

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**TRABZON EKMEĞİ EKŞİHAMURUNDAN GLUTEN VE FİTAT
PARÇALAYAN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU,
İDENTİFİKASYONU VE ENDÜSTRİYEL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Merve YURTTAŞ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**SAMSUN
2018**

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Merve YURTTAŞ tarafından hazırlanan “Trabzon Ekmeği Ekşihamurundan Gluten ve Fitat Parçalayan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Endüstriyel Özelliklerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 07/02/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri

Başkan Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Münir Anıl
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Muharrem CERTEL
Akdeniz Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Enes DERTLİ
Bayburt Üniversitesi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım. / /2018

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

Merve YURTTAŞ

ÖZET

Doktora Tezi

TRABZON EKMEĞİ EKŞİHAMURUNDAN GLUTEN VE FİTAT PARÇALAYAN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU, İDENTİFİKASYONU VE ENDÜSTRİYEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Merve YURTTAŞ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

Ekşihamur fermantasyonunda rol alan laktik asit bakterileri ekmeğin tat, aroma tekstür özelliklerini geliştirmekte ve raf ömrünü uzatmaktadır. Ayrıca fermantasyon süresi uzadıkça, fitik asit parçalanması artarak ekmeğin besin değeri artmaktadır. Bu çalışmada Trabzon ekmeği ekşihamuru'nun içerdiği LAB florası tanımlanmış, LAB türlerinin gluten parçalama, fitaz aktiviteleri, endüstriyel özellikleri ve ekşihamur üretimindeki stabiliteleri belirlenmiştir. Ekşihamur örneklerinin pH değeri 3.30-5.43, asitlik derecesi ve toplam asitlik sırasıyla 2.50-20.50 ve % 0.23-1.79 arasında değişmiştir. Ekşihamur örneklerinin kurumadde ve kül oranları da sırasıyla % 49.05-65.91 ve % 0.34-0.95 arasında değişmiştir. Ekşihamur örneklerinin LAB sayısı 3.65-8.97 log KOB/g, TAMB sayısı 4.19-7.20 log KOB/g, maya sayısı 4.17-7.52 log KOB/g arasında belirlenmiştir.

Ekşihamur örneklerinden izole edilen 1028 LAB izolatının (GTG)₅ bant profillerine göre sınıflandırıldığı grupları temsilen seçilen 125 izolat, *Lb. sanfranciscensis* (34), *Weissella cibaria* (28), *Leu. pseudomesenteroides* (10), *P. pentosaceus* (8), *Lb. paralimentarius* (5), *Lb. paracasei* subsp. *tolerans* (6), *Leu. citreum* (4), *Lb. curvatus* (5), *Lb. pentosus* (3), *Lc. lactis* subsp. *lactis* (3), *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (2), *Lb. pontis* (3), *W. viridescens* (2), *W. confusa* (2), *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* (2), *Lb. pantheris* (2), *W. paramesenteroides* (2), *W. minor* (1), *W. uvarum* (1), *Lb. graminis* (1) ve *Lb. fermentum* (1) olarak tanımlanmıştır.

Ekşihamur LAB izolatlarından *W. cibaria* Y404, *Lb. paracasei* subsp. *tolerans* Y1502, *W. viridescens* Y2804, *Lb. sanfranciscensis* Y219, *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* Y601, *Lb. pentosus* Y2305, *P. pentosaceus* Y2613, *P. pentosaceus* Y2814, *Lb. sanfranciscensis* 2114, *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* 2704, *Lb. pentosus* 2705 ve *Leu. pseudomesenteroides* 2605 asit üretim hızı, kapasitesi ve diğer bazı endüstriyel özellikleri açısından starter olabilecek özelliklere sahip bulunmuşlardır. Bu izolatların ekşihamur üretiminde uygulanan back-slopping işleminin asit üretim hızları ve kapasiteleri üzerine olumsuz etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Şubat 2018, 152 sayfa

Anahtar Kelimeler: Laktik asit bakterisi, Trabzon ekmeği ekşihamuru, Gluten

ABSTRACT

Doctoral Dissertation

ISOLATION, IDENTIFICATION AND DETERMINATION INDUSTRIAL FEATURES OF DEGRADING GLUTEN AND PHYTATE LACTIC ACID BACTERIAS FROM TRABZON BREAD SOURDOUGH

Merve YURTTAŞ

Ondokuz Mayıs University
Graduate School of Naturel and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

Lactic acid bacterias, which play a role in sourdough fermentation, improve taste, aroma and texture properties and extend shelf life of bread. Also as the fermentation time longer, nutritional value of bread is increased by decomposing phytic acid. In this study LAB flora is identified in Trabzon bread sourdough, gluten degradation, phytase activities, industrial properties and stabilisation in sourdough production of LAB species. The pH values, acidity degree, and total acidity of sourdough samples were 3.30-5.43 pH, 2.50-20.50, and 0.23-1.79 %, respectively. Dry matter and ash ratios of sourdough samples varied between 49.05-65.91% and 0.34-0.95% respectively. LAB values were 3.65-8.97 log cfu/g, TAMB values were 4.19-7.20 log cfu/g, yeast-mold values were 4.17-7.52 log cfu/g.

A total number of 1028 LAB isolates from these sourdough samples were selected to represent of groups classified according to (GTG)₅ line profiles 125 isolates were defined as *Lb. sanfranciscensis* (34), *W. cibaria* (28), *Leu. pseudomesenteroides* (10), *P. pentosaceus* (8), *Lb. paralimentarius* (5), *Lb. paracasei* subsp. *tolerans* (6), *Leu. citreum* (4), *Lb. curvatus* (5), *Lb. pentosus* (3), *Lc. lactis* subsp. *lactis* (3), *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (2), *Lb. pontis* (3), *W. viridescens* (2), *W. confusa* (2), *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* (2), *Lb. pantheris* (2), *W. paramesenteroides* (2), *W. minor* (1), *W. uvarum* (1), *Lb. graminis* (1) and *Lb. fermentum* (1).

W. cibaria Y404, *Lb. paracasei* subsp. *tolerans* Y1502, *W. viridescens* Y2804, *Lb. sanfranciscensis* Y219, *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* Y601, *Lb. pentosus* Y2305, *P. pentosaceus* Y2613, *P. pentosaceus* Y2814, *Lb. sanfranciscensis* 2114, *Lb. plantarum* subsp. *plantarum* 2704, *Lb. pentosus* 2705 and *Leu. pseudomesenteroides* 2605 isolates were selected as a starter based on the acid production speed and capacity and other industrial features. It has been determined that the back-slopping process apply in sourdough production, has no negative impact on acid production speed and capacity of these isolates.

February 2018, 152 pages

Key Words: Lactic acid bacteria, Trabzon bread sourdough, Gluten

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında emeğini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli Hocam Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON'a, teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Gerek laboratuvar desteği gerekse teknik bilgi konusunda her zaman yardımcı olan Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Nevzat ŞAHİN'e, teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarından dolayı gıda mühendisliği ve biyoloji bölümü lisansüstü öğrencilerine teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında maddi ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim aileme, özellikle annem ve babama teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışması, 114O450 proje no'lu ve "Ekşihamur Laktik Asit Bakteri Florasının Belirlenmesi ve Gluten ile Fitat Parçalayan Laktik Starter Kültür Seçimi" adlı proje ile TÜBİTAK 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı tarafından desteklenmiştir.

Şubat 2018, Samsun

Merve YURTTAŞ

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	IX
SİMGELER	IX
KISALTMALAR	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XI
ÇİZELGELER DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
3. MATERYAL VE YÖNTEM	12
3.1. Materyal	12
3.2. Yöntem.....	13
3.2.1. Ekşihamur örneklerinin mikrobiyolojik ve kimyasal parametrelerinin belirlenmesi	13
3.2.2. pH ve Toplam asitlik.....	13
3.2.3. Asit derecesi.....	14
3.2.4. Kurumadde oranı	14
3.2.5. Kül oranı	14
3.2.6. Ekşihamur örneklerinden laktik asit bakteri (LAB) izolasyonu	14
3.2.7. İzolatların (GTG) ₅ parmak izi analizi	15
3.2.8. İzolatların 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi ile tanımlanması	15
3.2.9. İzolatların 16S rRNA filogenisi	17
3.2.10. İzolatların <i>pheS</i> DNA dizi analizi ile tanımlanması	17
3.2.11. DNA-DNA Hibridizasyonu	18
3.2.12. Ekşihamur laktik asit bakterilerinin gluten parçalama yeteneğinin belirlenmesi.....	20
3.2.13. Gluten parçalamadan sorumlu enzimin hücrede yerleşim yerinin belirlenmesi.....	21
3.2.14. Fitik asit parçalama yeteneğinin belirlenmesi	22
3.2.15. Gluten parçalayan laktik asit bakterilerinin gerçek ekşihamur sisteminde proteolitik etkisi	22
3.2.16. Fitat parçalayan laktik asit bakterilerinin gerçek ekşihamur sisteminde fitik asit miktarına etkisi	24
3.2.17. Ekşihamur laktik asit bakterilerinin bazı endüstriyel özellikleri	24
3.2.18. Seçilmiş laktik asit bakterilerinin back-slopping işleminde stabilitesi	26
3.2.19. İstatistiksel Analiz.....	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	28
4.1. Ekşihamur Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri	28
4.2. Ekşihamur Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri	34
4.3. İzolatların (GTG) ₅ Parmak İzi Analizi.....	39
4.3.1. Kış dönemi izolatların (GTG) ₅ parmak-izi analizi	39
4.3.2. Yaz dönemi izolatların (GTG) ₅ parmak-izi analizi.....	42
4.4. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının 16S rDNA Dizi Analizi ile Tanımlanması.....	46

4.5. 16S rRNA Filogenisi, Benzerlik Değerleri ve Nükleotit Sayısı	53
4.5.1. <i>Weissella</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA filogenisi, benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı	53
4.5.2. <i>Pediococcus</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA filogenisi, benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı	56
4.5.3. <i>Lactobacillus</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA filogenisi, benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı	57
4.5.4. <i>Leuconostoc</i> cinsine ait izolatların 16S rDNA filogenisi, benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı	59
4.5.5. <i>Lactococcus</i> cinsine ait izolatların 16S rRNA filogenisi, benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı	61
4.6. <i>Weissella</i> minor 1704 izolatının DNA-DNA Hibridizasyonu	61
4.7. Ekşihamur LAB'lerinin Gluten Parçalama Yeteneğinin Belirlenmesi	62
4.7.1. Gluten parçalama yeteneğinden sorumlu enzimin hücrede yerleşim yerinin belirlenmesi	62
4.8. Ekşihamur LAB'lerinin Fitik Asit Parçalama Yeteneğinin Belirlenmesi....	63
4.9. Gluten Parçalayan Laktik Asit Bakterilerinin Gerçek Ekşihamur Sisteminde Proteolitik Etkisi.....	64
4.10. Fitat Parçalayan Laktik Asit Bakterilerinin Gerçek Ekşihamur Sisteminde Fitik Asit Miktarına Etkisi	66
4.11. Ekşihamur Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Aktivite Varlığı.....	68
4.12. Ekşihamur Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Endüstriyel Özellikleri	71
4.12.1. Asit üretim yetenekleri	71
4.12.2. Farklı pH, tuz, alkol ve safra tuzu konsantrasyonlarında gelişme yetenekleri.....	76
4.13. Seçilmiş Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Endüstriyel Özellikleri	81
4.13.1. Farklı sıcaklıklarda gelişme ve glukozdan gaz üretme yetenekleri	81
4.13.2. Back-slopping işleminde stabilizasyon.....	83
5. SONUÇ	86
KAYNAKLAR	91
EKLER.....	105
EK 1 KIŞ DÖNEMİ FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZ TABLOSU... 106	
EK 2 YAZ DÖNEMİ FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZ TABLOSU... 107	
EK 3 KIŞ DÖNEMİ MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZİ TABLOSU . 108	
EK 4 YAZ DÖNEMİ MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZİ TABLOSU . 109	
EK 5 KIŞ DÖNEMİ LAB İZOLATLARININ (GTG) ₅ BANT PROFİLLERİ VE BENZERLİKLERİNİ GÖSTEREN DENDOGRAM	110
EK 6 YAZ DÖNEMİ LAB İZOLATLARININ (GTG) ₅ BANT PROFİLLERİ VE BENZERLİKLERİNİ GÖSTEREN DENDOGRAM.....	120
EK 7 GEN BANK DİZİ ANALİZLERİ.....	130
EK 8 <i>LACTOBACILLUS</i> CİNSİ EKŞİHAMUR İZOLATLARININ 16S rRNA GEN DİZİ ANALİZİNE BAĞLI BENZERLİK DEĞERLERİ VE NÜKLEOTİT SAYISI.....	131
EK 9 EKŞİHAMURLARIN pH ANALİZ SONUÇLARI.....	138
ÖZGEÇMİŞ	139

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

M	Molar
mM	Milimolar
μ M	Mikromolar
mg	Miligram
μ g	Mikrogram
ng	Nanogram
mL	Mililitre
μ L	Mikrolitre
μ m	Mikrometre
mA	Miliamper
V	Volt

KISALTMALAR

A	Adenin bazı
ATCC	Amerikan tip kültür koleksiyonu
Bç	Baz çifti
C	Sitozin bazı
Da	Dalton
ddH ₂ O	Deiyonize distile su
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotit trifosfat
DRBC	Dichloran rose bengal chloramphenicol
DSMZ	Alman kültür koleksiyonu
EDTA	Etilendiamin-Tetra-Asetik asit
G	Guanin bazı
HNO ₃	Nitrik asit
KCTC	Kore tip kültür koleksiyonu
kDa	Kilodalton
LAB	Laktik asit bakterisi
Lb	Laktobasillus

Lc	Laktokokus
Leu	Leukonostok
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
NRRLB	Amerikan zirai araştırma birimi kültür koleksiyonu
P	Pediokokus
PCA	Plate count agar
<i>pheS</i>	Fenil-S
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
rRNA	Ribozomal Ribonükleik asit
SDS-PAGE	Sodyum dodesil süfat poliakrilamid jel elektroforezi
sp	Tür
spp	Türler
Str	Streptokokus
subsp	alt tür
T	Timin bazı
TAMB	Toplam aerobik mezofilik bakteri
TBE	Tris borik asit EDTA
TE	Tris EDTA
Tris - HCl	Tris hidroklorik asit
tRNA	Taşıyıcı Ribonükleik asit
W	Weissella

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Ekşihamur üretim akış şeması.....	27
Şekil 4.1.	Yaz dönemi örneklerinden bazılarının %1.5'lik agaroz jelde 100V, 150 mA, 100 dakika elektroforez sonucunda elde edilen (GTG) ₅ parmak izi analizi sonuçları.....	42
Şekil 4.2.	Yaz dönemi örneklerinden bazılarının %1.5'lik agaroz jelde 30V, 50 mA, 8 saat elektroforez sonucunda elde edilen (GTG) ₅ parmak izi analizi sonuçları.....	42
Şekil 4.3.	Bazı kış ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen bölgesine ait PZR ürünlerinin %1.5'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü	46
Şekil 4.4.	Bazı yaz ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen bölgesine ait PZR ürünlerinin %1.5'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü	46
Şekil 4.5.	<i>Weissella</i> cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram.....	54
Şekil 4.6.	<i>Pediococcus</i> cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram	56
Şekil 4.7.	<i>Lactobacillus</i> cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram	58
Şekil 4.8.	<i>Leuconostoc</i> cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram	59
Şekil 4.9.	<i>Lactococcus</i> cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram	61
Şekil 4.10.	Ekşihamurlardan 24 saat (A) ve 48 saat (B) inkübasyon sonunda izole edilen gluten proteinlerinin SDS-PAGE jel görüntüleri.....	65

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.	Fermente ekşihamurdaki <i>Lactobacillus</i> türleri.....	4
Çizelge 3.1.	LAB izolatlarının 16S rRNA gen gölgesi dizi analizinde kullanılan primerler	16
Çizelge 3.2.	Kontrol ve laktik asit bakteri kültürlü ekşihamurların formülasyonları.....	23
Çizelge 4.1.	Karadeniz Bölgesi kış dönemi ekşihamurlarının fizikokimyasal sonuçları	28
Çizelge 4.2.	Karadeniz Bölgesi yaz dönemi ekşihamurlarının fizikokimyasal sonuçları	29
Çizelge 4.3.	Kış ve yaz dönemi ekşihamurlarının fizikokimyasal özelliklerinin illere göre değişimi	33
Çizelge 4.4.	Karadeniz Bölgesi kış dönemi ekşihamurlarının mikrobiyolojik sonuçları	34
Çizelge 4.5.	Karadeniz Bölgesi yaz dönemi ekşihamurlarının mikrobiyolojik sonuçları	35
Çizelge 4.6.	Kış ve yaz dönemi ekşihamurlarının mikrobiyolojik özelliklerinin illere göre değişimi	38
Çizelge 4.7.	Kış dönemi ekşihamur LAB izolatlarının (GTG) ₅ bant profillerine göre grupları	40
Çizelge 4.8.	Kış dönemi ekşihamur LAB izolatlarının (GTG) ₅ bant profillerine göre oluşan grupları temsilen seçilen izolatlar ve kaynakları	41
Çizelge 4.9.	Yaz dönemi ekşihamur LAB izolatlarının (GTG) ₅ bant profillerine göre grupları	43
Çizelge 4.10.	Yaz dönemi ekşihamur LAB izolatlarının (GTG) ₅ bant profillerine göre oluşan grupları temsilen seçilen izolatlar ve kaynakları	45
Çizelge 4.11.	Kış dönemi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen sekans sonuçlarına göre en yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği...	47
Çizelge 4.12.	<i>Weissella</i> sp. 1704 no'lu izolatın 16S rRNA gen dizi analizine göre yakın akraba olan <i>Weissella</i> tip suşlarıyla pheS nükleotit dizi farklılıkları ve % benzerlik sonuçları	49
Çizelge 4.13.	Yaz dönemi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen sekans sonuçlarına göre en yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği...	49
Çizelge 4.14.	<i>Weissella</i> cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı	55
Çizelge 4.15.	<i>Pediococcus</i> cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı	57
Çizelge 4.16.	<i>Leuconostoc</i> cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı	60

Çizelge 4.17. <i>Lactococcus</i> cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı	61
Çizelge 4.18. 1704 no'lu izolatın 16S rRNA gen dizi analizine göre yakın akraba olan <i>Weissella</i> tip suşlarıyla DNA-DNA hibridizasyon sonuçları	62
Çizelge 4.19. Ekşihamur kış örneklerinden izole edilen fitaz aktiviteli LAB izolatları.....	63
Çizelge 4.20. Ekşihamur yaz örneklerinden izole edilen fitaz aktiviteli LAB izolatları.....	64
Çizelge 4.21. Ekşihamur LAB izolatlarının fitaz aktivitesi.....	67
Çizelge 4.22. Ekşihamur kış örnekleri LAB izolatları antimikrobiyal aktivite sonuçları	68
Çizelge 4.23. Ekşihamur yaz örnekleri LAB izolatları antimikrobiyal aktivite sonuçları	69
Çizelge 4.24. Kış dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB'lerinin asit üretim yetenekleri.....	72
Çizelge 4.25. Yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB'lerinin asit üretim yetenekleri.....	73
Çizelge 4.26. Kış dönemi ekşihamurlarından izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı pH, tuz, alkol ve safra tuzu konsantrasyonlarında gelişme sonuçları.....	76
Çizelge 4.27. Yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı pH, tuz, alkol ve safra tuzu konsantrasyonlarında gelişme sonuçları.....	78
Çizelge 4.28. Seçilmiş LAB izolatlarının gelişme sıcaklığı ve glikozdan gaz üretimi.....	82
Çizelge 4.29. Ekşihamur mayalamada kullanılan LAB süspansiyonlarının McFarland değerleri	83
Çizelge 4.30. Seçilmiş LAB izolatları ile üretilmiş ekşihamurların asitlik ve pH sonuçları	84
Çizelge 4.31. Seçilmiş LAB izolatları ile üretilmiş ekşihamurların LAB ve maya sayısı	85

1. GİRİŞ

Gıdalar ile mikroorganizmaların ilişkisi ve mikroorganizmaların rol aldığı biyolojik olaylar insanlar tarafından binlerce yıldan beri bilinmekte ve bu ilişkiden faydalanılarak farklı gıda ürünleri üretilmektedir. Dünyanın en zengin mutfaklarından biri olan Türk mutfağı tarıma dayalı olduğundan yiyeceklerin ana maddesini tahıllar oluşturmaktadır (Aydoğdu ve Mızrak, 2017). Tüm dünyada ve özellikle Türk kültüründe önemli besin maddelerinden biri ekmektir. Ekmek, üretim teknolojisinde mikroorganizmaların rol aldığı fermente bir gıdadır.

Fermantasyon, gıda bileşenlerinin, mikroorganizmalar ve onların enzimleri ile parçalanması ve bunun sonucunda oluşan parçalanma ürünleriyle ana gıda maddesinden besinsel, duyuşsal ve tekstürel açıdan daha farklı ürünler oluşması olarak tarif edilmektedir. Dünyanın birçok yerinde kullanılan hammadde, içeriğindeki mikroorganizma ve üretim teknolojisine göre değişen fermente gıdalar üretilmektedir (Blandino vd, 2003). Dünya nüfusunun artışı ve sağlık üzerine olumlu etkisi nedeniyle fermente gıdalara olan ilgi artmıştır. Günümüzde birçok ülkede fermente gıdalar yaygın olarak üretilmektedir (Şengün, 2011).

Ülkemizdeki geleneksel fermente ürünlerimizden biri de ekşihamur ekmeğidir. Ekşihamur ekmeği küçük işletmelerde üretilmekte olup ekmeğin çeşitlenmesi için yüksek ölçekli işletmelerde üretiminin faydalı olacağı belirtilmektedir. Ancak yüksek kapasiteli üretimlerde öncelikle spontan flora kaynaklı fermantasyonun risklerinden kurtulmak için Ülkemize özgü ekşihamur starteri geliştirmek şarttır. Bu nedenle, Ülkemizde kullanılan ekşihamurlarda yaygın bulunan laktik asit bakteri florasının tanımlanması, ekmekçilik için aranan özelliklerinin belirlenmesi gerekmektedir. Son yıllarda ekşihamur fermantasyonunda gerçekleşen proteolizde, unun endojenik enzimleri yanında görev aldığı bilinen laktik asit bakterilerinin çölyak hastaları için alerjen olan glutenin parçalanmasında kullanılması üzerinde durulmaya başlanmıştır. Ekşihamur laktik asit bakterilerinin ekmekte bulunan mineralleri bağlayarak minerallerin bağırsaklardan emilimine engel olan fitik asidi parçaladığı da bazı çalışmalarda ifade edilmektedir. Bu etkinlikleri dolayısıyla ekşihamur ekmeği üretiminde, çölyak hastalarınca tüketimini sınırlandıran gluteni ve ekmeğin yararlılığını azaltan fitik asiti parçalayarak bu bileşenlerin giderilmesinde bir araç

olabilecek laktik asit bakterileri üzerinde önemle durulmalıdır.

Bu çalışma ile;

- Trabzon ekşihamurlarının laktik asit bakteri florasının fenotipik ve genotipik yöntemleri kullanarak polifazik yaklaşımla tanımlanması,
- Gluten ve fitaz parçalama yeteneğine sahip laktik asit bakterilerinin belirlenmesi,
- Ekşihamur ekmeğindeki gluten ve fitik asiti parçalayan böylece besin değeri arttırılmış ve glutensiz ekmek üretiminde kullanılabilecek laktik asit bakterilerinin endüstriyel/teknolojik özelliklerinin belirlenmesi,
- Gluten ve fitaz parçalama yeteneğine sahip laktik asit bakterisi izole edilememesi durumunda ekşihamur yöntemi için uygun teknolojik özelliklere sahip laktik bakteri izolatlarından starter kültür seçilmesi ve
- Seçilen starter kültürün ekşihamur ortamında sayısal ve metabolik stabilitesinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

Türk Gıda Kodeksi Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği'ne göre ekşihamur ekmeği; tahıl unlarına su, tuz, maya, geleneksel veya endüstriyel yöntemlerle elde edilen ekşi veya ekşihamur ilavesiyle hazırlanan hamurun tekniğine uygun olarak yoğrulması, şekillendirilmesi, fermantasyona bırakılması ve pişirilmesi ile üretilen ekmek ve ekmek çeşidi olarak tanımlanmaktadır. Ekşihamur ekmeğinin Avrupa'da 5000 yıl öncesine dayandığı bildirilmiştir (Ventimiglia vd, 2015). Avrupa'da yüzlerce çeşidi bulunan ekşihamur ekmeği un tipi, uygulanan teknoloji, fermantasyon işlemindeki farklılıklar nedeniyle çeşitlilik göstermektedir (De Vuyst ve Vancanneyt, 2007).

Ekşihamur, ev veya sanayi tipi üretim teknolojileri göz önüne alındığında 3 tip olarak sınıflandırılmıştır. Tip I ekşihamurlar daha önceki fermente hamur kullanılarak tekrar fermente edilen ekşihamurdur. Geleneksel yöntemlerle üretilirler ve mikroorganizmaları aktif durumda tutmak için sürekli günlük tazelemelerle karakterize olurlar. Oda sıcaklığında (20-30°C) elde edilir ve son pH 4 civarındadır. Çavdar işleme teknolojisinin gelişimiyle birlikte daha hızlı ve büyük miktarlarda fermantasyon işlemleri Tip II ekşihamurların ortaya çıkmasına neden olmuştur. Tip II ekşihamurlar, yarı akışkan silo preparatları şeklinde endüstriyel tip ekşihamurlardır. Uzun fermantasyon süresine (2-5 gün) sahiptir. Bu nedenle işlemi hızlandırmak için genellikle 30°C'dan yüksek sıcaklıklarda elde edilirler. Bu hamur tipinin asit içeriği yüksek olup, 24 saat sonundaki pH'sı 3.5'ten düşüktür. Bu durumdan organizmanın metabolik aktivitesinin azalıp durağan faza geçtiği anlaşılabılır. Tip III ekşihamurlar ise starter kültür kullanılarak elde edilen toz formdaki kurutulmuş hamurlardır. Bu hamur tipinde genellikle kurutmaya dayanıklı laktik bakteriler (heterofermantif *Lactobacillus brevis*, fakültatif heterofermantatif *Pediococcus pentosaceus* ve *Lactobacillus. plantarum* suşları) bulunmaktadır. Ekmek yapımında asitlendirici ve aroma verici katkı olarak kullanılırlar. Kurutma işlemi (sprey veya tamburlu kurutma) bu ekşihamurun raf ömrünü uzatır. Tip III ekşihamurların kullanımı pratik ve kolaydır ve standardize ürün elde edildiği için endüstriyel fırıncılıkta tercih edilmektedir. Ayrıca bu tip hamurlar renk, aroma ve asit içeriği ile de tüketiciye hitap ettiği için sıklıkla kullanılmaktadır (Gobbetti vd, 2005; De Vuyst ve Neysens, 2005; Corsetti ve Settanni, 2007).

Laktik asit bakterileri fermentasyon son ürünlerine göre homofermantatif ve heterofermantatif olarak iki gruba ayrılmaktadır. Geleneksel yöntemlerle üretilen ekşihamurların LAB florasında özellikle heterofermantatif türler yer almaktadır. Yapılan çalışmalarda ekşihamurlardan *Leuconostoc*, *Weisella*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* ve *Streptococcus* cinslerine ait türler izole edilmekle birlikte, *Lactobacillus* suşlarının en sık gözlenen bakteriler olduğu bildirilmektedir. Laktobasillerden de zorunlu ve fakültatif heterofermantatif ve zorunlu homofermantatif türler yer almaktadır (Corsetti ve Settanni, 2007). Laktobasiller içerisinde *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* en sık izole edilen laktobasillerdir (Gobbetti, 1998; Corsetti ve Settanni, 2007; Gänzle vd, 2007; Ventimiglia vd, 2015). Bununla birlikte Belçika tip I ekşihamurlarında *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus pontis*, *Lactobacillus spicheri* türleri izole edilmiştir (Ventimiglia vd, 2015). Manini vd (2016) tarafından buğday kepeğinden elde edilen ekşihamur benzeri üründe *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc citreum*, *Pediococcus pentosaceus* türleri izole edilmiştir. Çizelge 2.1’de Corsetti ve Settanni (2007) tarafından, ekşihamurda bulunduğu bildirilen *Lactobacillus* cinsi üyeleri verilmiştir.

Çizelge 2.1. Fermente ekşihamurdaki *Lactobacillus* türleri (Corsetti ve Settanni, 2007)

<u>Zorunlu heterofermantatif</u>	<u>Fakültatif heterofermantatif</u>	<u>Zorunlu homofermantatif</u>
<i>Lb. sanfranciscensis</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. amylovorus</i>
<i>Lb. acidifarinae</i>	<i>Lb. pentosus</i>	<i>Lb. acidophilus</i>
<i>Lb. brevis</i>	<i>Lb. alimentarius</i>	<i>Lb. delbrueckii</i> spp. <i>delbrueckii</i>
<i>Lb. buchneri</i>	<i>Lb. paralimentarius</i>	<i>Lb. farciminis</i>
<i>Lb. fermentum</i>	<i>Lb. casei</i>	<i>Lb. mindensis</i>
<i>Lb. fructivorans</i>		<i>Lb. crispatus</i>
<i>Lb. frumenti</i>		<i>Lb. johnsonii</i>
<i>Lb. hilgardii</i>		<i>Lb. amylolyticus</i>
<i>Lb. panis</i>		
<i>Lb. pontis</i>		
<i>Lb. reuteri</i>		
<i>Lb. rossiae</i>		
<i>Lb. siliginis</i>		
<i>Lb. spicheri</i>		
<i>Lb. zymae</i>		

Bilinen en eski biyoteknolojik yöntemlerden biri olan ekşihamur, içeriğinde laktik asit bakterileri ve bazı mayaları bulunduran düşük pH'ya sahip (~ 4 pH) bir gıda ekosistemidir (De Vuyst vd, 2014; Gobbetti vd, 2014; Ventimiglia vd, 2015). İlk kez 19. yüzyıl sonlarında özellikle süt ürünlerindeki fermantasyondan sorumlu bakteriler, laktik asit bakterileri olarak isimlendirilmiş, daha sonra ise bu bakteriler *Lactobacillaceae* familyası içinde sınıflandırılmışlardır. Bu familyanın tüm üyeleri gram pozitif, katalaz negatif, *Sporolactobacillus inulinus* hariç spor oluşturmeyen, fakültatif anaerobik, çubuk veya kok şeklinde bakteriler olarak tanımlanmaktadır (Caplice ve Fitzgerald, 1999; Çon ve Gökalp, 2000).

Ekşihamur ekmeği florasında yer alan laktik asit bakterilerinin temel özellikleri fermantatif olmaları ve fermantasyon ürünü olarak organik asit üretmeleridir (Çon ve Gökalp, 2000). Organik asitler yapıları karbon iskeletine dayanan asitlerdir. Laktik, asetik, propiyonik, fumarik, formik, sitrik, süksinik ve malik asit gıdalarda bulunan bazı organik asit örnekleridir. Gıdaların yapısında doğal olarak bulunan ya da fermantasyon sonucu meydana gelen bu asitler gıdanın raf ömrü, tekstür, tat ve aroma oluşumunda etkilidirler (Blandino vd, 2003; Galle ve Arendt, 2014). Ayrıca oluşturdukları organik asitlerin patojen mikroorganizmaların gelişimini engelleyerek gıdayı koruyucu etkisinin bulunduğu bildirilmiştir (Paul Ross vd, 2002; Galle ve Arendt, 2014).

Ekmek üretiminde uygulanan ekşihamur fermantasyonu ekmeğin hacim, tat, tekstür ve besin değerini artırmakta, bayatlamasını geciktirmekte ve bozulmasını önleyerek raf ömrünü uzatmaktadır (De Vuyst ve Vancanneyt, 2007). Ekşihamur LAB'lerinin De Vuyst ve Neysens (2005) tarafından bildirilmiş, ekmek kalitesini etkileyen metabolik aktiviteleri şunlardır:

- Proteolitik aktivite,
- Uçucu aroma bileşenlerinin ve aroma öncü maddelerinin oluşumu,
- Kızarmış ekmek aromasını artıran arjinin metabolizması,
- Antibakteriyel bileşiklerin ve antifungal maddelerin üretimi,
- Ekmeğin tekstürü, bayatlaması ve raf ömrünü etkileyen ekso polisakkaritlerin üretimi.

LAB'lerinin bu aktiviteleri içerisinde proteolitik etkinlikleri çölyak hastaları için alerjik olan glutenin parçalanmasında doğal bir yöntem olarak dikkat

çekmektedir. Piyasada glutensiz ürünler bulunmakla birlikte bunlar kalıntı gluten tehlikesinden dolayı riskli olabilmektedir veya bazı ülkelerde olduğu gibi (İskandinav ülkeleri, İngiltere) glutensiz diye sunulan ancak düşük miktarlarda toksik prolamin içeren katkıları olabilmektedir (Thompson, 2001).

Çölyak hastalığı, dünya nüfusunun % 1'ini etkileyen, insanlarda sık görülebilen otoimmün karakterli ve besin kökenli bir ince bağırsak hastalığıdır (Erdil ve Ateş, 2005; Moroni vd, 2009). Günümüzde çölyak hastalığına sahip bireylerin doğuştan genetik bir yatkınlığa sahip olduğu ve bunun uygun çevresel koşullar altında hastalığa dönüştüğü kabul edilmektedir (Erdil ve Ateş, 2005). Hastalığın nedenini oluşturan glutenin gliadin isimli alt fraksiyonudur. Hasta bireylerde gluten içeren besinlerin tüketilmesinden sonra ince bağırsaklarda villus denilen parmaklı çıkıntılar vücudun bu maddeye karşı oluşturduğu iltihabi reaksiyon sonrasında hasar görmekte ve yok olmaktadır. Böylece besinlerin (demir, folik asit, kalsiyum ve yağda çözünen vitaminler gibi) sindirimi ve emilimi de bozulmakta ve malabsorpsiyon (kötü emilim) sendromu denilen hastalık tablosu ortaya çıkmaktadır (Katina vd, 2005). Hasta bireylerde HLA-DQ2 ve HLA-DQ8 isimli genlerden birinin veya her ikisinin olması çölyak hastalığının güçlü belirtisidir. Çölyaklı hastaların % 97'den fazlası bu iki genden en az birine sahiptir. Hastaların çoğu DQ2 genini taşıırken % 10'dan daha az kısmı DQ8 genini taşımaktadır. Hastalık sebebinin deamine gliadin peptidleri (gluten sindiriminden kaynaklanan) ve HLA-DQ2/8 moleküllerinin interaksiyonu sonucu bağırsak mukozasındaki CD4+Th1 lenfositlerinin aktivasyonunu tetiklemesi olduğu ve bunun sonucunda dokuda hasar bıraktığı bildirilmiştir. Sağlıklı bireyler peptidlerin varlığında HLA-DQ2/8 moleküllerini tanır ve çölyak semptomlarını ortadan kaldıran mekanizmalara olanak sağlar (De Re vd, 2013).

Çölyak hastalığının bugüne kadar kabul edilen tek tedavi yolu ömür boyu glutensiz diyetdir. Bu da hastaların saf nişastalar hariç buğday, çavdar, arpa ve yulaf ürünlerinden uzak durması anlamına gelmektedir (Erdil ve Ateş, 2005). Hastaların glutensiz diyetle uymaları çok zor bir durumdur. Çünkü gluten ekmek teknolojisi açısından değerlendirildiğinde, hamurun su tutma kapasitesi ve karbondioksit (CO₂) tutumunu sağlayarak ekmeğin 3 boyutlu viskoelastik yapısını oluşturmaktadır. (Moroni vd, 2009). Glutensiz ekmek formülasyonlarında hamurun işleme özelliklerini iyileştirmek için hidroksipropil-metilselüloz (HPMC), metilselüloz

(MC), karboksimetilselüloz (CMC), ke iboyunu gamı, guar gam, karregen, ksantan gam, pektin, gibi hidrokolloidlerin kullanımı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Gobbetti vd, 2007; Lazaridou vd, 2007).

Ekşihamur ekmeği üretiminde uygun formülasyonlar kullanıldığında ekşihamur ekmeğinin hacim, tat, tekstürü gelişebilmekte, raf ömrü uzayabilmektedir. Bu etkiler fermentasyondaki mikroorganizmaların metabolik aktivitesi, proteoliz, eksopolisakkarit üretimi, aroma ve antimikrobiyal bileşenlerin üretimi ile ortaya çıkmaktadır. Ekşihamurun bu olumlu katkısı kaliteli glutensiz ekmek üretiminde katkı madde kullanımının azaltılması ile olabilmektedir. Starter kültür fermente ürünlerin kalitesini ve t ketebilirliğini etkilemekte son derece kritik öneme sahiptir (Manini vd, 2016). Uygun starter kültür seçimi ve işlem parametreleri ile kalitesiz glutensiz ekmek üretiminin aşılabileceğine inanılmaktadır. Gl ntensiz ekmek üretimi ve karakterizasyonu ile ilgili çalışmalar yetersiz olup daha çok çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır (Moroni vd, 2009).

Buğday nişastası bazlı ürünler yıllardır pek çok ülkede glutensiz gıdalar olarak kullanılmaktadır. Ancak daha önceleri buğdayın protein bileşenlerinin nişastadan tamamen ayrıldığına inanılmakla birlikte, şimdi bir miktar proteinin nişasta içinde kaldığı bilinmektedir. Glutensiz ürünlerde kullanılan buğday nişastalarının protein içeriği, genel amaçlı kullanılan nişastalarinkinden daha düşük olmakta ancak içerebileceği çok küçük miktarda gluten dahi bir   lyak hastasının sağlığını tehlikeye atabilmektedir. Chartrand vd (1997) tarafından yapılan çalışmada, teorik olarak gliadin içermeyen karabuğday unlarında da gliadine rastlanmıştır. Araştırmacılar, bu gliadinin muhtemelen öğütme işleminde ortamdan kontaminasyon yoluyla gelmiş olabileceğini bildirmişlerdir (Chartrand vd, 1997; Thompson, 2001; Katina vd, 2005). Buğday ve  avdar unlarının seçilen LAB'leriyle uzun süreli fermentasyonu gluten bulaşıklığı olabilecek bu tip ürünlerde gluten kontaminasyonu riskini azaltabilecek bir yöntem olarak önerilmektedir (Gobbetti vd, 2007).

Laktobasillerin   lyak hastalarında glutenin zararlı etkisini azaltan bir potansiyele sahip olduğu başka araştırmacılar tarafından da (Roll n vd, 2005; De Angelis vd, 2006; Corsetti ve Settanni, 2007) bildirilmiştir. Roll n vd (2005), *Lb. plantarum* CRL 759 ve CRL 778 suşlarının peptid parçalama sistemini karakterize etmiş ve gliadin benzeri fraksiyonlar üzerine proteolitik etkisini incelemişlerdir. *Lb. plantarum* CRL 778'in sentetik substratlar (N-glutaril-L-fenil-alanin-*p*-NA, di- ve

tri-peptidler) üzerine *Lb. plantarum* CRL 759'a göre daha fazla proteolitik etkisi varken *Lb. plantarum* CRL 759'un α -gliadinin 31-43 fragmentini hidroliz kapasitesinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu sonucun peptidazların substrat karakterindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği ifade edilmiştir.

De Angelis vd (2006), dondurarak kurutulan VSL#3 (*Streptococcus thermophilus*, *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *B. infantis*), Oxadrop (*Lb. acidophilus*, *Lb. brevis*, *Bifidobacterium infantis*, *Str. thermophilus*), Florisia (*Lb. brevis*, *Lb. salivarius* spp. *salicinius*, *Lb. plantarum*) ve Yovis (*Str. salivarius* spp. *thermophilus*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *Str. faecium*) preparasyonlarının kullanıldığı ekşihamuru 24 saat fermente etmişler ve gliadin polipeptidlerinde meydana gelen değişimi SDS-PAGE ile belirlemişlerdir. Florisia ve Yovis kullanılanlarda ve kimyasal yolla asitlendirilenlerde parçalanma görülmezken VSL#3 kullanılan örnekte çok önemli hidroliz belirlenmiştir. Oxadrop tarafından da gliadin polipeptidlerinde çok az bir parçalanma sağlanmıştır. Çalışmada Western Blot ile yapılan analiz ile kimyasal asitlendirilmiş hamur ve VSL#3 probiyotik karışımının gliadinler üzerine etkisi de değerlendirilmiş ve fermentasyondan sonra özellikle α , β ve γ gliadinlerin çok önemli düzeyde parçalandıkları görülmüştür. VSL#3 probiyotik karışımı kullanılan fermentasyondan sonra polipeptidlerdeki siyah görüntüler tamamen parçalanmıştır.

Di Cagno vd (2002) tarafından yapılan çalışmada, asidik olmayan buğday hamuruna kıyasla biyolojik veya kimyasal asitlendirmenin polipeptidlerde değişikliğe neden olduğu belirlenmiştir. Fermente hamurun kimyasal olarak asitlendirilmiş hamura kıyasla un endojenik enzimlerinin neden olduğu proteolize ilaveten her zaman bakteriyel proteolizden dolayı da değişikliğe uğradığı bulunmuştur. Proteinaz veya peptidaz içeren seçilmiş laktobasillerden izole edilmiş enzim preparatlarının çölyak hastaları için toksik α -gliadinin 31-43 fragmentini hidroliz ettiği belirlenmiştir.

Bir başka çalışmada ekşihamurlardan izole edilen laktik bakteriler kullanılarak ve kullanılmaksızın nötr ve asit ilaveli olarak hazırlanmış ekşihamurlardan 24 ve 48 saat inkübasyon sonunda izole edilen gliadin protein bantlarının, SDS-PAGE jelde 46-53 kDa moleküler ağırlıkları arasında yoğunlaştığı belirlenmiştir. Fermente

hamurlarda, nötr hamurda olmayan küçük molekül ağırlıklı (46-46.5 kDa) protein bantlarının görüldüğü ve bunların bazı proteinlerin hidrolizi sonucu oluşan parçalanma ürünleri olduğunun düşünüldüğü belirtilmiştir. Bu bantların asit ilave edilmiş kontrol hamuruna göre LAB'leri ile fermente hamurlarda daha fazla gözleendiği, bu nedenle bu bantların sadece düşük pH'ya bağlı olmayıp bakteriyel proteoliz ile de bağlantılı olduğu; *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*'un proteolitik aktivitelerinden söz edilebileceği ifade edilmiştir. 48. saatte bu bantların daha da belirginleştiği söylenmiştir (Güre, 2009).

Tahıl tanelerinde çölyak hastaları için risk taşıyan gluten dışında, besin değerini azaltan fitik asit bulunması istenilmeyen bir durumdur. Tahıl tanelerindeki toplam fosforun çoğunluğu fitik asit halinde (mio-inositol hekzafosfat) tanenin en dış tabakasında yer almaktadır. Fitik asit proteinler, aminoasitler ve Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} gibi divalent katyonlarla şelatlar oluşturarak, bunların ince bağırsak mukozasından emilimlerine engel olmakta ve bu nedenle anti-besin maddesi olarak tanımlanmaktadır. Ürün pişirilmeden önce fitatın fermantasyonla yıkımı istenmektedir. Fermantasyon sırasında, ekşihamur LAB'lerinde bulunan fitat-yıkıcı enzimler, fitik asidin kademeli olarak mio-inositole hidrolizini katalize etmektedir. Buna ek olarak laktik asit bakterilerinin asit üretimi ile pH'yı düşürmesi de undaki endojen fitazları aktive ederek fitik asit parçalanmasını artırmaktadır (Honke vd, 1998; De Angelis, 2003; Zotta vd, 2007). Bu nedenle ekşihamur fermantasyonu ekmeğin aroma ve tekstürü yanı sıra besin değerini de artırmaktadır.

Zotta vd (2007), Cornetto di Matera italyan ekşihamurundan izole ettikleri 41 LAB suşunun fermantasyon sırasındaki enzimatik aktivitesini incelemişler ve *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* ve *Leu. mesenteroides* türlerin ekmek yapımında starter kültür olarak birlikte kullanılabileceğini tespit etmişlerdir. *Lb. plantarum* ve *Lb. curvatus* türlerinin yüksek proteolitik ve peptidaz aktivitesine sahip olduğu; bu özelliklerinden dolayı ekşihamur ekmeğinin tekstür ve tadının kontrolü açısından starter olarak seçilebileceği bildirilmiştir. *Leu. mesenteroides* suşlarının ise β -galaktosidaz ve fitaz aktivitesinin yüksek olduğu belirlenmiştir.

Lopez vd (2000), ekşihamurlardan izole ettiği *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Leu. mesenteroides* türlerinin buğday hamurunda fitaz aktivitesini incelemiştir. Test edilen tüm laktik asit bakterilerinin kontrol örneğine (laktik asit bakterisi katılmayan) kıyasla hamurda fitik asidi önemli oranda parçaladığı ve bunun sonucunda inorganik

fosfor açığa çıktığı belirlenmiştir. Fitik asitin ortamdan kaybolması ve inorganik fosfatın ortaya çıkması fitat parçalanmasına işaret etmektedir. Fitaz enzimleri benzer olan bu türler arasında fitik asit düzeyi bakımından farklılık bulunmamıştır. Bu çalışmada en fazla fitat parçalanması ilk 2 saatlik fermantasyonda gerçekleşmiştir. Daha sonraki fermantasyon sürelerinde parçalanma oranı azalmıştır. Bunun fosfatı açığa çıkaran enzimin inhibisyonu sonucu olduğu bildirilmiştir. Hamurda fitik asit parçalanması dolayısıyla asitliğin artması sonucu fermantasyonun mineral çözünürlüğünü olumlu etkilediği belirlenmiştir. Mineral değeri yüksek tahıl ürünleri için fitat miktarının azaltılabileceği belirlenmiştir. Bakterilerin fitik asidi parçalaması ilginç bir sonuç olmasına rağmen bakteriyel fitat hidrolizi mayaların fitik asit parçalama kapasitesi ile karşılaştırılmalıdır.

Vancanneyt vd (2005) tarafından, Yunanistan ve Belçika ekşihamurlarında yapılan izolasyon ve identifikasyon çalışmasında ekşihamurlarda *Lactobacillus acidifarinae* sp. nov. ve *Lactobacillus zymae* sp. nov. belirlenmiştir.

Fransız ekşihamurlarında yapılan bir çalışmada ekşihamurlardan morfolojik olarak farklı 20 izolat elde edilmiştir. İzolatlardan elde edilen gram pozitif, spor oluşturmeyen, hareketli hücrelerin 16S rRNA gen sekans analizi yapıldıktan sonra bütün türlerin *Lactobacillus* cinsine ait olduğu belirlenmiştir. Bu türlerin *Lb. plantarum*, *Lb. paralimentarius*, *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. spicheri* ve *Lb. sakei* olduğu belirlenmiştir. Bu türlerin haricinde *Lactobacillus hammesii* yeni bir tür olarak bulunmuştur (Valcheva vd, 2005).

Çin geleneksel ekşihamurundan yapılan çalışmada 16S rRNA gen sekans analizi, *pheS*, *rpoA* ve *dnaK* genlerinin sekans analizleri, yağ asitleri analizi (FAME), DNA G+C içeriği, DNA-DNA hibridizasyonu ve fenotipik analizleri içeren polifazik yaklaşımla elde edilen sonuçlardan *Lactobacillus songhuaqiangensis* sp. nov. elde edilmiştir (Gu vd, 2013).

Valcheva vd (2006) tarafından, Fransız ekşihamurunda yapılan bir başka çalışmada *Lactobacillus nantensis* sp. nov. izole edilmiştir. En yakın tip türleri olarak *Lb. farciminis*, *Lb. alimentarius*, *Lb. paralimentarius* ve *Lb. mindensis* tip türleri kullanılmıştır.

Cai vd (1999) tarafından, ekşihamurda yapılan çalışmada 6 izolat elde edilmiş ve bunlardan *Lactobacillus paralimentarius* sp. nov. yeni bir tür olarak

tanımlanmıştır. Ekşihamurlarda yapılan bir başka çalışmada Corsetti vd (2005), bakteriyosin üreten, gram pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmeyen türlere rastlamış ve bunlardan *Lactobacillus rossii* sp. nov. yeni bir tür olarak tespit edilmiştir.

Ehrmann vd (2007) tarafından, tip II ekşihamurlarında yapılan çalışmada iki adet laktik asit bakterisi izole edilmiştir. Mikrobiyolojik sayımda 8.0×10^8 KOB/g bakteri sayılarak bu tip fermantasyonda mikrobiyotayı oluşturan baskın bakterilerden biri olduğu düşünülmüştür. Tanımlayıcı analizlerden sonra (16S rRNA gen sekans analizi, DNA G+C içeriği, DNA-DNA hibridizasyonu gibi) *Lactobacillus secaliphilus* sp. nov. yeni bir tür olarak belirlenmiştir.

Güney Kore ekşihamurlarında yapılan bir çalışmada polifazik yaklaşımla iki adet laktik asit üreten bakteri suşu belirlenmiştir. 16S rRNA temelli filogenetik analizler, biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri bu iki suşun *Lactobacillus* cinsine ait olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bunlardan *Lactobacillus siliginis* sp. nov. yeni bir tür olarak belirlenmiştir (Aslam vd, 2006).

Ekşihamurlarda kullanılan LAB'lerinin gluten ve fitik asiti parçalama özellikleri yanında, özellikle bir sonraki hamur hazırlanmasında aşılama materyali olarak kullanılan ekşihamurlarda, stabiliteyi de büyük önem taşımaktadır. Ekşihamurlarda LAB/maya oranı genellikle 100:1 olmakta ve LAB'leri içerisinde laktobasiller baskın bulunmaktadır. Ekşihamur ortamında laktobasillerin baskın olmasında etkili faktörlerden birincisi, karbonhidrat metabolizmasının hamurdaki temel enerji kaynakları olan maltoz ve fruktoza iyi adapte olmasıdır. İkinci faktör, gelişmeleri için gerekli şartlar, sıcaklık ve pH değerlerinin ekşihamur fermantasyonunda oluşan koşullarla uyumlu olmasıdır. Üçüncüsü ise ekşihamur laktobasillerinin asit, yüksek/düşük sıcaklıklar, yüksek ozmotik basınç/dehidrasyon, oksidasyon ve yetersiz besin gibi olumsuz koşulları yenebilmek için bazı stres cevap mekanizmalarına sahip olmasıdır. Bu üç faktör bu türlerin rekabet gücünü ve ortama adaptasyonunu artırmaktadır. Ayrıca ürettikleri organik asitler (laktat, asetat, vd.) ve protein yapısındaki bileşenlerle (bakteriyosinler gibi), rekabet güçlerini artırmaları ekşihamur fermantasyonlarında stabil olarak kalmalarına yardımcı olan dördüncü faktör olarak kabul edilebilir (De Vuyst ve Neysens, 2005). Bu özelliklerin tür bazında farklılık gösterebileceği bu nedenle önerilen türlerin/suşların hamur mikrobiyotasında stabilitelerinin de belirlenmesi önemlidir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Kış ve yaz dönemi ekşihamur örnekleri, Ocak-Şubat ve Temmuz-Ağustos ayları içerisinde Trabzon (Merkez ilçe, Akçaabat, Vakfıkebir, Çavuşlu, Beşikdüzü) Giresun (Görele, Espiye, Merkez ilçe, Bulancak, Piraziz), Ordu (Gülyalı, Merkez ilçe, Bolaman, Fatsa, Ünye) ve Samsun (Terme, Çarşamba, Tekkeköy, Merkez ilçe, Ondokuzmayıs, Bafra) illerinde Trabzon ekmeği üretimi yapan toplam 27 farklı işletmeden alınmıştır. Örnekler steril örnek poşetlerine aseptik koşullara uyularak yaklaşık 500 g olarak alınmış ve 5°C'de 8 saat içerisinde laboratuara taşınarak bekletilmeksizin analizlere başlanmıştır. Mikrobiyolojik sayım ve identifikasyon için ekim ile pH ve toplam asitlik analizleri örneklerin alımı takiben 10 saat içerisinde, kurumadde ve kül analizleri mikrobiyolojik analizler sonrasında gerçekleştirilmiştir.

Analiz edilen örneklerden 1100 adet izolat alınmış ve tüm izolatlar Gram boyama, katalaz ve saflık testlerinden geçirildikten sonra muhtemel laktik asit bakterisi olan 1028 adet izolat (kış örneklerinden 500 adet, yaz örneklerinden 528 adet) Ondokuz Mayıs Üniversitesi Gıda Mühendisliği, Biyoteknoloji ve Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarında % 30 gliserol içeren uygun besiyerlerinde -80°C'da muhafazaya alınmıştır. Çalışmada antimikrobiyal aktivite için indikatör olarak kullanılan *Bacillus subtilis* NRRL B-209^T, *Escherichia coli* ATCC 25922^T ve *Staphylococcus aureus* ATCC 33862^T suşları Gıda Mühendisliği, Biyoteknoloji ve Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı'ndan, tanımlanması kesinleştirilmek istenen şüpheli türün beraber gruplandığı *Weissella uvarum* (DSM 28060), *Weissella minor* (DSM 20014) ve *Weissella viridescens* (DSM 20410) suşları da Leibniz Enstitüsü, DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekşihamur örneklerinin mikrobiyolojik ve kimyasal parametrelerinin belirlenmesi

Örneklerdeki mikrobiyolojik sayımların yapılması amacıyla 10 g ekşihamur örneği 90 ml peptonlu fizyolojik su ile stomacherde (Seward Medical, London, UK) orta hızda 2 dakika homojenize edilmiş ve 10^{-7} 'ye kadar dilusyonları hazırlanmıştır. Laktik asit bakterileri (LAB) sayımı % 0,01 sikloheksimid ilaveli MRS-5 agarda (10 g tripton, 5 g et özütü, 5 g maya özütü, 10 g maltoz, 5 g fruktoz, 5 g glukoz, 5 g $C_2H_3NaO_2$, 3 g amonyum klorür, 2,6 g K_2HPO_4 , 4 g KH_2PO_4 , 0,1 g $MgSO_4$, 0,05 g $MnSO_4$, 0,5 g cystein-HCl, 1 ml tween 80, pH 5,8) (MRS-5C) 30°C sıcaklıkta % 5 karbondioksit (CO_2) içeren ortamda 48 saat inkübasyon sonunda; Toplam Aerofilik Mezofilik Bakteri (TAMB) sayımı Plate Count Agar (PCA) (Merck) ortamında 30°C'da 48 saat inkübasyon sonunda tespit edilmiştir. Maya sayımı Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar (Merck) 28-30°C'da 2 gün inkübasyon sonunda tespit edilmiştir (Çon, 1995; Anon, 2005; Scheirlinck vd, 2007).

3.2.2. pH ve Toplam asitlik

pH tayini katı ve sıvı olmak üzere 2 farklı elektrot ile ölçülmüştür. Katı elektrot ile pH tayininde elektrot her örnek için 3 farklı bölgeye batırılmış ve sonuç kaydedilmiştir. Örneklerin toplam asitlik analizlerini gerçekleştirmek için 5 örnek alınmış üzerine 25 mL distile su ilave edildikten sonra ultratoraks ile homojenize edilmiştir. Ardından saf su ile 50 mL'ye tamamlanmıştır. Bu aşamada örneklerin sıvı elektrot ile pH ölçümleri yapılmış ve 8.1 pH değerine kadar 0.1 M NaOH ile titre edilmiştir. Harcanan NaOH miktarından (3.1) nolu denklem kullanılarak toplam asitlik değeri laktik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (Gül, 2013).

$$\text{Toplam Asitlik} = V \times M \times E \times 100 / m \quad (3.1)$$

V: harcanan 0,1 M NaOH miktarı, mL

M: titrasyonda kullanılan bazın molaritesi

m: titre edilen örneğin miktarı, g

E: 1 mL 0.1 M NaOH'ın eşdeğeri laktik asit miktarı, g

3.2.3. Asit derecesi

Analiz için 10 g ekşihamur örneği 250 mL'lik erlene konulmuş üzerine 50 mL % 67'lik nötrale edilmiş etil alkol katılarak homojenize edilmiş ve 5 dk süre ile çalkalanmıştır. 5 dk sonunda süzgeç kâğıdından süzölmüş ve bu süzöntüden 10 mL alınıp üzerine birkaç damla fenolftalein (% 1'lik) konularak 0.1 M NaOH ile değışmeyen pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir. Harcanan NaOH miktarı 5 ile çarpılarak sonuç elde edilmiştir (Göl, 2013).

3.2.4. Kurumadde oranı

Darası alınmış kuru ve temiz nikel kaplara ekşihamur örneklerinden 3-5 g tartılmıştır. Örnekler 105°C'de 12 saat kurutulduktan sonra soğuması için desikatörde bekletilmiştir. Ardından hassas terazide tartılarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Kurutma ve tartım işlemleri sabit ağırlığa ulaşuncaya kadar tekrarlanmıştır. Takiben elde edilen yaş ve kuru örnek tartım sonuçlarından (3.2) nolu denklem kullanılarak % kurumadde miktarı hesaplanmıştır (Anonim, 1990).

$$\% \text{ Kurumadde miktarı} = (\text{kuru ağırlık} - \text{dara}) \times 100 / \text{örnek miktarı (g)} \quad (3.2)$$

3.2.5. Kül oranı

Darası alınmış krozelere ekşihamur örneklerinden 3-5 g tartılmıştır. Örnekler etil alkol (% 96'lık) ile yakıldıktan sonra 150°C'deki kül fırınında yakılmaya başlanmış, sıcaklık kademeli olarak artırılarak 900°C'ye kadar ulaşmıştır. Daha sonra örnekler desikatöre alınarak soğuması sağlanmıştır. Örnekler hassas terazide tartıldıktan sonra elde edilen değerler (3.3) nolu denklem kullanılarak % kül miktarı hesaplanmıştır (Anonim, 1990).

$$\% \text{ Kül miktarı} = (\text{yakma sonrası ağırlık} - \text{dara}) \times 100 / \text{örnek miktarı (g)} \quad (3.3)$$

3.2.6. Ekşihamur örneklerinden laktik asit bakteri (LAB) izolasyonu

LAB'lerinin izolasyonu MRS-5C agarda 30°C'de % 5 CO₂ içeren ortamda 48 saat inkübasyon sonunda 20-200 koloni düşmüş petrilere 10-15 farklı koloni seçilerek yapılmıştır. Seçilen koloniler MRS-5 broth besiyerinde geliştirilmiş, 18-24 saatlik genç költürlere gram boyama (Şimşek, 2003; Kostinek vd, 2007) ve katalaz testleri

(Kim vd, 2001; Carr vd, 2002), uygulanarak tipik LAB özelliklerine sahip suşlar dondurucuda -80°C’da saklanmıştır.

3.2.7. İzolatların (GTG)₅ parmak izi analizi

Çalışmada yüksek sayıda farklı suş yakalayabilmek ve aynı suşları tanımlama testlerine almaktan kaçınmak amacıyla, bakteri izolatları (GTG)₅ primeri (5’-GTGGTGGTGGTGGTG-3’) kullanılarak gruplandırılmıştır (Groenewald vd, 2008; Scheirlinck vd, 2007; 2008).

LAB izolatlarının genomik DNA’ları Genomik DNA izolasyon kiti ile üretici firmanın (İnvitrogene Genomic DNA Isolation Kit) belirttiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla tüm izolatlar MRS-5 broth besiyerinde 30°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Her bir sıvı kültürden steril otomatik pipetler ile 1 mL alınarak steril 1,5 mL’lik eppendorflara transfer edilmiş ve 13.000 rpm’de 5 dk santrifüj edilerek hücre pelleti çöktürülmüştür. Çöken hücre pelletinin üstünde kalan sıvı faz uzaklaştırılmıştır. Bu işlem yeterli hücre pelleti (yaklaşık 300-400 µg) elde edilinceye kadar tekrarlanmıştır. Daha sonra steril TE tamponu ile 3 kez yıkanmış ve hücre pelletleri DNA izolasyonuna kadar -20°C’da tutulmuştur.

(GTG)₅ serilerinin çoğaltılmasında her bir suş için 25 µL’lik PZR karışımı kullanılmıştır. Bu karışımın hazırlanmasında 12,5 µL master mix (GoTaq® Hot Start Colorless Master Mix), 1 µL primer, 2 µL DMSO, 1 µL DNA (50 ng/µL son konsantrasyon) ve toplam hacim 25 µL olacak şekilde steril ultra saf su kullanılmıştır. PZR işlemi 95°C’da 3 dk ön denatürasyon, 30 çevrim 95°C’da 1 dk, 45°C’da 30 sn, 72°C’da 5 dk ve 72°C’da 10 dk süre kombinasyonları ile uygulandı. PZR ürünleri % 1.5’lik agaroz jelde yürütülerek jel görüntüleme sisteminde (Vilber Lourmat, Quantum ST5) oluşan bant profilleri izlenmiştir. İzolatların jel üzerindeki bant profilleri bilgisayar ortamında BioNumerics 7.5 programı ile değerlendirilmiş (Meulen vd, 2007; Scheirlinck vd, 2008) ve % 95 benzerlik oranı dikkate alınarak gruplandırılmıştır.

3.2.8. İzolatların 16S rRNA gen bölgesi dizi analizi ile tanımlanması

İzolatların (GTG)₅ parmak izi sonuçlarından belirlenmiş 42 farklı grubu temsilen seçilmiş LAB izolatlarının tanımlanması için 16S rRNA gen bölgesi çoğaltılmıştır.

16S rDNA'nın polimeraz zincir reaksiyon işlemleri 0.2 mL'lik PZR tüplerinde Termal Cykler (MyGenie-96 Gradient Thermal Cykler, Korea) kullanılarak yapılmıştır. İzolatların (GTG)₅ parmak-izi analizinde saf olarak elde edilmiş DNA örnekleri 16S rRNA genini kodlayan DNA bölgesinin çoğaltılması forward 5'-AGA GTTTGATCCTGGCTCAG-3' ve reverse 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3' primer çiftleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (De Vuyst vd, 2002; Vancanneyt vd, 2006; Özel, 2012).

16S rRNA gen bölgesinin çoğaltılmasında her bir suş için 50 µL'lik PZR karışımı kullanılmıştır. Bu karışım için önce 1.5 mL'lik PZR tüplerinde her bir örnek için 25 µL master mix (GoTaq® Hot Start Colorless Master Mix), 1.0 µL primer (forward ve reverse) ve 21 µL steril ultra saf su karıştırılmıştır. Takiben bu karışımdan, her bir örnekten 1-5 µL DNA (50 ng/µL son konsantrasyon) DNA örnekleri içeren 0.2 mL'lik PZR tüplerine, buz üzerinde toplam reaksiyon karışımı 50 µL olacak şekilde transfer edilmiştir.

PZR işlemi 95°C'da 15 dakika ön denatürasyon, 35 çevrim 95°C'da 1 dakika, 55°C'da 1 dakika, 72°C'da 3 dakika ve 72°C'da 10 dakika süre kombinasyonları ile Termal Cykler (MyGenie-96 Gradient Thermal Cykler, Korea) kullanılarak uygulanmıştır.

Çoğaltılan PZR ürünleri % 1.5'lik agaroz jelde (30 mL 1xTBE tampon, 0.45 g agaroz) PZR DNA marker (Sigma, 50 bç) ile birlikte 100 voltta 30 dakika yürütülerek GelDoc Sistem (Vilber Lourmat, Quantum ST5) üzerinde kontrol edildikten sonra QIAquick PZR pürifikasyon kiti (Qiagen, Valencia, USA) kullanılarak saflaştırılmıştır. Saflaştırılan amplifikasyon ürünleri 16S rRNA gen bölgesinin yaklaşık uzunluğunun tamamının dizi analizi üç primer ile ABI PRISM 3730XL Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems) otomatik dizi analizi cihazı kullanılarak Macrogen Inc. (Güney Kore) firmasında gerçekleştirilmiştir. 16S rRNA gen bölgesi dizi analizinde kullanılan primerler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. LAB izolatlarının 16S rRNA gen gölgesi dizi analizinde kullanılan primerler

İsim	Diziliş	Bağlanma bölgesi (5'-3')	Kaynak
27F	AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG	8-27	Lane, 1991
800R	TAC CAG GGT ATC TAA TCC	800-782	Chun, 1995
Mg5F	AAA CTC AAA GGA ATT GAC GG	907-926	Chun, 1995

Lane (1991)'e göre: M, A:C

LAB'lerinin 16S rRNA kodlayan gen bölgesinin dizi analizleri tamamlandıktan sonra elde edilen ABI formatındaki kromatogram dosyaları Chromas versiyon 1.7.5 (C. McCarthy, School of Health Sciences, Griffith University, Queensland, Australia) ile birleştirilmiş ve EzTaxon Server (URL-13; Kim vd, 2012) kullanılarak, en yakın akraba organizmalarla olan 16S rRNA gen bölgesi nükleotit benzerliği belirlenmiştir. Filogenetik analizler için MEGA 5.2 programı, hizalama için de aynı programın CLUSTAL_W seçeneği kullanılmıştır (Tamura vd, 2011). Bootstrap testi 1000 tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.2.9. İzolatların 16S rRNA filogenisi

16S rRNA gen bölgesi dizi analizi filogenetik dendogramları neighbour-joining algoritması kullanılarak oluşturulmuştur (Saitou ve Nei, 1987). Neighbour-joining algoritması için evrimsel uzaklık matrisi olarak Jukes ve Cantor (1969), metodu izlenmiştir. Oluşturulan filogenetik ağaçların bootstrap analizleri (Felsenstein, 1985) 1000 tekrarlı olarak Mega 5.2 paket programında (Tamura vd, 2011) elde edilmiştir.

3.2.10. İzolatların *pheS* DNA dizi analizi ile tanımlanması

16S rRNA gen bölgesi dizi analizlerine göre, tanımlanmış tip türlerinden belli oranda nükleotid farklılığıyla ayrılan izolatların, tanımlanmış türlerden farklılığının ortaya konması için *pheS* gen bölgelerinin dizi analizi yapılmıştır.

Laktik asit bakterilerinin *pheS* DNA dizi analizi için fenil alanil tRNA sentetaz alfa alt unitesini kodlayan gen *pheS*21-F ve *pheS*23-R (5'-CAYCCNGCHCGYGAY ATGC-3' ve 5'-GGRTGRACCATVCCNGCHCC-3') primer çifti ile PZR uygulanarak 95°C'da 1 dk ön denatürasyonu, 30 çevrim 95°C'da 2 dk, 46°C'da 2 dk 15 sn, 72°C'da 1 dk 15 sn ve son aşamada 72°C'da 7 dk sıcaklık-süre kombinasyonu ile çoğaltılmıştır. Çoğaltılan *pheS* DNA PZR ürünü 16S rRNA gen dizi analizinde olduğu gibi saflaştırıldıktan sonra çoğaltılmasında kullanılan primerlerle MacroGen Inc. (Güney Kore) firmasında ABI PRISM 3730XL Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems) cihazı kullanılarak dizileme işlemi ve en yakın akraba organizmalarla olan *pheS* DNA nükleotit benzerliğinin belirlenmesi işlemi gerçekleştirilmesi için gönderilmiştir (Naser vd, 2005).

3.2.11. DNA-DNA Hibridizasyonu

DNA-DNA hibridizasyon deneyleri Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarlarından hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA eldesinde Marmur (1961) tarafından bildirilen şu yöntem kullanılmıştır:

İzolatlar 30°C'de LB Broth'da bir gece inkübe edilerek çoğaltılmıştır. Exponansiyel fazdaki hücreler 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek çöktürüldü ve üstteki sıvı kısım dökülerek pellet elde edilmiştir. Elde edilen pellet 20 mL Tris-EDTA tamponuyla [10 mM Tris-HCl (pH 8,0), 1 mM sodyum EDTA (pH 8,0) ve 0,35 M sukroz] süspanse edilmiş ve 250 ml'lik erlene aktarılmış ve üzerine 50 mg lizozim ilave edilerek 37°C'de hücreler lize oluncaya kadar inkübe edilmiştir. Lizis olup olmadığını test etmek amacıyla, inkübasyondaki hücre süspansiyonundan 0,1-0,2 mL örnek alınmış, küçük test tüplerine konulmuş ve 1,5 hacim lizis solüsyonu [100 mM Tris-HCl (pH 8,0), 0,3 M NaCl, 20 mM EDTA (pH 8,0), % 2 SDS, % 2 β -merkaptoetanol ve 100 μ g/mL proteinaz K içeren lizis solüsyonu içerir. Kullanılmadan hemen önce 0,5 hacim 5 M sodyum perklorat ilave edilmiş ve bu solüsyon 50-60°C su banyosunda ısıtılarak çözülmüştür] ilave edilmiştir. Lizis solüsyonunun test tüplerine ilave edildiği zaman, hücre süspansiyonunun bulanık halden oldukça yapışkan hale dönmesi hücrelerin lizis olduğunu göstermiştir. Hücre süspansiyonunun lizis olduğu belirlendikten sonra, erlendeki hücre süspansiyonuna 30 ml lisiz solüsyonu ilave edilmiş ve 50-60°C'de 1-4 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, erlene 12 mL fenol-CHCl₃ karışımı (%50 fenol : %48,5 CHCl₃ : %1,5 izopentanol : %0,1 hidroksikinolin) ilave edilmiş ve homojen karışım için 20 dakika çalkalayıcıda sallanmıştır. Takiben hücre lizati, 50 mL'lik polipropilen tüplere aktarılmış ve 17.000 xg'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra tüplerin üst kısmındaki sıvı kısım pipetle alınarak temiz bir erlene aktarılmış ve üzerine 10 mL fenol-CHCl₃ karışımı ilave edilerek tekrar 20 dakika çalkalayıcıda sallanmıştır. Takiben hücre lizati, 50 mL'lik polipropilen tüpe aktarılmış, 17.000 xg'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve tüpün üst kısmındaki sıvı, pipetle alınarak temiz bir erlene aktarılmıştır. Bu işleme, üst kısımdaki sıvı ile fenol-CHCl₃ sıvısı arasındaki ara yüzeyde protein tabakası oluşmayıncaya kadar devam edilmiştir. Son aşamada, üst kısımdaki sıvı 125 mL'lik erlene alınmış ve üzerine 0,6 hacim izopropanol ilave edilmiş ve çalkalanarak DNA'nın bir pellet oluşturması

sağlanmıştır. Erlendeki sıvı boşaltılmış ve erlende sadece DNA pelleti kalmıştır. Erlene %80'lik soğuk etanol ilave edilmiş ve 5 dakika çalkalandıktan sonra erlendeki sıvı kısım boşaltılmıştır. Etanolle yıkama işlemi, iki kez tekrar edilmiş ve son yıkama işleminden sonra, erlen yavaşça eğiltilerek DNA pelletinin erlenin dip kısmına yerleşmesi sağlanmıştır. Daha sonra erlen ters çevrilerek bir havlu kâğıt üzerine yerleştirilmiş ve 15-30 dakika 37°C'de bekletilmiştir. Takiben erlene 20 mL 0,1X standart sodyum-sitrat [SSC: 0,015 M TRIS-sodyum sitrat (pH 7,0), 0,15 M NaCl] ilave edilmiş ve DNA'nın çözülmesi için erlen çalkalanmıştır. DNA tamamiyle çözüldükten sonra, 0,25 mL RNase A ve 2,5 mL RNase T₁ solüsyonu ilave edilmiş ve 30 dakika 37°C'de inkübe edilmiştir. Sonra DNA solüsyonuna, 5 mL CHCl₃-izopentanol (% 3 izopentanol içeren kloroform) ilave edilmiş ve 20 dakika çalkalayıcıda sallanmıştır. Erlendeki DNA solüsyonu, 30 mL'lik polipropilen tüpe aktarılmış ve 17.000 xg'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra, tüpün üst kısmındaki sıvı alınarak 100 mL'lik behere aktarılmıştır. CHCl₃ sıvısı ile üst fazdaki sıvı arasında büyük bir protein tabakası oluşan örneklerde CHCl₃-izopentanol aşaması birkaç kez tekrar edilmiştir. Behere 2 mL 3 M sodyum asetat ilave edilip karıştırıldıktan sonra 2 hacim %95'lik etanol ilave edilmiş ve DNA'nın tekrar bir pellet oluşturması sağlanmıştır. Bir cam çubuk beher içinde döndürülüp karıştırılarak DNA'nın cam çubuk üzerine sarılması sağlanmıştır. Cam çubuk 10-20 mL % 80'lik soğuk etanol ile yıkanmış ve bir test tüpü rakına dik şekilde konarak kurutulmuştur. Daha sonra cam çubuk 3-5 mL 0,1X SSC içeren kapaklı test tüplerine yerleştirilip bir gece buzdolabında bekletilerek DNA'nın çözülmesi sağlanmış ve elde edilen çözülmüş DNA'lar -20°C'de saklanmıştır.

DNA-DNA benzerlik seviyesi De Ley vd (197) tarafından geliştirilen DNA-DNA hibridizasyon yöntemine göre belirlenmiştir.

DNA-DNA benzerlik seviyesiniğ belirlemek için izole edilen genomik DNA'lar, konsantrasyonu 0,4 µg/mL olacak şekilde 0,1X SSC tamponu ile seyreltilmiş ve Sartorius Labsonic M (BBI-8535035) sonikatöründe 0,4 mA'de 3 dakika sonikasyona maruz bırakılmıştır. Sonikasyondan sonra, DNA örnekleri % 1,4'lük agaroz jelde yürütülerek fragment uzunluğunun tekdüzeliği kontrol edilmiştir. Kırılan DNA'lar, konsantrasyonu 75-80 µg/mL olacak şekilde 0,1X SSC tamponu içerisinde seyreltilmiş ve seyreltilen her iki bakterinin DNA'sı, kapaklı Quartz spektrofotometre küvetlerine konulmuş ayrı ayrı ve üçüncü bir küvete de, her

iki bakterinin seyreltilen DNA'sı eşit hacimlerde konulmuştur. Daha sonra küvetler, sıcaklık ünitesine sahip olan Varian Cary 100 Bio UV/VIS spektrofotometre cihazına yerleştirilmiş ve 95°C'de bekletilerek DNA'ların denatüre edilmesi sağlanmıştır. Hemen sonra, sıcaklık optimum renatürasyon sıcaklığına (T_{OR}) indirilmiş ve 260 nm dalga boyundaki absorbans değerleri belli aralıklarla ölçülmüştür. T_{OR} , aşağıda belirtilen dekleme göre hesaplanmıştır:

$$T_{OR} : 0,51 \times (mol \% G+C) + 47 \quad (3.4)$$

Her üç küvet için ayrı ayrı dakikaya karşı absorbans değerlerini içeren grafikler çizilmiştir. Her bir grafiğin eğimi yani yeniden birleşme oranları (ϕ) ayrı ayrı hesaplanmış ve aşağıda belirtilen denklemdeki yerlerine konularak bu iki bakterinin DNA'ları arasındaki benzerlik hesaplanmıştır:

$$\%D = ((4 \times \phi_M - \phi_A - \phi_B) \times 100) / (2 \times ((\phi_A \times \phi_B)^{(1/2)})) \quad (3.5)$$

3.2.12. Ekşihamur laktik asit bakterilerinin gluten parçalama yeteneğinin belirlenmesi

Her bir gruptan alınarak tanımlanan LAB türlerinin gluten üzerine etkisi gluten içeren katı besiyerinde Wehrle vd (1999) tarafından verilen yöntem, modifiye edilerek belirlenmiştir. Test için glutenli besiyeri (15 g agar, 10 g gluten, 5.6 g tripton, 2.5 g maya ekstraktı, 1 g glukoz, 2 g $CaCl_2$, 4 g sitrik asit monohidrat, 28.8 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ tartılıp destile su ile 1 L'ye konmuş olup, 7 pH değerine ayarlanmıştır) hazırlanmış ve mikrodalga fırında eritildikten sonra otoklavda 105°C'de 10 dakika sterilize edilmiştir. Petri kutularına dökme işleminden önce glutenin topaklanmasını gidermek için sterilize edilmiş besiyeri steril koşullarda ultraturaks kullanılarak homojenize edilmiştir. Katılaştıran glutenli besiyeri petrilerinde 6 mm çaplı 6 adet oyuk açılmış ve tabanları aynı besiyeri ile kapatılmıştır.

Test edilecek bakteri kültürleri 10 mL MRS-5 broth besiyerinde 30°C'da 18 saat inkübe edilmiş ($\sim 10^9$ KOB/mL) ve bu kültürden 5 mL alınarak 5.000 xg de 10 dk santrifüjlenmiştir (Hettich). Elde edilen pellet 5 mL steril fizyolojik su ile süspanse edilmiştir. Besiyerindeki kuyucuklara bu süspansiyondan 100 μ L ilave edilmiş ve 30°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, petri kutularına Coomassie brilliant blue R-250 içeren boyama çözeltisi (1 g Coomassie brilliant blue R-250, 500 mL methanol, 92 mL asetik asit, 1000 mL saf su) dökülüp 5 dk

bekletilmiştir. Takiben boya çözeltisi dökülmüş ve etanol/asetik asit yıkama çözeltisinde (250 mL ethanol, 50 mL asetik asit, 1000 mL saf su) bir gece bekletilerek boya giderilmiştir. Oyuk etrafında berrak zon çapı ölçülerek izolatların gluten parçalama yeteneği belirlenmiştir (Wehrle vd, 1999).

3.2.13. Gluten parçalamadan sorumlu enzimin hücrede yerleşim yerinin belirlenmesi

Gluten parçalama yeteneğinden sorumlu enzimin ekzo veya endo enzim olup olmadığının belirlenmesi için de glutenli besiyeri ve aynı bileşimde sitrik asit monohidrat miktarı 13 g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ miktarı da 13.5 g'a çıkarılarak (otoklavdan sonra katılır) pH 4'te de hazırlanan besiyeri petrilerinde 6 mm çaplı 6 adet kuyu açılmış ve tabanları aynı besiyeri ile kapatılmıştır. Test edilecek bakteri kültürleri 10 mL MRS-5 broth besiyerinde 30°C ve 37°C'da 18 saat inkübe edilmiş ($\sim 10^9$ KOB/mL) ve bundan 5 mL alınarak 5000 g'de 10 dk santrifüjlenmiştir (Hettich). Süpernatant temiz bir tüpe alınarak ekzoenzimler açısından incelemede kullanılmıştır. Santrifüj tüpünde kalan hücre pelleti 1 mL 50 mM Tris-HCl (pH 8) tampon çözeltisi ile yıkanmıştır. Elde edilen besiyeri bulaşıklığı giderilmiş pellet üzerine 20 mg/mL lizozim içeren 50 mM Tris-HCl (pH 8) tampon çözeltisinden 200 µl ve 150-200 µm çapındaki cam partikülleri içeren cam tozundan 50 mg eklenmiştir. Takiben 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakılarak lizozimin hücre duvarlarına etkisi sağlanmış ve 3 dk vortekslenerek mekanik parçalanma temin edilmiştir. Cam tozunun ve hücre kalıntılarının çöktürülmesi için 10000 xg değerinde 5 dk santrifüjlendikten sonra endoenzimleri içeren süpernatant elde edilmiştir (Zotta vd, 2007).

Her petriye (pH 4 ve pH 7'ye ayrı ayrı) biri endoenzim, biri ekzoenzim, diğeri de ikisinin karışımı olmak üzere 3 örnekten paralelli olarak kuyulara 40'ar µL konulmuş ve petriler 30°C'da 48 saat inkübe edilmiştir. Bu basamakta MRS broth besiyeri ve Tris-HCl (pH 8) tamponu da kontrol grubu olarak ayrı petrilerdeki kuyulara konularak aynı işleme tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonunda, petri kutularına Coomassie brilliant blue R-250 içeren boyama çözeltisi dökülüp 1 dk beklenmiş, boya dökülmüş ve takiben etanol/asetik asit boya yıkama çözeltisi konularak bir gece bekletilmiştir (Wehrle vd, 1999). Kuyu etrafındaki berrak zon çapı ölçülerek izolatların ekzo veya endoenzimle gluten parçalama yeteneği

belirlenmiştir.

3.2.14. Fitik asit parçalama yeteneğinin belirlenmesi

Katı besiyerinde LAB izolatlarının fitik asit yıkım yeteneklerini saptamak için Palacios vd. (2008) ile Raghavendra ve Halami (2009) tarafından verilen, modifiye MRS-MOPS besiyeri (MRS besiyeri bileşiminde bulunan inorganik fosfat bileşenleri yerine 4 g/L sodyum fitat ve 0,1 M 3-[N-Morpholino] propanosülfonik asit (MOPS) ilave edilerek glikoz, fruktoz, maltoz, maya ekstraktı ve et ekstraktı miktarı sırasıyla 5, 2.5, 2.5, 2 ve 4 g/L olacak şekilde) kullanılmıştır. Besiyeri bileşiminde ön denemelere göre sodyum fitat ve şeker miktarlarında değişiklikler yapılmıştır. Test için % 5 kültür ile aşılardan MRS-MOPS sıvı besiyeri 30°C'da 24 saat inkübe edilmiştir. Aynı şartlarda bir kez daha çoğaltma yapılmış ve elde edilen kültürden MRS-MOPS agar besiyerine nokta ekim yapılmış ve 30°C'da 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra besiyeri yüzeyi saf su ile yıkanarak koloniler besiyerinden uzaklaştırılmış ve petri kutusuna % 2'lik kobalt klorür çözeltisi eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda çözelti dökülerek yerine taze hazırlanmış eşit hacimde % 6.25'lik amonyum molibdat çözeltisi ve % 0.42'lik amonyum meta-vanadat çözeltisi karışımı eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Takiben çözelti dökülmüş ve şeffaf zonun varlığı incelenerek oluşan zonların çapı ölçülmüştür (Bae vd, 1999; Raghavendra ve Halami, 2009).

3.2.15. Gluten parçalayan laktik asit bakterilerinin gerçek ekşihamur sisteminde proteolitik etkisi

LAB'lerinin ekşihamur sisteminde proteolitik etkisi Zotta vd (2006), Zotta vd (2007) ve Güre (2009) tarafından verilen, metot ile test edilmiştir. Bu amaçla ekşihamurlardan izole edilen gluten parçalama yeteneğine sahip LAB'leri Çizelge 3.2'de bileşimi verilen yarı-sıvı hamurlara aşılardan 30°C'da 48 saat fermente edilmiştir. Polipeptidlerde asidifikasyon kaynaklı olabilecek modifikasyonları bakteriyel proteolize bağlı değişimlerden ayırt edebilmek için nötral ve asitlendirilmiş kontrol hamurlarında mikrobiyal gelişimi inhibe etmek için sikloheksimid ve kloramfenikol kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Kontrol ve laktik asit bakteri kültürlü ekşihamurların formülasyonları

Katkı	Nötral kontrol hamuru	Asidik kontrol hamuru	LAB aşılanmış hamur
Un (g)	20	20	20
Su (mL)	20	20	18
NaCl (g)	0.4	0,4	0.4
Asit çözeltisi (µL)*	0	120	0
Sikloheksimid (µL)**	200	200	200
Kloramfenikol (µL)***	200	200	0
LAB kültürü (mL)	0	0	2

*: 4 hacim % 90'lık laktik asit ve 1 hacim % 98'lik asetik asit karışımı

** : 1 g sikloheksimid / L

***: 1 g kloramfenikol / L

Fermantasyonun 24. ve 48. saatlerinde 2.5 g hamur örneği alınarak üzerine 7.5 mL 0.5 M NaCl-150 mM sodyum fosfat tamponu (pH 6,8) ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 10 dk'da bir vortekslenerek 30 dk süreyle albumin, globulin proteinleri ekstrakte edilmiştir. Takiben 4 °C'da 18000 x g'de 15 dk santrifüjlenerek (Hettich) albumin ve globulinleri içeren üst sıvı ayrılmıştır. Kalan pellet aynı çözelti ile ve sonra da saf su ile yıkanarak santrifüjlenmiş ve üst sıvı kısımlar atılmıştır. Takiben pelletler üzerine 7.5 mL 1-propanol (% 50 v/v) eklenmiş, oda sıcaklığında 30 dk (10 dk'da bir vortekslenerek) bekletilerek hamurdaki gliadin proteinleri ekstrakte edilmiş ve süre sonunda 4°C'da 18000 xg'de 15 dk santrifüjlenerek supernatantta kalan gliadin proteinleri ayrılmıştır.

Kalan pellet alkol çözeltisi ve sonra saf su ile yıkanarak santrifüjlenmiş ve supernatantları atılmıştır. Kalan peletler üzerine 50 mM Tris-HCl - % 1 SDS - % 0.5 DTT (pH 8.8) çözeltisi ilave edilmiş, oda sıcaklığında 30 dk (10 dk'da bir vortekslenecek) bekletilerek hamurdaki glutenin proteinleri ekstrakte edilmiş ve süre sonunda 4°C'de 18000 x g'de 15 dk santrifüjlenerek supernatantta kalan glutenin proteinleri ayrılmıştır. Glutenin ekstraktları elektroforez uygulamasında kullanılmak üzere -20°C'da saklanmıştır.

SDS-PAGE için 100 µL protein ekstraktı 300 µL örnek tamponu ile seyreltilmiş ve üzerine 10 µL merkaptetanol ilave edilerek 100°C'da 5 dk kaynatılarak proteinlerin denatürasyonu sağlanmıştır. Elektroforez için % 12 konsantrasyonlu ayırma ve % 3.5 konsantrasyonlu ön ayırma jeli (stacking gel) Cleaver Scientific Mini Gel kaseti kullanılarak hazırlanmış ve polimerleşmenin ardından elektroforez tankına yerleştirilip hazırlanan 1x yürütme tamponundan konulmuştur. Kuyucuklara her örnek için yaklaşık 30 µg protein içeren 20 µL örnek

yüklenerek güç kaynağına (Consort E844) bağlanmış ve 20 mA sabit akımda yaklaşık 2 saat yürütülmüştür.

3.2.16. Fitat parçalayan laktik asit bakterilerinin gerçek ekşihamur sisteminde fitik asit miktarına etkisi

Ekşihamurda fitik asit içeriğinin saptanmasında Güzelcan ve El (2011), Talamond vd (1998) tarafından, geliştirildiği Ledesma vd (2005) tarafından, modifiye edildiği belirtilen yöntem kullanılmıştır. Yöntemin prensibi fitik asit ile FeCl_3 'ün ferrik fitat kompleksini oluşturması ve kolorimetrik ajan olarak amonyum tiyosiyanatın uygulanarak serum kısmında kalan demir miktarının spektrofotometrik yolla tayin edilmesi esasına dayanmaktadır. 1.8 g örneğe 25 mL 0.5 M HNO_3 eklenmiş ve oda sıcaklığında çalkalamalı su banyosunda 3-4 saat inkübe edilmiş, 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra süzölmüştür (Whatman no. 5309-125). Süzöntüden alınacak 1 mL'ye 0.90 mL distile su ve 1 mL 50 $\mu\text{g/mL}$ Fe^{+3} çözeltisi eklenmiş ve tüpler vortekslenmiştir. Fitat ile demir moleküllerinin şelat oluşturması için 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra tüplerin ağzı kapatılıp kaynayan su banyosunda 20 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda tüpler soğuk suya batırılarak oda sıcaklığına soğutulmuş ve her tüpe 1 mL distile su eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Üzerine 0.05 mL NH_4SCN çözeltisi (100 g/L) eklenip tekrar vorteks ile karıştırılmıştır ve spektrofotometrede 465 nm'de okuma yapılmıştır. Hem fermente edilen ekşihamurlarda hem de nötral ve asitlendirilmiş kontrol hamurlarında fitik asit analizi yapılarak elde edilen sonuçlardan LAB suşlarının etkinliği hesaplanmıştır.

3.2.17. Ekşihamur laktik asit bakterilerinin bazı endüstriyel özellikleri

Toplam asit üretimi

30 mL MRS broth besiyerlerine 18 saatlik kültürden % 1 aşılama yapıp 30°C'da 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 1., 2., 3., 6. ve 7. günlerinde alınarak 5'er mL örnekte 0.1 M NaOH ile titrimetrik olarak toplam asit üretme yeteneği belirlenmiştir. Ayrıca 7. gün pH ölçümü de gerçekleştirilmiştir (Evren 1991; Papamanoli vd, 2003).

Glukozdan gaz üretimi

LAB'lerinin glukozdan gaz üretimi Schillinger ve Lücke (1987) tarafından verilen yöntem modifiye edilerek sitratsız MRS broth besiyerinde Durham tüpü eşliğinde belirlenmiştir. 18 saatlik kültürlerle aşılınmış sitratsız MRS broth besiyerinde 30°C'da 7 gün inkübasyon süresince her gün durham tüpü içerisinde gaz oluşumu gözlenmiş ve gaz gözlenenler pozitif olarak işaretlenmiştir.

Farklı pH değerlerinde gelişme

3.0 ve 3.5 pH'ya sahip 3 mL MRS broth besiyerine 18 saatlik kültürden öze ile aşılama yapılmış ve 30°C'da 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Bulanıklık oluşan tüpler gelişme pozitif olarak değerlendirilmiştir (Papamanoli vd, 2003; G-allegria vd, 2004).

Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme

% 3.0 ve 5.0 NaCl içeren 3 mL MRS broth besiyerine 18 saatlik kültürden öze ile aşılama yapıp, 30°C'da 7 gün inkübe edilmiştir. Bulanıklık oluşan tüplerde gelişme pozitif olarak değerlendirilmiştir (Sánchez vd, 2000; Randazzo vd, 2004).

Safra tuzuna dayanıklılık

Safra tuzuna dayanıklılık için MRS agar ve % 5 ox-bile içeren petrilere 18 saatlik kültürden öze ile nokta ekim yapılarak 30°C'da 7 gün inkübe edilmiş ve koloni oluşturan izolatlar besiyerinin içerdiği miktardaki safra tuzuna dayanıklı olarak kabul edilmiştir (Cebeci ve Gürakan 2003; Papamanoli vd, 2003).

Alkole dayanıklılık

Alkol testi için 18 saatlik kültürden % 10 oranında etil alkol içeren 3 mL'lik MRS broth besiyerine öze ile aşılama yapıp 30°C'da 7 gün inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonucu bulanıklık meydana gelen tüpler pozitif olarak değerlendirilmiştir (G-Allegria vd, 2004).

Farklı sıcaklıklarda gelişme

18 saatlik LAB kültüründen 3 mL'lik MRS broth besiyerine öze ile aşılama yapıp 10°C ve 15°C sıcaklıkta 7 gün maksimum-minimum termometre varlığında inkübe edilemiş bulanıklığın olduğu tüpler pozitif, olmadığı tüpler negatif kabul edilmiştir (Papamanoli vd, 2003; Şimşek vd, 2006; Kostinek vd, 2007)

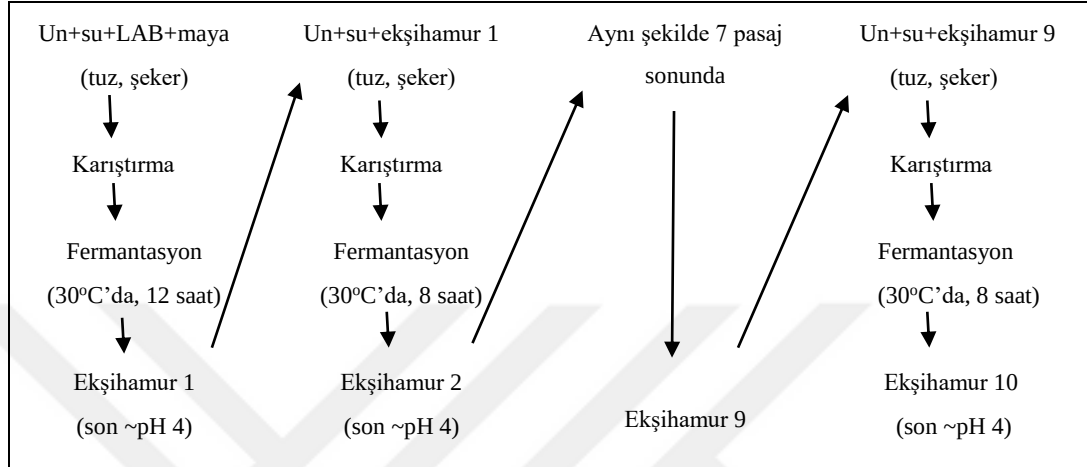
Antimikrobiyal aktivite varlığı

LAB'lerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde de Schillinger ve Lücke (1989) tarafından bildirilen "Agar Spot Testi" kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivitesi test edilecek bakteri suşunun bir gecelik kültüründen 10 µl bir gün önce hazırlanmış MRS-0.2 plaklarına birbirinden en az 30 mm aralıklı olacak şekilde aktarılmış ve plaklar 30°C'da 24 saat anaerobik şartlarda inkübe edilmiştir. OD₆₀₀=0.2-0.3 oluncaya kadar geliştirilen indikatör mikroorganizmalar 7 mL MRS-0.2 veya TSBYE (Trypton soya broth ve % 0.6 maya özütü) yarı katı besiyerine % 3 oranında aşılanmış ve denenecek üretici suşun daha önce geliştirildiği plaklar üzerine ikinci bir katman olarak dökülmüştür. Besiyeri katılaştıktan sonra plaklar 30°C'da 24 saat aerobik/anaerobik koşullarda inkübe edilmiş ve denenen suşun kolonileri etrafındaki çoğalma olmayan, berrak alanlar ölçülmüştür. Denemelerde *B. subtilis* NRRL B-209^T, *E. coli* ATCC 25922^T ve *S. aureus* ATCC 33862^T indikatör mikroorganizma olarak kullanılmıştır.

3.2.18. Seçilmiş laktik asit bakterilerinin back-slopping işleminde stabilitesi

Endüstriyel özellikleri dikkate alınarak seçilen starter kültür LAB suşları kullanılarak back-slopping ile ardışık olarak 10 kez ekşihamur üretilmiştir. Ekşihamur 1, ekşihamur 6 ve ekşihamur 10'da mikrobiyolojik sayımlar yapılmıştır. Bu amaçla seçilmiş 12 ekşihamur LAB izolatu MRS-5 broth'da 18 saat çoğaltıldıktan sonra 5000 rpm değerinde 10 dakika santrifüjlenerek çöktürülmüş ve hücre çökeltisi eşdeğer hacimde steril fizyolojik su ile süspanse edilerek ilk hamur için aşılama materyali olarak kullanılmıştır. Hamurların hazırlanmasında ışınlama ile sterilize edilmiş un kullanılarak aşılama kültürler dışında mikroorganizma bulunmaması sağlanmıştır. Belirtilen şekilde hazırlanmış laktik asit bakteri süspanسیونlarından % 2 ve kuru ticari ekmek mayasından üretici firmanın önerdiği miktarda aşılanarak ışınlama ile

sterilize edilmiş unlardan yoğurulan hamurlar 30°C’da pH değeri 4.0 pH ve altına düşecek şekilde fermantasyona bırakılmıştır. Takiben LAB sayısı siklohekzimid katkılı MRS-5C, maya sayımları da DRBC besiyerlerinde yapılarak refakatçi mikroorganizmanın gelişmemesi sağlanmıştır. Aynı hamurlarda pH ve % toplam asitlik analizleri de gerçekleştirilmiştir. Üretim akış şeması Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Ekşihamur üretim akış şeması

3.2.19. İstatistiksel Analiz

Fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler iller (Samsun, Trabzon, Ordu, Giresun) ile yaz ve kış dönemi olmak üzere 2x4 faktöriyel düzende deneme planına göre 2 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Elde edilen veriler SPSS 22 paket programında tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuş, örnekler arasındaki farkı karşılaştırmak amacıyla Duncan testi uygulanmıştır ($P<0.05$). Varyans analiz tablosu Ek 1-4’de verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Ekşihamur Örneklerinin Fizikokimyasal Özellikleri

Ekşihamur örneklerinin temel fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Toplam 54 farklı ekşihamur örneğinde kış ve yaz dönemi elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Karadeniz Bölgesi kış dönemi ekşihamurlarının fizikokimyasal sonuçları

İl	Örnek No	pH Değeri		Asit dercesi	Toplam Asitlik	KM (%)	Kül (%)
		Katı elektrot	Sıvı elektrot				
Samsun	1	4.47	4.40	7.25	0.64	54.87	0.85
	2	4.95	4.87	5.00	0.45	52.83	0.83
	3	4.60	4.68	6.25	0.50	53.30	0.95
	4	4.75	4.85	4.00	0.45	52.51	0.64
	5	5.33	5.50	2.50	0.26	52.98	0.79
	6	4.36	4.35	3.00	0.81	65.91	0.66
	7	5.43	5.54	2.50	0.23	57.38	0.61
	Ort.	4.84	4.88	4.36	0.48	55.69	0.76
Giresun	8	5.21	5.47	4.00	0.25	49.59	0.63
	9	4.57	4.51	7.00	0.33	52.98	0.48
	10	4.18	4.21	7.75	0.54	53.32	0.63
	11	4.44	4.50	6.25	0.71	51.95	0.65
	26	4.76	4.68	6.00	0.61	53.94	0.54
	27	4.44	4.53	6.25	0.66	52.93	0.57
	28	4.46	4.39	6.25	0.66	58.08	0.65
	Ort.	4.58	4.61	6.21	0.54	53.26	0.59
Trabzon	12	4.33	4.35	5.50	0.40	58.66	0.67
	13	4.32	4.38	7.00	0.40	52.83	0.60
	14	4.36	4.41	5.75	0.45	53.36	0.56
	15	4.14	4.16	7.75	0.53	56.67	0.55
	16	4.61	4.62	8.00	0.49	50.27	0.88
	17	4.47	4.49	4.50	0.35	54.12	0.66
	18	4.84	4.77	5.00	0.23	52.68	0.54
	19	5.06	5.19	3.50	0.26	54.00	0.57
	Ort.	4.52	4.54	5.88	0.39	54.07	0.63
Ordu	21	4.68	4.62	6.25	0.51	52.31	0.57
	22	4.08	4.11	8.25	0.88	54.18	0.63
	23	4.48	4.43	5.50	0.59	59.11	0.45
	24	4.28	4.36	7.75	0.66	56.95	0.59
	25	4.21	4.24	7.50	0.76	52.51	0.69
	Ort.	4.35	4.35	7.05	0.68	55.01	0.59
Genel Ort.		4.58	4.60	5.83	0.51	54.47	0.64

Çizelge 4.2. Karadeniz Bölgesi yaz dönemi ekşihamurlarının fizikokimyasal sonuçları

İl	Örnek No	pH Değeri		Asit derecesi	Toplam Asitlik	KM (%)	Kül (%)
		Katı elektrot	Sıvı elektrot				
Samsun	1	4.09	3.97	8.75	0.74	56.53	0.68
	2	3.76	3.78	8.50	0.79	55.16	0.62
	3	4.48	4.45	4.50	0.41	54.91	0.59
	4	4.15	4.05	5.50	0.56	55.78	0.55
	5	3.82	3.86	7.25	0.76	59.14	0.50
	6	3.73	3.76	11.25	0.98	59.17	0.62
	7	3.30	3.44	20.50	1.79	61.05	0.65
	Ort.	3.90	3.90	9.46	0.86	57.39	0.60
Giresun	8	4.29	3.97	4.00	0.38	60.58	0.54
	9	3.81	4.19	5.75	0.54	51.23	0.49
	10	3.82	3.63	9.25	0.93	52.64	0.53
	11	4.23	4.15	5.75	0.67	54.33	0.62
	26	3.54	3.75	7.50	0.71	61.60	0.48
	27	4.24	3.71	6.00	0.37	55.31	0.55
	28	3.74	4.57	4.50	0.52	62.17	0.50
	Ort.	3.95	3.99	6.11	0.59	56.84	0.53
Trabzon	12	3.40	3.75	7.75	0.85	56.20	0.61
	13	4.07	4.06	5.00	0.62	54.40	0.59
	14	3.76	3.73	3.25	0.83	57.13	0.34
	15	3.55	3.72	6.75	0.85	58.17	0.54
	16	3.39	3.62	10.00	1.04	49.05	0.64
	17	3.95	4.16	4.75	0.61	52.94	0.59
	18	3.63	3.82	5.00	0.76	51.88	0.61
	19	4.05	4.17	4.75	0.57	52.74	0.56
	Ort.	3.72	3.87	5.91	0.77	54.06	0.56
Ordu	21	3.37	4.40	9.75	0.75	54.78	0.54
	22	3.86	4.12	6.50	0.63	55.06	0.48
	23	3.41	3.59	9.25	0.91	57.99	0.57
	24	4.33	4.64	4.00	0.40	54.26	0.56
	25	4.12	4.24	3.00	0.33	59.16	0.53
	Ort.	3.82	4.20	6.50	0.60	56.25	0.54
Genel Ort.		3.85	3.97	6.99	0.71	56.05	0.56

Karadeniz Bölgesi ekşihamur örneklerinin kış dönemi pH değeri katı örnek elektrotu ile yapılan analizde 4.08-5.43 pH arasında değişmiş ve ortalama 4.58 pH olarak; sıvı örnek elektrotu ile yapılan analizde de 4.11-5.54 pH arasında değişmiş ve ortalama 4.60 pH olarak belirlenmiştir. Yaz döneminde ise pH değeri katı örnek elektrotu ile yapılan analizde 3.30-4.48 pH arasında değişmiş ve ortalama 3.85 pH olarak; sıvı örnek elektrotu ile yapılan analizde de 3.44-4.64 pH arasında değişmiş ve ortalama 3.97 pH olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar arasındaki farklılık ekşihamur mayası kullanım oranı, fermentasyon süresi ve ekşihamur florasındaki

LAB türü muhtemel farklılığına bağlanabilir. Yaz döneminde pH değeri kış dönemine göre belirgin şekilde daha düşük belirlenmiştir. Bu durum işletmelerde iklimlendirme sistemleri olmaması nedeni ile beklenen bir durumdur.

Kotancılar vd (2006) tarafından, Trabzon ekmeğinin ekşi hamur katkısı arttıkça ve fermentasyon süresi uzadıkça ekmeklerin pH değerlerinin önemli derecede azaldığı, süreye bağlı olarak 4.85-5.34 pH arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. Yağmur (2013) tarafından, ekşihamur laktik asit bakteri ve mayalarının belirlendiği çalışmada ekşihamurların pH değerinin 3.77-5.44 arasında değiştiği; Manini vd (2016) tarafından da 8 saatlik fermentasyon sonunda elde edilen pH değerlerinin 4.1-5.6 arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu veriler çalışma sonuçlarından özellikle kış döneminde elde edilen sonuçlar ile uyumludur. Bununla birlikte pH sonuçlarını yaz dönemi çalışma sonuçlarına benzer şekilde daha düşük olarak bildiren literatürler de bulunmaktadır. Örneğin, Gül vd (2005) tarafından, Isparta'da yürütülen çalışmada ekşihamur pH değeri 3.65-5.55 pH arasında ve ortalama 4.11 pH olarak belirlenmiştir. Lönner vd (1986), tarafından İsveç çavdar unundan hazırlanan ekşi hamurlarının son pH'sı 4.1 pH olarak; Spicher vd (1981) tarafından da hazırladıkları ekşihamurda fermentasyon sonlarına doğru pH'nın 3.8-4.4 arasında değiştiği bildirilmiştir. Dıgırak ve Özçelik (1991), Elazığ ve yöresinden topladıkları ekşi hamur örneklerinde pH'nın 4.15 olduğunu tespit etmişlerdir. Şimşek (2003) tarafından da Uşak İli civarında fırınlardan toplanan 60 ekşi hamur örneğinin pH sonuçlarının 3.50-3.94 arasında değiştiği ve ortalama 3.71 olarak belirlendiği bildirilmiştir.

Meroth vd (2003), ekşihamurun bakteriyel popülasyonunu inceledikleri çalışmalarında örneklerin son pH değerinin 3.4-3.9 arasında değiştiğini; Pepe vd (2004), 14 adet ekşihamur örneğinin teknolojik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında ekşihamurların pH değerinin 3.5-4.3 arasında değiştiğini; Kömen (2010), ekşihamur fermentasyonundaki gliadin proteini değişikliklerini incelediği çalışmada fermentasyon sonunda ekşihamurların pH değerinin 3.84-3.52 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Ekşihamur örneklerinin pH değerinin Akgün (2007), 3.86-4.16 arasında değiştiğini; Minervini vd (2011), 3.7-4.28 arasında değiştiğini Paramithiotis vd (2007), 3.35-6.5 arasında değiştiğini; Vrancken vd (2011), Tip I ekşihamurlarında 3.3-3.7 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Lhomme vd (2015) tarafından, Fransız ekşihamurları mikrobiotası üzerine yapılan çalışmada ekşihamurların pH değeri 3.23-4.01 arasında; Rizzello vd (2015) tarafından, *Triticum*

durum buğdayından elde ettikleri ekşi hamur fermentasyonunda pH değeri 4.26-4.47 arasında; Plessas vd (2009) tarafından da yeni starter kültür uygulamalarının denendiği çalışmada tek kültür içeren ekşihamurların pH değeri 4.3-4.7 arasında; karışık kültür içerenlerin 3.9-4.7 arasında bulunduğu belirlenmiştir. Ravyst vd (2011), 24 saat fermentasyona bırakılan ekşihamurların pH değerlerinin 3.1-3.9 arasında değiştiğini; Dertli vd (2016) ise 12 adet geleneksel ekşihamur örneğinin pH değerinin 3.37-3.95 arasında değiştiğini belirlemiştir.

Ekşihamur örneklerinin kış döneminde asitlik derecesi değeri 2.50-8.25 arasında değişmiş ve ortalama 5.83 olarak; toplam asitlik değeri de % 0.23-0.88 arasında değişmiş ve ortalama % 0.51 olarak belirlenmiştir. Yaz döneminde ise asitlik derecesi 3.00-20.50 arasında değişmiş ve ortalama 6.99 olarak; toplam asitlik değeri de % 0.33-1.79 arasında değişmiş ve ortalama %0.71 olarak belirlenmiştir.

Ekşihamurların asitlik derecesi değeri Meroth vd (2003) tarafından, 4.4 ve 20.5 arasında; Yağmur (2013) tarafından, 4.03-14.63 arasında belirlenmiştir. Kömen (2010) 24 saatlik fermentasyon sonunda ekşihamurların asitlik derecesini 7.17-12.63 olarak, 48 saatlik fermentasyon sonunda ise 13.49-17.34 olarak belirlenmiştir. Bu veriler yaz döneminde elde edilen sonuçlara yakındır. Lhomme vd (2015) tarafından, 8.3-22.1 arasında; Rizzello vd (2015) tarafından, 8.9-11.5 arasında; Plasses vd (2009) tarafından, 7.1-11 arasında belirlenen asitlik derecesi değerleri de yaz döneminde elde edilen asitlik derecesi değerlerine benzerlik göstermektedir.

Ekşihamurda asitlik dereesi Gül vd (2005) tarafından, 4.2-14.0 arasında değiştiği, ortalama 8.33 olduğu; Manini vd (2016) tarafından da 4.4 ve 10.2 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu değerler çalışmada kış döneminde elde edilen değerlerden biraz yüksek olmakla birlikte benzer şekilde geniş bir aralıkta değişim göstermektedir. Şimşek (2003) ise Uşak İli civarında fırınlardan aldığı ekşi hamur örneklerinin asitlik derecelerinin 7.6-19.3 arasında değiştiğini ve ortalama 13.2 olduğunu bildirmiştir. Bu değerler çalışma sonuçlarından daha yüksektir. Pepe vd (2004), ekşihamurlarda asitlik derecesinin 2-6.4 arasında değiştiğini belirlemiştir.

Ekşihamur örneklerinin % kurumadde oranı kış döneminde % 49.59-65.91 arasında değişmiş ve ortalama % 54.47 olarak belirlenmiştir. % Kül oranları da % 0.45-0.95 arasında değişmiş ve ortalama % 0,64 olarak belirlenmiştir. Yaz döneminde ise kurumadde oranı % 49.05-62.17 arasında değişmiş ve ortalama %

56.05 olarak belirlenmiştir. % Kül oranları da % 0.34-0.68 arasında değişmiş ve ortalama % 0.56 olarak belirlenmiştir.

Şimşek (2003) tarafından, Uşak İli ekşi hamur örneklerinin kurumadde değerleri % 43.0-58.6 arasında ve ortalama %50.4 olarak; Gül vd (2005) tarafından da %38.3-61.3 arasında ve ortalama %53.02 olarak belirlenmiştir. Yağmur (2013), ekşihamurların kurumadde değerini % 52.48-60.11 olarak belirlemiştir. Literatür verileri çalışma sonuçları ile uyumludur.

Çağlıyan (2008) tarafından, genel bilgi olarak Trabzon ekmeklerinin %52 kurumadde içerdiğini belirtmiş, çalışmalarında ise İzmir yöresinde üretilen Trabzon ekmeklerinin kurumadde oranlarını % 60.25-63.47 arasında belirlemişlerdir. Rizzello vd (2015), durum buğdayından elde ettikleri ekşihamurda kül miktarını 0.9 ve 1.0 arasında belirlemiştir. Kül miktarı Çağlıyan (2008) tarafından, İzmir yöresi Trabzon ekmeklerinde % 0.92-1.43 arasında; Ogunsakin vd (2015) tarafından, *Pediococcus pentosaceus* içeren sorgum ekşihamur ekmeğinde % 1.5 olarak belirlenmiştir. Bu değerler elde ettiğimiz verilerden yüksektir.

Karadeniz Bölgesi ekşihamurlarının kış ve yaz dönemindeki fizikokimyasal özellikleri il bazındaki farklılıklar açısından değerlendirilmiş ve değerlendirme sonuçları çizelge 4.3'de verilmiştir. İllere göre yapılan değerlendirmede pH değerleri açısından kış dönemi ekşihamurları içerisinde en yüksek pH değerine sahip Samsun örnekleri, en düşük pH değerine sahip Ordu örneklerinden farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Yaz dönemi örnekleri arasında ise iller arasında istatistik anlamında önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$).

Asitlik derecesi kış döneminde en yüksek Ordu İli örneklerinde belirlenmiş ve bunu sırası ile Giresun ve Trabzon İli örnekleri takip etmiştir. En düşük asitlik derecesi değeri ise Samsun İli örneklerinde saptanmıştır. Asitlik derecesinde Samsun İli örnekleri Giresun ve Ordu İli örneklerden farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Yaz döneminde ise en yüksek asitlik derecesi değeri Samsun İli örneklerinde belirlenmiş bunu sırası ile Ordu, Giresun ve Trabzon örnekleri takip etmiş olmakla birlikte aralarındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$).

Çizelge 4.3. Kış ve yaz dönemi ekşihamurlarının fizikokimyasal özelliklerinin illere göre değişimi*

	İl	N	pH Değeri		Asitlik derecesi	Toplam Asitlik	KM (%)	Kül (%)
			Katı elektrot	Sıvı elektrot				
Kış Dönemi	Samsun	7	4.84±0.41 ^a	4.88±0.48 ^a	4.36±1.88 ^b	0.48±0.20 ^b	55.68±4.82 ^a	0.76±0.13 ^a
	Giresun	7	4.58±0.33 ^{ab}	4.61±0.40 ^{ab}	6.21±1.15 ^a	0.54±0.18 ^{ab}	53.26±2.55 ^a	0.59±0.06 ^b
	Trabzon	8	4.52±0.30 ^{ab}	4.55±0.32 ^{ab}	5.88±1.59 ^{ab}	0.39±0.11 ^b	54.07±2.57 ^a	0.63±0.11 ^b
	Ordu	5	4.35±0.24 ^b	4.35±0.19 ^b	7.05±1.14 ^a	0.68±0.14 ^a	55.01±2.95 ^a	0.59±0.09 ^b
	Ortalama	27	4.59±0.36	4.62±0.40	5.79±1.71	0.50±0.18	54.45±3.30	0.65±0.12
Yaz Dönemi	Samsun	7	3.90±0.38 ^a	3.90±0.31 ^a	9.46±5.35 ^a	0.86±0.45 ^a	57.39±2.38 ^a	0.60±0.06 ^a
	Giresun	7	3.95±0.30 ^a	4.00±0.33 ^a	6.11±1.78 ^a	0.59±0.20 ^a	56.84±4.52 ^a	0.53±0.05 ^a
	Trabzon	8	3.73±0.28 ^a	3.88±0.22 ^a	5.91±2.15 ^a	0.77±0.16 ^a	54.06±3.02 ^a	0.56±0.09 ^a
	Ordu	5	3.82±0.42 ^a	4.20±0.39 ^a	6.50±3.03 ^a	0.60±0.24 ^a	56.25±2.18 ^a	0.54±0.04 ^a
	Ortalama	27	3.85±0.33	3.97±0.31	6.99±3.50	0.71±0.29	56.05±3.33	0.56±0.07

*: İstatistiki değerlendirme kış ve yaz dönemi örneklerinde kendi içerisinde yapılmıştır. Sütunlarda farklı harfle işaretlenen örnekler arasındaki fark önemlidir.

Örneklerin toplam asitlik değeri kış döneminde en yüksek Ordu İli örneklerinde belirlenmiş ve bunu sırası ile Giresun, Samsun ve Trabzon örnekleri takip etmiştir. Trabzon ve Samsun ekşihamurları toplam asitlik değeri bakımından Ordu İli örneklerinden farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Yaz döneminde ise toplam asitlik değeri de en yüksek Samsun İli örneklerinde belirlenmiş ve bunu sırası ile Trabzon, Ordu ve Giresun örnekleri takip etmiş ancak örnekler arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($P>0.05$).

Ekşihamurların kurumadde değerleri arasında kış ve yaz dönemlerinde iller arasındaki değerler farklı olup sonuç aynı grupta çıkmıştır ($P>0.05$). Samsun İli örnekleri hem yaz hem de kış döneminde en yüksek kurumadde oranına sahip olarak belirlenmiştir. Kül içerikleri açısından değerlendirildiğinde kış döneminde sadece Samsun örneklerinin diğerlerinden farklı ($P<0.05$) ve daha yüksek değere sahip olduğu belirlenmiştir. Yaz döneminde ise örnekler arasında istatistiki açıdan farklılık bulunmamaktadır ($P>0.05$).

Karadeniz Bölgesi ekşihamurlarının fizikokimyasal özellikleri kış ve yaz dönemi olarak karşılaştırıldığında ise; pH ve toplam asitlik değerlerinin birbirlerinden önemli derecede farklı olduğu ($P<0.05$), asitlik derecesi, kurumadde ve kül değerlerinin ise farksız ($P>0.05$) olduğu belirlenmiştir.

4.2. Ekşihamur Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

İşletmeler arasındaki farklılığı ya da benzerliği ortaya koymak için çalışmada kullanılan toplam 54 farklı ekşihamur örneğinde mikrobiyolojik sayımlar yapılmıştır. Kış ve yaz döneminde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Karadeniz Bölgesi kış dönemi ekşihamurlarının mikrobiyolojik sonuçları

İl	Örnek No	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/g)		
		LAB	TAMB	Maya sayısı
Samsun	1	8.97	6.53	6.52
	2	7.29	6.65	6.64
	3	7.5	6.83	6.78
	4	7.43	6.77	6.56
	5	6.54	6.71	6.53
	6	7.59	5.47	5.46
	7	7.57	7.19	7.02
	Ort.	7.56	6.59	6.5
Giresun	8	6.14	7.2	6.53
	9	7.74	6.91	6.73
	10	7.48	6.7	6.62
	11	7.35	6.59	6.79
	26	8.11	6.82	6.85
	27	7.84	6.6	6.66
	28	8.26	6.9	6.74
	Ort.	7.56	6.82	6.7
Trabzon	12	7.72	6.71	6.76
	13	6.96	6.78	6.75
	14	7.35	6.66	6.51
	15	7.76	6.65	6.55
	16	7.13	6.49	6.42
	17	7.71	6.59	6.67
	18	7.56	6.71	6.68
	19	7.54	7.05	6.85
	Ort.	7.47	6.71	6.65
Ordu	21	8.08	7.07	7.08
	22	8.49	6.62	6.63
	23	7.5	6.59	6.6
	24	7.06	6.77	6.77
	25	8.17	7.15	6.92
	Ort.	7.86	6.84	6.8
Genel Ort.		7.59	6.73	6.65

Çizelge 4.5. Karadeniz Bölgesi yaz dönemi ekşihamurlarının mikrobiyolojik sonuçları

İl	Örnek No	Mikroorganizma Sayısı (log KOB/g)		
		LAB	TAMB	Maya sayısı
Samsun	1	6.27	6.27	6.48
	2	7.32	6.27	6.29
	3	6.18	6.45	6.32
	4	7.77	6.75	6.72
	5	6.58	6.5	6.31
	6	8.43	6.4	6.23
	7	7	4.19	4.17
	Ort.	7.72	6.41	6.36
Giresun	8	5.42	5.82	6.75
	9	8.59	7.03	6.86
	10	7.5	7	7.52
	11	3.65	6.64	6.44
	26	4.31	4.64	6.8
	27	5.31	6.1	6.55
	28	5.01	4.59	5.79
	Ort.	7.78	6.59	6.93
Trabzon	12	6.41	6.59	6.47
	13	4.96	6.64	6.55
	14	6.62	6.2	6.18
	15	7.49	6.17	6.23
	16	6.4	6.32	6.38
	17	7.7	6.7	6.72
	18	5.21	6.4	6.2
	Ort.	7.25	6.5	6.43
Ordu	21	5.71	6.56	6.26
	22	4.34	5.71	6.5
	23	5.02	4.86	6
	24	4.1	5.83	6.68
	25	5.49	6.37	6.68
	Ort.	5.28	6.16	6.49
Genel Ort.		7.54	6.46	6.62

Karadeniz Bölgesi ekşihamur örneklerinin kış dönemi LAB sayısı 6.14-8.97 log KOB/g arasında değişmiş ve ortalama 7.59 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Yaz döneminde ise LAB sayısı 3.65-8.59 log KOB/g arasında değişmiş ve ortalama 7.54 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Yaz ve kış dönemleri ortalama değerleri birbirine çok yakındır. Farklı fırınlara ait ekşihamur örneklerinde elde edilen sonuçlar arasında ise önemli farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklılık ekşihamur mayası kullanım oranı ve özellikle alınan ekşihamurların fermantasyon süresi farklılığına bağlanabilir.

Salovaara (1993) tarafından, tam olarak fermente olmuş ekşi hamurların 10^9 KOB/g laktobasil içerdiği belirtilmektedir. Lönner vd. (1986), İsveç çavdar unundan hazırlanan ekşi hamurunda hâkim floranın laktik asit bakterilerince sağlandığı ve LAB sayısının hemen hemen toplam canlı sayısına eşit olduğu (3.4×10^8 - 1.96×10^9)

KOB/g) bildirilmiştir. Gobetti (1998) tarafından, ekşihamurun *Lb. brevis*, *Lb. sanfrancisco*, *Lb. plantarum*, *Lb. pontis*, *Lb. fructivorans*, *Lb. delbrueckii* ve *Lb. fermentum* suşlarını içerdiği ve sayının 10^9 KOB/g olduğu tespit edilmiştir. Özcangaz (2000) tarafından, Karadeniz Bölgesi ekşihamur ekmeği numunesinin LAB sayısının 3.3×10^7 - 5.0×10^8 KOB/g arasında olduğu; Gül vd (2005) tarafından da ekşihamur örneklerinde LAB sayısının 5.28-9.66 log KOB/g arasında ve ortalama 7.34 log KOB/g olduğu belirlenmiştir. Şimşek (2003) ise Uşak İli çevresinde fırınlardan toplanan 60 ekşi hamur örneklerinin LAB sayısını 2.0×10^6 - 7.9×10^8 KOB/g arasında bulmuş ve ortalama 7.8×10^7 KOB/g olarak hesaplamıştır. Literatür verileri değerlendirildiğinde, çalışmada elde edilen sonuçların Ülkemiz kaynaklı ekşihamurlara benzer olduğu, Avrupa kökenlilerden ise daha düşük olduğu görülmektedir.

Akgün (2007) tarafından yapılan çalışmada, fermentasyonun başlangıcında 1.70 ile 6.68 log KOB/g olan LAB sayısının fermentasyon sonunda 8.04 ile 8.80 log KOB/g değerine ulaştığı bildirilmiştir.

LAB sayısının, Rosenquist ve Hansen (2000), çavdar unu ile yapılan ekşihamur örneklerinde 8.43-9.14 log KOB/g arasında değiştiğini; Minervini vd (2011), 19 adet İtalyan ekşihamurunda 8.75-9.13 log KOB/g arasında değiştiğini; Vrancken vd (2011), Tip I ekşihamurlarında 8-9 log KOB/g arasında değiştiğini; Rizzello vd (2016), kinoa unundan elde ettikleri ekşihamurun 30°C'da 16 saat fermentasyonu sonrasında 9.3-9.7 log KOB/g arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Dertli vd (2016), ekşihamurda LAB sayısını 8.35-8.96 log KOB/g arasında; Meroth vd (2003), 7.83-9.50 log KOB/g arasında; Yağmur (2013), 6.71-9.16 log KOB/g arasında; Rizzello vd (2015), 8.7-9.0 log KOB/g arasında; Paramithiotis vd (2006), 1.7×10^9 ve 3.2×10^9 KOB/g arasında belirlemiştir. Lhomme vd (2015), tarafından ekşihamurlarda değişik besiyerlerinde LAB sayısı ortalama 9.2 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Elde ettiğimiz bulgular bu değerlerden daha düşüktür.

Pepe vd (2004), İtalyan ekşihamurlarından izole ettikleri LAB sayısını 6-8.7 log KOB/g arasında bulmuştur. Çalışma sonuçlarımız bu değerler ile benzerlik göstermektedir.

Karadeniz Bölgesi ekşihamur örneklerinin TAMB sayısı kış döneminde 5.47-7.20 log KOB/g arasında değişmiş ve ortalama 6.73 log KOB/g olarak; yaz

döneminde de 4.19-7.03 log KOB/g arasında değişmiş ve ortalama 6.46 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Yaz döneminde örnekler arasında kış dönemine göre daha büyük farklılıklar belirlenmiş ve ortalama değer de biraz düşük bulunmuştur. Yazın daha yüksek sayılara rastlanmaması, fermentasyon süresinin kısa tutulması ve örnekleme erken yapılmış olmasına bağlanabilir. Ekşihamur örneklerinin TAMB sayısı; Gül vd. (2005) tarafından, yapılan çalışmada 5.97-9.57 log KOB/g arasında ve ortalama 7,94 log KOB/g olarak; Dığrak ve Özçelik (1991) tarafından, Elazığ ve yöresinden topladıkları ekşihamur örneklerinde 4.7×10^7 - 7.6×10^8 KOB/g arasında belirlenmiştir. Bu çalışmalarda elde edilen TAMB sayısı daha yüksektir. Bu sonuç farklı bölge örnekleri olmasına bağlanabilir. Şimşek (2003) tarafından, Uşak İli çevresindeki fırınlardan toplanan 60 ekşi hamur örneğinde belirlenen TAMB sayısı ise 9.0×10^5 - 6.5×10^7 KOB/g arasında ve ortalama 1.9×10^7 KOB/g) benzer olarak bulunmuştur. Yağmur (2013) tarafından, 5.51-8.08 log KOB/g arasında belirlenen TAMB sayısı ise biraz yüksek olmakla birlikte benzerlik göstermektedir.

Karadeniz Bölgesi ekşihamur örneklerinin maya sayısı kış döneminde 5.46-7.08 log KOB/g arasında değişmiş ve ortalama 6.65 log KOB/g olarak; yaz döneminde 4.17-7.52 log KOB/g arasında değişmiş ve ortalama 6.62 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Yaz dönemi örnekler arasında daha büyük farklılıklar olmakla birlikte ortalama değerler birbirine çok yakındır. Gül vd. (2005) tarafından, yapılan çalışmada da ekşihamur örneklerinde maya sayısı 6.33-9.96 log KOB/g arasında ve ortalama 8.94 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Gobbetti (1998) tarafından, ekşi hamurun *S. cerevisiae*, *S. inusitatus*, *Torulopsis holmii* suşlarını içerdiği ve sayılarının 10^8 KOB/g olduğu tespit edilmiştir. Rosenquist ve Hansen (2000), ekşihamurlarda maya ve küf sayısını 6.00-8.04 log KOB/g olarak; belirlemişlerdir. Çalışma sonuçlarımıza göre bu çalışmalarda elde edilen üst sınır maya sayısı oldukça yüksektir. Bu farklı bölge örnekleri olmasına ve üretimde normal ekmek mayası da kullanılmasına bağlanabilir. Dığrak ve Özçelik (1991) tarafından, Elazığ ve yöresinden toplanan ekşihamurlarda belirlenen maya sayısı 1.5×10^6 - 2.2×10^8 KOB/g); Şimşek (2003) tarafından, Uşak İli çevresinde fırınlardan toplanan ekşihamur örneklerinde belirlenen maya-küf sayısı 1.7×10^6 - 4.9×10^7 KOB/g arasında ve ortalama 1.4×10^7 KOB/g); Özcangaz (2000) tarafından, Karadeniz Bölgesi ekşihamur ekmeğinde belirlenen maya sayısı 2.8×10^7 - 5.2×10^7 KOB/g); Minervini vd (2011) tarafından, ekşihamurda belirlenen maya sayısı (7.30 log KOB/g olarak);

Yağmur (2013) tarafından, ekşihamurlarda belirlenen maya sayısı 5.27-7.32 log KOB/g olarak ve Dertli vd (2016), tarafından ekşihamurda belirlenen maya sayısı (6.71-6.96 log KOB/g) çalışma sonuçlarına benzerdir. Spicher vd (1981) tarafından, ekşi hamurda bildirilen maya sayısı (1.0×10^3 - 4.5×10^7 KOB/g) ise daha düşüktür.

Karadeniz Bölgesi ekşihamurlarının kış ve yaz dönemindeki mikrobiyolojik özellikleri il bazındaki farklılıklar açısından değerlendirilmiş ve değerlendirme sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Kış ve yaz dönemi ekşihamurlarının mikrobiyolojik özelliklerinin illere göre değişimi* (log KOB/g)

	İl	N	LAB	TAMB	Maya sayısı
Kış Dönemi	Samsun	7	7.56±0.72 ^a	6.59±0.54 ^a	6.50±0.49 ^a
	Giresun	7	7.56±0.70 ^a	6.82±0.21 ^a	6.70±0.11 ^a
	Trabzon	8	7.47±0.29 ^a	6.71±0.16 ^a	6.65±0.14 ^a
	Ordu	5	7.86±0.57 ^a	6.84±0.26 ^a	6.80±0.20 ^a
	Ortalama		7.59±0.57	6.73±0.32	6.65±0.29
Yaz Dönemi	Samsun	7	7.08±0.82 ^a	6.12±0.87 ^a	6.07±0.86 ^a
	Giresun	7	5.68±1.75 ^{ab}	5.97±1.03 ^a	6.67±0.52 ^a
	Trabzon	8	6.56±1.07 ^a	6.46±0.22 ^a	6.39±0.19 ^a
	Ordu	5	4.93±0.70 ^b	5.87±0.67 ^a	6.42±0.29 ^a
	Ortalama		6.17±1.37	6.14±0.74	6.39±0.55

*: İstatistiki değerlendirme kış ve yaz dönemi örneklerinde kendi içerisinde yapılmıştır. Sütunlarda farklı harfle işaretlenen örnekler arasındaki fark önemlidir.

İllere göre yapılan değerlendirmede kış dönemi ekşihamurları içerisinde LAB sayısı açısından iller arasında fark bulunmamakla birlikte ($P>0.05$) en yüksek LAB sayısı Ordu İli örneklerinde belirlenmiştir. Yaz dönemi ekşihamurları içerisinde en yüksek LAB sayısı Samsun İli örneklerinde belirlenmiş ve bunu sırası ile Trabzon, Giresun ve Ordu örnekleri takip etmiştir. Ordu İli örnekleri Samsun ve Trabzon İli örneklerinden LAB sayısı bakımından farklı bulunmuştur ($P<0.05$).

Örneklerin TAMB sayısı kış döneminde en yüksek Ordu, yaz döneminde ise Trabzon İli örneklerinde belirlenmiş olmakla birlikte, kış ve yaz dönemlerinde hiçbir ildeki sonuçlar istatistiki olarak birbirinden farklı bulunmamıştır ($P>0.05$).

Örneklerin maya-küf sayım sonuçları kış ve yaz dönemi örneklerinde kendi içerisinde değerlendirildiğinde istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$). Kış döneminde en yüksek maya sayısı Ordu İli örneklerinde, yaz döneminde ise Giresun İli örneklerinde belirlenmiştir.

4.3. İzolatların (GTG)₅ Parmak İzi Analizi

Ekşihamur örneklerinden elde edilen kış döneminde 500 ve yaz döneminde 528 olmak üzere toplam 1028 adet LAB izolatından elde edilen DNA'ların (GTG)₅ bant profilleri bilgisayar ortamında BioNumerics 7.5 programı kullanılarak karşılaştırılmış ve % 95 benzerlik sınırı dikkate alınarak gruplandırılmıştır. Elde edilen sonuçlar kış ve yaz dönemi için ayrı ayrı tartışılmıştır.

4.3.1. Kış dönemi izolatların (GTG)₅ parmak-izi analizi

Kış döneminde ekşihamur örneklerinden elde edilen 500 adet LAB izolatının (GTG)₅ bant profilleri belirlenmiş ve benzerliklerini gösteren dendogramlar çizilmiştir. LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendogram Ek 5'de verilmiştir.

Bu dendogramdan hareketle LAB izolatları 42 farklı gruba ayrılmıştır. Her bir gruba ait örnek sayısı, grup içerisindeki benzerlik farkları ve örneklerin ait olduğu iller dikkate alınarak kış dönemi ekşihamurlarından 16S rRNA gen bölgesi dizi analizine tabi tutulmak için grupları temsilen 53 adet izolat seçilmiştir. Seçilen izolatların 17 adedi Trabzon, 16 adedi Giresun, 10 adedi Samsun ve 10 adedi de Ordu İli örneklerine ait olmuştur. Kış dönemi izolatlarının bant profillerine göre grupları Çizelge 4.7'de, alındığı kaynaklar ise Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Kış dönemi ekşihamur LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profillerine göre grupları

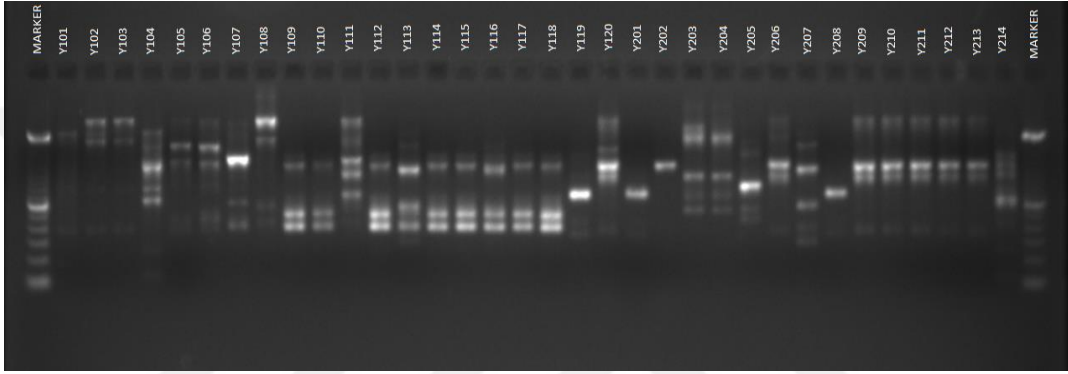
Grup No	İzolat No
1	1920
2	1704
3	1701, 1702, 1703, 1720, 1718, 1716, 1715, 1713, 1712, 1707, 1706, 1710, 1709, 1801, 1802, 1803, 1717
4	1708
5	1915
6	1908, 1910, 1904, 1906, 1939, 2744, 2611, 2740, 2703, 2713, 2738, 2733, 2706, 2730
7	2619, 2636
8	1917
9	2709, 2743, 2742, 2731
10	2705
11	1804
12	1714, 1719
13	907, 1941, 1916, 1938, 1934, 1909, 1933, 1932, 1931, 1918, 1911, 1942, 1939, 1937, 1936, 1935, 1901, 1902, 1905
14	1007, 1101, 1102, 1103, 1017, 1013, 1010, 1009, 806, 1008, 1016, 1015, 1020, 1019
15	1808
16	2102, 2108, 2110, 2103
17	2106, 2107, 817
18	807, 1306, 1313, 1316, 1314, 1315, 1302, 1320, 1304, 1308, 1309, 1311, 1332, 1318, 1330, 1319, 1405, 1217, 1218, 1214, 1219, 1213, 813, 831, 810, 818, 820, 1403, 1733, 1903, 1734, 1002,
19	418, 2303, 1312, 833, 413, 1402, 1310, 1307, 1305, 1737, 1432, 1738, 1409, 1711, 1731, 1730, 1407, 1406, 1430, 1735, 1705, 1736, 1732, 415, 411, 410, 838, 832, 814, 802, 700, 514, 513, 512, 511, 510, 518, 517, 516, 519, 515, 503, 500, 2304, 2410,
20	1115, 2812, 1303, 1107, 1120, 1117, 1112, 1114, 1109, 1110, 1113, 1105, 1108, 1111, 1116, 1104, 1106, 1119, 1317, 2715, 1408, 1202, 1203, 2830, 1212, 1620, 1005, 1234, 834, 801, 1011, 1015, 2803, 2815, 2816
21	701
22	703, 706, 708, 709, 710, 2309, 2310, 2312, 2713
23	1418, 1430, 1432, 1431, 1411, 1417, 1433, 1413, 1415, 1414, 1419, 1412, 614, 615, 616, 617, 618, 619
24	600, 611, 612, 607, 608, 609, 602, 603, 604, 414, 419, 412, 417, 416, 2307
25	2707
26	920, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 910, 911, 912, 904, 931
27	2735
28	1234, 1216, 1220
29	2204, 2712, 2716, 2714
30	908, 930, 836, 2711
31	408, 314, 317, 401, 403, 309, 311, 404, 312, 313, 400, 402, 409, 405, 305, 308, 310, 406, 407, 200, 1810
32	1807, 1809
33	2120, 2114, 2130, 2115, 2119, 2702, 1301, 2810
34	209, 201, 203, 2737, 211, 212, 213, 214, 219, 300, 304, 218, 301, 217, 216, 606, 613
35	816, 835, 2219, 2220
36	2601, 2602, 2604, 2605, 2606, 505, 702, 2610, 508, 830, 502, 506, 501, 509
37	2704, 1806, 2718, 2734, 2732, 2736, 2301, 2608, 2719

Çizelge 4.8. Kış dönemi ekşihamur LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profillerine göre oluşan grupları temsilen seçilen izolatlar ve kaynakları

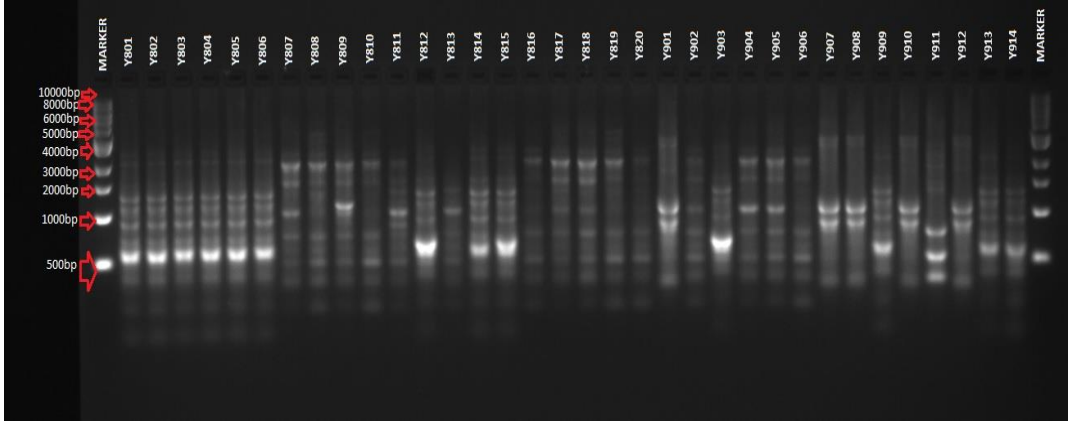
Grup No	İzolat No	Kaynak Yeri
1	1920	Merkez, Trabzon
2	1704	Akçaabat, Trabzon
3	1701	Akçaabat, Trabzon
4	1708	Akçaabat, Trabzon
5	1915	Merkez, Trabzon
6	1908	Merkez, Trabzon
7	2619	Piraziz, Giresun
8	1917	Merkez, Trabzon
9	2709	Bulancak, Giresun
10	2705	Bulancak, Giresun
11	1804	Merkez, Trabzon
12	1714	Akçaabat, Trabzon
13	907	Görece, Giresun
	1941	Merkez, Trabzon
14	1007	Çavuşlu, Giresun
	1101	Çavuşlu, Giresun
15	1808	Merkez, Trabzon
16	2102	Ünye, Ordu
17	2106	Ünye, Ordu
18	1306	Vakfikebir, Trabzon
19	418	Merkez, Samsun
	511	Tekkeköy, Samsun
	2303	Bolaman, Ordu
20	1115	Çavuşlu, Giresun
	2812	Merkez, Giresun
21	701	Terme, Samsun
22	709	Terme, Samsun
	2310	Bolaman, Ordu
23	1418	Vakfikebir, Trabzon
29	2204	Fatsa, Ordu
30	908	Görece, Giresun
31	408	Merkez, Samsun
32	1807	Merkez, Trabzon
33	2120	Ünye, Ordu
34	209	Ondokuzmayıs, Samsun
35	816	Espiye, Giresun
36	2605	Piraziz, Giresun
37	2704	Bulancak, Giresun
38	504	Tekkeköy, Samsun
39	316	Bafra, Samsun
	605	Çarşamba, Samsun
	1610	Akçaabat, Trabzon
	1914	Merkez, Trabzon
	2514	Gülyalı, Ordu
	2614	Piraziz, Giresun
40	2111	Ünye, Ordu
41	2215	Fatsa, Ordu
42	2411	Merkez, Ordu

4.3.2. Yaz dönemi izolatların (GTG)₅ parmak-izi analizi

İzolatlar içerisindeki farklı suşları yakalayabilmek ve tanımlama testlerine tabi tutmak için (GTG)₅ primeri kullanılarak yaz dönemine ait 528 LAB izolatu gruplandırılmıştır. Bu izolatlardan bazılarının (GTG)₅ primeri ile elde edilen PZR ürünlerinin %1.5'lik agaroz jelde 100 V, 150 mA, 100 dakika güçte yürütülerek jel görüntüleme sisteminde belirlenen bant profilleri ile %1.5'lik agaroz jelde 30 V, 45 mA ve 8 saatte yürütülmesi sonucu elde edilen bant profilleri sonuçları sırasıyla Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de örnek olarak verilmiştir.



Şekil 4.1. Yaz dönemi örneklerinden bazılarının %1.5'lik agaroz jelde 100V, 150 mA, 100 dakika elektroforez sonucunda elde edilen (GTG)₅ parmak izi analizi sonuçları (Marker; 1 Kb DNA ladder)



Şekil 4.2. Yaz dönemi örneklerinden bazılarının %1.5'lik agaroz jelde 30V, 50 mA, 8 saat elektroforez sonucunda elde edilen (GTG)₅ parmak izi analizi sonuçları (Marker; 1 Kb DNA ladder)

Yaz dönemine ait toplam 528 adet izolat, PZR ürünlerinin bant profillerinin BioNumerics 7.5 programı kullanılarak ve % 95 benzerlik sınırı dikkate alınarak gruplandırılması sonucunda (GTG)₅ parmak izlerine göre 45 farklı gruba ayrılmıştır. Yaz dönemine ait 528 adet LAB izolatının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini

gösteren dendogram Ek 6'de verilmiştir. Yaz dönemi izolatlarının bant profillerine göre grupları Çizelge 4.9'da, alındıkları kaynaklar ise Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Yaz dönemi ekşihamur LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profillerine göre grupları

Grup No	İzolat No
1	Y2809, Y2810, Y2811, Y2812, Y2813, Y2814, Y2815, Y2801, Y2803, Y2420, Y518
2	Y2802
3	Y2201, Y2711
4	Y2416, Y2817, Y2710, Y2712, Y2401, Y2818, Y806, Y2820, Y2609, Y2713
5	Y2702, Y2703, Y2610, Y2620, Y2701, Y2616, Y2617, Y1501, Y2704, Y2705
6	Y1208, Y807, Y811, Y609
7	Y2106, Y2707, Y1209, Y2816, Y1802, Y2614, Y2301, Y2104, Y1005, Y1514, Y2110, Y2111, Y2113, Y2107, Y2115, Y2117, Y1420, Y2612, Y1304, Y2608, Y1319, Y2819, Y1820, Y1901, Y1807, Y1808, Y1809, Y1810, Y1811, Y1812, Y1816, Y1308, Y1120, Y1603, Y1112, Y1114, Y1119, Y1214, Y1217, Y2119, Y1101, Y1102, Y1015, Y2208, Y2210, Y2211, Y2213, Y1804, Y2217, Y1415, Y2216, Y2601, Y2209, Y2212, Y2607, Y1105, Y1418, Y2116, Y2605, Y1306, Y1107, Y2306, Y2313, Y2304, Y2218, Y2311, Y1509, Y2305, Y1513, Y901, Y902, Y903, Y904, Y905, Y2602, Y2706, Y2120, Y2312, Y2708, Y2317, Y2506
8	Y1116, Y1117, Y1416, Y515, Y1206
9	Y1417, Y2804, Y1803
10	Y1805, Y2214, Y213, Y2203
11	Y2407, Y2714, Y2414, Y2417, Y2415, Y2406, Y2408, Y2418, Y1204, Y1211, Y1207, Y1210, Y1219, Y1213, Y1311, Y2207, Y2606, Y2516, Y2518, Y2513, Y2508, Y2515, Y2517, Y2519, Y2502, Y2509, Y2512, Y2507, Y2514, Y2503, Y2504, Y2510, Y2511, Y1307, Y2709, Y808, Y810, Y812, Y814, Y815, Y817, Y818, Y819, Y820, Y816, Y2215, Y803, Y804, Y801, Y1511, Y1512, Y1505, Y1614, Y1520, Y1503, Y1504, Y1508, Y1601, Y1605, Y1602, Y1510, Y1515, Y1517, Y1604, Y1606, Y1608, Y1611, Y1613, Y1516, Y1506, Y1507, Y1519, Y1616, Y1620, Y1617, Y1618, Y1619, Y604, Y605, Y1615, Y618, Y1202, Y1607, Y1220, Y1302, Y1303, Y1310, Y1318, Y1320, Y2409, Y1218, Y1401, Y1720, Y2619, Y802, Y1007, Y1016, Y420, Y2807, Y1819
12	Y1212, Y1305, Y2402, Y2403, Y2404, Y2405, Y1612
13	Y1010, Y1014, Y1518, Y1020, Y1001, Y1002, Y101, Y103, Y1004, Y1012, Y1018, Y1019, Y1013, Y220, Y606, Y1106
14	Y1609, Y2310, Y2307, Y2308, Y1118, Y2314, Y2315, Y1814, Y1215, Y1216, Y1205, Y401, Y402, Y403, Y404, Y405, Y406, Y407, Y1801, Y1896, Y1201, Y408, Y409, Y410, Y1818, Y2309, Y2318, Y2303, Y2316, Y2319, Y2302, Y1312, Y1610
15	Y1402, Y1413, Y1408, Y1403
16	Y615, Y616, Y617, Y607, Y608, Y612, Y2611, Y2520, Y1011, Y611, Y619, Y620
17	Y720
18	Y712, Y716, Y703
19	Y2615, Y2618, Y1309, Y1315, Y1316, Y1317, Y813, Y1301, Y2219, Y805

Çizelge 4.9. Yaz dönemi ekşihamur LAB izolatlarının (GTG)5 bant profillerine göre grupları (devamı)

Grup No	İzolat No
20	Y1815, Y2411, Y1813
21	Y503, Y508, Y509, Y510, Y511, Y512, Y513, Y514, Y517, Y519, Y501, Y502, Y1920, Y2101, Y1902, Y1903, Y1905, Y1906, Y1907, Y1909, Y1912, Y1913, Y1914, Y1915, Y1916, Y1917, Y1918, Y1919, Y1911
22	Y2501, Y2505
23	Y1716, Y1719, Y1113, Y1710, Y1711, Y1712, Y1713, Y1715, Y2716, Y2717, Y2718, Y2719, Y2720, Y1414, Y1706, Y1701, Y1702, Y1703, Y1110, Y1704, Y1704-1, Y1705, Y1717, Y1718, Y1404, Y1405, Y1406, Y1407, Y1409, Y1410, Y1412, Y1411, Y906, Y907, Y909, Y911, Y912, Y1104, Y1108, Y910, Y913, Y914, Y1111, Y908, Y1708, Y1709, Y1707, Y2220, Y411, Y415, Y416, Y412, Y414, Y413, Y419, Y418, Y1115, Y1313, Y1314, Y1714, Y2412, Y2806, Y2603, Y2112, Y2419, Y2410, Y915, Y916, Y917, Y918, Y919, Y920, Y1008, Y2109, Y2114, Y1006, Y2108, Y1017, Y1009, Y1109
24	Y2103, Y2118, Y2102, Y2105,
25	Y2204, Y2206, Y2202
26	Y113
27	Y701, Y702, Y704, Y705, Y706, Y707, Y708, Y710, Y709, Y711, Y602, Y603
28	Y713, Y714, Y715, Y717, Y719, Y718
29	Y2805, Y2808, Y2413
30	Y610, Y614, Y613
31	Y2205
32	Y317, Y319, Y318, Y320, Y601
33	Y312, Y316, Y315, Y314
34	Y516, Y520, Y506, Y507, Y504, Y505
35	Y214
36	Y215
37	Y217, Y218, Y219, Y104
38	Y304, Y305, Y301, Y302, Y303
39	Y1817
40	Y114, Y115, Y117, Y118, Y120, Y105, Y106, Y116, Y107, Y108, Y109, Y110, Y112, Y111
41	Y202, Y204, Y201, Y206, Y207, Y209, Y210, Y211, Y205, Y208
42	Y2715
43	Y119, Y203, Y1502
44	Y306, Y308, Y307, Y310, Y311, Y309
45	Y2613

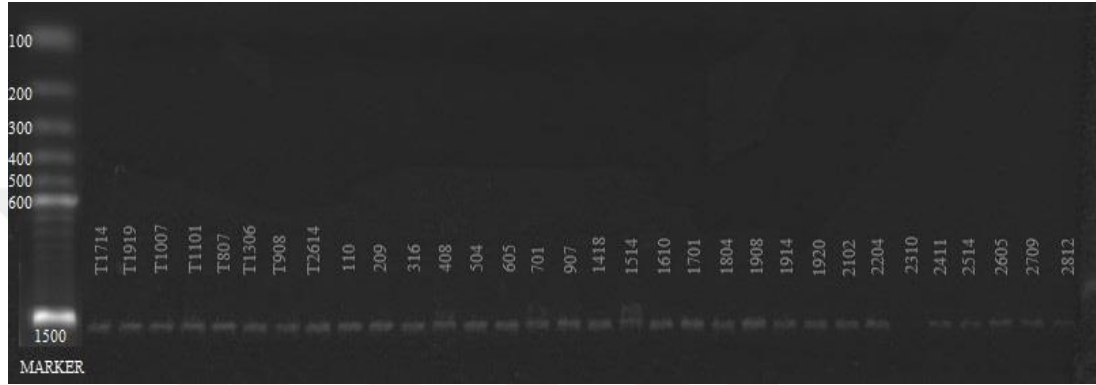
Yaz dönemi ekşihamurlarından 16S rDNA bölgesi dizi analizine tabi tutulmak için her bir grubu temsilen seçilen örneğe/örneklere karar verilirken; gruba ait örnek sayısı, grup içerisindeki benzerlik farkları ve örneklerin ait olduğu iller dikkate alınmıştır.

Çizelge 4.10. Yaz dönemi ekşihamur LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profillerine göre oluşan grupları temsilen seçilen izolatlar ve kaynakları

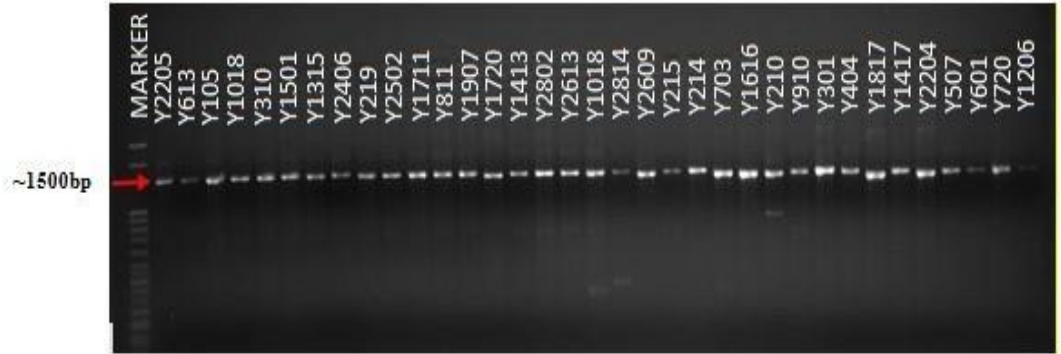
Grup No	İzolat No	Kaynak Yeri
1	Y2814	Merkez, Giresun
2	Y2802	Merkez, Giresun
3	Y2201	Fatsa, Ordu
4	Y2609	Piraziz, Giresun
5	Y1501	Vakfikebir, Trabzon
6	Y811	Espiye, Giresun
7	Y1120	Çavuşlu, Giresun
7	Y2305	Bolaman, Ordu
8	Y1206	Beşikdüzü, Trabzon
9	Y1417	Vakfikebir, Trabzon
10	Y2214	Fatsa, Ordu
11	Y1616	Akçaabat, Trabzon
	Y2406	Merkez, Ordu
	Y2502	Gülyalı, Ordu
12	Y2405	Merkez, Ordu
13	Y1018	Çavuşlu, Giresun
14	Y404	Merkez, Samsun
15	Y1413	Vakfikebir, Trabzon
16	Y620	Çarşamba, Samsun
17	Y720	Terme, Samsun
18	Y703	Terme, Samsun
19	Y1315	Vakfikebir, Trabzon
20	Y1815	Merkez, Trabzon
21	Y1907	Merkez, Trabzon
22	Y2505	Gülyalı, Ordu
23	Y1711	Akçaabat, Trabzon
23	Y1714	Akçaabat, Trabzon
23	Y910	Görece, Giresun
24	Y2105	Ünye, Ordu
25	Y2204	Fatsa, Ordu
26	Y113	Muşta, Samsun
27	Y710	Terme, Samsun
28	Y717	Terme, Samsun
29	Y2808	Merkez, Giresun
30	Y613	Çarşamba, Samsun
31	Y2205	Fatsa, Ordu
32	Y601	Çarşamba, Samsun
33	Y314	Bafra, Samsun
34	Y507	Tekkeköy, Samsun
35	Y214	Ondokuz Mayıs, Samsun
36	Y215	Ondokuz Mayıs, Samsun
37	Y219	Ondokuz Mayıs, Samsun
38	Y301	Bafra, Samsun
39	Y1817	Merkez, Trabzon
40	Y105	Muşta, Samsun
41	Y210	Ondokuz Mayıs, Samsun
42	Y2715	Bulancak , Giresun
43	Y1502	Vakfikebir, Trabzon
44	Y310	Bafra, Samsun
45	Y2613	Piraziz, Giresun

4.4. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının 16S rDNA Dizi Analizi ile Tanımlanması

Kış dönemi ekşihamurlarından 42 grubu temsilen seçilen 62 adet ve yaz dönemi ekşihamurlarından 45 grubu temsilen seçilen 63 adet örneğin 16S rRNA gen bölgesi dizi analizine tabi tutulmuştur. PZR sonrası çoğaltılan ortalama 1500 baz çifti büyüklüğündeki DNA bölgesinin agaroz jel elektroforez fotoğrafları Şekil 4.3 ve 4.4’de görülmektedir.



Şekil 4.3. Bazı kış ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen bölgesine ait PZR ürünlerinin %1.5’lik agaroz jel elektroforez görüntüsü



Şekil 4.4. Bazı yaz ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen bölgesine ait PZR ürünlerinin %1.5’lik agaroz jel elektroforez görüntüsü

16S rRNA gen bölgesi dizi verileri, Eztaxon Server kullanılarak, uluslararası veritabanlarındaki en yakın akraba türlerin dizi verileri ile karşılaştırılmış ve % benzerlikleri belirlenmiştir. Kış ve yaz dönemi izolatları için elde edilen sonuçlar Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.13’de sunulmuştur.

Çizelge 4.11. Kış dönemi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen sekans sonuçlarına göre en yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği

No	İzolat Kodu	En yakın tip türü	% Benzerlik	Nukleotit farkı
1	209	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1517
2	314	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1517
3	316	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	99.93	1/1517
4	418	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	99.93	1/1517
5	511	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	99.93	1/1515
6	907	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1516
7	908	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1505
8	920	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1520
9	1007	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1512
10	1101	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1516
11	1115	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1516
12	1306	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1519
13	1418	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1519
14	1701	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1517
15	1803	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1520
16	T1218	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1505
17	T1903	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1516
18	T1915	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1512
19	1908	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	99.93	1/1517
20	1915	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1516
21	1917	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1512
22	1941	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1518
23	1704	<i>Weissella minor</i> NRIC 1625 ^T (AB022920)	98.00	29/1450
24	2707	<i>Weissella minor</i> NRIC 1625 ^T (AB022920)	100	0/1478
25	1904	<i>Weissella viridescens</i> NRIC 1536 ^T (AB023236)	100	0/1479
26	816	<i>Weissella confusa</i> JCM 1093 ^T (AB023241)	100	0/1477
27	1212	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1465
28	1234	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1461
29	1610	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.74	4/1463
30	1714	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1460
31	2102	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.74	4/1517
32	2106	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.67	5/1518
33	2111	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.80	3/1518
34	2114	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1495
35	2120	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.60	6/1504
36	2204	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1462
37	2215	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.73	4/1461
38	2411	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.74	4/1518
39	2514	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.73	4/1495
40	2709	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.73	4/1465
41	2735	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.74	4/1465
42	2508	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1413
43	2614	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1463
44	605	<i>Lactobacillus paralimentarius</i> DSM 13238 ^T (BAMH01000179)	99.93	1/1508
45	504	<i>Lactobacillus curvatus</i> LMG 9198(T)	99.71	4/1400
46	701	<i>Lactobacillus curvatus</i> LMG 9198 ^T (AJ621550)	99.71	4/1400
47	702	<i>Lactobacillus curvatus</i> LMG 9198 ^T (AJ621550)	99.71	4/1400

Çizelge 4.11. Kış dönemi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen sekans sonuçlarına göre en yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği (devamı)

No	İzolat Kodu	En yakın tip türü	% Benzerlik	Nukleotit farkı
48	709	<i>Lactobacillus graminis</i> DSM 20719 ^T (AM113778)	99.70	4/1508
49	606	<i>Lactobacillus fermentum</i> NBRC 3956 ^T (AP008937)	99.70	4/1508
50	2704	<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ATCC 14917 ^T (ACGZ01000098)	100	0/1507
51	2705	<i>Lactobacillus pentosus</i> JCM 1558 ^T (D79211)	99.87	2/1505
52	2303	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> JCM 5805 ^T (BALX01000047)	99.93	1/1486
53	1708	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC 3652 ^T (EOQ01000906)	99.66	5/1491
54	1804	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC 3652 ^T (EOQ01000906)	99.80	3/1492
55	1808	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC 3652 ^T (EOQ01000906)	99.66	5/1491
56	1920	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC3652 ^T (EOQ01000906)	99.80	3/1489
57	2605	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC 3652 ^T (EOQ01000906)	99.93	1/1489
58	2619	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC 3652 ^T (EOQ01000906)	99.73	4/1492
59	2307	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> ATCC 8293 ^T (CP000414)	99.93	1/1493
60	1807	<i>Leuconostoc citreum</i> ATCC 49370 ^T (AF111948)	99.87	2/1488
61	2812	<i>Leuconostoc citreum</i> ATCC 49370 ^T (AF111948)	99.80	3/1488
62	2310	<i>Leuconostoc citreum</i> ATCC 49370 ^T (AF111948)	99.87	2/1486

Kış dönemi örneklerinden 16S rRNA dizi analizi sonuçlarına *Weissella minor* olarak tanımlanan ancak tip türünden 29/1450 nükleotid farklılığına sahip olan 1704 no'lu izolatın 16S rDNA dizi analizleri tekrarlanmış ve bu sefer tip türünden 17/1448 farklılığına sahip olduğu ve % benzerliğinin % 98.83 olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar sonrasında 1704 no'lu izolatın 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogramdan yakın akraba türlerinin *Weissella minor*, *Weissella uvarum* ve *Weissella viridescens* suşları olduğu belirlenmiştir. Multilokus Gen analizleri için *Weissella minor* DSM 20014^T, *Weissella uvarum* DSM 28060^T ve *Weissella viridescens* DSM 20410^T suşları DSMZ firmasından temin edilerek çalışmada kullanılmıştır.

Yakın akraba türleri ile benzerliği/farklılığı ortaya konulmak için 1704 no'lu izolatın *pheS* DNA dizi analizi için fenil alanil tRNA sentetaz alfa alt ünitesini kodlayan geni *pheS21-F* ve *pheS23-R* (5'-CAYCCNGCHCGYGAYATGC-3' ve 5'-GGRTGRACCATVCCNGCHCC-3') primer çifti ile çoğaltılmış, PZR ürünü saflaştırılmış ve çoğaltılmasında kullanılan primerlerle Macrogen Inc. (Güney Kore) firmasına sekans ettirilmiştir. *Weissella* sp. 1704 no'lu izolatın *pheS* dizi analizi

sonuçlarının *W. minor*, *W. uvarum* ile *W. viridescens* türlerinin GenBank'tan alınan *pheS* nükleotit dizi verileri (Ek 7) ile farklılıkları ve % benzerlik sonuçları Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12. *Weissella* sp. 1704 no'lu izolatın 16S rRNA gen dizi analizine göre yakın akraba olan *Weissella* tip suşlarıyla *pheS* nükleotit dizi farklılıkları ve % benzerlik sonuçları

	<i>W. minor</i>	<i>W. uvarum</i>	<i>W. viridescens</i>	<i>Weissella</i> sp. 1704
<i>W. minor</i>	---	58/395	55/388	50/395
<i>W. uvarum</i>	85.32	---	54/388	8/398
<i>W. viridescens</i>	85.82	86.08	---	55/388
<i>Weissella</i> sp. 1704	87.34	97.99	85.82	---

Bu analiz sonucuna göre 16S rRNA gen bölgesi dizi analizine göre *Weissella minor* 1704 olarak tanımlanan izolatın *pheS* dizi analizi sonucu yeterli gelmediği için DNA-DNA hibridizasyonu yapılmıştır.

Çizelge 4.13. Yaz dönemi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen sekans sonuçlarına göre en yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği

No	İzolat Kodu	En yakın tip türü	% Benzerlik	Nükleotit Farkı
1	Y2205	<i>Lactobacillus curvatus</i> LMG 9198 ^T (AJ621550)	99.71	4/1400
2	Y2405	<i>Lactobacillus curvatus</i> LMG 9198 ^T (AJ621550)	99.71	4/1400
3	Y1206	<i>Lactobacillus pantheris</i> A24-2-1 ^T (AF413523)	99.80	3/1514
4	Y1815	<i>Lactobacillus pantheris</i> A24-2-1 ^T (AF413523)	99.80	3/1514
5	Y1417	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> JCM 1171 ^T (D16550)	99.73	4/1492
6	Y1502	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> JCM 1171 ^T (D16550)	99.93	1/1501
7	Y1818	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> JCM 1171 ^(T) (D16550)	100	0/1502
8	Y2105	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> JCM 1171 ^T (D16550)	100	0/1502
9	Y2201	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> JCM 1171 ^T (D16550)	100	0/1501
10	Y2204	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> JCM 1171 ^T (D16550)	100	0/1502
11	Y613	<i>Lactobacillus paralimentarius</i> DSM 13238 ^T (BAMH01000179)	99.93	1/1509
12	Y710	<i>Lactobacillus paralimentarius</i> DSM 13238 ^T (BAMH01000179)	100	0/1506
13	Y715	<i>Lactobacillus paralimentarius</i> DSM13238 ^T (BAMH01000179)	100	0/1510
14	Y717	<i>Lactobacillus paralimentarius</i> DSM 13238 ^T (BAMH01000179)	100	0/1508
15	Y2305	<i>Lactobacillus pentosus</i> JCM 1558 ^T (D79211)	99.93	1/1505
16	Y113	<i>Lactobacillus pentosus</i> JCM 1558 ^T (D79211)	100	0/1505
17	Y601	<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ATCC 14917 ^T (ACGZ01000098)	100	0/1508
18	Y620	<i>Lactobacillus pontis</i> LMG 14187(T)	100	0/1462
19	Y703	<i>Lactobacillus pontis</i> LMG 14187 ^T (AJ422032)	100	0/1462
20	Y720	<i>Lactobacillus pontis</i> LMG 14187 ^T (AJ422032)	100	0/1462
21	Y105	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1460
22	Y119	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1463
23	Y120	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1460

Çizelge 4.13. Yaz dönemi ekşihamur izolatlarının 16S rDNA sekans sonuçlarına göre en yakın tip türleri ile olan filogenetik benzerliği (devamı)

No	İzolat Kodu	En yakın tip türü	% Benzerlik	Nükleotit Farkı
24	Y210	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.80	3/1519
25	Y214	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.80	3/1516
26	Y215	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.80	3/1516
27	Y219	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.80	3/1516
28	Y301	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.80	3/1516
29	Y310	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.74	4/1520
30	Y314	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.73	4/1500
31	Y320	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.80	3/1518
32	Y507	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.53	7/1478
33	Y1018	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1462
34	Y1514	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1461
35	Y1518	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1462
36	Y1616	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1448
37	Y1817	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> ATCC 27651 ^T (X76327)	99.79	3/1456
38	Y1315	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> JCM 5805 ^T (BALX01000047)	100	0/1489
39	Y1714	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> JCM 5805 ^T (BALX01000047)	100	0/1485
40	Y2505	<i>Leuconostoc citreum</i> ATCC 49370 ^T (AF111948)	99.87	2/1488
41	Y2808	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> ATCC 8293 ^T (CP000414)	99.93	1/1493
42	Y2406	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC 3652 ^T (AEOQ01000906)	99.73	4/1490
43	Y2407	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC 3652 ^T (EOQ01000906)	99.93	1/1491
44	Y2502	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC 3652 ^T (AEOQ01000906)	99.93	1/1491
45	Y2510	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> KCTC 3652 ^T (EOQ01000906)	99.3	1/1491
46	Y811	<i>Pediococcus pentosaceus</i> DSM 20336 ^T (AJ305321)	99.80	3/1495
47	Y1501	<i>Pediococcus pentosaceus</i> DSM 20336 ^T (AJ305321)	99.80	3/1516
48	Y2214	<i>Pediococcus pentosaceus</i> DSM 20336 ^T (AJ305321)	99.80	3/1495
49	Y2216	<i>Pediococcus pentosaceus</i> DSM 20336 ^T (AJ305321)	99.80	3/1512
50	Y2613	<i>Pediococcus pentosaceus</i> DSM 20336 ^T (AJ305321)	99.80	3/1512
51	Y2712	<i>Pediococcus pentosaceus</i> DSM 20336 ^T (AJ305321)	99.80	3/1512
52	Y2715	<i>Pediococcus pentosaceus</i> DSM 20336 ^T (AJ305321)	99.80	3/1515
53	Y2814	<i>Pediococcus pentosaceus</i> DSM 20336 ^T (AJ305321)	99.80	3/1518
54	Y404	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1521
55	Y910	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1520
56	Y1413	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1519
57	Y1711	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1519
58	Y1720	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1513
59	Y1907	<i>Weissella cibaria</i> KACC 11862 ^T (AEKT01000037)	100	0/1519
60	Y2609	<i>Weissella paramesenteroides</i> ATCC 33313 ^T (ACKU01000017)	99.74	4/1517
61	Y2802	<i>Weissella paramesenteroides</i> ATCC 33313 ^T (ACKU01000017)	99.74	4/1517
62	Y815	<i>Weissella confusa</i> JCM 1093 ^T (AB023241)	100	0/1477
63	Y2804	<i>Weissella viridescens</i> NRIC 1536 ^T (AB023236)	100	0/1479

Kış dönemine ait ekşihamurlardan izole edilen 42 gruba ait 62 adet izolatın 22 adedi *Weissella cibaria*, 17 adedi *Lactobacillus sanfranciscensis*, 6 adedi

Leuconostoc pseudomesenteroides, 3 adedi *Leuconostoc citreum*, 3 adedi *Lactobacillus curvatus* ve birer adedi de *Weissella minör*, *Weissella viridescens*, *Weissella confusa*, *Weissella uvarum*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus graminis*, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* olarak tanımlanmıştır.

Yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen toplam 63 izolattan 17 adedi *Lactobacillus sanfranciscensis*, 6 adedi *Weissella cibaria*, 8 adedi *Pediococcus pentosaceus*, 6 adedi *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, 4 adedi *Lactobacillus paralimentarius*, 2 adedi *Lactobacillus curvatus*, 2 adedi *Lactobacillus pantheris*, 2 adedi *Lactobacillus pentosus*, 3 adedi *Lactobacillus pontis*, 2 adedi *Weissella paramesenteroides*, 1 adedi *Weissella confusa* ve 1 adedi *Weissella viridescens*, 2 adedi *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, 4 adedi *Leuconostoc pseudomesenteroides*, 1 adedi *Leuconostoc citreum*, 1 adedi *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* ve 1 adedi *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* olarak tanımlanmıştır.

Kış dönemi örneklerinde mikrobiyotada baskın bulunan *Lactobacillus sanfranciscensis* izolat sayısı yaz dönemi örneklerinde de benzer bulunurken; *Weissella cibaria* sayısı önemli düzeyde düşmüş ve *Weissella* spp. çeşitliliği de azalmıştır. Yaz döneminde *Leuconostoc pseudomesenteroides* ve *Leuconostoc citreum* sayısında da önemli bir düşüş gözlenmiştir. Daha az sayıda izole edilen türlerde de önemli değişimler gözlenmiştir. *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* yaz ve kış döneminde 1 adet olarak izole edilirken *Lactobacillus graminis* yaz döneminde izole edilememiştir. Kış döneminde izole edilen diğer *Lactobacillus* spp. türleri yaz döneminde daha yüksek sayıda izole edilmiş; *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Lactobacillus pantheris* ve *Lactobacillus pontis* türleri ise kış döneminden farklı olarak sadece yaz döneminde ve birden daha fazla sayılarda izole edilmiştir. Bu sonuçlar kış ve yaz döneminde ekşihamur mikrobiyotasının önemli düzeyde değiştiğini göstermektedir. Yaz döneminde farklı olarak 5 adet *Pediococcus pentosaceus* izolatu elde edilmiştir. Dönemler arası bu farklılıklar esas olarak işletmelerde ekşihamur fermantasyonunun genellikle ısıtma sistemi olmayan hamurhanede yapılması nedeni ile kış ve yaz dönemi arasındaki sıcaklık farklılığına bağlanabilir. Starter kültür kullanılmaması nedeni ile kullanılan hammaddelerdeki floranın dönemsel değişimine ve kış dönemindeki daha uzun

yapılan fermentasyon süresine de bağlanabilir.

Gül vd (2005) tarafından, ekşihamur örneklerinden izole edilen toplam 23 adet *Lactobacillus* izolatından (% 69,7) 5 adedi *Lb. brevis*, 2 adedi *Lb. amylophilus*, 2 adedi *Lb. sake*, 2 adedi *Lb. acetotolerans*, 1 adedi *Lb. plantarum* ve 11 adedi *Lactobacillus* ssp. olarak, toplam 7 adet *Pediococcus* izolatından da (%33,3) 2 adedi *P. pentosaceus*, 2 adedi *P. acidilactici* ve 3 adedi *de Pediococcus* ssp. olarak belirlendiğini bildirmiştir. Bunların yanı sıra 2 adet *Carnobacterium divergens*, 1 adet *Tetragenacoccus halophilus* türü de tanımlanmıştır. Özcangaz (2000) tarafından da Karadeniz Bölgesi ekşihamur ekmeği numunesinin LAB türlerinden *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* ve bazı tanımlanamayan heterofermentatif laktobasilleri içerdiğini bildirmiştir. Dıǧrak ve Özçelik (1991), Elazığ ve yöresinden topladıkları ekşihamur örneklerinden izole edilen LAB izolatlarını *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *Lb. fructivorans* ve *Pediococcus pentosaceus* türlerine ait olarak tanımlamışlardır. Gerçekaslan vd (2012) tarafından, Vakfıkebir ekşihamurundan izole edilen toplam 113 laktik asit bakterisinin % 54'ü *Lactobacillus plantarum*, % 13.2'si *Lactococcus lactis* ssp *lactis*, % 7.9'u *Lb. brevis*, % 5.3'ü *Lb. pentosus*, % 2.7'si *Leu. mesenteroides* ssp. *mesenteroides*, % 2.7'si *Lb. fermentum*, % 1.8'i *Leu. lactis*, % 0.9'u *Lb. curvatus* ssp *curvatus*, % 0.9'u *Leu. mesenteroides* ssp. *cremoris*, % 9.7'si *Lactobacillus* spp. and % 0.9'u *Leuconostoc* spp. olarak tanımlanmıştır.

Yurtdışında yapılan çalışmalarda da Lönner vd (1986), İsveç çavdar unundan hazırlanan ekşihamurun hakim florasının laktik asit bakterilerince sağlandığı ve bunlar içerisinde homofermentatif laktobasillerin ve pediokokların baskın mikroflorayı oluşturduğunu; Gobetti (1998), ekşihamurun *Lb. brevis*, *Lb. sanfrancisco*, *Lb. plantarum*, *Lb. pontis*, *Lb. fructivorans*, *Lb. delbrueckii* ve *Lb. fermentum* suşlarını; Corsetti vd (2001), Kuzey İtalya'nın Apulia bölgesinden topladığı 25 buğday ekşihamurundan izole ettiği 120 izolatın % 20 *Lb. alimentarius*, % 14 *L. brevis*; % 12 *Leuconostoc citreum*, % 7 *Lb. plantarum*, % 6 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, % 4 *Lb. fermentum* ve *Lb. acidophilus* ve % 1 *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* içerdiğini saptamıştır.

Yaz döneminde izole edilen *Lactobacillus curvatus* (Gerçekaslan vd, 2012), *Lactobacillus plantarum* (Dıǧrak ve Özçelik, 1991; Özcangaz, 2000; Gül vd, 2005; Gerçekaslan vd, 2012), *Lactobacillus pentosus* (Özcangaz, 2000; Gerçekaslan vd,

2012), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (Gerçekaslan vd, 2012), *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* (Gerçekaslan vd, 2012) ve *Pediococcus pentosaceus* (Dığrak ve Özçelik, 1991; Gül vd, 2005) ise daha önce de Türkiye ekşihamurlarından izole edilmiştir.

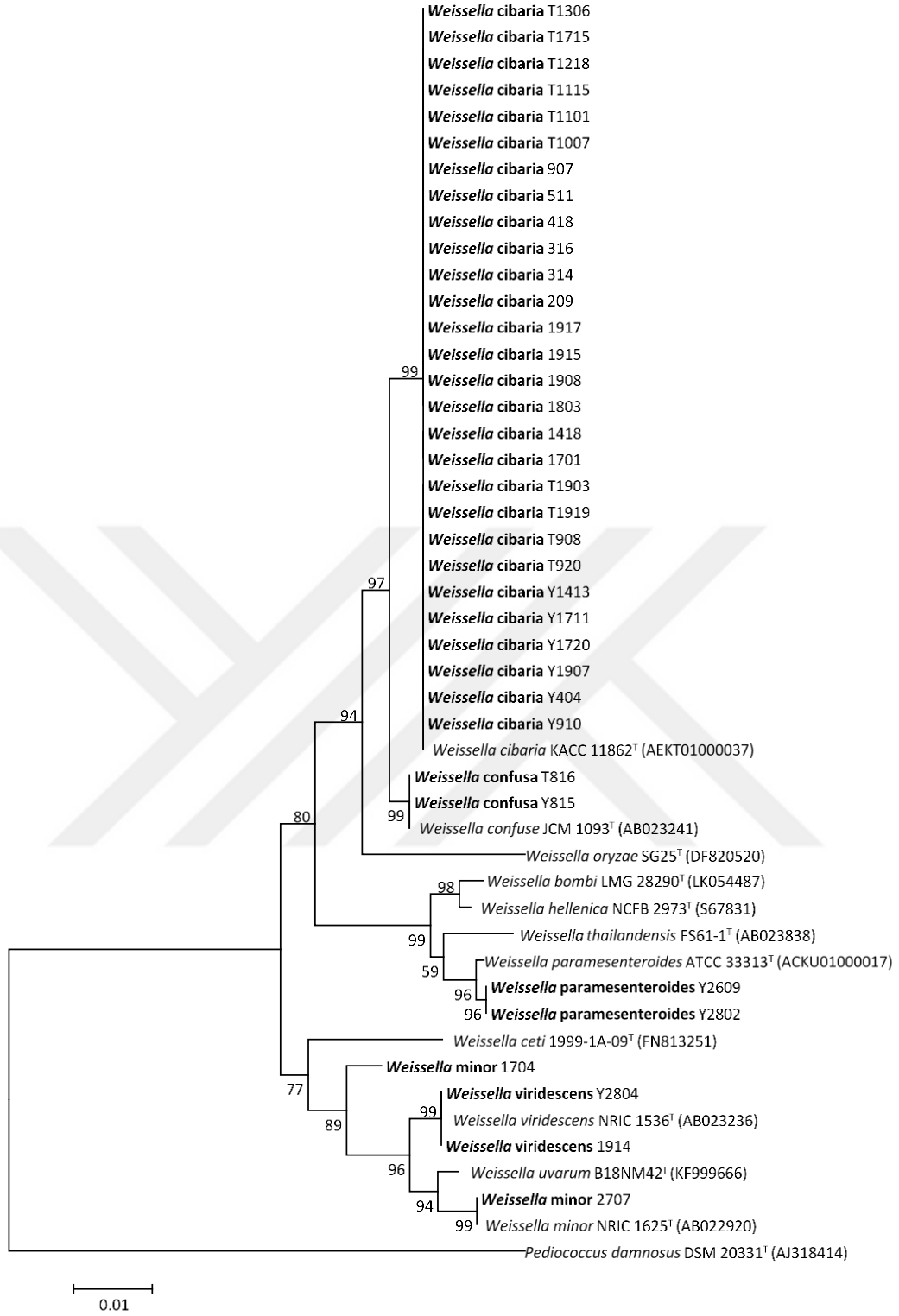
Yaz dönemi hamurlarında belirlenen *Weissella paramesenteroides*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus pantheris*, *Lactobacillus pontis* ve *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* türlerinin kış döneminde alınan hamurlardan izole edilmemiş olması da bir diğer ilginç veri olmuştur.

4.5. 16S rRNA Filogenisi, Benzerlik Değerleri ve Nükleotit Sayısı

16S rRNA gen dizi verilerine göre test izolatlarının filogenetik pozisyonlarının belirlenmesi için tüm izolatların 16S rRNA gen dizi verilerine göre filogenetik pozisyonlarını gösteren dendogramları oluşturulmuştur. Neighbor-joining algoritmasına göre çizilmiş ağaçlarda, % 50'nin üzerinde desteklenen dallanma noktaları için bootstrap değerleri verilmiştir. Elde edilen sonuçlar farklı cinslere göre alt başlıklar altında ayrı ayrı özetlenmiştir.

4.5.1. *Weissella* cinsine ait izolatların 16S rRNA filogenisi, benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

Weissella cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogramlar Şekil 4.5'de verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi 0.01'dir. Dış grup olarak *Pediococcus damnosus* DSM 20331^T (AJ318414) tip türü kullanılmıştır. *Weissella* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı da Çizelge 4.14'de verilmiştir.



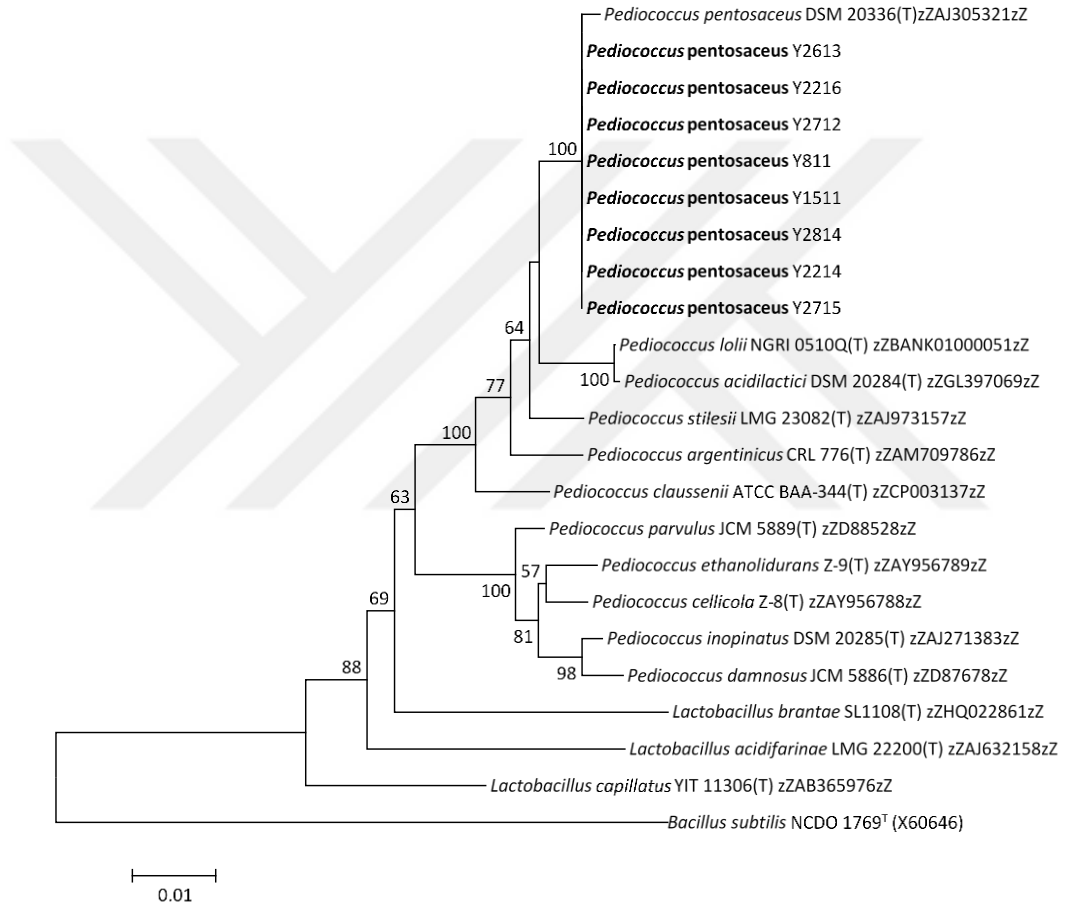
Şekil 4.5. *Weissella* cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendrogram

Çizelge 4.14. *Weissella* cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

İzolat	1704	1914	1915	1917	209	2707	314	316	T1007	T1715	T1903	T1919	T816	T908	T920	Y2609	Y2802	Y2804	Y815
1704	---	31/1447	47/1457	47/1446	47/1446	18/1462	47/1458	47/1439	47/1447	47/1461	47/1461	47/1446	49/1446	47/1447	47/1460	71/1459	71/1459	31/1462	49/1461
1914	97.86	---	70/1521	70/1521	70/1521	19/1523	70/1521	70/1514	70/1521	70/1521	70/1521	69/1520	63/1520	70/1521	70/1520	76/1517	76/1519	0/1513	64/1521
1915	96.77	95.40	---	0/1522	0/1522	80/1534	0/1532	0/1516	0/1523	0/1532	0/1532	0/1520	9/1520	0/1523	0/1533	70/1526	72/1528	62/1522	9/1534
1917	96.75	95.40	100.00	---	0/1522	79/1522	0/1522	0/1515	0/1522	0/1521	0/1521	0/1520	9/1520	0/1522	0/1521	70/1515	72/1517	62/1511	9/1522
209	96.75	95.40	100.00	100.00	---	79/1522	0/1521	0/1515	0/1522	0/1521	0/1521	0/1520	9/1520	0/1522	0/1521	70/1515	72/1517	62/1511	9/1522
2707	98.77	98.75	94.78	94.81	94.81	---	79/1533	81/1517	79/1523	79/1536	79/1536	78/1520	72/1520	79/1523	80/1537	74/1532	74/1534	19/1528	74/1538
314	96.78	95.40	100.00	100.00	100.00	94.85	---	0/1514	0/1522	0/1533	0/1533	0/1520	9/1520	0/1522	0/1532	70/1527	72/1529	62/1523	9/1533
316	96.73	95.38	100.00	100.00	100.00	94.66	100.00	---	0/1515	0/1514	0/1514	0/1513	9/1513	0/1515	0/1515	70/1508	72/1510	62/1504	9/1516
T1007	96.75	95.40	100.00	100.00	100.00	94.81	100.00	100.00	---	0/1522	0/1522	0/1520	9/1520	0/1523	0/1522	70/1516	72/1518	62/1512	9/1523
T1715	96.78	95.40	100.00	100.00	100.00	94.86	100.00	100.00	100.00	---	0/1537	0/1520	9/1520	0/1522	0/1535	70/1530	72/1532	62/1527	9/1537
T1903	96.78	95.40	100.00	100.00	100.00	94.86	100.00	100.00	100.00	100.00	---	0/1520	9/1520	0/1522	0/1535	70/1530	72/1532	62/1527	9/1537
T1919	96.75	95.46	100.00	100.00	100.00	94.87	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	---	9/1520	0/1520	0/1519	70/1515	72/1517	62/1511	9/1520
T816	96.61	95.86	99.41	99.41	99.41	95.26	99.41	99.41	99.41	99.41	99.41	99.41	---	9/1520	9/1519	66/1515	68/1517	56/1511	0/1520
T908	96.75	95.40	100.00	100.00	100.00	94.81	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	99.41	---	0/1522	70/1516	72/1518	62/1512	9/1523
T920	96.78	95.39	100.00	100.00	100.00	94.80	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	99.41	100.00	---	70/1529	72/1531	62/1525	9/1537
Y2609	95.13	94.99	95.41	95.38	95.38	95.17	95.42	95.36	95.38	95.42	95.42	95.38	95.64	95.38	95.42	---	0/1532	76/1525	66/1530
Y2802	95.13	95.00	95.29	95.25	95.25	95.18	95.29	95.23	95.26	95.30	95.30	95.25	95.52	95.26	95.30	100.00	---	76/1525	68/1532
Y2804	97.88	100.00	95.93	95.90	95.90	98.76	95.93	95.88	95.90	95.94	95.94	95.90	96.29	95.90	95.93	95.02	95.02	---	56/1527
Y815	96.65	95.79	99.41	99.41	99.41	95.19	99.41	99.41	99.41	99.41	99.41	99.41	100.00	99.41	99.41	95.69	95.56	96.33	---

4.5.2. *Pediococcus* cinsine ait izolatların 16S rRNA filogenisi, benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

Pediococcus cinsine ait izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren yaz ve kış örneklerine ait dendogram Şekil 4.6'da verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi 0.02'dir. Dış grup olarak *Bacillus subtilis* NCDO 1769^T (X60646) tip türü kullanılmıştır. *Pediococcus* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı Çizelge 4.15'de verilmiştir.



Şekil 4.6. *Pediococcus* cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram

Çizelge 4.15. *Pediococcus* cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

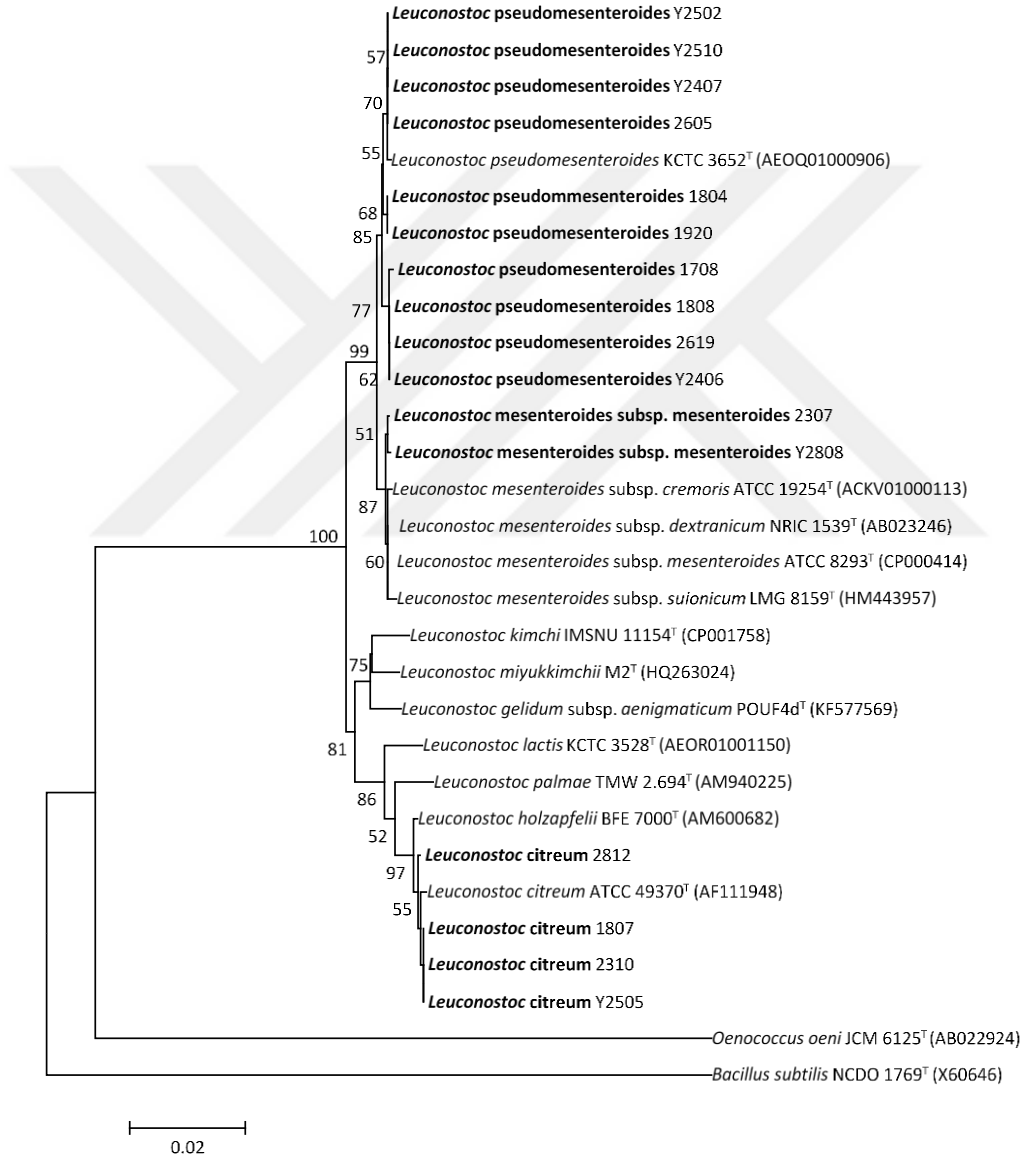
İzolat	Y1511	Y2214	Y2216	Y2613	Y2712	Y2715	Y2814	Y811
Y1511	---	0/1497	0/1506	0/1505	0/1517	0/1504	0/1517	3/1459
Y2214	100.00	---	1/1515	0/1508	0/1516	0/1508	0/1508	0/1439
Y2216	100.00	99.93	---	1/1516	1/1524	1/1515	1/1517	2/1448
Y2613	100.00	100.00	99.93	---	0/1516	0/1515	0/1516	2/1447
Y2712	100.00	100.00	99.93	100.00	---	0/1515	0/1531	3/1462
Y2715	100.00	100.00	99.93	100.00	100.00	---	0/1515	2/1446
Y2814	100.00	100.00	99.93	100.00	100.00	100.00	---	3/1462
Y811	99.79	100.00	99.86	99.86	99.79	99.86	99.79	---

4.5.3. *Lactobacillus* cinsine ait izolatların 16S rRNA filogenisi, benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

Sekansı yapılan *Lactobacillus* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogramlar Şekil 4.7’de verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi 0.01’dir. Dış grup olarak *Bacillus subtilis* NCDO 1769^T (X60646) tip türü kullanılmıştır. *Lactobacillus* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı Ek 8’te verilmiştir.

4.5.4. *Leuconostoc* cinsine ait izolatların 16S rDNA filogenisi, benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

Leuconostoc cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogramlar Şekil 4.8’de verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi 0.02’dir. Dış grup olarak *Oenococcus oeni* JCM 6125^T (AB022924) tip türü kullanılmıştır. *Leuconostoc* cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı da Çizelge 4.16’da verilmiştir.



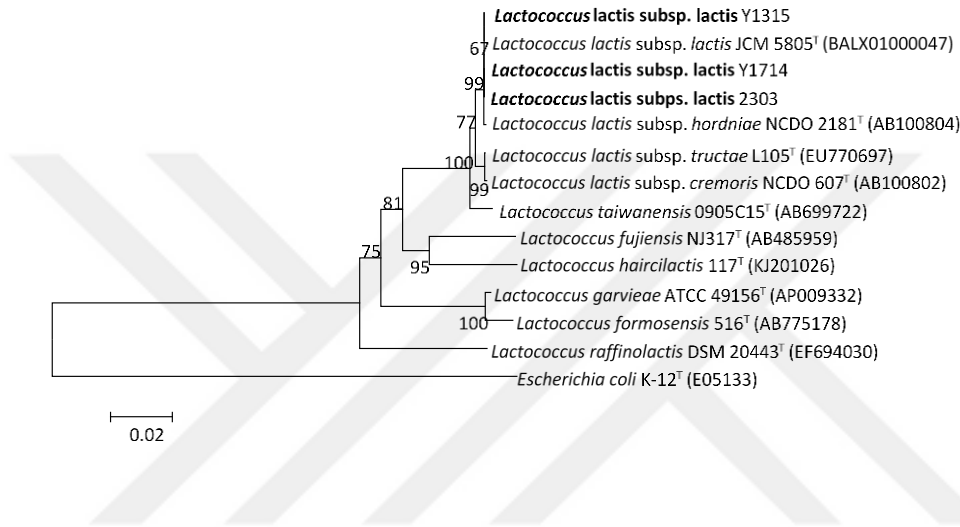
Şekil 4.8. *Leuconostoc* cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram

Çizelge 4.16. *Leuconostoc* cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

	1708	1804	1807	1808	1920	2307	2310	2605	2619	2812	Y2406	Y2407	Y2502	Y2505	Y2510	Y2808
1708	---	4/1493	33/1504	2/1502	4/1486	7/1505	33/1484	4/1502	1/1506	32/1483	1/1503	4/1506	4/1503	33/1503	4/1505	8/1506
1804	99.73	---	34/1493	4/1494	0/1485	5/1494	34/1483	2/1493	3/1493	33/1483	3/1490	2/1494	2/1490	34/1490	2/1494	6/1494
1807	97.81	97.72	---	35/1503	34/1484	34/1509	0/1484	34/1503	34/1507	1/1483	34/1504	34/1509	34/1504	0/1505	34/1509	33/1509
1808	99.87	99.73	97.67	---	4/1485	7/1505	35/1484	4/1503	1/1502	34/1483	1/1499	4/1505	4/1499	35/1499	4/1505	8/1505
1920	99.73	100.00	97.71	99.73	---	5/1485	34/1483	2/1485	3/1486	33/1483	3/1486	2/1486	2/1486	34/1485	2/1485	6/1486
2307	99.53	99.67	97.75	99.53	99.66	---	34/1484	5/1504	6/1508	33/1483	6/1505	5/1514	5/1505	34/1505	5/1515	1/1512
2310	97.78	97.71	100.00	97.64	97.71	97.71	---	34/1484	34/1484	1/1483	34/1484	34/1484	34/1484	0/1484	34/1484	33/1484
2605	99.73	99.87	97.74	99.73	99.87	99.67	97.71	---	3/1502	33/1483	3/1500	0/1504	0/1500	34/1500	0/1504	6/1504
2619	99.93	99.80	97.74	99.93	99.80	99.60	97.71	99.80	---	33/1483	0/1506	3/1509	3/1506	34/1506	3/1508	7/1509
2812	97.84	97.77	99.93	97.71	97.77	97.77	99.93	97.77	97.77	---	33/1483	33/1483	33/1483	1/1483	33/1483	32/1483
Y2406	99.93	99.80	97.74	99.93	99.80	99.60	97.71	99.80	100.00	97.77	---	3/1506	3/1506	34/1506	3/1505	7/1506
Y2407	99.73	99.87	97.75	99.73	99.87	99.67	97.71	100.00	99.80	97.77	99.80	---	0/1506	34/1506	0/1514	6/1513
Y2502	99.73	99.87	97.74	99.73	99.87	99.67	97.71	100.00	99.80	97.77	99.80	100.00	---	34/1505	0/1505	6/1506
Y2505	97.80	97.72	100.00	97.67	97.71	97.74	100.00	97.73	97.74	99.93	97.74	97.74	97.74	---	34/1505	33/1506
Y2510	99.73	99.87	97.75	99.73	99.87	99.67	97.71	100.00	99.80	97.77	99.80	100.00	100.00	97.74	---	6/1512
Y2808	99.47	99.60	97.81	99.47	99.60	99.93	97.78	99.60	99.54	97.84	99.54	99.60	99.60	97.81	99.60	---

4.5.5. *Lactococcus* cinsine ait izolatların 16S rRNA filogenisi, benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

Lactococcus cinsine ait izolatın 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogramlar Şekil 4.9’da verilmiştir. Nükleotit pozisyon değişimi 0.02’dir. Dış grup olarak *Escherichia coli* K-12^T (E05133) tip türü kullanılmıştır.



Şekil 4.9. *Lactococcus* cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogram

Lactococcus cinsine ait izolatların 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı Çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.17. *Lactococcus* cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı

	Y1714	Y1315	2303
Y1714	---	3/1486	4/1489
Y1315	99.80	---	1/1486
2303	99.73	99.93	---

4.6. *Weissella minor* 1704 izolatının DNA-DNA Hibridizasyonu

Weissella minor 1704 izolatının yeni tür olup olmadığının kesinlik kazanması için DNA-DNA hibridizasyonu yapılmıştır.

DNA-DNA hibridizasyon deneyleri için *Weissella minor* 1704 no’lu izolatın 16S rRNA gen dizi analizine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren dendogramdan

yakın akraba tür olarak belirlenen *Weissella uvarum* DSM 28060, *Weissella minor* DSM 20014, *Weissella viridescens* DSM 20410 suşları temin edilmiş ve tamamı çoğaltılmıştır. Hibridizasyon sonuçları Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.18. 1704 no’lu izolatın 16S rRNA gen dizi analizine göre yakın akraba olan *Weissella* tip suşlarıyla DNA-DNA hibridizasyon sonuçları

Yakın Akraba Türler	% Benzerlik			Ortalama
	1. Tekerrür	2. Tekerrür	3. Tekerrür	
<i>Weissella uvarum</i> DSM 28060	84	85	87	85,33
<i>Weissella viridescens</i> DSM 20410	66	66	68	66,66
<i>Weissella minör</i> DSM 20014	58	56	64	59,33

Yeni tür olabileceği düşünülen *Weissella* sp. 1704 nolu izolatın yakın akraba tip suşu *Weissella uvarum* ile %85,33 benzerlik göstermesi nedeni ile yeni tür olma ihtimali kalmamıştır. *Weissella minor* 1704 olarak tanımlanan izolatın DNA-DNA hibridizasyon sonucuna göre *Weissella uvarum* 1704 olduğu belirlenmiştir.

4.7. Ekşihamur LAB’lerinin Gluten Parçalama Yeteneğinin Belirlenmesi

Kış ve yaz grubu örneklerinden izole edilen ve Rep-PCR ile sınıflandırılan LAB izolatlarının katı besiyerinde gluten parçalama aktivitesi testleri gerçekleştirilmiştir. Katı besiyerinde izolatların hiçbirisi net zon oluşumu göstermemekle birlikte, *Weissella confusa* 816, *Lactobacillus curvatus* 504, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* Y1502 ile *Pediococcus pentosaceus* Y2814 izolatları konulan kuyucukların çevresinde sırasıyla 0,5-1 mm açılma olan bölgeler izlenmiştir. *Lactobacillus sanfranciscensis* Y219, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* Y601, *Lactobacillus paralimentarius* Y613 ve *Weissella cibaria* Y404 izolatlarının da besiyerinde verdikleri görünümünden muhtemel üretici olabilecekleri düşünülmüş ve bu suşlar için gluten parçalama yeteneğinden sorumlu enzimin hücrede yerleşim yerinin belirlenmesi testinin yapılmasına karar verilmiştir.

4.7.1. Gluten parçalama yeteneğinden sorumlu enzimin hücrede yerleşim yerinin belirlenmesi

Gluten parçalama yeteneğinden sorumlu enzimin ekzo- veya endoenzim olup olmadığının belirlenmesi için *Weissella confusa* 816, *Lactobacillus curvatus* 504, *Lactobacillus* sp. subsp. *tolerans* Y1502, *Pediococcus pentosaceus* Y2814,

Lactobacillus sanfarnciscensis Y219, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* Y601, *Lactobacillus paralimentarius* Y613 ve *Weissella cibaria* Y404 bakterileri kültürlerinin süpernatantları (ekzoenzimler) ve hücre parçalanıp hücre kalıntıları çöktürüldükten sonraki süpernatantları (endoenzimler) elde edilmiş ve test edilmiştir. Bu amaçla glutenli olarak hazırlanmış özel katı besiyerinde 6 mm çapında oyuklar açılmış ve herbir kuyucuğa süpernatantlardan 40'ar µl konulmuştur. Takiben 30°C'da 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra Coomassie Brilliant Blue R-250 boya çözeltisi ile boyanmış ve daha sonra da etanol/asetik asit boya yıkaması çözeltisi ile bekletilmiştir. Boyama işlemlerinin ardından petrilere oyuk etrafında zon oluşumunun varlığı değerlendirilmiştir. Ancak belirgin bir berrak zon elde edilememiştir. Bu izolatların seçimi için gerçekleştirilen "katı besiyerinde gluten parçalama aktivitesi testi" sonuçlarının da şüpheli olması nedeni ile bu sonuç beklenmeyen bir durum olmamıştır.

4.8. Ekşihamur LAB'lerinin Fitik Asit Parçalama Yeteneğinin Belirlenmesi

Ekşihamur kış örneklerinden Rep-PCR sonucu oluşan 42 farklı grubun herbirinden seçilerek 16S dizi analizine tabi tutulan temsilci 62 LAB izolatının katı besiyerinde fitaz aktivitesi testi sonucu pozitif zon veren 6 izolat seçilmiştir. Bu izolatlar ve fitaz aktivite sonuçları Çizelge 4.19'de verilmiştir.

Ekşihamur yaz örneklerinin 45 farklı grubunun herbirinden seçilen ve tanımlanan 63 LAB izolatının katı besiyerinde fitaz aktivitesi testi sonucu zon veren ve pozitif olarak seçilen 14 izolat belirlenmiş ve test sonuçları Çizelge 4.20'da verilmiştir.

Çizelge 4.19. Ekşihamur kış örneklerinden izole edilen fitaz aktiviteli LAB izolatları

İzolat Adı	Zon Çapı (mm)
<i>Weissella cibaria</i> 1920	8.0
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2605	7.3
<i>Leuconostoc citreum</i> 2812	16.0
<i>Lactobacillus graminis</i> 709	12.0
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2704	9.5
<i>Lactobacillus pentosus</i> 2705	10.0

Çizelge 4.20. Ekşihamur yaz örneklerinden izole edilen fitaz aktiviteli LAB izolatları

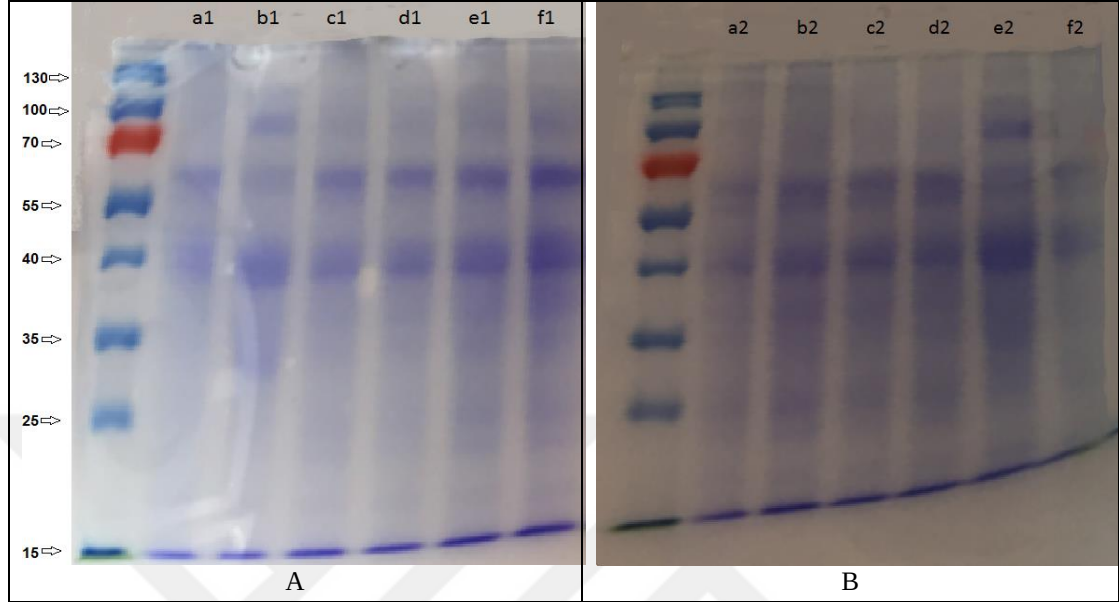
İzolat Adı	Zon Çapı (mm)
<i>Weissella cibaria</i> Y1720	16.5
<i>Weissella paramesenteroides</i> Y2802	8.5
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y214	8.0
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y507	7.0
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2204	10.5
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2201	18.5
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1502	10.0
<i>Lactobacillus curvatus</i> Y2205	16.0
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y2305	22.5
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y717	6.0
<i>Lactobacillus pontis</i> Y703	13.5
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2814	10.5
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2613	11.0
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2214	16.5

Manini vd (2016) 14 adet ekşihamur örneğinden 5 adedi fitik asit kalsiyum tuzunu parçalamış ve zon oluşumu 0.01-0.1 cm arasında, 3 adet ekşihamur örneğinin zon oluşumu 0.1-0.3 cm olarak ölçülmüştür. 2 adet örnekte ise 0.3 cm'den büyük zon çapı ölçülmüştür. Fitik asit sodyum tuzunu ise 4 adedi 0.01 ve 0.1 arasında, 5 adedi 0.1 ve 0.3 arasında, 4 adedi ise 0.3 cm'den büyük zon çapı vermiştir. Ekşihamur ile ilgili yapılan bir çalışmada katı besiyerinde fitaz aktivitesi 0.33 mm olarak bulunmuştur (Rizzello vd, 2014). Pepe vd (2004) tarafından, *Lb. plantarum* türlerinin katı besiyerinde fitaz aktivite sonuçları 6, 8 ve 12 mm olarak ölçülmüştür. Elde edilen veriler literatürden yüksek olmakla birlikte uyumludur.

4.9. Gluten Parçalayan Laktik Asit Bakterilerinin Gerçek Ekşihamur Sisteminde Proteolitik Etkisi

Ekşihamur kış ve yaz grubu örnekleri LAB izolatların katı besiyerinde gerçekleştirilen gluten aktivitesi testleri sonucunda net zon oluşumu görülmemekle birlikte yine de muhtemel üretici olabilecekleri ihtimaliyle seçilen ancak uygulanan gluten parçalama yeteneğinden sorumlu enzimin hücrede yerleşim yerinin belirlenmesi çalışmasında da olumlu sonuç vermeyen muhtemel üretici *Lactobacillus curvatus* 504, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* Y1502, *Pediococcus pentosaceus* Y2814 ve *Lactobacillus sanfranciscensis* Y219 izolatlarının gerçek ekşihamur sisteminde de proteolitik etkisi test edilmiştir.

Bu amaçla, seçilen izolatlar kullanılarak hazırlanan ekşihamurlar 24 ve 48 saat fermente edilmiş ve gluten polipeptidinde meydana gelen değişimler SDS-PAGE ile izlenmiştir. Elde edilen gluten bantları Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. Ekşihamurlardan 24 saat (A) ve 48 saat (B) inkübasyon sonunda izole edilen gluten proteinlerinin SDS-PAGE jel görüntüleri (a1 ve f2: Asidik Kontrol; b1 ve e2: Nötral Kontrol; c1 ve d2: Y219; d1ve c2: 504; e1 ve b2: Y1502; f1 ve a2: Y2814)

Nötral kontrol hamurunda diğerlerinden farklı olarak ~90 kDa boyutunda bir bantın varlığı hem 24 hem de 48 saat inkübasyon sonunda belirlenmiştir. 24 saat inkübasyon sonunda gerek LAB izolatları ile üretilen hamurlar gerekse de kimyasal yolla asitlendirilenler arasında bant profili açısından bir farklılık görülmemekle birlikte asitlendirilmiş hamurdaki bantların yoğunluğu daha düşük bulunmaktadır. 48 saat inkübasyon sonunda ise yine LAB izolatları ile üretilen hamurlar ile kimyasal yolla asitlendirilenler arasında bant profili açısından bir farklılık görülmemekle birlikte asitlendirilmiş hamur ve *Pediococcus pentosaceus* Y2814 kullanılan hamurdaki bantların yoğunluğu daha düşük bulunmaktadır. Tüm ekşihamurlarda bant yoğunluklarının De Angelis vd (2006) tarafından, belirlenenden daha düşük olması Di Cagno vd (2002) tarafından, yapılan çalışma sonucunda vurgulandığı gibi bakteriyel proteolize ilaveten biyolojik veya kimyasal asitlendirme ve un endojenik enzimlerinin neden olduğu proteolizin polipeptidlerde değişikliğe neden olmasına bağlanmıştır.

Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde herhangi bir LAB izolatının

asitlendirilmiş hamurdan daha farklı bir bant profili vermemesi nedeni ile seçilen izolatların gluten parçalama özelliğine sahip olmadığı sonucuna varılmıştır.

4.10. Fitat Parçalayan Laktik Asit Bakterilerinin Gerçek Ekşihamur Sisteminde Fitik Asit Miktarına Etkisi

Ekşihamur örneklerinden katı besiyerinde fitaz aktivitesi ile 18 izolat seçilmiş ve gerçek hamur sisteminde fitaz aktiviteleri test edilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.21’de verilmiştir.

Ekşihamur izolatlarından *Lactobacillus curvatus* Y2205 ve *Lactobacillus pentosus* Y2305 hariç diğerleri asit ilavesi ile pH değeri düşürülmüş kontrol hamura göre fitik asit miktarında % 0.07-8.66 arasında düşüş vermişlerdir. Bu iki izolatta ise düşüş saptanmamıştır. Özkaya (2004a) tarafından, unların ekmeğe işlenmesi sırasında gerek mayadaki fitaz aktivitesi gerek ise pişirme işleminden dolayı fitik asit miktarında % 18.9 ile % 50.7 oranları arasında bir azalma saptandığı; Özkaya (2004b) tarafından da fitik asit miktarının % 3, % 6 ve % 9 maya ilave edilen ve 2 saat fermente edilen kalın kepek örneklerinde sırasıyla % 86.1, % 87.1 ve % 88.8 oranında; ince kepek örneklerinde sırasıyla % 85.4, % 87.2 ve % 87.8 oranında düştüğü belirlenmiştir. Tam buğday unu ekmeği üzerinde yapılan bir diğer çalışmada % 2 maya içeren hamurun 3 saatlik fermentasyonu sonucunda yaklaşık % 34.6 saatlik fermentasyon süresi sonunda ise % 43 oranında fitik asit kaybına uğradığı saptanmıştır (McKenzie-Parnell ve Davies, 1986). Bir başka çalışmada da mayalı ve mayasız ekmeklerde fitat miktarının sırasıyla % 0.21 ve % 0.76 olduğu bildirilmiştir (Harland ve Harland, 1980).

De Angelis (2003) tarafından, *Lactobacillus sanfranciscensis* fitik asit aktivitesinin incelendiği çalışmada bu bakterinin inoküle edildiği hamur 37°C’da 8 saatlik fermentasyon sonucunda ekşihamurdaki fitik asit içeriği % 64-74 oranında azalmıştır.

Leenhardt vd (2005) tarafından, ekşihamur yönteminin diğer yöntemlerle karşılaştırıldığı çalışmada 4 saatlik fermentasyon sonucunda fitik asit içeriğinin % 36 azaldığı ve maya fermentasyonundan daha etkili olduğu belirlenmiştir. Ekşihamurdan izole edilen laktik asit bakterilerinin fitik asit içeriğinin azaltılmasında etkin olduğu belirtilmiştir (Lopez vd, 2000; De Angelis vd, 2003).

Çizelge 4.21. Ekşihamur LAB izolatlarının fitaz aktivitesi

İzolat Adı	Fitik Asit Miktarı (mg/100g)	Fitik Asit Miktarında Azalma (%)
<i>Weissella cibaria</i> 1920	72.0	8.56
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2605	74.6	5.22
<i>Leuconostoc citreum</i> 2812	71.9	8.66
<i>Lactobacillus graminis</i> 709	77.2	1.98
<i>Lactobacillus pentosus</i> 2705	73.2	7.01
<i>Weissella cibaria</i> Y1720	74.1	5.89
<i>Weissella paramesenteroides</i> Y2802	72.4	8.09
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y507	76.5	2.87
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2204	77.7	1.29
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2201	76.5	2.87
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1502	77.5	1.58
<i>Lactobacillus curvatus</i> Y2205	79.0	-0.37
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y2305	79.7	-1.30
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y717	73.3	6.94
<i>Lactobacillus pontis</i> Y703	75.3	4.38
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2814	75.7	3.81
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2613	76.5	2.82
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2214	78.7	0.07
Asidik Kontrol	78.7	-

Farklı ekstraksiyon oranlı unlarda fitik asit miktarının % 0.08-6, çeşitli ekmeklerde % 0.03-2.41 arasında bulunduğu (Reddy ve Sathe, 2002); tam buğday unu ekmeğinde de beyaz ekmekten daha yüksek oranda (sırasıyla % 0.56 ve % 0.03) fitik asit bulunduğu (Lasztity ve Lasztity, 1990) bildirilmiştir. Özkaya (2004a), unların ekstraksiyon oranı ve buğday çeşidine göre fitik asit içeriklerinin 71.8-1054.9 mg/100g arasında değişim gösterdiğini, bunlardan yapılan ekmeklerde ise bu oranın 36.8-855.5 mg/100g ve arasında bulunduğunu bildirmiştir. Reddy ve Sathe (2002) ise fitik asit miktarının beyaz ekmekte % 0.03-0.23 değerleri arasında olduğunu saptamıştır.

Çalışma sonuçlarımız hamurlardaki fitaz değerlerinin literatür ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Ancak, ekmek hamuru üretiminde kullanılan mayaların sahip olduğu yüksek fitat parçalama oranı dikkate alındığında, çalışmada LAB'leri için belirlenen bu değerler fitaz aktivitelerine göre starter olarak önerilmeleri için yeterli bulunmadıklarına işaret etmiştir. Bu nedenle izolatlar içerisinde ekşihamur ekmeği için kullanılabileceklerin seçimi için endüstriyel özelliklerinin belirlenmesine karar verilmiştir.

4.11. Ekşihamur Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Aktivite Varlığı

Antimikrobiyal aktivite varlığı, üretici suşların geliştirildiği plaklar üzerine ekilen indikatör mikroorganizmaların ekilmesi ve 30°C’da 24 saat inkübe edilmesi sonucu üretici suş kolonileri etrafındaki çoğalma olmayan berrak alanların ölçülmesi ile belirlenmiştir. Elde edilen inhibisyon zon boyutu Çizelge 4.22 ve 4.23’de verilmiştir.

Çizelge 4.22. Ekşihamur kış örnekleri LAB izolatları antimikrobiyal aktivite sonuçları

İzolat Adı	İndikatör Suşların İnhibisyon Zonu (mm)		
	<i>B. subtilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Weissella cibaria</i> 209	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 314	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 316	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 418	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 511	-	1.0	1.0
<i>Weissella cibaria</i> 907	-	-	1.0
<i>Weissella cibaria</i> 908	2.0	1.5	-
<i>Weissella cibaria</i> 920	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 1007	-	1.5	-
<i>Weissella cibaria</i> 1101	1.0	0.5	-
<i>Weissella cibaria</i> 1115	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 1306	1.0	0.5	-
<i>Weissella cibaria</i> 1418	1.5	0.5	-
<i>Weissella cibaria</i> 1701	0.5	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 1908	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 1915	0.5	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 1917	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 1941	-	-	-
<i>Weissella minör</i> 2707	-	-	-
<i>Weissella uvarum</i> 1704	-	1.0	-
<i>Weissella viridescens</i> 1904	-	-	-
<i>Weissella confusa</i> 816	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 1234	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 1610	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 1714	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2102	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2120	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2106	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2111	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2204	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2215	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2411	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2508	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2514	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2614	1.5	1.5	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2709	-	0.5	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2735	-	-	-

Çizelge 4.22. Ekşihamur kış örnekleri LAB izolatları antimikrobiyal aktivite sonuçları (devamı)

İzolat Adı	İndikatör Suşların İnhibisyon Zonu (mm)		
	<i>B. subtilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> 605	-	-	-
<i>Lactobacillus curvatus</i> 504	1.0	1.0	-
<i>Lactobacillus curvatus</i> 701	-	1.0	1.0
<i>Lactobacillus graminis</i> 709	3.0	1.5	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2704	2.0	1.0	1.0
<i>Lactobacillus pentosus</i> 2705	2.0	1.0	-
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 2303	-	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> 1807	-	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> 2310	1.0	0.5	-
<i>Leuconostoc citreum</i> 2812	-	-	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 1708	0.5	1.0	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 1804	-	-	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 1808	-	-	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 1920	0.5	0.5	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2605	1.0	0.5	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2619	3.0	2.5	2.0

TE: Tespit Edilmedi; -: Zon Yok

Çizelge 4.23. Ekşihamur yaz örnekleri LAB izolatları antimikrobiyal aktivite sonuçları

İzolat Adı	İndikatör Suşların İnhibisyon Zonu (mm)		
	<i>B. subtilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Weissella cibaria</i> Y404	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> Y910	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> Y1413	4.0	1.0	-
<i>Weissella cibaria</i> aY1711	3.5	1.5	1.0
<i>Weissella cibaria</i> Y1720	2.0	1.5	1.5
<i>Weissella cibaria</i> Y1907	1.0	1.0	0.5
<i>Weissella paramesenteroides</i> Y2609	6.5	4.0	2.0
<i>Weissella paramesenteroides</i> Y2802	4.5	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y105	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y210	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y214	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y215	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y219	2.0	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y301	-	-	0.5
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y314	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y310	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y507	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y1018	0.5	-	1.5
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y1616	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y1817	-	-	-
<i>Lactobacillus curvatus</i> Y2205	3.5	1.0	0.5
<i>Lactobacillus curvatus</i> Y2405	5.0	3.0	1.0
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> Y601	3.0	2.0	2.0

Çizelge 4.23. Ekşihamur yaz örnekleri LAB izolatları antimikrobiyal aktivite sonuçları (devamı)

İzolat Adı	İndikatör Suşların İnhibisyon Zonu (mm)		
	<i>B. subtilis</i>	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y113	3.5	-	3.0
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y2305	5.0	3.5	1.0
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y1206	1.5	2.5	1.5
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y1815	3.5	3.0	3.0
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1417	1.0	0.5	1.0
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1502	1.0	2.0	1.0
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2105	4.5	3.5	2.0
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2201	2.5	2.0	1.5
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2204	3.0	2.5	1.0
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y613	-	-	-
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y710	-	-	-
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y717	-	-	-
<i>Lactobacillus pontis</i> Y620	-	-	-
<i>Lactobacillus pontis</i> Y703	-	-	-
<i>Lactobacillus pontis</i> Y720	-	-	-
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y811	3.0	1.0	1.0
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y1501	2.0	2.5	1.0
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2214	4.0	2.0	1.5
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2613	3.5	2.0	1.5
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2715	5.5	1.0	-
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2814	5.5	2.0	2.0
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Y1315	-	-	-
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Y1714	4.0	-	3.5
<i>Leuconostoc citreum</i> Y2505	5.0	4.0	2.0
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> Y2808	3.5	1.5	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> Y2406	2.0	1.0	0.5
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> Y2502	4.5	1.5	1.5

TE: Tespit Edilmedi; -: Zon Yok

Ekşihamur yaz dönemi örnekleri LAB izolatlarının, kış dönemi ekşihamur örneklerinden daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. *Lactobacillus curvatus* Y2405, *Lactobacillus pantheris* Y1815, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* Y2105, *Lactobacillus pentosus* Y2305, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Y1714, *Leuconostoc citreum* Y2505, *Pediococcus pentosaceus* Y2613, Y2715 ve Y2814, *Weissella cibaria* Y1413 ve *Weissella paramesenteroides* Y2609 izolatları daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip izolatlardır.

Laktik asit bakterilerinin gıdalardaki koruyucu etkisi uzun zamandır bilinmektedir. Bu etki laktik asit üretimi ve ortam pH'sının düşmesi ile birlikte düşük (hidrojen peroksit, karbondioksit, diasetil vb.) ve yüksek (bakteriosin) moleküler

ağırlıklı maddelerin üretimi ile gerçekleşmektedir. Bu bileşenler gıdalarda bozulmaya ve patojen bakterilere karşı antagonistik etki göstermektedir (Stiles, 1996; Caplice ve Fitzgerald, 1999; Ammor vd, 2006; Moroni vd, 2009; Šušković vd, 2010).

Daly vd (1970) tarafından yapılan çalışmada, *S. aureus* ve birçok patojen bakteriye karşı inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir (Ross vd, 2002). Pepe vd (2004) tarafından *Lb. plantarum* türlerinin *B. subtilis*'e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir Pakistan fermente sütünden izole edilen laktik asit bakterilerinin *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Savadago vd, 2004). Ammor vd (2006) tarafından yapılan çalışmada, *Enterococcus faecium* ve *Lactococcus garvieae* türlerinin *S. aureus* türüne antagonistik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Mezaini vd (2009) tarafından, süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin *Bacillus subtilis* türüne karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Minervini vd (2011) tarafından, *Lb. sanfranciscensis* ve *Lb. plantarum* türlerinin antimikrobiyal maddeler sentezlediği belirtilmiştir. Laktik asit bakterilerinin gram pozitif *B. subtilis* ve *E. coli* türlerine karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Cizeikiene vd, 2013). Antimikrobiyal aktivite sonuçları literatür ile uyumludur.

4.12. Ekşihamur Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Endüstriyel Özellikleri

4.12.1. Asit üretim yetenekleri

Ekşihamur ekmeği üretiminde endüstriyi en çok etkileyen olay ekmek hamurunda asitlik gelişiminin yavaş olması nedeni ile fermantasyon süresinin uzun olmasıdır. Ekşihamur ekmeği üretiminde uygulanan uzun fermantasyon süresi maliyet artışına neden olmakta ve endüstriyel kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu durumun aşılması için hızlı ve fazla asit üreten laktik starter kültürlerin kullanılması önemli avantaj sağlayacaktır. Bu nedenle yeni LAB türü izolasyonu olmayan bu çalışmada ekşihamurdan izole edilen laktik asit bakterilerinin asit üretim yetenekleri test edilerek starter olarak kullanılabilecekler belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.24 ve 4.25'de verilmiştir.

Çizelge 4.24. Kış dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB'lerinin asit üretim yetenekleri

İzolat Adı	ToplamAsitlik (Laktik Asit)					pH Değeri
	1.gün	2.gün	3.gün	6.gün	7.gün	7.gün
<i>Weissella cibaria</i> 209	0.38	0.90	1.04	1.08	1.12	4.27
<i>Weissella cibaria</i> 314	0.36	0.62	0.66	1.44	1.44	3.93
<i>Weissella cibaria</i> 316	0.20	0.32	0.54	0.58	0.68	4.61
<i>Weissella cibaria</i> 418	0.64	0.96	1.00	1.04	1.08	4.25
<i>Weissella cibaria</i> 511	0.84	0.98	0.98	0.82	1.04	4.34
<i>Weissella cibaria</i> 907	1.02	1.36	1.32	1.26	1.38	4.16
<i>Weissella cibaria</i> 908	1.54	1.62	1.72	1.74	2.22	3.71
<i>Weissella cibaria</i> 920	1.56	1.78	2.00	2.00	2.08	3.73
<i>Weissella cibaria</i> 1007	0.24	0.70	1.24	1.24	1.26	4.21
<i>Weissella cibaria</i> 1101	0.28	0.88	0.94	0.94	1.00	4.33
<i>Weissella cibaria</i> 1115	0.40	0.74	1.08	1.06	1.18	4.22
<i>Weissella cibaria</i> 1306	0.56	0.70	0.72	0.74	0.82	4.52
<i>Weissella cibaria</i> 1418	0.58	0.76	0.76	0.74	0.78	4.57
<i>Weissella cibaria</i> 1701	0.36	0.72	0.80	0.82	0.90	4.57
<i>Weissella cibaria</i> 1908	0.56	0.78	0.82	0.74	0.88	4.34
<i>Weissella cibaria</i> 1803	0.72	0.72	0.72	0.78	1.14	4.21
<i>Weissella cibaria</i> T1915	0.10	0.34	0.56	0.58	0.72	4.62
<i>Weissella cibaria</i> 1917	0.34	0.56	0.58	1.08	1.46	3.91
<i>Weissella minor</i> 2707	0.58	0.88	0.90	0.90	0.90	4.38
<i>Weissella viridescens</i> 1904	0.22	0.64	0.60	1.58	1.60	3.85
<i>Weissella confusa</i> 816	0.58	0.86	1.00	1.04	1.08	4.16
<i>Weissella uvarum</i> 1704	0.64	1.00	1.04	1.00	1.00	4.36
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 1234	0.14	0.18	0.96	0.98	1.08	4.23
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 1714	0.14	1.08	1.40	1.40	1.44	4.01
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2102	0.12	0.12	1.08	0.68	1.84	3.81
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2106	0.46	0.68	0.64	0.82	0.82	4.39
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2111	0.16	0.20	0.60	0.82	1.40	4.09
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2114	1.74	1.88	2.00	1.98	1.98	3.78
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2120	0.22	0.58	0.72	0.82	1.26	4.05
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2204	0.16	0.30	0.46	0.64	0.76	4.57
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2215	0.20	0.48	0.58	0.68	0.68	4.64
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2411	0.50	0.88	1.02	1.04	1.06	4.28
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2508	0.28	0.76	1.06	1.08	1.08	4.17
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2514	0.34	0.64	0.68	0.72	0.82	4.52
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2614	1.18	1.18	1.28	1.26	1.36	4.11
<i>Lactobacillus curvatus</i> 504	0.88	0.90	1.00	1.06	1.02	4.26
<i>Lactobacillus curvatus</i> 701	0.88	1.30	1.44	1.48	1.70	3.98
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2704	0.90	1.66	1.66	1.76	1.76	3.84
<i>Lactobacillus pentosus</i> 2705	1.16	1.72	1.72	1.80	1.80	3.84
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> 605	0.90	1.70	1.82	1.68	1.86	3.80
<i>Lactobacillus graminis</i> 709	0.90	1.12	1.26	1.30	1.30	4.20
<i>Lactobacillus fermentum</i> 606	1.06	1.00	1.12	1.08	1.08	4.25
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 2303	0.72	1.20	1.16	1.16	1.04	4.26
<i>Leuconostoc citreum</i> 2310	0.74	1.00	0.92	1.00	1.06	4.27
<i>Leuconostoc citreum</i> 2812	0.64	0.98	1.00	1.02	1.02	4.34
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 1708	0.42	0.90	0.90	0.94	0.90	4.34

Çizelge 4.24. Kış dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB'lerinin asit üretim yetenekleri (devamı)

İzolat Adı	Toplam Asitlik (Laktik Asit)					pH Değeri
	1.gün	2.gün	3.gün	6.gün	7.gün	7.gün
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> 2307	0.74	0.82	0.86	0.78	0.94	4.37
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2619	1.18	1.72	1.86	1.82	1.90	3.79
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 1804	1.00	1.08	0.98	0.94	1.08	4.20
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 1920	0.38	0.98	0.96	0.82	0.80	4.34
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2605	0.94	0.98	1.00	1.02	0.96	4.27
Kontrol	0.16	0.18	0.18	0.18	0.18	5.45

Kış dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB izolatlarının fermantasyonun 1 ve 7. günlerinde ürettikleri % asit miktarları sırasıyla % 0.10-1.74 ve % 0.28-2.22 arasındadır. Bu günlerde yüksek üretim yapan *Weissella cibaria* 908, *Lactobacillus paralimentarius* 605, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* 2704, *Lactobacillus pentosus* 2705, *Leuconostoc pseudomesenteroides* 2619 ve *Lactobacillus sanfranciscensis* 2114 izolatlarının starter olarak potansiyele sahip olduklarına karar verilmiştir. Bunlar içerisinde de hem yüksek asit üretimleri ile hem de ekşihamurdan izolasyon sıklığı nedeni ile *Weissella cibaria* 908 ve *Lactobacillus sanfranciscensis* 2114 izolatları özel dikkat çekmektedir.

Kış dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB izolatlarının fermantasyonun 7. gününde pH değerini 3.71-4.64 pH arasına düşürdüğü saptanmıştır. Starter kullanılmaksızın üretilen kontrol örneğinde ise 5.45 pH olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.25. Yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB'lerinin asit üretim yetenekleri

İzolat Adı	% Asit					pH değeri
	1.gün	2.gün	3.gün	6.gün	7.gün	7.gün
<i>Weissella cibaria</i> Y910	0.44	0.58	0.58	1.00	1.44	3.90
<i>Weissella cibaria</i> Y1711	0.50	0.72	0.76	0.82	0.84	4.49
<i>Weissella cibaria</i> Y1720	0.30	1.04	1.08	1.06	1.08	4.34
<i>Weissella cibaria</i> Y1907	0.54	0.84	0.84	0.92	0.90	4.30
<i>Weissella cibaria</i> Y404	0.72	0.98	1.00	0.94	0.94	4.30
<i>Weissella cibaria</i> Y1413	0.46	0.56	0.64	1.44	1.62	3.93
<i>Weissella paramesenteroides</i> Y2609	0.50	0.74	1.08	1.08	1.10	4.35
<i>Weissella paramesenteroides</i> Y2802	0.36	0.96	1.00	0.98	1.12	4.35
<i>Weissella viridescens</i> Y2804	1.06	1.74	1.76	1.88	1.98	3.76
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y105	0.18	0.54	0.84	0.94	0.90	4.35
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y210	0.46	0.72	1.00	1.00	0.94	4.33
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y215	0.18	0.36	1.48	1.08	1.16	4.34
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y219	1.36	1.52	1.52	1.74	2.06	3.78

Çizelge 4.25. Yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB'lerinin asit üretim yetenekleri (devamı)

İzolat Adı	% Asit					pH değeri
	1.gün	2.gün	3.gün	6.gün	7.gün	7.gün
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y301	0.32	0.72	1.00	1.00	1.04	4.28
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y310	0.44	0.76	0.82	0.78	0.90	4.38
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y314	0.16	0.90	1.06	1.04	1.14	4.28
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y507	0.20	1.04	1.08	1.08	1.20	4.26
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y320	0.58	1.24	1.04	1.02	1.08	4.22
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y1514	0.34	1.84	1.76	1.88	1.92	3.80
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y1616	0.18	0.18	0.58	0.72	0.76	4.51
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y1817	1.26	1.54	1.72	1.88	1.98	3.81
<i>Lactobacillus curvatus</i> Y2205	0.48	0.96	1.28	1.26	1.30	4.12
<i>Lactobacillus curvatus</i> Y2405	0.58	0.80	0.86	0.84	0.90	4.37
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> Y601	1.30	1.70	1.78	1.76	1.68	3.93
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y113	0.92	1.64	1.72	1.68	1.76	3.90
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y2305	1.46	1.76	1.86	1.80	1.80	3.89
<i>Lactobacillus pantheris</i> Y1206	1.14	1.76	1.94	1.88	1.64	4.00
<i>Lactobacillus pantheris</i> Y1815	0.84	1.56	1.62	1.60	1.62	3.98
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y613	0.56	1.66	1.80	1.82	1.90	3.81
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y710	1.00	1.80	1.78	1.88	1.90	3.80
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y717	0.68	1.68	1.88	1.82	1.74	3.84
<i>Lactobacillus pontis</i> Y703	0.22	0.28	0.98	1.44	1.62	4.00
<i>Lactobacillus pontis</i> Y720	0.16	0.22	0.52	0.46	0.46	4.87
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1417	0.48	1.52	1.86	1.82	1.80	3.87
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1502	0.82	1.78	1.88	1.90	1.90	3.88
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1818	1.62	1.92	2.08	2.00	2.02	3.69
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2105	0.62	1.72	2.16	2.16	1.98	3.81
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2201	0.54	1.18	1.18	1.40	2.02	3.80
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2204	0.64	1.36	1.76	1.74	1.92	3.83
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y811	1.08	1.58	2.02	1.68	1.88	3.90
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y1501	1.08	1.72	1.86	1.78	1.92	3.81
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2214	0.72	0.82	1.06	1.10	1.18	4.10
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2216	1.00	1.38	1.54	1.88	1.90	3.78
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2613	0.76	1.36	1.84	1.86	1.88	3.90
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2712	1.36	1.54	1.80	1.88	2.02	3.78
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2715	0.90	1.66	1.86	1.76	1.80	3.83
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2814	0.90	1.60	1.80	1.78	1.72	3.92
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> Y1714	0.34	0.46	0.42	0.46	0.46	4.77
<i>Leuconostoc citreum</i> Y2505	0.98	1.04	1.04	0.98	1.04	4.15
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> Y2808	0.32	0.70	0.86	0.86	0.90	4.40
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> Y2406	0.46	1.02	0.94	0.98	1.00	4.32

Çizelge 4.25. Yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB'lerinin asit üretim yetenekleri (devamı)

İzolat Adı	% Asit					pH değeri
	1.gün	2.gün	3.gün	6.gün	7.gün	7.gün
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> Y2502	0.94	1.02	1.08	0.92	1.08	4.33
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> Y2407	0.12	0.56	1.26	1.88	1.96	3.79
Kontrol	0.16	0.18	0.18	0.18	0.18	5.45

Yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB izolatlarının fermantasyonun 1 ve 7. günlerinde sırasıyla % 0.12-1.46 ve % 0.46-1.98 asit ürettikleri belirlenmiştir. Asit üretim miktarlarına göre üst sıralarda yer alan *Weissella viridescens* Y2804, *Lactobacillus sanfranciscensis* Y219 ve Y1817, *Lactobacillus pentosus* Y2305, *Lactobacillus paralimentarius* Y710, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* Y1818, *Pediococcus pentosaceus* Y1501 ve Y2712 suşları starter olarak potansiyele sahip olarak seçilmiştir. Bu izolatlar içerisinde yaz döneminde hem asit üretim yeteneği ile hem de yüksek izolasyon sıklığı ile *Lactobacillus sanfranciscensis* Y219 ve Y1817, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* Y1818 ve *Pediococcus pentosaceus* Y2712 izolatları dikkat çekmektedir.

Karasu (2006), turşu ve zeytinden izole ettiği *Lb. plantarum* ve *Lb. pentosus* suşlarının fermantasyonun 1. gününde % 1.60-1.95 arasında; 7. gününde % 2.00-2.15 arasında asit ürettiklerini ve bir *Lb. plantarum* izolatı hariç diğerlerinin üretebilecekleri toplam asitliğin % 80'den fazlasını 1. gün sonunda ürettiklerini bildirmiştir. Çon (2006), peynirden izole edilen laktik asit bakterilerinin fermantasyonun 1. gününde % 0.40-0.90 arasında, 7. gününde % 1.05-1.98 arasında; Özkalp (2006), peynirden izole ettiği *Lc. lactis* ssp. *lactis* izolatlarının 1. gün sonunda % 0.29-1.08 arasında asit ürettiklerini belirlemişlerdir. Ertekin (2007), fermente ürünlerden izole edilen 42 LAB izolatının fermantasyonun 1. gününde % 0.55-2.04 arasında, 7. gününde % 1.07-2.19 arasında asit ürettiği saptamışlardır. Mumcu (1997), kefirde izole ettiği *L. plantarum* suşlarının birinci gün % 0.17, % 0.26 ve %0,64 olarak; Şimşek vd (2006), ekşihamurdan izole edilen 3 *L. plantarum* izolatının 1. gün sonunda % 0.80, % 1.00 ve % 1.27; 7. gün sonunda % 1.58, % 1.77 ve % 1.82 oranında asit ürettiğini belirtmişlerdir. Şimşek (2000) tarafından, ekşihamurdan izole edilen laktik asit bakterilerinin 1 günde % 0.71-1.68, 7 günde %

0.87-1.92 arasında asit ürettiğini bulmuştur. Yaman vd (1998), sucuktan izole edilen 3 *Lb. plantarum* suşunun 1. günde % 0.65, % 1.02 ve % 1.27; 7. günde % 0.81, % 1.44 ve % 1.48 asit ürettiğini tespit etmiştir. Bu veriler ekşihamurlarda elde edilen değerlerin literatür ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB izolatlarının fermentasyonun 7. gününde pH değerini 3.69-4.87 pH arasına düşürdüğü saptanmıştır. Şimşek (2003) tarafından, ekşihamurdan izole edilen laktik asit bakterilerinin pH değerini fermentasyonun 7. gününde 3.69–4.39 pH arasına indirdiği; Ertekin (2007) tarafından, fermente ürünlerden izole edilen 42 LAB izolatının fermentasyonun 7. gününde 3.30-4.41 pH arasına indirdiği ve Çon (2006) tarafından da peynirden izole edilen laktik asit bakterilerinin fermentasyonun 7. günde 3.64-4.64 pH'ya düştüğü belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarımız bu literatür verilerine yakın olmakla birlikte biraz yüksektir.

4.12.2. Farklı pH, tuz, alkol ve safra tuzu konsantrasyonlarında gelişme yetenekleri

Ekşihamur örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerine farklı pH, tuz, alkol, ve safra tuzu konsantrasyonlarında gelişimleri test edilmiş ve test sonuçları Çizelge 4.26 ve 4.27'da verilmiştir.

Çizelge 4.26. Kış dönemi ekşihamurlarından izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı pH, tuz, alkol ve safra tuzu konsantrasyonlarında gelişme sonuçları

İzolat Adı	pH		Tuz		Alkol	Safra tuzu
	3	3.5	%3	%6.5	%10	%5
<i>Weissella cibaria</i> 209	-	-	+	-	+	-
<i>Weissella cibaria</i> 314	-	-	+	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 316	-	-	+	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 418	-	-	+	+	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 511	-	-	+	+	+	-
<i>Weissella cibaria</i> 907	-	+	+	-	+	+
<i>Weissella cibaria</i> 908	-	+	+	+	+	+
<i>Weissella cibaria</i> 920	-	+	+	+	+	-
<i>Weissella cibaria</i> 1007	-	-	+	+	+	-
<i>Weissella cibaria</i> 1101	-	-	+	-	-	+
<i>Weissella cibaria</i> 1115	-	-	+	+	+	-
<i>Weissella cibaria</i> 1306	-	-	+	+	+	-
<i>Weissella cibaria</i> 1418	-	-	+	+	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 1701	-	-	+	-	-	-
<i>Weissella cibaria</i> 1803	-	-	+	-	+	-

Çizelge 4.26. Kış dönemi ekşihamurlarından izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı pH, tuz, alkol ve safra tuzu konsantrasyonlarında gelişme sonuçları (devamı)

İzolat Adı	pH		Tuz		Alkol	Safra tuzu
	3	3.5	%3	%6.5	%10	%5
<i>Weissella cibaria</i> 1908	-	-	+	+	-	-
<i>Weissella cibaria</i> T1915	-	-	+	+	+	-
<i>Weissella cibaria</i> 1917	-	-	+	+	+	-
<i>Weissella minor</i> 2707	-	-	+	-	-	-
<i>Weissella viridescens</i> 1904	-	-	+	+	+	-
<i>Weissella confusa</i> 816	-	-	+	+	+	-
<i>Weissella uvarum</i> 1704	-	-	+	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 1234	-	-	+	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 1714	-	-	+	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2102	-	-	+	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2106	-	-	+	-	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2111	-	-	-	-	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2114	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2120	-	-	+	-	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2204	-	+	-	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2215	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2411	-	-	+	-	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2508	-	-	-	-	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2514	-	-	+	+	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2614	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2704	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus pentosus</i> 2705	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus curvatus</i> 504	-	+	+	+	+	-
<i>Lactobacillus curvatus</i> 701	-	-	+	-	+	-
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> 605	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus graminis</i> 709	-	+	+	+	+	-
<i>Lactobacillus fermentum</i> 606	-	+	+	-	+	-
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> 2303	-	-	+	+	+	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 1708	-	-	+	-	-	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 1804	-	-	+	-	-	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 1920	-	-	+	+	+	+
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2605	-	+	+	-	+	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2619	-	+	+	+	+	+
<i>Leuconostoc citreum</i> 2310	-	-	+	-	+	-
<i>Leuconostoc citreum</i> 2812	-	+	+	+	+	+
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> 2307	-	-	+	+	-	-

Çizelge 4.27. Yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı pH, tuz, alkol ve safra tuzu konsantrasyonlarında gelişme sonuçları

İzolat Adı	pH		Tuz		Alkol	Safra tuzu
	3	3,5	%3	%6,5	%10	%5
<i>Weissella cibaria</i> Y404	-	-	+	+	-	-
<i>Weissella cibaria</i> Y910	-	-	+	-	+	-
<i>Weissella cibaria</i> Y1413	-	-	+	-	+	-
<i>Weissella cibaria</i> Y1711	-	-	+	+	+	-
<i>Weissella cibaria</i> Y1720	-	-	+	+	+	-
<i>Weissella cibaria</i> Y1907	-	-	+	-	+	-
<i>Weissella paramesenteroides</i> Y2609	-	-	+	+	+	+
<i>Weissella paramesenteroides</i> Y2802	-	-	+	+	+	+
<i>Weissella viridescens</i> Y2804	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y105	-	-	-	-	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y210	-	-	+	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y215	-	-	+	+	-	+
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y219	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y301	-	-	+	-	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y310	-	-	+	+	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y314	-	-	+	+	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y320	-	-	+	+	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y507	-	-	-	-	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y1514	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y1616	-	-	-	-	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y1817	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> Y601	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y113	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y2305	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus curvatus</i> Y2205	-	+	+	+	+	-
<i>Lactobacillus curvatus</i> Y2405	-	-	+	+	+	-
<i>Lactobacillus pontis</i> Y620	-	+	+	-	+	-
<i>Lactobacillus pontis</i> Y703	-	-	+	-	-	-
<i>Lactobacillus pontis</i> Y720	-	-	+	-	-	-
<i>Lactobacillus pantheris</i> Y1206	-	+	+	+	+	-
<i>Lactobacillus pantheris</i> Y1815	-	-	+	+	+	+
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y613	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y710	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus paralimentarius</i> Y717	-	+	+	+	+	-
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1417	-	+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1818		+	+	+	+	+
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1502	-	+	+	+	+	-
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2105	-	+	+	+	+	-
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2201	-	+	+	+	+	-
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y2204	-	+	+	+	+	-

Çizelge 4.27. Yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen laktik asit bakterilerinin farklı pH, tuz, alkol ve safra tuzu konsantrasyonlarında gelişme sonuçları (devamı)

İzolat Adı	pH		Tuz		Alkol	Safra tuzu
	3	3.5	%3	%6.5	%10	%5
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> Y1714	-	-	+	-	-	-
<i>Leuconostoc citreum</i> Y2505	-	-	+	+	+	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> Y2406	-	-	+	+	+	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> Y2502	-	-	+	+	-	-
<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides</i> Y2808	-	-	+	-	-	-
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y811	-	+	+	+	+	+
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y1501	-	+	+	+	+	+
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2214	-	+	+	+	+	-
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2216	-	+	+	+	+	+
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2613	-	+	+	+	+	+
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2712	-	+	+	+	+	+
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2715	-	+	+	+	+	+
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2814	-	+	+	+	+	+

Kış ve yaz dönemi ekşihamur izolatlarının hiçbirisi 3.0 pH değerinde gelişmemiş, 3.5 pH değerinde ise kış dönemi izolatlarından 10, yaz dönemi izolatlarından da 23 adet izolat gelişmiştir. Bu açıdan yaz dönemi izolatları ile kış dönemi izolatları arasında farklılık oluşmuştur. Asit üretim yeteneği açısından önem taşıyan *Lactobacillus paralimentarius* 605 ve *Pediococcus pentosaceus* Y2712 izolatları hariç *Weissella cibaria* 908, *Lactobacillus plantarum subsp. plantarum* 2704, *Lactobacillus pentosus* 2705, *Leuconostoc pseudomesenteroides* 2619, *Lactobacillus sanfranciscensis* 2114, *Weissella viridescens* Y2804, *Lactobacillus sanfranciscensis* Y219 ve Y1817, *Lactobacillus pentosus* Y2305, *Lactobacillus paralimentarius* Y710, *Lactobacillus paracasei subsp. tolerans* Y1818 ve *Pediococcus pentosaceus* Y1501 izolatlarının tamamı 3.5 pH değerinde gelişmiştir. Ayrıca bu izolatlar test edilen tuz, alkol ve safra tuzu oranlarında gelişmişlerdir. Bu sonuçlar starter seçilme açısından avantajlarını artırmıştır. Karasu (2006), turşu ve zeytinden izole edilen *Lb. plantarum* ve *Lb. pentosus* suşlarının 3.0 pH değerinde gelişme gösterdiğini; Santos vd (2003) ve Klingberg vd (2005), *L. plantarum* suşlarının 2.5 pH'da çoğalamadıklarını; G-Alegria vd (2004), *L. plantarum* suşlarının tümünün 3.6, 3.3 ve 3.2 pH'da kontrol örneğe göre % 50'nin üzerinde çoğalma gösterdiğini; Mc Donald vd (1990), *Lb. plantarum* ve *Leu. mesenteroides*'in pH 4.5-7.0 arasında rahatlıkla gelişme gösterdiğini belirtmişlerdir. Çon (2006), 3.0 ve 3.5 pH değerinde *L. plantarum* izolatlarının tümü gelişirken, *Lc. lactis ssp. lactis* izolatlarının 3.0 pH'da hiçbirisinin, 3.5 ve 4.0 pH'da ise 2 izolat hariç diğerlerinin

gelişemediğini bildirmiştir. Ertekin (2000), fermente ürünlerden izole edilen 42 LAB izolatının 3.0 pH'da 5 adedinin geliştiğini, 3.5 pH'da ise 37 adedinin geliştiğini saptamıştır. Papamanoli vd (2003) tarafından, yapılan çalışmada kuru fermente sucuktan izole edilen 24 adet *Lb. curvatus*'un 3.0 pH'da gelişme göstermediği bildirilmiştir. Ricciardi vd (2009) tarafından da *Weissella cibaria* minimum 3,6 pH'da geliştiği bildirilmektedir.

Çalışmada denenen %3.0 tuz konsantrasyonunda hem kış hem de yaz örneklerinde sadece 4'er adet *Lactobacillus sanfranciscensis* izolatı gelişmemiştir. % 6.5 tuz konsantrasyonunda ise yaz ve kış dönemlerinde toplam 65 izolat gelişme gösterirken, 39 izolat gelişmemiştir. Yaz örnekleri izolatları arasında % 6.5 tuzda gelişenlerin oranı kış izolatlarından daha yüksektir. Ekmek üretiminde hamur karışımında % 1.5 tuz kullanılmaktadır. Bu nedenle % 3.0 tuz oranında dahi gelişememe ekmek starteri açısından önem taşımamaktadır. Çon (2006), peynirden elde edilen tüm izolatların % 3.0 ile 5.0 tuz oranlarında rahatlıkla geliştiklerini; Badis vd (2004), keçi sütünden izole ettiği *Lb. plantarum* izolatlarının % 2 ve % 3 tuz konsantrasyonunda gelişme gösterdiğini fakat % 4.0 tuz konsantrasyonunda gelişme gösteremediğini belirtmiştir. Fusco vd (2015), Kandler vd (1983) ve Björkroth vd (2002) tarafından, *Weissella cibaria* ve *Weissella viridescens* türlerinin % 6.5, *Weissella minor* türünün % 8 ve *Weissella uvarum* türünün %4 tuzda gelişebileceği, *Weissella uvarum* türünün ise % 6.5 tuzda ise gelişemediği bildirilmektedir. Ricciardi vd (2009) da *Weissella cibaria* türünün % 12.2 tuzda gelişebileceğini bildirmektedir. Bu sonuçlar çalışma sonuçları ile çelişmemektedir. Karasu (2006) tarafından, 13 *Lb. plantarum* izolatının % 3, 5 ve 6.5 tuz oranlarında tümünün geliştikleri; Ertekin (2007) tarafından, fermente ürünlerden izole edilen 42 LAB izolatının % 3.0 tuzda sadece 1 adedinin gelişmediği saptamıştır. Sánchez vd (2000), izole ettiği *Lb. pentosus* suşlarının % 4.0 NaCl konsantrasyonlarında tümünün geliştiğini göstermiştir. García Fontán vd, (2007) tarafından, *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*'in 4 izolatının % 6.5 NaCl konsantrasyonunda tamamının gelişme gösterdiğini; Kelly vd (1998), sebze ve meyvelerden izole edilen laktokokların bütün suşların % 4.0 NaCl'de geliştiklerini belirtmişlerdir. Çalışmada *Lactobacillus sanfranciscensis* türüne ait 8 izolat (toplam 25 izolat) dışında diğer tüm türlere ait izolatların % 3 tuzda gelişmesi literatür ile uyumludur. % 6.5 tuz için verilen literatür bilgileri de sonuçlar ile benzerdir.

İzolatların safra tuzuna dayanıklılığını belirlemek için % 5.0 safra tuzu kullanılmıştır. Bu oranda yaz izolatlarından 21 adedi, kış izolatlarından da 11 adedi gelişme göstermiştir. Karasu (2006), turşu ve zeytinden izole ettiği *Lb. plantarum* ve *Lb. pentosus* suşlarının tümünün % 3 oxbile içeren besiyerinde gelişebildiğini; Çon (2006), peynirden izole ettiği 13 laktik asit bakteri izolatından birisinin % 3 safra tuzunda gelişemediğini; Ertekin (2007), fermente ürünlerden izole edilen 42 LAB izolatının % 3.0 ox-bile içeriğinde 6 adedinin gelişmediğini; Papamanoli vd (2003), 7 adet *Lb. plantarum* izolatının tümünün %2 ox-bile içerikli besiyerinde geliştiğini belirtmiştir. Çalışma sonuçları literatür verileri ile çelişmemektedir.

Kış ve yaz dönemine ait ekşihamur LAB izolatlarından % 10 alkolde sırasıyla 34 ve 43 adet izolat gelişme göstermiştir. Karasu (2006), turşu ve zeytinden izole ettiği *Lb. plantarum* ve *Lb. pentosus* suşlarının tümünün; G-Alegria vd (2004), *Lb. plantarum* izolatlarının tamamının % 12 etil alkol içeren besiyerinde gelişme gösterdiklerini bildirmiştir. Çon (2006) tarafından da peynirden izole edilen 13 laktik asit bakteri izolatından % 7 alkolde tümünün, % 12 alkolde ise 3 tanesinin gelişebildiğini tespit etmiştir. Ertekin (2007), fermente ürünlerden izole edilen 42 LAB izolatının % 10.0 alkolde 4 adedinin gelişmediğini saptamıştır. Sonuçlar literatür ile uyumludur.

4.13. Seçilmiş Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Endüstriyel Özellikleri

Ekşihamur ekmeği üretimi için seçilmiş 12 adet LAB izolatına farklı sıcaklıklarda gelişme ve glukozdan gaz üretme yetenekleri, back slopping işleminde stabilizasyon, asit üretme ve pH değerleri test edilmiştir.

4.13.1. Farklı sıcaklıklarda gelişme ve glukozdan gaz üretme yetenekleri

Ekşihamur ekmeği üretimi için endüstriyel özellikleri dikkate alınarak seçilmiş 12 ekşihamur LAB izolatının MRS-5 broth'da 72 saat inkübasyon sonrası gelişme yetenekleri test edilmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.28'de verilmiştir.

Çizelge 4.28. Seçilmiş LAB izolatlarının gelişme sıcaklığı ve glikozdan gaz üretimi

İzolat Adı	Gelişme Sıcaklığı		Glukozdan Gaz Üretimi
	10°C	15°C	
<i>Weissella cibaria</i> Y404	-	+	±
<i>Weissella viridescens</i> Y2804	+	+	±
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1502	-	+	±
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y219	-	+	-
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2114	-	+	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> Y601	-	+	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2704	-	+	-
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y2305	-	+	-
<i>Lactobacillus pentosus</i> 2705	-	+	-
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2814	-	+	-
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2613	-	+	-
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2605	+	+	+

Seçilen izolatların 10 adedi 10°C’de gelişmemekle birlikte bu durum bir eksiklik olarak görülmemektedir. Literatürde *Weissella cibaria* ve *Weissella uvarum* türlerinin 15°C, *Weissella minör* türünün 10°C ve *Weissella viridescens* türünün de 5°C gelişebildiği bildirilmektedir (Holzapfel ve Wood, 2014, Fusco vd, 2015). Bir başka çalışmada da *Weissella cibaria* türünün minimum 9,0°C’da geliştiği bildirilmektedir (Ricciardi vd. 2009). *Leuconostoc pseudomesenteroides* (Holzapfel ve Wood, 2014) ve *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*’ın (Vos vd, 2009) 10°C’de gelişebileceği bildirilmektedir.

Proje kapsamında örnek alımlarında ziyaret edilen fırınların hamurhanelerinde sıcaklık 20°C’nin altına düşmemektedir. Bu nedenle izolatların tamamı gelişme sıcaklığı alt sınırı açısından ekmek starteri olarak kullanıma uygundur.

Weissella ve *Leuconostocaceae* heterofermentatiftir ve glukozdan CO₂ üretirler (Collins vd, 1993; Holzapfel ve Wood, 2014, Fusco vd, 2015). *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* fakültatif heterofermantatiftir (Vos vd, 2009). Çalışmada da bu cinslere ait türler CO₂ üreticisi olarak belirlenmiştir. *Pediococcus pentosaceus* ise homofermantatiftir (Vos vd, 2009) gaz üretmez.

4.13.2. Back-slopping işleminde stabilizasyon

Endüstriyel özellikleri dikkate alınarak seçilmiş 12 ekşihamur LAB izolatı MRS-5 broth'da 18 saat çoğaltıldıktan sonra 5000 rpm değerinde 10 dakika santrifüjlenerek çöktürülmüş, süpernatant uzaklaştırılmış ve hücre çökeltisi eşdeğer hacimde steril fizyolojik su ile süspanse edilmiştir. Bu laktik asit bakteri süspansiyonlarından (Çizelge 4.29) % 2 ve kuru ticari ekmek mayasından üretici firmanın önerdiği miktarda aşılama ile sterilize edilmiş unlardan 12 farklı hamur yoğrulmuştur. Takiben 30°C'da pH değeri 4.0 pH ve altına düşecek şekilde 12 saatlik fermantasyona bırakılmıştır.

Çizelge 4.29. Ekşihamur mayalamada kullanılan LAB süspansiyonlarının McFarland değerleri

İzolat Adı	Mc Farland Değeri
<i>Weissella cibaria</i> Y404	3.7
<i>Weissella viridescens</i> Y2804	6.5
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1502	9.6
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y219	10.0
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2114	10.0
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> Y601	11.0
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2704	11.0
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y2305	10.0
<i>Lactobacillus pentosus</i> 2705	10.0
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2613	8.1
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2814	8.8
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2605	7.7

Aşılama kültürü kullanılarak elde edilen 12 adet hamur back slopping ile (%10 aşılama) herbirinden 9'ar kez hamur üretilmiştir. Her bir basamakta hamurlar 4.0 pH ve altına düşecek şekilde fermantasyona bırakılarak (8 saat) ekşihamurlar elde edilmiştir. Her bir hamurda elde edilen pH değerleri Ek 9'da verilmiştir. Doğrudan kültür aşılama ve 12 saat fermente edilen hamur ile back-slopping ile aşılama ve 8 saat fermente edilen hamurlar pH değeri açısından birbirine yakın sonuçlar vermişlerdir. Back-slopping işlemi ile aşılamanın seçilen izolatların pH düşürme hızı üzerine olumsuz etkisi olmadığı ortaya konulmuştur. *Weissella viridescens* Y2804 izolatının besiyerinde olduğu gibi hamur ortamında da pH düşürme hızı diğerlerinden daha düşük belirlenmiştir.

Seçilmiş izolatların % asit üretme değerleri de 1, 6 ve 10. hamurlarda belirlenmiştir. Elde edilen % asit sonuçları değerlendirmenin birlikte yapılması için Çizelge 4.30'da pH değerleri ile birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.30. Seçilmiş LAB izolatları ile üretilmiş ekşihamurların asitlik ve pH sonuçları

İzolat Adı	1. Hamur		6. Hamur		10. Hamur	
	% Asit	pH	% Asit	pH	% Asit	pH
<i>Weissella cibaria</i> Y404	0.31	3.75	0.35	3.59	0.34	3.67
<i>Weissella viridescens</i> Y2804	0.21	4.00	0.26	3.90	0.29	3.77
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1502	0.32	3.60	0.29	3.67	0.32	3.54
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y219	0.38	3.37	0.34	3.37	0.36	3.49
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2114	0.41	3.35	0.37	3.44	0.35	3.43
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> Y601	0.40	3.34	0.36	3.47	0.37	3.46
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2704	0.42	3.33	0.36	3.40	0.37	3.43
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y2305	0.44	3.44	0.37	3.43	0.37	3.43
<i>Lactobacillus pentosus</i> 2705	0.39	3.32	0.37	3.36	0.36	3.43
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2814	0.35	3.51	0.33	3.47	0.29	3.64
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2613	0.31	3.54	0.30	3.53	0.30	3.57
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2605	0.38	3.57	0.35	3.60	0.35	3.59

Ekşihamurların % asit değerleri de back-slopping işleminden olumsuz etkilenmemiştir. En yavaş pH düşürme değerlerinin saptandığı *Weissella viridescens* Y2804 izolatu en düşük % asit üretim değerine sahiptir. Bu iki sonuç birbirini desteklemektedir. Bununla birlikte bu izolatın asit üretim hızı ve miktarı da ekşihamur üretimi için yeterli kabul edilebilecektir. Ekşihamurların laktik asit bakteri ve maya sayıları da 1, 6 ve 10. hamurlarda belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.31'da verilmiştir.

LAB izolatları ve ticari hamur mayası birlikte kullanılarak üretilen hamurda (1. Hamur) LAB sayısı 7.69-9.19 log KOB/g arasında, 6. hamurda 7.72-9.51 log KOB/g arasında, 10. hamurlarda ise 8.17-9.16 arasındadır. Ekşihamurların mayalanmasında kullanılan LAB kültürleri içerisinde en düşük iki Mc Farland değerine sahip olan *Weissella cibaria* Y404 ve *Weissella viridescens* Y2804 izolatlarının hamur ortamında 12 saat inkübasyondan sonraki sayımda yüksek değerlere sahip olmaları bu izolatların hamur ortamına uyum sağladıklarına işaret etmektedir.

Çizelge 4.31. Seçilmiş LAB izolatları ile üretilmiş ekşihamurların LAB ve maya sayısı

İzolat Adı	Mikroorganizma sayısı (log KOB/g)					
	1. Hamur		6. Hamur		10. Hamur	
	LAB	Maya	LAB	Maya	LAB	Maya
<i>Weissella cibaria</i> Y404	9.17	7.18	8.54	<4.0	9.00	<2.0
<i>Weissella viridescens</i> Y2804	9.10	7.24	8.94	<4.0	8.66	<2.0
<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i> Y1502	8.85	7.56	7.72	<4.0	7.67	<2.0
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> Y219	9.10	7.33	8.97	<4.0	9.10	<2.0
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> 2114	9.14	7.33	9.49	<4.0	9.12	<2.0
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> Y601	9.19	7.34	8.65	<4.0	9.08	<2.0
<i>Lactobacillus plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> 2704	8.97	7.14	9.43	<4.0	8.96	<2.0
<i>Lactobacillus pentosus</i> Y2305	8.27	6.80	8.66	<4.0	8.63	<2.0
<i>Lactobacillus pentosus</i> 2705	8.88	7.29	8.67	<4.0	8.95	<2.0
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2814	7.69	7.98	7.88	<4.0	8.84	<2.0
<i>Pediococcus pentosaceus</i> Y2613	8.86	7.50	8.46	<4.0	8.17	<2.0
<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> 2605	8.95	7.14	9.51	<4.0	9.16	<2.0

Maya sayısı ise 1. hamurda 6.0-7.98 log KOB/g, 6 ve 10. hamurlarda ise sayım için ekim yapılan en düşük dilüsyonda sayılamamıştır (sırasıyla 10^4 ve 10^2 KOB/g). Maya sayısının back slopping ile üretilen 5. hamurda (toplamda 6. hamurda) <4.0 log KOB/g çıkması nedeniyle 10. hamurda 10^{-2} 'lik seyreltiden başlanarak ekim yapılmış, ancak bu seyreltide de maya sayısı saptanabilir düzeyin altında bulunmuştur. Bu durum beklenmeyen bir sonuç olmuştur. Bu sonuçlar kullanılan LAB izolatlarının *S. cerevisiae* üzerine antifungal aktivitesinin olmaması nedeni ile endüstriyel suşun back-slopping işlemine uygun olmamasına bağlanmıştır. Daha önce yapılan ekşihamur çalışmalarında da endüstriyel hamur mayası olan *S. cerevisiae* türünün izolasyon oranının düşük olması bu sonucu desteklemektedir.

5. SONUÇ

Çalışmada Trabzon, Giresun, Ordu ve Samsun illerinde bulunan 27 farklı işletmeden 2 farklı iklim döneminde toplam 54 adet ekşihamur örneği toplanarak, ekmeğin duyusal, besinsel özellikleri ile raf ömrünü ve yapısını etkileyen ekşihamur fermantasyonunda görev alan LAB florası tanımlanmış, gluten parçalama ve fitaz aktivitelerinin varlığı araştırılmış ve ekşihamur ekmeği starteri olabilecekleri belirlemek için endüstriyel özellikleri ile ekşihamur üretimindeki stabiliteleri belirlenmiştir.

Karadeniz Bölgesi ekşihamur örneklerinin pH değeri kış döneminde 4.35 ± 0.19 ve 4.88 ± 0.48 ; yaz döneminde 3.73 ± 0.78 ve 4.20 ± 0.39 pH arasında belirlenmiştir. Asitlik derecesi ve toplam asitlik değeri de sırasıyla kış döneminde 4.36 ± 1.88 ve 7.05 ± 1.14 ; 0.39 ± 0.11 ve 0.68 ± 0.14 arasında; yaz döneminde 5.91 ± 2.15 ve 9.46 ± 5.35 ve 0.59 ± 0.20 - 0.86 ± 0.45 arasında bulunmuştur.

Ekşihamur örneklerinin % kurumadde ve kül oranları da sırasıyla kış döneminde 53.26 ± 2.55 ve 55.68 ± 4.82 ; 0.59 ± 0.06 ve 0.76 ± 0.13 arasında; yaz döneminde 54.06 ± 3.02 ve 57.39 ± 2.38 ; 0.53 ± 0.05 ve 0.60 ± 0.06 arasında belirlenmiştir.

Ekşihamur örneklerinin kış döneminde LAB sayısı 7.47 ± 0.29 ve 7.86 ± 0.57 log KOB/g arasında ve ortalama 7.59 ± 0.57 log KOB/g; TAMB sayısı 6.59 ± 0.54 ve 6.84 ± 0.26 log KOB/g arasında ve ortalama 6.73 ± 0.32 log KOB/g; maya sayısı 6.50 ± 0.49 ve 6.80 ± 0.20 log KOB/g arasında ve ortalama 6.65 ± 0.29 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Yaz döneminde ise LAB sayısı 4.93 ± 0.70 ve 7.08 ± 0.82 log KOB/g arasında ve ortalama 6.17 ± 1.37 log KOB/g; TAMB sayısı 5.87 ± 0.67 ve 6.46 ± 0.22 log KOB/g arasında ve ortalama 6.14 ± 0.74 log KOB/g; maya sayısı 6.07 ± 0.86 ve 6.67 ± 0.52 log KOB/g arasında ve ortalama 6.39 ± 0.55 log KOB/g olarak belirlenmiştir.

Analiz edilen kış ve yaz dönemi ekşihamur örneklerinden toplam 1028 adet LAB izolatı (GTG)₅ bant profillerine göre 42 ve 45 gruba ayrılmışlardır. Bu gruplarda kış dönemine ait ekşihamurlardan izole edilen 62 adet izolatın, 22 adedi *Weissella cibaria*, 17 adedi *Lactobacillus sanfranciscensis*, 6 adedi *Leuconostoc*

pseudomesenteroides, 3 adedi *Leuconostoc citreum*, 3 adedi *Lactobacillus curvatus* ve birer adedi de *Weissella minör*, *Weissella viridescens*, *Weissella confusa*, *Weissella uvarum*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus graminis*, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* olarak tanımlanmıştır. Yaz dönemi toplam 63 izolattan 17 adedi *Lactobacillus sanfranciscensis*, 6 adedi *Weissella cibaria*, 8 adedi *Pediococcus pentosaceus*, 6 adedi *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, 4 adedi *Lactobacillus paralimentarius*, 2 adedi *Lactobacillus curvatus*, 2 adedi *Lactobacillus pantheris*, 2 adedi *Lactobacillus pentosus*, 3 adedi *Lactobacillus pontis*, 2 adedi *Weissella paramesenteroides*, 1 adedi *Weissella confusa* ve 1 adedi *Weissella viridescens* 2 adedi *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, 4 adedi *Leuconostoc pseudomesenteroides*, 1 adedi *Leuconostoc citreum*, 1 adedi *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* ve 1 adedi *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* olarak tanımlanmıştır.

Mikrobiyotada baskın bulunan *Lactobacillus sanfranciscensis* izolat sayısı yaz ve kış dönemi örneklerinde benzer bulunurken; *Weissella cibaria*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* ve *Leuconostoc citreum* sayısı yaz döneminde önemli düzeyde düşmüş ve *Weissella* spp. çeşitliliği azalmıştır. Yine yaz döneminde farklı olarak 5 adet *Pediococcus pentosaceus* ile *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Lactobacillus pantheris* ve *Lactobacillus pontis* türleri izole edilmiştir. Bu sonuçlar kış ve yaz döneminde ekşihamur mikrobiyotasının önemli düzeyde değiştiğini göstermiştir.

Ekşihamur LAB izolatlarının katı besiyerinde gluten parçalama aktivitesi testinde net zon oluşumu göstermemekle birlikte, *Weissella confusa* 816, *Lactobacillus curvatus* 504, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* Y1502 ile *Pediococcus pentosaceus* Y2814, *Lactobacillus sanfranciscensis* Y219, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* Y601, *Lactobacillus paralimentarius* Y613 ve *Weissella cibaria* Y404 izolatlarının muhtemel üretici olabilecekleri düşünülmüş ve bu suşlar için gluten parçalama yeteneğinden sorumlu enzimin hücrede yerleşim yerinin belirlenmesi testi gerçekleştirilmiştir. Ancak ekzoenzim ve endoenzimleri içerecek supernatantlar glutenli olarak hazırlanmış özel katı besiyerinde zon oluşumu vermemiştir.

Ekşihamur kış örneklerinden Rep-PCR sonucu oluşan 42 farklı grubun herbirinden seçilerek 16S dizi analizine tabi tutulan temsilci 62 LAB izolatının katı besiyerinde fitaz aktivitesi testi sonucu pozitif zon veren ve pozitif olarak 6 izolat seçilmiştir. Bu izolatlardan en yüksek fitaz aktivitesine sahip olan *Lb. citreum* 2812 (16 mm) türüdür. Ekşihamur yaz örneklerinin 45 farklı grubunun herbirinden seçilen ve tanımlanan 63 LAB izolatının katı besiyerinde fitaz aktivitesi testi sonucu zon veren ve pozitif olarak 14 izolat seçilmiştir. Bu izolatlardan *Lb. pentosus* Y2305 (22.5 mm) en yüksek fitaz aktivitesine sahip türdür.

LAB izolatlarının antimikrobiyal aktivite analizinde en az bir indikatöre karşı 3 mm ve daha üzerinde inhibisyon zonu veren izolat sayısı kış örneklerinde 2, yaz örneklerinde ise 21 adettir. Ekşihamur yaz dönemi izolatlarının, kış dönemi izolatlarından daha yüksek antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir.

Lactobacillus curvatus 504, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* Y1502, *Pediococcus pentosaceus* Y2814 ve *Lactobacillus sanfranciscensis* Y219 izolatlarının gerçek ekşihamur sisteminde de proteolitik etkisi 24 ve 48 saat fermente edilmiş hamurda gluten polipeptidinde meydana gelen değişimler SDS-PAGE ile izlenerek değerlendirilmiştir. Nötral kontrol hamurunda diğerlerinden farklı olarak ~90 kDa Da boyutunda bir bantın varlığı hem 24 hem de 48 saat inkübasyon sonunda belirlenirken, LAB izolatları kullanılarak üretilen hamurlar ile kimyasal yolla asitlendirilenler arasında 24 ve 48 saat inkübasyon sonunda bant profili açısından bir farklılık görülmemekle birlikte, 24 saat sonunda asitlendirilmiş hamurdaki bantların yoğunluğu, 48 saat inkübasyon sonunda da asitlendirilmiş hamur ve *Pediococcus pentosaceus* Y2814 kullanılan hamurdaki bantların yoğunluğu daha düşük bulunmaktadır. Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde herhangi bir LAB izolatının asitlendirilmiş hamurdan daha farklı bir bant profili vermemesi nedeni ile seçilen izolatların gluten parçalama özelliğine sahip olmadığı sonucuna varılmıştır.

Ekşihamurdan gluten parçalama ve fitaz aktivite testleri sonucunda da yüksek kapasiteli izolatlar elde edilememesi nedeni ile LAB izolatlarının diğer bazı endüstriyel özellikleri belirlenmiştir.

Ekşihamurlarından izole edilen LAB izolatlarının fermantasyonun 1 ve 7. günlerinde ürettikleri % asit miktarları sırasıyla kış dönemi izolatlarında % 0.10-1.74 ve % 0.28-2.22 arasında, yaz dönemi izolatlarında % 0.12-1.46 ve % 0.46-1.98

arasındadır. Bu günlerde yüksek üretim yapan *Weissella cibaria* 908, *Lactobacillus paralimentarius* 605, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* 2704, *Lactobacillus pentosus* 2705, *Leuconostoc pseudomesenteroides* 2619 ve *Lactobacillus sanfranciscensis* 2114, *Weissella viridescens* Y2804, *Lactobacillus sanfranciscensis* Y219 ve Y1817, *Lactobacillus pentosus* Y2305, *Lactobacillus paralimentarius* Y710, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* Y1818, *Pediococcus pentosaceus* Y1501 ve Y2712 suşları starter olarak potansiyele sahip olarak seçilmiştir.

Kış ve yaz dönemi ekşihamurlarından izole edilen LAB izolatlarının fermantasyonun 7. gününde pH değerini sırasıyla 3.71-4.64 pH ve 3.69-4.87 pH arasına düşürdüğü saptanmıştır. Kontrol örneğinde ise 5.45 pH olarak ölçülmüştür.

Kış ve yaz dönemi ekşihamur izolatlarının hiçbirisi 3,0 pH değerinde gelişmemiş, 3,5 pH değerinde ise kış dönemi izolatlarından 10, yaz dönemi izolatlarından da 23 adet izolat gelişmiştir. Bu açıdan yaz dönemi izolatları ile kış dönemi izolatları arasında farklılık oluşmuştur. Çalışmada denenen % 3.0 tuz konsantrasyonunda hem kış hem de yaz örneklerinde sadece 4'er adet *Lactobacillus sanfranciscensis* izolatı gelişmemiştir. % 6.5 tuz konsantrasyonunda ise yaz ve kış dönemlerinde toplam 65 izolat gelişme gösterirken 39 izolat gelişmemiştir.

İzolatların safra tuzuna dayanıklılığını belirlemek için denenen % 5.0 safra tuzu oranında yaz izolatlarından 21 adedi, kış izolatlarından da 11 adedi gelişme göstermiştir. % 10 alkolde ise yaz dönemine ait 43, kış dönemine ait 34 izolat gelişme göstermiştir.

Ekşihamur ekmeği üretimi için endüstriyel özellikleri dikkate alınarak *Weissella cibaria* Y404, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* Y1502, *Weissella viridescens* Y2804, *Lactobacillus sanfranciscensis* Y219, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* Y601, *Lactobacillus pentosus* Y2305, *Pediococcus pentosaceus* Y2613, *Pediococcus pentosaceus* Y2814, *Lactobacillus sanfranciscensis* 2114, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* 2704, *Lactobacillus pentosus* 2705 ve *Leuconostoc pseudomesenteroides* 2605 izolatları starter olabilecek özelliklere sahip olarak seçilmişlerdir.

Ekşihamur ekmeği üretimi için endüstriyel özellikleri dikkate alınarak seçilen izolatlar içerisinde 2 tanesi 10°C'da gelişebilmekle birlikte bu durum bir eksiklik olarak görülmemektedir. Proje kapsamında örnek alımlarında ziyaret edilen fırınların

hamurhanelerinde sıcaklık 20°C'nin altına düşmemektedir. Bu nedenle izolatların tamamı gelişme sıcaklığı alt sınırı açısından ekme starteri olarak kullanıma uygundur.

Laktik asit bakteri süspansiyonlarından % 2 ve ticari ekme mayasından üretici firmanın önerdiği miktarda aşılanaarak ışınlaama ile sterilize edilmiş unlardan üretilen hamurlar aşılama kültürü olarak kullanılarak back-slopping ile (% 10 aşılama) herbirinden 9'ar kez 4.0 pH ve altına düşecek şekilde fermantasyona bırakılarak (8 saat) ekşihamurlar elde edilmiştir. Doğrudan kültür aşılana ve 12 saat fermente edilen hamur ile back-slopping ile aşılana ve 8 saat fermente edilen hamurlar pH ve % asit değerleri açısından birbirine yakın sonuçlar vermişlerdir. Back-slopping işlemi ile aşılamanın seçilen izolatların pH düşürme hızı ve asit üretim kapasitesi üzerine olumsuz etkisi olmadığı ortaya konulmuştur.

LAB izolatları ve ticari hamur mayası birlikte kullanılarak üretilen hamurda (1. hamur) LAB sayısı 7.69-9.19 log KOB/g arasında, 6. hamurda 7.72-9.51 log KOB/g arasında, 10. hamurlarda ise 8.17-9.16 arasındadır. Bu sonuç back-slopping işleminin seçilen laktik asit bakterileri üzerine olumsuz etkisinin olmadığını göstermektedir. Ancak, 1. hamurda 6.0-7.98 log KOB/g, olan maya sayısının 6 ve 10. hamurlarda sırasıyla $<10^4$ ve 10^2 KOB/g olması bu endüstriyel suşun back-slopping işlemine uygun olmamasına bağlanmıştır.

Karadeniz Bölgesi ekşihamurlarından izole edilen *Weissella cibaria* Y404, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* Y1502, *Weissella viridescens* Y2804, *Lactobacillus sanfranciscensis* Y219, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* Y601, *Lactobacillus pentosus* Y2305, *Pediococcus pentosaceus* Y2613, *Pediococcus pentosaceus* Y2814, *Lactobacillus sanfranciscensis* 2114, *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* 2704, *Lactobacillus pentosus* 2705 ve *Leuconostoc pseudomesenteroides* 2605 türlerinin endüstriyel özellikleri açısından ekşihamur ekmeği üretiminde starter olarak kullanılmasının uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Akgün, F.B. (2007). Ekşi hamur tozu eldesi ve ekmek üretiminde kullanılabilme olanakları. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 68 sayfa, Denizli.
- Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E. and Chevallier, I. 2006. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1-screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control*, 17, 454-461. doi:10.1016/j.foodcont.2005.02.006
- Anonim, 1984. International Association for Cereal Science and Technology. ICC-Standard No.106/2, Vienna
- Anonim, 1990. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of the AAC, 8th edition, The Association: St. Paul, MN.
- Anonim, 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları. Başak Matbaacılık Ltd.Şti., Ankara.
- Aslam, Z., Im, W-T., Ten, L.N., Lee, M-J., Kim, K-H. and Lee, S.T. 2006. *Lactobacillus siliginis* sp. nov., isolated from wheat sourdough in South Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, 2209-2213. doi:10.1099/ij.s.0.64321-0.
- Aydoğdu, A. ve Mızrak, M. 2017. Azerbaycan ve Türkiye mutfak kültürünün tarihi birlikteliği ve mevcut durumunun belirlenmesi. *Uluslararası Türk Dünyası Turizm Araştırmaları Dergisi*, 2:1,15-25.
- Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemaa, B., Henni, D.E., Tornadijo, M.E. and Kihal, M. 2004. "Identification of Cultivable Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Raw Goat's Milk and Evaluation of Their Technological Properties". *Food Microbiology*, 21, 343-349. doi:10.1016/S0740-0020(03)00072-8
- Bae, H.D., Yanke, L.J., Cheng, K.-J., and Selinger, L.B. 1999. A novel staining method for detecting phytase activity. *Journal of Microbiological Methods*, 39: 1, 17-22. doi:10.1016/S0167-7012(99)00096-2
- Björkroth, K.J., Schillinger, U., Geisen, R., Weiss, N., Hoste, B. and Holzapfel, W.H. 2002. Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov., detected in food and clinical samples. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 141-148. doi:10.1099/00207713-52-1-141

- Blandino, A., Al-Aseeria, M. A., Pandiella, S. S., Cantero, D. and Webb, C. 2003. Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, 36, 527-543. doi:10.1016/S0963-9969(03)00009-7
- Cai, Y., Okda, H., Mor, H., Benno, Y. and Nakase, T. 1999. *Lactobacillus paralimentarius* sp. nov., isolated from sourdough. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49, 1451-1455. doi:10.1099/00207713-49-4-1451
- Caplice, E. and Fitzgerald, G.F. 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 131-149. doi:10.1016/S0168-1605(99)00082-3
- Carr, F.J., Chill, D. and Miada, N. 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28: 4, 281-370. doi:10.1080/1040-840291046759
- Cebeci, A. and Gürakan, C. 2003. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology*, 20, 511-518. doi: 10.1016/S0740-0020(02)00174-0
- Chartrand, L.J., Russo, P.A., Duhaime, A.G., and Seidman, E.G. 1997. Wheat starch intolerance in patients with celiac disease. *Journal of the American Dietetic Association*, 6, 612-618. doi:10.1016/S00002-8223(97)00156-9
- Chun, J. and Goodfellow, M. 1995. A phylogenetic analysis of the genus *Nocardia* with 16S rRNA gene sequences. *International Journal System Bacteriology*, 45, 240-245. doi:10.1099/00207713-45-2-240
- Cizeikiene, D., Juodeikiene, G., Paskevicius, A. and Bartkiene, E. 2013. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread. *Food Control*, 31, 539-545. doi:10.1016/j.foodcont.2012.004
- Collins, M.D., Samelis J., Metaxopoulos, J. and Wallbanks, S. 1993. Taxonomic studies on some *Leuconostoc*-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *Journal of Applied Microbiology*, 75, 595-603. doi:10.1111/j.1365-2672.1993.tb01600.x
- Corsetti, A., Lavermicocca, P., Morca, M., Baruzzi, F., Tosti, N. and Gobbetti, M. 2001. Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria from wheat (species *Tr. Durum* and *Tr. aestivum*) sourdoughs of southern Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 64, 95-104. doi:10.1016/S0168-1605(00)00447-5
- Corsetti, A., Settanni, L., Sinderen, D., Felis, G.E., Dellaglio, F., and Gobbetti, M. 2005. *Lactobacillus rossi* sp. nov., isolated from wheat sourdough. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 35-40. doi:10.1099/ijs.0.63075-0

- Corsetti, A. and Settanni, L. 2007. Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Research International*, 40, 539-558. doi:10.1016/j.foodres.2006.11.001
- Çağlıyan, B.İ. (2008). İzmir piyasasında satılan bazı ekmek çeşitlerinin nitelikleri ve yapım teknikleri. Doktora tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 117 sayfa, İzmir
- Çon, A.H. and Gökalp, H.Y. 2000. Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal metabolitleri ve etki şekilleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 30, 180-190.
- Çon, A. H. (1995). Sucuktan bakteriosin-benzeri antimikrobiyal metabolit üreten laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve identifikasyonu ve çeşitli gıda zararlısı ve/veya gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı antagonistik aktivite araştırması. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 84 sayfa, Erzurum.
- Çon A.H. (2006). Beyaz ve geleneksel peynirlerden probiyotik özellikteki laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve karakterizasyonu. Proje Raporu, Pamukkale Üniv. BAP Proje No: 2004FBE003, Denizli.
- Daly, C., Sandine, W.E. and Elliker, P.R. 1970. Interactions of food starter cultures and food-borne pathogens: *Streptococcus diacetylactis* versus food pathogens. *Journal of Milk and Food Technology*, 35, 349-357. doi:10.4315/0022-2747-35.6.349.
- De Angelis, M., Gallo, G., Corbo, M.R., McSweeney, P.H.L., Faccia, M., Giovine, M. and Gobbetti, M. 2003. Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of a phytase from *Lactobacillus sanfranciscensis* CB1. *International Journal of Food Microbiology*, 87, 259-270. doi:10.1016/S.0168-1605(03)00072-02.
- De Angelis, M., Rizzello, C.G., Fasano, A., Clemente, M.G., De Simone, C., Silano, M., De Vincenzi, M., Losito, I. and Gobbetti, M. 2006. VSL#3 probiotic preparation has the capacity to hydrolyze gliadin polypeptides responsible for celiac sprue. *Biochimica et Biophysica*, 1762, 80-93. doi:10.1016/j.bbdis.2005.09.008
- De Re, V., Caggiari, L., Tabuso M. and Cannizzaro, R. 2013. The versatile role of gliadin peptides in celiac disease. *Clinical Biochemistry*, 46, 552-560. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2012.10.038>.
- Dertli, E., Mercan, E., Arıcı, M., Yılmaz, M.T. and Sağdıç, O. 2016. Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics. *Food Science and Technology*, 71, 116-124. doi:10.1016/j.fwt.2016.03.030
- 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 and Environmental Microbiology*, 68: 12, 6059–6069. doi:10.1128/AEM.68.12.6059-6069.2002

- De Vuyst, L. and Neysens, P. 2005. The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 43-56. doi: 10.1016/j.tifs.2004.02.012
- De Vuyst, L. and Vancanneyt, M. 2007. Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 24, 120-127. doi:10.1016/j.fm.2006.07.005
- De Vuyst, L., Van K., Harth, H., Huys, G., Daniel, H-M. and Weckx, S. 2014. Microbial ecology of sourdough fermentations: Diverse or uniform? *Food Microbiology*, 37,11-29. doi:10.1016/j.fm.2013.06.002
- Dığrak, M. ve Özçelik, S. 1991. Elazığ ve Yöresinde Kullanılan Ekşi Mayanın Bileşimi, Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri. *Gıda*, 16:5, 325-331.
- Di Cagno, R., De Angelis, M., Lavermicocca, P., De Vincenzi, M., Giovannini, C., Faccia, M. and Gobbetti, M. 2002. Proteolysis by sourdough lactic acid bacteria: effects on whet flour protein fractions and gliadin peptides involved in human cereal intolerance. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 2, 623-633. doi:10.1128/AEM.68.2.623-633.2002
- Ehrmann, M.A., Brandt, M., Stolz, P., Vogel, R.F. and Korakli, M. 2007. *Lactobacillus secaliphilus* sp. nov., isolated from type II sourdough fermentation. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 745-750. doi:10.1099/ij.s.0.64700-0
- Erdil, A. ve Ateş, Y. 2005. Gluten enteropatisinde son gelişmeler. *Güncel Gastroenteroloji*, 9:1, 18-28.
- Ertekin, Ö. (2007). Farklı gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin nümerik taksonomisi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 176 sayfa, Denizli
- Evren, M. (1991). Turşudan laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve bunlardan starter kültür üretiminin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda ve Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 64 sayfa, Samsun.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogeny: an appropriate use of the bootstrap. *Evolution*, 39, 783-791. doi:10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x
- Fusco, V., Quero, G.M., Cho, G-S., Kabisch, J., Meske, D., Neve, H., Bockelmann, W. and Franz, C.M.A.P. 2015. The genus *Weissella*: taxonomy, ecology and biotechnological potential. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1-22. doi:10.3389/fmicb.2015.00155
- Galle, S. and Arendt, E. K. 2014. Exopolysaccharides from sourdough lactic acid bacteria. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54: 7, 891-901. doi: 10.1080/10408398.2011.617474

- García Fontán, M.C., Lorenzo, J.M., Martínez, S., Franco, I. and Carballo, J. 2007. Microbiological characteristics of Botillo, a Spanish traditional pork sausage. 40: 9, 1610-1622. *LWT Food Science and Technology*. doi: 10.1016/j.lwt.2006.10.007
- Gerçekaslan, K.E., Kotancılar, H.G., Kaban, G. and Karaoğlu, M.M. 2012. Vakfikebir ekmek hamurundan laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve tanısı. *Akademik Gıda*, 10:3, 47-50
- Gobbetti, M. 1998. The sourdough microflora interactions of lactic acid bacteria and yeasts. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 267-274. doi:10.1016/S0924-2244(98)00053-3
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A. and Di Cagno, R. 2005. Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 57-69. doi:10.1016/j.tifs.2004.02.013
- Gobbetti, M., Rizzello, C.G., Di Cagno, R. and De Angelis, M. 2007. Sourdough lactobacilli and celiac disease. *Food Microbiology*, 24, 187-196. doi:10.1016/j.fm.2006.07.014.
- Gobbetti, M., Rizzello, C.G., Di Cagno, R. and De Angelis, M. 2014. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. *Food Microbiology*, 37, 30-40. doi:10.1016/j.fm.2013.04.012
- 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. doi:10.3767/003158508X336576
- Gu, C.T., Li, C.Y., Yang, L.J. and Huo, G.C. 2013. *Lactobacillus mudanjiangensis* sp. nov., *Lactobacillus songhuajiangensis* sp. nov. and *Lactobacillus nenjiangensis* sp. nov., isolated from Chinese traditional pickle and sourdough. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63, 4698-4706. doi:10.1099/ijs.0.054296-0
- Gül, H. Özçelik, S., Sağdıç, O. and Certel, M. 2005. Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. *Process Biochemistry*, 40: 2, 691–697. doi:10.1016/j.procbio.2004.01.044
- Gül, L.B. (2013). Tarhanadan izole edilen bakteriyosin üreticisi laktik asit bakterilerinin endüstriyel özellikleri ve *S. cerevisiae* ile etkileşimi. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 165 sayfa, Samsun.
- Güre, S. (2009). Ekşihamurlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin gluten üzerine proteolitik etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 63, Isparta.

- Güzelcan, M.S. ve El, S.N. 2011. Simidin demir ve çinko mineralleriyle zenginleştirilmesi ve in vitro mineral biyoyararlılığının saptanması. *Gıda*, 36:1, 41-48
- Gänzle, 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. doi:10.1016/j.fm.2006.07.006
- G-Alegria, E., López, I., Ruiz, I.J., Sáenz, J., Fernández, E., Zarazaga, M., Dizy, M., Torres, C. and Ruiz-Larrea, F. 2004. High tolerance of wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains to lyophilisation and stress environmental conditions of acid pH and ethanol. *FEMS Microbiology Letters*, 230, 53-61. doi:10.1016/S0378-1097(03)00854-1
- Halkman, A. (Editör) 2005. *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Başak Matbaacılık, Ankara.
- Harland, B.F. and Harland, J. 1980. Fermentative reduction of phytate in rye, white, and whole wheat breads. *Cereal Chemistry*, 57:3,226-229
- Holzapfel, W.H.N. and Wood, B.J.B. (Editörler) 2014. *Lactic acid bacteria biodiversity and taxonomy*. Wiley Blackwell, Oxford, UK.
- Honke, J., Kozłowska, H., Vidal-Valverde, C., Frias, J. and Górecki, R. 1998. Changes in quantities of inositol phosphates during maturation and germination of legume seeds. *Z Lebensm Unters Forsch A*, 206,279-283.
- Jukes, T.H. and Cantor, C.R. 1969. *Evolution of protein molecules* (Third edition). Academic Press, 21-132, New York.
- Kandler, O., Schillinger, U. and Weiss N. 1983. *Lactobacillus halotolerans* sp. nov., nom. rev. and *Lactobacillus minor* sp. nov., nom. rev. *Systematic and Applied Microbiology*, 4, 280–285. doi:10.1016/S0723-2020(83)80056-3
- Karasu, N. (2006). Turşu ve zeytinden antogonistik ve probiyotik özellikte laktik starter kültür eldesi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 88 sayfa, Denizli
- Katina, K., Arendt, E., Liukkoen, K., Autio, K., Falnder, L. and Poutanen, K. 2005. Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends in Food Science & Technology*, 16, 104-112. doi:10.1016/j.tifs.2004.03.008
- Kelly, W.J., Davey, G.P. and Ward, L.J.H. 1998. Characterization of Lactococci isolated from Minimally Processed Fresh Fruit and Vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, 45, 85-92. doi:10.1016/S0168-1605(98)00135-4
- Kim, S.W., Perl, L., Park, H. J., Tandianus, E.J. and Dunn, W.N. 2001. “Assesment of Stress Responce of the Probiotic *Lactobacillus acidophilus*”. *Current Microbiology*, 43, 346-350. doi:10.1007/s002840010314

- Kim, O.S., Cho, Y.J., Lee, K., Yoon, S.H., Kim, M., Na, H., Park, S.C., Jeon, Y.S., Lee, J.H., Yi, H., Won, S. and Chun, J. 2012. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiol*, 62, 716–721. doi:10.1099/ij.s.0.038075-0
- Klingberg, T.D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D. and Budde, B.B. 2005. Identificaton of potential probiotic starter cultures for scandinavian-type fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 105, 419-431. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.020>
- Kostinek, M., Specht, I., Edward, V.A., Pinto, C., Egounlety, M., Sossa, C., Mbugua, S., Dortu, C., Thonart, P., Talijsaard, L., Mengu, M., Franz, C.M.A.P. and Holzapfel, W.H. 2007. Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 114, 342-351. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.029>
- Kotancılar, H.G., Karaoğlu, M.M., Gerçekaslan, K.E. ve Uysal, P. 2006. Ekşi hamur katkısının beyaz tava ekmeğinin bayatlaması üzerine etkisi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 37: 1, 103-110.
- Kömen, G. (2010). Structural changes of gliadins during sourdough fermentation as a promising approach to gluten-free diet. Master's Thesis, İzmir Institute of Technology Graduate School of Engineering and Sciences Food Engineering Department, 106, İzmir.
- Lane, D. J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: nucleic acid techniques in bacterial systematics. John Wiley and Sons, New York, 115-175.
- Lazstity, R. and Lazstity, L. 1990. Phytic acid in cereal technology pages. 309-371. In.: *Advances in Cereal Science and Technology*. Vol. X. Edt. Y. Pomeranz.
- Lazaridou, A., Duta, D. Papageorgiou, M., Belc, N. and Biliaderis, C.G. 2007. Effects of hydrocolloids on dough reology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79, 1033-1047. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2006.03.032
- Leenhardt, F., Levrat-Verney, M., Chanliaud, E. and Rémésy, C. 2005. Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1, 98-102. doi:10.1021/jf049193q
- Lhomme, N., Lattanzi, A., Dousset, X. Minervini, F., De Angelis, M., Lacaze, G., Onno, B. and Gobbetti, M. 2015. Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of sixteen French traditional sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology*, 215, 161-170. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.09. 015

- Lopez, H.W., Ouvry, A., Bervas, E., Guy, C., Messenger, A., Demigne, C. and Remesy, C. 2000. Strains of lactic acid bacteria isolated from sour doughs degrade phytic acid and improve calcium and magnesium solubility from whole wheat flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48:6, 2281-2285. doi:10.1021/jf000061g
- Lönner, C., Welander, T., Malin, N. and Dostalek, M. 1986. The Microflora in a Sour Dough Started Spontaneously on Typical Swedish Rye Meal. *Food Microbiology*, 3: 1, 3-12. doi:S0740-0020(86)80019-3
- Manini, F., Casiraghi, M.C., Poutanen, K., Barsca, M., Erba, D. and Plumed-Ferrer, C. 2016. Characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat bran sourdough. *Food Science and Technology*, 66, 275-283. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.045>
- Mc Kenzie-Parnell, J.M. and Davies N.T. 1986. Destruction of phytid acid during home breadmaking. *Food Chemistry*, 22, 181-192. doi:10.1016/0308-8146(86)90077-4
- McDonald, L.C., Fleming, H.P. and Hassan, H.M. 1990. Acid tolerance of *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 56:7, 2120-2124
- Meroth, C.B., Water, J., Hertel, C., Brandt, M.J. and Hammes, V.P. 2003. Monitoring the bacterial population dynamics in sourdough fermentation processes by using PCR-Denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 475-482. doi:10.1128/AEM.69.1.475-482.2003
- 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 and Environmental Microbiology*, 73, 4741-4750. doi:10.1128/AEM.00315-07
- Mezaini, A., Chihib, N.E., Bouras, A.D., Nedjar-Arroume, N. and Hornez, J.P. 2009. Antibacterial activity of some lactic acid bacteria isolated from an Algerian dairy product. *Journal of Environmental and Public Health*, 1-6. doi:10.1155/2009/678495
- Minervini, F., Di Cagno, R., Lattanzi, A., De Angelis, M., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S. and Gobbetti, M. 2011. The lactic acid bacteria and yeast microbiota of nineteen sourdoughs used for the manufacture of traditional/typical Italian breads: interactions between ingredients and microbial species diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 1-41. doi:10.1128/AEM.07721-11
- Moroni, A.V., Dal Bello, F. and Arendt, E.K. 2009. Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiology*, 26, 676-684. doi: 10.1016/j.fm.2009.07.001.

- Mumcu, Z.N. (1997). Kefirden izole edilen laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobiyal ve plasmid DNA'larının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara
- Naser, S.M., Thompson, F.L., Hoste, B., Gevers, D., Dawyndt, P., Vancanneyt, M. and Swings, J. 2005. Application of multilocus sequence analysis of (MLSA) for rapid identification of *Enterococcus* species based on rpoA and pheS genes. *Microbiology*, 151:7, 2141-2150. doi:10.1099/mic.0.27840-0
- Ogunsakin, O.A., Banwo, K., Ogunremi, O.R. and Sanni, A.I. 2015. Microbiological and physicochemical properties of sourdough bread from sorghum flour. *International Food Research International*, 22:6,2610-2618.
- Özcangaz, Ç. (2000). Türk hamur ekmeğindeki laktik suşların karakterizasyonu ve maya ile olan etkileşimleri. Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 101 sayfa, Ankara
- Özel, S. (2012). Tarhana hamuru fermentasyonunun mikrobiyal taksonomik yapısı ve populasyon dinamiğinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 153 sayfa, Denizli.
- Özkalp, B. (2006). Doğal tip *Lactococcus lactis* suşlarının endüstriyel starter kültür potansiyellerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, 115 sayfa, Ankara.
- Özkaya, B. (2004a). *Ekmeğin Fitik Asit Miktarına Çeşit ve Ekstraksiyonun Etkisi* (Proje No: 2002-07-11-064). Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Özkaya, H. (2004b). *Buğday Kepeğinin Defitinizasyonu İçin Uygun Yöntemin Belirlenmesi* (Proje No: 2002-07-11-062). Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Palacios M.C., Haros, M., Sanz, Y. and Rosell C.M. 2008. Selection of lactic acid bacteria with high phytate degrading activity for application in whole wheat breadmaking. *LWT-Food Science and Technology*, 41: 1, 82–92. doi:10.1016/j.lwt.2007.02.005
- Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Kotzekidou, P. 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Science*, 65, 859-867. doi:10.1016/S0309-1740(02)00292-9
- Paramithiotis, S., Gioulatos, S., Tsakalidou, E. and Kalantzopoulos, G. 2006. Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria in sourdough. *Process Biochemistry*, 2429-2433. doi:10.1016/j.procbio.2006.07.001
- Paramithiotis, S., Sofou, A., Tsakalidou, E. and Kalantzopoulos, G. 2007. Flour carbohydrate catabolism and metabolite production by sourdough lactic acid bacteria. *World Journal Microbial Technology*, 23, 1417-1423. doi:10.1007/s11274-007-9384-9

- Pepe, O., Blaiotta, G., Anastasio, M., Moschetti, G., Ercolini, D. and Villani, F. 2004. Technological and molecular diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from naturally fermented sourdoughs. *Systematic and Applied Microbiology*, 27, 443-453. doi:10.1078/0723202041438446
- Plessas, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Koutinas, A., Voudourou, C., Stavropoulou, E. and Bezirtzoglou, E. 2009. Application of novel starter cultures for sourdough bread production. *Anaerobe*, 17, 486-489. doi:10.1016/j.anaerobe.2011.03.022.
- Raghavendra P. and Halami, P.M. 2009. Screening, selection and characterization of phytic acid degrading lactic acid bacteria from chicken intestine. *International Journal of Food Microbiology*, 133: 1-2, 129-134. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.006
- Randazzo, C.L., Restuccia, C., Daniele Romano, A. and Caggia, C. 2004. *Lactobacillus casei*, Dominant Species in Naturally Fermented Scillian Green Olives. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 9-14. doi:10.1016/S0168-1605(03)00159-4
- Ravyts, F. and De Vuyst, L. 2011. Prevalence and impact of single-strain starter cultures of lactic acid bacteria on metabolite formation on sourdough. *Food Microbiology*, 28, 1129-1139. doi:10.1016/j.fm.2011.03.004
- Reddy, N.R. and Sathe, S.K. 2002. Food Phytates. Boca Raton, London, New York
- Ricciardi, A., Parente, E. and Zotta, T. 2009. Modelling the growth of *Weissella cibaria* as a function of fermentation conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 107: 5, 1528-35. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04335.x
- Rizzello, C.G., Calasso, M., Campanella, D., De Angelis, M. and Gobbetti, M. 2014. Use of sourdough fermentation and mixture of wheat chickpea, lentil and bean flours for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of wheat bread. *International Journal of Food Microbiology*, 180, 78-87. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.04.005
- Rizzello, C.G., Cavoski, I., Turk, J., Ercolini, D., Nionelli, N., Pontonio, E., De Angelis, M., De Flippis, F., Gobbetti, M. and Di Cagno, R. 2015. Organic cultivation of *Triticum turgidum* subsp. *durum* is reflected in the flour-sourdough fermentation bread axis. *Applied and Environmental Microbiology*, 81: 9, 3192-3204. doi:10.1128/AEM.04161-14
- Rizzello, C.G., Lorusso, A., Montemurro, M. and Gobbetti, M. 2016. Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. *Food Microbiology*, 56, 1-13. doi:10.1016/j.fm.2015.11.018

- Rollán, G., De Angelis, M., Gobbetti, M. and DeValdez, G.F. 2005. Proteolytic activity and reduction of gliadin-like fractions by lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology*, 99, 1495-1502. doi:10.1111/j.1365-2672.2005.02730.x
- Rosenquist H. and Hansen Å. 2000. The microbial stability of two bakery sourdoughs made from conventionally and organically grown rye. *Food Microbiology*, 17, 241-250. doi:10.1016/fmic.1999.0313
- Ross, R.P., Morgan, S. and Hill, C. 2002. Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79, 3-16. doi:10.1016/S0168-1605(02)00174-5
- Salovaara, H. 1993. Lactic Acid Bacteria in Cereal Based Products, In Lactic Acid Acid Bacteria, New York.
- Saitou N. and Nei M. 1987. The neighbour-joining method: a new method for constructing phylogenetic trees. *Molecular and Biological Evolution*, 4, 406-425. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454
- Santos, A., San Mauro, M., Sanchez, A., Torres, J.M. ve Marquina, D. 2003. The antimicrobial properties of different strains of Lactobacillus spp. isolated from kefir. *Systematic and Applied Microbiology*, 26, 434-437. doi:10.1078/072327203322497464
- Savadago, A., Ouattara, C.A.T., Bassole, I.H.N. and Traore, A.S. 2004. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from Burkina Faso fermented milk. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3:3, 174-179. doi:
- Scheirlinck, I., Meulen R.V., Schoor, A.V., Huys, G., Vandamme, P., De Vuyst L. and Vancanneyt, M. 2007. Lactobacillus crustorum sp. nov., isolated from two traditonal Belgian wheat sourdoughs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 1461–1467. doi:10.1099/ijs.0.64836-0.
- 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*, 74: 8, 2414–2423. doi:10.1128/AEM.02771-07
- Schillinger, U. and Lucke, F.K. 1987. Identification of lactobacilli from meat and meat products. *Food Microbiology*, 4, 199–208. doi:10.1016/0740-0020(87)90002-5
- Schillinger, U. and Lücke, F.K. 1989. Antibacterial Activity of Lactobacillus sake Isolated from Meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 55:8,1901-1906.
- Stiles, M.E. 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70,331-345

- Sanchez, I., Palop, L. and Ballesteros, C. 2000. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of 'Alamgro Eggplants'. *International Journal of Food Microbiology*, 59, 9-17. doi:10.1016/S0168-1605(00)00256-7
- Sánchez, I., Sesena, S., Poveda, J.M., Cabezas, L. and Palop, L. 2005. Phenotypic and Genotypic Characterization of Lactobacilli Isolated from Spanish Goat Cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 102, 355- 362. doi:j.ijfoodmicro.2004.11.041
- Spicher, G., Rabe, E., Sommer, R. and Stephan, H. 1981. The Microflora of Sourdough XIV., Communication on the Behavior of Homofermentative Sourdough Bacteria and Yeasts in Mixed Culture. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 173:4, 29, 291-296.
- Šušaković, J., Kos, B., Beganović, J., Pavunc, A.L., Habjanič, K. and Matošić, S. 2010. Antimicrobial activity-the most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48:3,296-307.
- Şengün, İ. Y. 2011. Fermente gıdaların üretiminde kullanılan laktik asit bakterileri. *Biological Diversity and Conservation*, 4:1,42-53.
- Şimşek, Ö. (2003). Uşak ve yöresi ekşihamurlarından izole edilen antimikrobiyal aktiviteye sahip laktik asit bakterilerinin tanımlanması ve bazı metabolik özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 90 sayfa, Denizli.
- Şimşek, Ö., Çon, A.H. and Tulunoğlu, Ş. 2006. Isolating Lactic Starter Cultures with Antimicrobial Activity for Sourdough Processes. *Food Control*, 17, 263-270. doi:10.1016/j.foodcont.2004.10.011
- Talamond, P., Gallon, G. and Treche, S. 1998. Rapid and sensitive liquid chromatographic method using a conductivity detector for the determination of phytic acid in food. *Journal of Chromatography A*, 805, 143-147. doi:10.1016/S0021-9673(98)00050-8
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 10, 2731-2739. doi:10.1093/molbev/msr121
- Thompson, T. 2001. Wheat starch, gliadin and the gluten free diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 101, 1456-1459. doi:10.1016/S0002-8223(01)00351-0

- Valcheva, R., Korakli, M., Onno, B., Prévost, H., Ivanova, I., Ehrmann, M.A., Dousset, X., Gänzle, M.G. and Vogel, R.F. 2005. *Lactobacillus hammesii* sp. nov., isolated from French sourdough. *Lactobacillus acidifarinae* sp. nov. and *Lactobacillus zymae* sp. nov., from wheat sourdoughs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 763-767. doi:10.1099/ijs.0.63311-0
- Valcheva, R., Ferchichi, M.F., Korakli, M., Ivanova, I., Gänzle, M.G., Vgel, R.F., Prévost, H., Onno, B. and Dousset, X. 2006. *Lactobacillus nantensis* sp. nov., isolated from French wheat sourdough. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, 587-591. doi:10.1099/ijs.0.63619-0
- Vancanneyt, M., Neysens, P., De Wachter, M., Engelbeen, K., Snauwaert, C., Cleenwerck, I., Van der Meulen, R., Hoste, B., Tsakalidou, E., De Vuyst, L. and Swings, J. 2005. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 615-620. doi:10.1099/ijs.063274-0
- Vancanneyt, M., Naser, S.M., Engelbeen, K., De Wachter, M., Van der Meulen, R., Cleenwerck, I., Hoste, B., De Vuyst, L. and Swings, J. 2006. Reclassification of *Lactobacillus brevis* strains LMG 11949 and LMG 11984 as *Lactobacillus parabrevis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56, 1553-1557. doi:10.1099/ijs.0.64215-0
- Ventimiglia, G., Alfonzo, A., Galluzzo, P., Corona, O., Francesca, N., Caracappa, S., Moschetti, G. and Settanni, L. 2015. Codominance of *Lactobacillus plantarum* and obligate heterofermentative lactic acid bacteria during sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 51, 57-68. doi:10.1016/j.fm.2015.04.011
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.-H. and Whitman, W. (Editörler) 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Springer, New York
- 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 and Environmental Microbiology*, 77: 8, 2716-2726. doi:10.1128/AEM.
- Wehrle, K., Crowe, N., Boeijen, I. and Arendt, E.K. 1999. Screening methods for the proteolytic breakdown of gluten by lactic acid bacteria and enzyme preparations. *European Food Research and Technology*, 209, 428-433. doi:10.1007/s002170050
- Yağmur, G. (2013). Ekşihamur fermantasyonunda etkili olan laktik asit bakterilerinin ve mayaların belirlenmesi ve bunlardan elde edilen sıvı ekşihamurun ekmek kalitesi üzerine etkisinin araştırılması. Doktor Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 178 sayfa, Adana
- Yaman, A., Gökalp, H.Y. and Çon, A.H. 1998. Some characteristics of lactic acid bacteria present in commercial sucuk samples. *Meat Science*, 49: 4, 387-397. doi:10.1016/S0309-1740(98)00004-7

- Zotta, T., Piraino, P., Ricciardi, A., McSweeney, P.L.H. and Parente, E. 2006. Proteolysis in model sourdough fermentations. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54, 2567-2574. doi:10.1021/jf052504s
- Zotta, T., Ricciardi, A. and Parente, E. 2007. Enzymatic activities of lactic acid bacteria isolated from Cornetti di Matera sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology*, 115, 165-172. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.026



EKLER

EK 1 KİŞ DÖNEMİ FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZ TABLOSU

EK 2 YAZ DÖNEMİ FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZ TABLOSU

EK 3 KİŞ DÖNEMİ MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZİ TABLOSU

EK 4 YAZ DÖNEMİ MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZİ TABLOSU

EK 5 KİŞ DÖNEMİ LAB İZOLATLARININ (GTG)₅ BANT PROFİLLERİ VE BENZERLİKLERİNİ GÖSTEREN DENDOGRAM

EK 6 YAZ DÖNEMİ LAB İZOLATLARININ (GTG)₅ BANT PROFİLLERİ VE BENZERLİKLERİNİ GÖSTEREN DENDOGRAM

EK 7 GEN BANK DİZİ ANALİZLERİ

EK 8 *LACTOBACILLUS* CİNSİ EKŞİHAMUR İZOLATLARININ 16S RRNA GEN DİZİ ANALİZİNE BAĞLI BENZERLİK DEĞERLERİ VE NÜKLEOTİT SAYISI

EK 9 EKŞİHAMURLARIN pH ANALİZ SONUÇLARI

**EK 1 KİŞ DÖNEMİ FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA
DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZ TABLOSU**

Değişken		Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	P
Katı pH	Gruplar arası	,784	3	,261	2,357	,098
	Grup içi	2,550	23	,111		
	Toplam	3,334	26			
Sıvı pH	Gruplar arası	,891	3	,297	2,129	,124
	Grup içi	3,210	23	,140		
	Toplam	4,101	26			
Asitlik d.	Gruplar arası	23,627	3	7,876	3,478	,032
	Grup içi	52,086	23	2,265		
	Toplam	75,713	26			
T. Asitlik	Gruplar arası	,274	3	,091	3,502	,032
	Grup içi	,600	23	,026		
	Toplam	,873	26			
Kurumadde	Gruplar arası	23,335	3	7,778	,690	,568
	Grup içi	259,447	23	11,280		
	Toplam	282,782	26			
Kül	Gruplar arası	,133	3	,261	2,357	,098
	Grup içi	,243	23	,111		
	Toplam	,376	26			

**EK 2 YAZ DÖNEMİ FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA
DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZ TABLOSU**

Değişken		Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	P
Katı pH	Gruplar arası	,225	3	,075	,654	,588
	Grup içi	2,633	23	,114		
	Toplam	2,857	26			
Sıvı pH	Gruplar arası	,364	3	,121	1,273	,307
	Grup içi	2,190	23	,095		
	Toplam	2,553	26			
Asitlik d.	Gruplar arası	58,907	3	19,636	1,739	,187
	Grup içi	259,653	23	11,289		
	Toplam	318,560	26			
T. Asitlik	Gruplar arası	,345	3	,115	1,430	,260
	Grup içi	1,847	23	,080		
	Toplam	2,192	26			
Kurumadde	Gruplar arası	48,695	3	16,232	1,557	,227
	Grup içi	239,783	23	10,425		
	Toplam	288,477	26			
Kül	Gruplar arası	,021	3	,075	,654	,588
	Grup içi	,103	23	,114		
	Toplam	,124	26			

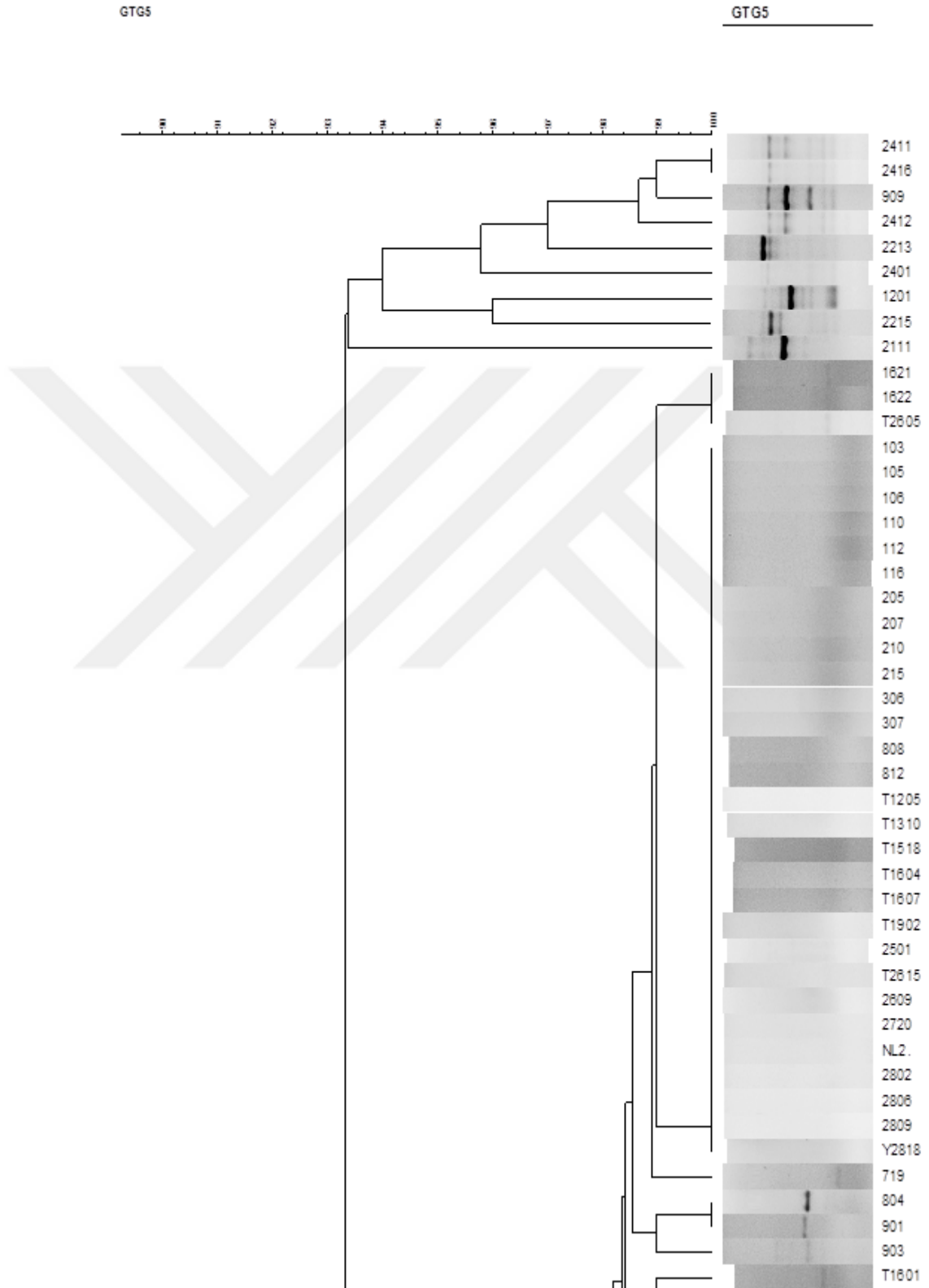
**EK 3 KİŞ DÖNEMİ MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA
DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZİ TABLOSU**

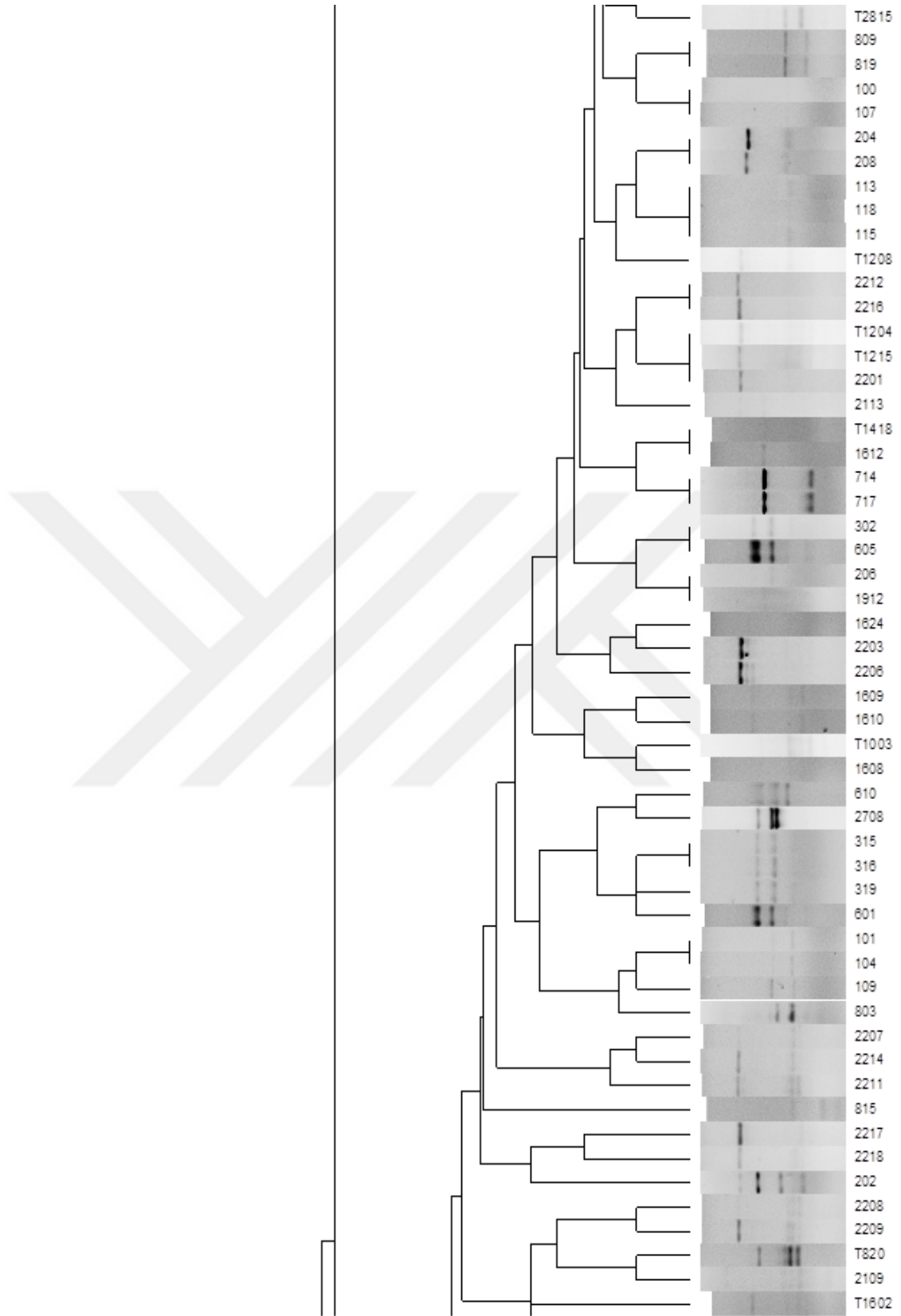
Değişken		Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	P
LAB	Gruplar arası	,501	3	,167	,480	,700
	Grup içi	8,011	23	,348		
	Toplam	8,512	26			
TAMB	Gruplar arası	1,396	3	,083	,782	,516
	Grup içi	12,944	23	,107		
	Toplam	14,340	26			
MAYA	Gruplar arası	,286	3	,095	1,198	,333
	Grup içi	1,833	23	,080		
	Toplam	2,120	26			

**EK 4 YAZ DÖNEMİ MİKROBİYOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN İL BAZINDA
DEĞERLENDİRİLMESİNE İLİŞKİN VARYANS ANALİZİ TABLOSU**

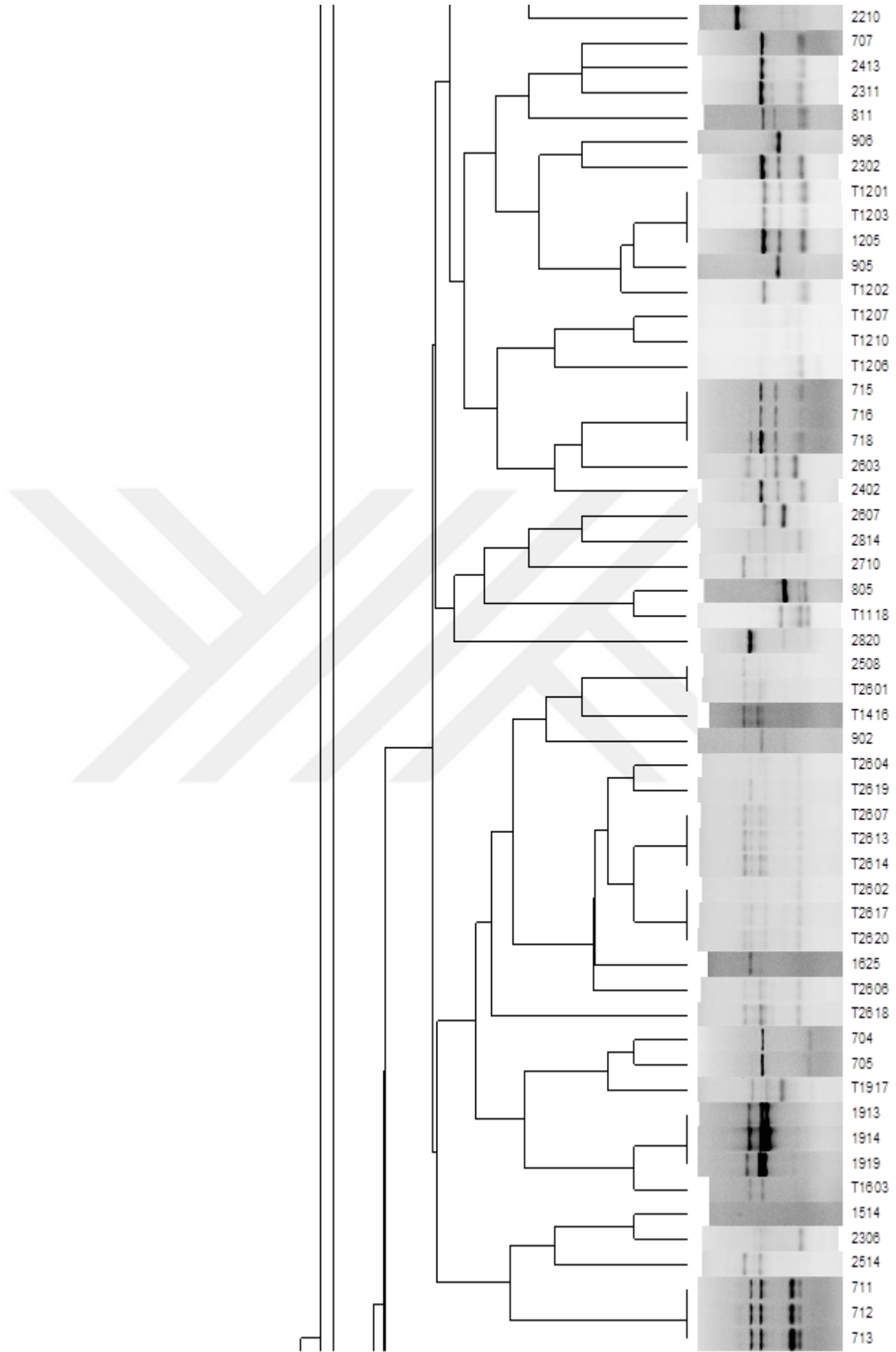
Değişken		Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F değeri	P
LAB	Gruplar arası	16,333	3	5,444	3,862	,023
	Grup içi	32,422	23	1,410		
	Toplam	48,755	26			
TAMB	Gruplar arası	1,396	3	,465	,827	,493
	Grup içi	12,944	23	,563		
	Toplam	14,340	26			
MAYA	Gruplar arası	1,264	3	,421	1,466	,250
	Grup içi	6,609	23	,287		
	Toplam	6,609	26			

**EK 5 KIŞ DÖNEMİ LAB İZOLATLARININ (GTG)₅ BANT PROFİLLERİ
VE BENZERLİKLERİNİ GÖSTEREN DENDOGRAM**

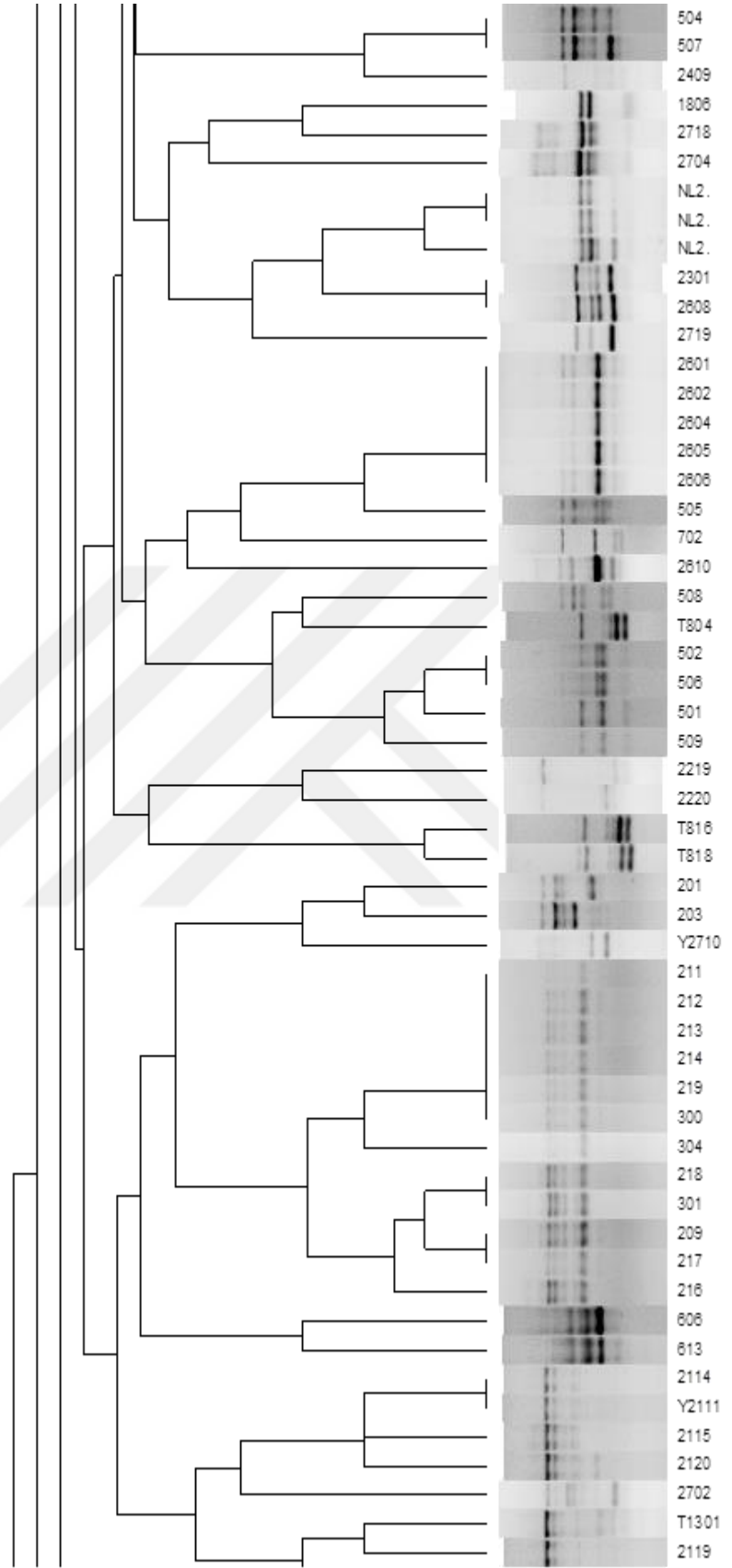




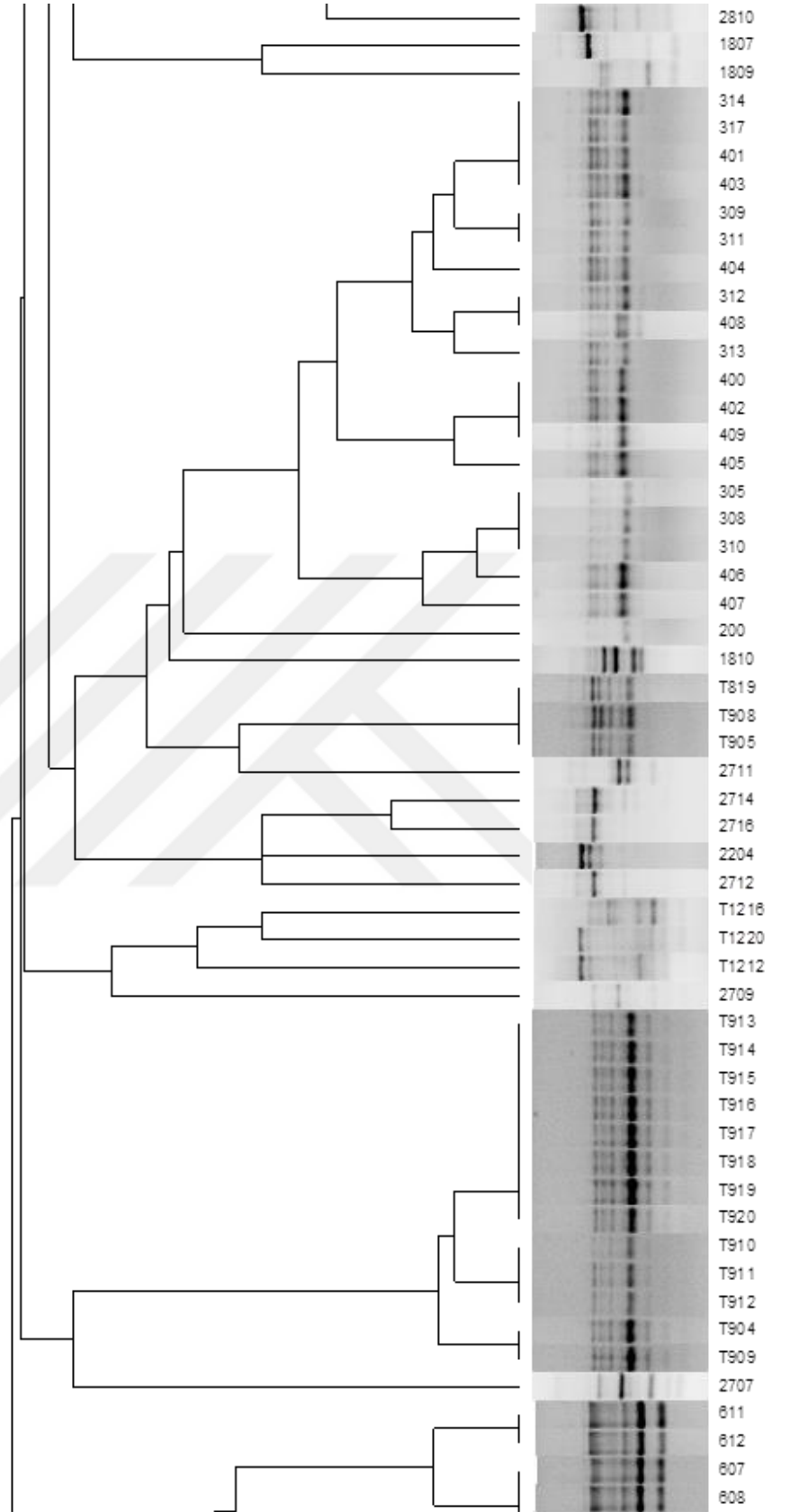
Ek 5 Kış dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



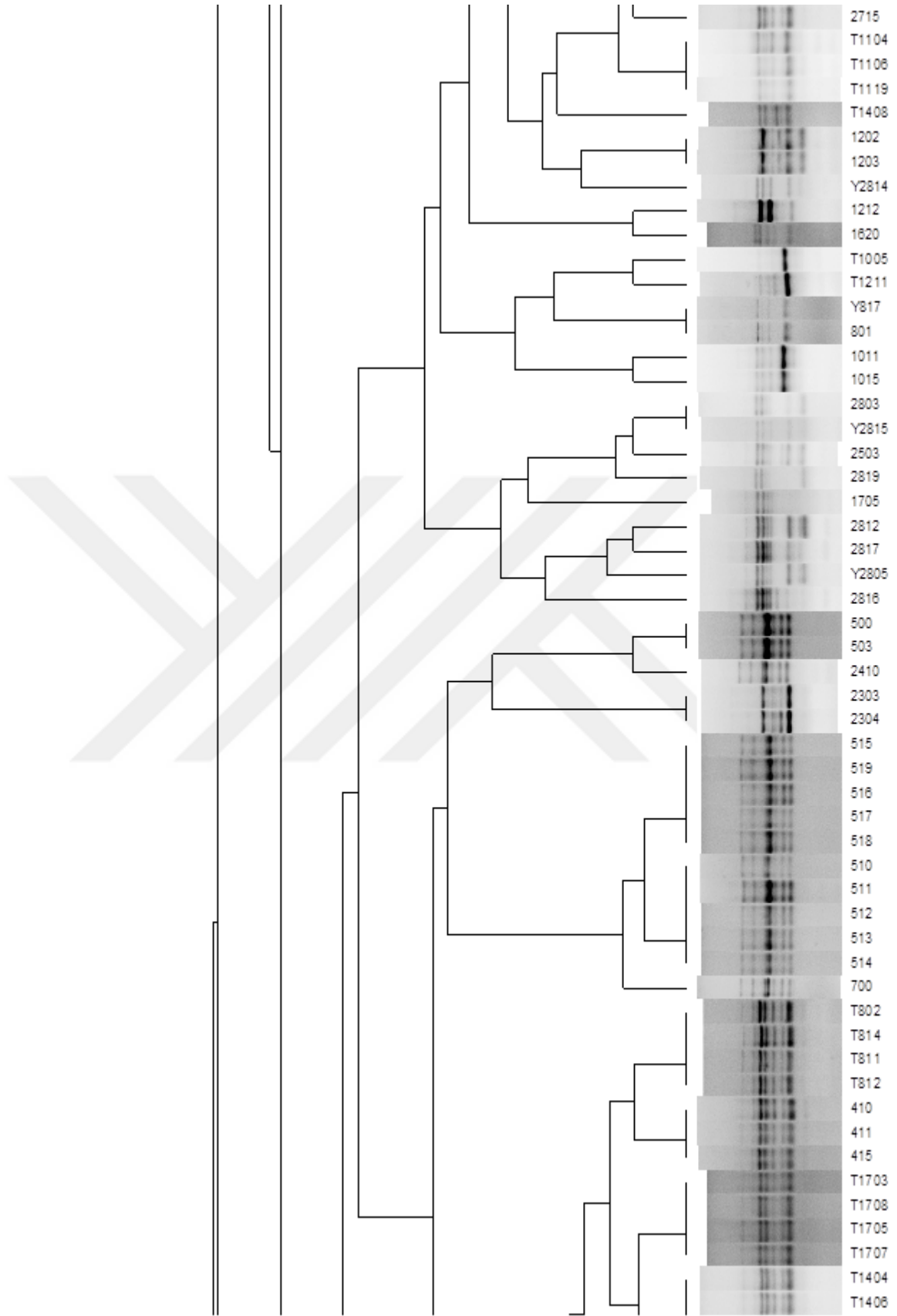
Ek 5 Kış dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendogram (devamı)



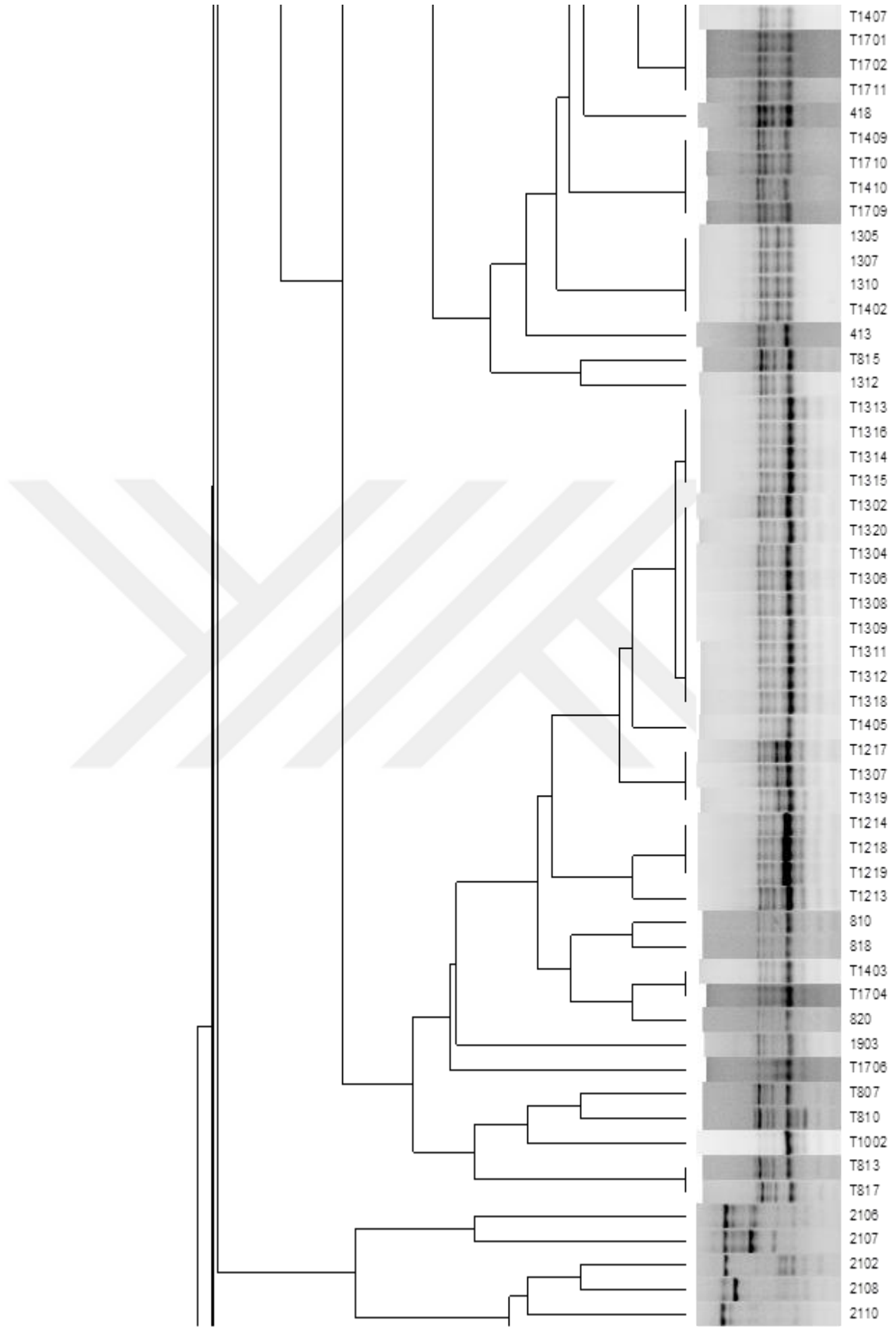
Ek 5 Kış dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendogram (devamı)



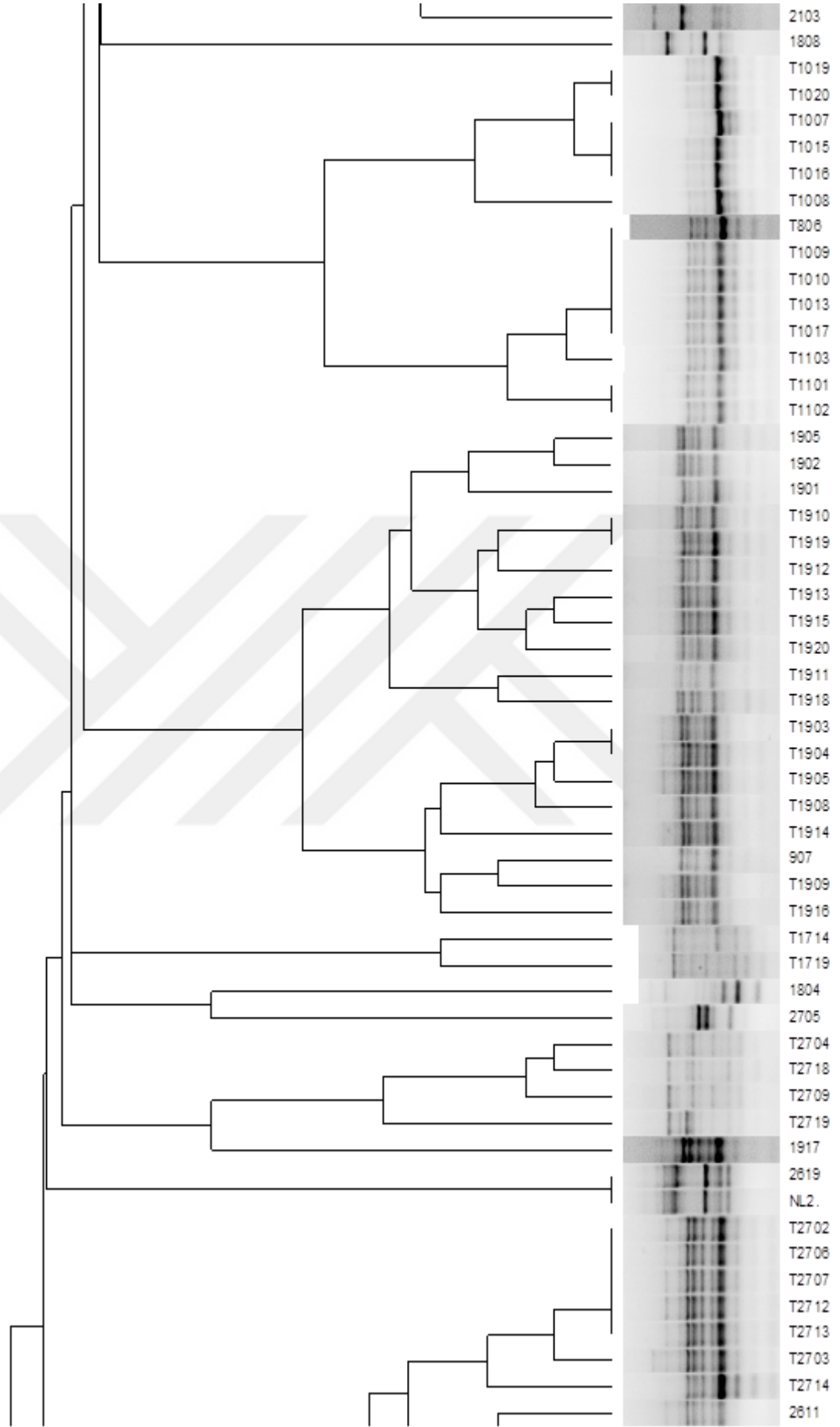
Ek 5 Kış dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendogram (devamı)



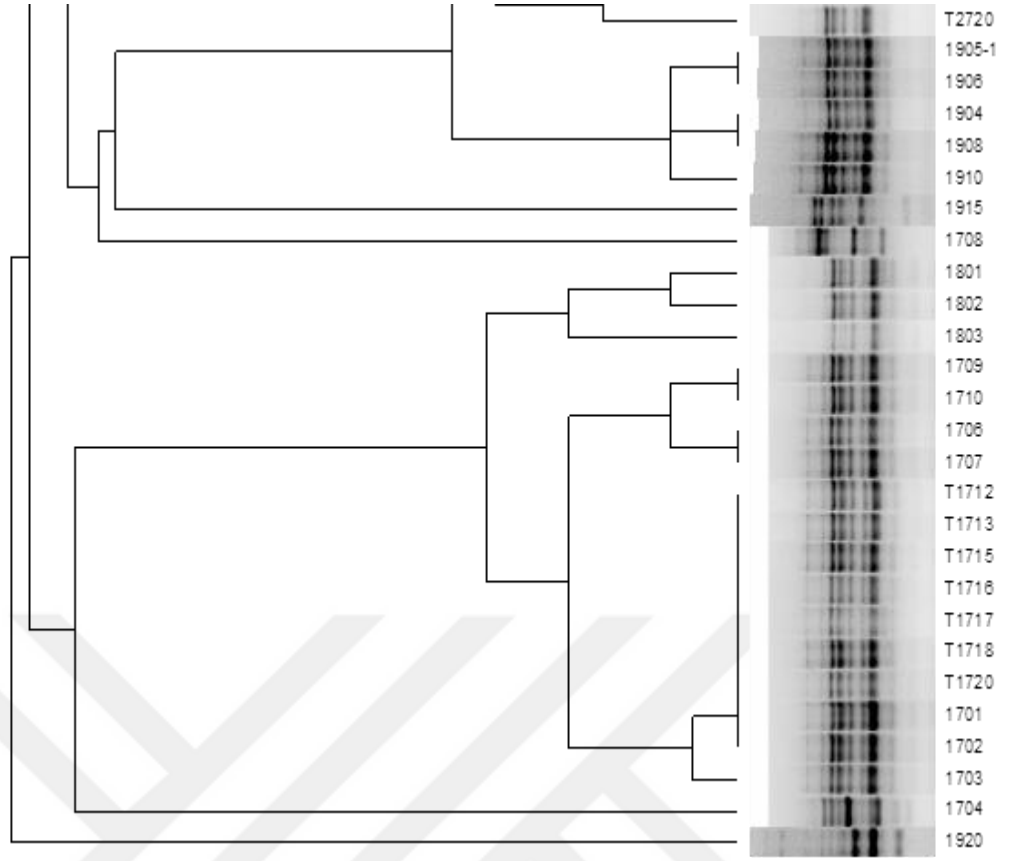
Ek 5 Kış dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



Ek 5 Kış dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)

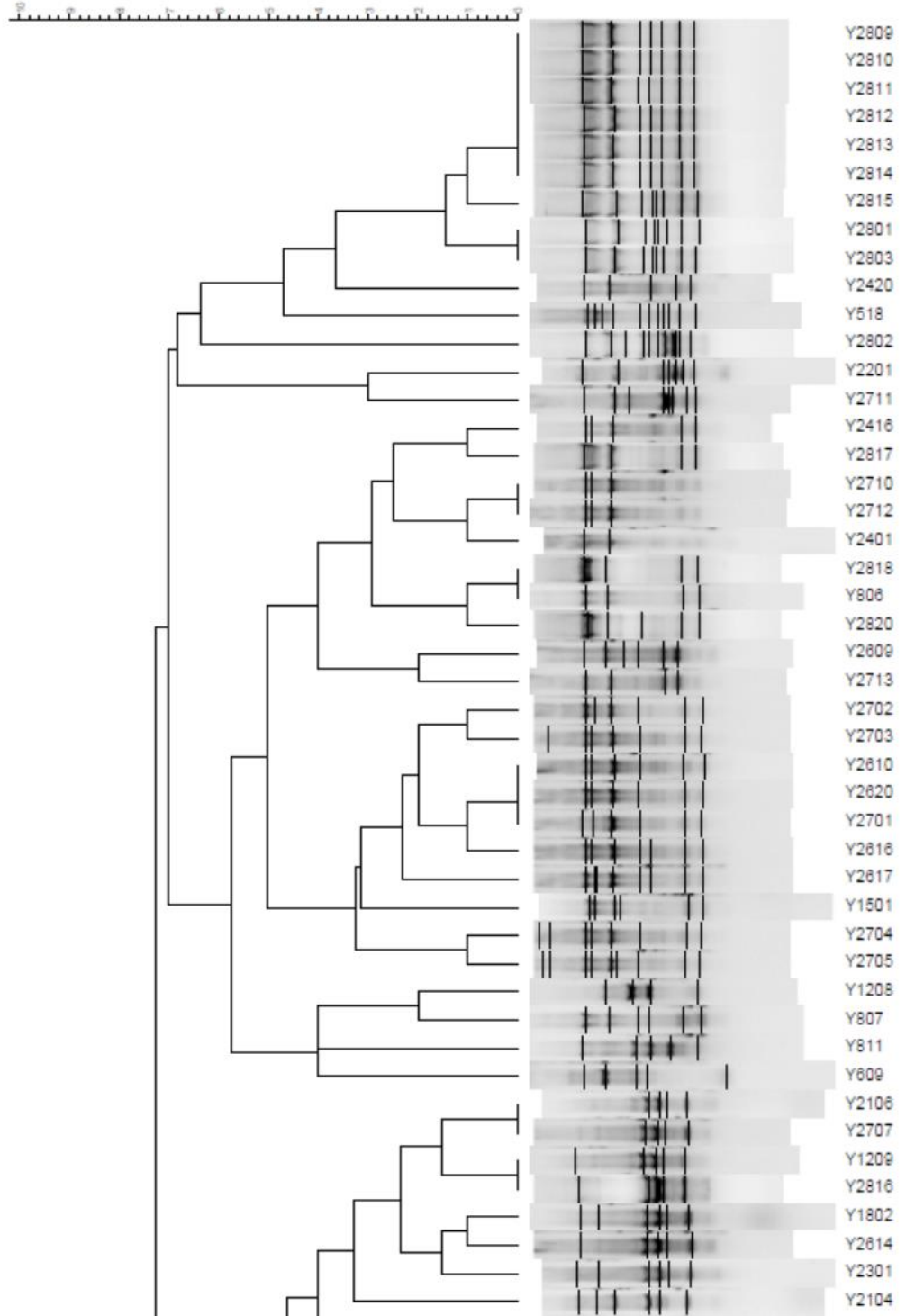


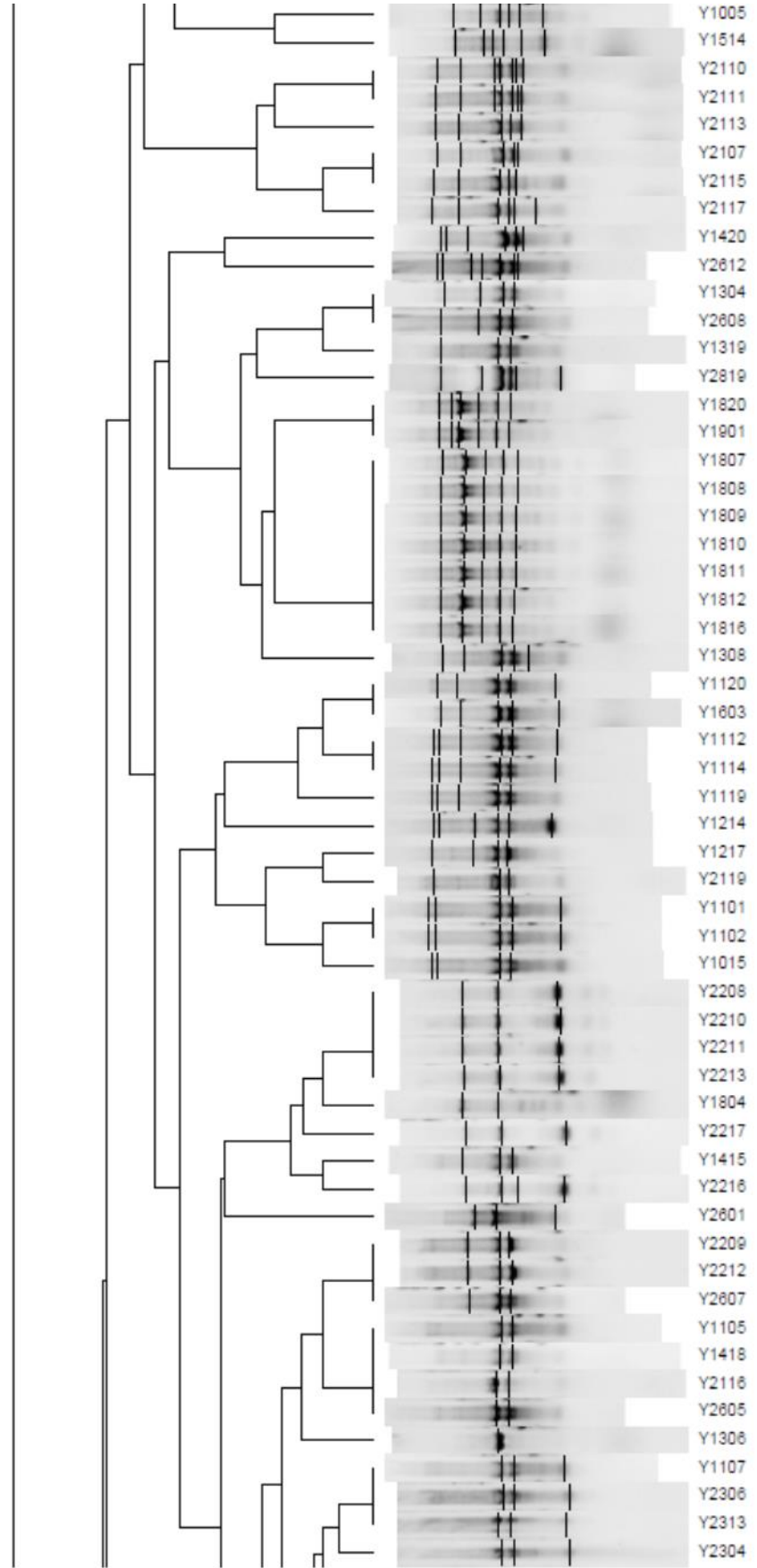
Ek 5 Kış dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



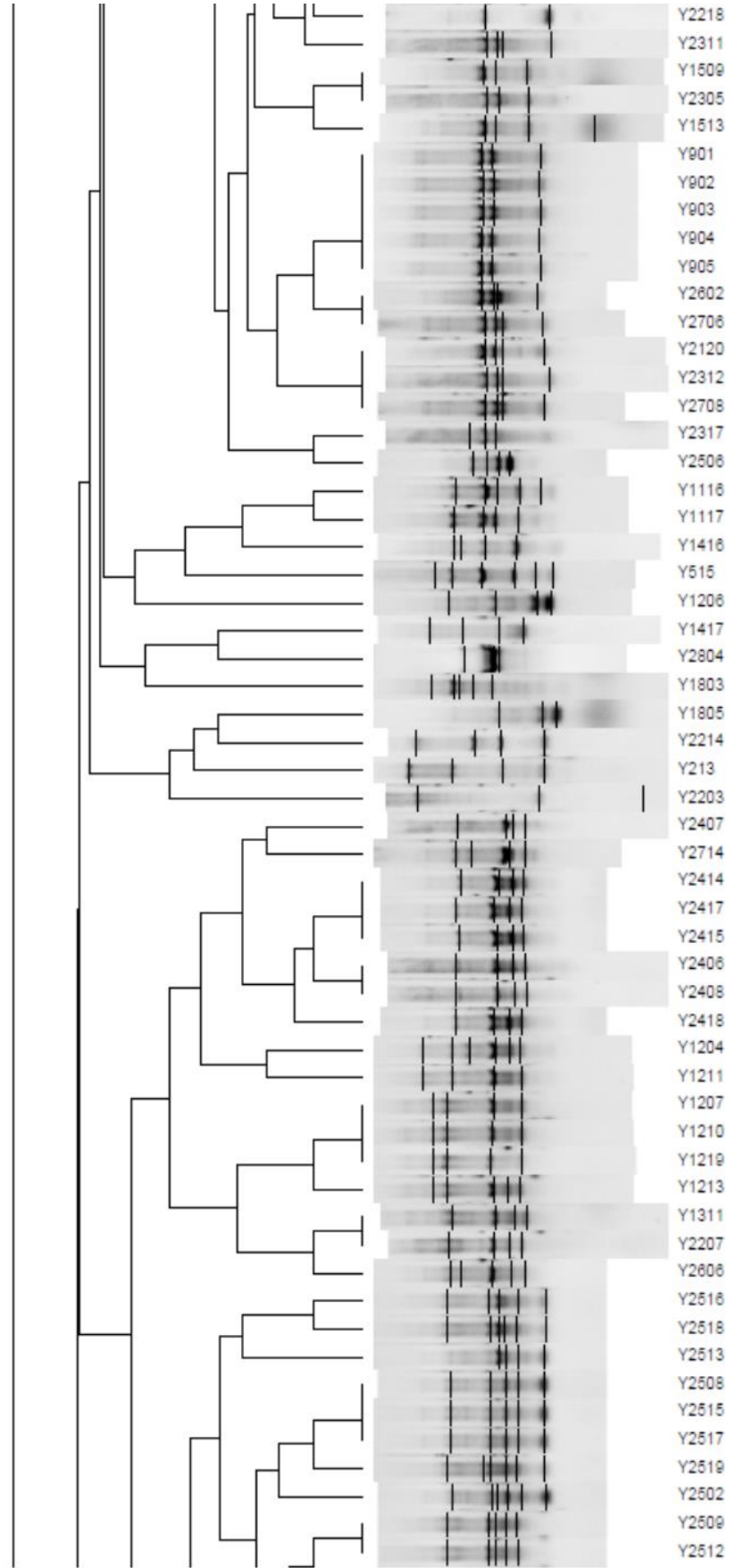
Ek 5 Kış dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)

**EK 6 YAZ DÖNEMİ LAB İZOLATLARININ (GTG)₅ BANT PROFİLLERİ
VE BENZERLİKLERİNİ GÖSTEREN DENDOGRAM**

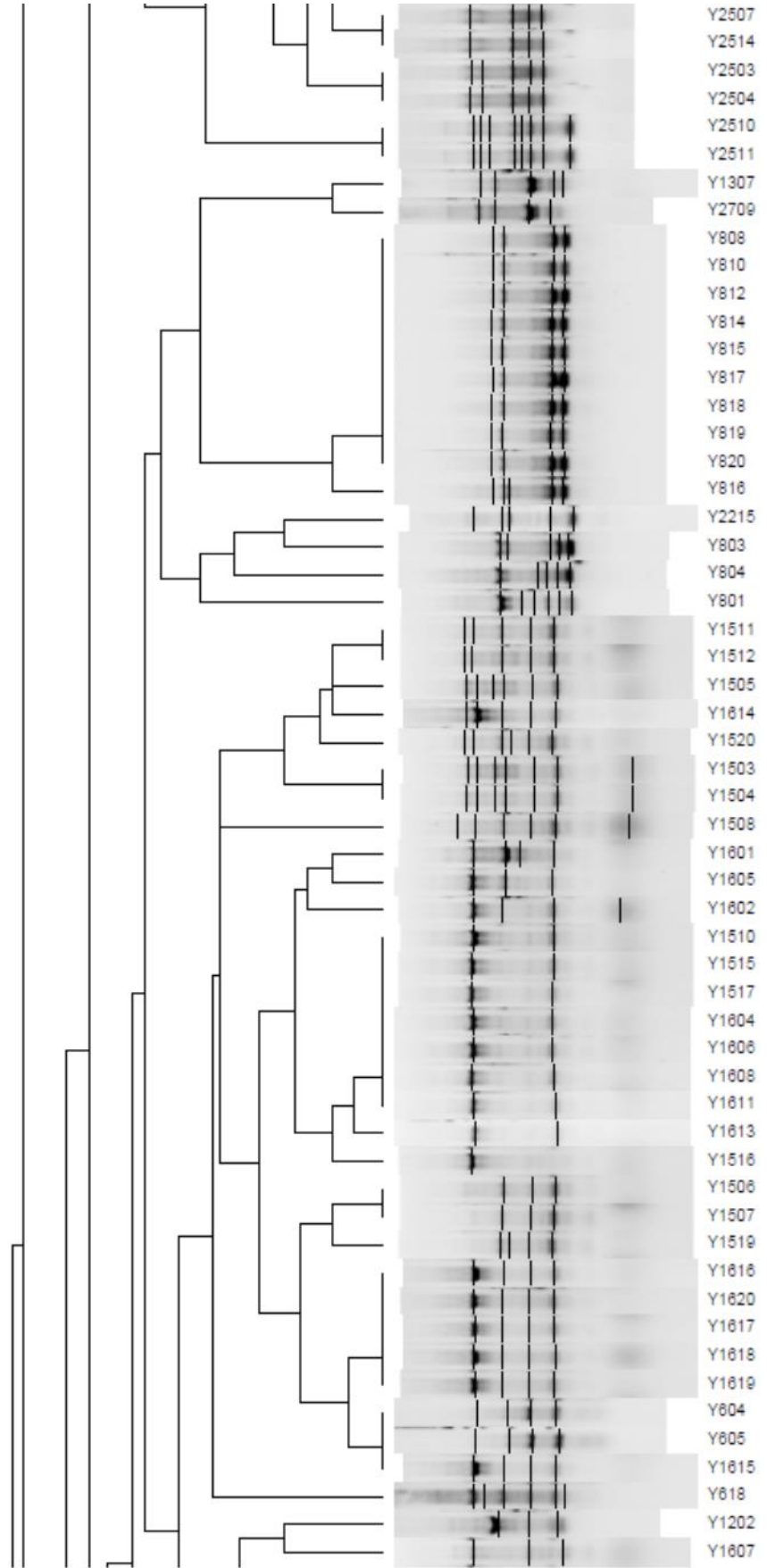




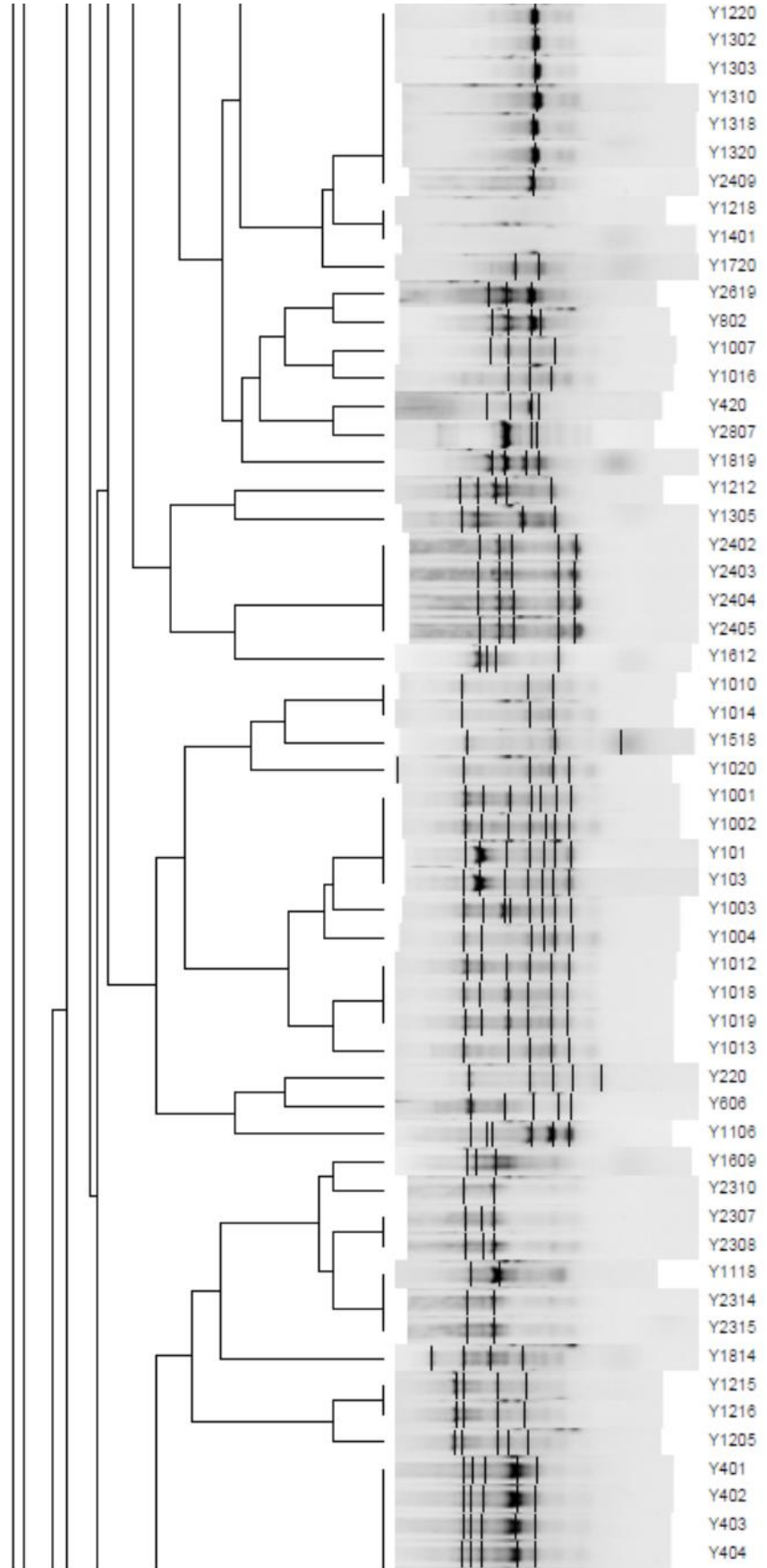
Ek 6 Yaz dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



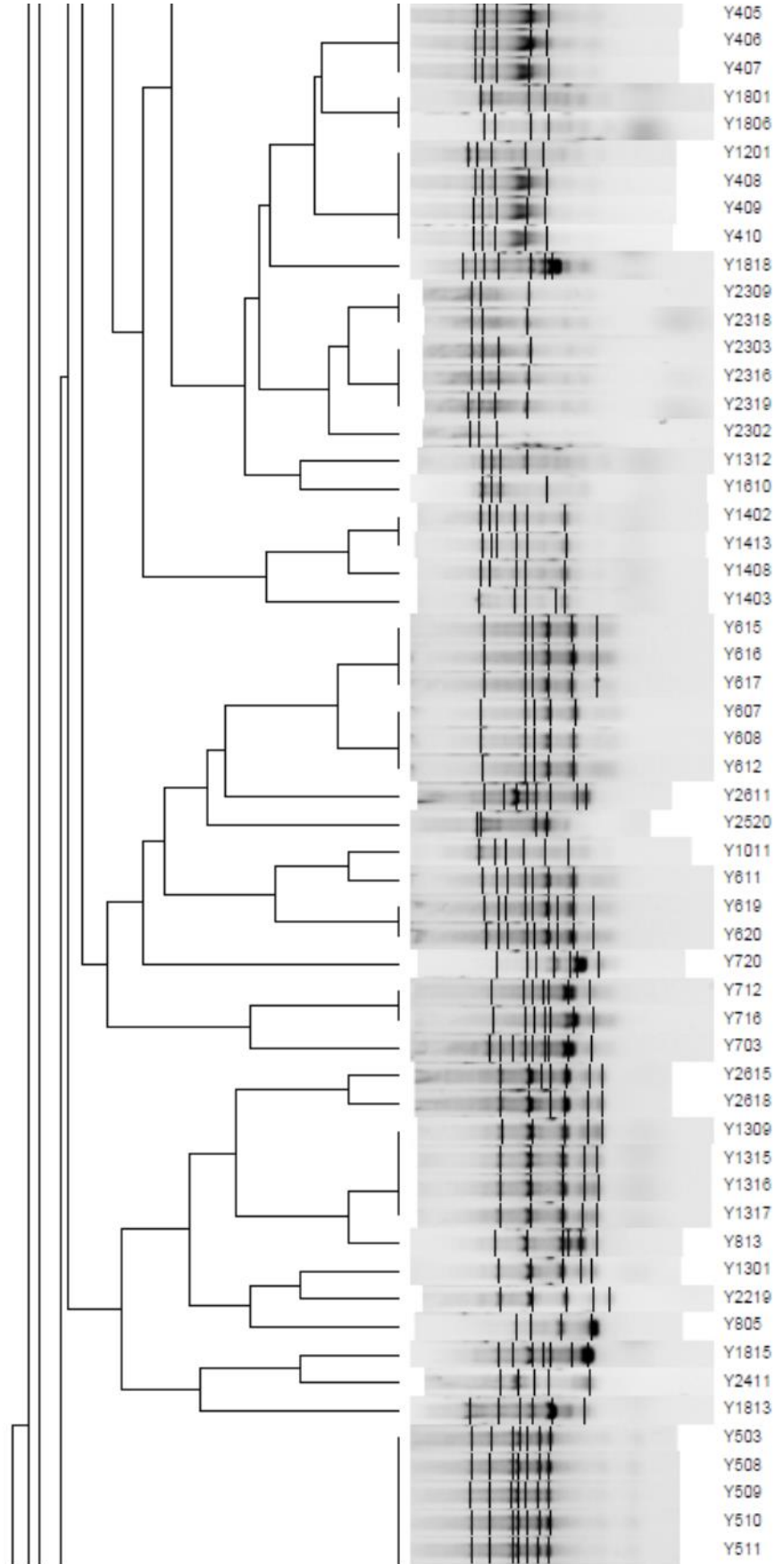
Ek 6 Yaz dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



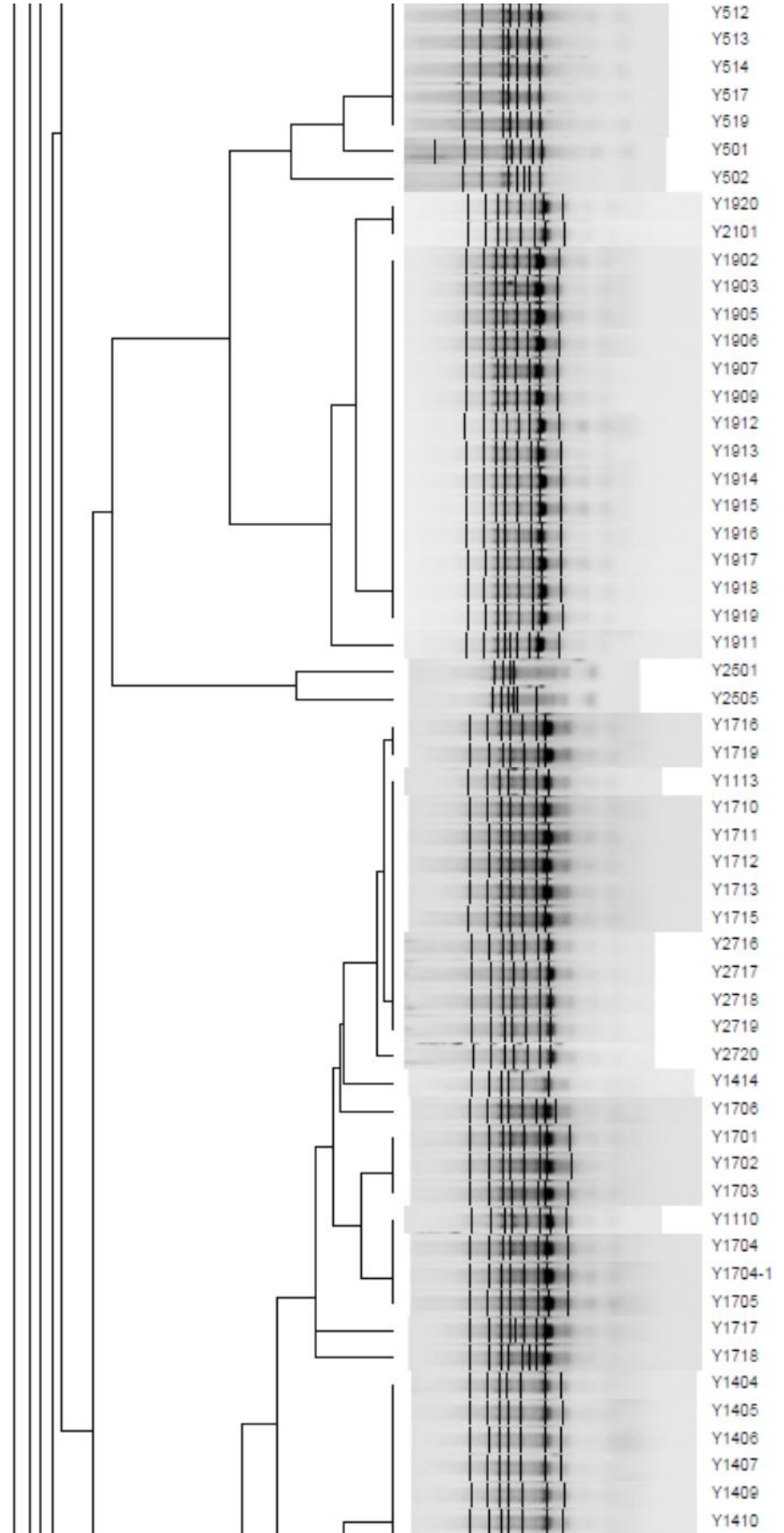
Ek 6 Yaz dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



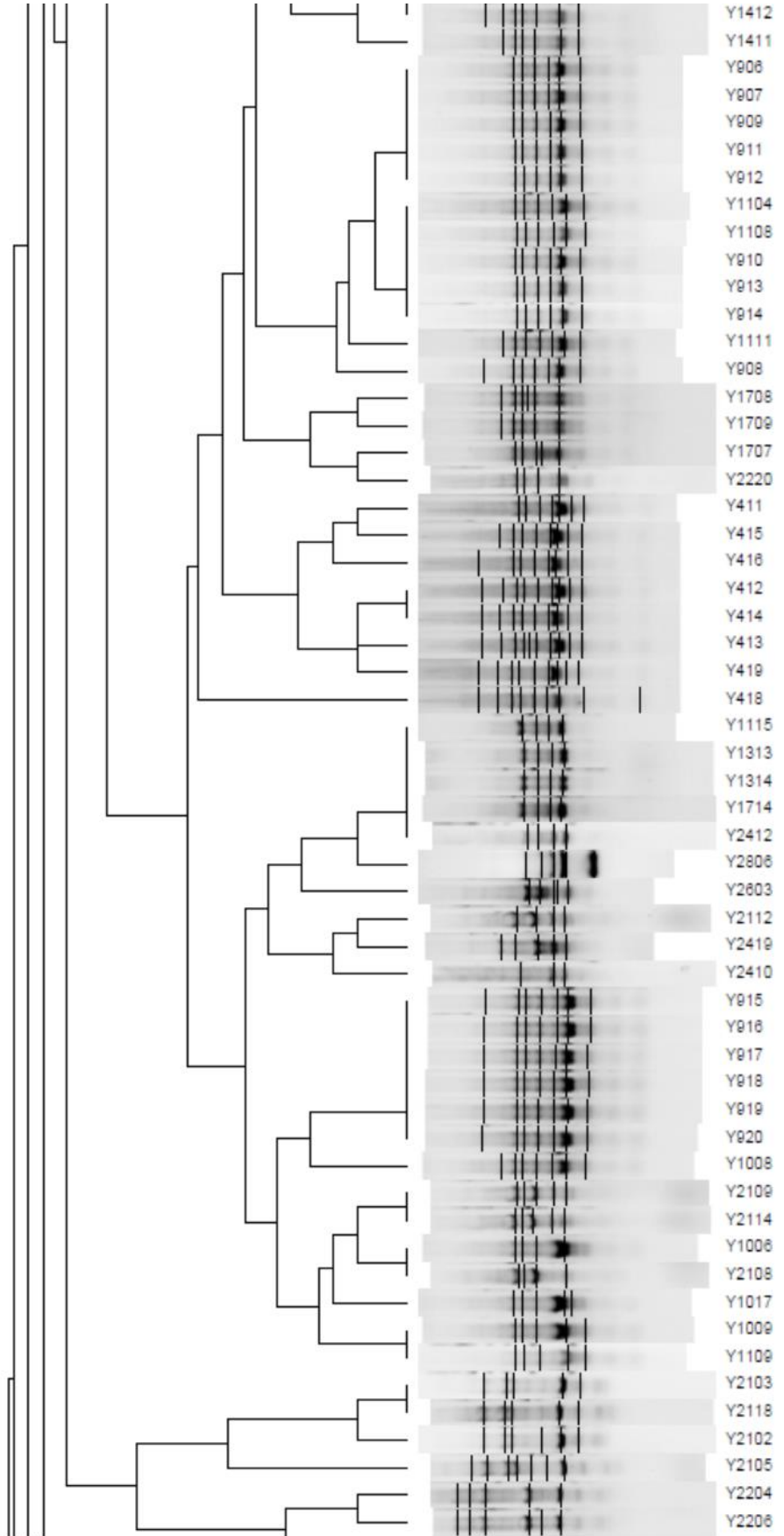
Ek 6 Yaz dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



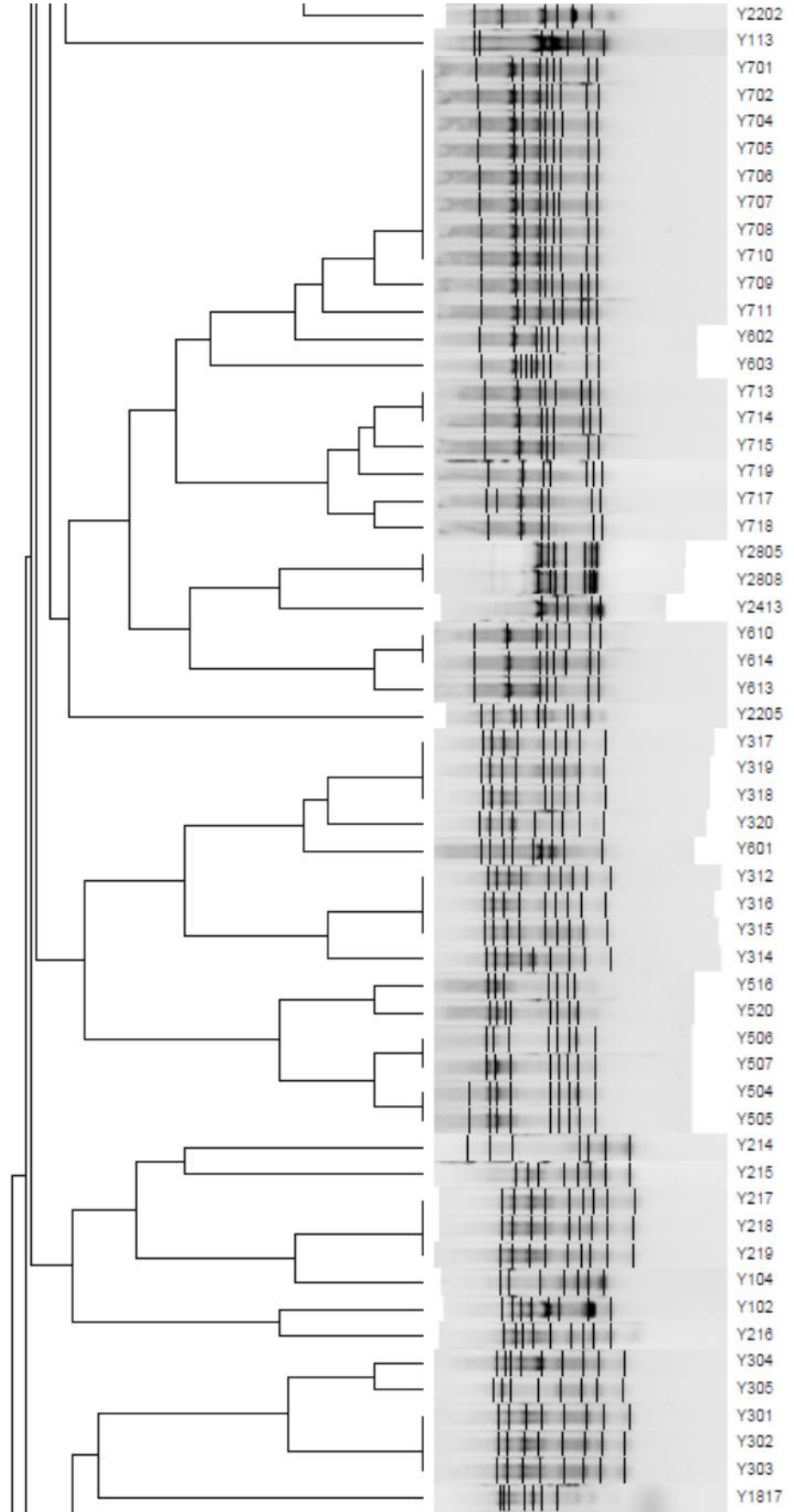
Ek 6 Yaz dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



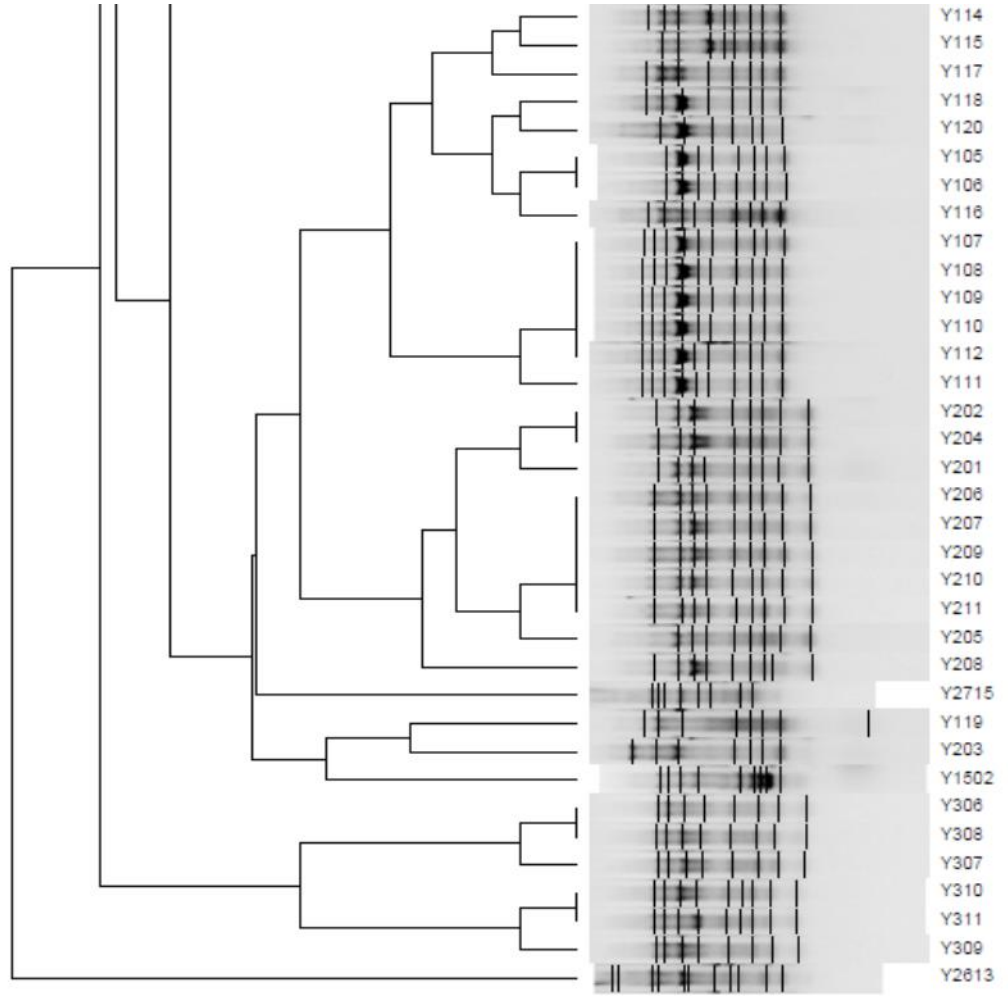
Ek 6 Yaz dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



Ek 6 Yaz dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



Ek 6 Yaz dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendrogram (devamı)



Ek 6 Yaz dönemi LAB izolatlarının (GTG)₅ bant profilleri ve benzerliklerini gösteren dendogram (devamı)

EK 7 GEN BANK DİZİ ANALİZLERİ

***Weissella* sp. 1704 pheS DNA dizisi:**

ATGCAAGATACCTTCTATATTTTCAGATGAATTATTGATGCGGACCCAAAC
TTCACCAGTCCAAGCTCGTACATTGGAGCAACATGATTTTTCAAAGGAC
CTTTGAAGATGATTTACCTGGTCGGGTTTATCGTCGTGATACAGATGAT
GCAACTCATTACACCAATTCCATCAAGTTGAAGGATTAGTTGTTGATAA
GCATATTACGATGGGTGATTTAAAGGGAACCTTTGCTGGCCGTCGCCCATC
AATTATTTGGTGAAGATCATGATATTCGTTTGCGTCCTTCATATTTCCCAT
TTACTGAACCATCAGTTGAAGTTGACGTTTCATGGAAACCAGTGATTCCC
GATACCAAGCCAGAAGATATTGACTGGATTGAAGTGCTTGGGGCTGG

***Weissella minor* LMG 9847^T pheS nükleotit dizisi (Gen Banktan alınmıştır):**

ATGCAAGATACCTTCTACATTTTCAGATGAATTGTTGATGCGTACGCAAAC
ATCACCCGTGCAAGCTCGTACGCTTGAACAACATGATTTTTCAAAGGGAC
CTTTGAAGATGATTTCCCCTGGTCGTGTGTACCGTCGTGATACAGATGAT
GCCACGCATTACATCAATTCCACCAAGTGGAAGGGTTAGTTGTTGATAA
GCATATTACAATGGGTGATTTAAAAGGAACATTGTTAGCAGTTGCGCATC
AATTATTTGGTGAAGATCACGATATTCGTTTGCGTCCATCATATTTCCCAT
TTACGGAACCTTCAGTTGAAGTCGATGTTTCTTGGGGACCTGTTACTCCG
GATACTAAGCCAGAAGAGATTGAATGGATTGAAGTATTAGGAGC

***Weissella uvarum* B18NM42 pheS nükleotit dizisi (Gen Banktan alınmıştır):**

GATATGCAAGATACCTTCTATATTTCAAATGAATTATTGATGCGGACCCA
AACTTCACCAGTCCAAGCTCGTACATTGGAGCAACATGATTTTTCAAAG
GACCTTTGAAGATGATTTACCCGGTCGGGTTTATCGTCGTGATACCGAT
GATGCAACTCATTACACCAATTCCATCAAGTTGAAGGATTAGTTGTGGA
TAAGCATATTACGATGGGTGATTTAAAGGGAACCTTTGCTGGCCGTCGCCC
ATCAATTATTTGGTGAAGATCATGATATTCGTTTGCGCCCTTCATATTTCC
CATTTACTGAACCATCAGTTGAAGTTGACGTCTCATGGAATCCAGTGATG
CCCGATACCAAGCCAGAAGATATTGACTGGATTGAAGTGCTTGGGGCTG
G

***Weissella viridescens* LMG 3507^T pheS nükleotit dizisi (Gen Banktan alınmıştır):**

GCAGGATACGTTCTACATTTACCTGAATTGTTGATGCGTACCCAAACTT
CTCCGGTTCAAGCGCGTACTTTGGAACAACACGATTTTTCAAAGGGTCCG
TTGAAGATGATTTACCCGGACGTGTTTACCGTCGTGATACTGATGATGC
GACGCACTCACACCAATTCCACCAAGTTGAAGGATTGGTTGTCGATAAGC
ACATTACAATGGGAGACTTAAAGGGAACCTTGCTAGCAGTTGCACATCA
ATTGTTTGGTGAAGATCATGATATTCGTTTGCGTCCTTCATATTTCCCAT
TACGGAACCTTCTGTTGAAGTTGATGTGTCTTGGAATGCTGTGACACCTG
ATACGAAGCCAGAAGACATCGAGTGGATTGAAGTCCTT

EK 8 LACTOBACILLUS CİNSİ EKŞİHAMUR İZOLATLARININ 16S rRNA GEN DİZİ ANALİZİNE BAĞLI BENZERLİK DEĞERLERİ VE NÜKLEOTİT SAYISI

İzolat	2704	2705	504	605	606	701	702
Y720	136/1428	135/1428	89/1219	153/1427	103/1436	139/1431	139/1432
Y717	105/1452	104/1437	87/1220	1/1452	152/1452	126/1450	126/1451
Y715	105/1454	104/1437	87/1220	1/1452	152/1455	126/1452	126/1453
Y710	105/1451	104/1437	87/1220	1/1451	152/1451	126/1449	126/1450
Y703	137/1435	136/1435	89/1219	155/1434	103/1443	140/1438	140/1439
Y620	137/1434	136/1434	88/1219	153/1433	102/1442	138/1437	138/1438
Y613	104/1454	103/1437	86/1220	0/1452	151/1454	125/1452	125/1453
Y601	0/1451	3/1438	75/1220	104/1450	137/1451	108/1449	108/1450
Y320	120/1454	118/1438	104/1220	152/1451	156/1462	161/1457	161/1458
Y314	119/1452	117/1436	102/1218	150/1449	155/1460	159/1455	159/1456
Y310	121/1455	118/1438	104/1220	153/1452	157/1463	162/1458	162/1459
Y301	120/1453	118/1438	104/1220	152/1451	156/1461	161/1456	161/1457
Y2405	108/1452	108/1437	3/1220	125/1451	149/1457	0/1456	0/1457
Y2305	2/1440	1/1438	74/1220	102/1439	137/1440	107/1438	107/1439
Y2205	108/1454	108/1437	3/1220	125/1451	149/1459	0/1458	0/1459
Y2204	122/1453	121/1436	72/1220	148/1450	155/1456	112/1455	112/1456
Y2201	121/1437	121/1436	72/1220	147/1436	154/1440	111/1439	111/1440
Y219	120/1455	118/1438	104/1220	152/1452	157/1463	161/1458	161/1459
Y215	120/1454	118/1438	104/1220	152/1451	156/1462	161/1457	161/1458
Y2105	122/1451	121/1436	72/1220	148/1450	155/1454	112/1453	112/1454
Y1818	122/1453	121/1436	72/1220	148/1450	155/1457	112/1455	112/1456
Y1817	119/1451	117/1434	101/1216	150/1448	156/1459	158/1454	158/1455
Y1815	118/1437	118/1436	78/1220	140/1436	145/1443	131/1441	131/1442
Y1502	121/1437	121/1436	72/1220	147/1436	154/1440	111/1439	111/1440
Y1417	122/1450	120/1436	73/1220	150/1449	155/1453	114/1452	114/1453
Y1206	118/1437	118/1436	78/1220	140/1436	145/1443	131/1441	131/1442
Y113	1/1440	2/1438	75/1220	103/1439	136/1440	108/1438	108/1439
Y1018	119/1452	117/1435	101/1217	150/1449	156/1460	158/1455	158/1456
709	108/1438	108/1437	3/1220	125/1437	147/1443	0/1442	0/1443
702	108/1454	108/1437	3/1220	125/1451	149/1459	0/1458	---
701	108/1453	108/1436	3/1219	125/1450	149/1458	---	100.00
606	137/1455	138/1438	97/1220	151/1452	---	89/78	89/79
605	104/1452	103/1437	86/1220	---	89/60	91/38	91/39
504	75/1220	75/1220	---	92/95	92/05	99/75	99/75
2705	3/1438	---	93/85	92/83	90/40	92/48	92/48
2704	---	99/79	93/85	92/84	90/58	92/57	92/57
İzolat	2704	2705	504	605	606	701	702

Ek 8 Lactobacillus cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı (devamı)

İzolat	709	Y1018	Y113	Y1206	Y1417	Y1502	Y1815	Y1817
Y720	139/1432	149/1434	135/1428	133/1432	135/1429	134/1429	133/1432	149/1433
Y717	126/1437	151/1449	104/1439	141/1436	149/1449	146/1436	141/1436	151/1448
Y715	126/1437	151/1451	104/1439	141/1436	149/1449	146/1436	141/1436	151/1450
Y710	126/1437	151/1448	104/1439	141/1436	149/1449	146/1436	141/1436	151/1447
Y703	140/1439	150/1441	136/1435	134/1439	136/1436	135/1436	134/1439	150/1440
Y620	138/1438	150/1440	136/1434	132/1438	136/1435	135/1435	132/1438	150/1439
Y613	125/1437	150/1451	103/1439	140/1436	150/1449	147/1436	140/1436	150/1450
Y601	108/1438	119/1448	1/1440	118/1437	122/1449	121/1437	118/1437	119/1447
Y320	160/1443	0/1461	118/1440	154/1443	144/1452	141/1440	154/1443	0/1460
Y314	158/1441	0/1461	117/1438	152/1441	144/1450	141/1438	152/1441	0/1460
Y310	160/1443	1/1462	118/1440	154/1443	145/1453	141/1440	154/1443	1/1461
Y301	160/1443	0/1460	118/1440	154/1443	144/1452	141/1440	154/1443	0/1459
Y2405	0/1443	158/1454	108/1439	131/1442	114/1453	111/1440	131/1442	158/1453
Y2305	107/1438	116/1437	1/1440	117/1437	119/1438	120/1437	117/1437	116/1436
Y2205	0/1443	158/1456	108/1439	131/1442	114/1453	111/1440	131/1442	158/1455
Y2204	111/1440	143/1453	121/1438	100/1439	2/1453	0/1440	100/1439	143/1452
Y2201	111/1440	141/1437	121/1437	100/1439	1/1440	0/1440	100/1439	141/1436
Y219	160/1443	0/1462	118/1440	154/1443	145/1453	141/1440	154/1443	0/1461
Y215	160/1443	0/1461	118/1440	154/1443	144/1452	141/1440	154/1443	0/1460
Y2105	111/1440	143/1451	121/1438	100/1439	2/1453	0/1440	100/1439	143/1450
Y1818	111/1440	143/1453	121/1438	100/1439	2/1453	0/1440	100/1439	143/1452
Y1817	157/1439	0/1461	117/1436	152/1439	145/1449	141/1436	152/1439	---
Y1815	131/1442	152/1440	118/1437	0/1443	101/1439	100/1439	---	89,44
Y1502	111/1440	141/1437	121/1437	100/1439	1/1440	---	93,05	90,18
Y1417	112/1440	145/1450	120/1438	101/1439	---	99,93	92,98	89,99
Y1206	131/1442	152/1440	118/1437	---	92,98	93,05	100,00	89,44
Y113	108/1438	117/1437	---	91,79	91,66	91,58	91,79	91,85
Y1018	157/1440	---	91,86	89,44	90,00	90,19	89,44	100,00
709	---	89,10	92,49	90,92	92,22	92,29	90,92	89,09
702	100,00	89,15	92,49	90,92	92,15	92,29	90,92	89,14
701	100,00	89,14	92,49	90,91	92,15	92,29	90,91	89,13
606	89,81	89,32	90,56	89,95	89,33	89,31	89,95	89,31
605	91,30	89,65	92,84	90,25	89,65	89,76	90,25	89,64
504	99,75	91,70	93,85	93,61	94,02	94,10	93,61	91,69
2705	92,48	91,85	99,86	91,78	91,64	91,57	91,78	91,84
2704	92,49	91,80	99,93	91,79	91,59	91,58	91,79	91,80
İzolat	709	Y1018	Y113	Y1206	Y1417	Y1502	Y1815	Y1817

Ek 8 Lactobacillus cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı (devamı)

İzolat	Y1818	Y2105	Y215	Y219	Y2201	Y2204	Y2205	Y2305
Y720	134/1429	134/1429	149/1436	149/1436	134/1429	134/1429	139/1432	134/1428
Y717	147/1450	147/1450	153/1451	153/1452	146/1436	147/1450	126/1451	103/1439
Y715	147/1453	147/1450	153/1453	153/1454	146/1436	147/1452	126/1453	103/1439
Y710	147/1449	147/1449	153/1450	153/1451	146/1436	147/1449	126/1450	103/1439
Y703	135/1436	135/1436	150/1443	150/1443	135/1436	135/1436	140/1439	135/1435
Y620	135/1435	135/1435	150/1442	150/1442	135/1435	135/1435	138/1438	135/1434
Y613	148/1452	148/1450	152/1453	152/1454	147/1436	148/1452	125/1453	102/1439
Y601	122/1449	122/1449	120/1450	120/1451	121/1437	122/1449	108/1450	2/1440
Y320	143/1455	143/1453	0/1464	0/1464	141/1440	143/1455	161/1458	117/1440
Y314	143/1453	143/1451	0/1462	0/1462	141/1438	143/1453	159/1456	116/1438
Y310	144/1456	144/1454	0/1464	1/1465	141/1440	144/1456	162/1459	117/1440
Y301	143/1454	143/1453	0/1463	0/1463	141/1440	143/1454	161/1457	117/1440
Y2405	112/1454	112/1454	161/1456	161/1457	111/1440	112/1454	0/1457	107/1439
Y2305	120/1438	120/1438	117/1440	117/1440	120/1437	120/1438	107/1439	---
Y2205	112/1456	112/1454	161/1458	161/1459	111/1440	112/1456	---	92.56
Y2204	0/1456	0/1454	143/1455	143/1456	0/1440	---	92.31	91.66
Y2201	0/1440	0/1440	141/1440	141/1440	---	100.00	92.29	91.65
Y219	143/1456	143/1454	0/1464	---	90.21	90.18	88.97	91.88
Y215	143/1455	143/1453	---	100.00	90.21	90.17	88.96	91.88
Y2105	0/1454	---	90.16	90.17	100.00	100.00	92.30	91.66
Y1818	---	100.00	90.17	90.18	100.00	100.00	92.31	91.66
Y1817	90.15	90.14	100.00	100.00	90.18	90.15	89.14	91.92
Y1815	93.05	93.05	89.33	89.33	93.05	93.05	90.92	91.86
Y1502	100.00	100.00	90.21	90.21	100.00	100.00	92.29	91.65
Y1417	99.86	99.86	90.08	90.02	99.93	99.86	92.15	91.72
Y1206	93.05	93.05	89.33	89.33	93.05	93.05	90.92	91.86
Y113	91.59	91.59	91.81	91.81	91.58	91.59	92.49	99.93
Y1018	90.16	90.14	100.00	100.00	90.19	90.16	89.15	91.93
709	92.29	92.29	88.91	88.91	92.29	92.29	100.00	9.56
702	92.31	92.30	88.96	88.97	92.29	92.31	100.00	92.56
701	92.30	92.29	88.95	88.96	92.29	92.30	100.00	92.56
606	89.36	89.34	89.33	89.27	89.31	89.35	89.79	90.49
605	89.79	89.79	89.52	89.53	89.76	89.79	91.39	92.91
504	94.10	94.10	91.48	91.48	94.10	94.10	99.75	93.93
2705	91.57	91.57	91.79	91.79	91.57	91.57	92.48	99.93
2704	91.60	91.59	91.75	91.75	91.58	91.60	92.57	99.86
İzolat	Y1818	Y2105	Y215	Y219	Y2201	Y2204	Y2205	Y2305

Ek 8 Lactobacillus cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı (devamı)

İzolat	Y2405	Y301	Y310	Y314	Y320	Y601	Y113	Y1206
Y720	139/1432	149/1436	149/1436	149/1435	149/1436	136/1428	135/1428	133/1432
Y717	126/1451	153/1451	154/1452	151/1449	153/1451	105/1450	104/1439	141/1436
Y715	126/1451	153/1452	154/1454	151/1451	153/1453	105/1450	104/1439	141/1436
Y710	126/1450	153/1450	154/1451	151/1448	153/1450	105/1450	104/1439	141/1436
Y703	140/1439	150/1443	150/1443	150/1442	150/1443	137/1435	136/1435	134/1439
Y620	138/1438	150/1442	150/1442	150/1441	150/1442	137/1434	136/1434	132/1438
Y613	125/1451	152/1452	153/1454	150/1451	152/1453	104/1450	103/1439	140/1436
Y601	108/1450	120/1450	121/1451	119/1448	120/1450	---	1/1440	118/1437
Y320	161/1456	0/1463	0/1464	0/1462	---	91.72	118/1440	154/1443
Y314	159/1454	0/1461	0/1462	---	100.00	91.78	117/1438	152/1441
Y310	162/1457	0/1463	---	100.00	100.00	91.66	118/1440	154/1443
Y301	161/1456	---	100.00	100.00	100.00	91.72	118/1440	154/1443
Y2405	---	88.94	88.88	89.06	88.94	92.55	108/1439	131/1442
Y2305	92.56	91.88	91.88	91.93	91.88	99.86	1/1440	117/1437
Y2205	100.00	88.95	88.90	89.08	88.96	92.55	108/1439	131/1442
Y2204	92.30	90.17	90.11	90.16	90.17	91.58	121/1438	100/1439
Y2201	92.29	90.21	90.21	90.19	90.21	91.58	121/1437	100/1439
Y219	88.95	100.00	99.93	100.00	100.00	91.73	118/1440	154/1443
Y215	88.94	100.00	100.00	100.00	100.00	91.72	118/1440	154/1443
Y2105	92.30	90.16	90.10	90.14	90.16	91.58	121/1438	100/1439
Y1818	92.30	90.17	90.11	90.16	90.17	91.58	121/1438	100/1439
Y1817	89.13	100.00	99.93	100.00	100.00	91.78	117/1436	152/1439
Y1815	90.92	89.33	89.33	89.45	89.33	91.79	118/1437	0/1443
Y1502	92.29	90.21	90.21	90.19	90.21	91.58	121/1437	100/1439
Y1417	92.15	90.08	90.02	90.07	90.08	91.58	120/1438	101/1439
Y1206	90.92	89.33	89.33	89.45	89.33	91.79	118/1437	---
Y113	92.49	91.81	91.81	91.86	91.81	99.93	---	91.79
Y1018	89.13	100.00	99.93	100.00	100.00	91.78	91.86	89.44
709	100.00	88.91	88.91	89.04	88.91	92.49	92.49	90.92
702	100.00	88.95	88.90	89.08	88.96	92.55	92.49	90.92
701	100.00	88.94	88.89	89.07	88.95	92.55	92.49	90.91
606	89.77	89.32	89.27	89.38	89.33	90.56	90.56	89.95
605	91.39	89.52	89.46	89.65	89.52	92.83	92.84	90.25
504	99.75	91.48	91.48	91.63	91.48	93.85	93.85	93.61
2705	92.48	91.79	91.9	91.85	91.79	99.79	99.86	91.78
2704	92.56	91.74	91.68	91.80	91.75	100.00	99.93	91.79
İzolat	Y2405	Y301	Y310	Y314	Y320	Y601	Y113	Y1206

Ek 8 Lactobacillus cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı (devamı)

İzolat	Y1417	Y1502	Y1815	Y1817	Y1818	Y2105	Y215	Y219
Y720	135/1429	134/1429	133/1432	149/1433	134/1429	134/1429	149/1436	149/1436
Y717	149/1449	146/1436	141/1436	151/1448	147/1450	147/1450	153/1451	153/1452
Y715	149/1449	146/1436	141/1436	151/1450	147/1453	147/1450	153/1453	153/1454
Y710	149/1449	146/1436	141/1436	151/1447	147/1449	147/1449	153/1450	153/1451
Y703	136/1436	135/1436	134/1439	150/1440	135/1436	135/1436	150/1443	150/1443
Y620	136/1435	135/1435	132/1438	150/1439	135/1435	135/1435	150/1442	150/1442
Y613	150/1449	147/1436	140/1436	150/1450	148/1452	148/1450	152/1453	152/1454
Y601	122/1449	121/1437	118/1437	119/1447	122/1449	122/1449	120/1450	120/1451
Y320	144/1452	141/1440	154/1443	0/1460	143/1455	143/1453	0/1464	0/1464
Y314	144/1450	141/1438	152/1441	0/1460	143/1453	143/1451	0/1462	0/1462
Y310	145/1453	141/1440	154/1443	1/1461	144/1456	144/1454	0/1464	1/1465
Y301	144/1452	141/1440	154/1443	0/1459	143/1454	143/1453	0/1463	0/1463
Y2405	114/1453	111/1440	131/1442	158/1453	112/1454	112/1454	161/1456	161/1457
Y2305	119/1438	120/1437	117/1437	116/1436	120/1438	120/1438	117/1440	117/1440
Y2205	114/1453	111/1440	131/1442	158/1455	112/1456	112/1454	161/1458	161/1459
Y2204	2/1453	0/1440	100/1439	143/1452	0/1456	0/1454	143/1455	143/1456
Y2201	1/1440	0/1440	100/1439	141/1436	0/1440	0/1440	141/1440	141/1440
Y219	145/1453	141/1440	154/1443	0/1461	143/1456	143/1454	0/1464	---
Y215	144/1452	141/1440	154/1443	0/1460	143/1455	143/1453	---	100.00
Y2105	2/1453	0/1440	100/1439	143/1450	0/1454	---	90.16	90.17
Y1818	2/1453	0/1440	100/1439	143/1452	---	100.00	90.17	90.18
Y1817	145/1449	141/1436	152/1439	---	90.15	90.14	100.00	100.00
Y1815	101/1439	100/1439	---	89.44	93.05	93.05	89.33	89.33
Y1502	1/1440	---	93.05	90.18	100.00	100.00	90.21	90.21
Y1417	---	99.93	92.98	89.99	99.86	99.86	90.08	90.02
Y1206	92.98	93.05	100.00	89.44	93.05	93.05	89.33	89.33
Y113	91.66	91.58	91.79	91.85	91.59	91.59	91.81	91.81
Y1018	90.00	90.19	89.44	100.00	90.16	90.14	100.00	100.00
709	92.22	92.29	90.92	89.09	92.29	92.29	88.91	88.91
702	92.15	92.29	90.92	89.14	92.31	92.30	88.96	88.97
701	92.15	92.29	90.91	89.13	92.30	92.29	88.95	88.96
606	89.33	89.31	89.95	89.31	89.36	89.34	89.33	89.27
605	89.65	89.76	90.25	89.64	89.79	89.79	89.52	89.53
504	94.02	94.10	93.61	91.69	94.10	94.10	91.48	91.48
2705	91.64	91.57	91.78	91.84	91.57	91.57	91.79	91.79
2704	91.59	91.58	91.79	91.80	91.60	91.59	91.75	91.75
İzolat	Y1417	Y1502	Y1815	Y1817	Y1818	Y2105	Y215	Y219

Ek 8 Lactobacillus cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı (devamı)

İzolat	Y2201	Y2204	Y2205	Y2305	Y2405	Y301	Y310	Y314
Y720	134/1429	134/1429	139/1432	134/1428	139/1432	149/1436	149/1436	149/1435
Y717	146/1436	147/1450	126/1451	103/1439	126/1451	153/1451	154/1452	151/1449
Y715	146/1436	147/1452	126/1453	103/1439	126/1451	153/1452	154/1454	151/1451
Y710	146/1436	147/1449	126/1450	103/1439	126/1450	153/1450	154/1451	151/1448
Y703	135/1436	135/1436	140/1439	135/1435	140/1439	150/1443	150/1443	150/1442
Y620	135/1435	135/1435	138/1438	135/1434	138/1438	150/1442	150/1442	150/1441
Y613	147/1436	148/1452	125/1453	102/1439	125/1451	152/1452	153/1454	150/1451
Y601	121/1437	122/1449	108/1450	2/1440	108/1450	120/1450	121/1451	119/1448
Y320	141/1440	143/1455	161/1458	117/1440	161/1456	0/1463	0/1464	0/1462
Y314	141/1438	143/1453	159/1456	116/1438	159/1454	0/1461	0/1462	---
Y310	141/1440	144/1456	162/1459	117/1440	162/1457	0/1463	---	100.00
Y301	141/1440	143/1454	161/1457	117/1440	161/1456	---	100.00	100.00
Y2405	111/1440	112/1454	0/1457	107/1439	---	88.94	88.88	89.06
Y2305	120/1437	120/1438	107/1439	---	92.56	91.88	91.88	91.93
Y2205	111/1440	112/1456	---	92.56	100.00	88.95	88.90	89.08
Y2204	0/1440	---	92.31	91.66	92.30	90.17	90.11	90.16
Y2201	---	100.00	92.29	91.65	92.29	90.21	90.21	90.19
Y219	90.21	90.18	88.97	91.88	88.95	100.00	99.93	100.00
Y215	90.21	90.17	88.96	91.88	88.94	100.00	100.00	100.00
Y2105	100.00	100.00	92.30	91.66	92.30	90.16	90.10	90.14
Y1818	100.00	100.00	92.31	91.66	92.30	90.17	90.11	90.16
Y1817	90.18	90.15	89.14	91.92	89.13	100.00	99.93	100.00
Y1815	93.05	93.05	90.92	91.86	90.92	89.33	89.33	89.45
Y1502	100.00	100.00	92.29	91.65	92.29	90.21	90.21	90.19
Y1417	99.93	99.86	92.15	91.72	92.15	90.08	90.02	90.07
Y1206	93.05	93.05	90.92	91.86	90.92	89.33	89.33	89.45
Y113	91.58	91.59	92.49	99.93	92.49	91.81	91.81	91.86
Y1018	90.19	90.16	89.15	91.93	89.13	100.00	99.93	100.00
709	92.29	92.29	100.00	92.56	100.00	88.91	88.91	89.04
702	92.29	92.31	100.00	92.56	100.00	88.95	88.90	89.08
701	92.29	92.30	100.00	92.56	100.00	88.94	88.89	89.07
606	89.31	89.35	89.79	90.49	89.77	89.32	89.27	89.38
605	89.76	89.79	91.39	92.91	91.39	89.52	89.46	89.65
504	94.10	94.10	99.75	93.93	99.75	91.48	91.48	91.63
2705	91.57	91.57	92.48	99.93	92.48	91.79	91.79	91.85
2704	91.58	91.60	92.57	99.86	92.56	91.74	91.68	91.80
İzolat	Y2201	Y2204	Y2205	Y2305	Y2405	Y301	Y310	Y314

Ek 8 Lactobacillus cinsi ekşihamur izolatlarının 16S rRNA gen dizi analizine bağlı benzerlik değerleri ve nükleotit sayısı (devamı)

İzolat	Y320	Y601	Y613	Y620	Y703	Y710	Y715	Y717	Y720
Y720	149/1436	136/1428	153/1427	1/1437	0/1437	154/1427	154/1427	154/1427	---
Y717	153/1451	105/1450	1/1452	154/1433	156/1434	0/1451	0/1452	---	89.21
Y715	153/1453	105/1450	1/1454	154/1433	156/1434	0/1451	---	100.00	89.21
Y710	153/1450	105/1450	1/1451	154/1433	156/1434	---	100.00	100.00	89.21
Y703	150/1443	137/1435	155/1434	1/1443	---	89.12	89.12	89.12	100.00
Y620	150/1442	137/1434	153/1433	---	99.93	89.25	89.25	89.25	99.93
Y613	152/1453	104/1450	---	89.32	89.19	99.93	99.93	99.93	89.28
Y601	120/1450	---	92.83	90.45	90.45	92.76	92.76	92.76	90.48
Y320	---	91.72	89.54	89.60	89.60	89.45	89.47	89.46	89.62
Y314	100.00	91.78	89.66	89.59	89.60	89.57	89.59	89.58	89.62
Y310	100.00	91.66	89.48	89.60	89.60	89.39	89.41	89.39	89.62
Y301	100.00	91.72	89.53	89.60	89.60	89.45	89.46	89.46	89.62
Y2405	8894	92.55	91.39	90.40	90.27	91.31	91.32	91.32	90.29
Y2305	91.88	99.86	92.91	90.59	90.59	92.84	92.84	92.84	90.62
Y2205	88.96	92.55	91.40	90.40	90.27	91.31	91.33	91.32	90.29
Y2204	90.17	91.58	89.81	90.59	90.60	89.86	89.88	89.86	90.62
Y2201	90.21	91.58	89.76	90.59	90.60	89.83	89.83	89.83	90.62
Y219	100.00	91.73	89.55	89.60	89.60	89.46	89.48	89.46	89.62
Y215	100.00	91.72	89.54	89.60	89.60	89.45	89.47	89.46	89.62
Y2105	90.16	91.58	89.79	90.59	90.60	89.86	89.86	89.86	90.62
Y1818	90.17	91.58	89.81	90.59	90.60	89.86	89.88	89.86	90.62
Y1817	100.00	91.78	89.66	89.58	89.58	89.56	89.59	89.57	89.60
Y1815	89.33	91.79	90.25	90.82	90.69	90.18	90.18	90.18	90.71
Y1502	90.21	91.58	89.76	90.59	90.60	89.83	89.83	89.83	90.62
Y1417	90.08	91.58	89.65	90.52	90.53	89.72	89.72	89.72	90.55
Y1206	89.33	91.79	90.25	90.82	90.69	90.18	90.18	90.18	90.71
Y113	91.81	99.93	92.84	90.52	90.52	92.77	92.77	92.77	90.55
Y1018	100.00	91.78	89.66	89.58	89.59	89.57	89.59	89.58	89.61
709	88.91	92.49	91.30	90.40	90.27	91.23	91.23	91.23	90.29
702	88.96	92.55	91.40	90.40	90.27	91.31	91.33	91.32	90.29
701	88.95	92.55	91.39	90.40	90.26	91.30	91.32	91.31	90.29
606	89.33	90.56	89.61	92.93	92.86	89.52	89.55	89.53	92.83
605	89.52	92.83	100.00	89.32	89.19	99.93	99.93	99.93	89.28
504	91.48	93.85	92.95	92.78	92.70	92.87	92.87	92.87	92.70
2705	91.79	99.79	92.83	90.52	90.52	92.76	92.76	92.76	90.55
2704	91.75	100.00	92.85	90.45	90.45	92.76	92.78	92.77	90.48
İzolat	Y320	Y601	Y613	Y620	Y703	Y710	Y715	Y717	Y720

EK 9 EKŞİHAMURLARIN pH ANALİZ SONUÇLARI

İzolat adı	1. Hamur	2. Hamur	3. Hamur	4. Hamur	5. Hamur	6. Hamur	7. Hamur	8. Hamur	9. Hamur	10. Hamur
<i>Weissella sp.</i> Y404	3.75	3.63	3.59	3.59	3.65	3.59	3.62	3.66	3.65	3.67
<i>Lactobacillus sp. subsp. tolerans</i> Y1502	3.60	3.71	3.74	3.81	3.94	3.67	3.66	3.60	3.59	3.54
<i>Weissella sp.</i> Y2804	4.00	3.97	3.90	4.00	3.93	3.90	3.85	3.85	3.81	3.77
<i>Lactobacillus sp.</i> Y219	3.37	3.33	3.31	3.43	3.50	3.37	3.54	3.48	3.48	3.49
<i>Lactobacillus sp. subsp. plantarum</i> Y601	3.34	3.35	3.37	3.40	3.49	3.47	3.45	3.49	3.52	3.46
<i>Lactobacillus sp.</i> Y2305	3.44	3.32	3.35	3.41	3.50	3.43	3.55	3.60	3.47	3.43
<i>Pediococcus sp.</i> Y2613	3.54	3.62	3.49	3.55	3.59	3.53	3.60	3.58	3.62	3.57
<i>Pediococcus sp.</i> Y2814	3.51	3.49	3.50	3.58	3.55	3.47	3.64	3.61	3.60	3.64
<i>Lactobacillus sp.</i> 2114	3.35	3.31	3.31	3.40	3.48	3.44	3.48	3.54	3.48	3.43
<i>Lactobacillus sp. subsp. plantarum</i> 2704	3.33	3.31	3.29	3.42	3.47	3.4	3.54	3.48	3.62	3.43
<i>Lactobacillus sp.</i> 2705	3.32	3.34	3.34	3.36	3.46	3.36	3.46	3.44	3.46	3.43
<i>Leuconostoc sp.</i> 2605	3.57	3.69	3.60	3.76	3.66	3.6	3.64	3.64	3.64	3.59

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Merve YURTTAŞ

Doğum Yeri : Samsun

Doğum Tarihi :12.05.1984

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Sinop Anadolu Lisesi (2002)

Lisans : Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği
Bölümü (2007)

Yüksek Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda
Mühendisliği Anabilim Dalı (Eylül 2008-Ekim 2011)

Çalıştığı Kurum ve Yıl

Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü

(Öğretim Görevlisi) / 5 yıl