

**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIVI EKŞİ HAMUR SİSTEMİ İÇİN UYGUN LAKTİK ASİT BAKTERİ  
KOMBİNASYONUNUN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Ayca KÜÇÜKÇUBAN**

**Anabilim Dalı : Gıda Mühendisliği**

**Programı : Tezli Yüksek Lisans**

**Tez Danışmanı: Doç.Dr. Raci EKİNCİ**

**Aralık, 2012**

## YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY FORMU


Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 101161004 nolu öğrencisi Ayca KÜÇÜKÇUBAN tarafından hazırlanan “SIVI EKŞİ HAMUR SİSTEMİ İÇİN UYGUN LAKTİK ASİT BAKTERİ KOMBİNASYONUNUN BELİRLENMESİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesi  
(Jüri Başkanı) :   
Prof. Dr. Ergun KÖSE (CBÜ)

Jüri Üyesi  
(Tez Danışmanı) :   
Doç. Dr. Raci EKİNCİ (PAÜ)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK (PAÜ)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 09/01/2013. tarih ve ...07/1/6.... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü  
Prof. Dr. Nuri KOLSUZ

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

İmza

: 

Öğrenci Adı Soyadı : Ayca KÜÇÜKÇUBAN

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim sırasında bana yardımlarını esirgemeyen Sayın Bölüm Başkanım Prof. Dr. Sebahattin NAS'a, beni yönlendiren ve deneyimlerinden yararlandığım danışmam hocam Sayın Doç. Dr. Raci EKİNCİ'ye, tezimin her aşamasında bilgilerini benimle paylaşan Sayın Yrd. Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK'e ve destek olan hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. İlyas ÇELİK, Doç. Dr. Murat SARI, Uzm. Dr. Abdullah AKDOĞAN ve Araş. Gör. Onur GÜNEŞER'e ayrıca diğer bölüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca tüm çalışmalarında bana her zaman maddi ve manevi açıdan destek olan, varlıklarıyla beni cesaretlendiren, çok sevdiğim aileme, emeği geçen arkadaşlarım Aslıhan PALA, Araş. Gör. Halil İbrahim KAYA, Derya AKTAŞ, Nejla MUTLU, Burcu KÖRDİKANLIOĞLU ve sevdiklerime çok teşekkür ederim.

Aralık 2012

Ayca KÜÇÜKÇUBAN  
(Gıda Mühendisi)

## İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	ix
<b>SUMMARY</b> .....	x
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1 Tezin Amacı .....	3
1.2 Literatür Özeti .....	4
1.2.1 Ekşi hamur teknolojisi .....	6
1.2.2 Sıvı ferment sistemi .....	12
1.2.3 Laktik asit bakterileri .....	14
1.2.4 Ekmek mayası ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) .....	24
1.2.5 Ekşi hamur laktik asit bakterileri ve ekmekçilik açısından önemi.....	25
1.2.6 Ekmek hamuru fermantasyonu ve ekmek hamuru fermantasyonuna mikroorganizmaların etkileri.....	31
1.2.7 Tat ve aroma oluşumunda fermantasyonun önemi .....	33
<b>2. MATERYAL VE METOT</b> .....	35
2.1 Materyal .....	35
2.1.1 Hamur bileşenleri .....	35
2.1.2 Kullanılan laktik asit bakterileri ve gelişme ortamları.....	35
2.2 Metot .....	35
2.2.1 Hammadde analizleri .....	35
2.2.2 Tip II ekşi hamurun hazırlanması .....	37
2.2.3 Tip II ekşi hamurda yapılan kimyasal analizler .....	38
2.2.4 Tip II ekşi hamurda yapılan mikrobiyolojik analizler .....	39
2.2.5 Ekmek hamurunun hazırlanması.....	39
2.2.6 Hamur örneklerinde pH ve titrasyon asitliği tayini.....	40
2.2.7 Hamur örneklerinde mikrobiyolojik analizler.....	41
2.2.8 Ekmek hamurunun reolojik özelliklerinin belirlenmesi.....	41
2.2.9 Ekmek hamurunun aroma bileşenlerinin belirlenmesi.....	41
2.2.10 İstatistiksel analiz.....	42
<b>3. BULGULAR VE TARTIŞMA</b> .....	43
3.1 Hammadde Analiz Sonuçları .....	43
3.1.1 Farklı optik yoğunluktaki laktik asit bakteri solüsyonlarının hücre sayısı	43
3.1.2 Kullanılan una ait analitik analiz sonuçları.....	44
3.2 Tekli Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Kimyasal Analiz Sonuçları..	45
3.3 Tekli Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Mikrobiyolojik Sayım Sonuçları.....	47
3.4 İkili Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Kimyasal Analiz Sonuçları....	49
3.5 İkili Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Mikrobiyolojik Sayım Sonuçları .....	52
3.6 Üçlü Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Kimyasal Analiz Sonuçları... 54	

3.7 Üçlü Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Mikrobiyolojik Sayım Sonuçları.....	56
3.8 Ekmek Hamurunun Hazırlanmasında Kullanılan Laktik Suş ve Kombinasyonların Seçimi .....	59
3.9 Ekmek Hamurlarının pH ve Asitlik Değerlerindeki Değişim.....	60
3.10 Ekmek Hamurlarının Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	62
3.11 Ekmek Hamurlarının Reolojik Analiz Sonuçları .....	63
3.11.1 Un testi denemeleri .....	63
3.11.2 Hamur testi denemeleri .....	67
3.12 Hamurların Aroma Profili .....	70
<b>4. GENEL SONUÇLAR .....</b>	<b>76</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>79</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>85</b>

## **KISALTMALAR**

<b>DRBC Agar</b>	: Dichloren Rose Bengal Chlortetracycline Agar
<b>FAO</b>	: Food and Agriculture Organization
<b>FQ</b>	: Fermantasyon Katsayısı
<b>GC-MS</b>	: Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
<b>GRAS</b>	: Generally Recognised As Safe
<b>HPLC</b>	: High Performance Liquid Chromatography
<b>LAB</b>	: Laktik asit bakterisi
<b>% LA</b>	: Yüzde Laktik asit
<b>MRS</b>	: de Man, Rogosa, Sharpe
<b>MIS</b>	: Microbial Identification System
<b>SPME</b>	: Solid Phase Micro Extraction
<b>WHO</b>	: World Health Organization

## TABLO LİSTESİ

### Tablolar

1.1 : Ekşi hamurdan izole edilen <i>Lactobacillus</i> türleri .....	18
1.2 : Laktik asit bakterileri tarafından üretilen metabolitler ve önemleri... ..	21
1.3 : Ekşi hamur kullanılarak üretilen ekmeklerin aroma bileşenleri .....	34
2.1 : Hamurların üretiminde kullanılan bileşenlerin miktarları .....	40
3.1 : Farklı optik yoğunluğa sahip laktik asit bakteri solüsyonlarının hücre sayısı .....	43
3.2 : Kullanılan buğday ununa ait analitik analiz sonuçları .....	45
3.3 : Laktik asit bakteri kombinasyonlarının seçiminde kullanılan kriterler .....	59
3.4 : Hazırlanan ekmek hamurlarının yoğurma ve fermantasyon sonrası pH, asitlik ve hamur verimi değerlerinin ortalama sonuçları .....	61
3.5 : Hazırlanan ekmek hamurlarının yoğurma ve fermantasyon sonrası mikrobiyolojik analiz değerlerinin ortalama sonuçları .....	63
3.6 : Hazırlanan ekmek hamurlarının un testi analizleri ortalama değerlerinin sonuçları .....	66
3.7 : Hazırlanan ekmek hamurlarının hamur testi analizleri ortalama değerlerinin sonuçları.....	69
3.8 : Hazırlanan ekmek hamurlarının aroma bileşenleri analizi ortalama değerlerinin sonuçları.....	74



## ŞEKİL LİSTESİ

### Şekiller

- 1.1** : Laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilen glukoz fermentasyonunun metabolik yolları ..... 20
- 2.1** : Çalışmada kullanılan biyoreaktör sistemi..... 38
- 3.1** : Tekli laktik kültür ile hazırlanan tip II ekşi hamurlarının pH'sının zamana bağlı değişimi ..... 46
- 3.2** : Tekli kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun asitlik (% laktik asit) değerinin zamana bağlı değişimi ..... 47
- 3.3** : Tekli kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun laktik asit bakteri sayısının zamana bağlı değişimi ..... 48
- 3.4** : Tekli kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurunun maya-küf sayısının zamana bağlı değişimi ..... 49
- 3.5** : İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurlarının pH'sının zamana bağlı değişimi ..... 50
- 3.6** : İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun asitlik (% laktik asit) değerinin zamana bağlı değişimi ..... 51
- 3.7** : İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun laktik asit bakteri sayısının zamana bağlı değişimi ..... 53
- 3.8** : İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurunun maya-küf sayısının zamana bağlı değişimi ..... 54
- 3.9** : Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurlarının pH'sının zamana bağlı değişimi ..... 55
- 3.10** : Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun asitlik (% laktik asit) değerinin zamana bağlı değişimi ..... 56
- 3.11** : Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun laktik asit bakteri sayısının zamana bağlı değişimi ..... 57
- 3.12** : Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurunun maya-küf sayısının zamana bağlı değişimi ..... 58

## ÖZET

### SIVI EKŞİ HAMUR SİSTEMİ İÇİN UYGUN LAKTİK ASİT BAKTERİ KOMBİNASYONUNUN BELİRLENMESİ

Bu çalışmada, sıvı ekşi hamur sistemi için kullanılabilir laktik asit bakteri kombinasyonları belirlenmiş ve bu uygun kombinasyonlar ile hazırlanan tip II ekşi hamurların kullanımının ekmek hamurunun kimyasal, mikrobiyolojik, reolojik ve aromatik özelliklerine etkisi belirlenmiştir.

Laktik asit bakterilerinin tüm kombinasyonları fermentör ortamında denendikten sonra analiz sonuçlarına göre en iyi asit üretimi ve sayısal artış değerleri belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre en iyi üç kombinasyon sırasıyla; *Pediococcus acidilactici* PFC38, *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38 ve *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38+*Lactobacillus sanfranciscensis* PFC80 olarak belirlenmiştir.

Seçilen laktik kombinasyonlarla hazırlanan tip II ekşi hamurunun kullanılması, yoğurma sonrası ve son fermantasyon sonrası ekmek hamurlarının asitlik gelişimi ve mikrobiyal sayının artmasını sağlamıştır. Tip II ekşi hamurlara inoküle edilen laktik asit bakteri sayısı arttıkça hamurlarda pH düşüşü, asitlik değerleri ve laktik asit bakterileri ile maya-küf gelişiminde artış gözlemlenmiştir.

Hamurun reolojik özelliklerinden un testi ve hamur testi sonuçlarında tip II ekşi hamura inoküle edilen laktik asit bakteri sayısı arttıkça hamurun çoğu değerleri üzerinde olumsuz etkisi olmuştur. Özellikle üçlü kültürle üretilen tip II ekşi hamurun eklenmesi hamurun gluten yapısı üzerinde olumsuz etki göstermiştir. Bu durum hamurun işlenebilme yeteneğini, enerji ihtiyacını ve direncini azaltarak kalitesinin zayıflamasına neden olmuştur.

Hamur örneklerinde yapılan aroma bileşenleri analizi sonuçlarına göre tip II ekşi hamurları içeren hamur örneklerinde aromatik bileşikler daha fazla miktarda bulunmuştur. Sadece *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen tip II ekşi hamurlar ile hazırlanan hamurlarda bazı aroma bileşenleri daha yoğun miktarda tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Aroma, Laktik Asit Bakterileri, Reoloji, Tip II Ekşi Hamur

## SUMMARY

### DETERMINATION OF PROPER LACTIC ACID BACTERIA COMBINATION FOR LIQUID SOURDOUGH SYSTEM

In this work, lactic acid bacteria combinations using for the liquid sourdough system are determined and established preparing with the proper combinations usage of type II sourdough to influence of chemical, microbiological, rheological and aromatic characteristics of bread dough.

After tried in fermentor, all combinations of lactic acid bacteria are determined according to the results of analysis of the best acid production and numerical rising. According to the results of analysis the three best combinations are determined such as respectively *Pediococcus acidilactici* PFC38, *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38 and *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38+*Lactobacillus sanfranciscensis* PFC80.

The use of type II sourdough of preparing with choosing lactic combination, after kneading and after final fermentation of the bread dough provided the development of acidic and the rising microbial number. As the number of lactic acid bacteria inoculated with type II sour dough are observed the decreasing in pH, acidity of values and the development of lactic acid bacteria with yeast-mold in the dough.

As the number of lactic acid bacteria inoculated with type II sour dough had increased in the results of the rheological properties of dough flour test and dough test, the most value of dough had a negative impact on it. Particularly, the adding of type II sourdough produced with triple culture showed a negative effect on the structure of gluten in the dough. This situation caused to get weak of the quality's by reducing the dough's ability, energy needs and the resistance.

According to the results of analysis of aroma components, aromatic compounds are found greater amount in the dough samples that included of type II sourdough. It is determined that some of the aroma components are used more extensively in the doughs produced type II sourdough by using only *P. acidilactici* PFC38 strain.

**Key Words:** Aroma, Lactic Acid Bacteria, Rheology, Type II Sourdough

## 1. GİRİŞ

Ekmek, nötr tat ve aromaya sahip olduğu için diğer aromatik gıda maddelerinin tüketilmesinde ideal bir taşıyıcı role sahiptir. Ekmek doyurucu ve yoğun bir enerji kaynağıdır. Her ne kadar içerdiği proteinlerin biyolojik değeri et, süt ve yumurta gibi hayvansal gıdalara kıyasla düşük olsa da protein içeriği azımsanamaz düzeydedir. Normal katkılı beyaz tava ekmeğinin yaklaşık bileşimi %37 su, %8,7 protein, %50,5 karbonhidrat, %3,2 yağ, %2,0 kül olup; 100 gram ekmek yaklaşık 270 kalori sağlamaktadır (Baykara, 2006; Çebi, 2009).

Ekmek, insanlığın varoluşundan itibaren en temel gıda maddelerinden birisi olmuştur. Arkeolojik çalışmalarda bulunan fırın ve ocak kalıntıları ekmeğin M.Ö. 4000 yılında Babil’de yapıldığını işaret etmektedir. Mayalanmış ekmeğin üretimi ilk kez M.Ö. 1800 yıllarında eski Mısırlılar tarafından tesadüfen hamurun kendi haline bırakılmasıyla öğrenilmiştir. Fırıncılık mayası 20. yüzyılın başlangıcında ilk defa kullanılmıştır. Şimdilerde ekşi hamur prosesi hammaddelere, fermantasyon parametrelerine, mikroorganizmaların aktivitelerine göre geliştirilmektedir. Bu faktörlerden birinin değişmesi ekmek kalitesini etkileyebilmektedir (Carnevali ve ark., 2007; Çebi, 2009).

Türkiye’de tahıla dayalı beslenmede ilk sırayı ekmek almaktadır. Ülkemizde kişi başına tüketilen enerjinin %66’sı tahıllardan, bununda %56’lık kısmı sadece ekmekten, proteinin ise %50’si yine ekmekten karşılanmaktadır. Farklı bölge, yaş ve gelir gruplarına göre değişen ekmek tüketimi ülkemizde günde 100-800 gram arasında olup, ortalama 400 gramdır. Bu değer İtalya’da 180 g, Almanya’da 230 g, İngiltere’de 120 g, A.B.D.’de 180 g, Rusya Federasyonu’nda 320 g civarındadır (Baykara, 2006).

Enerji değeri yüksek, lezzetli bir gıda maddesi olan ekmek genellikle iki farklı mayalanma şekli ile üretilmektedir. Birincisi olan ekşi hamur yönteminde, hamur kendi haline bırakılır ve doğal florasında bulunan laktik asit bakterileri ve mayaların aktiviteleri sonucunda laktik asit, asetik asit, alkol ve bazı aroma bileşikleri meydana

gelerek hamurun mayalanması sağlanır. Bu mikroorganizma gruplarının bulunduğu hamurdan alınan parçalar bir sonraki hamurun üretilmesi için kullanılır. İkinci yöntem ise, *Saccharomyces cerevisiae*'nin ticari saf kültürünün hamura katılması ile hazırlanan yöntemdir (Çebi, 2009).

Laktik asit bakterileri ve maya suşları ile üretilen ekmeklerin normal ekmeğe göre daha hacimli olduğu ve ekşi hamur kullanımının bütün ekmek özelliklerini geliştirdiği tespit edilmiştir (Corsetti ve ark., 1998). Daha önceleri kullanılan ekşi hamur tekniğinde, maya ve bakteriler birlikte faaliyet gösterdiğinden, bu uygulama doğal flora dayandırmakta ve ekşi hamur ekmeği; uygun hacim, güçlü aroma, iyi bir ekmek içi yapısı ve uzun raf ömrüne sahip oluşu ile tercih nedeni olmaktadır (Göçmen, 2001). Günümüzde tüketim alışkanlığı yönünden halkımız için vazgeçilmez bir yeri bulunan ekmeğin, kalitesinin yükseltilmesi ve raf ömrünün uzatılarak israfın önüne geçilebilmesi için kontrollü koşullarda üretilen saf laktik asit bakterilerinden oluşan starter kültür kullanımı gerekli olmaktadır (Hansen ve ark., 1989).

Laktik asit bakterileri ekşi hamur fermantasyonunda anahtar role sahiptirler. Laktik asit bakterileri, fermantasyonun yönlendirilmesi ve hızlandırılmasında, bir fermente gıdanın üretiminde kullanılan önemli bir familyadır. Hamurda asitliğin artırılması yanında, serbest halde çeşitli aminoasitlerin ve küçük peptitlerin hamur ortamında açığa çıkararak diğer mikroorganizmaların gelişmelerini ve metabolik aktivitelerini arttırmaktadır. Aynı zamanda hamurun reolojik özellikleri ile tat ve aroma üzerine de olumlu etkide bulunmaktadır. Ayrıca, ekmeğin bayatlamasını, küf ve bakteriyel kaynaklı bozulmaları geciktirmektedirler (Leroy ve De Vuyst, 2004; Salminen ve ark., 2006; Çebi, 2009).

Son yıllarda tüketicilerin ekşi hamur ekmeğini daha fazla tercih etmesi, ekşi hamur ekmeğinin geleneksel üretimden endüstriyel üretime geçişini hızlandırmıştır. Ancak ekşi hamur ekmeğinin fermantasyonunda Gelinis ve Carole'e (1997) göre; doğal fermantasyonda, saf kültür fermantasyonlarına oranla birçok problemle karşılaşmaktadır. Bunlar; son ürün kalite sürdürülebilirliğinin ve homojenliğinin yeterince sağlanamamasıdır (Bozkurt, 2006). Dolayısıyla üretimin hızlandırılması ve standardize edilmesi yönünde araştırmalara büyük gereksinim duyulmaktadır. Söz konusu problemlerin çözümü için yapılan çalışmalar (Meignen ve ark., 2001;

Paramithiotis ve ark., 2006) metabolik hızı ve adaptasyonu yüksek laktik asit bakteri arayışı ve sürekli ekşi hamur sistemlerinin optimizasyonu temelinde ilerlemektedir.

Bugün endüstriyel ölçekte fermente gıdaların üretiminde starter kültür kullanımı esastır. Sıvı ferment yöntemi ile belirlenen uygun mikroorganizmaların ekmek hamuruna direkt olarak katılması; fermantasyon prosesinin üzerinde yüksek derecede kontrol ve son üründe standardizasyon sağlamaktadır (Temmerman ve ark., 2003). Bu yönde yapılan çalışmaların çoğu starter kültürler arasındaki ilişkilerin ayrıca çevresel şartların ve teknolojik uygulamaların ürün kalitesini geliştirmekteki etkisini kavramaya yöneliktir (Carnevali ve ark., 2007).

### **1.1 Tezin Amacı**

Bu çalışmadaki amaç, ekmek hamurunda kullanılabilir ekşi hamur üretimi için en uygun laktik asit bakteri kombinasyonunun belirlenmesidir. Çalışmada, Uşak bölgesinden toplanan ekşi hamurların mikroflorasından izole edilen ve tanımlanan laktik asit bakterileri (Şimşek, 2003) kullanılarak, yüksek asitlik üretimini gerçekleştirebilen aynı zamanda yüksek mikrobiyal sayı ve stabiliteye ulaşabilen laktik asit bakteri kombinasyonlarının eldesi hedeflenmiştir.

Araştırmada; ekşi hamurun klasik yöntemle üretiminde oluşabilecek sakıncalara karşılık, tip II ekşi hamur ile uygun laktik asit bakterisi kombinasyonları belirlenerek, ekmek hamurları üretilmiştir. Ayrıca ekmek hamurunun kimyasal, mikrobiyolojik ve reolojik analizleri yapılmış ve hamurların Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile aroma profili tespit edilmiştir. Çıkan sonuçlar ışığında günümüzde, klasik yöntemle üretilen ekmeklerde ekşi hamur yerine daha kontrollü olarak elde edilmiş olan tip II ekşi hamur ile uygun laktik asit bakteri kombinasyonlarının daha güvenli starter kültür olarak hamurda uygulanabilirliği belirlenmiştir.

Klasik yöntemle elde edilen ekşi hamurun kullanımdaki zorluklarına ve sakıncalarına karşılık sıvı ve homojen olması nedeniyle kolay uygulama olanağıyla günümüzde her geçen gün geleneksel tadından uzaklaşan ekmeklerin geleneksel tatlarına ve aromasına kavuşturulması hedeflenmektedir. Söz konusu bu çalışma ile sıcaklık ve substratın kontrol edildiği fermantasyon sisteminde ekşi hamur laktik asit bakterilerinin tek başına veya birbirleri ile olan ilişkileri ortaya konulmuştur.

## 1.2 Literatür Özeti

Mikroorganizmalar bilinen gıda ve içkilerin birçoğunun üretiminde olumlu ve olumsuz etkilere sahiptir. Mikrobiyal faaliyetler ham ürünlerde belirgin değişimler yapabilir ve bu ürün fermente bir gıda olarak adlandırılmaktadır. Başlangıçta rastlantısal olarak ortaya çıkan fermente gıdalar, bugün tüketilen tüm gıdaların yaklaşık 1/3' ünü oluşturmaktadır. Fermantasyon, genellikle karbonhidratlar olmak üzere, organik bileşiklerin dışarıdan bir elektron alıcısına gerek duymadan anaerobik olarak katalize edilmesidir. Gıda fermantasyonlarında rol alan mikroorganizmalar, laktik asit bakterileri, asetik asit bakterileri ve propionik asit bakterileridir. Bu bakteriler yaklaşık pH=4'ün altında gelişemez, bu nedenle gıda fermantasyonu kendini kontrol eden bir reaksiyondur (Campbell-Plat, 1994; Madigan ve Martinko, 2010).

Bilinen en eski hazır gıda olan ekmeğin ilk tüketiminin neolitik çağa kadar uzandığı belirtilmektedir. Dünya genelinde yapılan ilk ekmeklerin, günümüz ekmeklerinden çok farklı olarak düz oldukları tahmin edilmektedir. Günümüzde hala, dünyanın dört bir tarafında, ilk ekmeklerin neslinden gelen, Meksika'nın "tortilla" ekmeği, Hintlilerin ve Pakistanlıların "chappati" ekmeği, İskoçların "oatcake", Kuzey Amerika'nın "fonnycake" ekmeği ve Ortadoğu'nun "pita" ekmeği olarak tüketilmektedir (Karakoç, 2007). İlk zamanlar buğdayın ezilip, su ile karıştırıldıktan sonra, kızgın taşlarda haşlanarak pişirilmesiyle başlayan ekmek yapımı; zaman içerisinde gelişme göstererek, çağımızda ileri teknolojilerden yararlanan bir bilim dalı haline gelmiştir (Göçmen, 1996; Plessas ve ark., 2011).

İlk ekmeğin üretimi M.Ö. 4000 yıllarına (Babil'de) kadar uzanmasına rağmen ilk mayalı ekmeğin üretiminin M.Ö. 1800 yıllarında, eski Mısır' da, tesadüfen hamurun kendi haline bırakılmasıyla gerçekleştirildiği tahmin edilmektedir. Bu tip mayalanma; havadan, sudan, undan gelen tabii mayaların ve bakterilerin yaptığı kendiliğinden (spontan) mayalanmadır. Bu gelenek daha sonraki çağlarda bazı aşamalardan geçerek ekşi hamur yöntemi olarak günümüze kadar ulaşan ve halen de bir mayalama metodu olarak uygulanmakta olan bir yöntemdir (Elgün ve Ertugay, 2002; Çağlıyan, 2008).

19. yüzyılda ekmek üretim prosesi oldukça uzun sürmekteydi. Gluten ağının oluşması için yavaşça unu ve suyu karıştırmakla işe başlanmış ve fermantasyon

süresi çok uzun tutulmuştur. Fakat bu uygulamalar ekmeğe arzu edilen bir aroma kazandırmıştır (Decock ve Cappelle, 2005).

Ekşi hamur yöntemi, tek hücreli mikroskobik bir canlı olan *Saccharomyces cerevisiae* türlerinin saf maya olarak kullanıldığı günümüzün modern, saf kültür mayacılığına gelene kadar şüphesiz ki önemli aşamalardan geçilmiştir (Elgün ve Ertugay, 2002).

Sıvı ya da yarı-sıvı maya çeşitleri ile ilgili çalışmalar ise 1920'lerde, Fransa ve Büyük Britanya'da başlamış ve özellikle mekanik olgunlaştırıcıların, sürekli yoğurma sistemlerinin uygulamaya konulmasıyla sıvı ferment sisteminin kullanımı yaygın hale gelmiştir. İlk olarak 1950'li yıllarda beyaz ekmek üretiminde unsuz su fermentler kullanılmış ve bunu daha sonraki yıllarda tüketici isteklerine bağlı olarak çeşitli oranlarda un içeren unlu sıvı ferment uygulamaları takip etmiştir. Sıvı ferment sistemleri; sıvı sponge, brew, broth, preferment olarak da adlandırılmaktadır (Bilgiçli, 2000).

Gerek dünyada gerekse ülkemizde en önemli gıda maddelerinin başında gelen ekmek; un, su, tuz, maya (*S. cerevisiae*) ve gerektiğinde yönetmelikte izin verilen katkı maddesi karışımının (şeker, enzim vb.) yoğrulmasıyla elde edilen hamurun uygun bir süre fermantasyona tabi tutulduktan sonra fırında pişirilmesi sonucu elde edilmektedir (Erginkaya ve Kabak, 2010). TS 5000 ekmek standardında ise ekmek, katkısız ve katkılı ekmek olarak iki çeşide ayrılmıştır. Katkılı ekmeklerin yapımında una su, tuz ve maya katılmasının yanında kaliteyi yükseltmek amacıyla (görünüşü düzeltmek ya da dayanıklılığı arttırmak, besin değerini yükseltmek, aroma ve çeşni vermek ve/veya da bayatlamayı geciktirmek gibi), izin verilen gıda katkı maddelerinin kullanılabileceği belirtilmektedir (Çelik, 2008).

Geleneksel ekmek çeşitlerine son yıllarda yabancı ekmek tiplerinin de eklenmesiyle, günümüzde oldukça fazla sayıda ekmek çeşidinden söz edilmektedir. Değişik tipte ekmek üretimi doğal olarak çok çeşitli katkı maddelerinin kullanımını da gündeme getirmiştir. Ayrıca kalitenin iyileştirilmesi için saf maya ve bakteri kültürleri kullanılarak uygulanan mayalama yöntemleri üzerinde de çalışmalar yapılmaktadır (Göçmen, 2001).



### 1.2.1 Ekşi hamur teknolojisi

Birçok uygarlık ekmeğın üretiminde ekşi hamuru kullanmıştır. Lakin, endüstri devrimine kadar yoğun olarak kullanılan ekşi hamur, artan ekmek talebiyle yerini ekmek mayası olan *S. cerevisiae*'ya bırakmıştır. Ancak son yıllarda tüketici tercihlerinin daha aromatik ve daha uzun raf ömrüne sahip ekmek tüketimine yönelmesiyle geleneksel ekşi hamur ekmeğının endüstriyel ölçekteki üretimine hız verilmiştir (Carnevali ve ark., 2007).

Bir mayalama metodu olarak uygulanmakta olan ekşi hamur yönteminin esası; normal kültür mayalarının yanında havadan ve kullanılan hamur unsurlarından gelen yabani mayaların, laktik, asetik ve sitrik asit bakterilerinin faaliyet gösterdiği bir hamur parçasını, bir sonraki hamurda maya olarak kullanmaktır (Elgün ve Ertugay, 2002). Laktik asit bakterileri ve maya starterleri ile üretilen ekmeklerin normal ekmeğe göre daha hacimli olduğu ve ekşi hamur kullanımının bütün ekmek özelliklerini geliştirdiği tespit edilmiştir (Corsetti ve ark., 1998). Ekşi maya hamurunda maya ve bakteriler birlikte çalışmakta ve doğal florayı oluşturmaktadırlar. Ekşi hamurdan yapılmış ekmek; uygun hacmi, güçlü aroması, iyi ekmek içi yapısı ve uzun raf ömrü sebebiyle tercih sebebi olmaktadır (Kotancılar ve ark., 2006).

Ekşi hamur, içeriğinde çeşitli laktik asit bakterilerini ve bazı mayaları barındıran ve bu mikroorganizmaların canlılığına bağlı olarak yeni hamur yapımında sürekli yenilenebilen ve özelliklerini bu mikrofloranın metabolik aktivitelerinden alan, düşük pH'ya (pH=4) sahip bir hamurdur (Güre, 2009). Ekşi hamur, ekmek üretiminde hamura %20 oranında katılmakta ve fermantasyona bırakılarak üretim tamamlanmaktadır (Meignen ve ark., 2001).

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

- Doğal fermantasyon yöntemi: Un ve su karışımından elde edilen hamur oda koşullarında 1-2 gün bırakıldığında, unun doğal mikroflorasında bulunan mikroorganizmalardan dolayı fermantasyon gerçekleşmekte ve hamurun asitliği yükselmektedir. Fermantasyon süresince LAB (*Lactobacillus spp.*, *Pediococcus spp.*) dominant duruma geçmektedir. Ekşi hamurda LAB'nin sayısı  $3 \times 10^9$  kob/ml, maya sayısı ise  $10^6$ - $10^7$  kob/ml düzeyine çıkmaktadır.

Diğer yandan, doğal fermantasyon her zaman başarılı sonuçlanmamakta, olumsuz tat ve aroma oluşumu da görülebilmektedir.

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

Ekşi hamur, ekme üretiminde kullanılma yöntemine göre Tip I, Tip II ve Tip III olmak üzere 3 grup altında sınıflandırılmaktadır. Tip I ekşi hamurlar, hamurun önceden fermente edilmesiyle üretilmektedir. Bu şekilde hazırlanan ekşi hamurlar doğrudan ekme hamurunda kullanılmaktadır ve geleneksel ekşi hamur ekme üretimi olarak bilinmektedir. Genellikle üç aşamalı fermantasyon prosesi ile ve 30° C'de gerçekleştirilmektedir (Gaggiano ve ark., 2007). Tip II ekşi hamurlar endüstriyel uygulamalara uygun özelliktedir. Bunlar, yarı-akışkan karaktere sahip olup kolayca işlenebilir niteliktedir. Tip II ekşi hamurların hazırlanmasında kontrollü koşullarda un, çeşitli malt ve fungal amilazların katkılanması ile laktik asit bakterileri fermente ettirilmektedir. Tip III ekşi hamurlar ise, ekşitilmiş hamurun kurutulması ile hazırlanmaktadır. Bu tip ekşi hamurlar ekme yapımında asitliğin ve aromanın artırılması amacıyla kullanılmaktadır. Fakat evaporasyon işleminde suyun uçurulması esnasında son ürüne lezzet veren uçucu bileşenlerde kayıp oluşmaktadır. Bu sebeple Tip II ekşi hamurlar yarı-akışkan karaktere sahip olduğu için bu bakımdan avantajlı kabul edilmektedir (Decock ve Cappelle, 2005). Tip I ekşi hamurlardan farklı olarak, Tip II ve Tip III ekşi hamurlarda kabartma ajanı olarak ekme mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ilavesi gerekli olmaktadır (Menteş ve ark., 2008).

Ekşi hamurda bulunan mikroorganizmalar iki grup altında toplanmaktadır. Birincisi; ekşi hamurun kabarmasında ve alkol fermantasyonunda etkili olan mayalar, ikincisi ise; hamurun ekşimesinde rol alan laktik asit bakterileridir. Ekşi hamur florasında, fermantasyonun başlangıcında çeşitli mikroorganizmalar yaygın

şekilde gelişme göstermekle birlikte, daha sonra laktik asit bakterileri asit üretiminden dolayı florada baskın hale gelmektedir. Ancak aside toleranslı mayalarda florada bulunmaktadır (Rehman ve ark., 2006; Venturi ve ark., 2012). Mayalar ekşi hamurda LAB ile beraber bulunmaktadır ve maya/LAB oranı genellikle 1:100'dür. Bu benzersiz ortak yaşam şu şekilde açıklanır: *Candida milleri* dışında çoğu maya türleri maltozu metabolize edebilmektedir. Hamur içindeki amilaz enziminin aktivitesi ile parçalanan nişastadan açığa çıkan maltoz, bu şeker ihtiyacı olan laktobasiller için hazır olmaktadır. Maya, hamurda bulunan diğer tüm şekerleri kullanabilmektedir. Böylece maya ve laktobasiller maltoz fosforilaz enzimiyle maltozu sindirerek mayaya küçük bir yardım amacıyla ortama glikoz salmaktadır. Aynı zamanda laktobasiller bir antibiyotik olan cycloheximide salgılayarak hamurda bulunan bir çok zararlı mikroorganizmayı öldürmektedir. Ayrıca Laktobasiller cansız maya hücrelerinden ortaya çıkan bir takım aminoasit ve yağ asidine ihtiyaç duymaktadırlar (Gobbetti ve ark. 1994; Rehman ve ark., 2006).

Tüketici ve endüstri taleplerini karşılamaya çalışırken ekşi hamurların bölgesel özelliklerinin çeşitliliğini koruyabilmek için birbiri ile ilişkili laktik asit bakterilerinin ve mayaların stabilitesini sağlamak gereklidir. Laktobasiller ile mayalar arasındaki antagonistik ve sinerjik etkileşimlerin önemi karbonhidratların ve amino asitlerin metabolizması ve karbondioksit üretimine dayanır (De Vuyst ve Neysens, 2005). Laktik asit bakterileri ve mayalar arasındaki stabil ortak metabolizma pek çok gıdada rastlanmaktadır. Bu durum fermente edilemeyen nişasta gibi bazı substratların belirli mikroorganizmalar tarafından kullanılmasına olanak sağlayıp kompleks gıda ekosistemlerine mikrobiyal uyumu arttırmaktadır (Corsetti ve Settanni, 2007; Güre, 2009).

Yapılan çalışmaların çoğu ekşi hamur ekmeğinin daha avantajlı olmasını sağlayan mikroflorayı açığa çıkarmak için gerçekleştirilmiştir. Bulunan sonuçlar maya türlerinden *Saccharomyces cerevisiae* ve laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus sanfranciscensis*, *Lactobacillus brevis* ve/veya *Lactobacillus plantarum*'un en uygun kültürler olduğunu göstermiştir (Paramithiotis ve ark., 2005).

Ekşi hamur bileşiminde çok farklı cins maya bulunmaktadır. Başta Türkiye olmak üzere İtalya, Belçika, Yunanistan ve diğer birçok Avrupa ülkesinde yapılan çalışmalarda *Saccharomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Torulospira* cinsi üyesi mayaların izole edilebildiği rapor edilmiştir (Carnevali ve

ark., 2007). Ekşi hamurdan izole edilen mayalar *S. cerevisiae* (ekmek mayası), *S. exiguus*, *S. delbrueckii*, *S. uvarum*, *Candida humilis* (*C. milleri*), *C. guilliermondii*, *C. stellata*, *Pichia anomola* (*Hansenula anomala*), *Pichia norvegensis*, *Pichia polymorpha*, *Pichia saitoi*, *Pichia membranifaciens* ve *Debaryomyces hansenii*' dir (Rehman ve ark., 2006; Erginkaya ve Kabak, 2010). Ancak bu çalışmalarda en fazla *S. cerevisiae* türünün baskın olduğu bildirilmiştir. Ekşi hamurda bulunan mayaların en temel fonksiyonu CO<sub>2</sub> üretimi neticesinde hamurun kabarmasını sağlamak aynı zamanda ürettiği alkoller, aldehitler, ketonlar ve organik asitler ile ekmeğe karakteristik tat ve aroma kazandırmaktır (Polat, 2007).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ekşi hamurdan *Leuconostoc* (genellikle *Leuconostoc mesenteroides*), *Weissella*, *Pediococcus* (genellikle *Pediococcus pentosaceus*), *Lactococcus*, *Enterococcus* ve *Streptococcus* cinslerine ait türler izole edilse de, ekşi hamurda en sık gözlenen bakteriler *Lactobacillus* suşlarıdır. *Lactobacillus sanfranciscensis*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. pontis* ve *L. reuteri* ekşi hamurlardan en sık izole edilen laktobasillerdir (Baykara, 2006; Güre, 2009). Son zamanlarda tanımlanan *Lactobacillus frumenti*, *Lactobacillus mindensis*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus spicheri*, *Lactobacillus rossiae*, *Lactobacillus acidifarinae*, *Lactobacillus zymae*, *Lactobacillus hammesii*, *Lactobacillus siliginis* türleri ilk olarak ekşi hamurlardan izole edilmişlerdir (Plessas ve ark., 2011).

Ekşi hamur mikroflorasında bulunan bu mikroorganizmalar birlikte etkileşim içerisinde bulunarak ekmeğin teknolojik ve duyuşal özelliklerine olumlu yönde katkıda bulunmaktadır. Örneğin laktik asit bakterilerinin organik asit üretimi, proteolitik aktivitesi, uçucu bileşenlerin sentezi, antifungal özellikleri, belirlenen en önemli metabolik özelliklerdendir (Corsetti ve Settanni, 2007; Güre, 2009). Söz konusu bu metabolitler ekmekte bayatlamının geciktirilmesinde ve aroma gelişimi üzerinde etkili olmaktadır. Ayrıca, daha güvenli ekmek üretimine de katkıda bulunmasının yanı sıra mineral maddelerin biyokullanılabilirliğini artırmaktadır (Çon ve Şimşek, 2003; Akgün, 2007).

Ekşi hamurda yer alan laktik asit bakterileri fonksiyonel özelliklerinin yanında teknolojik olarak da bir takım avantajlar sağlamaktadır. Yapılan çalışmalarda bunların fermantasyon süresinin kısalması, fermantasyon kayıplarının azalması, hamurun olgunlaşmasının hızlanması, gaz oluşturma gücünün artması, hamurların

makinede işlenebilme özelliklerinin iyileşmesi, hamurun reolojik ve duyuşal özelliklerini iyileştirmesi, hamurda ve ekmekte asiditenin artması olduğu belirlenmiştir (Corsetti ve Settanni, 2007; Plessas ve ark., 2008; Ravyts ve Vuyst, 2011).

Bulunan türlerin sayısı ve çeşitliliği; kullanılan tahıl tipi, hamur verimi ve mayalanma sıcaklığı gibi bazı faktörlere bağlı olmaktadır (Corsetti ve Settanni, 2007). Geleneksel hamur yapımında ekşi hamur laktobasillerinin baskın olarak bulunmasına bazı faktörler etki etmektedir. Birincisi, laktik asit bakterileri hamurdaki başlıca enerji kaynakları olan maltoz ve fruktoza iyi adapte olmuştur. İkincisi, gelişmeleri için gerekli şartlar, sıcaklık ve pH bakımından ekşi hamur fermantasyonu sırasında oluşan koşullarla uyum sağlamaktadır. Üçüncü olarak, ekşi hamur laktobasilleri, asit, yüksek/düşük sıcaklıklar, yüksek ozmotik basınç/dehidrasyon, oksidasyon ve yetersiz besin gibi olumsuz koşulları tolere edebilmektedirler. Bu üç faktör, bu türlerin rekabet gücünü ve ortama adaptasyonunu arttırmaktadır. Dördüncü olarak, antimikrobiyal bileşenlerin, hem organik asitlerin (laktat, asetat ve diğerleri), hem de protein yapıdaki bileşenlerin (bakteriyosinler gibi) üretimi, rekabet güçlerini arttırmakta ve bunların ekşi hamur fermantasyonlarında stabil olarak kalmalarına yardımcı olmaktadır (De Vuyst ve Neysens, 2005).

Ekşi hamur, pH, titrasyon asitliği, laktik ve asetik asit miktarı gibi kimyasal parametreler ve içerdii LAB ve mayaların tür ve sayıları ile karakterize edilmektedir. Olgun ekşi hamurun pH'sı 3.5-3.8 arasında değişmektedir. Ekşi hamurdaki laktik ve asetik asit miktarı, bu hamurdan üretilen ekmeğin tat ve aromasını doğrudan etkilemektedir. Ekşi hamurda laktik asit/asetik asit oranını ifade eden "Fermantasyon Katsayısı (FQ)" Almanya'da bir ölçü olarak kullanılmaktadır. Bu oran 4 civarında olursa iyi bir tat dengesine sahip olmaktadır. Düşük asetik asit miktarı FQ değerinin yükselmesine ve bu da güçlü asidik tat, zayıf aroma oluşumuna neden olmaktadır (Erginkaya ve Kabak, 2010).

Ekmek yapımında ekşi hamur ilavesinin kaliteyi iyileştirmedeki katkılarını özetlemek gerekirse; ekşi hamurdan yapılan ekmekler teknolojik yararlarının yanında aroması ve mikrobiyal bozulmaya karşı dirençli olmasıyla önem arzetmektedir. Mayanın ve heterofermantatif laktik asit bakterilerinin kabartma üzerine etkisi daha kolay pişebilen hamur, daha yumuşak daha lezzetli ekmek yapılmasını sağlamaktadır. Üstelik fermantasyon sırasında üretilen laktik asit ve asetik asitin

pH'yı düşürmesi ve muhtemel diğer mekanizmalar tarafından kontamine edici ve bozulmaya neden olan floranın inhibisyonu ve kontrolü ile ekmeğin küflenerek bozulmasının geciktirilmesi, rop hastalığına neden olan *Basillus subtilis*'in gelişiminin engellenmesi, laktik ve asetik asitler ile diğer fermantasyon ürünleri gibi aroma bileşenlerinin birikimi ile ürünün kendine özgü karakterler kazanması ve fitat yıkımı yoluyla mineral biyoyararlılığının artırılması, nişastanın mikrobiyal hidrolizi ve proteolitik etki sonucu depolanma esnasında ekmeğin sertleşmesinin ve bayatlamasının gecikmesini sağlamaktadır. Ekşi hamur ekmeği uygun hacim, güçlü aroma, iyi bir ekmek içi yapısı ve uzun raf ömrüne sahip oluşu ile tercih edilmekte ve büyük üretim potansiyelleri ile de geleneksel ürün olarak kabul edilmektedir (Hancıoğlu ve Karapınar, 2002; Yakar, 2010).

Günümüzde klasik yöntemle ekmek üretiminde; bir parça hamurun bir sonraki hamurda maya olarak kullanımına dayanan ekşi hamur yönteminin uygulanması terk edilmiştir. Bunun nedeni işçiliğin fazla olması ve her işletmede mayalıklı hamur için ayrı bir yer ve kap gerektirmesidir. Ayrıca ülkemizde, üreticiler kısa sürede ve kapasitelerinin üzerinde ekmek üretmeyi hedeflediklerinden, tüketiciyi geleneksel ekmek lezzetinden uzaklaştırmaktadır. Günümüzde, hamur hazırlamada kullanılan ekmek mayası miktarının %2-3'den %5-6 oranına çıkartılması, ekşi maya kullanımından tümüyle vazgeçilmesi ve fermantasyon sürelerinin en aza indirilmesi sonucunda, alışılmış ekmek aromasından uzak, sünger yapısında ve kek benzeri ürünler tüketime sunulmaktadır. Oysa ekmeğin zengin bir aromaya sahip olması için, yeterli sürede fermantasyon işlemine ihtiyaç vardır. Bu nedenle giderek saf maya ya da starter kültür kullanımı yoluna gidilmektedir. Ekşi hamur tekniğinden esinlenerek, bazı ülkelerde laktik starter uygulaması ağırlık kazanmakta ve fermantasyonu kontrol etmek ve güvence altına alabilmek için saf laktik asit bakterilerinden oluşan starter kültür kullanımı üzerinde durulmaktadır (Göçmen ve Gürbüz, 2000).

Starter kültür; fermente gıdaların üretiminde, lezzet, yapı, tekstür ve görünüm bakımından ürüne kendine özgü arzu edilen üstün nitelikler kazandırmak amacıyla, bilinçli olarak katılan, zararsız, belirli mikroorganizma suşları olarak tanımlanabilmektedir (Halkman ve Taşkın, 2001). Ekmek üretiminde starter kültür kullanımı ekşi hamur yapımı esasına dayanmaktadır. Gıdalarda starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalar; laktik asit fermantasyonu oluşturmak için laktik asit bakterileri, etil alkol fermantasyonu meydana getirmek için mayalar, propiyonik asit

fermantasyonu için propiyonik asit bakterileri ve asetik asit fermentasyonunu yürüten asetik asit bakterileridir. Bunun dışında bazı fermente gıdalarda aromayı oluşturmak için kullanılan çeşitli bakteri, maya ve küflerde starter kültür olarak nitelendirilmektedir (Sağdıç ve Arıcı, 2010).

Ekmek üretiminde laktik starter kullanımının yararları aşağıdaki gibi özetlenebilmektedir (Göçmen, 2001):

- İstenen kalite ve miktarda ürün elde etmek
- Üretim zamanından, yerden ve işçilikten tasarruf sağlamak
- Farklı partilerde gerçekleştirilen ürünler arasında tek düzelik sağlamak
- Yeni ürünler geliştirmek
- Daha güçlü aroma oluşturmak
- Ekmek içi yapısını iyileştirmek
- Ekmek hacmini artırmak
- Raf ömrünü uzatmak
- Bozucu mikroorganizmaların etkisini ortadan kaldırarak, üretim güvencesi sağlamak.

### **1.2.2 Sıvı ferment sistemi**

Direkt hamur ve ekşi hamurun yanında, sıvı ferment yöntemi de ekmek yapımında kullanılmaktadır. Sıvı fermentlerin ekmek yapımında kullanılması oldukça eski olup, endüstriyel ekmek üretiminde kullanımı yenidir. Özellikle; mekanik olgunlaştırıcıların, sürekli karıştırma sistemlerinin uygulamada kullanılmaları sıvı ferment yönteminin yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır (Baykara, 2006).

İlk olarak 1950'li yıllarda beyaz ekmek üretiminde unsuz su fermenti kullanılmış ve bunu daha sonraki yıllarda tüketici isteklerine bağlı olarak çeşitli oranlarda un içeren unlu sıvı ferment uygulamaları takip etmiştir (Demir, 2004).

Özellikle sürekli ekmek yapım teknolojisindeki gelişmelerin paralelinde ortaya çıkan sıvı ferment sistemi sert hamurun değişikliğe uğratılarak, pompa ile aktarılabilir sıvı bir forma sokulması işlemidir. Sıvı fermenti hazırlamada gerekli olan un miktarı, ekmek yapımında kullanılan toplam unun %10 ile %70'i kadardır. Katılan un

akıcılığı azaltırken ortamın tampon kapasitesini arttırmakta ayrıca hamurun su absorpsiyonunu biraz düşürmektedir (Demir, 2004).

Laktik asit bakterilerinin metabolik hızının yavaş olması ekşi hamur ekmeğinin üretim sürecinin uzamasına neden olmaktadır. Bu nedenle özellikle ekşi hamur ekmeğinin üretimi ile ilişkili olarak çalışmalar hızlı metabolik aktiviteye sahip ekşi mayanın belirlenmesi veya bu mayanın aktivitesinin hızlandırılması yönünde yürütülmektedir. Bu doğrultuda yapılan çalışmalar, ekşi hamur sıvı ferment sisteminin, üretim sürekliliğinin sağlanabilmesi ve süresinin kısaltmasından dolayı endüstriyel uygulamalar için daha uygun olduğunu göstermektedir (Paramithiotis ve ark., 2006; Ravyts ve Vuyst, 2011). Ancak bu sistemde verimli çalışabilecek laktik asit bakterilerinin belirlenmesi yönünde çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Yaş maya yerine sıvı ferment sisteminin ekmek üretiminde kullanılmasıyla elde edilen avantajlar sırasıyla; üretim maliyetinin düşük olabilmesi, uniform, kaliteli ve ince gözenek yapısına sahip geç bayatlayan ürünlerin elde edilebilmesi, iş gücü, yer ve zaman tasarrufu, üstün sanitasyon ve işleme toleransıdır. Ayrıca fermantasyon parametrelerini (sıcaklık, pH, hamur verimi, vs.) daha kolay kontrol edebilme ve mikrobiyal performans için gerekli olan besinlerin (vitaminler, peptitler, karbonhidratlar, vs.) fermentöre daha kolay ekleyebilmenin yanı sıra, çeşitli ekmeklerin üretimi için farklı teknolojiler kullanmaya elverişlilik sağlamaktadır (Carnevali ve ark., 2007; Demir ve ark., 2006; Brandt, 2007). Öte yandan sıvı ferment sistemi ile ekmek üretiminde formülasyona çeşitli mikroorganizmaların saf kültürlerinin starter olarak aşılınması daha aromatik ekmeklerin üretimini de gerçekleştirmektedir (Plessas ve ark., 2008).

Sonuç olarak, ekşi hamur ekmeğinin endüstriyel boyuttaki üretimlerinde sıvı ferment sisteminin kullanılmasının avantajlı olduğu görülmektedir. Ancak bu sistemde hızlı metabolik aktiviteye sahip laktik asit bakteri kombinasyonunun belirlenmesi öncelikli hedeflerden birisidir. Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalar ekşi hamur fermantasyonunda farklı laktik asit bakterilerini içeren starter kültürlerin etkisi üzerinde odaklanmaktadır. pH ve sıcaklık gibi farklı fermantasyon parametrelerinin etkisi de incelenebilmektedir (Ravyts ve Vuyst, 2011).



### 1.2.3 Laktik asit bakterileri

Gıdalarda kullanılan mikroorganizmalar, onların metabolitleri veya hücresel bileşenleri, zararlı etkisi olmayan ve güvenilir (GRAS=Generally Recognised As Safe) gıda ile tüketilebilir olmak zorundadır. Aynı zamanda Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) ile Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization, FAO) gibi düzenleyici kurumlarca onaylanmış olmalıdır. Faydalı mikroorganizmalar ve metabolitleri, canlı olarak gıdayla birlikte tüketilmeleri durumunda (yoğurttaki gibi), tüketici sağlığı üzerinde de faydalı etkilere sahiptirler. Önemli bir nokta da eğer bir gıdada kullanılan yararlı bir mikroorganizma genetik olarak modifiye edilmiş ise gıdada kullanımına izin verilmiş olmalıdır. Böylece, gıdalarda çeşitli amaçlarla kullanılan yararlı mikroorganizmaların ticari ve düzenleyici kriterlere uyması gereklidir (Sağdıç ve Arıcı, 2010).

Fermente gıdalarda starter kültür olarak kullanılan mikroorganizma türlerinin seçiminde; spontan fermantasyondan izole edilmiş olmasına, çiğ materyale ve prosese kolay uyum sağlamasına, patojenik ve toksijenik olmamasına, gıdanın duyu kalitesini ve raf ömrünü geliştirmesine, gıdaların hazırlama basamaklarındaki zaman ve enerji kaybını en aza indirmesine, gıda kaynaklı patojenlerin gelişmesini inhibe etmesine, probiyotik özelliğe sahip olmasına ve gıdada uzun süre canlı kalarak beklenen faydaları uzun süre gösterebilmesine dikkat edilmektedir (Karasu, 2006).

Doğada çok yaygın olarak bulunduğu bilinen laktik asit bakterileri ile ilgili çalışmalar mikrobiyoloji bilim dalının doğuşu ile birlikte başlamıştır. İlk kez 19. yüzyıl sonlarında sütte fermantasyona ve koagülasyona yol açan bakteriler laktik asit bakterileri olarak isimlendirilmiş ve daha sonraki yıllarda *Lactobacillaceae* familyası içerisinde sınıflandırılmıştır (Çon ve Gökalp, 2001).

Laktik asit bakterileri, tabiatta yaygın oluşları, çeşitli gıda maddelerinde sıkça rastlanılan bozulmalara neden olmaları ve bazı gıdaların üretim ve olgunlaştırılmasında önemli rol oynamaları nedeniyle gıda teknolojisinde büyük önem taşımaktadır. Çiğ materyalin laktik asit bakterileri ile fermente edilerek yeni gıdaların üretilmesi ve çeşitli gıdaların bu yöntemle muhafazası en eski muhafaza metotlarından birisi olarak kabul edilmektedir. Laktik asit bakterilerinin belirleyici

metaboliti laktik asittir ve doğal habitatları; insanlar, hayvanlar ve bitkilerdir (Temmerman ve ark., 2003; Ertekin, 2007).

Laktik asit bakterileri (LAB), yoğurt, peynir, sucuk, ekşi lahana turşusu (sauerkraut), ekşi hamur gibi fermente gıdaların üretiminde kullanılan ve endüstriyel açıdan önemli bir mikroorganizma grubudur. Ekmek gibi fermente tahıl ürünlerinin üretiminde çok yaygın olarak alkol fermantasyonu yapan *Saccharomyces cerevisiae* türü mayalar kullanılmaktadır. Ancak günümüzde özellikle Avrupa ve Asya ülkelerinde laktik asit bakterilerini de içeren ve ekşi hamur mayası olarak adlandırılan karışık kültürlerden gittikçe artan oranlarda faydalanılmaktadır (Çon ve Şimşek, 2003).

Ekşi hamur laktik asit bakterilerinin ekme kalitesini etkileyen metabolik aktiviteleri şunlardır:

1. Proteolitik aktiviteleri
2. Uçucu aroma bileşenlerinin ve aroma öncü maddelerinin oluşumu
3. Kızarmış aromasını arttıran arjinin metabolizması
4. Antibakteriyel bileşiklerin, antifungal maddelerin üretimi
5. Ekmek yapısını, bayatlamasını ve raf ömrünü etkileyen eksopolisakkaritlerin üretimi gibi aktivitelerdir (De Vuyst ve Neysens, 2005).

Laktik asit bakterileri, Gram-pozitif, sporsuz, katalaz negatif (bazıları yalancı pozitif), aside toleranslı veya asidofilik, çubuk veya kok şeklindeki mikroaerofilik veya fakültatif anaerobik bakterilerdir. Bu biyokimyasal özellikleri ile diğer mikroorganizmalardan ayrılmaktadırlar. LAB, filogenetik olarak da, DNA'larında genel olarak %50 mol'den az Guanin+Citosin (G+C) miktarına sahip olup, taşıdıkları bu özellik ile bifidobakterilerden ayrılmaktadırlar (Sağdıç ve Arıcı, 2010). Laktik asit bakterileri, porfirinleri ve sitokromları içermedikleri için elektron taşınmasına bağlı fosforilasyon yapamazlar. Dolayısıyla sadece substrat düzeyinde fosforilasyon ile enerji elde etmektedirler. Çoğu laktik asit bakterisi enerjisini yalnızca şeker metabolizmasından elde ettiği için bunlar genellikle şeker içeren habitatlarda bulunmaktadırlar. Bu bakterilerin en tipik özelliği biyosentetik yeteneklerinin sınırlı olmasıdır. Gereksinim duydukları besin maddeleri arasında amino asitler, vitaminler, pürin ve pirimidinler vardır (Madigan ve Martinko, 2010). Laktik asit bakterilerinin 4

bakteri sınıfı ayırt edilmektedir: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc*'lar. Ancak bazı laktobasil suşlarının hareketli ve endospor oluşturduğu, bazı streptokoların aerob ortamda yaşadığı, yine bazı laktobasil ve pediokoklarda katalaz pozitif reaksiyon verdikleri de bilinmektedir (Kılıç, 2008).

LAB, genellikle 5-33° C arasında gelişebilmektedirler. pH istemleri ise 5.5-5.8 arasında değişmektedir. Patogen özellik göstermezler. Aksine oluşturdukları antibakteriyel özellikteki maddeler sayesinde saprofit ve patojen bakterilerin gelişmelerini engellemektedirler (Kılıç, 2008).

LAB'nin ait olduğu üç familya vardır. *Lactobacillaceae* familyası, (*L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. brevis* gibi), *Streptococcaceae* familyası (*Str. thermophilus*, *Str. faecalis* (Yeni adı *Ent. faecalis*), *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris*, *Leu. mesenteroides*, *Leu. oenos* (Yeni adı *Oenococcus oeni*), *Leu. cremoris*, *Leu. dextranicum*, *Pe. Pentosaceus*, *Pe. acidilactici* gibi) ve *Actinomycetaceae* familyası (*Bi. bifidus* (Eski adı *L. bifidus*), *Bi.brevi*, *Bi. adolescens*, *Bi. longum* gibi) (Kılıç, 2008).

LAB *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Oenococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* olmak üzere on iki cinsden oluşmaktadır. Cinslerin bazıları bir veya birkaç türü içermektedir ki, bunlar önceden bilinen bazı cinslerden son zamanlarda ayrılmıştır. Örneğin, *Lactococcus* ve *Enterococcus* önceden sırasıyla *Streptococcus* Grup N ve Grup D olarak sınıflandırılmaktaydı. *Vagococcus*'un, hareket edebilme özellikleri hariç *Lactococcus* cinsinden ayırt edilmesi imkansızdır. *Weissella* cinsi *Leuconostoc* ve *Lactobacillus* cinslerinden, *Oenococcus* cinsi ise *Leuconostoc* cinsinden yakın zamanda ayrılmıştır. *Tetragenococcus* da önceden *Pediococcus halophilus* olarak bilinen bir türü ile *Tetragenococcus muriaticus*'u içermektedir. Önceleri *Lactobacillus* cinsinden olan ve zorunlu heterofermentatif özellikteki birkaç tür ise günümüzde *Cornobacterium* cinsi içinde sınıflandırılmıştır. Bütün bu sınıflandırmalara rağmen, günümüzde sadece *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Lactobacillus* cinslerine ait çeşitli türler sanayide gıda fermantasyonunda starter kültür olarak kullanılmaktadırlar (Gül ve ark., 2005; Sağdıç ve Arıcı, 2010).

Laktik asit bakterilerinin altgrupları arasındaki en önemli fark şekerlerin fermantasyonu sonucunda oluşan ürünlerden kaynaklanmaktadır. Genel olarak heksoz ve pentozları metabolize etme özelliklerine göre *Lactobacillus* türleri üç gruba ayrılmaktadır (Madigan ve Martinko, 2010; Sağdıç ve Arıcı, 2010).

Birinci grupta kesin homofermentatif Laktobasil türleri yer alır. Heksozların hemen hemen tamamı bu bakteriler tarafından Embden-Meyerhof yolu izlenerek laktik aside fermente edilmektedir. Bu grupta 15 tür bulunmaktadır. Bunlar pentozlar (riboz) ve glukonatları fermente edemezler. Glukoz ve glukonattan gaz oluşturmazlar. Tiamin'e gerek duymazlar. Tween 80 veya sodyum oleat varlığında oluşan koloniler normalinde pürüzlü, yüzeyi düzgün ve sık sıktır. 15-45° C arasında gelişmektedirler. Aldolaz aktivitesine sahiptirler. D, L veya DL formunda laktik asit oluşturmaktadırlar (Sıkılı ve Karapınar, 2002; Kılıç, 2008).

İkinci grup fakültatif heterofermentatif Laktobasil türlerini içermektedir. Bunlar heksozların hemen hemen tümünü laktik aside fermente ederler, ayrıca pentozlardan laktik asit ve asetik asit oluşturma güçlerine sahiptirler. Heksozları Embden-Meyerhof yoluyla parçalamaktadırlar. 25-35° C arasında gelişmektedirler (Kılıç, 2008; Tangüler, 2010).

Üçüncü grup, kesin heterofermentatif Laktobasil türlerini kapsamaktadır. Bunlar heksozları %50 oranında laktik asit, etanol ve CO<sub>2</sub>'e fermente etmektedirler. Glukonatlardan gaz, fruktozdan mannitol oluşturmaktadırlar. Gelişmelerinde tiamine gereksinimleri vardır. Aldolaz aktivitesi göstermezler. Glukoz-6-fosfat-dehidrogenaz ve eşit veya daha az 6-fosfat glukonat dehidrogenaz aktivitesi göstermektedirler. Fosfoketolaz enzimine sahiptirler. DL laktik asit üretmektedirler. 15 ve 45° C' de gelişimleri türlere göre değişiklik göstermektedir. Heksozlardan CO<sub>2</sub> üretimi, bu mikroorganizmaların belli başlı karakteristiğidir (Kılıç, 2008; Tangüler, 2010).

Ekşi hamurdan izole edilen *Lactobacillus* türleri Tablo 1.1'de verilmiştir. Ekşi hamur fermantasyonunda özellikle heterofermentatif LAB önemli bir rol oynamaktadır (Erginkaya ve Kabak, 2010).

Tablo 1.1: Ekşi hamurdan izole edilen *Lactobacillus* türleri (Erginkaya ve Kabak, 2010).

<b>Heterofermentatif</b>	<b>Fakültatif heterofermentatif</b>	<b>Homofermentatif</b>
<i>L. acidifarinae</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. amylovorus</i>
<i>L. brevis</i>	<i>L. pentosus</i>	<i>L. acidophilus</i>
<i>L. bunchneri</i>	<i>L. alimentarius</i>	<i>L. delbrueckii</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>L. paralimentarius</i>	<i>L. farciminis</i>
<i>L. fructivorans</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. mindensis</i>
<i>L. frumenti</i>	<i>L. sake</i>	<i>L. crispatus</i>
<i>L. hilgardii</i>		<i>L. johnsonii</i>
<i>L. panis</i>		<i>L. amylolyticus</i>
<i>L. pontis</i>		<i>L. helveticus</i>
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. rossiae</i>		
<i>L. sanfranciscensis</i>		
<i>L. siliginis</i>		
<i>L. spicheri</i>		
<i>L. zymae</i>		

Fermantasyon, kendi içinde dengelenmiş bir oksidasyon-redüksiyon tepkimesidir. Fermantasyonda substrat düzeyinde fosforilasyonla ATP üretilmektedir. Bu süreçteki ATP sentezi, organik bir bileşiğin yıkım basamakları sırasında gerçekleştirilmektedir. Fermantasyonda, elektron vericisinin bazı atomları daha redükte hale gelirken, bazı atomları daha fazla oksitlenmekte ve enerji substrat düzeyinde fosforilasyonla korunmaktadır. Glukozun fermantasyonu için yaygın olan biyokimyasal yol, aynı zamanda keşfedicisinin adı olan Embden-Meyerhof yolu olarak da isimlendirilen glikolizdir (Madigan ve Martinko, 2010).

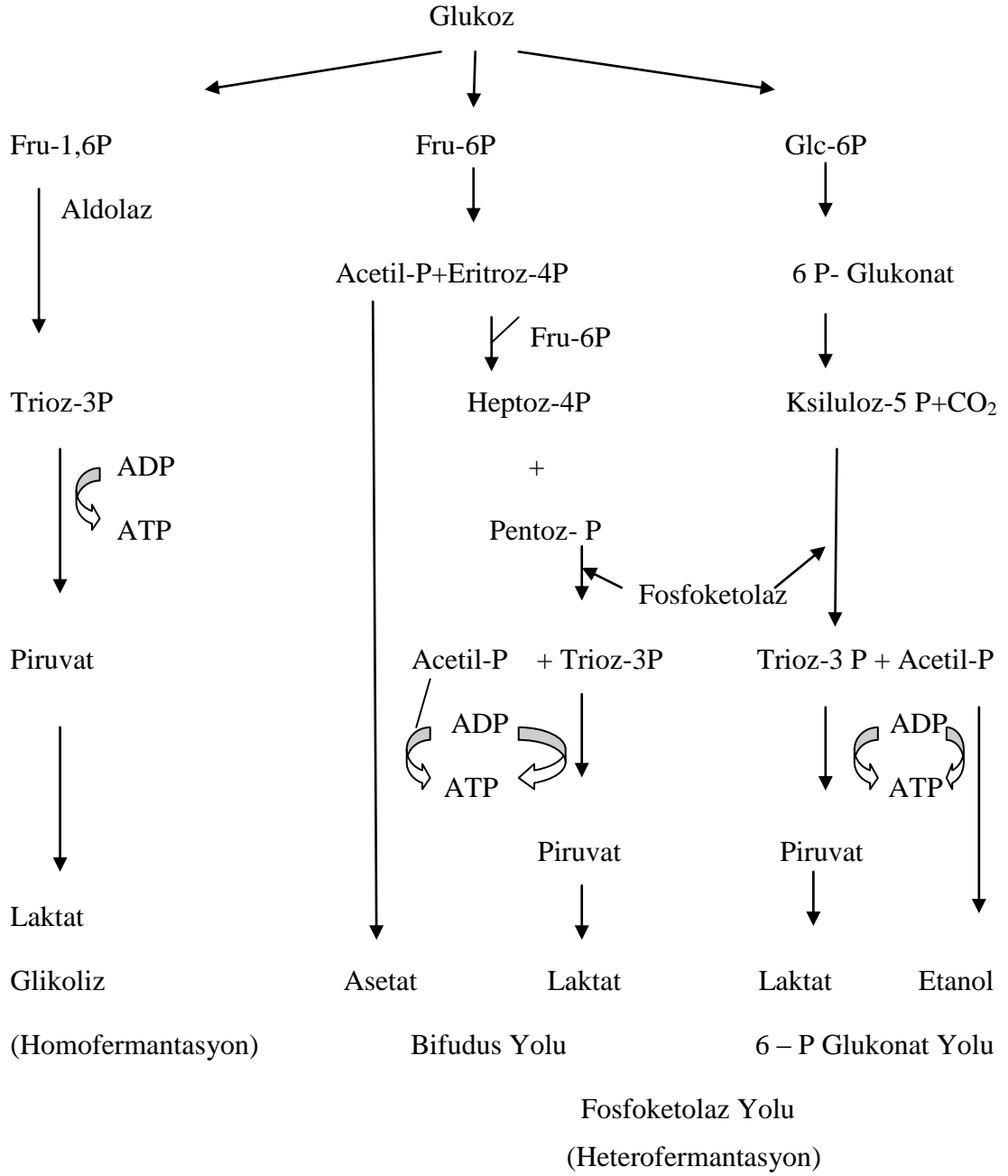
Glikoliz oksijenin olmadığı bir süreç olup, üç temel evre içermektedir. Bu evrelerin her biri ayrı enzimler tarafından katalizlenen enzimatik tepkime süreleri içermektedir. Glikolizin I. Evresi, oksidasyon-redüksiyon içermeyen, enerji açığa çıkarmayan, glukozdan 2 molekül gliseraldehit 3-fosfat oluşumuna yol açan, hazırlık tepkimeleridir. II. Evrede oksidasyon-redüksiyon tepkimeleri yer almakta, enerji ATP şeklinde korunmakta ve iki molekül pirüvat oluşmaktadır. III. Evrede ise, bir kez daha oksidasyon-redüksiyon tepkimeleri gerçekleşmekte ve fermantasyon ürünleri oluşmaktadır (Madigan ve Martinko, 2010).

LAB, karbonhidratları laktik aside metabolize edebilme yeteneklerine göre sınıflandırılmaktadır. LAB'ın, glukoz başta olmak üzere karbonhidratları metabolize etmeleri Şekil 1.1'de verilmiştir. Buna göre glukozdan büyük çoğunlukla laktik asit

oluşturanlara homofermentatif, glukozu metabolize ederek laktik asidin yanında, etanol, asetik asit ve CO<sub>2</sub> üretenlere ise heterofermentatif laktik asit bakterileri denilmektedir.

Fermantasyonda gözlenen farklılıklar glikolizdeki anahtar enzim olan aldolaz'ın bulunup bulunmamasından kaynaklanır. Heterofermantasyon yapanlar aldolazdan yoksun olduğu için fruktoz bifosfatı trioz fosfata yıkamazlar. Bunun yerine, glukoz 6-fosfatı, 6-fosfoglukonat'a oksitleyip daha sonra bunu pentoz fosfata dekarboksile etmektedirler. Bu ürün de fosfoketolaz enzimiyle trioz fosfat ve asetilfosfat oluşturmak üzere yıkılmaktadır (Madigan ve Martinko, 2010).

Heterofermantasyon yapanlarda, trioz fosfat sonuçta laktik aside çevrilip 1 mol ATP oluşturulmaktadır. Bununla birlikte, redoks dengesinin sağlanabilmesi için üretilen asetilfosfat, pentoz fosfat üretimi sırasında oluşturulan NADH'tan gelen elektronları kabul ederek etanole çevirmektedir. Bu olay sırasında ATP kazancı yoktur. Bu nedenle heterofermentörler glukozdan, homofermentörler gibi 2 mol ATP değil, sadece 1 mol ATP üretirler. Heterofermentörler 6-fosfoglukonatu dekarboksile ettiklerinden, fermantasyon ürünü olarak CO<sub>2</sub> oluşturdukları halde, homofermentörler ya çok az CO<sub>2</sub> oluştururlar ya da hiç CO<sub>2</sub> oluşturmazlar. Bu nedenle heterofermentlerin varlığını saptamanın kolay bir yolu, laboratuvar kültüründeki CO<sub>2</sub> üretiminin gözlenmesidir (Madigan ve Martinko, 2010).



Şekil 1.1: Laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilen glukoz fermantasyonunun metabolik yolları (Sağdıç ve Arıcı, 2010).

Fermantasyon sonucunda laktik asit bakterileri tarafından aynı zamanda bazı metabolitler de üretilmektedir. Bu metabolitler ve önemleri Tablo 1.2’de verilmiştir (Sağdıç ve Arıcı, 2010).

Tablo 1.2: Laktik asit bakterileri tarafından üretilen metabolitler ve önemleri (Sağdıç ve Arıcı, 2010).

Metabolit	Yararları	Zararları
Laktik asit	Koruyucu, duyuşsal özellikleri geliştirme ve hazmı kolaylaştırma	Ekşitme
Asetik asit	Koruyucu ve aroma	Ekşitme
Diasetil/Asetoin	Koruyucu ve aroma	Kötü tat (birada)
CO <sub>2</sub>	Koruyucu ve lezzeti artırma	Şişme/is (duman) kokusu
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Koruyucu	Renk bozulması, yeşillenme
H <sub>2</sub> S	Aroma	Duyuşsal bozukluk, kötü tat ve koku
Bakteriyosin	Koruyucu	Probiyotikler inhibisyonu
Geniş spektrumlu antimikrobiyaller	Patojen ve bozulmaya sebep mikroorganizmanın inhibisyonu	Alerji, bağırsak mikroflorasının direnç kazanması

İncelenen araştırmalar doğrultusunda çalışmamızda seçilen laktik asit bakterilerinin özellikleri:

***Lactobacillus brevis***: Ekmek üretiminde kullanılan “heterofermantatif” yani fermantasyon sonucunda laktik asitin yanında asetik asit, etanol ve diğere aromatik bileşikler üreten bir cinstir. Asetik asit oluşumu aynı zamanda bu kültüre koruyucu özellik vermektedir. Asetik asit/laktik asit oranı 1/4’tür (Dinçer ve Çam, 1992).

Çubuk şeklinde, genellikle 0.7-1 µm boyutlarında kısa ve düzgün, tekli veya kısa zincir şeklindedir. Çubukların uç kısımları yuvarlaktır. Gram boyama veya metilen mavisi ile boyama ile bipolar ve granülasyon gözlenmektedir. Bazı suşlarda bulunduğu ortam koşullarına göre turuncudan kırmızıya kadar değışen renkte pigment bulunursa da genelde pigment oluşturmaz. 30° C’de gelişir, 45° C’ de ise gelişemez. 20° C’ de optimum seviyede gelişme göstermektedir. DNA’sında %G+C oranı 42.7-46.4’tür (Kılıç, 2008).

Heterofermantatif olmasından ötürü glukozdan gaz ve asit oluşturmaktadır. Glukozu steril ortamlarda, aerobik ortamda katabolize etmektedir. Piruvatı anaerob ortamda laktat, asetat ve CO<sub>2</sub>’ye, aerob ortamda ise laktat, az miktarda asetat ve CO<sub>2</sub>’ye dönüştürmektedir. Asetoin oluşturmamaktadır (Kılıç, 2008).

Glukozu heksoz monofosfat yoluyla metabolize etmektedir. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz aktiviteye sahiptir, fakat nadiren 6 fosfoglukonat dehidrogenaz aktivite



gösterir. Fruktoz-1-6 difosfat aldolaz aktiviteleri göstermezler. Mannitolu kullanıp, fruktozdan  $\alpha$ -metil-D-glukozit fermente etmektedir. Suşların %80'inde bu özellik vardır. Az veya hiç asit oluşturmamaktadır (Kılıç, 2008).

***Lactobacillus plantarum***: Yumuşak fakat hafif ekşimsi tat arzulan ekme çeşitleri için uygundur. Hızlı asitlenme ile ekmekte iyi bir tekstür oluşturmaktadır. Bu kültürde çeşitli bilimsel ve ticari kuruluşlarda yapılan denemelerle, Türk tipi ekmeçilikte, Türk damak tadına uygun tat ve aromayı sağladığı görülmüştür (Dinçer ve Çam, 1992).

Uç kısımları yuvarlak çubuk şeklinde genellikle 0.9-1.2  $\mu$ m ende, 3-8  $\mu$ m uzunlukta, tekli, ikili veya kısa zincir şeklinde bulunmaktadır. Hareketlilik ve flagella normalde yoktur, fakat yan flagellalı suşlarda hareketlilik belirlenmiştir. Genellikle 15° C'de gelişir. 45° C'de gelişme göstermez. Optimum gelişme sıcaklığı 30-35° C'dir. DNA'daki %G+C oranı (6 suşunda) 45'tir (Kılıç, 2008).

Anaerobik olup, yüzeyde gelişen kolonileri 3 mm çapta, yuvarlak, mat, kompakt, beyaz, seyrek olarak da açık veya koyu sarıdır. Gelişme ortamında yoğun bulanıklık oluşturmaktadır. Çoğu zaman  $\alpha$ -metil-D-glukozit ve melezitoz'u fermente etmektedir. DL laktik asit oluşturur. Fruktoz 1,6-difosfat aldolaz enzimine sahiptir ve heksoz monofosfat aktiviteye sahiptir. Glukonatlı besiyerinde CO<sub>2</sub> oluşturarak gelişmektedir. Riboz'u 1 mol laktik asit ve 1 mol asetik asite çevirmektedir. Diğer pentozları da fermente etmektedir (Kılıç, 2008).

***Lactobacillus sanfranciscensis***: *Lactobacillus sanfranciscensis* özellikle ekşi hamurdan izole edilen türlerden biridir. Genellikle çavdar ve buğday unundan hazırlanan ekşi hamurların fermantasyonunda önem taşıyan laktik asit bakterisidir. Diğer heterofermentatif laktik asit bakterilerinden üstündür ve ayrıca homofermentatif laktik asit bakterileri ile İtalyan ekşi hamur ekmeklerinin üretiminde kullanılmaktadır. Genellikle, *L. sanfranciscensis* ekşi hamurda bulunan maltozu kullanamayan mayalarla mutualist bir yaşam göstermektedir. Aynı zamanda *L. sanfranciscensis* uçucu bileşenleri oluşturabilme ve asitliği geliştirebilme özelliklerine sahip olduğu için ekmeğin reolojik özelliklerine ve aroma niteliklerine olumlu katkılarda bulunmaktadır (Angelis ve ark., 2007).

Un karbonhidratlarının (maltoz, glukoz, fruktoz ve sükroz) kullanımındaki metabolik farklılıklar laktik asit bakterileri ve mayaların seçimine katkıda bulunmaktadır. *L.*

*sanfranciscensis* gibi maltozu kullanabilen laktik asit bakterileri ile maltozu kullanamayan *K. exigua* veya *C. milleri* gibi mayalar arasındaki yarışmasız durumun bu ilişkinin stabilitesinde temel olduğuna inanılmaktadır. Aslında, maltoz *L. sanfranciscensis* için enerji kaynağı olarak tercih edilmektedir. Maltozun çok olduğu durumda *L. sanfranciscensis* suşlarından bazıları hücre içi maltoz fosforilaz ile hidrolize edebilmektedir. Bu durum *L. sanfranciscensis* hücresinin fizyolojik yapısına bağlıdır ve molar olarak 1:1 oranında glukoz açığa çıkarabilmektedir. Maltozdan meydana gelen glukoz daha sonra maltozu kullanmayan mayalar tarafından kullanılmaktadır. Böylece laktik asit bakterileri ile mayalar arasında yarışmalı bir ortam oluşmamaktadır (Venturi ve ark., 2012).

Önemli laktik asit bakterilerinden olan *L. sanfranciscensis*, eksopolisakkarit üretimine bağlı olarak ekşi hamurun polisakkarit içeriğini arttırmaktadır. Ekşi hamur laktik asit bakterilerinin eksopolisakkarit üretimi, ekşi hamurun viskozitesini etkilediği için istenen bir özelliktir. Ayrıca, *L. sanfranciscensis*'in iki suşu tarafından üretilen fruktanın bifidobakteriyal gelişimi teşvik ettiği ve böylece bifidojenik faktör ya da bir prebiyotik olarak rol aldığı gösterilmiştir (Corsetti ve Settanni, 2007).

Genellikle 15° C'de gelişir. 45° C'de gelişme göstermez. Optimum gelişme sıcaklığı 30-35° C'dir (Kılıç, 2008).

***Pediococcus acidilactici*:** Hücreler küreseldir ve tetrat formundadır, fakat gruplar halinde de bulunabilmektedirler. Tekli hücreler veya zincirler yoktur. *Pediococcus* cinsi bakteriler; Gram-pozitif, katalaz negatif (ancak bazı türleri yalancı pozitif), hareketsiz, spor oluşturmayan, homofermentatif, fakültatif anaerob özelliktedirler. Pediokoklar glukozu L(+)- veya DL- laktik aside fermente ederek pH'yı 3.6'ya kadar düşürebilmektedirler. Türlerle bağlı olarak, sükroz, arabinoz, riboz ve ksilozu fermente edebilmektedirler. DNA'larındaki %G+C mol oranı 34-44'tür (Çon ve Gökalp, 1998; Sağdıç ve Arıcı, 2010).

*Pediococcus acidilactici* 0.6-1.0 µ çapındadır. Glukoz pepton maya ekstraktı jelatin ortamında küçük beyaz koloniler oluşturmaktadır. Galaktoz, arabinoz, ksiloz, salisin ve trehalozdan asit üretmekte bazı suşları ise sukroz ve laktozdan zayıf asitlik oluşturmaktadır. Maltoz, mannitol, α -metil glukosid veya dekstrinden asit oluşturmaz. Aroma maddesi olarak diasetil üretmektedir (Kılıç, 2008).

Optimum gelişme sıcaklığı 40° C, maksimum ise 52° C'dir. Termal ölüm noktası 70° C'de 10 dakikadır; bazı suşları özellikle yeni izole edilenler, sıcaklığa daha dirençlidir (Kılıç, 2008).

#### 1.2.4 Ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*)

*Saccharomyces cerevisiae* ökaryotik bir mikroorganizmadır. Besin kaynağı olarak glikoz, fruktoz, sukroz ve maltoz gibi şekerlerin yanında laktik, tartarik, suksinik, asetik asitleri ve etanolü kullanmaktadır. Bundan dolayı heterotrof mikroorganizmadır. Havalı ve havasız ortamda üreyebilmektedir. Gelişmesi için en uygun sıcaklık aralığı 27-30° C, en düşük ve en yüksek sıcaklıklar ise sırasıyla 1-3° C ve 40° C'dir. pH=4-5 aralığında maksimum çoğalma sağlamaktadır. Ekmek mayası, genellikle melas gibi şekerli hammaddelerden elde edilen *Saccharomyces cerevisiae* türü üst fermantasyon tipi kültür mayasıdır (Gobbetti ve ark., 2005; Paramithiotis ve ark., 2006).

Maya kendine özgü koku ve tatta, krem renkte, düzgün yüzeyli olmalı, rutubet miktarı %75'i geçmemeli ve fermantasyon gücü en az 700 ml CO<sub>2</sub> oluşturacak kapasitede olmalıdır. Olgun maya hücresinin genişliği 4 m, uzunluğu 7 m ve çapı 6-8 mikrondur. Basit şekerleri aerobik ve anaerobik olarak metabolize etmektedir (Elgün ve Ertugay, 2002; Yılmazaslan, 2008).

Ekmek yapımı sırasında maya olarak *Saccharomyces cerevisiae* kullanılmakta ve ekmeğin kabarmasını sağlamaktadır. Bu işlemde önemli olan alkol değil, alkolik fermantasyonun diğer bir ürünü olan CO<sub>2</sub>'dir. Fırınlama işlemi sırasında alkol gaz haline gelerek uçmakta CO<sub>2</sub> ise ekmeğin kabarmasını sağlamaktadır (Madigan ve Martinko, 2010).

Pres maya, regüler aktif kuru maya, instant aktif kuru maya ve protected aktif kuru maya olmak üzere başlıca dört tip ticari maya çeşidi vardır. Bunlardan ekmek yapımında en çok pres-yaş maya kullanılmaktadır. Ekmek mayası olarak kullanılacak *Saccharomyces cerevisiae* suşları ısıya karşı dayanıklı olmalı, yüksek sıcaklık derecelerinde çabuk çoğalabilmeli, enzimatik etkinliklerini uzun süre devam ettirebilmeli, hamuru fazla kabartabilmeli ve ekmeğe yabancı tat ve renk vermemelidir. Ekmek yapımında *Torula*, *Candida* ve *Oospora* cinsi mayalar da denenmiş ancak endüstriyel boyutta kullanılmamıştır. Ayrıca günümüzde ekşi maya

yönteminde *Saccharomyces cerevisiae* türü diğer bazı mikroorganizmalarla özellikle de laktik asit bakterileri ile birlikte kullanılmaktadır (Evren ve ark., 2006).

### 1.2.5 Ekşi hamur laktik asit bakterileri ve ekmekçilik açısından önemi

Kuzey İtalya'nın Apulia bölgesinde geleneksel olarak üretilen ekşi hamurun mikroflorasının belirlendiği çalışmada, örneklerdeki laktik asit bakteri sayısının 7,5-9,3 log kob/g arasında değiştiği ve maya sayısının ise 5,5-8,4 log kob/g arasında değiştiği belirtilmiştir. Bu çalışmada 317 laktik asit bakterisi izole edilmiştir. Bu izolatların %38'i geleneksel, fizyolojik ve biyokimyasal yöntemlerle tanımlanırken, fenotipik tanımlamaları genetik yöntemlerle kanıtlanmıştır. Bu izolatların %30'u *Lactobacillus sanfranciscensis*, %20'si *L. alimentarius*, %14'ü *L.brevis*, %12'si *Leuconostoc citreum*, %7'si *L. plantarum*, %6'sı *Lactococcus lactis subsp. Lactis*, %4'ü *L. fermentum* ve *L. acidophilus*, %2'si *Weissella confusa* ve %1'i *L. delbrueckii subsp. delbrueckii* olarak tanımlanmıştır (Corsetti ve ark., 2001).

Gaggiano ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada, birçok teknolojik faktörlere uyum sağlayan ve hızlı asitlendirme yeteneğine sahip olan laktik asit bakteri kültürleri ile ekşi hamur üretilmiştir. İtalya'nın çeşitli bölgelerinden toplanan ekşi hamurlarından izole edilen 56 tane laktik asit bakterisi ile geleneksel olarak hazırlanan ekşi hamurlarda fermantasyon boyunca özellikle asitlik gelişimi izlenmiştir. Ayrıca bu hamurlarda sıcaklığın etkisi (25-37° C), NaCl etkisi (buğday unununun %2'si), başlangıç hücre konsantrasyonu (10<sup>7</sup>-10<sup>9</sup> kob/g) ve hamur verimi (150-180) belirlenmiştir. Sıralanan bu özellikler bakımından en uygun olarak *Lactobacillus casei* DPPMA27, *Weissella confusa* DPPMA20 ve *Lactobacillus fructivorans* DPPMA8 suşları olumlu sonuçlar vermiştir. Seçilen suşlar ile yarı sıvı ekşi hamur üretimi yapılmıştır. Fermantasyon, 2 litrelik hacme sahip, pH kontrollü biyoreaktörde (12 saat, 37° C), hücrelerin gelişmesi için %60 su, %40 un ve diğer besleyici öğeler ile kesikli fermantasyon koşullarında gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan yarı-sıvı ekşi hamur kültürleri farklı koşullar altında 1, 7, 14, 21 ve 30 gün depolanmıştır ve hamur verimi 160 olacak şekilde ekmek hamuru hazırlanıp fermantasyon işlemine tabi tutulmuştur. Mikrobiyal kompozisyon, asitlendirme derecesi ve fermantasyonun son ürünleri depolamanın 21 günü boyunca sabit tutulabilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, fırıncılık endüstrisinde yarı-sıvı ekşi hamur kültürlerinin kullanımını artırmanın yararlı olabileceği belirlenmiştir.

Tip II ekşi hamur kullanılarak üretilen ekmeklerin aroması; starter kültür kompozisyonu, proses koşulları ve ortamda bulunan bileşenler tarafından etkilenmektedir. Fakat, farklı laktik asit bakterilerinin aromaya olan etkisinin ne ölçüde olduğu açık değildir. Bu sebeple iki tip un (buğday ve çavdar unu) ve farklı laktik asit bakterileri tip II ekşi hamur hazırlanmasında kullanılmıştır. Maya mikroflorası ise kontrol edilmemiştir. Aynı zamanda ekmek yapımı için seçilmiş olan laktik asit bakterilerinin ekşi hamura kimyasal, mikrobiyolojik ve aromatik etkileri de değerlendirilmiştir. Üretilen tip II ekşi hamurların 24 saatlik kesikli fermantasyonun sonunda pH değerleri 3.1 ile 3.9 arasında ölçülmüştür. Aldehidler, ketonlar, alkoller ve karboksilik asitler fermantasyon süreci boyunca ekşi hamur mikroflorası tarafından üretilmiştir. Fermantasyonların performansı onların asit oluşturma kapasitesine (*Lactobacillus fermentum* IMDO 130101, *Lactobacillus plantarum* IMDO 130201 ve *Lactobacillus crustorum* LMG 23699), ayrana benzer (*Lactobacillus amylovorus* DCE 471) veya meyvemsi lezzeti (*Lactobacillus sakei* CG1) oluşturma performanslarına göre seçilen beş laktik asit bakteri suşu ile ekşi hamur ekmekleri üretilmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda metabolit, sıvı ferment sistemiyle üretilmiştir. Örneğin, *L. sakei* CG1 yüksek miktarda 3-metil bütül asetata dönüşen 3-metil-1-bütanol üretmiştir. Muhtemelen maya bulaşması olduğu için 48 saatlik fermantasyonun sonunda son bileşim muz lezzetinin oluşması ile sonuçlanmıştır. Çavdar unu ile yapılan fermantasyon buğday unu ile yapılan fermantasyona göre uçucu bileşenler (3-metil-1-bütanol, 2-fenilethanol ve etil asetat) bakımından daha yoğun sonuçlar açığa çıkarmıştır (Ravyts ve Vuyst, 2011).

Elgün ve arkadaşlarının 1991 yılında yaptıkları çalışmada, standart ve kaliteli ekmek üretiminde geleneksel ekmek yapım metodu direkt hamur yöntemine alternatif bir yöntem olan sıvı ferment sistemi ile üretilen ekmeklere laktik kültür katkısının etkisi araştırılmıştır. Sıvı ferment sisteminin uygulanması sırasında, fermente (ön hamur) *Lactobacillus bulgaricus* ve *Lactococcus lactis* aşılması oldukça iyi sonuçlar vermiş olup, üretilen ekmeklerde; yapım süresinde kısılma, ekmek özelliklerinde düzelme ve en önemlisi nötr ekmek tadını muhafaza eden aromatik bir profil elde edilmiştir.

Yapılan bir diğer çalışmada, Isparta yöresindeki farklı fırınlardan toplanan 14 adet ekşi hamur örneklerinden izole edilen laktik asit bakterileri ve mayaların ekmek üzerine etkisi incelenmiştir. Tanımlama çalışmaları sonucunda izolatların;

*L.divergens* (%6.1), *L.brevis* (%15.1), *L.amylophilus* (%6.1), *L.sake* (%6.1), *L.acetotolerans* (%6.1), *L.plantarum* (%3.0), *Pediococcus halophilus* (%3.0), *P.pentosaceus* (%6.1), *P.acidilactici* (%6.1) bakterileri ile *S.cerevisiae* (%27.0), *S.delbrueckii* (%2.7), *Torulopsis holmii* (%10.8) ve *T.unisporus* (%2.7) maya türleri olduğu belirtilmiştir. Tanımlaması yapılan suşlar ile toplam yedi farklı ekmek üretilmiştir. Una %1.5 oranında laktik asit bakterisi (*L.amylophilus*, *L.brevis*, *L.plantarum*, *L.sake*, *L.acetotolerans*) ve %1.5 oranında *S.cerevisiae* suşları tek tek veya karışımları ile ekmek üretimleri gerçekleştirilmiştir. Aynı çalışmada yalnız *S.cerevisiae* kullanılarak üretilen ekmek kontrol olarak hazırlanmıştır. Çalışmada %1.5 laktik asit bakteri karışımı ve %1.5 *S.cerevisiae* ile üretilen ekmekler en düşük ekmek özellikleri gösterirken, %1.5 *L.amylophilus* ve %1.5 *S.cerevisiae* ile üretilen ekmekler reolojik özellikler (hacim verimi, ekmek verimi, spesifik hacim) açısından en iyi sonucu vermiştir. Laktik asit bakterileri ile üretilen ekmeklerde raf ömrünün uzadığı ve bayatlamamanın geciktiği belirlenmiştir. Duyusal değerlendirmeler sonucunda ise %1.5 *L.sake* ve %1.5 *S.cerevisiae* ile hazırlanan ekmekler olumlu bulunmuştur (Gül ve ark., 2005).

Robert ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmada; *Leuconostoc* kültürleri (*Leuconostoc citreum* ve *Leuc. mesenteroides*) ve *Lactobacillus plantarum* suşu kullanılmıştır. Seçilen laktik asit bakterileri tek tek %0.2 gram ekmek mayası içeren ekşi hamur ekmeği yapım prosesinde asitlendirme özellikleri, metabolik aktiviteleri ve teknolojik performansları bakımından incelenmiştir. Mikrobiyolojik içerikleri (laktik asit bakterileri ve mayalar), asitlendirme karakteristikleri (pH ve titrasyon asitliği), çözünebilir karbonhidratlar (maltoz, glukoz ve fruktoz) ve fermantasyonun son ürün (laktik asit, asetik asit ve ethanol) içerikleri hem ekşi hamur hem de ekmek hamuru fermantasyonu boyunca değerlendirilmiştir. Çözünebilir karbonhidratlar ve asitlendirme nitelikleri bakımından suşlar arasındaki farklılıklar, ekşi hamur ve ekmek hamurunda incelenmiştir. Her bir *Leuconostoc* kültürü veya *L. plantarum* kültürü karakteristik fermantasyon ürünleri üretebilir ve üretilen ekmeklerde beğenin artmasını sağlayabilmektedir.

Paramithiotis ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmada, Yunanistan'daki ekşi hamurlarda stabil olan *Lactobacillus sanfranciscensis* ve *L. brevis* gibi ya da genellikle ikincil mikroflorayı oluşturan *Weissella cibaria*, *L. paralimentarius*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Enterococcus faecium* gibi laktik asit bakterileri ve

*Saccharomyces cerevisiae* arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Bu amaç doğrultusunda, buğday unu hamuru yukarıda bahsedilen türlerin ya tek olarak ya da her bir suşun maya ile kombinasyonu kullanılarak hazırlanmıştır. Ekşi hamur örneklerindeki metabolik ürünlerin belirlenmesi Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi ile yapılmıştır. Laktik asit bakterilerinin varlığı, *S. cerevisiae*'nin son hücre verimi üzerinde etkide bulunmamıştır. Etanol üretimi ise karışık kültürle hazırlanan ekşi hamur örneklerinde olumsuz yönde etkilenmiştir. Diğer taraftan, *S. cerevisiae*'nin varlığı mannitol ve asetik asit oluşumuna neden olmuştur. Laktik asit bakterileri laktik asit üretilmesini sağlamış ve aynı zamanda glukoz, fruktoz ve maltozun önemli ölçüde tüketilmesine neden olmuştur.

Plessas ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları çalışmada; maya olarak *Kluyveromyces marxianus* (IFO 288), homofermentatif laktik asit bakterileri olarak ise *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* (ATCC 11842) ve *Lactobacillus helveticus* (ATCC 15009) suşlarını ekşi hamur ekmeği üretmek üzere starter kültür olarak kullanmışlardır. Kontrol olarak sadece %1 oranında *Kluyveromyces marxianus* (IFO 288) ve kendiliğinden mayalanan ekşi hamur kullanılarak üretilen ekmeği kullanılmıştır. Ekşi hamur ekmeğinin laktik asit ve asetik asit içeriği, ekmeği hacmi, uçucu bileşenlerin kompozisyonu, raf ömrü, duyu niteliği üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Una eklenen starter kültürün miktarı, hamur fermantasyon sıcaklığı ve ekşi hamur kullanımının miktarı ekmeği yapım prosesini optimize etmek için incelenmiştir. Kültür karışımının kullanımı, geleneksel yolla yapılmış ekmeği kıyaslandığında toplam titre edilebilir asitlik ve laktik asit düzeyinin daha yüksek olmasına yol açmıştır. En yüksek asitlik derecesi (3.41 g laktik asit/ ekmeğin 1 kg'ı) ve şekillendirmeye karşı gösterdiği en yüksek direnç, %1 *K. marxianus* ve %4 *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* içeren %50 ekşi hamur kullanılan ekmeği gözlenmiştir. Aynı zamanda kültür kullanımı, GC-MS analizlerinin ve duyu değerlendirilmelerinin sonucunda ekşi hamur ekmeğinin aromasını geliştirmiştir.

Plessas ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmada; ekmeğinin duyu karakterini ve raf ömrünü arttırabilmek amacıyla ekşi hamur ekmeği yapımında bazı starter kültürlerin kullanımı denenmiştir. Bu çalışmada *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus sakei* tek veya karışım halinde ekşi hamur ekmeği yapımında kullanılmıştır. Kontrol olarak hiç mikroorganizma eklenmeden kendiliğinden fermantasyona bırakılmış ekşi hamur kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre; her

suştan %10 düzeyinde kullanılarak üretilen ekşi hamur ekmeklerinin diğer üretilen tüm ekmeklere göre daha uzun raf ömrüne (12 gün) sahip olduğu gözlenmiştir. Bu durumun temel nedeni yüksek laktik asit içeriğine bağlanmıştır. İlave olarak aynı ekşi hamur ekmeğinin diğer ekşi hamur ekmeklerine kıyasla daha sert bir tekstüre, daha iyi aromaya ve genel kalite olarak daha iyi sonuçlara sahip bulunmuştur.

Bianchi ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları çalışmada, Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi ile orijini İtalya'nın durum buğdaylarından gelen "Altamura" ekmeğinin kabuk ve iç kısmının uçucu bileşenleri karakterize edilmiştir. Farklı kimyasal sınıflara ait olan 89 bileşen, ekmeğin kabuk kısmında belirlenmiştir. Ekmeğin kabuk kısmında saptanan bileşenlerin çoğu etanol (%20±6), 2-furfural (%14±7) ve 3-metil-1-bütanol (%9±5)'dir. Çoğu etanol (%32±7), 3-metil-1-bütanol (%23±6) ve 3-pentanol (%7±3) olan uçucu bileşenlerin daha az bir kısmı (74) ekmeğin iç kısmında saptanmıştır. Ekmek örneklerinin uçucu bileşenler, renk ve tekstür gibi fiziko-kimyasal parametreleri üzerinde farklı pişirme metotlarının etkisi (odun ateşinde ve doğal gazla) değerlendirilmiştir. Odun ateşinde pişirilen örneklerin son ürünün aromasında olumlu etki yapan furanlar ve aldehidler gibi uçucu bileşenlerin büyük bir kısmına sahip olduğu tespit edilmiştir. Odun ateşinde pişirilen ekmeklerin kabuk kısmı Maillard reaksiyonundan dolayı uçucu bileşenlerin en büyük kısmına sahiptir. Bu durum sert ve daha koyu kahverengi renkte ekmeklerin oluşmasına neden olmuştur.

Paramithiotis ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları çalışmada, geleneksel Yunan ekşi hamur örneklerinden seçilen laktik asit bakterisi ve mayaların kullanımının etkisi araştırılmıştır. *Lactobacillus sanfranciscensis* ve *Saccharomyces cerevisiae* suşları hazırlanan tüm ekşi hamurlara inoküle edilmiş yanı sıra *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Weissella cibaria* suşları tek tek eklenerek metabolik etkileşimler incelenmiştir. Ayrıca hazırlanan ekşi hamurları ekleyerek elde edilen ekmeğin duyu özelliklerine bu kültürlerin etkisi değerlendirilmiştir. Ekşi hamur ekmeğinin yapımı, yarı endüstriyel ölçeğe göre ayarlanmış üç aşamalı geleneksel prosedüre göre gerçekleştirilmiştir. Ekşi hamur örneklerinde metabolik ürünlerin belirlenmesi HPLC analizleriyle gerçekleştirilmiştir. *L. brevis*, *W. cibaria* ve *P. pentosaceus* suşlarının eklenmesi hem temel mikrofloranın gelişiminde hem de toplam metabolit üretiminde herhangi bir farklılık göstermemiştir. Diğer taraftan, *L. paralimentarius*, *L. sanfranciscensis*'in



gelişiminde negatif etki göstermiştir. Tüm ekşi hamur ekmeklerinin duyuşal özelliklerinde daha iyi sonuçlar alınmıştır. *S. cerevisiae*, *L. sanfranciscensis* ve *L. brevis* kültürleri ile ekmeğ yapımı duyuşal değerlendirmelerde birinci sırayı almıştır.

Dikbaş (2003) tarafından yapılan, geleneksel yöntemle üretilen Trabzon Vakfikebir ekmeğinin mikrobiyolojik ve aromatik özelliklerinin incelendiğı çalışmada, Trabzon Vakfikebir ekmeğ i ile francala ekmeğ i karşılaştırılmıştır. Trabzon il sınırları içerisindeki 8 farklı fırından alınan ekşi hamur örneklerinden 158 laktik asit bakteri izolatu MIS (Microbial Identification System) kullanılarak tanımlanmış, laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus* (%46.74), *Enterococcus* (%19.61), *Streptococcus* (%17.72), *Lactococcus* (%6.95), *Pediococcus* (%5.05), *Leuconostoc* (%1.26) suşları tespit edilmiştir. Üretilen Vakfikebir ekmeğinin Gaz Kromatografi/Kütle Spektrometre (GC/MS) sonuçlarına göre; ekşi hamurda en yüksek oranda etanol (%58.88), asetaldehit (%24.64), etilamin (%15.13), en düşük oranda 2-n-pentil furan ve octanal, eser miktarlarda ise 2-propanamin, 2,3-metil butanal, n-hexanol, n-nonanal, 2-furan-karboksialdehit tespit edilmiştir. Ayrıca son fermantasyon sonrası hamur örneklerinde en yüksek etanol (%79.88), izopropil amin (%14.86), asetaldehit (%4.29), en düşük oranda asetik asite rastlanmış, ekmeğ in kabuk ve iç kısmından alınan homojen örneklerde ise en yüksek etanole (%98.57) rastlanmış, asetik asit de diğ er örneklere oranla Vakfikebir ekmeğ inde önemli bir yükselişte olduğı gözlenmiştir. Francala ekmeğ inin GC/MS sonuçlarına göre; ilk fermantasyon sonrası en yüksek oranda etilamin (%52.32), asetaldehit (%33.52), etanol (%13.24) olduğı gözlenmiş, ayrıca örnek içerisinde 2-propanamin, diasetil, hekzanal, 2-n-pentilfuran, n-hekzanol, n-nonanal gibi altı eser maddeye rastlanmıştır. Francala ekmeğ inin son fermantasyon sonrası hamur örneklerinde en yüksek etanol (%98.74) olduğı gözlenmiş, octanal, n-nonanal, 2-furan-karboksialdehit'in eser miktarda olduğı görülmüştür. Kabuk ve iç kısmından alınan homojen ekmeğ örneklerinde ise en yüksek oranda etanol (%98.17), eser miktarda da diasetil, izobutil alkol, octanal, n-nonanal ve 2-furan-karboksialdehit'e rastlanmıştır. Vakfikebir ekmeğ inin francala ekmeğ ine göre daha fazla uçucu madde içerdiğı belirlenmiştir. Sonuç olarak ekşi hamurda maya ve bakteriler birlikte çalışmakta ve doğıal florayı oluşturmaktadır. Ayrıca ekşi hamur ekmeğ i uygun hacim, güçlü aroma, iyi bir ekmeğ iç i yapısı ve uzun raf ömrüne sahip oluş u ile tercih edildiğı yapılan çalışmada belirtilmiştir.

### **1.2.6 Ekmek hamuru fermantasyonu ve ekmek hamuru fermantasyonuna mikroorganizmaların etkileri**

Ekmek yapımının yoğurma aşamasında, un ve su birleşerek viskoelastik hamuru meydana getirmektedir. Buğday unundan elde edilen hamur, gluten fazı ile nişasta ve suda çözünebilen bileşenleri içeren sıvı faz olmak üzere iki ayrı fazdan oluşmaktadır. Pişirme sırasında, viskoelastik hamur elastik yapıdaki ekmeğe dönüşmektedir. Makroskopik düzeydeki en önemli gelişme gaz hücrelerinin genişmesiyle gözenek yapısının oluşmasıdır. Ekmek üretiminde son ürünün kalitesi, üretim aşamaları (yoğurma, yuvarlama ve şekil verme, fermantasyon, pişirme) ve kullanılan içeriklerin nitelikleri tarafından belirlenmektedir (Altınel, 2008).

Un diğer bileşenlerle birlikte karıştırılıp hamur haline getirildikten sonra fermantasyon aşamasında, mayaların basit şekerleri parçalaması için, önce mevcut amilazlar tarafından nişastanın maltoza kadar parçalanması gerekmektedir. Fermantasyon sırasında amilazların çalışması undaki zedelenmiş nişasta miktarı ile sınırlıdır. Bu yüzden unların gaz oluşturma yeteneği, bir bakıma amilazların yanı sıra zedelenmiş nişasta miktarına bağlıdır. Alfa ve beta amilazların etkilerine karşı zedelenmiş nişasta oldukça hassas olmasına karşın, zedelenmiş granüller çok hassastır (Ekinci, 2001).

Ekmek yapımında fermantasyon aşaması, hamurda hacim artışının meydana geldiği ve işlenebilme özelliklerini kazandığı, başka bir ifadeyle ekmeğin temel özelliklerinin şekillendiği çok önemli ve kritik bir aşamadır. Ekmek formülasyonunda yer alan ingredientler ve katkı maddeleri, yoğurucunun özellikleri, yoğurma süresi ve hamur sıcaklığı, mayalanma süresi, mayalanma sıcaklığı ve ortamın nispi nemi hamur fermantasyonunu etkileyen önemli faktörlerdir (Paramithiotis, ve ark, 2005; Baykara, 2006).

Hamur fermantasyonu, maya ve LAB (*L. sanfrancisco*, *L. fermentatum* ve *L. fructivorans*)'nin metabolik aktiviteleri sonucu gerçekleşmektedir. Hamur fermantasyonunda başlıca iki önemli olay söz konusudur (Erginkaya ve Kabak, 2010):

- Mayaların ortamda bulunan şekerleri kullanarak CO<sub>2</sub> gazı oluşturması, hamurun kabarmasını dolayısıyla hamur hacminin artmasını sağlamaktadır. Bu esnada, hamurun pH'sı da düşmektedir.

- Ortamda bulunan enzimlerin etkisiyle nişasta ve proteinlerin hidrolizi, glutenin yumuşamasına ve hamur özelliklerinin değişmesine dolayısıyla daha fazla CO<sub>2</sub> gazının bünyede kalmasına neden olmaktadır.

Glutenin koloidal yapısı, maya fermentasyonu ile oluşan gazı tutarak hamurun hacim kazanmasını sağlamaktadır. Hamur yapısı içinde birkaç mikrometre çapa sahip küçük gaz hücreleri büyük hücrelerin arasına yerleşmiş durumdadır. Fermentasyon sırasında oluşan asitler glutenin su absorbe etmesine neden olur. Böylece gluten daha yumuşak, elastiki, CO<sub>2</sub> gazını geçirmeyecek bir yapıya dönüşmektedir. Gaz hücrelerinin kapasitesi ve direnci, ekmeğin iç yapısı ve hacmini etkilemesi açısından oldukça önemlidir (Altinel, 2008).

Mayanın fermentasyon ortamına adapte olamaması ve kısa süre çalışması nedeniyle yeterince CO<sub>2</sub> üretilmemektedir. Bu nedenle bu hamurlardan elde edilen ürünler tıknaz yapıda içini fazla boşaltamamış, esnek olmayan kuru ürünlerdir. Yeterince fermentasyona tabi tutulmamış hamurlar düşük hacimlidir. Bunun nedeni; glutenin tam uzayabilirlik gücüne erişememesidir. Aşırı fermentasyon görmüş hamurlarda ise kabuk rengi soluk, zayıf tekstür, istenmeyen aroma, aşırı asit gelişimi, çökme ve düşük hacim gözlenmektedir (Elgün ve Ertugay, 2002; Baykara, 2006).

Maya hamurdaki şekerleri fermente ettikçe çevresindeki sıvı ortama çözülmüş CO<sub>2</sub> ve etil alkol olmak üzere, laktik asit, asetik asit, aminoasit, gibi metabolik yan ürünler bırakmaktadır. Mayalanma ürünleri; laktik asit, asetik asit, etanol, CO<sub>2</sub>, aminoasitlerdir. Maya etkisi ile oluşan bu bileşenler ekmeğe tat ve aroma vermektedir (Baykara, 2006). Aynı zamanda bu ürünlerin etkisi ile ortamın pH'sının da azalıp hava kabarcıklarının entegrasyonu, CO<sub>2</sub> oluşumu, pH azalması sonucu akışkanlığın da azalmasıyla hamur yapısı oluşmaya başlamaktadır. Mayalanma ilerledikçe hamur tekrar karıştırılarak CO<sub>2</sub> oluşumu ve yayılım hızı arttırılabilmektedir. Bununla beraber, arzu edilen tekstür ve hacmin oluşması mayalanma sırasında oluşan CO<sub>2</sub>'nin tutulmasına bağlı bir durumdur (Jespersen, 2003; Yakar, 2010).

Mayanın sahip olduğu fonksiyonel yapı içerdiği enzimlerden kaynaklanmaktadır. Bu enzimlerin başlıcaları; sakkarozu parçalayan invertaz enzimi, maltozu parçalayan maltaz enzimi, glikoz ve fruktozu parçalayan zymas enzimidir. Bu enzimler

olmaksızın şekerlerin fermantasyona uğrayarak alkol ve diğer fermantasyon ürünlerinin oluşması mümkün değildir (Elgün ve Ertugay, 2002; Baykara, 2006).

### **1.2.7 Tat ve aroma oluşumunda fermantasyonun önemi**

Ekmeğin aroması duyuşal açıdan aşırı olmayan bir özelliğe sahip olmasına rağmen, unsurları oldukça kompleks kimyasal reaksiyonlar sonucunda meydana gelmektedir. Ekmekteki arzulanan bu duyuşal özelliklere kısmen formüle ilave edilen katkıları, fakat esas olarak da fermantasyon ve pişirme sırasında oluşan kimyasal bileşikler etkili olmaktadır (Özkaya, 1984).

Ekmeğin karakteristik tat ve aroması kendisini oluşturan bileşenlerin tat ve aromasına değil, bunların bileşimindeki bazı maddelerin birbiri ile reaksiyona girip yeni ürünler oluşturmalarına bağlıdır. Bu yeni ürünlerin ise, bir kısmı fermantasyon, bir kısmı da pişme sonucunda ekmeğin kabuk bölgesinde oluşmaktadır. Nitekim yapılan araştırmalar fermantasyon yapılmamış hamurların ekmeklerinde aroma gelişiminin çok az olduğunu; fermantasyonu normal yapıp, özel bir pişirme tekniği uygulayarak kabuk bağlatılmadan pişirilen ekmeklerde ise cazip olmayan ve yavan bir tadın oluştuğunu göstermiştir. Ancak fermantasyonun optimum koşullarda yapılması yani katılacak maya miktarının, sürenin ve sıcaklığın iyi ayarlanması gerekmektedir. Aksi halde aroma gelişimi istenen düzeyde olmamaktadır (Ravyts ve Vuyst, 2011).

Ekşi hamur fermantasyonu boyunca üretilen aroma bileşenleri iki kategoride incelenmektedir. Birinci kategoride homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterilerinin ürettiği organik asitleri içeren uçucu olmayan aroma bileşenleri bulunmaktadır. Bu organik asitler ekmek hamurunun aromasını geliştirmekte ve pH'yı düşürmekte etkilidir. İkinci kategori ise, alkoller, aldehydleri, ketonları ve esterleri içeren uçucu bileşenlerdir. Aroma oluşumuna katkı sağlayan tüm bu bileşenler fermantasyon boyunca biyolojik ve biyokimyasal olaylar tarafından üretilmektedir. Ekşi hamur fermantasyonu ile üretilen ekmeklerdeki aroma maddeleri Tablo 1.3'te verilmiştir. Ayrıca hamurda bulunan serbest amino asitlerden lösin, prolin, fenilalanin, isolösin ve serin, indirgen şekerlerle reaksiyona girerek aroma maddelerini oluşturmaktadır. Hamur fermantasyonu sırasında proteoliz, şeker ve peptid metabolizması, ketosit türevlerinin hidrojenasyonu ve enzimatik sentez yolu

ile özellikle kükürt içeren, aromatik, heteroaromatik ve hidroksi aminoasitlerin ve türevlerinin miktarı artmaktadır (Göçmen, 2001; Kılıç, 2008).

Hem laktik asit bakterileri hem de mayalar kullanılarak üretilen ekşi hamurlarda aroma bileşenleri, bunlardan sadece biriyle üretilenlerdekinden daha fazla bulunmuştur (Güre, 2009).

Tablo 1.3 : Ekşi hamur kullanılarak üretilen ekmeklerin aroma bileşenleri (Göçmen, 2001; Kılıç, 2008).

<b>Asitler</b>	<b>Alkoller</b>	<b>Esterler</b>	<b>Karbonil Bileşikleri</b>
Laktik asit	Etanol	Etil asetat	Diasetil
Asetik asit	n-Propanol	Etil n-propanat	3-Metil-1-bütanol
Bütirik asit	2-Metil-1-propanol	n-Bütül asetat	2-Metil-1-bütanol
Propiyonik asit	n-Bütanol	2 Metil bütül asetat	n-Hekzanal
Prüvik asit	2-Bütanol	Bütül-n-propanat	2-Heptanon
Valerik asit	n-Pentanol	n-Pentil asetat	n-Nonanal
İsobütirik asit	n-Hekzanol	Etil n-hekzanat	Benzaldehit
$\alpha$ -Metil-n-valerikasit	2-Hekzanol	n-Hekzil asetat	2-Propanon
İsovalerik asit	n-Heptanol	Etil laktat	2,3-Bütandion
n-Bütirik asit	Benzil alkol	Etil n-oktanat	3-Hidroksi-2-bütanon
Formik asit	2-Fenil etanol	Etil2-hidroksi propanat	Asetoin
Kaproik asit	İsoamilalkol		Aseton
Palmitik asit	2,3-Bütandiol		Asetaldehit
	3-Metil bütanol		İsovalerik aldehit
	2-Metil bütanol		Metiletil keton

Yapılan bir araştırmada, ekşi hamur tekniği ile üretilen ekmeklerdeki eşsiz aroma üzerine, heterofermantatif laktik asit bakterilerinin oluşturduğu organik asitlerin daha etkili olduğu saptanmıştır. Bu organik asitlerin başında laktik ve asetik asit gelmekte, diğer minör asitler (propiyonik asit, isovalerik, isobütirik asit, n-bütirik) ise çok az miktarda oluşmaktadır. Asetik asit hem güçlü bir aroma oluşumu sağlamakta, hem de diğer aroma bileşenlerinin etkisini arttırmaktadır. Laktik asit bakterilerinin aroma oluşumuna etkileri, sadece karbonhidrat metabolizması ile sınırlı olmayıp, serbest amino asit oluşumunda da etkili olmaktadır. Laktik asit bakterilerinin içerdiği proteaz ve peptidaz enzimleri, fermantasyon sırasında hamur proteinlerini hidrolize ederek amino asitleri serbest hale geçirmekte ve böylece pişirme aşamasındaki aroma bileşeni oluşumuna da dolaylı olarak katkıda bulunmaktadır (Göçmen, 2001).

## **2. MATERYAL VE METOT**

### **2.1 Materyal**

#### **2.1.1 Hamur bileşenleri**

Bu çalışmada, tip II ekşi hamur ve ekmek hamurunun üretiminde TİP 550 ekmeklik buğday unu (Yunus Un Fabrikası, Afyonkarahisar) kullanılmıştır.

Araştırmada hamurun mayalanması amacıyla pres yaş maya (Pakmaya) tercih edilmiştir. Söz konusu maya buzdolabı koşullarında (+4° C) muhafaza edilmiştir. Diğer taraftan hamur bileşeni olarak rafine tuz (Horoz Tuz; Denizli) ve Pamukkale Üniversitesi Kampüs'ü içme suyu tercih edilmiştir. Analitik çalışmalar ise ters osmoz yöntemiyle üretilmiş (TKA, Almanya) saf su ile yapılmıştır.

#### **2.1.2 Kullanılan laktik asit bakterileri ve gelişme ortamları**

Çalışmada 4 farklı laktik asit bakterisi kullanılmıştır. Laktik asit bakterileri (*Lactobacillus plantarum* PFC22, *Lactobacillus brevis* PFC31, *Pediococcus acidilactici* PFC38 ve *Lactobacillus sanfranciscensis* PFC80) Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Kültür Koleksiyonu'ndan (PUFECC) temin edilmiştir. Çalışma stokları kültür ortamının son konsantrasyonu %30 olacak şekilde gliserol ilavesi yapılarak hazırlanmış ve -20° C'de muhafaza edilmiştir. Tüm laktik suşlar MRS Broth (Merck) besiyerine aşılanarak 30° C'de 24 saat geliştirilmiştir.

### **2.2 Metot**

#### **2.2.1 Hammadde analizleri**

Çalışmada kullanılan un örneklerinde nem miktarı ICC Standard No:110/1'e ve kül miktarı ICC Standard No:104'e göre belirlenmiştir (Anonymous, 1982). Ham protein miktarı ise, Kjeldahl metodu kullanılarak AACC Method No: 46-11A (AACC, 1990)'a göre yapılmıştır. Tüm örneklerde azot çeviri faktörü 5.70 olarak alınmıştır.

Un örneğinde yaş gluten ve gluten indeksi testi ICC Standard No:155'e göre yapılmıştır. Tayin için, 10 g un örneği elde yoğurulmuş %2 tuz çözeltisi ile yıkanmış, yıkama bittikten sonra yaş gluten 6000 devir/dk'da indeks eleklerinde santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra, elekte kalan ve toplam gluten miktarları bulunarak gluten indeksi değerleri hesaplanmıştır (Anonymous, 1994).

Sedimentasyon testi ICC Standard No:116'ya göre yapılmıştır. Tayin için un örneğinden 3.2 g tartılmış 100 mL'lik ağzı kapaklı ölçü silindirine konulmuştur. Üzerine 4 ppm'lik bromfenol mavisi çözeltisinden 50 mL ilave edilerek ufki olarak çalkalanmış, sonra cihazın mekanik çalkalayıcısında 5 dk çalkalanmıştır. Bundan sonra üzerine 25 mL laktik asit sedimentasyon test çözeltisinden ilave edilip tekrar 5 dk daha mekanik çalkalayıcıda çalkalanmış, düz bir yüzeyde 5 dk bekletildikten sonra çöken miktar ml olarak ölçü silindirinden okunmuştur (Anonymous, 1982).

Falling number (düşme sayısı), Falling number cihazı (Yücebaş Makine, İzmir) ile ICC Standard No:107'ye göre yapılmıştır. 7 g un tartılarak viskometre tüpüne konmuştur. Üzerine 20° C sıcaklıkta saf sudan 25 ml ilave edilerek, iyi bir süspansiyon için 20-30 kez çalkalanmıştır. Viskometrenin karıştırıcısı tüpün içine yerleştirilerek, kaynayan su banyosunun içine konmuştur. 60 saniye sonunda serbest kalan karıştırıcı kendi ağırlığı ile süspansiyon içine batmıştır. Karıştırıcının belli derinliğe batması için geçen süre saniye olarak kaydedilmiştir (Anonymous, 1982).

Unun reolojik özelliklerinin tespiti için sırasıyla un testi ve hamur testi uygulanmıştır. Un testi için bilgisayar destekli un test cihazı (Yücebaş Makine-ISO 9001 "DAS Certification LTD"-UKAS Quality Management Accreditation, İzmir) kullanılmıştır. Cihaz 30° C sıcaklığa geldikten sonra %14 rutubet içeriği esasına göre 300 g un tartılıp küvete konmuştur. Küvetin içine büretten ilk etapta %50 civarında su verilmiş, bu ölçüm 5 dk boyunca yapılmıştır. Bu süre de 500 FU çizgisini ortalayan bir grafik elde edilinceye kadar su verilmeye devam edilmiş, süre sonunda unun yaklaşık %su kaldırma kapasitesi elde edilmiştir. Küvet boşaltılıp temizlendikten sonra işlem tekrar edilmiş, una 5 dk testinde tespit edilen % su kaldırma kapasitesi kadar su verilmiş ve 20 dk boyunca analize devam edilmiştir. Bu süre sonunda % su absorpsiyonu, hamurun gelişme süresi, hamur stabilitesi, yoğurma toleransı ve yumuşama derecesi değerleri tespit edilmiştir.

Hamur testi için ise, un test cihazının küvetine konulan 300 g una, 6 g tuz ve un testinde belirlenen su kaldırma kapasitesinin %2 eksiği kadar su verilmiş ve 1 dk yoğrulmuş, 5 dk ağzı kapalı olarak dinlendirilmiş, sonra un testinde belirlenen gelişme süresi kadar daha yoğrulmuştur. Bu anda gerekirse su verilerek grafiğin 500 FU çizgisini ortalaması sağlanmıştır. Daha sonra hamur 150±1 g ağırlığında iki parçaya bölünmüş, hamur test cihazının (Yücebaş Makine-ISO 9001 “DAS Certification LTD”-UKAS Quality Management Accreditation, İzmir) şekil vericisinde önce yuvarlak sonra silindirik şekil verilerek cihazın özel kabına yerleştirilmiş ve 30° C sıcaklıktaki dinlendirme dolabına konarak 45, 90 ve 135 dk boyunca bekletilmiştir. Bu süreler sonunda kaplar cihazın koluna yerleştirilerek grafik çizdirilmiştir. Hamurun maksimum direnci, mukavemeti, uzama kabiliyeti ve enerjisi belirlenmiştir. Oran sayısı uzama kabiliyetinin hamur direncine oranlanmasıyla elde edilmiştir. 90 ve 135 dakikalık ölçümler istatistiki analize tabi tutulmuştur (Anonymous, 1982).

Un örneğinde pH tayini AOAC 943.02 metodu modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. 10 gram un tartılarak, üzerine 100 mL saf su ilave edilmiş ve partiküller çözünene kadar çalkalanmış, pH probu daldırılmak suretiyle hidrojen iyonu konsantrasyonu ölçülmüştür (Elgün ve ark., 2002).

### 2.2.2 Tip II ekşi hamurun hazırlanması

Tip II ekşi hamurun hazırlanmasında sıcaklık kontrollü ve karıştırmalı biyoreaktör (Minifors, İsviçre) kullanılmıştır. Söz konusu biyoreaktör her kullanımdan önce 121° C'de 15 dk süreyle steril edilmiştir. Ekşi hamurun hazırlanması için un ve su; tip II ekşi hamurun verimi 400 olacak şekilde aşağıda verilen eşitlik 2.1'e göre hesaplanıp, gereğince karıştırılarak biyoreaktör içerisine alınmıştır (Ravyts ve Vuyst, 2011).

$$\text{Ekşi Hamur Verimi} = (\text{Un-su Bulamacının Miktarı} / \text{Un Miktarı}) \times 100 \quad (2.1)$$

Kontrol grubu dışındaki denemelerde fermantasyon başında hamur karışımına 6 log kob/mL olacak şekilde laktik asit bakterisi veya kombinasyonları aşılanmış ve fermantasyon 30° C'de, 48 saat ve 400 rpm karıştırma hızında kesikli fermantasyon ile yürütülmüştür (Carnevali ve ark., 2007). Çalışmada laktik asit bakterileri tek tek veya kombinasyonları olarak kullanılmıştır. Buna göre *L. plantarum* (A), *L. brevis* (B), *P. acidilactici* (C) ve *L. sanfranciscensis* (D) suşları sırasıyla; A, B, C, D, A-B, A-C, A-D, B-C, B-D, C-D, A-B-C, A-B-D, B-C-D ve A-C-D olmak üzere 2 tekerrür halinde



deneme deseni ile çalışılmıştır. Ayrıca bakteri inokülasyonu yapılmadan sadece un ve steril saf su içeren ortam kontrol grubu olarak hazırlanmıştır. Şekil 2.1'de çalışmada kullanılan biyoreaktör sistemi gösterilmektedir.



Şekil 2.1: Çalışmada kullanılan biyoreaktör sistemi

### 2.2.3 Tip II ekşi hamurda yapılan kimyasal analizler

Çalışmada fermantasyon sürecinde pH ve titre edilebilir toplam asitlik miktarı takip edilmiştir. Buna göre fermantasyonun 0., 2., 4., 6., 8., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde örnekleme yapılmıştır. Tip II ekşi hamur örneklerinde pH ölçümü fermentöre bağlı olan pH metre (WTW, İsviçre) ile ölçülmüştür. Fermentörün sterilizasyon işleminden önce pH metrenin kalibrasyonu yapılmıştır.

Tip II ekşi hamur örneklerinde toplam asitlik tayini, un-su bulamacında titrasyon asitliği metoduna göre yapılmıştır. Buna göre 10 g örnek erlene eklenmiş, üzerine 100 mL saf su ilave edilerek homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Hazırlanan bu bulamaç üzerine 3-4 damla fenolftalein indikatörü damlatılarak 0.1 N NaOH ile açık kırmızı (pembe) renk 1 dakika sabit kalıncaya kadar titre edilmiştir (Elgün ve ark., 1998). % asit miktarı eşitlik 2.2'de verilen denklemden faydalanılarak laktik asit cinsinden hesaplanmıştır (Evren, 1991).

$$\% \text{ Asitlik} = (V \times F \times E \times 100) / m \quad (2.2)$$

Bu denklemde, V harcanan 0.1 N NaOH miktarını (ml), F titrasyonda kullanılan bazın normalitesini, E 1ml 0.1 N NaOH'in eşdeğeri asit miktarını (laktik asit için 0.009 g) ve m titre edilen örnek miktarını (ml veya g) ifade etmektedir.

#### **2.2.4 Tip II ekşi hamurda yapılan mikrobiyolojik analizler**

Çalışmada fermantasyonun 0., 2., 4., 6., 8., 12., 24., 36. ve 48. saatlerinde alınan örneklerin laktik asit bakteri ve maya-küf sayımları standart mikrobiyolojik yöntemler kullanılarak yapılmıştır (Anonim, 2005). Buna göre uygun dilüsyonlardan laktik asit bakterilerinin sayımı için MRS (Merck) ve maya-küf için ise DRBC (Merck) katı besiyerini içeren petri plaklara ekim yapılmış ve hazırlanan petri plakları 30° C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda 30-300 koloni içeren petri kutularında sayım yapılarak toplam laktik asit bakteri ve maya-küf sayıları kob/ml olarak belirlenmiştir (Anonim, 2005).

#### **2.2.5 Ekmek hamurunun hazırlanması**

Çalışmada tip II ekşi hamur kullanımının ekmeğ hamurunun kimyasal, mikrobiyolojik, reolojik ve aromatik özelliklerine etkisi araştırıldığından, bir önceki analiz verileri dikkate alınarak en verimli suş ve kombinasyonların seçimi yapılmıştır. Buna göre çalışmada 5 farklı hamur hazırlanmıştır. Ayrıca tip II ekşi hamur içermeyen (Kontrol I) ve bakteri inokülasyonu yapılmadan üretilen tip II ekşi hamur ilave edilmiş (Kontrol II) hamur örnekleri kontrol amacıyla kullanılmıştır. LAB inokülasyonu yapılan hamur örnekleri sırasıyla Hamur I: *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen tip II ekşi hamuru içeren hamur, Hamur II: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38 suşlarının kombinasyonu ile üretilen tip II ekşi hamuru içeren hamur, Hamur III: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38-*L. sanfranciscensis* PFC80 suşlarının kombinasyonu ile üretilen tip II ekşi hamuru içeren hamur şeklinde ifade edilmiştir. Ekmek hamuru direkt hamur metodu ile 2 tekerrürlü olarak hazırlanmıştır (Elgün ve ark., 1998). Her bir hamurun üretimi için kullanılan bileşenlerin miktarları Tablo 2.1' de verilmiştir.

Tablo 2.1: Hamurların üretiminde kullanılan bileşenlerin miktarları.

Hamur örnekleri*	Un (g)	Maya (g)	Tuz (g)	Su (mL)	Tip II ekşi hamur (mL)
Kontrol I	200	6	3	127.2	0
Kontrol II	200	6	3	89.4	30
Hamur I	200	6	3	90.4	30
Hamur II	200	6	3	90.6	30
Hamur III	200	6	3	90.8	30

\*: Kontrol I: Ekşi hamur içermeyen hamur, Kontrol II: Bakteri inokülasyonu yapılmadan üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur I: *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur II: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur III: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38-*L. sanfranciscensis* PFC80 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur.

Ekmek hamurunun hazırlanmasında; %14 nem esasına göre 200 g un tartılmış ve karıştırıcının (Kitchen Aid, Amerika) yoğurma kabına konulmuştur. Üzerine %3 pres maya, %1.5 tuz ve %15 ekşi hamur ilave edildikten sonra un testi sonucu hesaplanan su miktarı konularak 10 dakika yoğrulmuştur. Ekmek hamurunun hazırlanmasında kullanılan tip II ekşi hamur her defasında daha önce belirtilen yönteme göre fermentörde hazırlanmış, fermentasyonun 24. saati sonundaki tip II ekşi hamur kullanılmıştır. Hamurun pH değişimi ve mikrobiyal yükünün belirlenmesi için, yoğurmadan ve son fermantasyondan sonra örnekleme yapılmıştır. Her hamur dört eşit parçaya bölünmüş %80'in üzerindeki nispi rutubetteki fermantasyon dolabında ve 30° C'de 30 dakika dinlendirilmiştir. Daha sonra elde katlanmak suretiyle havalandırılarak 10 dakika daha fermantasyona bırakılmıştır. Şekil verme işleminden sonra son fermantasyona bırakılmıştır. Son fermantasyon süresi 1 saat olarak belirlenmiş ve çalışma boyunca sabit tutulmuştur (Elgün ve ark., 2002; Plessas ve ark, 2011).

Son aşamada hazırlanan hamurların “hamur verimi” hesaplanmıştır. Hesaplama aşağıda verilen eşitlik 2.3'ten faydalanılmıştır (Elgün ve ark., 2002).

$$\text{Hamur Verimi} = (\text{Hamur ağırlığı} / \text{Kullanılan un miktarı}) \times 100 \quad (2.3)$$

### 2.2.6 Hamur örneklerinde pH ve titrasyon asitliği tayini

Yukarıda belirtilen formülasyona göre hazırlanan hamur örneklerinde yoğurmadan ve son fermantasyondan sonra pH ve laktik asit cinsinden titrasyon asitlik derecesi ölçümleri yapılmıştır. Hamur örneklerinden 10'ar gram paralelli olarak tartılıp üzerine

100 ml saf su ilave edilerek 1 dk homojenize (Stomacher, UK) edildikten sonra pH değerleri pH-metre (GOnDO benchtop pH meter, Tayvan) ile okunarak belirlenmiştir. pH metre kullanılmadan önce uygun tampon çözeltiler (pH 4.0 ve pH 7.0) ile kalibre edilmiştir. Hamurların asitlik derecesini belirlemek amacıyla, un-su bulamacında titrasyon asitliği yöntemi kullanılmıştır ve sonuçlar % laktik asit cinsiden hesaplanmıştır (Elgün ve ark., 1998).

### **2.2.7 Hamur örneklerinde mikrobiyolojik analizler**

Hamur örneklerinde yoğurmadan ve son fermantasyondan sonra laktik asit bakterisi ve maya-küf sayımları yapılmıştır. Buna göre 10 g hamur örneği alınarak üzerine 90 ml SFS eklenmiş ve homojenize (Stomacher, UK) edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan  $10^{-1}$ 'lik seyreltiden 1'er mL, 9 mL'lik SFS'lere aktarılmak suretiyle diğer seyreltmeler yapılmıştır. Uygun seyreltilerden maya-küf sayımı için DRBC (Dichloran-Bengalrot-Chloramphenicol-Agar, Merck) ve laktik asit bakterilerinin sayımı için %0.01 sikloheksimid ilave edilen MRS (de Man, Rogosa, Sharpe) katı besiyeri üzerine, aseptik şartlar altında ekim yapılmış, tüm petriler 30° C'de 48 saat süreyle inkübe (Nüve EN500) edilmiştir (Anonim, 2005).

### **2.2.8 Ekmek hamurunun reolojik özelliklerinin belirlenmesi**

Denemeler sırasında, hamur üretimine geçilmeden önce kontrol ve un yerine %15 oranında (Ravyts ve Vuyst, 2011) tip II ekşi hamur örneklerinin ilave edilmesiyle hazırlanan karışımların reolojik özellikleri belirlenmiştir. Fizikokimyasal analiz olarak un özelliklerinin belirlenmesinde un testi ve hamur özelliklerinin belirlenmesinde ise hamur testi denemeleri yapılmıştır (Elgün ve ark., 1998).

### **2.2.9 Ekmek hamurunun aroma bileşenlerinin belirlenmesi**

Ekmek hamurlarının aroma profilleri Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile belirlenmiştir (Plessas ve ark., 2008; Plessas ve ark., 2011). Hamur örneklerinde uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu Ravyts ve Vuyst (2011) tarafından belirtilen yöntem kısmi modifiye edilerek, katı faz mikroekstraksiyon (SPME, 2 cm'e 50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS, Supelco, Bellafonte) tekniği ile yapılmıştır. Buna göre 5 g hamur örneği 40 mL SPME (Solid Phase Micro Extraction) vialine konulmuş ve üzerine 5 µL iç standart (2-metil valerik asit ve 2- metil-3-heptanon içeren) eklenmiştir. Vial 50° C'deki su banyosunda 30 dk bekletilerek uçucu bileşenlerin

dengeye gelmesi sağlanmıştır. Daha sonra vialer SPME fiberi batırılarak, SPME fiber ile ikinci kez 50° C'de 30 dk su banyosunda bekletilmiş ve uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu sağlanmıştır.

Hamur örneklerinin uçucu bileşen analizinde kullanılan GC-MS koşulları aşağıdaki gibidir.

GC-MS: HP 6890 GC ve 7895C mass selective detector (Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD).

Kolon: Polar olmayan HP5-MS kolonu (30-m×0.25-mm i.d.×0.25-µm film thickness, J&W Scientific, Folsom, CA).

Fırın programı:

- Başlangıç sıcaklık ve süresi: 40° C'de 5 dk,
- Ramp: 1:10° C/dk,
- Final sıcaklık ve süresi: 230° C, 20 dk şeklindedir.

Taşıyıcı gaz: Helyum, akış hızı 1.2 mL/dk.

Uçucu bileşenlerin kantitatif tayini ise, uçucu bileşenlerin relatif abundanceları temel alınarak aşağıda verilen eşitlik 2.4'e göre yapılmıştır (Avşar ve ark., 2004). Asit karakterdeki uçucu bileşenler için iç standart olarak 2-metil valerik asit, nötral/bazik karakterdeki uçucu bileşenler için 2-metil-3-heptanon kullanılmıştır.

$$\text{Ortalama relatif abundance } (\mu\text{g/kg}) = (\text{IS konsantrasyonu} \times \text{Uçucu bileşenin pik alanı}) / \text{IS pik alanı} \quad (2.4)$$

Uçucu bileşenlerin tanımlanması, National Institute of Standards and Technology, Wiley Registry of Mass Spectral Data, 7th Edition kütle spektrum kütüphanelerinden taranarak belirlenmiştir.

### 2.2.10 İstatistiksel analiz

Çalışmada Minitab 14.0 paket programında one-way ANOVA testi kullanılarak, tip II ekşi hamur örnekleri ile hazırlanan ekmek hamurları ve kontrol grubunun kimyasal, mikrobiyolojik, hamur reolojisi ve aroma profili sonuçlarının istatistikî analizleri yapılmıştır. Ayrıca örnekler arasındaki farkı karşılaştırmak amacıyla Tukey's testi uygulanmıştır ( $p < 0.05$ ).

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1 Hammadde Analiz Sonuçları

##### 3.1.1 Farklı optik yoğunluktaki laktik asit bakteri solüsyonlarının hücre sayısı

Çalışmada kullanılacak laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus plantarum* PFC22, *Lactobacillus brevis* PFC31, *Pediococcus acidilactici* PFC38 ve *Lactobacillus sanfranciscensis* PFC80) ekşi hamur sıvı ferment sisteminde başlangıç mikroorganizma konsantrasyonunun 6 log kob/ml olması için konsantrasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Söz konusu laktik suşlar geliştirildikten sonra hücreler fosfat tamponunda çözündürülerek süspansiyonları hazırlanmıştır. Daha sonra bu süspansiyondan 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 ve 0.2 hücre yoğunluklarında yeni hücre süspansiyonları elde edilmiştir. Buna göre farklı optik yoğunluğa sahip LAB süspansiyonlarının hücre sayıları Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Bu sonuçlar ışığında tip II ekşi hamurun hazırlanmasında, her bir suşun 0.02 optik yoğunluğa sahip solüsyonundan hamur hacmi dikkate alınarak hesaplanan miktar kadar, ilave edilmiştir.

Tablo 3.1: Farklı optik yoğunluğa sahip laktik asit bakteri solüsyonlarının hücre sayısı.

Mikrobiyolojik Sayım Sonuçları (log kob/ml)	Mikroorganizmalar			
	<i>Lactobacillus plantarum</i> PFC22	<i>Lactobacillus brevis</i> PFC31	<i>Pediococcus acidilactici</i> PFC38	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> PFC 80
0.01	5.99±0.01	5.98±0.01	5.95±0.01	5.76±0.07
0.02	6.42±0.01	6.30±0.04	6.02±0.02	6.04±0.01
0.05	7.17±0.08	7.05±0.03	7.01±0.01	7.12±0.08
0.1	8.07±0.01	7.75±0.01	7.65±0.01	7.16±0.05
0.2	8.27±0.01	7.81±0.01	7.77±0.01	7.91±0.08

### 3.1.2 Kullanılan una ait analitik analiz sonuçları

Araştırmada kullanılan buğday ununda yapılan analitik analizlerde, rutubet %12.05, kül kuru maddede (KM) %0.51, protein miktarı kuru maddede (KM) %11.55, yaş öz %31.54, gluten indeksi %90.56, sedimantasyon değeri 28, falling number değeri 366 ve pH değeri 5.95 olarak hesaplanmış, bulunan bu değerler Tablo 3.2’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar sonucunda unun ekmek yapımına uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Un kalitesi; geniş anlamda unun, arzu edilen özellikte, üniform, cazip bir son ürün meydana getirebilme kabiliyetidir. Ekmeklik kalitesi iyi unlar, protein miktarı en düşük %11, yaş gluten miktarı en düşük %27 olan unlardır. Gluten indeksi ise glutenin hem miktarı hem de kalitesi hakkında bilgi vermektedir ve hamur kalitesine etkisi çok fazladır. Genellikle ticari ekmeklik unlarda gluten indeksi değeri 60-90 arasındadır. (Elgün ve ark., 1998). Tip 550 buğday unlarında % kül miktarı kuru maddede en çok 0.55, nem oranı en çok %14.5 olmalıdır (Anonim, 1999). Ancak unlarda rutubetin mümkün olduğunca düşük olması, unun su kaldırma kapasitesini etkileyeceği için bu değerden daha düşük olması istenen bir durumdur. Unun depolanması için optimum nem içeriği %13’tür. Nem içeriği %13’ten yüksek olduğunda, un görünür bir şekilde küflü olmasa da yağ oksidasyonu riski ve acılaştırmanın gelişmesinde artış vardır. Oksidatif acılaştırma reaksiyonları  $Cu^{+2}$  gibi ağır metal iyonları tarafından katalize edilmektedir (Ünal, 1991).

Unun ekmeklik kalitesinde değerlendirilen sedimantasyon testi buğdayın hem protein miktarı hem de kalitesi hakkında fikir veren kolay ve hızlı bir metottur. Sedimantasyon testinde 15’ten küçük değerler çok zayıf, 16-24 arası zayıf, 25-36 arası iyi, 36’nın üzeri ise pek iyi olarak değerlendirilmektedir. Sedimantasyon değeri protein kalitesinin belirlenmesinde kullanılan en önemli kalite kriterlerinden biridir. Falling number değeri ise un içinde bulunan nişastanın alfa-amilaz tarafından sıvılaştırılmasının ölçümü esasına dayanan, unun alfa-amilaz aktivitesi hakkında fikir veren bir metottur. Bu değer 150 ve altında ise alfa-amilaz aktivitesi yüksek olarak değerlendirilmektedir ve bu unlardan elde edilen ekmek yapışkan olmaktadır. 200-250 normal amilaz aktivitesini, 300 ve daha yukarı düşme sayısı düşük amilaz aktivitesini göstermektedir. Bu unlardan ekmek yapıldığında ise hacim düşük ve kabuk kuru olmaktadır (Elgün ve ark., 1998).

Tablo 3.2: Kullanılan buğday ununa ait analitik analiz sonuçları.

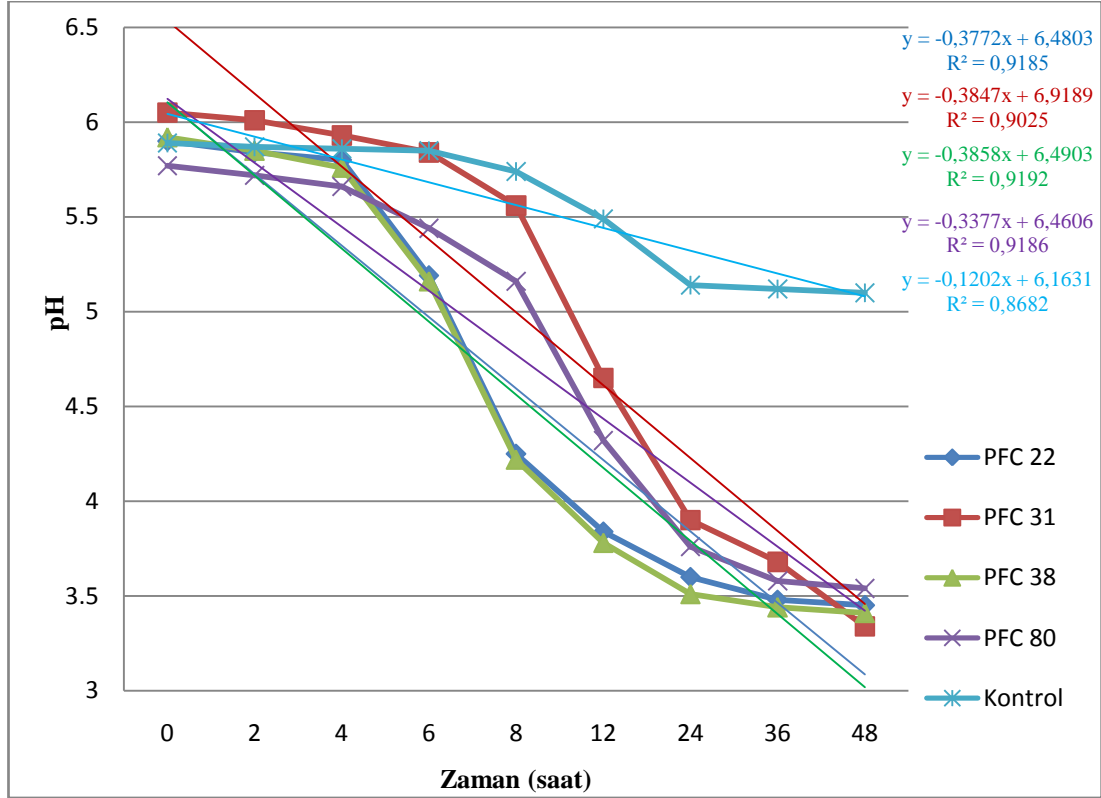
Rutubet (%)	Kül KM'de (%)	Protein KM'de (%)	Yaş Öz Miktarı (%)	Gluten İndeksi (%)	Sedimentasyon Değeri (ml)	Falling Number Değeri (FN)	pH Ölçüm Değeri
12.05 ±0.57	0.51 ±0.01	11.55 ±0.78	31.54 ±0.74	90.56 ±4.05	28 ±2.83	366 ±23.33	5.95 ±0.04

### 3.2 Tekli Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Kimyasal Analiz Sonuçları

Çalışmada kullanılacak tüm laktik asit bakterileri hazırlanan un-su bulamacına tek tek inoküle edilerek kesikli fermantasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bakteri inokülasyonu yapılmadan sadece un ve su ile üretilen tip II ekşi hamur kontrol olarak kullanılmıştır. Hazırlanan tip II ekşi hamurların kimyasal analizleri için pH ve toplam asitlik miktarı belirlenmiştir. Ayrıca örnek alım saatlerinde (0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36 ve 48. saatlerde) kimyasal analiz sonuçlarına, zamana bağlı regresyon analizi yapılmıştır.

Optik yoğunluk değerleri 0.02'ye ayarlanan *Lactobacillus plantarum* PFC22, *Lactobacillus brevis* PFC31, *Pediococcus acidilactici* PFC38, *Lactobacillus sanfranciscensis* PFC80 bakterilerinin ve kontrolün fermentör ortamındaki pH değişimi sonuçları Şekil 3.1'de verilmiştir. pH değerleri başlangıçta sırasıyla PFC22 için 5.90, PFC31 için 6.05, PFC 38 için 5.92 ve PFC80 için ise 5.77 olarak belirlenmiştir. En iyi asit üretimi ise 24. saatte PFC38 bakterisi ile hazırlanan tip II ekşi hamurun 3.51 değerine ulaşması ile sağlanmıştır. Bu durum muhtemelen *Pediococcus acidilactici* PFC38 suşunun homofermantatif olmasından dolayı glukozu metabolize ederek laktik asit oluşturmasından kaynaklanmıştır. En düşük değerleri heterofermantatif olan *Lactobacillus brevis* PFC31 suşu vermiştir. Çünkü glukozu metabolize ederek laktik asidin yanında, etanol, asetik asit ve CO<sub>2</sub> üretimi de gerçekleşmiştir. 24. saatten sonra tüm bakterilerde sabit bir değişim gözlenmiştir. Düşüşün gözlenmediği 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır. Kontrol grubunda ise; pH değeri başlangıçta 5.89 olarak belirlenmiştir. En iyi asit üretimine 24. saatte 5.14 değeri ile ulaşılmış olup daha sonra sabit bir değişim gözlenmiştir.

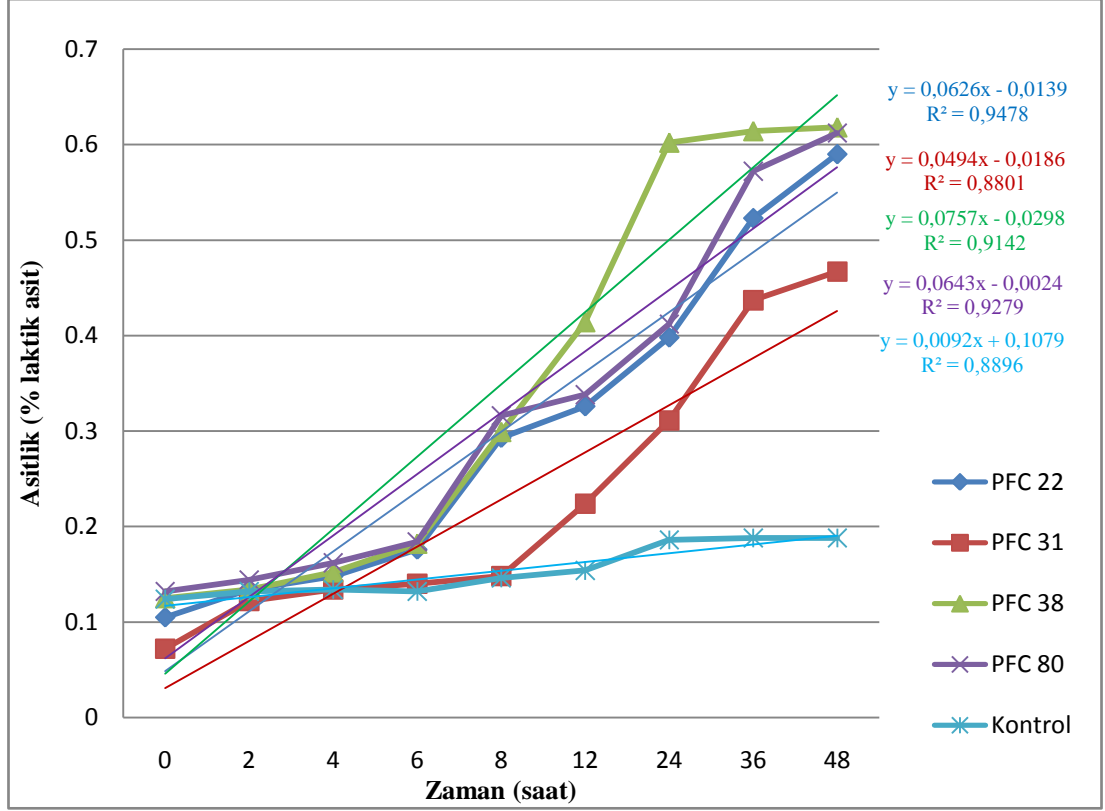




Şekil 3.1: Tekli laktik kültür ile hazırlanan tip II ekşi hamurlarının pH'sının zamana bağlı değişimi. Sonuçlar 2 tekerrürün ortalamasıdır.

Şekil 3.1'de görüldüğü gibi tüm eğrilerin regresyon katsayısı (-0,3772, -0,3847, -0,3858, -0,3377 ve -0,1202) negatif olduğu için, değişkenlerden biri artarken diğeri azalmıştır.

Tekli kültürle hazırlanan tip II ekşi hamur örneklerinin fermentör ortamındaki titrasyon asitliği (% laktik asit) değişimine ait sonuçlar Şekil 3.2'de verilmiştir. Başlangıçta sırasıyla PFC22 için %0.10, PFC31 için %0.07, PFC 38 için %0.12 ve PFC80 için ise %0.13 olarak belirlenmiştir. pH' nın en hızlı düşüşünün gözlemlendiği ilk 24 saatte asitlik de en hızlı artışını gerçekleştirmiştir. En yüksek asitlik değeri 24. saatte PFC38 bakterisi ile hazırlanan tip II ekşi hamurun %0.60 değerine ulaşması ile gerçekleşmiştir. 24. saatten sonra kayda değer asitlik artışı gözlenmemiştir. Kontrol gruplarında ise başlangıçta asitlik %0.12'dir. En hızlı artış oranı 12 ile 24. saat arasında gerçekleşmiştir. En yüksek değere ise 24. saatte %0.18 değeri ile ulaşılmış olup daha sonra sabit bir değişim gözlenmiştir. Değişimin az olduğu 48. saatte fermantasyon işlemi sonlandırılmıştır.



Şekil 3.2: Tekli kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun asitlik (% laktik asit) değerinin zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekerrürün ortalamasıdır.

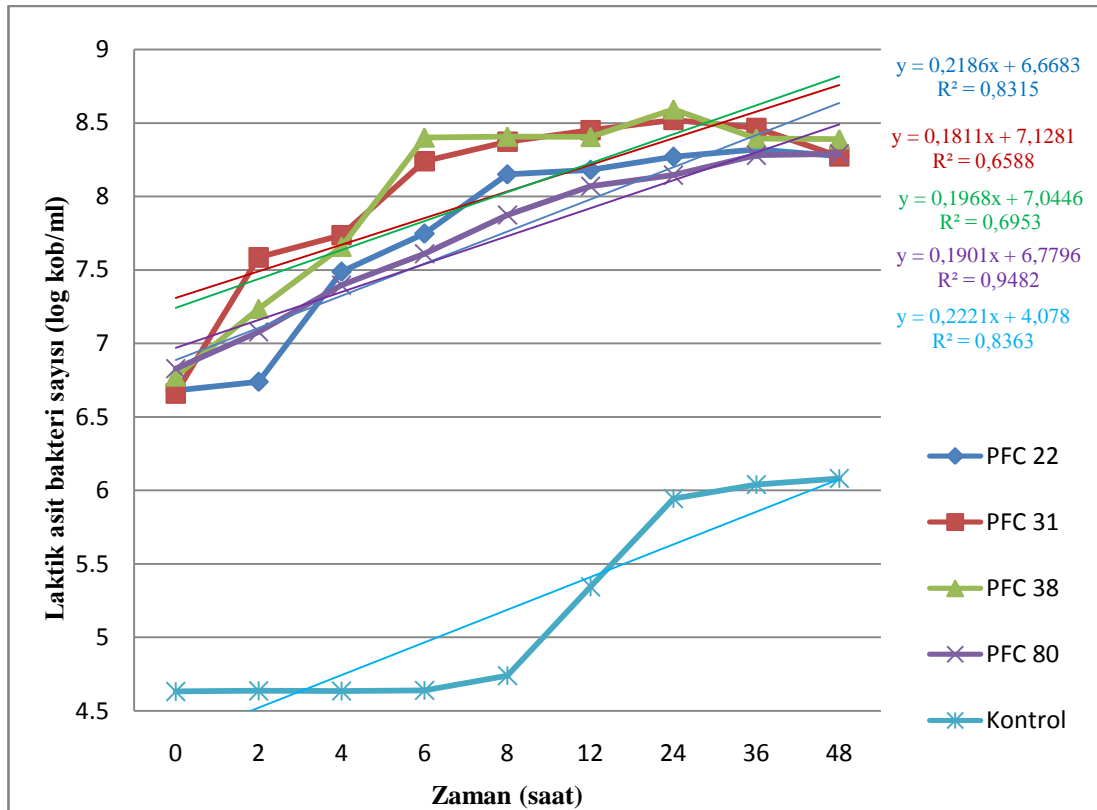
Şekil 3.2’de görüldüğü gibi denklemlerin regresyon katsayıları (0,0626, 0,0494, 0,0757, 0,0643 ve 0,0092) pozitif yönlü olduğu için değişkenlerden biri artarken diğeri de artmıştır.

### 3.3 Tekli Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Mikrobiyolojik Sayım Sonuçları

Fermentöre laktik asit bakterileri tek tek inoküle edilerek hazırlanan tip II ekşi hamurların mikrobiyolojik analizlerinde; laktik asit bakteri sayımı ve maya-küf sayımları yapılmıştır. Kontrol olarak bakteri inokülasyonu yapılmadan sadece un ve su ile hazırlanan tip II ekşi hamur kullanılmıştır. Ayrıca örnek alım saatlerindeki mikrobiyolojik sayım sonuçlarının zamana bağlı değişimi regresyon analizi ile belirlenmiştir.

Optik yoğunluk değerleri 0.02’ye ayarlanan *Lactobacillus plantarum* PFC22, *Lactobacillus brevis* PFC31, *Pediococcus acidilactici* PFC38, *Lactobacillus sanfranciscensis* PFC80 bakterilerinin ve kontrolün fermentör ortamındaki laktik asit bakterileri sayım sonuçları Şekil 3.3’te gösterilmiştir. Laktik asit bakterileri sayım

sonuçları başlangıçta sırasıyla PFC22 için 6.68 log kob/ml, PFC31 için 6.66 log kob/ml, PFC 38 için 6.77 log kob/ml ve PFC80 için 6.82 log kob/ml ve kontrol için 4.63 log kob/ml olarak belirlenmiştir. En yüksek laktik asit bakteri sayısı 24. saatte PFC38 bakterisi ile hazırlanan tip II ekşi hamurunda (8.59 log kob/ml) gerçekleşmiştir. Laktik asit bakterilerinin zamana bağlı olarak sayıca artışı dolayısıyla ürettikleri organik asitler, pH değerinin düşmesi ile de örtüşmektedir. 24. saatten sonra tüm bakterilerde sabit bir değişim gözlenmiştir. Değişimin az olduğu, 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır.

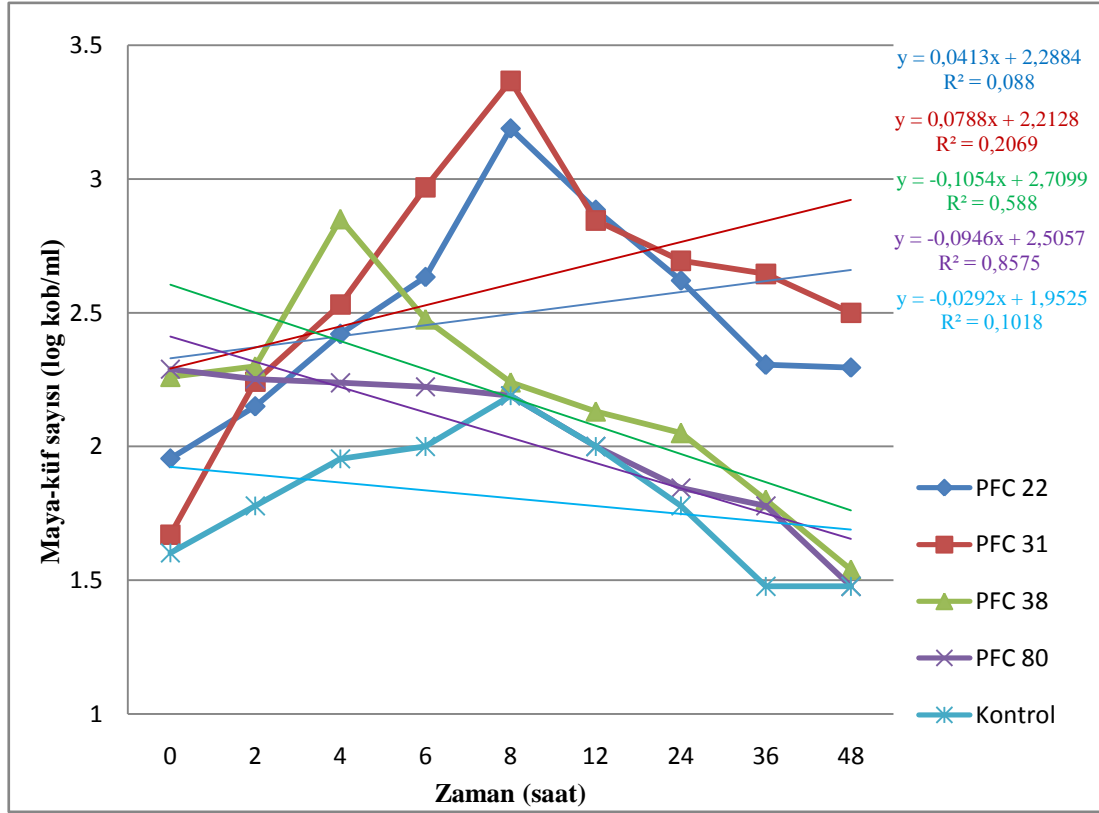


Şekil 3.3: Tekli kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun laktik asit bakteri sayısının zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekerrürün ortalamasıdır.

Şekil 3.3'te görülen eğrilerin regresyon katsayıları (0,2186, 0,1811, 0,1968, 0,1901 ve 0,2221) pozitif yönlü olduğu için zamana bağlı olarak laktik asit bakteri sayısının arttığı görülmektedir.

Tekli kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurlarının fermantasyon sürecindeki maya-küf sayım sonuçları Şekil 3.4'te verilmiştir. Maya-küf sayım sonuçlarına göre; başlangıçta sırasıyla PFC22 için 1.95 log kob/ml, PFC31 için 1.67 log kob/ml, PFC 38 için 2.26 log kob/ml ve PFC80 için ise 2.28 log kob/ml olarak belirlenmiştir. Kontrol hamurunda ise başlangıçta 1.60 log kob/ml olarak tespit edilmiştir. Tüm örneklerin

maya küf sayısında düzensiz bir değişim meydana gelmiştir. 36. saatten sonra ise sabit bir değişim gözlenmiştir. Değişimin az olduğunun gözlemlendiği 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır.



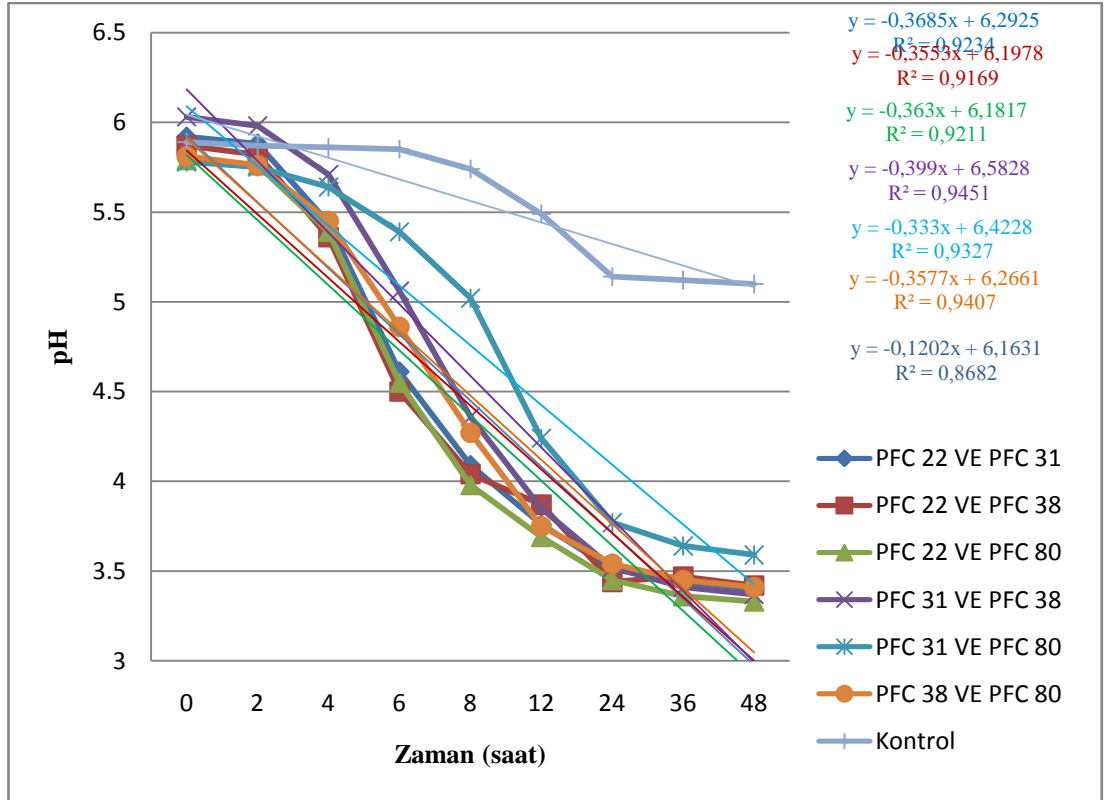
Şekil 3.4: Tekli kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurunun maya-küf sayısının zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekrerrün ortalamasıdır.

Şekil 3.4'te görüldüğü gibi eğrilerin regresyon katsayıları PFC22 ve PFC31 bakterileri ile hazırlanan hamur gruplarında sırasıyla 0,0413 ve 0,0788 gibi pozitif değerler olduğu için zamana bağlı olarak maya-küf sayısının arttığı görülmektedir. Fakat PFC38, PFC80 ve kontrol için durum tam tersi yönde gerçekleşmiştir.

### 3.4 İkili Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Kimyasal Analiz Sonuçları

Çalışmada kullanılan tüm laktik asit bakterileri hazırlanan un-su bulamacına ikili kombinasyonlar halinde inoküle edilerek kesikli fermantasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bakteri inokülasyonu yapılmadan sadece un ve su ile üretilen tip II ekşi hamur kontrol olarak kullanılmıştır. Hazırlanan tip II ekşi hamurların kimyasal analizleri için pH ve toplam asitlik miktarı belirlenmiştir. Ayrıca örnek alım saatlerinde (0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36 ve 48. saatlerde) kimyasal analiz sonuçlarına, zamana bağlı regresyon analizi yapılmıştır.

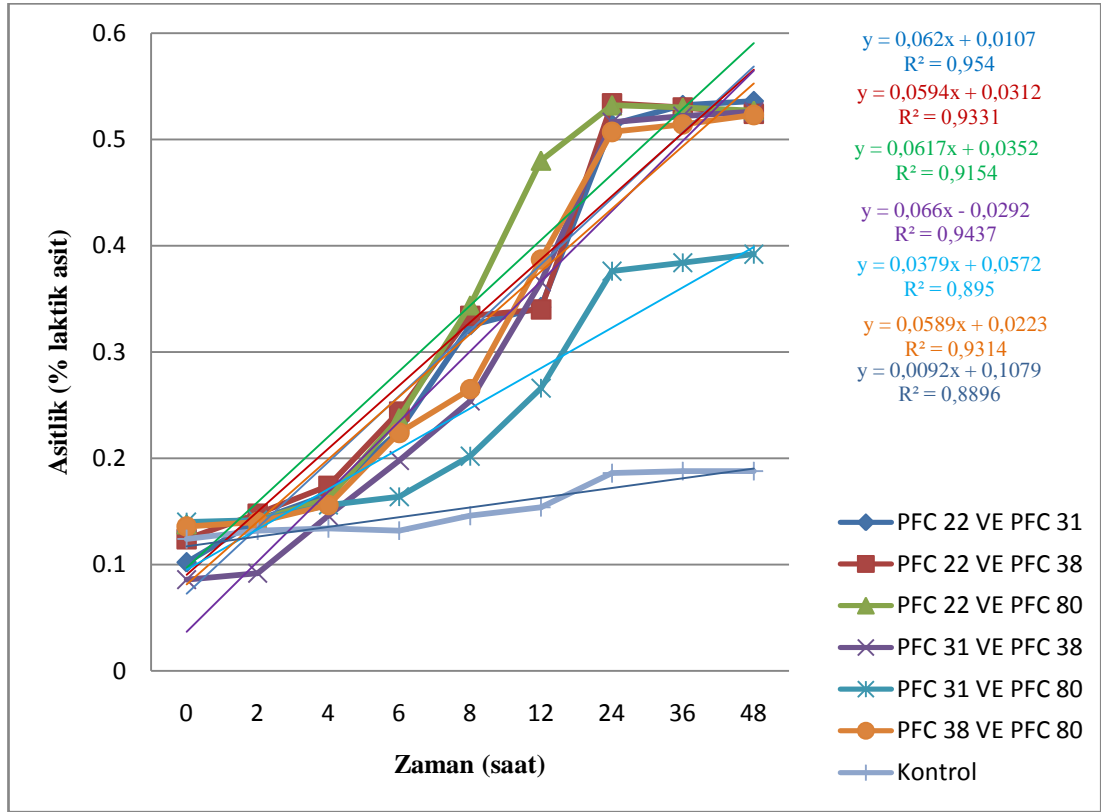
İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamur örneklerinin fermentör ortamındaki pH değişimine ait sonuçlar Şekil 3.5'te verilmiştir. Sonuçlara göre; hamurların pH değerleri başlangıçta sırasıyla PFC22-PFC31 için 5.92, PFC22-PFC38 için 5.87, PFC22-PFC80 için 5.79, PFC31-PFC38 için 6.03, PFC31-PFC80 için 5.78, PFC38-PFC80 için 5.81 ve kontrol için 5.89 olarak belirlenmiştir. En iyi asit üretimi 24. saatte PFC22-PFC38 bakterileri ile hazırlanan tip II ekşi hamurun 3.44 değerine ulaşması ile gerçekleşmiştir. Bu durum muhtemelen *Pediococcus acidilactici* PFC38 ve *Lactobacillus plantarum* PFC22 suşlarının homofermentatif olmasından kaynaklanmıştır. En düşük değerleri heterofermentatif olan *Lactobacillus brevis* PFC31 ile *Lactobacillus sanfranciscensis* PFC80 kombinasyonu vermiştir. Çünkü glukozu metabolize ederek laktik asidin yanında, etanol, asetik asit ve CO<sub>2</sub> üretimi de gerçekleşmiştir. 24. saatten sonra tüm örneklerde sabit bir değişim gözlenmiştir. Düşüşün gözlenmediği 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır.



Şekil 3.5: İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurlarının pH'sının zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekerrürün ortalamasıdır.

Şekil 3.5'de görüldüğü gibi tüm eğrilerin regresyon katsayısı (-0,3685,-0,3553, -0,363, -0,399, -0,333, -0,3577 ve -0,1202) negatif olduğu için değişkenlerden biri artarken diğeri azalmıştır.

İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamur örneklerinin fermentör ortamındaki titrasyon asitliği (%L.A.) değişimine ait sonuçlar Şekil 3.6’da verilmiştir. Hesaplanan değerler başlangıçta sırasıyla PFC22-PFC31 için %0.10, PFC22-PFC38 için %0.12, PFC22-PFC80 için %0.13, PFC31-PFC38 için %0.08, PFC31-PFC80 için %0.14, PFC38-PFC80 için %0.13 ve kontrol için %0.12 olarak belirlenmiştir. pH’nın en hızlı düşüşünün gözlemlendiği ilk 24 saatte asitlik de en hızlı artışını gerçekleştirmiştir. 24. saatte en düşük pH değerini veren PFC22-PFC38 bakterileri ile hazırlanan tip II ekşi hamur ile en yüksek asitlik değeri (%0.54) de elde edilmiştir. 24. saatten sonra tüm örneklerde sabit bir değişim gözlenmiştir. Değişimin az olduğu 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır.



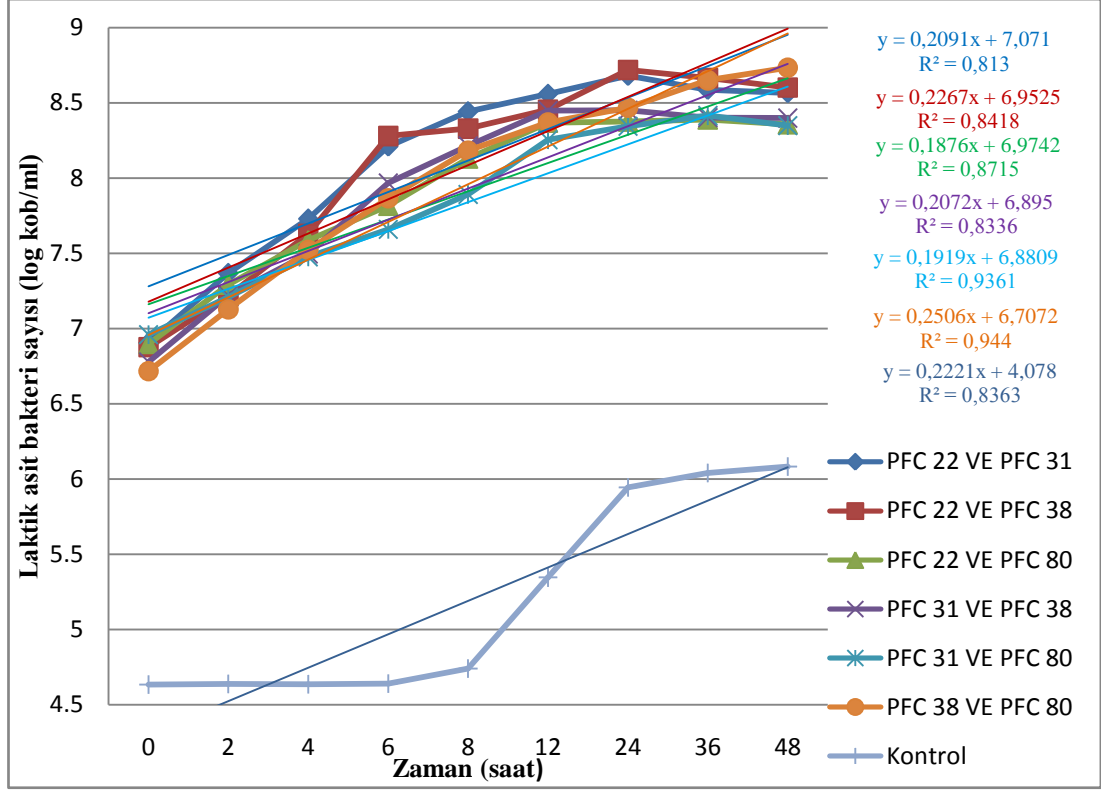
Şekil 3.6: İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun asitlik (% laktik asit) değerinin zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekerrürün ortalamasıdır.

Şekil 3.6’da görüldüğü gibi denklemlerin regresyon katsayıları (0,062, 0,0594, 0,0617, 0,066, 0,0379, 0,0589 ve 0,0092) pozitif yönlü olduğu için değişkenlerden biri artarken diğeri de artmıştır.

### **3.5 İkili Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Mikrobiyolojik Sayım Sonuçları**

Fermentöre laktik asit bakterileri ikili kombinasyonlar halinde inoküle edilerek hazırlanan tip II ekşi hamurların mikrobiyolojik analizlerinde; laktik asit bakteri sayımı ve maya-küf sayımları yapılmıştır. Kontrol olarak bakteri inokülasyonu yapılmadan sadece un ve su ile hazırlanan tip II ekşi hamur kullanılmıştır. Ayrıca örnek alım saatlerindeki mikrobiyolojik sayım sonuçlarının zamana bağlı değişimi regresyon analizi ile belirlenmiştir.

İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurların fermantasyon sürecindeki laktik asit bakterileri sayım sonuçları Şekil 3.7’de verilmiştir. Hesaplanan sonuçlar başlangıçta sırasıyla PFC22-PFC31 için 6.90 log kob/ml, PFC22-PFC38 için 6.87 log kob/ml, PFC22-PFC80 için 6.89 log kob/ml, PFC31-PFC38 için 6.77 log kob/ml, PFC31-PFC80 için 6.96 log kob/ml, PFC38-PFC80 için 6.71 log kob/ml ve kontrol için 4.63 log kob/ml olarak belirlenmiştir. En yüksek laktik asit bakteri sayısı 24. saatte PFC22-PFC38 bakterileri ile hazırlanan tip II ekşi hamurun 8.72 log kob/ml değerine ulaşması ile gerçekleşmiştir. pH değerinde en düşük değeri veren bu kombinasyon laktik asit bakterilerinin ortamda sayıca fazla olmasıyla da örtüşmektedir. 24. saatten sonra tüm örneklerde sabit bir değişim gözlenmiştir. Değişimin az olduğu 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır.

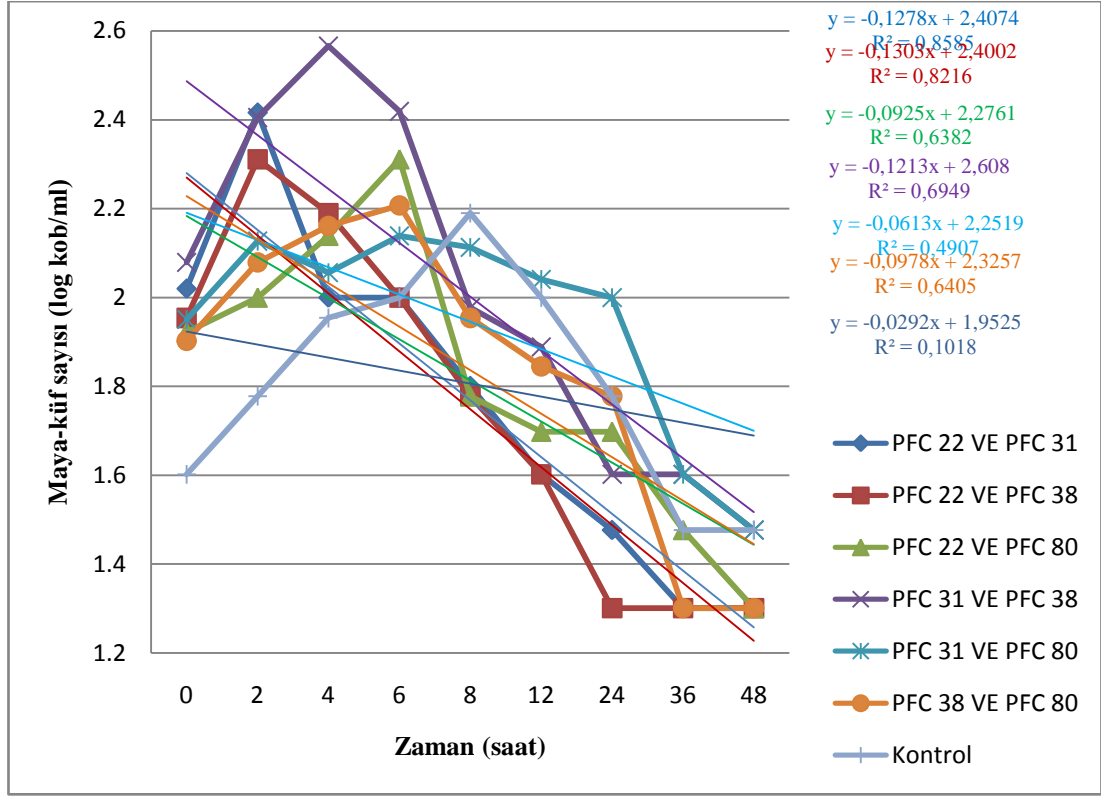


Şekil 3.7: İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun laktik asit bakteri sayısının zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekerrürün ortalamasıdır.

Şekil 3.7’de görülen eğrilerin regresyon katsayıları (0,2091, 0,2267, 0,1876, 0,2072, 0,1919, 0,2506 ve 0,2221) pozitif yönlü olduğu için zamana bağlı olarak laktik asit bakteri sayısının arttığı görülmektedir.

İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurların fermantasyon sürecindeki maya-küf sayım sonuçları Şekil 3.8’de verilmiştir. Maya-küf sayım sonuçlarına göre; başlangıçta sırasıyla PFC22-PFC31 için 2.02 log kob/ml, PFC22-PFC38 için 1.95 log kob/ml, PFC22-PFC80 için 1.92 log kob/ml, PFC31-PFC38 için 2.07 log kob/ml, PFC31-PFC80 için 1.95 log kob/ml ve PFC38-PFC80 için ise 1.90 log kob/ml olarak belirlenmiştir. Kontrol hamurunda ise başlangıçta 1.60 log kob/ml olarak hesaplanmıştır. Tüm grupların maya küf sayısında azalma meydana gelmiştir. Değişimin az olduğunun gözlemlendiği 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır. Zamana bağlı olarak maya-küf sayım sonuçları düzensiz bir şekilde değişim göstermiştir.





Şekil 3.8: İkili kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurunun maya-küf sayısının zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekrerrün ortalamasıdır.

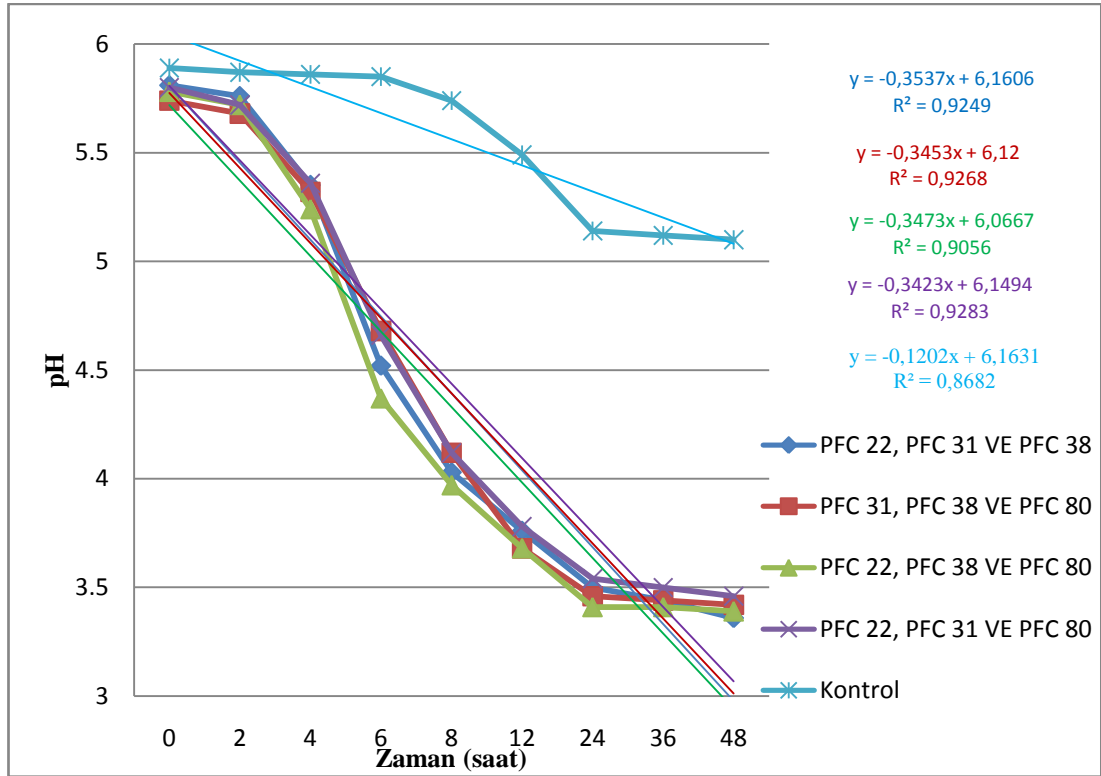
Şekil 3.8’de görüldüğü gibi eğrilerin regresyon katsayıları (-0,1278, -0,1303, -0,0925, -0,1213, -0,0613, -0,0978 ve -0,0292) negatif değerler olduğu için zamana bağlı olarak maya-küf sayısının azaldığı görülmektedir.

### 3.6 Üçlü Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Kimyasal Analiz Sonuçları

Çalışmada kullanılan tüm laktik asit bakterileri hazırlanan un-su bulamacına üçlü kombinasyonlar halinde inoküle edilerek kesikli fermentasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bakteri inokülasyonu yapılmadan sadece un ve su ile üretilen tip II ekşi hamur kontrol olarak kullanılmıştır. Hazırlanan tip II ekşi hamurların kimyasal analizleri için pH ve toplam asitlik miktarı belirlenmiştir. Ayrıca örnek alım saatlerinde (0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36 ve 48. saatlerde) kimyasal analiz sonuçlarına, zamana bağlı regresyon analizi yapılmıştır.

Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamur örneklerinin fermentör ortamındaki pH değişimine ait sonuçlar Şekil 3.9’da verilmiştir. Alınan sonuçlara göre; pH değerleri başlangıçta sırasıyla PFC22-PFC31-PFC38 için 5.81, PFC31-PFC38-PFC80 için 5.74, PFC22-PFC38-PFC80 için 5.78, PFC22-PFC31-PFC80 için 5.80 ve kontrol için

5.89 olarak belirlenmiştir. En iyi asit üretimi 24. saatte PFC22-PFC38-PFC80 bakteri kombinasyonu ile hazırlanan tip II ekşi hamurunun 3.41 değerine ulaşması ile sağlanmıştır. Muhtemelen heterofermentatif olan *Lactobacillus brevis* PFC31 suşu glukozu metabolize ederek laktik asidin yanında, etanol, asetik asit ve CO<sub>2</sub> üretimini de gerçekleştirdiği için en iyi kombinasyon içerisinde yer alamamıştır. 24. saatten sonra tüm örneklerde sabit bir değişim gözlenmiştir. 24. saatten sonra tüm bakterilerde sabit bir değişim gözlenmiştir. Düşüşün gözlenmediği 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır.

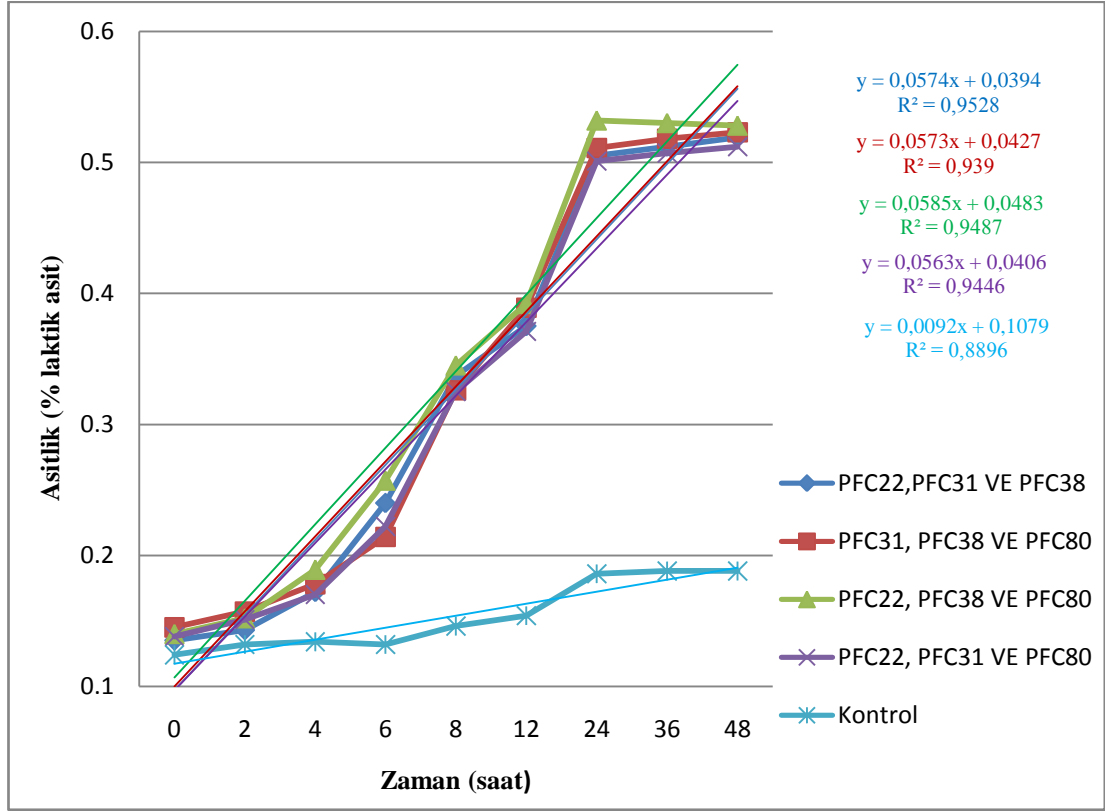


Şekil 3.9: Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurlarının pH'sının zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekerrürün ortalamasıdır.

Şekil 3.9'da görüldüğü gibi tüm eğrilerin regresyon katsayısı (-0,3537,-0,3453, -0,3473, -0,3423 ve -0,1202) negatif olduğu için değişkenlerden biri artarken diğeri azalmıştır.

Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamur örneklerinin fermentör ortamındaki titrasyon asitliği (%L.A.) değişimine ait sonuçlar Şekil 3.10'da verilmiştir. Hesaplanan değerler başlangıçta sırasıyla PFC22-PFC31-PFC38 için %0.13, PFC31-PFC38-PFC80 için %0.14, PFC22-PFC38-PFC80 için %0.14, PFC22-PFC31-PFC80 için %0.13 ve kontrol için %0.12 olarak belirlenmiştir. pH'ın en hızlı düşüşünün gözlemlendiği ilk 24 saatte asitlik de en hızlı artışını gerçekleştirmiştir. En yüksek asitlik

değeri 24. saatte PFC22-PFC38-PFC80 bakterileri ile hazırlanan tip II ekşi hamurun %0.53 değerine ulaşması ile sağlanmıştır. 24. saatten sonra sabit bir değişim gözlenmiştir. Değişimin az olduğu 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır.



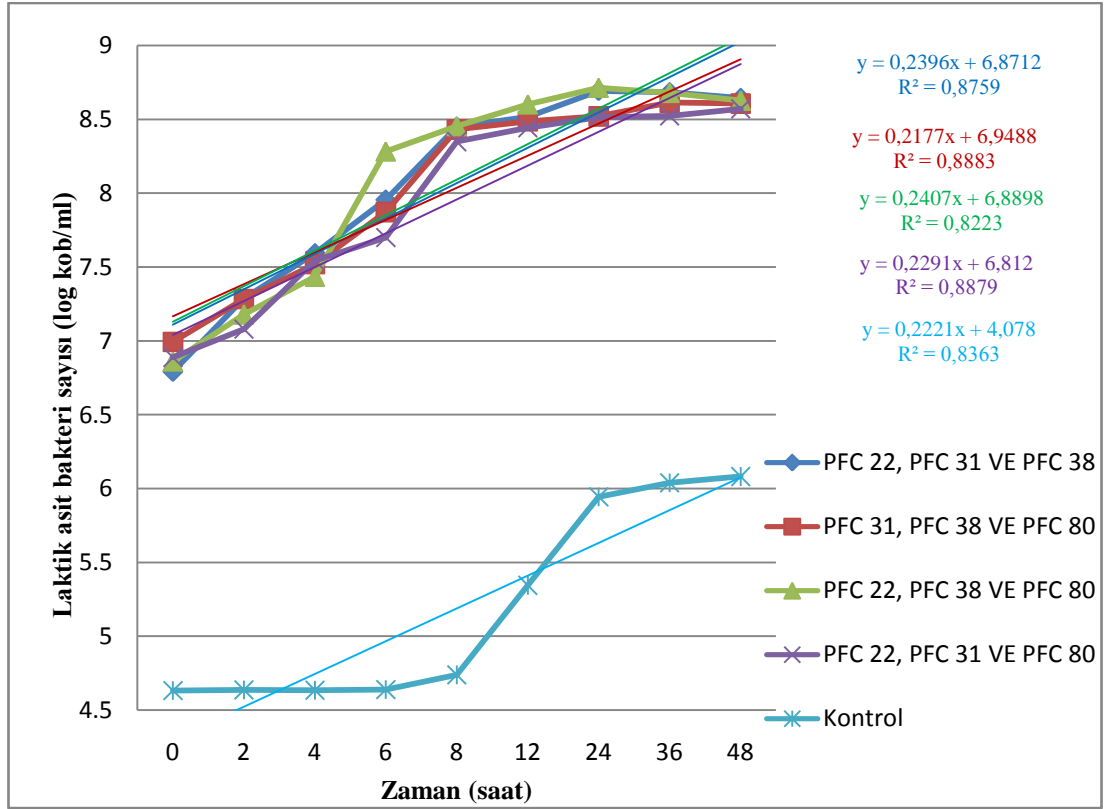
Şekil 3.10: Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun asitlik (% laktik asit) değerinin zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekerrürün ortalamasıdır.

Şekil 3.10'da görüldüğü gibi denklemlerin regresyon katsayıları (0,0574, 0,0573, 0,0585, 0,0563 ve 0,0092) pozitif yönlü olduğu için değişkenlerden biri artarken diğeri de artmıştır.

### 3.7 Üçlü Kültürle Hazırlanan Tip II Ekşi Hamurun Mikrobiyolojik Sayım Sonuçları

Fermentöre laktik asit bakterileri üçlü kombinasyonlar halinde inoküle edilerek hazırlanan tip II ekşi hamurların mikrobiyolojik analizlerinde; laktik asit bakteri sayımı ve maya-küf sayımları yapılmıştır. Kontrol olarak bakteri inokülasyonu yapılmadan sadece un ve su ile hazırlanan tip II ekşi hamur kullanılmıştır. Ayrıca örnek alım saatlerindeki mikrobiyolojik sayım sonuçlarının zamana bağlı değişimi regresyon analizi ile belirlenmiştir.

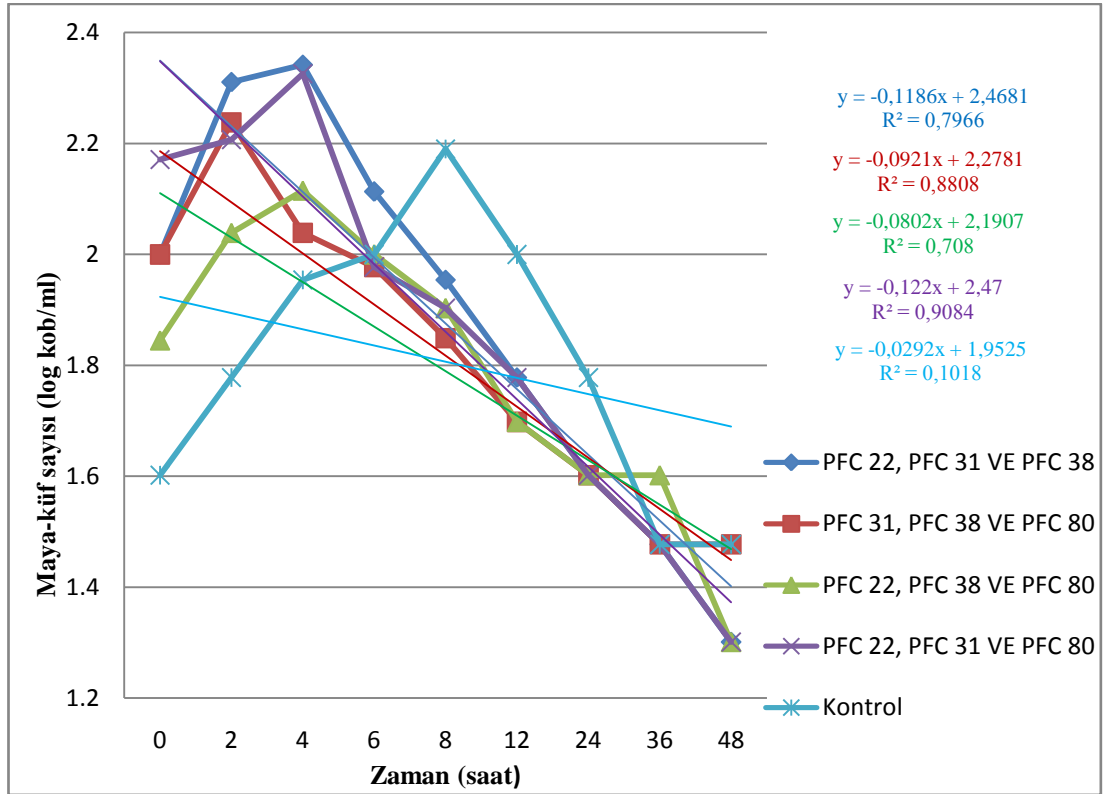
Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurların fermantasyon sürecindeki laktik asit bakterileri sayım sonuçları Şekil 3.11’de verilmiştir. Hesaplanan sonuçlar başlangıçta sırasıyla PFC22-PFC31-PFC38 için 6.79 log kob/ml, PFC31-PFC38-PFC80 için 6.99 log kob/ml, PFC22-PFC38-PFC80 için 6.86 log kob/ml, PFC22-PFC31-PFC80 için 6.88 log kob/ml ve kontrol için 4.63 log kob/ml olarak belirlenmiştir. pH’nın en hızlı düşüşünün gözlemlendiği 24. saatte LAB sayısındaki artış da en yüksek oranda gerçekleşmiştir. Bu durum laktik asit bakterilerinin sayıca artması sonucu muhtemelen glukozun metabolize olmasıyla oluşan laktik asitin pH değerini düşürmesi olarak düşünülmektedir. En yüksek LAB sayısı 24. saatte PFC22-PFC38-PFC80 bakterileri ile hazırlanan tip II ekşi hamurun 8.71 log kob/ml değerine ulaşması ile sağlanmıştır. 24. saatten sonra tüm bakterilerde sabit bir değişim gözlenmiştir. Değişimin az olduğunun gözlemlendiği 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır.



Şekil 3.11: Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun laktik asit bakteri sayısının zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekerrürün ortalamasıdır.

Şekil 3.11’de görülen eğrilerin regresyon katsayıları (0,2396, 0,2177, 0,2407, 0,2291 ve 0,2221) pozitif yönlü olduğu için zamana bağlı olarak laktik asit bakteri sayısının arttığı görülmektedir.

Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurların fermantasyon sürecindeki maya-küf sayım sonuçları Şekil 3.12’de verilmiştir. Maya-küf sayım sonuçlarına göre; başlangıçta sırasıyla PFC22-PFC31-PFC38 için 2.00 log kob/ml, PFC31-PFC38-PFC80 için 2.00 log kob/ml, PFC22-PFC38-PFC80 için 1.84 log kob/ml, PFC22-PFC31-PFC80 için 2.17 log kob/ml ve kontrol için 1.60 log kob/ml olarak belirlenmiştir. Değişimin az olduğunun gözlemlendiği 48. saatte fermantasyon sonlandırılmıştır. Zamana bağlı olarak maya-küf sayım sonuçları düzensiz bir şekilde azalış göstermiştir.



Şekil 3.12: Üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurunun maya-küf sayısının zamana bağlı değişimi. Tüm değerler 2 tekerrürün ortalamasıdır.

Şekil 3.12’de görüldüğü gibi eğrilerin regresyon katsayıları (-0,1186, -0,0921, -0,0802, -0,122 ve -0,0292) negatif değerler olduğu için zamana bağlı olarak maya-küf sayısının azaldığı görülmektedir.

Ravys ve Vuyst’un 2011 yılında yaptıkları çalışmada, tip II ekşi hamurlara farklı laktik asit bakterileri inoküle edilerek kesikli fermantasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Laktik asit bakterileri sayım sonuçları istenilen değerlere ulaşılan 24. saatin sonunda 8.1 ile 9.2 log kob/ml, maya sayımı sonuçları 2.3 ile 4.1 log kob/ml, pH değerleri 3.42 ile 3.88, toplam titre edilebilir asitlik derecesi ise 5.45 ile 8.20 aralığında ölçülmüştür.

### 3.8 Ekmek Hamurunun Hazırlanmasında Kullanılan Laktik Suş ve Kombinasyonların Seçimi

Ekmek üretiminde ekşi hamur kullanımını kısıtlayan önemli hususlardan birisi laktik suşların yavaş asit üretimi veya metabolik faaliyetidir. Bu olumsuz durum dikkate alınarak çalışmada kullanılan laktik suşların pH'daki hızlı düşüşü ve asitlik değerindeki hızlı artışı gibi parametrelere göre seçim yapılmıştır. Buna göre bir önceki bölümde yapılan analizlerin sonuçları karşılaştırılarak deneme deseni gereğince kullanılan laktik asit bakterilerinin tip II ekşi hamurların pH'sındaki düşüş, asitlik miktarındaki artış ve laktik asit bakteri sayıları esas alınmıştır. Çalışmada asitlik ve laktik asit bakteri sayımları için 24. saatteki değerler ve diğer taraftan laktik bakterilerin hamurun pH'sını 4'e düşürdükleri zaman aralığı yine karşılaştırmada temel parametreler olarak kullanılmıştır. Hamur örneklerine ait bu değerler Tablo 3.3'te gösterilmiştir. Bu sonuçlar ışığında tekli kültür için *Pediococcus acidilactici* PFC38, ikili kültür için *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38 ve üçlü kültür için *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38+*Lactobacillus sanfranciscensis* PFC80 grupları seçilmiştir.

Tablo 3.3: Laktik asit bakteri kombinasyonlarının seçiminde kullanılan kriterler.

Tip II ekşi hamur örnekleri	t <sub>pH</sub> (dk) <sup>a</sup>	Titrasyon asitliği (%L.A.) <sup>b</sup>	LAB sayısı (log kob/ml) <sup>c</sup>
Kontrol	Düşmemiştir.	0.19	5.94
PFC22	562	0.39	8.27
PFC31	688	0.31	8.52
PFC38	543	0.60	8.59
PFC80	652	0.41	8.14
PFC22+31	594	0.51	8.68
PFC22+38	491	0.54	8.72
PFC22+80	514	0.53	8.37
PFC31+38	651	0.52	8.45
PFC31+80	663	0.38	8.34
PFC38+80	560	0.50	8.46
PFC22+31+38	536	0.50	8.69
PFC31+38+80	525	0.51	8.52
PFC22+38+80	491	0.53	8.71
PFC22+31+80	547	0.50	8.51

PFC22: *Lactobacillus plantarum*, PFC31: *Lactobacillus brevis*, PFC38: *Pediococcus acidilactici*, PFC80: *Lactobacillus sanfranciscensis*.

<sup>a</sup>: Tip II ekşi hamurların pH değerinin 4'e ulaşması için gereken dakika cinsinden zaman.

<sup>b</sup>: Tip II ekşi hamurların 24. saatteki titrasyon asitliği (%L.A.) değerleri.

<sup>c</sup>: Tip II ekşi hamurların 24. saatteki laktik asit bakterileri sayım sonuçları.

### 3.9 Ekmek Hamurlarının pH ve Asitlik Değerlerindeki Değişim

Çalışmada seçilen kombinasyonlar (*Pediococcus acidilactici* PFC38, *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38 ve *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38+*Lactobacillus sanfranciscensis* PFC 80) kullanılarak hazırlanan tip II ekşi hamurlar ile ekmek hamurları elde edilmiştir. Hamurlarda asitliğin artmasına bağlı olarak meydana gelen değişimlerin belirlenmesi amacıyla yoğurma sonrası ve son fermantasyon sonrası pH değerleri ölçülmüş ve asitlik miktarı tespit edilmiştir. Belirlenen tüm bu sonuçlar Tablo 3.4'te verilmiştir.

Yoğurma sonrası ölçülen pH değerleri 4.90 ile 5.73 arasında; asitlik değerleri ise %0.32 ile %0.47 arasında değişim göstermiştir. Yoğurma sonrası ölçülen pH değerleri Hamur I ile Hamur III haricindeki diğer tüm örnekler de istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Yoğurma sonrası asitlik değerlerinde laktik suşların kullanıldığı hamur örnekleri ile kontrol grupları arasında asitlik düzeyleri bakımından istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Bunun temel nedeni bu gruplarda kullanılan laktik suşların fermantasyon sürecinde laktik asit ve asetik asit gibi organik asitleri üretmelerinden kaynaklanmıştır.

Fermantasyon sonrası pH değerlerinin 4.71 ile 5.50 arasında ve asitlik değerlerinin de %0.33-%0.50 arasında değiştiği gözlenmiştir. Fermantasyon sonrası ölçülen pH değerleri Hamur I ile Hamur III ve Hamur II ile Hamur III haricindeki diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan farklı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Hamur I ve II gruplarının farklılığı muhtemelen heterofermentatif suş olan *L. sanfranciscensis*'in kullanılmasından ileri gelmektedir. Fermantasyon sonrası asitliğinin ise laktik suşların kullanıldığı hamur örnekleri ile kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan farklı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ).

Hem yoğurma, hem de fermantasyondan sonra laktik asit bakterilerini içeren tip II ekşi hamur kullanılan ekmek hamurlarının pH'sı hızlı düşmüş ve titrasyon asitliği değerleri ise artmıştır.

Hamur verimi değerlerine göre sadece Hamur I ile diğer örnekler arasında istatistiksel açıdan fark bulunmuştur ( $p<0.011$ ). Uygun hamur verimi ortalama %160-162 olarak kabul edilmektedir. Su kaldırma nispeti hamur verimini etkilemektedir (Elgün ve ark., 2002).

Tablo 3.4: Hazırlanan ekme  hamurlarının yoğurma ve fermantasyon sonrası pH, asitlik ve hamur verimi değerlerinin ortalama sonuçları.

Hamur �rnekleri*	Hamur verimi (%)	Yoğurma sonrası pH	Yoğurma sonrası hamurun Asitliği (%L.A)	Fermantasyon sonrası pH	Fermantasyon sonrası hamurun asitliği (%L.A)
Kontrol I	162.62±0.17 <sup>a</sup>	5.73±0.01 <sup>a</sup>	0.32±0.01 <sup>a</sup>	5.50±0.02 <sup>a</sup>	0.33±0.01 <sup>a</sup>
Kontrol II	161.87±0.17 <sup>a</sup>	5.59±0.01 <sup>b</sup>	0.32±0.01 <sup>a</sup>	5.39±0.02 <sup>b</sup>	0.35±0.01 <sup>a</sup>
Hamur I	160.62±0.17 <sup>ab</sup>	5.00±0.02 <sup>c</sup>	0.46±0.01 <sup>bc</sup>	4.80±0.01 <sup>c</sup>	0.49±0.01 <sup>bc</sup>
Hamur II	162.00±1.06 <sup>a</sup>	4.90±0.02 <sup>d</sup>	0.47±0.01 <sup>bd</sup>	4.71±0.01 <sup>dc</sup>	0.50±0.01 <sup>bd</sup>
Hamur III	162.62±0.88 <sup>a</sup>	4.97±0.01 <sup>c</sup>	0.46±0.01 <sup>cd</sup>	4.74±0.01 <sup>ce</sup>	0.50±0.01 <sup>cd</sup>

Parametrelerde aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.

\*: Kontrol I: Ekşi hamur içermeyen hamur, Kontrol II: Bakteri inokulasyonu yapılmadan üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur I: *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur II: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur III: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38-*L. sanfranciscensis* PFC80 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur.



Ekşi hamurda meydana gelen asit değişiminin ana faktörü fermente olabilir şekerlerdir. Ekşi hamurda başlangıç aşamasında gözlenen pH genel olarak 4.7-5.8 arasında değişmekte iken fermantasyon süreleri boyunca alkol ve laktik asit fermantasyonları ile bu değerin 3.6-3.8'lere kadar düştüğü belirtilmektedir (Katina, 2005).

Akgün (2007), ekşi hamur tozunun un yerine hamura ikame edilmesi ile elde edilen pH değerlerinin yoğurma sonrası 5.39-5.84 arasında değiştigi; son fermantasyon sonrası pH değişiminin 4.65-5.55 arasında değiştigini belirlemiştir. İkame oranı arttıkça pH değerlerinde azalma olduğu saptanmıştır.

### **3.10 Ekmek Hamurlarının Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları**

Hazırlanan ekmek hamurlarının mikrobiyal yükünü belirlemek amacıyla yoğurma ve fermantasyon sonrası maya-küf ve laktik asit bakteri sayımları yapılmış, bulunan sonuçlar Tablo 3.5'te gösterilmiştir.

Yoğurma sonrası ekmek hamurunun maya-küf sayısı 8.02-8.42 log kob/g; laktik asit bakteri sayısı 6.19-9.03 log kob/g aralığında bulunmuştur. Fermantasyon sonrası hamurların maya-küf sayısı 8.18-8.35 log kob/g; laktik asit bakteri sayısı ise 6.24-8.43 log kob/g aralığında tespit edilmiştir. Yoğurma sonrası en yüksek maya-küf sayısı Hamur III'te, fermantasyon sonrasında ise Hamur II'de tespit edilmiştir. Laktik asit bakterileri sayısında ise en yüksek değerler her iki aşama sonrasında da Hamur III'te gözlenmiştir.

Fermantasyon sonrasında sadece Hamur III'te maya-küf ve laktik asit bakteri sayısında azalma gözlenmiştir. Bu duruma göre; ortama ilave edilen (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum* PFC22, *Pediococcus acidilactici* PFC38 ve *Lactobacillus sanfranciscensis* PFC 80) mikroorganizmaların arasında yarışmalı bir ortam oluştuğunu böylelikle mikroorganizmaların gelişiminin azaldığı sonucuna varılabilmektedir.

Yoğurma sonrası tüm hamurların maya-küf sayısında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır (p=0.427). Yoğurma sonrası laktik asit bakteri sayısında ise tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur (p<0.001). Üretilen tip II

ekşi hamurlara inoküle edilen laktik asit bakteri sayısı arttıkça hamurların yoğurma ve fermantasyon sonrası laktik asit bakteri sayısı artmıştır.

Fermantasyon sonrası tüm hamurların maya-küf sayısında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır ( $p=0.625$ ). Fermantasyon sonrası laktik asit bakteri sayısında ise Hamur II ile Hamur III haricinde tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ).

Tablo 3.5: Hazırlanan ekmek hamurlarının yoğurma ve fermantasyon sonrası mikrobiyolojik analiz değerlerinin ortalama sonuçları.

Hamur örnekleri*	Yoğurma sonrası		Fermantasyon sonrası	
	Maya-küf (log kob/g)	Laktik asit bakterisi (log kob/g)	Maya-küf (log kob/g)	Laktik asit bakterisi (log kob/g)
Kontrol I	8.02±0.01 <sup>a</sup>	6.19±0.02 <sup>a</sup>	8.33±0.03 <sup>a</sup>	6.24±0.01 <sup>a</sup>
Kontrol II	8.14±0.01 <sup>a</sup>	6.73±0.01 <sup>b</sup>	8.27±0.05 <sup>a</sup>	6.99±0.01 <sup>b</sup>
Hamur I	8.02±0.09 <sup>a</sup>	7.95±0.02 <sup>c</sup>	8.28±0.09 <sup>a</sup>	8.07±0.11 <sup>c</sup>
Hamur II	8.26±0.26 <sup>a</sup>	8.30±0.04 <sup>d</sup>	8.35±0.15 <sup>a</sup>	8.41±0.06 <sup>d</sup>
Hamur III	8.42±0.41 <sup>a</sup>	9.03±0.07 <sup>e</sup>	8.18±0.15 <sup>a</sup>	8.43±0.08 <sup>d</sup>

Parametrelerde aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

\*: Kontrol I: Ekşi hamur içermeyen hamur, Kontrol II: Bakteri inokülasyonu yapılmadan üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur I: *P. acidilactici* PFC38suşu kullanılarak üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur II: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur III: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38-*L. sanfranciscensis* PFC80 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur.

Laboratuvarda hazırlanan ve evlerden temin edilen ekşi hamur örneklerindeki sayılabilen mikrofloranın çoğunluğunu laktik asit bakterilerinin meydana getirdiği saptanmıştır. 12 saat sürdürülen hamur fermantasyonunun sonlarına doğru ekşi hamurdaki bakteri sayısının  $4.7 \times 10^7$ - $7.56 \times 10^8$  kob/g arasında değiştiği görülmüştür. Ayrıca belirtilen hamur örneklerinde  $1.5 \times 10^6$ - $2.23 \times 10^8$  kob/g maya hücresi tespit edilmiştir (Dığrak ve Özçelik, 1991).

### 3.11 Ekmek Hamurlarının Reolojik Analiz Sonuçları

#### 3.11.1 Un testi denemeleri

Seçilen üç bakteri kombinasyonu (*Pediococcus acidilactici* PFC38, *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38 ve *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38+*Lactobacillus sanfranciscensis* PFC 80) inoküle edilerek ve bakteri inokülasyonu yapılmadan sadece un ve su ile hazırlanan karışımlar 24 saatlik kesikli fermantasyon işlemine tabi tutulmuştur. 24. saatin

sonunda aseptik koşullarda fermentörden alınan tip II ekşi hamurların ayrı ayrı ilave edilmesiyle hazırlanan hamurların un testi analizleri yapılmıştır. Un testi analizleri sonucu bulunan değerlerin ortalamaları Tablo 3.6'da verilmiştir.

Un testi analiz sonuçlarında kontrol grupları ile diğer hamur örnekleri su absorpsiyonu açısından istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Ayrıca Kontrol II ile Hamur II, Kontrol II ile Hamur III ve Hamur I ile Hamur III arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). Tip II ekşi hamur örneklerinin yarı-sıvı olması hamurların su absorpsiyon değerlerini düşürmüştür.

Gelişme süresi açısından sonuçlar incelendiğinde; Kontrol I ile hamur örnekleri arasında istatistiki açıdan fark bulunmuştur. Fakat, Kontrol I haricinde diğer tüm kombinasyonlar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ( $p < 0.001$ ). Gelişme süresinin uzunluğu yoğurma süresinin uzunluğuna, öz miktar ve kalitesinin yüksekliğine işaret etmektedir. Genellikle unun, uzun gelişme süresine sahip olması iyi bir pişme performansına sahip olduğunu göstermektedir (Elgün ve ark., 1998; Topdemir, 2004). Gelişme süresi açısından hamur örneklerini irdelediğimizde en yüksek değerde (2.31 dk) Kontrol I olurken en düşük değerde (1.34 dk) ise Hamur III örneği olmuştur.

Hamurun stabilitesi bakımından, Kontrol I ile hamur örnekleri arasında istatistiki açıdan fark bulunmuştur. İstatistiksel olarak farkın bulunmadığı kombinasyonlar; Kontrol II ile Hamur II ve Hamur II ile Hamur III arasında tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ). Kısa stabilitesi olan hamurlar daima yoğurmaya karşı daha hassas olurken, uzun stabiliteye sahip hamurlar yoğurmaya daha toleranslı olarak değerlendirilmektedir (Topdemir, 2004). Hamurun stabilitesi açısından en yüksek değerde (9.26 dk) Kontrol I olurken en düşük değerde (7.35 dk) ise Hamur III örneği olmuştur.

Yoğurma toleransı açısından Hamur I ile Hamur II haricinde diğer tüm kombinasyonlar arasında istatistiki açıdan fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Yoğurma tolerans değeri az olan unların teknolojik değeri ve ekmekçilik kalitesi yüksek olarak kabul edilmektedir. Kontrol grupları haricinde *P. acidilactici* PFC38 suşu ile üretilen tip II ekşi hamuru içeren hamur, en düşük yoğurma tolerans değerine sahip bulunmuştur.

10 dk yumuşama derecesi değerlerine göre, Kontrol II ile Hamur I ve Hamur I ile Hamur II haricindeki diğer tüm kombinasyonlar arasında istatistiki açıdan fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ). 12 dk yumuşama derecesi değerlerine göre ise Kontrol II ile Hamur III, Hamur I ile Hamur II, Hamur I ile Hamur III ve Hamur II ile Hamur III arası haricinde diğer tüm kombinasyonlar arasında istatistiki açıdan fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Yumuşama derecesinin düşük olması, hamurun işlemeye uygun olduğunu ve fermantasyon toleransının yüksek olduğunu göstermektedir (Elgün ve ark., 1998). Hamurların yumuşama dereceleri, üretilen tip II ekşi hamurlarda laktik asit bakteri sayısı arttıkça artış göstermiş bu da hamurun işlenmesini zorlaştırmıştır. Bu değerlendirmeye göre kontrol grupları haricinde kıyaslırsak en iyi sonuçları tekli kültürle üretilen tip II ekşi hamuru içeren hamur örneği vermiştir.

Bu sonuçlar ışığında PFC38 bakterisinin ilavesi özellikle PFC22+PFC38+PFC80 bakteri kombinasyonları ilavesine kıyasla hamur stabilitesini artırmış ve yoğurma toleransı değerini düşürmüştür. Bu durum PFC38 suşu ilavesinin hamurun işlemeye daha elverişli ve fermantasyon toleransının daha yüksek olduğunu göstermektedir.

Tablo 3.6: Hazırlanan ekmek hamurlarının un testi analizleri ortalama değerlerinin sonuçları.

Hamur örnekleri *	Su absorpsiyonu (%)	Gelişme süresi (dk)	Hamur Stabilite (dk)	Yoğurma Tolerans Değeri (FU)	Yumuşama Derecesi (10dk) (FU)	Yumuşama Derecesi (12 dk) (FU)
Kontrol I	62.52±1.27 <sup>a</sup>	2.31±0.15 <sup>a</sup>	9.26±0.28 <sup>a</sup>	42.60±2.12 <sup>a</sup>	56.00±2.83 <sup>a</sup>	99.00±4.24 <sup>a</sup>
Kontrol II	40.49±0.21 <sup>bf</sup>	1.50±0.02 <sup>bf</sup>	8.49±0.04 <sup>bf</sup>	63.00±2.12 <sup>b</sup>	71.00±1.41 <sup>b</sup>	129.50±0.71 <sup>b</sup>
Hamur I	41.39±0.07 <sup>cfg</sup>	1.43±0.01 <sup>cf</sup>	7.43±0.02 <sup>c</sup>	75.40±0.28 <sup>cf</sup>	77.00±1.41 <sup>bc</sup>	117.00±1.41 <sup>cd</sup>
Hamur II	43.17±0.72 <sup>dgh</sup>	1.49±0.01 <sup>df</sup>	8.21±0.04 <sup>dfg</sup>	78.80±0.56 <sup>df</sup>	83.00±1.41 <sup>c</sup>	118.50±2.12 <sup>ce</sup>
Hamur III	45.32±0.14 <sup>eh</sup>	1.34±0.02 <sup>ef</sup>	7.35±0.04 <sup>eg</sup>	95.60±1.41 <sup>e</sup>	104.35±2.33 <sup>d</sup>	125.00±1.41 <sup>bde</sup>

Parametrelerde aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

\*: Kontrol I: Ekşi hamur içermeyen hamur, Kontrol II: Bakteri inokülasyonu yapılmadan üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur I: *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur II: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur III: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38-*L. sanfranciscensis* PFC80 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur.

### 3.11.2 Hamur testi denemeleri

Seçilen üç bakteri kombinasyonu (*Pediococcus acidilactici* PFC38, *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38 ve *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38+*Lactobacillus sanfranciscensis* PFC 80) inoküle edilerek ve bakteri inokülasyonu yapılmadan sadece un ve su ile hazırlanan tip II ekşi hamurlar 24 saatlik kesikli fermentasyon işlemine tabi tutulmuştur. 24. saatin sonunda aseptik koşullarda fermentörden alınan tip II ekşi hamurların ayrı ayrı ilave edilmesiyle hazırlanan hamurların hamur testi analizleri yapılmıştır. Hamur testi analizleri ortalama değerlerinin sonuçları Tablo 3.7’de verilmiştir.

Hamur testi denemeleri ile elde edilen ortalamaların istatistiksel olarak incelenmesi sonucunda hamur mukavemeti değerinin 90. dakikada Hamur I ile Hamur II haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan farkın önemli olduğu sonucuna varılmıştır ( $p<0.001$ ). 135. dakikada ise hamur mukavemeti değerinin laktik suşların kullanıldığı hamur örnekleri ile kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan farklı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Üretilen tip II ekşi hamurlardaki laktik asit bakteri sayısı arttıkça hamur mukavemeti değerinin düştüğü gözlenmiştir. Hamur mukavemeti değeri, bakteri inokülasyonu yapılarak üretilen tip II ekşi hamur örnekleri ile hazırlanan hamurlara kıyasla *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen tip II ekşi hamuru içeren hamurda en yüksek sonucu vermiştir.

Uzayabilirlik açısından sonuçlar incelendiğinde; 90. dakikada Kontrol I ile Kontrol II, Kontrol II ile Hamur I, Kontrol II ile Hamur II ve Hamur I ile Hamur II haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan farkın önemli olduğu sonucuna varılmıştır ( $p<0.001$ ). 135. dakikada ise Hamur I ile Hamur II, Hamur I ile Hamur III ve Hamur II ile Hamur III arası haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan farklı olduğu sonucuna varılmıştır ( $p<0.001$ ). Uzayabilirlik açısından Kontrol I (tip II ekşi hamur içermeyen hamur) en yüksek değerleri vermiştir. Bu da tip II ekşi hamur örneklerinin asitlik değerlerinin kontrole göre yüksek olmasından dolayı, hamuru toparlayıcı etki yapmasıyla açıklanabilmektedir.

Maksimum direnç açısından hamur testi analiz sonuçlarına bakıldığında; 90. dakikada Kontrol I ile Kontrol II, Kontrol I ile Hamur I ve Kontrol II ile Hamur I haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ). 135. dakikada ise Kontrol I ile Hamur II, Kontrol II ile Hamur I, Kontrol II ile

Hamur II ve Hamur I ile Hamur II haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Üretilen tip II ekşi hamurlardaki laktik asit bakteri sayısı arttıkça maksimum direnç değerinin düştüğü gözlenmiştir. Bakteri inokülasyonu ile üretilen tip II ekşi hamur ilave edilmiş hamur örnekleri arasında en yüksek değeri tekli kültürle hazırlanan hamur örneği vermiştir.

Enerji değerlerine göre; 90. dakikada Kontrol I ile Kontrol II ve Hamur I ile Hamur II haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). 135. dakikada ise Kontrol I ile Kontrol II ve Hamur I ile Hamur II haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Enerji, hamurun işlemeye karşı mukavemeti ve işlenebilirlik derecesi hakkında bilgi veren çok önemli bir kriter sayılmaktadır. Hamur enerjisinin yüksek olması hamurun gaz tutma kapasitesinin ve fermantasyon toleransının yüksek olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu tür hamurlardan yapılan ekmeklerin hacmi de yüksek olmaktadır. Ekmeklik unlarda hamur enerjisi değeri 80  $cm^2$ 'den yüksek olmalıdır (Elgün ve ark., 1998). Elde edilen sonuçlara göre hamur enerjileri 57.50–104.00 aralığında ölçülmüştür. Üretilen tip II ekşi hamurlardaki laktik asit bakteri sayısı arttıkça hamurların enerjisinin düştüğü gözlenmiştir. Bakteri inokülasyonu ile üretilen tip II ekşi hamur ilave edilmiş hamur örnekleri arasında en yüksek enerji değerini tekli kültürle hazırlanan hamur örneği vermiştir. Hamur III'ün özelliklerinin ise bilhassa gluten yapısı üzerinde olumsuz etki göstermesi sonucunda hamurun işlenebilme yeteneğini, enerji ihtiyacını ve direncini düşürerek kalitesinin zayıflamasına neden olmuştur. Bu nedenle üçlü kültürle hazırlanan tip II ekşi hamur kullanabilmek için hamurun sert hazırlanıp kısa sürede işlenmesi gerekmektedir.

Oran sayısı değerlerinde Kontrol I ile Hamur III, Kontrol II ile Hamur I, Hamur I ile Hamur II ve Hamur II ile Hamur III haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Oran sayısı değerleri açısından kontrol grupları haricinde kıyasladığımızda yine en yüksek sonuç Hamur I'de görülmektedir. Bu durum tekli kültürle hazırlanan hamurun işlemeye daha elverişli olduğunu göstermektedir.

Hamur testi analiz sonuçları incelendiğinde kontrol grupları haricinde kıyaslama yaparsak ekmek yapımı için hamur mukavemeti, maksimum direnç, enerji ve oran sayısı açısından en uygun sonucu *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen tip II ekşi hamuru içeren hamur örneği vermiştir.

Tablo 3.7: Hazırlanan ekmek hamurlarının hamur testi analizleri ortalama değerlerinin sonuçları.

Hamur örnekleri*	Hamur mukavemeti (EU)		Uzayabilirlik (mm)		Maksimum direnç (EU)		Enerji (cm <sup>2</sup> )		Oran sayısı (EU/mm)
	90 dk	135 dk	90 dk	135 dk	90 dk	135 dk	90 dk	135 dk	135 dk
Kontrol I	466.00 ±2.83 <sup>a</sup>	423.00 ±18.38 <sup>ab</sup>	103.50 ±0.71 <sup>a</sup>	124.50 ±2.12 <sup>a</sup>	461.00 ±4.24 <sup>ab</sup>	415.00 ±7.07 <sup>a</sup>	104.00 ±5.66 <sup>a</sup>	93.00 ±1.41 <sup>a</sup>	3.40 ±0.09 <sup>a</sup>
Kontrol II	453.00 ±2.83 <sup>b</sup>	440.00 ±4.24 <sup>a</sup>	101.00 ±1.41 <sup>abc</sup>	111.00 ±1.41 <sup>b</sup>	456.50 ±3.54 <sup>ac</sup>	443.00 ±1.41 <sup>bc</sup>	99.00 ±1.41 <sup>a</sup>	89.00 ±4.24 <sup>a</sup>	3.96 ±0.01 <sup>b</sup>
Hamur I	441.00 ±0.01 <sup>c</sup>	390.50 ±2.12 <sup>bc</sup>	97.00 ±1.41 <sup>bd</sup>	103.00 ±1.41 <sup>cd</sup>	454.50 ±0.71 <sup>bc</sup>	434.00 ±2.83 <sup>bd</sup>	83.00 ±1.41 <sup>b</sup>	75.50 ±0.70 <sup>b</sup>	3.79 ±0.07 <sup>bc</sup>
Hamur II	435.00 ±1.41 <sup>c</sup>	381.00 ±1.41 <sup>cd</sup>	97.50 ±0.71 <sup>cd</sup>	103.50 ±0.71 <sup>ce</sup>	438.00 ±5.66 <sup>d</sup>	429.50 ±0.71 <sup>acd</sup>	77.50 ±0.71 <sup>b</sup>	73.00 ±1.41 <sup>b</sup>	3.68 ±0.03 <sup>cd</sup>
Hamur III	390.00 ±1.41 <sup>d</sup>	350.00 ±2.83 <sup>d</sup>	91.00 ±1.41 <sup>e</sup>	98.00 ±1.41 <sup>de</sup>	390.00 ±1.41 <sup>e</sup>	370.00 ±2.83 <sup>e</sup>	62.50 ±0.71 <sup>c</sup>	57.50 ±2.12 <sup>c</sup>	3.57 ±0.02 <sup>ad</sup>

Parametrelerde aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

\*: Kontrol I: Ekşi hamur içermeyen hamur, Kontrol II: Bakteri inokülasyonu yapılmadan üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur I: *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur II: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur III: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38-*L. sanfranciscensis* PFC80 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur.



Di Cagno ve ark. tarafından 2002 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada deneysel yöntemlerle fermente olmuş hamurda hamur reolojisi incelenmiş ve yumuşama derecesi ve uzayabilirliğinde artış; uzama direncinde ise azalma olduğu saptanmıştır. Ekşi hamurun hamur yapısına ve reolojisine etki eden faktöründe hamur etrafına çerçeve oluşturan gluten protein bileşenlerinin olduğu belirtilmiştir. Bu etkininde ekmeğin oluşumu için gerekli olan mikroorganizmalar tarafından oluşturulan gaz formasyonundan kaynaklandığı ifade edilmiştir. Sonuç olarak ekşi hamurda karbondioksit oluşumundan sorumlu olan tüm laktik asit bakterileri, mayalar ve gaz oluşumuna sebep olan tüm katkıların starter kültürden kaynaklandığı ve bununda ekmeğin yapısını etkilediği belirtilmiştir (Arendt ve ark., 2007).

### **3.12 Hamurların Aroma Profili**

Ekmeğin hamuru fermantasyonu sırasında, ekmeğin aroması üzerine asitler (özellikle laktik asit ve asetik asit), alkoller (etanol, propanol, isoamilalkol, isobütanol, isopropanol, 3-metil bütanol vb.), esterler (asit ve alkol formundaki aseton, aldehit ve ketonlar) ve çeşitli karbonil bileşikler (diasetil, 2-propanon, 2-metil-1-bütanol, 3-metil-1-bütanol, 2,3-bütandion, n-hekzanal, 2-heptanon, 3-hidroksi-2-bütanon) etki etmektedir (Rehman ve ark., 2006).

Hamur örneklerinde yapılan aroma bileşenleri analizi sonuçlarına göre asitler, aldehidler, ketonlar, alkoller, esterler ve karbonil bileşikler olmak üzere toplam 71 adet uçucu bileşen izole edilmiştir. Ekmeğin açısından önem taşıyan uçucu bileşenlerin ortalama miktarları ( $\mu\text{g}/\text{kg}$  hamur) ve aroma özellikleri Tablo 3.8'de verilmiştir.

Elde edilen uçucu bileşenler istatistiksel açıdan incelendiğinde; İzoamil alkol, 2,3-Bütandiol, Hekzanal, 1-hekzanol, Metoksi fenil oksime, Benzaldehit, Hekzanoik asit, Benzenasetaldehit, Nonanal, Feniletıl alkol, Oktanoik asit, (E,E),2,4-Nonadienal, Nonanoik asit, 2-etıl butirik asit isoheksil ester, Butanoik asit butil ester, Dekanoik asit etil ester, Etil palmitat, Palmitik asit ve Hekzadekanoik asit-etil ester bileşenleri için tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmiştir ( $p < 0.001$ ).

Etanol bileşeninde Kontrol I ile Hamur II haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark vardır sonucuna varılmıştır ( $p < 0.001$ ).

Etil asetat için Kontrol II ile Hamur III haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ).

Tereyağımsı aroma veren 3-hidroksi-2-bütanon ve Oktanoik asit etil ester bileşenleri için Kontrol I ile Kontrol II haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ).

1-okten-3-ol bileşeni Kontrol I örneğinde tespit edilememiştir. Hamur II ile Hamur III haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ).

Heptenal, 1-metil propil ester-butanoik asit, 7-asetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametil tetralin bileşenleri Kontrol I ve Kontrol II örneklerinde tespit edilememiştir. Kontrol I ile Kontrol II haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ).

Heptanoik asit metil ester, Hamur III örneğinde tespit edilememiştir. Hamur I ile Hamur II, Hamur I ile Hamur III ve Hamur II ile Hamur III haricinde diğer tüm örnekler arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ).

2-metil-3-oktanol bileşeni sadece Hamur II örneğinde tespit edilmiştir. İstatistiksel açıdan irdelediğimizde Kontrol I ile Hamur II, Kontrol II ile Hamur II, Hamur I ile Hamur II ve Hamur II ile Hamur III arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ).

3-metil-2-pentanol, 2-fenoksietanol bileşenleri sadece Hamur II ve Hamur III örneklerinde tespit edilmiştir. Hamur II ile Hamur III örnekleri ve diğer örneklerle bu iki örnek arasında istatistiksel açıdan fark tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ).

Ravyts ve Vuyst'un 2011 yılında yaptıkları çalışmada farklı laktik asit bakterileriyle hazırlanan tip II ekşi hamurlarda aldehidler, ketonlar, alkoller ve karboksilik asitler olmak üzere toplam 66 adet uçucu bileşen 24 saatlik kesikli fermantasyon işleminin sonunda ekşi hamur mikroflorası tarafından üretilmiştir. Bu uçucu bileşenlerin 19 adedi aldehidler, 21'i alkoller, 2'si furanlar, 12'si ketonlar, 3'ü asitler ve 8'i esterlerdir. Fakat 24 saatlik fermantasyon işleminin sonunda tip II ekşi hamurlar arasında etil asetat, etanol, 2-hexanal, 2,3-bütandiol, 3-hidroksi-2-bütanon ve 2-fenil etanol gibi bileşenlerin bulunma düzeyinde önemli oranda farklılık tespit edilememiştir. Yüksek konsantrasyonlarda metabolit, ekşi hamur sıvı ferment

sistemiyle üretilmiştir. Örneğin, *L. sakei* CG1 yüksek miktarda 3-metil bütül asetata dönüşen 3-metil-1-bütanol üretmiştir.

Dikbaş (2003) tarafından yapılan çalışmada, geleneksel yöntemle üretilen Trabzon Vakfikebir ekmeği ile francala ekmeği aromatik özellikleri bakımından karşılaştırılmıştır. Üretilen Vakfikebir ekmeğinin Gaz Kromatografi/Kütle Spektrofotometre (GC/MS) sonuçlarına göre; ekşi hamurda en yüksek oranda etanol (%58.88), asetaldehit (%24.64), etilamin (%15.13), en düşük oranda 2-n-pentil furan ve octanal, eser miktarlarda ise 2-propanamin, 2,3-metil butanal, n-hexanol, n-nonanal, 2-furan-karboksialdehit tespit edilmiştir. Ayrıca son fermantasyon sonrası hamur örneklerinde en yüksek etanol (%79.88), izopropil amin (%14.86), asetaldehit (%4.29), en düşük oranda asetik asite rastlanmıştır. Francala ekmeğinin GC/MS sonuçlarına göre; ilk fermentasyon sonrası en yüksek oranda etilamin (%52.32), asetaldehit (%33.52), etanol (%13.24) olduğu gözlenmiş, ayrıca örnek içerisinde 2-propanamin, diasetil, hekzanal, 2-n-pentilfuran, n-hekzanol, n-nonanal gibi altı eser maddeye rastlanmıştır. Francala ekmeğinin son fermantasyon sonrası hamur örneklerinde en yüksek etanol (%98.74) olduğu gözlenmiş, octanal, n-nonanal, 2-furan-karboksialdehit'in eser miktarda olduğu görülmüştür. Vakfikebir ekmeğin hamurunun francala ekmeğin hamuruna göre daha fazla uçucu madde içerdiği belirlenmiştir.

Gobbetti ve arkadaşlarının 1995 yılında yaptıkları çalışmada, ekşi hamur üretiminde fermantasyon parametrelerinin ve starter kültür karışımlarını kullanmanın aroma bileşenleri ve organik asitlerin oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Çalışmada, *Lactobacillus brevis* ssp. *lindneri* CB1, *Lactobacillus plantarum* DC400 ve *Saccharomyces cerevisiae* 141 veya *Saccharomyces exiguus* M14 starter kültürleri kullanarak hazırlanan ekşi hamurlarda 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-bütanol, etanol, etil asetat, laktik asit ve asetik asit gibi aroma bileşenleri daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Düşük sıcaklık (25° C) ve ekşi hamurun sıkı bir yapıda olması (Hamur verimi=135) laktik asit bakterileri için uygun bir ortam olmasına rağmen maya aktivitelerini sınırlandırmıştır. Sıcaklığı 30° C'ye çıkarmak ve ekşi hamuru yarı-sıvı hazırlamak uçucu bileşenlerin sayısını ve miktarını artırmıştır. 3 saatte hazırlanan ekşi hamurlarda ana bileşen iso-alkoller olmuştur. Mayalanma süresinin 9 saate çıkarılması, 5 saat mayalamaya göre üç kat daha fazla aroma bileşeninin oluşumunu sağlamıştır.

Sonuçlarımız yukarıda verilen literatür verileri ile değerlendirildiğinde; çoğunlukla laktik asit bakterileri ile üretilen tip II ekşi hamurları içeren hamur örneklerinde aromatik bileşikler daha fazla miktarda bulunmuştur. Bazı aroma bileşenlerine (3-hidroksi-2- butanon, Heptenal, 1-metil propil ester-butanoik asit, 7-asetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametil tetralin) sadece laktik asit bakterileri ile üretilen tip II ekşi hamurları içeren hamur örneklerinde rastlanmıştır. Bu durum özellikle laktik asit bakterilerinin aroma üretimi üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir.

Laktik asit bakterileri ile üretilen tip II ekşi hamurları içeren hamur örnekleri arasında sadece *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak hazırlanan hamur örneğinde diğerlerine göre ekmekçilik açısından bazı aroma bileşenleri daha yoğun miktarda tespit edilmiştir. Bu aroma bileşenlerine Etanol, Etil asetat, İzomil alkol, 2,3-Bütanediol, Hekzenal, 1-hekzanol, Heptenal, Metoksi fenil oksime, Benzaldehit, 1-okten-3-ol, Hekzanoik asit, Benzenasetaldehit, Oktanoik asit, Oktanoik asit etil ester, (E,E),2,4-Nonadienal, Nonanoik asit, 2-etil butirik asit isoheksil ester, Butanoik asit butil ester, Etil palmitat, Palmitik asit ve Hekzadekanoik asit-etil ester örnek gösterilebilmektedir. Bu durumda *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen tip II ekşi hamurun kullanılması ile daha aromatik ekmeklerin hazırlanabileceği düşünülmektedir.

Tablo 3.8: Hazırlanan ekmek hamurlarının aroma bileşenleri analizi ortalama değerlerinin sonuçları.

Ortalama (mg/kg hamur)						
Hamur Örnekleri						
Uçucu Bileşen	Aroma Özelliği	Kontrol I	Kontrol II	Hamur I	Hamur II	Hamur III
<b>Aldehitler</b>						
Hekzenal	Çimen	4.60±1.12 <sup>a</sup>	3.22±0.01 <sup>b</sup>	14.97±5.43 <sup>c</sup>	6.90±0.73 <sup>d</sup>	6.43±0.03 <sup>e</sup>
(E,E),2,4-Nonadienal	Yağ, fındığımsı	Te. <sup>a</sup>	0.41±0.12 <sup>b</sup>	0.58±0.16 <sup>c</sup>	0.27±0.18 <sup>d</sup>	0.21±0.15 <sup>e</sup>
Nonanal	Sitrus, yağ	1.83±0.13 <sup>a</sup>	1.12±0.01 <sup>b</sup>	3.63±0.36 <sup>c</sup>	1.73±0.40 <sup>d</sup>	3.98±0.49 <sup>e</sup>
Benzenasetaldehit	Çiçek, balımsı	2.86±0.09 <sup>a</sup>	2.20±0.07 <sup>b</sup>	3.10±0.02 <sup>c</sup>	2.15±0.14 <sup>d</sup>	2.89±0.07 <sup>e</sup>
Benzaldehit	Acı badem	0.74±0.56 <sup>a</sup>	1.06±0.05 <sup>b</sup>	1.82±0.45 <sup>c</sup>	0.80±0.15 <sup>d</sup>	1.12±0.07 <sup>e</sup>
Heptenal	Yağ, ransit	Te. <sup>a</sup>	Te. <sup>a</sup>	3.19±0.81 <sup>b</sup>	1.38±0.08 <sup>c</sup>	1.79±0.03 <sup>d</sup>
<b>Alkoller</b>						
Etanol	Tatlımsı	111.41±1.49 <sup>a</sup>	130.87±4.12 <sup>b</sup>	154.26±5.10 <sup>c</sup>	111.23±0.64 <sup>a</sup>	140.13±7.65 <sup>d</sup>
2-fenoksietanol	-	Te. <sup>a</sup>	Te. <sup>a</sup>	Te. <sup>a</sup>	0.026±0.003 <sup>b</sup>	0.025±0.002 <sup>c</sup>
2-metil-3-oktanol	-	Te. <sup>a</sup>	Te. <sup>a</sup>	Te. <sup>a</sup>	0.40±0.16 <sup>b</sup>	Te. <sup>a</sup>
Feniletıl alkol	Gül	51.84±7.41 <sup>a</sup>	40.10±7.23 <sup>b</sup>	68.35±20.03 <sup>c</sup>	57.87±9.21 <sup>d</sup>	73.65±10.18 <sup>e</sup>
1-okten-3-ol	Mantar	Te. <sup>a</sup>	1.06±0.01 <sup>b</sup>	1.54±0.49 <sup>c</sup>	0.91±0.06 <sup>d</sup>	0.87±0.07 <sup>d</sup>
1-hekzanol	-	6.28±2.16 <sup>a</sup>	12.05±0.92 <sup>b</sup>	15.48±3.61 <sup>c</sup>	10.66±2.02 <sup>d</sup>	10.99±1.56 <sup>e</sup>
3-metil-2-pentanol	-	Te. <sup>a</sup>	Te. <sup>a</sup>	Te. <sup>a</sup>	0.91±0.12 <sup>b</sup>	0.51±0.51 <sup>c</sup>
2,3-Bütanediol	Kremamsı	2.11±0.21 <sup>a</sup>	3.42±1.32 <sup>b</sup>	5.60±1.48 <sup>c</sup>	2.56±0.13 <sup>d</sup>	0.87±0.87 <sup>e</sup>
İzoamil alkol	Meyvemsi	81.44±3.28 <sup>a</sup>	126.46±14.23 <sup>b</sup>	138.30±11.32 <sup>c</sup>	91.17±13.46 <sup>d</sup>	118.67±23.39 <sup>e</sup>
<b>Esterler</b>						
Hekzadekanoik asit-etıl ester	Kremamsı, balsamik	1.94±0.01 <sup>a</sup>	2.15±0.04 <sup>b</sup>	4.76±1.33 <sup>c</sup>	2.22±0.17 <sup>d</sup>	1.67±0.08 <sup>e</sup>
Oktanoik asit etıl ester	Meyvemsi, tatlı	5.55±0.05 <sup>a</sup>	5.57±0.37 <sup>a</sup>	10.16±0.47 <sup>b</sup>	5.31±0.09 <sup>c</sup>	6.28±0.48 <sup>d</sup>
Heptanoik asit metıl ester	Meyvemsi	4.36±0.04 <sup>a</sup>	1.16±0.02 <sup>b</sup>	0.05±0.05 <sup>c</sup>	0.02±0.02 <sup>cd</sup>	Te. <sup>cd</sup>

Devam

Tablo 3.8 (Devam)

Ortalama (mg/kg hamur)						
Hamur Örnekleri						
Uçucu Bileşen	Aroma Özelliği	Kontrol I	Kontrol II	Hamur I	Hamur II	Hamur III
Butanoik asit butil ester	Meyvemsi, muz	3.53±1.35 <sup>a</sup>	1.99±0.05 <sup>b</sup>	6.55±1.57 <sup>c</sup>	2.40±0.18 <sup>d</sup>	6.47±2.51 <sup>e</sup>
Dekanoik asit etil ester	Meyvemsi, yeşil elma	1.71±0.49 <sup>a</sup>	1.94±0.02 <sup>b</sup>	2.28±2.04 <sup>c</sup>	2.60±0.54 <sup>d</sup>	4.17±1.98 <sup>e</sup>
Etil palmitat	Balsamik, meyve	0.55±0.01 <sup>a</sup>	0.73±0.02 <sup>b</sup>	0.87±0.60 <sup>c</sup>	0.81±0.17 <sup>d</sup>	Te. <sup>e</sup>
1-metil propil ester-butanoik asit	Meyvemsi, ananas	Te. <sup>a</sup>	Te. <sup>a</sup>	2.01±2.05 <sup>b</sup>	3.66±3.66 <sup>c</sup>	2.48±1.12 <sup>d</sup>
2-etil butirik asit isoheksil ester	-	2.51±0.03 <sup>a</sup>	1.86±0.10 <sup>b</sup>	3.46±1.83 <sup>c</sup>	1.33±0.08 <sup>d</sup>	2.32±1.57 <sup>e</sup>
<b>Karboksilli Asitler</b>						
Palmitik asit	Mumsu	26.93±8.42 <sup>a</sup>	56.81±4.13 <sup>b</sup>	99.41±20.20 <sup>c</sup>	30.22±2.49 <sup>d</sup>	46.84±0.34 <sup>e</sup>
Nonanoik asit	Kirli peynir	36.01±12.54 <sup>a</sup>	83.78±19.12 <sup>b</sup>	159.31±31.07 <sup>c</sup>	69.35±4.82 <sup>d</sup>	121.10±38.52 <sup>e</sup>
Oktanoik asit	Mum, ransit	94.17±22.01 <sup>a</sup>	20.64±1.49 <sup>b</sup>	211.04±185.56 <sup>c</sup>	108.33±153.43 <sup>d</sup>	19.31±0.10 <sup>e</sup>
Hekzanoik asit	Ekşi	96.90±4.39 <sup>a</sup>	34.50±5.46 <sup>b</sup>	214.17±2.15 <sup>c</sup>	148.18±3.85 <sup>d</sup>	170.02±3.21 <sup>e</sup>
Etil asetat	Üzümsü meyve	38.31±5.42 <sup>a</sup>	72.48±2.32 <sup>b</sup>	84.09±3.59 <sup>c</sup>	49.44±1.84 <sup>d</sup>	71.74±5.80 <sup>b</sup>
<b>Ketonlar</b>						
3-hidroksi-2-butanon	Tereyağımsı	Te. <sup>a</sup>	Te. <sup>a</sup>	4.04±4.04 <sup>b</sup>	4.86±0.74 <sup>c</sup>	3.00±3.00 <sup>d</sup>
Metoksi fenil oksime	Balımsı	8.24±1.78 <sup>a</sup>	7.28±1.14 <sup>b</sup>	10.02±0.58 <sup>c</sup>	3.19±0.34 <sup>d</sup>	7.94±0.86 <sup>e</sup>
7-asetil-6-etil-1,1,4,4-tetrametil tetralin	Miskotu	Te. <sup>a</sup>	Te. <sup>a</sup>	0.09±0.09 <sup>b</sup>	0.03±0.01 <sup>c</sup>	0.28±0.25 <sup>d</sup>

Te.: Tespit edilememiştir.

Parametrelerde aynı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

\*: Kontrol I: Ekşi hamur içermeyen hamur, Kontrol II: Bakteri inokülasyonu yapılmadan üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur I: *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur II: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur, Hamur III: *L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38-*L. sanfranciscensis* PFC80 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur.

#### 4. GENEL SONUÇLAR

Çalışmada tip II ekşi hamur kullanımının ekmek hamurunun kimyasal, mikrobiyolojik, reolojik ve aromatik özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Farklı laktik asit bakteri kombinasyonları ile üretilen tip II ekşi hamurların ekmek hamuruna etkisi istatistiksel açıdan önemli farklılıklar vermiştir.

Laktik asit bakterilerinin tekli, ikili ve üçlü olmak üzere tüm kombinasyonlarının kesikli fermantasyon işleminden sonra analiz sonuçlarına göre belirlenen en iyi asit üretimi ve mikrobiyal popülasyona 24. saatte ulaşılmıştır. pH'daki düşüş oranı, %laktik asit cinsinden toplam asitlik miktarının artış oranı ve laktik asit bakteri sayımı sonuçlarına göre en iyi üç kombinasyon seçilmiştir.

Tekli bakteri inokülasyonu ile hazırlanan tip II ekşi hamur örneklerinde en iyi sonuçları *P. acidilactici* PFC38 suşu vermiştir. 24. saatte pH değeri 3.51, asitlik değeri %0.60, maya-küf sayım sonucu 2.05 log kob/ml ve laktik asit bakterileri sayım sonucu 8.59 log kob/ml değerine ulaşmıştır.

İkili bakteri kombinasyonları ile hazırlanan tip II ekşi hamur örneklerinde en iyi verilere *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38 kombinasyonu ile ulaşılmıştır. 24. saatte en iyi asit üretimi pH değerinin 3.44'e düşmesi ile gerçekleşmiştir. Asitlik değeri pH'ın en hızlı düşüşünün gözlemlendiği ilk 24 saatte %0.54 değerine ulaşması ile sağlanmıştır. Maya-küf sayım sonucu 1.30 log kob/ml ve laktik asit bakterileri sayım sonucu 8.72 log kob/ml olarak hesaplanmıştır.

Üçlü kombinasyonlar ile hazırlanan tip II ekşi hamur örneklerinde ise, en iyi verilere *Lactobacillus plantarum* PFC22+*Pediococcus acidilactici* PFC38+*Lactobacillus sanfranciscensis* PFC80 kültürü ile ulaşılmıştır. Bu kombinasyonun 24. saatteki verilerine bakıldığında; pH ölçüm sonucu 3.41, asitlik değeri %0.53 olarak hesaplanmıştır. Maya-küf sayım sonucu 1.60 log kob/ml olarak belirlenmiştir. Tüm kombinasyonlarda zamana bağlı olarak maya-küf sayım sonuçları düzensiz bir şekilde değişim göstermiştir. pH'nın en hızlı düşüşünün gözlemlendiği 24. saatte LAB sayısındaki artış da en yüksek oranda 8.71 log kob/ml değeri ile gerçekleşmiştir.

Laktik asit bakterilerinin zamana bağılı olarak sayıca artışı ürettikleri organik asitler dolayısıyla pH düşüşü ile de örtüşmektedir.

Tip II ekşi hamurun kullanılması yoğurma sonrası ve son fermantasyon sonrası hamurların asitlik gelişimi ve mikrobiyal popülasyonun artmasını sağlamıştır. Tip II ekşi hamurlara inoküle edilen laktik asit bakteri sayısı arttıkça genel olarak yoğurma ve son fermantasyon sonrası pH düşmüş, asitlik değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Fakat Hamur II örneği (*L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38 suşlarının kombinasyonu ile üretilen tip II ekşi hamuru içeren hamur) bu duruma uymayarak her iki aşama sonunda da hem en düşük pH hemde en yüksek asitlik değerlerini vermiştir. Yoğurma sonrası maya-küf sayısında en yüksek değerler Hamur III'te (*L. plantarum* PFC22-*P. acidilactici* PFC38-*L. sanfranciscensis* PFC80 suşlarının kombinasyonu ile üretilen ekşi hamuru içeren hamur), fermantasyon sonrasında ise Hamur II'de tespit edilmiştir. Laktik asit bakterileri sayısında ise en yüksek değerler her iki aşama sonrasında da Hamur III'te gözlemlenmiştir.

Fermantasyon sonrasında sadece Hamur III'te maya-küf ve laktik asit bakterileri sayısında azalma söz konusu olmuştur. Bu duruma göre; ortama ilave edilen (*Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus plantarum* PFC22, *Pediococcus acidilactici* PFC38 ve *Lactobacillus sanfranciscensis* PFC 80) mikroorganizmaların arasında yarışmalı bir ortam olduğu böylelikle mikroorganizmaların gelişiminin azaldığı sonucuna varılmıştır.

Un testi analizi sonuçlarında tip II ekşi hamur kullanımı unun su absorpsiyonu, hamurun gelişme süresi, hamur stabilitesi, yoğurma toleransı, 10 dk yumuşama derecesi, 12 dk yumuşama derecesi sonuçlarını istatistiksel açıdan etkilemiştir. Tip II ekşi hamura inoküle edilen laktik asit bakteri sayısı arttıkça hamur stabilitesi, yoğurma toleransı değeri ve yumuşama derecesi değerleri üzerinde olumsuz sonuçlar alınmıştır.

Hamur testi analizi sonuçlarına göre; hamur örneklerinde tip II ekşi hamura inoküle edilen laktik asit bakteri sayısı arttıkça hamur mukavemeti, uzayabilirlik, maksimum direnç, oran sayısı ve enerji değerleri sonuçları istatistiksel açıdan farklı bulunmuş ve hamurun işlenebilirlik derecesi ve fermantasyon toleransı gibi değerlerini olumsuz yönde etkilemiştir. Elde edilen veriler ışığında bilhassa Hamur III'ün özelliklerinin gluten yapısı üzerinde olumsuz etki göstermesi sonucunda hamurun işlenebilme



yeteneğini, enerji ihtiyacını ve direncini düşürerek kalitesinin zayıflamasına neden olmuştur.

Hamur örneklerinde yapılan aroma bileşenleri analizi sonuçlarına göre asitler, aldehidler, ketonlar, alkoller, esterler ve karbonil bileşikler olmak üzere toplam 71 adet uçucu bileşen tanımlanmıştır. Seçilen laktik asit bakteri kombinasyonları ile hazırlanan hamurların ekmekçilik açısından önem taşıyan aroma bileşenleri arasında istatistiksel açıdan farklılıklar tespit edilmiştir. Çoğunlukla laktik asit bakterileri ile üretilen tip II ekşi hamurları içeren hamur örneklerinde aromatik bileşikler daha fazla miktarda bulunmuştur. Laktik asit bakterileri ile üretilen tip II ekşi hamurları içeren hamur örneklerinde sadece *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak hazırlanan hamurlarda bazı aroma bileşenleri daha yoğun miktarda tespit edilmiştir. Aslında aroma bileşenlerinde bulunan bu farklılıklar farklı laktik asit bakteri kombinasyonları ile ekmek mayasının hamur ortamındaki gelişim sürecine bağlanabilir.

Genel değerlendirmeler sonucu, tekli kültürle hazırlanan tip II ekşi hamurun, hamur kalite kriterleri açısından daha uygun olduğu söylenebilir. Ayrıca *P. acidilactici* PFC38 suşu kullanılarak üretilen tip II ekşi hamuru içeren hamur ile daha aromatik ekmeklerin hazırlanabileceği düşünülmektedir.

Böylece tip II ekşi hamurun hamur üretiminde kullanılmasıyla kontrolsüz şartlarda üretilen ekşi hamurlardan kaynaklanan sorunlar bertaraf edilebilecek bunun yanı sıra ayırt edilebilir aroma sağlanabilecektir. Ayrıca bundan sonraki çalışmalarda hazırlanan hamurların ekmek üretiminde de denenmesi faydalı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Akgün, F. B.**, 2007: Ekşi Hamur Tozu Eldesi ve Ekmek Üretiminde Kullanılabilme Olanakları, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 57s.
- Altinel B.**, 2008: Ekmek Üretiminde Kullanılan Enzimler ve Ürün Kalitesine Etkisine Etkilerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 316s.
- Angelis, M. D., Cagno, R. D., Gallo, G., Curci, M., Siragusa, S., Crecchio, C., Parente, E. and Gobetti, M.**, 2007: Molecular and functional characterization of *Lactobacillus sanfranciscensis* strains isolated from sourdoughs, *International Journal of Food Microbiology*, **114**, 69-82.
- Anonim**, 1999: Türk Gıda Kodeksi Buğday Unu Tebliği 99/1.
- Anonim**, 2005: Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, Ed: A. K. Halkman, Başak Matbaacılık Ltd. Şti., Ankara. 358 s.
- Anonymous**, 1982: ICC Standard Methods of the International Association for Cereal Chemistry, 1982.
- Anonymous**, 1994: ICC Standard No:155, Determination of Wet Gluten Quantity (Gluten Index ac. to Perten) of Whole Wheat Flour (*Triticum aestivum*), 1994.
- Arendt E. K., Ryan L.A.M. and Bello F.D.**, 2007: Impact of sourdough on the texture of bread, *Food Microbiology*, **24**, 165-174.
- Avşar Y. K., Karagül-Yüceer Y., Drake M. A, Singh T. K., Yoon Y. and Cadwallader K. R.**, 2004: Characterization of nutty flavor in cheddar cheese, *Journal of Dairy Science*, **87**(7), 1999-2010.
- Baykara P.**, 2006: Geleneksel Nohut Mayasının Endüstriyel Beyaz Buğday Unu Ekmeği Üretiminde Kullanılması, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, 88s.
- Bianchi, F., Careri, M., Chiavaro, E., Musci, M. and Vittadini, E.**, 2008: Gas chromatographic–mass spectrometric characterisation of the Italian Protected Designation of Origin “Altamura” bread volatile profile, *Food Chemistry*, **110**, 787-793.
- Bilgiçli, N.**, 2000: Melaslı Besin Ortamında Ekmek Mayası Üretim Parametrelerinin Tespiti ve Sıvı Mayanın Likid Ferment Sistemi İle Ekmek Yapımında Kullanılma İmkanları, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 54s.
- Bozkurt, O.**, 2006: Farklı üretim yöntemlerinin tarhananın organik asit içeriği üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 46s.

- Brandt, M. J.**, 2007: Sourdough products for convenient use in baking, *Food Microbiology*, **24**, 161-164.
- Campbell-Platt, G.**, 1994: Fermented Foods: A World Perspective, *Food Research Int.*, **27**, 253.
- Carnevali, P., Ciati, R., Leporati, A. and Paese, M.**, 2007: Liquid sourdough fermentation: Industrial application perspectives, *Food Microbiology*, **24**, 150-154.
- Corsetti A., Gobbetti M., Balestrieri F., Paoletti F., Russi L. and Rossi J.**, 1998: Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling, *Journal of Food Science*, Vol.63, No.2, 347-351s.
- Corsetti, A., Lavermicocca, P., Morea, M., Baruzzi, F., Tosti, N. and Gobbetti, M.**, 2001: Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy, *International Journal of Food Microbiology*, **64**, 95-104.
- Corsetti, A. and Settanni, L.**, 2007: Lactobacilli in Sourdough Fermentation, *Food Research International*, **40**, 539-558.
- Çağlıyan, B. İ.**, 2008: İzmir Piyasasında Satılan Bazı Ekmek Çeşitlerinin Nitelikleri ve Yapım Teknikleri, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 133s.
- Çebi, K.**, 2009: Nohut Mayası ve Hamurundan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 72s.
- Çelik, E.**, 2008: Ekmek yapımında kullanılan bazı katkı maddelerinin ekmek kalitesi ve bayatlama özellikleri üzerine etkisi, yüksek lisans tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon, 57s.
- Çon, A. H. ve Gökalg, H. Y.**, 1998: Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mikrobiyolojisi Ders Notları, Yayın No: 007, Denizli.
- Çon, A. H. ve Gökalg, H.Y.**, 2001: Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Metabolitleri ve Etki Şekilleri, *Türk Mikrobiyal Cem Dergisi*, **30**, 180-190.
- Çon, A. H. ve Şimşek, Ö.**, 2003: Ekşihamur Laktik Asit Bakterileri ve Ekmeğin Teknolojik Özellikleri Üzerine Etkisi, *Unlu Mamuller Teknolojisi*, **12**(58), 44-56.
- De Vuyst, L. and Neysens, P.**, 2005: The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions, *Trends in Food Science & Technology*, **16**, 43-56.
- Decock, P. and Cappelle, S.**, 2005: Bread technology and sourdough technology, *Trends in Food Science & Technology*, **16**, 113-120.
- Demir, M. K.**, 2004: Likit Ferment Sisteminde Kullanılan Maya (*Saccharomyces cerevisiae*) Performansının Artırılmasında Ortam Şartları ve Katkılamanın Optimizasyonu Üzerine Bir Çalışma, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 67s.

- Demir, K. M., Elgün, A. ve Bilgiçli, N.,** 2006: Sıvı Ferment Yöntemiyle Ekmek Üretiminde Kullanılan Maya (*Saccharomyces cerevisiae*) Performansına Katkı Maddeleri ve Ortam Şartlarının Etkisi, *Gıda*, **31**(6), 303-310.
- Dığrak, M. ve Özçelik, S.,** 1991: Elazığ ve Yöresinde Kullanılan Ekşi Mayanın Bileşimi, Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri, *Gıda*, **16**(5), 325-331.
- Dikbaş, N.,** 2003: Vakfıkebir Ekmeğindeki Mikroflora ve Aroma Maddelerinin Tespiti, Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 111s.
- Dinçer, A., ve Çam, G.,** 1992: Ekmek Üretiminde Starter Kültür Kullanımı ve Ekşi Hamur Fermantasyonu, *Gıda Mühendisliği Kongresi*, İzmir, 104-109s.
- Ekinci, R.,** 2001: Türkiye’de Üretilen Unlarda Bazı Mineral Madde, Vitamin, Amino Asit ve Zedelenmiş Nişasta Miktarlarının Tiplere Göre Değişiminin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 207s.
- Elgün, A., Ertugay, Z., Aydın, F. ve Kotancılar, G.,** 1991: Sıvı Ferment Yöntemiyle Ekmek Üretiminde Laktik Kültür Katkısının Etkisi, *Gıda*, **16**(4), 227-232.
- Elgün A., Certel M., Ertugay Z. ve Kotancılar, H.G.,** 1998: Tahıl ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Erzurum.
- Elgün, A., Certel, M., Ertugay, Z., ve Kotancılar, H.G.,** 2002: Tahıl ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Erzurum.
- Elgün A. ve Ertugay Z.,** 2002: Tahıl İşleme Teknolojisi. A. Ü. Yayınları No:78 Ziraat Fakültesi No:297, Ders Kitapları Serisi No: 52, Erzurum. 201-343 s.
- Erginkaya, Z. ve Kabak, B.,** 2010: Gıda Mikrobiyolojisi Kitabı, Ed: Osman Erkmen, Efil Yayınevi 1. Basım, 22.bölüm, Fermente Gıdalar, Ankara. 427-437s.
- Ertekin, Ö.,** 2007: Farklı Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Nümerik Taksonomisi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 176s.
- Evren, M.,** 1991: Turşudan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Bunlardan Starter Kültür Üretimine Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 64s.
- Evren, M., Anıl, M. ve Koca, F. A.,** 2006: Pres-Yaş Ekmek Mayasının Toplam Maya Sayısı ve Gaz Üretim Gücü Üzerine Depolama Sıcaklığı ve Süresinin Etkisi, Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, 685s.
- Gaggiano, M., Cagno, D. R., Angelis, M. D., Arnault, P., Tossut, P. Fox, P. F. and Gobbetti, M.,** 2007: Defined multi-species semi-liquid ready-to-use sourdough starter, *Food Microbiology*, **24**, 15-24.

- Gobbetti, M., Simonetti, M.S., Rossi, J., Cossignani, L., Corsetti, A. and Damiani, P.,** 1994: Free D- and L- amino acid evolution during sourdough fermentation and baking, *Journal of Food Science*, **59**, 881-884.
- Gobbetti, M., Simonetti, M. S., Corsetti, A., Santinelli, F., Rossi, J. and Damiani, P.,** 1995: Volatile compound and organic acid production by mixed wheat sourdough starters: influence of fermentation parameters and dynamics during baking, *Food Microbiology*, **12**, 497-507.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A. and Di Cagno, R.,** 2005: Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria, *Trends in Food Science & Technology*, **16**, 57-69.
- Göçmen, D.,** 1996: Hamur Hazırlanmasında Şerbetçiotu ve Laktik Starter Kullanımının Hamur ve Ekmeğin Özelliklerine Etkileri, Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 87 s.
- Göçmen, D. ve Gürbüz O.,** 2000: Fırıncılık Ürünlerinde Sünme Küf Oluşumunun Önlenmesinde Kimyasal Koruyucu ve Laktik Starter Kullanımı, *Dünya Gıda*, **6**, 84-87.
- Göçmen, D.,** 2001: Ekşi Hamur ve Laktik Starter Kullanımının Ekmekte Aroma Oluşumu Üzerine Etkileri, *Gıda*, **26**, 13-16.
- Gül, H., Özçelik, S., Sağdıç, O. and Certel, M.,** 2005: Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs, *Process Biochemistry*, **40**, 691-697.
- Güre, S.,** 2009: Ekşihamurlardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Gluten Üzerine Proteolitik Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 73s.
- Halkman, K. ve Taşkın, Y.,** 2001: Süt Ürünleri Endüstrisinde Starter Kültür, *Gıda Mühendisliği Dergisi*, **5(10)**, 45-52.
- Hancıoğlu, S. Ö. ve Karapınar, M.,** 2002: Ekşi maya ekmeğinin mikroflorası ve aromatik karakteristikleri, Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, 03-04 Ekim 2002, Gaziantep, 165-173s.
- Hansen, A., Lund B. and Lewis M.J.,** 1989: Flavour Production and Acidification of Sourdough in Relation to Starter Culture and Fermentation Temperature, *Lebensm. Wiss.*, **22**, 145-149.
- Jespersen, L.,** 2003: Occurrence and Taxonomic Characteristics of Strains of *Saccharomyces cerevisiae* Predominant in African Indigenous Fermented Foods and Beverages, *FEM Yeast Research*, **3**, 191-200.
- Karakoç, I.,** 2007: Farklı Buğday Unu Tiplerinin Halla Ekmeği Kalitesi Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 73s.
- Karasu, N.,** 2006: Turşu ve Zeytinden Antagonistik ve Probiyotik Özellikte Laktik Starter Kültür Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 88s.
- Katina, K.,** 2005: Sourdough: a tool for the improved flavour, texture and shelf-life of wheat bread, Vtt publications 569. Espoo.

- Kılıç, S.**, 2008: Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 542, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 451s.
- Kotancılar, H. G., Karaoğlu, M. M., Gerçekaslan, K. E. ve Uysal P.**, 2006: Ekşi Hamur Katkısının Beyaz Tava Ekmeğininin Bayatlaması Üzerine Etkisi, *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, **37**(1), 103-110.
- Leroy, F. and De Vuyst, L.**, 2004: Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for the Food Fermentation Industry, *Trends in Food Science & Technology*, **15**, 67-78.
- Madigan, M. T. ve Martinko, J. M.**, 2010: Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi. Çeviri Ed: Cumhuriyet Çökmüş, Palme yayıncılık, Ankara. 992s.
- Meignen, B., Onno, B., Ge Linas, P., Infantes, M., Guilois, S. and Cahagnier, B.**, 2001: Optimization of Sourdough Fermentation with *Lactobacillus brevis* and baker's yeast, *Food Microbiology*, **18**, 239-245.
- Menteş, Ö., Sungur, B. ve Ercan, R.**, 2008: Ekşi Hamurun Ekmek Özellikleri Üzerine Etkileri, Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, 415-421s.
- Özkaya, H.**, 1984: Ekmek Aroması ve Buna Etkili Faktörler, *Gıda Dergisi*, **9**(1), 21-27.
- Paramithiotis, S., Chouliaras, Y., Tsakalidou, E. and Kalantzopoulos, G.**, 2005: Application of selected starter cultures for the production of wheat sourdough bread using a traditional three-stage procedure, *Process Biochemistry*, **40**, 2813-2819.
- Paramithiotis, S., Gioulatos, S., Tsakalidou, E. and Kalantzopoulos, G.**, 2006: Interactions Between *Saccharomyces cerevisiae* and Lactic Acid Bacteria in Sourdough, *Process Biochemistry*, **41**, 2429-2433.
- Plessas, S., Fisher, A., Koureta, K., Psarianos, C., Nigam, P. and Koutinas, A. A.**, 2008: Application of *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *L. helveticus* for sourdough bread making, *Food Chemistry*, **106**, 985-990.
- Plessas, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Koutinas, A., Voidarou, C., Stavropoulou, E. and Bezirtzoglou, E.**, 2011: Application of novel starter cultures for sourdough bread production, *Molecular Biology Genetics and Biotechnology*, **17**, 486-489.
- Polat, Y.**, 2007: Buğday Ununa Balkabağı Tozu İlavesinin Unun Ekmeklik Kalitesi Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 51s.
- Ravyts, F. and Vuyst, L. D.**, 2011: Prevalence and Impact of Single-strain Cultures of Lactic Acid Bacteria on Metabolite Formation in Sourdough, *Food Microbiology*, **28**, 1129-1139.
- Rehman, S. U., Paterson, A. and Piggott, J. R.**, 2006: Flavour in sourdough breads: a review, *Trends in Food Science & Technology*, **17**, 557-566.

- Robert, H., Gabriel, V., Lefebvre, D., Rabier, P., Vayssier, Y. and Faucher, C. F.,** 2006: Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process, *Science Direct*, **39**, 256–265.
- Sağdıç, O. ve Arıcı, M.,** 2010: Gıda Mikrobiyolojisi Kitabı, Editör: Osman Erkmen Efil Yayınevi, 1. Basım, 21.bölüm, Gıda Fermentasyonunda Kullanılan Mikroorganizmalar, Ankara. 407-426.
- Salminen, S., Von Wright, A. and Ouwehand, A.,** 2006: Lactic Acid Bacteria, *International Dairy Journal* , **16**, 940-941.
- Sıkılı, Ö. H. ve Karapınar, M.,** 2002: Ekşi Maya Ekmeğinin Mikroflorası ve Aromatik Karakteristikleri, Hububat Ürünleri Teknolojisi Kongre ve Sergisi, 13-18 Mayıs 2002, İzmir, 165-175s.
- Şimşek, Ö.,** 2003: Uşak ve Yöresi Ekşi Hamurlarından İzole Edilen Antimikrobiyal Aktiviteye Sahip Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Bazı Metabolik Özelliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 90s.
- Tangüler, H.,** 2010: Şalgam Suyu Üretiminde Etkili Olan Laktik Asit Bakterilerinin Belirlenmesi ve Şalgam Suyu Üretim Tekniğinin Geliştirilmesi, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 393s.
- Temmerman, R., Pot, B., Huys, G. and Swings, J.,** 2003: Identificaton and Susceptibility of Bacterial Isolates Probiotic Products, *International Journal of Food Microbiology*, **81**, 1-10.
- Topdemir, P. Ç.,** 2004: Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Ekmeklik Buğday Çeşitlerinin Un ve Ekmek Kalitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa, 64s.
- Ünal, S. S.,** 1991: Hububat Teknolojisi, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları (3.Baskı), Yayın No:28, İzmir. 217s.
- Venturi, M., Guerrini, S. and 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**, 107-115.
- Yakar, T.,** 2010: Ekşi Hamur, Buğday, Çavdar, Yulaf Tam Unu Katkılı Ekmeklerin Kalitatif Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 135s.
- Yılmazaslan, B.,** 2008: Bazı Doğal Katkı Maddelerinin Ekmek Özellikleri Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon, 81s.



## **ÖZGEÇMİŞ**

**Ad Soyad:** AYCA KÜÇÜKÇUBAN

**Doğum Yeri ve Tarihi:** Akşehir/KONYA, 02.08.1987

**Adres:** Asmalı Evler Mah. 6625 Sok. 17/1 20020 Kınıklı/DENİZLİ

**Lisans Üniversitesi:** Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü