,26±0,04 ^{Aab}	9,16±0,05 ^{Aab}	9,25±0,18 ^{Aa}	
	6.p sonu	9,22±0,11 ^{Aa}	9,19±0,06 ^{Aa}	9,13±0,10 ^{Aa}	9,09±0,02 ^{Ac}	9,04±0,01 ^{Aab}	9,13±0,12 ^{Aab}	
	7.p sonu	9,19±0,15 ^{Aa}	9,16±0,02 ^{Aa}	9,20±0,05 ^{Aa}	9,20±0,01 ^{Abc}	9,15±0,00 ^{Aab}	9,20±0,01 ^{Aab}	

Büyük harfler her grubun kendi arasında aynı pasaj sayısına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Küçük harfler ise her grubun kendi arasında aynı oranlarda pasajlanan hamurların farklı pasaj sayıları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Her grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde aynı satırda büyük harflerle (A, B, C,....) ve aynı sütunda küçük harflerle (a, b, c,....) gösterilen değerler birbirinden farklıdır ($p<0,05$)

Çizelge 4.8. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarında belirlenen LAB hücre sayıları (log kob/g)

	<i>Pasaj sayısı</i>	<i>MRS Agar</i>			<i>M17G Agar</i>		
		<i>%5</i>	<i>%10</i>	<i>%15</i>	<i>%5</i>	<i>%10</i>	<i>%15</i>
30°C 3,70±0,05 pH	<i>Başlangıç</i>	5,74±0,02 ^{Cc}	8,15±0,05 ^{Ac}	6,51±0,10 ^{Bd}	6,55±0,02 ^{Bb}	7,00±0,03 ^{Ae}	6,95±0,01 ^{Ac}
	1.p sonu	9,15±0,05 ^{Aa}	9,16±0,13 ^{Aab}	9,25±0,04 ^{Aa}	9,15±0,10 ^{Aa}	9,25±0,10 ^{Aa}	9,24±0,10 ^{Aa}
	2.p sonu	9,02±0,05 ^{Aab}	9,06±0,14 ^{Ab}	9,00±0,03 ^{Ac}	8,95±0,08 ^{Aa}	9,01±0,02 ^{Ac}	9,05±0,11 ^{Aab}
	3.p sonu	9,06±0,05 ^{Aab}	9,16±0,05 ^{Aab}	9,05±0,06 ^{Abc}	9,16±0,04 ^{Aa}	9,09±0,05 ^{Aabcd}	9,25±0,12 ^{Aa}
	4.p sonu	9,08±0,10 ^{Aab}	9,16±0,06 ^{Aab}	9,15±0,08 ^{Aabc}	9,15±0,15 ^{Aa}	9,06±0,06 ^{Abcd}	8,95±0,03 ^{Ab}
	5.p sonu	9,20±0,02 ^{Ba}	9,36±0,07 ^{Aa}	9,19±0,06 ^{Bab}	9,17±0,21 ^{Aa}	9,24±0,05 ^{Aab}	9,01±0,04 ^{Ab}
	6.p sonu	8,99±0,11 ^{ABb}	8,96±0,02 ^{Bb}	9,14±0,04 ^{Aabc}	8,98±0,01 ^{Ba}	8,95±0,07 ^{Bd}	9,25±0,09 ^{Aa}
	7.p sonu	9,04±0,12 ^{Aab}	9,02±0,00 ^{Ab}	9,06±0,05 ^{Abc}	9,03±0,14 ^{Aa}	9,15±0,10 ^{Aabc}	8,98±0,04 ^{Ab}
30°C 4,00±0,05 pH	<i>Başlangıç</i>	4,90±0,18 ^{Ac}	4,75±0,25 ^{Ad}	4,75±0,15 ^{Ae}	3,75±0,02 ^{Bd}	4,15±0,10 ^{Ac}	4,15±0,05 ^{Ad}
	1.p sonu	8,90±0,25 ^{Aa}	8,66±0,15 ^{Abc}	8,66±0,18 ^{Abcd}	8,66±0,25 ^{Aa}	8,51±0,30 ^{Aab}	8,51±0,28 ^{Aab}
	2.p sonu	8,89±0,12 ^{Aa}	8,75±0,11 ^{Aabc}	8,75±0,10 ^{Abc}	8,74±0,10 ^{Aa}	8,43±0,05 ^{Bab}	8,43±0,02 ^{Babc}
	3.p sonu	8,86±0,01 ^{Aab}	8,45±0,05 ^{Bc}	8,45±0,06 ^{Bd}	8,42±0,12 ^{Aabc}	8,54±0,02 ^{Aa}	8,54±0,00 ^{Aab}
	4.p sonu	8,84±0,00 ^{Aab}	8,56±0,02 ^{Bc}	8,56±0,01 ^{Bcd}	8,16±0,20 ^{Aab}	8,16±0,18 ^{Ab}	8,16±0,02 ^{Ac}
	5.p sonu	8,85±0,05 ^{Aab}	8,89±0,01 ^{Aab}	8,89±0,05 ^{Aab}	8,06±0,02 ^{Ac}	8,14±0,01 ^{Ab}	8,14±0,05 ^{Ac}
	6.p sonu	8,54±0,02 ^{Ab}	8,56±0,02 ^{Ac}	8,56±0,01 ^{Ac}	8,15±0,05 ^{Abc}	8,25±0,05 ^{Aab}	8,25±0,01 ^{Abc}
	7.p sonu	9,04±0,03 ^{Aa}	9,04±0,03 ^{Aa}	9,04±0,00 ^{Aa}	8,45±0,02 ^{Aab}	8,56±0,03 ^{Aa}	8,56±0,02 ^{Aa}

Büyük harfler her grubun kendi arasında aynı pasaj sayısına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Küçük harfler ise her grubun kendi arasında aynı oranlarda pasajlanan hamurların farklı pasaj sayıları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Her grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde aynı satırda büyük harflerle (A, B, C.) ve aynı sütunda küçük harflerle (a, b, c, ...) gösterilen değerler birbirinden farklıdır (p<0,05).

Çizelge 4.9. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarında belirlenen TMAB ve maya-küf sayıları (log kob/g)

	<i>Pasaj sayısı</i>	<i>TMAB</i>			<i>Maya-Küf</i>		
		<i>%5</i>	<i>%10</i>	<i>%15</i>	<i>%5</i>	<i>%10</i>	<i>%15</i>
25°C 3,70±0,05 pH	<i>Başlangıç</i>	7,55±0,02 ^{Bc}	7,60±0,03 ^{Bd}	7,80±0,10 ^{Ac}	3,40±0,05 ^{Ad}	3,35±0,05 ^{Af}	3,15±0,03 ^{Bf}
	1.p sonu	9,15±0,04 ^{Ab}	9,24±0,00 ^{Ac}	9,26±0,31 ^{Ab}	5,75±0,25 ^{Ac}	5,65±0,02 ^{Ae}	5,75±0,01 ^{Ae}
	2.p sonu	9,10±0,05 ^{Bb}	9,52±0,02 ^{Aab}	9,35±0,14 ^{Aab}	6,15±0,02 ^{Bb}	5,89±0,02 ^{Cd}	6,56±0,10 ^{Abc}
	3.p sonu	9,06±0,01 ^{Cb}	9,56±0,05 ^{Ba}	9,65±0,02 ^{Aa}	6,03±0,02 ^{Bbc}	6,05±0,02 ^{Bcd}	6,89±0,10 ^{Aa}
	4.p sonu	9,38±0,10 ^{Ba}	9,59±0,06 ^{Aa}	9,56±0,01 ^{Aab}	6,09±0,01 ^{Bb}	6,25±0,02 ^{Ac}	6,25±0,03 ^{Ad}
	5.p sonu	9,26±0,16 ^{Aab}	9,44±0,03 ^{Aabc}	9,30±0,05 ^{Aab}	6,54±0,21 ^{Aa}	6,55±0,20 ^{Ab}	6,55±0,25 ^{Ac}
	6.p sonu	9,19±0,05 ^{Aab}	9,32±0,18 ^{Abc}	9,42±0,01 ^{Aab}	6,79±0,05 ^{Aa}	6,57±0,11 ^{Bb}	6,54±0,08 ^{Bcd}
	7.p sonu	9,20±0,03 ^{Bab}	9,40±0,11 ^{Aabc}	9,42±0,02 ^{Aab}	6,80±0,02 ^{Ba}	6,89±0,01 ^{Aa}	6,86±0,03 ^{Aab}
25°C 4,00±0,05 pH	<i>Başlangıç</i>	7,56±0,05 ^{Bb}	7,90±0,08 ^{Ab}	7,45±0,05 ^{Bd}	4,12±0,02 ^{Ad}	4,10±0,05 ^{Af}	4,11±0,10 ^{Ad}
	1.p sonu	9,45±0,10 ^{Aa}	9,34±0,50 ^{Aab}	9,36±0,04 ^{Ac}	5,55±0,50 ^{Ac}	6,02±0,20 ^{Ade}	6,12±0,11 ^{Abc}
	2.p sonu	9,40±0,02 ^{Aa}	9,52±0,35 ^{Aa}	9,45±0,06 ^{Ac}	5,69±0,05 ^{Bbc}	6,15±0,15 ^{Ac}	5,89±0,03 ^{Bc}
	3.p sonu	9,56±0,05 ^{Aa}	9,66±0,41 ^{Aa}	9,65±0,09 ^{Aab}	6,11±0,04 ^{Bab}	6,75±0,04 ^{Aa}	6,06±0,05 ^{Bbc}
	4.p sonu	9,48±0,06 ^{Aa}	9,59±0,25 ^{Aa}	9,46±0,10 ^{Abc}	6,02±0,08 ^{Babc}	5,86±0,05 ^{Ce}	6,45±0,04 ^{Aa}
	5.p sonu	9,66±0,13 ^{Aa}	9,54±0,10 ^{Aa}	9,50±0,01 ^{Abc}	6,01±0,01 ^{Babc}	6,55±0,04 ^{Aab}	5,96±0,01 ^{Bbc}
	6.p sonu	9,49±0,24 ^{Aa}	9,62±0,01 ^{Aa}	9,52±0,05 ^{Abc}	6,47±0,06 ^{Aa}	6,32±0,01 ^{Bbc}	6,02±0,08 ^{Cc}
	7.p sonu	9,66±0,11 ^{Aa}	9,85±0,05 ^{Aa}	9,81±0,08 ^{Aa}	6,25±0,17 ^{Ba}	6,75±0,06 ^{Aa}	6,10±0,04 ^{Bb}

Büyük harfler her grubun kendi arasında aynı pasaj sayısına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Küçük harfler ise her grubun kendi arasında aynı oranlarda pasajlanan hamurların farklı pasaj sayıları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Her grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde aynı satırda büyük harflerle (A, B, C.) ve aynı sütunda küçük harflerle (a, b, c, ...) gösterilen değerler birbirinden farklıdır (p<0,05).

Çizelge 4.10. Fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarında belirlenen TMAB ve Maya-küf sayıları (log kob/g)

	<i>Pasaj sayısı</i>	<i>TMAB</i>			<i>Maya-Küf</i>		
		<i>%5</i>	<i>%10</i>	<i>%15</i>	<i>%5</i>	<i>%10</i>	<i>%15</i>
30°C 3,70±0,05 pH	<i>Başlangıç</i>	7,12±0,02 ^{Ad}	7,05±0,03 ^{Ad}	7,06±0,10 ^{Ad}	3,85±0,15 ^{Ad}	3,88±0,04 ^{Ae}	3,95±0,06 ^{Af}
	1.p sonu	9,66±0,10 ^{Bab}	9,87±0,02 ^{Aa}	9,79±0,04 ^{ABa}	5,25±0,05 ^{Bc}	5,15±0,09 ^{Bcd}	5,45±0,05 ^{Ae}
	2.p sonu	9,58±0,11 ^{Aabc}	9,50±0,06 ^{Abc}	9,55±0,08 ^{Ab}	5,56±0,18 ^{Abc}	5,02±0,15 ^{Bd}	5,55±0,03 ^{Ade}
	3.p sonu	9,75±0,12 ^{Aab}	9,45±0,05 ^{Bc}	9,46±0,04 ^{Bb}	5,66±0,02 ^{Aab}	5,66±0,14 ^{Aab}	5,60±0,04 ^{Ad}
	4.p sonu	9,35±0,08 ^{ABc}	9,46±0,01 ^{Ac}	9,26±0,04 ^{Bc}	5,65±0,04 ^{Bb}	5,89±0,16 ^{Aa}	6,02±0,00 ^{Aab}
	5.p sonu	9,76±0,12 ^{Aa}	9,58±0,09 ^{Abc}	9,70±0,02 ^{Aa}	6,01±0,18 ^{Aa}	5,95±0,14 ^{Aa}	6,12±0,00 ^{Aa}
	6.p sonu	9,58±0,11 ^{Aabc}	9,61±0,13 ^{Abc}	9,70±0,01 ^{Aa}	5,71±0,17 ^{ABab}	5,45±0,11 ^{Bbc}	5,98±0,04 ^{Ab}
	7.p sonu	9,46±0,12 ^{Abc}	9,70±0,15 ^{Aab}	9,51±0,00 ^{Ab}	5,78±0,05 ^{Aab}	5,65±0,02 ^{Bab}	5,80±0,07 ^{Ac}
30°C 4,00±0,05 pH	<i>Başlangıç</i>	5,10±0,01 ^{Ad}	5,00±0,02 ^{Ad}	5,00±0,04 ^{Ac}	3,50±0,02 ^{Ae}	3,15±0,03 ^{Be}	3,15±0,05 ^{Be}
	1.p sonu	9,25±0,05 ^{Aab}	9,14±0,02 ^{Ab}	9,14±0,04 ^{Aab}	6,00±0,05 ^{Aab}	6,02±0,08 ^{Aa}	6,02±0,00 ^{Aa}
	2.p sonu	9,15±0,02 ^{Aabc}	9,05±0,02 ^{Abc}	9,05±0,01 ^{Ab}	5,55±0,02 ^{Bc}	5,85±0,10 ^{Aab}	5,85±0,05 ^{Aab}
	3.p sonu	9,25±0,04 ^{Aab}	8,99±0,03 ^{Ba}	8,99±0,02 ^{Bb}	5,56±0,03 ^{Ac}	5,56±0,14 ^{Abcd}	5,56±0,06 ^{Abcd}
	4.p sonu	9,30±0,05 ^{Aa}	8,97±0,05 ^{Bc}	8,97±0,06 ^{Bb}	5,85±0,10 ^{Aab}	5,65±0,15 ^{Abc}	5,65±0,04 ^{Abc}
	5.p sonu	9,05±0,06 ^{Ac}	9,00±0,06 ^{Ac}	9,00±0,04 ^{Ab}	6,01±0,08 ^{Aa}	6,00±0,13 ^{Aa}	6,00±0,00 ^{Aa}
	6.p sonu	9,11±0,10 ^{Abc}	9,14±0,04 ^{Ab}	9,14±0,15 ^{Aab}	5,84±0,05 ^{Ab}	5,48±0,07 ^{Bcd}	5,48±0,04 ^{Bcd}
	7.p sonu	9,15±0,12 ^{Aabc}	9,26±0,04 ^{Aa}	9,26±0,10 ^{Aa}	5,15±0,06 ^{Ad}	5,29±0,09 ^{Ad}	5,29±0,04 ^{Ad}

Büyük harfler her grubun kendi arasında aynı pasaj sayısına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Küçük harfler ise her grubun kendi arasında aynı oranlarda pasajlanan hamurların farklı pasaj sayıları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Her grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde aynı satırda büyük harflerle (A, B, C.) ve aynı sütunda küçük harflerle (a, b, c, ...) gösterilen değerler birbirinden farklıdır (p<0,05).

Yeni yoğrulmuş tarhanalardaki LAB ve mayaların başlıca kaynaklarının ekşi hamur, yoğurt ve bir miktar da bileşime katılan diğer maddeler oldukları söylenebilir. Tarhanadaki fermantasyondan asıl sorumlu grubun LAB ve mayalar oldukları göz önünde bulundurulduğunda, fermantasyon esnasında LAB ve maya sayılarının artması beklenen bir sonuçtur. Bu durum başlangıç hamurları ile fermente edilmiş farklı pasaj sayılarındaki hamurlarda belirgin şekilde izlenmiştir. Ayrıca farklı sıcaklıklarda fermente edilen ve farklı pH değerlerine ulaştığında yeni hazırlanmış taze tarhana hamuruna farklı oranlarda pasajlanarak fermantasyonuna devam edilen hamurların farklı pasaj sayılarına ait örneklerinde LAB, TMAB ve maya sayıları genel anlamda birbirlerine benzer seviyelerde bulunmuştur. Ancak buna rağmen hamurlar arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmalarda tüm hamurlarda olmasa da bazı örneklerde istatistiksel fark bulunmuştur.

Tarhana hamurlarının fermantasyon sürecinde TMAB sayılarındaki değişim diğer bazı araştırmalara da konu olmuştur (Erbaş ve ark, 2005; Karagözlü ve ark, 2008; Settanni ve ark, 2011; Herken ve Çon, 2012; Özel, 2012). Araştırma sonuçlarında yeni yoğrulmuş tarhana hamurlarının TMAB sayılarının 5,20-8,59 log kob/g aralığında oldukları görülmüştür. Bu çalışmada toplanan hamur örnekler için elde edilen TMAB sayıları da diğer çalışmalardan elde edilen bulgulardan yüksek bulunmuştur. Diğer çalışmalarda da yeni yoğrulmuş tarhana hamurlarındaki maya-küf sayıları Değirmencioğlu ve ark (2005), 6,50-7,00 log kob/g, Erbaş ve ark (2005), 6,59 log kob/g, Settanni ve ark (2011), 7,20 log kob/g, Herken ve Çon (2012), 6,7-6,8 log kob/g, ve Özel (2012), 5,02-6,88 log kob/g şeklinde saptanmıştır. Belirtilen çalışmalarda elde edilen maya sayılarının bu çalışmadaki başlangıç hamurlarında belirlenen sayılara (3,15-3,50 log kob/g) göre yüksek; pasaj yapılmış hamurlarda bulunan maya sayıları (5,75-6,10 log kob/g) ile aynı seviyede olduğu görülmüştür.

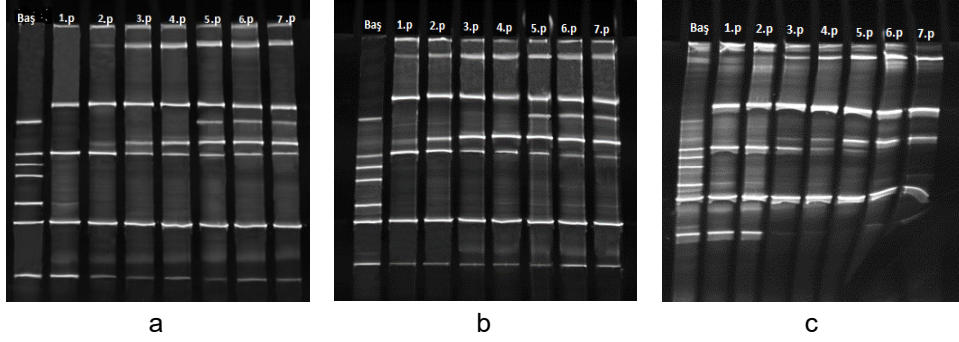
Van Kerrebroeck ve ark (2016), 10 kez pasajlama uyguladıkları ekşi hamurlarına ait tüm pasajlarda maya sayılarını LAB'den düşük bulmuşlardır. Çalışmalarında hamurdaki maya sayılarının 3. ve 4. Pasajlamadan sonra stabil

olduğunu belirtirken, LAB sayılarının ise ilk pasajdan son pasaja kadar benzerlik gösterdiğini vurgulamışlardır.

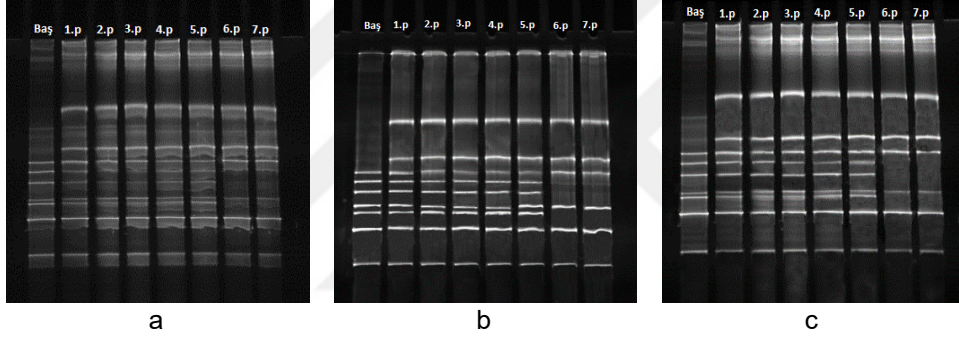
Oshiro ve ark (2019), 2 ay boyunca 32 kez pasajlama uyguladıkları fermente ekşi hamurlarında çalışmamıza benzer şekilde tüm pasajlarda maya sayılarını LAB'den düşük bulmuşlardır. Hamurda 12. pasaja kadar yavaşça artan maya sayısı 12. pasajlamada 7,6 log kob/g'a kadar ulaşmış ve ileri pasajlarda sürekli >7,0 log kob/g olarak bulunmuştur. LAB sayısı ise 3. pasaja kadar sürekli artan bir ivme göstermiş, bu yükseliş 8,5 log kob/g'a kadar devam etmiştir. Tüm hamur örneklerinde tespit edilen en yüksek LAB miktarı 9,6 log kob/g olmuştur. Bu çalışmalarda rapor edilen sonuçlar bizim sonuçlarımızla uyumludur.

4.4. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarındaki LAB ve Maya Tür Çeşitliliğine Pasajlamanın Etkisi

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarına pasajlama yapılmadan hemen önce fermente hamurlardan alınan örneklerde LAB ve maya çeşitliliği PZR-DGGE analizi ile izlenmiştir. Hamurlardaki LAB çeşitliliği Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4'de verilmiştir. Fermantasyon başında tüm gruplara ait başlangıç tarhana hamurlarının 7 farklı PZR-DGGE bant profili içerdiği belirlenmiştir. Farklı fermantasyon parametrelerinde pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında ilk pasajdan itibaren son pasaj adımı kadar varlığını sürdürebilen LAB türlerinin olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra ileri pasajlama adımlarında hamur mikrobiyotasında fermantasyon koşullarına adaptasyon sağlayan yeni LAB türleri de belirmiştir. 25°C sıcaklıkta 3,70±0,05 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda yapılan son üç pasajlamada (5. 6. ve 7. no'lu pasajlar) hamurdaki LAB çeşitliliğini temsil eden bant profilinin sabitlendiği görülmüştür.



Şekil 4.1. 25°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda LAB çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri a) %5 pasaj b) %10 pasaj c) %15 pasaj



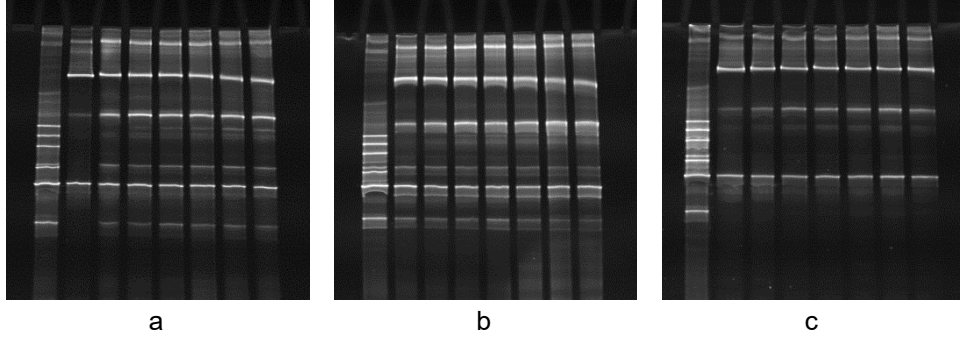
Şekil 4.2. 25°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda LAB çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri a) %5 pasaj b) %10 pasaj c) %15 pasaj

Benzer şekilde $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda da fermentasyonun başlangıcında bulunan birçok LAB türünün uygulanan pasajlarda stabilitesini sürdürdüğü ancak son iki pasajlama adımında tarhana hamurlarındaki LAB profilinin fermentasyon koşullarına adaptasyon kazandığı görülmüştür (Şekil 4.2). 25°C’de her iki pH değerinde ($3,70$ ve $4,00$) fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda yapılan farklı pasajlama oranlarının hamur mikrobiyotasındaki LAB çeşitliliği üzerinde etkisi sınırlı kalmıştır. Sadece 25°C’de ve $3,70$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile %15

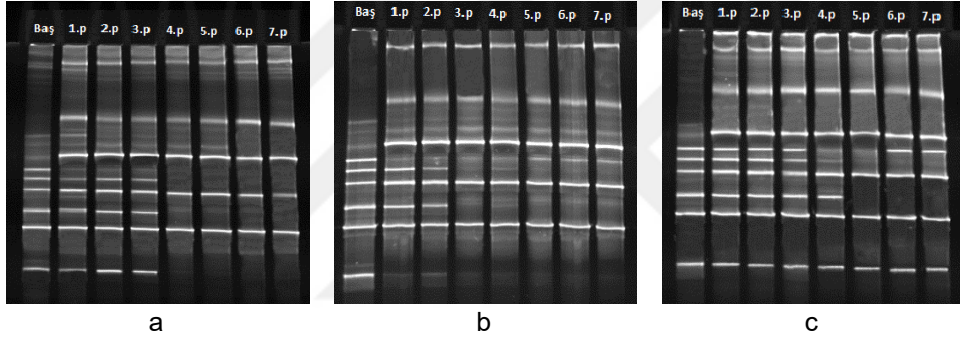
oranında pasajlanan tarhana hamurunun mikrobiyotasında, %5 ve %10 oranlarında pasajlanan hamurlardan farklı olarak bazı bantların kaybolduğu ve son pasajlama adımlarında ise profilde 4 bant bulunduğu izlenmiştir. Diğer yandan 25°C 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile % 5, 10 ve 15 oranlarında pasajlanan hamurların tümü aynı profile sahip bulunmuştur.

30°C'de ve 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının LAB profilleri son pasaj adımına kadar değişmemiştir (Şekil 4.3). %5 ve %10 oranlarında pasajlama yapılan hamurlar 6 bantın bulunduğu benzer profil gösterirken, 15% oranında pasajlama yapılan hamurlarda bazı bantların kaybolduğu ve 4 banttan oluşan bir profil oluştuğu belirlenmiştir. Aynı sıcaklıkta, 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamur grubunda, başlangıç hamurunun mikrobiyotasında bulunan türlerin bir kısmı ilk 3 pasajda fermentasyonda yer almış, daha sonra hamur LAB profili değişerek fermentasyon koşullarına adaptasyon sağlanmıştır (Şekil 4.4). Ancak pasajlama oranlarına bağlı olarak hamur mikrobiyotasının son pasajlamalarında LAB profillerinde farklılık gözlenmiştir. Bu durum söz konusu grubun hamurları içerisinde en fazla %15 oranında pasajlama yapılan hamurda görülmüştür.

Aynı fermentasyon sıcaklığında farklı pH değerlerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurların LAB bant profilleri birbiri ile kıyaslandığında; hamurlarda ortak majör bantlar bulunduğu görülmüştür. Lakin söz konusu hamur gruplarının bant profillerinde zayıf da olsa yer alan farklı bantların varlığı nedeniyle aynı fermentasyon sıcaklığında farklı pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurların LAB bant profilleri birbirlerinden farklı bulunmuştur. Söz konusu durum 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlara kıyasla daha zengin bir LAB profiline sahip olduğunu gösteren bant profilleri ile de desteklenmektedir.



Şekil 4.3. 30°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda LAB çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri a) %5 pasaj b) %10 pasaj c) %15 pasaj



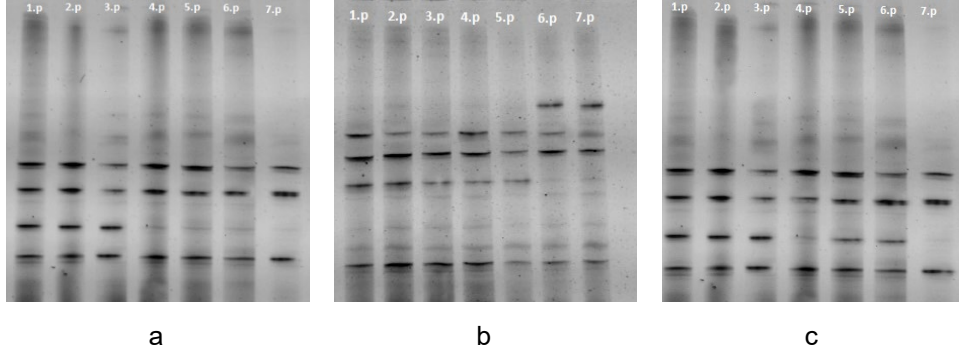
Şekil 4.4. 30°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda LAB çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri a) %5 pasaj b) %10 pasaj c) %15 pasaj

Özellikle 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının başlangıç hamurlarında bulunan LAB profilinde yer alan bantlar ileri pasajlama sayılarında bile hamurdaki stabilitesini sürdürebilmişlerdir. Bu sonuçlar pasajlamada kullanılan fermente hamurun pH değerinin hamurdaki LAB çeşitliliği üzerine etkili olduğunu, pasajlama oranının ise kısmi olarak etkisinin bulunduğunu göstermiştir.

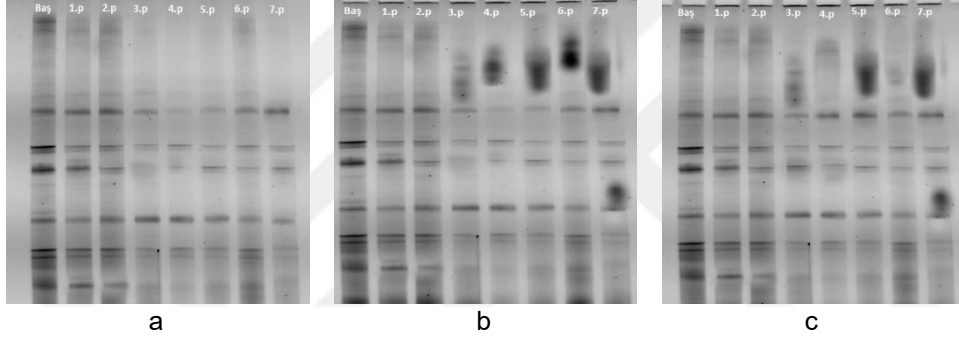
Fermantasyon gruplarına ait hamurlardaki maya çeşitliliğini gösteren PZR-DGGE bant profilleri Şekil 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8’de verilmiştir. Şekil 4.5’de 25°C

sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının maya çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri verilmiştir. Bu parametrelerle yapılan fermentasyon grubuna ait başlangıç tarhana hamurlarında 4 farklı bant olduğu izlenmiştir. Hamurlardaki maya profili %5 pasajlama grubunda 3. pasajlama adımından sonra kararlı hal almış ve 1 bant silinerek 4 ila 7. pasajlarda bant sayısı 3'e düşmüştür. %10 pasajlama grubunda ise bu durum 6. ve 7. pasajlarda görülmüş; yalnız bu grupta hamur profilinde 1 bant silinirken yeni 1 bant belirmiştir. 25°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının %15 pasajlama grubunda ise hamur maya profili son pasajda 1 bant eksilerek toplamda 3 farklı bant ile temsil edilmiştir.

25°C sıcaklıkta 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının yapılan pasajlamalarda $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarına kıyasla daha fazla maya çeşitliliği gözlenmiştir. Bu durum pasajlamada kullanılan hamurun pH değerinin maya çeşitliliğini etkilediğini göstermiştir (Şekil 4.6). Ayrıca söz konusu gruba ait hamurlara yapılan pasajlamalarda baştan sona maya profilleri benzerlik göstermiş, uygulanan farklı pasajlama oranlarının maya çeşitliliği bakımından etkili olmadığını göstermiştir. Farklı olarak $4,00 \pm 0,05$ pH'da yapılan pasajlamalar ile profilde bulunan 7. bandın kaybolduğu izlenmiştir.



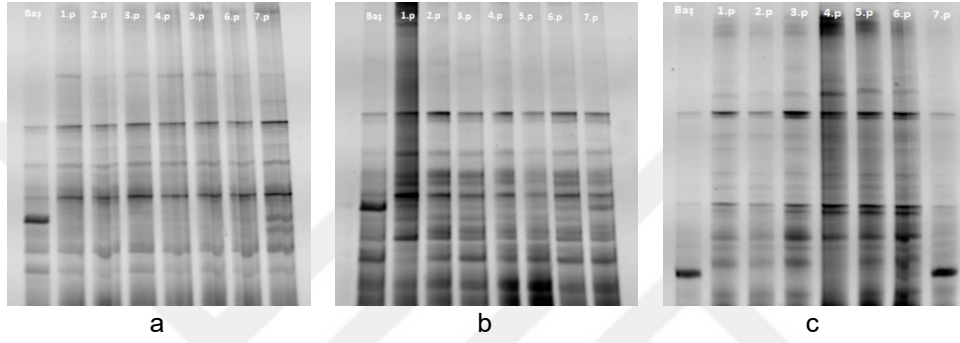
Şekil 4.5. 25°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda maya çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri a) %5 pasaj b) %10 pasaj c) %15 pasaj



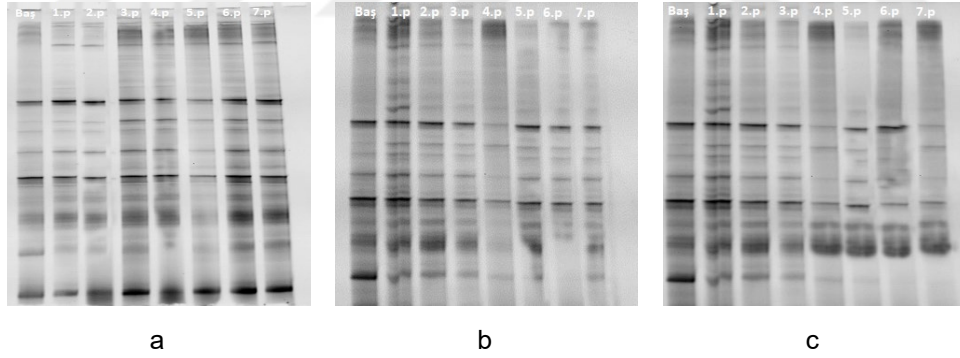
Şekil 4.6. 25°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda maya çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri a) %5 pasaj b) %10 pasaj c) %15 pasaj

30°C sıcaklıkta fermente edilen, 3,70 ve 4,00 pH değerine sahip fermente tarhana hamuru ile farklı oranlarda pasajlanan hamurların maya çeşitliliğinin son pasajlamaya kadar aynı olduğu görülmüştür (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8). Lâkin $4,00 \pm 0,05$ pH değerine sahip fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda $3,70 \pm 0,05$ pH değerine sahip fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlara kıyasla daha fazla maya çeşitliliği elde edilmiştir. Bu sonuç pH değerinin hem 25°C hem de 30°C’de fermente edilen hamurlarda maya çeşitliliği üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Ancak 25°C ve 30°C’de fermente edilen hamurların farklı maya çeşitliliğine sahip

olduğu da görülmüştür. Aynı pH değerinde farklı sıcaklıkta pasajlanarak üretilen hamurların maya çeşitliliği karşılaştırıldığında 30°C’de fermente edilen hamurların daha zengin maya florası ile fermente edildiği anlaşılmıştır. Fakat tüm sıcaklık ve pH’larda pasajlama oranının hamurların maya çeşitliliği üzerinde etkisi bulunmamıştır.



Şekil 4.7. 30°C sıcaklıkta $3,70\pm0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda maya çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri a) %5 pasaj b) %10 pasaj c) %15 pasaj



Şekil 4.8. 30°C sıcaklıkta $4,00\pm0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan tarhana hamurlarının pasaj sonunda maya çeşitliliğini gösteren DGGE bant profilleri a) %5 pasaj b) %10 pasaj c) %15 pasaj

Çalışmamızda fermentasyon ortamında yapılan pasajlama uygulaması ile mikrobiyotanın adaptasyonu geliştirilerek fermentasyonun seçilmiş ve aktif, kararlı

mikrobiyota ile yürütülmesi sağlanmıştır. Bugüne dek yapılan birçok bilimsel araştırmada gün aşırı pasajlanarak fermente edilen ekşi hamurlarda en geç 3 gün ve/veya 3 pasajlama sonrasında enterokokların ortamdan kaybolduğu, yerine fermantasyon ortamına adaptif laktobasil, lökonostok, pediokok veya weisella gibi LAB'lerin hâkim olduğu rapor edilmiş, söz konusu sonuçlar PZR-DGGE bant profilleri ile de desteklenmiştir (Corsetti ve Settanni, 2007; Ercolini ve ark, 2003; Van der Meulen ve Scheirlinck, 2007; Weckx ve ark, 2010). Aynı durum maya florası için de geçerli olup birçok pasajlanan ekşi hamur çalışmasında son pasajlarda ortamda adaptif bir veya birden çok maya türü olduğu PZR-DGGE profilleri ile ortaya konulmuştur (Ercolini ve ark, 2003; Gatto ve Torriani, 2004; Harth ve ark, 2016; Zhang ve ark, 2015). Söz konusu çalışmalarda elde edilen sonuçlar bizim çalışmamızda bulunan sonuçlar ile benzerdir. Pasajlama ile gerçekleştirilen fermantasyonlarda baskın mikrobiyota fermantasyon ortamına adaptasyon sağlayabilen türlerden oluşmaktadır.

4.5. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının LAB ve Maya Tür Çeşitliliği

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının son pasaj sayısına ait örneklerinde LAB ve maya mikrobiyotası kültürden bağımsız bir yaklaşım olan metagenomik analizi ile değerlendirilmiştir. Bunun için her fermantasyon grubunun son pasaj sayısına ait tarhana hamurlarından doğrudan elde edilen genomik DNA'lar kullanılarak LAB ve maya mikrobiyotası belirlenmiştir. Özetle çalışmada tarhana hamuru başına ortalama 105.413 adet, toplam 1.264.963 çift sonlu okumanın sekanslaması gerçekleştirilmiştir. Bu okumalar %90'ın üzerinde kalite oranı ile başarılmıştır. Tüm okumalar da %5'e kadar dizi farklılığı kabul edilerek, dizi benzerlik eşik değeri %95, %97 veya %99 olarak alınmış ve özdeş etiketlerden oluşan dolayısıyla aynı genomlar olduğu varsayılan kümeler Operasyonel Taksonomik Birimler (Operational Taxonomic Units=OTUs) olarak kabul

edilmiştir. %99 dizi benzerliği tür düzeyini ve %97 benzerlik seviyesi ise cins düzeyinde tanımlama için kullanılmıştır.

Metagenom analizi ile tüm tarhana gruplarının son pasaj sayısına (7.) ait hamur örneklerinden ekstrakte edilen toplam DNA'ya uygulanan amplikon dizilimi, tarhana hamurlarının fermantasyonunda ağırlıklı olarak *Lactobacillus* cinsi üyelerin yer aldığını göstermiştir. Ancak bunun yanında düşük oranlarda *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Weissella* ve *Enterococcus* cinsleri de tespit edilmiştir. *Pediococcus* ise sadece üç hamur örneğinde oldukça düşük miktarda bulunmuştur. Buna göre pasajlama ile kararlı koşulda tarhana hamurlarının fermantasyon mikrobiyotasının en düşük %56 en fazla %82 oranında *Lactobacillus* cinsi üyeleri içerdiği görülmüştür (Şekil 4.9).

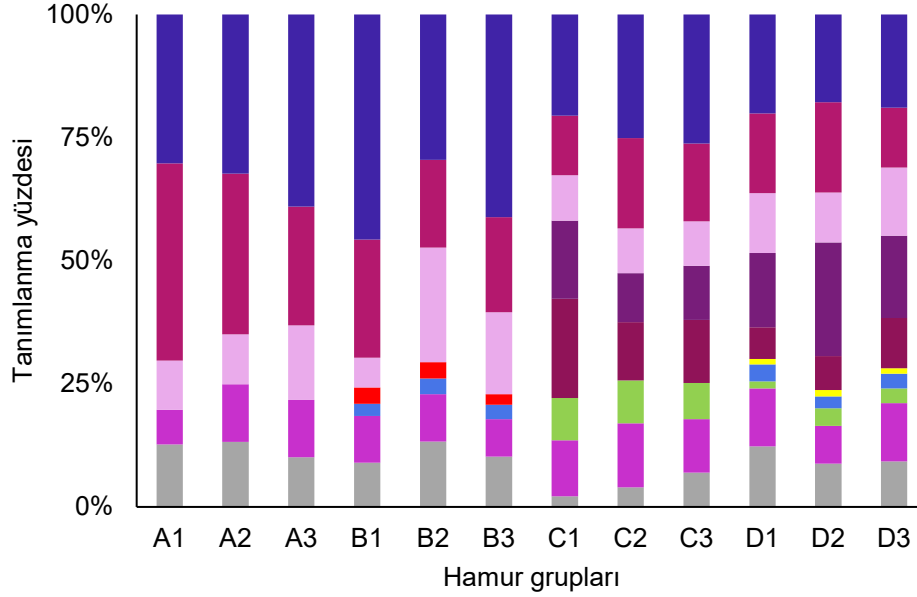
Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında farklı oranlarda pasajlama yapılmasının hamur mikrobiyotası üzerinde etkisi bulunmazken, pasajlamada kullanılan fermente tarhana hamurunun pH değeri ve fermantasyon sıcaklığının etkili olduğu bulunmuştur. 25°C'de 3,70 pH değerinde fermente hamur ile pasajlama yapılan tarhana hamurlarında 4,00 pH değerinde fermente hamur ile pasajlanan tarhana hamurlarına nazaran %17 daha fazla *Lactobacillus* cinsi belirlenmiştir. Ancak benzer durum 30°C'de fermente edilen tarhana hamurlarında görülmemiştir. pH farklılığı ile ilgili bir başka tespit ise 25°C'de 4,00 pH değerinde fermente hamur ile %15 oranında pasajlanan hamurlarda *Leuconostoc* cinsine rastlanmasıdır. Bunlara ilaveten 30°C'de her iki farklı pH değerindeki fermente hamur ile yapılan pasajlama uygulaması tarhana hamuru fermantasyonunda *Streptococcus*'ların artışına neden olmuştur.

Kararlı koşulda tarhana hamuru fermantasyonunun LAB tür içeriği de %82'nin üzerinde başarıyla tanımlanmıştır. Son pasajlama sonrası tarhana hamuru fermantasyon mikrobiyotasının LAB tür içeriği Şekil 4.9.'da gösterilmiştir. Metagenomik analiz sonuçlarına göre; tüm hamur gruplarında *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* (% 45,71), *Levilactobacillus brevis* (%40,04) ve

Companilactobacillus alimentarius (%23,29) türleri ortak baskın LAB biyotası olarak belirlenmiştir. *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* türleri ise sadece 30°C’de gerçekleştirilen fermantasyonlarda tanımlanmıştır. Diğer yandan LAB tür çeşitliliği 4,00 pH değerine sahip fermente tarhana hamuru ile pasajlanarak gerçekleştirilen fermantasyon gruplarında (25°C ve 30°C) daha zengin bulunmuştur.

25°C gruplarında yukarıda bahsedilen adaptif türler dışında *Leuconostoc citreum* (%3,35) ve *Lacticaseibacillus casei* (%3,45) tanımlanmıştır. 30°C gruplarında ise diğer gruplardan farklı olarak *Lactiplantibacillus fabifermentans* (%1,25) ve *Limosilactobacillus fermentum* (%8,74) bulunmuştur. Zheng ve ark (2020), tarafından önerilen yeni sınıflandırmada söz konusu LAB türlerine ait yeni isimlendirmeler önceki bölümlerde yer alan Çizelge 2.2’de verilmiştir.

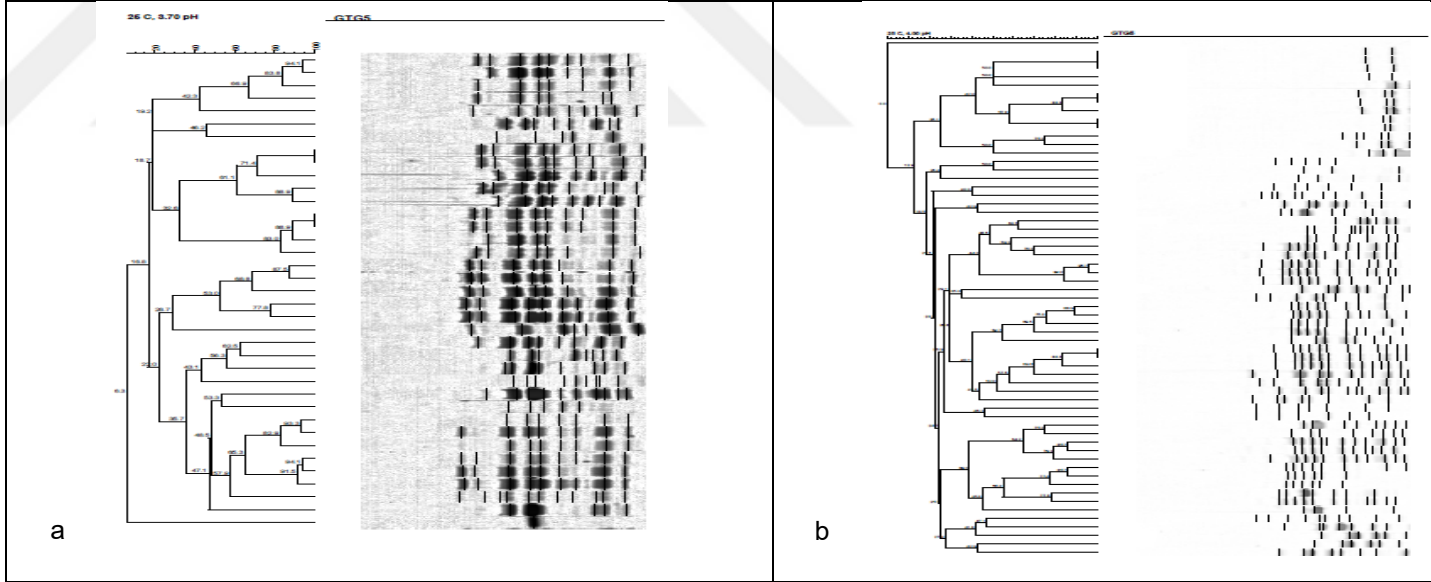
Tüm fermantasyon gruplarının son pasaj sayılarına ait hamur örneklerindeki LAB çeşitliliği ayrıca kültüre bağımlı tanımlama analizi ile de belirlenmiştir. Bu amaçla çalışmada yer alan 12 farklı hamurdan yapılan ekimlerde 20’şer adet farklı koloni seçilmiş ve (GTG)5 profilleri çıkarılarak kümelenmiştir. Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’de toplam 240 izolatın (GTG)5 profilinin karşılaştırıldığı dendogramın 40% benzerliğine göre gruplar oluşturulmuş ve temsili izolatlar seçilerek tanımlama yapılmıştır. Gruplardan seçilen 23 adet izolat 1464 bp 16S rRNA geni sekansına göre %97 den daha yüksek homoloji ile tanımlanmıştır. Tüm hamur örneklerinin son pasaj sayısından seçilen suşlardan toplam 5 farklı tür tanımlanmıştır. Bunlar sırasıyla *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Companilactobacillus alimentarius*, *Lacticaseibacillus casei* ve *Lactiplantibacillus fabifermentans* olmuştur (Çizelge 4.11). *Lb. plantarum*, *Lb. brevis* ve *Lb. alimentarius* tüm hamur gruplarından izole edilebilmişken, 4.00 pH fermantasyon gruplarında ayrıca *Lb. casei* ve *Lb. fabifermentans* türleri de izole edilebilmiştir (Çizelge 4.11).



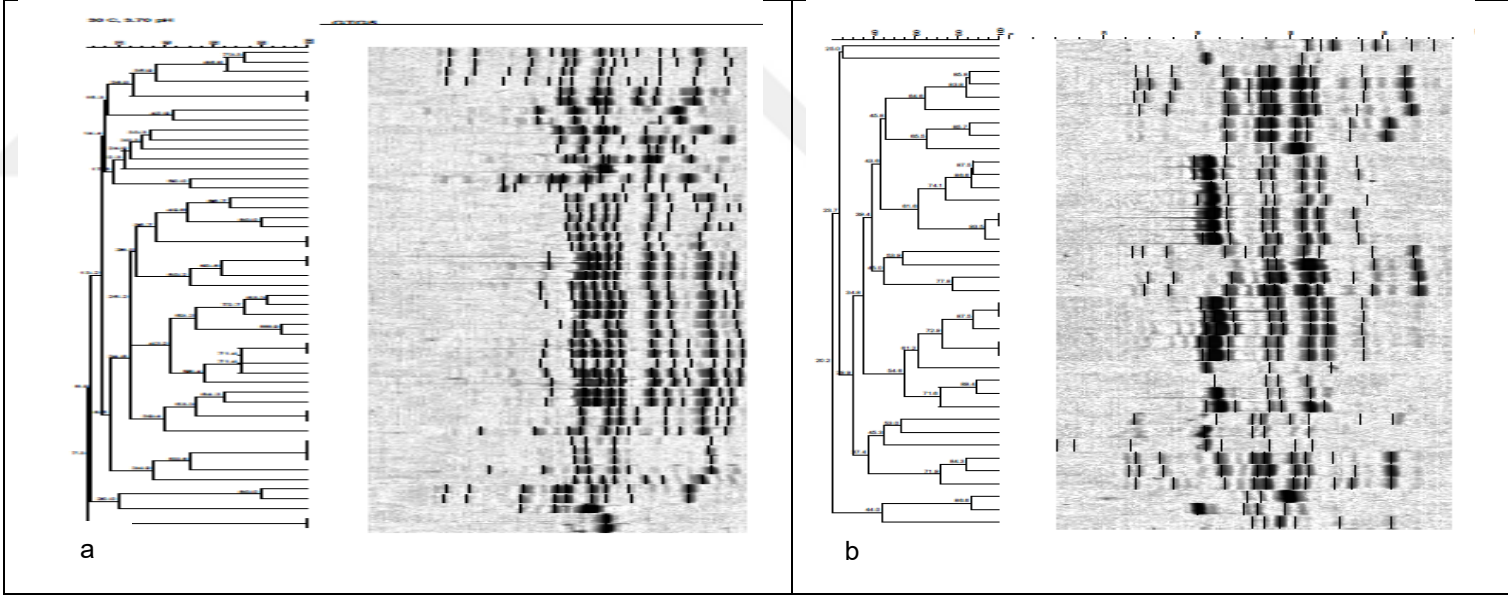
- *Lactiplantibacillus plantarum subsp. plantarum*
- *Levilactobacillus brevis*
- *Companilactobacillus alimentarius*
- *Streptococcus thermophilus*
- *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*
- *Leuconostoc citreum*
- *Lactiplantibacillus fabifermentans*
- *Lacticaseibacillus casei*
- *Limosilactobacillus fermentum*
- *Bilinmeyen*
- *Diğer*

Şekil 4.9. Hamurlarda metagenomik analizi ile tanımlanan LAB türleri

A1: 25°C 3,70 pH %5 A2: 25°C 3,70 pH %10 A3: 25°C 3,70 pH %15
 B1: 25°C 4,00 pH %5 B2: 25°C 4,00 pH %10 B3: 25°C 4,00 pH %15
 C1: 30°C 3,70 pH %5 C2: 30°C 3,70 pH %10 C3: 30°C 3,70 pH %15
 D1: 30°C 4,00 pH %5 D2: 30°C 4,00 pH %10 D3: 30°C 4,00 pH %15



Şekil 4.10. 16S rDNA tanımlaması için toplanan izolatlardan elde edilen GTG5 profillerinin benzerliklerine göre kümelendirilmiş hali, a: 25°C, 3,70 pH hamur grubundan toplanan izolatlar, b: 25°C, 4,00 pH hamur grubunda toplanan izolatlar



Şekil 4.11. 16S rDNA tanımlaması için toplanan izolatlardan elde edilen GTG5 profillerinin benzerliklerine göre kümelendirilmiş hali, a: 30°C, 3,70 pH hamur grubundan toplanan izolatlar, b: 30°C, 4,00 pH hamur grubundan toplanan izolatlar

Çizelge 4.11. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında 16S rDNA analizi ile tanımlanan türler

Tanımlanan tür ismi	NCBI Kayıt No	Yakın akraba türlerine benzerlik oranı (%)	Değerlendirilen baz sayısı (bp)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	MK346923	100	896
	MK346924	100	886
	MK340821	99	1515
	MK347022	100	764
	MK347023	100	727
	MK351312	100	739
	MK351320	100	694
<i>Levilactobacillus brevis</i>	MK336658	100	1503
	MK340858	100	1449
	MK336659	100	1456
	MK346925	100	936
	MK346920	100	1501
<i>Lactiplantibacillus fabifermentans*</i>	MK346926	100	952
	MK346854	99	460
	MK347025	100	783
<i>Companilactobacillus alimentarius</i>	MK346927	100	856
	MK347026	100	726
	MK351316	99	726
	MK351307	100	680
	MK351308	99	754
<i>Lacticaseibacillus casei*</i>	MK346933	100	403
	MK351314	100	756
	MK351318	99	744

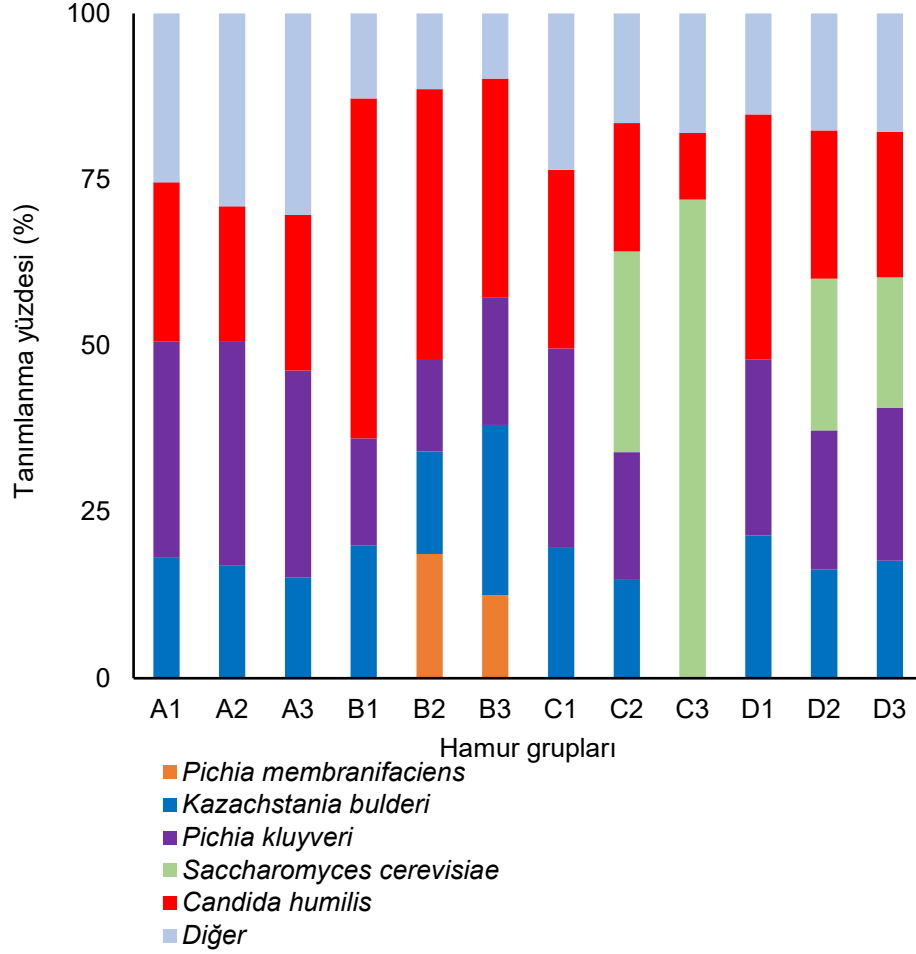
*Sadece 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda tespit edilmiştir.

Kararlı koşulda tarhana hamuru fermantasyonunun maya tür içeriği metagenomik analizi ile %80,89'un üzerinde başarıyla tanımlanmıştır. Metagenom analizi ile tüm tarhana gruplarının 7. pasajına ait hamur örneklerinden ekstrakte edilen toplam DNA'ya uygulanan ampikon dizilimi, tarhana hamurlarının fermantasyonunda ağırlıklı olarak *Candida*, *Saccharomyces*, *Kazacshania* ve *Pichia* cinsi üyelerin yer aldığını göstermiştir. Şekil 4.12'de görüldüğü üzere

çalışmadaki tüm gruplara ait hamurlarda %5 oranında yapılan pasajlamanın hamurdaki maya mikrobiyotasını etkilemediği anlaşılmış ve bu pasajlama oranında hamurlarda fermentasyondan sorumlu maya mikrobiyotasını temsil eden 3 farklı maya türü belirlenmiştir. Söz konusu oranda yapılan pasajlamalarda farklı pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile farklı fermentasyon sıcaklığı uygulaması hamur maya mikrobiyotasındaki tür çeşitliliğinde değişiklik yaratmamıştır. Diğer yandan 25°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente hamur ile %10 ve %15 oranında pasajlanan hamurlarda ve 30°C sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente hamur ile %10 ve %15 oranında pasajlanan hamurlarda hamur mikrobiyotasında 4 farklı maya türü tanımlanmıştır. Söz konusu maya türlerinin üçü %5 oranında pasajlanan hamurlarda belirlenen maya türleri ile ortak iken, diğer dördüncü türler farklı fermentasyon sıcaklıkları için farklı temsilciler olmuştur. Tüm bu bulgular ışığında farklı oranlarda pasajlamanın pH ve sıcaklık da olduğu gibi hamur maya mikrobiyotasını etkilediği ortaya çıkmıştır.

Şekil 4.12 incelendiğinde her iki sıcaklıkta yapılan fermentasyonlarda $4,00 \pm 0,05$ pH hamur grubunda $3,70 \pm 0,05$ pH grubuna nazaran daha fazla maya çeşitliliği olduğu görülmektedir. Bu durum hamurdaki pH değerinin LAB biyotası üzerindeki etkisine benzer şekilde maya çeşitliliğini de etkilediğini göstermiştir. Söz konusu çeşitlilik çalışmamızda daha önce rapor edilmiş hamurlardaki PZR-DGGE bant profilleri ile desteklenmektedir (Şekil 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8). 4,00 pH hamur gruplarında 3,70 pH hamur gruplarından farklı olarak *S. cerevisiae* ve *Pichia membranifaciens* türleri belirlenmiştir. 25°C 3,70 pH hamur grubunda fermentasyon koşullarına adaptasyon geliştirmiş maya florası *C. humilis* (%22,56), *Pichia kluyveri* (%32,43) ve *Kazacshtania bulderi* (%16,76) şeklinde üç farklı türden oluşmuştur. 25°C 4,00 pH hamur grubunda ise söz konusu türlerin yanı sıra *P. membranifaciens*

(%18,7) de belirlenmiştir. *S. cerevisiae* türü ise sadece 30°C sıcaklığa ait hamur gruplarında tanımlanabilmiştir. Tüm hamur gruplarında var olduğu belirlenen tek tür ise ortalama %27,46 ile *C. humilis* türü olmuştur.



Şekil 4.12. Hamurlarda metagenomik analizi ile tanımlanan maya türleri

A1: 25°C 3,70 pH %5 A2: 25°C 3,70 pH %10 A3: 25°C 3,70 pH %15
 B1: 25°C 4,00 pH %5 B2: 25°C 4,00 pH %10 B3: 25°C 4,00 pH %15
 C1: 30°C 3,70 pH %5 C2: 30°C 3,70 pH %10 C3: 30°C 3,70 pH %15
 D1: 30°C 4,00 pH %5 D2: 30°C 4,00 pH %10 D3: 30°C 4,00 pH %15

Bu çalışmada pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının mikrobiyota çeşitliliği üzerinde uygulanan farklı fermantasyon sıcaklığı ve pasajlamada kullanılan fermente hamurun pH değerinin etkisi olduğu belirlenir iken; farklı pasajlama oranlarının etkisi kısmi olmuştur. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının LAB ve maya mikrobiyotası yapılan pasajlamalar boyunca PZR-DGGE analizi ile değerlendirildiğinde, tüm hamur gruplarının son pasaj sayılarında baştaki pasajlara ait hamur profilinden farklı profil ortaya koyduğu gözlenmiştir. Profillerdeki farklılık uygulanan farklı fermantasyon sıcaklığı, pasajlamada kullanılan fermente tarhana hamurunun pH değeri ve pasajlama oranına bağlı olarak oluşmuştur. Benzer şekilde; pasajlanarak fermente edilen ekşi hamurlarda da ileri pasaj sayılarında hamurlarda uygulanan fermantasyon koşullarına adaptasyon sağlayabilen türlerin hâkim olduğu ve yapılan her yeni pasajlamada fermantasyonun söz konusu türler tarafından devam ettirildiği vurgulanmaktadır. Bu çalışmada da tarhana hamuru fermantasyonunda hamurlara ardışık pasajlamalar uygulanarak fermantasyondan sorumlu hamur mikrobiyotasının stabilite kazanması sağlanmıştır.

Benzer şekilde; Harth ve ark (2016), pasajlama yaptıkları ekşi hamur fermantasyonlarında fermantasyon sıcaklığına bağlı olarak hamur mikrobiyotasında yer alan baskın LAB türlerinin değişkenlik gösterdiğini rapor etmişlerdir. 30°C sıcaklıkta hamurdaki LAB florasının temsilcileri *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum* ve *Lb. brevis* olur iken; fermantasyon sıcaklığı 18-23°C'lere düştüğünde söz konusu temsilciler *Leu. citreum*, *Leu. mesenteroides*, *Weissella confusa* ve *W. cibaria* türleri olmuştur. Bizim çalışmamızda da *Leu. citreum* türü sadece 25°C sıcaklıkta fermente edilen hamur gruplarında tespit edilebilmiş, 30°C sıcaklıkta ise söz konusu çalışma ile benzer şekilde *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum* ve *Lb. brevis* türleri belirlenmiştir. Aynı çalışmada hamurda tanımlanan maya tür ve çeşitliliği ise fermantasyon sıcaklığından etkilenmemiş, her iki sıcaklıkta da ortak bulunan *C. glabrata* türü olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada da benzer şekilde pasajlama uygulanarak fermente edilen tarhana hamurlarında farklı fermantasyon sıcaklığında ortak belirlenen maya türü *C. humilis* olmuştur.

Settani ve ark (2011), tarhana fermantasyon sıcaklığı 30°C olduğunda hamurda laktobasillerin hâkim olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada da 30°C sıcaklıkta fermente edilen tarhanalardan toplanan hamur örneklerinde çoğunlukla *Lactobacillaceae* familyasına ait üyeler tanımlanmıştır.

Pasajlama uygulanan ekşi hamur fermantasyonlarında ortam koşullarına adaptasyon sağlayan türlerin karakterize edildiği çok sayıda çalışmada rapor edilen tür isimleri bizim çalışmamızda rapor edilen türler ile uyumludur. Pasajlama boyunca hamur mikrobiyotasının kompozisyonunda oluşan kademeli değişimler sonunda söz konusu çalışmalarda son pasajlardaki ortak baskın türler içerisinde bu tez çalışmasında da rapor edildiği gibi *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum* türleri olmuştur (Weckx ve ark, 2010; Van der Meulen ve Scheirlinck, 2007; Siragusa ve ark, 2009).

Bugüne kadar pasajlama yapılarak fermantasyonu gerçekleştirilen ekşi hamur başta olmak üzere farklı birçok fermente gıdada maya florası içerisinde *C. humilis* türünün baskın olduğu rapor edilmiştir (Fujimoto ve ark, 2019; Raimondi ve ark, 2017; De Vuyst ve ark, 2017; Di Cagno ve ark, 2014; Nuobariene ve ark, 2012; Minervini ve ark, 2014). Bizim çalışmamızda da söz konusu maya türü tüm hamur gruplarında bulunan ortak maya türü olarak belirlenmiştir.

Hamur örneklerimizde sıklıkla varlığı tespit edilen bir diğer maya türü de *K. bulderi* olmuştur. 30°C 3,70 pH %15 hamur grubu hariç diğer tüm hamur gruplarında tanımlanan maya türü *K. bulderi* bugüne kadar birçok farklı ekşi hamur ve diğer geleneksel fermente gıdaların fermantasyonunda da tanımlanmıştır (Boyacı-Gündüz ve Erten, 2020; Beyene ve ark, 2020; Van Kerrebroeck ve ark, 2016; Moon ve ark., 2014).

4.6. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının Organik Asit İçeriği

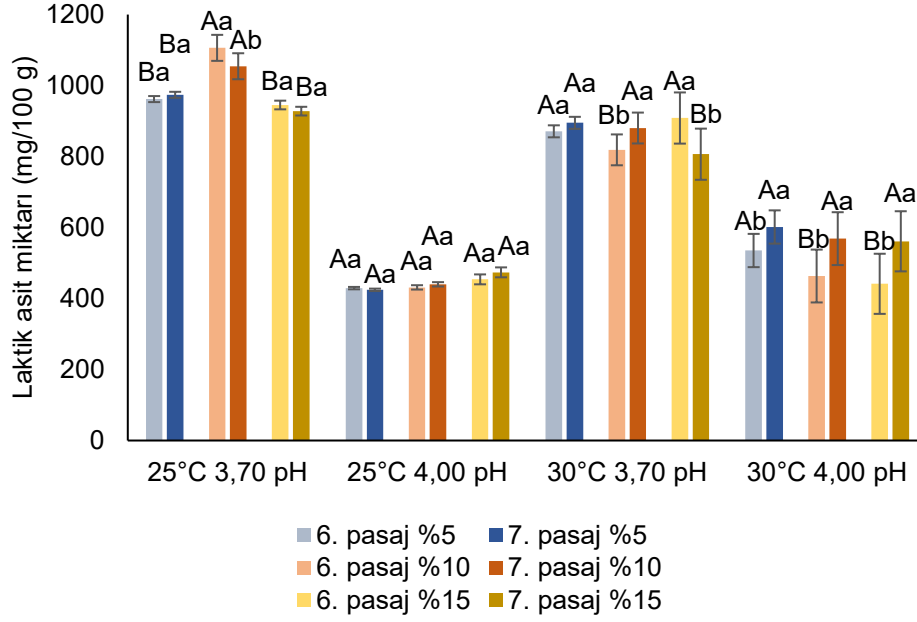
Tarhana formülasyonunda yer alan ham maddelerden gelen LAB ve mayalar hamur fermantasyonu sırasında metabolik faaliyetler gerçekleştirerek çeşitli organik asitler üretirler. Bunların başında tarhanaya karakteristik özelliğini kazandıran laktik asit ve asetik asit üretimleri gelir. Bu tezde ise pasajlanarak fermente edilen tarhana

hamurlarında hamur mikrobiyotasında kazanılan stabiliteye bağlı olarak ardışık pasajların hamurlarında organik asit üretim miktarları değerlendirilmiştir. Bu kapsamda tezin çalışma deseninde yer alan tüm fermantasyon gruplarının son iki pasaj adımına ait (6. pasaj ve 7. pasaj) hamurlarında laktik ve asetik asit miktarları değerlendirilmiştir (Şekil 4.13 ve Şekil 4.14).

Çalışma deseninde yer alan tüm tarhana hamur gruplarının son iki pasaj adımına ait hamurlarda laktik asit miktarı, asetik asit miktarına göre daha yüksek bulunmuştur (Ek 1). Tarhana hamurunda laktik asit fermantasyonu gerçekleştiğinden, laktik asit miktarının yüksek olması beklenen bir durumdur. Her iki sıcaklıkta gerçekleştirilen fermantasyonların 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamur ile pasajlanan hamur gruplarında 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamur gruplarına nazaran daha fazla laktik asit üretilmiştir. Söz konusu değerler pH'sı $3,70 \pm 0,05$ olan fermente tarhana hamuru ile pasajlanmış hamurlarda ortalama 929,15 mg/100 g, $4,00 \pm 0,05$ pH'daki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda ise 485,40 mg/100 g olarak belirlenmiştir. 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda belirlenen düşük laktik asit değerleri; söz konusu hamurlarda tespit edilen düşük asitlik dereceleri ile uyumlu bulunmuştur (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6).

$3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda fermantasyon sıcaklığı artırıldığında laktik asit miktarının azaldığı belirlenmiştir (Şekil 4.13). $4,00 \pm 0,05$ pH değerinde pasajlanan hamurlarda ise bu durumun tersi söz konusu olmuş, fermantasyon sıcaklığındaki artış ile laktik asit üretimi artış göstermiştir. Söz konusu artış ve azalış değişen fermantasyon parametrelerine bağlı olarak tarhana hamurunda baskın olan LAB türleri ile ilişkilendirilmiştir. 30°C sıcaklıkta fermente edilen ve $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurların mikrobiyotasında obligat heterofermantatif bir tür olan *Lb. fermentum* türünün varlığı söz konusu hamurlardaki laktik asit üretim miktarlarındaki azalışı desteklemektedir. Benzer şekilde 30°C sıcaklıkta fermente edilen ve $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan

hamurların mikrobiyotasında ise homofermantatif bir LAB türü olan *Lb. fabifermentans* türünün varlığı hamurlardaki laktik asit miktarındaki artışın kaynağı olarak düşünülmüştür.



Şekil 4.13. Tüm hamur gruplarının son iki pasajına ait örneklerinde belirlenen laktik asit miktarları (mg/100 g)

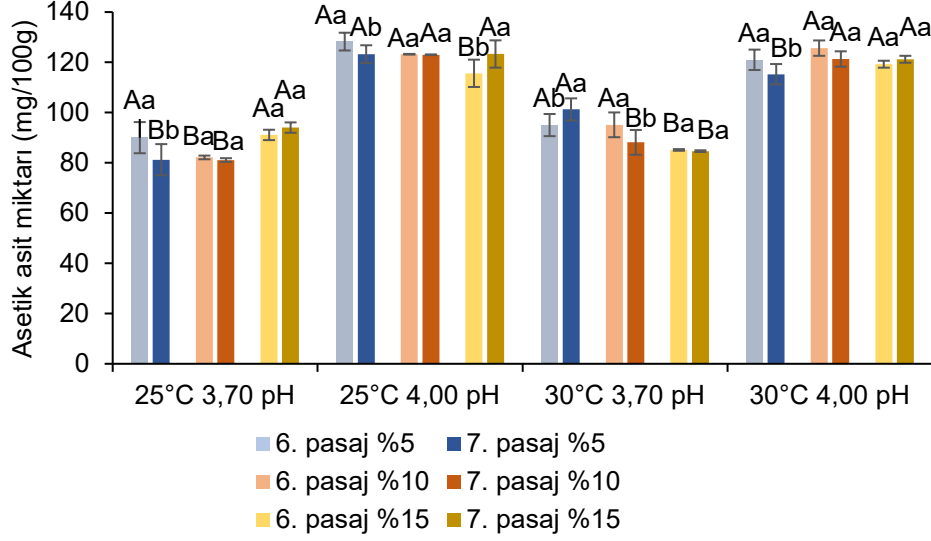
*Büyük harfler her grubun kendi arasında aynı pasaj sayısına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Küçük harfler ise her grubun kendi arasında aynı oranlarda pasajlanan hamurların 6. ve 7. pasaj sayıları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder ($p < 0,05$).

En fazla laktik asit 25°C ve 3,70±0,05 pH değerinde %10 oranında pasajlanan tarhana hamurlarının 6. pasajında 1106,20 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. En düşük laktik asit ise 25°C sıcaklıkta 4,00±0,05 pH değerinde %5 oranında pasajlanan tarhana hamurlarının 7. pasajında 424,55 mg/100 g olarak belirlenmiştir.

Tüm tarhana hamurlarının asetik asit içeriği miktarları laktik asit içeriğine kıyasla daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.14). Her iki sıcaklıkta da 3,70 pH grubu

hamurlarında 4,00 pH grubuna nazaran daha az asetik asit üretimi olduğu gözlenmiştir. 3,70 pH hamur gruplarında söz konusu asetik asit miktarı her iki sıcaklıkta en düşük 81,10 mg/100 g olarak tespit edilir iken; söz konusu bu değer 4,00 pH hamur gruplarında 115,26 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Tüm hamur grupları arasında belirlenen en yüksek asetik asit değeri 25°C, 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamur grubunda 128,25 mg/100 g olarak bulunmuştur.

Çalışmada 4,00 pH değerinde pasajlanan hamurlarda heterofermantatif LAB türleri olan *Lb. brevis*, *Lb. fermentum* ve *Leu. citreum* türlerinin varlığı ortaya konulmuştu. Söz konusu bu türler 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda fermentasyon boyunca aktif olduklarından bu grubun hamurlarındaki asetik asit birikiminin 3,70 pH değerinde fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamur grubuna nazaran yüksek olması beklenen bir durumdur. Diğer yandan 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamurları ile pasajlanan hamur gruplarının fermentasyon katsayıları da 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamur gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur. 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda laktik asit ve asetik asit arasındaki molar oranındaki artışı hamurlarda kültüre bağımlı ve bağımsız yöntemlerle tespit edilen *Lb. plantarum*, *Lb. alimentarius*, *Lb. casei*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* gibi homofermantatif LAB türlerinin bulunması da desteklemiştir. (Çizelge 4.12).



Şekil 4.14. Tüm hamur gruplarının son iki pasajına ait örneklerinde belirlenen asetik asit miktarları (mg/100 g)

*Büyük harfler her grubun kendi arasında aynı pasaj sayısına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Küçük harfler ise her grubun kendi arasında aynı oranlarda pasajlanan hamurların 6. ve 7. pasaj sayıları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder ($p < 0,05$).

Çizelge 4.12. Tüm grupların son pasaj hamurlarında belirlenen laktik ve asetik asit miktarlarına bağlı olarak hesaplanan fermentasyon katsayıları

Pasaj oranı	%5	%10	%15
25°C 3,70 pH	5,71	6,06	5,01
30°C 3,70 pH	4,80	5,65	5,53
25°C 4,00 pH	3,99	3,61	3,26
30°C 4,00 pH	3,55	4,40	4,93

Fermentasyon katsayısı hesabı şu formüle göre yapılmıştır:

$$\frac{[100 \text{ g hamurdaki laktik asit miktarı gram cinsinden} / 90,08 \text{ (mw laktik asit)}]}{[100 \text{ g hamurdaki asetik asit miktarı gram cinsinden} / 60,05 \text{ (mw asetik asit)}]}$$

Harth ve ark (2016), 10 kez pasajlama uyguladıkları fermente ekşi hamur örneğinde fermantasyon sıcaklığı 30°C iken $44,4 \pm 2,3$ mM, fermantasyon sıcaklığı 22°C iken $34,9 \pm 4,1$ mM laktik asit bulmuşlardır. Fermantasyonda uygulanan farklı sıcaklık ile hamurdaki laktik asit birikiminin değiştiği bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile de desteklenmiştir. Aynı çalışmada bizimkine benzer şekilde asetik asit miktarı laktik aside nazaran oldukça düşük (13,7 mM) tespit edilmiş, yalnız söz konusu değerin 6. pasajlama adımından itibaren hamurdaki konsantrasyonu hızla azalmıştır. Bizim çalışmamızda son iki pasajdaki asetik asit ölçümleri birbirine benzer bulunmuş, herhangi bir azalma belirlenmemiştir.

Weckx ve ark (2010), tarafından pasajlama uygulanan ekşi hamur fermantasyonunda 1050 mg/100 g değerinde belirlenen laktik asit bizim çalışmamızda olduğu gibi majör metabolitlerden olmuştur. Ekşi hamurda fermantasyondan sorumlu LAB türleri ile çalışmamızda hamurlarımızda belirlediğimiz LAB türleri benzer olduklarından üretilen en yüksek organik asitin laktik asit olması beklenen bir durumdur.

Van Kerrebroeck ve ark (2016), ardışık şekilde pasajlanarak fermente edilen ekşi hamurların fermantasyonunun kontrollü şekilde sürekli pH 4,00'de gerçekleştirilmesinin hamurdaki laktik asit birikimini etkilediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da fermantasyon parametrelerinden biri olan pasajlama öncesi hamur pH değerinin değişmesi ile hamurlarda tespit edilen laktik asit miktarı değişmiştir.

4.7. Pasajlanarak Fermente Edilen Tarhana Hamurlarının Uçucu Bileşen İçeriği

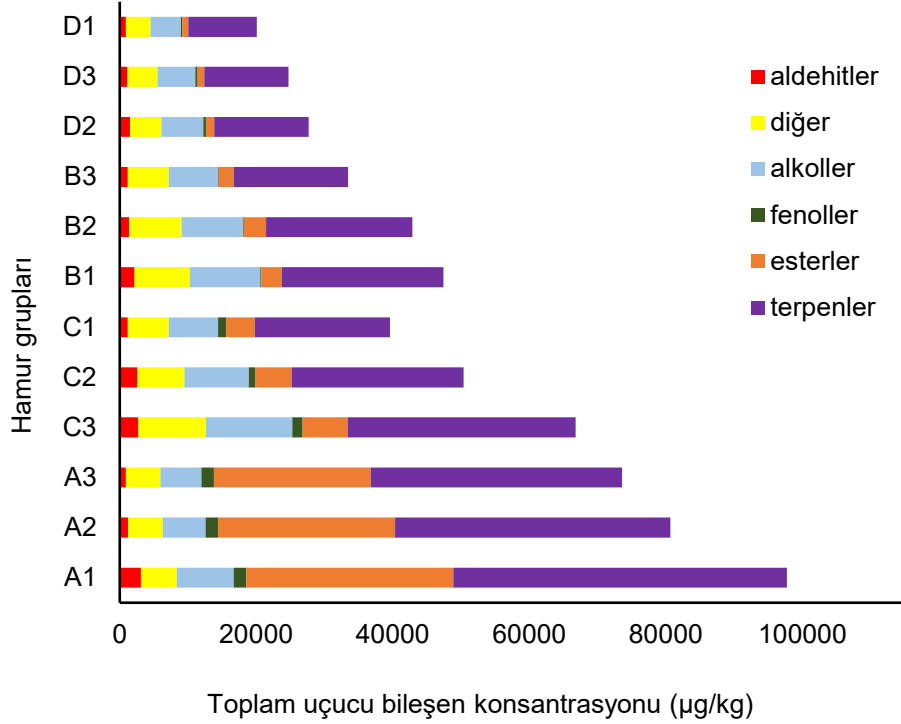
Tarhananın aromatik profilini oluşturan uçucu bileşenler, son üründe tüketici beğenisini doğrudan etkileyen bileşenlerdir. Bu çalışmada pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında toplam uçucu bileşen konsantrasyonları uygulanan farklı fermantasyon sıcaklığı ve pasajlamada kullanılan fermente tarhana

hamurlarının pH değerinden etkilenmiştir (Şekil 4.15). Pasajlama oranındaki değişimin hamurlarda belirlenen toplam uçucu bileşen konsantrasyonu üzerinde etkisi ise sınırlı kalmıştır.

25°C sıcaklıkta gerçekleştirilen fermantasyonlarda 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile farklı oranlarda pasajlanan hamurlarda belirlenen toplam uçucu bileşen konsantrasyonu 4,00 pH grubuna göre yüksek bulunmuştur. Benzer durum 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile 30°C sıcaklıkta gerçekleştirilen fermantasyonların hamurlarında da görülmüştür. Özetle; pasajlamada kullanılan fermente hamurun pH değeri tarhana hamurundaki toplam uçucu bileşen birikimi üzerinde etkili olmuştur (Şekil 4.15).

3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile farklı oranlarda pasajlanan hamurlarda fermantasyon sıcaklığı artırıldığında hamurlardaki toplam uçucu bileşen konsantrasyonu azalmıştır. 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlarda da benzer durum görülmüş, artan fermantasyon sıcaklığına bağlı olarak hamurlardaki toplam uçucu bileşen konsantrasyonu azalmıştır (Şekil 4.15).

Çalışmamızda yer alan hamur grupları içerisinde toplam uçucu bileşen konsantrasyonu en yüksek olan grup (97688,70 µg/kg) 25°C sıcaklıkta 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile %5 oranında pasajlanan hamur grubu olmuştur. Benzer şekilde söz konusu hamur grubunun farklı oranlarda yapılan pasajlamalarına ait hamurlarında da (%10 ve %15) toplam uçucu bileşen konsantrasyonları diğer hamur gruplarına nazaran yüksek bulunmuştur. Bu değerler sırasıyla %10 oranında pasajlanan hamurlarda 80650,26 µg/kg, %15 oranında pasajlanan hamurlarda ise 73559,58 µg/kg şeklinde olmuştur. Toplam uçucu bileşen konsantrasyonu en düşük bulunan hamur grubu ise 30°C sıcaklıkta 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile %5 oranında pasajlanan hamur olmuştur (20073,78 µg/kg).

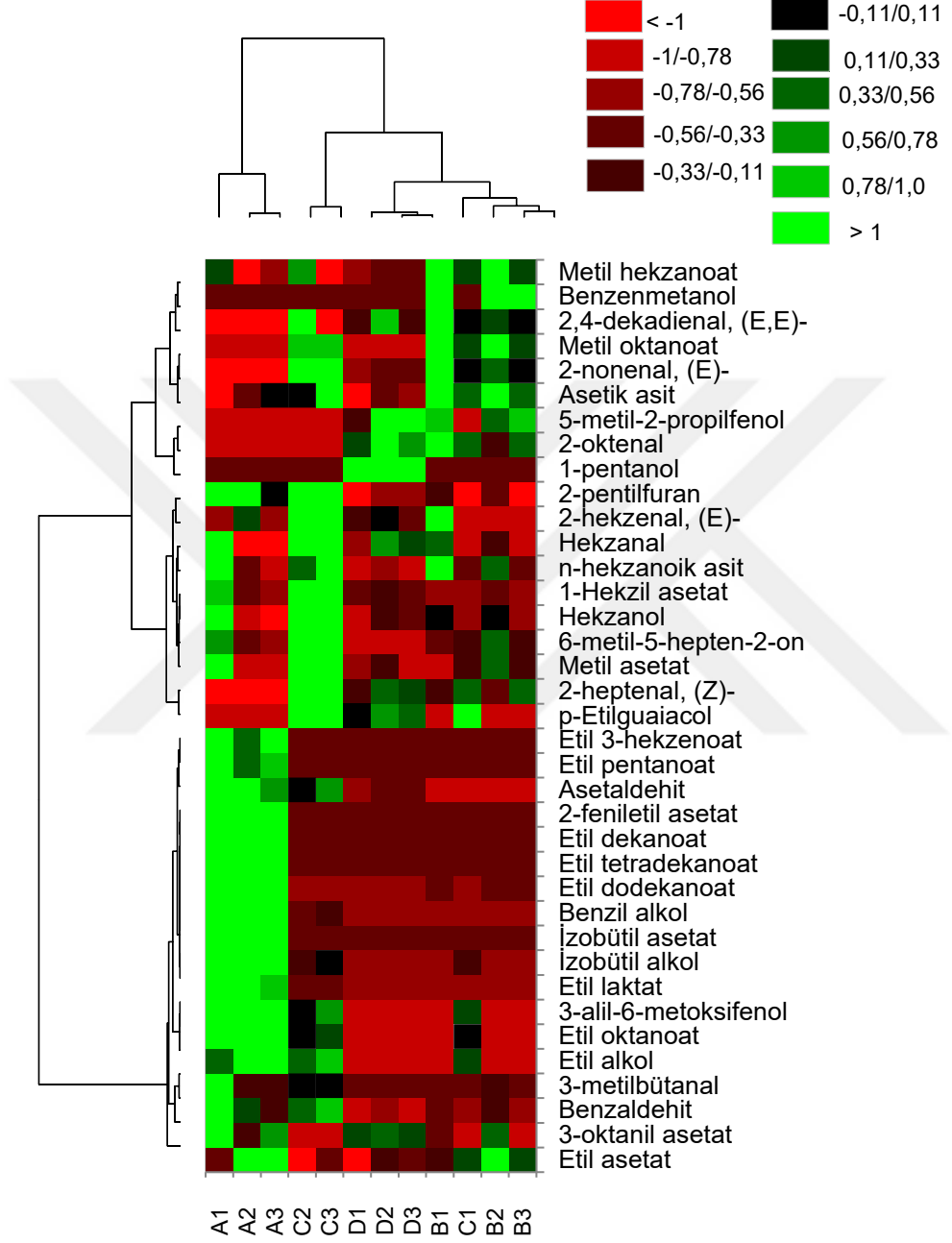


Şekil 4.15. Tüm hamurlarda belirlenen toplam uçucu bileşen konsantrasyonları
 A1: 25°C 3,70 pH %5 A2: 25°C 3,70 pH %10 A3: 25°C 3,70 pH %15
 B1: 25°C 4,00 pH %5 B2: 25°C 4,00 pH %10 B3: 25°C 4,00 pH %15
 C1: 30°C 3,70 pH %5 C2: 30°C 3,70 pH %10 C3: 30°C 3,70 pH %15
 D1: 30°C 4,00 pH %5 D2: 30°C 4,00 pH %10 D3: 30°C 4,00 pH %15

Bu çalışmada yer alan tüm hamur gruplarının son pasaj adımlarına ait hamur örneklerinde toplam 56 farklı uçucu bileşen türü tespit edilmiştir. Bu bileşenler içerisinde çeşitlilik bakımından en baskın grubu oluşturan terpen ve terpenoidleri sırasıyla esterler, aldehitler, alkoller ve diğer uçucu bileşenler takip etmiştir. Hamurlarda belirlenen uçucu bileşen çeşitlerinin sayısal dağılımı; 19 farklı terpen ve terpenoid, 15 ester, 6 alkol, 9 aldehit, 3 fenol ve 4 diğer uçucu bileşen şeklinde olmuştur (Çizelge 4.13). Benzer şekilde Tekgül ve ark (2020), rüseyimli tarhana örneklerinde aromatik profilin 63 farklı uçucu bileşenden oluştuğunu rapor etmiştir.

aromatik profillerinin karşılaştırılması analizlerine dahil edilmemiştir. Çünkü çalışmada yer alan hamur gruplarının tümü aynı formülasyonda aynı özellikteki hammaddelerle hazırlanmıştır.

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının terpen dışında içerdikleri diğer uçucu bileşen profillerine göre düzenlenen ısı haritası ise Şekil 4.16'da verilmiştir. Isı haritasında hamurlarda belirlenen uçucu aroma bileşenleri satırlarda, çalışmada yer alan hamur grupları ise sütunlarda yer almaktadır. Renk kodu kırmızı olan veriler düşük değerleri, siyahlar orta değerleri, yeşiller ise yüksek değerleri göstermektedir. Hamur gruplarının uçucu bileşen içeriği bakımından benzerliğini gösteren dendogramda (Şekil 4.16) iki ana grup olduğu görülmektedir. Isı haritası gruplama hiyerarşisinin üst kısmında, A1-A2 ve A3 kodlu hamur grupları sol üst kümede yer alırken; diğer tüm hamur grupları (B1, B2, B3, C1, C2, C3, D1, D2 ve D3) sağ üst kümede yer almıştır. Söz konusu durum tarhana hamuru fermentasyonunda uygulanan fermentasyon sıcaklığı ve pasajlamada kullanılan fermente hamur pH değerinin hamurdaki aromatik profili doğrudan etkilediğini göstermiştir. Hamurlara yapılan farklı oranlarda pasajlamanın ise hamurlardaki aromatik profil üzerindeki etkisi sınırlı kalmıştır. Farklı oranlarda pasajlanan hamurlar dendogramda aynı kümeler altında yer almıştır. Nitekim 25°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile farklı oranlarda pasajlanan tarhana hamurlarının aromatik profili diğer hamur gruplarından farklı bulunmuştur.

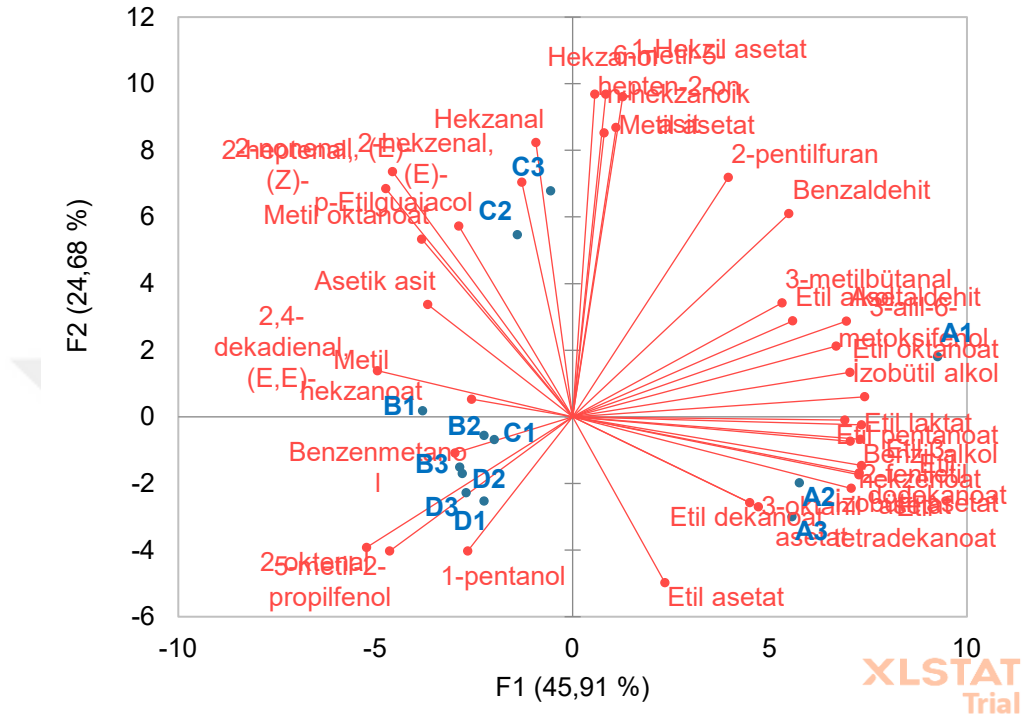


Şekil 4.16. Tarhana hamurlarında belirlenen uçucu bileşik profillerinin ısı haritası

Isı haritasında görüldüğü gibi (Şekil 4.16) pasajlamada kullanılan fermente hamurun pH değeri 3,70 olduğunda hamurlarda bulunan uçucu aroma bileşiklerin konsantrasyonları artmaktadır. Nitekim ısı haritası incelendiğinde haritanın sol tarafında kümelenen 3,70 pH değerinde fermente hamur ile pasajlanan hamur gruplarının (C1 kodlu hamur grubu hariç) daha fazla yeşil renk içerdiği görülmektedir. Benzer sonuç tüm hamurlarda belirlenen toplam uçucu bileşen konsantrasyonlarının yer aldığı Şekil 4.15’de de görülmüştür. Pasajlamada kullanılan fermente hamurun pH değeri 4,00 olduğunda ise dendogramda yeşil olan tüm uçucu bileşiklerin rengi koyulaşmıştır. Söz konusu uçucu bileşiklerin hamur içerisindeki konsantrasyonlarının azalması, pasajlamada kullanılan fermente hamur pH değerinin fermentasyon sıcaklığından daha etkili olduğunu göstermektedir.

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının aroma uçucu bileşikleri ile hamur grupları arasındaki etkileşim Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis, PCA) metodu ile analiz edilmiştir. Şekil 4.17’de görüldüğü gibi, PCA’nın ilk boyutu olan yatay eksen, saçılımının %45,91’ini temsil ederken, PCA’nın ikinci boyutu olan dikey eksen saçılımının %24,68’ini temsil etmektedir. Şekilde mavi noktalar çalışmada yer alan hamur gruplarını, kırmızı noktalar ise hamurlarda belirlenen uçucu bileşenleri göstermektedir.

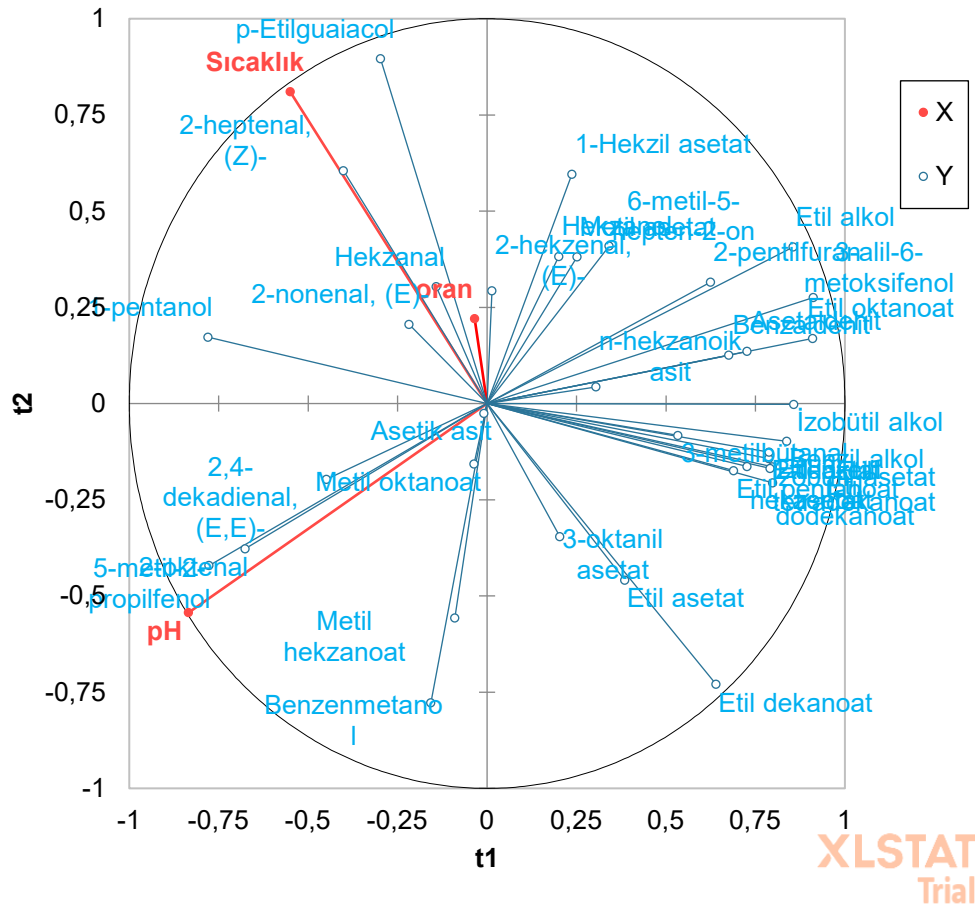
Şekil 4.17’de A1, A2 ve A3 kodlu hamur grupları ile diğer tüm hamur grupları arasında uçucu bileşen profili açısından farklılık olduğu görülmektedir. 25°C sıcaklıkta $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile farklı oranlarda pasajlanan tarhana hamurları grafikte orijinin sağ tarafında yer alırken, diğer tüm hamur grupları orijinin sol tarafında yer almaktadır. Diğer yandan A1, A2 ve A3 kodlu hamur gruplarının eksende bulunduğu düzlemde daha fazla aroma çeşitliliği olduğu göze çarpmaktadır. Şekil 4.16’da verilen hamurlara ait ısı haritası grafiğinde de yeşil alanlara en fazla sahip olan A1, A2 ve A3 hamurları ön plana çıkmış; Şekil 4.17’de verilen PCA grafiğindeki sonucu desteklemiştir.



Şekil 4.17. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının aromatik profili ile fermantasyon parametreleri arasındaki ilişkiyi gösteren PCA analizi

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında belirlenen uçucu bileşikler ile fermantasyon parametreleri arasındaki korelasyon Kısmi En Küçük Kareler Regresyon Modeli (Partial Least Squares Regression; PLS-R) değerlendirilmiştir. Uçucu aroma bileşikleri (t1-matris) ve fermantasyon parametreleri (t2-matris) arasındaki kısmi en küçük kare regresyon (PLSR) korelasyon grafikleri Şekil 4.18’de verilmiştir. Fermantasyon parametre değişkenleri X (kırmızı); aroma bileşikleri Y (mavi) olarak verilmiştir. Hamurlarda belirlenen uçucu aroma bileşikleri ile fermantasyon parametreleri arasında en düşük korelasyon gösteren parametre pasajlama oranı olmuştur. Fermantasyon sıcaklığı ile pasajlamada

kullanılan fermente hamurun pH değeri ise hamurlarda belirlenen uçucu aroma bileşikleri ile yüksek korelasyon göstermiştir.



Şekil 4.18. Uçucu aroma bileşikleri ve fermantasyon parametreleri arasındaki kısmi en küçük kareler regresyon (PLS-R) grafiği (mavi: uçucu aroma bileşikleri, kırmızı: fermantasyon parametreleri)

Tarhananın aromatik profili içerisinde aldehitler önemli yer tutarlar. Çalışmamızda pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının son pasaj sayılarına ait hamur örneklerinde belirlenen aldehitler ise sırasıyla; asetaldehit,

benzaldehit, hekzanal, 2-hekzenal, (E)-, 2,4-dekadienal, (E,E)-, 3-metilbütanal, 2-heptenal, (Z)-, 2-oktenal ve 2-nonenal, (E)- olmuştur (Çizelge 4.13). Bu çalışmada bulunan hamurlarda tespit edilen aldehitlerin tamamı tarhananın aroması ile ilgili yapılan önceki çalışmalarda da benzer şekilde rapor edilmiştir (Tekgül ve ark, 2020; Özdemir ve ark, 2019; Göçmen ve ark, 2004). Literatürde tarhana hamurlarında bizim belirlediğimiz aldehit çeşitlerinin dışında furfural, 4-pentanal, dekanal çeşitlerinin de bulunduğu başka çalışmalarda rapor edilmiştir (Dağ ve İnanç, 2019).

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamur grupları arasında en yüksek aldehit konsantrasyonu (3101,63 µg/kg) 25°C sıcaklıkta 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile %5 oranında pasajlanan hamurda bulunmuştur. Aynı sıcaklık ve pasajlama pH değerine sahip grubun farklı oranlarda pasajlanan hamurlarının aldehit konsantrasyonlarında dalgalanmalar olmuş, istatistiki anlamda da farklılık bulunmuştur ($p < 0,05$). 30°C sıcaklıkta fermente edilen grupta, pasajlamada kullanılan hamurların pH değerindeki artışa bağlı olarak, aldehit konsantrasyonlarında azalmalar belirlenmiştir. 25°C sıcaklıkta fermente edilen grupta ise pasajlamada kullanılan hamurların pH değerindeki artışın hamurlardaki aldehit konsantrasyonu üzerinde anlamlı etkisi bulunamamıştır (Ek 2).

Fermantasyon sıcaklığı ve pasajlamada kullanılan fermente tarhana hamurlarının pH değerine bağlı olarak, hamurlardaki aldehit çeşitliliği de değişmiştir. Tüm hamur grupları arasında aldehit çeşitliliği en fazla olan grup; 30°C sıcaklıkta 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile farklı oranlarda pasajlanan hamurlar olmuştur. Çalışmamızda yer alan 12 hamur grubunda ortak belirlenen aldehit çeşitleri ise sırasıyla benzaldehit, hekzanal ve 3-metilbütanal olmuştur.

Çalışmamızda pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının son pasaj sayılarına ait hamur örneklerinde belirlenen alkoller; etil alkol, benzenmetanol, benzil alkol, 1-pentanol, izobütil alkol ve hekzanol olmuştur (Çizelge 4.13). Bu çalışmada hamurlarda tespit edilen alkollerin tamamı tarhananın aroması ile ilgili

yapılan önceki çalışmalarda da benzer şekilde rapor edilmiştir (Tekgül ve ark, 2020; Özdemir ve ark, 2019; Göçmen ve ark, 2004). Literatürde bizim belirlediğimiz alkol çeşitlerinin dışında 1-heptanol, okten-3-ol, 2-nonanol çeşitlerinin de tarhana hamurlarında bulunduğu başka çalışmalarda rapor edilmiştir (Göçmen ve ark, 2004). Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamur grupları arasında en yüksek toplam alkol konsantrasyonu (17862,60 µg/kg) 25°C sıcaklıkta 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile %10 oranında pasajlanan hamurda bulunmuştur (Ek 2).

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında uygulanan farklı fermantasyon parametrelerine bağlı olarak hamur gruplarındaki alkol çeşitliliği değişmiştir. Çalışmamızda yer alan 12 hamur grubunda ortak belirlenen alkol çeşitleri sırasıyla etil alkol, benzil alkol ve hekzanol olmuştur. 1-pentanol uçucu bileşeni sadece 30°C sıcaklıkta 4,00 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile farklı oranlarda pasajlanan hamurlarda bulunmuştur. İzobütil alkol uçucu bileşeni sadece 3,70 pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamur gruplarında bulunmuştur. Diğer yandan her fermantasyon hamur grubunun (aynı sıcaklıkta aynı pH değerindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan) farklı oranlarda pasajlanan hamurları toplam alkol miktarları arasındaki istatistiki anlamda farklılık bulunmuştur ($p<0,05$).

Çalışmamızda pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının son pasaj sayılarına ait hamur örneklerinde belirlenen esterlerin isimleri Çizelge 4.13'de verilmiştir. Bu çalışmada bulunan hamurlarda tespit edilen esterlerin tamamı tarhananın aroması ile ilgili yapılan önceki çalışmalarda da benzer şekilde rapor edilmiştir (Tekgül ve ark, 2020; Özdemir ve ark, 2019; Göçmen ve ark, 2004).

Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında pasajlamada kullanılan fermente tarhana hamurunun pH değeri ve fermantasyon sıcaklığı hamurlarda belirlenen toplam ester konsantrasyonu ve çeşitliliği üzerinde etkili olmuştur. Pasajlamada kullanılan hamurun pH değeri yükseldikçe, hamurlardaki ester çeşitliliği azalmıştır. Benzer durum fermantasyon sıcaklığının artmasına bağlı olarak da görülmüştür. En çok ester çeşitliliği görülen hamur grubu 25°C sıcaklıkta 3,70

pH değeriindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamurlar olmuştur. Tüm hamur grupları içerisinde belirlenen en yüksek ester konsantrasyonu da söz konusu hamur grubunun %5 oranında pasajlanan hamurunda (30320,4 µg/kg) bulunmuştur. (Ek 2).

Çalışmamızda yer alan tüm hamur gruplarında ortak belirlenen ester çeşitleri ise sırasıyla metil asetat, 1-hekzil asetat, etil asetat ve etil laktat olmuştur. 4,00 pH değeriindeki fermente tarhana hamuru ile pasajlanan hamur gruplarının her iki fermentasyon sıcaklığına ait örneklerinde 2-feniletil asetat, izobütil asetat, etil pentanoat, etil 3-hekzenoat, etil oktanoat ve etil tetradekanoat bulunmadığı görülmüştür. Benzer şekilde 30°C sıcaklıkta fermente edilen hamurlarda da 2-feniletil asetat izobütil asetat etil pentanoat etil 3-hekzenoat etil dodekanoat etil tetradekanoat etil dekanat bulunmadığı tespit edilmiştir.

Çalışmamızda pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının aromatik profilinde terpenlerin en önde gelen temsilci uçucu bileşenler olduğu görülmüştür. Tüm hamur gruplarında toplamda 19 farklı çeşitte terpen, terpenoid veya terpen alkolü yapısında uçucu bileşen tespit edilmiştir (Çizege 4.13). Söz konusu uçucu bileşenlerin her hamur grubunda tespit edilen miktarları Ek 2’de verilmiştir. Fermentasyon sıcaklıkları ve pasajlamada kullanılan hamurun pH değeri hamurlardaki terpen ve terpenoid çeşitliliğini etkilememiştir.

Tarhanada uçucu bileşen profili, formülasyonunda yer alan ham madde çeşitliliğine, hamur mikrobiyotasındaki LAB ve mayaların fermentasyon esnasında ürettikleri ürünlere ve son olarak kurutma ve depolama esnasında gerçekleşen reaksiyonlara bağlı olarak şekillenir (Dağ ve İnanc, 2019; Arslan-Tontul ve ark., 2018; Özdemir ve ark, 2019; Göçmen ve ark., 2004). Bu çalışmada hamurlarda tespit edilen uçucu bileşen türleri, hamur formülasyonunda yer alan buğday unu, yoğurt, nane, soğan, domates, kırmızı biber, ekşi hamur gibi aromatik bileşence zengin ham maddeler ile ilgili literatürde yer alan çalışmalar da belirlenmiştir (Lange, 2015; Coleman ve ark, 2002; Cordero ve ark, 2012; Cheng, 2010; Feudo ve ark, 2011; Boelens ve ark, 1971; Carson ve Wong, 1961). Tarhana hamurlarımızda belirlenen

terpen ve terpenoid yapıda bileşenlerin büyük kısmı daha önce nane ve nane yağında tespit edilmiş uçucu bileşenlerdir. Hamurlarımızda bulunan monoterpen yapıda bileşenlerden karvon ve limonenin kaynağı hamur bileşiminde yer alan nane olabilir. Ham madde olarak kullanılan yoğurt zaten çok karakteristik tat ve lezzet veren aroma bileşiklerini içermektedir. Bugüne kadar tarhanada belirlenen aroma çeşitleri ile çalışmamızda yer alan hamur gruplarında belirlenen aroma maddeleri benzerdir (Dağ ve İnanç, 2019; Arslan-Tontul ve ark., 2018; Özdemir ve ark, 2019; Göçmen ve ark., 2004).





5. SONUÇ

Bu çalışma ile ilk kez geleneksel gıdamız olan tarhananın üretiminde uygulanan hamur fermantasyonunda ardışık pasajlama uygulaması gerçekleştirilmiştir. Pasajlamada bir önceki üretimin hamur fermantasyonunda baskın, stabil ve aktif mikrobiyotayı temsil eden fermente tarhana hamuru yeni hazırlanmış taze tarhana hamurlarında aşılama materyali olarak kullanılmıştır. Böylece tarhana hamur fermantasyonları pasajlamalar boyunca yüksek sayıda aktif, canlı ve stabil mikrobiyota ile sürdürülebilmektedir. Çalışma kapsamında pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında hamur fermantasyonunun optimizasyonu için gerekli olan fermantasyon sıcaklığı, pasajlamada kullanılacak fermente hamurun pH değeri ve pasajlama oranları araştırılmıştır. Bu amaçla pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarının pasajlamalar boyunca mikrobiyota değişimleri kültürden bağımsız yöntemler ile izlenmiş, son pasaj sayılarına ait hamurlarda metagenomik analizi ile tür bazında mikrobiyota tanımlaması yapılmıştır. Ayrıca hamur mikrobiyotasının pasajlar arasındaki stabilitesini ve metabolit üretim kararlılığını değerlendirebilmek için hamurlarda organik asit üretim miktarları ve uçucu bileşen çeşitliliği belirlenmiştir.

Çalışmanın sonunda, pasajlanarak fermente edilen tarhana hamur fermantasyonunda uygulanması gereken optimum parametreler; 25°C fermantasyon sıcaklığında 3,70±0,05 pH değerindeki fermente hamur ile herhangi bir oranda (%5, %10 veya %15) pasajlama şeklinde belirlenmiştir. Söz konusu sonucun belirlenmesinde hamurlara yapılan pasajlamalarda mikrobiyal stabilitenin en erken kazanılması, hamurların yeterli asitlik derecesinde bulunması, zengin uçucu bileşen çeşitliliği ve konsantrasyonuna sahip olması göz önünde bulundurulmuştur.

Bu çalışmada ulaşılan diğer sonuçlar ise şu şekilde sıralanabilir:

1. Ülkemiz geleneksel fermente gıda bakımından oldukça zengin bir kültüre sahiptir. Bu gıdalarımızın ticari üretiminde artış gözlenmektedir. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamuru fermantasyon

parametrelerinin optimizasyonu ile endüstriyel tarhana üretiminde aşılama materyali olarak kullanılabilecek özgün bir model sistem geliştirilmiştir. Tarhana üretiminde pasajlama tekniğinin kullanılması diğer fermente gıdaların da endüstriyel üretimi için örnek model oluşturmuştur.

2. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında erken pasaj sayıları arasında geçen süre dalgalanırken, ileri pasaj sayıları arasında geçen süre sabitlenmiş, tüm hamur gruplarında söz konusu fermantasyon süresi uygulanan farklı fermantasyon parametrelerine bağlı olarak değişmiştir. 25°C sıcaklıkta, $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente hamur ile pasajlanan tarhana hamurlarında son üç pasaj arası beklenen süre 4 gün olmuştur. Aynı sıcaklıkta $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente hamur ile pasajlanan tarhana hamurlarında son üç pasaj arası beklenen süre ise 1 gün olmuştur. 30°C sıcaklıkta, $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente hamur ile pasajlanan tarhana hamurlarında son üç pasaj arası beklenen süre 24 saat olurken; $4,00 \pm 0,05$ pH değerinde bu süre 18 ve 20 saat arasında değişen süreler olmuştur. Pasajlar arasında geçen sürenin sabitlenmesi, söz konusu parametreler uygulandığı takdirde, tarhana hamur fermantasyon süresinin standardize edilebildiğini göstermiştir.
3. Çalışma deseninde yer alan her iki fermantasyon sıcaklığında, $4,00 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente hamur ile pasajlanan tarhana hamurlarında asitlik dereceleri 10,00 değerinin altında kalmıştır. $3,70 \pm 0,05$ pH değerindeki fermente hamur ile pasajlanan tarhana hamurlarında ise minimum belirlenen asitlik derecesi 16,10 olmuştur. Dolayısıyla tarhana hamuru fermantasyonunda pasajlama yaparken kullanılacak hamur pH değerinin $4,00 \pm 0,05$ pH olması halinde pasaj sonunda üretilen hamurun asitlik derecesi TS2282’de belirtilen değerin altında kalmıştır.
4. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamur fermantasyonlarında pasaj sayısına bağlı olarak hamur mikrobiyotasının fermantasyon koşullarına adaptasyon kazandığı, özellikle son pasaj sayılarına ait hamurların

mikrobiyota çeşitliliğinin ardışık pasajlarda stabil ve benzer olduğu görülmüştür. Tarhana hamur fermentasyonunun optimizasyonun amaçlandığı bu çalışmada tüm hamur gruplarında ortak belirlenen mikrobiyotanın temsilcileri *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *Levilactobacillus brevis* ve *Companilactobacillus alimentarius* LAB türleri ve *Candida humilis*, *Kazacshtania bulderi* ve *Pichia kluyveri* maya türleri olmuştur. Bu çalışmada optimize edilen fermentasyon parametreleri kullanılarak fermente edilen tarhana hamurları endüstriyel tarhana üretiminde standardizasyonun sağlanması açısından aşılama materyali olarak kullanılabilir.

5. Organik asit üretim miktarları, pasajlanarak fermente edilen tarhana hamur gruplarında uygulanan fermentasyon parametrelerine bağlı olarak değişkenlik gösterse de, her grup için mikrobiyota açısından stabilitenin kazanıldığı ardışık pasajlara ait hamurlarda benzer bulunmuştur ($p<0,05$). Bu durum tarhana hamur fermentasyonunda pasajlama uygulamasının organik asit üretiminde de stabilizasyon sağlandığının bir diğer göstergesi olmuştur.
6. Aromatik özellikleri bakımından sevilerek tüketilen tarhananın uçucu bileşen çeşitliliğinin zengin olması arzu edilen bir durumdur. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında uçucu bileşen çeşitliliği ve toplam konsantrasyonu tüm hamur gruplarının son pasaj sayılarına ait örneklerde belirlenmiştir. Sonuçta uçucu bileşen çeşitliliği ve konsantrasyonu fermentasyon parametrelerine bağlı olarak değişmiş, özellikle fermentasyonda kullanılan farklı sıcaklık ve pH değerleri uçucu bileşen profilinin oluşmasında belirleyici olmuştur.
7. Endüstriyel tarhana üretiminde pasajlama tekniğinin kullanılması ile spontane flora ile fermentasyonu yapılan kesikli üretimlerde karşılaşılan değişken özelliklerde üretimler engellenebilecektir. Ayrıca pasajlamalar ile ulaşılabilecek kararlı hal koşullarında tarhana üretimi hızlandırılabilir.



KAYNAKÇA

- Aktaş, K., and Akın, N., 2020. Influence of Rice Bran and Corn Bran Addition on The Selected Properties of Tarhana, a Fermented Cereal Based Food Product. *Lwt-Food Science and Technology*, 129.
- Anonymous, 1981. TS 2282 Tarhana Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonymous, 2002. TS 2282 Tarhana Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonymous, 2004. TS 2242 Tarhana Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Arslan-Tontul, S., Mutlu, C., Candal, C., and Erbaş, M., 2018. Microbiological and Chemical Properties of Wet Tarhana Produced by Different Dairy Products. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 55(12):4770-4781.
- Atalay, B., 1991. Divan'ü Lügat-it-Türk. Endeks. Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu Türk Dil Kurumu Yayınları, Ankara, 524s.
- Axelsson, L., 2004. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. (Editörler: Salminen, S., Wright, A.V. and Ouwehand, A.) Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, 3.baskı, Marcel Dekker, New York, 67s.
- Baruzzi, F., Matarante, A., Morea, M., and Cocconcelli, P.S., 2002. Microbial Community Dynamics During The Scamorza Altamura Cheese Natural Fermentation. *Journal of Dairy Science*, 85(6):1390-1397.
- Barnett, J., Payne, R., and Yarrow, D., 2000. Yeasts: Characteristics and Identification. Cambridge Üniversitesi Basımevi, Cambridge, UK, 1150s.
- Bayrakçı, H.A., and Bilgiçli, N., 2015. Influence of Resistant Starches on Chemical and Functional Properties of Tarhana. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 52(8):5335-5340.
- Bellici, A.E., Karasu-Yalçın, S., Eryaşar-Örer, K., and Yalçın, E., 2019. MALDI-TOF/TOF Mass Spectrometry for Determination of Yeast Diversity in Traditional Cornelian Cherry Tarhana Produced With Different Cereal/Pseudocereal Flours. *Annals of Microbiology*, 69(6):613-625.

- Bessmeltseva, M., Viiard, E., Simm, J., Paalme, T., and Sarand, I., 2014. Evolution of Bacterial Consortia in Spontaneously Started Rye Sourdoughs During Two Months of Daily Propagation. *Plos One*, 9(4):95449.
- Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G. and Simov, Z., 1998. Production of Flavour Compounds by Yoghurt Starter Cultures. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 20:180-186.
- Beyene, E., Tesfaye, A., and Muleta, D., 2020. Molecular Identification and Performance Evaluation of Wild Yeasts From Different Ethiopian Fermented Products. *Journal of Food Science Technology*, 57:3436-3444.
- Bilgiçli, N., Elgün, A., and Türker, S., 2006. Effects of Various Phytase Sources on Phytic Acid Content, Mineral Extractability and Protein Digestability of Tarhana. *Food Chemistry*, 98:329-337.
- Bilgiçli, N., and İbanoğlu, Ş., 2007. Effect of Wheat Germ and Wheat Bran on The Fermentation Activity, Phytic Acid Content and Colour of Tarhana, A Wheat Flour–Yoghurt Mixture. *Journal of Food Engineering*, 78(2):681-686.
- Bilgiçli, N., 2009. Enrichment of Gluten-free Tarhana with Buckwheat Flour. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(4):1–8.
- Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D., and Webb, C., 2003. Cereal-based Fermented Foods and Beverages. *Food Research International*, 36: 527–543.
- Boelens, M., de Valois, P. J., Wobben, H. J. and van der Gen, A., 1971. Volatile Flavor Compounds from Onion. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 19:984.
- Boyacı-Gündüz, C.P, and Erten,H., 2020. Predominant Yeasts in The Sourdoughs Collected From Some Parts of Turkey. *Yeast*, 37(9-10):449-466.
- Bozoudi, D., Agathokleous, M., Anastasiou, I., Papademas, P., and Tsaltas, D., 2017. Microbiological Characteristics of Trachanas, a Traditional Fermented Dairy Product from Cyprus. *Journal of Food Quality*,1-6.

- Brandt, M. J., Hammes, W. P., and Ganzle, M. G., 2004. Effects of Process Parameters on Growth and Metabolism of *Lactobacillus sanfranciscensis* and *Candida humilis* During Rye Sourdough Fermentation. *European Food Research Technology*, 218(4):333-338.
- Cankurtaran, T., Ceylan, H., and Bilgiçli, N., 2020. Effect of Partial Replacement of Wheat Flour by Taro and *Jerusalem Artichoke* Flours on Chemical and Sensory Properties of Tarhana Soup. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10).
- Carpino, S., Rapisarda, T., Belvedere, G., Papademas, P., Neocleous, M., Scadt, I., Pasta, C., and Licitra, G., 2010. Effect of Dehydration by Sun or by Oven on Volatiles and Aroma Compounds of Trachanas. *Dairy Science Technology*, 90:715–727.
- Carson, J. F., and Wong, F. F., 1961. Onion Flavor and Odor, The Volatile Flavor Components of Onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 9(2):140–143.
- Cheng, H., 2010. Volatile Flavor Compounds in Yogurt: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50:938–950.
- Coda, R., Kianjam, M., Pontonio, E., Verni, M., Di Cagno, R., Katina, K., Rizzello, C. G., and Gobbetti, M., 2017. Sourdough-Type Propagation of Faba Bean Flour: Dynamics Of Microbial Consortia and Biochemical Implications. *International Journal of Food Microbiology*, 248:10-21.
- Coleman, W., Lawrence, B., and Cole, S., 2002. Semiquantitative Determination of Off-notes in Mint Oils by Solid-Phase Microextraction. *Journal of Chromatographic Science*, 40:133–139.
- Cordero, C., Zebelo, S., Gnavi, G., Griglione, A., Bicchi, C., Maffei, M., and Rubiolo, P., 2012. HS-SPME-GC×GC-qMS Volatile Metabolite Profiling of *Chrysolina* Herbacea Frass and *Mentha* spp. Leaves. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 402:1941–1952.

- Corsetti, A., 2013. Technology of Sourdough Fermentation and Sourdough Applications. Handbook on Sourdough Technology, New York, Springer, s.85-104.
- Corsetti, A., and Settanni, L., 2007. Lactobacilli in Sourdough Fermentation. Food Research International, 40:539-558.
- Coşkun, F., 2014. Tarhananın Tarihi ve Türkiye’de Tarhana Çeşitleri. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 9: 69-79.
- Çopur, U., Göçmen, D., Tamer, C.E., and Gürbüz, O., 2001. Tarhana Üretiminde Farklı Uygulamaların Ürün Kalitesine Etkisi. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 26(5):15-25.
- Dağ, Ü., and İnanç, A. L., 2019. Endüstriyel Yoğurt Kültürleri ile Üretilen Maraş Tarhanasındaki Uçucu Aroma Maddelerinin Belirlenmesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 6(1): 34-43.
- Dağışan L., 2012. Ekmek Mayası Üretimi. Gıda Biyoteknolojisi, (Editör: Aran, N.) Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., s.139-155.
- Dağlıoğlu, O., 2000. Tarhana as a Traditional Turkish Fermented Cereal Food, Its Recipe, Production and Composition. Nahrung, 44(2): 85-88.
- Deak, D., 2008. Handbook Of Food Spoilage Yeasts. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton – New York, s.221-245.
- Deak, T., Beuchat, L.R., 1996. Handbook of Food Spoilage Yeasts. CRC Press, Boca Raton, 210s.
- Demir, M. K., Kutlu, G., and Yılmaz, M.T., 2017. Steady, Dynamic and Structural Deformation (Three Interval Thixotropy Test) Characteristics of Gluten-Free Tarhana Soup Prepared with Different Concentrations of Quinoa Flour. Journal of Texture Studies, 48(2):95-102.
- De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., Harth, H., Huys, G., Daniel, H.M., and Weckx, S., 2014. Microbial Ecology of Sourdough Fermentations: Diverse or Uniform?. Food Microbiology, 37:11-29.

- De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., and Leroy, F., 2017. Microbial Ecology and Process Technology of Sourdough Fermentation. *Advances in Applied Microbiology*, 100:49-160.
- De Vuyst, L., and Neysens, P., 2005. The Sourdough Microflora: Biodiversity and Metabolic Interactions. *Trends in Food Science and Technology*, 16(13):43-56.
- De Vuyst, L.D., Schrijvers, V., Paramithiotis, S., Hoste, B., Vancanneyt, M., Swings, J., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., and Messens, W., 2002. The Biodiversity of Lactic Acid Bacteria in Greek Traditional Wheat Sourdoughs is Reflected in Both Composition and Metabolite Formation. *Applied Environmental Microbiology*, 68(12):6059–6069.
- Değirmencioğlu, N., Göçmen, D., Dağdelen, A., and Dağdelen, F., 2005. Influence of Tarhana Herb (*Echinophora Sibthorpiana*) on Fermentation of Tarhana, Turkish Traditional Fermented Food. *Food Technology and Biotechnology*, 43(2):175-179.
- Di Cagno, R., Pontonio, E., Buchin, S., De Angelis, M., Lattanzi, A., Valerio, F., Gobbetti, M., and Calasso, M., 2014. Diversity of the Lactic Acid Bacterium and Yeast Microbiota in the Switch from Firm- to Liquid-Sourdough Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(10):3161-3172.
- Erbaş, M., 2003. Yaş Tarhananın Üretimi ve Farklı Saklama Koşullarında Bileşimindeki Değişmeler. Doktora tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Erbaş, M., Certel, M., and Uslu, M. K., 2005. Microbiological and Chemical Properties of Tarhana During Fermentation and Storage as Wet Sensorial Properties of Tarhana Soup. *Lwt-Food Science and Technology*, 38:409-416.
- Ercolini, D., Hill, P.J., and Dodd, C.E.R., 2003. Bacterial Community Structure and Location in Stilton Cheese. *Applied Environmental Microbiology*, 69:3540–3548.

- Erkan, H., Çelik, S., Bilgi, B., and Köksel, H., 2006. a New Approach for The Utilization of Barley in Food Products: Barley Tarhana. *Food Chemistry*, 97:12–18.
- Esen, E., 2008. Farklı Gıda Maddelerinde Maya Kontaminasyonu Üzerine Bir Çalışma. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Esimek, H., 2010. Tarhananın Besinsel Lif İçeriği ve Antioksidatif Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Ferreira, A.D., and Viljoen, B.C., 2003. Yeasts as Adjunct Starters in Matured Cheddar Cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 86:131-140.
- Fernandez-Garcia, E., and McGregor, J., 1994. Determination of Organic Acids During The Fermentation and Cold Storage of Yoghurt. *Journal of Dairy Science*, 77(10):2934-2939.
- Feudo, G. L., Macchione, B., Naccarato, A., Sindona, G., and Tagarelli, A. 2011. The Volatile Fraction Profiling of Fresh Tomatoes and Triple Concentrate Tomato Pastes as Parameter for The Determination of Geographical Origin. *Food Research International*, 44(3):781–788.
- Fischer, S. G., and Lerman, L.S., 1983. DNA Fragments Differing by Single Base-Pair Substitutions are Separated in Denaturing Gradient Gels: Correspondence with Melting Theory. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 80(6):1579–1583.
- Flores, C.L., Rodriguez C., Petit, T., and Gancedo, C., 2000. Carbohydrate and Energy Yielding Metabolism in Non-Conventional Yeasts. *FEMS Microbiol. Review*, 24:507-529.
- Fujimoto, A., Ito, K., Narushima, N., and Miyamoto, T. 2019. Identification of Lactic Acid Bacteria and Yeasts, and Characterization of Food Components of Sourdoughs Used in Japanese Bakeries. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 127(5):575–581.

- Ganzle, M. G., Vermeulen, N., and Vogel, R. F., 2007. Carbohydrate, Peptide and Lipid Metabolism of Lactic Acid Bacteria in Sourdough. *Food Microbiology*, 24:128-138.
- Gatto, V., and Tortioni, S., 2004. Microbial Population Changes During Sourdough Fermentation Monitored by DGGE Analysis of 16S And 26S Rrna Gene Fragments. *Annals of Microbiology*, 54(1)31-42.
- Georgala, A.I.K., Tsakalidou, E., Kandarakis, I. and Kalantzopoulos, G., 1995. Flavour Production in Ewe's Milk and Ewe's Milk Yoghurt, by Single Strains And Combinations of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*. *Lait*, 75:271-283.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A., and Di Cagno, R., 2005. Biochemistry and Physiology of Sourdough Lactic Acid Bacteria. *Trends Food Science Technology*, 16:57-69.
- Göçmen, D., Gürbüz, O., Rouseff, R.L., Smoot, J.M., and Dağdelen A.F. 2004. Gas Chromatographic-Olfactometric Characterization of Aroma Active Compounds in Sun Dried and Vacuum Dried Tarhana. *European Food Research Technology*, 218:573-578.
- Gök, S.A., Ceyhun, A., and Yıldırım, F., 2017. Gastronomi Alanında Maraş Tarhanasının Değerlendirilmesi. *Aydın Gastronomi Dergisi*, 1(1):61-70.
- Groenewald, M., Daniel, H. M., Robert, V., Poot, G. A. and Smith, M., 2008. Polyphasic Re-Examination of *Debaryomyces hansenii* Strains and Reinstatement of *D. Hansenii*, *D. Fabryi* and *D. Subglobosus*. *Persoonia*, 21:17-27.
- Güler, M. B., 1993. Çukurova Bölgesi Tarhanalarının Üretim Yöntemleri, Özellikleri ve Tarhana Üretiminde Soya Unundan Yararlanma Olanakları Üzerine Bazı Araştırmalar. Yüksek lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Güler, M. B., and Konar, A., 1999. Çukurova Yöresi Tarhananın Üretim Yöntemleri ve Bileşimleri. *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(12):13-24.

- Gürsoy, O., and Kınık, Ö., 2002. Probiyotik Bir Maya: *Saccharomyces boulardii*. Gıda Teknolojisi, 6(3): 58-63.
- Hammes, W. P., Brandt, M. J., Francis, K. L., Rosenheim, J., Seitter, M. F. H., and Vogelmann, A., 2005. Microbial Ecology of Cereal Fermentations. Trends Food Science Technology, 16:4-11.
- Harth, H., Van Kerrebroeck, S., and De Vuyst, L., 2018. Impact of Process Conditions on The Microbial Community Dynamics and Metabolite Production Kinetics of Teff Sourdough Fermentations under Bakery and Laboratory Conditions. Food Science & Nutrition, 6(6):1438-1455.
- Harth, H., Van Kerrebroeck, S., and De Vuyst, L., 2016. Community Dynamics and Metabolite Target Analysis of Spontaneous, Backslopped Barley Sourdough Fermentations under Laboratory and Bakery Conditions. International Journal of Food Microbiology, 228:22-32.
- Herken, E. N., and Çon, A.H., 2012. Use of Different Lactic Starter Cultures in the Production of Tarhana. Journal of Food Processing and Preservation, 38(1):59-67.
- Hong, K., and Nielsen, J., 2012. Metabolic Engineering of *Saccharomyces cerevisiae*: A Key Cell Factory Platform For Future Biorefineries. Cellular and Molecular Life Sciences, 69:2671–2690.
- İbanoğlu, S., İbanoğlu, E., and Ainsworth, P. 1999. Effect of Different Ingredients on The Fermentation Activity in Tarhana. Food Chemistry, 64:103–106.
- Karagözlü, N., Ergönül, B., and Karagözlü, C., 2008. Microbiological Attributes of Instant Tarhana During Fermentation and Drying. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 14(6),535-541.
- Kesenkaş, H., and Akbulut, N., 2006. Mayaların Peynir Üretiminde Destek Starter Kültür Olarak Kullanımı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 43(2):165-174.
- Kılıç, S., 2008. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 255s.

- Kilci, A., and Göçmen, D., 2014. Phenolic Acid Composition, Antioxidant Activity and Phenolic Content of Tarhana Supplemented with Oat Flour. *Food Chemistry*, 151:547–553.
- Kleerebezem, M., Hols, P., Bernard, E., Rolain, T., Zhou, M., Siezen, R.J., and Bron, P. A., 2010. The Extracellular Biology of The Lactobacilli. *FEMS Microbiol Reviews*, 34(2):199-230.
- Koç, G.C., and Özçira, N., 2019. Chemical Composition, Functional, Powder, and Sensory Properties of Tarhana Enriched with Wheat Germ. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 56(12):5204-5213.
- Köse, E., and Çağındı, Ö., 2002. An Investigation into The Use of Different Flours in Tarhana. *International Journal of Food Science and Technology*, 37:219-222.
- Kumral, A., 2015. Nutritional, Chemical and Microbiological Changes During Fermentation of Tarhana Formulated with Different Flours. *Kumral Chemistry Central Journal*, 9:16.
- Lacumin, L., Cecchini, F., Manzano, M., Osualdini, M., Boscolo, D., Orlic, S. and Comi, G., 2009. Description of The Microflora of Sourdoughs by Culture-Dependent and Culture-Independent Methods. *Food Microbiology* 26:128–135.
- Lahtinen, S., Ouwehand, A., Salminen, S., and Wright, A., 2012. Lactic Acid Bacteria. *Microbiological and Functional Aspects*. 4. Baskı, CRC Basımevi.
- Lange, B. M., 2015. Biosynthesis and Biotechnology of High-Value P-Menthane Monoterpenes, Including Menthol, Carvone, and Limonene. (Editörler: J. Schrader and J. Bohlmann). *Biotechnology of Isoprenoids Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 148:319–353.
- Lenoir, J., 1984. The Surface Flora and its Role in the Ripening of Cheese. *International Dairy Federation Bulletin*, 171:3-20.
- Madigan, M. T. and Martinko, J. M., 2010. *Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi*. (Editör: Cumhuriyet Çökmüş), Palme yayıncılık, Ankara. 992s.

- Magala, M., Kohajdov, Z., and Karovicov, J., 2013. Preparation of Lactic Acid Bacteria Fermented Wheat-Yoghurt Mixtures. *Acta Scientiarum Polonorum-Technologia Alimentaria*, 12(3):295-302.
- Menezes, L.A.A., Sardaro, M.L.S., Duarte, R.T.D., Mazzon, R.R., Neviani, E., Gatti, M., and Lindner, J.D., 2020. Sourdough Bacterial Dynamics Revealed by Metagenomic Analysis in Brazil. *Food Microbiology*, 85.
- Meroth, C.B., Walter, J., Hertel, C., Brandt, M.J. and Hammes, W.P., 2003. Monitoring The Bacterial Population Dynamics in Sourdough Fermentation Processes by Using PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 475–482.
- Miambi, E., Guyot, J. P. and Ampe, F., 2003. Identification, Isolation and Quantification of Representative Bacteria from Fermented Cassava Dough Using an Integrated Approach of Culture-Dependent and Culture Independent Methods. *International Journal of Food Microbiology*, 82:111–120.
- Minervini, F., De Angelis, M., Di Cagno, R., and Gobbetti, M., 2014. Ecological Parameters Influencing Microbial Diversity and Stability of Traditional Sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 171:136-146.
- Moon, S. H., Chang, M., Kim, H.Y., and Chang, H. C., 2014. *Pichia kudriavzevii* is The Major Yeast Involved in Film-Formation, Off-Odor Production, and Texture-Softening in Over-Ripened Kimchi. *Food Science and Biotechnology* 23(2):489-497.
- Moran, C.A., Scholten, R.H.J., Tricarico, J.M., Brooks, P.H., and Verstegen, M.W.A., 2006. Fermentation of Wheat: Effects of Backslopping Different Proportions of Pre-Fermented Wheat on The Microbial and Chemical Composition. *Archives of Animal Nutrition*, 60(2):158-169.
- Nout, M. J. R., Kok, B., Vela, E., Nche, P.F., and Rombouts, F. M., 1996. Acceleration of The Fermentation of Kenkey, an Indigenous Fermented Maize Food of Ghana. *Food Research International*, 28(6):599-604.

- Nuobariene, L., Hansen, A.S., and Arneborg, N., 2012. Isolation and Identification of Phytase-Active Yeasts From Sourdoughs. *LWT-Food Science and Technology*, 48(48):190-196.
- O’Callaghan, Y.C., Shevade, A.V., Guinee, T.P., O’Connor, T.P., and O’Brien, N.M., 2019. Comparison of The Nutritional Composition of Experimental Fermented Milk: Wheat Bulgur Blends and Commercially Available Kishk and Tarhana Products. *Food Chemistry*, 278:110-118.
- Oguntoyinbo, F. A., and Dodd, C. E. R., 2010. Bacterial Dynamics During The Spontaneous Fermentation of Cassava Dough in Gari Production. *Food Control*, 21:306-312.
- Oshiro, M., Momoda, R., and Tanaka, M., 2019. Dense Tracking of The Dynamics of The Microbial Community and Chemicals Constituents in Spontaneous Wheat Sourdough During Two Months of Backslopping. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 128(2):170-176.
- Özçam, M., 2012. Cips Tarhananın Tekstürel ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- Özdemir, 2016. Uşak Tarhanasının Aroma Bileşimi ve Mikroflorası İle İlişkisinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Özdemir S., Göçmen D., and Yıldırım Kumral, A., 2007. A Traditional Turkish Fermented Cereal Food: Tarhana. *Food Reviews International*, 23:107–21.
- Özdemir, N., Şimşek, Ö., Temiz, H., and Çon, A.H., 2019. The Effect of Fermentation Time on The Volatile Aromatic Profile of Tarhana Dough. *Food Science and Technology International*, 25(3):212-222.
- Özel, S., Sabanoğlu, S., Çon, A.H., and Şimşek, Ö., 2015. Diversity and Stability of Yeast Species During the Fermentation of Tarhana. *Food Biotechnology*, 29(1):117-129.

- Özel, S., 2012. Tarhana Hamuru Fermentasyonunun Mikrobiyal Taksonomik Yapısının ve Populasyon Dinamiğinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Plessas S., Fisher A., Koureta K., Psarianos C., Nigam P., and Koutinas A.A., 2008. Application of *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *L. helveticus* for Sourdough Bread Making. Food Chemistry, 106:985-990.
- Pitcher, D.G., Saunders, N.A., and Owen, R.J., 1989. Rapid Extraction of Bacterial Genomic DNA with Guanidium Thiocyanate. Letters in Applied Microbiology, 8(4):151-156.
- Raimondi, S., Amaretti, A., Rossi, M., and Fall, P.A., 2017. Evolution of Microbial Community and Chemical Properties of a Sourdough During The Production of Colomba , an Italian Sweet Leavened Baked Product. LWT-Food Science and Technology, 86:31-39.
- Robert, H., Gabriel, V., and Fontagné-Faucher, C., 2009. Biodiversity of Lactic Acid Bacteria in French Wheat Sourdough as Determined by Molecular Characterization Using Species-Specific PCR. International Journal of Food Microbiology, 135:53-59.
- Rodriguez, L.R., Pingitore, E.V., Rollan, G., Martos, G., Saavedra, L., Fontana, C., Hebert, E.M., and Vignolo, G., 2016. Biodiversity and Technological Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated From Spontaneously Fermented Amaranth Sourdough. Letters in Applied Microbiology, 63(2): 147-154.
- Sanchez, M. M., Delgado, T., Alonso, L. and Baltasayar, M., 2000. Phenotypic and Genetic Characterization of a Selected Set of *Lactococcus lactis* Strains Isolated from a Starter-Free Farmhouse Cheese. Food Microbiology, 17:449-460.
- Sandhu, G. S., Kline, B. C., Stockman, L. and Roberts, G. D., 1995. Molecular Probes for Diagnosis of Fungal Infections. Journal of Clinical Microbiology, 33(11):2913–2919.

- Saubade, F., Hemery, Y.M., Rochette, I., Guyot, J.P., and Humblot, C., 2018. Influence of Fermentation and Other Processing Steps on The Folate Content of a Traditional African Cereal-Based Fermented Food. *International Journal of Food Microbiology*, 266:79-86.
- Scheirlinck, I., Meulen, R. V., Schoor, A. V., Vancanneyt, M., Vuyst, L. D., Vandamme, P. and Huys, G., 2008. Taxonomic Structure and Stability of the Bacterial Community in Belgian Sourdough Ecosystems as Assessed by Culture and Population Fingerprinting. *Applied and Environmental Microbiology*, 2414–2423.
- Settanni, L., Tangüler, H., Moschetti, G., Reale, S., Gargano, V., and Erten, H., 2011. Evolution of Fermenting Microbiota in Tarhana Produced under Controlled Technological Conditions. *Food Microbiology*, 28(7):1367-1373.
- Shrivastava, N., and Ananthanarayan, L., 2015. Use of The Backslopping Method for Accelerated and Nutritionally Enriched İdli Fermentation. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 95(10):2081-2087.
- Siragusa, S., Di Cagno, R., Ercolini, D., Minervini, F., Gobbetti, M., and De Angelis, M., 2009. Taxonomic Structure and Monitoring of The Dominant Population of Lactic Acid Bacteria During Wheat Flour Sourdough Type I Propagation Using *Lactobacillus sanfranciscensis* Starters. *Applied and Environmental Microbiology* 75:1099-1109.
- Siyamoğlu, B., 1961. Türk Tarhanalarının Yapılışı ve Terkibi Üzerine Araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:44, Ege Üniversitesi Matbaası, 75 s.
- Soyuduru D., 2007. Fermantasyonla Etanol Üretiminde Etanol Veriminin Artırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Suzzi, G., Lanorte, M. T., Galagno, F., Andrighetto, C., Lombardi, A., Lanciotti, R. and Guerzoni, M.E., 2001. Proteolytic, Lipolytic and Molecular

- Characterization of *Yarrowia lipolytica* Isolated from Cheese. International Journal of Food Microbiology, 69:69-77.
- Şengün, İ.Y., Nielsen, D.S., and Karapınar, M. 2009. Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated From Tarhana, a Traditional Turkish Fermented Food. International Journal of Food Microbiology, 135(2):105-111.
- Şimşek, Ö., Özel, S., and Çon, A. H., 2017. Comparison of Lactic Acid Bacteria Diversity During The Fermentation of Tarhana Produced at Home and on a Commercial Scale. Food Science and Biotechnology, 26(1):181-187.
- Tamer, C.E., Kumral, A., Aşan, M., and Şahin, İ., 2007. Chemical Composition of Traditional Tarhana Having Different Formulation. Journal of Food Processing and Preservation, 31:116-126.
- Tamime, A.Y., and Robinson, R.K., 1999. Yoghurt: Science and Technology. 2. Baskı, CRC Basımevi, Boca Raton, FL.
- Tangüler, H., 2010. Şalgam Suyu Üretiminde Etkili Olan Laktik Asit Bakterilerinin Belirlenmesi ve Şalgam Suyu Üretim Tekniğinin Geliştirilmesi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Tarakçı, Z., Doğan, I. S., and Koca, A. F., 2004. A Traditional Fermented Turkish Soup, Tarhana Formulated with Corn Flour and Whey. International Journal of Food Science and Technology, 39:455–458.
- Tekgöl, Y., Koç, G., Erten, E.S., and Akdoğan, A., 2020. Determination of The Effect of Wheat Germ on The Mineral and Fatty Acid Composition and Aroma Compounds of Tarhana: a Traditional Fermented Cereal Food. Journal of Food Processing and Preservation, 45(2).
- Temiz, A., and Pirkul, T., 1990. Tarhana Fermentasyonunda Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler. Gıda, 15(2):119-126.
- Temiz, H., and Tarakçı, Z., 2017. Composition of Volatile Aromatic Compounds and Minerals of Tarhana Enriched with Cherry Laurel (*Laurocerasus officinalis*). Journal of Food Science and Technology-Mysore, 54(3):735-742.

- Tu, R. J., Wu, H. Y., Lock, Y. S. and Chen, M. J., 2010. Evaluation of Microbial Dynamics During The Ripening of a Traditional Taiwanese Naturally Fermented Ham. *Food Microbiology*, 27(4):460-467.
- Van der Meulen, R., Scheirlinck, I., Van Schoor, A., Huys, G., Vancanneyt, M., Vandamme, P., and De Vuyst, L., 2007. Population Dynamics and Metabolite Target Analysis of Lactic Acid Bacteria During Laboratory Fermentations of Wheat and Spelt Sourdoughs. *Applied Environmental Microbiology*, 73:4741-4750.
- Van Kerrebroeck, S., Casanova, F., Harth, H., and De Vuyst, L., 2016. A Low pH Does Not Determine The Community Dynamics of Spontaneously Developed Backslopped Liquid Wheat Sourdoughs But Does Influence Their Metabolite Kinetics. *International Journal of Food Microbiology*, 239:54-64.
- Vaughan-Martini, A., and Martini, A., 2011. *Saccharomyces* Meyen ex Reess (1870). (Editörler: Kurtzman, C.P., Fell, J.W., Boekhout, T.), *The Yeasts: A Taxonomic Study*, 5. Baskı, Elsevier, Amsterdam, s.733-746.
- Vasiee, A. R., Mortazavi, A., and Tabatabaei-yazdi, F., 2018. Detection, Identification and Phylogenetic Analysis of Lactic Acid Bacteria Isolated From Tarkhineh, Iranian Fermented Cereal Product, by Amplifying The 16S Rrna Gene With Universal Primers and Differentiation Using Rep-PCR. *International Food Research Journal*, 25(1):423-432.
- Vera, A., Ly-Chatain, M.H., Rigobello, V., and Demarigny, Y., 2012. Description of a French Natural Wheat Sourdough over 10 Consecutive Days Focussing on The Lactobacilli Present in The Microbiota. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 101: 369-377.
- Vogelmann, S. A., and Hertel, C., 2011. Impact of Ecological Factors on The Stability of Microbial Associations in Sourdough Fermentation. *Food Microbiology*, 28:583-589.
- Vogelmann, S.A., Seitter, M., Singer, U., Brandt, M.J. and Hertel, C., 2009. Adaptability of Lactic Acid Bacteria and Yeasts to Sourdoughs Prepared from

- Cereals, Pseudocereals and Cassava and Use of Competitive Strains as Starters. *International Journal of Food Microbiology*, 130:205–212.
- Vrancken, G., De Vuyst, L., Van der Meulen, R., Huys, G., Vandamme, P., Daniel, H. M., 2010. Yeast Species Composition Differs Between Artisan Bakery and Spontaneous Laboratory Sourdoughs. *FEMS Yeast Research*, 10:471-481.
- Vrancken, G., Rimaux, T., Weckx, S., Leroy, F., and De Vuyst, L., 2011. Influence of Temperature and Backslopping Time on The Microbiota of a Type I Propagated Laboratory Wheat Sourdough Fermentation. *Applied Environmental Microbiology*, 77:2716-2726.
- Weckx, S., Van der Meulen, R., Allemeersch, J., Huys, G., Vandamme, P., Van Hummelen, P., and De Vuyst, L., 2010. Community Dynamics of Sourdough Fermentations as Revealed by Their Metatranscriptome. *Applied Environmental Microbiology*, 76:5402-5408.
- Wood, B.J.B, and Holzappel, W.H.N., 1995. The Genera of Lactic Acid Bacteria. 2. Baskı, Blackie Academic and Professional, s555.
- Wyder, M.T., Bosset, J.O., Casey, M.G., Isolini, D., and Sollberger, H., 2011. Influence of Two Different Propionibacterial Cultures on The Characteristics of Swiss-Type Cheese with Regard to Aspartate Metabolism. *Milchwissenschaft*, 56(2):78-81.
- Yazıcı, G., 2016. Uşak Tarhanasının Organik Asit İçeriğinin ve Laktik Asit Bakteri Çeşitliliği ile İlişisinin Belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Yurddaş, Ö., 2003. İstant Tarhana Çorbası Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Yücecan, S., Kayakırmaz, K., Başoğlu, S., and Tayfur, M., 1988. Tarhananın Besin Değeri Üzerine Bir Araştırma. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 45(1):47-51.

- Zhang, G., Sadiq, F. A., Zhu, L., Liu, T., Yang, H., and Wang, X., 2015. Investigation of Microbial Communities of Chinese Sourdoughs Using Culture-Dependent and DGGE Approaches. *Journal of Food Science*, 80:2535–2542.
- Zheng, J.S., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C.M.A.P., Harris, H.M.B., Mattarelli, P., O'Toole, P.W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G.E., Ganzle, M.G., and Lebeer, S., 2020. A Taxonomic Note on The Genus *Lactobacillus*: Description of 23 Novel Genera, Emended Description of The Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and Union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4): 2782-28



ÖZGEÇMİŞ

İstanbul, Üsküdar’da doğdu. İlkokul ve ortaokul eğitimini İstanbul’da Muhsin Adil Binal İlköğretim Okulu’nda tamamladı. 2003-2007 seneleri arasında İstanbul Kadir Has Anadolu Lisesi’nde okudu. Lisans eğitimini 2007-2011 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği’nde, yüksek lisans eğitimini ise 2011-2014 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı’nda tamamladı. 10.12.2014’de Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Bahçe Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü’ne öğretim görevlisi olarak atandı. 09.02.2015’de Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı’nda doktora eğitimi almaya başladı. 20.03.2017’de Pamukkale Üniversitesi Çal Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü’ne öğretim görevlisi olarak atandı. Halen görevine Denizli’de devam etmektedir. Evli ve bir çocuk annesidir.





EKLER



Ek 1. Tüm gruplara ait hamurlarda belirlenen laktik ve asetik asit konsantrasyonları (mg/100g)

		<u>Laktik Asit</u>			<u>Asetik Asit</u>		
	<u>Pasaj sayısı</u>	<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>	<u>%5</u>	<u>%10</u>	<u>%15</u>
25°C 3,70 pH	6.p sonu	961,89±123,45 ^{Ba}	1106,20±101,15 ^{Aa}	945,22±99,95 ^{Ba}	90,01±11,12 ^{Aa}	82,14±25,98 ^{Ba}	91,10±18,18 ^{Aa}
	7.p sonu	973,90±115,51 ^{Ba}	1054,39±55,55 ^{Ab}	927,91±100,10 ^{Ba}	81,24±15,15 ^{Bb}	81,10±15,16 ^{Ba}	94,02±15,16 ^{Aa}
25°C 4,00 pH	6.p sonu		431,40±89,76 ^{Aa}	454,01±33,32 ^{Aa}	128,25±25,25 ^{Aa}	123,21±15,98 ^{Aa}	115,62±17,14 ^{Bb}
		429,33±99,25 ^{Aa}					
	7.p sonu	424,55±85,76 ^{Aa}	440,05±25,56 ^{Aa}	473,77±25,25 ^{Aa}	123,25±23,22 ^{Ab}	123,02±20,21 ^{Aa}	123,31±15,00 ^{Aa}
30°C 3,70 pH	6.p sonu	871,06±55,46 ^{Aa}	818,86±45,46 ^{Bb}	908,53±55,54 ^{Aa}	95,02±15,14 ^{Ab}	95,12±15,19 ^{Aa}	85,12±16,98 ^{Ba}
	7.p sonu	894,99±69,75 ^{Aa}	880,36±33,32 ^{Aa}	806,59±84,84 ^{Bb}	101,25±30,21 ^{Aa}	88,14±10,19 ^{Bb}	84,65±12,12 ^{Ba}
30°C 4,00 pH	6.p sonu	553,27±25,25 ^{Ab}	463,44±12,15 ^{Bb}	441,47±15,16 ^{Bb}	121,01±15,19 ^{Aa}	125,65±18,17 ^{Aa}	119,25±15,19 ^{Aa}
	7.p sonu	601,55±85,12 ^{Aa}	568,73±25,25 ^{Aa}	561,24±85,80 ^{Aa}	115,26±25,89 ^{Bb}	121,32±25,21 ^{Aa}	121,21±19,17 ^{Aa}

Büyük harfler her grubun kendi içinde aynı pasaj sayısına ait farklı oranlarda pasajlanan hamurları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Küçük harfler ise her grubun kendi arasında aynı oranlarda pasajlanan hamurların farklı pasaj sayıları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmayı ifade eder. Her grup için ayrı ayrı değerlendirildiğinde aynı satırda büyük harflerle (A, B, C....) ve aynı sütunda küçük harflerle (a, b, c,....) gösterilen değerler birbirinden farklıdır (p<0,05).

Ek 2. Pasajlanarak fermente edilen tarhana hamurlarında belirlenen uçucu bileşenlerin isimleri ve konsantrasyonları (µg/kg)

	25°C, 3,70 pH grubu			25°C, 4,00 pH grubu			30°C, 3,70 pH grubu			30°C, 4,00 pH grubu		
	%5	%10	%15	%5	%10	%15	%5	%10	%15	%5	%10	%15
Aldehitler												
Asetaldehit	179,36	104,20	85,24	TE	TE	TE	TE	45,74	81,72	14,22	22,22	19,87
benzaldehit	2114,84	837,62	616,38	395,25	577,05	384,93	384,93	996,72	1234,29	209,26	324,36	240,46
hekzenal	272,06	69,50	55,23	224,47	158,52	108,61	108,61	279,76	307,72	121,38	226,49	193,71
2-hekzenal, (E)-	44,20	137,18	35,74	294,45	TE	TE	TE	263,08	316,45	86,56	120,73	55,61
2,4-dekadienal, (E,E)-	TE	TE	TE	335,20	151,86	103,46	103,46	285,07	TE	86,51	204,96	99,02
3-metilbütanal	491,17	69,02	84,72	61,05	78,35	55,11	55,11	117,29	108,20	34,97	45,22	41,04
2-heptenal, (Z)-	TE	TE	TE	112,63	84,11	168,22	168,22	262,18	325,23	99,72	166,85	144,74
2-oktenal	TE	TE	TE	445,05	113,16	226,33	226,33	TE	TE	174,05	312,48	257,41
2-nonenal, (E)-	TE	TE	TE	304,51	214,99	150,53	150,53	326,48	351,75	74,25	96,33	91,09
Toplam (µg/kg)	3101,63	1217,52	877,31	2172,61	1378,04	1197,19	1197,19	2576,32	2725,36	900,92	1519,64	1142,95
Diğer bileşenler												
n-hekzanoik asit	3412,86	1908,68	1493,63	3257,84	2749,24	1915,10	1915,10	2757,67	4147,39	493,71	692,04	619,19
Asetik asit	18238,3											
	8	6767,26	4320,10	4510,38	5425,85	3728,47	3728,47	7294,53	9839,18	1919,02	2675,83	2547,51

2-pentilfuran	177,13	TE	TE	109,01	102,75	66,95	66,95	220,78	178,80	60,88	88,16	85,43
6-Metil-5-hepten-2-on	429,35	211,84	169,51	236,24	396,74	283,84	283,84	614,00	743,17	117,07	139,38	132,17
Toplam (µg/kg)	5257,72	5072,93	5101,28	8113,47	7674,58	5994,36	5994,36	6883,12	9908,54	3590,68	4595,41	4384,3

	25°C, 3,70 pH grubu			25°C, 4,00 pH grubu			30°C, 3,70 pH grubu			30°C, 4,00 pH grubu		
	%5	%10	%15	%5	%5	%10	%15	%5	%5	%10	%15	%5
Alkoller												
Etil alkol	61765,78	37436,51	27905,91	1384,79	1444,21	1069,48	1069,48	5984,61	7696,54	1019,26	1594,17	1335,60
Benzenmetanol	TE	TE	451,47	93,92	TE	TE	TE	TE	293,34	TE	TE	TE
Benzil alkol	10806,12	7779,94	6443,43	322,59	377,41	252,49	252,49	821,33	1532,98	100,40	137,75	133,81
1-pentanol	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	211,86	54,57	55,27	84,09
İzobütil alkol	346,37	252,22	224,20	TE	TE	TE	TE	55,55	77,06	TE	TE	TE
Hekzanol	1008,35	393,925	334,07	619,345	642,27	448,805	448,805	1018,615	1247,88	382,225	566,685	498,375
Toplam (µg/kg)	15326,62	17862,6	16907,61	2720,645	2915,36	2040,925	5816,225	7880,105	10554,46	1556,455	2353,875	2051,875
Fenoller												
3-alil-6-metoksifenol	TE	1804,07	1843,52	TE	TE	TE	TE	754,96	1197,32	199,13	TE	TE

<i>p</i> -Etilguaiacol	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	231,35	330,29	107,93	188,00	169,19
5-metil-2-propilfenol	TE	TE	TE	136,85	105,87	TE	TE	267,97	TE	51,02	198,31	157,21
Toplam (µg/kg)	1805,25	1804,07	1843,52	136,85	105,87	125,15	1175,4	986,31	1527,61	158,95	386,31	326,4
Esterler												
Metil oktanoat	TE	TE	TE	211,77	143,58	90,66	90,66	129,93	139,13	7,64	TE	TE
Metil asetat	432,07	101,22	114,58	110,25	293,23	212,55	212,55	501,27	409,81	140,66	220,54	97,28
Metil hekzanoat	63,99	TE	26,01	134,14	92,92	63,96	63,96	74,12	TE	25,26	33,21	34,38
2-feniletıl asetat	900,32	839,62	724,79	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
İzobütıl asetat	121,09	100,25	142,41	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
1-Hekzil asetat	347,81	87,73	79,53	71,15	100,05	67,62	67,62	495,01	572,04	92,71	129,51	114,47
3-oktanıl asetat	105,77	26,2	51,74	19,54	45,35	TE	TE	TE	TE	34,38	45,51	40,33
Etil asetat	618,84	892,49	970,31	641,79	995,14	712,08	712,08	378,52	604,97	499,7	656,66	591,49
Etil pentanoat	203,51	59,18	90,13	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Etil 3-hekzenoat	135,38	45,39	89,05	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Etil oktanoat	8701,47	9037,92	8072,08	TE	TE	TE	3002,5	3112,79	4171,59	TE	TE	TE
Etil dodekanoat	5248,93	4305,8	4055,35	208,26	226,15	216,14	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Etil tetradekanoat	4327,29	3296,42	3160,64	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Etil dekanat	1560,55	1559,3	1521,14	1541,83	1211,1	769,43	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Etil laktat	7553,38	5588,64	3881,33	65,92	101,47	79,93	79,93	583,14	689,67	94,39	128,73	108,78

Toplam (µg/kg)	30320,4	25940,1 6	22979,0 9	3004,65	3208,99	2212,37	4229,3	5274,78	6587,21	894,74	1214,16	986,73
Terpenler												
<i>sabinen</i>	25,25	85,25	90,15	103,03	85,33	46,51	46,51	55,84	64,92	39,02	49,7	48,35
<i>beta mirsen</i>	171,31	199,65	122,3	307,32	303,16	150,14	150,14	240,02	364,11	141,41	154,75	178,67
<i>4-terpineol</i>	406,7	690,12	597,97	864,82	920,94	689,41	689,41	463,42	660,52	823,55	651,41	574,19
<i>alfa-terpineol</i>	596,23	833,24	677,42	482,15	485,18	363,06	363,06	820,08	426,98	209,18	308,1	269,18
<i>d-limonen</i>	413,07	180,52	193,17	531,13	507,63	969,65	989,65	286,92	291,12	152,04	207,11	199,43
<i>1,8-sineol</i>	903,51	374,83	349,63	725,87	710,93	496,7	486,7	883,33	920,9	932,57	518,03	460,69
<i>p-simen</i>	95,37	23,88	27,2	73,71	62,82	35,23	35,23	45,54	45,58	23,81	39,07	42,72
<i>cis-dihidrokarveol</i>	1603,87	3403,61	2858,38	580,7	319,92	1639,85	1639,85	1430,44	1597,92	1921,61	1589,66	1415,06
<i>trans-karveol</i>	4504,03	3939,1	3059,09	1738,16	1726,25	1272,5	1272,5	2706,52	3441,8	551,59	846,14	746,11
<i>cis-karveol</i>	3430,65	1866,73	1572,59	997,52	916,89	687,49	687,49	1914,38	2490,19	403,2	624,63	554,02
<i>beta bourbonen</i>	2342,21	2311,75	2259,54	890,62	1134,64	665,95	665,95	1571,18	2054,62	955,21	863,61	608,91
<i>linalool</i>	608,88	281,29	262,84	581,72	562,5	412,06	412,06	943,26	1085,96	697,4	454,43	400,6
<i>beta elemen</i>	1870,13	858,32	974,09	553,76	635,91	834,66	334,66	729,2	916,79	987,62	403,81	304,94
<i>neodihidrokarveol</i>	1752,85	2220,73	2659,78	948,83	1461,27	1913,35	1113,35	2303,63	2433,43	1091,09	1809,23	1539,54
<i>trans-karyofilen</i>	420,98	700,78	789,06	739,21	682,84	355,81	355,81	485,81	822,9	1023,19	439,9	810,74
<i>cis-dihidrokarvon</i>	502,83	298,74	1110,43	1130,7	657,67	461,15	461,15	1492,36	1852,3	194,27	268,6	301,19
<i>alfa humulen</i>	250,25	245,05	242,24	163,01	122,74	245,47	245,47	536,46	135,15	138,34	113,76	139,7

d-karvon	1294,88	1083,36	3924,83	1111,67	1048,27	1527,67	2276,67	1027,99	1097,05	3748,06	5473,3	5119,78
kalamenen	1014,54	456,13	406,38	78,99	209,2	124,9	124,9	259,88	326,05	45,35	104,41	57,58
Toplam (µg/kg)	22207,5	20053,0	22177,0	12602,9	12554,0	12891,5	12350,5	18196,2	21028,2	14078,5	14919,6	13771,4
	4	8	9	2	9	6	6	6	9	1	5	