T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FERMANTASYON İŞLEMİ VE FARKLI TAHIL UNLARI KULLANIMININ KIZILCIK TARHANASI MİKROFLORASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ASİYE ELVAN BELLİCİ

BOLU, OCAK - 2018

T.C.
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

FERMANTASYON İŞLEMİ VE FARKLI TAHIL UNLARI KULLANIMININ KIZILCIK TARHANASI MİKROFLORASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ASİYE ELVAN BELLİCİ

BOLU, OCAK - 2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

Asiye Elvan BELLİCİ tarafından hazırlanan "**FERMANTASYON İŞLEMİ VE FARKLI TAHIL UNLARI KULLANIMININ KIZILCIK TARHANASI MİKROFLORASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**" adlı tez çalışması Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **26/01/2018** tarihinde **ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ Fen Bilimleri Enstitüsü** Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	**İmza**
Danışman Doç. Dr. Seda KARASU YALÇIN Abant İzzet Baysal Üniversitesi	.....
Üye Doç. Dr. Mustafa KIRALAN Abant İzzet Baysal Üniversitesi	.....
Üye Yrd. Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY Uludağ Üniversitesi	.....

Mezuniyet Tarihi :

Doç. Dr. Ömer ÖZYURT .....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Kızım Beril'e,

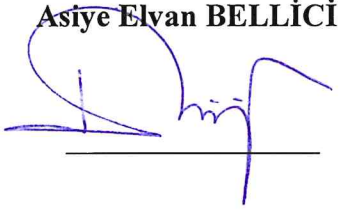
ETİK BEYAN

Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Asiye Elvan BELLİCİ



ÖZET

FERMANTASYON İŞLEMİ VE FARKLI TAHIL UNLARI KULLANIMININ KIZILCIK TARHANASI MİKROFLORASI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ASİYE ELVAN BELLİCİ
ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. SEDA KARASU YALÇIN)
BOLU, OCAK - 2018

Bu çalışmada; Bolu'ya özgü yöresel ürünlerden biri olan, farklı hammadde ve yöntemlerle üretilmiş kızılcık tarhanalarının mikrofloraları belirlenmiştir. Bu amaçla, geleneksel üretimlerde de kullanılan ekmeklik buğday ununun yanı sıra, karabuğday unu, kavuzsuz arpa unu ve irmik altı un kullanılarak, fermantasyon işlemi uygulanarak ve uygulanmadan farklı kızılcık tarhanası üretimleri gerçekleştirilmiştir. Üretimler sırasında; hammaddelerden, hamur aşamasından, fermantasyonun 24., 48. ve 72. saatleri ile ilk kurutma ve son kuru ürün aşamalarından örnekler alınarak, maya ve laktik asit bakterileri izole edilmeye çalışılmıştır. Tüm izolatların tanımlanması MALDI-TOF/TOF MS (matriks destekli lazer desorpsiyonu iyonizasyonu – uçuş süreli) cihazı ile yapılmıştır. Çalışmada toplam 231 adet izolat elde edilmiş ve bunlardan %45.5'i tür düzeyinde, %30.3'ü cins düzeyinde tanımlanmış, %24.2'sinin ise tanımlaması yapılamamıştır. Araştırmada; kızılcık tarhanası mikroflorasının ağırlıklı olarak mayalardan oluştuğu belirlenmiştir. Tür tanımlaması yapılan maya izolatlarının %32'si *Hanseniaspora uvarum*, %19.6'sı *Saccharomyces cerevisiae*, %18.6'sı *Torulaspora delbrueckii*, %11.3'ü *Candida krusei*, %9.3'ü *Candida lusitaniae*, %3.1'i *Metschnikowia pulcherrima*, %2.1'i *Wickerhamomyces anomalus*, %2.1'i *Candida kefyr*, %1'i *Cyberlindnera fabianii* ve %1'i *Candida parapsilosis* olarak belirlenmiştir. Çalışmada sadece 2 adet laktik asit bakterisi tanımlanabilmiş; bunların *Lactobacillus reuteri* türü ve *Enterococcus* cinsine ait oldukları bulunmuştur. Bütün üretimlerden izole edilen ortak maya türleri; *H. uvarum, S. cerevisiae, T. delbrueckii, M. pulcherrima, C. krusei* ve *C. lusitaniae* olarak kaydedilmiştir. Fermantasyon işleminin uygulandığı tarhanalarda maya sayısının ve tür çeşitliğinin daha fazla olduğu görülmüş, bu üretimlerde fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimlerden farklı olarak *Wickerhamomyces* ve *Pichia* cinsleri ile *C. parapsilosis, W. anomalus* ve *C. kefyr* türlerine rastlanmıştır. Kızılcık tarhanasının, özellikle *H. uvarum* ve *S. cerevisiae* türünce zengin olduğu belirlenmiştir. Fermantasyon işleminin uygulandığı ve uygulanmadığı üretimlerde son üründen tanımlanabilen tek türün *T. delbrueckii* olduğu görülmüştür. Bu çalışma sonucunda; tür tanımlaması yapılmış olan, farklı biyoteknolojik uygulamalarda veya farklı endüstriyel amaçlarla kullanılabilecek potansiyel 97 adet endojen maya izolatı elde edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Kızılcık Tarhanası, Fermantasyon, Karabuğday, Kavuzsuz Arpa, İrmik Altı Un, Mikroflora, Maya, MALDI-TOF/TOF MS

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF FERMENTATION PROCESS AND UTILIZATION OF DIFFERENT CEREAL FLOURS ON THE MICROFLORA OF CORNELIAN CHERRY TARHANA
MSC THESIS
ASİYE ELVAN BELLİCİ
ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. SEDA KARASU YALÇIN)
BOLU, JANUARY-2018

In this study, cornelian cherry tarhana, which is one of the traditional foods of Bolu, was produced by using different raw materials, with different methods and microflora of the products were determined. For this purpose, different cornelian cherry tarhana productions were done with and without fermentation application, by using buckwheat flour, hull-less barley flour and fine flour in addition to wheat flour used in traditional productions. During productions, yeast and lactic acid bacteria isolations were performed from raw materials, dough, 24., 48. and 72. hours of fermentation, first drying step and final dried product. Identification of all of the isolates were performed by MALDI-TOF/TOF MS (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight/time-of-flight mass spectrometry). Totally 231 isolates were obtained and 45.5% of them were identified at species level, 30.3% at genus level while 24.2% of the isolates could not be identified. In this research, it was found that microflora of cornelian cherry tarhana is mainly composed of yeasts. It was found that 32% of the identified yeast isolates were *Hanseniaspora uvarum,* 19.6% *Saccharomyces cerevisiae,* 18.6% *Torulaspora delbrueckii,* 11.3% *Candida krusei*, 9.3% *Candida lusitaniae,* 3.1% *Metschnikowia pulcherrima,* 2.1% *Wickerhamomyces anomalus,* 2.1% *Candida kefyr,* 1% *Cyberlindnera fabianii* and 1% were *Candida parapsilosis.* Only two lactic acid bacteria could be identified, which were given as *Lactobacillus reuteri* and *Enterococcus.* Common yeast species isolated from all of the productions were recorded as *H. uvarum*, *S. cerevisiae*, *T. delbrueckii*, *M. pulcherrima*, *C. krusei* and *C. lusitaniae.* It was observed that yeast count and species diversity were higher in the products produced with fermentation, and some different genera such as *Wickerhamomyces* and *Pichia,* and different species such as *C. parapsilosis*, *W. anomalus* and *C. kefyr* were identified from these products. Cornelian cherry tarhana was found to be rich in *H. uvarum* and *S. cerevisiae* species. *T. delbrueckii* was the only species identified from the final product in all productions with and without fermentation. As an outcome of this study, 97 indigenous yeast isolates identified at species level were obtained which could be used in different biotechnological applications and other purposes in industry.

KEYWORDS: Cornelian Cherry Tarhana, Fermentation, Buckwheat, Hull-less Barley, Clear Flour, Microflora, Yeast, MALDI-TOF/TOF MS

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET…….....v

ABSTRACT……..vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGE LİSTESİ.....x

TEŞEKKÜR xii

1. GİRİŞ.....1

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI 4

3. MATERYAL VE YÖNTEM 25

3.1.1 Materyal 25
3.1.2 Kızılcık Tarhanası Üretiminde Kullanılan Hammaddeler 25
3.1.3 Besiyerleri 25
3.2 Metot 26
3.2.1 Kızılcık Tarhanası Üretimi 26
3.2.2 Maya ve Laktik Asit Bakterisi İzolasyonu: 29
3.2.3 Elde Edilen İzolatların Tanımlanması: 31

4. BULGULAR VE TARTIŞMA 33

4.1 Mikroorganizma İzolasyon Sonuçları.....33
4.2 Kızılcık Tarhanalarının Üretimleri Sırasında Farklı Aşamalarda İzole Edilen Mikroorganizmalara Ait Tanımlama Sonuçları 45
4.3 Farklı Hammaddelerle Üretilen Kızılcık Tarhanaları için Elde Edilen Tanımlama Sonuçlarına Ait Değerlendirme.....59
4.4 Tanımlamaları Yapılan İzolatlarının Makroskobik ve Mikroskobik Morfolojileri ile Sıvı Besiyerinde Gelişme Özellikleri 67
4.4.1 *Candida* cinsi maya izolatlarına ait özellikler 67
4.4.2 *Hanseniaspora uvarum* türü maya izolatlarına ait özellikler.....68
4.4.3 *Saccharomyces cerevisiae* türü maya izolatlarına ait özellikler..68
4.4.4 *Metschnikowia* cinsi maya izolatlarına ait özellikler.....69
4.4.5 *Wickerhamomyces* cinsi maya izolatlarına ait özellikler 69
4.4.6 *Cyberlindnera* cinsi maya izolatlarına ait özellikler.....70
4.4.7 *Pichia* cinsi maya izolatlarına ait özellikler.....70
4.4.8 *Lactobacillus reuteri* izolatına ait özellikler.....71
4.4.9 *Enterococcus* cinsi izolata ait özellikler 71

5. SONUÇ VE ÖNERİLER 72

6. KAYNAKLAR 76

7. EKLER 85

EK A Araştırmada Kullanılan Besiyerleri 85
EK B MRS Agar ve M17 Agarla Elde Edilen İzolatların Katalaz Testi Sonuçları 87
EK C Bazı Suşlara Ait Mikroskobik Görüntüler 90
EK D Bazı Suşların MALDI - TOF/TOF MS ile Elde Edilen Protein Profillerini Gösteren Kütle Spektrumları 95

8. ÖZGEÇMİŞ 106

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. MALDI-TOF MS yönteminde kullanılan bazı matriksler (Shiller ve ark., 2004).....22
Şekil 3.1. Kızılcık tarhanası üretim metodu.....28
Şekil C.1. *C. krusei* LFKBHc-8 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).....90
Şekil C.2. *C. lusitaniae* LİAH-10 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).....90
Şekil C.3. *C. kefyr* LFAH-6 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).....91
Şekil C.4. *C. parapsilosis* LFİAHb-8 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).....91
Şekil C.5. *H. uvarum* MİAH-1 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).....92
Şekil C.6. *S. cerevisiae* LFAD-5 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).....92
Şekil C.7. *M. pulcherrima* MFKD-1 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).....93
Şekil C.8. *W. anomalus* MFKBHb-2 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).....93
Şekil C.9. *Cy. fabianii* MİAU-1 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).....94
Şekil C.10. *Lb. reuteri* LKBU-4 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).....94
Şekil D.1. *H. uvarum* MP-1 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....95
Şekil D.2. *S. cerevisiae* LP-6 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....96
Şekil D.3. *C. lusitaniae* LP-9 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....97
Şekil D.4. *C. krusei* LP-2 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....98
Şekil D.5. *Cy. fabianii* MİAU-1 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....99
Şekil D.6. *T. delbrueckii* MKD-1 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....100
Şekil D.7. *M. pulcherrima* MFKD-1 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....101
Şekil D.8. *C. kefyr* LFAH-6 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....102
Şekil D.9. *C. parapsilosis* LFİAHb-8 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....103
Şekil D.10. *W. anomalus* MFİAHb-4 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....104
Şekil D.11. *Lb. reuteri* LKBU-4 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.....105

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Tahıl bazlı fermente ürünler ve fermantasyonda rol alan mikroorganizmalar (Blandino ve ark., 2003; Şengün, 2006) 7
Çizelge 3.1. Kızılcık tarhanası hamurlarının hazırlanmasında kullanılan bileşenler ve yüzdeleri 27
Çizelge 3.2. İzolatlar için kullanılan kodlar ve açıklamaları 30
Çizelge 4.1. Kızılcık püresi ve farklı unlardan elde edilen izolatlar 33
Çizelge 4.2. Ekmeklik buğday unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar 35
Çizelge 4.3. Ekmeklik buğday unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar 35
Çizelge 4.4. Kavuzsuz arpa unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar 36
Çizelge 4.5. Kavuzsuz arpa unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar 37
Çizelge 4.6. Karabuğday unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar 38
Çizelge 4.7. Karabuğday unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar 39
Çizelge 4.8. İrmik altı unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar. 39
Çizelge 4.9. İrmik altı unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar. 40
Çizelge 4.10. Kızılcık tarhanası üretiminde kullanılan kızılcık meyvesi püresi ve farklı tahıl unlarından izole edilen maya sayıları [log (kob/g)]. 42
Çizelge 4.11. Farklı tahıl unları ile üretilen kızılcık tarhanalarının fermantasyon içermeyen üretimlerinin farklı aşamalarında izole edilen maya sayıları [log (kob/g)]. 42
Çizelge 4.12. Farklı tahıl unları ile üretilen kızılcık tarhanalarının fermantasyon içeren üretimlerinin farklı aşamalarında izole edilen maya sayıları [log (kob/g)] 44
Çizelge 4.13. Kızılcık püresinden elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 46
Çizelge 4.14. Karabuğday unundan elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 47
Çizelge 4.15. İrmik altı undan elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 47
Çizelge 4.16. Ekmeklik buğday unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 48

Çizelge 4.17. Ekmeklik buğday unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 49
Çizelge 4.18. Kavuzsuz arpa unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 50
Çizelge 4.19. Kavuzsuz arpa unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 51
Çizelge 4.20. Karabuğday unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 53
Çizelge 4.21. Karabuğday unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 54
Çizelge 4.22. İrmik altı un ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 56
Çizelge 4.23. İrmik altı un ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları 57
Çizelge 4.24. Ekmeklik buğday unu kullanılarak yapılan üretimlerde, çeşitli aşamalarda tanımlanan mikroorganizma türleri 61
Çizelge 4.25. Kavuzsuz arpa unu kullanılarak yapılan üretimlerde, çeşitli aşamalarda tanımlanan mikroorganizma türleri 62
Çizelge 4.26. Karabuğday unu kullanılarak yapılan üretimlerde, çeşitli aşamalarda tanımlanan mikroorganizma türleri 63
Çizelge 4.27. İrmik altı un kullanılarak üretilen kızılcık tarhanası 64
Çizelge B.1. MRS Agardan İzole Edilen İzolatların Katalaz Testi Sonuçları .. 87
Çizelge B.2. M17 Agardan İzole Edilen İzolatların Katalaz Testi Sonuçları ... 88

TEŞEKKÜR

Maddi ve manevi desteğini, yardımını, sabrını ve samimiyetini benden esirgemeyen, yüksek lisans eğitimim süresince bana karşı hep yol gösterici olan, hem akademik hem psikolojik danışmanım, değerli hocam Sayın Doç. Dr. Seda KARASU YALÇIN'a,

Tez çalışmam sırasında, karabuğday unu, kavuzsuz arpa unu ve irmikaltı unun elde edilmesini sağlayan ve kızılcık tarhanası üretimlerinde yardımlarını esirgemeyen Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Erkan YALÇIN'a,

Tez çalışmasının gerçekleştirilebilmesi için işletmelerinin kapısını açarak tarhanaların üretiminde yardımcı olan ve projede kullanılan kızılcık püresini temin eden Bolu El İşi Hatıraları Derneği (BEHDER)'e,

BAP – 2016.09.04.1084 numaralı araştırma projesi ile bu tez çalışmasını destekleyen Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına,

Çalışmada elde edilen izolatların MALDI-TOF/TOF MS yöntemi ile tanımlanmasının gerçekleştirildiği Bilimsel Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi (BETUM)'ne,

Projenin keyifli geçmesini sağlayan, her aşamada hep yanımda olan ekip arkadaşlarım Arş. Gör. Kübra ERYAŞAR ÖRER ve Ezgi KARADEMİR'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince bana yardımcı olan ve destek veren başta Fikret ERSOY olmak üzere değerli mesai arkadaşlarıma,

Proje ve tez aşamalarının sürdüğü uzun, yoğun ve stresli dönemlerde beni yüreklendiren ve yanımda olan, çalışmalarım süresince hem sabreden hem destek veren canım kızım Z. Beril, eşim Özgür ve değerli annesine,

Doğduğum günden itibaren hep iyi yetiştirilmiş evlatlar olmamız için çabalayan, maddi ve manevi desteklerini bir an olsun esirgemeyen, bulunduğum mevkinin mimarı olan canım babam, annem ve kız kardeşlerime teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Dünya'da ve ülkemizde gerek geleneksel yöntemlerle, gerekse son yıllarda ev ölçeğinde üretilmekten çıkıp endüstriyel işletmelerde üretilen ve fermantasyon prosesinin uygulandığı tahıl bazlı çok önemli ürünler bulunmaktadır. Ekmek ve bozadan sonra ülkemizde ilk akla gelen tahıl bazlı bir ürün olan tarhana, yüksek besin içeriğine ve kalitesine sahip, en önemli geleneksel fermente ürünlerinden biridir (Kabak ve Dobson, 2011; Kıvanç ve Funda, 2017; Özdemir ve ark., 2012; Şengün ve ark., 2009; Temiz ve Pirkul, 1990). Tarhana üretiminin modifikasyonu ve fonksiyonel yeni ürün geliştirilmesiyle ilgili çalışmaların son yıllarda arttığı görülmektedir (Bilgiçli, 2009; Durmuş, 2015; Erdem, 2008; Yalçın ve ark., 2008). Bu amaçla buğday ununa ikame olarak diğer hububatlar, baklagiller ya da tahıl kepekleri kullanılabilmektedir. Bu kapsamda farklı hammaddeler kullanılarak gluten içermeyen tarhana üretimleri de yapılabilmektedir.

Tarhana çeşitlerinden biri olan kızılcık tarhanası (*Cornus mas* L.) ise, özellikle Bolu ili başta olmak üzere Batı Karadeniz Bölgesinde üretilen, ekşi tarhana olarak da bilinen yöresel tarhana çeşitlerinden biridir. Geleneksel kızılcık tarhanasının bileşimi ekmeklik buğday unu, kızılcık meyvesi püresi ve tuzdan meydana gelmektedir. Ayrıca, kızılcık tarhanasının geleneksel üretiminde tarhana üretiminden farklı olarak, fermantasyon işlemi uygulanmamaktadır (Blandino ve ark., 2003; Coşkun, 2014; Temiz ve Pirkul, 1990). Ayrıca Bolu kızılcık tarhanası 01.12.2017 tarihinden itibaren coğrafi işaretli (mahreç işareti) ürünler arasında yer almıştır.

Yöresel olarak farklılık gösteren çeşitli fermente gıdaların mikroflorasından, farklı biyokimyasal ve teknolojik özellikler taşıyan yeni yerli suşların izolasyonu, son yıllarda birçok çalışmanın konusu olmuştur (Alan ve Dığrak, 2012; Karabıyıklı ve Karapınar, 2008; Karasu Yalçın ve ark., 2012; Korucu, 2012; Köksalan ve ark., 2015; Şenses Ergül, 2009; Tangüler ve Erten, 2012). Geleneksel tarhana üretiminde fermantasyonda rol oynayan mikroorganizmaların araştırılmasına yönelik çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Özel, 2012; Settanni ve ark., 2011; Şengün ve ark., 2009). Üretiminde yoğurt kullanılması nedeniyle, tarhana fermantasyonunda rol oynayan

başlıca mikroorganizmaların laktik asit bakterileri olduğu, bunu mayaların izlediği belirtilmektedir. Kızılcık tarhanası ise; isminde "tarhana" kelimesi yer almasına rağmen, formülasyonunda ağırlıklı olarak kızılcık meyvesini içeren, bileşiminde yoğurt içermeyen ve fermantasyon uygulanmadan üretilen bir üründür. Teknolojik anlamda geleneksel tarhanadan oldukça farklı olan bu ürünün sahip olduğu mikrofloranın detaylı olarak incelendiği bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır.

Bu araştırmada; ekmeklik buğday ununun yanı sıra, karabuğday unu, kavuzsuz arpa unu ve irmik altı un kullanılarak, farklı kızılcık tarhanası üretimleri gerçekleştirilmiştir. Her bir hammadde için yapılan üretimler, fermantasyon uygulanarak ve uygulanmadan, iki farklı şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu tez çalışması; Abant İzzet baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenen, BAP – 2016.09.04.1084 numaralı ve "Farklı Tahıl Unları ile Üretilen Kızılcık Tarhanalarının Besinsel, Mikrobiyolojik ve Pişme Özellikleri Üzerine Fermantasyonun Etkisinin İncelenmesi" başlıklı proje kapsamında yürütülmüştür. İlgili projenin temel amacı; geleneksel olarak ekmeklik buğday unu ile üretilen kızılcık tarhanasında farklı unların kullanımı ve fermantasyon uygulamasının, hem ürünün kalite özellikleri hem de mikroflorası üzerindeki etkilerinin incelenmesi olmuştur. Bu çalışmada, üretimde kullanılacak un çeşitleri seçilirken karabuğday unu, irmik altı unu ve kavuzsuz arpa ununun tercih edilmesinin önemli sebepleri bulunmaktadır. Karabuğday, yüksek düzeyde besinsel lif, protein, fenolik madde içermesi, yüksek antioksidan aktivitesi ve ayrıca glutensiz olması sebebiyle; kavuzsuz arpa, yüksek besinsel lif ve özellikle β-glukanca zengin olması sebebiyle; irmik altı un ise makarna endüstrisinin önemli bir artığı olması ve yüksek besinsel lif ve protein içeriği sebebiyle bu araştırmada kızılcık tarhanası üretiminde değerlendirilmiştir. Bu şekilde Bolu ve çevresinde üretim yapan işletmelere besinsel özellikleri iyileştirilmiş alternatif ürünler kazandırılması da hedeflenmiştir.

Üretilen yeni ürünlerin mikrofloralarının incelenmesi, bu tez çalışmasının kapsamını oluşturmuştur. Yapılmış olan bu çalışmayla, geleneksel kızılcık tarhanası ürününde farklı tahıl unlarının kullanımıyla ve fermantasyon işleminin uygulanmasıyla ürün çeşitliliğinin geliştirilmesi ve kızılcık tarhanasının mikroflorasının ilk kez ortaya konularak, tanısı yapılmış yeni suşlar elde edilmesi amaçlanmıştır. Kızılcık tarhanasının mikroflorasının ilk kez ortaya konmuş olması ve

ileride çeşitli amaçlarla değerlendirilebilecek yeni suşların elde edilmiş olması çalışmanın en önemli kazanımlarından birini oluşturmuştur. Bahsi geçen bu suşların tanımlanmasında, biyokimyasal esaslı geleneksel yöntemlerin yerini alan ve son yıllarda kullanımı giderek artan, mikroorganizma tanısının protein profilleri esas alınarak yapıldığı moleküler esaslı bir yöntem olan MALDI-TOF/TOF MS (Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight time-of-flight mass spectrometry) kullanılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Fermantasyon; yüzyıllardan beri uygulanmakta olan en ekonomik gıda üretim ve koruma yöntemlerinden biridir. Fermente ürünler; genellikle antimikrobiyel, antioksidan, probiyotik, kolesterol düşürücü ve insan sağlığına faydalı bileşiklere sahip olmaları sebebiyle fonksiyonel ve terapötik etkileri olan gıdalardır. Fermente gıdalarda tat ve besinsel değerin geliştirilmesi de sağlanmakta, fermantasyon sırasında uygun özelliklerde mikroorganizmaların bulunması gıdaların bileşiminde proteinler, vitaminler, esansiyel aminoasitler ve yağ asitleri açısından zenginleştirme sağlanmaktadır. Bazı mikroorganizmalar tarafından aroma bileşenleri, çeşitli polisakkaritler veya organik asitler de üretilmektedir (Hancıoğlu ve Karapınar, 1998; Kılınç, 2004; Tamang ve ark., 2016).

Fermantasyonun mekanizmasının çözülmesinin ardından, şehir ve kasabalardaki nüfusun artması ve beslenme açısından fermente gıdaların oldukça faydalı bulunması, sanayicilerin fermente gıdalara olan ilgisini artırmıştır. (Ross ve ark., 2002; Şengün, 2006). Günümüzde, birçok yerli veya geleneksel fermente yiyecek ve içecekler geleneksel yöntemlerle ev ölçeğinde ya da çok küçük işletmelerde üretilmekteyken, bazı ürünler için oldukça büyük çaplı ticari üretimler de yapılmaktadır. (Blandino ve ark., 2003). Uzak geçmişte, fermente gıdalar hakkında ekonomi, beslenme, teknoloji ve kalite üzerine etkileri için doğrulanmış bir veri bulunamamışken, dünyanın birçok yerinde yaygın olarak üretilen ve diyetlerde önemli bir yer tutan fermente gıdalar üzerine yapılan çalışmalar son 20 yılda oldukça artmıştır (Blandino ve ark., 2003; Ross ve ark., 2002; Şengün, 2006).

Biyoteknolojinin bilinen en eski uygulama alanlarından biri olan gıda fermantasyonu, çevreden izole edilen seçilmiş starter kültürler ve son zamanlarda da gen teknolojisi aracılığı ile geliştirilmiş suşların kullanılmasıyla, doğal proseslerden bugünkü durumuna ulaşmıştır. Laktik asit bakterileri, küflerden özellikle *Aspergillus* ve *Penicillum* türleri, mayalardan da *Saccharomyces* türleri bu ürünlerin oluşumunda çok önemli rol oynayan mikroorganizmalardır (Boyacıoğlu ve Dappolonia, 1994; Kılınç, 2004). Gıda fermantasyon proseslerinde; mayaların ürettiği etil alkol ve karbondioksit, *Acetobacter* türlerinin ürettiği asetik asit, *Leunocostoc, Lactobacillus*

ve *Streptococcus* başta olmak üzere laktik asit bakterilerinin ürettiği laktik asit, *Propionibacterium* türlerinin ürettiği propionik asit ve *Bacillus* ve küfler tarafından üretilen amonyak ile yağ asitleri başlıca birincil metabolitleri oluşturmaktadır (Marco ve ark., 2017).

Fonksiyonel özelliğe sahip fermente ürünler dünyada pek çok ülkede beslenmede önemli bir yer teşkil etmektedir. Bu tip fermente ürünler arasında fermente süt ürünleri (kefir, kımız, probiyotik yoğurt, peynir vb.), fermente meyve-sebzeler (şarap, turşu vb.), fermente et ürünleri (sucuk, pastırma, fermente sosis vb.), fermente yağlı tohumlar (soyalı ürünler; soya sütlü içecekler, tempeh, natto, tofu vb.) ve tahıl bazlı ürünler (tarhana, boza, ekşi hamur ekmeği) yer almaktadır (Evren ve ark., 2017; Hancıoğlu ve Karapınar, 1998).

Tahıl bazlı fermente ürünler, ülkeden ülkeye çeşitlilik gösteren ve besin değeri yüksek olan gıdalardır. Fermantasyonda rol oynayan laktik asit bakterilerinin gıda bozulmalarına ve gıda zehirlenmelerine neden olabilen mikroorganizmaların inhibisyonunu sağladığı belirtilmektedir. Ayrıca fermantasyon sırasında oluşan lezzet ve aroma bileşenleri, ürünlerin tipik özelliklerini oluşturmaktadır (Hancıoğlu ve Karapınar, 1998). Genel olarak, tahıl ürünlerinin fermantasyonu sonucu; karbonhidrat ve sindirilemeyen oligo/polisakkaritlerin sindirilebildiği, bazı aminoasitlerin sentezlenebildiği, B vitamini içeriğinde artış sağlandığı, hububat ürünlerinde bulunan fitatların optimum pH'da enzimatik yıkımları sonucunda, çözünebilir demir, çinko, kalsiyum gibi maddelerin miktarlarında artış sağlandığı, substrat toksisitesinin azaltıldığı, protein miktarı ve kalitesinde artış sağlandığı ve diyet lifi açısından ürünün öneminin arttırıldığı bildirilmektedir (Blandino ve ark., 2003; Şengün, 2006; Teniola ve Odunfa, 2001).

Laktik asit fermantasyonuna dayanan tahıl bazlı gıdalar özellikle Orta Asya, Orta Doğu ve Afrika'da yaygın olarak geleneksel yöntemlere göre üretilmektedirler. Bu ürünlerin üretildikleri ülkelerin coğrafyaları, kültürleri, dinleri farklı olmalarına rağmen bir takım ortak özelliklere sahiptirler (Gümüş ve Coşkun, 2008; Hancıoğlu ve Karapınar, 1998; Ross ve ark., 2002). Bu fermente ürünlerin çoğu darı, mısır, buğday, sorgum gibi tahıl kökenli olup, süt ürünleri gibi hayvansal ya da baklagiller gibi bitkisel kaynaklı protein kaynakları ile besin içerikleri zenginleştirilmiştir. Fermantasyonda rol alan mikroorganizmalar genellikle kullanılan hammaddenin

mikroflorasında bulunan mikroorganizmalardır. Fermantasyonun sıvı veya katı fazda gerçekleştiği bu ürünlerde, fermantasyon sırasında önemli rol oynayan mikroorganizmalar çoğunlukla laktik asit bakterileri ve mayalardır (Gümüş ve Coşkun, 2008; Hancıoğlu ve Karapınar, 1998; Ross ve ark., 2002).

Tahıl bazlı fermente ürünler; turşu ve şarap gibi diğer fermente ürünlerle kıyaslandıklarında daha yüksek su aktivitesi, daha düşük asitliğe ve alkol konsantrasyonuna sahip olduklarından raf ömürlerinin daha kısa olduğu gözlenmektedir. Ancak hububat bazlı fermente ürünlerde lezzet ve doku gelişimi ürünün raf ömründen daha fazla önem taşımaktadır. Laktik fermente ürünlerde antimikrobiyel etki fermantasyon sırasında oluşan organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosin gibi metabolik ürünlerden kaynaklanabilmektedir (Erdem, 2008; Hancıoğlu ve Karapınar, 1998). Fermente ürünlerin, fermente olmamış substratlarıyla kıyaslandığında besin değerlerinde özellikle protein miktarında artış gözlenmektedir. Bu protein miktarındaki artışın mikroorganizmaların proteinaz aktivitelerinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Erdem, 2008; Hancıoğlu ve Karapınar, 1998).

Dünyada; laktik asit fermantasyonuna dayanan tahıl bazlı fermente ürünler Orta Asya, Orta Doğu ve Afrika'da yaygın olarak geleneksel yöntemlere göre üretilip tüketilmektedir. Geleneksel fermente tahıl ürünleri yaygın olarak pirinç, buğday, mısır, sorgum bazlı olup, dünyanın pek çok yerinde tüketimlerinin yaygın olduğu bilinmektedir (Blandino ve ark., 2003; Şengün ve ark., 2009). Bu ürünlerden bazılarına ait özellikler, Çizelge 2.1'de sunulmuştur. Güneydoğu Asya ülkelerinde yaygın olarak üretilip tüketilen idli, pirinç bazlı fermente bir üründür. Geleneksel olarak üretiminde; pirinç ve siyah fasulye ayrı ayrı ıslatılıp suyu uzaklaştırılmakta ve öğütülmekte, tuz ilave edilerek gece boyu oda sıcaklığında fermantasyona bırakılmaktadır. Oluşan bulamaç 5-8 dakika buharlandırılmaktadır. İdli genellikle kahvaltıda ve ara öğünlerde tüketilmektedir. Dosanın idliden farkı, kuru ısı ile değil çok az yağ ile buharlanmaya bırakılmasıdır. Daha sonra, 8-20 saat arası fermantasyona bırakılmaktadır. Besin değeri açısından idliye benzemektedir. Dhokla ise idliye benzer olup siyah fasulye yerine Bengal fasulyesi kullanılmakta, ayrıca pirinç ve nohut unu karışımı da fermantasyonda kullanılmaktadır. Bira, sake, boza, chicha ve mahewu Dünyanın en popüler tahıl bazlı fermente içeceklerdir (Blandino

ve ark., 2003). Mahewu, mısır unundan yapılmış alkolsüz ekşi bir içecek olup Afrika ve Arap Körfez ülkelerinde tüketilmektedir. Sorgum, darı maltı ve buğday unu su ile karıştırılıp fermantasyona bırakılmaktadır. Fermantasyon doğal flora ile oda sıcaklığında gerçekleşmektedir. En yaygın tüketildiği yer, Zimbabve ülkesidir (Blandino ve ark., 2003; Gadaga ve ark., 1999). Boza, Firavunlar zamanından beri bilinen fermente alkollü buğday içeceğidir. Üretimde, buğday taneleri öğütülüp su ilavesi yapılarak hamur haline getirilmektedir. Hamur kalın somun şeklinde kesilip hafifçe pişirilmekte, şeker ilavesiyle alkol ve laktik asit fermantasyonları gerçekleştirilmektedir. Oluşan ürün; açık sarı renkli, koyu kıvamlı ve ekşimsi bir lezzettedir (Blandino ve ark., 2003; Kabak ve Dobson, 2011; Tuncer ve ark., 2008).

Çizelge 2.1. Tahıl bazlı fermente ürünler ve fermantasyonda rol alan mikroorganizmalar (Blandino ve ark., 2003; Şengün, 2006)

Ürün	**Ülke**	**Hammadde**	**Mikroorganizmalar**
Bouza (Alkollü içecek)	Mısır	Buğday, malt	Laktik asit bakterileri
Boza (İçecek)	Türkiye, Kırım, Kafkaslar, Balkanlar, İran, Mısır	Mısır, pirinç, buğday	*Leuconostoc* spp., *Lactobacillus* spp., *Saccharomyces cerevisiae*
Busaa (Alkollü içecek)	Kenya, Nijerya	Mısır, sorgum, malt, darı	*Candida krusei, S. cerevisiae, Lb. helveticus, Lb. salivarius, Lb. plantarum, Lb. brevis, Lb. buchneri, Pediococcus damnosus*
Chicka (Katı yiyecek)	Peru	Mısır	*Saccharomyces cerevisiae, Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp.
Dhokla (Kek)	Hindistan	Pirinç, nohut	*Lb. fermentum, Leu. mesenteroides, Hansenula silvicola, Torulopsis candida*

Çizelge 2.1. (devam)

Ürün	**Ülke**	**Hammadde**	**Mikroorganizmalar**
Dosa (Kek)	Hindistan	Pirinç, bir çeşit nohut	*Leu. mesenteroides, Streptococcus faecalis, Lb. fermentum, Saccaromyces cerevisiae*
Enjera/Injera (Pankek)	Etiyopya	Teff, sorgum, mısır, buğday	*Leu. mesenteroides, Pediococcus cerevisiae, Lb. plantarum, Saccharomyces cerevisiae, Candida guillermondii*
Gari (Kek, lapa)	Nijerya	Kasava	*Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp.
Hopper (Pankek)	Sri Lanka	Pirinç, hindistan cevizi suyu	Maya, laktik asit bakterileri
Idli (Kek)	Hindistan, Sri Lanka	Pirinç, siyah fasulye	*Leu. mesenteroides, Lactobacillus* spp., *Streptomyces faecelis, Torulopsis* spp., *Candida, Trichosporon pullulans*
Kenkey (Lapa)	Gana	Mısır	*Lb. fermentum, Lb. reuteri, Candida, Fusarium* spp., *Saccharomyces, Penicillium* spp., *Aspergillus* spp.
Khanomjeen (Nodıl)	Tayland	Pirinç	*Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp.
Kishk (Çorba)	Mısır	Buğday, süt	*L. casei, L. brevis, Lb. plantarum, S. cerevisiae*
Kivunde (Çorba)	Tanzanya	Kasava	*Lb. plantarum*

Çizelge 2.1. (devam)

Ürün	Ülke	Hammadde	Mikroorganizmalar
Mısır ekmeği	Farklı ülkeler	Mısır, buğday	*Lactobacillus* spp., *Pediococcus acidilactici, Pediococcus pentosaceus*
Nohut mayası ekmeği	Türkiye	Nohut, buğday	*Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *S. thermophilus, Saccharomyces cerevisiae*
Ogi (Bebek maması)	Nijerya, Mısır	Sorgum, darı	*Lb. plantarum, Saccharomyces cerevisiae, Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp.
Puto (Kek)	Filipinler	Pirinç	*Leu.mesenteroides, Streptomyces faecelis*
Sake (Alkollü içecek)	Japonya	Pirinç	Laktik asit bakterileri, *Saccharomyces sake*
San Francis ekmeği	Fransa	Buğday unu	Laktik asit bakterileri, *Candida milleri, Lb. sanfranciscensis*
Soya sosu (Sos)	Japonya, Çin, Tayvan	Soya fasulyesi, buğday	*Aspergillus* spp., *Lactobacillus* spp., *Zygosaccharomyces rouxii*
Soya sütü (İçecek)	Çin, Japonya	Soya fasulyesi	Laktik asit bakterileri
Takju (İçecek)	Kore	Pirinç, buğday	Laktik asit bakterileri, *S. cerevisiae*
Tarhana (Çorba)	Türkiye	Yoğurt, un	Laktik asit bakterileri
Tauco	Endonezya	Tahıl, soya fasulyesi	*Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp.

Çizelge 2.1'de yer alan çeşitli ürünlerin mikrofloralarının ağırlıklı olarak laktik asit bakterilerinden oluştuğu, bazı ürünlerde ise bunun yanında maya ve küflerin de yer aldığı görülmektedir.

Ülkemizde tahıl bazlı fermente ürünler arasında yaygın olarak; boza, nohut mayası ekmeği ve tarhana bulunmaktadır. Geleneksel fermente Türk içeceği olan boza; Balkanlar, Kırım, Kafkasya, Orta Asya ve Mısır'a kadar yayılmıştır ve değişik yerlerde farklı kıvam ve lezzetle tanınır (Tuncer ve ark., 2008). Geleneksel ürünlerimizden bir diğeri olan ancak günümüzde oldukça sınırlı miktarlarda üretilen nohut mayası ekmeği, tatlı maya olarak da bilinen nohut mayasından üretilmekte ve fermantasyon laktik asit bakterileri ile mayalar tarafından gerçekleştirilmektedir (Hancıoğlu Sıkılı, 2003).

Tahıl bazlı fermente ürünlerden en geniş çaplı üretimi olan ve çeşit bakımından oldukça zengin olan tarhana, ülkemizde yaygın olarak tüketilmekte olup, özellikle Anadolu'da kışlık olarak üretilen temel gıda maddelerinin başında gelmektedir. Tarhana genellikle fermente bir gıda ürünü olarak üretilmekte, Ortadoğu, Asya, Afrika ve Avrupa'nın bazı ülkelerinde birçok insanın diyetinde önemli rol oynamaktadır (İbanoğlu ve İbanoğlu, 1999). Mısır'da kishk, Irak'ta kushuk, Macaristan ve Finlandiya'da tahonya/talkuna gibi tarhana benzeri ürünler bulunmaktadır (Temiz ve Pirkul, 1990; Yalçın ve ark., 2008).

Macaristan'a özgü tarhana, buğday unu ve yumurtanın karıştırılmasıyla hazırlanan hamurun güneşe serilerek kurutulması ve eleme işlemi uygulanmasıyla yapılmaktadır. Finlandiya'da üretilen talkuna ise yulaf, arpa, çavdar unları ve bezelye karışımı ile oluşturulan hamurun fırında kurutulmasıyla elde edilmektedir. Mısır'da kishk adıyla bilinen tarhana, ekşi süt ve buğday karışımına şalgam ilave edilmesiyle yapılmaktadır. Yunanistan'da trahanas ise, koyun veya keçi sütüyle hazırlanan lorun buğday unu ile karıştırılmasıyla elde edilmektedir (Gürdaş, 2002).

Ülkemizde ise tarhana üretimi; buğday ununa yoğurt, maya, tuz ve bazı sebzelerin katılarak yoğrulmasının ardından fermantasyon ve kurutma aşamalarını içermektedir (Coşkun, 2014). Türk Standartları Enstitüsü'nce hazırlanan TS 2282 tarhana standardına göre ise; buğday unu, kırması, irmik veya bunların karışımı ile yoğurt, biber, tuz, soğan, domates, tat ve koku verici bitkilerin karıştırılıp

yoğurulması, fermente edildikten sonra kurutulması, öğütülmesi ve elenmesi ile elde edilen bir besin maddesidir (TS, 2004). Türkiye'de farklı yörelerde kullanılan hammaddedeki değişikliklere ve sunum şekline bağlı olarak tarhanalar arasında farklılıklar bulunmaktadır. Ege, Trakya, Gediz, Sivas, Kahramanmaraş, Beyşehir, Kastamonu gibi bölge ve illerimizde yaş, göce, göçmen, kiren (kızılcık), hamur, et, süt, üzüm tarhanaları ve ayrıca top, ak, kıymalı, şalgamlı ve pancarlı tarhanalar Türkiye'de üretilen farklı tarhana çeşitlerini oluşturmaktadır. Üretimde sürekliliğin sağlanması, kültürel ve ticari açıdan önem arz etmektedir (Coşkun, 2014).

Un tarhanası ağırlıklı olarak Ege Bölgesi'nde üretilmektedir. Domates, soğan ve aroma verici otlar kaynatılıp bir harç karışımı elde edilmekte ve bu karışım soğuduktan sonra yoğurt ve un ile karıştırılıp hamur haline getirilmekte ve fermantasyona bırakılmaktadır. Fermantasyon sonunda hamur küçük parçalar haline getirilip güneşte kurutulmakta ve kuruyan ürün elekten geçirilerek tekrar kurutulup un tarhanası elde edilmektedir. Elde edilen tarhanalar 1-2 yıl bozulmadan saklanabilmektedir.

Ankara, Kahramanmaraş, Muğla ve Aydın yörelerinde göce tarhanası yapılmaktadır. Bu tarhananın üretiminde buğday kırması çiğ olarak veya az su ve tuz ile pişirilip ılık hale gelince yoğurt ile karıştırılıp fermantasyona bırakılmaktadır. Hamur fermantasyon sonunda iri parçalar halinde çarşaf üzerinde kurutulmaktadır (Şengün, 2006). Buğday unu ve kırması kullanılmadan sadece irmikten üretilen irmik tarhanası, buğday unu, kırması ve irmikten en az ikisi kullanılmak suretiyle üretilen "karışık tarhana", bilinen diğer tarhana tipleri arasında yer almaktadır (TS, 2004). "Sütlü tarhana" adı verilen bir başka tarhana çeşidi ise Tokat, Sinop, Edirne, Tekirdağ gibi bazı illerde un, süt, yumurta karışımı ile üretilmektedir (Yücecan ve ark., 1988). Kahramanmaraş tarhanası, Dulkadiroğlu Beyliği'nden günümüze kadar üretilmeye devam etmektedir. Bu tarhana çeşidi; kabuğu soyulmuş buğdayın, bakır kazanlarda su ile pişirilip soğutulmasından sonra yoğurtla karıştırılarak kekik ve çörek otu gibi maddeler eklenmesi ve 10-12 saat süreyle fermantasyona uğratıldıktan sonra güneşte kurutulmasıyla hazırlanmaktadır. Kahramanmaraş tarhanası; çorba yapılarak, yaş olarak, yarı kuru halde (firik), çerez olarak, sıcak et suyuna ıslanarak ve yağda kızartılarak tüketilebilmektedir (Kul ve ark., 2004).

Farklı bir tarhana çeşidi olan "kızılcık (kiren) tarhanası" ise, Bolu ve çevresinde üretilen yöresel bir üründür. Kızılcık tarhanası; un, kızılcık püresi ve tuzun karıştırılıp yoğurulduktan sonra kurutulmasıyla elde edilmektedir. Tarhana hamur kütlesinin çoğunluğunu kızılcık püresi oluşturmaktadır. Genellikle fermantasyon işlemi uygulanmadığı için üretim prosesi açısından, ayrıca bileşiminde temel bileşenlerden yoğurt bulunmaması açısından diğer tarhanalardan oldukça farklı olan kızılcık tarhanası, antosiyanin ve liflerce zengin olan kızılcık içermesi nedeniyle önemli bir üründür (Koca ve ark., 2006). Aynı zamanda ekşi tarhana adını da almaktadır (Coşkun, 2014).

Kızılcık tarhanasının ana hammaddesinden biri olan kızılcık, Umbelliflorae takımının *Cornaceae* familyasından olan meyveli bir ağaç türüdür ve Türkiye'de çok geniş bir alana yayılmış bulunmaktadır. Anavatanı Anadolu, Kafkasya ve Avrupa olup, ülkemizin sahil bölgelerinde, genelde tarla ve bahçe kenarlarında tek veya birkaç ağaç halinde veya ormanlık alanlarda doğal olarak yetişmektedir. Kızılcık meyvesi (*Cornus* sp.); zeytin şeklinde, 10-20 mm uzunluğunda, genellikle tatlı-ekşi tada sahip, özel aromalı bir meyvedir. İçeriğindeki antosiyanin grubu maddelere bağlı olarak rengi koyu kırmızı, kiraz kırmızısı, pembe, sarı ve yeşil olabilmektedir (Didin ve ark., 2000).

Ülkemizde özellikle Bolu, Kastamonu ve Çorum çevrelerinde doğal olarak yetişen kültüre alınmış kızılcık meyvesi taze olarak veya reçel, marmelat, şurup, jöle, komposto, pestil, tarhana, şıra, alkollü içki ve meyve suyuna dönüştürülerek ya da kurutularak değerlendirilmektedir (Didin ve ark., 2000; Güleryüz ve ark., 1998; Uygun ve Acar, 1992). Şeker, toplam fenolik madde, antosiyanin ve askorbik asit içeriği bakımından zengin meyvelerden biridir. Kızılcık meyvesindeki sağlığı destekleyen bileşenlerin daha iyi anlaşılması ile fonksiyonel gıda, tıbbi ilaç ve nutrasötik olarak kullanıma ait çalışmaların arttığı bildirilmektedir. Kızılcık meyvesinde glukoz, fruktoz, organik asitler, glikozit, fruktozit, fenolik bileşiklerden tanen, salisilik asit, pektin ve mineral maddeler, askorbik asit, kateşin, antosiyanin, flavanolin gibi biyolojik aktif maddeler bulunmaktadır (Türk ve ark., 2003). Kızılcık, portakaldan iki kat daha fazla ve limondakine yakın miktarda C vitamini içermektedir (Kalyoncu, 1995). Kızılcık meyvesi, önemli miktarda antioksidan etkiye sahip antosiyanin ihtiva etmektedir (Tural ve Koca, 2008).

Kızılcık tarhanası, başta Bolu ve Kastamonu olmak üzere Kütahya, Bursa ve Zonguldak illerinde de üretilmektedir. Kütahya ili civarında kızılcık tarhanası üretiminde kızılcıklar yıkandıktan sonra pişirilmektedir. Pişirilen kızılcık pulpu 1:1 oranında buğday unu ile karıştırılarak yoğrulmaktadır (Coşkun, 2014; Özer, 2009). Kastamonu ili ve civarında gerçekleştirilen diğer bir üretim şeklinde ise, kızılcıklar tuz ile yumuşayıncaya kadar 3-10 gün bekletilmektedir. Daha sonra 1:1 oranında buğday unu veya göce ilave edilerek yoğurulmaktadır (Özer, 2009). Kızılcık tarhanası üretiminde genellikle fermantasyon kullanılmamasına rağmen, Kütahya yöresinde tarhana hamuru 3-7 gün fermantasyona bırakılmaktadır. Daha sonra hamur parçalar halinde temiz bir bez üzerine serilmekte, güneşten renginin solmaması amacı ile gölgede kurutulmaktadır. Kurutma işlemi boyunca tarhana ovalanarak elenmekte ve ardından tekrar kurumaya bırakılmaktadır (Özer, 2009).

Yöresel bir ürün olması nedeniyle, kızılcık tarhanası üretimi ülkemizde ev tipi olarak veya küçük çaplı işletmeler aracılığıyla yapılmaktadır. Bu nedenle, literatürde kızılcık tarhanası ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Ancak, üründe oldukça fazla miktarda kullanılan kızılcık meyvesinin kimyasal bileşimi, antioksidan özellikleri ve patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyel etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Kızılcık (*Cornus mas*) ve karayemiş (*Laurocerasus officinalis*) meyvelerinin toplam fenolik içeriğinin, fenolik kompozisyonunun belirlendiği ve meyve pulpu, ham fenol ekstraktı, monomerik ve oligomerik fenolik ekstraktlarının gıda patojenleri *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella enteritidis* üzerine antimikrobiyel aktivitelerini araştırıldığı bir çalışmada; kızılcık ve karayemişte toplam fenolik içeriği sırasıyla 412.25 ve 1124.91 mg gallik asit/100 g olarak bulunmuştur. Halk arasında şifalı bitkiler olarak bilinen kızılcık ve karayemiş meyvelerinin *E. coli* O157:H7 ve *S. enteritidis* üzerine antibakteriyal etkisi incelendiğinde her iki mikroorganizma üzerine de kızılcık meyvesi ve ekstraktlarının inhibisyon etkisinin, karayemişe göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Etanol ekstraktının inhibisyon etkisinin, içerdiği antosiyanidinlerden, aseton ekstraktının ise proantosiyanidinlerden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Hem *E. coli* O157:H7 hem de *S. enteritidis* ile yapılan çalışmalarda her iki meyve pulpunun, fenolik ekstraktlarla benzer inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucu olarak kızılcık ve karayemişin Gram-negatif patojen bakteriler

üzerine inhibisyon etkisi olduğu, ancak bu etkinin bakterisidal etkiden çok bakteriyostatik bir etki olduğu görülmüştür (Kılmanoğlu, 2010).

Ülkemizde yetişen kızılcık meyvesinin (*Cornus mas* L.) fiziksel, kimyasal ve antioksidan özellikleri üzerine yapılmış olan bir çalışmada, kızılcık meyvelerinde askorbik asit miktarı 0.16-0.88 mg/g, toplam antosiyanin miktarı 1.12-2.92 mg/g, toplam fenolik madde içeriği 2.81-5.79 mg/g olarak bulunmuştur (Tural ve Koca, 2008). On çeşit kızılcık meyvesinin (*Cornus mas* L.) antioksidan kapasitesinin araştırıldığı bir çalışmada ise, kızılcık türleri arasında antioksidan kapasitesi bakımından çok büyük farklar olduğu belirlenmiştir. (Popovic ve ark., 2012). Beş çeşit kızılcık meyvesi (*Cornus mas* L.) ve marmelatlarının antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik madde miktarları, toplam antosiyanin miktarı ve antosiyanin profili ile bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlendiği bir araştırmada; marmelat örneklerinin bu özellikleri depolama süresince 0., 1. ve 2. aylarda belirlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca kızılcık meyvesinde kuru madde, suda çözünür kuru madde, kül, pH, titrasyon asitliği ve toplam şeker analizleri de yapılmıştır. Kızılcık meyvesi ve marmelatlarının özellikle fenolik madde ve antosiyanin içerikleri bakımından zengin oldukları ve bu nedenle doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecekleri bildirilmiştir (Şengül ve ark., 2014).

Kızılcık meyvesi ilave edilerek ve edilmeden geleneksel yöntemlerle üretilen tarhana üzerine yapılmış bir çalışmada, kızılcık ilaveli tarhana hamuru ile ilavesiz tarhana hamuru karşılaştırılmış olup, kızılcık tarhanası hamurunun pH değerinin (3.6) geleneksel tarhana hamurundan (4.4) düşük olduğu bulunmuştur. Her iki tarhana örneğinin de benzer kimyasal özellikler göstermelerine rağmen tarhana formülasyonuna kızılcık ilave etmenin çorba rengini açtığı, kırmızılık ve sarılık değerlerini de azalttığı saptanmıştır. Geleneksel tarhana ve kızılcık ilaveli tarhana, duyusal analizlerde benzer puanlar almışlardır. Çalışma, kızılcığın tarhana üretiminde kullanım açısından iyi bir potansiyel teşkil edebileceğini göstermiştir (Işık ve ark., 2014). Kızılcık tarhanası üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise; ürünün 100 gramındaki enerji 346 kal, nem 9.4 g, protein 8.7 g; yağ 0.5 g; karbonhidrat 76.7 g ve kül 4.7 g olarak belirtilmiştir. Kızılcık tarhanasında toplam fenolik madde 2049.5 mg gallik asit/kg ve toplam antioksidan aktivitenin % 81.5 olduğu bildirilmiştir (Özer, 2009; Coşkun, 2014).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde kızılcık tarhanası üretiminde farklı tahıl unlarının kullanıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak klasik tarhana üretiminde farklı unların kullanıldığı çeşitli fonsiyonel ürün denemelerine ait çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Bilgiçli, 2009; Durmuş, 2015; Erdem, 2008; Yalçın ve ark., 2008). Bazı araştırmacılar, tarhanada buğday unu ve/veya yoğurda takviye olarak ya da ikame etmesi amacıyla diğer hububatları, baklagilleri, buğday tohumu ya da buğday kepeğini ekleyerek tarhananın ve tarhana benzeri ürünlerin besinsel değerini yükseltildiğini bildirmişlerdir (Özdemir ve ark., 2007). Tarhana üretiminde buğday unu haricindeki unlar (mısır, arpa, çavdar, pirinç) kullanılabilmektedir. Yapılan bir araştırmaya göre mısır unu ile yapılan tarhanaların kıvam bakımından yetersiz olduğu bildirilmiştir (Tarakçı, 1992). Bu durumda kıvam artırıcı ajanların kullanılması gerekmektedir (Phillips ve Williams, 2009). Tarhanada kullanılan hammaddelerin miktarı ve çeşidi, besin içeriğini ve duyusal nitelikleri etkilemektedir (İbanoğlu ve ark., 1995). Ülkemizde tarhana daha çok beyaz buğday unu ve irmikle yapılmaktadır (TS, 2004). Fakat bu kaynaklardan gelen gluten, tarhanayı çölyak hastaları için uygunsuz hale getirmektedir (Yalçın ve ark., 2008).

Çölyak hastalarının sayısının dünya çapındaki genel nüfusun %1'i civarında olduğu tahmin edilmektedir (Catassi ve Fasano, 2008). Çölyak hastalığı; buğday, çavdar, arpa ve yulafta bulunan sırasıyla gliadin, sekalin, hordein ve avenin proteinlerine karşı bir intoleranstır (Thompson, 1997). Bu nedenle hastalar buğday, arpa, çavdar, yulaf ve buğday-çavdar melezi olan tritikale tahıllarını içeren gıdaları tüketememektedirler (Türksoy ve Özkaya, 2006). Bu tahıllardan bahsi geçen proteinlerin uzaklaştırılması ile tekstür ve renk gibi özelliklerde kalite düşüşü söz konusu olmaktadır (Gallagher ve ark., 2004). Bu tahıllar, çölyak hastalığı olan bir kişi tarafından tüketildiği zaman, ince bağırsak mukozasına zarar vererek besinlerin emiliminde düzensizliğe sebep olurlar (Thompson, 1997). Son yıllarda, bu hastaların tüketebileceği yeni fonksiyonel gıda üretimine yönelik çalışmalar artmıştır. Bu konuda, tarhana ile ilgili de sınırlı sayıda yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Karabuğday unu, pirinç unu ve mısır nişastasından çeşitli oranlarda kullanılarak üretilen glutensiz tarhana örnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada, kontrol örneği buğday unu tarhanasıyla glutensiz tarhana örnekleri karşılaştırılmıştır. Glutensiz ilk formülasyonda; %40 karabuğday unu, %30 pirinç unu, %30 mısır nişastası, ikinci formülasyonda; %60 karabuğday unu %20 pirinç unu ve %20 mısır nişastası

kullanmıştır. Karabuğday ununun % 60 seviyesine çıkarıldığında tarhananın kül ve yağ içeriğinin arttığı fakat parlaklığının olumsuz etkilendiğini gözlemişlerdir. Glutensiz tarhana formülasyonunda karabuğday unu miktarı artırıldığında K, Mg ve P içeriklerinin de önemli miktarda arttığını tespit etmişlerdir. Duyusal analizler sonucunda % 40 karabuğday unu içeren tarhananın panelistler tarafından beğenildiği ifade edilmiştir (Bilgiçli, 2009).

Mısır ve pirinç unu kullanılarak glutensiz tarhana üretminin yapıldığı bir çalışmada, tarhanada mısır ve pirinç unu kullanımının bazı duyusal özellikler bakımından kabul edilebilir çorba özelliklerine sahip olduğu belirtilmiş ve bu ürünleri tahıl bazlı yiyeceklere sınırlama getirilen çölyak hastaları için tavsiye edilebilir nitelikte olduğu ifade edilmiştir (Yalçın ve ark., 2008). Bir başka çalışmada, tarhana üretiminde buğday unu yerine mısır unu kullanılarak çölyak hastalarının tüketimine uygun glutensiz tarhana üretilmiş ve tarhanada hidrokolloid kullanımının kalite üzerine etkisi araştırılmıştır. Fırınlı mısır unu ve fırınsız mısır unu tarhana üretiminde buğday unu yerine kullanılmış ve guar gam, ksantan gam ve keçiboynuzu gamı olmak üzere 3 çeşit hidrokolloid % 0.5 ve % 1.0 oranlarında ilave edilmiştir. Ayrıca hidrokolloid ilavesi yapılmadan da üretimler gerçekleştirilmiştir. Yapılan duyusal testlere göre tarhana çorbalarında renk ve koku özellikleri artan hidrokolloid oranından olumsuz etkilenirken, kıvam ve tat-aroma özelliklerinin geliştiği görülmüştür (Durmuş, 2015).

Tarhananın mikroflorası ile ilgili çalışmalar incelendiğinde kızılcık tarhanasının mikrobiyotası ile ilgili bir çalışmanın henüz yapılmadığı ancak bu konudaki araştırmaların daha çok klasik tarhana üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Tarhana prosesinin en önemli aşaması olan fermantasyon aşamasında, yoğurttan kaynaklanan laktik asit bakterileri olan *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ile hamura ilave edilen ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) etkin rol oynamaktadır. Buna göre tarhana üretiminde, etil alkol ve laktik asit fermantasyonları eş zamanlı olarak gerçekleşmekte ve ürüne, kendine özgü bir tat kazandırmaktadır (Göçmen ve ark., 2004). Tarhana üretiminde fermantasyon işleminin duyusal özelliklerin gelişmesi açısından önemli bir aşama olduğu ancak bazı duyusal özelliklerin geleneksel tarhana üretiminde kurutma sırasında kısmen kaybolduğu ifade edilmektedir (Erbaş ve ark., 2005).

Bazı yörelerde ekmek mayası olan *S. cerevisiae*'nin karışıma doğrudan ilave edildiği ya da ekşi hamurun tarhana karışımına katılması şeklinde maya ilavesi olabildiği görülmektedir (Türker, 1991). Tarhana üretiminde mayaya yer verilmesi hem fermantasyon süresini kısaltmakta, hem de açığa çıkan bazı aminoasitler ile tarhananın tat ve koku özellikleri olumlu yönde etkilenmektedir (Temiz ve Pirkul, 1990). Maya katkısı proteinlerin çözünürlüğünü ve sindirilebilirliğini geliştirmekte ayrıca da tarhananın enerji değerini ve viskozitesini artırmaktadır (Türker, 1991). Diğer fermente gıdalar gibi, tarhanada da fermantasyon sonucu oluşan organik asitler istenmeyen mikroorganizmalar üzerine bakteriyostatik etki yapmakta ve tarhananın muhafazasını kolaylaştırmaktadır. Tarhanaya uygulanan kurutma işlemi de tarhananın daha uzun süre muhafaza edilebilmesini sağlamaktadır. Tarhana fermantasyonu sonunda pH değeri 3.8 - 4.2 gibi değerlere düşmekte ve son üründe nemin de düşük olması (%6-9) nedeniyle tarhana, bozulmaya neden olan mikroorganizmalar ve patojen mikroorganizmaların gelişmesi için elverişli olmadığı için son derece güvenilir bir ürün haline gelmektedir (İbanoğlu ve ark., 1999).

Tarhana mikroflorasının genellikle laktik asit bakterileri ve mayalardan oluştuğu bilinmektedir. Tarhana üretiminde birincil olarak laktik asit fermantasyonu gerçekleşir. Laktik asit fermantasyonunun gerçekleşmesi için temel olarak yoğurt veya ekşi süt kullanılır. Bu amaçla, Ege Bölgesi'nde torba yoğurdunun, Ankara ve diğer bazı bölgelerde ise yağı alınmış süt kesiğinin kullanıldığı bildirilmiştir (Temiz ve Pirkul, 1990). Laktik asit fermantasyonu, yoğurtla birlikte tarhana hamuruna giren *S. thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* bakterileri tarafından gerçekleştirilmekte ve üründe laktik asit oluşmaktadır. İç Anadolu ve Ankara bölgesi ile Manisa ve İzmir çevresinde bileşime ayrıca ekmek mayası (*S. cerevisiae*) eklenerek üretim yapılmaktadır (Temiz ve Pirkul, 1990). Eklenen maya ise etil alkol fermantasyonunu gerçekleştirerek üründe etil alkol ve karbondioksit oluşturmaktadır. Yoğurt bakterileri ile maya birlikte laktik asit, etil alkol, karbondioksit ve diğer fermantasyon ürünlerini üreterek tarhanaya özgü tat ve aromayı verirler (İbanoğlu ve ark., 1995).

Yapılan bir çalışmada; tarhanadan izole edilen laktik asit bakterileri; bazı biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle tanımlanmışlardır. İzolatların %27'si *Pediococcus acidilactici*, %19'u *S. thermophilus*, %19'u *Lactobacillus fermentum,*

%12'si *Enterecoccus faecium*, %7'si *Pediococcus pentosaceus*, %5'i *Leuconostoc pseudomesenteroides*, %4'ü *Wisella cibaria*, %2'si *Lactobacillus plantarum*, %2'si *Lb. delbrueckii* spp. *bulgaricus*, %2'si *Leuconostoc citreum*, %1'i *Lactobacillus paraplantarum* ve %0.5'i *Lactobacillus casei* olarak kaydedilmiştir (Şengün ve ark., 2009).

Kontrollü teknolojik koşullar altında üretilen tarhanadaki fermantasyon prosesi aşamasında mikrobiyel değişimin araştırıldığı bir çalışmada; tarhana örnekleri bazı pastörize ingradiyenlerle üretilmiş, 30 ve 40°C'de fermantasyona bırakılmıştır. Tarhana örneklerinde laktik asit bakterisi sayısı ile maya sayısı 10^7 (kob/g) - 10^8 (kob/g) arasında değişen değerlerde bulunmuş ve koliform bakteriye rastlanmamıştır. Fermantasyon aşamasında izole edilen laktik asit bakterileri fenotipik ve polimorfik özelliklerine göre sınıflandırılmıştır. Laktik asit bakterisi izolatları, 16S / 23S rRNA Intergenik Spacer Bölgesi (ITS) ve kısmi 16S rRNA gen dizilişini içeren kombine bir genetik yaklaşım ile *P. acidilactici, Lb. plantarum* ve *Lactobacillus brevis* olarak tanımlanmıştır. 40°C'de gerçekleştirilen fermantasyon işlemi pediokokların gelişimini desteklerken, 30°C'de gerçekleştirilen fermantasyon işleminin çoğunlukla laktobasillerin gelişimi desteklediği görülmüştür. İzole edilen mayalar ise 5.8 S ITS rRNA geninin Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) ile tanımlanmasıyla her iki üretimde de baskın tür *S. cerevisiae* olarak kaydedilmiştir (Settanni ve ark., 2011).

Mısır'da üretilen fermente gıdalar ile yapılan bir çalışmada; kishk ürünü mikrobiyolojik açıdan incelenmiş ve kishkin fermantasyonu sırasında *S. thermophilus* ve *Lb. bulgaricus*'un yanı sıra *Lb. casei, Lb. plantarum* ve *Lb. brevis*'in varlığı rapor edilmiştir. Fermantasyon sonucunda oluşan organik asitlerin pH'yı düşürerek veya antimikrobiyel etki göstererek üründe istenmeyen bakteriler üzerine bakteriyostatik etki yarattığı bildirilmiştir (Şengün ve ark., 2009).

Farklı katkıların tarhananın fermantasyonu üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada, tuz ve yoğurt miktarının değişimiyle laktik asit bakterileri ve maya popülasyonunun değişimi incelenmiştir. Tarhana hamurunun oluşturulduğu ilk gün fermantasyon aktivitesinin oldukça yüksek olduğu, fermantasyonun 4. gününden itibaren ise hızla düştüğü saptanmıştır. Tuzsuz tarhanada fermantasyon aktivitesinin tuzlu hamura göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Mikrobiyolojik analizler olarak

toplam bakteri sayımı, laktik asit bakterileri sayımı ve küf-maya sayımı gerçekleştirilmiştir. Tuz eklenmeden elde edilen tarhana hamurunda; tuz ile 1:1 oranında buğday unu ve yoğurttan oluşturulan tarhana hamuru ve aynı oranda tuz ile 2:1 oranında buğday unu ve yoğurttan oluşturulan tarhana hamurlarına göre toplam bakteri, laktik asit bakterileri ve küf-maya sayısı daha yüksek bulunmuştur. Tuzsuz hamurda fermantasyon başlangıcında toplam bakteri sayısı $5.5x10^7$ (kob/g), laktik asit bakteri sayısı $9.2x10^7$ (kob/g), maya sayısı $8.5x10^6$ (kob/g) olarak kaydedilmiştir (İbanoğlu ve İbanoğlu, 1999).

Fermantasyon ve depolama süresi boyunca tarhanada mikrobiyel ve kimyasal özelliklerin incelendiği bir araştırmada tarhana hamurunda asitliğin artmasıyla *Lactobacillus* spp. sayısının 6.47'den 5.44 log (kob/g)'a ve toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının da 6.43'ten 5.95 log (kob/g)'a düştüğü bildirilmiştir. Bu düşüşün depolama süresi boyunca da devam ettiği belirtilmiştir (Erbaş ve ark., 2005).

Kastamonu ve çevresinde, ev ölçeğinde üretilen ve kurutulmaksızın yaş olarak saklanan Kastamonu yaş tarhanasının muhafaza sürecinde asitlik ve mikrobiyel yükünde meydana gelen değişimi konu alan bir başka çalışmada da, farklı üreticilerden elde edilen ve daha önce temel özellikleri belirlenen 10 adet yaş tarhana örneği materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmada depolama şartları ve süresi 4^oC'de 4 ay olarak uygulanmıştır. Depolama süresi sonunda tarhana örneklerinin pH değeri 0.04 artış ile 3.81'e; asitlik derecesi de 9.1 artış ile 15.9'a ulaştığı belirlenmiştir. Bununla beraber, örneklerin temel mikrobiyolojik özelliklerindeki değişimi belirlemek için yapılan analizler sonucu, üretimde önemli mikroorganizma gruplarından *Lactobacillus* spp. sayısı 0.96 logaritmik birimlik artış ile 5.24 log (kob/g) değerine; *Lactococcus* spp. sayısı 0.74 logaritmik birimlik artış ile 5.07 log (kob/g) değerine; maya-küf sayısı 0.75 logaritmik birimlik artış ile 5.25 log (kob/g) değerine; toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı da 0.40 logaritmik birimlik artış ile 5.16 log (kob/g) değerine yükseldiği görülmüştür. Örneklerin üretim sonrası analizlerinde, sayılabilir düzeyin altında olan *Staphylococcus aureus* koliform grup mikroorganizma ve *E. coli* sayısı depolama süresi sonunda da yine sayılabilir düzeyin altında bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, Kastamonu yaş tarhanasının 4^oC'de 4 ay süresince depolanabileceği araştırma sonucu olarak kaydedilmiştir (Özdemir ve ark., 2012).

Balık eti kullanılarak üretilen tarhana ile yapılan bir çalışmada, ilk hamurdan ve fermantasyon boyunca örnekler alınmış olup toplam mezofilik aerobik bakteri sayımı, maya-küf sayımı, toplam laktik asit bakterisi sayımı ve toplam koliform grubu bakteri sayımı gerçekleştirilmiştir. Yoğurmanın hemen sonrasında (0. gün) 5.69 log (kob/g) düzeyinde bulunan laktik asit bakterisi sayısının fermantasyon sonunda (4. gün) 3.79 log (kob/g) düzeyine kadar indiği kaydedilmiştir. Yoğurmanın hemen sonrasında toplam mezofil aerob bakteri sayısı 7.53 log (kob/g) düzeyinde iken 1.ve 2. gün 7.70, 3.gün 7.60, fermantasyon sonunda ise 7.58 log (kob/g) olarak tespit edilmiştir. Hamurların yoğurma sonrasındaki ilk maya-küf sayısı 7.55 log (kob/g) olarak tespit edilmiş; 1.günde bu değer 7.70 log (kob/g)'e ulaşmıştır. 2. günde ise 7.59 log (kob/g), takip eden 3. ve 4. günlerde ise sırasıyla 7.40 ve 7.47 log (kob/g) değerleri gözlenmiştir. Tarhanada fermantasyon süresince gelişen asitlik derecesi ve buna bağlı pH düşmesi sebebiyle, patojen mikroorganizmalar için elverişsiz bir ortam oluşturulduğu anlaşılmıştır. Söz konusu çalışmada, alınan örnekler ile yapılan analizler sonucunda örneklerin hiçbirinde koliform grubu bakterilerin gelişimine rastlanmamıştır (Erdem, 2008).

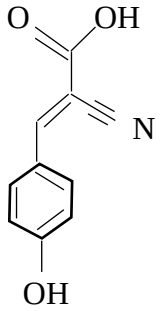
Bir başka çalışmada; probiyotik yoğurt kültürleriyle prebiyotik karbonhidratlarının ürün bileşimine katılarak üretilen tarhanada, bu öğelerin metabolizma üzerine pek çok olumlu etki yarattığı belirtilmiştir (Dayısoylu ve Çınar, 2004). Maya ilavesinin tarhana üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, maya katkısının tarhana örneklerinde suda eriyebilir protein miktarını, çiğ tarhanada protein sindirilebilirliğini, enerji değerini ve viskoziteyi artırdığını bildirmiştir (Türker, 1991).

Gıda kaynaklı maya ve bakterilerin tanımlanmasında, biyokimyasal esaslı geleneksel yöntemlerin yerini, son yıllarda moleküler esaslı yöntemler almıştır. Bu amaçla, DNA veya protein esaslı yöntemler kullanılabilmektedir. Son yıllarda kullanımı giderek artan MALDI-TOF MS (Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry), protein profillerinin karşılaştırılması prensibine dayanarak mikroorganizma tanısının yapıldığı bir yöntemdir.

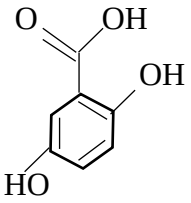
MALDI-TOF MS, ilk olarak kimyasal analiz amaçlı kullanılmaya başlanmasına rağmen, son yıllarda mikroorganizmaların tanımlanmasında hızlı ve doğru sonuç veren, "proteomiks" esaslı bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Jadhava

ve ark., 2014; Lartigue, 2013). MALDI-TOF MS tekniği, bir iyonizasyon metodudur. Mikroorganizma kültüründeki hücrelerden peptit ve proteinlerin ayrımına olanak verir. İyonlar ayrışır ve molekül ağırlık ve yüklerine göre tespit edilirler. Mikroorganizma hücrelerinin yüksek miktarda protein içerdiği bilindiği için ve proteinler hücrenin genetik bilgisini yansıttığı için, protein profilinin, mikroorganizma tanımlamada oldukça doğru sonuç verdiği belirtilmektedir. Bu yöntemle, gıda kaynaklı patojen bakteriler, diğer gıda kaynaklı bakteriler, starter kültürler, gıda kaynaklı mayalar, klinik öneme sahip bakteriler, çevreden elde edilen izolatlar ve Enterobacteriaceae üyelerinin tanımlanabildiği bildirilmektedir (Wenning ve ark., 2014). Özellikle klinikte ve gıda endüstrisinde kullanılmaya elverişli, hızlı ve doğru sonuç vermesi açısından DNA-esaslı moleküler yöntemlere alternatif olduğu belirtilmektedir. MALDI-TOF MS, çok geniş bir protein spektrumunun taranmasına olanak sağladığı için, genetik açıdan çok yakın türlerin ayırımında ve ayrıca alt tür düzeyindeki tanımlamalarda etkin bir şekilde kullanılabilmektedir (Lartigue, 2013; Loff ve ark., 2014).

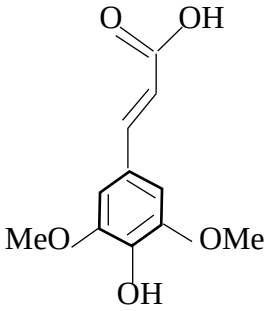
MALDI-TOF MS yönteminde mikroorganizmada bulunan proteinlerin tamamı incelenmektedir. Yöntem, analitin organik bir matriks üzerine ko-kristalizasyonu esasına dayanmaktadır. Bu yöntemde plakada lazer ışımasıyla iyonizasyonun sağlanması için plaka nitrojen lazer tarafından 337 nm UV ışına maruz bırakılmaktadır. Doğrudan lazer ışımasının biyomoleküle vereceği zararın engellenmesi, lazer dalga boyunun en iyi şekilde adsorblanabilmesi, buharlaşma ve iyonlaşma matriksle sağlanmaktadır. Kullanılan en uygun matriks maddeleri, asidik karakterde aromatik moleküllerdir. (Çakır, 2012; Çetinkaya, 2011; Fox ve ark., 2011; Seng ve ark., 2009)



4-hidroksi-α-siyanosinnamik asit (“alfasiyano” veya 4- HCCA)



2,5-dihidroksibenzoik asit (DHB)



3,5-dimetoksi-4- hidroksi sinnamik asit (sinapinik asit)

Şekil 2.1. MALDI-TOF MS yönteminde kullanılan bazı matriksler (Shiller ve ark., 2004).

MALDI-TOF MS yönteminde incelenmek istenen mikroorganizmaya ait koloni doğrudan örnek plakasının spotları üzerine yayıldıktan sonra matriks ile kaplanmaktadır. Matriks ve polimer formik asit gibi moleküler düzeyde uygun bir çözücü içinde karıştırılmaktadır. Çözücü polimerin agregasyonunu engellemektedir. Örnek-matriks karışımı örnek prop ucuna yerleştirildikten sonra sağlanan vakumla çözücü uzaklaştırılmakta ve matriks içinde polimer molekülleri ayrılmaya başlamaktadır. Uygulanan UV ile iyonlaşan moleküller uçuş tüpü (TOF) boyunca ilerlemektedir. TOF’da reflektron bir grup halkasal lensten oluşmaktadır ve bu lensler bir yığın halinde bulunmaktadırlar. Reflektron biriminde iyonlar yüksek kinetik enerjiyle ivmelendirilmektedir. İyonlar flight tüpü boyunca hız farklılıklarına göre ayrılmakta ve dedektöre çarpan iyonlar kuvvetlendirilerek sayılmaktadırlar. Hızlı hareket eden iyonlar reflektrona ilk ulaşanlardır. Sahip oldukları yüksek kinetik enerjiden dolayı reflektronda daha fazla ilerlemektedirler. Kinetik enerjileri sıfır oluncaya kadar bu hareket devam etmektedir. Bu arada kinetik enerjileri daha az olan iyonlar da reflektrona giriş yapar ve bunun sonucunda yavaş hareket eden iyonlar iyon paketinin önündeyken hızlı hareket edenler arkasında kalır. Küçük kütleli iyonlar önce detektöre çarpar ve sinyal kaydedilir. Üretilmiş kütle spektrumları ilgili yazılım ile incelenir ve kayıtlı profiller ile karşılaştırılır. Bu teknik bakteri, maya, küf ve virüslerin doğru ve hızlı tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Türlerin bu teknik

ile tanımlanması günümüz standart immünolojik ve biyokimyasal yöntemlerden daha güvenilir ve ucuzdur (Çakır, 2012; Çetinkaya, 2011; Seng ve ark., 2009).

Günümüzde MALDI-TOF MS prensibine göre çalışan, FDA onayı almış iki ticari firmaya ait cihazlar bulunmaktadır. Bunlar; Microflex LT ve Biotyper yazılımına sahip Bruker Daltronics, Autoflex Speed, Inc. (Leipzig, Germany) ve Vitek MS yazılımını içeren VITEK MS (bioMérieux, France) cihazlarıdır. Yapılan bir çalışmada, Mikroflex LT ve VITEK MS cihazlarının farklı türlerdeki bakteri ve maya tanımlamadaki doğruluğu kıyaslanarak test edilmiştir. Toplam 477 izolatın tür ve cins düzeyinde tanımlamasının incelendiği çalışmada, her iki cihazda da tanımlamanın %99 doğru yapıldığı rapor edilmiştir (Deak ve ark., 2015).

MALDI-TOF MS yönteminin mikroorganizma tanısında kullanıldığı araştırmalardan biri olan; Kore'ye özgü fermente ürünlerden 'kimchi' ve 'jeotgal'den izole edilen *Weissella* türlerinin MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlandığı bir çalışmada; 6 referans *Weissella* suşunun spektrumları kaydedildikten sonra 113 izolatın (% 83.7) tür bazında ve 22 izolatın (% 16.3) cins bazında olmak üzere izolatların tümünün doğru olarak tanımlandığı kaydedilmiştir. MALDI-TOF MS yönteminin, *Weissella* cinsine ait farklı türlerin tanımlanmasında hızlı ve güvenilir bir yöntem olduğu; bu nedenle, balık çiftlikleri ve fermente gıdaların üretiminin yapıldığı işletmeler gibi alanlarda güvenlik kontrolünde yararlı olacağı belirtilmiştir (Kim ve ark., 2017).

Peru'nun geleneksel fermente içeceklerinden "chicha"dan izole edilen ve MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlananan atipik *S. cerevisiae*'nın ve gen diziliminin bu üründe fermantasyondan sorumlu olduğu belirtilen bir çalışmada; "chicha"dan elde edilen suşlarının protein profili incelendiğinde, veritabanında yer alan *S. cerevisiae* CBS 1171 suşuyla uyum sağladığı ve cihazda tür düzeyinde tanımlamanın göstergesi olan 2.0'nin üzerinde skor değerlerinin elde edildiği bildirilmiştir (Vallejoa ve ark., 2013).

Benin'in sorgumdan yapılan geleneksel birası 'tchoukoutou'dan izole edilen 69 adet laktik asit bakterisi izolatının tanımlanmasında 16S rDNA dizi analizinin ve MALDI-TOF MS yönteminin kullanıldığı bir çalışmada; iki yöntemle de tanımlanabilen aynı laktik asit baktesi türlerinden farklı olarak *Lactobacillus*

helveticus türünün sadece MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlanabildiği bildirilmiştir (Tokpohozin ve ark., 2017).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1.1 Materyal

3.1.2 Kızılcık Tarhanası Üretiminde Kullanılan Hammaddeler

Tez çalışmasında, geleneksel üretimlerde kullanılan ekmeklik buğday ununun yanı sıra, karabuğday unu, irmik altı un ve kavuzsuz arpa unu olmak üzere dört farklı çeşitte un kullanılarak ve her bir kızılcık tarhanasına hem fermantasyon uygulanmadan hem de uygulanarak, toplam sekiz çeşit kızılcık tarhanası iki tekerrürlü olarak üretilmiştir. Karabuğday ununun eldesinde kullanılan karabuğday (*Güneş*), Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü (Konya)'nden temin edilmiş, yabancı maddelerinden temizlendikten sonra valsli laboratuvar değirmeninde (Roller Mill Quadrumat Junior, Brabender GmbH & Co., Duisburg, Almanya) kavuzundan ve kepeğinden ayrılarak una öğütülmüştür. Kavuzsuz arpa (*Özen*), Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden (Yenimahalle, Ankara) temin edilmiş, yabancı maddelerinden temizlendikten sonra taş değirmende (A700 Genuine Wood, Good Mills Company, Osttirol, Lienz, Avusturya) tam kavuzsuz arpa ununa öğütülmüştür. İrmik altı un ise; Bolu'da bulunan Barilla Gıda A.Ş. fabrikasının irmik değirmeninden temin edilmiştir. Kızılcık tarhanası üretimlerinde kullanılan kızılcık meyvesi (*Cornus mas* L.) ise, Bolu'daki yerel üreticilerden temin edilmiş ve üretimin gerçekleştiği işletmede çekirdeğinden ayrılıp püre haline getirilerek üretimde kullanılmıştır.

3.1.3 Besiyerleri

Bu araştırmada, örneklerden hem maya, hem laktik asit bakterisi izole edilmeye çalışılmıştır. Maya izolasyonu amacıyla Yeast Extract Glucose Chloramphenicol (YGC) Agar (Merck, Almanya, Kod 1.16000), laktik asit bakterisi izolasyonu amacıyla MRS (De Man, Rogosa and Sharpe) Agar (Merck, Almanya, Kod 1.10660) ve M17 Agar (Merck, Almanya, Kod 1.15108) kullanılmıştır. MRS

agar ve M17 agar kullanılarak izole edilen izolatların canlandırılması aşamasında MRS Broth (Merck, Almanya, Kod 1.10661) besiyeri kullanılmıştır. Maya kültürlerinin izolasyonu sırasında kullanılan Yeast Extract Malt Extract (YM) Broth, kültürlerin +4^{o}C'de saklanmasında kullanılan Yeast Extract Malt Extract (YM) Agar ve izolatların -20^{o}C'de saklanması amacıyla kullanılan %20 Gliserol Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD) Broth besiyerleri ile MRS Agar ve M17 Agar besiyerlerinden elde edilen izolatların -20^{o}C'de saklanması amacıyla kullanılan %20 Gliserol MRS Broth besiyerlerinin bileşimleri ile hazır toz besiyerleri EK A'da verilmiştir.

3.2 Metot

3.2.1 Kızılcık Tarhanası Üretimi

Ekmeklik buğday unu, irmik altı un, karabuğday ve tam kavuzsuz arpa unları kullanılarak kızılcık tarhanası üretimleri, Bolu'da bulunan ve çeşitli geleneksel ürünler üreten BEHDER (Bolu Elişi Hatıraları Derneği) işletmesinde, fermantasyon uygulanarak ve uygulanmadan iki tekerrürlü olarak yapılmıştır. Buna göre, üretimde Bolulu çiftçilerin Bolu bahçelerinden ve dağlarından topladığı kızılcık meyvesi kullanılmıştır. Toplanan kızılcık meyvelerinin yıkama ve temizlemeden sonra çekirdekleri çıkartılmış ve püreye işlenmiştir. Kızılcık meyvesi püresi hiç bekletilmeden taze olarak tarhanaya işlenmiştir.

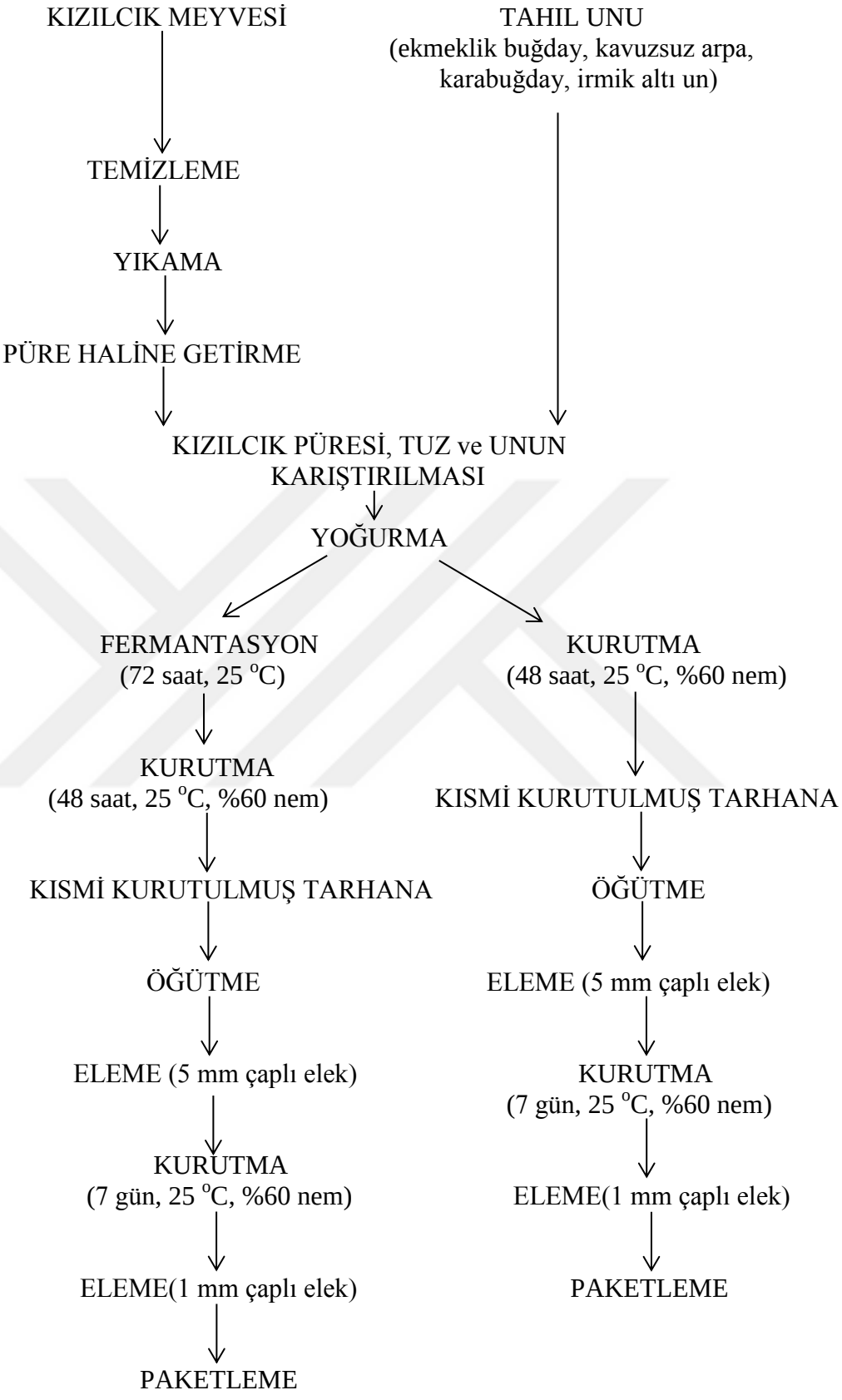
Farklı tahıl unları ile hazırlanan tarhana hamurlarının formülasyonları ve üretimde kullanılan yöntemler, Bolu'da geleneksel kızılcık tarhanası üretimi yapan üreticilerin önerileri doğrultusunda belirlenmiştir. Tarhana hamurlarının içerikleri Çizelge 3.1'de, kızılcık tarhanası üretim metodu ise Şekil 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kızılcık tarhanası hamurlarının hazırlanmasında kullanılan bileşenler ve yüzdeleri

	Bileşenler (%)			
	Geleneksel Kızılcık Tarhanası	Karabuğday Unlu Kızılcık Tarhanası	Tam Kavuzsuz Arpa Unlu Kızılcık Tarhanası	İrmik Altı Unlu Kızılcık Tarhanası
Kızılcık Meyvesi Püresi	52.7	55.3	59.4	58.0
Tuz	5.3	5.5	5.9	5.8
Ekmeklik Buğday Unu	42.0	-	-	-
Karabuğday Unu	-	39.2	-	-
Tam Kavuzsuz Arpa Unu	-	-	34.7	-
İrmikaltı Unu	-	-	-	36.2

Fermantasyon aşamasını içermeyen kızılcık tarhanası üretimi için kızılcık meyvesi püresi, tahıl unu (ekmeklik buğday unu, karabuğday unu, tam kavuzsuz arpa unu veya irmikaltı un) ve tuz Çizelge 3.1'de belirtilen miktarlarda alınarak karıştırılmış ve homojen şekilde yoğurularak tarhana hamuru haline getirilmiştir. Daha sonra kızılcık tarhanası hamurları 20'şer gramlık porsiyonlar halinde bez yaygıların üzerine serilerek 25°C'de ve % 60 nemde 2 gün kurutulmuştur. Daha sonra 0.5 cm çaplı kalbur eleklerden geçirilerek inceltilmiş ve aynı koşullarda 7 gün kurumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda ekmeklik buğday unundan üretilen geleneksel kızılcık tarhanası ve irmik altı unlu, karabuğday unlu ve tam kavuzsuz arpa unlu kızılcık tarhanaları 0.1 cm çaplı eleklerden geçirilerek polietilen torbalara alınarak +4°C'deki buzdolabında analizleri yapılmak üzere saklanmıştır.

Fermantasyon uygulanan üretimlerde ise, kızılcık meyvesi püresi, tahıl unu ve tuz katılarak homojen şekilde yoğrulan tarhana hamurlarına kapaklı bir kap içerisinde 72 saat fermantasyon uygulanmıştır. Kapalı kaplarda yapılan fermantasyon işlemi, tarhana üretiminin yapıldığı ortamda, aynı koşullarda gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon sonunda, tarhanalara fermantasyonsuz üretim ile aynı işlemler uygulanarak son ürün elde edilmiş ve polietilen torbalara alınarak +4°C'deki buzdolabında analizleri yapılmak üzere saklanmıştır. Fermantasyon uygulanmayan ve fermantasyonlu üretimler her bir hammadde için 2 tekerrürlü olarak yapılmıştır.



Şekil 3.1. Kızılcık tarhanası üretim metodu.

3.2.2 Maya ve Laktik Asit Bakterisi İzolasyonu:

Fermantasyon uygulayarak ve uygulamadan üretilen geleneksel ve farklı tahıl unlu kızılcık tarhanalarının mikroflorasındaki değişimin incelenmesi için üretimlerinin çeşitli aşamalarında örnekler alınmış ve laktik asit bakterisi ve maya izolasyonu yapılarak tanımlanmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, tarhana üretiminde kullanılan her hammaddeden (unlar ve kızılcık püresi), ilk hazırlanan tarhana hamurundan, fermantasyon aşamasının belirli saatlerinde (24, 48 ve 72. saatler), kurutmanın ilk günü ve kurutmanın son günlerinde alınan örneklerden laktik asit bakterisi ve maya izole edilmeye çalışılmıştır. Mikroorganizma izolasyonu yapılacak olan hammaddeler veya çeşitli aşamalardaki tarhana örnekleri fermuarlı polietilen poşetlerde hızlı bir şekilde laboratuvara getirilmiş ve bir ön hazırlık aşamasından geçirilmiştir. Bu amaçla, 25 g örnek steril stomacher torbasında tartılarak üzerine 225 mL % 0.1 (w/v) peptonlu su eklenmiş ve stomacher kullanılarak homojen hale getirilmiştir. Homojenizasyonun ardından, bu örneklerden % 0.1 (w/v) peptonlu su ortamında uygun dilüsyonlar hazırlanmış ve ekimler yapılmıştır.

Maya izolasyonu amacı ile YGC agar besiyerine yüzeye yayma yöntemi ile ekimler gerçekleştirilmiştir. Ekim yapılan petriler, 28^{o}C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda maya sayıları belirlenmiş ve her bir örnekten elde edilen kültürlerdeki farklı makroskobik morfolojiye sahip maya kolonileri seçilerek; öncelikle YM broth besiyerine aktarılıp 28^{o}C'de 24-48 saat geliştirilmiş, ardından YM agar besiyerinde saflaştırılmış, saflaştırılan izolatlar yatık YM agar besiyerinde geliştirilerek +4^{o}C'de yatık kültür olarak depolanmıştır. Maya izolatları ayrıca; içinde %20 Gliserol YEPD besiyeri bulunan cryo tüplerde geliştirilerek -20^{o}C'de de depolanmıştır.

Homojenize edilen ve dilüsyonları hazırlanan örneklerden laktik asit bakterisi izolasyonu amacı ile; MRS agar ve M17 agar besiyerleri kullanılmıştır. MRS Agar besiyeri kullanılan petriler anaerobik koşullarda, M17 agar besiyeri kullanılan petriler ise aerobik koşullarda inkübe edilmiştir. Petriler, 37^{o}C'de 24-48 saat inkübe edildikten sonra, sayım yapılmış ve ayrıca farklı morfolojiye sahip koloniler izolat olarak seçilerek; öncelikle MRS broth besiyerine aktarılarak 37^{o}C'de 48 saat geliştirilmiş, ardından MRS agar besiyeri kullanılarak izole edilen kültürler

MRS agar besiyerine aktarılarak anaerobik ortamda saflaştırılmışlar, M17 agar besiyeri kullanılarak izole edilen kültürler ise M17 agar besiyerine aktarılarak aerobik ortamda saflaştırılmışlardır. Saflaştırılan izolatlar MRS broth ve gliserin içeren cryo tüplere alınarak -20 ^{o}C'de depolanmışlardır.

Maya izolatlarının mikroskobik morfolojileri incelenmiş ve inceleme sonucunda bakteri olduğu görülen kültürler elenmiştir. M17 agar ve MRS agar besiyerlerinden elde edilen ve laktik asit bakterisi olduğu düşünülen izolatlara ise, doğrulama amacıyla katalaz testi ve Gram boyama testleri uygulanmış, katalaz negatif ve Gram-pozitif izolatların seçilmesi hedeflenmiştir (Temiz, 2000). Katalaz testi sonucunda negatif olan veya zayıf pozitif sonuç veren izolatlara Gram boyama yapılmış ve mikroskobik olarak incelenmişlerdir.

Tez çalışmasında elde edilen bütün izolatların, makroskobik ve mikroskobik morfolojileri ile sıvı besiyerinde gelişme özellikleri de kaydedilmiştir. Üç ayrı besiyerinden elde edilen izolatlar, elde edildiği besiyerine ve izole edildiği aşamaya bağlı olarak uygun harflerle kodlanmıştır. İzolatlar için kullanılan kodların anlamları, Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. İzolatlar için kullanılan kodlar ve açıklamaları

Kod	**Açıklama**
M	YGC agardan elde edilen izolat
L	MRS veya M17 agardan elde edilen izolat
P	Kızılcık püresi
U	Tahıl unu
K	Kontrol buğday
A	Arpa
KB	Karabuğday
İA	İrmik altı
H	Hamur
a	Fermantasyonun 24.saati
b	Fermantasyonun 48.saati
c	Fermantasyonun 72.saati
D	Kurutmanın başlangıcı
S	Kurutmanın sonu (Son ürün)

3.2.3 Elde Edilen İzolatların Tanımlanması:

Bu araştırmada izole edilen laktik asit bakterisi ve maya kültürlerinin tanımlanması Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight/time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF/TOF MS) yöntemi ile yapılmıştır. Bu amaçla, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi (BETUM)'nde bulunan MALDI-TOF/TOF MS Autoflex Speed (Bruker, Almanya) cihazı, hizmet alımı yöntemiyle kullanılmıştır.

MALDI-TOF/TOF MS yönteminde iyonlaşan moleküller; hızlarına göre ayrılıp peşpeşe 2 uçuş tüpünden geçirilmektedir. Bu nedenle, literatürde daha sıklıkla kullanılan MALDI-TOF MS ile kıyaslandığında, protein ayrım gücünün daha kuvvetli olduğu bildirilmektedir (Suckau ve ark., 2003).

İzolatların MALDI-TOF/TOF MS yöntemi ile tanımlanması için, örnek hazırlama aşamasında direkt transfer metodu, direkt transfer-formik asit (extended direct transfer) metodu ve ekstraksiyon metodu kullanılmıştır (Schuthess ve ark., 2013). Direkt transfer yöntemi; hedef plaka üzerinde bulunan spotlara 24-48 saatlik kültüre ait koloniden aktarma yapılarak üzerinin 4-hydroxy-α-cyanocinnamic acid ("alphacyano" veya 4- HCCA) matriksi ile kaplanması prensibine dayanmaktadır. Çalışmada direkt transfer metoduyla çoğu izolat tanımlanamadığı için bir sonraki aşamada direkt transfer-formik asit metodu kullanılmıştır. Bu metot ise; spotlara koloni aktarılması, koloninin yüzeyinin %70'lik formik asit ve sonrasında 4-HCCA matriksi ile kaplanması prensibine dayanmaktadır. Çalışmada bu örnek hazırlama metoduyla izolatların birçoğu tanımlanmış ve sonuçlar kaydedilmiştir. Tanımlanamayan bir kısım izolata son olarak ekstraksiyon metodu uygulanmıştır. Bu metotta; içinde deiyonize su bulunan eppendorf tüplerine canlı koloni aktarılarak üzerine etanol eklenmektedir. Tüplere santrifüj işlemi uygulanarak elde edilen peletten, daha sonra sıvı kısım ve etanol uzaklaştırılmaktadır. Tüpte kalan pelete %70'lik formik asit ve asetonitril aktarılarak tekrar santrifüj işlemi uygulanmakta, son olarak elde edilen supernatanttan spota aktarım gerçekleştirilmekte ve 4-HCCA matriksi ile kaplanarak hedef plaka tanımlama için hazırlanmaktadır (Schuthess ve ark., 2013).

Kullanılan cihazda mikroorganizma tanısı, Biotyper 3.1. yazılımı yardımı ile yapılmaktadır. Tanımlanacak olan suşun protein profiline ait kütle spektrumu

Biotyper içerisinde yer alan aynı türe ait çok sayıda mikroorganizmanın kütle spektrumu ile karşılaştırılmakta ve tanımlama sonuçları skor değerleri ile verilmektedir. Hedef plaka cihaza yerleştirilerek elde edilen sonuçlardan; biotyper skor sonucu 2.000 ve üzeri olan mikroorganizmaların tür düzeyinde, 1.999 ve altı olanların ise cins düzeyinde kesin olarak tanımlandığı ifade edilmektedir (Kim ve ark., 2017).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu araştırmada, Bolu'ya özgü yöresel ürünlerden biri olan kızılcık tarhanasının mikroflorası belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada, geleneksel olarak ekmeklik buğday ununun kullanıldığı kızılcık tarhanasının yanı sıra, karabuğday, irmik altı un ve kavuzsuz arpa unu da kullanılarak dört farklı çeşitte kızılcık tarhanası hem geleneksel olarak hem de fermantasyon işlemi uygulanarak üretilmiştir. Bu çalışmada, hammaddelerin ve bu hammaddelerle üretilen tarhana çeşitlerinin üretim aşamalarında mikrofloradaki değişim incelenmiştir.

4.1 Mikroorganizma İzolasyon Sonuçları

Çalışmada, bütün örneklerden toplam 231 adet izolat elde edilmiştir. Bunlardan 115 tanesi YGC agardan izole edilen maya kültürleridir. Diğer 116 izolat ise; M17 agar ve MRS agardan elde edilen izolatlardır.

Kızılcık tarhanası üretiminde kullanılan hammaddeler olan kızılcık meyvesi püresi ve farklı unlardan izole edilen, üç farklı besiyerinden alınan izolatlar Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Kızılcık püresi ve farklı unlardan elde edilen izolatlar

	YGC agar	**M17 agar**	**MRS agar**
Kızılcık Meyvesi Püresi (P)	MP-1 MP-2 MP-3 MP-5	LP-2 LP-6 LP-7	LP-8 LP-9 LP-11
Ekmeklik Buğday Unu (KU)	-	-	-
Tam Kavuzsuz Arpa Unu (AU)	-	-	-
Karabuğday Unu (KBU)		LKBU-3	LKBU-4
İrmik Altı Un (İAU)	MİAU-1	LİAU-2	LİAU-6

Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi, hammaddeler arasında en fazla izolat, kızılcık püresinden elde edilmiştir. Kızılcık püresinden, YGC agar ile 4 adet maya izolatı ve ayrıca M17 agar ve MRS agardan, başlangıçta laktik asit bakterisi olduğu düşünülen 6 adet izolat elde edilmiştir. Ekmeklik buğday unundan yapılan ekimlerde, her üç besiyerinde de herhangi bir üreme olmaması, çalışmanın ilgi çekici sonuçlarından birini oluşturmuştur. Kavuzsuz arpa unundan yapılan ekimlerde elde edilen izolatlar, sonraki aşamalarda canlandırılamadığı için kavuzsuz arpa unundan bu çalışma için izolat elde edilememiştir. Karabuğday unundan MRS agar ile 1 adet ve M17 agar ile de 1 adet olmak üzere toplam 2 adet izolat elde edilmiştir. İrmik altı undan YGC agar, MRS agar ve M17 agar besiyerlerine yapılan ekimlerden 1'er adet olmak üzere toplam 3 adet izolat elde edilmiştir.

Farklı tahıl unlu kızılcık tarhanası örneklerinde ise; fermantasyonun uygulanmadığı üretimlerde tarhana hamurundan alınan örnekler "H", ilk kurutma-öğütme işleminden sonra alınan örnekler "D", son kurutmadan çıkan ürün ise "S" olarak kodlanmıştır. Fermantasyonun uyguladığı üretimlerde tarhana hamuru fermantasyonunun 24, 48 ve 72. saatlerinde alınan örnekler sırasıyla Ha, Hb ve Hc olarak kodlanmıştır. Ayrıca, fermantasyonlu üretimler F harfiyle belirtilmiştir.

Fermantasyon uygulanmayan ve fermantasyonun uygulandığı ekmeklik buğday unu kullanılan üretimlerden elde edilen izolatlar sırasıyla Çizelge 4.2 ve 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 incelendiğinde, ekmeklik buğday unundan üretilen ve fermantasyon işleminin uygulanmadığı tarhana hamurundan YGC agara yapılan ekimlerden 5 adet, kurutulmuş üründen 3 adet, son üründen 1 adet olmak üzere toplam 9 adet maya izolatı elde edilmiştir. Ayrıca M17 agar ve MRS agardan, başlangıçta laktik asit bakterisi olduğu düşünülen 6 adet izolat hamur aşamasından, 5 adet izolat kurutma aşamasından izole edilmiştir. MRS agar ve M17 agar ile son üründen izolat elde edilememiştir.

Çizelge 4.2. Ekmeklik buğday unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar

	YGC agar	M17 agar	MRS agar
Tarhana hamuru	MKH-1 MKH-2 MKH-3 MKH-4 MKH-6	LKH-1 LKH-2 LKH-3 LKH-4	LKH-5 LKH-6
İlk kurutma-eleme sonrası	MKD-1 MKD-2 MKD-3	LKD-1 LKD-2 LKD-3	LKD-5 LKD-6
Son kurutma	MKS-2		

Çizelge 4.3. Ekmeklik buğday unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar

	YGC agar	M17 agar	MRS agar
Tarhana Hamuru (0.saat)	MFKH-1 MFKH-3 MFKH-5	LFKH-5 LFKH-6 LFKH-7	LFKH-1 LFKH-3
Tarhana Hamuru (24. saat)	MFKHa-1 MFKHa-2		LFKHa-5
Tarhana Hamuru (48. saat)	MFKHb-2 MFKHb-3	LFKHb-1	LFKHb-4
Tarhana Hamuru (72. saat)	MFKHc-1 MFKHc-2	LFKHc-5 LFKHc-6	LFKHc-1 LFKHc-3 LFKHc-4
İlk Kurutma-Eleme sonrası	MFKD-1 MFKD-2		LFKD-2 LFKD-5
Son kurutma	MFKS-1 MFKS-2 MFKS-3	LFKS-1	LFKS-3

Çizelge 4.3'te ise, ekmeklik buğday unundan üretilen ve fermantasyon işleminin uygulandığı tarhana hamurundan YGC agara yapılan ekimlerden 3 adet, fermantasyon aşamasının 24. saatinden 2 adet, 48. saatinden 2 adet, 72. saatinden 2 adet, kurutulmuş üründen 2 adet, son üründen 3 adet olmak üzere toplam 14 adet maya izolatı elde edildiği görülmektedir. Ayrıca M17 agar ve MRS agardan, başlangıçta laktik asit bakterisi olduğu düşünülen 5 adet izolat hamur aşamasından, 1

adet izolat fermantasyonun 24. saatinden, 2 adet izolat fermantasyonun 48. saatinden ve 5 adet izolat fermantasyonun 72. saatinden, 2 adet izolat kurutma aşamasından ve 2 adet izolat da son üründen olmak üzere toplam 17 izolat izole edilmiştir.

Ekmeklik buğday unundan yapılan ekimlerde herhangi bir izolat elde edilememesine rağmen, bu hammadde ile yapılan kızılcık tarhanası üretimlerinde, hem hamurdan hem de kurutma aşamalarından her üç besiyerinde de izolatlar alınabilmiştir. Bu yüzden tarhananın sahip olduğu mikrofloranın büyük ölçüde kızılcık meyvesi ve işletme ortamı kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Fermantasyon uygulanmayan ve fermantasyonun uygulandığı kavuzsuz arpa unu kullanılan üretimlerden elde edilen izolatlar sırasıyla Çizelge 4.4 ve 4.5'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Kavuzsuz arpa unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar

	YGC agar	M17 agar	MRS agar
Tarhana hamuru	MAH-1 MAH-3 MAH-4 MAH-5	LAH-3 LAH-4	LAH-6 LAH-8
İlk kurutma-eleme sonrası	MAD-1 MAD-2 MAD-3 MAD-4 MAD-5	LAD-1	LAD-3
Son kurutma	MAS-2		

Çizelge 4.4'te de belirtildiği gibi, kavuzsuz arpa unu kullanılarak üretilen ve fermantasyon işleminin uygulanmadığı tarhana hamurundan YGC agara yapılan ekimlerden 4 adet, kurutulmuş üründen 5 adet, son üründen 1 adet olmak üzere toplam 10 adet maya izolatı elde edilmiştir. Ayrıca M17 agar ve MRS agardan, başlangıçta laktik asit bakterisi olduğu düşünülen 4 adet izolat hamur aşamasından, 2 adet izolat kurutma aşamasından izole edilmiştir. MRS agar ve M17 agar ile son üründen izolat elde edilememiştir.

Çizelge 4.5 incelendiğinde, kavuzsuz arpa unundan üretilen ve fermantasyon işleminin uygulandığı kontrol tarhana hamurundan YGC agara yapılan

ekimlerden 2 adet, fermantasyon aşamasının 24. saatinden 4 adet, 48. saatinden 3 adet, 72. saatinden 2 adet, kurutulmuş üründen 2 adet, son üründen 3 adet olmak üzere toplam 16 adet maya izolatının elde edildiği görülmektedir. Bunun yanı sıra M17 agar ve MRS agardan, başlangıçta laktik asit bakterisi olduğu düşünülen 2 adet izolat hamur aşamasından, 2 adet izolat fermantasyonun 24. saatinden, 3 adet izolat fermantasyonun 48. saatinden ve 2 adet izolat da fermantasyonun 72. saatinden, 5 adet izolat kurutma aşamasından ve 1 adet izolat da son üründen olmak üzere toplam 15 izolat izole edilmiştir.

Çizelge 4.5. Kavuzsuz arpa unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar

	YGC agar	**M17 agar**	**MRS agar**
Tarhana Hamuru (0.saat)	MFAH-1 MFAH-2	LFAH-1	LFAH-6
Tarhana Hamuru (24. saat)	MFAHa-1 MFAHa-2 MFAHa-3 MFAHa-4		LFAHa-2 LFAHa-4
Tarhana Hamuru (48. saat)	MFAHb-1 MFAHb-2 MFAHb-3	LFAHb-1	LFAHb-5 LFAHb-6
Tarhana Hamuru (72. saat)	MFAHc-1 MFAHc-2		LFAHc-1 LFAHc-3
İlk Kurutma-Eleme sonrası	MFAD-1 MFAD-2	LFAD-5 LFAD-6 LFAD-7	LFAD-2 LFAD-4
Son kurutma	MFAS-1 MFAS-2 MFAS-3	LFAS-2	

Fermantasyon uygulanmayan ve fermantasyonun uygulandığı karabuğday unu kullanılan üretimlerden elde edilen izolatlar sırasıyla Çizelge 4.6 ve 4.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.6. Karabuğday unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar

	YGC agar	M17 agar	MRS agar
Tarhana hamuru	MKBH-1 MKBH-3 MKBH-4 MKBH-5	LKBH-4 LKBH-6	LKBH-14 LKBH-15
İlk kurutma-eleme sonrası	MKBD-1 MKBD-2 MKBD-3 MKBD-4	LKBD-2 LKBD-7	LKBD-9
Son kurutma		LKBS-6	

Çizelge 4.6'da belirtildiği gibi, karabuğday unu kullanılarak üretilen ve fermantasyon işleminin uygulanmadığı tarhana hamurundan YGC agara yapılan ekimlerden 4 adet ve kurutulmuş üründen de 4 adet olmak üzere toplam 8 adet maya izolatı elde edilmiştir. Son üründen YGC agara yapılan ekimlerden hiç izolat elde edilememiştir. Bununla beraber M17 agar ve MRS agardan, başlangıçta laktik asit bakterisi olduğu düşünülen 4 adet izolat hamur aşamasından, 3 adet izolat kurutma aşamasından ve 1 adet izolat da son üründen olmak üzere toplam 8 adet izolat elde edilmiştir.

Çizelge 4.7'de ise, karabuğday unundan üretilen ve fermantasyon işleminin uygulandığı kontrol tarhana hamurundan YGC agara yapılan ekimlerden 3 adet, fermantasyon aşamasının 24. saatinden 5 adet, 48. saatinden 3 adet, 72. saatinden 2 adet, kurutulmuş üründen 4 adet, son üründen 2 adet olmak üzere toplam 19 adet maya izolatı elde edildiği görülmektedir. Ayrıca M17 agar ve MRS agardan, başlangıçta laktik asit bakterisi olduğu düşünülen 5 adet izolat hamur aşamasından, 4 adet izolat fermantasyonun 24. saatinden, 3 adet izolat fermantasyonun 48. saatinden ve 4 adet izolat fermantasyonun 72. saatinden, 2 adet izolat kurutma aşamasından ve 1 adet izolat da son üründen olmak üzere toplam 19 izolat elde edilmiştir.

Çizelge 4.7. Karabuğday unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar

	YGC agar	M17 agar	MRS agar
Tarhana Hamuru (0.saat)	MFKBH-1 MFKBH-2 MFKBH-3	LFKBH-1 LFKBH-6 LFKBH-8 LFKBH-9	LFKBH-13
Tarhana Hamuru (24. saat)	MFKBHa-1 MFKBHa-2-1 MFKBHa-2-2 MFKBHa-3 MFKBHa-4	LFKBHa-4	LFKBHa-6 LFKBHa-7 LFKBHa-8
Tarhana Hamuru (48. saat)	MFKBHb-1 MFKBHb-2 MFKBHb-3		LFKBHb-7 LFKBHb-9 LFKBHb-10
Tarhana Hamuru (72. saat)	MFKBHc-1 MFKBHc-2	LFKBHc-1 LFKBHc-2	LFKBHc-8 LFKBHc-9
İlk Kurutma-Eleme sonrası	MFKBD-1 MFKBD-2 MFKBD-3 MFKBD-4		LFKBD-1 LFKBD-3
Son kurutma	MFKBS-1 MFKBS-2	LFKBS-2	

Fermantasyon uygulanmayan ve fermantasyonun uygulandığı irmik altı un kullanılan üretimlerden elde edilen izolatlar sırasıyla Çizelge 4.8 ve 4.9'da gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. İrmik altı unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar.

	YGC agar	M17 agar	MRS agar
Tarhana hamuru	MİAH-1 MİAH-2 MİAH-3 MİAH-5 MİAH-6 MİAH-7 MİAH-8	LİAH-1 LİAH-2 LİAH-6	LİAH-10
İlk kurutma-eleme sonrası	MİAD-1 MİAD-2 MİAD-3	LİAD-5	LİAD-8
Son kurutma	MİAS-1 MİAS-2 MİAS-4		LİAS-1

Çizelge 4.8'de irmik altı un kullanılarak üretilen ve fermantasyon işleminin uygulanmadığı tarhanadan izole edilen izolatların dağılımı görülmektedir. Tarhana hamurundan YGC agara yapılan ekimlerden 7 adet, kurutulmuş üründen 3 adet ve son üründen de 3 adet olmak üzere toplam 13 adet maya izolatı elde edilmiştir. Bununla beraber M17 agar ve MRS agardan, başlangıçta laktik asit bakterisi olduğu düşünülen 4 adet izolat hamur aşamasından, 2 adet izolat kurutma aşamasından ve 1 adet izolat da son üründen olmak üzere toplam 7 adet izolat elde edilmiştir.

Çizelge 4.9'da ise irmik altı undan üretilen ve fermantasyon işleminin uygulandığı tarhanadan izole edilen izolatların dağılımı görülmektedir.

Çizelge 4.9. İrmik altı unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlar.

	YGC agar	**M17 agar**	**MRS agar**
Tarhana Hamuru (0.saat)	MFİAH-1 MFİAH-3 MFİAH-4 MFİAH-5 MFİAH-6 MFİAH-8	LFİAH-1 LFİAH-3 LFİAH-4	LFİAH-5
Tarhana Hamuru (24. saat)	MFİAHa-1 MFİAHa-2 MFİAHa-4	LFİAHa-1	LFİAHa-4 LFİAHa-5 LFİAHa-6
Tarhana Hamuru (48. saat)	MFİAHb-1 MFİAHb-2 MFİAHb-3 MFİAHb-4	LFİAHb-2 LFİAHb-3 LFİAHb-4	LFİAHb-5 LFİAHb-8 LFİAHb-9 LFİAHb-10
Tarhana Hamuru (72. saat)	MFİAHc-1 MFİAHc-2	LFİAHc-5 LFİAHc-7	LFİAHc-2
İlk Kurutma-Eleme sonrası	MFİAD-1 MFİAD-2 MFİAD-3	LFİAD-3 LFİAD-4 LFİAD-6	LFİAD-1
Son kurutma	MFİAS-1 MFİAS-2 MFİAS-3	LFİAS-1	

İrmik altı un ile fermantasyon işlemi uygulanarak üretilen tarhana hamurundan YGC agara yapılan ekimlerden 6 adet, fermantasyon aşamasının 24. saatinden 3 adet, 48. saatinden 4 adet, 72. saatinden 2 adet, kurutulmuş üründen 3 adet ve son üründen 3 adet olmak üzere toplam 21 adet maya izolatı elde edilmiştir. Ayrıca M17 agar ve MRS agardan, başlangıçta laktik asit bakterisi olduğu düşünülen

4 adet izolat hamur aşamasından, 4 adet izolat fermantasyonun 24.saatinden, 7 adet izolat fermantasyonun 48.saatinden ve 3 adet izolat da fermantasyonun 72. saatinden, 4 adet izolat kurutma aşamasından ve 1 adet izolat da son üründen olmak üzere toplam 23 izolat izole edilmiştir.

İrmik altı unun kullanıldığı üretimde fermantasyon aşamasının izolat sayısını arttırdığı görülmüş, bununla beraber hem fermantasyonlu ürünlerde hem de fermantasyon işleminin uygulanmadığı ürünlerde en az sayıda izolasyon son üründen yapılmıştır. Diğer unlarla yapılan üretimlerde de son üründe izolat sayısının oldukça azaldığı görülmektedir. Ekmeklik buğday unu ve kavuzsuz arpa ununda fermantasyon uygulanmadan üretilen tarhanaların son ürününden MRS ve M17 agarlara yapılan ekimlerden izolat elde edilememiştir. Yine fermantasyon işleminin uygulanmadığı karabuğday unu kullanılarak yapılan üretimlerde son üründen MRS agarda, irmik altı un kullanılarak yapılan üretimlerde ise son üründen yapılan ekimlerde M17 agarda üreme meydana gelmemiştir. Ekmeklik buğday unu, kavuzsuz arpa unu, karabuğday unu ve irmik altı un kullanılarak ve fermantasyon işleminin uygulandığı üretimlerde ise son üründen M17 agara yapılan ekimlerde izolat elde edilebilmiştir.

Başlangıçta laktik asit bakterisi olduğu düşünülen izolatlara öncelikle katalaz testi uygulanmıştır. İzolatların katalaz testi sonuçları EK C'de verilmiştir. Katalaz negatif ve zayıf pozitif olanlara Gram boyama yapılmış ve bütün izolatların Gram-pozitif olduğu görülmüştür. Mikroskobik inceleme sırasında, izolatların büyük çoğunluğunun maya mikroskobik morfolojisine daha yakın olduğu görülmüş, dolayısıyla atipik bir üreme meydana geldiği anlaşılmıştır. Ancak buna rağmen, mikrofloranın daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacağı düşünülerek, bu izolatlar da bir sonraki aşama olan MALDI-TOF/TOF MS ile tanımlanmak üzere saklanmışlardır.

Kızılcık tarhanası üretimleri sırasında, izolasyonda kullanılan her üç besiyerinde sayım yapılarak, ürünlerdeki maya ve laktik asit bakteri sayıları belirlenmeye çalışılmıştır. Ancak, çalışmanın bundan sonraki aşaması olan tanımlama aşamasında, MRS agar ve M17 agarda gözlenen kolonilerin çoğunluğunun maya olduğu belirlenmiştir. Az sayıda elde edilen laktik asit bakterilerinin yanında, çok daha fazla sayıda atipik olarak üremiş olan maya

kolonileri de izolat olarak ayrılmış ve tanımlanmaya çalışılmıştır. Bu nedenle, MRS agar ve M17 agarda yapılan sayım sonuçları, ürünlerdeki laktik asit bakteri sayısını yansıtmadığından, bu bölümde verilmemiştir. Kızılcık tarhanası üretiminde kullanılan kızılcık meyvesi püresi ve tahıl unu hammaddelerinde ve üretimlerin farklı aşamalarında, YGC agarda elde edilen maya sayıları [log (kob/g)] ise; Çizelge 4.10-4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Kızılcık tarhanası üretiminde kullanılan kızılcık meyvesi püresi ve farklı tahıl unlarından izole edilen maya sayıları [log (kob/g)].

	Kızılcık Meyvesi Püresi (P)	**Ekmeklik Buğday Unu (KU)**	**Tam Kavuzsuz Arpa Unu (AU)**	**İrmik altı Unu (İAU)**	**Karabuğday Unu (KBU)**
Maya sayısı	6.36	İzole edilememiştir	4.30	3.70	4.61

Kızılcık püresinde, 6 logaritmik birimin üzerinde maya popülasyonunun olduğu görülmektedir. Ekmeklik buğday ununda maya üremesi görülmezken, kullanılan diğer unlarda yaklaşık 4 logaritmik birim düzeyinde maya bulunduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.11. Farklı tahıl unları ile üretilen kızılcık tarhanalarının fermantasyon içermeyen üretimlerinin farklı aşamalarında izole edilen maya sayıları [log (kob/g)].

	Ekmeklik Buğday Unlu Kızılcık Tarhanası (K)	**Tam Kavuzsuz Arpa Unlu Kızılcık Tarhanası (A)**	**İrmik altı Unlu Kızılcık Tarhanası (İA)**	**Karabuğday Unlu Kızılcık Tarhanası (KB)**
Tarhana Hamuru (H)	4.96	5.12	4.81	5.14
İlk Kurutma-Eleme Sonrası (D)	4.99	4.35	4.88	4.57
Son Kurutma (S)	3.13	3.54	3.46	3.00

Çizelge 4.11'de belirtildiği gibi, oluşturulan tarhana hamurlarından her birinde başlangıçta yaklaşık 5 logaritmik birim maya bulunduğu tespit edilmiştir. Fermantasyon uygulanmayan ve ekmeklik buğday ununun kullanıldığı örnekte ilk kurutma sonunda maya sayısında fazla bir değişiklik olmazken, kurutulmuş son üründe yaklaşık 2 logaritmik birim azalma meydana gelmiştir. Benzer bir sonuç, irmik altı unun kullanıldığı tarhana üretiminde de görülmüştür. Kavuzsuz arpanın ve karabuğdayın kullanıldığı üretimlerde ise; hem ilk hem de son kurutmada maya sayısı azalmıştır. Fermantasyon işleminin uygulanmadığı bütün tarhana üretimlerinde son üründe yaklaşık 3 logaritmik birim maya bulunduğu tespit edilmiştir.

Farklı tahıl unları ile üretilen kızılcık tarhanalarının fermantasyon işleminin uygulandığı üretimlerinin farklı aşamalarında izole edilen maya sayıları Çizelge 4.12'de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde fermantasyon uygulaması ile tarhana hamurundaki maya sayısının arttığı görülmüştür. Farklı unların kullanıldığı tarhana üretimlerinde başlangıçta hamurda 4.46-5.62 log (kob/g) aralığında kaydedilen maya sayısının, fermantasyonun 72. saatinde 6.24-6.38 log (kob/g) aralığında olduğu belirlenmiştir.

Kastamonu ve çevresinde, ev ölçeğinde üretilen ve kurutulmaksızın yaş olarak saklanan Kastamonu yaş tarhanasının muhafaza sürecinde asitlik ve mikrobiyel yükünde meydana gelen değişimi konu alan bir çalışmada, başlangıç hamurunda maya-küf sayısı 4.50 log (kob/g) olarak ölçülmüştür (Özdemir ve ark., 2012). Farklı unlarla üretilmiş kızılcık tarhanasının kullanıldığı bu çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş ve başlangıç hamurunda 4.81-5.14 log (kob/g) arasında değişen maya sayısı kaydedilmiştir. Fermantasyon ve depolama süresi boyunca tarhanada mikrobiyel ve kimyasal özelliklerin incelendiği bir araştırmada tarhana hamurunda toplam maya-küf sayısının 6.59 log (kob/g) olduğu, fermantasyonun 3. gününde 5.78 log (kob/g)'a düştüğü bildirilmiştir (Erbaş ve ark., 2005). Bu tez çalışmasında ise, kızılcık tarhanalarında fermantasyon aşamasında maya sayısında artış olduğu görülmektedir.

Geleneksel tarhana üzerine yapılan bir çalışmada aynı miktarda un içeren 3 farklı tarhana hamuru, değişen miktarlarda yoğurt (1:2, 1:1, 1:2) ve tuz (% 1.9, %1.5, %0) ile hazırlanmıştır. Maya sayısı tuzlu ve tuzsuz hamurlarda çok değişken olmayıp

ortalama 6.9 log (kob/g) olarak kaydedilmiştir. Fermantasyon 1. gününde en yüksek maya sayısına ulaşılmış ve ortalama 7.45 log (kob/g) olarak kaydedilmiştir. Son üründe ise sayının 2.8 log (kob/g)'a kadar düştüğü görülmektedir (İbanoğlu ve ark., 1999). Bu tez çalışmasında ise kızılcık tarhanası %5.3-5.9 arasında değişen oranlarda tuz içermesine rağmen hamurda ortalama 5.0 log (kob/g) kadar, son üründe ise 3.35-4.33 log (kob/g) arasında değişen değerlerde maya popülasyonu bulunmuştur.

Çizelge 4.12. Farklı tahıl unları ile üretilen kızılcık tarhanalarının fermantasyon içeren üretimlerinin farklı aşamalarında izole edilen maya sayıları [log (kob/g)]

	Ekmeklik Buğday Unlu Kızılcık Tarhanası (K)	**Tam Kavuzsuz Arpa Unlu Kızılcık Tarhanası (A)**	**İrmik altı Unlu Kızılcık Tarhanası (İA)**	**Karabuğday Unlu Kızılcık Tarhanası (KB)**
Tarhana Hamuru 0.saat-FH	5.17	5.42	4.46	5.62
Tarhana Hamuru 24. saat-FHa	6.24	6.00	5.25	5.56
Tarhana Hamuru 48. saat-FHb	6.71	6.57	5.79	5.91
Tarhana Hamuru 72. saat-FHc	6.38	6.24	6.24	6.32
İlk Kurutma-Eleme Sonrası-FD	5.32	5.60	5.25	5.18
Son Kurutma-FS	3.86	4.33	4.26	3.35

Yapılan bir başka çalışmada ise; kontrollü teknolojik koşullar altında üretilen tarhanadaki fermantasyon prosesi aşamasında mikrobiyel değişim araştırılmış; tarhana örnekleri bazı pastörize ingradiyenlerle üretilmiş, 30 ve 40°C'de fermantasyona bırakılmıştır. Tarhana örneklerinde hamur aşamasında maya sayısı 7.2 log (kob/g) iken, fermantasyonun 4. gününde en yüksek sayıya ulaşarak 8.0-8.3 log (kob/g) arasında değişen değerlerde bulunmuştur. Fermantasyonun 8. gününde ise maya sayısının 7.3-7.8 log (kob/g) değerlerine kadar düştüğü belirtilmiştir (Settanni ve ark., 2011).

Balık eti kullanılarak üretilen tarhana ile yapılan bir çalışmada, hamurların yoğurma sonrasındaki ilk maya-küf sayısı 7.55 log (kob/g) olarak tespit edilmiş; 1. günde bu değer 7.70 log (kob/g)'a ulaşmıştır. İkinci günde ise 7.59 log (kob/g), takip eden 3. ve 4. günlerde ise sırasıyla 7.40 ve 7.47 log (kob/g) değerleri gözlenmiştir (Erdem, 2008). Bu tez çalışmasında; ekmeklik buğday unu ve kavuzsuz arpanın kullanıldığı üretimlerde, en yüksek maya sayısına fermantasyonunun 48. saatinde ulaşılmıştır. İrmik altı un ve karabuğdayın kullanıldığı üretimlerde ise; en yüksek maya sayıları 72. saatte elde edilmiştir. İlk kurutma ve son kurutma ile bütün örneklerde maya sayılarında azalma görülmüştür. Fermantasyon uygulanan kızılcık tarhanası üretimlerinde son ürünlerdeki maya sayılarının 3.35-4.33 log (kob/g) aralığında değiştiği bulunmuştur.

Literatürde, kızılcık tarhanasının maya popülasyonunun incelendiği bir çalışma bulunmamakta ancak bazı geleneksel tarhana çalışmalarında maya sayısının daha üst seviyelerde olduğu görülmektedir. Kızılcık tarhanasında, maya sayısının geleneksel tarhanaya göre bir miktar daha düşük olmasının, iki tarhana çeşidinin bileşim olarak birbirinden oldukça farklı olmasından ve kullanılan tuz oranının daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.2 Kızılcık Tarhanalarının Üretimleri Sırasında Farklı Aşamalarda İzole Edilen Mikroorganizmalara Ait Tanımlama Sonuçları

Bu tez çalışmasında izole edilen maya ve bakteri kültürlerinin tanımlanması Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight/time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF/TOF MS) yöntemi ile yapılmıştır. Mikroorganizma tanısının protein profilleri esas alınarak yapıldığı bu yöntem ile elde edilen tanımlama sonuçları, Çizelge 4.13-4.23'te verilmiştir. MALDI-TOF/TOF MS yöntemi ile tanımlama işlemi, cihazda yer alan Biotyper yazılımının veri tabanında bulunan referans kültürlerin protein profilleri ile tanımlanmak istenen mikroorganizmanın protein profillerinin kıyaslanmasına dayanmaktadır. Bu kapsamda elde edilen benzerlik oranlarına göre, tanımlama bir skor değeri ile ifade edilmektedir. (Tokpohozin ve ark., 2017; Vallejoa ve ark., 2013). Biotyper skor sonucu 2.000 ve üzeri olan izolatlar tür düzeyinde, 1.999-1.700 arası olanlar cins

düzeyinde, 1.699 ve altı olanlar ise "tanımlanamadı" olarak kaydedilmiştir (Kim ve ark., 2017).

Tanımlaması yapılmış olan türler arasından seçilen bazı suşların mikroskobik görüntüleri EK C'de, MALDI-TOF/TOF MS yöntemi ile tür tanımlaması yapılmış olan bazı izolatlar için elde edilen protein profillerine ait kütle spektrumları EK D'de verilmiştir.

Kullanılan hammaddelerden biri olan kızılcık püresinden elde edilen izolatların tanımlama sonuçları Çizelge 4.13'te verilmektedir.

Çizelge 4.13. Kızılcık püresinden elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
MP-1	*Hanseniaspora uvarum*	2.129
MP-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.166
MP-3	*Hanseniaspora uvarum*	2.226
MP-5	*Hanseniaspora uvarum*	2.129
LP-8	*Saccharomyces cerevisiae*	1.981
LP-9	*Candida lusitaniae*	2.420
LP-11	*Candida krusei*	1.797
LP-2	*Candida krusei*	2.208
LP-6	*Saccharomyces cerevisiae*	2.041
LP-7	*Candida lusitaniae*	2.407

Çizelge incelendiğinde kızılcık meyvesi püresinden elde edilen 10 izolattan 8 tanesinin tür düzeyinde tanımlandığı görülmektedir. Bunlardan 4 tanesinin *Hanseniaspora uvarum,* bir tanesinin *S. cerevisiae*, 2 tanesinin *Candida lusitaniae* ve bir tanesinin *Candida krusei* türlerine ait oldukları belirlenmiştir. Tanı sonucu *S. cerevisiae* ve *C. krusei* olarak verilen iki izolatın ise skor değerleri 2'nin altında olduğu için, bu izolatların tanımlanmaları "cins düzeyinde kesin tanımlama" şeklinde yorumlanmıştır.

Üretimde kullanılan hammaddelerden bir diğeri olan karabuğday ununda elde edilen izolatların tanımlama sonuçları ise Çizelge 4.14'te yer almaktadır.

Çizelge 4.14. Karabuğday unundan elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
LKBU-4	*Lactobacillus reuteri*	2.263
LKBU-3	*Kosakonia cowanii*	2.058

MRS agardan elde edilen bir adet laktik asit bakteri izolatının tür düzeyinde tanısı yapılabilmiş ve *Lactobacillus reuteri* olduğu belirlenmiştir. Ayrıca M17 agardan elde edilen izolat ise; *Enterobacter* cinsinin taksonomik olarak tekrar gruplandırılmasıyla ortaya çıkmış yeni bir tür olan *Kosakonia cowanii* olarak tanımlanmıştır (Brady ve ark., 2013).

Bir başka hammadde olan irmik altı undan izole edilen izolatların tanımlama sonuçları Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15. İrmik altı undan elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
MİAU-1	*Cyberlindnera fabianii*	2.227
LİAU-6	*Cyberlindnera fabianii*	1.933
LİAU-2	*Enterococcus faecium*	1.793

İrmik altı undan elde edilen 3 izolattan sadece 1 maya izolatının tür tanımlaması yapılabilmiş, bu izolat *Cyberlindnera fabianii* olarak tanımlanmıştır. Diğer iki izolat; *Cy. fabianii* ve bir laktik asit bakterisi olan *Enterococcus faecium* olarak verilmesine rağmen, skor değerlerinin düşük olması nedeniyle, cins düzeyinde kesin tanılarının yapıldığı kabul edilmiştir.

Ekmeklik buğday unu kullanılarak ve fermantasyon uygulanmadan yapılan kızılcık tarhanası üretimlerinde elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları, Çizelge 4.16'da verilmiştir. Bu üretimde tanımlanması yapılabilen izolatların tamamının maya olduğu belirlenmiştir. Çizelgede yer alan 20 izolattan 14 tanesinin tanımlanabildiği, bunlardan 10 tanesinin tür düzeyinde kesin tanısının yapıldığı görülmektedir. Tür tanımlanması yapılan izolatların *H. uvarum* (2), *S. cerevisiae* (3), *Torulaspora delbrueckii* (2), *Metschnikowia pulcherrima* (1), *C. krusei* (1) ve *C.*

lusitaniae (1) türlerine ait oldukları belirlenmiştir. 4 adet izolat ise cins düzeyinde tanımlanabilmiş ve bunların *Candida* cinsine ait oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 4.16. Ekmeklik buğday unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
MKH-1	*Hanseniaspora uvarum*	2.292
MKH-2	*Saccharomyces cerevisiae*	2.129
MKH-3	*Torulaspora delbrueckii*	2.458
MKH-4	*Saccharomyces cerevisiae*	2.097
MKH-6	Tanımlanamadı	1.461
MKD-1	*Torulaspora delbrueckii*	2.397
MKD-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.346
MKD-3	*Metschnikowia pulcherrima*	2.021
MKS-2	Tanımlanamadı	1.451
LKH-5	Tanımlanamadı	1.553
LKH-6	*Candida lusitaniae*	1.840
LKD-5	*Candida krusei*	1.834
LKD-6	*Candida krusei*	1.756
LKH-1	*Candida krusei*	2.054
LKH-2	Tanımlanamadı	1.554
LKH-3	*Saccharomyces cerevisiae*	2.020
LKH-4	*Candida lusitaniae*	2.445
LKD-1	*Candida krusei*	1.766
LKD-2	Tanımlanamadı	1.358
LKD-3	Tanımlanamadı	1.661

Ekmeklik buğday unu kullanılarak ve fermantasyon uygulanarak hazırlanan kızılcık tarhanasından elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları, Çizelge 4.17'de verilmiştir.

Fermantasyon işleminin uygulandığı üretimde de tanımlanması yapılabilen izolatların tamamının maya olduğu belirlenmiştir. Çizelgede yer alan 31 izolattan 17 tanesinin tanımlanabildiği, bunlardan 8 tanesinin tür düzeyinde kesin tanısının yapıldığı görülmektedir. Tür tanımlanması yapılan izolatların *H. uvarum* (2), *T. delbrueckii* (2), *M. pulcherrima* (1) ve *C. krusei* (3) türlerine ait oldukları belirlenmiştir. 8 adet izolat ise cins düzeyinde tanımlanabilmiş ve bunların *Candida* (3), *Metschnikowia* (4), *Pichia* (1) ve *Saccharomyces* (1) cinslerine ait oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 4.17. Ekmeklik buğday unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
MFKH-1	*Candida lusitaniae*	1.937
MFKH-3	*Metschnikowia pulcherrima*	1.931
MFKH-5	Tanımlanamadı	1.657
MFKHa-1	*Metschnikowia pulcherrima*	1.880
MFKHa-2	Tanımlanamadı	1.416
MFKHb-2	Tanımlanamadı	1.394
MFKHb-3	*Metschnikowia pulcherrima*	1.914
MFKHc-1	Tanımlanamadı	1.667
MFKHc-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.234
MFKD-1	*Metschnikowia pulcherrima*	2.037
MFKD-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.170
MFKS-1	*Torulaspora delbrueckii*	2.364
MFKS-2	*Torulaspora delbrueckii*	2.020
MFKS-3	*Metschnikowia pulcherrima*	1.815
LFKH-1	*Candida krusei*	2.379
LFKH-3	Tanımlanamadı	1.603
LFKHa-5	Tanımlanamadı	1.449
LFKHb-4	Tanımlanamadı	1.623
LFKHc-1	*Candida krusei*	2.483
LFKHc-3	Tanımlanamadı	1.668
LFKHc-4	Tanımlanamadı	1.635
LFKD-2	*Candida krusei*	2.454
LFKD-5	Tanımlanamadı	1.682
LFKS-3	Tanımlanamadı	1.567
LFKH-5	*Pichia kluyveri*	1.703
LFKH-6	*Candida lusitaniae*	1.714
LFKH-7	*Candida krusei*	1.931
LFKHb-1	Tanımlanamadı	1.582
LFKHc-5	Tanımlanamadı	1.600
LFKHc-6	*Saccharomyces cerevisiae*	1.984
LFKS-1	Tanımlanamadı	1.657

Ekmeklik buğday ununun kullanıldığı, fermantasyon uygulanmadan gerçekleştirilen üretimlerde hamur aşamasında *M. pulcherrima* türü izole edilememişken fermantasyonlu üretimin hem hamur aşamasında hem de fermantasyonun 24 ve 48. saatlerinde *Metschnikowia* cinsi izole edilebilmiştir. Ayrıca ilk kurutma ve son ürün aşamalarında da aynı cins izole edilerek tanımlanabilmiştir. Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde son üründen izole edilmiş olan 1 adet izolat tanımlanamamışken, fermantasyon uygulanarak gerçekleştirilen üretimin son ürün aşamasında elde edilen izolatlardan *T. delbrueckii*

türü ve *Metschnikowia* cinsi tanımlanabilmiştir. Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde hamur aşamasında karşılaşılan *H. uvarum* türüne ilk kurutma ve son ürün aşamasında rastlanmamıştır; fakat fermantasyon uygulanarak gerçekleştirilen üretimde fermantasyonun 72. saatinde karşılaşılan bu tür, ilk kurutma aşamasından da izole edilmiştir. Her iki üretimde de *Candida* cinsine ait türlerin son ürün aşamasına kadar canlı kalamadıkları görülmektedir.

Fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanalarında, hammadde olarak kavuzsuz arpanın kullanıldığı üretimde elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları Çizelge 4.18'de verilmiştir. Aynı hammadde ile fermantasyon uygulanan üretime ait sonuçlar ise Çizelge 4.19' da verilmiştir.

Çizelge 4.18. Kavuzsuz arpa unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
MAH-1	*Hanseniaspora uvarum*	2.238
MAH-3	*Torulaspora delbrueckii*	2.382
MAH-4	*Saccharomyces cerevisiae*	1.959
MAH-5	*Saccharomyces cerevisiae*	2.390
MAD-1	*Saccharomyces cerevisiae*	2.159
MAD-2	*Saccharomyces cerevisiae*	2.131
MAD-3	*Torulaspora delbrueckii*	2.485
MAD-4	*Metschnikowia pulcherrima*	1.710
MAD-5	*Saccharomyces cerevisiae*	1.919
MAS-2	Tanımlanamadı	1.636
LAH-6	*Candida lusitaniae*	2.075
LAH-8	*Saccharomyces cerevisiae*	2.014
LAD-3	Tanımlanamadı	1.438
LAH-3	Tanımlanamadı	1.696
LAH-4	*Saccharomyces cerevisiae*	2.225
LAD-1	*Candida lusitaniae*	2.037

Çizelge 4.18 incelendiğinde, izolatların tamamının maya olduğu görülmektedir. Çizelgede yer alan 16 izolattan 13 tanesinin tanımlanabildiği, bunlardan 10 tanesinin tür düzeyinde kesin tanısının yapıldığı görülmektedir. Tür tanımlanması yapılan izolatların *H. uvarum* (1), *S. cerevisiae* (5), *T. delbrueckii* (2), ve *C. lusitaniae* (2) türlerine ait oldukları belirlenmiştir. 3 adet izolat ise cins düzeyinde tanımlanabilmiş ve bunların *Saccharomyces* (2) *ve Metschnikowia* (1) cinslerine ait oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 4.19. Kavuzsuz arpa unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
MFAH-1	*Metschnikowia pulcherrima*	1.785
MFAH-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.291
MFAHa-1	*Hanseniaspora uvarum*	2.236
MFAHa-2	*Torulaspora delbrueckii*	2.283
MFAHa-3	*Pichia kluyveri*	1.777
MFAHa-4	*Metschnikowia pulcherrima*	1.892
MFAHb-1	*Pichia kluyveri*	1.828
MFAHb-2	*Metschnikowia pulcherrima*	1.893
MFAHb-3	*Hanseniaspora uvarum*	2.334
MFAHc-1	*Metschnikowia pulcherrima*	2.023
MFAHc-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.226
MFAD-1	Tanımlanamadı	1.362
MFAD-2	*Metschnikowia pulcherrima*	1.857
MFAS-1	*Torulaspora delbrueckii*	2.241
MFAS-2	*Metschnikowia pulcherrima*	1.884
MFAS-3	Tanımlanamadı	1.542
LFAH-6	*Candida kefyr*	2.234
LFAHa-2	*Candida guilliermondii*	1.984
LFAHa-4	Tanımlanamadı	1.563
LFAHb-5	*Candida krusei*	1.708
LFAHb-6	*Candida lusitaniae*	1.737
LFAHc-1	Tanımlanamadı	1.690
LFKHc-3	Tanımlanamadı	1.653
LFAD-2	Tanımlanamadı	1.565
LFAD-4	*Saccharomyces cerevisiae*	1.969
LFAH-1	Tanımlanamadı	1.662
LFAHb-1	*Candida lusitaniae*	1.796
LFAD-5	*Saccharomyces cerevisiae*	2.004
LFAD-6	*Candida krusei*	1.916
LFAD-7	*Candida lusitaniae*	1.727
LFAS-2	*Candida lusitaniae*	1.855

Fermantasyon uygulanan üretimde de tanımlanması yapılabilen izolatların tamamının maya olduğu belirlenmiştir. Çizelgede yer alan 31 izolattan 24 tanesinin tanımlanabildiği, bunlardan 9 tanesinin tür düzeyinde kesin tanısının yapıldığı görülmektedir. Tür tanımlanması yapılan izolatların *H. uvarum* (4), *T. delbrueckii* (2), *M. pulcherrima* (1), *S. cerevisiae* (1) ve *Candida kefyr* (1) türlerine ait oldukları belirlenmiştir. 15 adet izolat ise cins düzeyinde tanımlanabilmiş ve bunların *Candida* (7), *Metschnikowia* (5), *Pichia* (2) ve *Saccharomyces* (1) cinslerine ait oldukları belirlenmiştir.

Kavuzsuz arpanın kullanıldığı, fermantasyon uygulanmadan gerçekleştirilen üretimlerde hamur aşamasında *M. pulcherrima* türü izole edilememişken, fermantasyonlu üretimin hem hamur aşamasında hem de fermantasyonun 24 ve 48. saatlerinde *Metschnikowia* cinsi izole edilebilmiştir. Ayrıca ilk kurutma ve son ürün aşamalarında da aynı cins izole edilerek tanımlanabilmiştir. Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde son üründen izole edilmiş olan 1 adet izolat tanımlanamamışken, fermantasyon uygulanarak gerçekleştirilen üretimin son ürün aşamasında elde edilen izolatlardan *T. delbrueckii* türü ile *Metschnikowia* ve *Candida* cinsleri tanımlanabilmiştir.

Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde hamur aşamasında karşılaşılan *H. uvarum* türüne ilk kurutma ve son ürün aşamasında rastlanmamıştır; aynı zamanda fermantasyon uygulanarak gerçekleştirilen üretimde de fermantasyonun 24, 48 ve 72. saatlerinde hamur aşamasında karşılaşılan bu tür, ilk kurutma ve son ürün aşamasından izole edilememiştir. Fermantasyonsuz üretimde *Candida* cinsine ait türlerin son ürün aşamasına kadar canlı kalamadıkları görülürken, fermantasyon işleminin uygulandığı üretimde *Candida* cinsi ilk kurutma ve son ürün aşamalarında izole edilebilmiştir.

Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde *Pichia* cinsine rastlanmazken, fermantasyonlu üretimde fermantasyonun 24. ve 48. saatlerinde *Pichia* cinsi izole edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.18 ve 4.19). Tarhana örneklerinde, başlangıçta maya sayısının az olması ve fermantasyon sırasında maya sayısının artması sebepleriyle bu cinsin izole edilmiş olabileceği düşünülmektedir.

Karabuğday unu kullanılarak ve fermantasyon uygulanmadan yapılan kızılcık tarhanası üretimlerinde elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları, Çizelge 4.20'de verilmiştir. Çizelgede yer alan 16 izolattan 12 tanesinin tanımlanabildiği, bunlardan 8 tanesinin tür düzeyinde kesin tanısının yapıldığı görülmektedir. Skor değeri 2.546 olduğu halde çalışılan veritabanında yer almadığı için tanımlanamayan 1 adet izolat dikkat çekmektedir. Tür tanımlanması yapılan izolatların *H. uvarum* (2), *S. cerevisiae* (3) ve *T. delbrueckii* (2) türlerine ait oldukları belirlenmiştir. Yine tanımlaması tür düzeyinde yapılan izolatlardan bir tanesi de hamur aşamasından izole edilmiş olan *Bacillus thuringiensis*'tir. M17 agara yapılmış olan ekimlerden elde edilen bu bakterinin son ürün aşamasına kadar canlı kalmadığı

görülmektedir. 4 adet izolat ise cins düzeyinde tanımlanabilmiştir. Bunların *Metschnikowia* (1) ve *Saccharomyces* (3) cinslerine ait oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 4.20. Karabuğday unu ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
MKBH-1	*Saccharomyces cerevisiae*	2.012
MKBH-3	Tanımlanamadı	2.546
MKBH-4	*Hanseniaspora uvarum*	2.299
MKBH-5	*Torulaspora delbrueckii*	2.078
MKBD-1	*Torulaspora delbrueckii*	2.202
MKBD-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.249
MKBD-3	*Metschnikowia pulcherrima*	1.857
MKBD-4	*Saccharomyces cerevisiae*	2.149
LKBH-14	Tanımlanamadı	1.567
LKBH-15	Tanımlanamadı	1.673
LKBD-9	*Saccharomyces cerevisiae*	1.852
LKBH-4	*Bacillus thuringiensis*	2.267
LKBH-6	*Saccharomyces cerevisiae*	2.034
LKBD-2	*Saccharomyces cerevisiae*	1.953
LKBD-7	*Saccharomyces cerevisiae*	1.994
LKBS-6	Tanımlanamadı	1.621

Çizelge 4.21'de karabuğday unu kullanılarak ve fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasından elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları verilmiştir. Çizelge incelendiğinde; 38 izolattan 31 tanesinin tanımlanabildiği, bunlardan 14 tanesinin tür düzeyinde kesin tanısının yapıldığı görülmektedir. Tür tanımlanması yapılan izolatların *H. uvarum* (5), *T. delbrueckii* (1), *Wickerhamomyces anomalus* (1), *S. cerevisiae* (2), *C. krusei* (3), *C. lusitaniae* (1) ve *C. kefyr* (1) türlerine ait oldukları belirlenmiştir. 17 adet izolat ise cins düzeyinde tanımlanabilmiş ve bunların *Candida* (5), *Metschnikowia* (6), *Hanseniaspora* (1) ve *Saccharomyces* (3) cinslerine ait oldukları belirlenmiştir. Ayrıca hamur aşamasından ve son ürün aşamasından M17 agara yapılan ekimlerden izole edilen 2 adet izolatın *Bacillus* cinsine ait bakteri olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.21. Karabuğday unu ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
MFKBH-1	*Torulaspora delbrueckii*	2.370
MFKBH-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.159
MFKBH-3	Tanımlanamadı	1.670
MFKBHa-1	*Candida krusei*	1.966
MFKBHa-2-1	*Hanseniaspora uvarum*	2.046
MFKBHa-2-2	*Candida valida*	1.832
MFKBHa-3	*Metschnikowia pulcherrima*	1.725
MFKBHa-4	*Hanseniaspora uvarum*	2.246
MFKBHb-1	*Metschnikowia pulcherrima*	1.888
MFKBHb-2	*Wickerhamomyces anomalus*	2.095
MFKBHb-3	*Hanseniaspora uvarum*	2.159
MFKBHc-1	*Metschnikowia pulcherrima*	1.813
MFKBHc-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.185
MFKBD-1	*Hanseniaspora uvarum*	1.906
MFKBD-2	*Metschnikowia pulcherrima*	1.795
MFKBD-3	*Saccharomyces cerevisiae*	2.013
MFKBD-4	*Metschnikowia pulcherrima*	1.990
MFKBS-1	*Metschnikowia pulcherrima*	1.984
MFKBS-2	Tanımlanamadı	1.605
LFKBH-13	Tanımlanamadı	1.679
LFKBHa-6	Tanımlanamadı	1.637
LFKBHa-7	*Saccharomyces cerevisiae*	1.937
LFKBHa-8	*Candida krusei*	2.125
LFKBHb-7	Tanımlanamadı	1.541
LFKBHb-9	Tanımlanamadı	1.620
LFKBHb-10	*Saccharomyces cerevisiae*	1.957
LFKBHc-8	*Candida krusei*	2.390
LFKBHc-9	Tanımlanamadı	1.631
LFKBD-1	*Saccharomyces cerevisiae*	1.876
LFKBD-3	*Candida krusei*	2.351
LFKBH-1	*Bacillus pumilus*	1.950
LFKBH-6	*Candida lusitaniae*	1.868
LFKBH-8	*Candida lusitaniae*	1.796
LFKBH-9	*Candida kefyr*	2.170
LFKBHa-4	*Candida lusitaniae*	2.019
LFKBHc-1	*Saccharomyces cerevisiae*	2.025
LFKBHc-2	*Candida lusitaniae*	1.746
LFKBS-2	*Bacillus licheniformis*	1.981

Çizelge 4.20 ve 4.21'deki sonuçlara göre; fermantasyon uygulanmadan gerçekleştirilen üretimlerde sadece ilk kurutma aşamasında *Metschnikowia* cinsi izole edilebilmişken, fermantasyonlu üretimin ilk hamur aşaması hariç tüm aşamalarında *Metschnikowia* cinsi izole edilebilmiştir. Fermantasyon işleminin

uygulanmadığı üretimde son üründen izole edilmiş olan 1 adet izolat tanımlanamamışken, fermantasyon uygulanarak gerçekleştirilen üretimin son ürün aşamasında elde edilen izolatlardan *Metschnikowia* cinsi tanımlanabilmiştir. Ayrıca son üründen M17 agara yapılan ekimlerden elde edilen tek izolat *Bacillus* cinsi olarak tanımlanmıştır. Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde hamur aşamasında ve ilk kurutma aşamasında karşılaşılan *H. uvarum* türüne son ürün aşamasında rastlanmamıştır. Aynı zamanda bu tür, fermantasyon uygulanarak gerçekleştirilen üretimde de hamur aşaması ile fermantasyonun 24, 48 ve 72. saatlerinde izole edilebilmiştir.

Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde *Candida* cinsine ve bu cinse ait türlere rastlanmazken, fermantasyonlu üretimde özellikle de fermantasyonun çeşitli aşamalarında *Candida* türleri ve cinsleri izole edilebilmiştir. İzole edilen *C. krusei* türü ilk kurutma aşamasına kadar canlı kalabilmiştir. Yine fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde görülmeyen fakat fermantasyonlu üretimden izole edilen ve dikkat çeken bir başka tür *W. anomalus* türüdür. Fermantasyon işlemi bu üretimde tür çeşitliliğini arttırmıştır.

İrmik altı un kullanılarak ve fermantasyon uygulanmadan yapılan kızılcık tarhanası üretimlerinde elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları, Çizelge 4.22'de belirtilmiştir.

Çizelge incelendiğinde, 20 izolattan 17 tanesinin tanımlanabildiği, bunlardan 14 tanesinin tür düzeyinde kesin tanısının yapıldığı görülmektedir. Tür tanımlanması yapılan izolatların *H. uvarum* (4), *S. cerevisiae* (4), *T. delbrueckii* (4) ve *C. lusitaniae* (1) türlerine ait oldukları belirlenmiştir. Bunun yanında M17 agara hamur aşamasında yapılan ekimlerden 1 izolat *Bacillus oleronius* olarak tür düzeyinde, ilk kurutma aşamasında yapılan ekimlerden 1 izolat da *Bacillus* olarak cins düzeyinde tanımlanmış; *Bacillus* cinsinin son ürün aşamasına kadar canlı kalamadığı görülmüştür. Bunların dışında ilk kurutmadan elde edilen 2 adet izolat daha cins düzeyinde tanımlanabilmiştir. Bunların *Metschnikowia* (1) ve *Candida* (1) cinslerine ait oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 4.22. İrmik altı un ile fermantasyon uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
MİAH-1	*Hanseniaspora uvarum*	2.235
MİAH-2	*Torulaspora delbrueckii*	2.101
MİAH-3	*Hanseniaspora uvarum*	2.160
MİAH-5	*Saccharomyces cerevisiae*	2.138
MİAH-6	*Saccharomyces cerevisiae*	2.049
MİAH-7	*Hanseniaspora uvarum*	2.102
MİAH-8	*Saccharomyces cerevisiae*	2.016
MİAD-1	*Hanseniaspora uvarum*	2.280
MİAD-2	*Torulaspora delbrueckii*	2.363
MİAD-3	*Metschnikowia pulcherrima*	1.915
MİAS-1	*Torulaspora delbrueckii*	2.161
MİAS-2	Tanımlanamadı	1.460
MİAS-4	*Torulaspora delbrueckii*	2.021
LİAH-10	*Candida lusitaniae*	2.038
LİAD-8	*Candida lusitaniae*	1.841
LİAS-1	Tanımlanamadı	1.649
LİAH-1	*Saccharomyces cerevisiae*	2.154
LİAH-2	Tanımlanamadı	1.657
LİAH-6	*Bacillus oleronius*	2.048
LİAD-5	*Bacillus cereus*	1.806

İrmik altı un kullanılarak ve fermantasyon uygulanarak hazırlanan kızılcık tarhanasından elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları, Çizelge 4.23'te verilmiştir. Bu üretimde de tanımlanması yapılabilen izolatların birçoğunun maya olduğu, fakat bunun yanı sıra özellikle de M17 agara yapılan ekimlerden elde edilen izolatların çoğunun *Bacillus* cinsine ait bakteriler olduğu belirlenmiştir. Çizelgede yer alan 44 izolattan 32 tanesinin tanımlanabildiği, bunlardan 21 tanesinin tür düzeyinde kesin tanısının yapıldığı görülmektedir. Tür tanımlanması yapılan izolatların *H. uvarum* (7), *T. delbrueckii* (3), *C. krusei* (3), *W. anomalus* (1), *Candida parapsilosis* (1) ve *C. lusitaniae* (2) türlerine ait oldukları belirlenmiştir.

Çizelge 4.23. İrmik altı un ile fermantasyon uygulanarak üretilen kızılcık tarhanasında çeşitli üretim aşamalarında elde edilen izolatlara ait tanımlama sonuçları

İzolat No	Tanımlama Sonucu	Biotyper Skor Değeri
MFİAH-1	*Candida krusei*	2.007
MFİAH-3	*Hanseniaspora uvarum*	2.223
MFİAH-4	Tanımlanamadı	1.553
MFİAH-5	*Hanseniaspora uvarum*	2.125
MFİAH-6	*Candida lusitaniae*	2.106
MFİAH-8	*Candida valida*	1.889
MFİAHa-1	*Hanseniaspora uvarum*	2.204
MFİAHa-2	*Metschnikowia pulcherrima*	1.810
MFİAHa-4	*Torulaspora delbrueckii*	2.527
MFİAHb-1	*Hanseniaspora uvarum*	2.208
MFİAHb-2	*Torulaspora delbrueckii*	2.376
MFİAHb-3	*Metschnikowia pulcherrima*	1.861
MFİAHb-4	*Wickerhamomyces anomalus*	2.347
MFİAHc-1	*Hanseniaspora uvarum*	2.330
MFİAHc-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.263
MFİAD-1	*Wickerhamomyces anomalus*	1.946
MFİAD-2	*Hanseniaspora uvarum*	2.234
MFİAD-3	Tanımlanamadı	0
MFİAS-1	Tanımlanamadı	1.390
MFİAS-2	*Metschnikowia pulcherrima*	1.833
MFİAS-3	*Torulaspora delbrueckii*	2.000
LFİAH-5	*Candida lusitaniae*	2.094
LFİAHa-4	Tanımlanamadı	1.306
LFİAHa-5	Tanımlanamadı	1.594
LFİAHa-6	Tanımlanamadı	0
LFİAHb-5	Tanımlanamadı	1.678
LFİAHb-8	*Candida parapsilosis*	2.397
LFİAHb-9	*Candida krusei*	2.427
LFİAHb-10	Tanımlanamadı	1.432
LFİAHc-2	*Candida lusitaniae*	1.705
LFİAD-1	Tanımlanamadı	1.676
LFİAH-1	*Bacillus cereus*	2.398
LFİAH-3	*Bacillus licheniformis*	2.017
LFİAH-4	*Candida krusei*	2.144
LFİAHa-1	*Bacillus pumilus*	1.190
LFİAHb-2	Tanımlanamadı	1.593
LFİAHb-3	Tanımlanamadı	1.567
LFİAHb-4	*Saccharomyces cerevisiae*	1.896
LFİAHc-5	*Candida lusitaniae*	1.782
LFİAHc-7	*Bacillus cereus*	2.235
LFİAD-3	Tanımlanamadı	1.357
LFİAD-4	*Candida lusitaniae*	1.824
LFİAD-6	*Bacillus licheniformis*	2.001
LFİAS-1	*Bacillus circulans*	1.950

Bunların yanında hamur aşamasından 1 adet *Bacillus cereus* ve 1 adet *Bacillus licheniformis*, fermantasyonun 72. saatinden 1 adet *B. cereus*, ilk kurutma aşamasından da 1 adet *B. licheniformis* izole edilmiştir. 11 adet izolat ise cins düzeyinde tanımlanabilmiş ve bunların *Candida* (4), *Metschnikowia* (3), *Wickerhamomyces* (1) ve *Saccharomyces* (1) cinslerine ait oldukları belirlenmiştir. M17 agara yapılan ekimlerden elde edilen 2 izolatın da *Bacillus* cinsine ait olduğu ve son ürün aşamasında da canlı kalabildiği belirlenmiştir.

Hem fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde hamur aşaması ve ilk kurutma aşamasında hem de fermantasyonlu üretimde hamur aşamasında, fermantasyon aşamasında ve ilk kurutma aşamasında *H. uvarum* türü izole edilmiştir. Fakat bu maya türü son ürün aşamasında her iki üretimde de canlı kalamamıştır. Bunun yanında hem fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde hem de fermantasyonlu üretimde son üründen *T. delbrueckii* türü izole edilmiştir. Tüm üretimler incelendiğinde bu maya türünün sadece irmik altı unun kullanıldığı kızılcık tarhanasında, hem fermantasyon işleminin uygulandığı hem de fermantasyonsuz üretimlerde son üründen izole edilebildiği görülmektedir.

Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimden izole edilmemiş fakat fermantasyonlu üretimde özellikle de fermantasyonun çeşitli aşamalarından izole edilen *W. anomalus*, *C. parapsilosis* ve *C. krusei* türleri dikkat çekmektedir. Bu üretimde de fermantasyon işlemi tür çeşitliliğini arttırmıştır.

Tüm üretimler incelendiğinde sadece kavuzsuz arpa unu ile üretilen kızılcık tarhanası hamurundan ve karabuğday unu ile üretilen kızılcık tarhanasının hamur aşamasından *C. kefyr* türü izole edilmiştir.

Tarhana mikroflorasının genellikle laktik asit bakterileri ve mayalardan oluştuğu bilinmektedir (Settanni ve ark., 2011). Geleneksel tarhana üretimindeki girdilerden en önemlilerinden biri olan yoğurdun kızılcık tarhanasında kullanılmıyor olması, farklı tahıl unları ile üretilen kızılcık tarhanalarından maya kadar laktik asit bakterisi izole edilememesinin en büyük sebebi olmuştur. Bu nedenle, kızılcık tarhanasının mikroflorasının ağırlıklı olarak mayalardan oluştuğu belirlenmiştir.

4.3 Farklı Hammaddelerle Üretilen Kızılcık Tarhanaları için Elde Edilen Tanımlama Sonuçlarına Ait Değerlendirme

Bu tez çalışmasında, bütün örneklerden toplam 231 adet izolat elde edilmiştir. Bunlardan 115 tanesi YGC agardan izole edilen maya kültürleridir. Diğer 116 izolat ise; M17 agar ve MRS agardan elde edilen izolatlardır.

MALDI-TOF/TOF MS yöntemiyle yapılan tanımlama sonucu toplam 231 adet izolattan 161 adetinin maya olduğu; bunların 97 tanesinin tür düzeyinde tanımlandığı, 64 tanesinin de cins düzeyinde tanımlandığı görülmektedir. İzolatlardan 14 adetinin ise çeşitli cinslere (*Bacillus* (11), *Kosakonia* (1), *Enterococcus* (1), *Lactobacillus* (1)) ait bakteri olduğu belirlenmiştir. 56 adet (%24.2) izolatın tanımlaması yapılamamıştır. Tüm izolatlara bakıldığında, % 30.3 oranında cins düzeyinde, % 45.5 oranında ise tür düzeyinde tanımlama yapılmıştır.

Literatürde geleneksel fermente ürünlerden izole edilen mikroorganizmaların, özellikle de mayaların MALDI-TOF/TOF MS yöntemi ile tanımlandığı çok az çalışma bulunmaktadır. Kore'ye özgü fermente ürünlerden 'kimchi' ve 'jeotgal'den izole edilen *Weissella* türlerinin MALDI-TOF MS yöntemiyle tanımlandığı bir çalışmada; 6 referans *Weissella* suşunun spektrumları kaydedildikten sonra 113 izolat (% 83.7) tür bazında tanımlanmış, referans suşlarla çalışılmış olmasına rağmen 22 izolatın (% 16.3) cins bazında tanımlanabildiği rapor edilmiştir (Kim ve ark., 2017).

Bu tez çalışmasında, tanımlaması yapılan toplam 161 adet maya izolatının %30.4'ünün *Candida*, %19.9'unun *Hanseniaspora*, %19.3'ünün *Saccharomyces*, %14.9'unun *Metschnikowia*, % 1.9'unun *Pichia*, %1.9'unun *Wickerhamomyces*, %1.2'sinin *Cyberlindnera* cinslerine ait olduğu görülmektedir. Fakat tür tanımlaması yapılan izolatlar kendi arasında değerlendirildiğinde, tanımlanan 97 adet maya türünün % 32'si *H. uvarum*, %19.6'sı *S. cerevisiae*, %18.6'sı *T. delbrueckii*, %11.3'ü *C. krusei*, %9.3'ü *C. lusitaniae*, %3.1'i *M. pulcherrima*, % 2.1'i *W. anomalus*, %2.1'i *C. kefyr*, %1'i *Cy. fabianii*, % 1'i *C. parapsilosis* olarak tanımlanmıştır. Yapılan tür tanımlamaları incelendiğinde cins düzeyinde *Candida*'nın baskın olduğu bulunmasına rağmen, tanımlanan izolatlar arasında en fazla sayıda olan ve üretimlerin birçok aşamasından izole edilen türün *H. uvarum* olduğu belirlenmiştir.

Geleneksel tarhana üretimi sırasında maya mikroflorasının incelendiği bir çalışmada, Uşak yöresinin hem ev ve hem de işletme ölçeğinde üretilen tarhanalarından, üretimin 0., 1., 3., 5., 10., ve 15. günlerinden toplanan örneklerinden elde edilen izolatlar 5.8 S rDNA ve 28 S rDNA dizi analizi ile tanımlanmıştır. 45 maya izolatının 11 tanesi *Candida glabrata*, 10 tanesi *Candida humilis*, 9 tanesi *Issatchenkia orientalis*, 7 tanesi *S. cerevisiae*, 4 tanesi *Kluyveromyces marxianus*, 2 tanesi *Pichia kudriavzevii*, 1 tanesi *Saccharomyces servazzi*, 1 tanesi *T. delbrueckii* olarak kaydedilmiştir (Özel, 2012). Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla kıyaslandığında, *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* türleri hariç, kızılcık tarhanasında tanımlanan maya türlerinin klasik geleneksel tarhanaya göre farklılık gösterdiği görülmektedir. Ayrıca kızılcık tarhanasından çok daha fazla sayıda maya izolatı elde edilmiş, cins ve tür çeşitliliğinin daha fazla olduğu bulunmuştur.

Yapılan tür tanımlamalarının, hammadde ve üretim aşamalarına göre dağılımları Çizelge 4.24-4.27'de verilmiştir. Ürün mikroflorasının maya ağırlıklı olduğu tespit edildiğinden, bu bölüme sadece tanımlanan maya türleri dahil edilmiştir.

Fermantasyon işleminin uygulanmadığı ve uygulandığı kontrol buğday unu kullanılarak üretilen kızılcık tarhanasında tanımlanan türler ve izole edildikleri aşamalar ile bunların kızılcık püresinden izole edilen maya türleri ile karşılaştırılması Çizelge 4.24'te verilmiştir.

Ekmeklik buğday ununun kullanıldığı ve fermantasyon işleminin uygulanmadığı kızılcık tarhanasında en fazla sayıda olan türün *S. cerevisiae* olduğu belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.16). Aynı çıkarımın fermantasyon işleminin uygulandığı üretimden yapılamaması dikkat çekici olmuştur. Çizelge 4.24'te görüldüğü gibi, kızılcık püresinden izole edilmiş olan *H. uvarum, C. lusitaniae, C. krusei* ve *S. cerevisiae* türlerine fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde hamur aşamasında da rastlanmış ve ilk kurutma aşamasına kadar *H. uvarum* türü canlı kalabilmiştir. Yine hamur aşamasında *T. delbrueckii* türü izole edilmiş ve bu tür de ilk kurutma aşamasına kadar canlı kalabilmiştir. Üretimin ilk aşamalarında izole edilemeyen *M. pulcherrima* türü ilk kurutma aşamasında izole edilebilmiştir. Fermantasyon işlemi uygulanarak gerçekleştirilen üretimde ise hamur aşamasında kızılcık püresi kaynaklı olduğu düşünülen *C. krusei* türüne rastlanmış ve

fermantasyon boyunca ve ilk kurutma aşamasında da bu türün canlı kalabildiği görülmüştür. Fermantasyon işleminin, hamur aşamasından izole edilememiş olan yine püre kaynaklı olduğu düşünülen *H. uvarum* ve *M. pulcherrima* türlerinin gelişimini desteklediği görülmektedir. Fermantasyonun 72. saatinde *H. uvarum* türüne, ilk kurutma aşamasında *H. uvarum* ile birlikte *M. pulcherrima* türüne de rastlanmıştır.

Çizelge 4.24. Ekmeklik buğday unu kullanılarak yapılan üretimlerde, çeşitli aşamalarda tanımlanan mikroorganizma türleri

Kızılcık püresinden elde edilen türler	**Ekmeklik buğday unundan elde edilen türler**	**Aşamalar**	**Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretim**	**Fermantasyon işleminin uygulandığı üretim**
H. uvarum *C. lusitaniae* *C. krusei* *S. cerevisiae*	-	H	*S. cerevisiae* *H. uvarum* *C. lusitaniae* *C. krusei* *T. delbrueckii*	*C. krusei*
		Ha	-	-
		Hb	-	-
		Hc	-	*H. uvarum* *C. krusei*
		D	*H. uvarum* *T. delbrueckii* *M. pulcherrima*	*H. uvarum* *C. krusei* *M. pulcherrima*
		S	-	*T. delbrueckii*

Meyve kaynaklı, birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyel aktiviteye sahip ve fermente ürünlerde de kullanılan bir maya olan *M. pulcherrima* kızılcık püresinden izole edilememiş olmasına rağmen, fermantasyon uygulamasıyla gelişimi desteklenerek izole edilebilmiştir (Oro ve ark., 2018; Varela ve ark., 2017).

Fermantasyon işleminin uygulanmadığı ve uygulandığı, kavuzsuz arpa ununun kullanıldığı kızılcık tarhanasında tanımlanan türler ve izole edildikleri aşamalar ile bunların kızılcık püresinden izole edilen maya türleri ile karşılaştırılması Çizelge 4.25' te verilmiştir.

Çizelge 4.25. Kavuzsuz arpa unu kullanılarak yapılan üretimlerde, çeşitli aşamalarda tanımlanan mikroorganizma türleri

Kızılcık püresinden elde edilen türler	**Kavuzsuz arpa ununda elde edilen türler**	**Aşamalar**	**Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretim**	**Fermantasyon işleminin uygulandığı üretim**
H. uvarum *C. lusitaniae* *C. krusei* *S. cerevisiae*	-	H	*S. cerevisiae* *H. uvarum* *C. lusitaniae* *T. delbrueckii*	*H. uvarum* *C. kefyr*
		Ha	-	*H. uvarum* *T. delbrueckii*
		Hb	-	*H. uvarum*
		Hc	-	*H. uvarum* *M. pulcherrima*
		D	*S. cerevisiae* *C. lusitaniae* *T. delbrueckii*	*S. cerevisiae*
		S	-	*T. delbrueckii*

Kavuzsuz arpa ununun kullanıldığı ve fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde de ekmeklik buğday unu ile gerçekleştirilen üretimde olduğu gibi, suş sayısı en fazla olan türün *S. cerevisiae* olduğu belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.18 ve 4.19). Çizelge 4.25 incelendiğinde, kızılcık püresinden izole edilmiş olan *H. uvarum, C. lusitaniae* ve *S. cerevisiae* türlerine fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde hamur aşamasında da rastlanmış ve ilk kurutma aşamasına kadar *C. lusitaniae* ve *S. cerevisiae* türleri canlı kalabilmiştir. Yine hamur aşamasında *T. delbrueckii* türü izole edilmiş ve bu tür de ilk kurutma aşamasına kadar canlı kalabilmiştir. Fermantasyon işlemi uygulanarak gerçekleştirilen üretimde ise hamur aşamasından fermantasyonun sonuna kadar canlı kalan *H. uvarum* türü dikkat çekmektedir. Ekmeklik buğday unu ile gerçekleştirilen üretimde olduğu gibi bu üretimde de fermantasyon işleminin püre kaynaklı *H. uvarum* türünün gelişimini desteklediği görülebilmektedir. Fermantasyonsuz üretimde izolat sayısı en fazla olan tür olarak karşımıza çıkan *S. cerevisiae* mayasına, fermantasyonlu üretimde ilk kurutma aşamasına kadar rastlanmamaktadır.

Yine kontrol buğday unu ve kavuzsuz arpa unu ile gerçekleştirilen üretimlerde meyve püresinden izole edilememiş, üretimlerin gerçekleştirildiği

işletmeden kaynaklı olduğu düşünülen *T. delbrueckii,* son üründen tanımlanabilen tek maya türü olarak karşımıza çıkmaktadır. *T. delbrueckii* türünün kızılcık püresinden ve zaman zaman ara aşamalardan da izole edilememesine rağmen kuru ürün ve son üründen elde edilmesi, bu türün işletme ortamı kaynaklı olabileceği fikrini kuvvetlendirmektedir.

Karabuğday unu kullanılarak, fermantasyon işleminin uygulanmadığı ve uygulandığı kızılcık tarhanalarında tanımlanan türler ve izole edildikleri aşamalar ile bunların kızılcık püresinden izole edilen maya türleri ile karşılaştırılması Çizelge 4.26' da verilmiştir.

Çizelge 4.26. Karabuğday unu kullanılarak yapılan üretimlerde, çeşitli aşamalarda tanımlanan mikroorganizma türleri

Kızılcık püresinden elde edilen maya türleri	**Karabuğday unundan elde edilen maya türleri**	**Aşamalar**	**Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretim**	**Fermantasyon işleminin uygulandığı üretim**
H. uvarum *C. lusitaniae* *C. krusei* *S. cerevisiae*	-	H	*S. cerevisiae* *H. uvarum* *T. delbrueckii*	*T. delbrueckii* *H. uvarum* *C. kefyr*
		Ha	-	*H. uvarum* *C. lusitaniae* *C. krusei*
		Hb	-	*H. uvarum* *W. anomalus*
		Hc	-	*H. uvarum* *S. cerevisiae* *C. krusei*
		D	*S. cerevisiae* *H. uvarum* *T. delbrueckii*	*S. cerevisiae* *C. krusei*
		S	-	-

Karabuğday unlu üretimde diğer fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimlerde olduğu gibi en fazla sayıda suş içeren tür *S. cerevisiae* olarak belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.20). Fermantasyon işleminin uygulandığı üretimde ise *H. uvarum* ve *C. krusei* türleri baskın tür olarak karşımıza çıkmaktadır (Bkz. Çizelge 4.21). Çizelge 4.26'da belirtildiği gibi, kızılcık püresinden izole edilmiş olan *H. uvarum* ve *S. cerevisiae* türlerine fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde hamur aşamasında da rastlanmış ve ilk kurutma aşamasına kadar bu türler canlı

kalabilmiştir. Yine hamur aşamasında *T. delbrueckii* türü izole edilmiş ve bu tür de ilk kurutma aşamasına kadar canlı kalabilmiştir. Fermantasyon işlemi uygulanarak gerçekleştirilen üretimde ise hamur aşamasından fermantasyonun sonuna kadar canlı kalan *H. uvarum* türü dikkat çekmektedir. Diğer unlarla gerçekleştirilen üretimlerde olduğu gibi bu üretimde de fermantasyon işleminin kızılcık püresi kaynaklı olduğu düşünülen *H. uvarum* türünün gelişimini desteklediği görülebilmektedir.

Karabuğday ununun kullanıldığı üretimlerde, kızılcık püresinden izole edilmiş olan *C. krusei* türü hamurdan izole edilememişken, fermantasyon sürecinde karşımıza çıkmaktadır. Yine bu tür için de fermantasyon işleminin türün gelişimini desteklediği söylenebilir. Hammaddelerden ve üretimin ilk aşamalarından izole edilememesine rağmen, fermantasyonun 48. saatinde *W. anomalus* türü tanımlanmıştır.

İrmik altı unun kullanıldığı, fermantasyon işleminin uygulanmadığı ve uygulandığı kızılcık tarhanalarında tanımlanan türler ve izole edildikleri aşamalar ile bunların kızılcık püresinden izole edilen maya türleri ile karşılaştırılması Çizelge 4.27' de verilmiştir.

Çizelge 4.27. İrmik altı un kullanılarak üretilen kızılcık tarhanası

Kızılcık püresinden elde edilen maya türleri	**İrmik altı undan elde edilen maya türleri**	**Aşamalar**	**Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretim**	**Fermantasyon işleminin uygulandığı üretim**
H. uvarum *C. lusitaniae* *C. krusei* *S. cerevisiae*	*Cy. fabianii*	H	*S. cerevisiae* *H. uvarum* *T. delbrueckii* *C. lusitaniae*	*H. uvarum* *C. lusitaniae* *C. krusei*
		Ha	-	*H. uvarum* *T. delbrueckii*
		Hb	-	*H. uvarum* *W. anomalus* *T. delbrueckii* *C. krusei* *C. parapsilosis*
		Hc	-	*H. uvarum*
		D	*H. uvarum* *T. delbrueckii*	*H. uvarum*
		S	*T. delbrueckii*	*T. delbrueckii*

İrmik altı unun kullanıldığı ve fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde, *S. cerevisiae*, *H. uvarum* ve *T. delbrueckii* türlerinin sayıca baskın olduğu görülmektedir (Bkz. Çizelge 4.22). Çizelge 4.27 incelendiğinde, kızılcık püresinden izole edilmiş olan *H. uvarum, C. lusitaniae* ve *S. cerevisiae* türlerine fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimde hamur aşamasında da rastlanmış fakat ilk kurutma aşamasına kadar sadece *H. uvarum* türü canlı kalabilmiştir. Yine hamur aşamasında *T. delbrueckii* türü izole edilmiş ve bu tür de son ürüne kadar canlı kalabilmiştir. Fermantasyon işlemi uygulanarak gerçekleştirilen üretimde ise, diğer bütün üretimlerde olduğu gibi hamur aşamasından fermantasyonun sonuna kadar canlı kalan *H. uvarum* türü dikkat çekmektedir. Bu üretimde de *H. uvarum* türü sayıca baskın tür olarak belirlenmiştir.

Tüm üretimler incelendiğinde, irmik altı ununun kullanıldığı ve karabuğday ununun kullanıldığı üretimlerde fermantasyonun 48. saatinde *W. anomalus* türü, irmik altı unlu üretimde ise kuru üründe cins düzeyinde karşımıza çıkmaktadır (Bkz. Çizelge 4.21 ve Çizelge 4.23). *W. anomalus* (*Pichia anomalus, Hansenula anomalus*) gıda bilimi için muhtemel biyokontrol ajanı, antifungal ve antibakteriyel özellikleri olan bir maya türüdür. Bu türün küflerin gelişimini engelleyen "etil asetat" ürettiği bilinmektedir. Antibakteriyel mekanizması ise henüz bilinmemektedir. Yapılan bir çalışmada, Afrika'nın önemli tahıllarından ak sorgum üzerine inoküle edilen *W. anomalus* mayasının 2 ay süre ile küflere karşı antifungal etki gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca Enterobacteriaceae üyesi türlerin ve laktik asit bakterilerinin de sayıca azaldığı kaydedilmiştir (Nybogard, 2016; Porru ve ark., 2018).

Yapılan bir çalışmada; tarhana üretiminde fermantasyon sıcaklığı kontrollü olarak 30°C ve 40°C olarak kullanılmış, izole edilen mayalar 5.8 S ITS rRNA geninin Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) ile tanımlanmış ve her iki üretimde de bir çok aşamada *S. cerevisiae* türü ile karşılaşıldığı kaydedilmiştir. Aynı çalışmada 2 izolat da *Rhodotorula glutinis* olarak tanımlanmıştır (Settanni ve ark., 2011). Tüm üretimler incelendiğinde, bu tez çalışmasında da üretimlerin çoğunda *S. cerevisiae* suşları izole edilerek tanımlanmıştır. Literatürde, geleneksel fermente ürünlerde zaman zaman izole edilmiş olan fakat henüz tarhana üzerine yapılan çalışmalarda karşılaşılmamış olan *M. pulcherrima*, *Cy. fabianii* ve *H. uvarum* gibi türler ise bu araştırmada izole edilerek tanımlanmıştır.

Hammaddelerden biri olan irmik altı undan izole edilen *Cy. fabianii* türü hammaddeden izole edilmiş olmasına rağmen, tarhana üretim aşamalarından izole edilememiştir. *Cy. fabianii* türü, daha önce *Pichia fabianii*, *Hansenula fabianii* ve *Lindnera fabianii* olarak bilinmekle birlikte, insan patojeni olan bir maya türü olarak karşımıza çıkmaktadır (Joo ve ark., 2015).

Tarhana üretim aşamalarından yoğun olarak izole edilen *H. uvarum* (anamorf: *Kloeckera apiculata*) şarap üretiminde de sıklıkla rastlanan, üzüm meyvesinin spontan fermantasyonunda çoğunlukla *S. cerevisiae* ile birlikte yer alan apikulat mayalarından biridir (Tristezza ve ark., 2016). Bu çalışmada, kızılcık püresinden ve bütün üretimlerde çeşitli aşamalardan izole edilmiş olan *H. uvarum* türüne ait farklı suşların sayısının diğer mayalar ile kıyaslandığında kayda değer derecede fazla olmamasına rağmen, izolasyon sırasında bu türün morfolojisini yansıtan çok fazla sayıda koloni ile karşılaşılmıştır. Bu nedenle *H. uvarum* bu çalışmada sayı olarak en baskın tür olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışmada *T. delbrueckii* türü hem fermantasyon işleminin uygulanmadığı bazı üretimlerde hem de fermantasyon işleminin uygulandığı çoğu üretimde son ürün aşamasında canlı kalarak tanımlanabilen tek tür olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle son zamanlarda, bira yapımında nadiren kullanılan mayalar arasında bulunan *T. delbrueckii*; maltozu fermente etme, ester bileşikleri üretme ve şerbetçiotunun monoterpenoid lezzet bileşiklerini biyotransfer etme özelliği nedeniyle dikkatleri üzerine çekmiştir. Bu maya türünün özellikle β-feniletanol (gül aromaları), n-propanol, izo-bütanol, amil alkol (brendi aroması) ve etil asetat gibi farklı meyvemsi aromalar üretebildiği belirlenmiştir (Canonico ve ark., 2017). Farklı fermente ürünlerde rastlanılan bu türe geleneksel tarhana üzerine yapılmış çalışmalarda nadiren rastlanılmaktadır. *T. delbrueckii* türünün literatürde yüksek tuz içeriğine dirençli, osmotolerant bir maya türü olduğu belirtilmektedir (Stratford, 2006).Yüksek oranda tuz içeren ve düşük nemli bir ürün olan kızılcık tarhanasında son ürünlerde tanımlanan tek tür olmasının mayanın bu özelliğine bağlı olduğu düşünülmektedir.

Kızılcık meyvesi ve püresi yüksek fenolik madde ve antosiyanin içeren doğal bir antioksidan kaynağıdır (Didin ve ark., 2000; Şengül, 2014). Bu tez çalışmasında elde edilen maya türlerinin yüksek tuz içeriğinin yanı sıra yüksek

fenolik madde içeriğine de dirençli türler oldukları ve farklı biyoteknolojik uygulamalarda potansiyel yerli suşlar olarak kullanılabilecekleri düşünülmektedir.

4.4 Tanımlamaları Yapılan İzolatlarının Makroskobik ve Mikroskobik Morfolojileri ile Sıvı Besiyerinde Gelişme Özellikleri

Çalışmanın bu bölümünde, izole edilen mikroorganizmaların katı ve sıvı besiyerlerinde gelişme özellikleriyle makroskobik ve mikroskobik morfolojilerinden ayrıntılı bir şekilde bahsedilmiştir.

4.4.1 *Candida* cinsi maya izolatlarına ait özellikler

Bu çalışmada üretimlerin farklı aşamalarından farklı türlerde *Candida* cinsleri izole edilebilmiştir. Tür düzeyinde tanımlaması yapılabilmiş toplam 9 adet *C. krusei* türü, 8 adet *C. lusitaniae* türü, 2 adet *C. kefyr* türü ve 1 adet *C. parapsilosis* türü elde edilmiştir. Tür çeşitliliği ele alındığında en fazla türe *Candida* cinsine ait mayalar arasında rastlanmıştır.

C. krusei türü mayaların katı besiyerinde mat beyaz renkli, düzensiz kenarlı ve 2-8 mm arasında değişen çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte tortu şeklinde geliştikleri görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin düzgün elipsoidal morfolojiye sahip olduğu ve uçlardan tomurcuklanma yaptığı gözlenmiştir.

C. lusitaniae türü mayaların katı besiyerinde parlak krem renkli, düğme şekilli, düz kenarlı, kubbeli ve 1-2 mm arasında değişen çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte tortu ve yüzeyde zar oluşturarak geliştikleri görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin düzgün oval morfolojiye sahip olduğu uçlardan tomurcuklanma yaptığı gözlenmiştir.

C. kefyr türü mayaların katı besiyerinde parlak krem renkli, düğme şekilli, düz kenarlı, kubbeli ve 1-2 mm arasında değişen çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte tortu oluşturarak geliştikleri görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin

düzgün oval morfolojiye sahip olduğu ve uç kısmından yoğun tomurcuklanma yaptığı gözlenmiştir.

C. parapsilosis olarak tanımlanmış tek izolatın katı besiyerinde parlak krem renkli, düğme şekilli, düz kenarlı, kubbeli ve 0.5 mm çapa sahip koloni oluşturduğu görülmüştür. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte zayıf tortu oluşturarak geliştiği görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin düzgün elipsoidal morfolojiye sahip olduğu ve uç kısmından tomurcuklanma yaptığı gözlenmiştir.

4.4.2 *Hanseniaspora uvarum* türü maya izolatlarına ait özellikler

Bu tez çalışmasında kızılcık püresinden ve üretimlerin farklı aşamalarından yoğunlukla *H. uvarum* türü izole edilebilmiştir. Özellikle fermantasyon işleminin uygulandığı üretimlerde bu türün canlı kalması ya da hamurdan izole edilememişken fermantasyonun ilerleyen saatlerinde izole edilebilmiş olması, fermantasyon işleminin *H. uvarum*'un gelişimini desteklediği sonucunu çıkarmamızı sağlamıştır. Tür düzeyinde tüm üretimlerde en fazla rastlanılan ortak tür *H. uvarum* olarak karşımıza çıkmaktadır.

H. uvarum türü mayaların katı besiyerinde parlak krem renkli, düğme şekilli, kubbeli ve 0.5-5 mm arasında değişen çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte tortu, besiyeri yüzeyinde zar ve besiyerinde bulanıklık oluşturacak şekilde geliştikleri görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin tipik limon şekilli morfolojiye sahip olduğu gözlenmiştir.

4.4.3 *Saccharomyces cerevisiae* türü maya izolatlarına ait özellikler

Bu tez çalışmasında tüm üretimler incelendiğinde; üretimlerin farklı aşamalarından izole edilen ve MALDI-TOF/TOF MS yöntemi ile tanımlanan 31 adet *Saccharomyces* cinsinin, skor değeri 2.0'nin altında olan 12 adet cins de dahil, tüm *Saccharomyces* cinslerinin tanı sonucu *S. cerevisiae* olarak verilmiştir. Kızılcık püresinden de izole edilen bu türe fermantasyon işleminin uygulanmadığı

üretimlerde yoğunlukla hamur aşamasında rastlanırken, fermantasyon işleminin uygulandığı üretimlerde daha çok fermantasyonun ilerleyen saatlerinde ve ilk kurutma aşamasında rastlanmaktadır.

S. cerevisiae türü mayaların katı besiyerinde parlak krem renkli, düğme şekilli, kubbeli ve 1-3 mm arasında değişen çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte tortu oluşturdukları görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin düzgün elipsoidal morfolojiye sahip olduğu ve uç kısmından tomurcuklanma yaptığı gözlenmiştir.

4.4.4 *Metschnikowia* cinsi maya izolatlarına ait özellikler

Çalışmada tüm üretimler incelendiğinde *Metschnikowia* cinsi ile yoğun olarak karşılaşılmışken, tür düzeyinde yalnız 3 adet izolat *M. pulcherrima* olarak tanımlanabilmiştir. Kızılcık püresinden izole edilememiş olmasına rağmen, meyve kaynaklı olduğu bilinen bu türe fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimlerde ilk kurutma aşamasında, fermantasyon işleminin uygulandığı üretimlerde ise daha çok fermantasyonun ilerleyen saatlerinde ve ilk kurutma aşamasında rastlanmaktadır.

M. pulcherrima türü mayaların katı besiyerinde üstten parlak krem renkli, petri kutusuna alttan bakıldığında pembe renkli, düğme şekilli, kubbeli ve 1-3 mm arasında değişen çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte tortu, besiyeri yüzeyinde zar oluşturdukları görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin düzgün olmayan, çeşitli boyutlarda yuvarlak şekle sahip olduğu gözlenmiştir.

4.4.5 *Wickerhamomyces* cinsi maya izolatlarına ait özellikler

Çalışmada *Wickerhamomyces* cinsine fermantasyonun ilerleyen aşamalarında karabuğday unlu ve irmik altı unlu kızılcık tarhanalarında rastlanmaktadır. Hammaddelerden veya diğer üretimlerden izole edilememiş olması bu türün işletme ortamı kaynaklı olabileceğini ve fermantasyon işleminin bu türün gelişimini desteklediğini göstermektedir.

Bu türün katı besiyerinde mat krem renkli, düğme şekilli, kubbeli ve 2-5 mm arasında değişen çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte tortu, besiyerinde bulanıklık ve besiyeri yüzeyinde zar oluşturdukları görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin düzgün olmayan, çeşitli boyutlarda köşeli şekle sahip olduğu gözlenmiştir.

4.4.6 *Cyberlindnera* cinsi maya izolatlarına ait özellikler

Çalışmada *Cyberlindnera* cinsine sadece hammaddelerden biri olan irmik altı unda rastlanmaktadır. Bu hammadde ile üretilmiş tarhanalarda aynı cins veya *Cy. fabianii* türünün izole edilememiş olması bu türün üretim esnasında canlı kalamadığını göstermektedir.

Bu cinse ait tanımlanabilen tek tür *Cy. fabianii* olmuştur. Bu türün katı besiyerinde mat krem renkli, düğme şekilli, kubbeli ve 2-5 mm arasında değişen çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte tortu, besiyerinde bulanıklık ve besiyeri yüzeyinde zar oluşturdukları görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin düzgün olmayan elipsoidal şekle sahip olduğu gözlenmiştir.

4.4.7 *Pichia* cinsi maya izolatlarına ait özellikler

Çalışmada *Pichia* cinsine kontrol buğday unu içeren ve fermantasyon işleminin uygulandığı kızılcık tarhanasında hamur aşamasında ve fermente kavuzsuz arpa unlu kızılcık tarhanasında fermantasyonun 24. ve 48. saatlerinde rastlanmıştır. Bu cinse ait 3 izolat da *Pichia kluyveri* olarak tanımlanmış fakat MALDI-TOF/TOF MS skor değeri 2.0’ nin altında olduğu için sadece cins düzeyinde kesin tanımlaması yapılmıştır denilebilmektedir.

Bu türün katı besiyerinde mat krem renkli, kabarcıklı, düzensiz ve 2-5 mm arasında değişen çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte tortu, besiyerinde bulanıklık ve besiyeri

yüzeyinde zar oluşturdukları görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin düzgün elips şekilli olduğu gözlenmiştir.

4.4.8 *Lactobacillus reuteri* izolatına ait özellikler

Çalışmada izole edilen ve tür düzeyinde tanımlanabilen tek laktik asit bakterisi *Lb. reuteri* olarak kaydedilmiştir. Bu tür karabuğday unu hammaddesinden izole edilmiş olup üretimin diğer aşamalarından izole edilememiştir.

Bu türün katı besiyerinde parlak krem renkli, düğme şekilli, kubbeli ve 2 mm kadar çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde canlandırma işlemi yapıldığında tüpte dipte tortu ve besiyerinde bulanıklık oluşturdukları görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin tipik basil şekilli olduğu gözlenmiştir.

4.4.9 *Enterococcus* cinsi izolata ait özellikler

Çalışmada cins düzeyinde tanımlanabilen bir laktik asit bakterisi olan *Enterococcus* cinsi hammaddelerden biri olan irmik altı undan izole edilmiş ve bu hammadde ile yapılan üretimin hiçbir aşamasından tekrar izole edilememiştir.

Bu türün katı besiyerinde parlak beyaz renkli, düğme şekilli ve 2 mm kadar çapa sahip koloniler oluşturduğu belirlenmiştir. Sıvı besiyerinde tüpte dipte tortu ve besiyerinde bulanıklık oluşturduğu görülmüştür. Mikroskobik incelemeler sonucunda hücrelerin tipik kok şekilli olduğu gözlenmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, kızılcık tarhanasının laktik asit bakterisi ve maya mikroflorası ilk kez araştırılmıştır. Geleneksel kızılcık tarhanasının yanı sıra, farklı hammaddeler de kullanılarak üretilen kızılcık tarhanalarının da mikrofloraları ortaya konmuştur. Ayrıca Bolu'da üretilen kızılcık tarhanasına ilk kez fermantasyon işlemi uygulanmıştır. Fermantasyon işleminin kızılcık tarhanası mikroflorası üzerine etkisi ilk defa araştırılmıştır.

Çalışmada kızılcık meyvesinin kullanımında, Bolu yöresine ait kızılcık tarhanası yapım yöntemine bağlı kalınmıştır. Bu sayede, kızılcık püresi pişirilmediği için kızılcık meyvesinin doğal mikroflorasının korunması ve endojen maya suşlarının izole edilmesi sağlanmıştır.

Bu ürünün ana hammaddesi olan kızılcık meyvesi püresi yoğun olarak maya içerdiğinden, kızılcık tarhanasının da mikroflorasının ağırlıklı olarak mayadan oluştuğu bulunmuş, çok az sayıda laktik asit bakterisi izole edilebilmiştir. Kızılcık tarhanası, diğer geleneksel tarhana türlerinin aksine yoğun bir maya kaynağı olarak belirlenmiştir.

Hammaddeler üzerinde yapılan analizlerde; kızılcık püresinde bulunan maya sayısının 6.36 log (kob/g), tam kavuzsuz arpa ununda bulunan maya sayısının 4.30 log (kob/g), irmik altı unda bulunan maya sayısının 3.70 log (kob/g) ve karabuğday ununda bulunan maya sayısının da 4.61 log (kob/g) olduğu belirlenmiştir. Ekmeklik buğday ununda yapılan ekimlerde gelişme olmamıştır.

Fermantasyon işlemi uygulanmadan üretilen kızılcık tarhanalarından yapılan ekimler sonucunda; ekmeklik buğday unu, kavuzsuz arpa unu, karabuğday unu ve irmik altı un ile gerçekleştirilen üretimde hamur aşamasında 4.81-5.14 log (kob/g) arasında değişen değerlerde, ilk kurutma sonunda 4.35-4.99 log (kob/g) arasında değişen değerlerde ve kurutulmuş son üründe 3.00-3.54 log (kob/g) arasında değişen değerlerde maya popülasyonu kaydedilmiştir. Kurutma işlemi ile beraber maya sayısının düştüğü belirlenmiştir.

Fermantasyon işlemi uygulanarak üretilen kızılcık tarhanalarından yapılan ekimler sonucunda ise; ekmeklik buğday unu, kavuzsuz arpa unu, karabuğday unu ve irmik altı un ile gerçekleştirilen üretimde hamur aşamasında 4.46-5.62 log (kob/g) arasında değişen değerlerde, fermantasyonun 24. saatinde 5.25-6.24 log (kob/g) arasında değişen değerlerde, fermantasyonun 48. saatinde 5.79-6.71 log (kob/g) arasında değişen değerlerde, fermantasyonun 72. saatinde 6.24-6.28 log (kob/g) arasında değişen değerlerde, ilk kurutma sonunda 5.18-5.60 log (kob/g) arasında değişen değerlerde ve kurutulmuş son üründe de 3.35-4.33 log (kob/g) arasında değişen değerlerde maya popülasyonu kaydedilmiştir. Fermantasyon işleminin ilk 24 saatte maya sayısını 1 logaritmik birim arttırdığı görülmekle beraber; 48. saatte bu artışın devam ettiği, 72. saatte tüm üretimlerde maya sayısının aynı değere geldiği belirlenmiştir. Son ürün için kaydedilen maya sayısı ise; fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimdeki son ürün aşamasındaki maya sayısından yaklaşık 1 logaritmik birim yüksektir. Fermantasyon işlemi son üründen elde edilen maya sayısını da arttırmıştır.

MALDI-TOF/TOF MS yöntemi ile, çalışmada elde edilen toplam 231 izolattan 105 tanesi tür, 70 tanesi cins düzeyinde tanımlanabilmiştir. 56 izolat ise tanımlanamamıştır.

Kızılcık tarhanalarının üretim aşamalarında izole edilen mikroorganizmaların MALDI-TOF/TOF MS yöntemi ile yapılan tanımlama sonuçlarına göre bütün üretimlerden izole edilen ortak türler; *H. uvarum*, *S. cerevisiae*, *T. delbrueckii*, *M. pulcherrima*, *C. krusei* ve *C. lusitaniae* olarak kaydedilmiştir.

Kızılcık meyvesi kaynaklı olduğu düşünülen ortak türler dışında, farklı tahıl unlarının kullanılması sonucunda hammaddeye bağlı farklı tür veya cinsler de tespit edilmiştir. Örneğin; fermantasyon işleminin uygulandığı iki üretim olan ekmeklik buğday unu ve kavuzsuz arpa ununun kullanıldığı üretimden izole edilen *Pichia* cinsi, yine fermantasyon işleminin uygulandığı diğer iki üretim olan karabuğday unu ve irmik altı unun kullanıldığı kızılcık tarhanasından izole edilen *W. anomalus* türü, fermantasyonlu ve karabuğday unlu üretimden izole edilen *C. kefyr* türü ve fermantasyonlu ve irmik altı unlu üretimden izole edilen *C. parapsilosis* türü, hammaddeye bağlı olarak ortaya çıkan farklı türler olarak belirlenmişlerdir.

Fermantasyon uygulaması, bütün üretimlerde hem maya sayısını hem de izolatlar arasında cins/tür çeşitliliğini arttırmıştır. Fermantasyon işleminin uygulandığı tarhanada, bu işlemin uygulanmadığı tarhanadan farklı olarak *Wickerhamomyces* ve *Pichia* cinsleri ile *C. parapsilosis, W. anomalus* ve *C. kefyr* türlerine rastlanmıştır. Fermantasyon işleminin uygulanmadığı üretimlerde bu cins ve türlerin izole edilememesinin sebebinin; bu izolatların başlangıçta hamurdaki sayılarının az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Hem fermantasyon işleminin uygulandığı hem de uygulanmadığı üretimlerde birçok aşamadan izole edilen *H. uvarum* türünün sayıca da baskın olduğu görülmüştür.

Fermantasyon işleminin uygulandığı ve uygulanmadığı üretimlerde son üründen tanımlanabilen tek türün *T. delbrueckii* olduğu görülmüştür.

Çalışmada izole edilmesi hedeflenmeyen fakat işletme ve çalışma koşulları kaynaklı olduğu düşünülen 6 adet tür bazında, 5 adet cins bazında olmak üzere toplam 11 adet *Bacillus* cinsi izole edilmiştir. Bu cinse ait suşlar, karabuğday unu ve irmik altı un ile gerçekleştirilen üretimlerden ve çoğu fermantasyon aşamalarından elde edilmiştir.

Kızılcık tarhanası maya mikroflorasının; üzüm ve şarap ekosistemi ile ilişkili olduğu belirtilen mayalardan *Candida, Hanseniaspora, Metschnikowia, Pichia, Saccharomyces* ve *Torulaspora* cinslerini içerdiği, bu anlamda şarap mikroflorasına benzediği belirlenmiştir. Bu özelliğin, ürünün formülasyonunda yüksek miktarda kızılcık meyvesini içermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Gıda kaynaklı mayaların MALDI-TOF MS ile tanımlanmasına yönelik çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu konudaki çalışmalar genellikle klinik suşlar üzerine yoğunlaşmıştır (Deak ve ark., 2015; Komatsu ve ark., 2016; Robinson ve Ussher, 2016; Seng ve ark., 2009; Yonetani ve ark., 2016). Bu az sayıdaki çalışmaların da MALDI-TOF MS ile yapıldığı görülmektedir. Bu çalışmada ise; ayrım gücü çok daha fazla olan MALDI-TOF/TOF MS sistemi ve Biotyper yazılımı kullanılmasının bu konuda yapılan çalışmalara farklılık getirdiği ve bundan sonra yapılacak çalışmalar için veri oluşturduğu düşünülmektedir.

Bu çalışma sonucunda; tür tanımlaması yapılmış olan, farklı biyoteknolojik uygulamalarda veya farklı endüstriyel amaçlarla kullanılabilecek potansiyel 97 adet endojen maya izolatı elde edilmiştir. Elde edilen endojen suşların çeşitli teknolojik özelliklerinin araştırılması, farklı fermente ürünlerde kullanılması ve biyoteknolojik amaçlarla değerlendirilmesi, bundan sonra yapılacak çalışmalar için araştırma konusu olacak niteliktedir.

6. KAYNAKLAR

Alan Y ve Dığrak M (2012) "Doğal Turşulardan İzole Edilen *Lactobacillus plantarum* Suşlarının İzolasyonu ve Tanımlanması", Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi, 15(2): 46-49.

Bilgiçli N (2009) "Enrichment of Gluten-free Tarhana with Buckwheat Flour", International Journal of Food Sciences and Nutrition, 60(4): 1-8.

Blandino A, Al-Aseeri ME, Pandiella SS, Cantero D ve Webb C (2003) "Cereal-based Fermented Foods and Beverages", Food Research International 36: 527-543.

Boyacıoğlu MH ve Dappolonia BL (1994) "Characterization and Utilization of Durum Wheat for Breadmaking. I. Comparison of Chemical, Rheological and Baking Properties Between Bread Wheat Flours and Durum Wheat Flours", Cereal Chemists, 71(1): 21-28.

Brady C, Cleenwerck I, Venter S, Coutinho T ve De Vos P (2013) "Taxonomic evaluation of the genus Enterobacter based on multilocus sequence analysis (MLSA): Proposal to reclassify *E. nimipressuralis* and *E. amnigenus* into *Lelliottia* gen. nov. as *Lelliottia nimipressuralis* comb. nov. and *Lelliottia amnigena* comb. nov., respectively, *E. gergoviae* and *E. pyrinus* into *Pluralibacter* gen. nov. as *Pluralibacter gergoviae* comb. nov. and *Pluralibacter pyrinus* comb. nov., respectively, *E. cowanii*, *E. radicincitans*, *E. oryzae* and *E. arachidis* into *Kosakonia* gen. nov. as *Kosakonia cowanii* comb. nov., *Kosakonia radicincitans* comb. nov., *Kosakonia oryzae* comb. nov. and *Kosakonia arachidis* comb. nov., respectively, and *E. turicensis*, *E. helveticus* and *E. pulveris* into *Cronobacter* as *Cronobacter zurichensis* nom. nov., *Cronobacter helveticus* comb. nov. and *Cronobacter pulveris* comb. nov., respectively, and emended description of the genera *Enterobacter* and *Cronobacter*", Systematic and Applied Microbiology, 36: 309-319.

Canocino L, Comitini F ve Ciani M (2017) "*Torulaspora delbrueckii* Contribution in Mixed Brewing Fermentations with Different *Saccharomyces cerevisiae* Strains", International Journal of Food Microbiology, 259: 7-13.

Catassi C ve Fasano A (2008) Gluten-Free Cereal Products and Beverages, Food Science and Technology, First Edition, Academic Press, USA.

Coşkun F (2014) "Tarhananın Tarihi ve Türkiye'de Tarhana Çeşitleri", Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 9(3): 69-79.

Çakır İ (2012) "Mikroorganizma Tanısında Gerçekleşen Gelişmeler: MALDI-TOF MS ile Mikroorganizma Tanısı", Türkiye 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Hatay.

Çetinkaya E (2011) Gıdalardan İzole Edilen *Enterobacter* spp. ve *Cronobacter sakazakıı* Suşlarının Biyokimyasal ve Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Dayısoylu KS ve Çınar İ (2004) "The Fermented Synbiotic Product: Turkish Tarhana", 1st International Congress on Functional Foods and Nutraceuticals, 27-29 Nisan, Antalya.

Deak E, Charlton CL, Bobenchik AM, Miller SA, Pollett S, Mchardy IH, Wu MT ve Garner OB (2015) "Comparison of the Vitek MS and Bruker Microflex LT MALDI-TOF MS Platforms for Routine Identification of Commonly Isolated Bacteria and Yeast in the Clinical Microbiology Laboratory", Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 81(1): 27-33.

Didin M, Kızılaslan A ve Fenercioğlu H (2000) "Malatya'da Yetiştirilen Bazı Kızılcık Çeşitlerinin Nektara İşlenmeye Uygunluklarının Belirlenmesi Üzerinde Bir Araştırma", Gıda, 25(6): 435-441.

Durmuş Y (2015) Glutensiz Tarhana Üretiminde Hidrokolloid Kullanımının Kalite Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.

Erbaş M, Certel M ve Uslu MK (2005) "Microbiological and Chemical Properties of Tarhana During Fermentation and Storage as Wet-sensorial Properties of Tarhana Soup", LWT-Food Science and Technology, 38(4): 409-416.

Erdem E (2008) Tarhana Üretiminde Balık Etinin Kullanımı, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.

Evren M, Apan M ve Şıvgın ET (2017) "Fermente Fonksiyonel Gıdalar", 1. Tarım ve Gıda Etiği Kongresi,10-11 Mart 2017, Ankara.

Fox K, Fox A, Ross J ve Walla M (2011) "Speciation of Coagulase Negative Staphylococci, Isolated From Indoor Air, Using SDS Page Gel Bands of Expressed Proteins Followed by MALDI-TOF MS and MALDI-TOF/TOF MS Analysis of Tryptic Peptides", Journal of Microbiological Methods, 84: 243–250.

Gadaga TH, Mutukumira AN, Narvhus JA ve Feresu SB (1999) "A Review Of Traditional Fermented Foods and Beverages of Zimbabwe" International Journal of Food Microbiology, 53: 1-11.

Gallagher E, Gormley TR ve Arendt EK (2004) "Recent Advances in the Formulation of Gluten-Free Cereal-Based Products", Trends in Food Science and Technology, 15(3): 143–152.

Göçmen D, Gürbüz O, Rouseff RL, Smoot JM ve Dağdelen AF (2004) "Gas Chromatographic-Olfactometric Characterization of Aroma Active Compounds in Sun Dried and Vacuum Dried Tarhana" European Food Research and Technology, 218:573–578.

Güleryüz M, Bolat İ ve Pırlak L (1998) "Selection of Table Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) Types in Çoruh Valley", Journal of Agriculture and Forestry, 22: 357-364.

Gümüş T ve Coşkun F (2008) "Gıda Güvenliğinde Fermantasyonun Önemi", Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.

Gürdaş S (2002) Sivas Yöresine Özgü Ev Tarhanalarının Besin Değeri ve Kimyasal İçerik Açısından İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

Hancıoğlu Ö ve Karapınar M (1998) "Hububat Bazlı Fermente Ürünler ve Fermentasyon İşleminin Sağladığı Avantajlar" Gıda, 23(3): 211-215.

Hancıoğlu Sıkılı O (2003) Nohut Mayasının Mikrobiyolojik ve Lezzet Karakteristiklerinin Arastırılması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Işık F, Çelik İ ve Yılmaz Y (2014) "Effect of Cornelian Cherry Use on Physical and Chemical Properties of Tarhana", Akademik Gıda, 12(2): 34-40.

İbanoğlu E ve İbanoğlu Ş (1999) "Foaming Properties of White Wheat Flour-yoghurt Mixture as Affected by Fermentation", Journal of Cereal Science, 30(1): 71-77.

İbanoğlu Ş, Ainsworth P, Wilson G ve Hayes GD (1995) "The Effect of Fermentation Conditions on the Nutrients and Acceptability of Tarhana", Food Chemistry, 53(2): 143-147.

İbanoğlu Ş, İbanoğlu E ve Ainsworth P (1999) "Effect of Diferent Ingredients on the Fermentation Activity in Tarhana", Food Chemistry, 64(1): 103-106.

Jadhava S, Seviorb D, Bhavea M ve Palomboa EA (2014) "Detection of *Listeria monocytogenes* from Selective Enrichment Broth Using MALDI-TOF Mass Spectrometry, Journal of Proteomics, 97: 100-106.

Joo EJ, Yeom JS ve Kwon MJ (2015) "Successful Treatment of *Cyberlindnera fabianii* with Anidulafunginin a Case of Catheter-related Infection", Abstracts of the 10th International Symposium on Antimicrobial Agents and Resistance (ISAAR 2015), International Journal of Antimicrobial Agents, 45(2): 108.

Kabak B ve Dobson AD (2011) "An Introduction to the Traditional Fermented Foods and Beverages of Turkey" Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 51: 248-260.

Kalyoncu İH (1995) "Yeni Bir Meyve Kızılcık" Ziraat Mühendisliği, 1(128): 22-23.

Karabıyıklı Ş ve Karapınar M (2008) "Kopanisti Peynirinin Fermantasyonunda Rol Oynayan Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması", Gıda, 33(6): 311-318.

Karasu Yalçın S, Şenses Ergül Ş ve Özbaş ZY (2012) "Determination of Some Technological and Probiotic Characteristics of the Yeast Strains Isolated from Traditional Erzincan Tulum Cheese Produced in Turkey", Journal of Pure and Applied Microbiology, 6(2): 683-699.

Kılınç B (2004) "Laktik Asit Fermentasyonu ile Üretilen Fermente Su Ürünleri" Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 21(3-4): 371-374.

Kılmanoğlu S (2010) Kızılcık ve Karayemişin Fenolik Madde İçeriği ve Antimikrobiyel Aktiviteleri Üzerine Bir Çalışma, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Kıvanç M ve Funda EG (2017) "A Functional Food: A Traditional Tarhana Fermentation", Food Science an Technology, 37(2): 269-274.

Kim E, Cho Y, Lee Y, Han SK, Kim CG, Choo DW, Kim YR ve Kim HY (2017) "A Proteomic Approach for Rapid Identification of *Weissella* Species Isolated from Korean Fermented Foods on MALDI-TOF MS Supplemented with an In-house Database", International Journal of Food Microbiology, 243: 9-15.

Koca AF, Koca İ, Anıl M ve Karadeniz B (2006) "Kızılcık Tarhanasının Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri", 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu.

Komatsu E, Buist M, Roy R, Oliveira AGG, Bodnar E, Salama A, Soulillou JP ve Perreault H (2016) "Characterization of Immunoglobulins Through Analysis of N-glycopeptides by MALDI-TOF MS", Methods, 104: 170-181.

Korucu D (2012) Tomas Peynirinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Köksalan E, Tutar E, Karaman A ve Gezginç Y (2015) "Ekşi Hamurdan *Lactobacillus plantarum* İzolasyonu, Moleküler Tanımlanması, Bazı Gıda Patojen Bakterileriyle Antimikrobiyel Etkisi ve Proteolitik Aktivitesinin Belirlenmesi", İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi, 28-30 Nisan 2015, Nevşehir.

Kul AR, Yıldız N, Çalımlı A ve Ceylan H (2004) "Kahramanmaraş Tarhanası Ve Tüketim Çeşitliği", Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 23-24 Eylül 2004, Van.

Lartigue MF (2013) "Matrix-Assisted Laser Desorption İonization Time-of-Flight Mass Spectrometry for Bacterial Strain Characterization", Infection, Genetics and Evolution, 13: 230–235.

Loff M, Mare L, Kwaadsteniet M ve Khan W (2014) "Molecular Detection System Versus MALDI-TOF Mass Spectrometry and Molecular Techniques for the Identification of *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria* spp." Journal of Microbiological Methods, 101: 33–43.

Marco M, Heeney D, Binda S, Cifelli C, Cotter P, Foligne B, Ganzle M, Kort R, Pasin G, Pihlanto A, Smid E ve Hutkins R (2017) "Healt Benefits of Fermented Foods: Microbiota and Beyond", Current Opinion in Biotechnology, 44: 94-102.

Nybogard L (2016) Biopreservation Effects with *Wickerhamomyces anomalus* After 2 Months Moist Airtight Storage of Sorghum, https://stud.epsilon.slu.se, 22 Aralık 2017.

Oro L, Feliziani E, Ciani M, Romanazzi G ve Comitini F (2018) "Volatile Organic Compounds from *Wickerhamomyces anomalus*, *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces cerevisiae* Inhibit Growth of Decay Causing Fungi and Control Postharvest Diseases of Strawberries" International Journal of Food Microbiology, 265: 18-22.

Özdemir N, Alkan LB ve Çon AH (2012) "Taze ve Depolanmış Kastamonu Yaş Tarhanasının Mikrobiyolojik Kalitesi", Alınteri Zirai Bilimler Dergisi, 23(2): 35-40.

Özdemir S, Göçmen D ve Kumral A (2007) "A Traditional Turkish Fermented Cereal Food: Tarhana", Food Reviews International, 23(2): 107–121.

Özel S (2012) Tarhana Hamuru Fermantasyonun Mikrobiyel Taksonomik Yapısının ve Populasyon Dinamiğinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.

Özer EA (2009) "Kızılcık (Kiren) Tarhanası", II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29 Mayıs 2009, Van.

Phillips GO ve Williams PA (2009) Handbook of Hydrocolloids, Second Edition, CRC Press, Cambridge.

Popovic B, Stajner D, Slavko K ve Sandra B (2012) "Antioxidant Capacity of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) – Comparison Between Permanganate Reducing Antioxidant Capacity and Other Antioxidant Methods", Food Chemistry, 134: 734-741.

Porru C, Rodriguez-Gomez F, Benitez-Cabello A, Jimenez-Diaz R, Zara G, Budroni M, Mannazzu I ve Arroyo-Lopez FN (2018), "Genotyping, Identification and Multifunctional Features of Yeasts Associated to Bosana Naturally Black Table Olive Fermentations", Food Microbiology, 69: 33-42.

Robinson AM ve Ussher J (2016) "Preperation of Positive Blood Cultures for Direct MALDI-TOF MS Identification", Journal of Microbiological Methods, 127: 74-76.

Ross P, Morgan S ve Hill C (2002) "Preservation and Fermentation: Past, Present and Future", International Journal of Food Microbiology, 79: 3-16.

Schiller J, Suß R, Arnhold J, Fuchs B, Leßig J, Müller M, Petkovic M, Spalteholz H, Zschornig O ve Arnold K (2004) "Matrix-assisted Laser Desorption and Ionization Time-of-flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry in Lipid and Phospholipid Research", Progress in Lipid Research, 43: 449-488.

Schuthess B, Brodner K, Bloemberg G, Zbinden R, Böttger E ve Hombach M (2013) "Identification of Gram-Positive Cocci by Use of Matrix- Assisted Laser Desorpsion Ionization- Time of Flight Mass Spectrometry: Comparison of Different Preperation Methods and Implementation of a Pratical Algorithm for Routine Diagnostics", Journal of Clinical Microbiology, 51(6): 1834-1840.

Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier PE, Rolain JM ve Raoult D (2009) "Ongoing Revolution in Bacteriology: Routine Identification of Bacteria by MALDI-TOF MS", Clinical Infectious Diseases, 49(4): 552–3.

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.

Stratford M (2006) Food and Beverage Spoilage Yeasts, Yeasts in Food and Beverages, Querol A, Fleet GH (Ed), Springer–Verlag, Berlin, 335-379.

Suckau D, Rosemann A, Schuerenberg M, Hufnagel P, Franzen J ve Hollen A (2003) "A Novel MALDI LIFT-TOF/TOF Mass Spectrometer for Proteomics", Analytical Bionalytical Chemistry, 376(7): 952-965.

Şengül M, Eser Z ve Ercişli S (2014) "Chemical Properties and Antioxidant Capacity of Cornelian Cherry Genotypes Grown in Çoruh Valley of Turkey", Acta Scientiarum Polonorum, 13(4): 73-82.

Şengün İ (2006) Ege Bölgesinin Bazı Yörelerinde Yapılan Geleneksel Tarhana ve Bileşenlerinin Bakteri Florasının Tanımlanması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Şengün İY, Nielsen DS, Karapınar M ve Jakobsen M (2009) "Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Tarhana, a Traditional Turkish Fermented Food", International Journal of Food Microbiology, 135(2): 105-111.

Şenses Ergül Ş (2009) Nevşehir Yöresi Emir ve Kalecik Karası Üzümlerinin Şaraba İşlenmeleri Aşamalarında Maya Floralarının Belirlenmesi ve İzole Edilen Endojen Suşların Bazı Teknolojik Özelliklerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Tamang JP, Shin D, Jung S ve Chae S (2016) "Functional Properties of Microorganisms in Fermented Foods", Frontiers in Microbiology, 7: 578.

Tangüler H ve Erten H (2012) "Şalgam Suyu Üretiminde Gerçekleştirilen Hamur Fermantasyonu Sırasında İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması", Akademik Gıda, 10(2): 48-54.

Tarakçı Z (1992) Tarhana Yapımında Peyniraltı Suyu ve Mısır Unu Kullanım Olanakları Üzerine Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Temiz A (2000) Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, 3.Baskı, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.

Temiz A ve Pirkul P (1990) "Tarhananın Fermantasyonunda Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişmeler" Gıda, 15(2): 119-126.

Teniola O ve Odunfa S (2001) "The Effects of Processing Methods on the Levels of Lysine, Methionine and the General Acceptability of ogi Processed Using Starter Cultures", International Journal of Food Microbiology, 63: 1-9.

Thompson T (1997) "Do Oats Belong in a Gluten-free Diet?", Journal of the American Dietetic Association, 97(12): 1413-1416.

Tokpohozin SE, Thomas WJF, Fischer S ve Becker T (2017) "Polyphasic Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Beninese Sorghum Beer Starter", LWT – Food Science and Technology, 80: 51-58.

Tristezza M, Tufariello M, Capozzi V, Spano G, Mita G ve Greeco F (2016) "The Oenological Potention of *Hanseniaspora uvarum* in Simultaneous and Sequential Co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for Industrial Wine Production", Frontiers in Microbiology, 7, article no: 670.

TS 2282 (2004) Tarhana Standardı, Türk Standartları Enstitüsü, TSE, I. Baskı, Ankara.

Tuncer Y, Özden B ve Avşaroğlu MD (2008) "Bozanın Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin ve Laktik Asit Bakterisi İzolatlarının Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi" Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 12(1): 19-25.

Tural S ve Koca İ (2008) "Physico-chemical and Antioxidant Properties of Cornelian Cherry Fruits (*Cornus mas* L.) Grown in Turkey", Scientia Horticulturae, 116: 362-366.

Türk R, Erken S ve Yalçınkaya E (2003) "Bazı Önemli Kızılcık (*Cornus mas* L.) Tiplerinin Morfolojik ve Fenolojik Özellikleri" Türkiye 4. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 8-12 Eylül, Antalya.

Türker S (1991) Sağlam, Pişirilmiş ve Çimlendirilmiş Çeşitli Baklagil Katkılarıyla, Mayasız ve Maya İlavesiyle Fermente Edilen Tarhananın Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Besinsel Özellikleri Üzerine Bir Araştırma, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Türksoy S ve Özkaya B (2006) "Gluten ve Çölyak Hastalığı" 9. Gıda Kongresi: 24-26 Mayıs 2006, Bolu.

Uygun Ü ve Acar J (1992) "Kızılcık Nektarlarında Renk Değişimleri Üzerine Işık, Depolama Sıcaklığı ve Sürenin Etkileri" Gıda, 17(4): 235-238.

Vallejoa JA, Mirandaa P, Flores-Félix JD, Sánchez-Juanes F, Ageitos JM, González-Buitragoc JM, Velázquez E ve Villaa TG (2013) "Atypical Yeasts Identified as *Saccharomyces cerevisiae* by MALDI-TOF MS and Gene Sequencing are the Main Responsible of Fermentation of Chicha, a Traditional Beverage from Peru", Systematic and Applied Microbiology, 36: 560–564.

Varela C, Barker A, Tran T, Borneman A ve Curtin C (2017) "Sensory Profile and Volatile Aroma Composition of Reduced Alcohol Merlot Wines Fermented with *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum*", International Journal Food Microbiology, 252: 1-9.

Wenning M, Breitenwieser F, Konrad R, Huber I, Busch U ve Scherer S (2014) "Identification and Differentiation of Food-Related Bacteria: A Comparison of FTIR Spectroscopy and MALDI-TOF Mass Spectrometry" Journal of Microbiological Methods, 103: 44–52.

Yalçın E, Çelik S ve Köksel H (2008) "Chemical and Sensory Properties of New Gluten-free Food Products: Rice and Corn Tarhana", Food Science and Biotechnology, 17(4): 728-733.

Yonetani S, Ohnishi H, Ohkusu K, Matsumoto T ve Watonabe T (2016) "Direct Identification of Microorganisms from Positive Blood Cultures by MALDI-TOF MS Using an In-house Saponin Method", International Journal of Infectious Diseases, 52: 37-42.

Yücecan S, Kayakırılmaz K, Başoğlu S ve Tayfur M (1988) "Tarhananın Besin Değeri Üzerine Bir Araştırma", Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 45(1): 47-51.

EKLER

7. EKLER

EK A Araştırmada Kullanılan Besiyerleri

A.1 % 0.1'lik (g/L) Peptonlu Su Tampon Çözeltisi

1.0 g peptonun 1.0 L damıtık su içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra pH'sı 7.0'a ayarlanmış ve tüplere dağıtılarak, otoklavda 121^{o}C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. (Temiz A., 2000)

A.2 Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar FIL-IDF (YGC Agar)

Hazır toz besiyerinin 1 L damıtık su içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra otoklavda 121^{o}C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

A.3 Yeast Extract Malt Extract (YM) Broth

Bileşim	gL^{-1}
Maya özütü	3.0
Malt özütü	3.0
Pepton	5.0
Glukoz	11.0

Bileşenlerin 1 L damıtık su içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra tüplere dağıtılarak, otoklavda 121^{o}C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

A.4 Yeast Extract Malt Extract (YM) Agar

Bileşim	gL^{-1}
Maya özütü	3.0
Malt özütü	3.0
Pepton	5.0
Glukoz	11.0
Agar	15.0

Bileşenler 1 L damıtık suda çözünmesi sağlanmış ve otoklavda 121^{o}C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

A.5 M17 Agar

Hazır toz besiyerinin 1 L damıtık su içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra otoklavda 121^{o}C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

A.6 Man, Rogosa and Shape (MRS) Agar

Hazır toz besiyerinin 1 L damıtık su içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra otoklavda 121^{o}C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

A.7 Man, Rogosa and Shape (MRS) Broth

Bileşenlerin 1 L damıtık su içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra tüplere dağıtılarak, otoklavda 121^{o}C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

A.8 %20 (V/V) Gliserol Yeast Extract Peptone Dextrose (YEPD) Broth

Bileşim	gL^{-1}
Maya özütü	10.0
Pepton	20.0
Glukoz	20.0

Bileşenler damıtık su ile sulandırıldıktan sonra 200 mL gliserol ilave edilmiştir ve toplam hacim damıtık su ile 1.0 L'ye tamamlanmıştır. Besiyeri damıtık su içinde tamamen çözündürüldükten sonra otoklavda 121^{o}C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Steril besiyeri aseptik koşullarda cryo tüplere 1.5 mL hacimlerde dağıtılmıştır.

A.9 %20 (V/V) Gliserol Man Ragosa Shape (MRS) Broth

Hazır toz besiyerinin bir miktar damıtık su ile sulandırıldıktan sonra 200 mL gliserol ilave edilmiştir ve toplam hacim damıtık su ile 1.0 L'ye tamamlanmıştır. Besiyeri damıtık su içinde tamamen çözündürüldükten sonra otoklavda 121^{o}C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Steril besiyeri aseptik koşullarda cryo tüplere 1.5 mL hacimlerde dağıtılmıştır.

EK B MRS Agar ve M17 Agarla Elde Edilen İzolatların Katalaz Testi Sonuçları

Çizelge B.1. MRS Agardan İzole Edilen İzolatların Katalaz Testi Sonuçları

MRS Agardan İzole Edilen İzolatların Katalaz Testi Sonuçları			
İzolat No	Katalaz Testi Sonucu	İzolat No	Katalaz Testi Sonucu
LP-8	-	LFAHa-2	-
LP-9	-	LFAHa-4	-
LP-11	-	LFAHb-5	-
LKBU-4	-	LFAHb-6	-
LİAU-6	-	LFAHc-1	-
LİAU-7	-	LFKHc-3	-
LKH-5	-	LFAD-2	-
LKH-6	-	LFAD-4	-
LKD-5	-	LFKBH-13	-
LKD-6	-	LFKBHa-6	z
LAH-6	-	LFKBHa-7	-
LAH-8	-	LFKBHa-8	-
LAD-3	-	LFKBHb-7	-
LKBH-14	-	LFKBHb-9	-
LKBH-15	-	LFKBHb-10	z
LKBD-9	-	LFKBHc-8	-
LİAH-10	z	LFKBHc-9	-
LİAD-8	-	LFKBD-1	-
LİAS-1	-	LFKBD-3	-
LFKH-1	-	LFİAH-5	-
LFKH-3	-	LFİAHa-4	-
LFKHa-5	-	LFİAHa-5	z
LFKHb-4	-	LFİAHa-6	-
LFKHc-1	-	LFİAHb-5	-
LFKHc-3	-	LFİAHb-8	-
LFKHc-4	-	LFİAHb-9	-
LFKD-2	-	LFİAHb-10	-
LFKD-5	-	LFİAHc-2	z
LFKS-3	-	LFİAD-1	-
LFAH-6	-		

+:pozitif, -:negatif, z:zayıf pozitif

Çizelge B.2. M17 Agardan İzole Edilen İzolatların Katalaz Testi Sonuçları

M17 Agardan İzole Edilen İzolatların Katalaz Testi Sonuçları			
İzolat No	Katalaz Testi Sonucu	İzolat No	Katalaz Testi Sonucu
LP-2	z	LFKS-1	z
LP-3	z	LFAH-1	z
LP-4	z	LFAH-2	+
LP-5	z	LFAH-4	+
LP-6	-	LFAHa-1	z
LP-7	z	LFAHb-1	z
LAU-1	z	LFAHc-3-1	z
LAU-2	z	LFAD-5	z
LAU-4	z	LFAD-6	z
LAU-5	z	LFAD-7	z
LKBU-3	z	LFAS-1	+
LİAU-2	-	LFAS-2	z
LİAU-3	z	LFAS-3	z
LİAU-5	+	LFAS-5	z
LKH-1	z	LFKBH-1	z
LKH-2	-	LFKBH-2	+
LKH-3	z	LFKBH-6	z
LKH-4	z	LFKBH-7	+
LKD-1	z	LFKBH-8	z
LKD-2	-	LFKBH-9	z
LKD-3	z	LFKBH-10	z
LAH-2	+	LFKBHa-4	z
LAH-3	z	LFKBHb-4	+
LAH-4	z	LFKBHb-6	z
LAD-1	z	LFKBHc-1	z
LKBH-4	z	LFKBHc-2	z
LKBH-6	-	LFKBHc-4	z
LKBH-7	+	LFKBD-5	z
LKBH-9	+	LFKBS-1	+
LKBH-10-1	+	LFKBS-2	z
LKBH-10-2	+	LFKBS-5	z
LKBD-1	z	LFİAH-1	z
LKBD-2	z	LFİAH-2	+
LKBD-3	z	LFİAH-3	z
LKBD-7	z	LFİAH-4	z
LİAH-1	z	LFİAHa-1	z
LİAH-2	z	LFİAHa-3	z
LİAH-3	+	LFİAHb-1	z
LİAH-4	+	LFİAHb-2	z
LİAH-5	+	LFİAHb-3	z
LİAH-6	z	LFİAHb-4	z

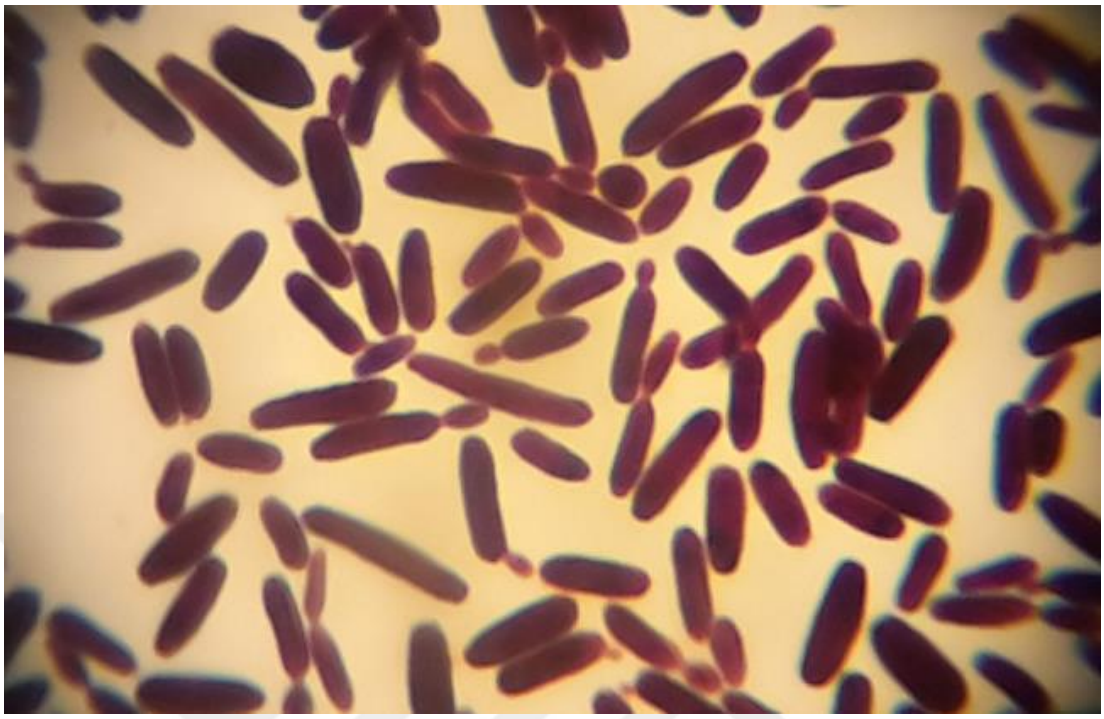
+:pozitif, -:negatif, z:zayıf pozitif

Çizelge B.2. (devam)

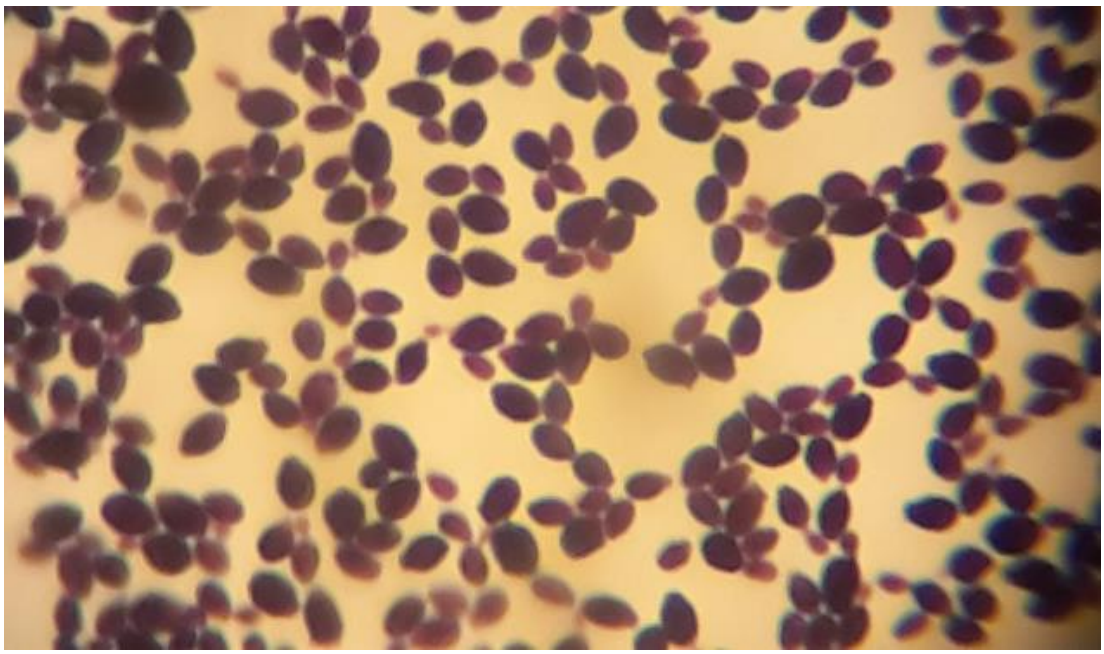
LİAD-5	z	LFİAHc-3	z
LİAD-6	+	LFİAHc-4	z
LİAD-7	+	LFİAHc-5	z
LFKH-5	z	LFİAHc-6	+
LFKH-6	z	LFİAHc-7	z
LFKH-7	z	LFİAD-3	z
LFKHa-2	z	LFİAD-4	z
LFKHa-3	z	LFİAD-5	z
LFKHb-1	z	LFİAD-6	z
LFKHc-5	z	LFİAS-1	z
LFKHc-6	z	LFİAS-2	z
LFKD-6	z		

+:pozitif, -:negatif, z:zayıf pozitif

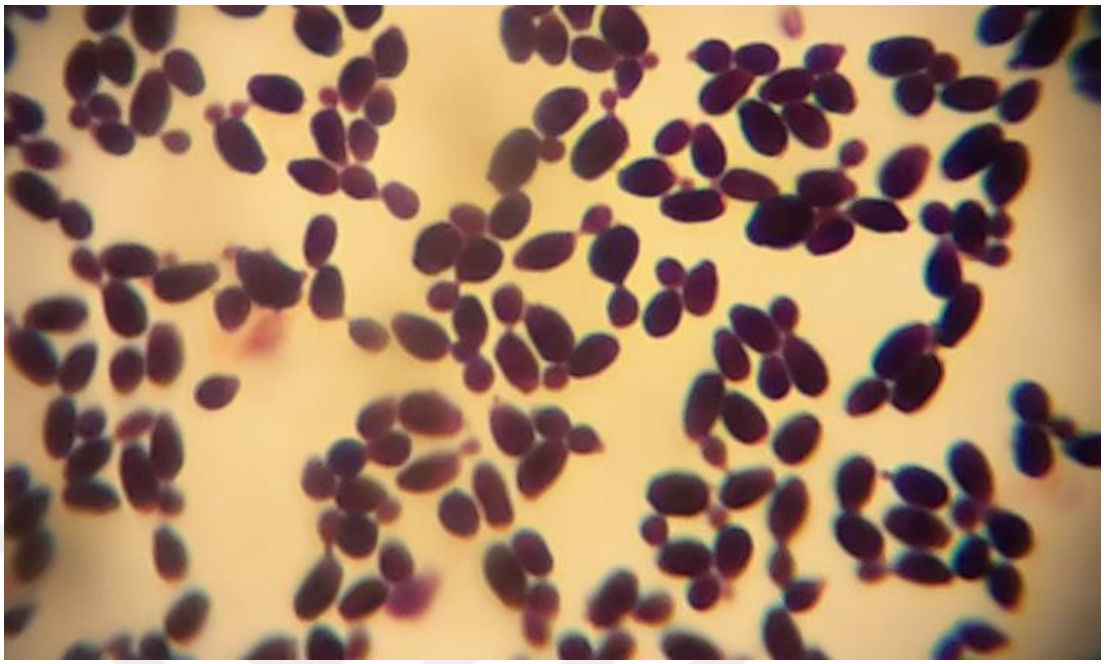
EK C Bazı Suşlara Ait Mikroskobik Görüntüler



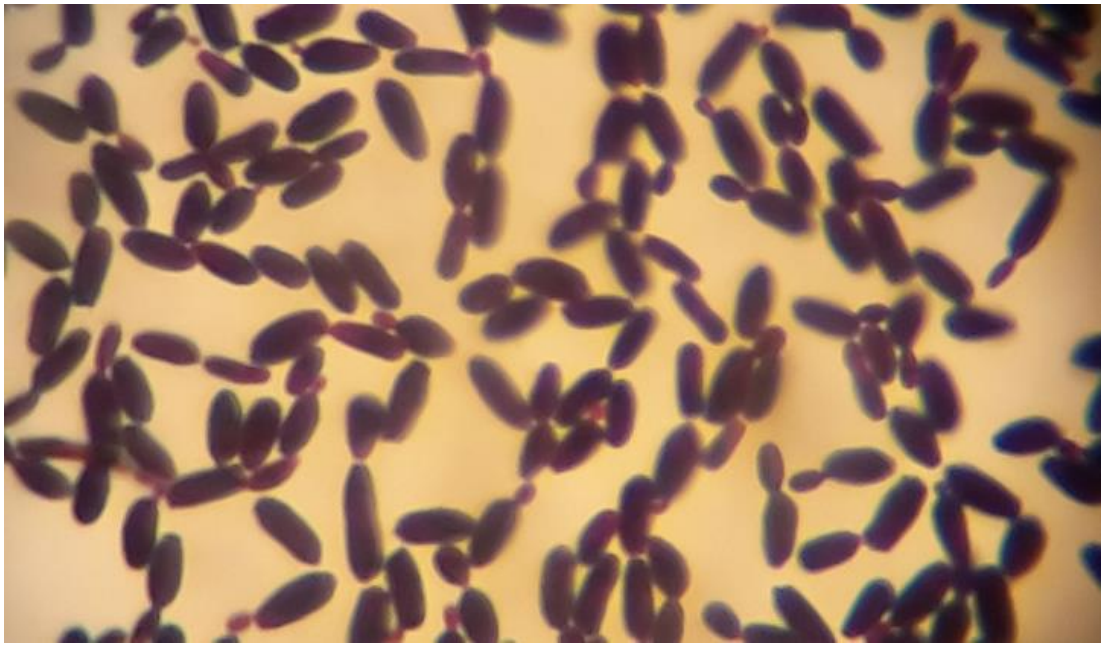
Şekil C.1. *C. krusei* LFKBHc-8 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).



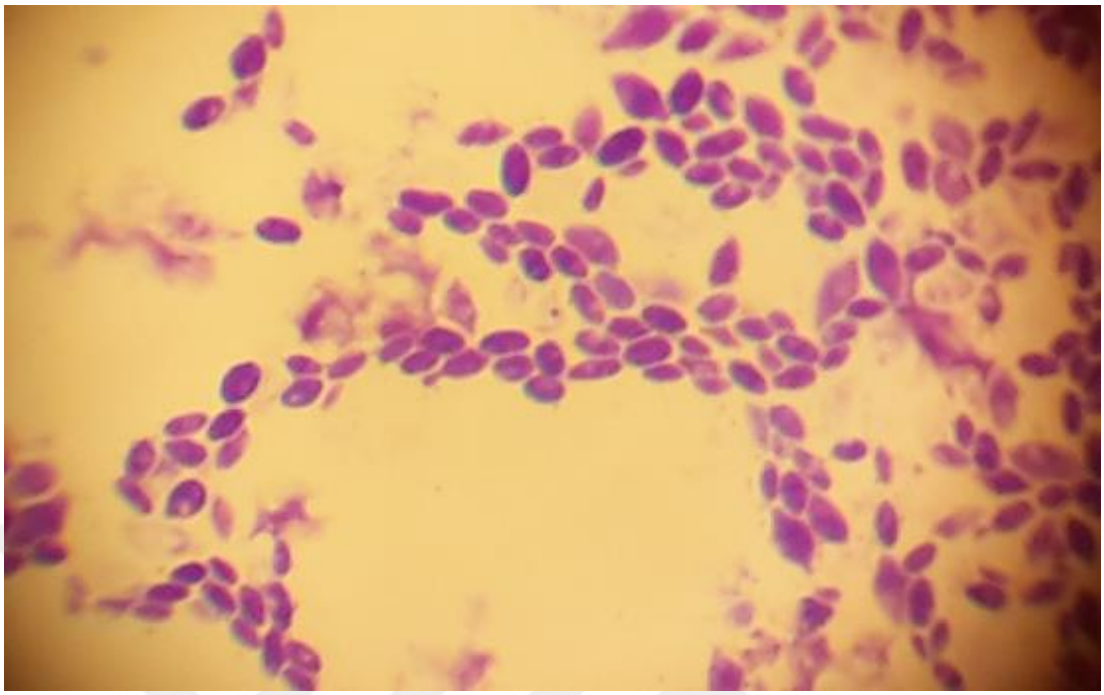
Şekil C.2. *C. lusitaniae* LİAH-10 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).



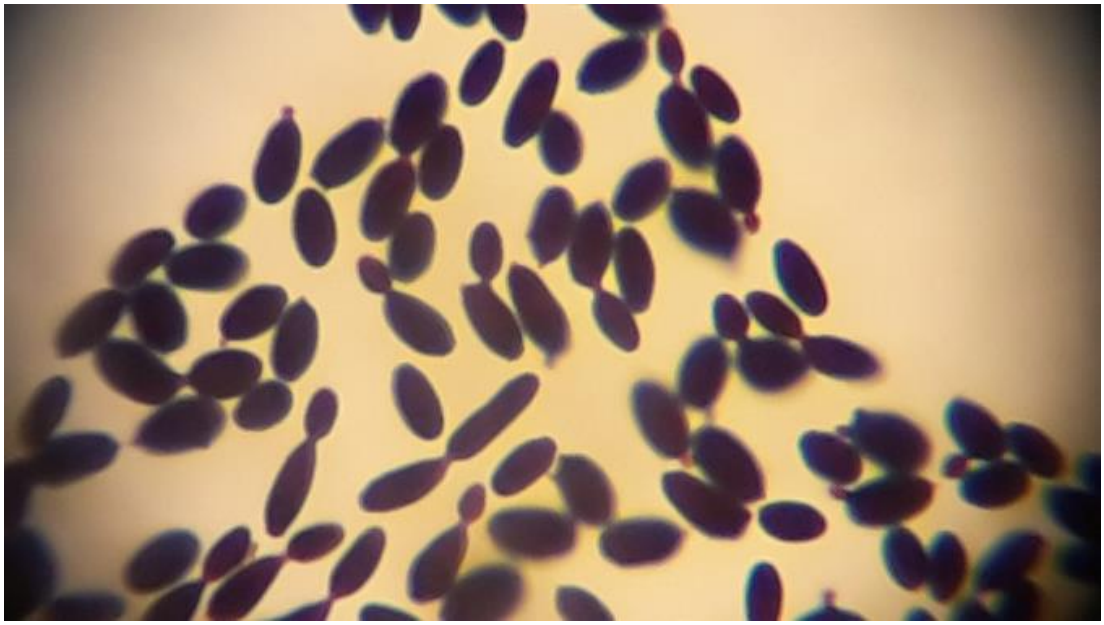
Şekil C.3. *C. kefyr* LFAH-6 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).



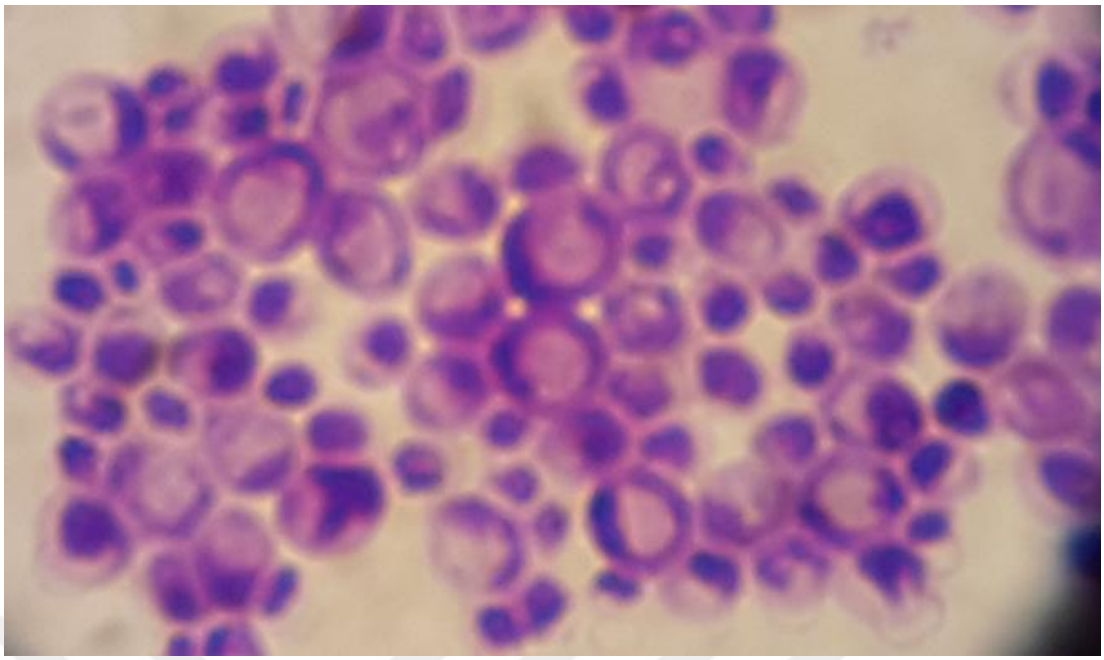
Şekil C.4. *C. parapsilosis* LFİAHb-8 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).



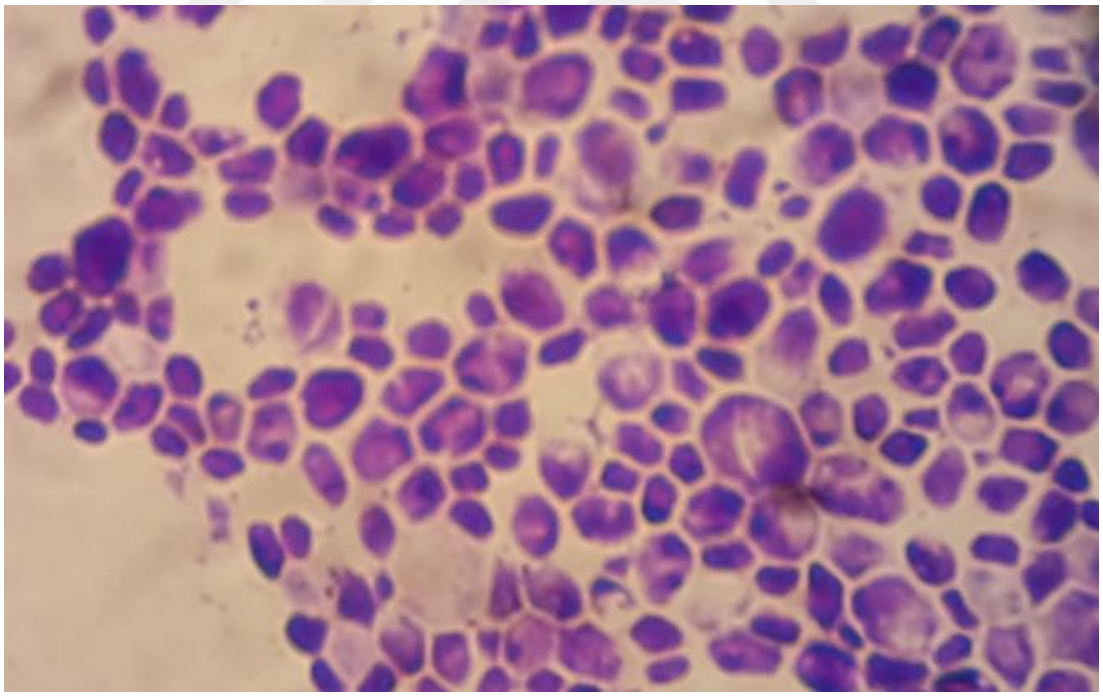
Şekil C.5. *H. uvarum* MİAH-1 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).



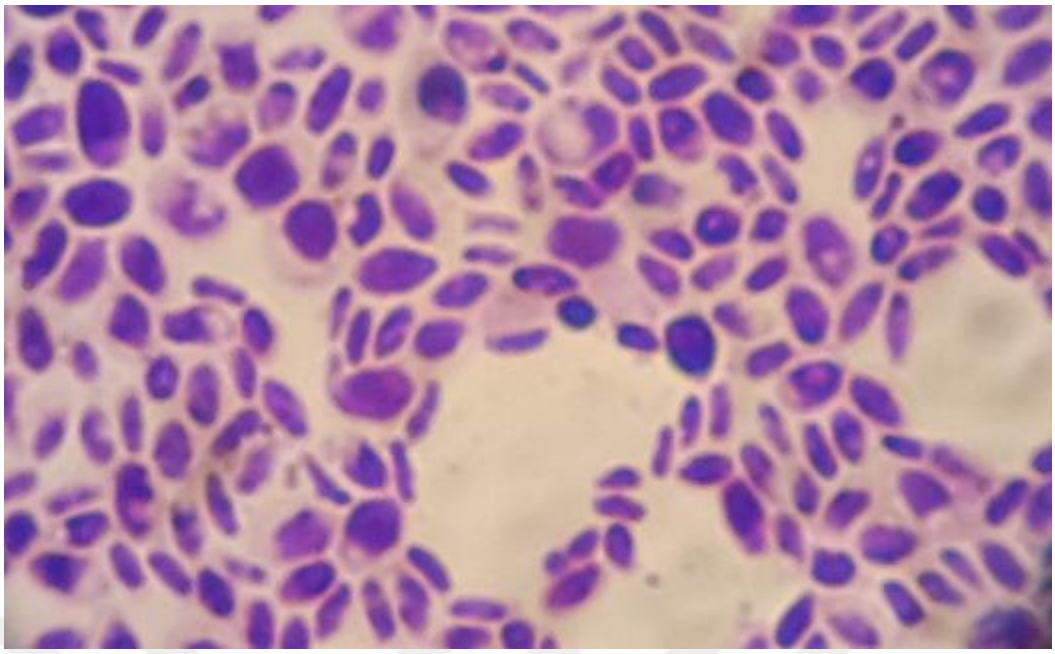
Şekil C.6. *S. cerevisiae* LFAD-5 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).



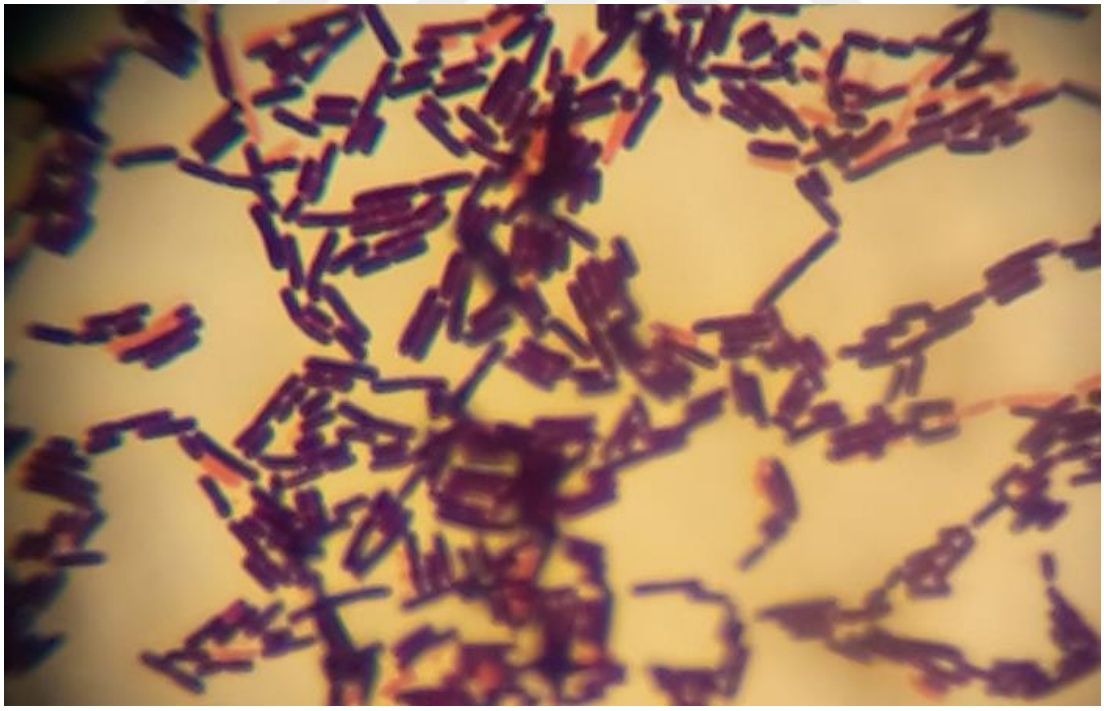
Şekil C.7. *M. pulcherrima* MFKD-1 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).



Şekil C.8. *W. anomalus* MFKBHb-2 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).

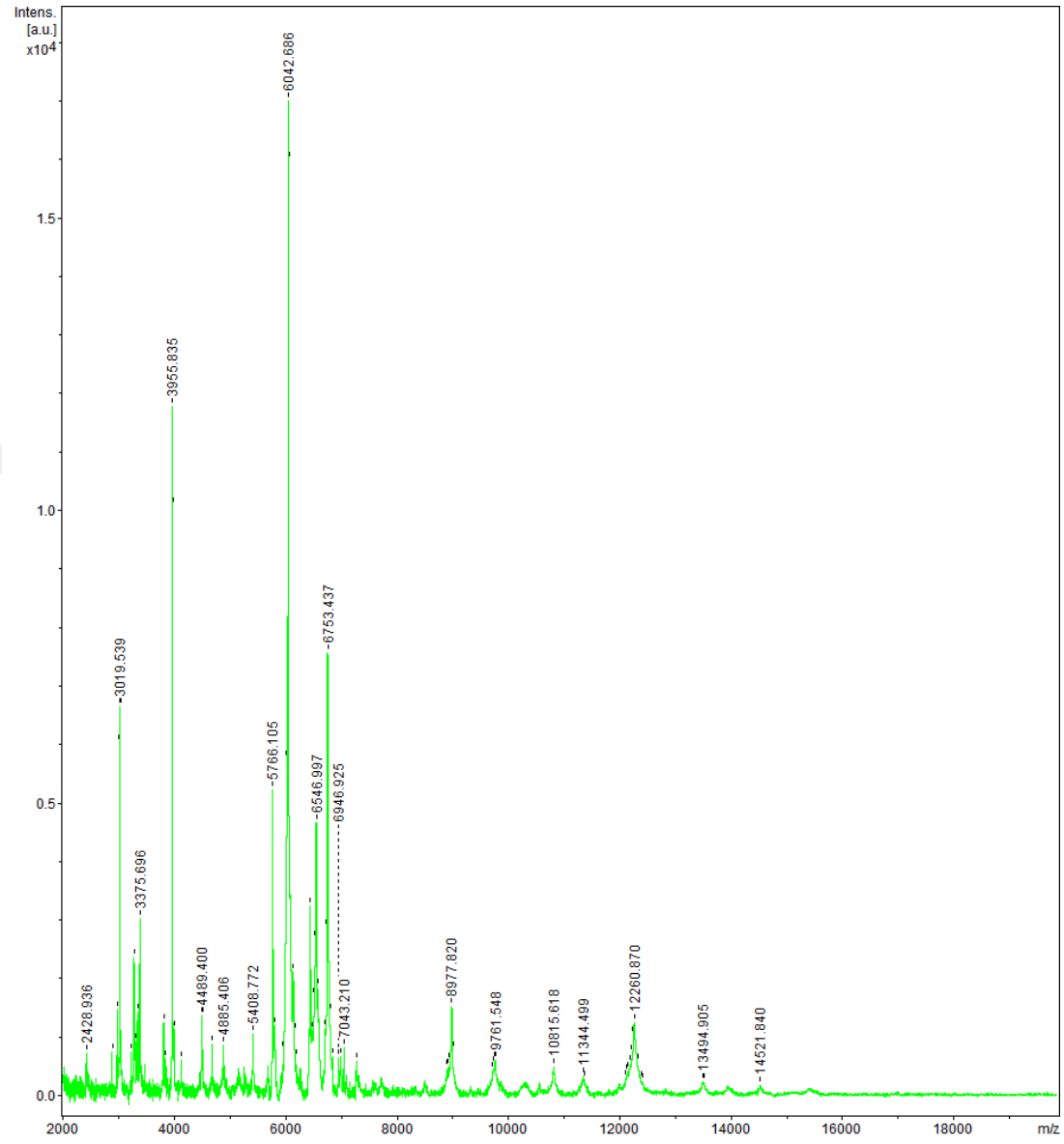


Şekil C.9. *Cy. fabianii* MİAU-1 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).

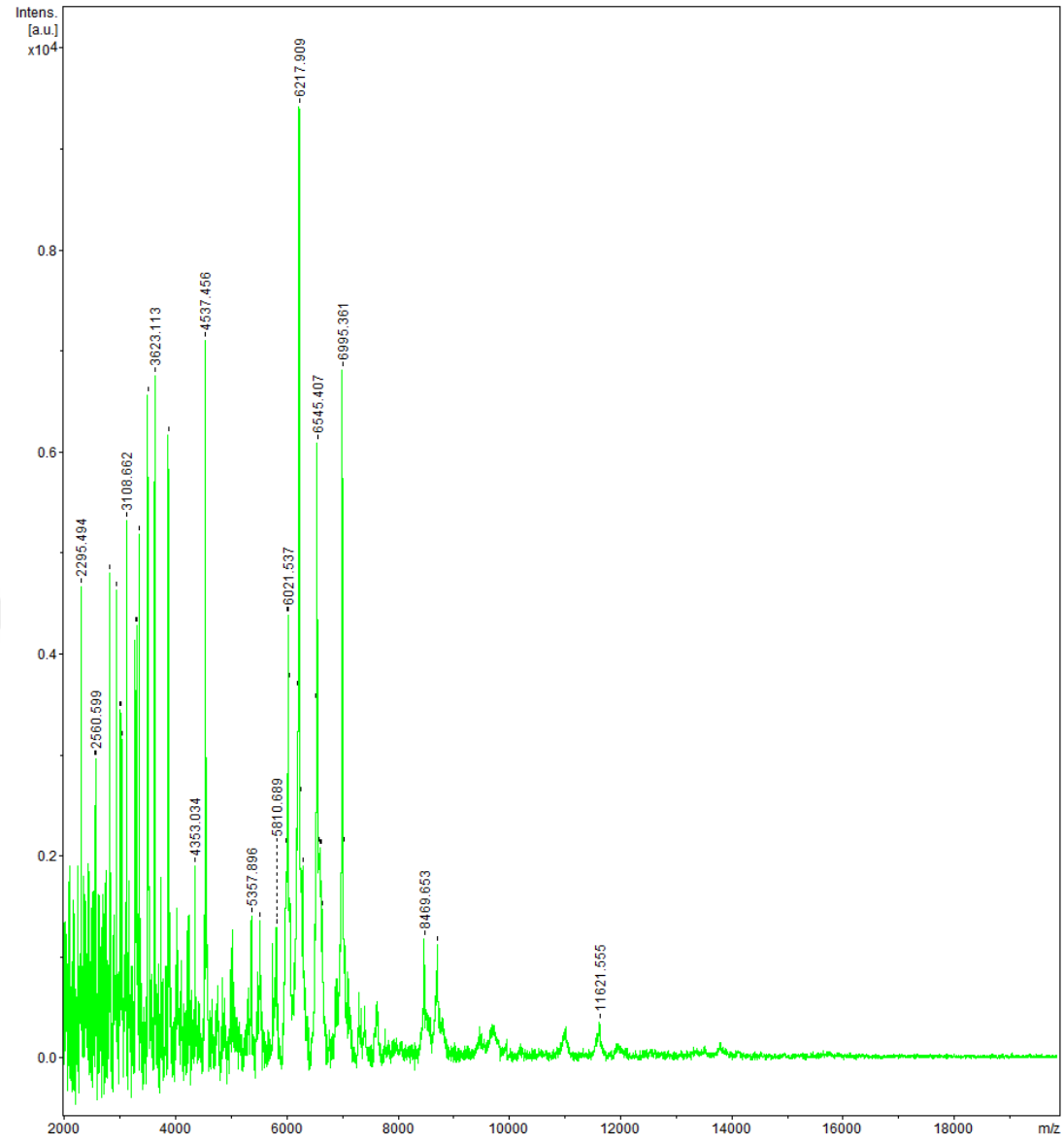


Şekil C.10. *Lb. reuteri* LKBU-4 suşuna ait mikroskobik görüntü (X100).

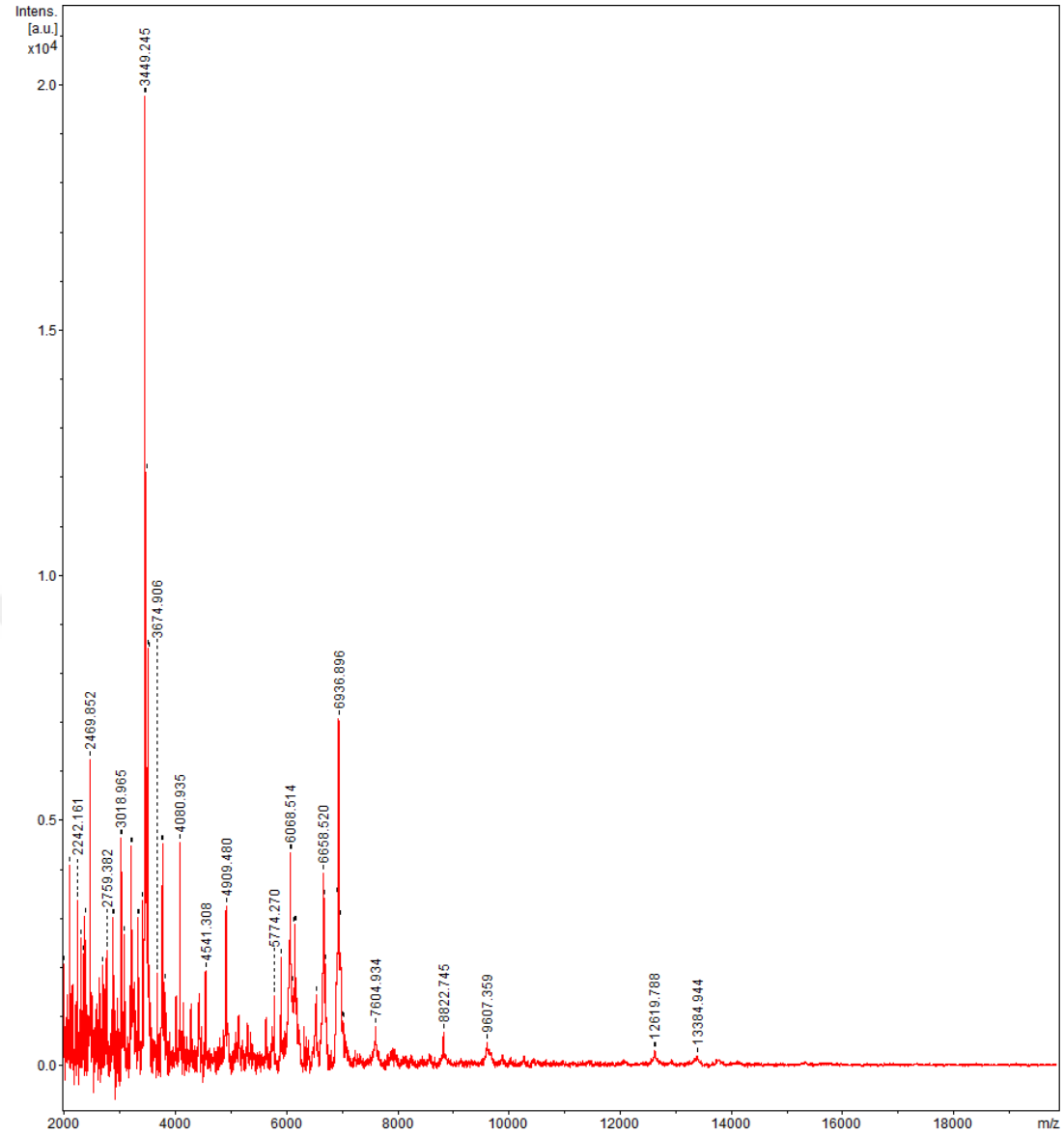
EK D Bazı Suşların MALDI - TOF/TOF MS ile Elde Edilen Protein Profillerini Gösteren Kütle Spektrumları



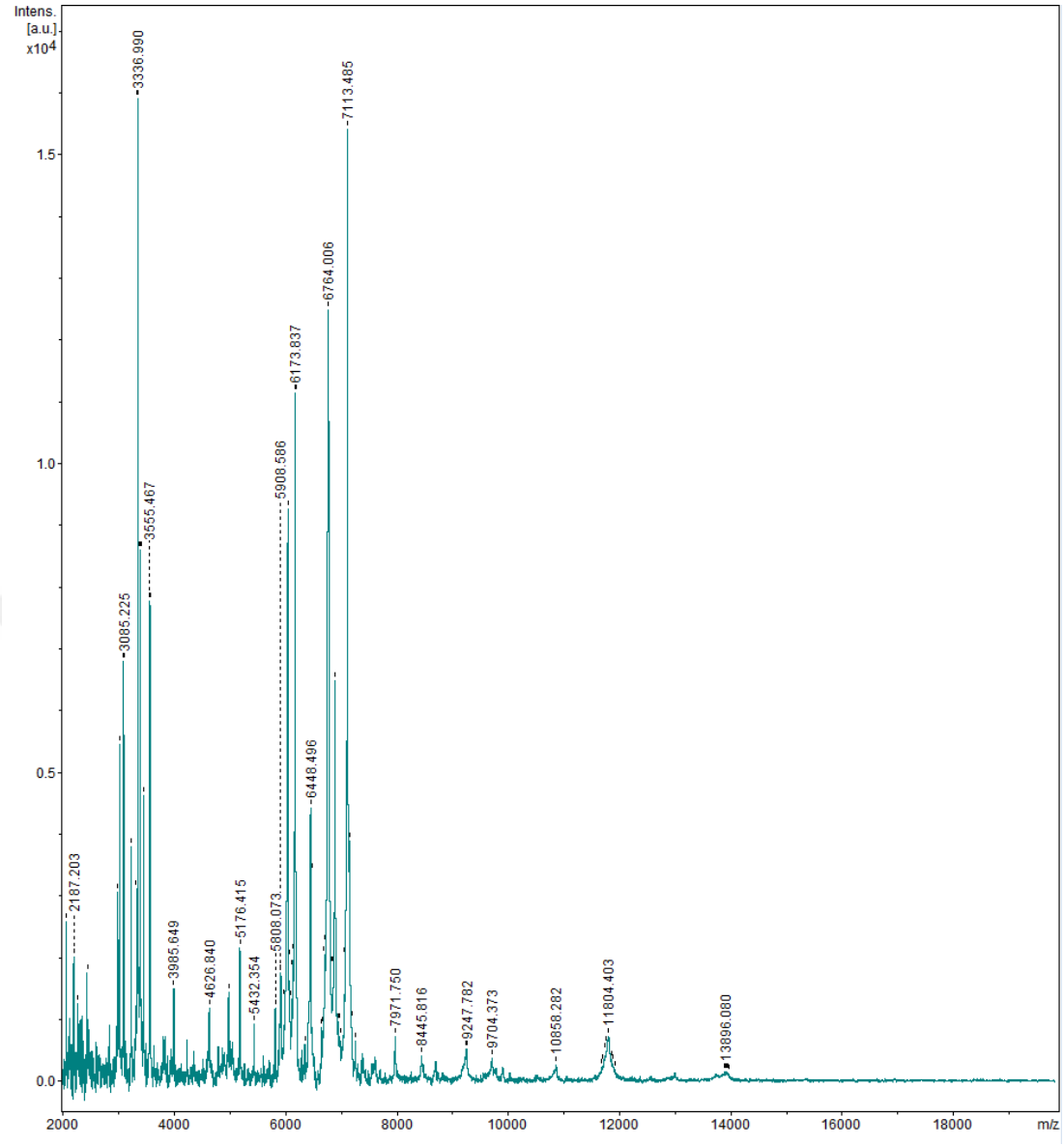
Şekil D.1. *H. uvarum* MP-1 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.



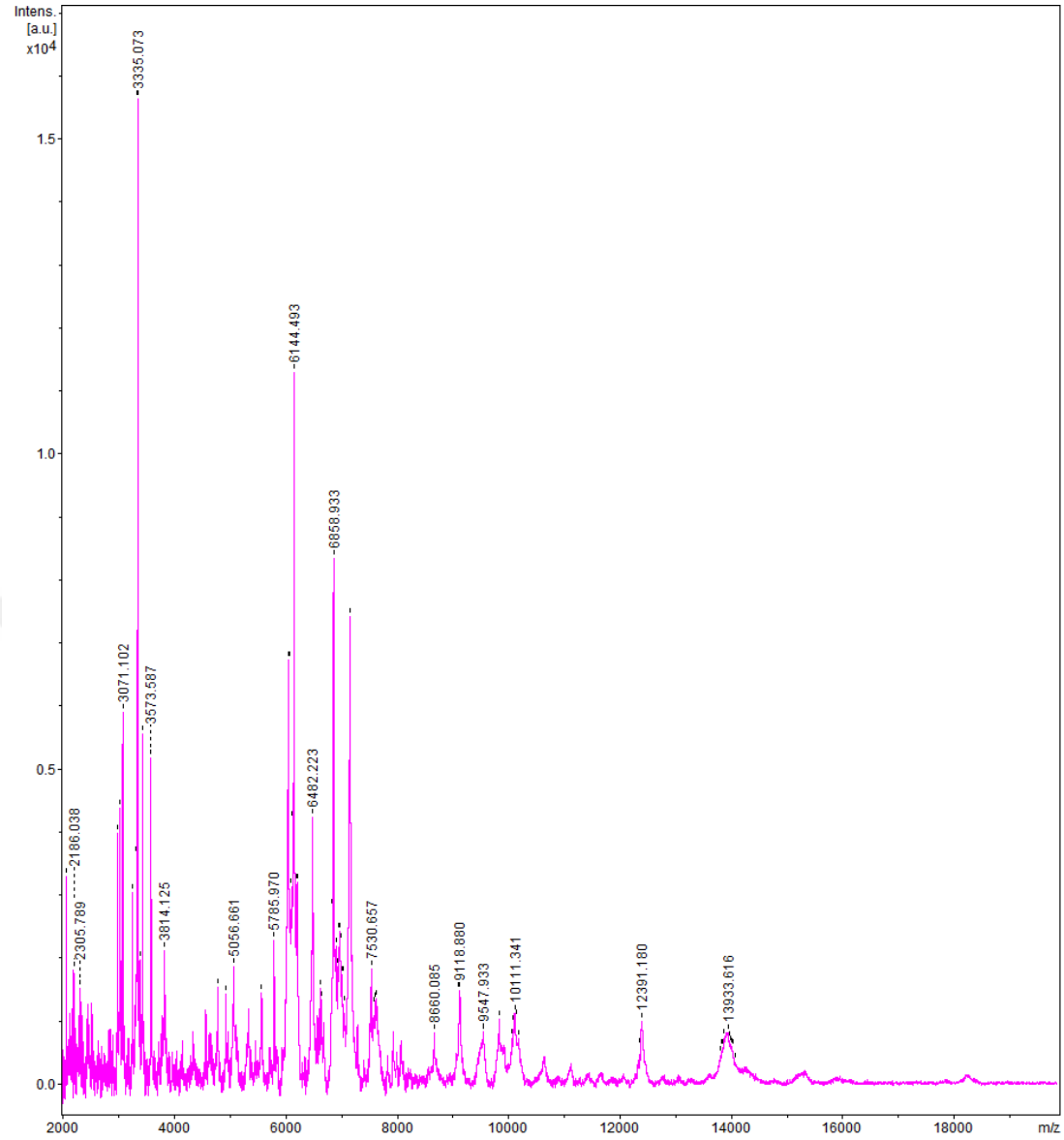
Şekil D.2. *S. cerevisiae* LP-6 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.



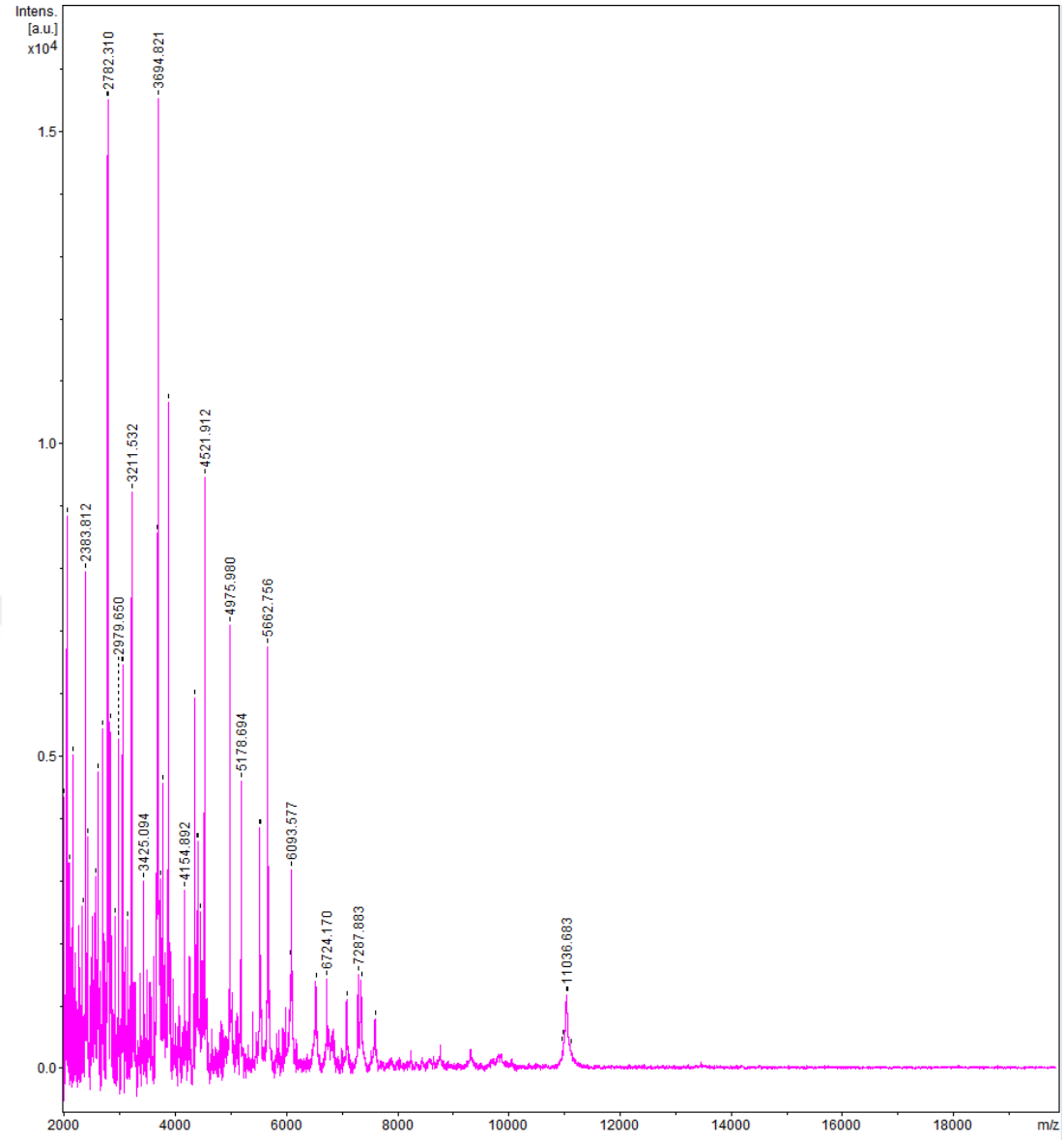
Şekil D.3. *C. lusitaniae* LP-9 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.



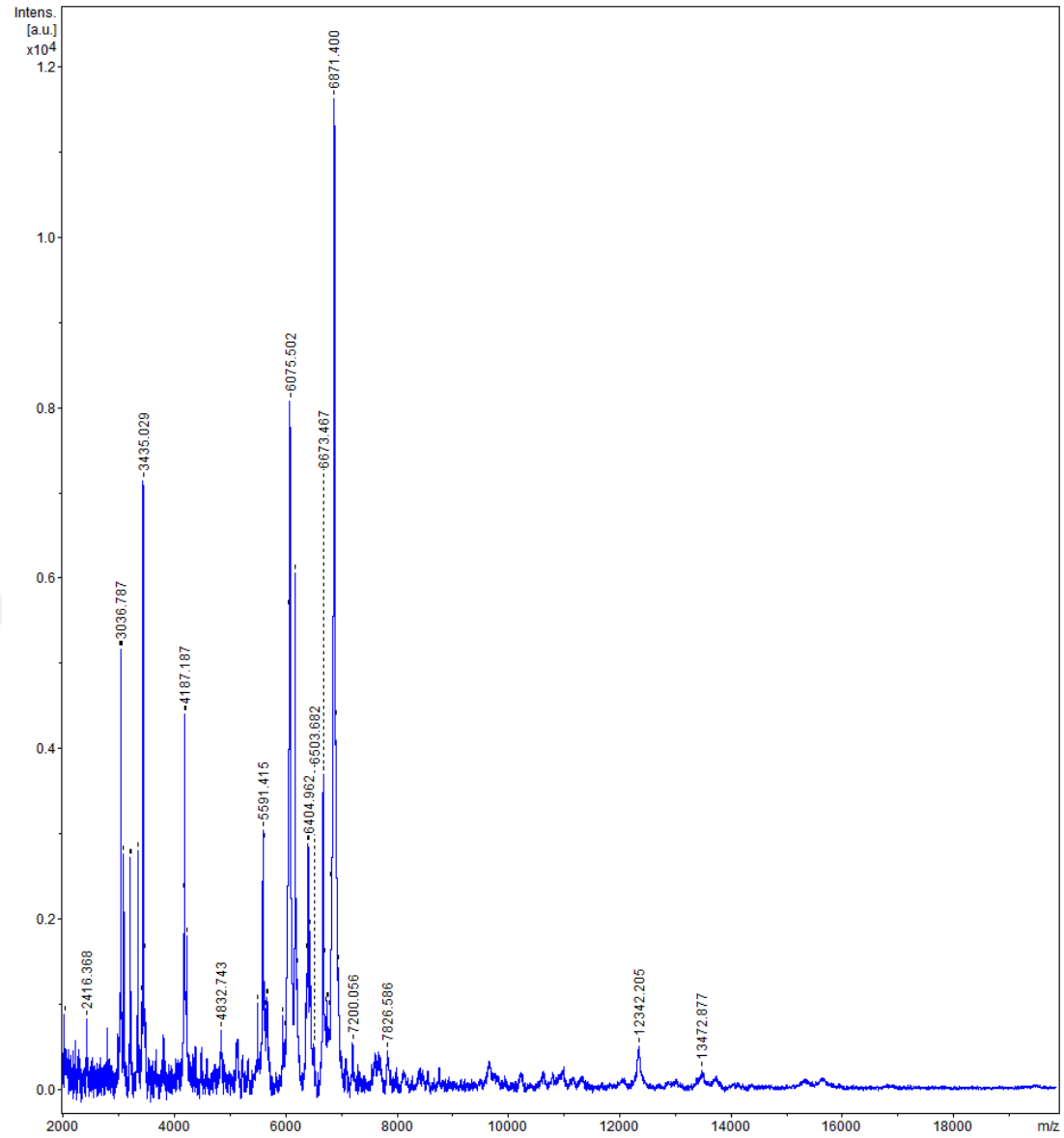
Şekil D.4. *C. krusei* LP-2 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.



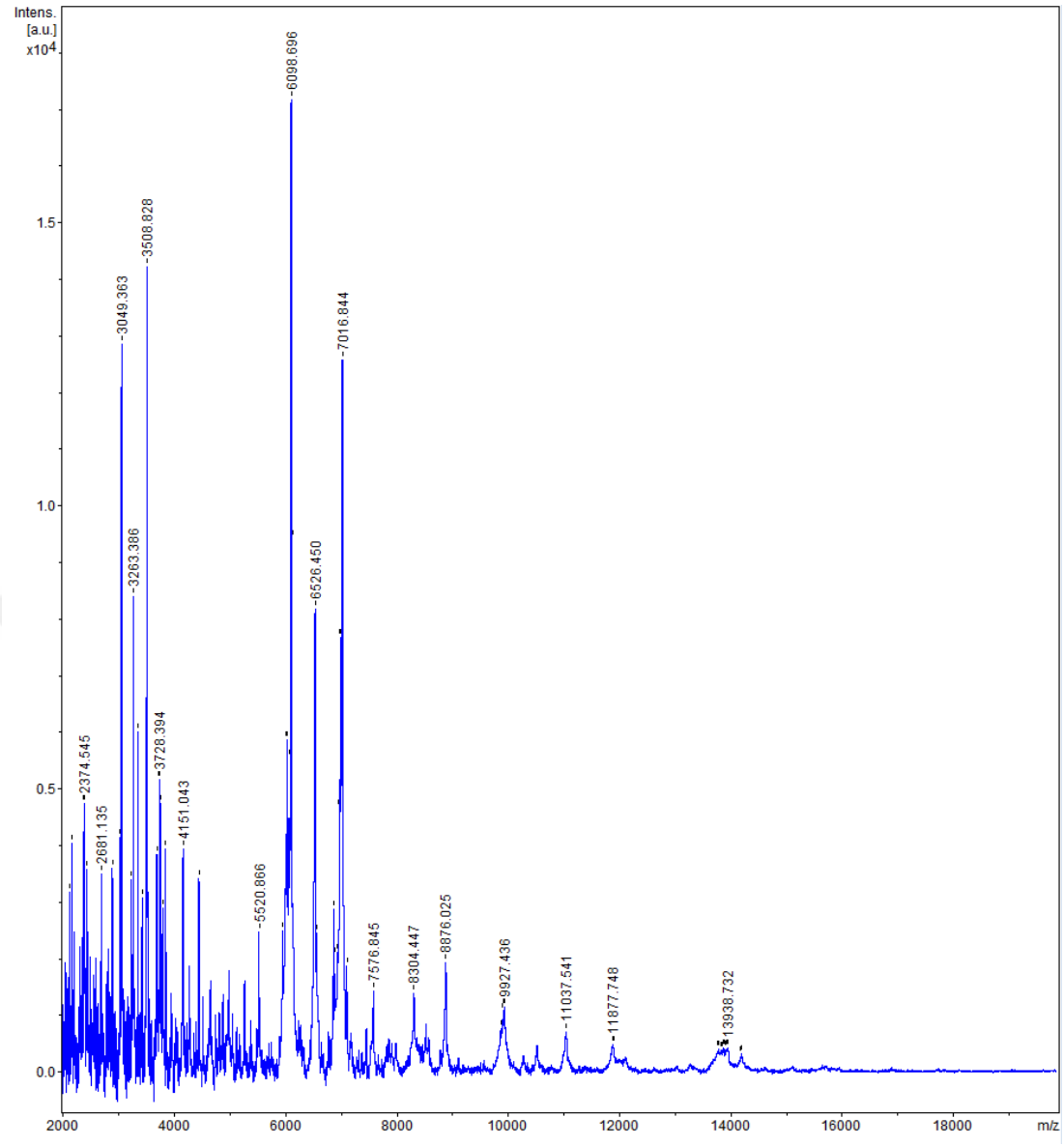
Şekil D.5. *Cy. fabianii* MİAU-1 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.



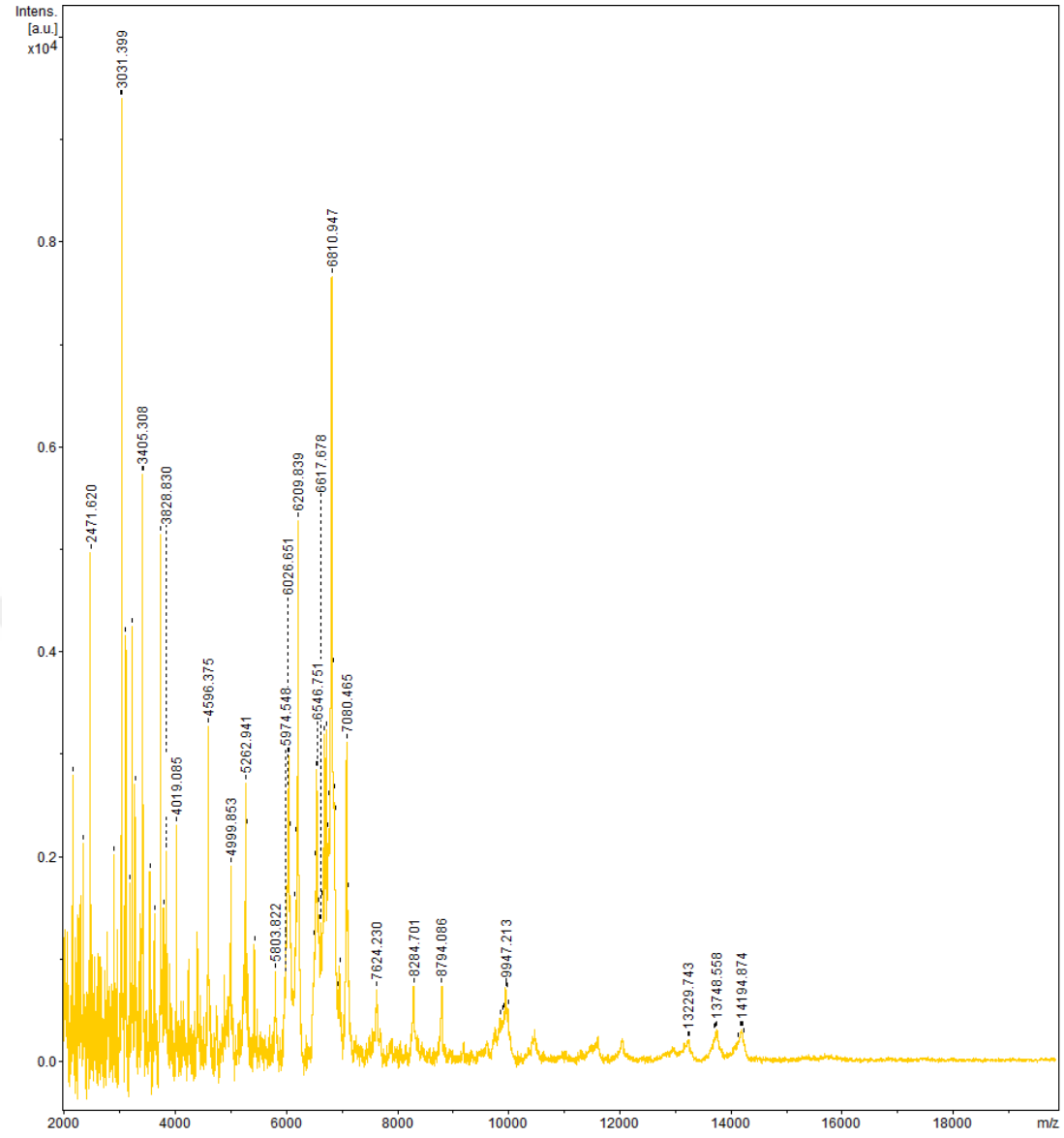
Şekil D.6. *T. delbrueckii* MKD-1 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.



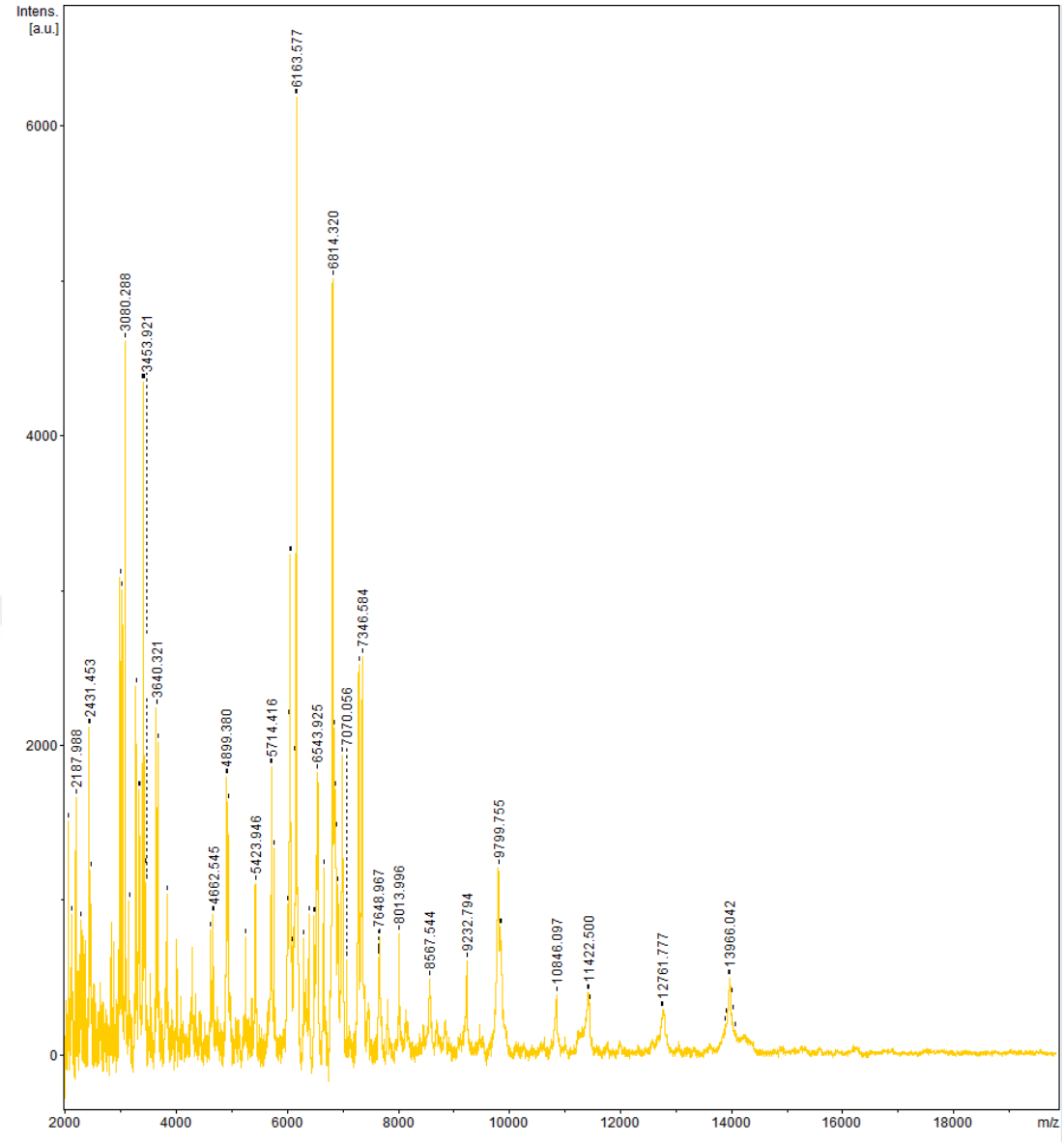
Şekil D.7. *M. pulcherrima* MFKD-1 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.



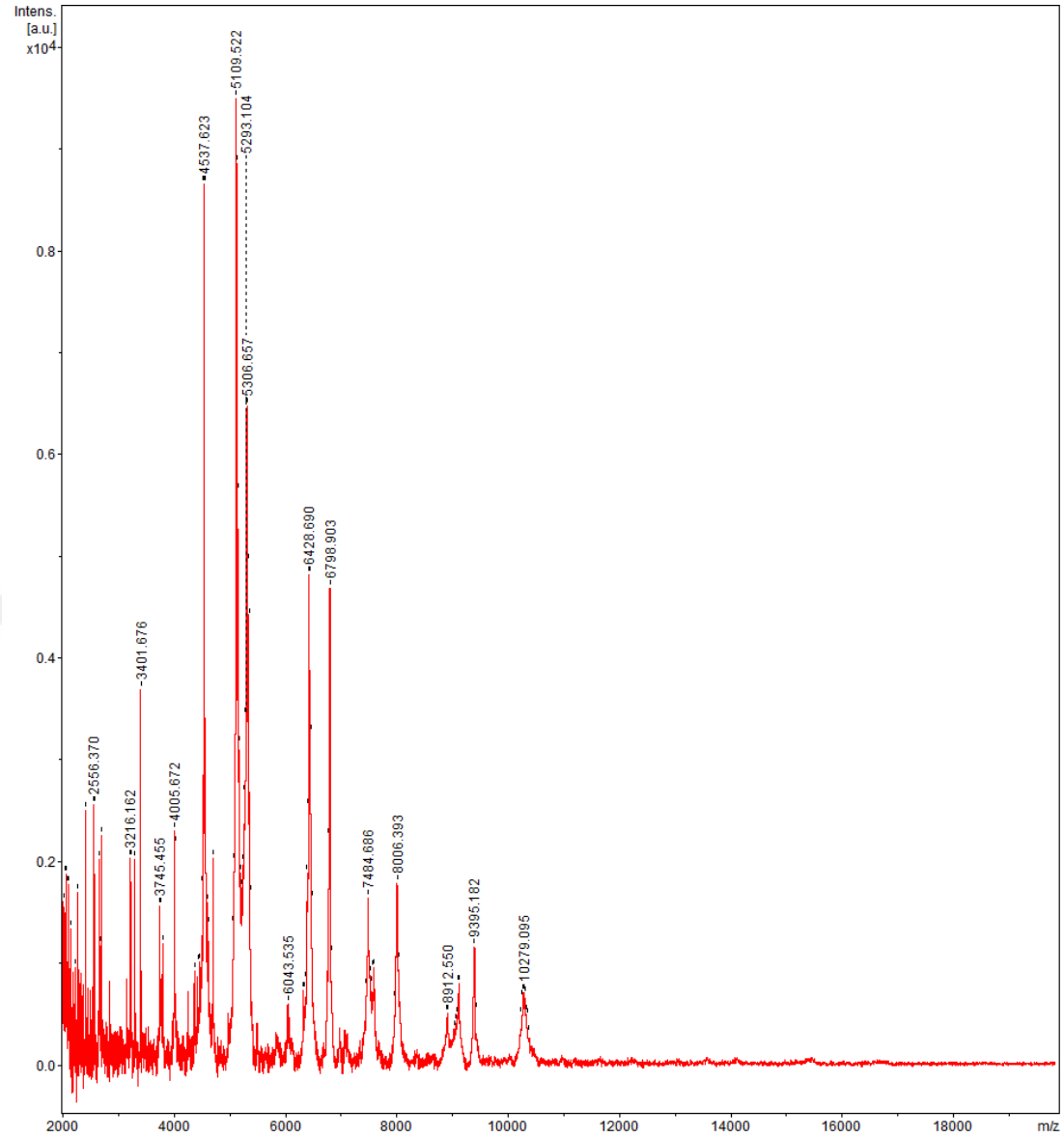
Şekil D.8. *C. kefyr* LFAH-6 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.



Şekil D.9. *C. parapsilosis* LFİAHb-8 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.



Şekil D.10. *W. anomalus* MFİAHb-4 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.



Şekil D.11. *Lb. reuteri* LKBU-4 suşuna ait protein profilini gösteren kütle spektrumu.

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	:	Asiye Elvan BELLİCİ
Doğum Yeri ve Tarihi	:	Tirebolu 31/03/1985
Lisans Üniversite	:	Hacettepe Üniversitesi (2004-2010)
Y. Lisans Üniversite	:	Gaziosmanpaşa Üniversitesi (2010-2013) (tamamlanmamış) Abant İzzet Baysal Üniversitesi (2014-)
Elektronik posta	:	aelvanturkoglu@hotmail.com
İletişim Adresi	:	Düzce Üniversitesi Rektörlüğü Sağlık Kültür ve Spor Daire Başkanlığı Konuralp Yerleşkesi/DÜZCE
Yayın Listesi	:	
Ödüller	:	