

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hülya IŞIKALP

**FARKLI YÖRELERDE KULLANILAN EKŞİ HAMURLARDA
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN VE MAYALARIN
BELİRLENMESİ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA-2019

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI YÖRELERDE KULLANILAN EKŞİ HAMURLARDA LAKTİK
ASİT BAKTERİLERİNİN VE MAYALARIN BELİRLENMESİ**

Hülya IŞIKALP

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 22 / 07 / 2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Filiz ÖZÇELİK
ÜYE

.....
Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2016-7132**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI YÖRELERDE KULLANILAN EKŞİ HAMURLARDA LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN VE MAYALARIN BELİRLENMESİ

Hülya IŞIKALP

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Hüseyin ERTEN

Yıl: 2019 Sayfa: 71

Jüri : Prof. Dr. Hüseyin ERTEN

: Prof. Dr. Filiz ÖZÇELİK

: Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA

Bu çalışmada 3 farklı fırından iki farklı zamanda toplamda 6 adet ekşi hamur numuneleri alınmıştır. Ayrıca laboratuvar koşullarında da ekşi hamur üretilmiştir. Laboratuvar koşullarında üretilen ve fırınlardan toplanan ekşi hamur örneklerinden laktik asit bakterileri (LAB) ve mayalar izole edilmiş ve ekşi hamur örneklerinde kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Kimyasal analiz olarak pH, toplam titrasyon asitliği, kuru madde, şeker ve organik asit analizleri yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler olarak laktik asit bakterileri, maya, *Saccharomyces* spp.olmayan maya, toplam mezofil aerob bakteri, koliform , küf sayımı, Gram boyama ve katalaz testleri yapılmıştır. LAB RAPD-PCR ve 16S rRNA gen bölgesinin sekanslanması ile tür düzeyinde tanımlanmıştır. Mayaların moleküler tanımlanmasında ise RFLP-PCR ve 5.8S rRNA yöntemleri ile 26S rRNA geninin D1/D2 bölgesinin sekanslanması yöntemleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre toplam on adet laktik asit bakteri türü ve alt türü ve bir adet maya türü tanımlanmıştır. İzole edilen laktik asit bakterileri *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc holzapfelii*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Weissella viridescens*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*'dir. *Saccharomyces cerevisiae* ise tanımlanan tek maya türü olmuştur.

Anahtar kelimeler: ekşi hamur, laktik asit bakterisi, maya, PCR

ABSTRACT

MSc THESIS

IDENTIFICATION OF LACTIC ACID BACTERIA AND YEASTS IN SOURDOUGH SAMPLES FROM DIFFERENT REGIONS

Hülya IŞIKALP

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

Advisor : Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
Year: 2019 Page: 71
Jury : Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
: Prof. Dr. Filiz ÖZÇELİK
: Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA

In the present study, totally six sourdough samples were collected from three different bakeries at two different times. Also sourdough production was conducted under laboratory conditions. Lactic acid bacteria (LAB) and yeasts were isolated from the samples and chemical and microbiological analyses were performed. pH, total titratable acidity, dry matter, sugar and organic acid analyses were carried out as chemical analyses. On the other hand, enumeration of LAB, yeasts, non-*Saccharomyces* yeasts, total mesophilic aerobic bacteria, molds and coliforms, gram staining and catalase tests were done as microbiological analyses. LAB were identified at species level by RAPD-PCR method and sequencing of the 16s rRNA gene. Molecular identification of yeasts was carried out with combination of RFLP-PCR and 5.8S rRNA region and sequencing of the D1/D2 domain of 26S rRNA gene. According to results, a total of ten different LAB species and subspecies and also one yeast species were found in sourdough samples. Identified LAB species were *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc holzapfelii*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*, *Weissella viridescens* *Leuconostoc pseudomesenteroides*. *Saccharomyces cerevisiae* was isolated as sole yeast species.

Key words: Sourdough, lactic acid bacteria, yeast, PCR

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Bu çalışmada 3 farklı yöreden, iki farklı zamanda toplanan ekşi hamur örneklerinde ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamurda bulunan laktik asit bakterileri ve mayalar izole edilmiştir. İzole edilen laktik asit bakterileri ve mayalar moleküler yöntemlerle tanımlanmışlardır ve ekşi hamur örneklerinin kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Örnekler Hatay, Gaziantep ve Trabzon illerinden 2 farklı zamanda alınmıştır. Laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamurlardan ise 0., 6., 12., 24. ve 30. saatlerde numuneler alınmıştır.

Kimyasal analizlerde pH, toplam titrasyon asitliği, kuru madde, şeker ve organik asit analizleri yapılmıştır. Yapılan kimyasal analiz sonucunda elde edilen veriler istatistiki açıdan değerlendirilmiş, Tukey çoklu karşılaştırma testine tabi tutulmuştur.

Fırınlardan toplanan ekşi hamurların pH değerleri 4.22 ile 5.37, toplam titrasyon asitliği değerleri 3.4 ile 13 mL 0.1 N NaOH/10 g arasında, kuru madde değerleri 54.34 ile 60.27 arasında belirlenmiştir. Bu değerler istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde farklı zamanlarda alınan hamur örneklerinde pH değerleri arasında anlamlı farklılıklar görülmüştür ($p<0.05$).

Laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamurların 0., 6., 12., 24. ve 30. saatlerinde yapılan pH, toplam titrasyon asitliği ve kuru madde analizleri sırasıyla 4.61 ile 6.05, 2.05 mL 0.1N NaOH ile 4.07 mL 0.1N NaOH, % 53.21 ile % 57.33 değerleri arasında bulunmuştur. Buna göre 6. ve 12. saatler için pH değerleri arasında anlamlı farklılık yokken diğer saatlerdeki pH değerleri arasında anlamlı farklılık gözlemlenmiştir. Tüm saatlerde yapılan toplam titrasyon asitliği (mL) değerleri arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür.

Şeker analizlerinde maltoz+sakkaroz, glikoz ve fruktoz değerlerine bakılmıştır. Organik asit değerlerinde ise laktik asit ve asetik asit değerlerine bakılmıştır. Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamurların maltoz+sakkaroz, glikoz, fruktoz, laktik asit ve asetik asit değerleri

sırasıyla 0.84 ile 9.34, 2.03 ile 6.14, 0.7 ile 3.48, 1.32 ile 3.52 ve 0.60 ile 1.58 g/kg arasında belirlenmiştir. İstatiksel açıdan değerlendirildiğinde iki farklı zamanda aynı fırından alınan örneklerde maltoz+sakkaroz değerlerinde anlamlı bir farklılık görülmüştür.

Ekşi hamurlardan izole edilen laktik asit bakterisi, maya, *Saccharomyces* spp. olmayan maya, koliform bakteri, toplam mezofil aerob bakteri ve SDB sayıları belirlenmiştir. Laktik asit bakterileri için M17 ve MRS besiyerleri, maya için YPD besiyeri, *Saccharomyces* spp. olmayan mayalar için L-lysine besiyeri, koliform bakteriler için VRB besiyeri, toplam mezofil aerob bakteriler için PCA besiyeri, ekşi hamur bakterileri için SDB ve küfler için MXA besiyeri kullanılmıştır.

Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinde laktik asit bakteri sayısı 5.80 ile 7.70 log kob/g, SDB besiyerinde gelişen laktik asit bakteri sayısı 5.98 ile 7.62 log kob/g, maya sayısı 5.77 ile 7.72 log kob/g, *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayısı 5.91 ile 7.1 log kob/g, toplam mezofil aerob bakteri sayısı 4.37 ile 7.68 log kob/g, ve koliform bakteri sayısı 2.73 ile 5.10 log kob/g arasındadır.

Kontrol olarak üretilen ekşi hamurların B1K 0. saat ve S1K 30. saat laktik asit bakteri sayımları arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür. Buna göre fermentasyon süresine bağlı olarak laktik asit bakterisinde artış olmuştur. Koliform bakteri sayımlarında farklılık yoktur.

LAB 'nin izolatları RAPD-PCR analizleri tarafından ve 16S rRNA genlerinin dizi analizi ile genotipik tanımlamaya tabi tutulmuştur. Toplamda 228 adet LAB'si izole edilmiştir Hatay, Gaziantep ve Trabzon' daki fırınlardan iki farklı zamanda toplanan ekşi hamur örneklerinden toplamda 176 adet LAB izole edilmiştir. Laboratuvar koşullarında üretilen 0. ve 30. saatlerde alınan ekşi hamur örneklerinden toplamda 52 adet LAB izole edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre laktik asit bakterilerinden *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc holzapfelii*, *Leuconostoc mesenteroides*

subsp. dextranicum, *Weissella viridescens*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* olmak üzere toplamda 10 adet tür tanımlanmıştır.

Maya izolatlarının 26S rRNA gen sekans analiz sonuçlarına göre identifikasyonu yapılmıştır. Toplamda 169 adet maya izole edilmiştir. Farklı fırınlardan iki farklı zamanda alınan ekşi hamur örneklerinden toplam 136 adet maya izole edilmiştir. Laboratuvar koşullarında üretilen 0. ve 30. saatlerde alınan ekşi hamur örneklerinden toplam 33 adet maya izole edilmiştir. İzole edilen mayalar *Saccharomyces cerevisiae* olarak tanımlanmışlardır.





TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca manevi desteklerini esirgemeyen, yol gösteren, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Hüseyin ERTEN' e teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmalarım ve analizlerim sırasında her türlü desteği gösteren, karşılaştığım sorunları çözmemde yardımcı olan. Dr. C. Pelin BOYACI GÜNDÜZ' e teşekkür ederim.

Yoğun olmasına rağmen öğrenimim boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Ar. Gör. Bilal AĞIRMAN' a, laboratuvar analizlerimde yardımcı olan Dr. Z. Dilan ÇELİK' e çok teşekkür ederim.

Tez dönemim boyunca izin almamda kolaylık sağlayan, yardımlarını esirgemeyen değerli patronum Bahir DEMİR' e çok teşekkür ederim.

Gıda Mühendisliği bölümündeki hocalarıma, değerli arkadaşlarım, Burcu DÜNDAR' a, ALP TOKGÖZ' e, Ebru ARSLAN' a ve maddi destek sağlayan Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne;

Hayatım boyunca yanımda olan, bana doğru yolu gösteren biricik annem Bedriye IŞIKALP' e

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	XII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIV
SİMGELER VE KISALTMALAR	XVI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. Ekşi Hamur	6
2.1.1. Ekşi Hamur Tarihçesi	6
2.1.1. Ekşi Hamur Üretimi	7
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. Materyal	17
3.2. Metot	18
3.2.1. Laboratuvar Koşullarında Ekşi Hamur Üretimi ve Yapılan Analizler	18
3.2.2. Fırınlardan Alınan Ekşi Hamur Örneklerinde Yapılan Analizler	19
3.2.3. Ekşi Hamur Örneklerinde Mikrofloranın Belirlenmesi	19
3.2.3.1. LAB'nin İzolasyonu	19
3.2.3.2. Mayaların İzolasyonu	21
3.2.4. Ekşi Hamurda Yapılan Analizler	21
3.2.4.1. pH Tayini	21

3.2.4.2. Toplam Titrasyon Asitliği Tayini.....	21
3.2.4.3. Kuru Madde Tayini	21
3.2.4.4. Şeker ve Organik Asit Tayini.....	22
3.2.4.5. Mikrobiyolojik Analizler	24
3.2.4.5.(1). LAB ve Maya Sayılarının Belirlenmesi	24
3.2.4.5.(2). Toplam Mezofil Aerob ve Koliform Bakteri Sayısının Belirlenmesi	25
3.2.4.5.(3). Gram Boyama.....	25
3.2.4.5.(4). Katalaz Testi	26
3.2.4.6. İstatiksel Analizler	26
3.2.5. LAB ve Mayaların Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması	27
3.2.5.1. LAB ve Mayalarda DNA İzolasyonu.....	27
3.2.5.2. Randomly Amplified Polymorphic DNA-Polymerase Chain Reaction (RAPD- PCR) ve 16S rRNA Gen analizlerinde LAB için Moleküler Tanımlama.....	28
3.2.5.3. Mayalar için Moleküler Tanımlama.....	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	39
4.1. Ekşi Hamur Örneklerinde Kimyasal Analizler Sonuçları.....	39
4.1.1. Fırınlardan Toplanan Ekşi Hamur Örneklerinde pH, TTA ve Kuru Madde Analiz Sonuçları.....	39
4.1.2. Kontrollü Ortamda Üretilen Ekşi Hamur Örneklerinde pH, TTA ve Kuru Madde Analiz Sonuçları	43
4.1.3. Ekşi Hamur Örneklerinin Şeker ve Organik Asit Miktarları ..	44
4.2. Ekşi Hamur Örneklerinde Mikrobiyel Analiz Sonuçları	46
4.3. Ekşi Hamur Örneklerinde Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Olarak Tanımlanması	49

4.4. Ekşi Hamur Örneklerinde Mayaların Moleküler Olarak	
Tanımlanması.....	54
5. SONUÇLAR	57
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	71





Çizelge 3.1. Fırınlardan alınan ekşi hamur örneklerinin cinsi, yeri ve tarihi	17
Çizelge 3.2. Ekşi hamurlardaki mikroorganizma sayımı için kullanılan ortam ve özellikleri	20
Çizelge 3.3. Şeker ve organik asit tayini için HPLC koşulları	22
Çizelge 3.4. RAPD-PCR analizlerinde reaksiyon karışımı.....	29
Çizelge 3.5. 16S rRNA analizi için hazırlanan PCR karışımı	32
Çizelge 3.6. ITS bölge amplifikasyonu için hazırlanan PCR karışımı	33
Çizelge 3.7. 26S rRNA gen sekans analizi için hazırlanan PCR karışımı	36
Çizelge 4.1. İlk olarak 3 farklı şehirlerdeki fırınlardan toplanan ekşi hamur örneklerinin kimyasal analiz sonuçları	39
Çizelge 4.2. İkinci kez 3 farklı şehirlerdeki fırınlardan toplanan ekşi hamur örneklerinin kimyasal analiz sonuçları	40
Çizelge 4.3. Farklı zamanlarda 3 farklı fırınlardan toplanan ekşi hamur örneklerinin kimyasal analiz sonuçları	40
Çizelge 4.4. Laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinin 0-30.sa aralığında yapılan kimyasal analiz sonuçları.....	43
Çizelge 4.5. Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinin karbonhidrat ve organik asit içerikleri (g/kg)	45

Çizelge 4.6. Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinde mikroorganizma sayım sonuçları.....	47
Çizelge 4.7. LAB'nin Tanımlanması	52



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1. Laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur.....	18
Şekil 3.2. Seyreltme İşlemi.....	19
Şekil 3.3. Etüvde ekşi hamur örneklerinin kurutulması	22
Şekil 3.4. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC).....	23
Şekil 3.5. Petri kutularından lab sayımı.....	25
Şekil 3.6. Gram pozitif ve Gram negatif bakteri görüntüleri	26
Şekil 3.7. Ekşi hamurlardan izole edilen LAB ve mayaların eppendorf tüplerine aktarılarak saklanması.....	28
Şekil 3.8. Qubit 3.0 cihazı	29
Şekil 3.9. Techno TC-PLUS PCR döngüsü ve eppendorf tüpleri	30
Şekil 3.10. Jel görüntüleme cihazı.....	31
Şekil 3.11. Techno TC-PLUS 5.8S rRNA PCR döngüsü.....	34
Şekil 3.12. Techno TC-PLUS 26S rRNA PCR döngüsü.....	37
Şekil 4.1. Farklı zamanlarda farklı fırınlardan alınan ekşi hamur örneklerinin pH değerleri	41
Şekil 4.2. Farklı zamanlarda farklı fırınlardan alınan ekşi hamur örneklerinin TTA (mL) değerleri	42
Şekil 4.3. Kontrol ekşi hamurların 0. ve 30.saatlerinde mikroorganizma sayımı.....	49
Şekil 4.4. İzole edilen LAB'nin farklı şehirlere göre dağılımı.....	50
Şekil 4.5. M13 primeri kullanılarak yapılan RAPD-PCR analiz sonucu elde edilen bant görünümü.....	51
Şekil 4.6. Tanımlanan LAB' nin türlerine göre dağılımı	53
Şekil 4.7. İzole edilen mayaların farklı şehirlere göre dağılımı	54

Şekil 4.8. 5.8S rRNA ITS primerleri kullanılarak elde edilen jel görünümü	55
Şekil 4.9. RFLP ürünlerinin restriksiyon enzimleriyle kesilerek elde edilen jel görünümü.....	56



SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat derece
CO ₂	: Karbondioksit
M.Ö.	: Milattan Önce
µL	: Mikrolitre
µg	: Mikrogram
ANOVA	: Analysis of variance
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
<i>C.</i>	: <i>Candida</i>
<i>Cl.</i>	: <i>Clostridium</i>
dak	: dakika
<i>E.</i>	: <i>Enterococcus</i>
g	: Gram
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
ITS	: Internal Transcribed Spacer
Kg	: Kilogram
Kob	: Koloni oluşturan birim
L	: Litre
LAB	: Laktik asit bakterisi
<i>S.</i>	: <i>Saccharomyces</i>
<i>Lb.</i>	: <i>Lactobacillus</i>
<i>Lc.</i>	: <i>Lactococcus</i>
<i>Leu.</i>	: <i>Leuconostoc</i>
<i>W.</i>	: <i>Weisella</i>
<i>T.</i>	: <i>Torulaspora</i>
log	: Logaritma
mL	: Mililitre
mA	: Miliamper

MRS	: de Man, Ragosa Sharpe Agar
NaOH	: Sodyum hidroksit
NaCl	: Sodyum klorür
N	: Normal
PCA	: Plate Count Agar
PDA	: Potato Dekstrose Agar
P.	: Pediococcus
PCR	: Polymerase Chain Reaction
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
rRNA	: Ribosomal RNA
rpm	: Rotation per minute
SDB	: Sourdough bacteria medium
spp.	: Tür
subsp.	: Alt tür
TTA	: Toplam titrasyon asitliği
YPD	: Yeast Extract Peptone Dextrose
FYE	: Fresh Yeast Extract

1. GİRİŞ

Tüm dünyada özellikle de Türkiye gibi gelişmekte olan ülkelerde, insanların beslenme ihtiyaçlarının ve karbonhidrat gereksinimlerinin karşılanmasında en önemli gıda maddesi ekmektir (Ercan ve Bildik,1993).

İyi bir enerji kaynağı olarak bilinen ekmek, beslenmede önemli olan protein, B vitaminleri ve birçok mineralleri içerir. Ortalama olarak 400 gram ekmek tüketildiğinde, tüketilen ekmeğin kepeksiz veya kepekli olmasına bağlı olarak, günlük proteinin %51-55'i, demirin %16– 62'i, kalsiyumun %12-74'ü, B1 vitamininin %35- 82'si, B2 vitamininin %16-39'u, niasinin %20-35'i karşılanmaktadır. Ekmeğin proteinden gelen enerji oranı da %13–15 civarındadır (Doğan, 2003)

Ekmek, esas ingredient olarak buğday unu, maya, su ve tuzun belli oranlarda karıştırılıp yoğurulması, tekniğine uygun bir şekilde işlenmesi ve hamurun belirli bir süre fermente ettirilip sonrasında pişirilmesi ile elde edilir (Elgün ve Ertugay, 1997).

Genellikle kaliteli ve taze ekmekler sevilerek yenmektedir. Ekmek diğer işlenmiş gıdalardan, çok daha kısa raf ömrüne sahiptir. Ekmeğin raf ömrü bayatlama ve mikrobiyel bozulma gibi fizikokimyasal değişmelerle sınırlanmaktadır. Ekmek bayatlaması ekmeğin tüketilmesi esnasında tüketici kabulünün azalmasına yol açan bazı değişimlerdir. Bayatlama ekmek piştikten sonra oluşan ve organizmaların neden olduğu değişmelerin dışında kalan diğer değişmelerin tümü olarak açıklanmıştır (Altan, 1986; Barber ve ark., 1988; Elgün ve Ertugay, 2002). Ekmeğin bayatlaması sonucu ekmeğin duyu kalitesinde meydana gelen değişikliklerden dolayı hala sağlıklı ve yenilebilir olmasına rağmen ekmeğin tüketilmemesi çok miktarda ekmeğin kaybedilmesine ve önemli miktarda ekonomik kayıplara yol açabilir. Ülkemizde üretilen ekmeklerin %10'unun bayatlama neticesinde israf olduğu bildirilmiştir. Bayatlamadan kaynaklanan bu israfın önüne geçmek için yeni yöntemler geliştirilmektedir (Anon, 1990).

Ekmeğin diğer bir özelliği de kendine has aromaya sahip olmasıdır. Ekmek aroması, hamuru oluşturan su, tuz, maya gibi ingredientlerden ve kullanılan diğer katkı maddelerinden ileri gelebileceği gibi hamur fermantasyonu ve ekmeğin pişirilmesi sırasında kabukta meydana gelen maillard, karamelizasyon gibi reaksiyonlar sonucu meydana gelen bileşiklerden kaynaklanır.

Ülkemizde ekmek, günlük üretilip tüketildiğinden, üreticiler kısa sürede ve kapasitenin üzerinde ekmek üretmeyi hedeflerler. Bu sebeple üreticiler, tüketicileri geleneksel ekmek lezzetinden uzaklaştırmaktadırlar. Günümüzde, hamur hazırlamada kullanılan ekmek mayası miktarının %2-3'ten %5-6 oranına çıkartılması, ekşi maya kullanımından vazgeçilmesi ve fermantasyon sürelerinin en aza indirilmesi sonucunda, alışılmış ekmek aromasından uzak, sünger yapısında ve kek benzeri ürünler tüketime sunulmaktadır. Oysaki ekmeğin zengin aromaya sahip olması için, yeterli bir süre fermantasyona bırakılması gerekmektedir (Coda ve ark. 2011).

Ekmeğin raf ömrünü uzatmak ve aynı zamanda duyuşal özelliklerini ve besin kalitesini geliştirmek için araştırmalar ekşi hamur üretimi üzerine yoğunlaşmıştır.

Ekşi hamur, buğday ya da çavdar unu ve su karışımının laktik asit bakterileri (LAB) ve mayalarla fermente edilmesi sonucu elde edilir (Randazzo ve ark., 2005). LAB endüstriyel olarak önem arz eden başlıca bakterilerdir ve gıda üretimi, sağlığı düzenleme, makromoleküllerin enzim ve metabolit üretiminde kullanılmaktadır (Tangüler ve Erten, 2006).

Ekşi hamur, ekmeğin besleyici değerini, duyuşal özelliklerini ve raf ömrünü geliştirmek için binlerce yıldır kullanılan geleneksel bir üründür (Paramithiotis ve ark., 2007).

Ekşi hamur yönteminin esası; normal kültür mayalarının yanında havadan ve kullanılan hamur unsurlarından gelen laktik ve asetik asit bakterilerinin faaliyet gösterdiği bir hamur parçasını, bir sonraki hamurda maya olarak kullanmaktır (Göçmen, 2001). Ancak günümüzde klasik yöntemle ekmek üretiminde, ekşi

hamur yönteminin uygulanması terk edilmiştir. Bunun nedeni işçiliğin fazla olması ve her işletmede mayalık hamur için ayrı bir yer ve kap gerektirmesidir. Ayrıca ülkemizde, üreticiler kısa sürede ve kapasitelerinin üzerinde ekmek üretmeyi hedeflediklerinden, tüketiciyi geleneksel ekmek lezzetinden uzaklaştırmaktadır.

Ekşi maya kullanılarak yapılan ekmeklerde kalitenin düzeldiği görülmüştür. Yapılan çalışmalarda ekşi hamur ile hazırlanan ekmeklerin olumlu yönleri şöyle sıralanmıştır.

- 1- Ekşi maya hamura elastik özellik kazandırması (Salovaara ve Spicher, 1986),
- 2- Ekmekler daha normal şekilli ve yumuşak olması,
- 3- Ekmeklerdeki tat ve aroma daha spesifik ve iyi olması,
- 4- Ekmeklerdeki bayatlama ve küflenme geciktirmesi (Salovaara ve Katunpaa,1984),
- 5- Sünme hastalığını meydana getiren *Bacillus subtilis*' in gelişmesini engellemesi (Özçelik,1986)i
- 6- Ekşi mayanın undaki nişastanın enzimatik olarak parçalanmasını geciktirmesi ve unun su tutma kapasitesini arttırmasıdır (Savola ve ark.,1982).

Ekşi hamurda hâkim flora maya ve laktik asit bakterilerinden (LAB) oluşmaktadır (Menteş ve ark., 2004).

Laktik asit bakterileri, endüstriyel olarak önem arz eden başlıca bakterilerdir ve gıda üretimi, sağlığı düzenleme, makromoleküllerin, enzim ve metabolitlerin üretiminde kullanılmaktadır (Tangüler ve Erten, 2006). Yoğurt, peynir, sofralık zeytin, ekşi lahana turşusu ve ekşi hamur gibi fermente gıdaların üretiminde kullanılan önemli mikroorganizmalardır. Ekşi hamurun mikroorganizmalar üzerindeki inhibitör etkisi, LAB tarafından üretilen genellikle laktik asit bakterisi ve asetik asitten kaynaklanır. Doğal ve katkısız gıda ürünlerine

olan tüketici talebinden dolayı ekmeğin bozulmaya karşı korunmasında ekşi hamur ilavesi en önemli işlem haline gelmiştir (Messens ve Vuyst, 2002).

Ekşi hamurdan izole edilen laktik asit bakterilerinden en önemlileri *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus brevis* gibi türlerdir. Ekşi hamurda bazı mayalar da bulunur, bunlar arasında en baskın olanı *Saccharomyces cerevisiae*' dir. (Akgün, 2007).

Ekşi hamur fermantasyonunda, mayalar ve laktik asit bakterilerinin sürdürdükleri simbiyotik bir yaşam sonucunda mayalar ve heterofermantatif laktik asit bakterileri hamurun kabarmasından sorumlu olurken, laktik asit bakterileri ekmeğin elastisitesini, asitliğini ve lezzetini etkilemektedir (Sıklı ve Karapınar, 2002).

Bu çalışmanın amacı;

- Farklı yörelerden temin edilen bazı ekşi hamur örneklerindeki laktik asit bakterilerinin ve mayaların izole edilmesi,
- İzole edilen bu mikroorganizmaların fenotipik ve genotipik yöntemlerle tanımlanması ve böylece bu örneklerdeki baskın olan mikroorganizmaların belirlenmesidir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ekmek, insanlığın varoluşundan itibaren en temel gıda maddelerinden birisidir. Arkeolojik çalışmalarda bulunan fırın ve ocak kalıntıları ekmeğin M.Ö. 4000 yılında Babil’de yapıldığını işaret etmektedir. Mayalanmış ekmeğin üretimi ilk kez M.Ö. 1800 yıllarında eski Mısırlılar tarafından tesadüfen hamurun kendi haline bırakılmasıyla öğrenilmiştir. Fırıncılık mayası 20. yüzyılın başlangıcında ilk defa kullanılmıştır (Carnevali ve ark., 2007; Çebi, 2009).

Ekmek mayası, hamurda bulunan basit şekerleri fermantasyona uğratarak, fermantasyon sonucu oluşan CO₂ gazı ile hamurun kabarmasını, fermantasyon ürünü diğer maddelerle de hamurun olgunlaşmasını ve aroma teşekkülünü sağlayan, bileşiminde yer alan enzimler (maltaz, invertaz, zimaz ve proteaz) ile gluten proteinlerindeki molekül içi S-S bağlarının indirgenmesini katalizleyen, spor yapan hakiki mayalar sınıfından *Saccharomyces* cinsine ait yuvarlağımsı, tek hücreli mikroorganizma olan *Saccharomyces cerevisiae*’dır (Gül, 2007).

Geleneksel ekmek üretiminde ise ekşi hamur kullanılmaktadır. Ekşi hamurdan üretilen ekmeklerin günümüzde üretilen ekmeğe göre ekmeğin daha fazla hacim artışı, daha güçlü aroma, daha iyi ekmek içi yapısı ve uzun raf ömrü gibi pek çok üstünlüğü bulunmaktadır (Akgün, 2007; Baykara, 2006; Boz ve Karaoğlu, 2008; Gül ve ark., 2005; Kotancılar ve ark., 2006; Plessas ve ark., 2011). Diğer taraftan insan sağlığı üzerine olumlu etkileri de vardır. Ekşi maya hamurunda çeşitli maya ve bakteriler birlikte çalışmakta ve doğal florayı oluşturmaktadır. Söz konusu mikroorganizmaların önemli bir kısmı probiyotik niteliktedir (Şahin, 2012).

2.1. Ekşi Hamur

2.1.1. Ekşi Hamur Tarihçesi

Ekşi hamur, ekmeğin besleyici değerini, duyuşal özelliklerini ve raf ömrünü geliştirmek için binlerce yıldır kullanılan geleneksel bir üründür (Paramithiotis ve ark. 2007).

Yapılan tarihi araştırmalarda ekmekçiliğin tarihini aydınlatan eserlerin yaklaşık olarak 7800 yıl öncesine dayandığı belirtilmiştir. Asya kıtasının çeşitli bölgelerinde ve Çatalhöyük'te M.Ö 5900-5700 yılları arasında taş ve topraktan yapılmış fırınlar bulunmuştur. M.Ö Mısırlıların ekmekçilik alanında büyük gelişmeler gösterdikleri ve M.Ö 2000' li yıllarda 16 farklı türde ekmek ürettikleri tespit edilmiştir (Talay, 1997).

Geleneksel ekşi maya üretimi, daha önceden yapılan ekmekten saklanan hamurun, unda ve aletlerde bulunan LAB ve mayalar tarafından fermente edilmesidir. Ekşi hamurda bulunan LAB ve mayaların, CO₂ gazı üretmesi sonucunda ise hamur mayalanır. Bu şekilde ekşi hamurla mayalandırılmış ekmek yapımının M.Ö 3000' li yıllarda Mısır'da ortaya çıktığı söylenmiştir. Mısır'da bulunan Museviler nasıl ekmek yapılacağını öğrenmiş fakat Mısır'dan kaçarken yanlarında fırınlarını götürmemişlerdir. Yunanlıların ekşi hamur ekmeği yapımını bilmedikleri konuşulur. Ünlü tarihçi Herodot 'Bütün insanlar gıdalarının bozulmasından korkarken Mısırlılar hamuru bozulana kadar bir kenarda tutuyor ve meydana gelen değişimi memnuniyetle gözlemliyorlardı' diyerek konuyu özetlemiştir. Bazı kişiler ise mayalanmış ekmeğin M.Ö. 168 yılında Roma' da bulunduğunu konuşmaktadır (Hansen ve Schieberle, 2005).

Birçok uygarlık ekmeğin üretiminde ekşi hamuru kullanmıştır. Lakin endüstri devrimine kadar yoğun olarak kullanılan ekşi hamur, artan ekmek talebiyle yerini ekmek mayası olan *S. cerevisiae*' ya bırakmıştır. Çünkü ekmek mayası kullanımıyla mayalanma çok daha hızlı gerçekleşmektedir (Carnevali ve ark., 2007).

Ekşi hamur ilave edilmiş ekmek yapma geleneği Orta Doğu ve Akdeniz ülkeleri ile ABD’ de San Francisco’da hala yaygın olarak devam etmektedir. Avrupa’da fırıncılık ürünlerinin yıllık kullanım miktarı 50-85 kg olup bunun %20’si buğday veya çavdar unlarıyla yapılan ekşi hamur fermentasyonlarıyla üretilmektedir (Vogel ve ark.,2011).

Ekşi hamurda beklentiler ülkelere ve hatta şehirlere göre değişebilmektedir. Orta Doğu ve Kuzey Avrupa’ da çavdar ekmeği tercih edilirken, Güney Avrupa’da ise buğday ekmeği tercih edilmektedir (Brandt, 2007).

Geleneksel ürünlere ilginin her geçen gün artması nedeniyle ekşi hamur ekmeklerine olan ilgi de artmaktadır. Tüketiciler koruyucu içermeyen, besleyici, aromatik ve raf ömrü uzun ürün çeşitleri istemektedir (Lotong ve ark., 2000).

2.1.1. Ekşi Hamur Üretimi

Ekşi hamur, içeriğinde çeşitli LAB ve bazı mayaları barındıran ve bu mikroorganizmaların canlılığına bağlı olarak yeni hamur yapımında sürekli yenilenebilen ve özelliklerini bu mikrofloranın metabolik aktivitelerinden alan, düşük pH’ ya (pH=4) sahip bir hamurdur (Güre, 2009).

Ekşi hamur üç şekilde hazırlanabilmektedir (Erginkaya ve Kabak, 2010):

- ✓ Doğal fermentasyon yöntemi: Un ve su karışımından elde edilen hamur oda koşullarında 1-2 gün bırakıldığında, unun doğal mikroflorasında bulunan mikroorganizmalardan dolayı fermentasyon gerçekleşmekte ve hamurun asitliği yükselmektedir. Fermentasyon süresince LAB (*Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp.) dominant duruma geçmektedir. Ekşi hamurda LAB’ nin sayısı 3×10^9 kob/mL, maya sayısı ise 10^6 - 10^7 kob/mL düzeyine çıkmaktadır. Diğer yandan, doğal fermentasyon her zaman başarılı sonuçlanmamakta, olumsuz tat ve aroma oluşumu da görülebilmektedir.

- ✓ Olgun ekşi hamur ilavesi yöntemi: Bu yöntemde geleneksel olarak, daha önce ekşi hamur ekmeği yapımında kullanılan metabolik aktiviteye sahip ekşi hamurdan bir miktar alınarak un ve su karışımına ilave edilmektedir.
- ✓ Starter kültür kullanımı: Fermantasyonu gerçekleştirmek amacıyla saf LAB kültürü veya LAB/maya karışımı kullanılmaktadır. Ekşi hamur kültürü seçiminde, hamuru kısa sürede asitlendirme yeteneğine ve ekmek yapımında kullanıldığında kabul edilebilir aroma oluşturma özelliğine sahip olan kültürler seçilmelidir.

LAB ekşi hamur fermantasyonunda anahtar role sahip olup, çubuk, kok ve kokobasil şekilde, gram pozitif, hareketsiz, katalaz negatif, fakültatif anaerobik, aside dayanıklı mikroorganizmalardır (Holzapfel ve ark., 2001). LAB, fermantasyonun yönlendirilmesi ve hızlandırılmasında, bir fermente gıdanın üretiminde kullanılan önemli bir mikroorganizma grubudur. Hamurda asitliğin artırılmasının yanı sıra, serbest halde çeşitli aminoasitlerin ve küçük peptitlerin hamur ortamında açığa çıkararak diğer mikroorganizmaların gelişmelerini ve metabolik aktivitelerini arttırmaktadır. Aynı zamanda hamurun reolojik özellikleri ile tat ve aroma üzerine de olumlu etkiye bulunmaktadır. Ayrıca, ekmeğin bayatlamasını, küf ve bakteriyel kaynaklı bozulmaları geciktirmektedirler (Leroy ve De Vuyst, 2004; Çebi, 2009).

Ekşi hamur mayası, homofermantatif ve heterofermantatif LAB'ni ve mayaları değişen oranlarda içermektedir. Homofermantatif LAB şekerli fermente ederek laktik asit oluştururlar. Heterofermantatifler ise laktik asidin yanında önemli miktarda CO₂, asetik asit, etil alkol ve diğer uçucu bileşikler de oluşturmaktadırlar (Göçmen, 2001).

Lönnér ve Preve-Akesson (1988) yaptıkları bir çalışmada, ekşi hamur üretiminde heterofermantatif *Lactobacillus* spp.' in homofermantatif türlere göre daha yüksek asit ve daha düşük pH değerine sahip oldukları ve ekmekte daha güçlü, aromatik bir lezzet oluşturdıklarını belirlemişlerdir.

Martinez-Anaya ve Devesa (2000), beş maya ve altı LAB türünün etkileşimi ve ekmek kalitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. *S. cerevisiae* içeren ekmeklerin oldukça kaliteli olduklarını bulmuşlardır. Ayrıca *C. boidinii* ve *S. fructuum* ile *S. cerevisiae* karışımları, *Hansenula subpelliculosa* ya da *C. guilliermondii* ile *S. cerevisiae* karışımlarından daha iyi sonuçlanmıştır. Mayalarla birlikte LAB' nin bulunduğu kombinasyonlar arasında yalnızca *S. cerevisiae* ile olan karışımlar pişme yeteneğini artırmışlardır.

Nuobariene ve ark. (2015) ekşi hamur numunelerinden LAB izolasyonu ve tanımlanması için yaptıkları araştırmada LAB türlerinin, modifiye MRS agar üzerinde 30°C'de 72 saat boyunca anaerobik ortamda inkübasyonlarını gerçekleştirmişlerdir. Gelişen kolonileri modifiye MRS broth içerisinde 30°C'de 48 sa geliştirmiş ve saflaştırmışlardır. Araştırmalarının neticesinde farklı yüklerde 168 adet LAB türü tespit etmişlerdir. 8 adet LAB türü üzerinde 16S rRNA gen bölgesine ait sekans analizleri yapmışlardır. Çalışma sonucunda *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. plantarum* ve *P. pentosaceus* türlerinin baskın türler olduğunu tespit etmişlerdir.

Lhomme ve ark. (2015) ekşi hamur numunelerinden en çok izole ettikleri LAB türünün *Lb. sanfranciscensis* olduğunu, 16S rRNA gen bölgesine ait PCR analizleri yaparak tespit etmişlerdir. Benzer sonuçların tespit edildiği diğer bir çalışmada Lee ve ark. (2015) ekşi hamur örneklerinden izole ettikleri 30 adet LAB türünün önce VITEK 2 Compact ile biyokimyasal tanımlamasını gerçekleştirmişlerdir. İzole edilen LAB türlerin çoğunun *L. sanfranciscensis* türü olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, tanımlanan türlerin 16S rRNA gen bölgesine ait sekans analizlerini yaparak, identifikasyon kesinlik kazanmıştır. Araştırma sonucunda *Lb. plantarum*, *Lb. mesenteroides* ve *Lb. sanfranciscensis* LAB ve *C. humilis* ve *S. cerevisiae* maya türlerini izole etmişlerdir.

Türkiye' de yapılan bir çalışmada, Isparta bölgesindeki farklı fırınlardan toplanan 14 adet ekşi hamur numunesinden izole edilen LAB ve mayaların identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. İdentifikasyon sonucunda, *Lb. divergens*

(%6.1), *Lb. brevis* (%15.1), *Lb. amylophilus* (%6.1), *Lb. sake* (%6.1), *Lb. acetotolerans* (%6.1), *Lb. plantarum* (%3.0), *P. halophilus* (%3.0), *P. pentosaceus* (%6.1) ve *P. acidilactici* (%6.1) bakterileri ile *S. cerevisiae* (%27.0), *S. delbrueckii* (%2.7), *T. holmii* (%10.8) ve *T. unisporus* (%2.7) maya türleri olduğu tespit edilmiştir (Akgün, 2007).

Manini ve ark. çalışmalarında, buğday kepeğinden elde ettikleri ekşi hamur örneklerinden izole edilen LAB'lerin tanımlamasını yapmışlardır. LAB mikroflorasını tespit etmek için MRS broth içinde 30°C'de 24 sa LAB türlerinin gelişimini sağlamışlardır. İnkübasyon sonucunda *Lb. plantarum*, *Lb. sakei*, *Lb. curvatus*, *Lb. citreum*, *Lb. brevis*, *P. pentosaceus* ve *Lb. mesenteroides* türleri izole edilmiştir. *Lb. mesenteroides* suşları için optimal sıcaklığın ise 30°C olduğu tespit edilmiştir.

Hamad ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada süpürge darısı kullanarak elde ettikleri ekşi hamur örneklerinden Gram negatif, katalaz pozitif bakteriler ile *E. faecalis*, *Lc. lactis*, *L. fermentum* ve *Lc. reuteri* bakterilerini izole etmişlerdir.

Corsetti ve ark. (1998), ekşi hamurlarla ilgili yaptıkları bir araştırmada LAB' nin ekmeğin sertliği ve bayatlaması üzerine etkisini incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre *S. cerevisiae*, *Lb. sanfrancisco* CB1, *Lb. fructivorans* DD10, *Lb. plantarum* DC400 ve *Lb. farciminis* A80 suşlarının farklı kombinasyonlarda kullanılmasıyla LAB sayısının 4.5×10^7 - 8.1×10^7 kob/g ile maya sayısının 1×10^5 - 5.3×10^5 kob/g arasında değişti sonucunu elde etmişlerdir.

Rosenquist ve Hansen (2000), yaptıkları çalışmada çavdarlarla yapılan ekşi hamur numunelerini analiz etmişlerdir. LAB sayısının 8.43 ile 9.14 log kob/g ve maya sayısının 6.00 ile 8.04 log kob/g arasında değişim gösterdiğini, ayrıca fermantasyon süresi uzadıkça LAB sayısında artış olduğunu, maya sayısında ise düşüş gözlemlendiği ve izole ettikleri tek maya suşunun *S. cerevisiae* olduğunu belirlemişlerdir.

Hütner ve ark. (2010), yulaf ekmeğine ekşi hamur eklemiş ve bu durumda baskın olan LAB türlerinin *Leu. argentinum*, *P. pentosaceus*, *W. cibaria* ve *Lb. coryniformis* olduğunu bildirmişlerdir.

Ekşi hamur fermantasyonunun optimizasyonu üzerine Meignen ve ark. (2001) yaptıkları bir çalışmada, karışık kültür kullanarak gerçekleştirdikleri ve 30°C’de 20 saat süren fermantasyon neticesinde ortamdaki bakteri sayısının 9.3×10^8 kob/g, maya sayısının ise 5×10^6 kob/g olduğu tespit edilmiştir.

Genetik metotlar ile ekşi hamurda bulunan LAB identifikasyonu amacıyla, Corsetti ve ark. (2003) yaptıkları bir çalışmada İtalya’ nın farklı kesimlerinden 45 adet ekşi hamur örneği almışlar ve LAB izole etmişlerdir. İzole ettikleri 150 LAB suşundan 57 adedinin *Lb. sanfranciscensis*, 3 adedinin *Lb. fermentum*, 28 adedinin *Lb. brevis*, 24 adedinin *Lb. alimentarius*, 9 adedinin *Lb. farciminis*, 17 adedinin *Lb. plantarum*, 6 adedinin *Lb. fructivorans* ve 4 adedinin *W. confusa* olduğunu belirlemişlerdir.

Meroth ve ark. (2003b), ekşi hamur fermantasyonu üzerine yaptıkları bir çalışmada kullandıkları karışık starter kültürlerde *C. humilis*, *Debaryomyces hansenii*, *S. cerevisiae* ve *S. uvarum* türlerini tespit etmişlerdir. Ayrıca, *Cladasporium sp.*, *S. servazii*, *S. uvarum*, *Dekkera bruxellensis*, *Epicoccum nigrum* türlerini de tanımlamışlardır.

Ekşi hamur fermantasyonu üzerine yapılan diğer bir araştırma ise Wick ve ark. (2003), ticari kültürler kullanarak elde ettikleri hamuru 30°C’de 8 saatte bir un ve su ile tazelemişler, LAB ve mayaların hem gaz hem de asit üretimini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Gül ve ark. (2005), Isparta şehrinin 14 farklı fırınından temin ettikleri ekşi hamur numunelerinden izole edilen LAB türleri, *Lb. divergens*, *Lb. brevis* (%15.1), *Lb. amylophilus*, *Lb. sake*, *Lb. acetotolerans*, *Lb. plantarum*, *P. pentosaceus* ve *P. acidilactici* suşlarını maya olarak *S. cerevisiae*, *S. delbrueckii*, *T. holmii* ve *T. unisporus*’ dur. LAB sayısının 5.28 ile 9.66 log kob/g, maya sayısının 6.33 ile 9.96 log kob/g, toplam mezofil aerob bakteri sayısının 5.97 ile 9.57 log kob/g arasında

değiştiğini belirlemişlerdir. Ekşi hamur örneklerinin pH değerinin 3.65 ile 5.55, toplam kuru maddesinin %38.3 ile %61.3, TTA değerinin ise laktik asit cinsinden %4.0 ile 14.0 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Menteş ve ark. (2004), farklı fırınlardan topladıkları 20 adet ekşi hamur numunesinden izole ettikleri 150 adet LAB' sinde baskın türlerin *Lb. alimentarius* ve *Lb. plantarum*, en az görülen türlerin ise *Lb. amylovorus* ve *Lb. agilis* olduğunu tespit etmişlerdir.

Güney Kore'de ekşi hamurları üzerine, Aslam ve ark. (2006)' nın yaptıkları çalışmada, izole edilen LAB sayısının 9.5×10^6 ile 3.05×10^8 kob/g arasında olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen toplam LAB' leri *Lb. curvatus*, *Lb. sakei*, *Leu. argentinum*, *Leu. mesenteroides*, *P. pentosaceus* ve *W. cibaria* olarak bulunmuştur.

Vuyst ve Vancanneyt (2007), geleneksel yöntemlerle üretilen ekşi hamur örneklerinde bulunan LAB' nin identifikasyonu için PCR yöntemini kullanmışlar ve *Lb. mindensis*, *Lb. spicheri*, *Lb. rossiae*, *Lb. zymae*, *Lb. acidifarinae*, *Lb. hammesii* ve *Lb. nantensis* türlerini tanımlamışlardır.

Belçika'da geleneksel yöntemlerle üretilen ekşi hamurlarda Scheirlinck ve ark. (2007)'nin yaptıkları çalışmada yeni bir tür olan *Lb. namurensis*' i izole etmişlerdir.

Pulvirenti ve ark. (2004), ekşi hamurlardaki en dominant maya türlerinin *S. cerevisiae*, *C. milleri*, *C. humilis*, *S. exiguus* ve *Issatchenkia orientalis* olduğunu bildirmişlerdir.

Doğal yöntemlerle fermentasyonu gerçekleştirilen ekşi hamurlardan Pepe ve ark. (2004)'nın yaptığı çalışmada *Lb. plantarum* suşlarının teknolojik ve moleküler farklılıklarını araştırmışlardır. İtalya' nın güneyinden aldıkları 14 adet ekşi hamur örneğindeki LAB sayısının 6 ile 8.7 log kob/g, maya sayısının 5.2 ile 8 log kob/g arasında olduğunu bulmuşlardır.

Vernocchi ve ark. (2004), RAPD-PCR tekniği kullanarak yaptıkları bir çalışmada maya identifikasyonu için fermentasyonda etkili olan maya suşunun *C.*

milleri olduğunu ve LAB/maya oranının 1:1 çıkmasının ana hamurun üretilmesi esnasında fermentasyon sıcaklığından kaynaklanabileceğini (18°C) bildirmişlerdir. Kullanılan ekşi hamurun pH değerini 3.78 olarak bildirmişler ve laktik asit içeriğinin 3.81 g/kg, asetik asidin 2.59 g/kg, sitrik asidin 0.45 g/kg, glukozun 0.74 g/kg, fruktozun 0.19 g/kg, maltozun 2.99 g/kg olduğunu bulmuşlardır.

Randazzo ve ark. (2005), geleneksel olarak üretilen ekşi hamurlarla ilgili yaptıkları çalışmada PCR-DGGE analizini kullanmışlardır. 45 adet LAB izolatından 17 tanesinin *Lb. sanfranciscensis*, 14 tanesinin *Lb. pentosus*, 5 tanesinin *Lb. plantarum* ve 3 tanesinin *Lb. casei* olduğunu bildirmişlerdir.

Catzeddu ve ark. (2006), RAPD-PCR tekniğini kullanarak yaptıkları çalışmada 25 adet ekşi hamur örneğinde *Lb. pentosus*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. sanfranciscensis*, *W. confusa*, *Lb. alimentarius*, *Lb. casei*, *Lb. zaeae*, *P. pentosaceus*, *Lb. sakei*, *Lb. farciminis*, *Leu. citreum* suşlarını izole etmişler ve %30-60 arasında heterofermantatif LAB olduğunu bildirmişlerdir.

Corsetti ve Settanni (2007), ekşi hamurlardan izole edilen LAB' ni fenotipik ve genotipik (RAPD-PCR) yöntemlerle tanımlamış ve bu ekşi hamurlarda dominant olarak *E. faecium* ve *P. pentosaceus* türlerinin bulunduğunu söylemişlerdir.

Scheirlinck ve ark. (2008), ekşi hamur üzerine yaptıkları çalışmalarında Belçika' nın 11 farklı fırınından topladıkları 39 adet ekşi hamur örneğinde LAB sayısının 10^7 ile 10^9 kob/g, maya sayısının 10^2 ile 10^7 kob/g arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. PCR tekniğiyle yaptıkları identifikasyonda ise Tip 1 ekşi hamurlarında ortamdaki dominant LAB türlerinin *Lb. plantarum*, *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. paralimentarius*, *Lb. pontis* olduğunu bildirmişlerdir. Ekşi hamur örneklerinin pH değerinin 3.5 ile 4.78 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Ekşi hamur örneklerinde tespit edilen en yüksek maltoz değeri 34.44 g/kg, glikoz değeri 9.14 g/kg, fruktoz değeri 2.66 g/kg, sakkaroz değeri 1.09 g/kg, laktik asit değeri 13.71 g/kg, asetik asit değeri 1.74 g/kg ve etanol miktarı 24.38 g/kg'dır.

Minervini ve ark. (2011), yaptıkları araştırmalarında farklı fırınlardan topladıkları 19 adet ekşi hamur örneğinden RAPD-PCR yöntemiyle *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. paralimentarius*, *Leu. mesenteroides subsp. mesentoridies*, *Lb. sakei*, *P. pentosaceus*, *Lb. gallinarum*, *Lc. lactis subsp. lactis*, *Lb. brevis*, *P. inopinatus*, *P. argentinus*, *Lb. rossie*, *W. paramesenteroides*, *W. cibaria*, *W. confusa*, *Leu. citreum*, *Lb. spicheri*, *Lb. namurensis* ve *E. durans* olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, maya olarak da *S. cerevisiae*, *C. humilis*, *Kazachstania barnettii* ve *Kazachstania exigua* türlerini tanımlamışlardır. *S. cerevisiae* ise en baskın maya türü olarak belirlenmiştir.

Vrancken ve ark. (2011), laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamurunun mikroflorası üzerine yaptıkları bir araştırmada *Lb. fermentum* ve *Lb. plantarum* türlerini en dominant tür olarak tanımlamışlardır. LAB sayısının 8-9 log kob/g, maya sayısının ise 8 log kob/g oranında olduğunu bildirmişlerdir. pH değerinin ise 3.3 ile 3.7 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Paramithiotis ve ark (2007), geleneksel yöntemlerle üretilen ekşi hamurlardan izole ettikleri LAB üzerine yaptıkları bir araştırmada glikozun, *Lb. sanfranciscensis*' te fruktoz ve maltoz kullanımını etkilemediğini ancak *W. cibaria*, *Lb. paralimentarius* ve *P. pentosaceus*' da fruktoz ve maltoz kullanımını baskıladığını tespit etmişlerdir.

Şimşek ve ark. (2006), ekşi hamurlar üzerine yaptıkları bir çalışmada, Uşak ve çevresinden topladıkları ekşi hamur örneklerinin pH değerinin 3.5 ile 3.94, TTA içeriğinin 7.6 ile 19.3 mL 0.1 N NaOH ve kuru madde miktarının ise %43 ile %56 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Gündüz (2018), ekşi hamur fermentasyonu üzerine yaptığı bir çalışmada farklı yerlerden iki farklı zamanda 8 adet ekşi hamur örneği toplamış ve örneklerin kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini araştırmıştır. Ekşi hamur örneklerinin pH değerleri 3.71 ile 3.96 ve TTA değerleri ise 6.78 ile 23.93 mL 0.1 N NaOH/10 g hamur arasında tespit edilmiştir. Ekşi hamurlardan LAB ve mayaları izole ederek moleküler yöntemlerle identifikasyon gerçekleştirmiştir. En sık izole edilen LAB

türleri *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. plantarum* ve *Lb. paralimentarious*' dur. En sık izole edilen maya ise *S. cerevisiae* bulunmuştur.

Bakırcı ve Köse (2017), ekşi hamurlardan LAB ve mayaların izolasyonu ve tanımlaması üzerine yaptıkları bir araştırmada, 8 farklı LAB türü ve 4 farklı maya türü izole etmişlerdir. LAB türleri *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. plantarum*, *Lb. paralimentarious*, *Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. brevis*, *P. pentosaceus*, *Leu. mesenteroides*' dir. Maya türleri ise *C.humulis*, *T. delbrueckii*, *Debaryomyces hansenii* ve *S. cerevisiae*' dir.

Köksalan ve ark. (2015), ekşi hamurla ilgili yaptıkları çalışmada, Kahramanmaraş ilinde toplanan 10 farklı ekşi hamur örneğinden moleküler tanımlama ile 40 tane *Lb. plantarum* türü izole etmişlerdir. Elde edilen izolatlara PCR' da moleküler tanımlama yapılmıştır.

Yağmur (2016), ekşi hamur fermantasyonu üzerine yaptığı bir çalışmada, 8 farklı işletmeden alınan ve kontrol olarak üretilen ekşi hamur örneklerinde LAB ve maya izole etmiş ve moleküler tanımlamasını gerçekleştirmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ekşi hamur örneklerinde 18 adet LAB ve 5 adet maya türü belirlenmiştir. En fazla sayıda izole edilen LAB' leri *Lb. plantarum*, *Lb. sanfranciscensis*, *P. pentosaceus* ve *Leu. mesenteroides*' dir. En fazla izole edilen maya türü ise *S. cerevisiae* olarak belirlenmiştir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada 3 farklı yöreden, Gaziantep’ te Çarşıbaşı Ekmek Fırını’ ndan 1 adet, Trabzon’ da Fettahoğlu Ekmek Fırını’ ndan 1 adet, Hatay’ da Şen Ortaklar Fırını’ ndan 1 adet, ekşi hamur örneği iki farklı zamanda aseptik koşullar altında alınarak steril poşet ve şişelere konulmuş ve 24 saat içinde Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Endüstriyel Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvarda üretilen ekşi hamurda buğday unu, su, tuz ve yaş maya kullanılmıştır. Üretilen ekşi hamurlarda kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Tüm analizler iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.1. Fırınlardan alınan ekşi hamur örneklerinin cinsi, yeri ve tarihi

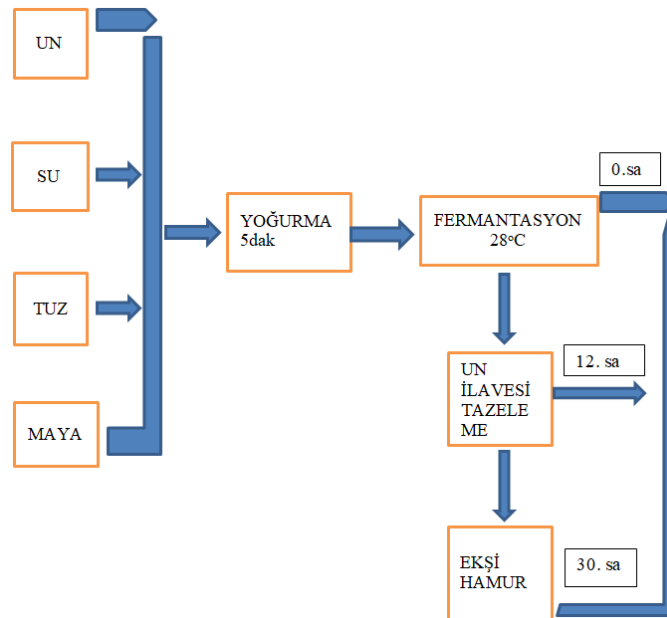
ŞEHİR	ÖRNEĞİN CİNSİ	FİRİN İSMİ	1.ALINAN ÖRNEK TARİHİ	2.ALINAN ÖRNEK TARİHİ
HATAY	EKŞİ HAMUR	ŞEN ORTAKLAR FİRİNİ	15.12.2016	13.02.2017
GAZİANTEP	EKŞİ HAMUR	ÇARŞIBAŞI FİRİNİ	26.01.2017	19.02.2017
TRABZON	EKŞİ HAMUR	FETTAHOĞLU EKMEK FİRİNİ	05.02.2017	05.03.2017

- **H1** : ŞENORTAKLAR FİRİNİ (15.12.2016 da alınan)
- **A1** : ÇARŞIBAŞI FİRİNİ (26.01.2017 de alınan)
- **T1** : FETTAHOĞLU FİRİNLARI (05.02.2017 de alınan)
- **H2** : ŞENORTAKLAR FİRİNİ (13.02.2017 da alınan)
- **A2** : ÇARŞIBAŞI FİRİNİ (19.02.2017 de alınan)
- **T2** : FETTAHOĞLU FİRİNLARI (05.03.2017 de alınan)

3.2. Metot

3.2.1. Laboratuvar Koşullarında Ekşi Hamur Üretimi ve Yapılan Analizler

Laboratuvar koşullarında ekşi hamur üretiminde 1.5 kg tam öğütülmüş buğday unu, 900 mL saf su, 22.5 gr tuz, 15 gr maya yoğrulmuş ve 28°C’ de fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyonun 12. saatinde hamura tazeleme yapılmak için 200 gr un ilave edilerek 1 dakika yoğrulmuştur. Hamur yoğrulduktan sonra 28°C de fermentasyona tekrar bırakılmıştır. Fermentasyon süresi 30 saat olarak belirlenmiştir. Fermentasyon süresince 0-6-12-24-30 saatlerinde örnek alınmış ve bu örneklerde toplam titrasyon asitliği (TTA), pH, kuru madde analizleri yapılmıştır. 0. ve 30. saatlerden alınan örneklerden laktik asit bakterisi, toplam mezofil aerob bakteri, maya, küf, koliform bakteri, *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayımı yapılmıştır. Bunlar arasında farklı görünüme sahip maya ve laktik asit bakteri kolonileri izole edilmiştir. Ayrıca, bu örnekler üzerinde karbonhidrat ve organik asit analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.1. Laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur

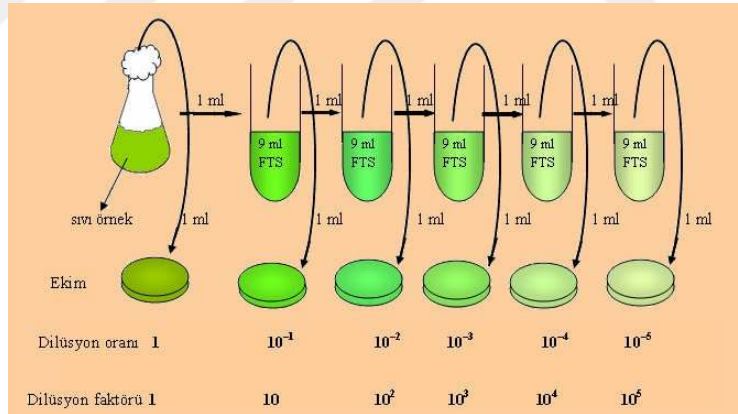
3.2.2. Fırınlardan Alınan Ekşi Hamur Örneklerinde Yapılan Analizler

Üç farklı yörelerdeki fırınlardan toplanan ekşi hamur örneklerinde pH, kuru madde, titrasyon asitliği analizleri (TTA) ile maya, küf, LAB, toplam mezofil aerob, koliform bakteri ve *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayımları yapılmış, farklı olan koloniler izole edilmiştir.

3.2.3. Ekşi Hamur Örneklerinde Mikrofloranın Belirlenmesi

3.2.3.1. LAB'nin İzolasyonu

Mikroorganizmaların izolasyonu materyal olarak kullanılan ekşi hamur numunelerinden yapılmıştır. Mikroflorayı belirlemek için %0.85 NaCl çözeltisi içeren 90 mL steril su ile 10 gr ekşi hamur numunesi BagMixer (Interscience, model 400 P, France) yardımıyla 3 dak boyunca homojenize edilmiştir. Hazırlanan karışımdan 1mL örnek alınarak 9mL %0.85 NaCl solüsyonlarına ardışık olarak 1/10' luk seyreltme yapılmıştır.



Şekil 3.2. Seyreltme İşlemi

Çizelge 3.2. Ekşi hamurlardaki mikroorganizma sayımı için kullanılan ortam ve özellikleri

ÖRNEKLER	MİKROORGANİZMA GRUPLARI	KULLANILAN ORTAMLAR	İNKÜBASYON SICAKLIKLARI VE SÜRELERİ
EKŞİ HAMUR	LAB	MRS agar	30°C ,48-72 saat, anaerobik ortam
	LAB	M17 agar	30°C ,48-72 saat, anaerobik ortam
	LAB	SDB agar	30°C ,48-72 saat, anaerobik ortam
	Maya	YPD agar	28°C, 48-72 saat
	<i>Saccharomyces</i> spp. olmayan maya	L-lysine agar	28°C, 48-72 saat
	Koliform Bakteri	VRB agar	35-37 °C, 18-24 saat
	Toplam Mezofil Aerob Bakteri	PCA	30°C, 72 saat

LAB izolasyonunda seyreltilmiş örneklerden 0.1 mL alınmış, maya gelişimini önlemek için 50 µg/L sikloheksimit (0.1 g/L, Sigma) ilave edilmiş ve de Man Rogosa Sharpe (MRS) (Merck) ve M17 agar (Merck) üzerine yayılmıştır. Ayrıca ekşi hamur örnekleri mikrobiyel özellikler açısından sourdough bacteria agar (SDB) üzerine de yayılmıştır (Obis ve ark., 2001; Valmorri ve ark., 2006; Settanni ve ark., 2011). SDB agar %0.3 maya ekstratı, %10 Fresh yeast extract (FYE), %0,03 Tween 80, %1,5 agar, % 2 maltoz ve %0.6 kazein içerir (Kline ve Sugihara, 1971). Anaerobik koşullarda 30°C de 3 gün inkübe edildikten sonra 2 kere saflaştırma yapılmıştır. Farklı morfolojik görünüme sahip koloniler izole edilmiştir. İzole edilen koloniler saf kültürler elde edilene kadar saflaştırılmıştır. Saf kültürler %40 steril gliserol çözeltisi içeren sıvı besiyeri ortamına aktarılmıştır ve -20 °C de saklanmıştır.

3.2.3.2. Mayaların İzolasyonu

Mayaların izolasyonunda seyreltilmiş örneklerden 0.1 mL alınmış, bakteri ve küf oluşumunu önlemek için oksitetrasiklin (0.1 g/L) ve sodyum propiyonat (2 g/L) eklenmiştir. Yeast Extract Peptone dextrose (YPD) agar üzerine yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Sonra mayalar 28 °C 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Farklı morfolojik görünüme sahip koloniler izole edilmiştir. Saf kültürler %40 steril gliserol çözeltisi içeren sıvı besiyeri ortamına aktarılmıştır ve -20 °C de saklanmıştır.

3.2.4. Ekşi Hamurda Yapılan Analizler

Ekşi hamur örneklerinde pH, toplam titrasyon asitliği (TTA), kuru madde, karbonhidrat, organik asit ile LAB ve maya sayımı, katalaz testi, Gram boyama gibi mikrobiyolojik ve kimyasal analizler yapılmıştır.

3.2.4.1. pH Tayini

Numunelerin pH ölçümü standart çözeltiler ile kalibre edilmiş cam pH metre ile yapılmıştır. Ölçüm için 10 g numune ile 90 mL saf su karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Karıştırıldıktan sonra pH metre karışımın içine batırılarak pH ölçümü yapılmıştır (Paramithiotis ve ark., 2006).

3.2.4.2. Toplam Titrasyon Asitliği Tayini

Numunelerin toplam titrasyon asitliği 10gr numune ile 90 mL saf suyun manyetik plaka karıştırıcısı yardımı ile karıştırılıp homojenize edildikten sonra pH 8.5 olana kadar 0.1N NaOH ile titre edilmesiyle bulunmuştur. TTA değeri ml NaOH olarak ifade edilmiştir (Paramithiotis ve ark., 2006).

3.2.4.3. Kuru Madde Tayini

Numunelerde kuru madde tayini, ekşi hamur örneğinin etüvde 105 -106°C' de sabit ağırlığına ulaşınca kadar kurutularak tespit edilmiştir (Gül, 1999).

% Kuru Madde= Örnek Ağırlığı-Kuru Madde Ağırlığı/Örnek Ağırlığı X 100



Şekil 3.3. Etüvde ekşi hamur örneklerinin kurutulması

3.2.4.4. Şeker ve Organik Asit Tayini

Şekerlerin (maltoz, sakkaroz, glikoz, fruktoz) ve organik asitlerin (laktik asit ve asetik asit) Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Bu analizler için kromatografi koşulları Çizelge 3.3 de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Şeker ve organik asit tayini için HPLC koşulları

Mobil Faz	Sülfirik asit
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
Akış Hızı	0.5 mL/dak
Elüsyon Süresi	15 dak
Dalga Boyu	210 nm
Kolon	CTO-10 AS 300*7.8mm
Kolon Sıcaklığı	50°C
Index Dedektör	RID-10A
UV/Vis Dedektör	SPD-20A



Şekil 3.4. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

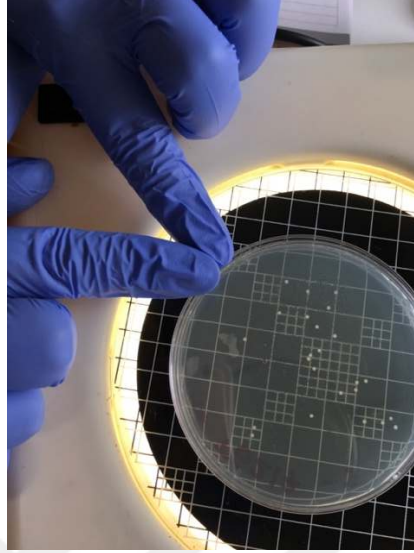
Standart çözeltiler HPLC kalite standartlarından ayrı ayrı olarak hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden uygun seyreltmeler yapılarak bir seri standart çözelti hazırlanmış ve yedi noktada standart eğriler oluşturulmuştur. Aynı kromatografik koşullar altında HPLC' ye enjekte edilmiştir. Maltoz, glikoz, fruktoz, sakkaroz ve organik asitler için Algılama Sınırı (LOD) ve Kantitatif Ölçme Sınırı (LOQ) değerleri ve geri kazanım belirlenmiştir. Bu değerler ile kalibrasyon eğrisi çizilmiştir.

Ekşi hamur numunelerinin ekstraksiyonunda ise 10 g örnek 90 mL fosfat tamponu ile 15 dak oda sıcaklığında karıştırıcı yardımıyla karıştırılmıştır. Sonra karışım 12,000 rpm, 10 dak, 4°C de santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen karışımın üst fazından 1mL tüplere alındıktan sonra 50 µl perklorik asit ilavesi yapılarak 24 sa 4°C de bekletilmiştir. Süpernatantlar 12,000 rpm, 60 dak, 4°C santrifüj edilerek protein topaklanması ortadan kaldırılarak 0.45 µm PVDF Syringe Filtre (Isolab) yardımı ile üst faz alınarak HPLC cihazına enjekte edilmiştir (Gündüz, 2018).

3.2.4.5. Mikrobiyolojik Analizler**3.2.4.5.(1). LAB ve Maya Sayılarının Belirlenmesi**

LAB sayılarını belirlemek için % 0.85 NaCl çözeltisi içeren 90 mL steril su ile 10 gr ekşi hamur numunesi BagMixer (Interscience, model 400 P, France) yardımıyla 3 dak boyunca homojenize edilmiştir. Hazırlanan karışımdan 1mL örnek alınarak 9mL % 0.85 NaCl solüsyonlarına ardışık 1/10' luk seyreltme işlemi uygulanmıştır. Seyreltilmiş örneklerden 0.1 mL alınmış, maya gelişimini önlemek için 50 µg/L sikloheksimit (0.1 g/L, Sigma) ilave edilmiş Man Rogosa Sharpe (MRS)(Merck) ve M17 agar üzerine yayılmıştır. Ayrıca ekşi hamur örnekleri mikrobiyel özellikler açısından sourdough bacteria agar (SDB) üzerine de yayılmıştır (Obis ve ark., 2001; Valmorri ve ark., 2006; Settanni ve ark., 2011). Anaerobik koşullarda 30°C de 3 gün inkübe edildikten sonra 2 kere saflaştırma yapılmıştır. Farklı morfolojik görünüşe sahip koloniler izole edilmiştir. İnkübasyonu takiben gelişme görülen ve sayım aralığındaki besiyerlerinde toplam LAB sayısı hesaplanmıştır.

Mayaların izolasyonunda seyreltilmiş örneklerden 0.1 mL alınmış, bakteri ve küf oluşumunu önlemek için oksitetrasiklin (0.1 g/L) ve sodyum propiyonat (2 g/L) eklenmiş ve Yeast Extract Peptone dextrose (YPD) agar üzerine yayma yöntemi ile yayılmıştır. Daha sonra mayalar, 28 °C' de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. *Saccharomyces* spp. olmayan mayaları tespit etmek için örnekler L-lysine agar üzerine yayılmıştır. Farklı morfolojik görünüşe sahip koloniler izole edilmiştir. İnkübasyonu takiben gelişme görülen ve sayım aralığındaki besiyerlerinde toplam maya sayısı hesaplanmıştır (Halkman, 2005).



Şekil 3.5. Petri kutularından lab sayımı

3.2.4.5.(2). Toplam Mezofil Aerob ve Koliform Bakteri Sayısının Belirlenmesi

Toplam mezofil bakteri sayımı için seyreltilmiş örnekler, maya ve küf gelişimini önlemek için 0.1 g/ L sikloheksimit ve 2g/ L sodyum propiyonat ilave edilmiş Plate Count Agar üzerine ekilmiştir. Plakalar 30 °C 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra oluşan koloniler sayılarak sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

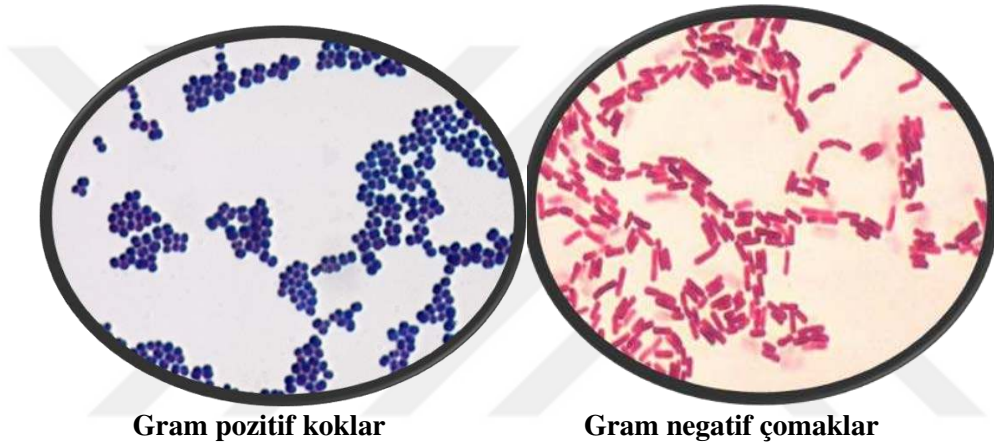
Koliform bakteri sayımı için seyreltilmiş örnekler Violet Red Bile Agar (VRBA) besiyerine ekilmiştir. Plakalar 37 °C 18-24 sa inkübasyona bırakılmıştır. Oluşan koloniler sayılarak sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir.

3.2.4.5.(3). Gram Boyama

Gram boyama LAB identifikasyonu için yapılmıştır. Bakterileri hücre duvarlarının kimyasal ve fiziksel özelliklerine göre iki büyük gruba ayırmak için kullanılan yöntemdir. Gram boyama için lamın ortasına 1 damla su konulduktan sonra lamın üzerine öze yardımıyla bakteri yayılır ve havada kurumaya bırakılır. Bek alevinden geçirilerek fiziksel tespit edilir. Preparasyonun üzerine kristal viyole çözeltisi konulur ve 1 dakika bekletilir. Hafif akan su ile yıkanır. Sonra Lugol iyot

çözeltisi ile 1 dakika muamele edilir. Hafif akan su ile yıkanır. Sonra %96'lık etil alkolle deklöre edilir ve mor boya akmayıncaya kadar devam eder ve tekrar su ile yıkanır. Daha sonra safranin ile 30 saniye boyanır ve tekrar su ile yıkanır. Lamlar kurutma kâğıdı ile kurulanır, immersiyon objektifinde bakılır. Gram pozitif bakteriler mavi- mor ve Gram negatif bakteriler ise kırmızı boyanırlar.

Saf kültürler halinde olan bakteri suşlarına Gram boyama yapılmıştır. Gram pozitif olan bakteriler potansiyel LAB olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3.6. Gram pozitif ve Gram negatif bakteri görünümleri

3.2.4.5.(4). Katalaz Testi

Katalaz testi için 37°C 24 saatlik bakteri kültürü kullanılmıştır. LAB ayırt etmek için bu test uygulanmıştır. Katalaz enzimi Hidrojen peroksiti (H_2O_2) parçalayan bir enzimdir. Hidrojen peroksitin %30' luk çözeltisinden bir damla üreme oluşan yüzeye damlatılır ve gaz kabarcıkları oluşup oluşmadığı kontrol edilir. Gaz kabarcıklarının oluşması halinde reaksiyon pozitif, oluşmaması halinde negatif olduğunu belirtir (Çetin 1968).

3.2.4.6. İstatiksel Analizler

Kimyasal ve mikrobiyel analiz verileri, IBM SPSS 20 software programında tek tönü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiş, veri

ortalamaları $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde Tukey Çoklu karşılaştırma testine tabi tutulmuştur (Scheirlinck ve ark., 2007).

3.2.5. LAB ve Mayaların Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması

3.2.5.1. LAB ve Mayalarda DNA İzolasyonu

LAB 'nin izolatları RAPD-PCR analizleri ve 16S rRNA genlerinin dizi analizi ile genotipik karakterizasyona tabi tutulmuştur. DNA izolasyonu için -20°C de muhafaza ettiğimiz LAB kültürlerini tekrar aktif hale getirmek için, bakteriler MRS broth içerisine ekim yapılmış, 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bakteriler inkübe edildikten sonra yeni bir tüpe aktararak 13,300 rpm de 3 dak santrifüj (Thermo Scientific MicroCL 17, Germany) edilmiştir. Santrifüj sonrası tüplerde üst kısımda kalan süpernatantı peletlere zarar vermeden atılmıştır. Peletlerin üzerine steril ultra saf su eklenmiş ve vorteks ile 10 saniye karıştırılmıştır. Bu işlem 3 kez gerçekleştirilmiştir ve tekrar 3 dak santrifüj edilmiştir ve üst faz atılmıştır. Sonra tüplere 150-200 μL InstaGene maxrix kiti eklenerek 10 saniye vorteksle karıştırılmıştır. Karıştırıldıktan sonra 56°C 30 dak sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Çıkarılan tüpler 10 saniye vorteks ile karıştırıldıktan sonra 100°C de 8 dak bekletilmiştir. Daha sonra tüpler karıştırılır ve 13.300 rpm 3 dak santrifüjde bekletilerek üst faz yeni bir eppendorf tüplerine aktararak kullanılabilecek kadar -20°C 'de saklanmıştır.

Maya izolatları, Restriction Fragment Length Polymorphis (RFLP) analizi ve 5.8S rRNA geninin ITS bölgesi amplifikasyonu ile genotipik karakterizasyonuna tabi tutulmuştur. Tanımlama amacıyla 26S rRNA gen bölgesi sekanslanmıştır. Mayaların DNA izolasyonunda ise, -20°C de muhafaza ettiğimiz kültürleri tekrar aktif hale getirmek için, mayalar YPD broth içerisine ekim yapılmış, 28°C 24- 36 saat inkübasyona bırakılmıştır. Mayalar inkübe edildikten sonra yeni bir tüpe aktararak 13,300 rpm 3 dak santrifüj (Thermo Scientific MicroCL 17, Germany) edilmiştir. Santrifüj sonrası tüplerde üst kısımda kalan süpernatantı peletlere zarar vermeden atılmıştır. Peletlerin üzerine steril ultra saf su eklenmiş ve vorteks ile 10 saniye karıştırılmıştır. Bu işlem 3 kez gerçekleştirilmiştir ve tekrar 3 dak santrifüj edilmiş ve üst faz atılmıştır. Sonra

tüplere 150-200 µL InstaGene maxrix kiti eklenerek 10 saniye vorteksle karıştırılmıştır. Karıştırıldıktan sonra 56 °C 30 dak sıcak su banyosunda bekletilmiştir. Çıkarılan tüpler 10 saniye vorteks ile karıştırıldıktan sonra 100 °C’ de 8 dak bekletilmiştir. Daha sonra tüpler karıştırılır ve 13.300 rpm 3 dak santrifüjde bekletilerek üst faz yeni bir eppendorf tüplerine aktarılaraq kullanılabilecek kadar -20 °C ‘de saklanmıştır.



Şekil 3.7. Ekşi hamurlardan izole edilen LAB ve mayaların eppendorf tüplerine aktarılaraq saklanması

3.2.5.2. Randomly Amplified Polymorphic DNA-Polymerase Chain Reaction (RAPD- PCR) ve 16S rRNA Gen analizlerinde LAB için Moleküler Tanımlama

LAB izolatları 16S rRNA’ nın kısmi sekanslama yöntemiyle bazı spesifik genleri hedef alan PCR tarafından moleküler identifikasyonu gerçekleştirilmiştir. PCR analizinde M13 primeri kullanılarak 25-µL reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. M13 primerinin DNA dizilimi 5'- GAGGGTGGCGGT TCT-3' şeklinde sıralanmıştır (Stenlid et al., 1994; Settanni et al., 2012). PCR karışımının içerikleri Çizelge 3.4. de verilmiştir (De Angelis ve ark., 2006).

Çizelge 3.4. RAPD-PCR analizlerinde reaksiyon karışımı

DNA	1.25 µL
Dream Taq Buffer	2 µL
dNTP	2 µL
MgCl₂	1 µL
M13 primeri	0.2 µL
Dream Taq DNApolimeraz	0.2 µL
Steril distile su	17.85 µL

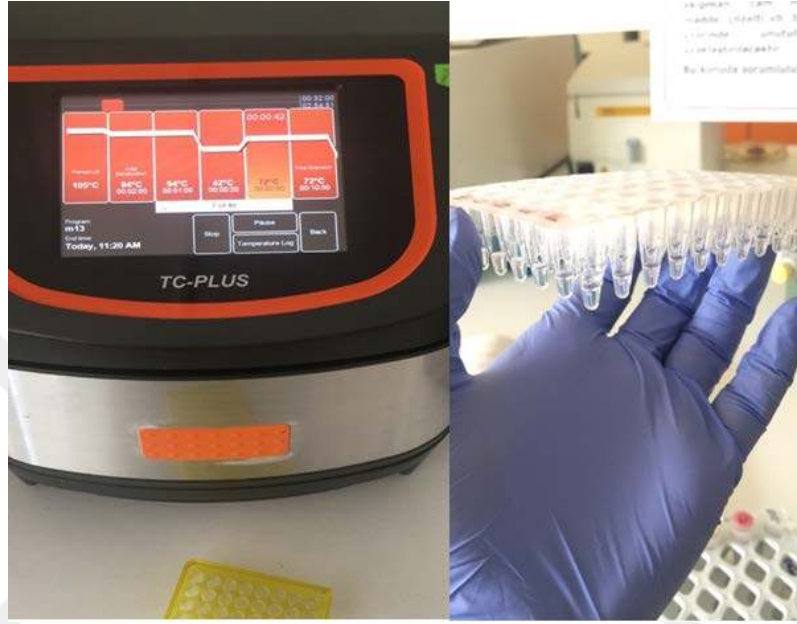
DNA izolatlarının konsantrasyonunu belirlemek için Qubit 3.0 Fluorometer cihazı kullanılmıştır.



Şekil 3.8. Qubit 3.0 cihazı

Techne TC-Plus M13 primeri ile DNA amplifikasyonları için PCR döngüsü 94°C’ de 2 dak denatürasyon aşaması ile başlayarak, 94°C’de 1 dak, 42°C’ de 20 saniye, 72°C’de 2 dak toplam 40 döngü yaparak ve 72°C’de 10 dak

son uzatma ile sonuçlandırılmıştır. Bütün PCR denemeleri Eppendorf Mastercycler Gradient' te gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.9. Techno TC-PLUS PCR döngüsü ve eppendorf tüpleri

LAB' nin tanımlanmasında RAPD-PCR ürünlerinin ayrılması için %1.5 (w/v) agaroz jel içeren elektroforez kullanılmıştır. Agaroz jel, 5X TBE (54 g/L Trisma base, 27.5 g/L Borik asit, 7.44 g/L EDTA(Titriplex))' den seyreltilmiş 1xTBE' den hazırlanmıştır. Jel için 200 mL 1XTBE içine %2 Agaroz eklenerek karıştırılır ve 4 dak 700w de mikrodalga fırın kullanılarak çözülür. Hazırlanan jel 60°C' ye kadar soğutulduktan sonra 5 µL Syber Safe boyası eklenerek eşit bir şekilde karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımın donması için plakalara boşaltılmış ve taraklar yerleştirilmiştir. Jel donduktan sonra dikkatli bir şekilde tanka yerleştirilmiş, jelin yüzeyini kaplayacak şekilde TBE eklenmiş ve taraklar çıkartılmıştır. Taraklar çıkartılınca oluşan boşluklara 10 µL PCR ürünü ile 2 µL DNA loading dye (6x LD) karıştırılarak mikropipet yardımıyla yüklenmiştir. İlk ve son kutucuğa oluşacak bantların boyutunun belirlenmesi için marker olarak 1 kb

DNA ladders (Thermo Scientific) eklenmiştir. Elektroforez 120 volt(V)' da 500mA ve 100 dak olarak yapılmıştır. Daha sonra jel, jel görüntüleme cihazına yerleştirilerek Vilber Lourmat Infinity VX2 programıyla görüntüsü kaydedilmiştir.



Şekil 3.10. Jel görüntüleme cihazı

16S rRNA gen dizilimi kullanılarak, RAPD-PCR sonucu tespit edilen farklı LAB' nin moleküler tanımlanması gerçekleştirilmiştir. PCR amplifikasyonu fD1 ve rD1 primerleri kullanılarak yapılmıştır. fD1 primerinin gen dizilimi (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTC AG-3') ve rD1 primerinin gen dizilimi (5'-AAGGAGGTGATCCAG CC-3') şeklindedir. PCR analizinde fD1 ve rD1 primerleri kullanılarak 55 µL karışım hazırlanmıştır. Hazırlanan PCR karışımı Çizelge 3.5. de verilmiştir.

Çizelge 3.5. 16S rRNA analizi için hazırlanan PCR karışımı

DNA	5 µL
Dream Taq Buffer	6µL
dNTP	5 µL
MgCl₂	1.2 µL
fD1 primeri	0.08 µL
rD1 primeri	0.08 µL
Dream Taq DNAPolimeraz	0.5 µL
Steril distile su	42.14 µL

Techne TC-Plus fD1 ve rD1 primerleri ile DNA amplifikasyonları için PCR döngüsü 95°C’ de 3 dak denatürasyon aşaması ile başlayarak, 94°C’de 1 dak, 54°C’ de 45 saniye, 72°C’de 2 dak toplam 30 döngü yaparak ve 72°C’de 7 dak son uzatma ile sonuçlandırılmıştır. Bütün PCR denemeleri Eppendorf Mastercycler Gradient’ te gerçekleştirilmiştir.

PCR ürünlerinin ayrılması için %1.5 agaroz jel ile Syber safe DNA jel boyası içeren elektroforez kullanılmıştır. Elektroforez 120V 500mA 100 dak’ da yapılmıştır. Daha sonra jel, jel görüntüleme cihazına yerleştirilerek Vilber Lourmat Infinity VX2 programıyla görüntüsü kaydedilmiştir.

Sekans analizi için PCR ürünleri uygun koşullarda Ankara’ da BM Laboratuvar Sistemleri’ ne gönderilmiştir. Gelen sonuçlar Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. BLAST programı ile elde edilen diziler Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) veritabanında biriktirilen nükleotid dizileriyle karşılaştırılmıştır (Altschul ve ark., 1997). Türlerin kimliği karşılaştırma sonucu %98 lik benzerlik ile değerlendirilmiştir.

3.2.5.3. Mayalar için Moleküler Tanımlama

5.8S rRNA ITS primerleri kullanılarak, ilk aşamada PCR' da ITS gen bölgelerinin çoğaltılmasıyla mayalarda moleküler tanımlama gerçekleştirilmiştir. Bunun için ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılmıştır. ITS1 DNA dizilimi (5'- TCC GTA GGT GAA CCT GC GG – 3') v ITS4 DNA dizilimi (5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC– 3') şeklindedir. ITS bölge amplifikasyonu için hazırlanan PCR karışımı 50 µL dir. Hazırlanan PCR karışımı Çizelge 3.6. da verilmiştir (Esteve-Zarzoso ve ark., 1999).

Çizelge 3.6. ITS bölge amplifikasyonu için hazırlanan PCR karışımı

DNA	2.5 µL
Dream Taq Buffer	5 µL
dNTP	5 µL
MgCl₂	2.5 µL
ITS1 primeri	0.126 µL
ITS4 primeri	0.126 µL
Dream Taq DNApolimeraz	0.15 µL
Steril distile su	34.598 µL

Techne TC-Plus cihazında ITS1 ve ITS4 primerleri ile DNA amplifikasyonları için PCR döngüsü 95°C' de 5 dak denatürasyon aşaması ile başlayarak, 94°C'de 1 dak, 55°C' de 2 dak, 72°C'de 2 dak 35 döngü yaparak ve 72°C'de 10 dak son uzatma ile sonuçlandırılmıştır. Bütün PCR denemeleri Eppendorf Mastercycler Gradient' te gerçekleştirilmiştir.

PCR ürünlerinin ayrılması için %1.5 agaroz jel kullanılmıştır. 3 g agaroz 200 mL 1XTBE ile karıştırılarak mikrodalgada ısıtılmıştır sonra içerisine Syber safe DNA jel boyası eklenmiştir. Standart olarak jeldeki ilk ve son kutucuğa 100bp ladder marker konulmuştur (Settanni ve ark., 2011). Diğer kutucuklara 10 µL PCR

ürünü ve 6X Loading dye konulmuştur. Elektroforez 120V 500mA 80 dak' da yapılmıştır. Daha sonra jel, jel görüntüleme cihazına yerleştirilerek Vilber Lourmat Infinity VX2 programıyla görüntüsü kaydedilmiştir.



Şekil 3.11. Techno TC-PLUS 5.8S rRNA PCR döngüsü

İkinci aşamada ise restriksiyon enzimleriyle (RFLP-PCR) analizi yapılmıştır. Çoğaltılan DNA, restriksiyon enzimleriyle kesilmiştir.

Bu enzimler;

- *Hae III*,
- *Hha I*,
- *Hinf I* dir.

Bu nedenle ayrı olarak 3 farklı endonükleaz enzim karışımı hazırlanarak kesilme sağlanmıştır. 3 farklı karışım şu şekildedir;

1. *Hae III* karışımı

- Steril distile su -11.5 µL
- Buffer R -2.5 µL
- Enzim *Hae III* -1 µL
- PCR ürünü - 10 µL

2. *Hha I* karışımı

- Steril distile su -11.5 µL
- Buffer Tango -2.5 µL
- Enzim *HhaI* -1 µL
- PCR ürünü -10 µL

3. *Hinf I* karışımı

- Steril distile su -11.5 µL
- Buffer R -2.5 µL
- Enzim *Hinf I* -1 µL
- PCR ürünü -10 µL

Karışımlar toplam 25 µL olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan karışımlar karıştırıcı yardımıyla homojenize edilmiştir. Daha sonra 37°C 10-16 saat sıcak su banyosuna bırakılmıştır.

Sıcak su banyosundan çıkarılan RFLP ürünlerinin elektroforezi için %2 agaroz jel kullanılmıştır. Hazırlanan jelin ilk kutucuğuna 5 µL 50 bp DNA marker (Thermo Scientific) konulmuştur (Settanni et al., 2011). Diğer kutucuklara 10 µL RFLP ürünü ve 2 µL 6x Loading dye karıştırılarak eklenmiştir. Elektroforez 130 V ,500 mA ve 100 dak' da koşturulmuştur. Daha sonra jel, jel görüntüleme cihazına yerleştirilerek Vilber Lourmat Infinity VX2 programıyla görüntüsü kaydedilmiştir. Farklı enzimlerin kesimi sonucu maya izolatlarını ayırt etmek için, benzer bantlar aynı gruba toplanmış, her gruptan 1 veya 2 örnek alınarak 26S rRNA geninin D1/D2 bölgesi sekanslanmıştır.

26S rRNA' nın D1 ve D2 bölgesinin amplifikasyonu için NL1 ve NL4 primerleri kullanılmıştır. NL1 DNA dizilimi (5'-GCA TAT CAATAAGCGGAGGAA AAG-3') ve NL4 DNA dizilimi (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACG G-3') şeklindedir. 26S rRNA gen sekans analizinde PCR mixi 50 µL olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım Çizelge 3.7. de verilmiştir.

Çizelge 3.7. 26S rRNA gen sekans analizi için hazırlanan PCR karışımı

DNA	5 µL
Dream Taq Buffer	6 µL
dNTP	0.5 µL
MgCl₂	2.5 µL
NL1 primeri	0.1 µL
NL4 primeri	0.1 µL
Dream Taq DNApolimeraz	0.5 µL
Steril distile su	36.3 µL

Techne TC-Plus cihazında NL1 ve NL4 primerleri ile DNA amplifikasyonları için PCR döngüsü 95°C' de 5 dak denatürasyon aşaması ile başlayarak, 94°C' de 1 dak, 52°C' de 45saniye, 72°C' de 1 dak 30 döngü yaparak ve 72°C' de 7 dak son uzatma ile sonuçlandırılmıştır. Bütün PCR denemeleri Eppendorf Mastercycler Gradient' te gerçekleştirilmiştir. PCR ürünlerinin elektroforezi için %1.5 agaroz jel kullanılmıştır. Syber Safe içeren agaroz jelin ilk kutucuğuna 100 bp DNA marker (Thermo Scientific) diğerlerine PCR ürünü ile boya karıştırılarak eklenmiştir. Elektroforez 120 V, 500mA ve 120 dak koşturulmuştur. Daha sonra jel, jel görüntüleme cihazına yerleştirilerek Vilber Lourmat Infinity VX2 programıyla görüntüsü kaydedilmiştir.



Şekil 3.12. Techno TC-PLUS 26S rRNA PCR döngüsü

PCR ürünleri sekanslama için Ankara’ da ki BM Laboratuvar Sistemleri’ne gönderilmiştir. Elde edilen sekans sonuçları BLAST programı (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) kullanılarak, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) veritabanında biriktirilen nükleotid dizileriyle karşılaştırılmıştır. Türlerin kimliği karşılaştırma sonucu %98’ lik bir benzerlik ile değerlendirilmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Ekşi Hamur Örneklerinde Kimyasal Analizler Sonuçları

4.1.1. Fırınlardan Toplanan Ekşi Hamur Örneklerinde pH, TTA ve Kuru Madde Analiz Sonuçları

3 farklı fırından 6 kez toplanan ekşi hamur örneklerinde, ilk alınan örneklerin pH, TTA ve kuru madde analiz sonuçları Çizelge 4.1’ de verilmiştir. Toplam titrasyon asitliği mL cinsinden harcanan 0.1 N NaOH mL olarak verilmiştir.

Çizelge 4.1. İlk olarak 3 farklı şehirlerdeki fırınlardan toplanan ekşi hamur örneklerinin kimyasal analiz sonuçları

	pH	TTA(ML)	K.M. (%)
H1	5.37 ^a ± 0.049	3.40 ^a ± 0.282	54.34 ^c ± 0.622
A1	5.16 ^b ± 0.056	4.25 ^a ± 0.353	60.27 ^a ± 0.056
T1	4.22 ^d ± 0.028	13.00 ^a ± 7.071	57.39 ^b ± 0.162

Aynı sütunda farklı üst yazı (^{a-d}) harfleri varsa, fark testinde anlamlı fark olduğunu gösterir (Tukey p<0.05).

Çizelge 4.1. de Türkiye’nin 3 farklı illerinden toplanan ekşi hamur örneklerinin pH, TTA ve kuru madde değerleri verilmiştir. pH değerleri 4.22 ile 5.37 arasındadır. TTA değerleri 3.40 mL ile 13.00 mL arasındadır. Kuru madde ağırlığı ise % 54.34 ile % 60.27 arasındadır. Asitlik değeri en düşük olan şehir Hatay iken, en yüksek olan Trabzon’dur. Buna göre pH ve kuru madde analizlerinde anlamlı bir fark olduğu tespit edilirken, TTA değerinde anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (p>0.05).

İkinci kez 3 farklı şehirden alınan ekşi hamur örneklerindeki pH, TTA ve kuru madde değerleri Çizelge 4.2. de verilmiştir.

Çizelge 4.2. İkinci kez 3 farklı şehirlerdeki fırınlardan toplanan ekşi hamur örneklerinin kimyasal analiz sonuçları

	pH	TTA(ML)	K.M. (%)
H2	5.58 ^b ± 0.028	3.70 ^b ± 0.141	51.63 ^c ± 0.700
A2	5.77 ^a ± 0.035	3.22 ^b ± 0.035	58.58 ^a ± 0.063
T2	5.07 ^c ± 0.035	4.57 ^a ± 0.035	56.00 ^b ± 0.000

Aynı sütunda farklı üst yazı (^{a-d}) harfleri varsa, fark testinde anlamlı fark olduğunu gösterir (Tukey p<0.05).

İkinci kez alınan hamurlarda pH değeri 5.07 ile 5.77 arasındadır. TTA değeri 3.22 ile 4.57 mL 0.1N NaOH arasındadır. Kuru madde değeri ise % 51.63 ile % 58.58 arasındadır. Farklı şehirlerden alınan ekşi hamur örneklerinde pH ve kuru madde analizlerinde Tukey testine göre anlamlı bir fark olduğu görülmüştür.

Farklı zamanlarda 3 farklı şehirlerden alınan ekşi hamurların pH, TTA ve kuru madde analiz sonuçları Çizelge 4.3. de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı zamanlarda 3 farklı fırınlardan toplanan ekşi hamur örneklerinin kimyasal analiz sonuçları

	pH	TTA(ML)	K.M. (%)
H1	5.37 ^d ± 0.049	3.40 ^{ab} ± 0.282	54.34 ^d ± 0.622
H2	5.58 ^c ± 0.028	3.70 ^{ab} ± 0.141	51.63 ^e ± 0.700
A1	5.16 ^e ± 0.056	4.25 ^{ab} ± 0.353	60.27 ^a ± 0.056
A2	5.77 ^b ± 0.035	3.22 ^{ab} ± 0.035	58.58 ^b ± 0.063
T1	4.22 ^a ± 0.028	13.00 ^a ± 7.071	57.39 ^{bc} ± 0.162
T2	5.07 ^e ± 0.035	4.57 ^{ab} ± 0.035	56.00 ^c ± 0.000

Aynı sütunda farklı üst yazı (^{a-f}) harfleri varsa, fark testinde anlamlı fark olduğunu gösterir (Tukey p<0.05).

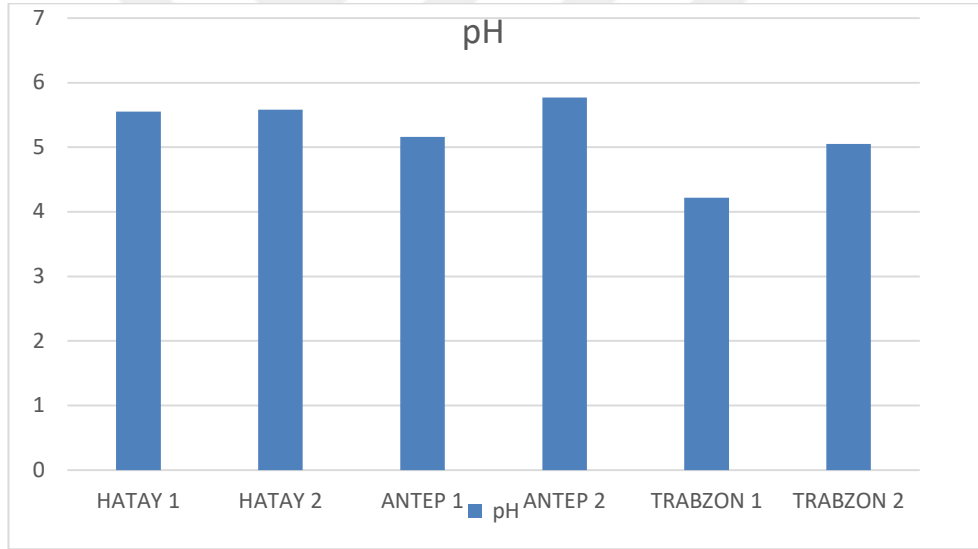
Yukarıdaki çizelgeye bağlı olarak pH değerleri 4.22 ile 5.77 arasındadır. TTA değerleri 3.22 ile 13.00 mL 0.1N NaOH arasındadır. Kuru madde değerleri ise % 51.63 ile % 60.27 arasındadır. Bu değerlere göre farklı zamanlarda alınan

hamur örneklerindeki pH değerleri arasında anlamlı farklılıklar görülmüştür ($p<0.05$). TTA değerleri arasında T6217 örneği hariç diğerlerinde anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0.05$).

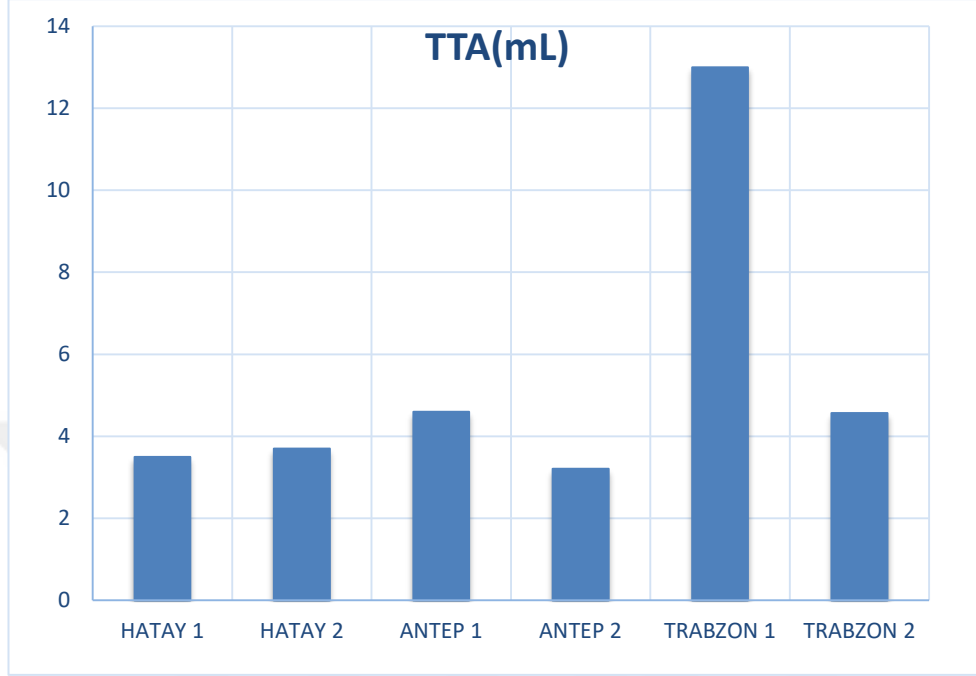
Ekşi hamur örneklerindeki bu farklılıklar:

- Farklı şehirlerden toplandığından
- Mikrofloradan
- Farklı üretim yöntemlerinden
- İnkübasyon koşullarından

olabilir.



Şekil 4.1. Farklı zamanlarda farklı fırınlardan alınan ekşi hamur örneklerinin pH değerleri



Şekil 4.2. Farklı zamanlarda farklı fırınlardan alınan ekşi hamur örneklerinin TTA (mL) değerleri

Bu farklılıklar doğrudan pH, TTA ve kuru madde ağırlıklarını etkilemektedir ve böylece farklı yerlerde üretilen ekşi hamurlar farklı biyokimyasal karakter göstermektedirler. Ayrıca aynı fırından toplanan iki farklı zamanda toplanan ekşi hamurlarda bile farklılık gözlenmiştir.

pH değerleri Viard ve ark. (2013) ve Gündüz (2018) tarafından bulunan sonuçlarla uyumlu değildir. Bu çalışmalarda pH değerleri 3.5-3.7 ve 3.71-3.96 arasındadır. pH değeri Yağmur (2016) tarafından bulunan değerlerle uyumludur. Bu değerler 3.77 ve 5.44 arasındadır.

Hendek (2017) tarafından yapılan çalışmada spontan fermentasyon yöntemi uygulandığında pH değerleri 4.46-4.51 arasında iken starter eklenmiş fermentasyonda pH değerleri 4.14-4.25 arasındadır.

Çebi (2014) tarafından yapılan bir araştırmada kontrol grubu hamurda pH değeri 4.84- 4.88, starter eklenmiş hamurlarda ise 4.83-4.92 arasındadır. Bu

sonuçlara göre kullanılan LAB suşları hamurda önemli farklılıklara neden olmamıştır.

Kuru madde değerleri Yağmur (2016) tarafından bulunan sonuçlarla benzerlik göstermiştir.

4.1.2. Kontrollü Ortamda Üretilen Ekşi Hamur Örneklerinde pH, TTA ve Kuru Madde Analiz Sonuçları

Kontrollü ortamda üretilen ekşi hamur örneklerinde 28°C’ de 30 saat süren fermentasyon boyunca pH, titrasyon asitliği ve kuru madde ağırlıklarında meydana gelen değişimler Çizelge 4.4’ te gösterilmiştir. Kontrol örneğine fermentasyon süresinin 12. saatinde bir miktar un ilave edilerek tazeleme yapılmıştır.

Çizelge 4.4. Laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinin 0-30.sa aralığında yapılan kimyasal analiz sonuçları

	pH	TTA(ML)	K.M. (%)
B1K 0.SA	6.05 ^a ± 0.077	2.05 ^c ± 0.353	53.25 ^b ± 0.353
B1K 6. SA	5.72 ^b ± 0.084	2.55 ^{bc} ± 0.212	53.21 ^b ± 0.077
B1K 12.SA	5.56 ^b ± 0.0535	2.95 ^{abc} ± 0.070	57.33 ^a ± 0.106
B1K 24.SA	5.15 ^c ± 0.141	3.30 ^{ab} ± 0.282	56.87 ^a ± 0.240
B1K 30.SA	4.61 ^d ± 0.014	4.07 ^a ± 0.388	56.66 ^a ± 0.494

Aynı sütunda farklı üst yazı (^{a-f})harfleri varsa, fark testinde anlamlı fark olduğunu gösterir (Tukey p<0.05).

Laboratuvar koşulları altında üretilen ekşi hamurların 0-6-12-24-30. saatlerinde pH, TTA ve kuru madde analiz sonuçları Çizelge 4.4.’te gösterilmiştir. 0- 30.saat aralığında pH değerleri 4.61 ile 6.05 arasındadır. TTA değerleri 2.05 ile 4.07 mL 0.1 N NaOH arasındadır. Kuru madde değerleri ise % 53.21 ile % 57.33 arasındadır. Buna göre 6. ve 12. saatler için pH değerleri arasında anlamlı farklılık

yokken diğer saatlerdeki pH değerleri arasında anlamlı farklılık gözlemlenmiştir. Tüm saatlerde yapılan TTA değerleri arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür.

Kuru madde miktarı tazeleme yapılana kadar % 53.25' den %52.55' e kadar düşmüştür. Un ilavesi yapıldıktan sonra kuru madde miktarı %57.33'e yükselmiştir. Daha sonra düşmeye devam etmiştir.

Bu çalışmada elde edilen pH ve TTA değerleri Yağmur (2016) tarafından yapılan çalışmayla benzerlik göstermiştir. Çalışmasından tazeleme yapılmadan önce pH değeri 5.84'ten 5.35'e düşmüştür. Titrasyon asitliği ise, 2.44'ten 4.42 mL 0.1 N NaOH değerine yükselmiştir. Tazelemeyle birlikte titrasyon asitliği değerinde düşüş, pH değerinde artış gözlenmiştir.

4.1.3. Ekşi Hamur Örneklerinin Şeker ve Organik Asit Miktarları

Maltoz, sakkaroz, glikoz, fruktoz analiz sonuçları HPLC tarafından RID dedektörleri kullanılarak belirlenmiştir. Laktik asit ve asetik asit tayinleri ise HPLC tarafından UV dedektörleri kullanılarak belirlenmiştir. Maltoz ve sakkaroz piklerinin alıkonma sürelerinin birbirine yakın olmasından dolayı ayırt edilmesi mümkün olmamıştır. Bu yüzden sonuçlar maltoz + sakkaroz kombinasyonu olarak verilmiştir.

Maltoz, sakkaroz, glikoz, fruktoz, laktik asit ve asetik asit için standart konsantrasyon aralıkları sırasıyla 0.081-2.512, 0.082-2.543, 0.083-2.554, 0.079-2.445, 0.091- 2.605 ve 0.113-3.257 g/L' dir. Bunlardan standart çözelti hazırlanmış ve yedi noktada kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. LOD ve LOQ değerleri 10 standart enjeksiyonun standart sapmasının 3 ile 10 katı ile çarpılarak hesaplanmıştır.

Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinin karbonhidrat ve organik asit analiz sonuçlarının ortalama değerleri Çizelge 4.5. de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinin karbonhidrat ve organik asit içerikleri (g/kg)

	Maltoz+Sakkaroz	Glikoz	Fruktoz	Laktik Asit	Asetik Asit
B1K 0.sa	2.74 ^c ±0.840	5.54 ^a ±2.329	3.36 ^a ±1.347	2.09 ^{bcd} ±0.228	1.19 ^{ab} ±0.011
B2K 30.sa	0.84 ^c ±0.165	2.77 ^a ±1.436	0.70 ^b ±0.096	2.38 ^{abcd} ±0.738	0.70 ^{ab} ±0.096
H1	1.57 ^c ±0.155	2.74 ^a ±1.016	1.50 ^{ab} ±0.050	3.00 ^{ab} ±0.275	1.28 ^{ab} ±0.505
H2	2.06 ^c ±0.574	4.79 ^a ±0.84	1.73 ^{ab} ±0.185	1.32 ^d ±0.126	0.99 ^{ab} ±0.140
A1	9.34 ^a ±0.843	6.14 ^a ±0.732	3.48 ^a ±0.803	2.16 ^{bcd} ±0.174	0.63 ^b ±0.090
A2	0.98 ^c ±0.090	3.15 ^a ±0.462	1.69 ^{ab} ±0.428	1.60 ^{cd} ±0.257	0.61 ^b ±0.030
T1	5.52 ^b ±0.504	2.03 ^a ±0.035	1.60 ^{ab} ±0.066	10.82 ^e ±0.230	2.60 ^c ±0.113
T2	9.24 ^a ±0.560	4.37 ^a ±0.145	2.91 ^{ab} ±0.138	3.52 ^a ±0.204	1.58 ^a ±0.304

Aynı sütunda farklı üst yazı (^{a-f}) harfleri varsa, fark testinde anlamlı fark olduğunu gösterir (Tukey p<0.05).

Analiz sonuçlarına göre maltoz+ sakkaroz değerleri 0.84 ile 9.34 arasında, glikoz değerleri 2.03 ile 6.14 arasında, fruktoz değerleri 0.70 ile 3.48 arasında, laktik asit değerleri 1.32 ile 10.82 arasında ve asetik asit değerleri 0.60 ile 2.60 g/kg arasındadır. Bu farklılıklar, örneklerin farklı şehirlerden toplanılmasından, farklı iklim koşullarında alınmasında, farklı fermantasyon koşullarında bekletilmesinden, farklı unlardan ve mikrofloradan kaynaklanabilir.

B1K 0.sa, B2K 30.sa, H1, H2 ve A2 örneklerinin maltoz+sakkaroz değerleri arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. T1 ve T2 değerleri iki farklı zamanda aynı fırınlardan alınan örnekleri temsil eder ve maltoz+sakkaroz değerlerinde anlamlı bir farklılık görülmüştür. Glikoz değerlerinde bir farklılık yoktur. Kontrol olarak üretilen hamurların 0. ve 30.saatlerinde ise fruktoz ve laktik asit değerlerinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir.

4.2. Ekşi Hamur Örneklerinde Mikrobiyel Analiz Sonuçları

Türkiye’de bulunan 3 farklı fırından 2 farklı zamanda alınan ve laboratuvar koşullarında üretilen 0.ve 30. saatlerdeki ekşi hamur örneklerinde LAB, maya, *Saccharomyces* spp. olmayan maya, koliform bakteri ve toplam mezofil aerob bakteri sayıları belirlenmiştir. LAB için M17 ve MRS besiyerleri, ekşi hamur LAB için SDB, maya için YPD besiyeri, *Saccharomyces* spp. olmayan mayalar için L-lysine besiyeri, koliform bakteriler için VRB besiyeri, toplam mezofil aerob bakteriler için PCA besiyeri ve küfler için MXA besiyeri kullanılmıştır. Mikrobiyel analiz sonuçları Çizelge 4.6.de gösterilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Hülya IŞIKALP

Çizelge 4.6. Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinde mikroorganizma sayım sonuçları

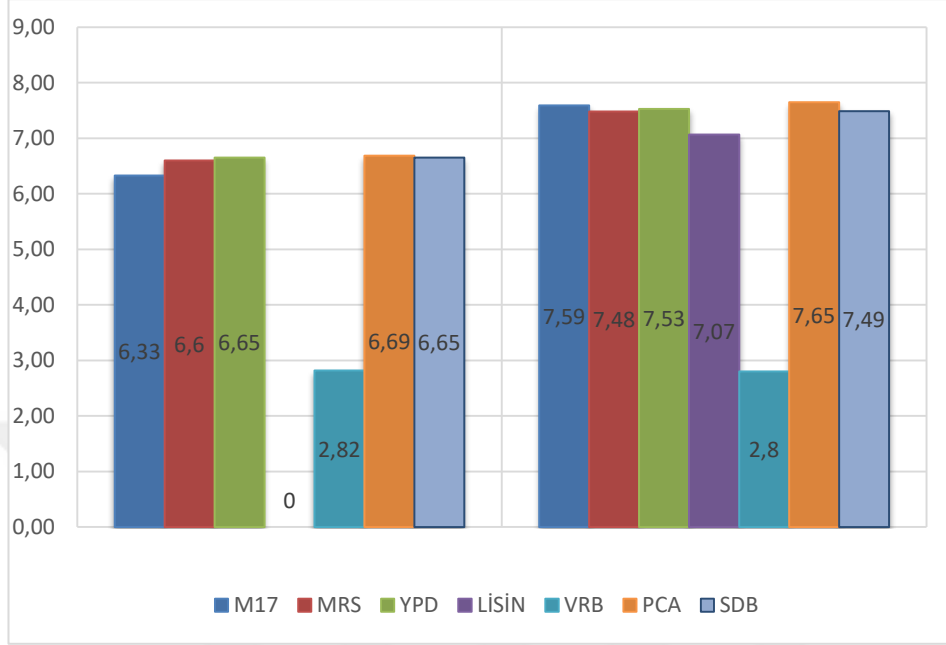
	M17 logkob/g	MRS logkob/g	YPD logkob/g	L-lysine logkob/g	VRB logkob/g	PCA logkob/g	SDB logkob/g	MXA logkob/g
B1K 0.SA	6.33 ^{bc} ±0.039	6.60 ^{bc} ±0.0	6.65 ^{ab} ±0.261	0	2.82 ^b ±0.678	6.69 ^{ab} ±0.124	6.65 ^{abc} ±0.067	<10
B2K 30.SA	7.59 ^a ±0.443	7.48 ^{ab} ±0.052	7.53 ^a ±0.086	7.07 ^a ±0.425	2.80 ^b ±0.281	7.65 ^a ±0.317	7.49 ^a ±0.108	<10
H1	5.87 ^{bc} ±0.567	5.87 ^c ±0.567	5.77 ^b ±0.671	6.30 ^{ab} ±0.063	2.73 ^b ±0.062	6.02 ^b ±0.468	5.98 ^c ±0.535	<10
H2	7.53 ^a ±0.055	7.45 ^{ab} ±0.009	7.44 ^a ±0.002	7.10 ^a ±0.216	3.13 ^b ±0.196	7.43 ^{ab} ±0.070	7.51 ^a ±0.001	<10
A1	7.70 ^a ±0.091	7.65 ^a ±0.036	7.72 ^a ±0.145	6.63 ^{ab} ±0.048	5.10 ^a ±0.283	7.68 ^a ±0.084	7.62 ^a ±0.002	<10
A2	6.92 ^{ab} ±0.212	6.96 ^{ab} ±0.229	6.99 ^a ±0.229	6.77 ^{ab} ±0.381	2.91 ^b ±0.049	6.50 ^{ab} ±0.864	7.07 ^{ab} ±0.112	<10
T1	5.80 ^c ±0.086	7.53 ^a ±0.150	5.86 ^b ±0.058	5.94 ^c ±0.142	2.75 ^b ±0.210	6.25 ^{ab} ±0.176	6.68 ^{abc} ±0.291	<10
T2	5.90 ^{bc} ±0.191	7.30 ^{ab} ±0.176	5.90 ^b ±0.068	5.91±0.063	3.08 ^b ±0.550	4.37 ^c ±0.137	6.30 ^{bc} ±0.316	<10

Aynı sütunda farklı üst yazı (^{a-f}) harfleri varsa, fark testinde anlamlı fark olduğunu gösterir (Tukey p<0.05)

Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinde M17 besiyerinde gelişen muhtemel LAB sayısı 5.80 ile 7.70 log kob/g, MRS besiyerinde gelişen muhtemel LAB sayısı 5.87 ile 7.65 log kob/g, YPD besiyerinde gelişen muhtemel maya sayısı 5.77 ile 7.72 log kob/g, L-lysine besiyerinde gelişen muhtemel maya sayısı 5.91 ile 7.1 log kob/g, PCA besiyerinde gelişen muhtemel bakteri sayısı 4.37 ile 7.68 log kob/g, SDB besiyerinde gelişen muhtemel bakteri sayısı 5.98 ile 7.62 log kob/g ve VRB besiyerinde gelişen koliform muhtemel bakteri sayısı 2.73 ile 5.10 log kob/g arasındadır.

Kontrol olarak üretilen ekşi hamurların B1K 0.sa ve S1K 30.sa laktik asit bakteri sayımları arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür. Buna göre fermentasyon süresine bağlı olarak laktik asit bakterisinde artış olmuştur. Koliform bakteri sayımlarında farklılık yoktur.

Aynı fırından iki farklı zamanda alınan H1 VE H2 ekşi hamur örneklerinde LAB ve maya sayılarında farklılık gözlemlenmiştir. Bu farklılık farklı zamanlardan, iklim koşullarından, fermentasyon süresinden ve sıcaklığından kaynaklanıyor olabilir. Farklı fırınlardan alınan örneklerde de anlamlı farklılıklar görülmüştür. Bu da şehir farklılığından kaynaklanıyor olabilir.



Şekil 4.3. Kontrol ekşi hamurların 0. ve 30.saatlerinde mikroorganizma sayımı

4.3. Ekşi Hamur Örneklerinde Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Olarak Tanımlanması

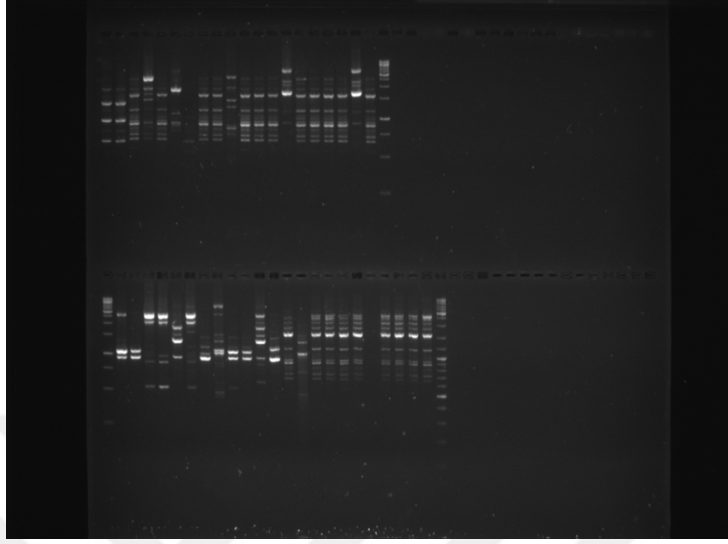
Hatay, Gaziantep ve Trabzon’ daki fırınlardan iki farklı zamanda toplanan ekşi hamur örneklerinden toplam 176 adet LAB’ si izole edilmiştir. Laboratuvar koşullarında üretilen 0. ve 30. saatlerde alınan ekşi hamur örneklerinden toplamda 52 adet LAB’ si izole edilmiştir. Toplamda 228 adet LAB’ si izole edilmiştir. Fırınlardan toplanan ekşi hamurlardan izole edilen LAB’ nin şehirlere göre dağılımı Şekil 4.4.’ te verilmiştir.



Şekil 4.4. İzole edilen LAB'nin farklı şehirlere göre dağılımı

Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamurlardan izole edilen LAB' nin identifikasyonu için Gram boyama ve katalaz testleri yapılmıştır. Bu testlerden sonra Gram pozitif ve Katalaz negatif özelliklerine uyan 180 adet LAB suşları varsayılan LAB olarak kabul edilmiştir.

Elde edilen suşlar Instagene matrix kiti ile DNA' ları ekstrakte edilmiştir. LAB DNA' ları, M13 primeri kullanılarak RAPD-PCR analizine tabi tutulmuştur. Elde edilen PCR ürünlerinin elektroforez ile agaroz jel üzerinde oluşturdukları bantlar incelenmiştir. Şekil 4.5.'te örnek bantlaşma verilmiştir.



Şekil 4.5. M13 primeri kullanılarak yapılan RAPD-PCR analiz sonucu elde edilen bant görünümü

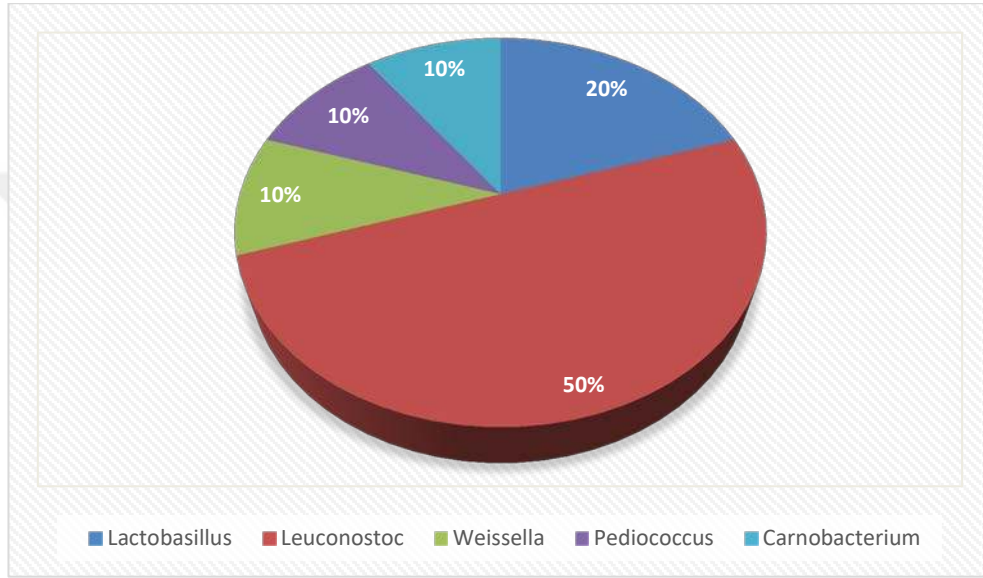
RAPD-PCR sonucu LAB' nin bazı suşları zayıf bant profili göstermiş ve ileriki analizlerde kullanılmamışlardır. Diğer bantların boyutları kullanılan DNA marker'ına göre değerlendirilmiştir. Bantlar arasında farklılık indeksi Jaccard katsayısı ile Darwin programında hesaplanmıştır. Farklılık tespit edilen suşlara 16S rRNA sekans analizi yapılmıştır. Sekans analizi için PCR ürünleri uygun koşullarda Ankara'da BM Laboratuvarına gönderilmiştir. Gelen sonuçlar Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. BLAST programı ile elde edilen diziler Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) veritabanında biriktirilen nükleotid dizileriyle karşılaştırılmıştır (Altschul ve ark., 1997). Tanımlanan LAB suşları, benzerlikleri ($95\% \leq$) ve baz sayıları Çizelge 4.7. de verilmiştir.

Çizelge 4.7. LAB'nin Tanımlanması

KOD	TANIMLANAN LAB	BENZERLİK ORANI (%)	BAZ SAYISI
1B2 FD1_D3	<i>Leuconostoc citreum</i>	98	1400
1C2 FD1_D5	<i>Lactobacillus curvatus</i>	96	1448
1F2 FD1_B6	<i>Lactobacillus sakei</i>	97	1588
1K2 FD1_E7	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	95	1557
2A2 FD1_G2	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	97	1608
2B2 FD1_E3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	97	1564
2C2 FD1_E5	<i>Lactobacillus curvatus</i>	95	1605
3C2 FD1_F5	<i>Leuconostoc holzapfelii</i>	95	1516
04H2 FD1_D11	<i>Leuconostoc citreum</i>	95	1604
4F2 FD1_C6	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum</i>	96	1712
5A2 FD1_A3	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	96	1622
5B2 FD1_F3	<i>Leuconostoc citreum</i>	95	1647
5C2 FD1_G5	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum</i>	96	1611
5D2 FD1_G4	<i>Weissella viridescens</i>	96	1667
6B2 FD1_G3	<i>Leuconostoc citreum</i>	95	1409
7D2 FD1_H4	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	98	1649
8F2 FD1_F6	<i>Lactobacillus sakei</i>	97	1573
12D2 FD1_B5	<i>Weissella viridescens</i>	97	1685
12K2 FD1_F10	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	95	1573
13B2 FD1_A4	<i>Leuconostoc citreum</i>	95	1631
13E2 FD1_A6	<i>Lactobacillus curvatus</i>	98	1614
13F2 FD1_A7	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	96	1600
14A2 FD1_C3	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	98	1628
14F2 FD1_B7	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	97	1595
16F2 FD1_C7	<i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i>	95	1545
30K2 FD1_G8	<i>Lactobacillus paracasei</i>	97	1584
18K2FD1_A8	<i>Enterococcus faecium</i>	98	1687

Blast programında tanımlanan 74 suştan benzerlik sayısı $95\% \leq$ olan 27 adet suş görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre laktik asit bakterilerinden *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*,

Leuconostoc holzapfelii, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Weissella viridescens*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* olmak üzere toplamda 10 adet tür tanımlanmıştır. Laktik asit bakterilerinin türlerine göre dağılımı aşağıdaki Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Tanımlanan LAB' nin türlerine göre dağılımı

Ekşi hamurdaki LAB florası üzerine Noubariene ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. plantarum*, *P. pentosaceus* bakterileri izole edilmiş ve baskın tür oldukları belirlenmiştir.

Gül ve ark. (2005)'nın ekşi hamur üzerine çalıştığı bir araştırmada *Lb. acetotolerans*, *Lb. plantarum* ve *P. pentosaceus* bakterilerini izole etmişlerdir.

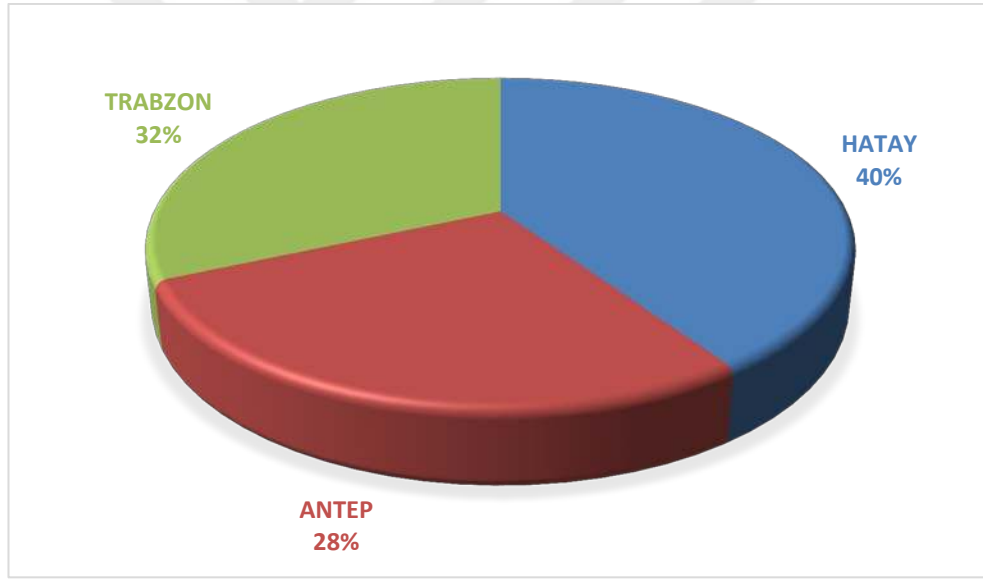
Yağmur (2016) ekşi hamur üzerine yaptığı çalışmada laktik asit bakterilerinden *Leu.mesenteroides*, *Lb. plantarum*, *P. pentosaceus*, *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. casei*, *Lb. namurensis*, *Lb. zymae* izole etmiştir.

Manini ve ark. (2015) buğday kepeğinden elde edilen ekşi hamur numunelerinden *Lb. plantarum*, *Lb. sakei*, *Lb.curvatus*, *Lb.brevis* izole etmişlerdir.

Lhomme ve ark. (2015) tarafından yapılan araştırmada ise, *Lb. Sanfranciscensis*, *Lb. plantarum*, *Leu. mesenteroides* türleri izole edilmiştir.

4.4. Ekşi Hamur Örneklerinde Mayaların Moleküler Olarak Tanımlanması

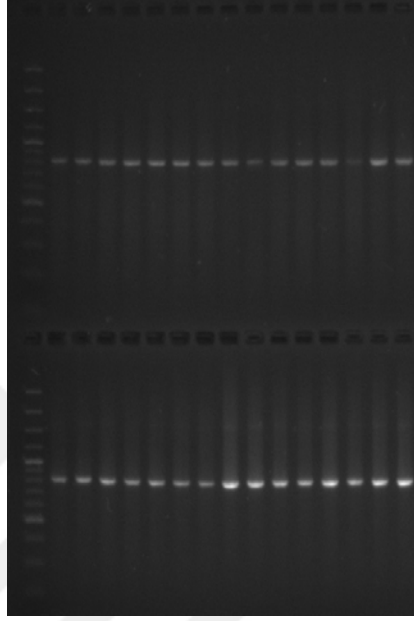
Farklı fırınlardan iki farklı zamanda alınan ekşi hamur örneklerinden toplam 136 adet maya izole edilmiştir. Laboratuvar koşullarında üretilen 0. ve 30. saatlerde alınan ekşi hamur örneklerinden toplam 33 adet maya izole edilmiştir. Toplamda 169 adet maya izole edilmiştir. Bu mayalar için YPD ve L-lysine besiyerleri kullanılmıştır. Fırınlardan toplanan ekşi hamurlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin şehirlere göre dağılımı Şekil 4.7.' te verilmiştir.



Şekil 4.7. İzole edilen mayaların farklı şehirlere göre dağılımı

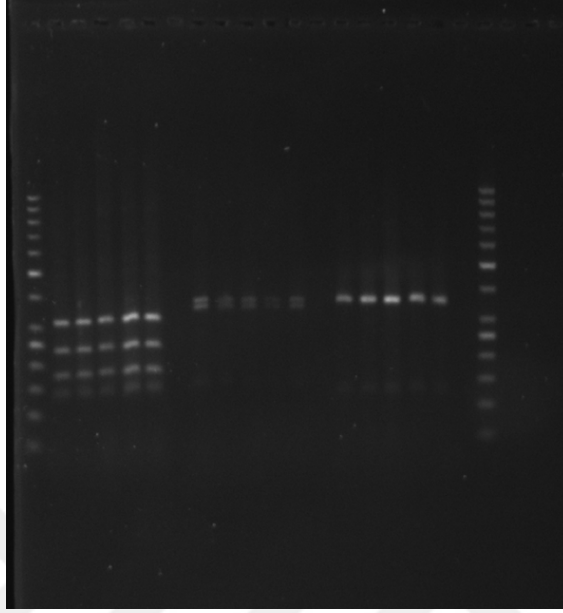
Elde edilen suşlar Instagene matrix kiti kullanılarak yapılan DNA izolasyonu ile DNA izolatları elde edilmiştir. 5.8S rRNA ITS1 ve ITS4 primerleri kullanılarak, ilk aşamada PCR' da ITS gen bölgelerinin çoğaltılmasıyla mayalarda moleküler tanımlama gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünlerinin elektroforez

yardımıyla agaroz jel üzerinde bantlaşması incelenmiştir. Şekil 4.8.'de örnek bantlaşma verilmiştir.



Şekil 4.8. 5.8S rRNA ITS primerleri kullanılarak elde edilen jel görünümü

İkinci aşamada ise 5.8S rRNA ITS bölgesinin PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleriyle (RFLP-PCR) kesilerek moleküler tanımlaması yapılmıştır. Bu enzimler *Hae III*, *Hha I* ve *Hinf I* dir. Bu nedenle ayrı olarak 3 farklı endonükleaz enzim karışımı hazırlanarak kesilme sağlanmıştır. Daha sonra RFLP ürünlerinin elektroforez yardımıyla agaroz jel üzerinde bantlaşması görülmüştür. Şekil 4.9.'de örnek bantlaşma verilmiştir.



Şekil 4.9. RFLP ürünlerinin restriksiyon enzimleriyle kesilerek elde edilen jel görünümü

Farklı enzimlerin kesimi sonucu maya izolatlarını ayırt etmek için, benzer bantlar aynı gruba toplanmış, her gruptan 1 veya 2 örnek alınarak 26S rRNA geninin D1/D2 bölgesi sekanslanmıştır. 26S rRNA' nın D1 ve D2 bölgesinin amplifikasyonu için NL1 ve NL4 primerleri kullanılmıştır. Sekans analizi için PCR ürünleri uygun koşullarda Ankara' da BM Laboratuvar Sistemleri' ne gönderilmiştir. Gelen sonuçlar Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. BLAST programı ile elde edilen diziler Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) veritabanında biriktirilen nükleotid dizileriyle karşılaştırılmıştır (Altschul ve ark., 1997). Tanımlanan maya suşlarının gen diziliminde hiçbir farklılık yoktur. Tanımlanan maya izolatları %99 düzeyinde *Saccharomyces cerevisiae* çıkmıştır.

Bakırcı ve ark. (2017) ekşi hamurlarla ilgili yaptıkları çalışmada maya türlerinden *Candida humulis*, *Torula delbrueckii*, *Debaromyces hansenii* ve *Saccharomyces cerevisiae* izole edilmiştir. Noubariene ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada *C.humulis* ve *S.cerevisiae* türleri izole edilmiştir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada farklı şehirlerden toplanan ve laboratuvar koşulları altında üretilen ekşi hamurlardaki laktik asit bakterisi ve mayalar izole edilmiş ve ekşi hamurların kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. İzole edilen LAB ve mayalar moleküler yöntemlerle tanımlanmıştır.

Bu çalışma sonucunda:

- Hatay, Gaziantep ve Trabzon illerinden 2 farklı zamanda toplanan ekşi hamurlardan pH, TTA ve kuru madde analizleri yapılmıştır.
- Yapılan analizler sonucu fırınlardan toplanan ekşi hamurların pH değerleri 4.22 ile 5.77, TTA değerleri 3.22 mL ile 13.00 mL 0.1 N NaOH, kuru madde miktarı ise % 51.63 ile % 60.27 arasındadır.
- Bu değerler istatistiksel açıdan değerlendirildiğinde, farklı zamanlarda alınan hamur örneklerindeki pH değerleri arasında anlamlı farklılıklar görülmüştür ($p<0.05$).
- Laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamurların 0., 6., 12., 24. ve 30.saatlerinde yapılan pH, TTA ve kuru madde analizleri sırasıyla 4.61 ile 6.05, 2.05 mL ile 4.07 mL 0.1 N NaOH, % 53.21 ile % 57.33 değerleri arasındadır.
- Buna göre 6. ve 12. saatler için pH değerleri arasında anlamlı farklılık yokken diğer saatlerdeki pH değerleri arasında anlamlı farklılık gözlemlenmiştir. Tüm saatlerde yapılan TTA değerleri arasında anlamlı fark olduğu görülmüştür.
- Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinin 0. ve 30. sa'lerinde alınan örneklerden maltoz+sakkaroz, glikoz, fruktoz, laktik asit ve asetik asit değerlerine bakılarak şeker ve organik asit analizleri yapılmıştır.

- Buna göre maltoz+ sakkaroz değerleri 0.84 ile 9.34 arasında, glikoz değerleri 2.03 ile 6.14 arasında, fruktoz değerleri 0.70 ile 3.48 arasında, laktik asit değerleri 1.32 ile 10.82 arasında ve asetik asit değerleri 0.60 ile 2.62 g/kg arasındadır.
- İstatiksel açıdan değerlendirildiğinde iki farklı zamanda aynı fırından alınan örneklerde maltoz+sakkaroz değerlerinde anlamlı bir farklılık görülmüştür.
- Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen 0. ve 30.saatlerdeki ekşi hamur örneklerinde muhtemel laktik asit bakterisi, maya, *Saccharomyces* spp. olmayan maya, koliform bakteri ve toplam mezofil aerob bakteri belirlenmiştir.
- Fırınlardan toplanan ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinde laktik asit bakteri sayısı 5.80 ile 7.70 log kob/g, maya sayısı 5.77 ile 7.72 log kob/g, *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayısı 5.91 ile 7.1 log kob/g, toplam mezofil aerob bakteri sayısı 4.37 ile 7.68 log kob/g, SDB besiyerinde gelişen bakteri için 5.98 ile 7.62 log kob/g ve koliform bakteri sayısı 2.73 ile 5.10 log kob/g arasındadır.
- Kontrol olarak üretilen ekşi hamurların B1K 0.sa ve S1K 30.sa laktik asit bakteri sayımları arasında anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür. Buna göre fermantasyon süresine bağlı olarak laktik asit bakterisinde artış olmuştur.
- Aynı fırından iki farklı zamanda alınan H1 VE H2 ekşi hamur örneklerinde laktik asit bakterisi ve maya sayılarında farklılık gözlemlenmiştir.
- Bu farklılık farklı zamanlardan, iklim koşullarından, fermantasyon süresinden ve sıcaklığından kaynaklanıyor olabilir. Farklı fırınlardan alınan örneklerde de anlamlı farklılıklar görülmüştür. Buda şehir farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

- Hatay, Gaziantep ve Trabzon’ daki fırınlardan iki farklı zamanda toplanan ekşi hamur örneklerinden toplam 176 adet LAB izole edilmiştir. Laboratuvar koşullarında üretilen 0. ve 30. saatlerde alınan ekşi hamur örneklerinden toplamda 52 adet LAB izole edilmiştir. Toplamda 228 adet LAB izole edilmiştir.
- Farklı fırınlardan iki farklı zamanda alınan ekşi hamur örneklerinden toplam 136 adet maya izole edilmiştir. Laboratuvar koşullarında üretilen 0. ve 30. saatlerde alınan ekşi hamur örneklerinden toplam 33 adet maya izole edilmiştir.
- Elde edilen sonuçlara göre laktik asit bakterilerinden *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc holzapfelii*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Weissella viridescens*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* olmak üzere toplamda 10 adet tür tanımlanmıştır.
- İzole edilen maya ise diğer mayalardan dominant olan %99 düzeyinde *Saccharomyces cerevisiae*’dir.



KAYNAKLAR

- Akgün, F.B., 2007. Ekşi hamur tozu eldesi ve ekmek üretiminde kullanılabilme olanakları (Doktora tezi) Pamukkale Üniversitesi, Denizli
- Altan, A., 1986. Tahıl İşleme Teknolojisi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Ofset Atölyesi, Adana, 107s.
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schaffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. ve Lipman, D. J., 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25 (17): 3389-3402.
- Anon., 1990. Ekmekçilik Semineri. İstanbul Ticaret Odası Yayınları No: 26, İstanbul.
- Aslam, Z., Im, W.T., Ten, L.N., Lee, M., Kim, K.H., 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.
- Bakırcı, F., Köse, E., 2017. Ekşi hamurlardan laktik asit bakterileri ve maya izolasyonu ve tanımlanması. *Akademik Gıda* 15(2)(2017) 149-154
- Barber, S. ve Baguena, R., 1988. Microflora of the sourdough of wheat flour bread. V. Isolation, identification and evaluation of functional properties of sourdough's microorganisms. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 28: 67-78.
- Baykara, P., 2006. Geleneksel nohut mayasının endüstriyel beyaz buğday unu ekmeği üretiminde kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Tekirdağ.
- Boz, H., Karaoğlu, M.M., 2008. Fırın Ürünleri İçin Doğal Katkı Maddeleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 35: 57-64.
- Brandt, M. J., 2007. Sourdough products for convenient use in baking. *Food Microbiology*, 24 (2): 161-164.

- Carnevali, P., Ciati, R., Leporati, A., Paese, M., 2007. Liquid Sourdough Fermentation: Industrial Application Perspectives. *Food Microbiology*, 24: 150-154.
- Catzeddu, P., Mura, E., Parente, E., Sanna, M. ve Farris, G. A., 2006. Molecular characterization of lactic acid bacteria from sourdough breads produced in Sardinia (Italy) and multivariate statistical analyses of results. *Systematic and Applied Microbiology*, 29 (2): 138-144.
- Çebi, K., 2009. Nohut mayası ve hamurundan laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve identifikasyonu. Yüksek lisans Tezi Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim dalı, Erzurum.
- Çebi, K., 2014. Nohut Mayası/Hamurundan İzole Edilen Laktik Asit Bakteri Suşlarının Ekmegin Uçucu Profili ve Diğer Bazı Kalite Parametreleri Üzerine Etkileri. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim dalı, Erzurum.
- Coda, R., Di Cagno, R., Rizzello, C.G., Nionelli, L., Edema, O.M., Gobbetti, M., 2011. Utilization of African grains for sourdough bread making. *Journal of Food Science* 76(6): M329-35.
- Corsetti, A., De Angelis, M., Dellaglio, F., Paparella, A., Fox, P.F., Settanni, L., Gobbetti, M., 2003. Characterization of Sourdough Lactic Acid Bacteria Based on Genotypic and Cell-Wall Protein Analyses. *Journal of Applied Microbiology*, 94: 641-654.
- Corsetti, A., Gobbetti, M., Rossi, J. ve Damiani, P., 1998. Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50 (2): 253-256.
- Corsetti, A., Settanni, L., 2007. Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Res Int*, 40: 539– 558.
- Çetin, E.T., 1968. *Pratik Mikrobiyoloji*. 2.baskı, İstanbul, 645s.

- De Angelis, M., Siragusa, S., Berloco, M., Caputo, L., Settanni, L., Alfonsi, G., Amerio, M., Grandi, A., Ragni, A., Gobbetti, M., 2006. Selection of potential probiotic lactobacilli from pig feces to be used as additives in pelleted feeding. *Research in Microbiology* 157, 792–801.
- Doğan, İ.S., 2003. Tahıl İşleme Teknolojisi. Yüzüncü Yıl Üniv. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Ders Notu, Van.
- Elgün, A., Ertugay, Z., Certel, M., Kotancılar, H.G., 2002. Tahıl ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu, Atatürk Üniversitesi Yayınları, No:867, Ziraat Fakültesi Yayın No: 335, Ders Kitapları Serisi No: 82, Erzurum, 245s.
- Elgün, A. ve Ertugay, Z., 1997. Tahıl İşleme Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 718, Erzurum, 376s.
- Ercan, R.E., Bildik, E., 1993. Ekmeğin bayatlaması ve etki yapan faktörler. *Un Mamülleri Dünyası*. 2: 10-14.
- Erginkaya, Z. ve Kabak, B., 2010. Gıda Mikrobiyolojisi Kitabı, Ed: Osman Erkmen, Efil Yayınevi 1. Basım, 22.bölüm, Fermente Gıdalar, Ankara. 427- 437s.
- Esteve-Zarzoso, B., Belloch, C., Uruburu, F. ve Querol, A., 1999. Identification of yeasts by RFLP analysis of the 5.8S rRNA gene and the two ribosomal internal transcribed spacers. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 49 (1): 329-337.
- Göçmen, D., 2001. Ekşi hamur ve laktik starter kullanımının ekmekte aroma oluşumu üzerine etkileri. *Gıda* 26(1): 13-16.
- Gül, H., 1999. Isparta Yöresinde Kullanılan Ekşi Mayanın Bileşimi Ve Fizyolojik Özelliklerinin Araştırılması ve Ekmek Yapımında Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.

- Gül, H., 2007. Mısır ve Buğday Kepeğinin Hamur ve Ekmek Nitelikleri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Gül, H., Özçelik, S., Sağdıç, O. ve Certel, M., 2005. Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. *Process Biochemistry*, 40 (2): 691-697.
- Gündüz, P., 2018. Molecular characterization of the predominant lactic acid bacteria and yeasts in te sourdough and chickpea fermentations and investigation of some lactic acid bacteria for potential starter culture usage. Doktora tezi, Çukurova üniversitesi, gıda mühendisliği bölümü, Adana.
- Güre, S., 2009. Ekşi hamurlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin gluten üzerine proteolitik etkilerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 73s
- Halkman, K., 2005. Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara, Turkey, 358 sayfa (*in Turkish*).
- Hamad, S.H., Dieng, M.C., Ehrmann, M.A., Vogel, R.F., 1997. Characterization of the Bacterial Flora of Sudanese Sorghum Flour and Sorghum Sourdough. *Journal of Applied Microbiology*, 83:764-770.
- Hansen, A., Schieberle, P., 2005. Generation of Aroma Compounds During Sourdough Fermentation: Applied and Fundamental Aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 16: 85-94
- Hendek Ertop M., 2017. Farklı fermantasyon ve kurutma yöntemleriyle üretilmiş toz ekşi hamurun bazı mikrobiyolojik nitelikleri ve ekmekteki küf gelişimi üzerine etkileri. *GIDA* 42(5): 609-619.
- Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., Schillinger, U., 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 73 (Suppl. 2): 365-373.

- Hüttner, E.K., Bello, F. D., Arendt, E.K., 2010. Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Oat Sourdoughs and Investigation into Their Potential for The Improvement of Oat Bread Quality. *European Food Research and Technology*, 230:849-857.
- Kline, L. ve Sugihara, T. F., 1971. Microorganisms of the San Francisco Sour Dough Bread Process: II. Isolation and Characterization of Undescribed Bacterial Species Responsible for the Souring Activity. *Applied Microbiology*, 21 (3): 459-465.
- Kotancılar H.G., Karaoğlu M.M., Gerçekaslan K.E., Uysal P., 2006. Ekşi hamur katkısının beyaz tava ekmeğininin bayatlaması üzerine etkisi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 37 (1), 103-110, ISSN 1300-9036.
- Köksalan, E., Tutar, E., Karaman, A., Gezginç Y., 2015. Ekşi hamurdan *Lb. plantarum* izolasyonu, moleküler tanımlanması, bazı gıda patojen bakterileriyle antimikrobiyel etkisi ve proteolitik aktivitesinin belirlenmesi. İç Anadolu Bölgesi 2. tarım ve gıda kongresi 2015/Nevşehir.
- Lee, H., Baek, H., Lim, S.B., Hur, J.S., Shim, S., Shin, S., Han, N.S., Seo, J., 2015. Development of species-specific PCR primers and polyphasic characterization of *Lactobacillus sanfranciscensis* isolated from Korean sourdough. *International Journal of Food Microbiology* 200: 80-86.
- Leroy, F. ve De Vuyst, L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15: 67-78.
- Lhomme, E., Lattanzi, A., Dousset, X., Minervini, F., De Angelis, M., Lacaze, G., Onno, B., Gobbetti, M., 2015. Lactic acid bacterium and yeast microbiota of sixteen French traditional sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology* 215: 161-170.
- Lönner, C., Preve-Akesson, K., 1988. Acidification of lactic acid bacteria in rye sour doughs. *Food Microbiology* 5: 43-58.

- Lotong, V., Chambers, E., Chambers, D.H., 2000. Determination of The Sensory Attributes of Wheat Sourdough Bread. *Journal of Sensory Studies*. 15:309-326.
- Manini, F., Casiraghi, M.C., Poutanen, K., Brasca, M., Erba, D., Plumed-Ferrer, C., 2015. Characterization of lactic acid bacteria isolated wheat bran sourdough. *Food Science and Technology* 66: 275-283.
- Martinez-Anaya, M. A. ve Devesa, A., 2000. Influence of enzymes in sourdough wheat breadmaking. Changes in pentosans. *Food Science and Technology International*, 6: 109-116.
- Meignen, B., Onno, B., Infantes, M., Guilous, S., Cahagnier, B., 2001. Optimization of Sourdough Fermentation with *Lactobacillus brevis* and Baker's Yeast. *Food Microbiology*, 18:239-245.
- Menteş, Ö., Akçelik, M., Recal, E., 2004. Türkiye’de üretilen ekşi hamurlardan *Lactobacillus* suşlarının izolasyonu, identifikasyonu ve bu suşların temel endüstriyel özellikleri. *Gıda* 29(5): 347-355.
- Meroth, C.B., Hammes, W.P., Hertel, C., 2003b. Identification and Population Dynamics of Yeasts in Sourdough Fermentation Processes by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 69:7453-7461.
- Messens, W., Vuyst, L.D., 2002. Inhibitory Substances Produced by *Lactobacilli* Isolated from Sourdoughs- a Review. *International Journal of Food Microbiology*, 72:31-43.
- Minervini, F., Pinto, D., Di Cagno, R., De Angelis, M., Gobbetti, M., 2011. Scouting the application of sourdough to frozen dough bread technology. *J. Cereal Sci.* 54, 296–304.
- Nuobariene, L., Cizeikiene, D., Gradzeviciute, E., Hansen, S.A., Rasmussen, K.S., Juodeikiene, G., Vogensen, K.F., 2015. Phytase-active lactic acid bacteria from sourdoughs: Isolation and identification. *Food Science and Technology* 63: 766-772.

- Obis, D., Guillot, A. and Mistou, M. Y., 2001. Tolerance to high osmolality of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and *cremoris* is related to the activity of a betaine transport system. FEMS Microbiology Letters, 202 (1): 39-44.
- Özçelik, S. 1986 Hububat – Un mikrobiyolojisi ve ekmekte görülen bazı hastalıklar. Standart Özel Sayı II, TS 4500 Buğday unu standardı semineri, Konya
- Paramithiotis, S., Gioulatos, S., Tsakalidou, E. ve Kalantzopoulos, G., 2006. Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria in sourdough. Process Biochemistry, 41 (12): 2429-2433.
- Paramithiotis, S., Sofou, A., Tsakalidou, E., Kalantzopoulos, G., 2007. Flour Carbohydrate Catabolism and Metabolite Production by Sourdough Lactic Acid Bacteria. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 23: 1417-1423.
- Pepe, O., Blaiotta, G., Anastasia, M., Moschetti, G., Ercolini, D., Villani, F., 2004. Technological and Molecular Diversity of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated From Naturally Fermented Sourdoughs. Systematic and Applied Microbiology, 27: 443-453.
- Plessas, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Koutinas, A., Voidarou, C., Stavropoulou, E., 2011. Application of Novel Starter Cultures For Sourdough Bread Production. Anaerobe, 17: 486- 489.
- Pulvirenti, A., Solieri, L., Gullo, M., De Vero, L. ve Giudici, P., 2004. Occurrence and dominance of yeast species in sourdough. Letters in Applied Microbiology, 38 (2): 113-117.
- Randazzo, C.L., Heilig, H., Resestuccia, C., Giudici, P., Caggia, C., 2005. Bacterial population in traditional sourdough evaluated by molecular methods. J Appl Microbiol, 99: 251-258.
- Rosenquist, H. ve Hansen, Å., 2000. The microbial stability of two bakery sourdoughs made from conventionally and organically grown rye. Food Microbiology, 17 (3): 241-250.

- Salovaara, H. and Katunpaa, H., 1984. An approach to the classification of lactobacilli isolated from Finnish sour rye dough ferments. *Acta Aliment Pol*, 10: 231-239.
- Salovaara, H., Spicher, G., 1986. Use of wheat to improve wheat bread quality. *International Association for Cereal Sci. and Techno.*, pp. 26-35. ICC Congress, Hamburg.
- Savola, P., Salovaara, H., Enqvist, J., 1982. Concentrations of carbohydrate fractions in the sourdough rye bread process
- Scheirlinck, I., Meulen, R.V., Schoor, A.V., Huys, G., Vandamme, Vuyst, L., Vancanneyt, M., 2007. *Lactobacillus namurensis* sp. nov., Isolated from a Traditional Belgian Sourdough. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57:223-227.
- Scheirlinck, I., Van Der Meulen, R., Schoor, A.V., Vancanneyt, M., De Vuyst, L., Vandamme, P., Huys, G, 2008. Taxonomic Structure and Stability of the Bacterial Community in Belgian Sourdough Ecosystems as Assessed by Culture and Population Fingerprinting, no: 8, 74:2414-2423.
- Settanni, L., Di Grigoli, A., Tornambé, G., Bellina, V., Francesca, N., Moschetti, G. ve Bonanno, A., 2012. Persistence of wild *Streptococcus thermophilus* strains on wooden vat and during the manufacture of a traditional Caciocavallo type cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 155 (1): 73-81.
- Settanni, L., Tanguler, H., Moschetti, G., Reale, S., Gargano, V. ve Erten, H., 2011. Evolution of fermenting microbiota in tarhana produced under controlled technological conditions. *Food Microbiology*, 28 (7): 1367-1373.
- Sıkılı, Ö.H, Karapınar, M., 2002. Ekşi Maya Ekmeğinin Mikroflorası ve Aromatik Karakteristikleri. *Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi*, 3-4 Ekim 2002, Gaziantep, 165-175.
- Şahin, E., 2012. Gerçek Ekmek. Hayykitap Yayıncılık, İkinci Baskı, İstanbul.

- Şimşek, Ö., Çon, A.H., Tulumoğlu, Ş., 2006. Isolating Lactic Starter Cultures with Antimicrobial Activity for Sourdough Processes. Food Control, 17:263-270.
- Stenlid, J., Karlsson, J.-O. and Högberg, N., 1994. Intraspecific genetic variation in *Heterobasidion annosum* revealed by amplification of minisatellite DNA. Mycological Research, 98 (1): 57-63.
- Talay, M., 1997. Ekmek Bilimi ve Teknolojisi. Ekin Yayıncılık ve Pazarlama, İstanbul 70s.
- Tangüler H., Erten H., 2006. Gıdalarda bulunan bir laktik asit bakterisi: Weissella. Türkiye 9. Gıda Kongresi Bildiriler Kitabı Sayfa: 179-182, 24-26 Mayıs 2006, Bolu)
- Valmorri, S., Settanni, L., Suzzi, G., Gardini, F., Vernocchi, P. ve Corsetti, A., 2006. Application of a novel polyphasic approach to study the lactobacilli composition of sourdoughs from the Abruzzo region (central Italy). Letters in Applied Microbiology, 43 (3): 343-349.
- Vernocchi, P., Valmorri, S., Torriani, S., Ginotti, A., Suzzi, G., Guerzoni, M.E., Mastrocola, D., Gardini, F., 2004. Characterization of the Yeast Population Involved in the Production of a Typical Italian Bread. Journal of Food Science, 69:182-186.
- Viiard, E., Mihhalevski, A., Rühka, T., Paalme, T., Sarand, I., 2012. Evaluation of the microbial community in industrial rye sourdough upon continuous back-slopping propagation revealed *Lactobacillus helveticus* as the dominant species. Journal of Applied Microbiology ISSN 1364-5072.
- Vogel, R. F., Pavlovic, M., Ehrmann, M. A., Wiezer, A., Liesegang, H., Offschanka, S., Voget, S., Angelov, A., Böcker, G. ve Liebl, W., 2011. Genomic analysis reveals *Lactobacillus sanfranciscensis* as stable element in traditional sourdoughs. Microbial Cell Factories, 10 (1): S6.

- Vrancken, G., Rimaux, T., Weeks, S., Leroy, F., Vuyst, L.D., 2011. Influence of Temperature and Backslopping Time on the Microbiota of a Type I Propagated Laboratory Wheat Sourdough Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 77:2716-2726.
- Vuyst, L.D., Vancanneyt, M., 2007. Biodiversity and Identification of Sourdough Lactic Acid Bacteria. *Food Microbiology*, 24:120-127.
- Wick, M., Stolz, P., Böcker, G., Lebeault, J.M., 2003. Influence of Several Process Parameters on Sourdough Fermentation. *Acta Biotechnologica*, 23(1):51-61.
- Yagmur, G., Tangüler, H., Leventdurur, S., Bagder Elmacı, S., Unal Turhan, E., Francesca, N., Settanni, L., Moschetti, G. and Erten, H., 2016. Identification of Predominant Lactic Acid Bacteria and Yeasts of Turkish Sourdoughs and Selection of Starter Cultures for Liquid Sourdough Production Using Different Flours and Dough Yields. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 66 (2): 99-107.

ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Adana’ da doğdu. İlk ve orta eğitimini Adana’ da tamamladı. Lisans eğitimini 2009-2014 yıllarında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde tamamladı. 2013-2014 öğretim yılını, öğrenci değişim programıyla Polonya’nın Varşova şehrindeki University of Life Science’ da bulundu. 2014 yılında mezun olduktan sonra yurtdışı staj programıyla Çek Cumhuriyeti’ nin Prag şehrinde 3 aylık staj programına katıldı. 2015 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitime başladı. 2015 yılında Sofram Gıda ve Yemekçilik firmasında Gıda mühendisi olarak başladı ve şu an koordinatör olarak aynı firmada çalışmaya devam etmektedir.