

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI



TİP I EKŞİ HAMUR MİKROBİYOTASINDAN İZOLE EDİLEN
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN DNA MARKÖR
SİSTEMLERİ KULLANILARAK TANIMLANMASI VE
MULTİFONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ DOKTORA TEZİ

YEŞİM AKTEPE

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR

BOLU, TEMMUZ 2025

KABUL VE ONAY SAYFASI

Yeşim AKTEPE tarafından hazırlanan “TİP I EKŞİ HAMUR MİKROBİYOTASINDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN DNA MARKÖR SİSTEMLERİ KULLANILARAK TANIMLANMASI VE MULTİFONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Doktora Programında Doktora Tezi olarak oy birliği kabul edilmiştir.
28/07/2025

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Muhammet ARICI
Yıldız Teknik Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Göksel ÖZER
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Esra ACAR SOYKUT
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Ayşe AVCI
Sakarya Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu ve Şablonuna uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- 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 çalışmada 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.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

.....
YEŞİM AKTEPE

ÖZET

TİP I EKŞİ HAMUR MİKROBİYOTASINDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN DNA MARKÖR SİSTEMLERİ KULLANILARAK TANIMLANMASI VE MÜLTİFONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

YEŞİM AKTEPE

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

GIDA MÜHENDİSLİĞİ DOKTORA PROGRAMI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. İBRAHİM ÇAKIR)

BOLU, HAZİRAN - 2025

XIII+ 129 sayfa

Çalışma kapsamında 65 Tip I ekşi hamur örneğinden 350 LAB suşu izole edilerek RAPD markörleri ile karakterize edilmiştir. Tür tanımlaması 16S rRNA bölgelerinin sekanslanması ile yapılarak; *Companilactobacillus crustorum* (n = 135), *Levilactobacillus brevis* (n = 125), *Latilactobacillus curvatus* (n = 40), *C. paralimentarius* (n = 32) ve *Lactiplantibacillus plantarum* (n = 18) olarak tanımlanmıştır. Farklı genetik uzaklığa sahip 66 adet LAB suşu seçilerek ticari suşlar ile teknolojik özellikleri belirlenmiştir. Teknolojik bulgular, temel bileşen analizi (TBA) ile incelenmiş olup ticari suşlarla rekabet edebilir veya üstün olarak bulunan ve antibiyotik direnci taşımayan 12 *L. brevis* ve 2 *L. plantarum* suşu probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla seçilmiştir. Teknolojik özellikler ile farklı genotipler arasında önemli bir fark tespit edilememiştir (P>0.05). Probiyotik özellikler bakımından *Lactobacillus rhamnosus* GG ile rekabet edebilir düzeyde olduğu TBA ile tespit edilen, *L. brevis* L62.2 ve *L. plantarum* 7.8 suşları (maya suşu olarak *S. cerevisiae* M33T1) ekmek denemelerinde kullanılmak üzere seçilmiştir. Ticari ekşi hamur preparatı kullanılarak üretilen ekşi hamurlara kıyasla endojen suşlar kullanıldığında n-hekzanal bileşeninin arttığı tespit edilmiştir. Kontrol grubu ekmek ile diğerleri arasında sertlik, yapışkanlık ve çiğnenebilirlik parametreleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilememiştir (P>0,05). Genel beğeni puanları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiş olsa da özellikle kabuk sertliği ve rengi bakımından E3 (*S. cerevisiae* M33T1-2 + *L. brevis* L62.2) ekşimsi kokusu bakımından ise E2 (*S. cerevisiae* M33T1-2 + *L. plantarum* L7.8 + *L. brevis* L62.2) örneği daha çok beğenilmiştir (P<0,05). Bulgular endojen suşların ticari preparatlara göre bazı uçucu bileşenler, tekstürel özellikler ve bazı duyuşal parametreler bakımından daha üstün sonuçlar verebileceğini göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELELER: Starter kültür, Ekşi maya, Moleküler karakterizasyon
Laktik asit bakterisi

ABSTRACT

IDENTIFICATION AND MULTIFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM TYPE I SOURDOUGH MICROBIOTA USING DNA MARKER SYSTEMS

PHD THESIS

YEŞİM AKTEPE

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

(SUPERVISOR: PROF. DR. İBRAHİM ÇAKIR)

BOLU, FEBRUARY 2024

XIII+ 129 pages

Within the scope of the study, 350 LAB strains were isolated from 65 Type I sourdough samples and characterized with RAPD markers. Species identification was made by sequencing 16S rRNA regions and they were identified as *Companilactobacillus crustorum* (n = 135), *Levilactobacillus brevis* (n = 125), *Latilactobacillus curvatus* (n = 40), *C. paralimentarius* (n = 32) and *Lactiplantibacillus plantarum* (n = 18). 66 LAB strains with different genetic distance were selected and their technological properties were determined with commercial strains. Technological findings were examined by principal component analysis (PCA) and 12 *L. brevis* and 2 *L. plantarum* strains, which were found to be competitive or superior to commercial strains and did not carry antibiotic resistance, were selected to determine their probiotic properties. No significant difference was detected between technological properties and different genotypes ($P>0.05$). *L. brevis* L62.2 and *L. plantarum* 7.8 strains (*S. cerevisiae* M33T1 as yeast strain) were selected to be used in bread experiments, which were determined to be competitive with *Lactobacillus rhamnosus* GG in terms of probiotic properties by TBA. It was determined that n-hexanal component increased when endogenous strains were used compared to sourdoughs produced using commercial sourdough preparation. No statistically significant difference was detected between the hardness, stickiness and chewiness parameters between the control group bread and the others ($P>0.05$). Although no significant difference was detected between the general appreciation scores, E3 (*S. cerevisiae* M33T1-2 + *L. brevis* L62.2) sample was liked more in terms of shell hardness and color, and E2 (*S. cerevisiae* M33T1-2 + *L. plantarum* L7.8 + *L. brevis* L62.2) sample was liked more in terms of sour odor ($P<0.05$). The findings show that endogenous strains may give superior results compared to commercial preparations in terms of some volatile components, textural properties and some sensory parameters.

KEYWORDS: Starter culture, Sourdough, Molecular characterization, Lactic acid bacteria

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	x
FOTOĞRAF LİSTESİ	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Ekşi Maya Teknolojisi ve Fonksiyonel Özellikleri	2
1.1.1 Ekşi Maya Tipleri	4
1.1.2 Ekşi Maya ve Ekmeğin Kalitesini Etkileyen Faktörler	6
1.1.2.1 Fermantasyon Parametrelerinin Etkisi	6
1.1.2.2 Ekşi Maya Fermantasyon Tipi	6
1.1.2.3 Ekşi Mayanın Ekosistemi.....	7
1.1.3 Ekşi Maya Mikrobiyotası	7
1.1.3.1 Ekşi Maya Mikrobiyotasında Mayaların Rolü	9
1.1.3.2 Ekşi Maya Mikrobiyotasında LAB'nin Rolü	11
1.2 Moleküler Yöntemler.....	14
1.2.1 Moleküler Tanımlama Yöntemleri	14
1.2.2 Moleküler Karakterizasyon Yöntemleri	16
1.2.2.1 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism).....	17
1.2.2.2 RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) PZR.....	18
1.2.2.3 ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) Markörleri	20
1.2.2.4 SCOT (Start Codon Targeted) Yöntemi	21
1.3 Multifonksiyonel Starter Kültürler	22
1.3.1 Probiyotik Multifonksiyonel Mikroorganizmalar	27
1.4 Ekşi Mayalı Ekmek Üretimi ve Kalite Özellikleri	29
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	31
2.1 Materyal.....	31
2.2 Yöntem	33
2.2.1 Mikrobiyolojik Analizler	33
2.2.1.1 LAB Sayımı, İzolasyonu ve Biyokimyasal Ön Tanısı	33
2.2.2 Moleküler Analizler.....	33
2.2.2.1 DNA İzolasyonu.....	33

2.2.2.2	. LAB'nin RAPD Markörleri ile Analizi	34
2.2.2.3	Veri Analizi	34
2.2.2.4	Farklı LAB Türlerinin Tanımlanması	35
2.2.3	LAB'nin Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	35
2.2.3.1	LAB Suşlarının Asitliği Artırma Hızı	35
2.2.3.2	Hamur Kabartma Yeteneklerinin Belirlenmesi.....	35
2.2.3.3	Ekzopolisakkarit Üretim Yeteneklerinin Belirlenmesi	36
2.2.3.4	Farklı pH Değerlerinde Gelişme	36
2.2.3.5	Farklı Laktik Asit Konsantrasyonlarında Gelişme.....	37
2.2.3.6	Farklı Asetik Asit Konsantrasyonlarında Gelişme.....	37
2.2.3.7	Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme.....	38
2.2.3.8	İstatistiksel Analizler.....	38
2.2.4	LAB'nin Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi	38
2.2.4.1	Antibiyotik Direncinin Belirlenmesi.....	39
2.2.4.2	pH 2,5 ve %0,3 Safra Tuzu Varlığında Gelişme.....	39
2.2.4.3	Otoagregasyon Özelliklerinin Belirlenmesi	39
2.2.4.4	Hidrofobik Özelliklerinin Belirlenmesi	40
2.2.4.5	Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	40
2.2.4.6	Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	40
2.2.4.7	Temel Bileşen Analizi.....	41
2.2.4.8	Simüle Edilmiş Gastrointestinal Sistemde Hayatta Kalma.....	41
2.2.5	Ekşi Hamur ve Ekmek Üretimi	42
2.2.5.1	Ekşi Hamur İçin Kültür Kombinasyonları	42
2.2.5.2	Ekşi Hamur ve Ekmek Üretimi	43
2.2.6	Ekşi Hamur, Ekmek Hamuru ve Ekmekte Yapılan Analizler	43
2.2.6.1	pH ve Titrasyon Asitliğinin Belirlenmesi	43
2.2.6.2	Maya ve LAB Sayılarının Belirlenmesi	43
2.2.6.3	Ekşi Hamurda Uçucu Bileşen Analizi.....	43
2.2.6.4	Ekmeklerin Tekstür Analizi	44
2.2.6.5	Duyusal Analiz.....	44
2.2.6.6	İstatistiksel Analizler.....	46
3.	BULGULAR	47
3.1	Ekşi Hamur Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri	47
3.2	Ekşi Hamur Örneklerinin LAB Çeşitliliği	48
3.2.1	16S rRNA Sekans Verilerinin İşlenmesi ve Filogenetik Analizler	49
3.2.2	RAPD Primerleri ile Amplifikasyon	52
3.2.3	Teknolojik Analizler İçin LAB Suşlarının Belirlenmesi.....	56
3.3	LAB Suşlarının Teknolojik Analiz Bulguları	58
3.3.1	LAB Suşlarının pH'ya Etkisi.....	58
3.3.2	LAB'nin Hamur Kabartma Aktivitesi	60
3.3.3	LAB'nin EPS Üretimleri	63
3.3.4	LAB'nin Farklı pH Değerlerinde Gelişimleri	65
3.3.5	Farklı Laktik Asit Konsantrasyonlarında Gelişme	67

3.3.6 Farklı Asetik Asit Konsantrasyonlarında Gelişme	70
3.3.7 Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme	72
3.3.8 TBA Analiz Sonuçları	74
3.4 LAB Suşlarının Probiyotik Özellikleri	76
3.4.1 Antibiyotik Direnç	76
3.4.2 Düşük pH ve Safra Tuzunda Gelişme	77
3.4.3 Otoagregasyon Özellikleri	79
3.4.4 Hidrofobisite Özellikleri	80
3.4.5 Antioksidan Aktivite	81
3.4.6 Antimikrobiyal Aktivite	82
3.4.7 İstatistiksel Analiz Bulguları	83
3.4.8 Simüle Edilmiş Mide ve Bağırsak Ortamında Hayatta Kalma	84
3.5 Ekşi Hamur ve Ekmek Analizleri Bulguları	85
3.5.1 pH ve Titrasyon Asitliği Bulguları	85
3.5.2 Ekmek Üretimi İçin Hazırlanan Ön Ekşi ve Ekşi Hamurların Mikrobiyolojik Özellikleri	87
3.5.3 Ekşi Hamurların Uçucu Bileşen Profilleri	88
3.5.4 Ekmeklerin Tekstürel Özellikleri	89
3.5.5 Ekmeklerin Duyusal Özellikleri	90
4. TARTIŞMA	92
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	113
KAYNAKLAR	116

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1. 16S rRNA bölgelerinin filogenetik ilişkisi	51
Şekil 3.2. P7 primeri ile elde edilen farklı türlere ilişkin temsili bant desenleri....	52
Şekil 3.3. M13 primeri ile elde edilen farklı türlere ilişkin temsili bant desenleri	53
Şekil 3.4. RD1+OPL-05 primerlerinden elde edilen farklı türlere ilişkin temsili bant desenleri	53
Şekil 3.5. LAB suşlarına ait RAPD'e dayalı UPGMA filogenetik ağacı	55
Şekil 3.6. Teknolojik özellikleri belirlenecek LAB suşlarının UPGMA dendrogramı	57
Şekil 3.7. LAB suşlarının TBA'dan elde edilen faktöriyel düzlemdeki dağılımları	75
Şekil 3.8. LAB suşlarına ait TBA analiz bulguları	84

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1. Farklı ülkelerden elde edilen ekşi mayalardan izole edilen LAB ve maya türleri	13
Tablo 2.1. Ekşi hamur örneklerine ilişkin genel bilgiler	31
Tablo 2.2. TBA analizi için veri dönüşümleri	38
Tablo 2.3. TBA için veri dönüşümleri	41
Tablo 2.4. Ekmek denemesi için seçilen suşlar	42
Tablo 3.1. Ekşi hamurlara ait mikrobiyolojik sayım sonuçları	47
Tablo 3.2. Tanımlanan LAB türlerinin örneklerle göre dağılımı	49
Tablo 3.3. Kullanılan primerlere ilişkin bazı değerler	54
Tablo 3.4. LAB suşlarına ait sekiz saatlik pH değişimleri	58
Tablo 3.5. LAB suşlarına ait kabartma aktivitesi bulguları	61
Tablo 3.6. LAB suşlarına ait EPS üretim miktarları	63
Tablo 3.7. LAB suşlarına ait farklı pH değerlerinde gelişim değerleri	66
Tablo 3.8. LAB suşların farklı oranlarda laktik asit değerlerinde gelişimi	67
Tablo 3.9. LAB suşların farklı oranlarda asetik asit değerlerinde gelişimi	70
Tablo 3.10. LAB suşlarının farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim değerleri	73
Tablo 3.11. LAB suşlarının antibiyotik direnç bulguları	76
Tablo 3.12. LAB suşlarına ait pH 2,5 ve safra tuzunda gelişim değerleri	78
Tablo 3.13. LAB suşların otoagregasyon ve hidrofobisite bulguları	80
Tablo 3.14. LAB suşlarına ait antioksidan aktivite bulguları	81
Tablo 3.15. LAB suşlarının antimikrobiyal aktivite bulguları	82
Tablo 3.16. LAB suşlarına ait simüle edilmiş mide bağırsak ortamında gelişimleri	85
Tablo 3.17. Ekşi mayalara ait pH ve titrasyon asitliği bulguları	85
Tablo 3.18. Ön ekşi ve ekşi hamurlara ait mikrobiyolojik sayım sonuçları	87
Tablo 3.19. Ekşi hamurlarda belirlenen uçucu bileşenler	88
Tablo 3.20. Ekmeklere ait tekstür analiz bulguları	89
Tablo 3.21. Ekmeklere ait duyusal analiz bulguları	90

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 3.1. Ön ekşi hazırlama aşaması	86
Fotoğraf 3.2. Ekmek örneklerine ait ekşi hamur oluşumu aşaması	86
Fotoğraf 3.3. Ekşi mayalı ekmek örneklerinin pişirme öncesi ve sonrası	87
Fotoğraf 3.4. Duyusal analizi yapılan ekmeklerin görüntüleri	91



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

abs	: Absorbans
AMOVA	: Moleküler Varyans Analizi
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
bç	: Baz Çifti
DGGE	: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
g	: Gram
GI	: Gelişim İndeksi
KOB	: Koloni Oluşturan Birim
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
PIC	: Polimorfizm Bilgi İndeksi
RP	: Ayırma Gücü
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TBA	: Temel Bileşen Analizi
UPGMA	: Ağırlıklı Olmayan Aritmetik Ortalama Eş Grup Metodu
VI	: Hacim İndeksi
EPS	: Ekzopolisakkarit
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

TEŞEKKÜR

Doktora sürecimde danışmanlığımı yapan, bu uzun yolda yanımda olup maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, çokça derdimi dinleyen kıymetli danışmanım Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR'a

Tez sürecim boyunca değerli görüş ve katkılarıyla bana destek olan tez izleme komitesi üyeleri Prof. Dr. Esra ACAR SOYKUT ve Prof. Dr. Göksel ÖZER hocalarıma ve ayrıca hem arkadaşlığı hem hocalığı ile yol göstericiliğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Furkan AYDIN'a

Bolu'daki ailem olan birlikte ağlayıp birlikte güldüğüm, ev arkadaşlarım ve can yoldaşlarım Gıda Yük. Müh. Aslı YILDIRIM ve Dr. Şeyma Betül ENCU'ya birlikte yol aldığımız destekçilerim Ziraat Yük. Müh. Mehtap ALKAN, Ziraat Yük. Müh. Tuğba BOZOĞLU'na BAİBÜ'nün hayatıma dahil ettiği değerli dostlarım Dr. Özge KAVAS'a, Dr. Sevim ÖZTÜRK ORUÇ'a

Özgürce uçmamı sağlayan iki kanadıma Anneme ve Babama, varlıklarıyla güç bulduğum kardeşlerim Yasin, Kerim ve Berna'ya ayrıca doğal antidepresanım Mahir'e teşekkürü borç bilirim.

Doktora sürecimde beni “2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı” kapsamında ve TÜBİTAK TOVAG tarafından desteklenen 121O580 numaralı “Tip I Ekşi Hamur Mikrobiyotasından Maya ve Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, Genetik Karakterizasyonu, Teknolojik ve Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Ekmek Üretiminde Kullanım Olanaklarının Araştırılması” adlı projeyle destekleyen TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Ekşi hamur, un ve suyun sahip olduğu doğal mikrobiyotasıyla fermente edilmesi sonucu oluşan kompleks bir mikrobiyal ekosistem olarak tanımlanmaktadır. Geleneksel olarak ekmek üretiminde kullanılan bu yöntem, sadece duyuusal ve yapısal özellikleri iyileştirmekle kalmamakta, aynı zamanda besin öğelerinin biyoyararlanımını artırarak fonksiyonel faydalar da sağlamaktadır. Fermantasyon süreci sırasında ekşi mayanın içerdiği mikrobiyota sayesinde organik asitler, enzimler ve aroma bileşikler üretilmekte; bu da ekmeklerin raf ömrünü uzatmakta ve sindirim sistemine olan etkisini olumlu yönde etkilemektedir (Calvert vd., 2021).

Ekşi hamurun temel mikrobiyotasını maya ve laktik asit bakterileri (LAB) oluşturmaktadır. LAB, düşük pH koşullarında gelişebilme, organik asit üretme, fitik asit bileşenlerini parçalama ve aroma oluşumuna katkı sağlama gibi işlevsel özellikleri ile ekşi maya mikrobiyotasında faaliyet göstermektedir. Bu işlevsel özelliklere ek olarak bazı LAB suşlarının prebiyotik liflerin fermentasyonunu destekleyerek potansiyel probiyotik etkiler gösterebildiği bildirilmektedir. Ancak LAB'nin sahip olduğu bu fonksiyonel etkilerin tam anlamıyla gıdaya aktarılması, canlı mikroorganizma içeriği gerektirdiğinden, bu tür suşların probiyotik özelliklerinden faydalanmak için ısıtma işlemi görmeden üretilen gıda ürünleri (örneğin boza, kvass gibi tahıl bazlı fermente içecekler) daha uygun birer taşıyıcı olarak değerlendirilmektedir (Subaşı ve Ercan 2023; Andrade ve de Castro, 2023; Ashaolu vd., 2025). Bu bağlamda fonksiyonel etkinin artırılması ve daha geniş tüketici kitlesine ulaşılması amacıyla geleneksel üretim teknikleri yenilikçi yaklaşımlarla desteklenmektedir.

Son yıllarda, ekşi hamurun potansiyel faydalarını artırmak amacıyla üretiminde yalnızca teknolojik değil aynı zamanda fonksiyonel faydalar da sağlayabilen “multifonksiyonel” starter kültürlerine yönelim olduğu görülmektedir. Multifonksiyonel terimi, starter kültürlerin sadece teknolojik özellikler (hamur kabartma ve asit üretme gibi) ile sınırlı kalmamasını, ayrıca biyofonksiyonel özelliklere (antioksidan aktivite, prebiyotik destek ve mikrobiyal rekabet gibi) sahip olmalarını ifade etmektedir (Perricone vd., 2014; Dertli vd., 2016). Ekşi maya üretimindeki multifonksiyonel starter kültür seçimi amacıyla, farklı coğrafyalardan izole edilen LAB ve maya suşlarının karakterizasyonuna yönelik çalışmalar dünya

genelinde ve ülkemizde artış göstermiştir. Türkiye'deki geleneksel ekşi maya örneklerinden izole edilen mikroorganizmaların karakterize edilmesi potansiyel starter kültür koleksiyonlarının oluşturulması açısından büyük önem arz etmektedir (Ogunsakin vd., 2017; Palla vd., 2020; Arıcı vd., 2018; Karaman vd., 2018; Yağmur vd., 2016; Boyacı-Gündüz vd., 2020; Korcarı vd., 2020).

Bu amaç doğrultusunda moleküler biyoteknolojik yöntemler kritik bir rol oynamaktadır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) temelli moleküler markör yöntemleri, mikroorganizmaların tür düzeyinde tanımlanmasının yanı sıra, tür içi genetik varyasyonun da (polimorfizm) ortaya koyulmasını sağlamaktadır. Bu kapsamda özellikle 16S rDNA bölgelerinin kullanıldığı analizler ve RAPD-PZR gibi teknikler, suşlar arasındaki farklılıkların saptanmasında yaygın olarak tercih edilen moleküler yöntemler olarak kullanılmaktadır. Uygulanan bu yöntemler sayesinde aynı genetik özelliklere sahip suşlar elenerek suş sayısı azaltılmakta, böylece iş gücü ve maliyet düşürülerek çalışmanın verimliliği artırılmaktadır (Yang vd., 2021).

Mevcut tez çalışması kapsamında, Ülkemizin farklı coğrafi bölgelerinden temin edilen ekşi maya örneklerinden LAB suşları izole edilmiş, bu suşların moleküler ve fenotipik karakterizasyonu yapılmış, ardından suşların sahip olduğu teknolojik ve potansiyel biyofonksiyonel özellikleri araştırılmıştır. Temel bileşen analizi ve çeşitli çoklu karşılaştırma testleri sonucunda üstün özellikler taşıdığı tespit edilen multifonksiyonel suşlardan starter kültür kombinasyonları oluşturulmuştur. Çalışmada elde edilen multifonksiyonel starter kültürlerle oluşturulan ekşi maya örnekleri model gıda olarak seçilen ekşi mayalı ekmek üretiminde kullanılmış olup çeşitli kalite parametreleri açısından değerlendirilmiştir. Çalışmanın temel amacı, yerel olarak temin edilen mikrobiyal kaynaklardan yola çıkarak fonksiyonel özellikleri yüksek, katma değeri artırılmış ekşi maya ürünlerinin geliştirilmesi için bilimsel bir zemin hazırlamaktır. Böylece geleneksel fermantasyon bilgi birikimi, güncel moleküler biyoteknoloji ile birleştirilerek sürdürülebilir ve yenilikçi gıda üretimi için kullanılabilir hale getirilmesi hedeflenmiştir.

1.1 Ekşi Maya Teknolojisi ve Fonksiyonel Özellikleri

Ekşi maya teknolojisi, geleneksel ve modern fırıncılık uygulamalarında fermantasyonun ekşi mayanın içerdiği mikrobiyota tarafından gerçekleştirilmesini

ifade etmektedir. Bu teknolojide, başta LAB ve çeşitli maya türlerinin sinerjik etkileşimiyle yürütülen fermantasyon süreci; oluşturulacak hamurun yapısal, duyuşal ve raf ömrü gibi özellikleri üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (Islam ve Islam, 2024).

Ekşi maya fermantasyonunda öne çıkan mikrobiyal türler arasında *Lactiplantibacillus plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Pediococcus pentosaceus* ve *P. acidilactici* gibi LAB türleri yer almaktadır. Bu mikroorganizmalar; karbonhidratların fermentasyonu sırasında laktik ve asetik asit gibi organik asitlerin üretimini sağlayarak pH değerini düşürmekte, bu da ürünün mikrobiyal stabilitesini artırmaktadır. Aynı zamanda oluşan asitlik, nişasta retrogradasyonunu geciktirerek raf ömrünün uzamasına katkıda bulunmaktadır. Islam ve Islam (2024) tarafından yapılan bir çalışmada, LAB tarafından fermantasyon aşamasında üretilen asetik asidin laktik aside kıyasla retrogradasyonu engellemede daha etkili olduğu belirlenmiştir. Ekşi maya fermantasyonunda öne çıkan diğer mikrobiyal türler arasında ise *Candida humilis*, *Saccharomyces cerevisiae* gibi maya suşları yer almaktadır. Bu mikroorganizmalar fermantasyon sırasında ürettikleri CO₂ ile hamurun kabarmasını sağlamanın yanı sıra ürettikleri etanol ile hamurun aroması üzerinde olumlu etkiler oluşturmaktadır (De Vuyst ve Neysen, 2005).

Ekşi maya sisteminde mikrobiyal kaynaklı fitaz enzimlerinin aktivitesi sonucu tahıllarda doğal olarak bulunan ve mineral emilimini sınırlayan fitik asit parçalanmakta, bu durum özellikle üretim sonrası ürünlerin fonksiyonel açıdan kalitesini artırmaktadır. Ayrıca, fermantasyon sürecinde mikrobiyot tarafından sentezlenen ekzopolisakkaritler (EPS), nişasta ve su molekülleriyle etkileşime girerek jel benzeri bir yapı oluşturmaktadır. Bu durum özellikle üretim sonrasında değerlendirilen kalite parametreleri üzerinde olumlu etki yaratmaktadır. Bu yapının olumlu etkisi ürünün nem tutma kapasitesini artırmak ve bayatlamayı geciktirmek olarak son üründe gözlemlenmektedir. Söz konusu EPS'ler aynı zamanda yapısal stabilite ve tekstürel özellikler üzerinde de olumlu etkiler göstermektedir (Arendt vd., 2007; Subaşı ve Ercan, 2023; Sadeghi vd., 2023; Alkay vd., 2024).

Ekşi maya fermantasyonu süresince gerçekleşen mikrobiyal aktiviteler sonucunda çeşitli uçucu ve uçucu olmayan bileşikler sentezlenmekte olup, bu bileşikler ekşi maya kullanımı ile üretilen ekmeklerde aroma, tat ve koku gibi temel duyuşal özelliklerinin oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Özellikle LAB ve maya metabolizması sonucu oluşan aldehitler, alkoller, esterler ve ketonlar, ürünün

özgün duyusal profilini oluşturmaktadır. Bu nedenle ekşi maya kullanımı ile üretilen ekmeklerde özgün bir aroma profili oluşmaktadır. Örneğin, aldehitler son üründe taze ve meyvemsi koku oluşumunu sağlarken, esterler tereyağı vb. hoş aromalar oluşturmaktadır (Xu vd., 2020; Wu vd., 2022).

Ekşi maya fermantasyonunun bir diğer önemli yönü, Maillard reaksiyonu sonucu oluşan akrilamid gibi istenmeyen bileşiklerin oluşumunu sınırlama potansiyeline sahip olmasıdır. Bazı LAB suşlarının (örneğin *L. plantarum*) akrilamid düzeylerini azaltıcı etkisi olduğu, yapılan çalışmayla ortaya konmuştur. Bu özellik, ekşi mayanın gıda güvenliği açısından tercih edilebilirliğini artıran önemli bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Islam ve Islam, 2024).

Protein metabolizması açısından değerlendirildiğinde, ekşi mayada bulunan mikroorganizmaların proteolitik enzim aktivitesi, proteinlerin yapıtaşları olan peptit ve aminoasitlere ayrılmasını sağlamaktadır. Bu süreç, ürünün tekstürel özelliklerine katkı sağlamanın yanı sıra sindirilebilirliğini ve işlevsel proteinlerin oluşumunu da desteklemektedir. Bu durum, özellikle glutenin modifikasyonu açısından önemli bir teknolojik avantaj sunmaktadır (Fernández-Peláez vd., 2020; Graça vd., 2021).

Ekşi maya teknolojisi sadece geleneksel lezzetlerin varlığını sürdürmesi açısından değil, aynı zamanda fonksiyonel ve mikrobiyolojik kaliteyi iyileştirmesiyle fırıncılıkta kullanılan önemli bir fermantasyon yöntemidir. Bu teknoloji, doğal mikrobiyota temelli sürdürülebilir üretim sistemlerinin geliştirilmesine olanak tanımakta, aynı zamanda ürün kalitesini uzun vadede korumaktadır.

1.1.1 Ekşi Maya Tipleri

Ekşi maya üretimi fermantasyon yöntemi ve uygulanan teknolojiye göre dört ana kategori altında sınıflandırılmaktadır. Bunlar Tip I, Tip II, Tip III ve Tip IV olarak adlandırılmaktadır (Siepmann vd., 2018; Ma vd., 2021; Hernández-Figueroa vd., 2023; Martín-García vd., 2023; Fekri vd., 2024).

Tip I ekşi hamur: Tip I ekşi hamur, geleneksel ekşi maya olarak da bilinmektedir. Un ile suyun karıştırılmasıyla spontan fermantasyona bırakılan sistemleri ifade etmektedir. Dışardan ticari maya ilavesi yapılmadığı için un ve sudan gelen mikrobiyotaya bağlı olarak hamurun yapısı ve özellikleri değişkenlik göstermektedir (Hernández-Figueroa vd., 2023; Calasso vd., 2023; García-Béjar

vd., 2023). Ayrıca mikrobiyal çeşitliliği artırmak amacıyla yöresel olarak yoğurt, kefir ve çeşitli meyvelerin ilavesi gibi uygulamalar da tercih edilmektedir. Genellikle evlerde oluşturulan ekşi maya üretimi bu tipe örnek olarak verilmektedir (Fekri vd., 2024). Fermantasyon sıcaklığı 20-30°C aralığında değişmektedir. Hamur 24 saatte bir pasajlanarak olgunlaşması sağlanmaktadır. Pasajlama adımı son üründe istenilen özelliklere göre 2 ila 9 gün aralığında sürebilmektedir. Bu teknikte üretilen ekşi mayalarda pH değerleri 3,9 ila 4,5 aralığında değişmektedir (Arendt vd., 2007). Tip I, laboratuvar ölçekli ekşi maya mikrobiyotasını belirlemeye yönelik yapılan çalışmalarda en çok tercih edilen çeşittir.

Tip II ekşi hamur: Tip II ekşi hamur, Tip I den farklı olarak starter kültür ilavesi ile üretilmektedir. Endüstriyel yöntemlerle üretilen Tip II ekşi hamur daha akışkan bir kıvama sahiptir. Hamurun oluşturulmasında tek aşamalı 24 saatlik bir fermantasyon gerçekleştirilmektedir (Gu vd., 2023; Hernández-Figueroa vd., 2023). Kullanılan starter kültürler doğal mikrobiyotanın gelişimini baskılasa da maya verimini oldukça artırmaktadır (Calasso vd., 2023). Fermantasyonun genellikle 30°C'de gerçekleştirilmesi, asit oluşum hızını artırmakta ve pH değerlerinin 3,5 veya altına düşmesine olanak sağlamaktadır (Fekri vd., 2024).

Tip III ekşi hamur: Bu hamur tipi, Tip II ekşi mayanın püskürtmeli kurutucu veya dondurarak kurutma ile elde edilen formu olarak bilinmektedir (Calasso vd., 2023; Gu vd., 2023). Özellikle fırıncılık sektöründe sıklıkla tercih edilen bu tip, mikrobiyal kontaminasyon riskinin daha düşük, fiziksel ve kimyasal açıdan daha dayanıklı olması üretimde kullanımını kolaylaştırmaktadır. Hamur verimi ise diğer ekşi maya teknolojilerine göre daha yüksektir. Ancak bu teknikte hamur yüksek sıcaklıklarda kurutularak ekşi maya elde edildiği için üretimde termotolerant mikroorganizmaların tercih edilmesi gerekmektedir (Fekri vd., 2024).

Tip IV ekşi hamur: Bu hamur tipi, Tip I ve Tip II ekşi hamurlarının karıştırılması ile elde edilmektedir (Ma vd., 2021). Genellikle laboratuvar ortamında gerçekleştirilen üretimlerde kullanılmaktadır. Bu tipte farklı kaynaklardan gelen mikroorganizmaların sinerjik etkileşimi ile daha zengin bir tat ve aroma profili oluşmaktadır (Fekri vd., 2024; Islam ve Islam, 2024).

1.1.2 Ekşi Maya ve Ekmeğin Kalitesini Etkileyen Faktörler

1.1.2.1 Fermantasyon Parametrelerinin Etkisi

Fermantasyon koşulları, ekşi mayanın mikrobiyal yapısı ve fonksiyonel özellikleri üzerinde belirleyici etkiye sahiptir. Özellikle fermantasyon süresi hem asitlik seviyesini hem de biyokimyasal süreçleri doğrudan etkileyen önemli bir faktördür. Uzun süreli fermantasyon hem ekşi mayada hem de ekmekte asitliğin aşırı ilerlemesine sebep olmaktadır. Düşen pH değeri hamurun sertliğinde artışa, ekmeğin elastikiyetinde ise azalmaya yol açmaktadır. Ayrıca uçucu bileşiklerin konsantrasyonunun 24 saatlik fermantasyon sonrasında azaldığı bilinmektedir. Gluten proteinlerini parçalanmasını sağlayan proteinazlar ise pH 4'ün altında düştüğünde maksimum aktivite göstermektedirler. Literatürde olgun ekşi mayanın pH değerinin 3,5 ila 4 aralığında değiştiği bildirilmektedir (Arendt vd., 2007).

Fermantasyon sıcaklığı da ekşi maya sistemini etkileyen parametrelerden bir diğeri olarak değerlendirilmektedir. Ekşi mayalı ekmeklerde sertlik gibi kalite özellikleri üzerinde belirleyici bir rol oynayan fermantasyon sıcaklığının, özellikle ürün tekstürü açısından kritik öneme sahip olduğu bildirilmektedir. Fermantasyon sıcaklığındaki artışın, mikrobiyal aktiviteyi hızlandırarak pH seviyesinin daha kısa sürede düşmesini sağladığı ve bunun da ekmek sertliğini azalttığı ifade edilmektedir. Bu nedenle, fermantasyon sürecinin kontrollü bir şekilde optimize edilmesi, ürün kalitesinin sürekliliği açısından önem taşımaktadır. Mevcut çalışmalar, optimum fermantasyon sıcaklığının 28-30°C aralığında olduğunu göstermektedir (Xu vd., 2020).

1.1.2.2 Ekşi Maya Fermantasyon Tipi

Ekşi mayanın tipi, fermantasyon sürecinin dinamiklerini şekillendirmekte ve nihai ürün olan ekmeğin kalite özellikleri üzerinde önemli etkiler oluşturmaktadır. Tip II ekşi maya kullanılarak üretilen ekmeklerin, Tip I maya ile üretilenlere kıyasla daha yüksek özgül hacme sahip olduğu bildirilmektedir. Bu durumun, Tip II sistemlerinde kullanılan saf kültürlerin fermantasyon sürecine sağladığı metabolik katkılardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ekşi maya tipi; yalnızca gaz üretimi ile oluşturulan hacim gibi fiziksel özellikleri değil, aynı zamanda pH düzeyi, enzimatik aktivite, protein ve nişasta sindirilebilirliği, hamurun reolojik özellikleri, aroma profili ve genel duyusal nitelikler üzerinde de

belirleyici rol oynamaktadır (Siepmann vd., 2018; Graça vd., 2021; Alkay vd., 2024)

1.1.2.3 Ekşi Mayanın Ekosistemi

Ekşi mayalı ekmeğin tekstürel özellikleri, büyük ölçüde mikrobiyal popülasyonun metabolik aktiviteleri ile şekillenmektedir. Bu nedenle, ekşi hamurun mikrobiyal kompozisyonunun ayrıntılı olarak anlaşılması, ürün kalitesinin kontrolü ve standardizasyonu açısından kritik öneme sahiptir. Ekşi mayalarda düzenli pasajlama uygulamaları, karakteristik ve stabil bir mikrobiyal topluluğun oluşumuna katkı sağlamaktadır. Olgun ekşi mayalarda LAB popülasyonun 1×10^9 ila 3×10^9 KOB/g, maya popülasyonun ise 1×10^6 ila 5×10^7 KOB/g arasında değiştiği bildirilmiştir. LAB'nin metabolik faaliyetleri sonucu ortam pH değerinin düşmesi, maya gelişimini sınırlayan bir faktör olarak öne çıkmaktadır. Bu nedenle ekşi maya ekosisteminde LAB/maya oranı genellikle 100:1 ile 10:1 arasında değişmektedir. (Fekri vd., 2024). Mikrobiyal çeşitlilik açısından değerlendirildiğinde, ekşi maya mikrobiyotasında 50'den fazla LAB türü tespit edilmiş olup, bunların büyük çoğunluğunu *Lactobacillus* cinsine ait türler oluşturmaktadır. Ayrıca 25'ten fazla maya türü belirlenmiş ve bunlar arasında en yaygın olanların *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida humilis* olduğu tespit edilmiştir (Arendt vd., 2007; De Vuyst vd., 2023; Martín-Garcia vd., 2023; Lima vd., 2023; Fekri vd., 2024).

Farklı LAB ve maya türleri arasında asitleştirme kapasitesi ve metabolik ürünler açısından farklılıklar göz önüne alındığında farklı ekşi mayaların mikrobiyotalarının faaliyetleri sonucunda üretilen ekmeklerin kalite özelliklerinde farklılıklar görülmesi beklenmektedir. Bu nedenle ekmekte istenilen karakteristik özellikler göz önünde bulundurularak starter olarak kullanılacak kültürlerinin belirlenmesi oldukça önemlidir (Arendt vd., 2007; De Vuyst vd., 2023).

1.1.3 Ekşi Maya Mikrobiyotası

Ekşi maya, doğal mikrobiyota tarafından yürütülen kompleks bir fermantasyon sistemi olup, LAB ve mayaların simbiyotik ya da rekabetçi ilişkiler içinde bulunduğu dinamik bir mikrobiyal ekosistemdir. Ortam koşullarına bağlı olarak şekillenen bu etkileşimler, fermantasyonun ilerleyişini ve son ürünün duyuşal, besinsel ve teknolojik özelliklerini doğrudan belirlemektedir (De Vuyst ve Neysens, 2005; De Vuyst vd., 2023).

Fermantasyon sürecinin ilk evrelerinde geçici olarak gelişim gösterebilen bazı çevresel mikroorganizmalar, ortamın artan asiditesiyle birlikte yerlerini asit toleransı daha yüksek olan LAB ve maya türlerine bırakmaktadır. Bu dönüşüm, ortamın pH değerini düşüren organik asitlerin üretimiyle desteklenmekte ve istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyerek fermantasyonun mikrobiyal stabilitesini sağlamaktadır (De Vuyst vd., 2009).

Ekşi mayadan izole edilen başlıca LAB türleri arasında *Fructilactobacillus sanfranciscensis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Lactocaseibacillus casei* ve *Pediococcus pentosaceus* gibi türler yer almaktadır. Bu türler, başta glukoz ve maltoz olmak üzere çeşitli karbonhidratları fermente ederek laktik ve asetik asit gibi organik asitleri üretmektedir. Bu bileşikler yalnızca mikrobiyal dengeyi sağlamakla kalmamakta, aynı zamanda proteinlerin ve diğer kompleks bileşiklerin parçalanmasını kolaylaştırarak ürünün lezzet ve yapısal özelliklerini geliştirmektedir (Zhang vd., 2011; Boyacı-Gündüz ve Erten, 2020; De Vuyst vd., 2023).

Ekşi maya mikrobiyotasında mayalar genellikle LAB'ye kıyasla daha az çeşitlilik göstermektedir ve çoğunlukla bir ya da iki türün baskın olduğu bir yapı gözlenmektedir. Sıklıkla izole edilen maya türleri arasında *Saccharomyces cerevisiae*, *Kazachstania humilis*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Pichia kudriavzevii*, *Candida glabrata* ve *Candida milleri* (diğer adıyla *Kazachstania exigua*) bulunmaktadır. Bu mayalar, fermantasyon sırasında karbonhidratları alkol fermantasyonu yoluyla metabolize ederek etanol ve karbondioksit üretmektedir. Karbondioksit hamurun kabarmasını sağlarken, etanol ve diğer uçucu bileşikler aroma ve lezzet oluşumuna katkı sağlamaktadır (Van Kerrebroeck vd., 2017; Martín-Garcia vd., 2023; Aydın, 2023; De Vuyst vd., 2023).

LAB ve mayalar arasındaki karşılıklı etkileşimler, fermantasyon sürecinin dengeli ilerlemesini destekleyen önemli bir faktördür. Mayaların ortamda ürettiği amino asitler ve vitaminler, LAB'nin gelişimini desteklerken; LAB tarafından üretilen ara metabolitler, mayaların gelişimini desteklemektedir. Özellikle bazı LAB türlerinin maltozu parçalayarak serbest glukozla dönüştürmesi, maltozdan yararlanamayan maya türlerinin bu şekeri kullanabilmesine olanak sağlamakta ve mikrobiyal çeşitliliğin korunmasına katkıda bulunmaktadır. Ek olarak, bazı LAB türlerinin karbon kaynağı olarak fruktozu kullanmaları, maya faaliyetleri sonucu salınan fruktozun alternatif bir elektron alıcısı olarak değerlendirilmesini

sağlamaktadır. Bu süreçte mannitol ve asetik asit gibi metabolitlerin üretimi de gerçekleşmektedir; bu bileşikler hem fermantasyonun enerji verimliliğini artırmakta hem de son ürünün tat, doku ve raf ömrü gibi özelliklerini iyileştirmektedir. Bu tür karşılıklı ilişkiler, özellikle sürekli beslemeli sistemlerde uygulanan Tip I/II ekşi maya fermentasyonlarında daha belirgin şekilde gözlenmektedir (De Vuyst vd., 2023).

Sonuç olarak, ekşi mayadaki LAB ve maya türlerinin mikrobiyal faaliyetleri; fermantasyon sürecinin kontrolü, ürün kalitesinin sürdürülebilirliği ve istenen duyusal özelliklerin elde edilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Ortam koşullarına duyarlı bu mikroorganizmaların birlikte gelişmesi, doğal bir denge ve sinerji oluşturarak geleneksel fermente ürünlerin karakteristik yapısının oluşmasına katkı sağlamaktadır (Aydın, 2023).

Ekşi mayanın sahip olduğu mikrobiyal çeşitlilik ve bu çeşitliliğin çevresel koşullara duyarlılığı, kontrollü üretimde dikkat edilmesi gereken temel unsurlardandır. Mikroorganizmalar arası etkileşimler ile bu etkileşimlerin gıda matrisine yansıyan etkileri, ekşi hamurun hem teknolojik fonksiyonelliğini hem de duyusal kalitesini doğrudan etkilemektedir. Bu bağlamda, ekşi maya mikrobiyotasının ayrıntılı bir şekilde karakterize edilmesi ve fermantasyon parametrelerinin optimize edilmesi; geleneksel bilgi birikiminin modern üretim teknikleriyle bütünleştirilmesine olanak sağlamaktadır. Ekşi maya ekosisteminde yer alan bu mikroorganizmalardan biri olan mayalar, fermantasyon sürecinde üstlendikleri çeşitli rollerle öne çıkmaktadır.

1.1.3.1 Ekşi Maya Mikrobiyotasında Mayaların Rolü

Ekşi maya mikrobiyotasında yer alan mayalar, ekşi maya fermantasyonunda önemli mikroorganizma gruplarından biri olarak rol almaktadır. Özellikle hamurun kabarmasında, ekşi maya ile üretilen ekmeğin hacim kazanmasında, aroma bileşiklerinin oluşumunda ve ürünün duyusal kalite unsurlarının oluşmasında görev alan mikroorganizmalar olarak bilinmektedir (Xu vd., 2019, Aydın, 2023).

Ekşi maya mikrobiyotasından en sık izole edilen maya türlerinden biri *S. cerevisiae* türüdür. Bu tür, karbonhidratları hızla fermente ederek yüksek miktarda karbondioksit üretmekte, böylece hamurun kabarmasında temel unsur olmaktadır. Bununla birlikte, ekşi maya mikrobiyotasında baskın olan maya türleri yalnızca *S.*

cerevisiae ile sınırlı değildir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, ekşi mayaların sanılanın aksine oldukça zengin bir maya çeşitliliğine sahip olduğunu ve bu çeşitliliğin, ekosistemdeki maya-bakteri etkileşimleriyle şekillendiğini ve zamanla farklılaştığını ortaya koymaktadır. Genellikle her bir ekşi mayadan yapılan izolasyonlarda baskın olarak tek bir maya türünün öne çıktığı gözlemlense de farklı ekşi maya örneklerinden izole edilen mayaların tür düzeyinde farklılıklar gösterebildiği ortaya konmuştur. Bu durum, ekşi mayanın içerdiği maya popülasyonlarının çeşitliliğinin ekşi mayada kullanılan un tipi, coğrafi kökeni, fermantasyon koşulları ve içerdiği bakteri popülasyonu gibi çeşitli çevresel ve mikrobiyal faktörlere bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Dolayısıyla, ekşi mayalardaki mayaların oluşturduğu mikrobiyota sabit değil aksine, dinamik bir yapıdadır ve her bir ekşi maya sistemi, kendine özgü bir mikrobiyal dengeyi yansıtmaktadır (Arena vd., 2019; Urien vd., 2019; Chiva vd., 2020).

Ekşi maya mikrobiyotasında yer alan diğer önemli maya türleri arasında *Kazachstania humilis*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Pichia kudriavzevii*, *Candida milleri* ve *Kluyveromyces marxianus* gibi türler sayılabilmektedir. Bu maya türleri, düşük pH ile oluşan yüksek asidite, tuz ve etanol gibi stres koşullarına karşı dayanıklılık göstermekte; bu durum onları uzun süreli ve çok aşamalı fermantasyon süreçleri için uygun hale getirmektedir. Ayrıca bu türlerin bazıları, ekşi mayada sadece gaz üretimiyle sınırlı kalmayıp çeşitli aromatik bileşikler, organik asitler ve enzimatik ürünler sentezleyerek ürünün kalitesinin artırılmasında ve ürüne fonksiyonel özellikler kazandırılmasında rol almaktadır. Ayrıca, ekşi mayadaki bazı maya türlerinin proteolitik, lipolitik ve fitaz aktiviteler göstermesi, un matrisindeki kompleks halde bulunan ve sindirimi nispeten zor olan moleküllerin daha basit, sindirilebilir ve biyoyararlanımları yüksek formlara dönüşmesine katkı sağlamaktadır. Bu özellikleri sayesinde mayalar sadece ürünün besin değerini artırmakla kalmamakta, prebiyotik ve postbiyotik potansiyel taşıyan metabolitlerin üretilmesine de zemin hazırlamaktadır (Arıcı vd., 2018; Chiva vd., 2020; Pérez-Alvarado vd., 2022).

Sonuç olarak, mayalar ekşi maya mikrobiyotasının yalnızca gaz üretimi ile hamurun kabarmasına katkı sağlayan üyeleri olarak faaliyet göstermemekte; aynı zamanda ürünün duyusal, teknolojik ve besinsel özelliklerinin şekillenmesinde rol almaktadır. Ekşi maya içerisindeki maya çeşitliliğinin doğru bir şekilde karakterize edilmesi, özellikle kontrollü üretim sistemlerinde (multifonksiyonel starter

kültürler ile oluşturulan ekşi mayalarda) tutarlı ve kaliteli ürün elde edilebilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu nedenle hem fenotipik hem de genotipik yöntemlerle maya türlerinin belirlenmesi, ekşi maya teknolojisinin bilimsel temellerinin oluşturulmasına katkı sağlamaktadır. Mayalar kadar önemli bir diğer mikroorganizma grubu olan LAB, ekşi maya fermentasyonunun hem mikrobiyal dengesinde hem de fonksiyonel özelliklerinde belirleyici rol oynamaktadır (Hernández-Parada vd., 2023).

1.1.3.2 Ekşi Maya Mikrobiyotasında LAB'nin Rolü

LAB, fermentasyon teknolojisinde temel rol oynayan mikroorganizmalardır ve gıda üretimi, özellikle ekşi hamur ekmeği, yoğurt, peynir, fermente içecekler ve diğer fermente gıdaların üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. LAB, bu ürünlerin kalitesini artırmada ve istenmeyen mikroorganizmaların kontrolünde büyük öneme sahiptir. Fermentasyon sürecinde, LAB karbonhidratları fermente ederek laktik asit üretmekte, bu sayede ürünlerin pH değerini düşürücü etkisi ile oluşan asidik ortam patojenlerin gelişimini inhibe etmektedir. Bu özellikleri, LAB'yi gıda güvenliğinin sağlanmasında oldukça önemli hale getirmektedir (Corsetti vd., 2007; Zapašnik vd., 2022; Hernández-Parada vd., 2023). LAB'nin üretim süreçlerinde kullanılması sadece mikrobiyal güvenliği sağlamakla kalmamaktadır, aynı zamanda ürünün duyuusal özelliklerini de geliştirmektedir. LAB, gıdaların aroma bileşenlerinin üretimine katkıda bulunarak, fermentasyon ile elde edilen ürünlerin lezzetlerinin zenginleşmesini sağlamaktadır. Örneğin, ekşi hamur ekmeği üretiminde LAB türleri, asetik ve laktik asit gibi organik asitlerin üretimiyle hem ekmeğin asiditesini artırmakta hem de karakteristik ekşi tadını oluşturmaktadır. Bununla birlikte, LAB tarafından üretilen EPS gibi bileşikler, ürünün tekstürünü iyileştirmekte, nem tutma kapasitesini artırmakta ve raf ömrünün uzamasını sağlamaktadır. Bu özellikleri, LAB'yi gıda endüstrisinde hem lezzet hem de fonksiyonel gıda bileşenlerinin üretimi açısından önemli kılmaktadır (Bartkiene vd., 2020; Sadeghi vd., 2023).

Bunun yanı sıra, LAB'nin fermentasyon sürecinde ürettiği bazı metabolitler, ürünün raf ömrünü uzatmaya ve oksidatif stresin etkilerini azaltmaya yardımcı olan bileşiklerdir. Örneğin, LAB tarafından üretilen ve antioksidan özellik gösteren peptitler ve fenolik bileşikler, gıda ürünlerinin oksidatif bozulmasını engelleyerek daha uzun süre taze kalmalarını sağlamaktadır. Ayrıca, bu metabolitler insan

sağlığını koruyarak, kanser gibi çağımızın büyük sorunlarının başında gelen hastalıkların önlenmesine de katkıda bulunmaktadır (Reis vd., 2012; Wang vd., 2021).

LAB ayrıca prebiyotik ve probiyotik özelliklere sahip olan bileşenler üreterek insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler oluşturmaktadır. Prebiyotik özellik gösteren bileşikler, bağırsak mikrobiyotasının dengelenmesine yardımcı olurken, probiyotik özellik taşıyan bazı LAB türleri sindirim sistemine doğrudan fayda sağlamaktadır. Bu nedenle, LAB'nin kullanımı sadece endüstriyel gıda üretiminde değil, aynı zamanda insan sağlığını destekleyen gıda ürünlerinin tasarımında da büyük öneme sahiptir. Özellikle, bağırsak sağlığını iyileştiren ve bağışıklık sistemini güçlendiren fonksiyonel gıda ürünlerinin üretiminde LAB'nin kullanımı gittikçe yaygınlaşmaktadır (Bernal-Castro vd., 2024; Joshi vd., 2024). LAB'nin genel gıda teknolojisindeki öneminin yanı sıra, özellikle tahıl bazlı fermente ürünlerdeki uygulamaları da giderek daha fazla önem kazanmaktadır.

Tahıl bazlı fermente ürünlerin üretimi, günümüzde beslenme ve sağlık üzerinde olumlu etkiler yaratma potansiyeli taşıyan önemli bir gıda teknolojisi haline gelmiştir. Özellikle ekşi maya kullanılarak yapılan fermantasyon, bu ürünlere probiyotik özellik kazandırmak ve besin değerlerini artırmak için yaygın olarak tercih edilmektedir (Xiong vd., 2022).

Tahıl bazlı ekşi maya fermantasyonunun bir diğer önemli avantajı ise probiyotik mikroorganizmaların üründe aktivitesini sürdürmesidir. Probiyotikler, bağırsak sağlığını destekleyerek sindirim sistemini düzenlemekte, bağışıklık sistemini güçlendirmekte ve bazı hastalıkların önlenmesinde rol oynamaktadır. Ekşi maya ile yapılan fermantasyon, özellikle tahılların içeriğinde bulunan prebiyotik bileşenlerin daha etkili bir şekilde kullanılmasını sağlamaktadır. Fermantasyon sırasında bazı tahıllarda bulunan fitik asit gibi bileşikler, LAB ve mayalar tarafından parçalanarak biyoyararlılığı artırılmaktadır. Bunun yanı sıra, LAB ve mayaların aktiviteleri, tahılın içerdiği potansiyel alerjenleri de azaltmakta, böylece ürünün besin değeri ve sindirilebilirliği artmaktadır (Subaşı ve Ercan, 2023).

Ekşi maya fermantasyonu, tahıl bazlı ürünlerin lezzet profilini de geliştirmektedir. Fermantasyon süreci, uçucu bileşenlerin oluşumunu teşvik ederek ürünün aromatik özelliklerini zenginleştirmektedir. Ayrıca, ekşi mayada bulunan LAB ve diğer mikroorganizmalar, antioksidan özellikler göstererek, ürünün sağlıklı

özelliklerini pekiştirmektedir. Dolayısıyla, ekşi maya kullanarak üretilen tahıl bazlı fermente gıdalar, sadece sindirimi kolaylaştıran ve besin içeriğini artıran birer probiyotik kaynağı değil, aynı zamanda lezzetli ve fonksiyonel gıda alternatifleri olarak da kabul edilebilmektedir (Xiong vd., 2022). Tablo 1.1’de farklı ülkelerden temin edilen ekşi mayalardan izole edilen LAB ve maya türleri verilmiştir.

Tablo 1.1. Farklı ülkelerden elde edilen ekşi mayalardan izole edilen LAB ve maya türleri

Ülke	LAB türleri	Maya türleri	Kaynak
Türkiye	<i>L. sanfranciscensis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>P. pentosaceus</i> ,	<i>S. cerevisiae</i> , <i>Pichia guilermundii</i> , <i>T. delbrueckii</i>	Yağmur vd. (2016)
	-	<i>S. cerevisiae</i> , <i>K. bulderi</i> , <i>P. fermentans</i> , <i>P. membranifaciens</i> , <i>K. servazzii</i> , <i>K. unispora</i> ,	Boyacı-Gündüz ve Erten (2020)
	<i>L. brevis</i> , <i>L. divergens</i> , <i>L. sake</i> , <i>P. pentosaceus</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>S. delbrueckii</i> , <i>Torulopsis holmii</i> , <i>T. unisporus</i>	Gül vd. (2005)
	<i>L. plantarum</i> , <i>L. paraplantarum</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. sanfranciscensis</i> , <i>Leu. mesenteroides</i> <i>Weissella cibaria</i>	-	Dertli vd. (2016)
İtalya	<i>P. pentosaceus</i> , <i>Weissella</i> spp., <i>L. brevis</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>W. anomalus</i> , <i>P. fermentans</i>	Korcari vd. (2020)
	-	<i>S. cerevisiae</i> , <i>C. humilis</i>	Perricone vd. (2014)
	<i>L. sanfranciscensis</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>C. milleri</i>	Palla vd. (2020)
	<i>L. sanfranciscensis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>Leu. Citreum</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>C. humilis</i>	Lattanzi vd. (2013)
Fransa	<i>L. sanfranciscensis</i> , <i>L. parabrevis</i> , <i>L. plantarum</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>K. servazzii</i>	Lhomme vd. (2015)
Çin Halk Cumhuriyeti	<i>L. plantarum</i> , <i>Leu. citreum</i> , <i>Weissella cibaria</i> ,	<i>S. cerevisiae</i> , <i>C. humilis</i> , <i>T. delbrueckii</i>	Zhang vd. (2011)
Yunanistan	<i>L. plantarum</i> , <i>L. sanfranciscensis</i> , <i>P. pentosaceus</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>T. delbrueckii</i>	Paramithiotis vd. (2010)

Sonuç olarak LAB, fermantasyon teknolojisinin vazgeçilmez bileşenleri olup, gıda güvenliği, duyuşal özellikler, ürün stabilitesi ve sağık üzerindeki olumlu etkileri ile büyük bir öneme sahiptir. Gıda endüstrisindeki gelişmelerle birlikte LAB'nin biyoteknolojik uygulamaları ve sağık destekleyici özellikleri giderek daha fazla araştırılmakta ve kullanılmaktadır.

1.2 Moleküler Yöntemler

1.2.1 Moleküler Tanımlama Yöntemleri

Mikroorganizmaların tanımlanması çevre, gıda ve tıp mikrobiyolojisinin vazgeçilmez ögesidir ve mikrobiyal çeşitliliğin, ekosistem ilişkilerinin ve insan sağılığının korunmasında önemli işleve sahiptir (Kişek vd., 2024).

Kültüre dayalı mikroorganizma tanımlanması kültüre edilebilir mikroorganizmaların tanımlanmasında tercih edilen ilk tanımlama yöntemlerindendir. Bu yöntemde ilk olarak izole edilmek istenilen mikroorganizmanın gelişimini destekleyen bir besiyeri ortamı kullanılarak mikroorganizmanın izolasyonu ve daha sonra saf kültür elde edilmesi adımları takip edilmektedir. Teknikte yer alan bu adımlar daha sonra gerçekleştirilecek mikrobiyolojik çalışmalar içinde mikroorganizmaların stoğa alınmasına olanak sağlamaktadır. Kültüre dayalı mikroorganizma tanımlanmasında en önemli dezavantaj mikrobiyal ekosistemde yer alan mikroorganizmaların sadece %2'lik bir kısmının laboratuvar ortamında kültüre edilebilmesidir. Bu nedenle tanımlanmak istenilen mikrobiyotanın tam olarak anlaşılması yani içerdığı tüm mikroorganizmaların eksiksiz bir şekilde tanımlanması mümkün olmamaktadır (Păcularu-Burada vd., 2021; Aktepe ve Çakır, 2023; Skotniczny vd., 2023; Kişek vd., 2024).

Kültüre bağılı yöntemler ile tanımlamada geleneksel yöntemler fenotipik testlere dayanmaktadır. Bu testler koloni morfolojisinin belirlenmesi, Gram boyama, hareketlilik testi, katalaz ve/veya oksidaz reaksiyonu, glikozun oksidasyonu/fermantasyonu veya çeşitli biyokimyasal testleri içermektedir. Ayrıca fenotipik testlerin yer aldığı hızlı tanı kitleri de kullanılabilmektedir. Bunlara örnek olarak API (bioMérieux, Craponne, Fransa) tanımlama kitleri verilebilir. Ancak bu yöntemlerin doğruluğunun düşük olması ve analiz sürelerinin uzun olması

yöntemin en büyük dezavantajlarını oluşturmaktadır (Franco-Duarte vd., 2019; Ramos vd., 2021; Abdelsalam vd., 2023).

Özellikle 2000’li yılların başında kullanılmaya başlayan BIOLOG (California, ABD), TEMPO EB (bioMérieux, Craponne, Fransa) ve VIDAS (bioMérieux, Craponne, Fransa) gibi hızlı tanımlama sistemleri fenotipik yöntemlere göre daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlasa da kesin tür tanısında çok başarılı sonuçlar vermemektedir. Bu nedenle günümüzde moleküler genotipik yöntemler tercih edilmektedir.

Teknolojik gelişmeler ışığında son yirmi yılda çok sayıda DNA/RNA tabanlı genotipik tanımlama yöntemi geliştirilmiştir. Birçok genotipik yöntemin prensibi PZR ilkesine dayanmaktadır. Genotipik yöntemlerin en önemli adımı DNA izolasyonudur. PZR tekniği kontrollü koşullar altında oligonükleotidlerin kullanımı ile hedef mikroorganizmaya ait DNA parçasının çoğaltılması ilkesine dayanmaktadır (Amor vd., 2007; Temmerman vd., 2004; Váradi vd., 2017). PZR reaksiyonu için hedef DNA parçasının yanı sıra, hedef bölgeyle eşleşebilecek primer çifti, primerler hedefe bağlandıktan sonra DNA zincirinin uzaması için oligonükleotidler (dNTPs), *Taq* polimeraz enzimi, Mg iyonlarını da içeren tampon çözeltisinin olması zorunludur. Reaksiyon için zorunlu olan unsurlardan herhangi birinin eksikliği veya kimyasal kirlilik reaksiyonda hatalara sebep olmaktadır. PZR reaksiyonu *in vitro* koşullara altında şu şekilde gerçekleşmektedir: Yüksek sıcaklıkta (95°C) denatüre olan DNA molekülünün çift sarmal yapısı ayrılır daha sonra uygun primer bağlanma sıcaklığında (45-65°C) DNA zincirine bağlanır ve uzama aşamasında (72°C) Mg iyonları, dNTP molekülleri ve *Taq* polimeraz enzimi varlığında DNA zinciri tamamlanır. PZR reaksiyonları genel olarak 25-45 döngü arasında gerçekleşir. Döngü sayısı istenilen amplikonların boyutuna göre değişmektedir. PZR reaksiyonu sırasında veya hazırlık aşamasında oluşan kirlilik nedeniyle bantlar oluşmayabilir veya bantlar silik şekilde görüntülenebilir. Suş düzeyinde tanımlamada başarılı sonuçlar elde edilse de genotipik yöntemlerin dezavantajları olabilmektedir. Maliyet, gelişmiş ekipman ve deneyimli personel ihtiyacı, veri tabanları kullanımı bu dezavantajlara örnek olarak verilebilir (Abdelsalam vd., 2023).

Mikroorganizmaların moleküler tanımlanmasında genellikle rDNA’nın (ribozomal DNA) korunan bir bölgesi hedef alınır. Bu bölge bakteri tanımlamaları için 16S rDNA veya 16S-23S arasında yer alan bölge iken, maya ve küflerin

tanımlanması için ITS ile 26S rDNA bölgesi hedef alınmaktadır. 16S rRNA geni, ribozomal RNA'nın küçük alt biriminde yer almakta olup yaklaşık 1500 baz çifti uzunluğundadır ve hem korunmuş hem de değişken bölgeler içermektedir. Bu özellik, genin hem geniş filogenetik grupların hem de tür düzeyindeki taksonomik ayrımların yapılmasına olanak tanımasını sağlamaktadır. Hedef alınan bölgenin PZR ile çoğaltılması sonrasında sekanslama aşaması yer almaktadır. Sekans sonucunda elde edilen veriler (baz dizilimleri) National Center for Biotechnology Information (NCBI) sisteminde var olan tüm sekans sonuçları ile kıyaslama yapılarak suş düzeyinde tanımlama yapılmasına imkân sağlamaktadır (Clarridge, 2004).

1.2.2 Moleküler Karakterizasyon Yöntemleri

Gıda mikrobiyolojisi alanında, mikroorganizmaların tanımlanması ve genetik çeşitliliğinin analizinde moleküler markör yöntemleri etkili araçlar olarak öne çıkmaktadır. Bu yöntemler; geleneksel, fenotipik özelliklere dayalı analiz tekniklerine kıyasla daha kısa sürede sonuç vermeleri, yüksek duyarlılık sunmaları ve güvenilirliklerinin yüksek olması nedeniyle günümüzde daha sıklıkla tercih edilmektedir. Bu tekniklerin tümü PZR temelli yöntemlerdir. Özellikle bakterilerin genetik karakterizasyonunda öne çıkan yöntemler arasında Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) ve Start Codon Targeted (SCOT) yer almaktadır (Aydın ve Çakır, 2023). Bu yöntemler, gıda mikrobiyolojisinde türler arası ve tür içi genetik farklılıkların analizinde önemli rol oynamaktadır. Her bir yöntemin çeşitli avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Örneğin, bazı yöntemler hızlı ve düşük maliyetli olmasıyla öne çıkarken, bazıları daha yüksek tekrarlanabilirlik veya ayırt edicilik sağlamaktadır. Bu nedenle, moleküler karakterizasyon çalışmaları genellikle birden fazla yöntemin birlikte kullanıldığı yöntemler öne çıkmaktadır.

Bu yöntemler sayesinde aynı genotipik yapıya sahip suşlar elenerek teknolojik özellikleri belirlenecek suş sayısı ciddi oranda azaltılmaktadır. Böylece iş gücü, zaman ve maliyetten çok ciddi tasarruf edilebilmektedir. Ayrıca, farklı genotipik özelliğe sahip suşların ilişkili olduğu teknolojik özellikleri arasında korelasyonun bulunması durumunda istenilen teknolojik özelliğe sahip suşun klasik PZR ile direkt olarak belirlenebilmesi mümkündür (Aydın vd., 2023).

1.2.2.1 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

RFLP-PZR, mikroorganizmaların genetik çeşitliliğini analiz etmek amacıyla kullanılan ve restriksiyon endonükleaz enzimleri aracılığıyla DNA dizilerinin özgül bölgelerden kesilmesi esasına dayanan bir moleküler tekniktir. Bu yöntemde, elde edilen DNA örnekleri, belirli nükleotid sekanslarını tanıyan restriksiyon enzimleri ile kesildiğinde, enzimlerin kesim yerlerine bağlı olarak, farklı mikroorganizma türleri hatta bazı durumlarda aynı tür içindeki farklı suşlar (polimorfizm) kendilerine özgü uzunluklarda DNA parçacıkları oluşturmaktadır. Ortaya çıkan bu parçacıkların desenleri, organizmaların “DNA parmak izi” olarak nitelendirilmekte ve jel elektroforez yöntemiyle elde edilen bant desenleri karşılaştırılmaktadır (Mancini vd., 2012).

Kullanılan restriksiyon endonükleazlar genel olarak Tip I, Tip II ve Tip III olmak üzere üç sınıfa ayrılmaktadır. Moleküler mikrobiyolojide özellikle Tip II enzimler tercih edilmektedir çünkü bu enzimler, hedef DNA dizisini tanıyarak spesifik ve tekrarlanabilir bir biçimde doğrudan bu bölgeden kesim yapmaktadırlar. Buna karşılık, Tip I ve Tip III enzimler hedef bölgeden uzakta veya rastgele noktalarda kesim gerçekleştirerek analizlerin tutarlılığını zorlaştırabilmektedir. Ayrıca, her bir enzimin etkinliği, pH, sıcaklık ve iyonik güç gibi çevresel koşullara duyarlı olduğundan; çalışma koşullarının özenle optimize edilmesi gerekmektedir (Mohania vd., 2008; Sharma vd., 2020).

RFLP, özellikle genotipik olarak birbirinden uzak türler arasında genetik düzeyde farklılıkların ayırt edilmesinde etkili bir araç olmasına rağmen, yakın türlerin ve farklı suşların karakterizasyonunda genellikle sınırlı bir çözünürlük sunmaktadır. Bu nedenle, suş düzeyinde ayırım yapılması gereken çalışmalarda, RFLP'nin daha yüksek ayırt edici güce sahip yöntemlerle desteklenmesi önerilmektedir (Mancini vd., 2012).

Şaraptan izole edilen 340 LAB türü RFLP-PZR yöntemi ile suş düzeyinde genetik farklılıkları ortaya konmuştur (Mohania vd., 2008). Bir başka çalışmada da şaraptan izole edilen LAB suşları arasındaki genetik farklılığın ortaya koyulmasında da RFLP-PZR tekniği başarılı bir şekilde uygulanmıştır (Sato vd., 2000). Fermente kısırak sütündeki bakteriyel çeşitliliğinin ortaya konması için RFLP-PZR yöntemi uygulandığı bir başka çalışmada 41 izolat 10 farklı gruba ayrılmıştır. Gruplardan 4'ü *Lactobacillus*, 3'ü *Staphylococcus* diğer 3 grup ise *Ochrobactrum* cinsi olarak tanımlanmıştır (Mulyawati vd., 2019).

1.2.2.2 RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) PZR

RAPD-PZR yöntemi, genetik çeşitliliğin analizinde yaygın olarak kullanılan, kısa (genellikle 10 nükleotit) uzunluğundaki tek bir rastgele primerin, hedef DNA üzerinde bağlanabileceği bölgeleri çoğaltması esasına dayanan bir tekniktir. RFLP'ye alternatif olarak geliştirilen bu yöntem, türler arası farklılıkların yanı sıra, aynı tür içerisindeki suşlara özgü genetik varyasyonları da ortaya koyabilmesi nedeniyle tercih edilmektedir (Welsh ve McClelland, 1990; Sharma vd., 2020). RAPD-PZR, özellikle düşük maliyeti, kısa sürede sonuç verme potansiyeli ve çok az DNA miktarı ile analiz yapılabilmesi gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca, herhangi bir DNA dizi bilgisi gerektirmemesi, bu yöntemi geniş örnek gruplarında genetik benzerlik analizleri yapmak için pratik bir araç haline getirmektedir. Ancak yöntemin bazı sınırlılıkları da bulunmaktadır. En belirgin sınırlılığı, düşük tekrarlanabilirliğidir; çünkü primerlerin bağlanma bölgeleri rastgele olduğundan, PZR koşullarındaki küçük değişiklikler bile farklı amplifikasyon desenlerine neden olabilmektedir. Ayrıca, RAPD-PZR yalnızca baskın markörler üretir; bu da heterozigotluk gibi önemli genetik bilgilerin kaybına neden olabilmektedir. PZR koşullarının hassasiyeti, yani kullanılan primerin seçimi, bağlanma sıcaklığı, Mg^{2+} konsantrasyonu ve DNA kalitesi gibi etkenler, yöntemin güvenilirliğini doğrudan etkilemektedir. Tüm bu yönleriyle RAPD-PZR, özellikle suş düzeyinde çeşitliliğin belirlenmesi açısından etkili olmakla birlikte, elde edilen verilerin doğrulanması için diğer moleküler tekniklerle desteklenmesi önerilmektedir (Çetinkaya ve Ayhan, 2012; Aksu vd., 2012; Toprak vd., 2023).

RAPD-PZR tekniği, LAB genetik çeşitliliğini incelemede etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır ve özellikle suşlar arasındaki genetik farklılıkları belirlemede başarılı sonuçlar vermektedir. Bu yöntem, mikroorganizma çeşitliliğini tespit etmek için özellikle şarap ve geleneksel gıda fermantasyonları gibi süreçlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ruiz vd. (2008), Cencibel şaraplarında gerçekleşen malolaktik fermantasyon sırasında mikrobiyotada var olan LAB'lerin genetik farklılıklarını RAPD-PZR yöntemiyle başarılı bir şekilde tespit etmişlerdir. Benzer şekilde, Oguntoyinbo ve Narbad (2012), geleneksel Afrika fermente gıdalarından izole edilen LAB'nin genetik çeşitliliğini belirlerken aynı tekniği kullanmışlardır. Ayrıca, RAPD-PZR yöntemi yalnızca bakteriler için değil, fermantasyon teknolojisinde önemli işlevleri bulunan maya türlerinin genetik çeşitliliğini ortaya koymada da etkili bir şekilde uygulanabilmektedir; örneğin, Pu vd. (2021) ve

García-Béjar vd. (2023) çalışmalarında fermantasyon sırasında ortamda bulunan *Saccharomyces* ve non-*Saccharomyces* maya türlerinin genetik farklılıkları RAPD-PZR ile incelenmiştir. Nisiotou vd. (2022) ise şarap fermantasyonundaki *Saccharomyces* ve non-*Saccharomyces* maya türleri arasındaki farkları bu yöntemle tespit etmişlerdir. Bu çalışmalar, RAPD-PZR'nin sadece LAB'nin genetik çeşitliliğini incelemekle kalmayıp, aynı zamanda fermantasyon süreçlerindeki mikroorganizmaların genetik profillerini anlamada da güçlü bir araç olduğunu göstermektedir.

RAPD-PZR, ekşi mayalı ekmek üretiminde kullanılan LAB ve mayaların genetik çeşitliliğini belirlemede etkili bir moleküler yöntemdir. Ekşi mayanın fermantasyon sürecinde farklı mikroorganizmaların etkileşimi rol oynadığı için, bu mikroorganizmaların genetik yapılarının analiz edilmesi ekmek kalitesini anlamada önemlidir. Yöntem, farklı coğrafyalardan izole edilen suşların genetik profilini karşılaştırarak bölgesel etkileri ortaya koymakta ve hangi suşların daha etkin olduğunu belirlemeye yardımcı olmaktadır (Perricone vd., 2014). Örneğin, ekşi maya içerisinde yer alan maya ve LAB suşlarının genetik profilini inceleyerek, bu suşların ekşi mayalı ekmek üretimindeki rollerini belirlenebilmektedir. Bu tür moleküler karakterizasyon çalışmaları, ekşi mayalı ekmek üretiminde daha verimli starter kültürlerin seçilmesine olanak tanımaktadır ve ekşi mayalı ekmeklerin kalitesini artırmaya yönelik stratejilerin geliştirilmesinde faydalıdır.

Meroth vd. (2003), dört farklı ticari ekşi mayaya çeşitli LAB kültürleri inoküle ederek oluşturdukları ekşi mayaların düzenli olarak pasajlanması sonrasında, baskın LAB türleri arasındaki genetik çeşitliliğin ortaya çıkarılması amacıyla RAPD-PZR tekniğinden yararlanmışlardır. Çalışmanın bulguları, RAPD-PZR yönteminin ekşi maya kaynaklı LAB türleri arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesinde etkili bir moleküler araç olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Urshev vd. (2024), farklı un çeşitleri ile (Horosan buğdayı, buğday, arpa, karabuğday, kavuzlu buğday, siyez ve mısır) hazırlanan ekşi mayalardan izole ettikleri LAB türlerinin çeşitliliğini incelemek amacıyla fenotipik ve genotipik yöntemlerden yararlanmışlardır. Genotipik çeşitliliğin belirlenmesinde RAPD-PZR tekniğinin kullanıldığı çalışmada, izole edilen LAB suşları dokuz farklı genetik gruba ayrılmıştır. Çalışma bulguları, fenotipik yöntemlerle karşılaştırıldığında RAPD-PZR tekniğinin LAB suşları arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesinde daha yüksek ayırt ediciliğe sahip olduğunu ortaya koymuştur.

İspirli ve Dertli (2022), geleneksel ekşi hamur örneklerinden izole ettikleri LAB'ni genetik olarak tanımlamış ve bu izolatların fonksiyonel özelliklerini değerlendirmiştir. Çalışmada, toplamda 100 adet LAB izolatu elde edilerek, RAPD-PZR yöntemi ile genotipik ayrımları yapılmış ve tür düzeyinde tanımlamaları gerçekleştirilmiştir. Tanımlanan suşlar arasında *Limosilactobacillus fermentum* LR1, *Lactocaseibacillus rhamnosus* LR2, *Levilactobacillus senmaizukei* CE37, *Lactiplantibacillus plantarum* CE48 ve *Limosilactobacillus reuteri* KD44A yer almaktadır. Bu çalışmalar, RAPD-PZR'nin ekşi maya üretimindeki LAB çeşitliliğini ve genetik profilleri belirlemede ne kadar etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır.

1.2.2.3 ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) Markörleri

ISSR markörleri, tekrarlayan oligonükleotid dizilerinin arasındaki bölgeleri hedef almaktadır. RAPD-PZR'den farklı olarak, primerlerin rastgele değil, belirlenen hedef bölgelerine bağlandığı, primer uzunluğunun daha uzun olduğu ve daha yüksek bağlanma sıcaklıklarında çalıştığı için tekrarlanabilirlik ve doğruluk açısından daha yüksek bir güvenilirlik sunmaktadır. Ayrıca, ISSR tekniği, dizi bilgisi gerektirmeden uygulandığı için kullanım kolaylığı sağlamaktadır (Dağ vd., 2023; Poyraz vd., 2024). ISSR markörleri, bakteriler, mayalar ve bitkiler gibi birçok canlı grubunun genetik çeşitliliğini analiz etmek için yaygın olarak tercih edilmektedir. Bu yöntem, özellikle ekşi mayada yer alan mikroorganizmaların genetik profilini belirlemede ve suşlar arasındaki farklılıkları tespit etmede etkili bir araçtır. Bu nedenle, ISSR, gıda mikrobiyolojisinde özellikle mikroorganizma çeşitliliğini belirlemek için sıkça kullanılan bir teknik haline gelmiştir (Khodae vd., 2021; Aydın vd., 2023; Kamali vd., 2023; Manna vd., 2024).

Aydın vd. (2023), Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinden elde ettikleri ekşi mayalardan izole ettikleri 96 *S. cerevisiae* suşunun genetik çeşitliliğini belirlemek amacıyla ISSR markörleri kullanarak kapsamlı bir moleküler analiz gerçekleştirmiştir. Bu amaçla kullanılan sekiz farklı ISSR primeri, suşlar arasında yüksek düzeyde polimorfizm göstermiş ve genetik çeşitliliğin ortaya konmasında etkili olmuştur. Çalışma bulguları, Türkiye'deki ekşi maya kaynaklı *S. cerevisiae* suşlarının önemli ölçüde genetik varyasyon taşıdığını göstermiştir. Ayrıca, ISSR markörlerinin bu tür çalışmalarda etkili bir genetik karakterizasyon aracı olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır. Bu çalışma, ISSR markörlerinin geleneksel

fermente ürünlerden izole edilen maya suşlarının genetik yapılarının belirlenmesinde kullanılmasına yönelik literatüre önemli bir katkı sunmaktadır. Iosca vd. (2020), Panettone üretimi için iki farklı ekşi maya örneğini bir fırından temin etmiş, ekşi mayada bulunan mayalar ile bakterileri fermantasyonun farklı zamanlarında izole etmiştir. Toplamda 120 izolat elde edilmiş ve bu izolatlar, öncelikle geleneksel mikrobiyolojik yöntemlerle karakterize edilmiştir. Ardından, kültürlerden genomik DNA çıkarılmış ve izolatlar arasındaki genetik çeşitliliği azaltmak amacıyla (GTG)₅-PZR parmak izi analizi gerçekleştirilmiştir.

Fatemifard vd. (2024) 24 farklı buğday çeşidinin bakteriyel yanıklık hastalığına direncinin ortaya konması için ISSR yöntemi ile çalışmışlardır. ISSR yöntemi hastalığa duyarlı ve dirençli buğday çeşitlerinin ortaya çıkarılmasını sağlamıştır.

1.2.2.4 SCOT (Start Codon Targeted) Yöntemi

SCOT yöntemi, diğer moleküler tanımlama tekniklerinden farklı olarak, DNA'nın başlangıç kodonu (ATG) çevresinde bulunan korunan bölgeyi hedef almaktadır. Primer tasarımı için spesifik sekans bilgisine ihtiyaç duymadan çalışabilen bir tekniktir. Bu da onu diğer moleküler yöntemlere göre avantajlı kılmaktadır. RAPD-PZR yönteminden farklı olarak, SCOT yöntemi daha uzun primerler kullanır ve yüksek bağlanma sıcaklıklarında (>50°C) çalışır, bu da yöntemin tekrarlanabilirliğini artırmakta ve elde edilen sonuçların güvenilirliğini sağlamaktadır. Böylece özellikle tür içi polimorfizmi etkili bir şekilde yansıtabilmektedir (Shaban vd., 2022; Rai, 2023; Kahve, 2024). Başlangıçta bitkilerin genetik çeşitliliğini incelemek amacıyla kullanılan SCOT, zamanla bakteriler (Elsby vd., 2022) ve mayalarla (Aydın vd., 2022; Koçak ve Ardic, 2024) yapılan çalışmalarda da kullanılmaya başlamıştır.

Tekin vd. (2024) farklı yaşam alanlarından izole ettikleri bakterilerin genetik farklılıklarını ortaya koymak ve polimorfizm düzeylerini belirlemek için SCOT yöntemini kullanmışlardır. Bu çalışma bakterilerde tür düzeyinde polimorfizmin ortaya koyulması için SCOT markörlerinin kullanıldığı ilk çalışmadır. Çalışmada SCOT markörleri türler arası genetik farklılığın tespit edilmesinde oldukça başarılı sonuçlar vermiştir. Daha sonraki çalışmalarda SCOT markörlerinin suş düzeyinde genetik farklılığı ortaya çıkarmada da başarılı bir şekilde uygulanabileceği belirtilmiştir.

1.3 Multifonksiyonel Starter Kùltürler

Starter kùltürler, kontrollù fermantasyon sùreçlerinde kullanılan ve gıdaya istenilen mikrobiyolojik, kimyasal ve duysal özellikleri kazandırmak amacıyla seçilmiş mikroorganizmalardır. Bu kùltürler, doğal mikrofloranın yerine geçerek daha öngörülebilir, güvenli ve standardize ürün elde edilmesini sağlamaktadır. Geleneksel yöntemlerde spontan olarak gerçekleşen fermantasyon, starter kùltürlerin kullanımıyla kontrollù bir biçime dönüştürülerek ürün kalitesinde süreklilik sağlanmaktadır (Bevilacqua vd., 2009; García-Díez ve Saraiva, 2021).

Fermantasyon teknolojisi açısından değerlendirildiğinde, başta LAB ve mayalar olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar, biyoteknolojik sùreçlerde starter kùltür olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. LAB, karbondhidratları fermente ederek başlıca laktik ve asetik asit gibi organik asitleri sentezlemek suretiyle ortam pH değerini düşürmekte ve böylece fermantasyon ortamında istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini baskılayarak ürünün mikrobiyal güvenliğini sağlamaktadır. Kontrollù fermantasyon sistemlerinin (starter kùltür kullanımı ile gerçekleşen fermantasyonlarda) bu özelliğı, mikrobiyal stabilitenin sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır. Mayalar ise, fermantasyon sùrecinde karbondioksit ve uçucu aroma bileşenleri üreterek hem ürünün hacimsel gelişimini (örneğin hamur kabarması) sağlamakta hem de duysal kalitesine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır (Todorov vd., 2023).

Starter kùltürlerin fermantasyon kapasitesi, suş düzeyinde farklılık gösterebileceğinden, her bir mikroorganizmanın teknolojik özellikleri detaylı olarak değerlendirilmektedir. Bu amaç doğrultusunda klasik izolasyon yöntemlerine ek olarak genotipik karakterizasyon teknikleri de suş seçiminde rol almaktadır. Böylece, yüksek performans gösteren suşların seçimi ve optimize edilmiş fermantasyon sùreçleri ile hem geleneksel lezzetlerin korunması hem de tüketici beklentilerinin karşılanması hedeflenmektedir (Vinicius De Melo Pereira vd., 2020).

Multifonksiyonel starter kùltür terimi, yalnızca temel bir teknolojik özelliğı değil, birden fazla fonksiyonel özelliğı aynı anda sahip olan mikroorganizma kùltürlerini tanımlamak için kullanılmaktadır. Bu mikroorganizmalar, fermantasyon teknolojisi açıdan önemli olduğı kadar; gıda güvenliğı, besin biyoyararlılığı ve duysal kalite gibi önemli kriterler açısından da ürün üzerinde çok yönlü ve olumlu etkiler gösterebilmektedir. Multifonksiyonel

mikroorganizmaların temel özellikleri arasında yeterli asit üretim kapasitesi ile pH değerini düşürerek mikrobiyal güvenliği sağlama, uçucu aroma bileşenleri (esterler, diasetil vb.) sentezi ile tat ve aroma gelişimine katkı sağlama, bakteriyosin ve hidrojen peroksit gibi antimikrobiyal bileşikler üreterek raf ömrünü uzatma, probiyotik potansiyel göstererek gastrointestinal sistemde canlı kalma ve konakçı mukozasına tutunma gibi özellikler yer almaktadır. Ayrıca, fitaz ve proteaz gibi enzimler üretebilen kültürler aracılığıyla besin emilimini engelleyici bileşenleri parçalayarak besin öğelerinin biyoyararlılığını artırmakta ve belirli proses koşullarına (sıcaklık, tuz, pH vb.) dayanıklılıkları sayesinde endüstriyel üretim süreçlerine uyum sağlamaktadır. Örneğin; *Lactiplantibacillus plantarum* türüne ait bir suşun hem yüksek asit üretim kapasitesine sahip olması hem fitaz enzimi üretmesi hem de patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki oluşturması gibi özelliklere sahip olması bu suşun multifonksiyonel starter kültür olarak tanımlanmasını sağlamaktadır. Bu tür kültürler; başta ekşi mayalı ürünler olmak üzere fermente süt ürünleri, et ve sebze fermentasyonları ile fonksiyonel gıda üretimi gibi pek çok alanda kullanılmaktadır (Holzapfel, 2002; Ogunremi vd., 2017; Benítez-Cabello vd., 2020; Pakroo vd., 2022).

Bu çoklu fonksiyonlar, yalnızca ürün kalitesini artırmakla kalmamakta, aynı zamanda gıda üretiminde daha sürdürülebilir ve güvenli süreçler oluşturulmasını sağlamaktadır. Multifonksiyonel starter kültürlerin kullanımı, fermentasyon teknolojilerini daha verimli hale getirirken, aynı zamanda tüketicilere sağlıklı ve lezzetli ürünler sunmayı mümkün kılmaktadır. Özellikle ekşi maya gibi doğal ve karmaşık fermentasyon sistemlerinde bu kültürlerin kullanımı, mikrobiyal dengeyi stabilize etmek, istenen duyuşal özellikleri geliştirmek ve patojen gelişimini inhibe etmek açısından büyük avantaj sağlamaktadır. Bu yönüyle multifonksiyonel starter kültürler, ekşi mayalı ürünlerin geleneksel lezzetini koruyarak endüstriyel beklentilere uygun şekilde üretilmesini sağlayan önemli biyoteknolojik araçlardır (Pakroo vd., 2022). Literatürde yapılan çeşitli çalışmalar, bu çok işlevli suşların farklı un türleriyle yapılan ekşi maya fermentasyonlarında nasıl başarıyla kullanılabileceğini ve ortaya çıkan ürünlerde hem teknolojik hem de fonksiyonel iyileşmeler sağladığını ortaya koymaktadır. Bu kapsamda aşağıda özetlenen çalışmalar, farklı kaynaklardan izole edilen multifonksiyonel LAB suşlarının potansiyelini göstermesi açısından dikkat çekicidir.

Lancetti vd. (2021), buğday ekmeği üretiminde kullanılacak ekşi mayanın geliştirilmesi amacıyla LAB suşlarının seçiminin, gelişmiş teknolojik ve besinsel özellikler kazandırmak açısından önemli bir strateji olduğunu belirtmişlerdir. Bu doğrultuda gerçekleştirilen çalışmada, farklı tahıllardan izole edilen on adet LAB suşunun buğday bazlı ekşi maya içerisindeki performansları değerlendirilmiştir. Denemeye alınan suşlar arasında beş fakültatif heterofermentatif (*Lactobacillus pentosus* ES124, *Lactobacillus paralimentarius* ES259, *Lactobacillus plantarum* ES137, *L. plantarum* ATCC8014 ve *L. plantarum* ES147), üç zorunlu heterofermentatif (*Lactobacillus brevis* ES253, *Lactobacillus fermentum* ES142 ve ES148) ve iki homofermentatif (*Pediococcus acidilactici* ES22 ve *Enterococcus faecium* ES74) suş yer almıştır. Tek suşlu fermantasyon sistemlerinde gerçekleştirilen deneylerde, ekşi mayaların şeker profili, uçucu bileşik kompozisyonu ve proteolitik aktiviteleri analiz edilmiştir. Fakültatif heterofermentatif suşların, homofermentatiflere kıyasla daha yüksek mikrobiyal canlılık sergilediği tespit edilmiştir. Şeker analizleri sonucunda, fermantasyon tipine bağlı olarak glikoz, fruktoz, maltoz, sakaroz, izomaltoz ve dekstrin gibi karbonhidratların farklı düzeylerde bulunduğu belirlenmiştir. Yapılan kapsamlı analizler sonucunda; güçlü asitlendirme kapasiteleri, uçucu bileşik üretimi, karbonhidrat profili ve çözünür protein düzeyleri dikkate alınarak dört LAB suşu (*L. fermentum*) ES142, *L. fermentum* ES148, *L. pentosus* ES124 ve *L. plantarum* ES137) ve buğday ekşi mayası üretimi için potansiyel multifonksiyonel starter kültür adayları olarak seçilmiştir.

Leuconostoc türlerinin ekşi mayalı ekmek üretiminde multifonksiyonel starter kültür olarak kullanılabilirlikleri Müller vd. (2021) tarafından araştırılmıştır. Çalışmada, 99 farklı LAB suşu antifungal aktiviteleri açısından incelenmiş ve *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* ile *Cladosporium sp.* gibi fırıncılıkla ilişkili küf türlerine karşı yüksek düzeyde inhibe edici etki gösteren dokuz *Leuconostoc* suşu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, bu suşların mannitol ve EPS üretim kapasiteleri de araştırılmıştır. Çalışmanın ilerleyen aşamasında, dört suş multifonksiyonel starter kültür adayı olarak seçilmiş ve laboratuvar ölçekli ekşi maya fermantasyonlarında kullanılmıştır. Fermantasyon sonucunda, suşların yüksek canlılık oranları, pH düşüşü ve toplam titrasyon asitliği artışı ile başarılı bir fermantasyon gerçekleştirdiği bildirilmiştir. Ayrıca, antifungal etkili metabolitler (asetik asit, fenillaktik asit, hidroksifenillaktik asit) ile mannitol ve EPS üretimi gibi teknolojik

özelliklerin de varlığı ortaya konulmuştur. Elde edilen bulgular, *Leuconostoc* cinsine ait bazı suşların sahip oldukları multifonksiyonel özellikler sayesinde ekşi maya bazlı fırıncılık ürünlerinde potansiyel bir starter kültür adayı olabileceğini göstermiştir.

Rizzello vd. (2016) tarafından yürütülen çalışmada, buğday unu yerine kinoa unu kullanılarak ekşi mayalı ekmek üretiminde kullanılabilecek multifonksiyonel LAB suşlarının seçimi amaçlanmıştır. Bu amaçla, kinoa unu ile hazırlanan ekşi mayalardan izole edilen LAB suşları moleküler olarak tanımlanmış ve ardından çeşitli teknolojik ve fonksiyonel analizlere tabi tutulmuştur. Değerlendirilen parametreler arasında asitleştirme kapasitesi, toplam fenolik bileşik düzeyi, antioksidan aktivite, fitaz enzimi aktivitesi, in vitro protein sindirilebilirliği, duyuusal özellikler, nişasta sindirilebilirliği ve glisemik indeks değerleri yer almıştır. Elde edilen bulgular, seçilen multifonksiyonel LAB suşlarıyla hazırlanan kinoa ekşi mayasının ekmek formülasyonunda bileşen olarak kullanılmasının, pişmiş ürünlerin besinsel, yapısal ve duyuusal özelliklerini önemli seviyede iyileştirebileceğini ortaya koymuştur.

Reale vd. (2020) tarafından yürütülen çalışmanın amacı, mayalı fırıncılık ürünlerinin üretiminde multifonksiyonel starter kültür olarak kullanılabilecek dayanıklı LAB suşlarının seçilmesidir. Bu doğrultuda, İtalyan ekşi mayalarından izole edilen 100 LAB suşu genetik yöntemlerle tanımlanarak karakterize edilmiştir. Ön değerlendirme, suşların büyüme ve asitlenme oranlarına göre yapılmış; ardından düşük pH, yüksek tuz, sakaroz ve etanol konsantrasyonları gibi ekşi maya fermentasyonu sırasında karşılaşılan stres koşullarına dayanıklılıkları incelenmiştir. Ayrıca, üreaz, amilaz ve proteolitik enzim aktiviteleri ile EPS üretim kapasiteleri değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, LAB suşlarının tür içi varyasyon gösterdiğini ve fermentasyon süreci boyunca hayatta kalabilen ve çoğalabilen rekabetçi suşların seçiminin kritik olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle yüksek sakaroz, etanol ve NaCl konsantrasyonları, dayanıklı ve hassas suşlar arasında ayırım yapılmasında belirleyici faktörler olmuştur. *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Levilactobacillus brevis* ve *Fructilactobacillus sanfranciscensis* türlerine ait bazı suşlar, bu stres faktörlerine karşı gösterdikleri yüksek tolerans sayesinde hem tatlı hem de tuzlu ekşi maya üretimleri için potansiyel multifonksiyonel starter kültürler olarak bildirilmiştir.

Păcularu-Burada vd. (2020) tarafından yürütülen çalışmada, glütensiz ekşi maya fermantasyonlarında kullanılmak üzere multifonksiyonel LAB suşlarının izolasyonu ve seçimi amaçlanmıştır. Glütensiz hamur işleri üretiminde karşılaşılan teknolojik ve besinsel zorlukların, ekşi maya biyoteknolojisi aracılığıyla aşılabileceği; ayrıca LAB metabolizması sonucu ortaya çıkan postbiyotiklerin, ekşi mayaların besinsel ve işlevsel özelliklerini artırabileceği bu çalışmada vurgulanmıştır. Çalışma kapsamında, gıda matrislerinden izole edilen *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* cinslerine ait toplam 19 LAB suşu değerlendirilmiştir. Seçim kriterleri; nohut, kinoa ve karabuğday unu ile gerçekleştirilen ekşi maya fermantasyonları sırasında asitleştirme kapasiteleri, EPS üretimi ve gıda kaynaklı bozulmaya neden olan küfler ile bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri olmuştur. Ayrıca, LAB metabolitlerinin termal ve asidik koşullara karşı stabilitesi de analiz edilmiştir. İzole edilen 19 suştan dördünün, glütensiz ve bitki bazlı protein açısından zengin ekşi maya üretimi için potansiyel gösterdiği tespit edilmiş ve ileri çalışmalar için multifonksiyonel starter kültürler olarak seçilmiştir.

Mota-Gutierrez vd. (2021) tarafından yürütülen çalışmada, ekşi mayalardan izole edilen *L. plantarum* ve *L. casei* türlerine ait toplam 77 LAB suşunun, 16 farklı küf türüne karşı in vitro antifungal aktiviteleri değerlendirilmiştir. Yüksek antifungal aktivite sergileyen LAB suşları, ayrıca asitlik oluşturma kapasiteleri, EPS üretimleri, ksilanaz ve fitaz enzim aktiviteleri, proteolitik yetenekleri ve antibiyotik dirençlilikleri bakımından da analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, LAB suşlarının antifungal etkilerinin yanı sıra enzimatik ve güvenlik profillerinin de suş düzeyinde farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Özellikle *L. plantarum* A16, A25, B11 ve B15 suşlarının, güçlü antifungal aktivitelerinin yanı sıra çeşitli karbon kaynaklarından EPS üretme kapasiteleri ile ön plana çıktığı belirlenmiştir. Buna karşın, *L. plantarum* A310, B18 ve *L. casei* A23 suşlarının çoklu antibiyotik dirençliliği sergiledikleri tespit edilmiş ve bu nedenle starter kültür olarak kullanımında dikkatli olunması gerektiği vurgulanmıştır. Çalışma, farklı LAB suşlarının biyo-koruyucu ajanlar olarak umut vadeden potansiyellerini ortaya koyarken, aynı zamanda starter kültür seçiminde güvenlik ve teknolojik özelliklerin birlikte değerlendirilmesi gerektiğine dikkat çekmiştir.

Multifonksiyonel starter kültürlerin seçimi, yalnızca teknolojik performanslarına değil, aynı zamanda sağlık üzerine olan potansiyel etkilerine göre

de değerlendirilmektedir. Bu bağlamda, bu kültürlerin sahip olduğu probiyotik ve postbiyotik özellikler, son yıllarda gıda mikrobiyolojisi ve fonksiyonel gıda üretim çalışmalarında dikkat çeken kriterler arasında yerini almıştır.

1.3.1 Probiyotik Multifonksiyonel Mikroorganizmalar

Son yıllarda insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle probiyotik mikroorganizmalar, gıda ve sağlık alanlarında yoğun ilgi gören araştırma konusu haline gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından probiyotikler, “Yeterli miktarda alındığında konakçı sağlığına fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanmaktadır. En yaygın olarak fermente süt ürünlerinde kullanılan probiyotikler, günümüzde fermente olmayan gıdalar, takviyeler, fonksiyonel ürünlerde de kullanılmaktadır (Yadav vd., 2022; You vd., 2022; Merenstein vd., 2023).

Probiyotik mikroorganizmaların temel fonksiyonları arasında konakçı bağırsak mikrobiyotasının dengesinin sağlanması, bağışıklık sisteminin desteklenmesi, patojen mikroorganizmaların inhibisyonu, besin öğelerinin biyoyararlılığının artırılması ve bağırsak bariyer sağlığının iyileştirilmesi yer almaktadır. Ancak günümüzde probiyotiklerin tanımı, yalnızca bağırsak sağlığını iyileştirmesiyle sınırlı olmayıp; geniş spektrumlu biyolojik aktivitelere sahip veya “multifonksiyonel” (çok yönlü) mikroorganizmaları da kapsamaktadır (Das vd., 2022; Yadav vd., 2022; Luo vd., 2024; Merenstein vd., 2023; Al-Habsi vd., 2024).

Multifonksiyonel probiyotikler; antimikrobiyal ve antifungal bileşik üretimi, antioksidan kapasite, EPS üretimi, enzimatik aktiviteler (örneğin β -galaktozidaz ve fitaz aktivitesi), safra tuzu ve mide asit toleransı, yüzeye tutunma yeteneği (hidrofobisite, otoagregasyon kapasitesi), kolesterol düşürücü, bağışıklık sağlığını destekleyici etki gibi çeşitli teknolojik ve biyofonksiyonel özelliklere sahip mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Bu tür mikroorganizmalar fonksiyonel gıda üretimlerinin yanı sıra sağlık sektöründe yer alan ürünlerin geliştirilmesinde de önemli bir potansiyele sahiptir (Feng vd., 2020; Moradi vd., 2021; Das vd., 2022).

Geleneksel fermente gıdalar, probiyotik özelliklere sahip mikroorganizmalar açısından zengin doğal kaynaklar olarak değerlendirilmektedir. Özellikle ekşi maya gibi mikrobiyal açıdan karmaşık fermente sistemler hem LAB hem de mayaları içeren mikrobiyotaya sahip olmaları nedeniyle öne çıkmaktadır.

Son yıllarda probiyotiklerin fermentasyon ürünleri olan postbiyotikler, doğrudan sağlık faydaları sunmaları nedeniyle ilgi çekici araştırma konularından biri haline gelmiştir. Probiyotik mikroorganizmaları doğrudan gıda maddeleri ile canlı halde vücuda olmak çoğu zaman mümkün olmamaktadır. Gıda matrisinden kaynaklanan ortamlar çoğu zaman probiyotik mikroorganizmayı inaktif hale getirmektedir. Bu noktada postbiyotik terimi etkili bir yaklaşım olarak görülmektedir. Probiyotik mikroorganizmalar tarafından sentezlenen hücre dışı moleküller olarak da bilinen postbiyotikler mikroorganizma inaktif hale geçtikten sonra bile gıda da aktif olarak kalabilmekte ve vücuda alınmaktadır (Shi vd., 2024; Luo vd., 2024; Panya vd., 2024). Postbiyotikler, inaktif haldeki mikrobiyal hücreler, enzimler (laktaz, amilazlar, safra tuzu hidrolazları, fitazlar ve esterazlar vb.), EPS, proteinler (laktoferin vb.), lipitler (kısa zincirli yağ asitleri) gibi çok çeşitli molekülleri ifade etmekte kullanılmaktadır (Blaak vd., 2020; Maske vd., 2021; Liu vd., 2023). Endüstriyel uygulamalar için postbiyotikler tanımlanmış kimyasal bileşim, kullanım ve depolama kolaylığı, geniş pH ve sıcaklık aralığında kararlılık gösterme ve geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivitesi nedeniyle probiyotiklerden daha üstün olarak görülmektedir. Günümüzde gıda dışında endüstriyel uygulamalarda da kullanılan ve ticari olarak temin edilebilen postbiyotikler bulunmaktadır. Postbiyotikler ya da karışımları, hayvan yemi ve ilaç endüstrisinde, alerjik hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Ancak gıdalarda güvenli postbiyotik kullanımları üzerine çalışmalar hala yetersizdir (Moradi vd., 2021).

Postbiyotik bileşiklerin gıdalardaki potansiyel kullanımıyla ilgili araştırmalar artmakta olup, bu kapsamda ekşi mayalı ekmek üretimi de önemli bir uygulama alanı olarak öne çıkmaktadır. Ekşi maya fermentasyonu sırasında, başta *Lactobacillus* ve *Saccharomyces* türleri olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar tarafından sentezlenen organik asitler, kısa zincirli yağ asitleri, bakteriyosinler, enzimler ve EPS gibi postbiyotik bileşenler, ekmeğin hem raf ömrü hem de besinsel ve fonksiyonel özellikleri üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Bu bileşikler, antimikrobiyal özellikleriyle küf ve diğer bozulma etmenlerine karşı koruma sağlarken, sindirim sistemi üzerinde de iyileştirici etkilere sahiptir. Özellikle LAB'nin oluşturduğu metabolitlerin, glutenin sindirilebilirliğini artırarak gluten intoleransı olan bireylerde olası olumsuz etkileri azaltılabileceği bildirilmektedir (Akamine vd., 2023; Yu vd., 2024). Bu yönüyle, ekşi mayalı ekmek yalnızca

geleneksel bir ürün olarak değil, potansiyel bir fonksiyonel gıda olarak da değerlendirilmektedir.

1.4 Ekşi Mayalı Ekmek Üretimi ve Kalite Özellikleri

Ekmek, insanlık tarihinin en eski ve en temel besin kaynaklarından biri olarak beslenmenin vazgeçilmez bir bileşeni olmayı sürdürmektedir. Günümüzde ise artan beslenme bilinci ve sağlıklı yaşam arayışları doğrultusunda, tüketicilerin ekmek tercihlerinde sadece enerji kaynağı olmanın ötesine geçen, fonksiyonel özelliklere sahip çeşitlere yöneldiği gözlemlenmektedir. Ekşi mayalı ekmek, geleneksel üretim yöntemiyle sadece lezzet ve yapı açısından değil, aynı zamanda sağlık üzerinde olumlu etkileri ile de modern beslenme anlayışında önemli bir yer edinmeye başlamıştır. Bu ekmek türü, fermente edilmiş un ve su karışımından elde edilen ekşi maya kullanılarak üretilmektedir. Ekşi maya, içeriğinde doğal olarak bulunan maya ve LAB etkileşimi sonucu fermantasyon süreçleriyle aktif hale gelmektedir. Ekşi mayalı ekmek, düşük glisemik indeksi ve gelişmiş besin biyoyararlılıkları ile fonksiyonel gıda olarak da ön plana çıkmaktadır (Collar, 2015; Ilktac vd., 2021; Canesin ve Cazarin, 2021; Amr ve Alkhamaiseh, 2022; Ribet vd., 2023; Ashaolu vd., 2025).

Yapılan çalışmalarda, ekşi mayalı ekmeğin besin içeriklerini artırıp, glisemik indeks değerini düşüren çeşitli teknikler de incelenmiştir. Örneğin, ekşi mayalı ekmeklerin, geleneksel mayalı ekmeklere göre daha düşük glisemik indeks değerleri sunduğu ve bu durumun diyabet hastaları için faydalı olduğu bilinmektedir. Ayrıca, bu ekmeklerin antioksidan içerikleri, vücutta serbest radikal hasarını azaltarak kalp-damar hastalıkları gibi kronik hastalıkların risklerini minimize etmektedir. Ekşi mayanın amino asitler ve minerallerin biyoyararlanımını artırdığını ve besin öğelerinin emilimini kolaylaştırdığı da bilinmektedir. Bununla birlikte, bu tür ekmeklerin üretiminde kullanılan starter kültürler ve fermantasyon süreleri de besin kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir (Dapčević-Hadnadev vd., 2020; Siepmann vd., 2018; Ribet vd., 2023).

Özetle, ekşi mayalı ekmek, mikroorganizmaların faaliyetleri sonucunda, yüksek besin değeri ve sağlık yararları sağlayan geleneksel ve fonksiyonel bir gıda ürünüdür. Ribet vd., (2023) tarafından yayınlanan bir çalışmada, bu ekmek çeşidinin modern sağlık anlayışıyla uyumlu olduğu ve probiyotik içerik, düşük

glisemik indeks, antioksidan kapasite gibi özellikleri nedeniyle sağlık açısından daha faydalı bir ekmek alternatifi olduğu ifade edilmiştir.



2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1 Materyal

Proje çalışması kapsamında Türkiye'nin farklı bölge ve illerinden 65 adet Tip I ekşi hamur örneği Eylül 2020'den Mart 2021'e kadar temin edilerek eş zamanlı olarak mayaların izole edilmesi için Aksaray Üniversitesi Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarına ve LAB izolasyonu için ise Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarına getirilmiştir. Ekşi hamurlar ile beslemenin yapıldığı unlar temin edilerek olası pasajlamalar için depolamaya alınmıştır. Ekşi hamur numunelerine ait ayrıntılı bilgiler Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Ekşi hamur örneklerine ilişkin genel bilgiler

Örnek	İl	İlçe	Un çeşidi
1	Aksaray	Güzelyurt	Beyaz un
2	Bolu	Merkez	Tam buğday unu
3	Bolu	Merkez	Beyaz un
4	Konya	Merkez	Beyaz un
5	Mersin	Merkez	Tam buğday unu
6	Mersin	Merkez	Siyez unu
7	Gaziantep	Merkez	Beyaz un
8	Karaman	Ayrancı	Beyaz un
9	Karaman	Divle	Beyaz un
10	Konya	Çumra	Beyaz un
11	Aydın	Merkez	Tam buğday unu
12	Muğla	Merkez	Tam buğday unu
13	İzmir	Merkez	Beyaz un
14	İzmir	Merkez	Beyaz un
15	Kastamonu	Merkez	Beyaz un
16	İstanbul	Başakşehir	Çavdar unu
17	İstanbul	Bahçelievler	Tam buğday unu
18	İstanbul	Başakşehir	Tam buğday unu
19	Bolu	Merkez	Siyez unu
20	Yozgat	Merkez	Tam buğday unu
21	İstanbul	Ümraniye	Tam buğday unu
22	İstanbul	Ümraniye	Beyaz un
23	Kilis	Merkez	Tam buğday unu
24	Gaziantep	Merkez	Tam buğday unu
25	Aksaray	Merkez	Tam buğday unu
26	Karaman	Merkez	Tam buğday unu
27	Konya	Merkez	Tam buğday unu
28	Adana	Merkez	Siyez unu

Tablo 2.1. (devamı) Ekşi hamur örneklerine ilişkin genel bilgiler

29	Adana	Merkez	Beyaz un
30	Adana	Merkez	Tam buğday unu
31	Adana	Merkez	Siyez unu
32	Adana	Merkez	Beyaz un
33	Kırşehir	Kaman	Beyaz un
34	Yozgat	Merkez	Tam buğday unu
35	Eskişehir	Merkez	Beyaz un
36	Gaziantep	Merkez	Beyaz un
37	Giresun	Merkez	Beyaz un
38	Gaziantep	Merkez	Beyaz un
39	Bolu	Mudurnu	Tam buğday unu
40	Manisa	Kula	Beyaz un
41	Kayseri	Merkez	Tam buğday unu
42	Bolu	Gerede	Tam buğday unu
43	Sivas	Merkez	Tam buğday unu
44	Antalya	Merkez	Beyaz un
45	Balıkesir	Ayvalık	Beyaz un
46	Ankara	Etimesgut	Tam buğday unu
47	Ankara	Çankaya	Tam buğday unu
48	Ankara	Bala	Beyaz un
49	Ankara	Gölbaşı	Tam buğday unu
50	Manisa	Merkez	Beyaz un
51	Samsun	Merkez	Beyaz un
52	Sivas	Gürün	Beyaz un
53	Sivas	Merkez	Tam buğday unu
54	Trabzon	Of	Tam buğday unu
55	Trabzon	Merkez	Beyaz un
56	Samsun	Çarşamba	Beyaz un
57	Amasya	Merkez	Tam buğday unu
58	Trabzon	Vakfikebir	Beyaz un
59	Rize	Merkez	Beyaz un
60	Manisa	Akhisar	Beyaz un
61	Denizli	Merkez	Tam buğday unu
62	Antalya	Alanya	Beyaz un
63	Antalya	Alanya	Beyaz un
64	Trabzon	Of	Tam buğday unu
65	Aydın	Merkez	Tam buğday unu

2.2 Yöntem

2.2.1 Mikrobiyolojik Analizler

2.2.1.1 LAB Sayımı, İzolasyonu ve Biyokimyasal Ön Tanısı

Hazırlanan ardışık dilüsyonlardan paralelli olarak 100 ppm oranında sikloheksimid içeren De Man, Rogosa, and Sharpe (MRS; Merck, Darmstadt, Almanya) agar besiyerine yayma kültür yöntemi ile paralelli olarak ekim yapılmış, Petri ler anerobik şartlar altında 30°C’de 48-72 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda sayılabilir aralıkta koloni içeren Petri kutularında (15-300) gelişen koloniler sayılarak sonuçlar log KOB/g cinsinden verilmiştir. İnkübasyon sonunda gelişen koloniler morfolojilerine göre rastgele seçilmişlerdir. Seçilen koloniler MRS agar ve MRS broth besiyerleri kullanılarak çift kademeli olarak saflaştırıldıktan sonra Gram boyama ve katalaz testleri uygulanmıştır (Li vd., 2019). Gram pozitif ve katalaz negatif olan suşların ön tanımlaması BAİBÜ, Bilimsel Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezinde (BETUM) bulunan MALDI TOF-MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) cihazı, MALDI Biotyper® (Bruker Daltonics, Almanya) sisteminden hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Ön tanısı yapılan izolatlar %40 gliserol içeren MRS broth besiyerinde -18°C’de derin dondurucuda stoğa alınmıştır.

2.2.2 Moleküler Analizler

2.2.2.1 DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için Harju vd. (2004) tarafından önerilen yöntem bazı minör modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. LAB, MRS broth besiyerinde geliştirilerek 14.000 rpm’de 10 dk boyunca santrifüj edilmiş ve elde edilen pellet, DNA izolasyonu için kullanılmıştır. Üzerlerine 650 µL ekstraksiyon tamponu (200 mM Tris-HCl pH: 8.5, 25 mM NaCl, 25 mM EDTA, %0.5 SDS) ilave edilerek oluncaya kadar karıştırılmıştır. Elde edilen ekstrakt hücre membranını parçalamak amacıyla 65°C’de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu inkübasyon periyodundan sonra mikrosantrifüj tüplerine eşit hacimde kloroform: izoamil alkol (24:1 v/v, AppliChem, Darmstadt, Almanya) eklenerek 14.000 rpm’de 15-20 dk santrifüj (Sigma 3K30, ABD) edilmiştir. Üstte toplanan sıvının yaklaşık 500 µL’si yeni mikrosantrifüj tüplerine aktararak üzerine -20°C’de bekletilen izopropanol eklenmiştir. İyice karıştırıldıktan sonra soğutmalı santrifüj cihazında 60 dk boyunca

14.000 rpm’de santrifüje bırakılmıştır. Elde edilen pellet soğuk %70’lik 100 µL etanol çözeltisi ile yıkanmıştır. DNA peleti 25-50 µL steril çift destile (ddH₂O) su ile süspanse edilerek -20°C’de muhafaza altına alınmıştır. DNA konsantrasyon tayini nano spektrofotometre (Denovix DS-11 FX, ABD) ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, tüm örneklerin DNA konsantrasyonları 20 ng/µL’ye ayarlanmıştır.

2.2.2.2. LAB’nin RAPD Markörleri ile Analizi

Dört RAPD primeri, P4 (5’-CCGCAGCGTT-3’), P7 (5’-AGCAGCGTGG-3’), MV1 (5’-GGACGCTTCTG-3’) ve M13 (5’-GAGGGTGGCGGTTCT-3’), her PZR reaksiyonunda ileri ve geri primerler olarak ayrı ayrı kullanılmıştır. Ek olarak, RD1 (5’-GCTTAAGGAGGTGATCCAGCC-3’) ve OPL5 (5’-ACGCAGGCA-3’) primerleri da multipleks reaksiyonda kullanılmıştır (Venturi vd., 2012). PZR karışımları Dream *Taq* DNA polimeraz tamponu 10X, 0.24 mM dNTPs, 1,0 µM primer, 0,5 ünite Dream *Taq* DNA polimeraz ve 40 ng DNA içermiştir. Reaksiyona ilk önce 94°C’de 5 dk denatürasyon ile başlanmış, 40 döngü 94°C’de 60 saniye denatürasyon, 40°C’de 1 dk bağlanma, 72°C’de 2 dakika ve son uzama safhası 72°C’de 10 dk bekletilerek tamamlanmıştır (Venturi vd., 2012). Elde edilen PZR ürünleri 1X TBE tampon çözeltisi kullanılarak %1.7-2’lik agaroz jelde yürütülerek etidyum bromür ile boyanmış ve UV altında jel görüntüleme sistemi (Syngene, İngiltere) ile görüntülenmiştir.

2.2.2.3 Veri Analizi

RAPD markörleriyle yapılan analizler sonucunda elde edilen tüm bantlar, ikili bir veri matrisi oluşturmak suretiyle pozisyonlarda mevcut (1) veya yok (0) olarak skorlanmıştır. Markörlerinin kullanılabilirliğini ölçmek için Resolving Power (RP) ve Polymorphic Information Content (PIC) değerleri hesaplanmıştır. Her bir markörün PIC değeri, $PIC=2f(1-f)$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Burada f, amplifiye edilen alelin frekansını ifade etmektedir. Diğer yandan, RP değerini hesaplamak için ilk olarak bant bilgisi (I_b) şu formülle hesaplanmıştır: $I_b=1 - (2 \times |0.5-p|)$, burada p LAB izolatlarının oranını temsil etmektedir. Daha sonra RP değeri, her bir primer için elde edilen bant için I_b ($\sum I_b$) toplamı olarak hesaplanmıştır.

Markörlerden elde edilen veri matrisi, R paket programı ile Jaccard’ın benzerlik kat sayısı kullanılarak genetik benzerlik matrisine çevrilmiştir. Benzerlik matrisi ağırlıklı olmayan aritmetik ortalama eş grup metodu (UPGMA) yardımıyla

kümeleme analizi yapılarak dendrogram elde edilmiş ve izolatlar arasındaki genetik akrabalık değerlendirilmiştir (Oksanen vd., 2017). Ayrıca kullanılan markör yöntemleri ile oluşturulan veri matrislerini değerlendirmek için NTSYS ver. 2.02 kullanılarak kofenetik matris değerleri hesaplanmıştır.

2.2.2.4 Farklı LAB Türlerinin Tanımlanması

Farklı tür ve tür içi polimorfik gruplardan seçilen izolatların tür tanımlamalarını gerçekleştirmek amacıyla LAB için 16S bölgeleri çoğaltılarak sekanslanmıştır. Sekanslama sonunda elde edilen veriler MEGA X ile analiz edilmiştir. Veriler, NCBI GenBank veri kütüphanesine kayıtlı referans izolatlarla Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) analizi ile kıyaslanmıştır. Bu çalışma kapsamında sekans verisi elde edilen 31 LAB izolatı verisi GenBank nükleotit veri tabanındaki karşılık gelen referans izolatlarının sekans verilerinin filogenetik ve moleküler analizleri Clustal W ile alignment işlemine tabi tutulmuştur. Filogenetik ağaç Maksimum Olasılık Yönetimine göre 1.000 tekrarlı bootstrap (Yeniden örnekleme) testi ile gerçekleştirilmiştir (Kumar vd., 2018).

2.2.3 LAB'nin Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi

Farklı genetik uzaklığa sahip toplam 66 endojen LAB suşu teknolojik özelliklerinin belirlenmesi için seçilmiştir. İzolatların teknolojik özelliklerinin karşılaştırılması için Türkiye'de satışa sunulan ticari ekşi hamur mayalarından izole edilen *Levilactobacillus brevis* TB-1 ve *Lactiplantibacillus plantarum* TB-2 suşları da analizlere dahil edilmiştir.

2.2.3.1 LAB Suşlarının Asitliği Artırma Hızı

Her bir suşun gelişme ve asitliği artırma hızını belirlemek için her bir gecelik kültür 0.5 McFarland bulanıklığa ayarlanmıştır. Kültürler tam buğday (tip 0) unu ile hazırlanmış hamura (%15 tam buğday unu (tip 0) ve %85 musluk suyu) eklenerek 30°C'de 8 saat boyunca fermantasyona bırakılmıştır. Her saat başı 10 g numune alınarak pH değerleri ölçülmüştür (Manini vd., 2016). Sonuçlar pH değişimi (ΔpH) cinsinden verilmiş olup şu şekilde sınıflandırılmıştır: i) $\Delta pH < 1,00$ (zayıf asitlik gelişimi), ii) $1,00 < \Delta pH < 1,50$ (orta asitlik gelişimi), iii) $\Delta pH > 1,50$ (yüksek asitlik gelişimi).

2.2.3.2 Hamur Kabartma Yeteneklerinin Belirlenmesi

İzolatlar, MRS broth besiyerinde 30°C’de 24 saat boyunca geliştirilmiş ve 0.5 McFarland değerine ayarlanmıştır. Her izolat için tip 0, 100 g tam buğday unu, 60 mL steril distile su ve 0,14 g NaCl karıştırılmıştır. Karıştırmadan sonra 50 g hamur 120 mL’lik steril ve dereceli polipropilen kaplara aktarılmıştır. Bütün örnekler 30°C’de 5 saat inkübasyona bırakılmış ve hacim artışı 5 saat sonunda ölçülmüştür. Sonuçlar aşağıdaki formüle göre (2.1) hacim indeksine (VI) çevrilerek hesaplanmıştır.

$$V.I. = ((V_a - V_c) / V_c) * 100 \quad (2.1)$$

V_a: Beş saat sonrasında her örnekteki ölçülen hacim, V_c: Hamurların başlangıç hacmi

Sonuçlar VI cinsinden verilmiş olup şu şekilde sınıflandırılmıştır: i) VI=0 (Hacim artışı yok), ii) VI<25 (Zayıf hacim artışı), iii) VI>25 (Yüksek hacim artışı).

2.2.3.3 Ekzopolisakkarit Üretim Yeteneklerinin Belirlenmesi

LAB izolatları MRS broth besiyerinde geliştirilerek MRS broth besiyerine %2 oranında inoküle edilmiş ve 30°C’ de 2 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra EPS’nin ekstraksiyonu için örneklerden yaklaşık 10’ar mL alınarak santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler, örneklerde bulunan hücrelerin ayrılabilmesi amacıyla 20°C’de 5000 rpm’de 20 dk santrifüjlenerek süpernatantları alınmıştır. EPS’ in çöktürülmesi amacıyla %95’lik etanol ile bire beş (1/ 5) oranında karıştırılıp, etil alkol ile hazırlanmış olan karışım 4°C ve 5000 rpm’de 20 dk süreyle santrifüjlenmiştir.

Bu işlemle EPS’nin dipte tortu olarak çökmesi sağlanmıştır. Santrifüjleme işleminden sonra tüpler tartılmış, 60°C’de kurutulmuş ve kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Ardından tüpler tamamen temizlenerek aynı sıcaklıkta kurutulmuş ve daraları alınmıştır. EPS miktarı, son kütlenin başlangıç hacmine oranı üzerinden hesaplanarak g/L cinsinden ifade edilmiştir (Bölükbaşı, 2007).

2.2.3.4 Farklı pH Değerlerinde Gelişme

Farklı pH değerlerinde gelişim için, 1 M HCl kullanılarak pH 3,0; 3,5 ve 4,0 değerlerine ayarlanmış ve aktiveleştirilen LAB kültürlerinden 3 log KOB/mL

oranında MRS broth besiyerine inoküle edilmiştir. Aktifleştirilen LAB kültürlerinden 3 log KOB/mL oranında ekim yapılmıştır.

Pozitif kontrol için pH'sı değiştirilmemiş (pH=6,0) MRS broth besiyerine 3 log KOB/mL oranında ekim yapılmış ve 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonunda absorbans değerleri 600 nm değerinde spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Bu bağlamda 96 izolatu aynı anda analiz etmek için Mikroplaka Okuyucu cihazı (Allsheng AMR-100T, Çin Halk Cumhuriyeti) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar Bevilacqua vd. (2009) tarafından önerildiği gibi gelişim indeksi (GI) olarak hesaplanmıştır (2.2).

$$GI = (Abs_s / Abs_c) * 100 \quad (2.2)$$

Abs_s: İzolatların farklı pH, sıcaklık ve NaCl konsantrasyonlarındaki absorbans değeri,

Abs_c: Pozitif kontrolün absorbans değeri

GI değeri şu şekilde sınıflandırılmıştır (Bevilacqua vd., 2009). GI<%25 LAB inhibisyonu, %25<GI<%75 orta derecede gelişim, GI>%75 gelişim pozitif kontrol ile aynı gelişim.

2.2.3.5 Farklı Laktik Asit Konsantrasyonlarında Gelişme

Farklı laktik asit değerlerinde gelişim için MRS broth besiyeri kullanılarak %1,2 ve %1,8 oranlarında laktik asit eklenmiş ve 3 log KOB/mL LAB inoküle edilerek 30°C'de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır.

Pozitif kontrol için pH'sı değiştirilmemiş MRS broth besiyerine 3 log KOB/mL oranında ekim yapılmış ve 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Absorbans değerleri 48 saat sonunda 600 nm dalga boyunda mikropilaka okuyucuda ölçülmüştür. Sonuçlar Bölüm 2.2.3.5'te verilen eşitliğe göre hesaplanmış ve GI değerlerine çevrilerek verilmiştir.

2.2.3.6 Farklı Asetik Asit Konsantrasyonlarında Gelişme

İzolatların asetik asit dirençlerinin belirlenmesi için MRS broth besiyerine %0,30 ve %0,45 asetik asit eklenmiş ve aynı koşullarda inkübasyona bırakılmıştır.

Pozitif kontrol için MRS broth besiyerine 3 log KOB/mL oranında ekim yapılmış ve 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Absorbans değerleri 48 saat

sonunda mikropkaka okuyucuda 600 nm dalga boyunda ölçölmüştür. Sonuçlar Bölüm 2.2.3.5’te verilen eşitliğe göre hesaplanmış ve GI değerklerine çevrilerek verilmiştir.

2.2.3.7 Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme

Tuz konsantrasyonunda gelişim için MRS broth besiyeri kullanılarak tuz konsantrasyonu, %2,0; 3,0 ve 4,0 w/v ayarlanmıştır. Aktifleştirilen LAB költürlerinden 3 log KOB/mL oranında ekim yapılmıştır.

Pozitif kontrol için NaCl ilave edilmemiş MRS broth besiyerine 3 log KOB/mL oranında ekim yapılmış ve 30°C’de inkübasyona bırakılmıştır. Absorbans değerkleri 48 saat sonunda 600 nm dalga boyunda mikropkaka okuyucuda ölçölmüştür. Sonuçlar Bölüm 2.2.3.5’te verilen eşitliğe göre hesaplanmış ve GI değerklerine çevrilerek verilmiştir.

2.2.3.8 İstatistiksel Analizler

Teknolojik özellikleri belirlenen izolatlar arasındaki istatistiksel farklar Temel Bileşen Analizi (TBA) ile belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler için XLSTAT TM Software (Addinsoft, Paris, Fransa) programı kullanılmıştır. Bu analizin yapılabilmesi için kantitatif değerkler (farklı tuz konsantrasyonlarında, pH’larda gelişme ve organik asit konsantrasyonlarında gelişme, asitlik ilerletme, hamuru kabartma yeteneğı, EPS üretme potansiyeli) belirlenmiştir. Bu değerklere üç farklı kod (0,1,2) verilerek verilerin dönüşümü sağlanmıştır. Bu verilerin işlenmesi için kullanılacak kalitatif kodlar, Tablo 2.2’de verilmiştir. Bu kodlar giriş verileri olarak girilerek Pearson yöntemi uygulanmıştır. Elde edilen TBA grafikleri üzerinden teknolojik olarak öne çıkan maya suşları belirlenmiştir.

Tablo 2.2. TBA analizi için veri dönüşümleri

Kantitatif analizler*				Kodlar
GI<%25	$\Delta pH < 1,00$	EPS<1,0	VI= 0	0
%25<GI<%75	$1,00 < \Delta pH < 1,50$	$1,0 < EPS < 10,0$	VI<%25	1
GI>%75	$\Delta pH > 1,50$	EPS>10,0	VI> %25	2

*GI: Gelişme İndeksi; ΔpH : pH değışimi; EPS: Ekzopolisakkarit üretme kapasitesi; VI: hamuru kabartma yeteneğı.

2.2.4 LAB’nin Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

Temel bileşen analizi sonucunda belirlenen teknolojik olarak üstün suşlar ($n=16$) ve kontrol olarak seçilen *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), çeşitli in-vitro probiyotik özellikler açısından değerlendirilmiştir.

2.2.4.1 Antibiyotik Direncinin Belirlenmesi

Probiyotik özelliklerin belirlenmesinden önce tüm suşlar çeşitli antibiyotiklere karşı (ampisilin, kloramfenikol, klindamisin, eritromisin, gentamisin, streptomisin, tetrasiklin ve vankomisin) direnci mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir (ISO 10932, 2010). Değerlendirme, FEEDAP Paneli tarafından belirlenen cut-off değerleri göz önüne alınarak gerçekleştirilmiştir (EFSA-FEEDAP, 2018).

2.2.4.2 pH 2,5 ve %0,3 Safra Tuzu Varlığında Gelişme

İzolatlarının pH 2,5'te ve %0,3 safra tuzu varlığında gelişimlerini belirlemek için pH 2,5'a ayarlanmış ve %0,3 safra tuzu ilave edilmiş MRS broth besiyerleri kullanılmıştır. Bütün izolatlar 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 3. ve 24. saatlerde canlı kalma oranlarını belirlemek için MRS agar kullanılarak sayım yapılmıştır. Sonuçlar hayatta kalma indeksi olan VI cinsinden hesaplanmıştır.

$$VI=(\log N_t/\log N_0)*100 \quad (2.3)$$

2.2.4.3 Otoagregasyon Özelliklerinin Belirlenmesi

İzolatların oto-agregasyon yüzdesinin belirlenmesi Gil-Rodriguez vd. (2015)'e göre gerçekleştirilmiştir. Özetle, LAB izolatları MRS broth besiyerinde 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra santrifüjlenmiş ve iki kez steril %0,9'luk NaCl ile yıkanmıştır. Elde edilen pellet, 1,2 mL'lik aynı çözeltide tekrar süspanse edilerek tek kullanımlık bir küvete aktarılmış ve 0., 3. ve 24. saatlerde spektrofotometre (OD₆₀₀) ile ölçülmüştür. Oto-agregasyon yüzdesi aşağıda belirtilen eşitliğe göre hesaplanmıştır (2.4).

$$OY: [1-(A2/A1)] * 100; \quad (2.4)$$

OY: Otoagregasyon yüzdesi,

A2: İnkübasyon sonucunda ölçülen değer,

A1: Başlangıçta ölçülen değer.

Sonuçların değerlendirilmesinde Menezes vd. (2020) tarafından önerilen aralıklar kullanılmış ve OY değeri %60'tan daha büyük olanların yüksek, %30-60 arasında olanların orta ve %30'dan düşük olanların ise düşük oto-agregasyon etkinliğine sahip olduğu varsayılmıştır.

2.2.4.4 Hidrofobik Özelliklerinin Belirlenmesi

Hidrofobik aktivite ksilene bağlanma yeteneği olarak ölçülmüştür. Konsantrasyonu 0,5 McFarland değerine ayarlanan aktif kültürlerin absorbans değeri 600 nm'de ölçülmüştür (A1). Daha sonra 3 mL LAB süspansiyonu, 1 mL ksilen ile karıştırılmış, 15 dk ön inkübasyona tabi tutulmuş, 2 dakika vortekslenmiş ve iki fazı ayırmak için 37°C'de 20 dk inkübe edilmiştir. Son olarak, sulu faz toplanmış ve 600 nm'de optik yoğunluk ölçülmüştür (de Lima vd., 2017). Hidrofobisite İndeksi (HPBI) aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır (A2) (2.5):

$$\%HI = [(A1) - (A2) / (A1)] \times 100 \quad (2.5)$$

Sonuçlar yüzde olarak ifade edilmiş ve şu şekilde değerlendirilmiştir:

- (i) hidrofobik olmayan (HPBI=0),
- (ii) düşük hidrofobik aktivite (HPBI<50) ve
- (iii) son derece hidrofobik (HPBI>50) (Perricone vd., 2014).

2.2.4.5 Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Bu analizde nokta ekim yöntemi kullanılmış olup *Listeria monocytogenes* ATCC 13932, *L. innocua* ATCC 33090, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *S. carnosus* NRL 14760, *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* O157:H7 KUEN 1461, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 ve *Salmonella* Abony NRL 6017 suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite incelenmiştir. Sonuçlar güçlü inhibisyon (>5 mm), zayıf inhibisyon (1 mm <zona <5 mm) ve inhibisyon yok (0 mm) olarak ifade edilmiştir (Jacobsen vd., 1999).

2.2.4.6 Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Antioksidan aktivite (AOA), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) süpürme kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla tüm hücre (IC) ve hücresiz süpernatant (Cell-free-süpernatant; CFS) için belirlenmiştir. IC elde etmek için, pellet 10^8 log KOB/mL elde etmek için iki kez PBS ile yıkanmıştır. CFS'nin hazırlanması için ise hücreler, 200 W çıkış gücüne ve 20 kHz frekansa sahip bir sonikatör (Sonopuls HD

2200, Bandelin Electronic GmbH; Co. KG) ile parçalanmıştır. Numuneler, kontrollü bir sıcaklığı korumak için bir buz banyosuna daldırılırken toplam 10 dk boyunca sonikasyona tabi tutulmuştur. Aşırı ısınmayı önlerken etkili hücre parçalanmasını sağlamak için sonikasyon, %70 güçte 5 saniyelik darbelerle gerçekleştirilmiştir. Hücre fraksiyonları santrifüjleme (10.000 × g, 15 dk, 4°C) ile uzaklaştırılmıştır. Daha sonra, 800 µL IC ve CFS, 1 mL 0,2 mmol/L 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil çözeltisi ile karıştırılmış ve karanlık oda sıcaklığında 30 dk boyunca inkübe edilmiştir. DPPH süpürme kapasitesi 517 nm'de absorbans ölçülerek belirlenmiştir. AOA sonuçları aşağıdaki gibi hesaplanmıştır (2.6) (Chen vd., 2014):

$$\text{DPPH süpürme kapasitesi} = [1 - A_{517}(\text{örnek}) / A_{517}(\text{blank})] * 100 \quad (2.6)$$

Sonuçlar yüzde olarak ifade edilmiştir ve şu şekilde değerlendirilmiştir:

- (i) düşük aktivite (AOA < 20),
- (ii) orta aktivite (20 < AOA < 30) ve
- (iii) yüksek aktivite (AOA > 30) (Gil-Rodríguez vd., 2015).

2.2.4.7 Temel Bileşen Analizi

Probiyotik özellikleri belirlenen izolatlar arasındaki istatistiksel farklar Temel Bileşen Analizi ile belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler için XLSTAT TM Software (Addinsoft, Paris, Fransa) programı kullanılmıştır. Bu analizin yapılabilmesi için kantitatif değerler kalitatif değerlere (0, 1, 2) dönüştürülmüştür sağlanmıştır. Bu verilerin işlenmesi için kullanılan kalitatif kodlar, Tablo 2.3'te verilmiştir.

Tablo 2.3. TBA için veri dönüşümleri

Kantitatif analizler*				Antimikrobiyal aktivite	Kodlar
VI < %40	OY < 30	AOC < 10	HPBI = 0	-	0
%40 < VI < %70	30 < OY < 60	10 < AOC < 20	HPBI < 50	+	1
VI > %70	OY > 60	AOC > 20	HPBI > 50	++	2

*VI: Hayatta kalma İndeksi; OY: Oto-agregasyon yüzdesi; AOC: Antioksidan kapasite; HPBI: Hidrofobik indeks; -: Zon çapı yok, +: <15 mm, ++: >15 mm

2.2.4.8 Simüle Edilmiş Gastrointestinal Sistemde Hayatta Kalma

Temel bileşen analizi ile değerlendirilen probiyotik karakterizasyon açısından üstün LAB suşları, Bonatsou vd. (2018) tarafından açıklanan protokole

göre gastrik sindirime (GD) ve pankreatik sindirime (PD) tabi tutuldu. Gastrik sıvı pH 2,0'da pepsin (0,0133 g/L) ve lizozim (0,01 g/L) ilave edilmiş asidik bir tamponda hazırlanmıştır. Aktifleştirilmiş LAB kültürleri başlangıç inokülasyon sayıları yaklaşık 10^8 log KOB/mL olarak ayarlanmıştır. İnkübasyon, orbital bir çalkalayıcıda 37°C'de 2,5 saatte boyunca gerçekleştirilmiştir. İnkübasyondan sonra seri dilüsyonlar hazırlanarak MRS (Merck, Darmstadt, Almanya) Agar'a ekilmiş ve inkübasyondan sonra sayılmıştır.

Simüle edilmiş pankreas sıvısı pH 8,0'da safra tuzları (3,0 g/L) ve pankreatin (0,1 g/L) ile zenginleştirilmiş bir tamponda hazırlanmıştır. Gastrik sıvıdan toplanan hücreler başlangıç inokülasyonu olarak kullanılmıştır. İnkübasyonun ilk sayımları MRS agar' da gerçekleştirilmiştir. Pankreas sıvısında inkübasyon ise orbital çalkalayıcıda 37°C'de 3,5 saat boyunca gerçekleştirilmiş olup sayımları MRS' de gerçekleştirilmiştir. Canlılık oranları (survival rate), deneme başlangıcındaki ilk sayımlar ile simüle edilmiş pankreas sindiriminin sonunda elde edilenlerin karşılaştırılmasıyla hesaplanmıştır.

Sonuçlar canlılık indeksi (VI) olarak ifade edilmiş ve şu şekilde değerlendirilmiştir:

- (i) VI < 40 zayıf canlılık,
- (ii) 40 < VI < 70 orta canlılık ve
- (iii) VI > 70 yüksek canlılık (Perricone vd., 2014).

2.2.5 Ekşi Hamur ve Ekmek Üretimi

2.2.5.1 Ekşi Hamur İçin Kültür Kombinasyonları

Ekşi hamur üretimi için kullanılacak LAB suşları teknolojik ve probiyotik olarak üstün bulunan multifonksiyonel suşlar arasından seçilmiştir. Buna göre LAB suşları arasından *Lb. brevis* L62.2 ve *L. plantarum* L7.8 suşları seçilmiştir. Maya suşu Tip I Ekşi Hamur Mikrobiyotasından 'Maya ve Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu, Genetik Karakterizasyonu, Teknolojik ve Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Ekmek Üretiminde Kullanım Olanaklarının Araştırılması' başlıklı Tubitak 1001 projesi kapsamında multifonksiyonel özellikleri incelenerek üstün bulunan *S. cerevisiae* M33T1-2 suşu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekmek denemelerinde kullanılan suşlar ve suş kombinasyonları Tablo 2.4'te verilmiştir.

Tablo 2.4. Ekmek denemesi için seçilen suşlar

Ekmek kodu	Kültür kombinasyonu
E1	Kontrol (Pakmaya® tip III ekşi hamur preparatı)
E2	<i>S. cerevisiae</i> M33T1-2 + <i>L. plantarum</i> L7.8
E3	<i>S. cerevisiae</i> M33T1-2 + <i>L. brevis</i> L62.2
E4	<i>S. cerevisiae</i> M33T1-2 + <i>L. plantarum</i> L7.8 + <i>L. brevis</i> L62.2

2.2.5.2 Ekşi Hamur ve Ekmek Üretimi

Ekmek üretimi Pakmaya A.Ş. tarafından uygulanan standart ekmek üretim prosedürüne göre gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ilk olarak ön ekşi için hamur hazırlanarak başlanılmıştır. Bunun için, 50 g beyaz una ilk olarak yaklaşık 10^{7-8} KOB/g LAB eklenerek inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda LAB sayısının yaklaşık 10^{10-11} KOB/g olması hedeflenmiştir. Daha sonra ön ekşi hazırlanmıştır. Bunun için 500 g un, 500 mL su ve hazırlanan LAB içeren hamur karıştırılarak 24 saat boyunca 30°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda elde edilen ön ekşi hamura 1,0 McFarland maya kültürü ilave edilerek 3 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra ekşi maya elde edilmiştir. Elde edilen ekşi maya 500 g un ve 500 mL su ile hazırlanan karışıma ilave edilerek ekmek hamuru oluşturulmuştur. Hazırlanan ekmek hamuru alt sıcaklığı 180°C, üst sıcaklığı 195°C olan fırında pişirilmiştir. Ekmekler oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra analizleri yapılmıştır.

2.2.6 Ekşi Hamur, Ekmek Hamuru ve Ekmekte Yapılan Analizler

2.2.6.1 pH ve Titrasyon Asitliğinin Belirlenmesi

On gram örnek 90 mL distile suyun içerisinde karıştırılarak pH değeri dijital bir pH metre ile ölçülmüştür. Titrasyon asitliği ise 0,1 N NaOH kullanılarak örneğin pH 8,2'ye kadar titre edilmesi ile hesaplanmıştır. Sonuçlar laktik asit cinsinden g/L olarak verilmiştir. Ekşi hamur ile ekmeklerin pH ve titrasyon asitliği değerleri başlangıçta, 24 saat sonunda ve ekmek üretimi için yapılacak 3 saatlik fermentasyon işlemi ile ekmek üretimi sonrasında yapılmıştır (Kevser, 2017).

2.2.6.2 Maya ve LAB Sayılarının Belirlenmesi

Maya ve LAB sayımları 2.2.1.1’de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Sayım işlemleri hazırlanan ekşi hamurun 0. saatinde, 24 saatlik fermentasyon sonunda ve maya ilavesi yapılarak elde edilen ekşi maya hamurunun 3 saatlik fermentasyonu sonunda yapılmıştır.

2.2.6.3 Ekşi Hamurda Uçucu Bileşen Analizi

Farklı kültür kombinasyonları kullanılarak hazırlanan ekşi hamur örneklerinin uçucu aroma bileşenleri Settanni vd. (2013) tarafından önerilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. GC/MS cihazında katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) izolasyon yöntemi kullanılmıştır. Fermente edilen hamur örneklerinde uçucu bileşenlerin analizi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Bilimsel, Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi (BETUM)’nden hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Uçucu aroma bileşenlerinin eldesi için her numuneden yaklaşık 3 g alınarak bir şişe içinde 30°C’de 30 dk süreyle ısıtılmıştır. İnkübasyon sonunda şişenin ağız boşluğunda toplanan bileşenler bir fiber (85 µm Carboxen\PDMS) ile toplanmıştır. Bu fibre direkt olarak GC/MS cihazına yerleştirilerek ayırma işlemi başlatılmıştır. Ayırmada uygulanan sıcaklık programı: 40°C’de 4 dk; dakikada 3°C artış ile 90°C’ye çıkış; dakikada 4°C artış ile 130°C’ye çıkış; dakikada 5°C artış ile 240°C’ye çıkış ve bu sıcaklıkta 8 dk bekleme. Taşıyıcı gaz olarak helyum gazı 1,0 mL/dk sabit akış hızında kullanılmıştır. Uçucu bileşenlerin tanımlanması, Ulusal Standartlar ve Teknoloji Enstitüsü (NIST 14L) referans kitaplığı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Boyacı-Gündüz, 2018).

2.2.6.4 Ekmeklerin Tekstür Analizi

Üretilen ekmeklerin tekstür analizleri Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Yenilikçi Gıda Teknolojileri Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi (YENİGIDAM)’nden hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. Analizler Gül vd. (2021) tarafından rapor edilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre üretilen her ekmek numunesinden uygun prob yardımıyla sertlik (hardness), esneklik (springiness), yapışkanlık (cohesiveness) ve çiğnenme (chewiness) değerleri tekstür analiz cihazı (TA.HD Plus, İngiltere) kullanılarak belirlenmiştir.

2.2.6.5 Duyusal Analiz

Ekmeklerin renk, koku, gözenek yapısı, tekstür, çiğnenebilirlik, lezzet ve genel beğeni özellikleri bakımından değerlendirilmeleri Özülkü (2017) tarafından uygulanan duyusal analiz yöntemi esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Analizler 10 gönüllü panelistle ve analiz öncesinde gerekli bilgilendirmeler yapılarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre pişirme işlemi sonrasında ekmekler soğutulan numunelere farklı üç haneli kodlar verilerek, her paneliste aynı anda servis edilmiştir. Ekmek numunelerinin dış kabuk rengi, iç rengi, tadı ve aroması, yabancı

tat ve kokusu, gözenek yapısı, dokusu, çiğnenebilirliği ve genel olarak değerlendirilmeleri istenilmiştir. Her bir parametre için değerlendirmeler 1 (Son derece kötü) ile 7 (Mükemmel) olacak şekilde puanlandırılmıştır.



2.2.6.6 İstatistiksel Analizler

Ekşi hamur ve ekmekte yapılan analizler neticesinde elde edilen veriler JMP Pro 16.0 programı kullanılarak analiz edilmiştir. Gruplar arasındaki zamana bağlı değişimler ve grupların kendi arasındaki Tukey çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir. Önem seviyesi $P<0.05$ olarak alınmıştır.



3. BULGULAR

3.1 Ekşi Hamur Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Bu çalışma kapsamında analize alınan 65 adet ekşi hamur örneğine ilişkin LAB ve maya sayıları Tablo 3.1’de detaylı bir şekilde verilmiştir. Buna göre LAB sayısı 8.04-9.73 log KOB/g arasında değişmekle beraber ortalama olarak 9.31 ± 0.39 log KOB/g düzeyinde tespit edilmiştir. Maya sayılarının ise 5.61-7.72 log KOB/g arasında değiştiği, ortalama değerin ise 7.05 ± 0.48 log KOB/g olduğu görülmektedir.

Tablo 3.1. Ekşi hamurlara ait mikrobiyolojik sayım sonuçları

Örnek No	LAB (KOB/g)	LAB (Log KOB/g)	Maya (KOB/g)	Maya (Log KOB/g)	LAB/Maya
1	2.9×10^9	9.46	2.8×10^7	7.44	103/1
2	2.5×10^8	8.39	4.1×10^5	5.61	609/1
3	2.3×10^9	9.36	2.2×10^7	7.34	105/1
4	2.8×10^9	9.45	2.1×10^7	7.32	133/1
5	4.9×10^9	9.69	2.1×10^7	7.32	233/1
6	2.9×10^9	9.46	2.6×10^7	7.41	111/1
7	2.8×10^9	9.45	1.2×10^7	7.07	233/1
8	2.8×10^9	9.45	2.8×10^7	7.44	100/1
9	2.0×10^8	8.30	1.6×10^6	6.20	125/1
10	4.3×10^8	8.63	4.2×10^6	6.62	102/1
11	2.9×10^8	8.46	3.2×10^6	6.51	91/1
12	2.7×10^9	9.43	3.1×10^7	7.49	87/1
13	2.9×10^9	9.46	1.3×10^7	7.11	223/1
14	2.1×10^9	9.32	2.1×10^7	7.32	100/1
15	3.2×10^9	9.50	1.4×10^7	7.15	228/1
16	1.9×10^9	9.28	2.2×10^6	6.34	863/1
17	2.5×10^9	9.40	9.1×10^6	6.96	274/1
18	3.1×10^9	9.49	2.7×10^7	7.43	115/1
19	1.8×10^9	9.25	1.9×10^7	7.27	95/1
20	3.8×10^9	9.58	4.3×10^6	6.63	884/1
21	3.1×10^9	9.49	2.1×10^7	7.32	148/1
22	4.9×10^9	9.69	4.3×10^7	7.63	114/1
23	2.1×10^9	9.32	1.8×10^7	7.25	117/1
24	4.2×10^9	9.62	2.1×10^7	7.32	200/1
25	2.6×10^9	9.41	2.8×10^7	7.45	93/1
26	1.4×10^9	9.15	1.5×10^7	7.18	94/1
27	5.1×10^9	9.70	4.7×10^7	7.67	108/1
28	2.3×10^8	8.36	2.1×10^6	6.32	109/1
29	2.8×10^8	8.45	1.5×10^6	6.17	187/1
30	2.4×10^8	8.38	1.4×10^6	6.15	171/1

Tablo 3.1. (devamı) Ekşi hamurlara ait mikrobiyolojik sayım sonuçları

31	3.0×10^9	9.47	1.9×10^7	7.28	158/1
32	1.9×10^9	9.28	2.0×10^7	7.30	95/1
33	2.6×10^9	9.42	1.2×10^7	7.08	217/1
34	1.8×10^9	9.25	2.9×10^6	6.46	620/1
35	4.8×10^8	8.68	1.1×10^6	6.04	436/1
36	4.1×10^9	9.61	4.0×10^7	7.60	102/1
37	2.8×10^9	9.44	1.9×10^7	7.28	147/1
38	3.6×10^9	9.55	2.2×10^7	7.34	163/1
39	2.7×10^9	9.43	1.5×10^7	7.18	180/1
40	2.8×10^9	9.45	1.0×10^7	7.00	280/1
41	3.8×10^9	9.58	2.9×10^7	7.46	131/1
42	1.1×10^8	8.04	4.1×10^5	5.61	268/1
43	1.8×10^9	9.25	1.6×10^7	7.20	112/1
44	2.7×10^9	9.43	1.2×10^7	7.08	225/1
45	4.0×10^9	9.60	9.3×10^6	6.97	430/1
46	3.1×10^9	9.49	1.5×10^7	7.18	206/1
47	2.4×10^9	9.38	1.4×10^7	7.15	171/1
48	2.6×10^9	9.41	2.4×10^7	7.38	108/1
49	4.4×10^9	9.64	8.0×10^6	6.90	550/1
50	3.4×10^9	9.53	3.9×10^7	7.59	87/1
51	4.8×10^9	9.68	4.3×10^7	7.63	111/1
52	1.7×10^9	9.23	1.1×10^7	7.04	154/1
53	5.4×10^9	9.73	5.2×10^7	7.72	103/1
54	2.4×10^9	9.38	1.2×10^7	7.08	200/1
55	4.4×10^9	9.64	1.3×10^7	7.11	338/1
56	2.7×10^9	9.43	2.6×10^7	7.41	104/1
57	1.9×10^9	9.28	6.8×10^6	6.83	279/1
58	4.8×10^9	9.68	6.0×10^6	6.43	800/1
59	5.3×10^9	9.72	4.2×10^7	7.62	126/1
60	3.0×10^9	9.47	2.7×10^7	7.43	111/1
61	2.6×10^9	9.41	1.4×10^7	7.15	186/1
62	1.8×10^9	9.25	4.8×10^6	6.68	375/1
63	3.3×10^9	9.52	1.3×10^7	7.11	254/1
64	2.8×10^9	9.45	8.2×10^6	6.91	341/1
65	1.1×10^9	9.04	4.2×10^6	6.62	262/1

3.2 Ekşi Hamur Örneklerinin LAB Çeşitliliği

Ekşi hamur örneklerinden izole edilen suşlara biyokimyasal testler uygulanmış; bu kapsamda Gram boyama ve katalaz testleri gerçekleştirilmiştir. Gram pozitif ve katalaz negatif özellik gösteren suşlar mikroskopik olarak incelenmiş, basil formuna sahip olanlar seçilerek ön tanımlama amacıyla MALDI Biotyper sistemi ile tanımlanmıştır. Analiz sonuçlarına göre toplam 75 suştan 22'si sistemin kabul edilebilir doğruluk sınırlarında tanımlanmıştır. Buna göre 12 suş *Companilactobacillus paralimentarius*, 3 suş *Latilactobacillus curvatus*, 3 suş

Lactobacillus kimchii, 2 suş *Lactiplantibacillus plantarum*, 1 suş *Levilactobacillus brevis* ve 1 suş *Weissella viridescens* olarak belirlenmiştir.

3.2.1 16S rRNA Sekans Verilerinin İşlenmesi ve Filogenetik

Analizler

RAPD primerleri kullanılarak elde edilen DNA parmak izlerine göre oluşan farklı grupların 16S rRNA bölgeleri çoğaltılmış ve izolatların tür bazında tanımlaması gerçekleştirilmiştir. Dizi analizleri hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda farklı tür oldukları düşünülen suşlar ile aynı türlere ait olduğu düşünülen fakat tür içi polimorfizm gösteren toplam 31 adet LAB suşu seçilmiştir. Ham sekans verileri MEGA X programı ile düzenlendikten sonra NCBI Web sitesinde yer alan BLASTn algoritması kullanılarak GenBank nükleotit veri tabanındaki türler ile karşılaştırılmıştır. Elde edilen bulgulara göre 31 adet sekans verisinden 8'er adet *Levilactobacillus brevis* ile *Companilactobacillus crustorum*, 5'er adet de *Latilactobacillus curvatus*, *C. paralimentarius* ve *Lactiplantibacillus plantarum* türü tanımlanmıştır. DNA markörleri ile ortaya çıkan profillerin benzer türler için doğrulaması gerçekleştirildiğinden toplamda 350 LAB suşunun 135'i *C. crustorum*, 125 tanesi *L. brevis*, 40'ı *L. curvatus*, 32'si *C. paralimentarius* ve 18'i *L. plantarum* olarak kabul edilmiştir. Tanımlanan türlerin DNA parmak izine göre dağılımı Tablo 3.2'de gösterilmiştir. Tanımlanan 31 türün sekans verisi NCBI veri sistemine kaydedilerek OR640231; OR640255 ile OR646526; OR646531 aralıklarındaki erişim numaraları alınmıştır. İzolatların örneklerle göre dağılımı incelendiğinde; toplam 65 adet ekşi hamur örneğinin 27 tanesinden (%41,5) *Companilactobacillus crustorum*, 24 tanesinden (%36,9) *Levilactobacillus brevis*, 8 tanesinden (%12,3) *Latilactobacillus curvatus*, 4 tanesinden (%6,1) *Companilactobacillus paralimentarius*, 2 tanesinden (%3,6) *Lactiplantibacillus plantarum* suşları olduğu görülmektedir. Farklı ekşi hamut örneklerinden izole edilerek tanımlanan LAB izolatlarının aynı türe ait suşlar olduğu tespit edilmiştir. Tanımlanan LAB türlerinin örneklerle göre dağılımı Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Tanımlanan LAB türlerinin örneklerle göre dağılımı

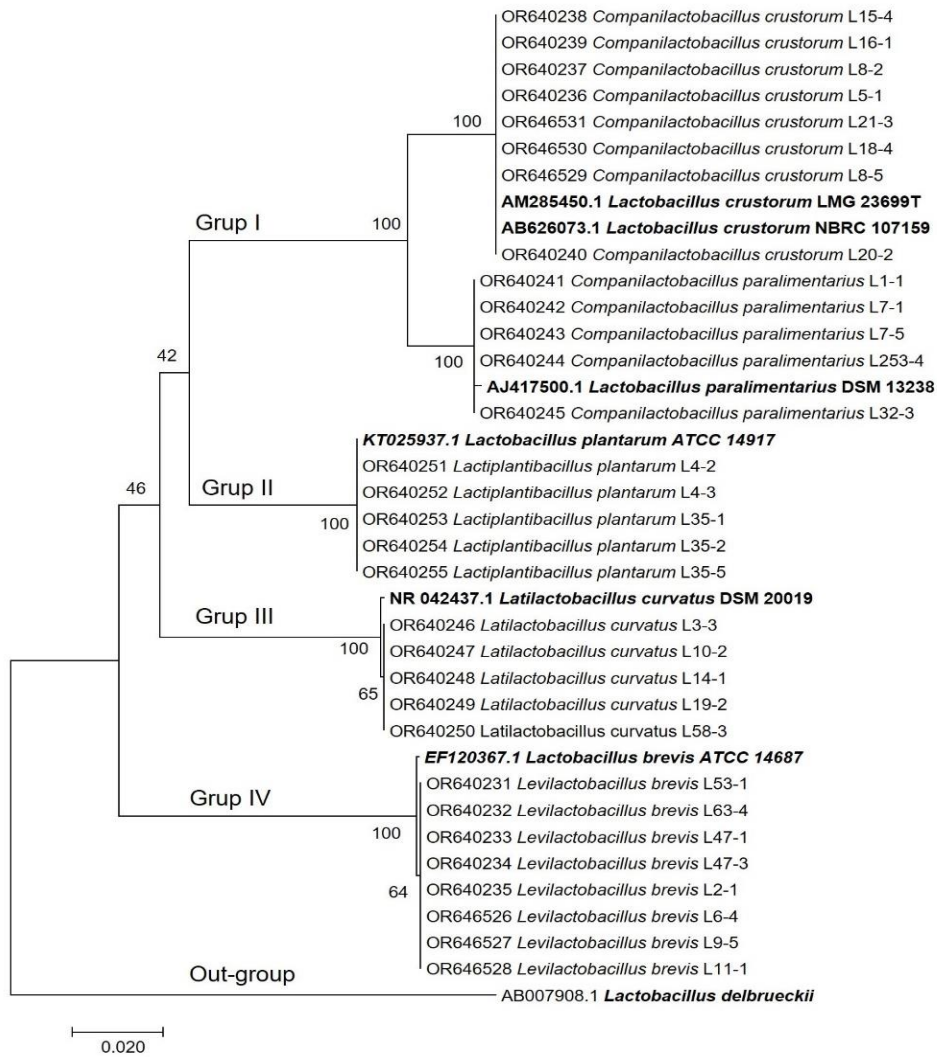
NO	Tanımlanan türler	NO	Tanımlanan türler
1	<i>C. paralimentarius</i>	34	<i>L. brevis</i>
2	<i>L. brevis</i>	35	<i>L. plantarum</i>
3	<i>L. curvatus</i>	36	<i>C. crustorum</i>

Tablo 3.2. (devamı) Tanımlanan LAB türlerinin örneklere göre dağılımı

4	<i>L. plantarum</i>	37	<i>L. brevis</i>
5	<i>C. crustorum</i>	38	<i>C. crustorum</i>
6	<i>L. brevis</i>	39	<i>L. brevis</i>
7	<i>C. paralimentarius</i>	40	<i>L. brevis</i>
8	<i>C. crustorum</i>	41	<i>L. brevis</i>
9	<i>L. brevis</i>	42	<i>C. crustorum</i>
10	<i>L. curvatus</i>	43	<i>C. crustorum</i>
11	<i>L. brevis</i>	44	<i>C. crustorum</i>
12	<i>L. brevis</i>	45	<i>C. crustorum</i>
13	<i>L. brevis</i>	46	<i>C. crustorum</i>
14	<i>L. curvatus</i>	47	<i>L. brevis</i>
15	<i>C. crustorum</i>	48	<i>L. brevis</i>
16	<i>C. crustorum</i>	49	<i>C. crustorum</i>
17	<i>L. brevis</i>	50	<i>C. crustorum</i>
18	<i>C. crustorum</i>	51	<i>L. brevis</i>
19	<i>L. curvatus</i>	52	<i>C. crustorum</i>
20	<i>C. crustorum</i>	53	<i>C. paralimentarius</i>
21	<i>C. crustorum</i>	54	<i>L. brevis</i>
22	<i>C. crustorum</i>	55	<i>L. brevis</i>
23	<i>L. brevis</i>	56	<i>C. crustorum</i>
24	<i>L. brevis</i>	57	<i>C. crustorum</i>
25	<i>L. brevis</i>	58	<i>L. curvatus</i>
26	<i>C. crustorum</i>	59	<i>C. crustorum</i>
27	<i>L. brevis</i>	60	<i>L. brevis</i>
28	<i>C. crustorum</i>	61	<i>C. crustorum</i>
29	<i>L. curvatus</i>	62	<i>L. brevis</i>
30	<i>C. crustorum</i>	63	<i>L. brevis</i>
31	<i>C. crustorum</i>	64	<i>C. crustorum</i>
32	<i>C. paralimentarius</i>	65	<i>L. curvatus</i>
33	<i>L. curvatus</i>		

İzolatların filogenetik ilişkisi, General Time Reversible modeline dayalı Maksimum Olasılık Yöntemi kullanılarak incelenmiştir (Nei ve Kumar, 2000). Analizde her bir tür için NCBI veri sisteminden referans suşların ilgili gen bölgelerine ilişkin sekans verileri indirilerek filogenetik analizlere dahil edilmiştir. Filogenetik analizlere ayrıca çalışmada yer almayan farklı/ grup dışı bir suş (*Lb. delbrueckii* AB007908) referans olarak dahil edilmiştir. Filogenetik analizler türler arasında belirli düzeyde bir polimorfizm ortaya koymuştur. Şekil 3.1’de LAB

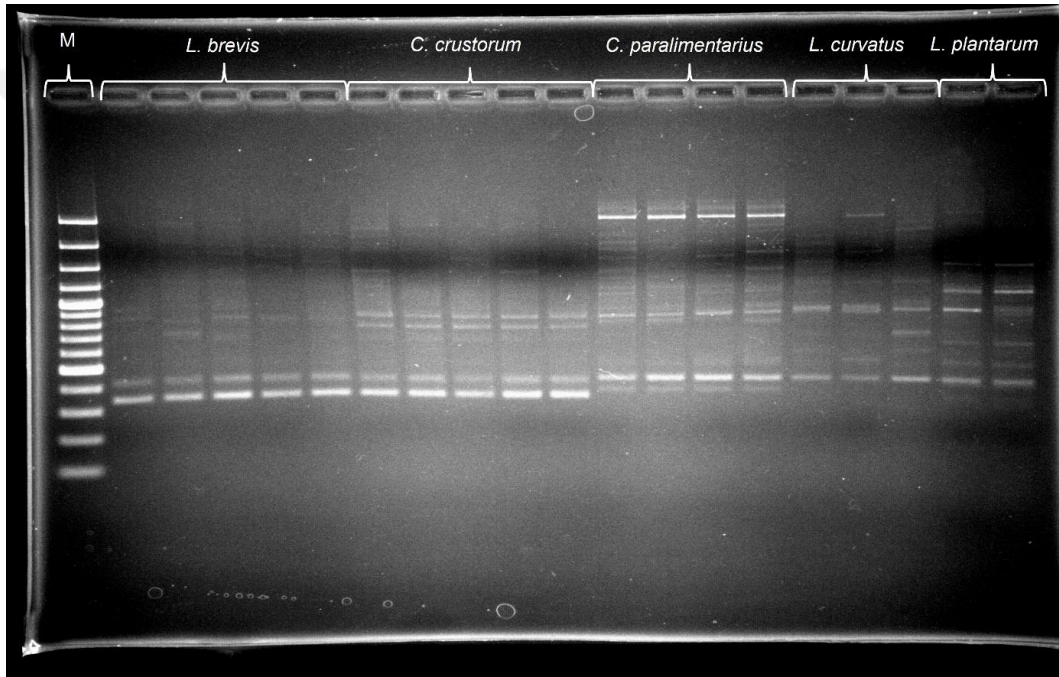
suşlarına ait 16S rRNA bölgelerinin filogenetik ilişkisi gösterilmiştir. Birbirleri ile ilişkili taksonların bir arada kümелendiği ağaçların bootstrap yüzdesi dalların yanında gösterilmiştir. Hesaplanan çoğunluk rolünün topolojisine dayalı olarak, filogenetik ağaç tüm izolatları yüksek bootstrap değerleri (%100) ile dört ana gruba ayrılmış olup gruplar filogenetik ağaç üzerinde gösterilmiştir. Buna göre birinci grup *C. crustorum* ile *C. paralimentarius* türlerinden oluşurken ikinci grup olan *L. plantarum* suşları bu gruptan ciddi bir polimorfizm göstererek ayrılmıştır. Üçüncü grupta *L. curvatus* suşları yer alırken dördüncü grup diğer türlerin tümünden ayrılmıştır.



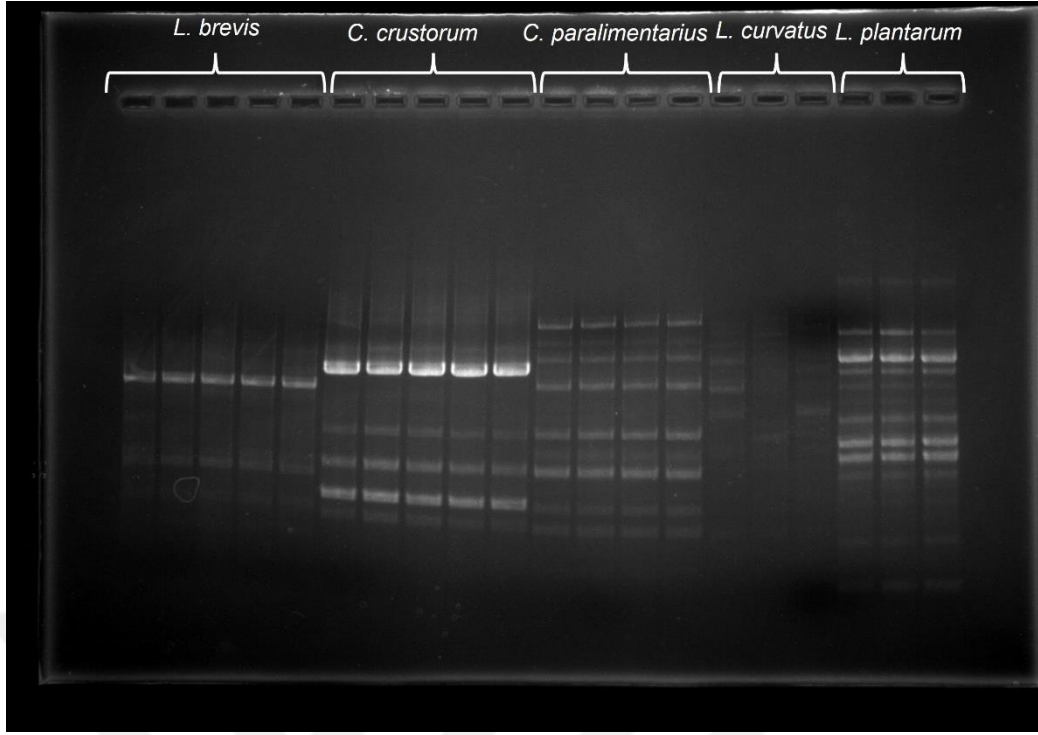
Şekil 3.1. 16S rRNA bölgelerinin filogenetik ilişkisi

3.2.2 RAPD Primerleri ile Amplifikasyon

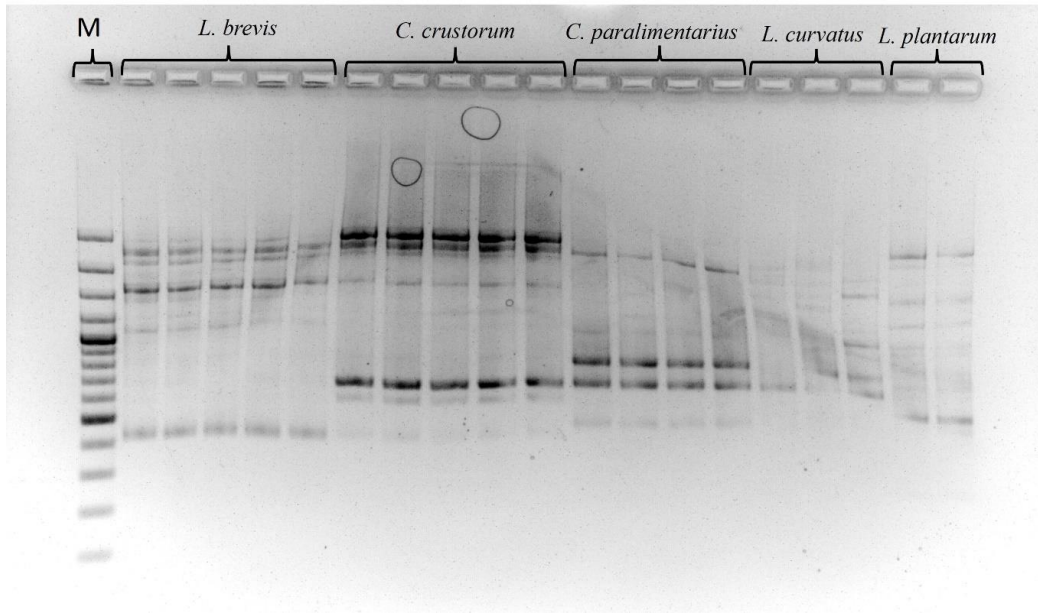
Tespit edilen beş farklı türden temsili izolatlar seçilerek PZR çalışma koşulları P4, P7, M13 ve MV1 primerleri için tekli RD1+OPL-05 ile P1+RD1 için de multipleks olarak test edilmiştir. Bu primer ve primer çiftlerinden sadece P1+RD1 primer çifti için optimizasyon sağlanamamıştır. Toplam 4 primer; P4, P7, MV1, M13 tekli, RD1 ve OPL-05 primer çifti ise multipleks olmak üzere toplam 6 primer ile optimizasyon sağlanmış, böylece 5 farklı skorlanabilir reaksiyon elde edilmiştir. Farklı türlere ilişkin P7, M13 ve RD1+OPL-05 primerlerinden elde edilen bant desenleri sırasıyla Şekil 3.2, 3.3 ve 3.4'te gösterilmiştir.



Şekil 3.2. P7 primeri ile elde edilen farklı türlere ilişkin temsili bant desenleri



Şekil 3.3. M13 primeri ile elde edilen farklı türlere ilişkin temsili bant desenleri



Şekil 3.4. RD1+OPL-05 primerlerinden elde edilen farklı türlere ilişkin temsili bant desenleri

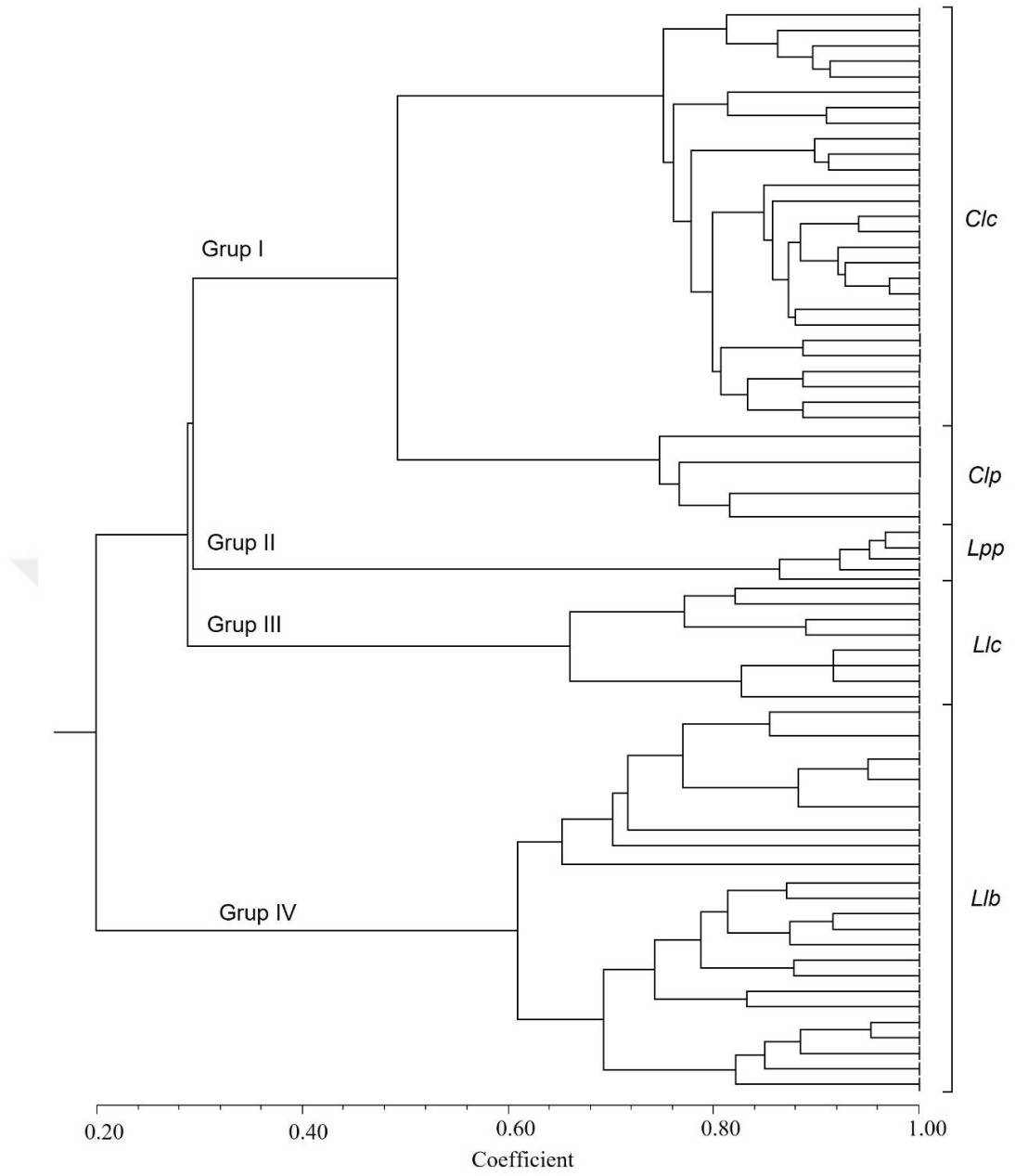
RAPD primerleri 350 LAB izolatu arasındaki genetik varyasyonu değerlendirmek için toplamda 62 tekrarlanabilir ve skorlanabilir bant üretmiştir. Üretilen bantların 57 tanesi polimorfik olup tümüne oranı %91,93 olarak hesaplanmıştır. Primerlerin türleri ayırmada ve polimorfizmi yansıtmadaki göstergeler olan çözme gücü (RP) ile polimorfik bilgi indeksi (PIC) değerleri Tablo 3.3'te verilmiştir. Buna göre en yüksek PIC değeri 4.90 olarak MV1 primerinden elde edilirken, en düşük PIC değeri multipleks reaksiyonda kullanılan RD1 ve OPL5 primerlerinden elde edilmiştir. Bu primer ikilisi sıklıkla kullanılan M13 primerine göre türleri ayırma noktasında daha başarılı sonuçlar verse de tür içi polimorfizmi yansıtmada daha zayıf kalmıştır. Bu tespitler elde edilen PIC ve RP değerleri ile de uyusmaktadır. Elde edilen değerler incelendiğinde kullanılan tüm RAPD primerleri türleri ayırmada ve tür içindeki polimorfizmi yansıtmada yüksek düzeyde bir ayırım sağlamıştır.

Şekil 3.5'te Jaccard'ın benzerlik katsayısı kullanılarak RAPD markörlerinin kümeleme analizlerinden elde edilen UPGMA dendrogramı gösterilmiştir. Analiz sonucu 350 LAB suşu dört ana gruba ayrılmıştır. Elde edilen gruplar 16S rRNA bölgelerinin filogenetik analizinden elde edilen gruplar ile uyumludur.

Tablo 3.3. Kullanılan primerlere ilişkin bazı değerler

Primer	Baz dizilimleri	TB	PB	PIC	RP
P4	F 5'-CCGCAGCGTT-3'	10	10	4,52	7,6
P7	R 5'-AGCAGCGTGG-3'	15	14	3,48	4,89
MV1	GGACGCTTCTG	15	14	4,90	7,2
M13	GAGGGTGGCGTTCT	12	10	3,55	2,88
RD1+ OPL5	GCTTAAGGAGGTGATCCAGCC ACGCAGGCA	10	9	3,20	4,63
	<i>Ortalama/Primer</i>	<i>12,4</i>	<i>11,4</i>	<i>3,93</i>	<i>5,44</i>

*TB: Toplam bant, PB: Polimorfik bant, PIC: polimorfik bilgi indeksi, RP: Çözme gücü.



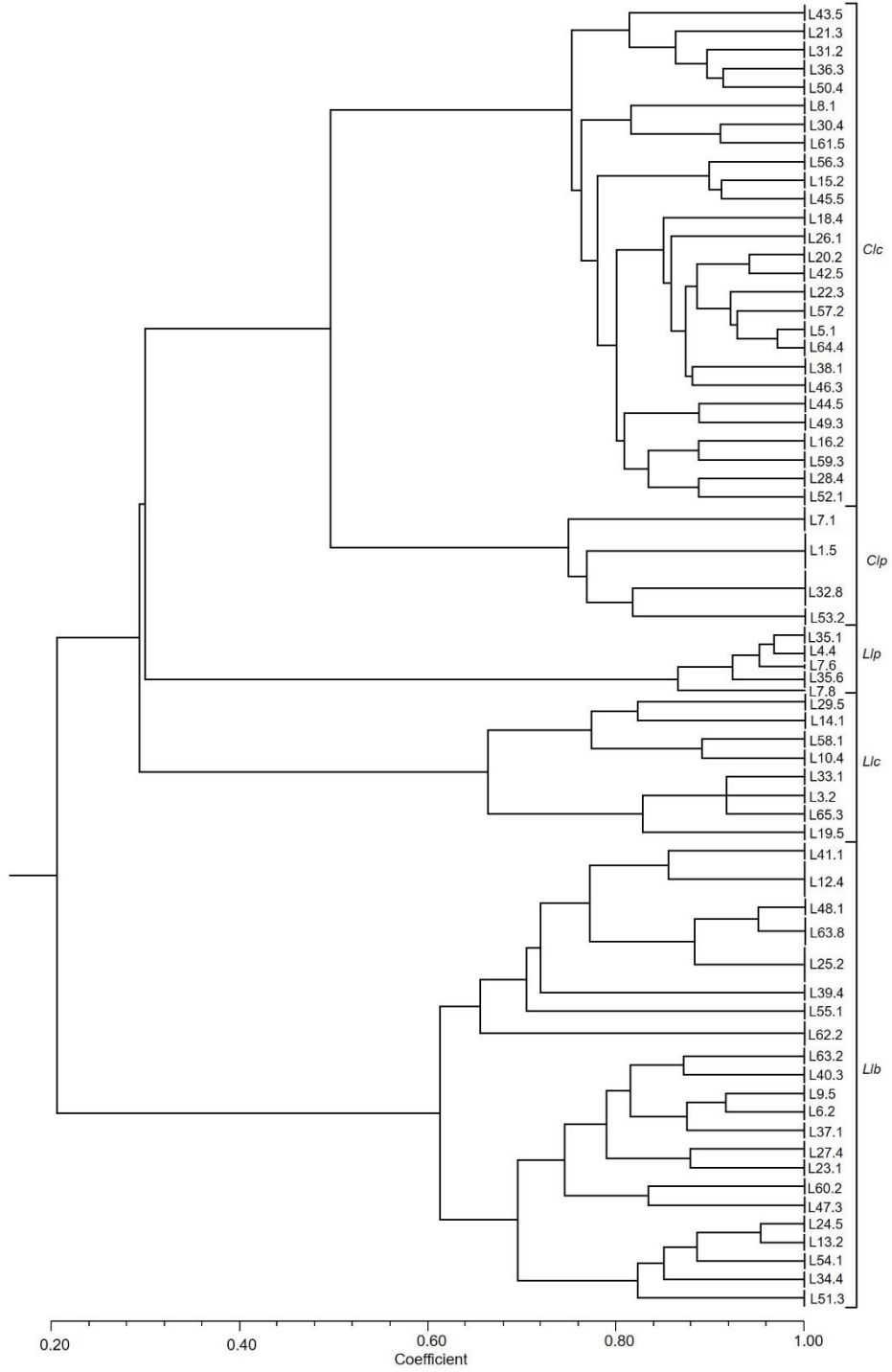
Şekil 3.5. LAB suşlarına ait RAPD'e dayalı UPGMA filogenetik ağacı

*Clc: *Companilactobacillus crustorum*, Clp: *Companilactobacillus paralimentarius*, Lpp: *Lactiplantibacillus plantarum*, Llc: *Latilactobacillus curvatus*, Llb: *Levilactobacillus brevis*

3.2.3 Teknolojik Analizler İçin LAB Suşlarının Belirlenmesi

Farklı genetik uzaklığa sahip suşların belirlenmesinde ilk olarak ikili veri matrisi R paket programı ile analiz edilerek UPGMA dendrogramı elde edilmiştir (şekil 3.7). Elde edilen dendrogramın farklı kollarından MEGA X programı kullanılarak farklı klonları temsil edecek şekilde her bir klondan bir adet olmak üzere toplamda 66 adet endojen LAB suşu seçilmiştir. Bu suşların UPGMA dendrogramı R ile tekrar çizilerek şekil 3.7’de verilmiştir. İki farklı ticari Tip III ekşi hamur preparatından izole edilen 8 LAB suşu 2 farklı tre ayrılmıştır. Bunlardan da TB-1 ve TB-2 kodu ile iki suş da dahil edilerek toplam 68 LAB suşunun teknolojik özellikleri belirlenmiştir.





**Clc*: *Companilactobacillus crustorum*, *Clp*: *Companilactobacillus paralimentarius*, *Lpp*: *Lactiplantibacillus plantarum*, *Llc*: *Latilactobacillus curvatus*, *Llb*: *Levilactobacillus brevis*.

Şekil 3.6. Teknolojik özellikleri belirlenecek LAB suşlarının UPGMA dendrogramı

3.3 LAB Suşlarının Teknolojik Analiz Bulguları

3.3.1 LAB Suşlarının pH 'ya Etkisi

LAB suşlarının sekiz saatlik süre boyunca göstermiş oldukları pH değişimleri Tablo 3.4'te verilmiştir. Kültürlerin bulunduğu ortama ait başlangıç pH değerleri 5,70-5,90 aralığında değişmektedir.

Tablo 3.4. LAB suşlarına ait sekiz saatlik pH değişimleri

Suş Kodu	Tür	ΔpH
L43.5	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L21.3	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L31.2	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L36.3	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L50.4	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L8.1	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L30.4	<i>C. crustorum</i>	$1,00 < \Delta pH < 1,50$
L61.5	<i>C. crustorum</i>	$1,00 < \Delta pH < 1,50$
L56.3	<i>C. crustorum</i>	$1,00 < \Delta pH < 1,50$
L15.2	<i>C. crustorum</i>	$1,00 < \Delta pH < 1,50$
L45.5	<i>C. crustorum</i>	$1,00 < \Delta pH < 1,50$
L18.4	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L26.1	<i>C. crustorum</i>	$1,00 < \Delta pH < 1,50$
L20.2	<i>C. crustorum</i>	$1,00 < \Delta pH < 1,50$
L42.5	<i>C. crustorum</i>	$1,00 < \Delta pH < 1,50$
L22.3	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L57.2	<i>C. crustorum</i>	$1,00 < \Delta pH < 1,50$
L5.1	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L64.4	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L38.1	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L46.3	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L44.5	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L49.3	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L16.2	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L59.3	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L28.4	<i>C. crustorum</i>	$1,00 < \Delta pH < 1,50$
L5.2	<i>C. crustorum</i>	$\Delta pH < 1,00$
L7.1	<i>C. paralimentarius</i>	$\Delta pH < 1,00$
L1.5	<i>C. paralimentarius</i>	$\Delta pH < 1,00$
L32.8	<i>C. paralimentarius</i>	$\Delta pH < 1,00$
L53.2	<i>C. paralimentarius</i>	$\Delta pH < 1,00$
L35.1	<i>L. plantarum</i>	$\Delta pH > 1,5$
L4.4	<i>L. plantarum</i>	$\Delta pH > 1,5$
L7.6	<i>L. plantarum</i>	$\Delta pH > 1,5$
L35.6	<i>L. plantarum</i>	$\Delta pH > 1,5$
L7.8	<i>L. plantarum</i>	$\Delta pH > 1,5$
L29.5	<i>L. curvatus</i>	$\Delta pH < 1,00$
L14.1	<i>L. curvatus</i>	$\Delta pH < 1,00$

Tablo 3.4. (devam) LAB suşlarına ait sekiz saatlik pH değişimleri

L58.1	<i>L. curvatus</i>	1,00< Δ pH <1,50
L10.4	<i>L. curvatus</i>	1,00< Δ pH <1,50
L33.1	<i>L. curvatus</i>	1,00< Δ pH <1,50
L3.2	<i>L. curvatus</i>	1,00< Δ pH <1,50
L65.3	<i>L. curvatus</i>	Δ pH<1,00
L19.5	<i>L. curvatus</i>	1,00< Δ pH <1,50
L4.1	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L12.4	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L48.1	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L63.8	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L25.2	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L39.4	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L55.1	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L62.2	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L63.2	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L40.3	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L9.5	<i>L. brevis</i>	Δ pH<1,00
L6.2	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L37.1	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L27.4	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L23.1	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L60.2	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L47.3	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L24.5	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L13.2	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L54.1	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L34.4	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
L51.3	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
TB-1	<i>L. brevis</i>	1,00< Δ pH <1,50
TB-2	<i>L. plantarum</i>	Δ pH>1,5

* Δ pH: pH değişimi

L. plantarum TB-2 ticari suşu dahil olmak üzere tüm *L. plantarum* suşları pH değerini 1,5 birimden fazla düşürmüştür (Δ pH>1,5). Analize alınan suşlar içerisinde 37 tanesi pH değerini orta derecede azaltmış (1,00< Δ pH<1,50); geri kalan suşlar ise pH değerinde düşük bir azaltma meydana getirmiştir (Δ pH<1,00).

Çalışmada yer alan *C. crustorum* suşları, asidifikasyonunu kapasitelerine göre sınıflandırıldığında, önemli düzeyde fenotipik çeşitlilik gösterdikleri belirlenmiştir. Toplam 27 suşun %63'ü (17 suş), 8 saatlik inkübasyon süresi sonunda ortamın pH değerinde 1.00 birimden daha az düşüş gerçekleştirmiş (Δ pH <1,00) ve bu durum zayıf asit üretim kapasitesi olarak değerlendirilmiştir. Bu gruba dahil olan suşlar L43.5, L21.3, L31.2, L36.3, L50.4, L8.1, L18.4, L22.3, L5.1, L64.4, L38.1, L46.3, L44.5, L49.3, L16.2, L59.3 ve L5.2 suşlarıdır. Buna karşılık suşların %37'si (10 suş) ise 1.00 ile 1.50 aralığında pH düşüşü (1,00< Δ pH<1,50) sağlayarak orta düzeyde asidifikasyon kapasitesine sahip olduğunu ortaya

koymuştur. Bu grupta ise L30.4, L61.5, L56.3, L15.2, L45.5, L26.1, L20.2, L42.5, L57.2 ve L28.4 suşları yer almaktadır.

Dört farklı *C. paralimentarius* suşunun asidifikasyonunu incelendiğinde, tamamının zayıf düzeyde asit üretim kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. L7.1, L1.5, L32.8 ve L53.2 numaralı suşlar, 8 saatlik inkübasyon sonunda ortamın pH değerinde 1.00 birimden daha az ($\Delta pH < 1,00$) düşüş gerçekleştirmiştir.

Sekiz farklı *L. curvatus* suşunun asidifikasyonunu kapasiteleri değerlendirildiğinde, bu türün suş düzeyinde belirgin varyasyonlar sergilediği görülmüştür. L29.5, L14.1 ve L65.3 numaralı suşlar 8 saatlik inkübasyon sonunda ortamın pH değerinde 1.00 birimden daha az ($\Delta pH < 1,00$) düşüş oluşturarak zayıf düzeyde asidifikasyon kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Buna karşın, L58.1, L10.4, L33.1, L3.2 ve L19.5 gibi suşlar ortam pH değerinde 1.00-1.50 birim arası düşüş sağlamış ($1,00 < \Delta pH < 1,50$) ve orta düzeyde asit üretim kapasitesine sahip oldukları tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre, *L. curvatus* izolatlarının %37,5'i zayıf, %62,5'i ise orta düzeyde asidifikasyon göstermiştir.

Çalışmada değerlendirilen *L. brevis* suşlarının büyük çoğunluğu, 8 saatlik inkübasyon süresince ortamın pH değerinde 1,00 ile 1,50 birim ($1,00 < \Delta pH < 1,50$) arasında düşüş sağlayarak orta düzeyde asidifikasyon kapasitesi göstermiştir. Toplam 22 suşun 21'i (%95,5) bu sınıfta yer almakta olup, yalnızca L9.5 suşunun 1,00 birimin altında ($\Delta pH < 1,00$) pH düşüşü sağlayarak zayıf düzeyde asit üretim kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. TB-1 *L. brevis* suşu ise pH değerinde $1,00 < \Delta pH < 1,50$ aralığında pH düşüşü sağlayarak orta düzeyde asit üretim kapasitesi göstermiştir.

3.3.2 LAB'nin Hamur Kabartma Aktivitesi

LAB suşlarına ait hamur kabartma aktivitesi sonuçları Tablo 3.5'te verilmiştir. Tüm suşlar içerisinde 30 LAB suşunda hamur kabartma aktivitesi tespit edilememiştir ($VI = 0$). Diğer suşlarda ise hamur kabartma aktivitesi $\%5,14 \pm 1,00$ (*C. crustorum* L57.2) ile $\%31,50 \pm 0,50$ (*L. brevis* L63.8) arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir. Ticari suşlar ise düşük düzeyde hamur kabartma aktivitesi göstermiştir ($VI < 25$).

Bu çalışmada yer alan izolatlar hamur kabartma yeteneklerine göre değerlendirildiğinde, türler arasında belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. *C. crustorum* türüne ait toplam 27 suşun büyük çoğunluğu (%78) $VI=0$ değerine sahip

olup hamur kabartma yeteneği göstermemiştir. Geriye kalan %22'lik kısım ise VI<25 aralığında zayıf düzeyde hamur kabartma yeteneği göstermiştir. *C. paralimentarius* türüne ait dört suşun tamamı VI=0 ile değerlendirilmiş ve bu türün çalışmada hamur kabartma açısından potansiyel göstermediği tespit edilmiştir. *L. plantarum* türüne ait beş izolatın dördü VI<25 düzeyinde zayıf kabartma yeteneğine sahipken, bir suş hamur kabartma aktivitesi göstermemiştir. *L. curvatus* suşlarının yarısı VI=0 değeri ile kabartma aktivitesi göstermemiş, diğer yarısı ise VI<25 ile zayıf düzeyde hamur kabartma aktivitesi göstermiştir. *L. brevis* türü, diğer türlere kıyasla daha dikkat çekici sonuçlar vermiştir. Toplam 22 suşun 3'ü (%14) VI>25 değeriyle orta düzeyde hamur kabartma yeteneği göstermiş, kalan suşlar (%86) VI<25 ile zayıf düzeyde hamur kabartma yeteneği göstermiştir.

Tablo 3.5. LAB suşlarına ait kabartma aktivitesi bulguları

Suş Kodu	Tür	VI
L43.5	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L21.3	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L31.2	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L36.3	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L50.4	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L8.1	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L30.4	<i>C. crustorum</i>	VI<25
L61.5	<i>C. crustorum</i>	VI<25
L56.3	<i>C. crustorum</i>	VI<25
L15.2	<i>C. crustorum</i>	VI<25
L45.5	<i>C. crustorum</i>	VI<25
L18.4	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L26.1	<i>C. crustorum</i>	VI<25
L20.2	<i>C. crustorum</i>	VI<25
L42.5	<i>C. crustorum</i>	VI<25
L22.3	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L57.2	<i>C. crustorum</i>	VI<25
L5.1	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L64.4	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L38.1	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L46.3	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L44.5	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L49.3	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L16.2	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L59.3	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L28.4	<i>C. crustorum</i>	VI<25
L5.2	<i>C. crustorum</i>	VI=0
L7.1	<i>C. paralimentarius</i>	VI=0

Tablo 3.5. (devamı) LAB suşlarına ait kabartma aktivitesi bulguları

L1.5	<i>C. paralimentarius</i>	VI=0
L32.8	<i>C. paralimentarius</i>	VI=0
L53.2	<i>C. paralimentarius</i>	VI=0
L35.1	<i>L. plantarum</i>	VI<25
L4.4	<i>L. plantarum</i>	VI<25
L7.6	<i>L. plantarum</i>	VI<25
L35.6	<i>L. plantarum</i>	VI<25
L7.8	<i>L. plantarum</i>	VI=0
L29.5	<i>L. curvatus</i>	VI=0
L14.1	<i>L. curvatus</i>	VI=0
L58.1	<i>L. curvatus</i>	VI<25
L10.4	<i>L. curvatus</i>	VI<25
L33.1	<i>L. curvatus</i>	VI<25
L3.2	<i>L. curvatus</i>	VI<25
L65.3	<i>L. curvatus</i>	VI=0
L19.5	<i>L. curvatus</i>	VI<25
L4.1	<i>L. brevis</i>	VI<25
L12.4	<i>L. brevis</i>	VI>25
L48.1	<i>L. brevis</i>	VI<25
L63.8	<i>L. brevis</i>	VI>25
L25.2	<i>L. brevis</i>	VI<25
L39.4	<i>L. brevis</i>	VI<25
L55.1	<i>L. brevis</i>	VI<25
L62.2	<i>L. brevis</i>	VI>25
L63.2	<i>L. brevis</i>	VI<25
L40.3	<i>L. brevis</i>	VI<25
L9.5	<i>L. brevis</i>	VI<25
L6.2	<i>L. brevis</i>	VI<25
L37.1	<i>L. brevis</i>	VI<25
L27.4	<i>L. brevis</i>	VI<25
L23.1	<i>L. brevis</i>	VI<25
L60.2	<i>L. brevis</i>	VI<25
L47.3	<i>L. brevis</i>	VI<25
L24.5	<i>L. brevis</i>	VI<25
L13.2	<i>L. brevis</i>	VI<25
L54.1	<i>L. brevis</i>	VI<25
L34.4	<i>L. brevis</i>	VI<25
L51.3	<i>L. brevis</i>	VI<25
TB-1	<i>L. brevis</i>	VI<25
TB-2	<i>L. plantarum</i>	VI<25

*VI: Hamur kabartma kapasitesi

3.3.3 LAB'nin EPS Üretimleri

Tüm LAB suşlarına ait EPS üretim miktarları Tablo 3.6'da gösterilmiştir. Elde edilen bulgular, geleneksel ekşi hamurlarda EPS üreten suşların baskın varlığını ortaya çıkarmıştır. *C. crustorum* suşlarında EPS üretimi 0,40 g/L (L57.2 suşu) ile 15,70 g/L (L59.7 suşu) arasında değişmiş olup, bu tür genel olarak orta düzeyde EPS üretimi göstermiştir. *L. brevis* suşları ise 5,04 g/L (L9.5 suşu) ile 17,50 g/L (L47.3 suşu) arasında değişen değerlerle daha yüksek EPS üretim kapasitesi sergilemiştir. Benzer şekilde, *L. plantarum* suşlarının da 13,03 g/L (L7.6 suşu) ile 17,75 g/L (L35.1 suşu) aralığında yüksek EPS üretimi gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Diğer türlerde ise *L. curvatus* 0,74 g/L (L3.2 suşu) ile 15,90 g/L (L9.2 suşu) aralığında; *C. paralimentarius* 0,91 g/L (L1.5 suşu) ile 16,62 g/L (L53.2 suşu) EPS üretimi gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. Ticari suşların EPS üretim değerleri ise TB-1 *L.brevis* 9,70±0.10; TB-2 *L. plantarum* 9,37±0.22 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3.6. LAB suşlarına ait EPS üretim miktarları

Suş Kodu	Tür	EPS (g/L)
L43.5	<i>C. crustorum</i>	7,53±0,27
L21.3	<i>C. crustorum</i>	7,67±0,05
L31.2	<i>C. crustorum</i>	6,70±0,11
L36.3	<i>C. crustorum</i>	4,69±0,04
L50.4	<i>C. crustorum</i>	3,99±0,36
L8.1	<i>C. crustorum</i>	7,22±0,35
L30.4	<i>C. crustorum</i>	5,45±0,13
L61.5	<i>C. crustorum</i>	4,51±0,23
L56.3	<i>C. crustorum</i>	12,22±0,38
L15.2	<i>C. crustorum</i>	13,75±0,04
L45.5	<i>C. crustorum</i>	11,20±0,28
L18.4	<i>C. crustorum</i>	5,75±0,04
L26.1	<i>C. crustorum</i>	14,35±0,20
L20.2	<i>C. crustorum</i>	13,79±1,01
L42.5	<i>C. crustorum</i>	11,74±0,42
L22.3	<i>C. crustorum</i>	6,50±0,19
L57.2	<i>C. crustorum</i>	0,40±0,02
L5.1	<i>C. crustorum</i>	5,90±0,08
L64.4	<i>C. crustorum</i>	7,74±0,53
L38.1	<i>C. crustorum</i>	8,35±0,29
L46.3	<i>C. crustorum</i>	5,87±0,14
L44.5	<i>C. crustorum</i>	5,01±0,25
L49.3	<i>C. crustorum</i>	7,72±0,57

Tablo 3.6. (devam) LAB suşlarına ait EPS üretim miktarları

L16.2	<i>C. crustorum</i>	12,84±0,41
L59.3	<i>C. crustorum</i>	15,70±0,63
L28.4	<i>C. crustorum</i>	14,35±0,09
L5.2	<i>C. crustorum</i>	13,60±0,12
L7.1	<i>C. paralimentarius</i>	7,61±0,15
L1.5	<i>C. paralimentarius</i>	0,91±0,02
L32.8	<i>C. paralimentarius</i>	11,85±0,17
L53.2	<i>C. paralimentarius</i>	16,62±0,17
L35.1	<i>L. plantarum</i>	17,75±0,84
L4.4	<i>L. plantarum</i>	14,97±0,34
L7.6	<i>L. plantarum</i>	13,03±0,12
L35.6	<i>L. plantarum</i>	14,75±0,59
L7.8	<i>L. plantarum</i>	17,17±0,35
L29.5	<i>L. curvatus</i>	10,72±0,15
L14.1	<i>L. curvatus</i>	4,99±0,03
L58.1	<i>L. curvatus</i>	7,53±0,50
L10.4	<i>L. curvatus</i>	8,34±0,22
L33.1	<i>L. curvatus</i>	0,87±0,10
L3.2	<i>L. curvatus</i>	0,74±0,01
L65.3	<i>L. curvatus</i>	7,56±0,48
L19.5	<i>L. curvatus</i>	15,90±0,72
L4.1	<i>L. brevis</i>	14,76±0,10
L12.4	<i>L. brevis</i>	13,75±0,16
L48.1	<i>L. brevis</i>	17,50±0,51
L63.8	<i>L. brevis</i>	12,00±0,73
L25.2	<i>L. brevis</i>	16,75±1,01
L39.4	<i>L. brevis</i>	14,87±0,09
L55.1	<i>L. brevis</i>	16,40±0,34
L62.2	<i>L. brevis</i>	15,70±0,62
L63.2	<i>L. brevis</i>	8,16±0,02
L40.3	<i>L. brevis</i>	8,72±0,15
L9.5	<i>L. brevis</i>	5,04±0,19
L6.2	<i>L. brevis</i>	7,98±0,04
L37.1	<i>L. brevis</i>	8,07±0,19
L27.4	<i>L. brevis</i>	7,00±0,11
L23.1	<i>L. brevis</i>	14,41±0,98
L60.2	<i>L. brevis</i>	8,82±0,12
L47.3	<i>L. brevis</i>	17,14±0,81
L24.5	<i>L. brevis</i>	9,01±0,07
L13.2	<i>L. brevis</i>	5,50±0,03
L54.1	<i>L. brevis</i>	9,31±0,18
L34.4	<i>L. brevis</i>	9,44±0,31
L51.3	<i>L. brevis</i>	5,70±0,09
TB-1	<i>L. brevis</i>	9,70±0,10
TB-2	<i>L. plantarum</i>	9,37±0,22

3.3.4 LAB'nin Farklı pH Değerlerinde Gelişimleri

LAB suşlarına ait farklı pH değerlerindeki (pH 3; 3,5; 4) gelişme sonuçları Tablo 3.7'de gösterilmiştir. Teknolojik özellikler bakımından incelenen 68 LAB suşu içerisinde 34 tanesi (%50) pH 3'te düşük gelişme ($GI < 25$) göstermiştir; buna karşın geri kalan suşlar orta derecede gelişme ($25 < GI < 75$) göstermiştir. pH 3,5'te analize alınan suşlardan sadece 4 tanesi (tümü *C. crustorum* suşu olan L21.2, L31.2, L36.3, L50.4) (%6) düşük gelişme ($GI < 25$); 36 tanesi (%54) orta ($25 < GI < 75$); geri kalan suşlar ise yüksek gelişme ($GI > 75$) göstermişlerdir. pH 4' de ise 17 suş (%25) orta gelişim ($25 < GI < 75$); geri kalan suşlar ise (%75) yüksek gelişim ($GI > 75$) göstermişlerdir.

C. crustorum türüne ait toplam 27 suşun farklı pH koşullarındaki gelişimleri değerlendirildiğinde, pH 3'te suşların %74,1'inin (20 suş) zayıf gelişim ($GI < 25$), %25,9'unun (7 suş) orta düzeyde gelişim ($25 < GI < 75$) gösterdiği, hiçbir suşun yüksek düzeyde gelişim ($GI > 75$) göstermediği tespit edilmiştir. pH 3,5'te ise bu dağılım önemli ölçüde değişmiş; suşların %88,9'u (24 suş) orta düzeyde, %7,4'ü (2 suş) zayıf düzeyde, %3,7'si (1 suş) yüksek düzeyde gelişim göstermiştir. pH 4' de ise suşların %48,1'i (13 suş) yüksek gelişim, %51,9'u (14 suş) orta düzeyde gelişim göstermiş, zayıf gelişim gösteren suş tespit edilmemiştir.

C. paralimentarius türüne ait toplam 4 suşun farklı pH değerlerinde gelişim durumları incelendiğinde, pH 3'te tüm suşların (%100) zayıf gelişim ($GI < 25$) gösterdiği belirlenmiştir. pH 3,5'te ise suşların tamamı (%100) orta düzeyde gelişim ($25 < GI < 75$) göstermiştir. pH 4'te ise suşların %75'i (3 suş) orta düzeyde, %25'i (1 suş) ise yüksek düzeyde gelişim ($GI > 75$) göstermiştir.

L. plantarum türüne ait 5 suşun pH 3, 3,5 ve 4 ortamlarındaki gelişim durumları incelendiğinde; pH 3'te tüm suşların (%100) orta düzeyde gelişim ($25 < GI < 75$) sergilediği tespit edilmiştir. pH 3,5 ve 4'te ise suşların tamamı (%100) yüksek düzeyde gelişim ($GI > 75$) göstermiştir.

L. curvatus türüne ait toplam 8 suşun değerlendirilmesi sonucunda, pH 3'te tüm suşların (%100) düşük düzeyde gelişim ($GI < 25$) gösterdiği tespit edilmiştir. pH 3,5'te ise suşların tamamı (%100) orta düzeyde gelişim ($25 < GI < 75$) göstermiştir. pH 4'te ise suşların %50'si (4 suş) yüksek düzeyde gelişim ($GI > 75$), kalan %50'si ise orta düzeyde gelişim ($25 < GI < 75$) göstermiştir.

L. brevis türüne ait 22 suşun gelişim profilleri incelendiğinde, pH 3'te tüm suşların (%100) orta düzeyde gelişim ($25 < GI < 75$) gösterdiği belirlenmiştir. pH 3,5 ve 4'te ise tüm suşlar (%100) yüksek düzeyde gelişim ($GI > 75$) göstermiştir.

L. brevis TB-1 ve *L. plantarum* TB-2 suşları pH 3'te orta düzeyde gelişim ($25 < GI < 75$), pH 3,5 ve 4'te ise her iki suş da yüksek düzeyde gelişim ($GI > 75$) gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 3.7. LAB suşlarına ait farklı pH değerlerinde gelişim değerleri

Suş Kodu	Tür	pH		
		3	3,5	4
L43.5	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L21.3	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L31.2	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L36.3	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L50.4	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L8.1	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L30.4	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L61.5	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$GI < 25$	$25 < GI < 75$
L56.3	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L15.2	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L45.5	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L18.4	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L26.1	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L20.2	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L42.5	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L22.3	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L57.2	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L5.1	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L64.4	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L38.1	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L46.3	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L44.5	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L49.3	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L16.2	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L59.3	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$GI < 25$	$25 < GI < 75$
L28.4	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L5.2	<i>C. crustorum</i>	$GI < 25$	$GI < 25$	$25 < GI < 75$
L7.1	<i>C. paralimentarius</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L1.5	<i>C. paralimentarius</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L32.8	<i>C. paralimentarius</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L53.2	<i>C. paralimentarius</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L35.1	<i>L. plantarum</i>	$25 < GI < 75$	$GI > 75$	$GI > 75$
L4.4	<i>L. plantarum</i>	$25 < GI < 75$	$GI > 75$	$GI > 75$
L7.6	<i>L. plantarum</i>	$25 < GI < 75$	$GI > 75$	$GI > 75$
L35.6	<i>L. plantarum</i>	$25 < GI < 75$	$GI > 75$	$GI > 75$
L7.8	<i>L. plantarum</i>	$25 < GI < 75$	$GI > 75$	$GI > 75$
L29.5	<i>L. curvatus</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L14.1	<i>L. curvatus</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L58.1	<i>L. curvatus</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$
L10.4	<i>L. curvatus</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L33.1	<i>L. curvatus</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$25 < GI < 75$
L3.2	<i>L. curvatus</i>	$GI < 25$	$25 < GI < 75$	$GI > 75$

Tablo 3.7. (devam) LAB suşlarına ait farklı pH değerlerinde gelişim değerleri

L65.3	<i>L. curvatus</i>	GI<25	25<GI<75	25<GI<75
L19.5	<i>L. curvatus</i>	GI<25	25<GI<75	GI>75
L4.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L12.4	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L48.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L63.8	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L25.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L39.4	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L55.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L62.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L63.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L40.3	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L9.5	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L6.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L37.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L27.4	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L23.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L60.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L47.3	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L24.5	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L13.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L54.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L34.4	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
L51.3	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
TB-1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75
TB-2	<i>L. plantarum</i>	25<GI<75	GI>75	GI>75

3.3.5 Farklı Laktik Asit Konsantrasyonlarında Gelişme

Çalışmada yer alan LAB suşlarının %1,2 ve %1,8 laktik asit konsantrasyonlarında gelişim değerleri Tablo 3.8’de verilmiştir.

Tablo 3.8. LAB suşların farklı oranlarda laktik asit değerlerinde gelişimi

Suş Kodu	Tür	Laktik Asit Konsantrasyonu	
		%1,2	%1,8
L43.5	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	GI<25
L21.3	<i>C. crustorum</i>	GI>75	25<GI<75
L31.2	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L36.3	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75
L50.4	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75
L8.1	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L30.4	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	GI<25
L61.5	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	GI<25
L56.3	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L15.2	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L45.5	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	GI<25
L18.4	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L26.1	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L20.2	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L42.5	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L22.3	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L57.2	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75

Tablo 3.8. (devamı) LAB suşların farklı oranlarda laktik asit değerlerinde gelişimi

L5.1	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L64.4	<i>C. crustorum</i>	GI>75	25<GI<75
L38.1	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L46.3	<i>C. crustorum</i>	GI>75	25<GI<75
L44.5	<i>C. crustorum</i>	GI>75	25<GI<75
L49.3	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L16.2	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L59.3	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L28.4	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L5.2	<i>C. crustorum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L7.1	<i>C. paralimentarius</i>	25<GI<75	25<GI<75
L1.5	<i>C. paralimentarius</i>	25<GI<75	GI<25
L32.8	<i>C. paralimentarius</i>	25<GI<75	GI<25
L53.2	<i>C. paralimentarius</i>	GI>75	25<GI<75
L35.1	<i>L. plantarum</i>	GI>75	25<GI<75
L4.4	<i>L. plantarum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L7.6	<i>L. plantarum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L35.6	<i>L. plantarum</i>	25<GI<75	25<GI<75
L7.8	<i>L. plantarum</i>	GI>75	25<GI<75
L29.5	<i>L. curvatus</i>	25<GI<75	25<GI<75
L14.1	<i>L. curvatus</i>	GI>75	25<GI<75
L58.1	<i>L. curvatus</i>	25<GI<75	GI<25
L10.4	<i>L. curvatus</i>	25<GI<75	GI<25
L33.1	<i>L. curvatus</i>	25<GI<75	GI<25
L3.2	<i>L. curvatus</i>	25<GI<75	GI<25
L65.3	<i>L. curvatus</i>	25<GI<75	GI<25
L19.5	<i>L. curvatus</i>	25<GI<75	25<GI<75
L4.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	25<GI<75
L12.4	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L48.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L63.8	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L25.2	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L39.4	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75
L55.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	25<GI<75
L62.2	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75
L63.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L40.3	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L9.5	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L6.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L37.1	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L27.4	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L23.1	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L60.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L47.3	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75
L24.5	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75
L13.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L54.1	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L34.4	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	25<GI<75
L51.3	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	25<GI<75
TB-1	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
TB-2	<i>L. plantarum</i>	GI>75	25<GI<75

Tüm türlerde %1,8'lik laktik asit konsantrasyonlarında gelişme düzeyinin %1,2'ye kıyasla azaldığı tespit edilmiştir. Gelişme sonuçlarına bakıldığında %1,2 laktik asit varlığında suşların 22 tanesi (%33) yüksek gelişme ($GI>75$) göstermiş, 44 tanesi ise (%67) orta gelişme ($25<GI<75$) göstermiştir. Yüzde 1,8 laktik asit varlığında suşların 14 tanesi (%21) düşük gelişme ($GI<25$); 40 tanesi (%60) orta gelişme ($25<GI<75$); 2 tane suş ise (*C. crustorum* L36.3, *C. crustorum* L50.4) yüksek gelişme ($GI>75$) göstermiştir.

C. crustorum suşlarının farklı laktik asit konsantrasyonlarındaki (%1,2 ve 1,8) gelişimleri karşılaştırıldığında; 30 suşun, %73'ü (22 suş) %1,2 laktik asit konsantrasyonunda orta düzeyde gelişme ($25<GI<75$) göstermişken, %1,8 laktik asit konsantrasyonunda ise sadece %27'si (8 suş) orta düzeyde gelişim göstermiş, geri kalan %73'ü (22 suş) düşük gelişim ($GI<25$) göstermiştir. Yüksek gelişim ($GI>75$) gösteren suşlar %1,2 laktik asit konsantrasyonunda %13 (4 suş) iken, %1,8 laktik asit konsantrasyonunda sadece %7 (2 suş) olarak tespit edilmiştir.

C. paralimentarius suşlarının farklı laktik asit konsantrasyonlarındaki gelişimleri incelendiğinde, %1,2 laktik asit konsantrasyonunda dört suşun %75'i (3 suş) orta düzeyde gelişme ($25<GI<75$) göstermişken, %25'i (1 suş) yüksek gelişme ($GI>75$) göstermiştir. %1,8 laktik asit konsantrasyonunda ise %50'si (2 suş) düşük gelişme ($GI<25$), %50'si (2 suş) orta düzeyde gelişme göstermiştir.

L. plantarum suşlarının farklı laktik asit konsantrasyonlarındaki gelişimleri değerlendirildiğinde, %1,2 laktik asit konsantrasyonunda %40'ı (2 suş) yüksek gelişim ($GI>75$), %60'ı (3 suş) orta gelişim ($25<GI<75$) göstermiştir. Buna karşılık %1,8 laktik asit konsantrasyonunda ise tüm suşlar (%100) orta düzeyde gelişim ($25<GI<75$) göstermiştir.

L. curvatus suşlarının laktik asit konsantrasyonlarındaki gelişimleri incelendiğinde, %1,2 laktik asit konsantrasyonunda %13'ü yüksek gelişim ($GI>75$), %87'si orta gelişim ($25<GI<75$) göstermiştir. Ancak %1,8 laktik asit konsantrasyonunda %50'si (4 suş) düşük gelişim ($GI<25$), %38'i orta gelişim ($25<GI<75$) ve %13'ü yüksek gelişim ($GI>75$) göstermiştir.

L. brevis suşlarının farklı laktik asit konsantrasyonlarındaki gelişimleri değerlendirildiğinde, %1,2 laktik asit konsantrasyonunda %30'u yüksek gelişim ($GI>75$), %65'i orta gelişim ($25<GI<75$) ve %5'i düşük gelişim ($GI<25$)

göstermiştir. Yüzde 1,8 laktik asit konsantrasyonunda %25'i yüksek gelişim, %40'ı orta gelişim ve %35'i düşük gelişim göstermiştir.

L. brevis TB-1 ve *L. plantarum* TB-2 suşlarının gelişimleri incelendiğinde, %1,2 laktik asit konsantrasyonunda her iki suş da yüksek gelişim ($GI > 75$) göstermişken, %1,8 laktik asit konsantrasyonunda gelişim oranlarının orta seviyeye ($25 < GI < 75$) düştüğü tespit edilmiştir.

3.3.6 Farklı Asetik Asit Konsantrasyonlarında Gelişme

Çalışmada yer alan LAB suşlarının %0,30 ve %0,45 asetik asit konsantrasyonlarında gelişme değerleri Tablo 3.9'da verilmiştir.

Tablo 3.9. LAB suşların farklı oranlarda asetik asit değerlerinde gelişimi

Suş Kodu	Tür	Asetik Asit Konsantrasyonu	
		%0,30	%0,45
L43.5	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L21.3	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L31.2	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L36.3	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L50.4	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L8.1	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L30.4	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L61.5	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L56.3	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L15.2	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L45.5	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L18.4	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L26.1	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L20.2	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L42.5	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$GI > 75$
L22.3	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L57.2	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L5.1	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L64.4	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L38.1	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L46.3	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L44.5	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L49.3	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L16.2	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L59.3	<i>C. crustorum</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L28.4	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L5.2	<i>C. crustorum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L7.1	<i>C. paralimentarius</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L1.5	<i>C. paralimentarius</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L32.8	<i>C. paralimentarius</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L53.2	<i>C. paralimentarius</i>	$GI > 75$	$25 < GI < 75$
L35.1	<i>L. plantarum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L4.4	<i>L. plantarum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L7.6	<i>L. plantarum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$
L35.6	<i>L. plantarum</i>	$25 < GI < 75$	$GI < 25$

Tablo 3.9. (devamı) LAB suşların farklı oranlarda asetik asit değerlerinde gelişimi

L7.8	<i>L. plantarum</i>	25<GI<75	GI<25
L29.5	<i>L. curvatus</i>	25<GI<75	GI<25
L14.1	<i>L. curvatus</i>	GI>75	25<GI<75
L58.1	<i>L. curvatus</i>	GI>75	25<GI<75
L10.4	<i>L. curvatus</i>	GI>75	25<GI<75
L33.1	<i>L. curvatus</i>	GI>75	25<GI<75
L3.2	<i>L. curvatus</i>	GI>75	25<GI<75
L65.3	<i>L. curvatus</i>	25<GI<75	GI<25
L19.5	<i>L. curvatus</i>	GI>75	25<GI<75
L4.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L12.4	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L48.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L63.8	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L25.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L39.4	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L55.1	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L62.2	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L63.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	25<GI<75
L40.3	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L9.5	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	25<GI<75
L6.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L37.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L27.4	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	25<GI<75
L23.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	25<GI<75
L60.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	25<GI<75
L47.3	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L24.5	<i>L. brevis</i>	GI>75	25<GI<75
L13.2	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L54.1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
L34.4	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	25<GI<75
L51.3	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
TB-1	<i>L. brevis</i>	25<GI<75	GI<25
TB-2	<i>L. plantarum</i>	25<GI<75	GI<25

Genel olarak, asetik asit konsantrasyonu arttıkça suşların gelişme düzeylerinde azalma eğilimi tespit edilmiştir. Asetik asit konsantrasyonu %0,3 iken 35 suş (%53) yüksek gelişme (GI>75); 31 suş ise orta gelişme (25<GI<75) göstermiştir. Yüzde 0,45 asetik asit konsantrasyonunda sadece 1 suş (*C. crustorum* L42.5) yüksek gelişme (GI>75) göstermişken, 29 suş (%43) orta gelişme (25<GI<75), geri kalan suşlar ise düşük gelişme (GI<25) göstermiştir.

Çalışmada *C. crustorum* suşlarının farklı asetik asit konsantrasyonlarındaki gelişimleri incelendiğinde, %0,30 asetik asit konsantrasyonunda suşların %74'ü yüksek gelişim (GI>75), %26'sı ise orta gelişim (25<GI<75) göstermiştir. Konsantrasyon %0,45'e yükseldiğinde, %48'i orta gelişim, %52'si düşük gelişim (GI<25) göstermiştir.

C. paralimentarus suşlarının asetik asit konsantrasyonlarındaki gelişimleri incelendiğinde, %0,30 asetik asit konsantrasyonunda %50'si yüksek gelişim ($GI > 75$), %50'si ise orta gelişim ($25 < GI < 75$) göstermiştir. Konsantrasyon %0,45'e yükseldiğinde ise tüm suşların %100'ü düşük gelişim ($GI < 25$) veya orta gelişim ($25 < GI < 75$) seviyesine düşmüştür; yüksek gelişim tespit edilmemiştir.

L. plantarum suşlarının asetik asit konsantrasyonlarındaki gelişimleri değerlendirildiğinde, %0,30 asetik asit konsantrasyonunda tüm suşların %100'ü orta düzeyde gelişim göstermiştir ($25 < GI < 75$). Ancak asetik asit konsantrasyonu %0,45'e çıktığında, tüm suşların %100'ü düşük gelişim ($GI < 25$) göstermiştir.

L. curvatus suşlarının asetik asit konsantrasyonuna bağlı gelişimleri incelendiğinde, %0,30 asetik asit konsantrasyonunda %62,5'i yüksek gelişim ($GI > 75$), %25'i orta gelişim ($25 < GI < 75$) ve %12,5'i düşük gelişim ($GI < 25$) göstermiştir. Ancak asetik asit konsantrasyonu %0,45'e yükseldiğinde, tüm suşların %100'ü orta ($25 < GI < 75$) veya düşük gelişim ($GI < 25$) kategorisine girmiş; düşük gelişim gösterenler %37,5; orta gelişim gösterenler ise %62,5 oranında tespit edilmiştir.

L. brevis suşlarının asetik asit konsantrasyonuna bağlı gelişimleri incelendiğinde, %0,30 asetik asit konsantrasyonunda %16,7'si yüksek gelişim ($GI > 75$), %75'i orta gelişim ($25 < GI < 75$) ve %8,3'ü düşük gelişim ($GI < 25$) göstermiştir. Ancak asetik asit konsantrasyonu %0,45'e çıktığında suşların %79,2'sinin orta, %20,8'inin ise düşük gelişim kategorisine olduğu belirlenmiştir.

L. brevis TB-1 ve *L. plantarum* TB-2 suşlarının asetik asit konsantrasyonundaki gelişimleri incelendiğinde, %0,30 asetik asit konsantrasyonunda her iki suş da orta gelişim ($25 < GI < 75$) gösterirken, asetik asit konsantrasyonu %0,45'e yükseldiğinde, her iki suşun da düşük gelişim ($GI < 25$) kategorisinde olduğu tespit edilmiştir.

3.3.7 Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme

Çalışmada yer alan LAB suşlarının farklı tuz konsantrasyonlarındaki gelişme değerleri Tablo 3.10'da verilmiştir. LAB suşlarının tuz toleransı tür ve suş bazında farklılık göstermiştir.

Tablo 3.10. LAB suşlarının farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim değerleri

SUŞ KODU	TÜR	NaCl %2	NaCl %3	NaCl %4
L43.5	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L21.3	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L31.2	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI<25
L36.3	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L50.4	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L8.1	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L30.4	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L61.5	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L56.3	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L15.2	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L45.5	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI<25
L18.4	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L26.1	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L20.2	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L42.5	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L22.3	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L57.2	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L5.1	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L64.4	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L38.1	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI<25
L46.3	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L44.5	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L49.3	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L16.2	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L59.3	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L28.4	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L5.2	<i>C. crustorum</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L7.1	<i>C. paralimentarius</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L1.5	<i>C. paralimentarius</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L32.8	<i>C. paralimentarius</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L53.2	<i>C. paralimentarius</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L35.1	<i>L. plantarum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L4.4	<i>L. plantarum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L7.6	<i>L. plantarum</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L35.6	<i>L. plantarum</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L7.8	<i>L. plantarum</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L29.5	<i>L. curvatus</i>	GI>75	GI>75	GI<25
L14.1	<i>L. curvatus</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L58.1	<i>L. curvatus</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L10.4	<i>L. curvatus</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L33.1	<i>L. curvatus</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L3.2	<i>L. curvatus</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L65.3	<i>L. curvatus</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L19.5	<i>L. curvatus</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L4.1	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L12.4	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L48.1	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L63.8	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L25.2	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L39.4	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L55.1	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L62.2	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L63.2	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75

Tablo 3.10. (devamı) LAB suşlarının farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim değerleri

L40.3	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L9.5	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L6.2	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L37.1	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L27.4	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L23.1	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L60.2	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L47.3	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L24.5	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	GI>75
L13.2	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L54.1	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L34.4	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
L51.3	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
TB-1	<i>L. brevis</i>	GI>75	GI>75	25<GI<75
TB-2	<i>L. plantarum</i>	GI>75	GI>75	GI>75

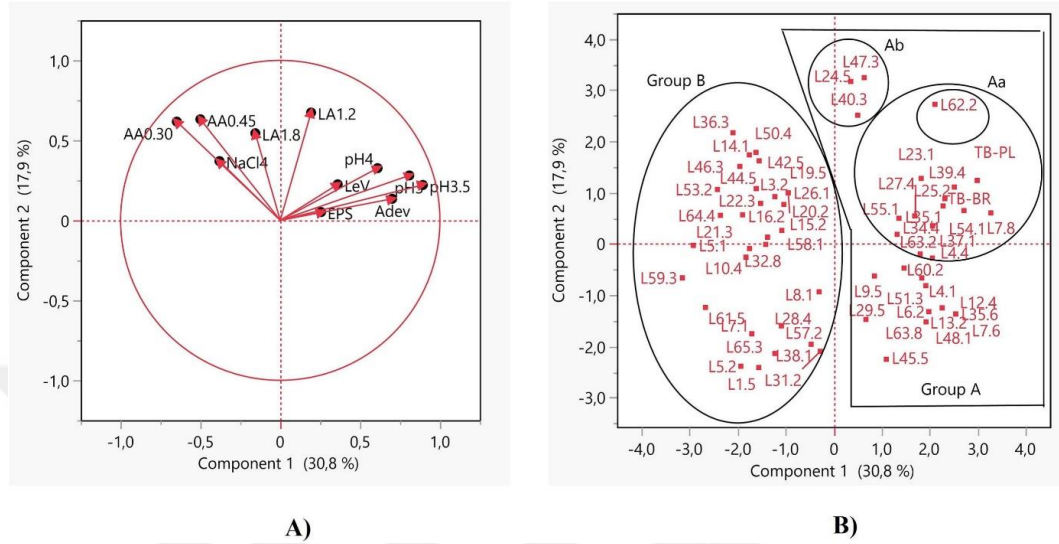
Tuz toleransı açısından incelenen LAB suşlarının tamamı %2 ve 3 tuz konsantrasyonunda yüksek gelişim (GI>75) göstermiştir. *C. crustorum* suşlarının %4 NaCl ortamındaki gelişimleri incelendiğinde, suşların %57'si (15 suş) yüksek gelişim (GI>75), %30'u (8 suş) orta düzey gelişim (25<GI<75), %13'ü (2 suş) düşük gelişim (GI<25) göstermiştir. *C. paralimentarius* suşlarının tamamı (%100) %4 NaCl ortamında yüksek gelişim (GI>75) göstermiştir. *L. plantarum* suşlarının %60'ı (3 suş) %4 NaCl ortamında yüksek gelişim (GI>75), kalan %40'ı (2 suş) orta düzeyde gelişim (25<GI<75) göstermiştir. *L. curvatus* suşlarının %87.5'i (7 suş) %4 NaCl ortamında yüksek gelişim (GI>75), %12,5'i (1 suş) düşük gelişim (GI<25) göstermiştir.

L. brevis suşlarının %21,7'si (5 suş) %4 NaCl ortamında yüksek gelişim (GI>75), %78,3'ü (18 suş) ise orta düzeyde gelişim (25<GI<75) göstermiştir. TB-1 suşu, %4 NaCl ortamında orta düzey gelişim (25<GI<75) gösterirken, TB-2 suşu ise yüksek gelişim (GI>75) göstermiştir.

3.3.8 TBA Analiz Sonuçları

TBA kümelenmeleri Şekil 3.8'de verilmiştir. Grup A, Grup B'den temel olarak pH 3'te yüksek GI gösterme ve asitlik ilerletme kapasitesi nedeniyle farklılık göstermektedir. Tüm *L. brevis* ve *L. plantarum* suşları, *C. crustorum* L45.5 ve *L. curvatus* L29.5 ile Grup A'da kümelenmektedir. Grup A'da iki önemli alt küme bulunmaktadır. Aa'da kümelenen suşlar (*L. brevis* L25.2, L39.4, L55.1, L62.2, L63.2, L37.1, L27.4, L23.1, L54.1, L34.4 ve *L. plantarum* L35.1, L4.4, L7.8) ticari

suşlara en yakın kümelenmeye sahip izolatlardır. Bunlar arasında *L. brevis* L62.2, diğerlerine kıyasla daha yüksek EPS üretim potansiyeli ve mayalanma aktivitesi nedeniyle öne çıkmaktadır. Grup Ab (*L. brevis* L24.5, L40.3, L47.3) asidik ortamlarda yüksek GI göstermiştir.



* AA: asetik asit direnci, LA: laktik asit direnci, LeV: hamuru kabartma aktivitesi, EPS: ekzopolisakkarit üretme kapasitesi, Adev: asitliği iletme kapasitesi.

Şekil 3.7. LAB suşlarının TBA'dan elde edilen faktöriyel düzlemdeki dağılımları

PC1 ve PC2 düzlemlerinde üç ana küme oluşmuştur (Şekil 3.7B). Grup A, Grup B'den temel olarak pH 3,0'da yüksek GI gösterme ve asitlik iletme kapasitesi nedeniyle farklılık göstermektedir. Tüm *L. brevis* ve *L. plantarum* suşları, *C. crustorum* L45.5 ve *L. curvatus* L29.5 ile Grup A'da kümelenmektedir. Grup A'da iki önemli alt küme bulunmaktadır. Aa'da kümelenen suşlar (*L. brevis* L25.2, L39.4, L55.1, L62.2, L63.2, L37.1, L27.4, L23.1, L54.1, L34.4 ve *L. plantarum* L35.1, L4.4, L7.8) ticari suşlara en yakın kümelenmeye sahip izolatlardır. Bunlar arasında *L. brevis* L62.2, diğerlerine kıyasla daha yüksek EPS üretim potansiyeli ve mayalanma aktivitesi nedeniyle öne çıkmaktadır. Grup Ab (*L. brevis* L24.5, L40.3, L47.3) asidik ortamlarda yüksek GI göstermiştir. Yukarıda belirtilen endojen LAB suşlarından toplam 16'sı, teknolojik olarak alakalı ve üstün suşlar olarak daha ileri analizler için seçilmiştir.

3.4 LAB Suşlarının Probiyotik Özellikleri

3.4.1 Antibiyotik Direnç

LAB suşlarına ait antibiyotik direnç bulguları Tablo 3.11’de gösterilmiştir. Çalışmada yer alan suşlarının antibiyotik duyarlılık profilleri değerlendirildiğinde, genel olarak ampisilin, kloramfenikol, eritromisin, gentamisin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı duyarlı oldukları gözlemlenmiştir.

Tablo 3.11. LAB suşlarının antibiyotik direnç bulguları

	AMP	CHL	CLIN	ERY	GEN	STR	TET	VAN
<i>L. plantarum</i> L4.4	0,25	4	1	<0,25	2	32	4	128
<i>L. plantarum</i> L7.8	0,25	4	0,50	<0,25	4	16	4	128
Breakup point (µg/mL)	2	8	2	1	16	n.r	32	n.r
<i>L. brevis</i> L4.1	0,50	1	1	<0,25	2	4	2	128
<i>L. brevis</i> L12.4	0,25	1	1	0,25	2	4	2	128
<i>L. brevis</i> L23.1	0,25	1	0,25	0,25	2	16	4	128
<i>L. brevis</i> L24.5	0,25	0,50	0,25	0,25	8	4	2	128
<i>L. brevis</i> L25.2	1,00	1	<0,25	0,50	4	4	4	128
<i>L. brevis</i> L27.4	0,25	2	0,50	0,25	2	2	8	128
<i>L. brevis</i> L34.4	0,50	1	1	<0,25	2	2	8	64
<i>L. brevis</i> L35.1	0,25	1	4	0,25	2	2	4	128
<i>L. brevis</i> L37.1	0,25	2	1	0,50	2	8	16	128
<i>L. brevis</i> L40.3	0,50	1	<0,25	<0,25	2	32	8	128
<i>L. brevis</i> L47.3	0,25	4	0,50	<0,25	2	4	4	128
<i>L. brevis</i> L48.1	1,00	1	0,25	0,25	1	4	8	64
<i>L. brevis</i> L54.1	0,25	1	0,25	0,25	2	8	8	128
<i>L. brevis</i> L55.1	0,25	0,50	<0,25	0,50	4	4	8	128
<i>L. brevis</i> L62.2	0,25	1	<0,25	<0,25	2	4	4	64
<i>L. brevis</i> L63.2	0,25	1	0,25	0,25	2	4	4	128
Breakup point (µg/mL)	2	4	1	1	16	64	8	n.r

*AMP: Amfisilin, CHL: Kloramfenikol, CLIN: Klindamisin, ERY: Eritromisin, GEN: Gentamisin, STR: Streptomisin, TET: Tetrasiklin, VAN: Vankomisin, n.r: not-required.

Tüm suşlar, ampisilin için belirlenen 2 µg/mL eşik değerinin altında kalmış, bu da bu antibiyotiğe karşı yüksek bir duyarlılık olduğunu göstermiştir. Eritromisin için eşik değer olan 1 µg/mL’nin altında ölçülen Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIC) değerleri de suşların bu antibiyotiğe karşı oldukça duyarlı olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, streptomisin ve vankomisin antibiyotiklerinde tüm suşlarda yüksek MIC değerleri ölçülmüştür. Özellikle vankomisin için tüm suşlarda 64-128 µg/mL değerleri tespit edilmiştir. Streptomisin için ise bazı suşlarda 32

$\mu\text{g/mL}$ gibi yüksek değerler tespit edilmiş, bu antibiyotik karşısında orta düzeyde dirençli profiller sergilenmiştir.

Ayrıca, *L. brevis* L35.1 suşu klindamisin için 4 $\mu\text{g/mL}$ MIC değeri ile belirgin bir direnç göstermiştir. Bu değer, 1 $\mu\text{g/mL}$ eşik değerini açmaktadır ve bu suşun bu antibiyotiğe karşı dirençli olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde, *L. brevis* L37.1 suşu da tetrasiklin için 16 $\mu\text{g/mL}$ değerle eşik sınırını aşarak dikkat çekmiştir. Genel olarak, incelenen izolatların çoğunluğu, gıda endstisinde kullanılabilirliği açısından antibiyotik direnç profili bakımından güvenli sınırlar içerisinde yer almıştır.

L. plantarum L35.1 ve *L. brevis* L37.1 suşları tetrasikline karşı dirençli suşlar olarak tespit edilmiştir. Tüm suşlar beklenildiği üzere vankomisine karşı direnç göstermiştir. Analiz sonucunda toplamda 14 suş, *L. rhamnosus* GG ile probiyotik analizlere tabi tutulmak üzere seçilmiştir.

3.4.2 Düşük pH ve Safra Tuzunda Gelişme

Probiyotik zellikleri açısından incelemeye alınan LAB suşlarına pH 2,5 ve safra tuzunda gelişim değerleri Tablo 3.12’de verilmiştir. Analize alınan tüm suşlar 3 saat boyunca pH 2,5’te 1,94 log KOB/mL ile 6,20 log KOB/mL arasında değişen ($P<0,05$) değerlerde canlılığını srdrmştir. pH 2,5 değerinde en düşük hayatta kalma oranı *L. plantarum* L4.4 suşunda ($\%24,82\pm1,41$); en yüksek canlılık değeri ise LGG ($\%77,84\pm0,29$), *L. brevis* L55.1 ($\%76,60\pm0,46$), *L. plantarum* L7.8 ($\%75,88\pm0,69$), *L. brevis* L23.1 ($\%75,57\pm1,54$) suşlarında tespit edilmiştir.

pH 2,5 koşullarında gerçekleştirilen asit toleransı testlerinde, *L. brevis* suşları arasında belirgin farklılıklar tespit edilmiştir. En yüksek canlılık oranları, sırasıyla *L. brevis* L55.1 ($\%76,60\pm0,46$), *L. brevis* L47.3 ($\%74,46\pm0,54$), *L. brevis* L23.1 ($\%75,57\pm1,54$), *L. brevis* L24.5 ($\%72,93\pm0,88$), *L. brevis* L25.2 ($\%71,35\pm0,22$) ve *L. brevis* L62.2 ($\%70,83\pm0,64$) suşlarında tespit edilmiştir. Buna karşılık, *L. brevis* L27.4 ($\%30,10\pm1,90$) ve *L. brevis* L63.2 ($\%38,80\pm0,54$) suşları, en düşük canlılık oranlarına sahip olup asidik ortama karşı daha düşük direnç göstermiştir. Orta düzeyde tolerans gösteren suşlar arasında *L. brevis* L4.1 ($\%53,23\pm2,56$), *L. brevis* L34.4 ($\%54,08\pm3,51$), *L. brevis* L40.3 ($\%55,65\pm2,24$), *L. brevis* L12.4 ($\%59,04\pm1,55$), *L. brevis* L48.1 ($\%50,08\pm1,30$) ve *L. brevis* L54.1 ($\%65,10\pm1,72$) yer almıştır. Safra tuzu ($\%0,3$) varlığında ise tüm suşlar pH 2,5’ da olduğundan daha yüksek bir canlılık yüzdesinde gelişim göstermiştir. *L. brevis*

L55.1 (%106,15±0.80) suşu ticari probiyotik suş (LGG) (%95,11±0.28) ile kıyaslandığında safra tuzu varlığında daha iyi bir gelişim göstermiştir ($P < 0,05$). %0,3 safra tuzu varlığında gerçekleştirilen tolerans testlerinde *L. brevis* suşları arasında önemli canlılık farklılıkları gözlemlenmiştir. En yüksek canlılık oranı %106,15±0,80 ile *L. brevis* L62.2 suşunda tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla *L. brevis* L55.1 (%92,37±0,04), *L. brevis* L54.1 (%88,97±1,22), *L. brevis* L40.3 (%85,43±1,74), *L. brevis* L23.1 (%84,65±1,37) ve *L. brevis* L47.3 (%83,41±0,68) suşları takip etmiştir. Diğer taraftan, *L. brevis* L27.4 (%67,12±0,91), *L. brevis* L34.4 (%66,75±1,88), *L. brevis* L63.2 (%66,40±1,70) ve *L. brevis* L48.1 (%65,52±0,89) gibi suşlar ise en düşük canlılık değerlerini göstermiştir. Ara düzeyde canlılık oranları sergileyen suşlar arasında *L. brevis* L4.1 (%81,57±0,51), *L. brevis* L24.5 (%80,08±2,63), *L. brevis* L12.4 (%79,05±1,68) ve *L. brevis* L25.2 (%78,52±2,24) yer almakta olup, bu suşlar da orta düzeyde safra toleransı göstermiştir.

Tablo 3.12. LAB suşlarına ait pH 2,5 ve safra tuzunda gelişim değerleri

Suşlar	pH 2.5 (VI %)	Safra tuzu (%0,3) (VI %)
<i>L. plantarum</i> L4.4	24,82±1,41 ^g	65,52±1,03 ^e
<i>L. plantarum</i> L7.8	75,88±0,69 ^{ab}	84,80±1,89 ^{cd}
<i>L. brevis</i> L4.1	53,23±2,56 ^{de}	81,57±0,51 ^d
<i>L. brevis</i> L12.4	59,04±1,55 ^{cd}	79,05±1,68 ^d
<i>L. brevis</i> L23.1	75,57±1,54 ^a	84,65±1,37 ^{cd}
<i>L. brevis</i> L24.5	72,93±0,88 ^{ab}	80,08±2,63 ^d
<i>L. brevis</i> L25.2	71,35±0,22 ^{ab}	78,52±2,24 ^d
<i>L. brevis</i> L27.4	30,10±1,90 ^{fg}	67,12±0,91 ^e
<i>L. brevis</i> L34.4	54,08±3,51 ^{de}	66,75±1,88 ^e
<i>L. brevis</i> L40.3	55,65±2,24 ^{de}	85,43±1,74 ^{cd}
<i>L. brevis</i> L47.3	74,46±0,54 ^a	83,41±0,68 ^{cd}
<i>L. brevis</i> L48.1	50,08±1,30 ^e	65,52±0,89 ^e
<i>L. brevis</i> L54.1	65,10±1,72 ^{bc}	88,97±1,22 ^{bc}
<i>L. brevis</i> L55.1	76,60±0,46 ^a	92,37±0,04 ^{bc}
<i>L. brevis</i> L62.2	70,83±0,64 ^{ab}	106,15±0,80 ^a
<i>L. brevis</i> L63.2	38,80±0,54 ^f	66,40±1,70 ^e
LGG	77,14±0,29 ^a	95,11±0,28 ^b

*VI: %hayatta kalma

3.4.3 Otoagregasyon Özellikleri

Tüm suşlara ait 3. ve 24. saatin sonundaki otoagregasyon değerleri Tablo 3.13'te gösterilmiştir. Otoagregasyon değerlerine bakıldığında tüm suşların 24 saat sonunda daha yüksek otoagregasyon değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. En düşük otoagregasyon değeri 3. saat sonunda *L. brevis* L63.2 ($2,37 \pm 0,01$) suşunda tespit edilmiştir. *L. brevis* L62.2, *L. brevis* L55.1, *L. brevis* L25.2, *L. brevis* L24.5, *L. brevis* L23.1 suşları ise ticari probiyotik suştan (LGG) daha yüksek otoagregasyon kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Yirmi dört saat sonunda ise en düşük otoagregasyon değerine sahip suş *L. brevis* L34.4 ($18,1 \pm 0,12$); en yüksek otoagregasyon değeri ise *L. plantarum* L7.8 ($88,71 \pm 0,15$) suşunda tespit edilmiştir.

L. brevis suşlarının 3 saatlik inkübasyon süresi sonunda gösterdikleri otoagregasyon kapasiteleri arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En yüksek otoagregasyon oranı $32,49 \pm 0,63$ ile *L. brevis* L25.2 suşunda gözlenmiş olup, bunu sırasıyla *L. brevis* L62.2 ($32,01 \pm 0,12$), *L. brevis* L55.1 ($31,25 \pm 0,62$), *L. brevis* L23.1 ($31,18 \pm 0,27$) ve *L. brevis* L24.5 ($30,06 \pm 0,14$) suşları takip etmiştir. Orta düzey otoagregasyon oranları gösteren suşlar arasında *L. brevis* L12.4 ($21,19 \pm 0,03$) yer almış, *L. brevis* L4.1 ($14,10 \pm 0,20$), *L. brevis* L27.4 ($15,39 \pm 0,48$), *L. brevis* L47.3 ($13,14 \pm 0,91$), *L. brevis* L54.1 ($12,44 \pm 0,09$) ve *L. brevis* L48.1 ($10,09 \pm 0,23$) gibi suşlar ise düşük otoagregasyon kapasiteleri sergilemiştir. En düşük otoagregasyon oranları ise *L. brevis* L40.3 ($7,45 \pm 0,11$), *L. brevis* L34.4 ($3,02 \pm 0,17$) ve *L. brevis* L63.2 ($2,37 \pm 0,01$) suşlarında tespit edilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonunda suşlara ait otoagregasyon oranlarının anlamlı düzeyde arttığı ve suşlar arasında belirgin farklılıklar bulunduğu tespit edilmiştir. En yüksek otoagregasyon değeri $88,71 \pm 0,15$ ile *L. plantarum* L7.8 suşuna ait olup, bu suşu sırasıyla *L. brevis* L55.1 ($86,10 \pm 0,30$), *L. brevis* L25.2 ($81,16 \pm 0,54$) ve *L. brevis* L62.2 ($77,62 \pm 0,12$) suşları takip etmiştir. Orta düzey otoagregasyon kapasiteleri *L. brevis* L23.1 ($66,41 \pm 0,27$), *L. brevis* L12.4 ($62,26 \pm 0,03$), *L. brevis* L47.3 ($59,27 \pm 0,45$), *L. brevis* L27.4 ($57,50 \pm 0,37$), *L. brevis* L24.5 ($55,93 \pm 0,13$), *L. brevis* L48.1 ($55,60 \pm 0,27$), *L. brevis* L40.3 ($51,05 \pm 0,11$) ve *L. brevis* L54.1 ($50,87 \pm 0,15$) suşlarında tespit edilmiştir. Daha düşük otoagregasyon değerleri ise *L. brevis* L4.1 ($47,92 \pm 0,20$), *L. brevis* L63.2 ($25,36 \pm 0,09$), *L. plantarum* L4.4 ($24,18 \pm 0,12$) ve *L. brevis* L34.4 ($18,10 \pm 0,12$) suşlarında tespit edilmiştir.

3.4.4 Hidrofobisite Özellikleri

Suşlar hidrofobisite özellikleri açısından incelendiğinde otoagregasyona göre daha düşük değerlere sahip oldukları tespit edilmiştir. Suşlara ait hidrofobisite değerleri Tablo 3.13'te gösterilmiştir.

Tablo 3.13. LAB suşların otoagregasyon ve hidrofobisite bulguları

Suşlar	Otoagregasyon		Hidrofobisite
	3 h	24 h	
<i>L. plantarum</i> L4.4	4,81±0,24 ^j	24,18±0,12 ^k	12,89±1,09 ^j
<i>L. plantarum</i> L7.8	34,42±0,32 ^b	88,71±0,15 ^a	52,22±0,28 ^c
<i>L. brevis</i> L4.1	14,1±0,20 ^{fg}	47,92±0,20 ^j	24,12±0,09 ^h
<i>L. brevis</i> L12.4	21,19±0,03 ^e	62,26±0,03 ^f	27,12±0,11 ^g
<i>L. brevis</i> L23.1	31,18±0,27 ^{cd}	66,41±0,27 ^e	38,08±0,15 ^e
<i>L. brevis</i> L24.5	30,06±0,14 ^d	55,93±0,13 ^h	22,86±0,33 ^h
<i>L. brevis</i> L25.2	32,49±0,63 ^{bc}	81,16±0,54 ^c	55,74±0,04 ^b
<i>L. brevis</i> L27.4	15,39±0,48 ^f	57,5±0,37 ^{gh}	19,10±0,17 ⁱ
<i>L. brevis</i> L34.4	3,02±0,17 ^{jk}	18,1±0,12 ^l	11,24±0,12 ^{jk}
<i>L. brevis</i> L40.3	7,45±0,11 ⁱ	51,05±0,11 ⁱ	18,61±0,08 ⁱ
<i>L. brevis</i> L47.3	13,14±0,91 ^g	59,27±0,45 ^g	51,34±0,24 ^c
<i>L. brevis</i> L48.1	10,09±0,23 ^h	55,6±0,27 ^h	42,37±0,05 ^d
<i>L. brevis</i> L54.1	12,44±0,09 ^g	50,7±0,15 ⁱ	26,98±0,06 ^g
<i>L. brevis</i> L55.1	31,25±0,62 ^a	86±0,30 ^b	55,81±0,12 ^b
<i>L. brevis</i> L62.2	32,01±0,12 ^{cd}	77,62±0,12 ^d	60,95±0,30 ^a
<i>L. brevis</i> L63.2	2,37±0,01 ^k	25,36±0,09 ^k	9,47±0,18 ^k
LGG	22,16±0,10 ^e	61,10±0,04 ^f	32,26±0,49 ^f

Çalışmada incelenen suşların hidrofobisite kapasiteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En yüksek hücre yüzey hidrofobisitesi %60,95±0,30 ile *L. brevis* L62.2 suşuna ait olup, bunu sırasıyla *L. brevis* L55.1 (%55,81±1,02), *L. brevis* L25.2 (%55,74±0,04) ve *L. brevis* L47.3 (%51,34±0,24) suşları takip etmiştir. Orta düzey hidrofobisite gösteren suşlar arasında *L. plantarum* L7.8 (%52,22±0,28), *L. brevis* L48.1 (%42,37±0,05), *L. brevis* L23.1 (%38,08±0,15) ve kontrol suşu LGG (%32,26±0,49) yer almıştır. Daha düşük hidrofobisiteye sahip suşlar arasında *L. brevis* L12.4 (%27,12±0,11), *L. brevis* L54.1 (%26,98±0,06), *L. brevis* L4.1 (%24,12±0,09) ve *L. brevis* L24.5 (%22,86±0,33) tespit edilmiştir. En düşük hidrofobisite oranları ise *L. brevis* L34.4 (%11,24±0,12), *L. brevis* L63.2 (%9,47±0,18), *L. brevis* L27.4 (%19,10±0,17), *L. brevis* L40.3 (%18,61±0,08) ve *L. plantarum* L4.4 (%12,89±1,09) suşlarında tespit edilmiştir. Sonuç olarak, özellikle *L. brevis* L62.2, L55.1 ve L25.2 gibi suşlarının yüksek hidrofobisite oranları ile ön plana çıktığı görülmektedir.

3.4.5 Antioksidan Aktivite

Suşlara ait antioksidan aktivite bulguları Tablo 3.14'te gösterilmiştir.

Tablo 3.14. LAB suşlarına ait antioksidan aktivite bulguları

Suşlar	Antioksidan aktivite	
	IC*	CFS*
<i>L. plantarum</i> L4.4	ND ^g	13,21±0,05 ⁱ
<i>L. plantarum</i> L7.8	4,09±0,04 ^d	32,14±0,22 ^c
<i>L. brevis</i> L4.1	ND ^g	26,01±0,35 ^e
<i>L. brevis</i> L12.4	5,17±0,10 ^c	22,34±0,02 ^{fg}
<i>L. brevis</i> L23.1	8,21±0,03 ^a	25,78±0,17 ^e
<i>L. brevis</i> L24.5	2,11±0,01 ^f	23,04 ±0,19 ^f
<i>L. brevis</i> L25.2	6,19±0,13 ^b	38,11 ±0,13 ^a
<i>L. brevis</i> L27.4	ND ^g	12,38±0,14 ^{ij}
<i>L. brevis</i> L34.4	ND ^g	17,85±0,07 ^h
<i>L. brevis</i> L40.3	ND ^g	11,14±0,12 ^j
<i>L. brevis</i> L47.3	2,89±0,09 ^e	22,93±0,15 ^f
<i>L. brevis</i> L48.1	4,18±0,10 ^d	30,19±0,09 ^d
<i>L. brevis</i> L54.1	3,92±0,04 ^d	21,46±0,02 ^g
<i>L. brevis</i> L55.1	5,42±0,10 ^c	36,3±0,68 ^b
<i>L. brevis</i> L62.2	2,05±0,03 ^f	31,15±0,20 ^{cd}
<i>L. brevis</i> L63.2	ND ^g	9,19±0,02 ^k
LGG	3,15±0,02	23,19±0,42 ^f

*IC: Canlı hücre, CFS: Hücreden arındırılmış süpernatant, ND: Tespit edilemeyen düzey

Bu alışmada değerlendirilen *L. brevis* ve *L. plantarum* suşlarının antioksidan aktiviteleri, hem canlı hücre (IC) hem de hücreden arındırılmış süpernatant (CFS) üzerinden incelenmiştir. *L. brevis* L25.2 suşu, hem IC (6,19±0,13%) hem de CFS (38,11±0,13%) düzeylerinde yüksek antioksidan aktivite göstererek bu açıdan öne çıkmıştır. Benzer şekilde, *L. brevis* L55.1 ve *L. plantarum* L7.8 suşları da CFS üzerinden sırasıyla %36,3 ve %32,14 ile güçlü antioksidan potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan etkiler açısından CFS düzeyinde en düşük değer *L. brevis* L63.2 suşunda (%9,19) tespit edilmiştir, bu da suşlar arası belirgin farklılıkların olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca IC antioksidan kapasite analizde *L. plantarum* L4.4, *L. brevis* L4., L27.4, L34.4, L40.2 ve L63.2 suşlarında ise antioksidan aktivite tespit edilmemiştir.

Antioksidan aktivite açısından referans olarak kullanılan LGG suşu, IC'de %3,15 ve CFS'de %23,19'luk değerler sergilemiş; bazı yerel izolatların LGG'yi aşan performanslar gösterdiği belirlenmiştir. Bu özellikler suşların fonksiyonel gıda üretiminde değerlendirilme potansiyelini desteklemektedir. Elde edilen bulgular, bazı laktik asit bakterilerinin in vitro koşullarda serbest radikal giderici özellikler

gösterebildiğini ve bu özelliklerin suş temelli olarak önemli farklılıklar içerdiğini ortaya koymuştur.

3.4.6 Antimikrobiyal Aktivite

Çalışmada kullanılan farklı *Lactobacillus* suşlarının, dört farklı patojene karşı gösterdiği antimikrobiyal aktivite değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 3.15'te sunulmuştur.

Tablo 3.15. LAB suşlarının antimikrobiyal aktivite bulguları

Suşlar	Antimikrobiyal Aktivite			
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	<i>S. Abony</i> NRLL 6017	<i>S. aureus</i> ATCC 43300
<i>L. plantarum</i> L4.4	+	-	-	+
<i>L. plantarum</i> L7.8	+	+	+	+
<i>L. brevis</i> L4.1	+	+	-	++
<i>L. brevis</i> L12.4	+	+	+	++
<i>L. brevis</i> L23.1	+	-	+	+
<i>L. brevis</i> L24.5	+	-	-	-
<i>L. brevis</i> L25.2	+	++	+	++
<i>L. brevis</i> L27.4	-	++	-	+
<i>L. brevis</i> L34.4	-	-	+	+
<i>L. brevis</i> L40.3	-	+	-	-
<i>L. brevis</i> L47.3	-	-	+	+
<i>L. brevis</i> L48.1	+	+	-	++
<i>L. brevis</i> L54.1	-	-	-	-
<i>L. brevis</i> L55.1	+	++	+	++
<i>L. brevis</i> L62.2	+	+	+	++
<i>L. brevis</i> L63.2	-	-	-	+
LGG	+	++	-	+

(++): Güçlü antimikrobiyal aktivite; (+): Zayıf antimikrobiyal aktivite; (-): Antimikrobiyal aktivite tespit edilmedi.

L. plantarum suşları, özellikle L4.4 ve L7.8 gibi suşlar, *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* patojenlerine karşı etkili olmuştur. Ancak, L4.4 suşu *S. Abony* üzerinde etkisizken, L7.8 bu patojene karşı güçlü bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *L. brevis* suşları arasında ise, L25.2 ve L55.1 gibi suşlar, birçok patojen üzerinde hem zayıf hem de güçlü aktiviteler sergileyerek daha geniş bir etki spektrumu göstermiştir. Özellikle L12.4, L55.1 ve L62.2 suşlarının, *S. aureus* üzerinde çok güçlü bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan, bazı *L. brevis* suşları (örneğin, L24.5 ve L54.1) çoğu patojen üzerinde hiçbir antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Genel olarak, *L. brevis* ve *L. plantarum*

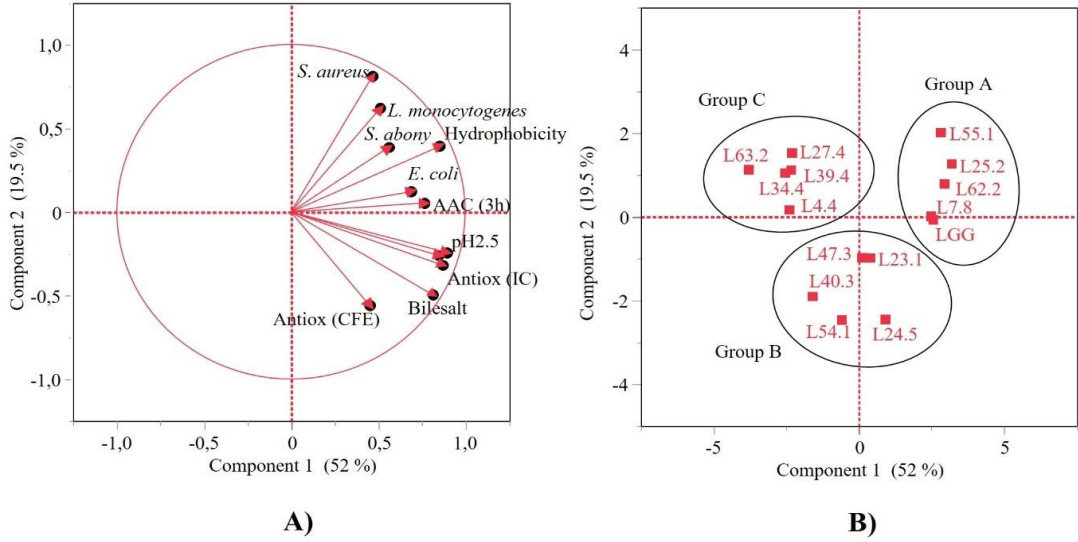
suşlarının, belirli patojenlere karşı etkili antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, en yüksek aktiviteyi ise *L. monocytogenes* ve *S. aureus* üzerinde gösterdiği belirlenmiştir.

Elde edilen bulgular incelendiğinde tüm suşların, en az bir patojene karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmektedir. Ayrıca, tüm suşlar *E. coli* ve *S. Abony* üzerinde zayıf ya da orta derecede antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Buna karşın, *L. brevis* L25.2, L27.4, L55.1 ve LGG suşları, *L. monocytogenes*'e karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergilemişlerdir. LGG suşu, *S. aureus*'a karşı orta derecede aktivite gösterirken, *L. brevis* L4.1, L12.4, L25.2, L48.1, L55.1 ve L62.2 suşları ise yüksek bir antimikrobiyal aktivite sergilemişlerdir.

3.4.7 İstatistiksel Analiz Bulguları

Probiyotik olarak öne çıkan LAB suşlarının belirlenmesinde TBA uygulanmış olup ayrıntılar yukarıda anlatılmıştır. Faktör 1 ve 2, Bartlett test kriterlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,0001$). TBA, ilk dört ana bileşenin (PC) toplam varyasyonun %71,50'sini oluşturduğunu ve PC1 ve PC2'nin en çok katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur. Faktörler tarafından etkili bir şekilde kullanılan değişkenler, faktör yüklerini değerlendirerek belirlenmiştir. Her faktör için özdeğerler (eigen values) hesaplanmış olup faktör 1 (5,7162) ve 2 (2,1499) en yüksek değerleri göstermiştir.

PC1 ve PC2'deki değişkenlerin dağılım grafikleri Şekil 3.9'da gösterilmiştir. PC1 ve PC2 düzlemlerinde üç küme oluşmuştur (Şekil 3B). Grup A, düşük pH ve safrada yüksek canlılık indeksi, yüksek antioksidan kapasite, hidrofobisite, orta veya yüksek antimikrobiyal aktivite gösteren LGG ile *L. plantarum* L7.8, *L. brevis* 25.2, L55.1 ve L62.2'yi içermektedir. Grup B, esas olarak sınırlı hidrofobisite ve daha zayıf antimikrobiyal aktivite gösteren suşlar ile Grup A'dan ayrılmıştır. Grup C'de yer alan suşlar ise, düşük pH'ta ve safra tuzu varlığında önemli ölçüde daha düşük canlılık indeksi göstermiştir ($P<0,05$). Sonuçlara dayanarak, Grup A'daki suşlar in vitro gastrik ve pankreas sindirimi denemeleri için seçilmiştir.



Şekil 3.8. LAB suşlarına ait TBA analiz bulguları

*AAC: Otoagregasyon yüzdesi, IC: Canlı hücre; CFE: Süpernatant

3.4.8 Simüle Edilmiş Mide ve Bağırsak Ortamında Hayatta Kalma

Suşlara ait mide, bağırsak ortamında genel olarak hayatta kalma yüzdeleri Tablo 3.16’da gösterilmiştir. Çalışmada, farklı *Lactobacillus* suşlarının mide ve pankreatik sistemlerdeki canlılık oranları ve genel canlılık oranları değerlendirilmiştir. *L. plantarum* L7.8 suşu, mide sisteminde 64.68 ± 0.36 , pankreatik sistemde ise 76.33 ± 0.36 canlı kalma oranlarıyla en yüksek değerlere sahip olarak tespit edilmiştir. Genel canlılık oranı ise 49.37 ± 0.50 olarak ölçülmüştür. *L. brevis* L55.1 suşu, mide sisteminde 67.16 ± 1.23 , pankreatik sistemde ise 76.62 ± 0.15 canlı kalma oranları ile yüksek performans göstermiş, genel canlılık oranı ise 51.46 ± 0.84 olarak tespit edilmiştir. *L. brevis* L62.2 suşu, pankreatik sistemde 84.95 ± 0.58 ile en yüksek canlı kalma oranı göstermişken, genel canlılık oranı 52.16 ± 0.73 olarak tespit edilmiştir. LGG suşu, mide sisteminde 65.96 ± 0.90 , pankreatik sistemde ise 80.12 ± 0.96 canlılık oranlarına ulaşmış ve genel canlılık oranı 52.84 ± 0.09 olarak tespit edilmiştir. *L. brevis* L25.2 suşu ise mide sisteminde 60.50 ± 0.33 , pankreatik sistemde 71.65 ± 0.03 canlı kalma oranlarıyla daha düşük performans göstermiş ve genel canlılık oranı 43.35 ± 0.26 olarak bulunmuştur.

Genel olarak, suşlara ait en yüksek canlılık oranları pankreatik sistemde gözlemlenmiş olup, bu suşlar arasında en yüksek pankreatik canlılık oranına sahip

olan suş *L. brevis* L62.2 (%84,95±0,58) olmuştur. Mide sisteminde ise, *L. brevis* L55.1 ve LGG suşları benzer yüksek canlılık oranları göstermiştir. Bu sonuçlar, farklı *Lactobacillus* suşlarının mide ve pankreatik sistemdeki canlı kalıma kapasitelerinin suş türüne göre farklılık gösterdiğini ve bazı suşların genel canlılık açısından daha yüksek performans sergilediğini ortaya koymuştur. *L. plantarum* L7.8, *L. brevis* L55.1 ve L62.2'nin oldukça ümit verici teknolojik ve probiyotik özellikler sergilediğini ortaya konmuştur. Bu suşlar, özellikle ekşi mayayı başlangıç kültürü olarak kullanan tahıl bazlı fermente ürünler üretmek için öncelikli olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Tablo 3.16. LAB suşlarına ait simüle edilmiş mide bağırsak ortamında gelişimleri

Suşlar	Mide Sisteminde Canlı Kalma (VI%)	Pankreatik Sistemde Canlı Kalma (VI%)	Genel Canlılık (VI%)
<i>L. plantarum</i> L7.8	64,68±0,36 ^{ab}	76,33±0,36 ^c	49,37±0,50 ^b
<i>L. brevis</i> L25.2	60,50±0,33 ^b	71,65±0,03 ^d	43,35±0,26 ^c
<i>L. brevis</i> L55.1	67,16±1,23 ^a	76,62±0,15 ^c	51,46±0,84 ^{ab}
<i>L. brevis</i> L62.2	61,40±0,45 ^b	84,95±0,58 ^a	52,16±0,73 ^{ab}
LGG	65,96±0,90 ^a	80,12±0,96 ^b	52,84±0,09 ^a

3.5 Ekşi Hamur ve Ekmek Analizleri Bulguları

3.5.1 pH ve Titrasyon Asitliği Bulguları

Ekşi maya üretiminin ilk aşamasında oluşturulan ön ekşilere ait 0. ve 24. saat sonundaki ve ekşi mayaya ait pH ve titrasyon asitliği değerleri Tablo 3.17’de verilmiştir.

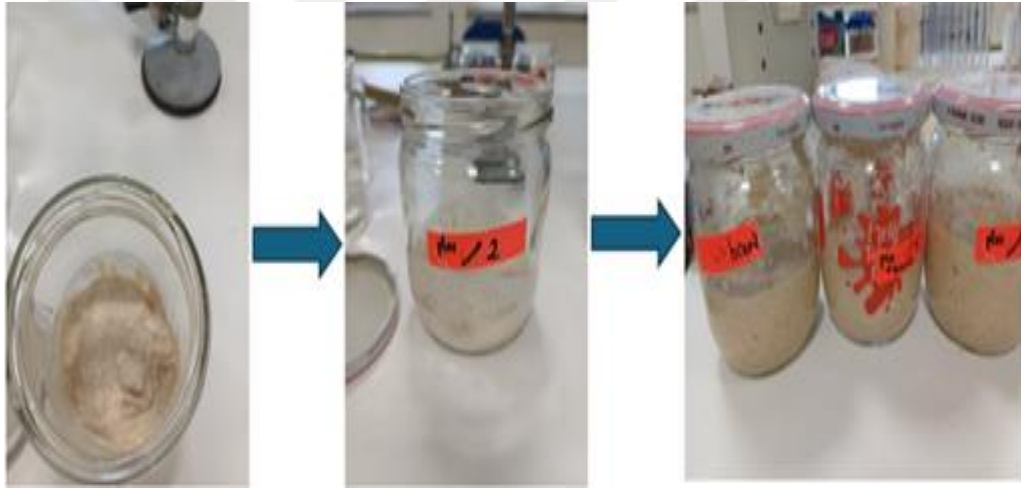
Tablo 3.17. Ekşi mayalara ait pH ve titrasyon asitliği bulguları

Ekmek Kodları	Ön Ekşi (0. Saat)		Ön Ekşi (24. Saat)		Ekşi Maya	
	pH	TTA*	pH	TTA	pH	TTA
E1	-	-	-	-	4,92±0,00	4,30±0,09
E2	5,40±0,01	1,44±0,08	3,28±0,01	4,90±0,03	4,32±0,00	5,50±0,04
E3	5,45±0,00	1,50±0,02	3,22±0,01	5,03±0,03	4,20±0,01	5,76±0,02
E4	5,50±0,00	1,54±0,00	3,20±0,00	5,20±0,10	4,08±0,00	5,90±0,04

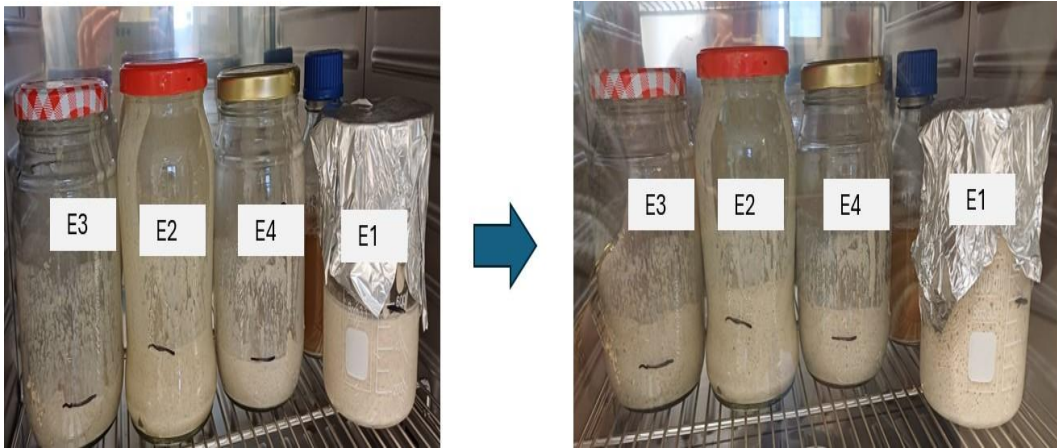
*TTA: Titrasyon asitliği (Sonuçlar laktik asit cinsinden g/L olarak verilmiştir)

Ekmek üretimi için kontrol grubu ekmekte ön ekşi aşaması yapılmamıştır. Hazır preparat ile ekşi hamur oluşturulup ekmek üretimine geçilmiştir. Kontrol

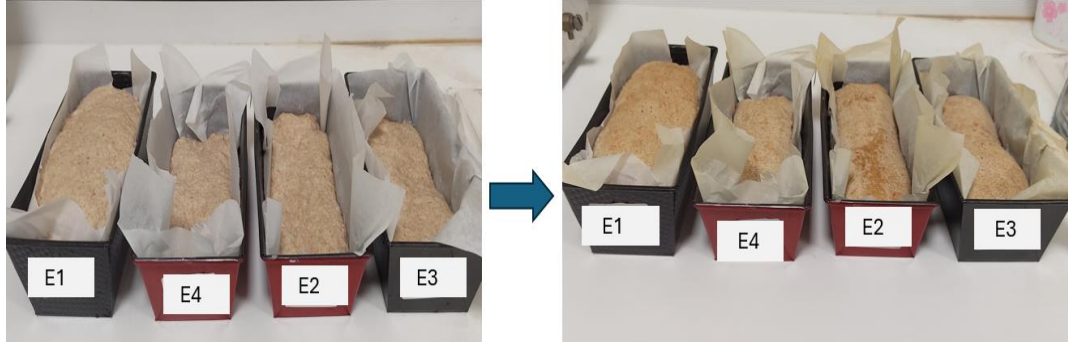
grubuna ait ekşi mayada pH 4.92 ± 0.00 titrasyon asitliği ise 4.30 ± 0.09 olarak belirlenmiştir. E2 kodlu ekmeğe ait ön ekşi mayanın başlangıç pH ve titrasyon asitliği değeri sırasıyla 5.40 ± 0.01 ve 1.44 ± 0.08 ; 24 saatlik fermantasyon sonrasında ise 3.28 ± 0.01 ve 4.90 ± 0.03 ; ekşi hamurda ise 4.32 ± 0.00 - 5.50 ± 0.04 olarak ölçülmüştür. E3 kodlu ekmeğe ait ön ekşi mayanın başlangıç pH ve titrasyon asitliği değeri sırasıyla 5.45 ± 0.00 - 1.50 ± 0.02 ; 24 saatlik fermantasyon sonrasında 3.22 ± 0.01 ve 5.03 ± 0.03 ; ekşi hamurda ise 4.20 ± 0.01 ve 5.76 ± 0.02 olarak ölçülmüştür. E4 kodlu ekmeğe ait ön ekşi mayanın başlangıç pH ve titrasyon asitliği değeri sırasıyla 5.50 ± 0.00 ve 1.54 ± 0.00 ; 24 saatlik fermantasyon sonrasında 3.20 ± 0.00 ve 5.2 ± 0.10 ; ekşi hamurda ise 4.08 ± 0.01 ve 5.90 ± 0.04 olarak ölçülmüştür. Fotoğraf 3.1, 3.2 ve 3.3'te ön ekşi aşamasından başlayarak ekşi maya oluşumu ve ekmeklerin pişirme öncesi ve sonrasına ait görseller verilmiştir.



Fotoğraf 3.1. Ön ekşi hazırlama aşaması



Fotoğraf 3.2. Ekmek örneklerine ait ekşi hamur oluşumu aşaması



Fotoğraf 3.3. Ekşi mayalı ekmek örneklerinin pişirme öncesi ve sonrası

3.5.2 Ekmek Üretimi İçin Hazırlanan Ön Ekşi ve Ekşi Hamurların Mikrobiyolojik Özellikleri

Ekmek üretimi için hazırlanan ön ekşi ve ekşi hamurlara ait maya ve LAB sayı sonuçları Tablo 3.18’de verilmiştir.

Tablo 3.18. Ön ekşi ve ekşi hamurlara ait mikrobiyolojik sayım sonuçları

Ekmek Kodu		LAB (log KOB/ g)	Maya (log KOB/g)
E1	0. saat ön ekşi	-	-
	24. saat ön ekşi	-	-
	3. saat ekşi maya ekmek hamuru	-	10,60±0,18
E2	0. saat ön ekşi	10,27±0,07	-
	24. saat ön ekşi	11,32±0,30	9,11±0,08
	3. saat ekşi maya ekmek hamuru	11,49±0,24	8,41±0,11
E3	0. saat ön ekşi	9,70±0,05	-
	24. saat ön ekşi	10,30±0,14	8,30±0,04
	3. saat ekşi maya ekmek hamuru	8,30±0,10	6,20±0,08
E4	0. saat ön ekşi	10,64±0,13	-
	24. saat ön ekşi	11,46±0,16	9,07±0,05
	3. saat ekşi maya ekmek hamuru	10,43±0,21	8,49±0,10

Kontrol grubu hariç diğer ekmek örnekleri için hazırlanan ön ekşi mayada başlangıç LAB sayıları $9,70 \pm 0,05$ ve $10,64 \pm 0,13$ log KOB/g aralığındadır. Fermantasyonun 24. saatinde ise LAB sayıları her bir ön ekşi için artış göstererek $10,30 \pm 0,14$ ve $11,46 \pm 0,16$ log KOB/g aralığına çıkmıştır. Ekmek üretimi için hazırlanan ekşi maya hamurlarında ise LAB sayıları $8,30 \pm 0,04$ ve $11,49 \pm 0,24$ log KOB/g; maya sayıları ise 6,20 ve 10,60 log KOB/ g aralığında değişmiştir.

3.5.3 Ekşi Hamurların Uçucu Bileşen Profilleri

Ekşi hamurlara ait aroma bileşenleri alan yüzdesi olarak ifade edilmiş olup sonuçlar Tablo 3.19’da gösterilmiştir. En büyük değişiklik n-hekzanal’da görülmüştür (n-Hekzanal %16,64-55,03). Elde edilen uçucu bileşenler oranları en yüksekten başlayarak şu şekilde sıralanmıştır: Propanal %13,49-8,98, Etil asetat %1,41-12,94, 3-Metil 1-butanol %12,29-8,15, 2-Metil 1-butanol %8,85-2,36, 1-Propanol-2-metil %4,39-0,31, n-Pentanal %0,46-2,04, 1-Pentanol(Amylol) %0,17-1,34, n-Hkzanol %0,87- 2,27, Furan-2-pentil %0,86 -1,34, 2-Oktenal %0,66- 2,12, Isofitol %0,11- 1, 2-Heptanal %0,25- 0,75, 1,3-Heksadiyen 3-etil 2-metil %0,18-0,41, Etil kaprilat %0,18- 0,65, n-Heptanal % 0,23- 0,64, 1-Okten 3-ol %0,27- 0,42.

Tablo 3.19. Ekşi hamurlarda belirlenen uçucu bileşenler

Sıra	Uçucu Bileşenler	Geliş Zamanı (dk)	E1	E2	E3	E4
			Alan %	Alan %	Alan %	Alan %
1	Propanal	1,76	13,49	11,5	8,98	10,44
2	Etil asetat	2,26	1,41	7,21	5,51	12,94
3	1-Propanol-2-metil	2,36	4,39	0,85	0,31	0,86
4	n-Pentanal	3,05	0,46	1,17	2,04	1,32
5	3-Metil 1-butanol	3,52	12,29	9,49	8,15	10,24
6	2-Metil 1-butanol	3,58	8,85	2,52	2,36	3,09
7	1-Pentanol (Amylol)	4,04	0,17	0,82	1,1	1,34
8	n-Hekzanal	4,68	16,64	44,01	55,03	39,26
9	n-Hekzanol	6,14	0,87	1,09	1,76	2,27
10	n-Heptanal	6,99	0,23	0,34	0,64	0,6

Tablo 3.19. (devamı) Ekşi hamurlarda belirlenen uçucu bileşenler

11	2-Heptanal	8,51	0,25	0,45	0,75	0,55
12	1-Okten 3-ol	9,01	0,27	0,35	0,37	0,42
13	Furan-2-pentil	9,26	0,86	1,03	1,34	1,06
14	1,3-Heksadiyen 3-etil 2-metil	10,58	0,18	0,35	0,41	0,38
15	2-Oktenal	11,27	0,66	1,09	2,12	1,55
16	Isofitol	12,27	0,11	0,73	1	0,99
17	Etil kaprilat	14,85	0,44	0,18	0,38	0,65

3.5.4 Ekmeklerin Tekstürel Özellikleri

Üretilen ekmeklerinin tekstür profil analiz (TPA) sonuçları Tablo 3.20’de verilmiştir. TPA ekmekler pişirildikten 30-45 dakika sonra yapılmış, ekmeklerin sertlik, yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve esneklik özellikleri belirlenmiştir. Sonuçlar üç tekerrürün ortalaması olarak verilmiştir.

Tablo 3.20. Ekmeklere ait tekstür analiz bulguları

	Sertlik	Esneklik	Yapışkanlık	Çiğnenebilirlik
E1	2085,92±145,812 ^a	0,923±0,05 ^a	1583,11±18,75 ^a	1460,87±79,06 ^a
E2	2077,82±205,074 ^a	0,846±0,016 ^b	1566,33±126,26 ^a	1323,94±99,96 ^a
E3	2023,4±392,342 ^a	0,840±0,014 ^b	1532,79±261,39 ^a	1287,78±221,66 ^a
E4	1463,95±242,139 ^b	0,841±0,022 ^b	1071,01±201,99 ^b	902,481±183,09 ^b

*Ortalama ± standart sapma; n=4, Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($P<0,05$).

Ekmek örneklerine ait sertlik değerlerinin 2085,92±145,812-1463,95±242,139 aralığında değiştiği; E4 kodlu ekmeğin sertlik değerinin diğer örneklerle kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ekmeklere ait esneklik değerleri incelendiğinde 0,840±0,014-0,923±0,05 aralığında değiştiği; E1 kodlu ekmeğin esneklik değeri diğer ekmek örneklerine kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ekmek örneklerine ait yapışkanlık değerleri 1071,01±201,99-1583,11±18,75 aralığında çiğnenebilirlik değerleri ise 902,481±183,09 ile

1460,87±79,06 aralığında değişmektedir. E4 kodlu örneğin yapışkanlık ve çiğnenebilirlik değeri diğer örneklerle kıyasla daha düşük olarak tespit edilmiştir ($P<0,05$).

3.5.5 Ekmeklerin Duyusal Özellikleri

Üretilen ekmeklerin duyusal analiz sonuçları Tablo 3.21’de verilmiştir.

Tablo 3.21. Ekmeklere ait duyusal analiz bulguları

	Gözenek	Çiğnenebilirlik	Kabuk Sertliği	Kabuk Rengi	İç Renk	Tat Aroma	Koku	Genel Beğeni
E1	5,5±1,35 ^a	5,5±0,85 ^a	5,3±0,68 ^b	5,1±0,88 ^{bc}	5,0±1,25 ^a	5,4±0,97 ^a	5,2±1,14 ^{ab}	5,4±0,84 ^a
E2	5,4±1,17 ^a	5,3±1,06 ^a	5,1±0,57 ^b	5,3±0,68 ^{ab}	5,5±0,85 ^a	5,6±0,84 ^a	5,7±0,95 ^a	5,4±0,70 ^a
E3	5,4±1,35 ^a	5,3±1,06 ^a	6,0±0,82 ^a	5,9±0,74 ^a	5,2±1,03 ^a	5,3±1,25 ^a	4,7±0,95 ^b	5,4±0,97 ^a
E4	4,5±0,97 ^a	5,1±0,88 ^a	5,2±0,79 ^b	4,4±1,08 ^c	5,0±0,47 ^a	4,9±0,88 ^a	5,2±1,32 ^{ab}	4,7±0,82 ^a

*Ortalama ± standart sapma; n=4, Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır ($P<0,05$).

Gözenek yapısı, çiğnenebilirlik, ekmek iç rengi, tat ve aroma açısından duyusal analize tabi tutulan ekmek numuneleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($P>0,05$). Tüm ekmek örnekleri bu parametreler açısından ortalamanın üzerinde puan almıştır. Fotoğraf 3.4’te duyusal analiz için hazırlanan panelist tabaklarına ait görseller verilmiştir.

Kabuk sertliği incelendiğinde E3 kodlu ekmek istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Kabuk rengi açısından bakıldığında en yüksek puanı E3 kodlu ekmek alırken; en düşük puanı E4 kodlu ekmek örneği almıştır ve bu farklılık istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Koku puanları incelenen ekmek örneklerinde en yüksek puanı E2 ekmeği; en düşük puanı ise E3 ekmeği almıştır ve bu farklılık istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Ekmek örneklerinin genel beğeni puanları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiş olsa da özellikle kabuk sertliği ve rengi bakımından E3, ekşimsi kokusu bakımından ise E2 örneği daha çok beğenilmiştir.



Fotoğraf 3.4. Duyusal analizi yapılan ekmeklerin görüntüleri

4. TARTIŞMA

Çalışma kapsamında analize alınan 65 adet ekşi hamur örneğine ilişkin LAB ve maya sayıları detaylı bir şekilde verilmiştir (bkz. Tablo 3.1). Ekşi hamur numunelerindeki LAB sayısı 8.04-9.73 log KOB/g arasında değişmekle beraber ortalama olarak 9.31 ± 0.39 log KOB/g düzeyinde tespit edilmiştir. Maya sayılarının ise 5.61-7.72 log KOB/g arasında değiştiği, ortalama değerin ise 7.05 ± 0.48 log KOB/g olduğu görülmektedir. Tip I ekşi hamurda LAB/maya oranının yaklaşık olarak 100:1 civarında olması beklenmektedir. Bu oranlar Tip I ekşi hamurların analizinde belirleyici rol oynamakla birlikte fermantasyon koşullarına bağlı olarak zaman zaman 10:1 civarına kadar da düşebilmektedir (Arora vd., 2021). Bu tez çalışmasında, ekşi hamur numunelerinin LAB ve maya sayıları oranının en düşük 87/1, en yüksek ise 884/1 olduğu; genellikle 100/1'den yüksek veya bu orana yakın değerler gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasından elde edilen LAB ve maya sayıları Dertli vd. (2016), Yağmur vd. (2016) ve Boyacı-Gündüz ve Erten (2020) tarafından bildirilen ortalama değerlerden 1-1.5 log birim yüksek bulunsa da LAB/maya oranlarının benzer düzeylerde seyrettiği görülmektedir. Elde edilen sonuçlar İtalya (Minervini vd., 2010), Çin (Zhang vd., 2011) ve Fransa (Lhomme vd., 2015) gibi farklı coğrafyalarda üretilen ekşi hamur örnekleri ile de benzerlik göstermektedir. Ekşi hamur mikrobiyotası birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Her bir numunenin farklı fermantasyon koşulları, çevre mikrobiyotası ve hamur verimi gibi faktörler hem mikroorganizma çeşitliliğini hem de mikroorganizma sayılarını etkilemektedir (Arora vd., 2021).

Ön tanımlama amacıyla MALDI TOF-MS cihazında gerçekleştirilen analizlerde, suşların yalnızca %36'sının tanımlanabildiği belirlenmiştir. Bu düşük oranın, izole edilen suşların saf olmamasından kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir. Bu bağlamda, mikrobiyal tanımlamada saf kültür elde edilmemesi yanlış veya eksik sonuçlara yol açabilmektedir. Bu nedenle suşlar tekrar çift aşamalı saflaştırma işlemine tabi tutulmuş ve ardından daha güvenilir sonuçlar elde edebilmek amacıyla moleküler analizlere geçilmiştir.

Moleküler analizler sonucunda elde edilen bulgulara göre 31 adet sekans verisinden 8'er adet *Levilactobacillus brevis* ile *Companilactobacillus crustorum*,

5'er adet de *Latilactobacillus curvatus*, *C. paralimentarius* ve *Lactiplantibacillus plantarum* türü tanımlanmıştır. DNA markörleri ile ortaya çıkan profillerin benzer türler için doğrulaması gerçekleştirildiğinde toplamda 350 LAB suşunun; 135'i *C. crustorum*, 125'i *L. brevis*, 40'ı *L. curvatus*, 32'si *C. paralimentarius* ve 18'i *L. plantarum* olduğu belirlenmiştir (bkz. Tablo 3.2).

Toplam 65 adet ekşi hamur örneğinin 27 tanesinden (%41,5) *Companilactobacillus crustorum*, 24 tanesinden (%36,9) *Levilactobacillus brevis*, 8 tanesinden (%12,3) *Latilactobacillus curvatus*, 4 tanesinden (%6,1) *Companilactobacillus paralimentarius*, 2 tanesinden (%3,6) *Lactiplantibacillus plantarum* suşları izole edilmiştir. Tanımlama sonuçlarına göre farklı örneklerden izole edilen LAB suşlarının aynı türlere ait oldukları tespit edilmiştir. Kültüre bağımlı yöntemler birçok araştırmacı tarafından LAB izolasyonu ve tanımlanması için sıklıkla tercih edilen bir yöntem olmasına karşın, mevcut çalışmada da görüldüğü gibi fermantasyon sürecinde yer alan tüm mikroorganizmaların tespit edilmesinde dolayısıyla bakteri çeşitliliği belirlenmesinde yetersiz kalabilmektedir (Iacumin vd., 2009; Coughlan vd., 2015; Gürsoy ve Oflu, 2017; Cerit vd., 2021; Saravanan vd., 2021; Sturza vd., 2021; Sharma ve Rishi, 2021). Tipik bir ekşi hamurdan sıklıkla *L. sanfranciscensis*, *L. plantarum* ve *L. brevis* türü LAB izole edilmektedir (Kezer, 2019). Çakır, (2020) laboratuvar koşullarında ürettiği 2 farklı ekşi hamurdan izole ettiği LAB ve mayaları FTIR'da ön tanımlanması ardından PZR (16S)'da tanımlamıştır. Siyez buğdayı kullanarak oluşturulan ekşi hamurda, *C. crustorum* (baskın tür), *Pediococcus* spp., *L. brevis*, *L. paraplantarum*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. curvatus* olmak üzere yedi farklı tür PZR ile tanımlanmıştır. Aynı çalışmada kavuzsuz arpa kullanılarak elde edilen ekşi hamurda ise *Pediococcus* spp. (baskın tür), *L. brevis*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *C. Crustorum*, *L. plantarum*, *C. paralimentarius*, *Leu. mesenteroides* ve *L. equigenerosi* olmak üzere 9 farklı tür belirlenmiştir.

Carnevali vd. (2007) İtalyan ekşi maya hamurlarından en sık izole edilen laktik asit bakteri türlerini *L. sanfransicensis*, *L. reuteri*, *L. rossiae*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp., *L. casei*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. alimentarius*, *L. fermentum* olarak bildirmişlerdir.

Almanya, Avusturya, Rusya, Finlandiya, İsveç'te hazırlanan çavdar ekşi hamurlarından LAB izolasyonu ve karakterizasyonunun yapıldığı bir çalışmada ise izole edilen mikroorganizmalar; *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* ve *L.*

paralimentarius, *L. alimentarius*, *L. casei* spp. *casei*, *L. casei* spp. *rhamnosus* ve *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. viridescens*, *L. crustorum*, *L. fermentum*, *L. buchneri* ve *L. sanfrancisco* olarak bildirilmiştir. En sık izole edilen türlerin ise *L. sanfranciscensis*, *L. plantarum* ve *L. brevis* olduğu rapor edilmiştir (Kezer, 2019).

Isparta’da fırınlarda kullanılan ekşi mayaların mikrobiyotasının belirlenmesine yönelik olarak yapılan bir çalışmada, farklı ekşi hamur örneklerinden *L. curvatus*; *L. brevis*, *L. amylophilus*, *L. sake*, *L. acetotolerans*, *L. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *P. acidilactici*, *P. halophilus* bakterileri izole edilmiştir (Gül vd., 2021).

Çalışma sonucu elde edilen LAB tür ve çeşitliliği bakımından yalnızca Türkiye’de yapılan çalışmalarla değil uluslararası olarak yürütülen çalışmalarla da benzerlik göstermektedir (Gül vd., 2021; Pino vd., 2022; Suo vd., 2021; Çakır, 2020; Oshiro vd., 2021; Xingaolong vd., 2020; Kezer, 2019; Gobbetti vd., 2016; Zhang vd., 2011). Farklılıkların fermantasyon koşulları, ekolojik etkenler, pasaj süresi, hamur verimleri vb. birçok faktöre göre bağlı olarak oluştuğu düşünülmektedir.

P7 primeri ile amplifikasyonda tüm türlerde özellikle 400 bp civarında elde edilen ortak bir bant mevcuttur. Bu da *L. brevis* türünde üst bölgelerde kuvvetli bağlanmaların olmaması nedeniyle *C. crustorum* yüksek derecede benzerlik göstermesine neden olmuştur. Ancak birden fazla sayıda primer kullanılması ayırımın çözünürlüğü artırmıştır. DNA parmak izi elde edilerek tanımlama gerçekleştirilen çalışmalarda birden fazla sayıda primer kullanılması önem arz etmektedir.

ML dendrogramından farklı olarak UPGMA’da tür içi polimorfizm çok daha iyi bir şekilde yansıtılmıştır (Şekil 3.5). Elde edilen bulgulara göre RAPD markörlerinin farklı genotipleri birbirinden ayırmada faydalı sonuçlar verdiği görülmektedir. Benzer sonuçlar farklı RAPD primerleri kullanılarak farklı LAB türlerinin kümelenmesinde de bildirilmiştir (Abdollahniya vd., 2018).

Bu çalışmada, suşların genetik karakterizasyonu amacıyla kullanılan moleküler markör teknikleri, farklı genetik yapıya sahip mikroorganizmaların ayırımını sağlamak açısından önemli bir araç olarak değerlendirilmiştir. Moleküler markör yöntemleri, özellikle geleneksel mikrobiyolojik sınıflandırmaların ötesine geçerek her bir suşun özgün DNA parmak izini ortaya koymakta ve hem türler arası hem de tür içi genetik çeşitliliğin detaylı biçimde analiz edilmesine olanak

tanınmaktadır. Bu bağlamda RAPD gibi teknikler, kısa sürede çok sayıda izolat üzerinde genetik ayırımı mümkün kılması nedeniyle genetik farklılık analizlerinde yaygın olarak tercih edilmektedir (Lhomme vd., 2015).

Mikroorganizmaların moleküler düzeyde sınıflandırılması, özellikle probiyotik potansiyel veya teknolojik uygunluk açısından öne çıkan suşların seçilmesinde kritik bir aşamadır. Ancak her bir genetik olarak farklı suşun tüm teknolojik parametreler (örneğin: asit ve EPS üretimi, enzimatik aktiviteler, tuz ve asit toleransı) bakımından ayrıntılı biçimde test edilmesi, laboratuvar ölçeğinde ciddi iş gücü, zaman ve ekonomik maliyet doğurmaktadır. Bu nedenle, literatürde sıkça benimsenen yaklaşım; moleküler markörlerle belirlenen genetik çeşitliliğe dayanarak, birbirinden uzak genotiplere sahip temsili suşların seçilmesi ve yalnızca bu suşların teknolojik özelliklerinin detaylı biçimde değerlendirilmesidir. Bu strateji, popülasyonun genel genetik yapısını temsil edecek şekilde sınırlı sayıda suş üzerinden fenotipik analizlerin yapılmasına imkân sağlayarak hem daha sistematik bir değerlendirme yapılmasına olanak tanımakta hem de kaynakların daha verimli kullanılmasını mümkün kılmaktadır. Ayrıca, genetik çeşitliliğin belirlenmesi yalnızca teknolojik özelliklerin öngörülmesiyle sınırlı kalmayıp, potansiyel probiyotik etkilerin, endüstriyel uygulama uygunluğunun ve tür içi fonksiyonel farkların daha isabetli bir şekilde ortaya konmasına da katkı sağlamaktadır. Bu nedenle, moleküler markör temelli genetik analizlerin, geleneksel fenotipik karakterizasyonlarla bütünleştirilmesi; hedef mikroorganizma suşlarının seçiminde bilimsel temele dayalı, ekonomik ve sürdürülebilir bir yaklaşım sunmaktadır (Catzeddu vd., 2006; Robert vd., 2009; Minervini vd., 2012; Ruiz Rodríguez vd., 2016; Palla vd., 2020; Urshev vd., 2024).

Farklı genetik özelliklere sahip LAB suşları UPGMA dengromu çizilerek tespit edilmiştir (bkz. Şekil 3.6). Dendograma göre farklı klonları temsil edecek 66 adet LAB suşu yanı sıra 2 adet ticari ekşi hamur preparatından elde edilen suş eklenerek toplamda 68 adet LAB suşu teknolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla analize alınmıştır.

Teknolojik açıdan öne çıkan LAB suşlarının belirlenmesine yönelik çok yönlü değerlendirmeler yapılmıştır. Bu amaçla, suşların 8 saatlik inkübasyon süresince ortamda oluşturdıkları pH değişimleri, EPS üretim miktarları, hamur kabartma yetenekleri, farklı konsantrasyonlarda laktik asit (%1,2 ve 1,8) asetik asit (%0,30 ve 0,45) ve tuz (%2, 3 ve 4) içeren ortamlarda gelişme kapasiteleri ile farklı

pH değerlerinde (pH 3, 3,5 ve 4) gelişme yetenekleri analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, suşların potansiyel teknolojik özelliklerini çok yönlü olarak ortaya koymuş ve özellikle fermentasyon teknolojisinde kullanım potansiyeli yüksek olan suşların belirlenmesine olanak sağlamıştır.

LAB'nin ekşi hamurdaki en temel faydası ortamın asitliğini düşürücü etkisinden kaynaklanmaktadır (De Vuyst vd., 2014). LAB suşlarının çeşitliliği ve çeşitli biyoaktif bileşikler üretme özelliği pH, zaman ve sıcaklık gibi farklı fermentasyon parametrelerine bağlıdır. Ekşi hamur pH değeri 4'te tutulduğunda, laktik asit izomerlerinin ve etanolün varlığı farklı LAB'nin metabolik aktivitesini ve postbiyotik benzeri bileşiklerin üretimini artırır. Buna karşılık, daha düşük pH değerleri lezzet arttırıcı uçucu bileşiklerin birikmesine yol açar. Bu nedenle, ekşi hamurda pH'nın optimizasyonu, belirli bir lezzet veya istenen metabolitleri üretme amacına bağlı olarak elde edilen hamur türünün önemli bir belirleyicisidir (Pérez-Alvarado vd., 2022).

Yaptığımız tez çalışmasında tüm suşlardan 32 tanesi pH değerini orta seviyede azaltmıştır ($1,00 < \Delta pH < 1,50$), tüm *L. plantarum* suşları ise 1,5 birimden fazla pH düşüşünü sağlamıştır. pH değerini bir birimden az düşüren ($\Delta pH < 1,00$) aralıkta yer alan suşlar, düşük asidifikasyon kapasitesine sahip olarak belirlenmiştir. Bu grupta özellikle *C. crustorum* ve *C. paralimentarius* türlerine ait suşlar yoğunlukta olup, ortam pH değerini anlamlı düzeyde düşürememiştir. Bu nedenle, bu türlerin güçlü starter kültür olarak değil, yardımcı kültür olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir. pH değerini 1 ila 1,5 birim aralığında düşüren ($1,00 < \Delta pH < 1,50$) suşlar ise orta düzeyde asidifikasyon kapasitesine sahiptir. Bu gruba ait suşların çoğunluğunu *L. curvatus* ve *L. brevis* türleri oluşturmakta olup, fermentasyon sürecinde daha dengeli bir pH düşüşü sağladıkları görülmüştür. pH değerini 1,5 birimden fazla düşüren ($\Delta pH > 1,50$) ve yalnızca *L. plantarum* türüne ait suşların yer aldığı grup ise yüksek asidifikasyon kapasitesi göstermiştir. Bu suşlar kısa sürede belirgin bir pH düşüşü sağlayarak starter kültür olarak öne çıkmaktadır.

Gündüz vd. (2020) tarafından yürütülen bir çalışmada, ekşi mayadan izole edilen LAB suşlarının fermentasyon ortamının pH değeri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, izole edilen tüm LAB suşlarının, inkübasyonun 8. saatinin sonunda ortamın pH değerini 4'ün altına düşürdüğü belirlenmiştir. Bu bulguya dayanarak söz konusu suşların asit üretim kapasitelerinin

yüksek olduğunu ve hızlı pH düşüşü sağlayarak ekşi maya fermentasyon sürecinde mikrobiyal dengeyi yönlendirme potansiyeline sahip olduklarını bildirmişlerdir. Oshiro vd. (2020) ekşi hamurda pH düşüşü üzerine etkili suşların belirlenmesi amacıyla gerçekleştirdikleri çalışmalarında *L. brevis* olarak tanımladıkları suşların başlangıç ortam pH değerini 6,5'ten 5- 5,5'e kadar düşürdükleri tespit edilmiş olup bu sonuçlar çalışmanın bulguları ile uyumludur.

Tip I ekşi hamur örneklerinde heterofermentatif LAB türleri, CO₂ üretimi ile hamurun kabarmasına katkıda bulunmaktadır. Bu nedenle teknolojik olarak üstün olan suşların belirlenmesinde LAB suşlarına ait hamur kabartma aktivitesinin tespit edilmesi önemlidir (De Vuyst vd., 2014). Bu çalışmada, 30 LAB suşunda (VI=0) hamur kabartma aktivitesi tespit edilmemiştir. Diğer suşların kabartma aktiviteleri ise %5,14 (*C. crustorum* L57.2) ile %31,50 (*L. brevis* L63.8) arasında değişmiştir. Ticari suşlar ise düşük mayalama aktivitesi göstermiştir (VI<25). VI değeri "0" olan suşlar, hamur kabartma kapasitesine sahip olmayan suşlar olarak sınıflandırılmış ve *C. crustorum* ile *C. paralimentarius* bu grupta öne çıkmıştır. VI değeri 25'in altında olan suşlar (özellikle *L. brevis*, *L. curvatus* ve *L. plantarum*), düşük-orta düzeyde kabartma potansiyeline sahipken; VI değeri 25'in üzerinde olan suşlar arasında ise yalnızca bazı *L. brevis* suşlarının yüksek kabartma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, *L. brevis*'in hamur ürünlerinde kabarma sağlayabilecek potansiyel bir suş olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, birincil karbonhidratın nişasta, bazı serbest şekerler, glikofruktanlar ve pentozanlar olduğu buğday fermentasyonundan elde edilmiştir. Ekşi mayanın ve tahıllardan yapılan ilgili fermente gıdaların optimum asitleşmesini ve duyuşal niteliklerini sağlamak için ek karbonhidrat kullanım testleri gerekli olabilir.

Musatti vd. (2016), ticari *Saccharomyces cerevisiae* yerine *Zymomonas mobilis* ve *Lactobacillus sanfranciscensis*'in ekşi mayalı ekmek üretiminde starter kültür olarak kullanımını ve bu suşların hamur kabartma aktivitelerini incelemişlerdir. Her bir suşun tek başına ve kombinasyon halinde kullanıldığı çalışmada, ticari fırıncılık mayası kadar yüksek hamur kabartma aktivitesi elde edilememiş olsa da zorunlu heterofermentatif olan *L. sanfranciscensis*'in hamur kabartma aktivitesinin *Z. mobilis*'inkinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular ve çalışmanın genel sonuçları değerlendirildiğinde, uygun starter kültür seçimi ile LAB'nin de hamur kabartma sürecine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

LAB tarafından üretilen EPS, fırıncılık sektöründe kalite artırıcı olarak kullanılan ve daha pahalı olan hidrokolloidlerin yerini alma potansiyeline sahip olan bir bileşendir. EPS, ekşi maya içinde hamurun viskozitesini iyileştirerek bir hidrokolloid görevi görmektedir ve bu da dolaylı olarak ekmeğin özgül hacmini ve yumuşaklığını artırmaktadır ayrıca ekmeğin raf ömrünü uzatmaktadır. Buna ek olarak EPS, anti-tümör, antioksidan, kan basıncı, kolesterol gibi geniş bir yelpazede biyolojik aktivite göstermekte, vücut bağışıklığını artırmakta, sindirim sistemi ve bağırsaklar gibi fizyolojik fonksiyonları düzenlemektedir. Ancak, EPS'nin endüstriyel uygulamaları, bunların ekstraksiyonu ve saflaştırılmasının yüksek maliyetleri nedeniyle oldukça zordur. Buna karşılık, ekşi maya fermentasyonu sırasında LAB tarafından üretilen EPS'nin ekstraksiyon, saflaştırma ve diğer adımlara ihtiyaç duyulmaksızın LAB fermentasyonu ile basit, doğal, düşük maliyet ile elde edilmektedir, ekmeğin tüketimi sayesinde vücuda alınarak biyolojik işlevlerde kullanılmaktadır. Tüm bu olumlu etkilerinden dolayı ekşi hamurda kullanılacak yüksek EPS üretim kapasitesine sahip LAB suşlarının tespit edilmesi oldukça önemlidir (Franco vd., 2020; Xu vd., 2020; Zhang vd., 2023).

Analize alınan LAB suşlarının EPS üretim miktarları $0,40 \pm 0,36$ g/L (*C. crustorum* L50.4) ile $17,75 \pm 0,84$ g/L (*L. plantarum* L35.1) aralığında değişmektedir (bkz. Tablo 3.6). Tüm *L. plantarum* izolatlarının yüksek miktarlarda EPS ($>10,0$ g/L) ürettiği tespit edilmiştir. Liu vd. (2018) Çin'in farklı bölgelerinden toplanan geleneksel ekşi mayalardan izole ettikleri LAB suşlarının EPS üretim kapasitelerini değerlendirdikleri çalışmalarında, bazı suşların yüksek oranda EPS ürettiği ve bu üretimin maya kalitesi ile potansiyel teknolojik işlevselliği üzerinde önemli etkiler yarattığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında, özellikle heterofermentatif LAB'lerin EPS üretiminde daha aktif olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgular, mevcut çalışmada elde edilen verilerle paralellik göstermektedir. Benzer şekilde, çalışmada belirli LAB izolatlarının EPS üretim kapasitelerinin yüksek olduğunu ve bu özelliklerinin hem hamur yapısı hem de nihai ürün kalitesi üzerinde olumlu etkiler yaratabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla, hem Liu vd. (2018) tarafından yapılan çalışma hem de bu tez çalışmasından elde ettiğimiz bulgular, EPS üretiminin starter kültür seçiminde dikkate alınması gereken önemli bir kriter olduğunu açıkça ortaya koymaktadır.

LAB türleri hem homo hem de heteropolimerik EPS üretebilir. Her iki EPS tipini de üretebilme yeteneğine sahip olan türler, ekşi hamurun son teknolojik

özelliklerini sinerjistik etkileşimler yoluyla geliştirme potansiyeline sahip olduklarından, ekşi hamur fermentasyonu için özellikle değerlidir. Bu potansiyeli daha derinlemesine araştırmak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Buna ek olarak Schwab vd. (2008) ekşi hamur ortamında bulunan EPS'nin ayrıca prebiyotik etkiler gösterebileceğini ve potansiyel olarak ekşi hamurun mikrobiyotasını etkileyebileceğini bildirmiştir.

Bazı teknolojik parametreler direkt olarak ekşi hamur ortamında karşılaşılsa da suşların zorlu gelişim koşullarına dayanımını test etmek için önem arz etmektedir. Yapılan asit toleransı testleri, farklı LAB türlerinin düşük pH koşullarındaki gelişme yetenekleri açısından belirgin farklılıklara sahip olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle pH 3 değerinde gelişim yetenekleri araştırılan 68 LAB suşunun %51'i düşük ($GI < 25$), %49'u ise orta düzeyde ($25 < GI < 75$) gelişim göstermiştir. Bu durum, mide asiditesine benzeyen ortam koşullarında pek çok suşun canlılık yeteneğinin sınırlı olduğunu, ancak bir kısmının bu stres koşullarına direnç gösterebileceğini ortaya koymaktadır. *C. crustorum* türüne ait 27 suşun %74,1'i pH 3'te zayıf gelişim gösterirken, bu tür içerisinde analize alınan hiçbir suş yüksek düzeyde gelişim gösterememiştir. Benzer şekilde, *C. paralimentarius* ve *L. curvatus* suşlarının tamamı da pH 3'te zayıf gelişim göstermiştir (%100). Buna karşın, *L. brevis* ve *L. plantarum* türlerine ait suşların %100'ü pH 3'te dahi orta düzeyde gelişim gösterebilmiştir. Bu türler, pH 3,5 ve 4 koşullarında ise %100 oranında yüksek gelişim ($GI > 75$) göstererek asidik ortamlara karşı yüksek adaptasyon yeteneklerini ortaya koymuştur. Öte yandan, pH 3,5 koşullarında genel olarak tüm suşlarda gelişim düzeyinin arttığı gözlenmiştir; bu değerinde 68 suşun yalnızca %6'sı düşük, %54'ü orta ve %40'ı yüksek gelişim göstermiştir. *C. crustorum* suşları pH 3,5'te %88,9 oranında orta düzeyde gelişim sergilerken, yalnızca %3,7'si yüksek gelişim göstermiştir. pH 4 koşullarında ise genel direnç artışı daha net ortaya çıkmış ve tüm suşların %75'i yüksek gelişim değerine ulaşmıştır. Özellikle *L. brevis*, *L. plantarum* ve ticari preparatlardan izole edilen TB-1 ve TB-2 suşları, iki farklı pH seviyesinde (pH 3,5, 4) de yüksek adaptasyon göstermeleri nedeniyle probiyotik potansiyel açısından öne çıkmaktadır. Özetle, özellikle *L. brevis* ve *L. plantarum* türlerinin, mide gibi düşük pH ortamlarında hayatta kalma potansiyelleriyle öne çıktıkları ve bu özellikleriyle multifonksiyonel starter kültür geliştirme çalışmalarında güçlü adaylar oldukları tespit edilmiştir.

Yapılan asit tolerans testleri, LAB suşlarının artan laktik asit konsantrasyonunun gelişme değerlerinde azalmalar meydana getirdiğini ortaya koymuştur. Laktik asit konsantrasyonu %1,2'de suşların üçte birinden fazlası yüksek gelişim gösterirken, %1,8 konsantrasyonunda yalnızca %3'ü yüksek gelişim göstermiştir. Tür düzeyinde değerlendirildiğinde, *L. plantarum* suşları yüksek asit konsantrasyonuna karşı en dirençli grup olarak öne çıkmıştır; tüm suşlar %1,8 ortamında dahi orta düzeyde gelişimlerini sürdürebilmiştir. *L. brevis* suşları da benzer şekilde dirençli bulunmuş, ancak yüksek asidik stres altında bazı suşların gelişiminin sınırlanabildiği görülmüştür. Buna karşın *C. crustorum*, *L. curvatus* ve *C. paralimentarius* suşlarının artan asit koşullarına daha duyarlı olduğu, özellikle %1,8 laktik asit varlığında düşük gelişim gösterdikleri tespit edilmiştir.

Asetik asit toleransı testleri, LAB suşlarının artan asidik stres karşısında genel olarak gelişme yeteneklerinde düşüşe sebep olduğunu göstermiştir. Suşların yarısından fazlası %0,30 asetik asit konsantrasyonunda, yüksek düzeyde gelişim göstermişken, bu oran %0,45 konsantrasyonda yalnızca tek bir suşla sınırlı kalmış; suşların büyük kısmı ise düşük düzeyde gelişim göstermiştir. Tür bazında değerlendirildiğinde, *C. crustorum* ve *C. paralimentarius* suşlarının artan asetik asit konsantrasyonlarına karşı belirgin şekilde duyarlı olduğu, yüksek gelişim oranlarının hızla düştüğü gözlenmiştir. Benzer şekilde, *L. plantarum* suşlarının da %0,30 konsantrasyonda orta düzey gelişim gösterirken, %0,45 düzeyinde tümünün düşük gelişim göstermesi, bu türün yüksek asetik asit konsantrasyonundaki gelişiminin oldukça sınırlı olduğunu ortaya koymaktadır. Buna karşın *L. curvatus* suşları %0,30'da yüksek, %0,45'te ise çoğunlukla orta düzeyde gelişim göstererek nispeten daha dirençli olarak belirlenmiştir. *L. brevis* suşları, düşük gelişim oranındaki artışa rağmen %0,45 konsantrasyonda bile %50'sinin orta düzeyde gelişimini sürdürebilmesiyle daha toleranslı bir tür olarak öne çıkmıştır. Özellikle *L. brevis* ve *L. curvatus* gibi türlerin, asetik asit içeriği yüksek gıda matrislerinde teknolojik uygulamalar açısından daha avantajlı olabileceği düşünülmektedir. Bu veriler, multifonksiyonel starter kültür seçimi sürecinde sadece düşük pH değil, aynı zamanda spesifik organik asit stresine karşı da dirençli suşların tercih edilmesinin önemini vurgulamaktadır.

LAB suşlarının %4 NaCl konsantrasyonunda gösterdiği gelişme, tür ve suş düzeyinde farklılık gösterirken %2 ve 3 NaCl konsantrasyonunda analize alınan tüm LAB suşları yüksek düzeyde gelişim göstermiştir. *C. paralimentarius* suşlarının

tamamı yüksek düzeyde gelişim sağlayarak, en yüksek tuz toleransı gösteren suşlar olduğu tespit edilmiş; *C. crustorum*, *L. curvatus* ve *L. plantarum* suşlarının çoğunun yüksek ya da orta düzeyde gelişim gösterdikleri belirlenmiştir. Benzer şekilde *L. brevis* suşları ise genellikle orta düzeyde tolerans göstermiştir. *L. plantarum* TB-2 suşu yüksek gelişim göstererek öne çıkarken, *L. brevis* TB-1 suşu orta düzeyde kalmıştır. Bu veriler, tuz toleransının türden çok suş bazında değerlendirmenin daha anlamlı olduğunu ortaya koymaktadır.

TBA analiz sonuçlarına göre (bkz. Şekil 3.7) LAB suşları iki grupta kümelenmiştir. Grup A'daki 16 suş, düşük pH ve yüksek asit toleransı gibi üstün teknolojik özellikleriyle öne çıkmış, ileri analizler için seçilmiştir. Perricone vd. (2014) multifonksiyonel starter kültür seçimlerinde TBA analizi ile suş seçimi yapmışlardır.

Çalışmada, izole edilen LAB suşlarının genetik çeşitliliği RAPD markörleri kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen polimorfik lokuslar ile bazı teknolojik özellikler (örneğin 8 saatlik pH düşüşü, EPS üretimi, fitaz aktivitesi ve çeşitli stres koşullarında gelişim düzeyleri) arasındaki olası ilişkiler TASSEL 5 yazılımı aracılığıyla, Genel Lineer Model (GLM) yöntemi kullanılarak analiz edilmiştir. Ancak yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda, polimorfik lokuslar ile teknolojik özellikler arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($P>0.05$). Bu durum, RAPD markörlerinin rastgele ve sınırlı sayıda genomik bölgeyi hedeflemesi nedeniyle, teknolojik özelliklerle doğrudan ilişkili gen bölgelerinin analiz dışı kalmış olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, söz konusu teknolojik özelliklerin yalnızca genetik varyasyonlarla değil, aynı zamanda çevresel faktörler, gen ekspresyon düzeyleri ve metabolik yanıtlarla da şekillendiği göz önüne alındığında, bu özelliklerin genetik markörlerle doğrudan ilişkilendirilmesi daha ileri düzey moleküler analizleri gerektirmektedir. Bu bulgular, RAPD markörlerinin teknolojik özelliklerin genetik temelini ortaya koymada sınırlı kaldığını göstermektedir. Gelecekte, genoma dayalı daha kapsamlı analiz tekniklerinin (örneğin, dizileme yoluyla genotiplendirme, SNP mikrodizinleri veya tam genom dizilemesi) kullanılması, bu özelliklerle ilişkili aday gen bölgelerinin daha yüksek çözünürlükle tanımlanmasına olanak sağlayabilir. Ayrıca, transkriptomik analizler gibi gen ekspresyon düzeylerini ortaya koyan moleküler tekniklerin kullanılması, bu teknolojik özelliklerin düzenlenme mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacağı değerlendirilmektedir (Yang vd., 2020).

Ekşi maya teknolojisi fırıncılık sektöründe kullanılan en eski ve sıklıkla tercih edilen ekmek üretim tekniklerindendir. Bu denli sık kullanılan ekşi maya teknolojisinin mikrobiyotasının tam olarak anlaşılması üzerine yıllardır çalışmalar yapılmaktadır. Ekşi maya mikrobiyotasında yer alan LAB türlerinin halihazırda probiyotik olarak tanımlanan cins ve türleri de içerdiği görülmektedir. Probiyotik mikroorganizmalar bulundukları ortamda canlılıklarını kaybettiklerinde ürettikleri metabolitler ve hücre komponentleri (postbiyotik ve parabiyoitik) bağırsak sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Bu bağlamda ekşi maya mikrobiyotası potansiyel bir probiyotik kaynağı olarak görülmektedir ve bağırsak florasının dengesi açısından öneme sahiptir. Bu nedenle ekşi mayanın potansiyel probiyotik nitelikleri daha ayrıntılı olarak araştırılması gerektiği belirtilmektedir (Fekri vd., 2024).

Bu çalışmada, probiyotik potansiyeli yüksek LAB suşlarının tanımlanması ve karakterizasyonuna yönelik kapsamlı bir değerlendirme yapılmıştır. Bu kapsamda, suşların antibiyotiklere karşı direnç profilleri, düşük pH (2,5) ve safra tuzu varlığında gelişme yetenekleri, otoagregasyon ve yüzey hidrofobisite kapasiteleri gibi fonksiyonel özellikleri analiz edilmiştir. Ayrıca, suşların antioksidan kapasiteleri ile patojen mikroorganizmalara karşı sergiledikleri antimikrobiyal etkileri belirlenmiş; bununla birlikte, simüle edilmiş gastrointestinal sistem koşullarında canlılık yüzdeleri incelenmiştir. Tüm bu analizler, suşların potansiyel probiyotik özelliklerinin çok yönlü bir şekilde ortaya konulmasını sağlamış ve ileri uygulamalarda kullanılabilecek probiyotik açıdan üstün suşların belirlenmesini sağlamıştır.

Potansiyel probiyotik suşların seçiminde antibiyotik direncinin belirlenmesinin yanı sıra bu suşların direnç genlerini aktarma yeteneklerinin olup olmaması da oldukça önemlidir. Laktobasiller, doğal olarak geniş bir antibiyotik direnci sergileyen mikroorganizmalardır, ancak çoğu durumda antibiyotik direnci aktarılabılır özellik göstermemektedir. Aktarılamaz antibiyotik dirençleri olan *Lactobacillus* suşları genellikle bir güvenlik endişesi oluşturmamaktadır (Arık., 2018; Demir vd., 2018).

Antibiyotik direnç analizine alınan tüm LAB suşları vankomisine karşı direnç göstermiş olup bu durum LAB suşlarının tamamının doğal olarak direnç geni içermesinden (Demir vd., 2018) kaynaklandığı ve beklenen bir sonuç olduğu; buna karşın 2 suşun tetrasikline karşı direnç gösterdiği için ileri probiyotik analize dahil

edilmemiştir. Probiyotik analizlere toplamda 14 LAB suşu ve kontrol grubu olarak da *L. rhamnosus* GG suşu ile devam edilmiştir.

Bağırsak mikrobiyotasında yer alan probiyotiklerin takviye ürünler ya da gıdalar yoluyla vücuda alınması sırasında canlılıklarını koruyarak bağırsakta kolonize olabilmeleri, probiyotik etkilerinin ortaya çıkabilmesi açısından en kritik adımdır. Bu nedenle, potansiyel bir probiyotik mikroorganizmadan beklenen temel performans, düşük pH ve safra tuzu varlığı gibi gastrointestinal ortamlarda direnç gösterebilmesi ve bu ortamlarda gelişimini sürdürebilmesidir. Günümüzde probiyotik suşlar, yalnızca sağlık destekleyici özellikleri nedeniyle değil, aynı zamanda fermente ürünlerde sağladıkları teknolojik katkılar nedeniyle de gıda endüstrisinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Özellikle ekmek üretiminde probiyotik mikroorganizmaların kullanımı hem ürünün fonksiyonel değerini artırmakta hem de mikrobiyal fermentasyon yoluyla kalite parametrelerinde önemli iyileşmeler sağlamaktadır. LAB tütlerinin fermentasyon sırasında oluşturduğu metabolitler sayesinde aroma, tat ve doku gibi organoleptik özelliklerde gelişme sağlanmakta; ayrıca raf ömrü uzamakta ve mikrobiyal stabilite artmaktadır. Bunun yanı sıra, bu mikroorganizmalar besin değerinin iyileştirilmesine de katkıda bulunmaktadır. Bazı probiyotik suşların prebiyotik liflerle birlikte kullanılması ise sinerjik bir etki yaratarak canlılığın korunmasını desteklemekte ve fonksiyonel etkinliği daha da artırmaktadır. Sonuç olarak, probiyotik suşların ekmek üretiminde kullanımı yalnızca insan sağlığına yönelik faydalar sağlamakla kalmamakta, aynı zamanda ürün kalitesini ve tüketici memnuniyetini artıran yenilikçi ve sürdürülebilir bir biyoteknolojik yaklaşım olarak öne çıkmaktadır (Ayivi ve İbrahim, 2022; Deng vd., 2022; Huligere vd., 2023).

LAB türleri düşük pH (2,5) ve safra tuzu varlığında canlılık yüzdelerinin belirlenmesi amacıyla analize alınmıştır. Tüm suşlar 3 saat boyunca pH 2,5'te 1,94 log KOB/mL ile 6,20 log KOB/mL arasında değişen ($P<0,05$) değerlerde canlılığını sürdürmüştür. pH 2,5 değerinde en yüksek canlılık değeri ise LGG, *L. brevis* L55.1, *L. plantarum* L7.8, *L. brevis* L23.1 suşlarında tespit edilmiştir. Yüzde 0.3 safra tuzu varlığında ise tüm suşlar pH 2,5'te olduğundan daha yüksek bir canlılık yüzdesine sahiptiler. *L. brevis* L55.1 suşu ticari probiyotik suş ile kıyaslandığında safra tuzu varlığında daha iyi bir gelişim göstermiştir ($P<0,05$).

Huligere vd. (2023) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da olduğu gibi LAB suşlarının %0,3 safra tuzu içeren ortamda pH 2,5 ortamından daha iyi gelişme

gösterdikleri tespit edilmiş olup, bu sonuçların Khushboo vd. (2023) tarafından elde edile sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir.

LAB suşlarının otoagregasyon kapasiteleri zamanla artmış, 24 saat sonunda tüm suşlarda anlamlı artış gözlenmiştir ($P < 0,05$). *L. brevis* L25.2, L62.2 ve L55.1 suşları, LGG referans suşundan daha yüksek otoagregasyon kapasitesi sergilemiştir. En yüksek otoagregasyon kapasitesi ise *L. plantarum* L7.8 (%88,71) suşunda tespit edilmiştir.

Probiyotik mikroorganizmalar için otoagregasyon kapasitesi bağırsak epitel yüzeyine tutunma yüzdesi olarak tanımlanmaktadır. Kısaca otoagregasyon değeri yüksek probiyotik mikroorganizmalar bağırsak yüzeyinde kolaylıkla kolonize olarak gelişimlerini tamamlayabilirler bu nedenle probiyotik olarak seçilecek suşların seçiminde yüksek otoagregasyon kapasitesine sahip suşların seçilmesi gerekmektedir (Madjirebaye vd., 2022). Elde edilen bu bulgular, özellikle *L. brevis* L25.2, *L. brevis* L55.1, *L. brevis* L62.2 ve *L. plantarum* L7.8 suşlarının yüksek otoagregasyon kapasitelerine sahip olmaları sayesinde potansiyel probiyotik adayları arasında öne çıktığını göstermektedir.

Sadeghi vd. (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada 35 LAB suşunun otoagregasyon değerleri 4 saatlik inkübasyon sonucunda %5,3 ila %96,1 değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir bu sonuçların çalışmayla uyumlu olduğu görülmektedir.

Çalışmada, suşların hücre yüzeyi hidrofobisitesini belirlemek amacıyla mikrobiyal adezyon testinde hidrokarbon fazı olarak ksilen kullanılmıştır. Bu analizde, hücrelerin hidrokarbon fazına tutunma eğilimleri ölçülerek yüzey hidrofobisite düzeyleri değerlendirilmiştir. Ksilen, düşük polaritesi sayesinde bakteri yüzeylerinin hidrofobik özelliklerini ortaya koymada etkili bir çözücü olarak tercih edilmektedir. Yüksek hidrofobisite değeri, bakterilerin konak mukozal yüzeylere tutunma potansiyelini yansıttığından, probiyotik özelliklerin belirlenmesinde önemli bir diğer parametre olarak değerlendirilmektedir. Analiz sonucunda elde edilen hidrofobisite yüzdeleri, suşların konakçı yüzeylerine adezyon kapasiteleri hakkında bilgi vermektedir. LAB suşlarına ait hidrofobisite değerleri hem suşun genetik özelliklerine hem de bulunduğu çevresel ortama bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir; bu değerler, mikroorganizma ile konakçı arasındaki etkileşimlerin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Topçu vd., 2020). Çalışmada, en düşük hidrofobisite değeri *L. brevis* L63.2 suşunda (%9,47±0,18)

tespit edilirken, en yüksek hidrofobisite değeri ise ticari probiyotik suşun değerini aşan *L. brevis* L62.2 suşunda ($60,95 \pm 0,30$) tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Huligere vd. (2023) de LAB suşlarının ksilen kullanılarak yapılan hidrofobisite analizlerinde $52,13-76,28$ aralığında değişen değerler elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bu bulgular, çalışmada elde edilen verilerle uyum göstermektedir.

Probiyotik mikroorganizmaların sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden biri de antioksidan özellikleri, yani serbest radikalleri giderme kapasiteleridir. Bu aktivite, probiyotik suşların metabolik faaliyetleri sonucunda üretilen biyolojik olarak aktif bileşikler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu bağlamda, CFS içerisindeki yüksek antioksidan aktivite, canlı hücrelerin varlığına gerek kalmaksızın da biyolojik yararların sürdürülebileceğini göstermektedir. Bu durum, postbiyotik kavramı ile doğrudan ilişkilidir. Postbiyotikler; canlı olmayan mikrobiyal hücreler, hücre bileşenleri veya mikroorganizmaların metabolik ürünlerinden oluşan ve konakçı sağlığına olumlu katkı sağlayan bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Hosseinzadeh vd., 2024). Çalışmada elde edilen veriler, bazı suşlara ait CFS örneklerinin güçlü antioksidan özellik sergilediğini ve bu suşların postbiyotik potansiyel taşıdığını göstermektedir. Özellikle *L. brevis* L25.2, *L. brevis* L55.1 ve *L. plantarum* L7.8 suşlarının CFS'lerinde tespit edilen yüksek DPPH temizleme aktivitesi, bu mikroorganizmaların postbiyotik formlarının da fonksiyonel etkiye sahip olduklarını göstermektedir. Genel olarak, IC ile elde edilen antioksidan aktivite değerleri, CFS'lere göre daha yüksek bulunmuş ve $9,19 \pm 0,02$ ile $31,15 \pm 0,20$ aralığında değişmiştir. Bununla birlikte, *L. brevis* L23.1, L25.2 ve L62.2 suşlarının hücreleri, ticari probiyotik suşa kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek antioksidan kapasite sergilemiştir ($P < 0,05$). Diğer taraftan, CFS içeriği en düşük olan suşlardan biri olan *L. plantarum* L4.4'ün sağlam hücrelerinin serbest radikal giderme kapasitesi, ticari probiyotik suşa göre önemli ölçüde daha düşük tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, antioksidan etkinliğin suşlara özgü olduğunu ve hem canlı hücrelerin hem de postbiyotik formların fonksiyonel potansiyel açısından ayrı ayrı değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Kim vd. (2022), *Leuconostoc mesenteroides* MG860, *Leuconostoc citreum* MG210, *Pediococcus acidilactici* MG5001, *Pediococcus pentosaceus* MG5078, *Weissella cibaria* MG5090, *Levilactobacillus brevis* MG5306, *Latilactobacillus curvatus* MG5020 ve *Latilactobacillus sakei* MG5048 suşlarının canlı hücrelerinin serbest radikal temizleme kapasitelerini değerlendirdikleri çalışmalarında, DPPH

radikal süpürme aktivitesinin %2,55 ile %6,88 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Çalışmada ayrıca düşük pH koşullarında canlılık, hücre yüzeyi hidrofobisitesi ve otoagregasyon kapasiteleri de incelenmiş; bu suşların hem probiyotik potansiyel hem de antioksidan aktivite açısından yüksek potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir. Elde edilen bulgular, mevcut çalışmanın sonuçlarıyla da uyumluluk göstermektedir.

LAB suşlarının probiyotik olarak antimikrobiyal etkileri patojen mikroorganizmaların bağırsak yüzeyine yapışmasını engelleyerek kolonize olmalarını engelleme ya da ürettikleri çeşitli antimikrobiyal bileşiklerle patojen mikroorganizmaların gelişimlerini inhibe etmektir (Kalhor vd., 2023). Antimikrobiyal analize tabi tutulan tüm LAB suşları en az bir patojene karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *S. aureus* gibi klinik anlamda önemli ve son yıllarda antibiyotik dirençliliği kazanımı ile inaktive edilmesi zorlaşan önemli bir patojene karşı izole ettiğimiz dört LAB suşunun ticari probiyotikten daha etkili inhibe edici etkisi tespit edilmiştir.

Probiyotik olarak öne çıkan LAB suşlarının belirlenmesinde TBA analizi uygulanmıştır (bkz. Şekil 3.8). Faktör 1 ve 2, Bartlett test kriterlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0,0001$). TBA, ilk dört ana bileşenin (PC) toplam varyasyonun %71,50'sini oluşturduğunu ve PC1 ve PC2'nin en çok katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur. Faktörler tarafından etkili bir şekilde kullanılan değişkenler, faktör yüklerini değerlendirerek belirlenmiştir. Her faktör için özdeğerler hesaplanmış olup faktör 1 (5,7162) ve 2 (2,1499) en yüksek değerleri göstermiştir.

TBA analizi sonucunda Grup A' da düşük pH ve safrada yüksek canlılık indeksi, yüksek antioksidan kapasite, Hidrofobisite, orta veya yüksek antimikrobiyal aktivite gösteren LGG ile *L. plantarum* L7.8, *L. brevis* 25.2, L55.1 ve L62.2'yi içermektedir bu nedenle grup A'da kümelenen in vitro gastrik ve pankreas sindirimi sırasındaki canlılık yüzdelerinin belirlenmesi için analize tabi tutulmuştur.

Simüle edilmiş mide bağırsak ortamında hayatta kalma probiyotik suşların seçimi açısından önemli kriterlerden bir diğeri olarak değerlendirilmektedir (Topçu vd., 2020). Suşların mide ortamında hayatta kalma yüzdelerine bakılacak olursa (bkz. Tablo 3.16) en yüksek değerlerin ticari probiyotik suş ve *L. brevis* L55.1 suşuna ait olduğu görülmektedir. Pankreatik ortamda en yüksek hayatta kalma

yüzdesine sahip suş ticari suştan da daha yüksek canlılık yüzdesi gösteren *L. brevis* L62.2 olarak tespit edilirken; aynı suşun genel canlılık değerinde diğer suşlardan daha yüksek olduğu görülmektedir ($P<0.05$).

Yapılan teknolojik ve probiyotik analizler sonucunda ekşi mayada starter kültür olarak kullanımına karar verilen *L. plantarum* L7.8, *L. brevis* L55.1 ve L62.2 suşlarının, ekmek üretim sürecindeki fonksiyonelliklerini ve potansiyel katkılarını değerlendirebilmek amacıyla, bu suşlar kullanılarak kontrollü koşullar altında ekşi mayalı ekmek üretimi gerçekleştirilmiş ve elde edilen ürünler çeşitli fiziksel, mikrobiyolojik ve duyuşal parametreler açısından analiz edilmiştir.

İnsanların sağlıklı beslenme alışkanlıkları kazanması doğrultusunda değişen ekmek tüketim alışkanlıkları ekşi maya kullanımı ile ekmek üretimini de popüler hale getirmiştir. Ekşi mayalı ekmek ile normal ekmek arasındaki en temel farklılık hamurun pH değerindeki düşüş ve dolayısıyla ekmeğin daha düşük pH değerine sahip olmasıdır (De Bondt vd., 2024). Ekşi mayadaki pH düşüşü mikrobiyotada yer alan LAB aktivitesinin etkisinden kaynaklanmaktadır (Martin vd. 2023; Sakoui vd., 2025).

Tespit edilmesi kısmen kolay olan bazı parametreler ekşi maya kalitesi hakkında bilgi vermektedir. Örneğin ekşi mayadaki pH değeri için optimum değer 4,1 olarak belirlenmiştir, bununla birlikte pH değeri 3,4 ila 4,9 aralığında olması da kabul edilmektedir. Ekşi hamur mayasının pH değeri fermantasyon sıcaklığı, fermantasyon süresi ve hamura katılan ekşi maya miktarına bağlı olarak değişebilmektedir bu nedenle standart bir pH değerinden söz etmek mümkün olmamaktadır (De Bondt vd., 2024). Ekşi mayada tespit edilen daha düşük pH değerleri ise ($\text{pH}<3.0$) uzun süreli fermantasyon (48 saat) ve hamura katılan diğer bileşenlerin (bira artıkları gibi) varlığında tespit edilmiştir (Arora vd., 2021; İslam ve İslam, 2024). Bu bilgiler doğrultusunda çalışmada oluşturulan tüm ekşi maya örneklerine ait pH değerleri optimum değerler aralığında yer almaktadır. Ekşi maya fermantasyonun başlangıcında tüm ön ekşilerin pH değerleri 5,40 ila 5,50 aralığında olup 24 saatlik fermantasyon sonucunda pH değerleri 4,92 ila 4,08 değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir. E4 kodlu ekşi maya örneği ise ekşi mayalarda beklenen optimum pH değerine (4,08) sahiptir. TTA değerleri ise fermantasyon başlangıcında 1,44 ila 1,54 aralığında iken fermantasyon sonucunda 4.30 ila 5.90 aralığında tespit edilmiştir.

Ferreyra vd. (2021) ekşi mayalı ekmeklerin protein içeriğini artırmak için peynir altı suyu eklenmesi üzerine yürüttükleri çalışmalarında kontrol grubu ekşi mayalarda tespit edilen pH ve titrasyon asitliği değeri ile Sevgili vd. (2023) ekşi mayalarda tespit ettikleri TTA değerleri çalışmayla uyumluluk göstermektedir. Subaşı ve Ercan (2023), farklı tam buğday unları kullanarak ve farklı oranlarda (%10, 20 ve 30) ekşi maya ile ürettikleri ekşi mayalı ekmeklerde kalite parametreleri açısından farklılıkları ortaya koydukları çalışmalarında ekşi mayaların başlangıç pH değerleri 6,35-6,24 aralığında değişirken 18 saatlik fermantasyon sonunda pH değerleri 4,80-3,71 aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Araştırmadaki pH değerleri ile kıyaslandığında daha düşük pH değerlerine ulaşmamızın ekşi maya fermantasyon süresinin çalışmada daha uzun (24 saat) olmasında kaynaklandığı düşünülmektedir. Ekşi maya fermantasyon süresinin ekmeğin kalite parametreleri üzerinde önemli etkilere sahip olduğu bilinmektedir.

Ekşi mayalı ekmek üretiminde son ürünün kalitesi üzerinde önemli etkiye sahip olan ekşi maya mikrobiyotasının canlı ve nispeten yüksek sayıda ekşi mayaya eklenmesi oldukça önemlidir. Bu sayede ekşi mayaya ekmek üretimi için eklenen unun tamamı fermente olarak ekmeğin kalitesinde artış görülmektedir (Yang vd., 2021; Zhou vd., 2022).

Sakoui vd. (2025) kinoa unundan *Enterococcus* türlerini starter olarak kullandıkları ekşi mayalardan kek ve ekmek üretimi gerçekleştirdikleri çalışmalarında ekşi mayada 24 saatlik fermantasyon sonucunda LAB sayısının 9,37- 9,24 KOB/mL'ye ulaştığını tespit etmişlerdir. Bu bulgular, bizim araştırma bulgularımızla da uyumludur.

Ekşi mayalı ekmekte tüketici tarafından en beğenilen özelliklerinden biri olan aroması hamurun oluşumu sırasında fermantasyon aşamasında oluşturulan uçucu ve uçucu olmayan bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Ekmek hamurunun aroması üzerinde fermantasyon koşulları ve süresi oldukça önemli etkilere sahiptir. Ekşi mayanın içerdiği uçucu bileşiklerin miktarı ve çeşitliliği; hamurun yoğrulma şekli, fermantasyon süresi ve sıcaklığı, pişirme koşulları, kullanılan unun türü ile hamur verimi gibi çeşitli parametrelerden etkilenmektedir. Bu faktörler, ekşi hamurun mikrobiyal kompozisyonunu dolaylı olarak şekillendirmekte ve böylece oluşan uçucu bileşik profilini ve nihai ürünün aromatik özelliklerini belirleyici rol oynamaktadır. Oluşturulan her bir ekşi mayada yukarıda sayılan koşulların değişkenliği göz önüne alındığında standart bir aroma profilinden bahsetmek

mümkün olmamaktadır (Fu vd., 2022; Warburton vd., 2022). Ekşi mayadaki uçucu bileşiklerin üretiminden mikrobiyotada yer alan LAB ve mayalar sorumludur. Her iki mikroorganizma türü serbest aminoasitleri metabolize etme yetenekleri sayesinde uçucu bileşikleri üretmektedirler. Ekşi maya ekmeğinin fermantasyon ve pişirme adımlarında asitler, aldehitler, ketonlar, alkoller, esterler ve sülfür bileşikleri gibi farklı kimyasal özelliklere sahip çok sayıda uçucu bileşik üretilmektedir. Bu organik bileşiklerin miktarı ve çeşitliliği de ekmek aroması üzerinde önemli etkiye sahiptir. Bu durum yöreden yöreye değişen ekşi hamurlu ekmek lezzetini de açıklamaktadır (De Luca vd., 2021; Zhou vd., 2022).

Ekşi mayalı ekmeğin aroması dört farklı şekilde oluşarak lezzete etki etmektedir: i) ekşi maya fermantasyonu sırasında mikrobiyota faaliyetleri sonucunda, ii) lipid oksidasyonu sonucunda, iii) maillard reaksiyonu sonucunda, iv) aminoasitlerin maya hücreleri tarafından metabolize edilmesi sonucunda oluşmaktadır (Katsi vd., 2021).

Ekşi hamurlara ait aroma bileşenleri alan yüzdesi olarak ifade edilmiştir (bkz. Tablo 3.19). En büyük değişiklik n-hekzanal'da görülmüştür (n-Hekzanal %16,64- 55,03). n-Hekzanal yeşil çimen kokusu veren bir aldehit olarak tanımlanmıştır. n-Hekzanal heterofermentatif LAB tarafından metabolize edilen aminoasitler sonucunda oluşmaktadır. Çalışmada kontrol grubuna kıyasla diğer ekşi mayalarda daha fazla oranda tespit edilmesi kontrol grubunda starter olarak LAB kullanılmaması ile açıklanabilir (Katsi vd., 2021). Elde edilen uçucu bileşenler yüzdelik sıralamaya göre şu şekilde tespit edilmiştir; Propanal % 13,49-8,98, etil asetat %1,41-12,94, 3-Metil 1-butanol %12,29-8,15, 2-Metil 1-butanol %8,85-2,36, 1-Propanol-2-metil %4,39-0,31, n-Pentanal %0,46-2,04, 1-Pentanol(Amylol) %0,17-1,34, n-Hkzanol %0,87-2,27, Furan-2-pentil %0,86-1,34, 2-Oktenal %0,66-2,12, Isofitol %0,11-1, 2-Heptanal %0,25-0,75, 1,3-Heksadiyen 3-etil 2-metil %0,18-0,41, Etil kaprilat %0,18-0,65, n-Heptanal %0,23- 0,64, 1-Okten 3-ol %0,27- 0,42.

Çalışmada tanımlanan alkoller arasında, 3-metil-1-bütanol (malt kokusu), 2-metil-1-bütanol (hoş kokulu koku), n-heksanol (çimen/tatlı/odunsu koku), 1-okten-3-ol (asidik koku) ve n-pentanol (meyvemsi, tatlı koku) yer almaktadır. Alkoller, maya ve heterofermentatif LAB fermantasyonu sonucunda üretilmektedir. Tanımlanan esterler arasında bulunan etilasetat tatlı koku etkisinden sorumludur ve heterofermentatif LAB tarafından oluşturulmaktadır. Çalışmada

kontrol grubuna kıyasla diğer ekşi hamurlarda yüksek oranda tespit edilmesi kontrol grubunda LAB'nin bulunmayışından kaynaklanmıştır (Katsi vd., 2021).

Galoburda vd. (2020) ve Kaseleht vd. (2021) ekşi mayalı ekmek üretiminde starter olarak farklı LAB suşları kullanarak ürettikleri ekşi hamurda gerçekleştirdikleri uçucu aroma bileşenleri analizinde çalışmayla benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Sertlik değeri ekmeğin sıkıştırılması için gerekli maksimum kuvveti gösteren değer olarak tanımlanmıştır (Terrazas-Avila vd., 2024). Ekmek örneklerine ait sertlik değerlerinin $2085,92 \pm 145,812$ - $1463,95 \pm 242,139$ aralığında değiştiği; E4 kodlu ekmeğin sertlik değerinin diğer örneklerle kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Ekmeğin sertlik değerinin artmasının ekmeğin nem değerinin azalmasıyla doğrudan ilişkisi olduğu bilinmektedir (Terrazas-Avila vd., 2024; Olojede vd., 2022) bu bilgi doğrultusunda E4 kodlu ekmeğin daha fazla nem içeriğine sahip olmasından dolayı sertlik değerinin daha düşük tespit edilmiş olduğu düşünülmektedir. Ayrıca ekmek sertliğinin üretimde kullanılan ekşi maya miktarının artırılmasıyla azaltılabileceği bilinmektedir (Naji-Tabasi vd., 2022; Liu vd. 2024). Nouska vd. (2023) ekşi mayalı ekmek yapımında nohut unundan elde edilen ekşi mayanın ekmeğin kalite parametreleri üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmalarında nohut unu mayası ile elde edilen ekmeklerin sertlik değerinin buğday unu ile elde edilen ekmeklerle kıyasla daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuç doğrultusunda ekşi mayalı ekmek üretiminde kullanılan un çeşidinin son ürünün sertlik değeri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (Seis Subaşı ve Ercan, 2024).

Ekmeklerde esneklik değeri tazelik ile ilişkili bir değer olarak kabul edilmektedir. Ekmeğin raf ömrü boyunca tazeliğini koruması esneklik değerinin yüksek oluşu ile ilişkilendirilir bu nedenle yüksek kalitede bir ekmeğin yüksek esneklik değerine sahip olması beklenmektedir (Seis Subaşı ve Ercan, 2024; Tóth vd., 2022). Ekmeklere ait esneklik değerleri incelendiğinde $0,840 \pm 0,014$ - $0,923 \pm 0,05$ aralığında değiştiği; E1 kodlu ekmeğin esneklik değeri diğer ekmek örneklerine kıyasla daha yüksek tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Bu durumun E1 kodlu örneğin sertlik değerinin daha yüksek oluşundan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Yapışkanlık değeri ekmeği oluşturan iç bağlarının sağladığı gücü ve çiğnemek için gerekli enerjiyi gösteren bir tekstür profil sonucu olarak tanımlanmaktadır. Çiğnenebilirlik değeri ise bir yiyeceği yutmaya kadar geçen

sürede çiğneme ve ezme için gereken enerjiyi tanımlayan bir değerdir (Terrazas-Avila vd., 2024; Seis Subaşı ve Ercan, 2024; Sakoui vd., 2025). Ekmek örneklerine ait yapışkanlık değerleri $1071,01 \pm 201,99$ - $1583,11 \pm 18,75$ aralığında çiğnenebilirlik değerleri ise $902,481 \pm 183,09$ - $1460,87 \pm 79,06$ aralığında değişmektedir. E4 kodlu örneğin yapışkanlık ve çiğnenebilirlik değeri diğer örneklerle kıyasla daha düşük olarak tespit edilmiştir bunun nedeninin düşük sertlik değerine sahip oluşundan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir ($P < 0,05$) (Espinoza-Acosta vd., 2025).

Duyusal analiz gıda endüstrisinde üretilen ürünlerin tüketici beğeni düzeylerini belirlemek için sıklıkla başvurulan bir yöntemdir (Zhang vd., 2023). Ekmek örnekleri gözenek yapısı, çiğnenebilirlik, kabuk sertliği ve rengi, ekmek iç rengi, tat ve aroma, genel beğeni açısından duyusal analize alınmıştır. Kabuk sertliği incelendiğinde E3 kodlu ekmek istatistiki olarak anlamlı seviyede yüksek bulunmuştur ($P < 0,05$). TPA analizinde E4 ekmeğinin sertlik ve çiğnenebilirlik değeri daha düşük olarak tespit edilmesine rağmen bu sonuç panelistlerin değerlendirmesinde etkili olmamıştır. Ekmeklerin çiğnenebilirlik değerleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Duyusal analiz puanlamasında yer alan ekmek kabuğunun rengi ekmeğin pişirilmesi sırasında meydana gelen Maillard reaksiyonu ile ilgilidir. Hamurda yer alan LAB enzimleri undan gelen nişasta ve maltoz molekülleri ile reaksiyona girerek Maillard reaksiyonuna katılacak daha fazla indirgen şeker üretmektedir bu durum ekmeğin kabuk renginin daha koyu olmasına sebep olmaktadır (Hernández-Figueroa vd., 2023).

Kabuk rengi açısından bakıldığında en yüksek puanı E3 kodlu ekmek alırken; en düşük puanı E4 kodlu ekmek örneği almıştır ve bu farklılık istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($P < 0,05$). Koku puanları incelenen ekmek örneklerinde en yüksek puanı E2 ekmeği; en düşük puanı ise E3 ekmeği almıştır ve bu farklılık istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). Ekmek örneklerinin genel beğeni puanları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiş olsa da özellikle kabuk sertliği ve rengi bakımından E3, ekşimsi kokusu bakımından ise E2 örneği daha çok beğenilmiştir.

Seis Subaşı ve Ercan, (2024) farklı tam buğday unlarından elde ettikleri ekşi mayaları farklı oranlarda (%10, 20 ve 30) kullanarak ürettikleri ekşi mayaları ekmeklere uyguladıkları duyusal analiz sonucunda tüm ekmek çeşitlerinin genel beğeni puanları kabul edilebilir olarak tespit etmişlerdir bu sonuç çalışmayla uyumludur.

Naji-Tabasi vd. (2022) geleneksel İran ekşi mayalı ekmeğinin kalitesinin iyileştirilmesi üzerinde yürüttükleri çalışmalarında ekmeğin üretiminde kullanılan ekşi maya oranının artırmanın ekmeğin genel kabul edilebilirliklerini artırdığını tespit etmişlerdir. Bu durumun artan ekşi maya miktarının ekmeğin lezzeti, aroması ve tekstürel özellikleri üzerindeki olumlu etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Huang vd. (2023) baklagil unlarının ekşi maya üretiminde kullanılması ile ekmeğin genel kalite özelliklerinin ve besleyici değerinin artırılacağı üzerine yürüttükleri çalışmada kırmızı fasulye (*Vigna angularis*) unundan elde ettikleri ekşi mayalı ekmeğin buğday unundan elde ettikleri kontrol grubu ekşi mayalı ekmeği duyu analize tabi tutmuşlardır. Panelistler tarafından kırmızı fasulye unu ile elde edilen ekşi mayalı ekmeğin genel olarak beğenilmemiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Türkiye'nin farklı bölge ve illerinden toplanan 65 adet Tip I ekşi hamur örneğinden 350 LAB izolatu izole edilmiş olup LAB'nin karakterizasyonu RAPD markörleri ile gerçekleştirilmiştir. Farklı türlerden ve tür içi polimorfik suşlardan seçilen LAB tür tanısı 16S rRNA sekanslanması ile belirlenmiş olup sekanslama sonucunda izole edilen suşlar *C. crustorum* (n=135), *L. brevis* (n=125), *L. curvatus* (n=40), *C. paralimentarius* (n=32) ve *L. plantarum* (n=18) olarak tanımlanmıştır. Türler arası ve tür içi genetik varyasyonun belirlenmesi noktasında RAPD markörleri LAB'de başarılı sonuçlar vermiş olup bulgular yüksek PIC ve RP değerleri ile desteklenmiştir. MV1 primeri; 14 polimorfik bant, 4,90 polimorfik bilgi indeksi ve 7,2 çözme gücü değerleri ile türler arası genetik ayrımı sağlamada en yüksek ayırt ediciliğe sahip RAPD primeri olarak tespit edilmiştir. Diğer primerlerle karşılaştırıldığında hem polimorfik bant sayısı hem de polimorfik bilgi indeksi bakımından P7 (3,48 PIC) ve P4 (4,52 PIC) gibi primerlerden daha yüksek ayırt edicilik göstermiştir. Bu sonuç, MV1 primerinin çalışmada değerlendirilen LAB suşlarının genetik çeşitliliğini ortaya koymada en etkili moleküler belirteç olduğunu ortaya koymaktadır.

LAB'nin karakterizasyonu farklı RAPD markörleri kullanılarak yapılmış olup oluşan UPGMA dendrogramı üzerinden farklı genetik uzaklığa sahip 66 endojen LAB suşu ile ticari iki LAB suşu teknolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla seçilmiştir. Teknolojik olarak üstün suşların belirlenmesinde; 8 saatlik pH değişim değerleri, EPS üretim kapasiteleri, hamur kabartma aktiviteleri ile farklı konsantrasyonlardaki laktik asit, asetik asit ve tuz içeren ortamlardaki gelişimleri dikkate alınarak çok yönlü bir değerlendirme yapılmıştır.

RAPD markörleri ile elde edilen genetik polimorfizm verileri ile suşların teknolojik özellikleri kapsamında değerlendirilen 8 saatlik pH değişim değerleri, EPS üretim miktarları ve farklı konsantrasyonlardaki laktik asit, asetik asit ve tuz varlığında gösterdikleri gelişim değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir ($P>0.05$). Elde edilen bulgular markör yönteminin spesifikliğin önemi vurgulamaktadır.

TBA sonucunda 16 LAB suşu (14 *L. brevis* ve 2 *L. plantarum*) teknolojik özellikleri (EPS üretim kapasiteleri, hamur kabartma aktiviteleri ve düşük pH değerlerinde yüksek gelişim) bakımından ticari izolatlar ile rekabet edebilir

düzeyde veya üstün bulunmaları sebebiyle probiyotik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla seçilmiştir. Seçilen 16 adet LAB arasından 2 adet suş antibiyotik direnci (Tetracycline, klindamisine karşı) taşıması nedeniyle çıkarılmış olup probiyotik analizlere 12 *L. brevis*, 2 *L. plantarum* suşu ile devam edilmiştir. Kontrol olarak LAB için *Lactobacillus rhamnosus* GG suşları kullanılmıştır.

Probiyotik özelliklerin belirlenmesine yönelik olarak, düşük pH ve safra tuzu varlığında gelişim düzeyleri, otoagregasyon ve hidrofobisite kapasiteleri ile antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteler analiz edilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda yeniden gerçekleştirilen TBA sonucunda düşük pH değerinde yüksek canlılık indeksi değerleri, yüksek antioksidan kapasite, güçlü hidrofobik özellikler ve orta-yüksek düzeyde antimikrobiyal aktivite sergileyen suşlar seçilmiştir. Bu kapsamda, *L. plantarum* L7.8, *L. brevis* L25.2, L55.1 ve L62.2 suşları teknolojik ve fonksiyonel özellikler bakımından üstün suşlar olarak belirlenmiştir. Bu suşlar arasından *L. brevis* L62.2 ve *L. plantarum* L7.8, yapay mide ve gastrik sistemde yüksek düzeyde canlılık göstermeleri nedeniyle ekmek üretiminde kullanılmak üzere potansiyel starter kültür adayları olarak seçilmiştir.

Multifonksiyonel starter kültür olarak belirlenen suşların kaynakları incelendiğinde, *Lactobacillus brevis* L62.2'nin Antalya merkezden, *Lactobacillus plantarum* L7.8'in ise Gaziantep merkezden temin edilen ekşi hamur örneklerinden izole edildiği görülmüştür. Bu bulgu, farklı coğrafi bölgelerden elde edilen ekşi hamurların mikrobiyal çeşitliliği açısından önemli bir potansiyel taşıdığını ve bölgesel farklılıkların seçilen suşların özelliklerine yansıdığını göstermektedir.

Endojen suşlar kullanılarak üretilen ekşi hamurların tümünde n-Hekzanal bileşeni çok yüksek bulunmuştur. Deneme örnekleri arasında bu değer en yüksek E3 (*S. cerevisiae* M33T1-2 + *L. brevis* L62.2) kod numaralı örnekte tespit edilmiştir. Ekmek üretiminde pişirme sıcaklığında bu bileşenler önemli oranda azalmaktadır. Ancak özellikle ısıl işlem uygulanmayan tahıl bazlı fermente gıdaların üretiminde bu suşların starter kültür olarak potansiyellerinin yüksek olacağı değerlendirilmektedir.

Elde edilen ekmeklerin tekstürel özellikleri incelendiğinde ticari ekşi hamur preparatı kullanılarak üretilen ekmeğin esneklik değerleri istatistiki olarak daha yüksek bulunmuştur. Diğer özellikler bakımından kontrol ekmeği ile E2 (*S. cerevisiae* M33T1-2 + *L. plantarum* L7) ve E3 (*S. cerevisiae* M33T1-2 + *L. brevis* L62.2) arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Ekmek örneklerinin genel beğeni puanları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiş olsa da özellikle kabuk sertliği ve rengi bakımından E3, ekşimsi kokusu bakımından ise E2 örneği daha çok beğenilmiştir.

Mevcut çalışma bulguları ekşi mayalı ekmek üretiminde endojen maya ve LAB kullanımının ticari olarak satılan Tip III ekşi hamur preparatları ile üretilen ekmeklere göre bazı uçucu bileşenler, tekstürel özellikler ve bazı duyuşsal parametreler bakımından daha üstün sonuçlar verebileceğini göstermektedir.

Ekşi hamur sadece ekmek üretiminde kullanılmamaktadır. Bu yüzden özellikle probiyotik özellikleri de olan bu endojen suşların ısıtma işlemi uygulanmayan boza veya şalgam gibi fermente ürünlerinin kontrollü koşullarda üretiminde de starter kültür olarak kullanılabilme potansiyellerinin bulunduğu görülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdelsalam, M., Elgendy, M. Y., Elfadadny, M. R., Ali, S. S., Sherif, A. H., Abolghait, S. K. (2023). A review of molecular diagnoses of bacterial fish diseases. *Aquaculture International*, 31(1), 417-434.
- Abdollahniya, D., Hosseini, S. M., Baghbaderani, B. K., Mordadi, A., Arabestani, M. R. (2018). Identification of *Lactobacillus* species isolated from traditional dairy products using RAPD-PCR. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection*, 5(2), 7-13.
- Akamine, I. T., Mansoldo, F. R. P., Vermelho, A. B. (2023). Probiotics in the Sourdough Bread Fermentation: Current Status. *Fermentation*, 9(2), 90.
- Aksu, M., Sarısu, H. C., Kaymak, S., Öztürk, Y., Gür, İ., Koçal, H. (2012). Bazı Yabani Vişne (*Prunus cerasus* L.) Tiplerinin RAPD Tekniği ile Moleküler Karakterizasyonu. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, (1), 78-81.
- Aktepe, Y. ve Çakır, İ. (2023). Gıda Mikrobiyolojisinde Güncel Konular, Bölüm Adı: Gıda kaynaklı mikroorganizmaların tespitinde kültüre bağlı olmayan moleküler yöntemler, (Sayfa63- 82), Editör: Prof. Dr. Aynur Gül Karahan Çakmakçı ve Doç. Dr. Aylin Akoğlu, Basım sayısı: 1 Sayfa sayısı: 374 ISBN: 978-625- 393-424-8.
- Al-Habsi, N., Al-Khalili, M., Haque, S. A., Elias, M., Olqi, N. A., Al Uraimi, T. (2024). Health Benefits of Prebiotics, Probiotics, Synbiotics, and Postbiotics. *Nutrients*, 16(22), 3955.
- Alkay, Z., Falah, F., Cankurt, H., Dertli, E. (2024). Exploring the Nutritional Impact of Sourdough Fermentation: Its Mechanisms and Functional Potential. *Foods*,13(11), 1732.
- Amor, K. B., Vaughan, E. E., de Vos, W. M. (2007). Advanced Molecular Tools for the Identification of Lactic Acid Bacteria1. *The Journal of Nutrition*, 137(3), 741S-747S.
- Amr, A. S., Alkhamaiseh, A. M. (2022). Sourdough use in bread production. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 18(2), 81-98.
- Andrade, V. T., de Castro, R. J. S. (2023). Fermented grain-based beverages as probiotic vehicles and their potential antioxidant and antidiabetic properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 53, 102873.
- Arena, M. P., Russo, P., Spano, G., Capozzi, V. (2019). Exploration of the microbial biodiversity associated with north apulian sourdoughs and the effect of the Increasing Number of Inoculated Lactic Acid Bacteria Strains on the Biocontrol against Fungal Spoilage. *Fermentation*, 5(4), 97.
- Arendt, E., Ryan, A., Dal Bello, L. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology*, 24,165–174.
- Arık, G. (2018). Çeşitli gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin (LAB) tanımlanması ve biyofilm oluşturma yetenekleri ile antibiyotik dirençliliklerinin araştırılması, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Bursa.
- Arora, K., Ameer, H., Polo, A., Di Cagno, R., Rizzello, C. G., Gobbetti, M. (2021). Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 71-83.
- Ashaolu, T. J., Varga, L., Greff, B. (2025). Nutritional and functional aspects of European cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, 116221.
- Aydın, F. (2023). Ekşi Hamur Mikrobiyotasından İzole Edilen Mayaların Farklı DNA Markör Sistemleri ile Karakterize Edilmesi ve Bazı Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi, Bolu, Türkiye, 154s.

- Aydın, F., Günen, T. U., Kahve, H. İ., Güler, E., Özer, G., Aktepe, Y., Çakır, İ. (2023). Molecular and technological characterization of *Saccharomyces cerevisiae* from sourdough. *Fermentation*, 9(4), 329.
- Aydın, F., Özer, G., Alkan, M., Çakır, İ. (2022). Genetic diversity and population structure of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from Turkish sourdough by iPBS-retrotransposons markers. *Archives of Microbiology*, 204(12), 693.
- Aydın, F., ve Çakır, İ.(2023) Gıda Mikrobiyolojisinde Güncel Konular, Bölüm Adı: Gıda Mikrobiyolojisinde Kültüre Bağlı Moleküler Tanımlama ve Karakterizasyon Yöntemleri (Sayfa83- 112), Editör: Prof. Dr. Aynur Gül Karahan Çakmakçı ve Doç. Dr. Aylin Akoğlu, Basım sayısı: 1 Sayfa sayısı: 374 ISBN: 978-625- 393-424-8.
- Ayivi, R. D., Ibrahim, S. A. (2022). Lactic acid bacteria: an essential probiotic and starter culture for the production of yoghurt. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(11), 7008-7025.
- Bartkiene, E., Lele, V., Ruzauskas, M., Domig, K. J., Starkute, V., Zavistanaviciute, P., Bartkevics, V., Pugajeva, I., Klupsaite, D., Juodeikiene, G., Mickiene, R., Rocha, J. M. (2020). Lactic Acid Bacteria Isolation from Spontaneous Sourdough and Their Characterization Including Antimicrobial and Antifungal Properties Evaluation. *Microorganisms*, 8(1), 64.
- Benítez-Cabello, A., Calero-Delgado, B., Rodríguez-Gómez, F., Bautista-Gallego, J., Garrido-Fernández, A., Jiménez-Díaz, R., Arroyo-López, F. N. (2020). The use of multifunctional yeast-lactobacilli starter cultures improves fermentation performance of Spanish-style green table olives. *Food Microbiology*, 91, 103497.
- Bernal-Castro, C., Espinosa-Poveda, E., Gutiérrez-Cortés, C., Díaz-Moreno, C. (2024). Vegetable substrates as an alternative for the inclusion of lactic acid bacteria with probiotic potential in food matrices. *Journal of Food Science and Technology*, 61(5), 833-846.
- Bevilacqua, A., Perricone, M., Cannarsi, M., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. (2009). Technological and spoiling characteristics of the yeast microflora isolated from Bella Di Cerignola table olives, *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 2198e2207.
- Blaak, E. E., Canfora, E. E., Theis, S., Frost, G., Groen, A. K., Mithieux, G., Verbeke, K. (2020). Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Beneficial Microbes*, 11(5), 411-455.
- Bonatsou, S., Karamouza, M., Zoumpopoulou, G., Mavrogonatou, E., Kletsas, D., Papadimitriou, K., Panagou, E. Z. (2018). Evaluating the probiotic potential and technological characteristics of yeasts implicated in cv. Kalamata natural black olive fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 271, 48-59.
- Boyacı-Gunduz, C. P., Erten, H. (2020). Predominant yeasts in the sourdoughs collected from some parts of Turkey, *Yeast*, 1-18.
- Boyacı-Gündüz, C. P. (2018). Nohut Mayası ve Ekşi Hamur Fermantasyonlarındaki Laktik Asit Bakterilerinin ve Mayaların Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması ve Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Starter Kültür Olarak Kullanılma Potansiyellerinin Araştırılması, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Bölükbaşı, B. (2007). Trakya bölgesinde farklı köylerden alınan yoğurtlardan laktik asit bakterilerinin izolasyonu, bunların EPS (ekzopolisakkarit) üretim kabiliyetlerinin belirlenmesi ve bu bakteriler kullanılarak ayran üretimine uygun kombinasyonlarının seçilmesi üzerine, Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trakya Üniversitesi, Tekirdağ.
- Calasso, M., Marzano, M., Caponio, G. R., Celano, G., Fosso, B., Calabrese, F. M., De Leo, F. (2023). Shelf-life extension of leavened bakery products by using bio-protective cultures and type-III sourdough. *LWT-Food Science and Technology*, 177, 114587.

- Calvert, M. D., Madden, A. A., Nichols, L. M., Haddad, N. M., Lahne, J., Dunn, R. R., McKenney, E. A. (2021). A review of sourdough starters: Ecology, practices, and sensory quality with applications for baking and recommendations for future research. *PeerJ*, 9, e11389.
- Canesin, M. R., Cazarin, C. B. B. (2021). Nutritional quality and nutrient bioaccessibility in sourdough bread. *Current Opinion in Food Science*, 40, 81-86.
- Carnevali, P., Ciati, R., Leporati, A., Paese, M (2007) Liquid sourdough fermentation: Industrial application perspectives. *Food Microbiology* ,24 (2007) 150–154.
- Catzeddu, P., Mura, E., Parente, E., Sanna, M., Farris, G. A. (2006). Molecular characterization of lactic acid bacteria from sourdough breads produced in Sardinia (Italy) and multivariate statistical analyses of results. *Systematic and Applied Microbiology*, 29(2), 138-144.
- Cerit, Z., Baloğlu, M. C., Yılmaz, R. (2021). Beyaz peynir mikrobiyotasında kültüromik ve shoutgun metagenomik teknolojilerin değerlendirilmesi. *The Journal of Food*, 46(3), 566-582.
- Chen, P., Zhang, Q., Dang, H., Liu, X., Tian, F., Zhao, J., Chen, W. (2014). Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and α -glucosidase inhibitory activity. *Food Control*, 35(1), 65-72.
- Chiva, R., Celador-Lera, L., Uña, J. A., Jiménez-López, A., Espinosa-Alcantud, M., Mateos-Horganero, E., Tamame, M. (2020). Yeast biodiversity in fermented doughs and raw cereal matrices and the study of technological traits of selected strains isolated in Spain. *Microorganisms*, 9(1), 47.
- Collar, C. (2015). Role of bread on nutrition and health worldwide. Bread and its fortification for nutritional and healthy benefits, 26-52.
- Corsetti A, Settanni L, Chaves López C, Felis GE, Mastrangelo M, Suzzi G. (2007). A taxonomic survey of lactic acid bacteria isolated from wheat (*Triticum durum*) kernels and non-conventional flours. *Systematic and Applied Microbiology* 30:561-571.
- Corsetti, A., Settanni, L. (2007). Lactic acid bacteria in sourdough fermentation. *Food Research International*, 40(5), 539–558.
- Coughlan, L. M., Cotter, P. D., Hill, C., Alvarez-Ordóñez, A. (2015). Biotechnological applications of functional metagenomics in the food and pharmaceutical industries. *Frontiers in Microbiology*, 6, 672.
- Claridge III, J. E. (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), 840-862.
- Çakır, E. (2020). Siyez Buğdayı ve Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurlarından Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu ve Karakterizasyonu. Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 160 s.
- Çetinkaya, E. ve Ayhan, K. (2012). Mikrobiyolojide kullanılan bazı temel teknikler. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 2 (1), 53-62.
- Dağ, E., Yıldırım, N., Korkmaz, M. (2023). Erzincan ve çevresinde yayılış gösteren *Astragalus* L. türlerinin genetik çeşitliliğinin ISSR yöntemi ile belirlenmesi. *Biological Diversity and Conservation*, 16(3), 203-209.
- Dapčević-Hadnađev, T., Stupar, A., Stevanović, D., Škrobot, D., Maravić, N., Tomić, J., Hadnađev, M. (2022). Ancient wheat varieties and sourdough fermentation as a tool to increase bioaccessibility of Phenolics and antioxidant capacity of bread. *Foods*, 11(24), 3985.
- Das, T. K., Pradhan, S., Chakrabarti, S., Mondal, K. C., Ghosh, K. (2022). Current status of probiotic and related health benefits. *Applied Food Research*, 2(2), 100185.

- De Angelis, M., Corsetti, A., Tosti, N., Rossi, J., Corbo, M. R., Gobbetti, M. (2001). Characterization of non-starter lactic acid bacteria from Italian ewe cheeses based on phenotypic, genotypic, and cell wall protein analyses, *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (5), 2011-2020.
- De Bondt, Y., Verdonck, C., Brandt, M. J., De Vuyst, L., Gänzle, M. G., Gobbetti, M., Courtin, C. M. (2024). Wheat Sourdough Breadmaking: A Scoping Review. *Annual Review of Food Science and Technology*, 15.
- De Luca, L., Aiello, A., Pizzolongo, F., Blaiotta, G., Aponte, M., Romano, R. (2021). Volatile organic compounds in breads prepared with different sourdoughs. *Applied Sciences*, 11(3), 1330.
- De Vuyst L, Neysens P. (2005). The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends in Food Science & Technology* 16:43-56.
- De Vuyst L, Vrancken G, Ravyts F, Rimaux T, Weckx S. (2009). Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota. *Food Microbiology* 26:666-675.
- De Vuyst, L., Comasio, A., Kerrebroeck, S. V. (2023). Sourdough production: fermentation strategies, microbial ecology, and use of non-flour ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(15), 2447-2479.
- De Vuyst, L., Vrancken, G., Ravyts, F., Rimaux, T., Weckx, S. (2014). Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota. *Food Microbiology*, 26(7), 666-675.
- Demir, E., Kılıç, G. B., Uşan, E. (2018). Farklı Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri'nin Antibiyotik Direnç Profilleri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(2), 197-204.
- Demirkesen-Bicak, H., Arici, M., Yaman, M., Karasu, S., Sagdic, O. (2021). Effect of different fermentation condition on estimated glycemic index, in vitro starch digestibility, and textural and sensory properties of sourdough bread. *Foods*, 10(3), 514.
- Deng, Z., Hou, K., Zhao, J., Wang, H. (2022). The probiotic properties of lactic acid bacteria and their applications in animal husbandry. *Current microbiology*, 79, 1-11.
- Dertli, E., Mercan, E., Arıcı, M., Yılmaz, M. T. Sağdıç, O. (2016). Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics, *LWT- Food Science and Technology*, 71, 116-124.
- EFSA-FEEDAP. (2018). Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms. *EFSA Journal*, 16, 3, 5206.
- Elsby, D. T., Zadoks, R. N., Boyd, K., Silva, N., Chase-Topping, M., Mitchel, M. C., Taggart, M. A. (2022). Antimicrobial resistant *Escherichia coli* in Scottish wild deer: Prevalence and risk factors. *Environmental Pollution*, 314, 120129.
- Espinoza-Acosta, J. L., Navarro-Eúan, M. J., Buitimea-Cantúa, N. E., Chan-Higuera, J. E., Bernal-Mercado, A. T., Dórame-Miranda, R. F., Gerardo-Rodríguez, J. E. (2025). Influence of refreshment varying flour and water on sourdough viscoelasticity and textural properties of bread. *Cereal Chemistry*, 102(1), 144-156.
- Fatemifard, S. Z., Masoumiasl, A., Rezaei, R., Fazeli-Nasab, B., Salehi-Sardoei, A., Ghorbanpour, M. (2024). Association between molecular markers and resistance to bacterial blight using binary logistic analysis. *BMC Plant Biology*, 24(1), 670.
- Fekri, A., Abedinzadeh, S., Torbati, M., Azadmard-Damirchi, S., Savage, G. P. (2024). Considering sourdough from a biochemical, organoleptic, and nutritional perspectives. *Journal of Food Composition and Analysis*, 125, 105853.

- Feng, T., Wang, J. (2020). Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review. *Gut microbes*, 12(1), 1801944.
- Fernández-Peláez, J., Paesani, C., Gómez, M. (2020). Sourdough technology as a tool for the development of healthier grain-based products: An update. *Agronomy*, 10(12), 1962.
- Ferreira, L. S., Verdini, R. A., Soazo, M., Piccirilli, G. N. (2021). Impact of whey protein addition on wheat bread fermented with a spontaneous sourdough. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(9), 4738-4745.
- Franco, W., Pérez-Díaz, I. M., Connelly, L., Diaz, J. T. (2020). Isolation of exopolysaccharide-producing yeast and lactic acid bacteria from quinoa (*Chenopodium quinoa*) sourdough fermentation. *Foods*, 9(3), 337.
- Franco-Duarte, R., Černáková, L., Kadam, S., S. Kaushik, K., Salehi, B., Bevilacqua, A., Rodrigues, C. F. (2019). Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms—from past to present. *Microorganisms*, 7(5), 130.
- Fu, L., Nowak, A., Zhao, H., Zhang, B. (2022). Relationship between microbial composition of sourdough and texture, volatile compounds of Chinese steamed bread. *Foods*, 11(13), 1908.
- Galoburda, R., Straumite, E., Sabovics, M., Kruma, Z. (2020). Dynamics of volatile compounds in triticale bread with sourdough: From flour to bread, *Foods*, 9(12), 1837.
- García-Béjar, B., Fernández-Pacheco, P., Carreño-Domínguez, J., Briones, A., Arévalo-Villena, M. (2023). Identification and biotechnological characterisation of yeast microbiota involved in spontaneous fermented wholegrain sourdoughs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(15), 7683-7693.
- García-Díez, J., Saraiva, C. (2021). Use of starter cultures in foods from animal origin to improve their safety. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5), 2544.
- Gil-Rodríguez, A. M., Carrascosa, A. V., Requena, T. (2015). Yeasts in foods and beverages: In vitro characterisation of probiotic traits. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1156-1162.
- Gobbetti, M., Minervini, F., Pontonio, E., Di Cagno, R., De Angelis, M. (2016). Drivers for the establishment and composition of the sourdough lactic acid bacteria biota. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 3-18.
- Graça, C., Lima, A., Raymundo, A., Sousa, I. (2021). Sourdough fermentation as a tool to improve the nutritional and health-promoting properties of its derived-products. *Fermentation*, 7(4), 246.
- Gu, Y., Luo, X., Qian, H., Li, Y., Fan, M., Wang, L. (2023). Effects of freeze-dried pure strains to replace type II sourdough in bread production. *Food Bioscience*, 53, 102752.
- Gunduz, C. P. B., Agirman, B., Gaglio, R., Franciosi, E., Francesca, N., Settanni, L., Erten, H. (2022). Evaluation of the variations in chemical and microbiological properties of the sourdoughs produced with selected lactic acid bacteria strains during fermentation. *Food Chemistry: X*, 14, 100357.
- Gül, H., Acun, S., Hayit, F., Şirikçi, B. S. (2021). Geleneksel Ekşi Mayalı Isparta Ekmeğinin Bazı Kalite Karakteristikleri Açısından Değerlendirilmesi, *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 34-45.
- Gül, H., Özçelik, S., Sağdıç, O., Certel, M. (2005). Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs, *Process Biochemistry*, 40(2), 691-697.
- Gürsoy, N. C., Otlu, B. (2017). Mikrobiyota çalışmalarında moleküler tanı yöntemleri. *Journal of Biotechnol and Strategic Health Research*, 1, 56-67.

- Harju, S., Fedosyuk, H., Peterson, K. R. (2004). Rapid isolation of yeast genomic DNA: Bust n'Grab. *BMC Biotechnology*, 4, 1-6.
- Hernández-Figueroa, R. H., Mani-López, E., López-Malo, A. (2023). Antifungal activity of wheat-flour sourdough (Type II) from two different *Lactobacillus* in vitro and bread. *Applied Food Research*, 3(2), 100319.
- Hernández-Parada, N., González-Ríos, O., Suárez-Quiroz, M. L., Hernández-Estrada, Z. J., Figueroa-Hernández, C. Y., Figueroa-Cárdenas, J. D. D., Figueroa-Espinoza, M. C. (2022). Exploiting the native microorganisms from different food matrices to formulate starter cultures for sourdough bread production. *Microorganisms*, 11(1), 109.
- Holzapfel, W. H. (2002). Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International Journal of Food Microbiology*, 75(3), 197-212.
- Hosseinzadeh, N., Asqardokht-Aliabadi, A., Sarabi-Aghdam, V., Hashemi, N., Dogahi, P. R., Sarraf-Ov, N., Homayouni-Rad, A. (2024). Antioxidant Properties of Postbiotics: An Overview on the Analysis and Evaluation Methods. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-19.
- Huang, C., Huang, J., Zhang, B., Omedi, J. O., Chen, C., Zhou, L., Huang, W. (2023). Rheofermentation dough properties, bread-making quality and aroma characteristics of red bean (*Vigna angularis*) sourdough induced by LAB *Weissella confusa* QS813 strain fermentation. *Foods*, 12(3), 605.
- Huligere, S. S., Chandana Kumari, V. B., Alqadi, T., Kumar, S., Cull, C. A., Amachawadi, R. G., Ramu, R. (2023). Isolation and characterization of lactic acid bacteria with potential probiotic activity and further investigation of their activity by α -amylase and α -glucosidase inhibitions of fermented batters. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1042263.
- Iacumin, L., Cecchini, F., Manzano, M., Osualdini, M., Boscolo, D., Orlic, S., Comi, G. (2009). Description of the microflora of sourdoughs by culture-dependent and culture-independent methods. *Food Microbiology*, 26(2), 128-135.
- Ilktac, H. Y., Sadik, M., Garipagaoglu, M. (2021). Types of bread preferred by adult individuals and bread's place in daily nutrition. *Progr. Nutr*, 23, e2021096.
- Iosca, G., Vero, L. D., Gullo, M., Licciardello, F., Quartieri, A., Pulvirenti, A. (2020). Exploring the microbial community of traditional sourdoughs to select yeasts and lactic acid bacteria. *Proceedings* Vol. 66, No. 1, p.3.
- Islam, M. A., Islam, S. (2024). Sourdough bread quality: Facts and Factors. *Foods*, 13(13), 2132.
- İspirli, H., Dertli, E. (2022). Isolation of Distinct *Lactobacillaceae* spp. with Functional Characteristics from Traditional Sourdough Samples. *Akademik Gıda*, 20(3), 211-219.
- Jacobsen, C. N., Rosenfeldt Nielsen, V., Hayford, A. E., Møller, P. L., Michaelsen, K. F., Paerregaard, A., Jakobsen, M. (1999). Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(11), 4949-4956.
- Joshi, T. J., Salini, S. V., Mohan, L., Nandagopal, P., Arakal, J. J. (2024). Functional metabolites of probiotic lactic acid bacteria in fermented dairy products. *Food and Humanity*, 3, 100341.
- Kahve, H. İ. (2024) Shanklish Peynirinden İzole Edilen Endojen Mayaların Moleküler Tanımlanması ve Enzimatik Karakterizasyonu. *Gıda*, 49(3), 408-420.
- Kalhor, M. S., Anal, A. K., Kalhor, D. H., Hussain, T., Murtaza, G., Mangi, M. H. (2023). Antimicrobial activities and biopreservation potential of Lactic Acid Bacteria (LAB) from raw buffalo (*Bubalus bubalis*) Milk. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2023(1), 8475995.

- Kamali, M., Samsampour, D., Bagheri, A., Mehrafarin, A., Homaei, A. (2023). Association analysis and evaluation of genetic diversity of *Teucrium stocksianum* Boiss. populations using ISSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 70(3), 691-709.
- Karaman, K., Sagdic, O., Durak, M. Z. (2018). Use of phytase active yeasts and lactic acid bacteria isolated from sourdough in the production of whole wheat bread, *LWT-Food Science and Technology*, 91, 557-567.
- Kaseleht, K., Paalme, T., Mihhalevski, A., Sarand, I. (2021). Analysis of volatile compounds produced by different species of lactobacilli in rye sourdough using multiple headspace extraction, *International Journal of Food Science & Technology*, 46(9), 1940-1946.
- Katsi, P., Kosma, I. S., Michailidou, S., Argiriou, A., Badeka, A. V., Kontominas, M. G. (2021). Characterization of artisanal spontaneous sourdough wheat bread from central Greece: Evaluation of physico-chemical, microbiological, and sensory properties in relation to conventional yeast leavened wheat bread. *Foods*, 10(3), 635.
- Kevser, K. (2017). Ekşi Hamurdan Fitaz Aktivitesi Yüksek Maya ve Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Bu İzolatların Tam Buğday Ekmeği Üretiminde Kullanılması, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erciyes Üniversitesi, Doktora Tezi, Kayseri.
- Kezer, G (2019) Doğal Ekşi Hamurlardan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Tanımlanması ile Bazı Probiyotik Özelliklerinin Saptanması Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü Fen Bilimleri Enstitüsü Hacettepe Üniversitesi, Doktora Tezi, Ankara.
- Khodae, L., Azizinezhad, R., Etminan, A. R., Khosroshahi, M. (2021). Assessment of genetic diversity among Iranian *Aegilops triuncialis* accessions using ISSR, SCoT, and CBDP markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1), 5.
- Khushboo, Karnwal, A., Malik, T. (2023). Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1170725.
- Kišek, T. C., Janko, T., Triglav, T., Smrdel, K. S., Špik, V. C., Kukec, A., Matos, T. (2024). Comparison of Culture-Dependent and Culture-Independent Methods for Routine Identification of Airborne Microorganisms in Speleotherapeutic Caves. *Microorganisms*, 12(7), 1427.
- Koçak, N., Ardiç, M. (2024). Farklı illerden toplanan ekşi hamur örneklerinden *Saccharomyces cerevisiae* Suşlarının izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve popülasyon analizleri. *Gıda*, 49 (1) 179-192.
- Korcari, D., Ricci, G., Quattrini, M., Fortina, M. G. (2020). Microbial consortia involved in fermented spelt sourdoughs: dynamics and characterization of yeasts and lactic acid bacteria, *Letters in Applied Microbiology*, 70(1), 48-54.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K., (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology. Evolution* 35 (6), 1547.
- Lancetti, R., Salvucci, E., Moiraghi, M., Perez, G. T., Sciarini, L. S. (2022). Gluten-free flour fermented with autochthonous starters for sourdough production: Effect of the fermentation process. *Food Bioscience*, 47, 101723.
- Lancetti, R., Sciarini, L., Pérez, G. T., Salvucci, E. (2021). Technological performance and selection of lactic acid bacteria isolated from Argentinian grains as starters for wheat sourdough. *Current Microbiology*, 78, 255-264.
- Lattanzi, A., Minervini, F., Di Cagno, R., Diviccaro, A., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S., De Angelis, M., Gobbetti, M. (2013). The lactic acid bacteria and yeast microbiota of eighteen sourdoughs used for the manufacture of traditional Italian sweet leavened baked goods, *International Journal of Food Microbiology*, 163 (2-3), 71-79.

- Lhomme, E., Lattanzi, A., Dousset, X., Minervini, F., De Angelis, M., Lacaze, G., Gobbetti, M. (2015). Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of sixteen French traditional sourdoughs, *International Journal of Food Microbiology*, 215, 161-170.
- Lhomme, E., Onno, B., Chuat, V., Durand, K., Orain, S., Valence, F., Jacques, M. A. (2016). Genotypic diversity of *Lactobacillus sanfranciscensis* strains isolated from French organic sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology*, 226, 13-19.
- Li, Y., Liu, T., Zhao, M., Zhong, H., Luo, W., Feng, F. (2019). In vitro and in vivo investigations of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Chinese traditional sourdough. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(4), 1893-1903.
- Lima, T. T. M., de Oliveira Hosken, B., Lindner, J. D. D., Menezes, L. A. A., Pirozi, M. R., Martin, J. G. P. (2023). How to deliver sourdough with appropriate characteristics for the bakery industry? The answer may be provided by microbiota. *Food Bioscience*, 56, 103072.
- Liu, A., Su, S., Sun, Y., Li, Q., Li, J., Hu, K., Liu, S. (2024). Enhancing the highland barley-wheat dough network structure and bread quality using freeze-dried sourdough powder with inulin as a protectant. *LWT-Food Science and Technology*, 191, 115599.
- Liu, Z. S., Chen, P. W. (2023). Featured prebiotic agent: The roles and mechanisms of direct and indirect prebiotic activities of lactoferrin and its application in disease control. *Nutrients*, 15(12), 2759.
- Luo, S. C., Wei, S. M., Luo, X. T., Yang, Q. Q., Wong, K. H., Cheung, P. C., Zhang, B. B. (2024). How probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics prevent dental caries: An oral microbiota perspective. *Biofilms and Microbiomes*, 10(1), 14.
- Ma, S., Wang, Z., Guo, X., Wang, F., Huang, J., Sun, B., Wang, X. (2021). Sourdough improves the quality of whole-wheat flour products: Mechanisms and challenges-A review. *Food Chemistry*, 360, 130038.
- Madjirebaye, P., Xiao, M., Mahamat, B., Xiong, S., Mueed, A., Wei, B., Peng, Z. (2022). In vitro characteristics of lactic acid bacteria probiotics performance and antioxidant effect of fermented soymilk. *Food Bioscience*, 49, 101952.
- Mancini, A., Lazzi, C., Bernini, V., Neviani, E., Gatti, M. (2012). Identification of dairy lactic acid bacteria by tRNA^{Ala}-23S rDNA-RFLP. *Journal of Microbiological Methods*, 91(3), 380-390.
- Manini, F., Casiraghi, M. C., Poutanen, K., Brasca, M., Erba, D., Plumed-Ferrer, C. (2016). Characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat bran sourdough, *LWT-Food Science and Technology*, 66, 275-283.
- Manna, S., Gawande, S. P., Meshram, M. D., Ingle, R., Nagrale, D. (2024). Phenotypic and genetic characterization of *Xanthomonas citri* pv. *malvacearum* strains affecting upland cotton in Central India. *Indian Phytopathology*, 77(1), 125-137.
- Martín-García, A., Riu-Aumatell, M., López-Tamames, E. (2023). Influence of process parameters on sourdough microbiota, physical properties and sensory profile. *Food Reviews International*, 39(1), 334-348.
- Maske, B. L., de Melo Pereira, G. V., Vale, A. D. S., de Carvalho Neto, D. P., Karp, S. G., Viesser, J. A., Soccol, C. R. (2021). A review on enzyme-producing lactobacilli associated with the human digestive process: From metabolism to application. *Enzyme and Microbial Technology*, 149, 109836.
- Menezes, A. G. T., Ramos, C. L., Cenzi, G., Melo, D. S., Dias, D. R., Schwan, R. F. (2020). Probiotic potential, antioxidant activity, and phytase production of indigenous yeasts isolated from indigenous fermented foods. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(1), 280-288.

- Merenstein, D., Pot, B., Leyer, G., Ouwehand, A. C., Preidis, G. A., Elkins, C. A., Sanders, M. E. (2023). Emerging issues in probiotic safety: 2023 perspectives. *Gut Microbes*, 15(1), 2185034.
- Meroth, CB., Walter, J., Hertel, CB., Hammes, WP., (2003). Monitoring the Bacterial Population Dynamics in Sourdough Fermentation Processes by Using PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1).
- Minervini, F., De Angelis, M., Di Cagno, R., Pinto, D., Siragusa, S., Rizzello, C. G., Gobbetti, M. (2010). Robustness of *Lactobacillus plantarum* starters during daily propagation of wheat flour sourdough type I, *Food Microbiology*, 27(7), 897-908.
- Mohania, D., Nagpal, R., Kumar, M., Bhardwaj, A., Yadav, M., Jain, S., Yadav, H. (2008). Molecular approaches for identification and characterization of lactic acid bacteria. *Journal of Digestive Diseases*, 9(4), 190-198.
- Moradi, M., Molaei, R., Guimarães, J. T. (2021). A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. *Enzyme and Microbial Technology*, 143, 109722.
- Mota-Gutierrez, J., Franciosa, I., Ruggirello, M., Dolci, P. (2021). Technological, functional and safety properties of lactobacilli isolates from soft wheat sourdough and their potential use as antimould cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(9), 146.
- Mulyawati, A. I., Jatmiko, Y. D., Mustafa, I., Ardyati, T. (2019). Diversity of lactic acid bacteria isolated from fermented mare's milk products based on PCR-RFLP analysis. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, 230(1) 012104.
- Musatti, A., Mapelli, C., Foschino, R., Picozzi, C., Rollini, M. (2016). Unconventional bacterial association for dough leavening. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 28-34.
- Müller, D. C., Mischler, S., Schönlechner, R., Miescher Schwenninger, S. (2021). Multiple techno-functional characteristics of *Leuconostoc* and their potential in sourdough fermentations. *Microorganisms*, 9(8), 1633.
- Naji-Tabasi, S., Shahidi-Noghabi, M., Hosseini-neshad, M. (2022). Improving the quality of traditional Iranian bread by using sourdough and optimizing the fermentation conditions. *SN Applied Sciences*, 4(5), 148.
- Nisiotou, A., Gyiogianni, E., Banilas, G. (2022). Evaluation of different molecular markers for genotyping *non-Saccharomyces* wine yeast species. *Microbiology Research*, 13(3), 643-654.
- Nouska, C., Hatzikamari, M., Matsakidou, A., Biliaderis, C. G., Lazaridou, A. (2023). Enhancement of textural and sensory characteristics of wheat bread using a chickpea sourdough fermented with a selected autochthonous microorganism. *Foods*, 12(16), 3112.
- Ogunremi, O. R., Banwo, K., Sanni, A. I. (2017). Starter-culture to improve the quality of cereal-based fermented foods: trends in selection and application. *Current Opinion in Food Science*, 13, 38-43.
- Oguntoyinbo, F. A., Narbad, A. (2012). Molecular characterization of lactic acid bacteria and in situ amylase expression during traditional fermentation of cereal foods. *Food Microbiology*, 31(2), 254-262.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., Szöcs, E., Wagner, H., (2017). Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.4-2.2017.
- Olojede, A. O., Sanni, A. I., Banwo, K., Michael, T. (2022). Improvement of texture, nutritional qualities, and consumers' perceptions of sorghum-based sourdough bread made with *Pediococcus pentosaceus* and *Weissella confusa* strains. *Fermentation*, 8(1), 32.

- Oshiro, M., Tanaka, M., Zendo, T., Nakayama, J. (2020). Impact of pH on succession of sourdough lactic acid bacteria communities and their fermentation properties. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 39(3), 152-159.
- Oshiro, M., Zendo, T., Nakayama, J. (2021). Diversity and dynamics of sourdough lactic acid bacteriota created by a slow food fermentation system. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 131(4), 333-340.
- Özülkü, G. (2017). Nohut Unu İlaveli Ekşi Hamurun Dondurulmuş Ekmek Yapımında Kullanımı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yıldız Teknik Üniversitesi, Doktora Tezi, İstanbul.
- Păcularu-Burada, B., Georgescu, L. A., Vasile, M. A., Rocha, J. M., Bahrim, G. E. (2020). Selection of wild lactic acid bacteria strains as promoters of postbiotics in gluten-free sourdoughs. *Microorganisms*, 8(5), 643.
- Păcularu-Burada, B., Turturică, M., Rocha, J. M., Bahrim, G. E. (2021). Statistical approach to potentially enhance the postbiotication of gluten-free sourdough. *Applied Sciences*, 11(11), 5306.
- Pakroo, S., Tarrah, A., Takur, R., Wu, M., Corich, V., Giacomini, A. (2022). *Limosilactobacillus fermentum* ING8, a potential multifunctional non-starter strain with relevant technological properties and antimicrobial activity. *Foods*, 11(5), 703.
- Palla, M., Cristani, C., Giovannetti, M., Agnolucci, M. (2020). Large genetic intraspecific diversity of autochthonous lactic acid bacteria and yeasts isolated from PDO Tuscan bread sourdough. *Applied Sciences*, 10(3), 1043.
- Panya, M., Kaewraemruan, C., Saenwang, P., Pimboon, P. (2024). Evaluation of Prebiotic Potential of Crude Polysaccharides Extracted from Wild *Lentinus polychrous* and *Lentinus squarrosulus* and Their Application for a Formulation of a Novel Lyophilized Synbiotic. *Foods*, 13(2), 287.
- Paramithiotis, S., Tsiasiotou, S., Drosinos, E. H. (2010). Comparative study of spontaneously fermented sourdoughs originating from two regions of Greece: Peloponnesus and Thessaly, *European Food Research and Technology*, 231(6), 883-890.
- Pérez-Alvarado, O., Zepeda-Hernández, A., García-Amezquita, L. E., Requena, T., Vinderola, G., García-Cayuela, T. (2022). Role of lactic acid bacteria and yeasts in sourdough fermentation during breadmaking: Evaluation of postbiotic-like components and health benefits. *Frontiers in Microbiology*, 13, 969460.
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Sinigaglia, M. (2014). Technological characterization and probiotic traits of yeasts isolated from Altamura sourdough to select promising microorganisms as functional starter cultures for cereal-based products. *Food Microbiology*, 38, 26-35.
- Pino, A., Russo, N., Solieri, L., Sola, L., Caggia, C., Randazzo, C. L. (2022). Microbial consortia involved in traditional Sicilian sourdough: characterization of lactic acid bacteria and yeast populations. *Microorganisms*, 10(2), 283.
- Poyraz, İ., Boz, B., Doğca, K. (2024). Genetic difference analysis of *Humulus lupulus* L.(Hop) cultivars grown in Pazaryeri (Bilecik) using the ISSR-PCR method. *Biological Diversity and Conservation*, 17(3), 235-242.
- Qiao, N., Wittouck, S., Mattarelli, P., Zheng, J., Lebeer, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G. (2022). After the storm—Perspectives on the taxonomy of Lactobacillaceae. *JDS Communications*, 3(3), 222-227.
- Rai, M. K. (2023). Start codon targeted (SCoT) polymorphism marker in plant genome analysis: current status and prospects. *Planta*, 257(2), 34.

- Ramos, L., Alonso-Hernando, A., Martínez-Castro, M., Morán-Pérez, J. A., Cabrero-Lobato, P., Pascual-Maté, A., Mujico, J. R. (2021). Sourdough biotechnology applied to gluten-free baked goods: Rescuing the tradition. *Foods*, 10(7), 1498.
- Reale, A., Zotta, T., Ianniello, R. G., Mamone, G., Di Renzo, T. (2020). Selection criteria of lactic acid bacteria to be used as starter for sweet and salty leavened baked products. *LWT-Food Science and Technology*, 133, 110092.
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., Penna, A. L. B. (2012). Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*, 4, 124-140.
- Ribet, L., Dessalles, R., Lesens, C., Brusselaers, N., Durand-Dubief, M. (2023). Nutritional benefits of sourdoughs: A systematic review. *Advances in Nutrition*, 14(1), 22-29.
- Rizzello, C. G., Lorusso, A., Montemurro, M., Gobbetti, M. (2016). Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. *Food Microbiology*, 56, 1-13.
- Robert, H., Gabriel, V., Fontagné-Faucher, C. (2009). Biodiversity of lactic acid bacteria in French wheat sourdough as determined by molecular characterization using species-specific PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 135(1), 53-59.
- Ruiz Rodríguez, L., Vera Pingitore, E., Rollan, G., Martos, G., Saavedra, L., Fontana, C., Vignolo, G. (2016). Biodiversity and technological potential of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented amaranth sourdough. *Letters in Applied Microbiology*, 63(2), 147-154.
- Ruiz, P., Izquierdo, P. M., Seseña, S., Palop, M. L. (2008). Intraspecific genetic diversity of lactic acid bacteria from malolactic fermentation of Cencibel wines as derived from combined analysis of RAPD-PCR and PFGE patterns. *Food Microbiology*, 25(7), 942-948.
- Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Hajinia, F., Kharazmi, M. S., Jafari, S. M. (2023). FoodOmics as a promising strategy to study the effects of sourdough on human health and nutrition, as well as product quality and safety; back to the future. *Trends in Food Science & Technology*, 136, 24-47.
- Sadeghi, M., Panahi, B., Mazlumi, A., Hejazi, M. A., Komi, D. E. A., Nami, Y. (2022). Screening of potential probiotic lactic acid bacteria with antimicrobial properties and selection of superior bacteria for application as biocontrol using machine learning models. *LWT-Food Science and Technology*, 162, 113471.
- Sakoui, S., Derdak, R., Jouga, F., Dagni, A., Pop, O. L., Vodnar, D. C., El Khalfi, B. (2025). The Impact of Fermented Quinoa Sourdough with *Enterococcus* Strains on the Nutritional, Textural, and Sensorial Features of Gluten-Free Muffins. *Fermentation*, 11(1), 26.
- Saravanan, A., Kumar, P.S., Hemavathy, R.V. (2021). Methods of detection of food-borne pathogens: A review. *Environmental Chemistry Letters* 19, 189–207.
- Sato, H., Yanagida, F., Shinohara, T., Yokotsuka, K. (2000). Restriction fragment length polymorphism analysis of 16S rRNA genes in lactic acid bacteria isolated from red wine. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 90(3), 335-337.
- Schwab, C., Mastrangelo, M., Corsetti, A., Gänzle, M. (2008). Formation of oligosaccharides and polysaccharides by *Lactobacillus reuteri* LTH5448 and *Weissella cibaria* 10M in sorghum sourdoughs. *Cereal Chemistry*, 85(5), 679-684.
- Seis Subaşı, A. (2020) Laktik Starter ile Hazırlanan Ekşi Hamurun Tam Buğday Ekmeğinin Kalitesine ve Bazı Besinsel Özelliklerine Etkileri, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Ankara, 164s.

- Seis Subaşı, A., Ercan, R. (2024). Technological characteristics of whole wheat bread: effects of wheat varieties, sourdough treatments and sourdough levels. *European Food Research and Technology*, 1-16.
- Settanni, L., Ventimiglia, G., Alfonzo, A., Corona, O., Miceli, A., Moschetti, G. (2013). An integrated technological approach to the selection of lactic acid bacteria of flour origin for sourdough production, *Food Research International*, 54(2), 1569-1578.
- Shaban, A. S., Arab, S. A., Basuoni, M. M., Abozahra, M. S., Abdelkawy, A. M., Mohamed, M. M. (2022). SCoT, ISSR, and SDS-PAGE Investigation of Genetic Diversity in Several Egyptian Wheat Genotypes under Normal and Drought Conditions. *International Journal of Agronomy*, 2022(1), 7024028.
- Sharma, A., Lee, S., Park, Y. S. (2020). Molecular typing tools for identifying and characterizing lactic acid bacteria: a review. *Food science and biotechnology*, 29, 1301-1318.
- Sharma, M., Rishi, I. (2021). Single strand conformation polymorphism: Principle and troubleshoots. *Annals of Clinical and Laboratory Research*, 9(2): 336.
- Siepmann, F. B., Ripari, V., Waszczynskyj, N., Spier, M. R. (2018). Overview of sourdough technology: From production to marketing. *Food and Bioprocess Technology*, 11, 242-270.
- Skotniczny, M., Satora, P. (2023). Molecular Detection and Identification of Plant-Associated *Lactiplantibacillus plantarum*. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4853.
- Sturza, R., Mitin, V., Mitina, I., Buga, A., Zgardan, D., Behta, E. (2021). Development and validation of sybr green-based qPCR technique of detection and quantification of *Salmonella enterica*. *Food and Nutrition Science* 12(11), 997-1007.
- Subaşı, A. S., Ercan, R. (2023). The effects of wheat variety, sourdough treatment and sourdough level on nutritional characteristics of whole wheat bread. *Journal of Cereal Science*, 110, 103637.
- Suo, B., Chen, X., Wang, Y. (2021). Recent research advances of lactic acid bacteria in sourdough: Origin, diversity, and function. *Current Opinion in Food Science*, 37, 66-75.
- Tekin, F., Altın, İ., Aydın, F., Alkan, M., Orel, D. C., Ardiç, M., Özer, G. (2024). Unveiling genetic diversity among bacterial isolates using SCoT markers. *Current Microbiology*, 81(12), 1-8.
- Temmerman, R., Huys, G., Swings, J. (2004). Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods. *Trends in Food Science & Technology*, 15(7-8), 348-359.
- Terrazas-Avila, P., Palma-Rodríguez, H. M., Navarro-Cortez, R. O., Hernández-Uribe, J. P., Piloni-Martini, J., Vargas-Torres, A. (2024). The effects of fermentation time on sourdough bread: An analysis of texture profile, starch digestion rate, and protein hydrolysis rate. *Journal of Texture Studies*, 55(2), e12831.
- Todorov, S. D., Dioso, C. M., Liong, M. T., Nero, L. A., Khosravi-Darani, K., Ivanova, I. V. (2023). Beneficial features of *Pediococcus*: from starter cultures and inhibitory activities to probiotic benefits. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(1), 4.
- Toprak, S., Coşkun, Ö. F., Mavi, K. (2023). Çerezlik karpuz genotiplerinin ISSR tekniği ile moleküler karakterizasyonu. *Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 6(1), 51-58.
- Tóth, M., Kaszab, T., Meretei, A. (2022). Texture profile analysis and sensory evaluation of commercially available gluten-free bread samples. *European Food Research and Technology*, 248(6), 1447-1455.
- Urien, C., Legrand, J., Montalent, P., Casaregola, S., Sicard, D. (2019). Fungal species diversity in French bread sourdoughs made of organic wheat flour. *Frontiers in Microbiology*, 10, 201.

- Urshev, Z., Doynova, D., Prasev, I., Denkova-Kostova, R., Koleva, A., Denkova, Z., Goranov, B., Kostov, G. (2024). Identification of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Sourdoughs Prepared with Different Flour Types. *Applied Sciences*, 14(5), 2093.
- Van Kerrebroeck, S., D. Maes, I. De Vuyst. (2017). Sourdoughs as a function of their species diversity and process conditions, a meta-analysis. *Trends in Food Science & Technology*. 68:152–9.
- Váradi, L., Luo, J. L., Hibbs, D. E., Perry, J. D., Anderson, R. J., Orenga, S., Groundwater, P. W. (2017). Methods for the detection and identification of pathogenic bacteria: past, present, and future. *Chemical Society Reviews*, 46(16), 4818-4832.
- Venturi, M., Guerrini, S., Vincenzini, M. (2012). Stable and non-competitive association of *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida milleri* and *Lactobacillus sanfranciscensis* during manufacture of two traditional sourdough baked goods. *Food Microbiology*, 31(1), 107-115.
- Vinicius De Melo Pereira, G., De Carvalho Neto, D. P., Junqueira, A. C. D. O., Karp, S. G., Letti, L. A., Magalhães Júnior, A. I., Soccol, C. R. (2020). A review of selection criteria for starter culture development in the food fermentation industry. *Food Reviews International*, 36(2), 135-167.
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 612285.
- Warburton, A., Silcock, P., Eyres, G. T. (2022). Impact of sourdough culture on the volatile compounds in wholemeal sourdough bread, *Food Research International*, 161, 111885.
- Welsh, J., McClelland, M. (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, 18(24), 7213–7218.
- Wu, S., Peng, Y., Xi, J., Zhao, Q., Xu, D., Jin, Z., Xu, X. (2022). Effect of sourdough fermented with corn oil and lactic acid bacteria on bread flavor. *LWT-Food Science and Technology*, 155, 112935.
- Xingaolong, X., Mad, J., Fue, Z., Zhaof, Y., Aia Suo, B. (2020) Diversity of bacterial communities in traditional sourdough derived from three terrain conditions (mountain, plain and basin) in Henan Province, *China Food Research International* 133 (2020) 109139.
- Xiong, Y., Zhang, P., Warner, R. D., Shen, S., Fang, Z. (2022). Cereal grain-based functional beverages: From cereal grain bioactive phytochemicals to beverage processing technologies, health benefits and product features. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(9), 2404-2431.
- Xu, D., Hu, Y., Wu, F., Jin, Y., Xu, X., Gänzle, M. G. (2020). Comparison of the functionality of exopolysaccharides produced by sourdough lactic acid bacteria in bread and steamed bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(33), 8907-8914.
- Yadav, M. K., Kumari, I., Singh, B., Sharma, K. K., Tiwari, S. K. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(2), 505-521.
- Yağmur, G., Tanguer, H., Leventdurur, S., Elmacı, S. B., Turhan, E. Ü., Francesca, N., Settanni, L. Moschetti, G., Erten, H. (2016). Identification of predominant lactic acid bacteria and yeasts of Turkish sourdoughs and selection of starter cultures for liquid sourdough production using different flours and dough yields, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 66(2), 99-108.
- Yang, H., Liu, T., Zhang, G., He, G. (2020). Intraspecific diversity and fermentative properties of *Saccharomyces cerevisiae* from Chinese traditional sourdough, *LWT-Food Science and Technology*, 124, 109195.

- Yang, Q., Rutherford-Markwick, K., Mutukumira, A. N. (2021). Identification of dominant lactic acid bacteria and yeast in rice sourdough produced in New Zealand. *Current Research in Food Science*, 4, 729-736.
- You, S., Ma, Y., Yan, B., Pei, W., Wu, Q., Ding, C., Huang, C. (2022). The promotion mechanism of prebiotics for probiotics: A review. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1000517.
- Yu, Y., Zhou, M., Sadiq, F. A., Hu, P., Gao, F., Wang, J., Zhang, G. (2024). Comparison of the effects of three sourdough postbiotics on high-fat diet-induced intestinal damage. *Food & Function*, 15(18), 9053-9069.
- Zapaśnik, A., Sokołowska, B., Bryła, M. (2022). Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. *Foods*, 11(9), 1283.
- Zhang, J., Liu, W., Sun, Z., Bao, Q., Wang, F., Yu, J., Zhang, H. (2011). Diversity of lactic acid bacteria and yeasts in traditional sourdoughs collected from western region in Inner Mongolia of China, *Food Control*, 22(5), 767-774.
- Zhang, J., Yao, Y., Li, J., Ju, X., Wang, L. (2023). Impact of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria on the chemical, rheological properties of buckwheat sourdough and the quality of buckwheat bread. *Food Chemistry*, 425, 136369.
- Zhang, Y., Momoisea, P., Lin, Q., Liang, J., Burrow, K., Serventi, L. (2023). Evaluation of sensory and physicochemical characteristics of vitamin B12 enriched whole-meal sourdough bread fermented with *Propionibacterium freudenreichii*. *Sustainability*, 15(10), 8157.
- Zhou, Y., She, X., Zhu, S., Zhou, X. (2022). The study of microbial diversity and volatile compounds in Tartary buckwheat sourdoughs. *Food Chemistry: X*, 14, 100.