

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ÇEŞİTLİ MAYA SUŞLARI KULLANILARAK EKMEK
AROMA BİLEŞENLERİNİN ÜRETİMİ VE OPTİMİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

RAMAZAN NİÇİN

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2020

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**ÇEŞİTLİ MAYA SUŞLARI KULLANILARAK EKMEK
AROMA BİLEŞENLERİNİN ÜRETİMİ VE OPTİMİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

RAMAZAN NİÇİN

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

Ramazan NİÇİN tarafından hazırlanan “**Çeşitli Maya Suşları Kullanılarak Ekmek Aroma Bileşenlerinin Üretimi ve Optimizasyonu**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 20.08.2020 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK

.....

Üye
Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU

.....

Üye
Doç. Dr. İlyas ÇELİK

.....

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 2019FEBE005 nolu proje ile desteklenmiştir.**

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.

RAMAZAN NİÇİN

ÖZET

**ÇEŞİTLİ MAYA SUŞLARI KULLANILARAK EKMEK AROMA
BİLEŞENLERİNİN ÜRETİMİ VE OPTİMİZASYONU
YÜKSEK LİSANS TEZİ
RAMAZAN NİÇİN
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI:DOÇ. DR. ÖMER ŞİMŞEK)**

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2020

Ekmeğin aroması, ürünün kabul edilebilirliği açısından öne çıkan duyuusal özelliklerin başında gelmektedir. Özellikle son yıllarda tüketicilerin aromatik ekmek arayışında olması, buna karşılık hızlı fermantasyonla üretilen ekmeklerdeki aroma eksikliği, tüketiciler tarafından olumsuz karşılanmaktadır.

Bu tez çalışmasının ilk aşamasında, ekmekçilik açısından önemli uçucu aroma bileşiklerini üretebilme kabiliyeti yüksek maya türlerini belirlemek amacıyla 20 farklı maya suşu kullanılmıştır. Uçucu aroma bileşikleri ile maya suşları arasındaki ilişki incelenmiş; *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) PFC121, *Kluyveromyces marxianus* PFC120 ve *S. cerevisiae* PFC107 suşları ön plana çıkmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında, *S. cerevisiae* PFC121 ile yapılan fermantasyon deneme deseni; 20 °C ve 30 °C fermantasyon sıcaklığı; 4 ve 6 başlangıç pH'sı; 24,48 ve 72 saat fermantasyon süresi; tam buğday, çavdar ve yulaf unu substrat türleri kullanılmıştır. Yapılan optimizasyon çalışmasında; PLS-R, PCA ve Isı Haritası modeli oluşturulmuştur.

2-metil-1-propanol, etil asetat ve 2-metil-1-propil asetat, farklı sıcaklıkta anlamlı farklılıkta üretilmiştir ($p<0,05$). Un çeşidi esterlerin, aldehitlerin ve yüksek alkollerin çoğunu anlamlı farklılıkta etkilemiştir ($p<0,05$). 3-Metil-1-butil asetat, 2-metil-1-propil asetat ve etil asetat miktarı, farklı fermantasyon sürelerinde istatistiksel anlamda farklıdır ($p<0,05$). Nonanal, benzaldehit ve 3-metil-1-butil asetat miktarı, pH'dan önemli düzeyde etkilenmiştir ($p<0,05$). Optimizasyon sonrasında yüksek miktarda üretim gözlenen parametreler; tam buğday ununda W-T30-p6-48 (30 °C, pH 6, 48.saat), tam çavdar ununda R-T20-p6-72 (20 °C, pH 6, 72.saat) iken tam yulaf ununda ise O-T30-p6-72 (30 °C, pH 6, 72.saat) olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; uçucu aroma bileşiklerini üretmek amacıyla *S. cerevisiae* PFC121 ile en uygun fermantasyon parametresinin; tam buğday unu, 30 °C fermantasyon sıcaklığı, 6 başlangıç pH'sı ve 48 saat fermantasyon süresi olduğu belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Ekmek aroması, *S. cerevisiae*, maya aroma metabolizması, fermantasyon, optimizasyon.

ABSTRACT

PRODUCTION AND OPTIMIZATION OF BREAD AROMA COMPOUNDS BY USING VARIOUS YEAST STRAINS

MSC THESIS

RAMAZAN NICIN

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
FOOD ENGINEERING
(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. OMER SIMSEK)

DENİZLİ, AUGUST 2020

The aroma of bread is one of the most prominent sensory features in terms of product acceptability. Especially in recent years, consumers have been in search of aromatic bread and the lack of aroma in breads produced by quick fermentation is negatively viewed by consumers.

In the first stage of this thesis, 20 different yeast strains were used in order to determine the yeast species with high ability to produce volatile aroma compounds important for bakery. The relationship between volatile aroma compounds and yeast strains was investigated; *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) PFC121, *Kluyveromyces marxianus* PFC120 and *S. cerevisiae* PFC107 strains came to the fore.

In the second phase of the study, fermentation experiment design with *S. cerevisiae* PFC121; 20 °C, 30 °C; 4, 6 pH; 24,48 and 72 hours; whole wheat, rye, and oat flour were used. In the optimization study; PLS-R, PCA and Heat Map model was created.

2-methyl-1-propanol, ethyl acetate and 2-methyl-1-propyl acetate were produced significantly differently at different temperatures ($p < 0,05$). Flour type affected most of the esters, aldehydes and higher alcohols with a significant difference ($p < 0,05$). The amounts of 3-methyl-1-butyl acetate, 2-methyl-1-propyl acetate and ethyl acetate were statistically different at different fermentation times ($p < 0,05$). The amount of nonanal, benzaldehyde and 3-methyl-1-butyl acetate was significantly affected by pH ($p < 0,05$). It was determined parameters with a high amount of production after optimization as; W-T30-p6-48 (30 °C, pH 6, 48 hours) in whole wheat flour, R-T20-p6-72 (20 °C, pH 6, 72 hours) in whole rye flour, whereas O-T30-p6-72 (30 °C, pH 6, 72 hours) in whole oat flour.

As a result; in order to produce volatile flavor compounds, the most suitable fermentation parameter with *S. cerevisiae* PFC121; It was determined that whole wheat flour, 30 °C, 6 pH and 48 hours.

KEYWORDS: Bread aroma, *S.cerevisiae*, yeast aroma metabolism, fermentation, optimization.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
KISALTMA LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Tezin Amacı	2
1.2 Literatür Özeti	3
1.2.1 Ekmek ve Aroma	3
1.2.2 Koku Alma Prosesi	4
1.2.3 Ekmekte Aromanın Önemi	4
1.2.4 Gıdalardaki Aromanın Algısında Rol Oynayan Etkenler	6
1.2.4.1 Eşik Değeri.....	7
1.2.4.2 Koku Aktivite Değeri.....	7
1.2.4.3 Lezzet Seyreltme Faktörü	8
1.2.5 Ekmekteki Uçucu Aroma Bileşikleri.....	8
1.2.5.1 Aldehitler.....	9
1.2.5.2 Alkoller	10
1.2.5.3 Ketonlar.....	11
1.2.5.4 Esterler	13
1.2.6 Ekmekte Aroma Oluşumunu Etkileyen Biyolojik ve Kimyasal Faktörler.....	14
1.2.6.1 Lipit Oksidasyonu	17
1.2.6.2 Maillard Reaksiyonu	18
1.2.6.3 Fermantasyon	20
1.2.6.4 Fermantasyonu Etkileyen Faktörler	25
1.2.6.4.1 Maya Suşunun Etkisi	25
1.2.6.4.2 Fermantasyon Sıcaklığının Etkisi	27
1.2.6.4.3 Fermantasyon Süresinin Etkisi	29
1.2.6.5 Diğer Faktörlerin Etkisi.....	29
1.2.6.5.1 Un.....	30
1.2.6.5.2 Enzimlerin ve Katkı Maddelerinin Kullanımı	30
1.2.6.5.3 Pişirme Yöntemleri	31
1.2.6.5.4 Ekmeğin Pişirildikten Sonra ve Depolanması Sırasında Aroma Değişimi	32
1.2.7 Maya Aroma Metabolizması	33
2. MATERYAL VE METOT	39
2.1 Çalışmada Kullanılan Maya Suşları, Besiyeri Ortamları ve Saklama Koşulları	39
2.2 Fermantasyon Substratı ve Hazırlanması	39
2.3 Çeşitli Maya Suşları Kullanılarak Pre-ferment Hamur Üretimi.....	40

2.4	Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin Uçucu Aroma Bileşik İçeriğinin Belirlenmesi.....	40
2.5	Ekmekçilik Açısından Önemli Uçucu Aroma Bileşikleri Üreten Maya Suşları ile Fermente Edilen Pre-ferment Örnekleri Kullanılarak Ekmek Yapımı.....	41
2.6	Ekmekçilik Açısından Önemli Uçucu Aroma Bileşikleri Üreten Maya Suşları ile Fermente Edilen Pre-ferment Örnekleri Kullanılarak Pişirilen Ekmeklerin Duyusal Analizi.....	42
2.7	<i>S. cerevisiae</i> PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinde Pre-ferment Hamurun Üretimi	42
2.8	<i>S. cerevisiae</i> PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinde Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin Maya Sayımı	43
2.9	<i>S. cerevisiae</i> PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerin Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin pH Ölçümü	43
2.10	İstatistiksel Analiz ve Modelleme	44
3.	BULGULAR VE TARTIŞMA	45
3.1	Fermantasyon Substratının Özellikleri	45
3.2	Maya Suşlarıyla Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin Uçucu Aroma Bileşik İçeriği	46
3.3	Maya Suşları ile Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örnekleri Kullanılarak Pişirilen Ekmeklerin Duyusal Analiz Özellikleri	51
3.4	<i>S. cerevisiae</i> PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinde Pre-ferment Hamur Üretimi	53
3.5	<i>S. cerevisiae</i> PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinde Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin Maya Sayım Sonuçları ..	54
3.6	<i>S. cerevisiae</i> PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinde Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin pH Ölçüm Sonuçları.....	55
3.7	<i>S. cerevisiae</i> PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinde Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin Uçucu Aroma Bileşik İçeriği	57
3.7.1	Fermantasyon Sıcaklığının <i>S. cerevisiae</i> PFC121 Suşunun Uçucu Aroma Bileşik Üretimine Etkisi	58
3.7.2	Un Çeşidinin <i>S. cerevisiae</i> PFC121 Suşunun Uçucu Aroma Bileşik Üretimine Etkisi	59
3.7.3	Fermantasyon Süresinin <i>S. cerevisiae</i> PFC121 Suşunun Uçucu Aroma Bileşik Üretimine Etkisi	60
3.7.4	Fermantasyon Ortamı Başlangıç pH'sının <i>S. cerevisiae</i> PFC121 Suşunun Uçucu Aroma Bileşik Üretimine Etkisi	61
3.8	Fermantasyon Koşulları ve Aroma Bileşikleri Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi	62
3.8.1	Kısmi En Küçük Kareler Regresyon Modeli (PLS-R)	62
3.8.2	Temel Bileşen Analizi (PCA)	65
3.8.3	Isı Haritası (HeatMap) Modeli.....	68
4.	SONUÇ VE ÖNERİLER	70
5.	KAYNAKLAR.....	72
6.	EKLER.....	85
EK A.	Şekil A.1	85
EK B.	Tablo B.1	85
EK C.	Tablo C.1	85
7.	ÖZGEÇMİŞ.....	91

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: İnsan beyninde koku alma ve sinyal iletim süreci ve bu süreçte rol oynayan yapıların gösterimi	5
Şekil 1.2: Aldehitlerin genel yapısı	9
Şekil 1.3: Su ve metanol molekülünün yapısı	10
Şekil 1.4: Ketonların genel yapısı	12
Şekil 1.5: Esterleşme reaksiyonu: Asetik asit ve etanolün reaksiyonu sonucu etil asetat ve su oluşumu.....	13
Şekil 1.6: Fenilalenin aminoasidinin maya tarafından Ehrlich yolu ile metabolize edilmesi.....	22
Şekil 1.7: Ekmekte önemli aroma bileşiklerinin üretilmesinde izlenen maya metabolizmasındaki önemli metabolik yolların şematik gösterimi.....	36
Şekil 3.1: 20 farklı maya suşu ile ayrı ayrı fermente edilmiş pre-fermentlerin uçucu bileşik profillerine göre ısı haritası gösterimi.....	50
Şekil 3.2: <i>S. cerevisiae</i> PFC121, <i>K. marxianus</i> PFC120 ve <i>S. cerevisiae</i> PFC107 suşlarının pre-fermenti kullanılarak ve pre-ferment kullanılmadan üretilen ekmeklerin aroma yoğunluğu açısından duyusal analiz sonuçları	51
Şekil 3.3: <i>S. cerevisiae</i> PFC121, <i>K. marxianus</i> PFC120 ve <i>S. cerevisiae</i> PFC107 suşlarının pre-fermenti kullanılarak ve pre-ferment kullanılmadan üretilen ekmeklerin lezzet beğenisi açısından duyusal analiz sonuçları.	52
Şekil 3.4: Duyusal analizde panelistler tarafından değerlendirilen ekmekler... 53	
Şekil 3.5: <i>S. cerevisiae</i> PFC121 maya suşunun DRBC agar besiyeri içeren petrideki kolonileri	54
Şekil 3.6: <i>S. cerevisiae</i> PFC121 suşu ile farklı koşullarda fermente edilen örneklerin ortamdaki maya sayısı	55
Şekil 3.7: <i>S. cerevisiae</i> PFC121 inoküle edilen ve fermantasyon başlangıç pH'sı $6 \pm 0,1$ olan pre-ferment örneklerinin pH değişimi.....	56
Şekil 3.8: <i>S. cerevisiae</i> PFC121 inoküle edilen ve fermantasyon başlangıç pH'sı $\pm 0,3$ olan pre-ferment örneklerinin pH değişimi.....	57
Şekil 3.9: Uçucu aroma bileşikleri ve fermantasyon parametreleri arasındaki kısmi en küçük kareler regresyon (PLS-R) korelasyon grafiği.....	63
Şekil 3.10: Uçucu aroma bileşikleri, fermantasyon parametreleri ve pre-ferment örnekleri arasındaki kısmi en küçük kareler regresyon (PLS-R) korelasyon grafiği	64
Şekil 3.11: Farklı parametrelerde PFC121 maya suşuyla fermente edilen pre-ferment hamur örnekleri ile uçucu aroma bileşiklerinin Temel Bileşen Analizi'ndeki önemli bileşik gruplarının gösterimi	66
Şekil 3.12: Farklı parametrelerde PFC121 maya suşuyla fermente edilen pre-ferment hamur örnekleri ile uçucu aroma bileşiklerinin Temel Bileşen Analizi'ndeki önemli parametrelerin gösterimi	67
Şekil 3.13: Pre-ferment hamur örneklerinin uçucu aroma bileşik içeriği ve çeşitliliğine göre dağılımını gösteren ısı haritası.....	69
Şekil A.1: Duyusal analiz panelist formu	85

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik aldehit bileşikleri ve koku tanıları.....	10
Tablo 1.2: Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik alkol bileşikleri ve koku tanıları.....	11
Tablo 1.3: Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik keton bileşikleri ve koku tanıları.....	12
Tablo 1.4: Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik ester bileşikleri ve koku tanıları.....	13
Tablo 1.5: Ekmekte tespit edilen önemli uçucu aromatik bileşikler.....	15
Tablo 2.1: Pre-ferment örneklerinin deneysel kodlarını içeren substrat, sıcaklık ve başlangıç pH'sının gösterimi	43
Tablo 3.1: Farklı hamur verimlerinde hazırlanan un-su karışımında enzim aktivitesi sonundaki glukoz miktarı	46
Tablo 3.2: Ekmekçilik açısından önemli olan 10 farklı aroma bileşiğinin, koku tanımı ve orijinini içeren genel görünümü	47
Tablo 3.3: 20 farklı maya suşu ile fermente edilen her bir fermantasyon ortamının fermantasyon sonundaki ekmekçilik açısından önemli aroma uçucu bileşik profili.....	48
Tablo B.1: Ekmekçilik açısından anahtar rolü olan 10 uçucu aroma bileşiğinin miktarları	86
Tablo C.1: <i>S. cerevisiae</i> PFC121 suşuyla fermente edilen örneklerde tespit edilen uçucu aroma bileşikleri.....	89

SEMBOL LİSTESİ

α	:	Alfa
β	:	Beta
>	:	Büyüktür
<	:	Küçüktür
°C	:	Santigrat Derece
mg	:	Miligram
g	:	Gram
kg	:	Kilogram
μg	:	Mikrogram
mL	:	Mililitre
L	:	Litre
μL	:	Mikrolitre
%	:	Yüzde
sa	:	Saat
Da	:	Dalton
log	:	Logaritma
pKa	:	Asitlik Kuvveti (-log)
M	:	Molarite
μm	:	Mikrometre
g	:	G-Kuvveti
U	:	Enzim Birimi
\pm	:	Artı-Eksi

KISALTMA LİSTESİ

LAB	:	Laktik Asit Bakterisi
KOB	:	Koloni Oluşturan Birim
GC	:	Gaz Kromatografisi (Gas Chromatography)
MS	:	Kütle Spektrometresi (Mass Spectrometry)
PCA	:	Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis)
PLS-R	:	Kısmı En Küçük Kareler Regresyon (Partial Least Square Regression)
KAD	:	Koku Aktivite Değeri
LS	:	Lezzet Seyreltme
S.	:	<i>Saccharomyces</i>
K.	:	<i>Kluyveromyces</i>
L.	:	<i>Lactobacillus</i>
HS	:	Tepe Boşluğu (Head Space)
SPME	:	Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (Solid Phase Micro Extraction)
M.Ö.	:	Milattan Önce
TBU	:	Tam Buğday Unu
RBU	:	Rafine Buğday Unu
TCA	:	Trikarboksilik Döngüsü (TriCarboxylic Acid)
ATP	:	Adenozin 3-Trifosfat (Adenosine Triphosphate)
GP	:	Gliserol-3-Fosfataz (Glycerol-3-Phosphatase)
GPD	:	Gliserol-3-Fosfat Dehidrogenaz
PDC	:	Piruvat Dekarboksilaz
AD	:	Alkol Dehidrogenaz
AcD	:	Asetaldehit Dehidrogenaz
AcCoAS	:	Asetat Asetil Koenzim A Sentaz
YPD	:	Maya Özütü Pepton Dekstroz
DRBC	:	Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol
PBS	:	Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi

ÖNSÖZ

Her Őeyden önce, tez çalışmam sırasında fikirleriyle ve deneyimleriyle bana bakış açası kazandıran, her türlü maddi ve manevi desteğini her zaman hissettiğim, bilim insanı kişiliğini örnek aldığım danışman hocam sayın Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK'e teőekkürlerimi bir borç bilirim.

Yüksek lisansa beraber başladığım ve yüksek lisansı beraber bitirdiğim, her ânımda yanımda olan, sonsuz desteğini her zaman hissettiğim, aynı yolu paylaştığımız Ayőe BIYIKLI'ya sonsuz teőekkür ederim.

Tahıl teknolojisi hakkındaki bilgi ve tecrübesiyle destek olan sayın Doç. Dr. İlyas ÇELİK başta olmak üzere bölümümüzün öğretim üyelerine teőekkür ederim.

Sabırları ve sonsuz destekleriyle her zaman yanımda olan annem Emine NİÇİN'e ve babam Mehmet NİÇİN'e sonsuz minnetlerimi sunarım. Bugünlere gelmemde bana destek olan büyük aileme de teőekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte destekleri benden esirgemeyen ve her zaman yanımda olan kardeşlerim Baki'ye, M.Ali'ye, Sabri'ye ve diğer tüm arkadaşlarıma teőekkür ederim.

1. GİRİŞ

Ekmek, dünyada en çok tüketilen gıdalardan biridir. Ekmek seçiminde ekmeğin; rengi, aroması, tekstürü gibi bazı faktörler ön plana çıkmaktadır. Ekmek aroması, tüketicilerin ekmek seçiminde değerlendirdiği önemli duyuşal özelliklerden biridir. Aroma, koku alma reseptörleri aracılığıyla uçucu bileşiklerin algılanmasının sonucudur. Tatmin edici bir ekmek aromasından sorumlu olan uçucu bileşiklerin oluşumuna yol açan mekanizmaların ortaya çıkarılması için ekmek aroması alanında araştırmalar yapmak son derece elzemdir. Bu temel araştırmaların yanı sıra, endüstriyel ekmek üreticileri, ekmek aromasının geliştirilmesine yönelik yeni yaklaşımlara ihtiyaç duymaktadır.

Son yıllarda ekmek israfının artması, önemli miktarda maddi kayba neden olmaktadır. Tüketicilerin aromatik ekmek arayışında olması, ancak hızlı fermantasyonla üretilen ekmekteki aroma eksikliği tüketicileri aroma açısından tatmin etmemektedir. Ekşi hamur kullanımı, ekmeğin aromasını geliştirmekte ancak çok uzun süren fermantasyon süresi nedeniyle endüstriyel boyutta yüksek talebin karşılanmasında yetersiz kalmaktadır.

Endüstriyel boyutta yüksek talebin karşılanması amacıyla ekmek üretim sürecindeki fermantasyon süresini azaltmak; ekmeğin aroması, tadı, dokusu ve raf ömrü üzerinde istenmeyen etkilere neden olmaktadır. Bu sorunları telafi etmek için fırıncılık endüstrisinde daha fazla miktarda maya ve/veya katkı maddesi ilave edilmekte, bu da verim kaybına ve ekstra maliyete neden olmaktadır. Bununla birlikte, tek suşlu maya ile hızlı fermantasyonlar sonucunda arzu edilen ürün kalitesi sağlanamamaktadır (Mrvcic ve diğ. 2009). Ekmeğin aromasına olumlu etkide bulunan uçucu aroma bileşiklerinin miktarının ve çeşidinin artırılması ile ekmeğin tercih edilebilirliği artırılabilir. Bu doğrultuda sunulan yaygın yaklaşımlar, aromatik starter kültür ve maya suşlarının kullanılması veya sıvı ekşi hamur ilave edilmesidir. Ancak bu yaklaşımlar sonucunda arzulanan aroma garanti edilememektedir. Önceden fermente edilerek üretilen ekmek aroma bileşiklerinin ekmek üretiminde doğrudan ilave edilmesi, tanımlanan soruna çözüm olabilir. Böylece aromatik açıdan daha

tatmin edici ekmek tüketimi ile bireylerde doygunluk düzeyi artarak, tüketilen ekmek miktarının düşürülmesinde ayrıca ekmek israfının önlenmesine katkıda bulunarak, ekonomik açıdan önemli bir kazanım sağlanabilecektir.

Bu tezde, çeşitli maya suşları kullanılarak ekmek aroma bileşenlerinin üretimi ve optimizasyonu hedeflenmiştir. Bu tez sonucunda elde edilecek aroma karışımının, endüstriyel ekmek üreticileri tarafından ekmek yapım aşamasında kullanılabilir olması, ekmek aromasının geliştirilmesine yeni bir boyut katacaktır.

1.1 Tezin Amacı

Bu çalışmanın temel amacı, ekmek üretiminde kullanılabilir, ekmeğin aromasını zenginleştiren önceden hazırlanan aroma karışımının hazırlanması için aroma üreticisi maya suşlarının belirlenmesi ve aroma üretimi için fermantasyon koşullarının optimizasyonudur. Bu amaç doğrultusunda:

- 1) Çeşitli maya suşlarının ekmekçilik açısından önemli aroma bileşiklerini üretme yeteneğinin belirlenmesi için çeşitli fermente tahıl ürünlerinden izole edilmiş 20 farklı maya suşunun ayrı ayrı tam buğday unu-su karışım ortamında inokülasyonu sonrasında, bu maya suşlarının metabolizması ile üretilen aroma bileşiklerinin değerlendirilmesi, bunun yanında bu maya suşları tarafından üretilen aroma karışımları ile yapılacak ekmeklerin duyuşal açıdan değerlendirilmesi sonucunda en uygun aromatik maya suşunun seçilmesi,
- 2) Belirlenen aromatik maya suşu ile farklı parametrelerde üretim yapılması için; fermantasyon sıcaklığı, fermantasyon süresi, fermantasyon başlangıç pH'sı ve substrat türü parametrelerinde, 3 parametre sabit tutulurken diğer parametre değiştirilerek toplamda 36 farklı koşulda pre-ferment üretilip, her bir pre-fermentin aromatik uçucu bileşenlerinin tespit edilmesi,
- 3) Ekmekçilik açısından önemli 10 aroma bileşiğinin seçilerek, kullanılan farklı parametrelerin bu bileşiklere olan etkisinin incelenmesi, optimizasyon çalışması sırasında gözlem değerleri ile değişken değerler arasındaki korelasyonun incelenmesi için Temel Bileşen Analizi (PCA), Kısmi En Küçük Kareler Regresyon (PLS-R) modelinin oluşturulması ve

aroma bileşikleri ile parametreler arasındaki korelasyonun gözlenmesi için Isı Haritası (HeatMap) modelinin oluşturulmasından sonra en uygun fermantasyon parametresinin seçilmesi hedeflenmiştir.

1.2 Literatür Özeti

1.2.1 Ekmek ve Aroma

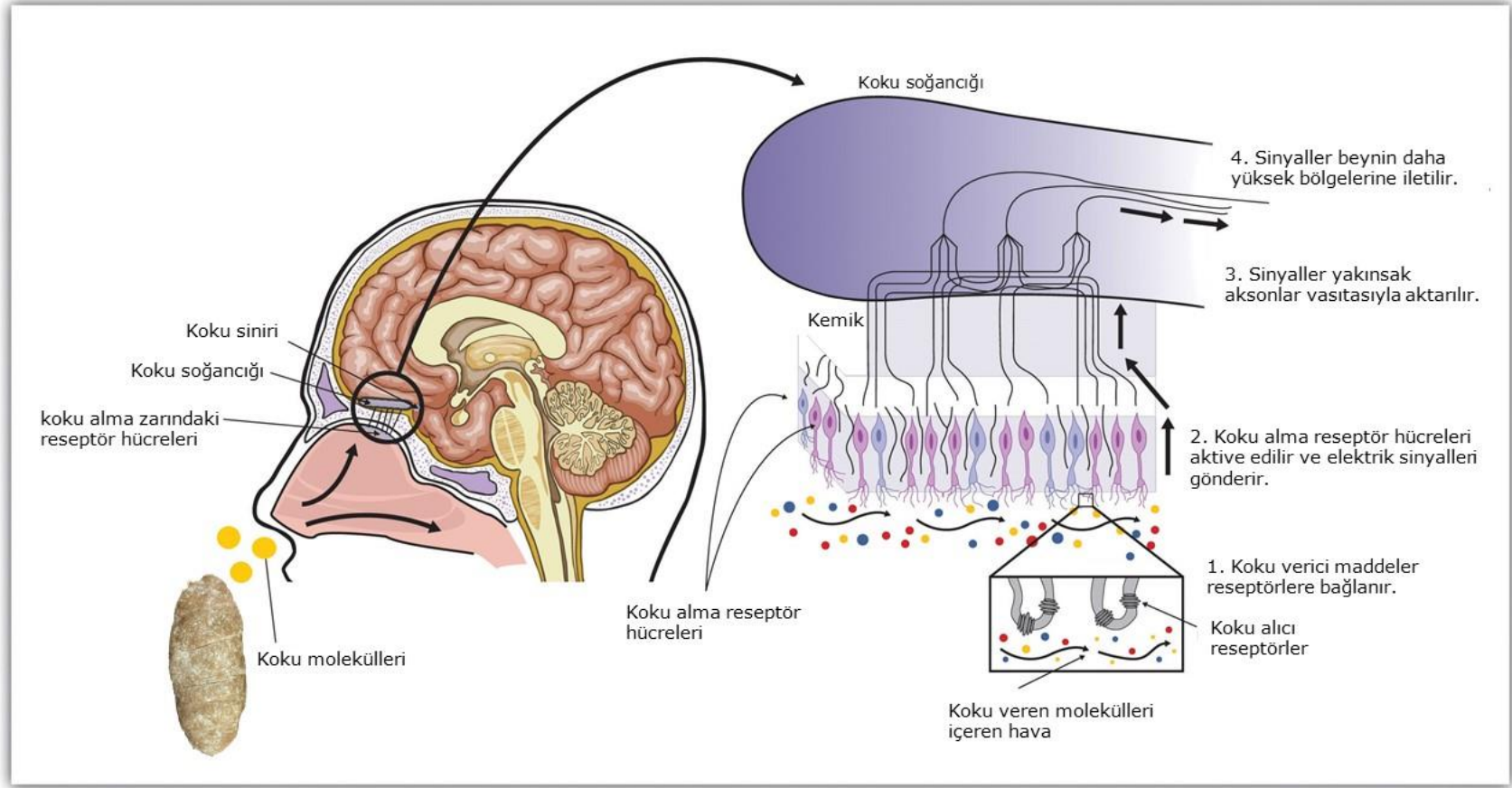
Ekmek, geçmişi neolitik çağa uzanan, M.Ö. 10.000 veya M.Ö. 12.000 yıllarında ilk kez yapıldığı tahmin edilen, su, un, tuz ve maya ile hazırlanan ve pişirilen temel bir gıda maddesidir. Mısırlılar, ekmeği dünyaya tanıtmıştır (Mondal ve Datta 2008). Tat ve aroma, şüphesiz ekmeğin kalitesini etkileyen en önemli özelliklerdir. Avrupalı tüketicilerin %62'sine göre, ekmeğin aromatik kalitesi, tüketicilerin ekmeğe tercihlerini etkileyen en önemli faktördür (Lambert ve diğ. 2009). Aroma, koku reseptörleriyle etkileşime giren uçucu bileşiklerin algılanmasından kaynaklanır. Uçucu bileşikler, düşük moleküler ağırlıkta (30 ila 300 Da arasında) ve doygun bir buhar basıncıyla karakterize edilirler (Prost ve diğ. 2012). Lezzet, iki geniş sınıfa ayrılan bileşiklerin etkileşimiyle oluşur. Bu uçucu bileşikler, tattan sorumlu olanlar ve kokulardan sorumlu olanlar olarak ikiye ayrılır. Kokulardan sorumlu olan bileşikler genellikle aroma maddeleri olarak adlandırılır. Bununla birlikte, her iki hissi sağlayan bileşikler de vardır. Tattan sorumlu bileşikler genellikle oda sıcaklığında uçucu değildir. Bu nedenle, sadece dilin tat tomurcuklarında bulunan tat reseptörleri ile etkileşime girerler. Dört önemli temel tat algısı ekşi, tatlı, tuzlu ve acıdır. Umami (glutamat), beşinci temel tadı uyarır (Belitz ve diğ. 2009). Uçucu bileşikler, gıda ürünü ile gaz fazı arasında dağılır. Gaz halinde, bu bileşikler koku alma merkezine ulaşır ve ürün kokusu olduğunda koku (ortonazal yol) veya yiyecek yenildiğinde tat (retronazal yol) olarak adlandırılan bir uyarıcı üretir (Prost ve diğ. 2012). Aroma maddeleri kavramı, tat maddeleri kavramı gibi, genel hatlarıyla kullanılmalıdır, çünkü bir bileşik bir yiyeceğin tipik kokusuna veya tadına katkıda bulunabilirken, başka bir gıdada istenmeyen bir koku veya tada ya da her ikisine birden neden olabilir (Belitz ve diğ. 2009).

1.2.2 Koku Alma Prosesi

Koku, milyonlarca duyu nöronunun oluşturduğu bir doku olan ve burnun arka kısmında bulunan koku alma merkezinde başlar. Koku alma hücrelerinin uçları, uçucu bileşikleri bağlayan koku alma reseptörleri (G-proteini bağlı reseptörler, GPCR'ler) olarak adlandırılan protein içerir. Reseptörler farklı moleküller tarafından aktive edilerek çok çeşitli kokuların saptanmasını sağlar. Koku molekülü koku alma reseptörü ile etkileşime girdikten sonra, duyu nöronlardan ön bölgede bulunan koku alma ampulüne doğru hareket eden ve diğer beyin bölgelerine iletilen bir elektrik sinyali başlatılır. İlki, işlevi kokunun tanımlanması olan piriform korteks; diğeri, öğrenme ve bellekte yer alan duyu bilgilerin hipokampus ve amigdala gibi beyin alanlarının geri kalanı için bir istasyon görevi gören talamustur. (Araneda ve diğ. 2000, Buck 1992, Bushdid ve diğ. 2014) Koku alma süreci Şekil 1.1'de gösterildiği gibi, burnun arkasında bulunan ve milyonlarca duyu nöronundan oluşan bir doku olan koku alma epitelinde başlar (Carbajo 2018).

1.2.3 Ekmekte Aromanın Önemi

Uzun zamandır araştırmalar çoğunlukla ekmek yapısını iyileştirmeye ve ekmeğin hacmini artırmaya odaklanmıştır. Son zamanlarda kalite kriteri olarak tüketicilerin yanı sıra fırıncılık endüstrisi de ekmeğin aromasına dikkat etmektedir. Genel olarak, ekmek lezzetinin; kullanılan malzemeler, maya ve/veya laktik asit bakterileri (LAB) tarafından hamur fermantasyonu sırasında oluşan reaksiyonlar ve pişirme sırasında meydana gelen termal reaksiyonlardan etkilendiği belirtilmiştir (Birch ve diğ. 2014, Cho ve Peterson 2010).



Şekil 1.1: İnsan beyninde koku alma ve sinyal iletim süreci ve bu süreçte rol oynayan yapıların gösterimi (Carbajo 2018)

Katkı maddesi kullanmadan üretilen, yüksek kaliteye sahip doğal ekmek, bugün standart müşteri talebi haline gelmiştir. Bunun aksine, fırıncılık endüstrisinde, kolay ekmek pişirme işlemlerinin kullanımına yönelik bir eğilimin olması ve fermantasyonun kısa sürmesi sonucu özellikle ekmek aroması ve lezzetinin gelişimi sınırlanmaktadır. Dolayısıyla birçok fırıncı, pre-ferment ya da ekşi hamur kullanmaktadır. Pre-ferment terimi, ekmek hamurunun temeli olan ve fırıncılık ürünlerinin teknolojik, duyuusal ve diğer özelliklerini dahil etmek ya da bu özellikleri zenginleştirmek için ekşimeye veya olgunlaşmaya bırakılan hamur için kullanılır. Fırıncılık endüstrisinde kullanılan sıvı pre-ferment ürünlerin ana problemi, bu sıvı pre-fermentlerle hazırlanan ekmeklerdeki lezzet eksikliğidir (McKinnon ve diğ. 1996, Mrvcic ve diğ. 2009).

Bazı tipik buğday ekmeklerinin hazırlanmasında, hamur fermantasyonundan önce fermente edilen, un, su ve maya içeren pre-ferment kullanılmaktadır. Maya fermantasyonu sırasında; maya miktarı, fermantasyon zamanı gibi parametreler, özellikle ekmek içi uçucu aroma bileşiklerini ve miktarını önemli düzeyde etkilemiştir. Önceden fermente edilmiş hamurlardan hazırlanan ekmeklerin, düz hamur buğday ekmeklerinden daha üstün tatlar sergilediği belirtilmiştir (Gassenmeier ve Schieberle 1995).

1.2.4 Gıdalardaki Aromanın Algısında Rol Oynayan Etkenler

Gıdalarda bulunan uçucu maddeler çok sayıda olmasına rağmen bu bileşiklerin miktarı son derece düşüktür (yaklaşık 10-15 mg/kg). Özellikle termal işlemlerle tek başına (örneğin kahve) veya bir fermantasyon işlemiyle (örneğin ekmek, bira) yapılan gıdalar 800'den fazla uçucu bileşik içerir. Tüm uçucu bileşik arasından uçucu aroma bileşikleri daha azdır. Aroma maddeleri olarak kabul edilen bileşikler öncelikle gıdalarda koku ve/veya tat eşiklerinden daha yüksek konsantrasyonlarda bulunan bileşiklerdir. Koku ve/veya tat eşiklerinden daha düşük konsantrasyonlara sahip bileşikler, bir arada bulduklarında bu eşikleri aşabilir ve aştığında aromaya da katkıda bulunabilir (Belitz ve diğ. 2009).

1.2.4.1 Eşik Değeri

Uçucu bileşimin kokusunun tanınması için yeterli olan en düşük konsantrasyona koku eşiğı (tanıma eşiğı) denir. Eşik değerleri örneğın kokusu (ortonazal değer) ve örneğın tadımı (retronazal değer) ile belirlenir. Aroma bileşikleri için eşik konsantrasyonları, hem sıcaklıktan hem de ortamdan etkilenen buhar basıncına bağlıdır. Diğer koku üreten maddelerle etkileşimler, koku eşiklerinde güçlü bir artışa neden olabilmektedir (Belitz ve diğ. 2009).

1.2.4.2 Koku Aktivite Değeri

Uçucu aroma bileşikleri, gıda ürünü yenildiğinde algılanan bileşiklerdir (Birch ve diğ. 2014). Literatürde bildirilen yüzlerce uçucu bileşimin sadece küçük bir kısmı buğday ekmeğinin aromasında önemlidir (Paraskevopoulou ve diğ. 2012, Poinot ve diğ. 2007). Tüm uçucu bileşikler aroma üzerinde aynı derecede etkiye sahip değildir (Quilez ve diğ. 2006). Algılanan uçucu aroma bileşikleri büyük ölçüde bileşiklerin koku aktivite değerine (KAD) bağlıdır (Pico ve diğ. 2015). Koku aktivite değerinin hesaplanması bir gıda ürünündeki aroma aktif bileşikleri değerlendirmek için yapılır. KAD, gıda ürünündeki uçucu bileşimin konsantrasyonunun bileşik koku eşiğine oranı olarak tanımlanır (Birch ve diğ. 2014). Ekmekteki koku eşiğinin KAD ile ilişkisi çok önemlidir çünkü yüksek konsantrasyonlarda bulunan bileşikler insan burnu tarafından çok az algılanabilirken, düşük konsantrasyonlardaki bileşikler yüksek KAD nedeniyle nihai aromada belirleyici olabilmektedir (Pico ve diğ. 2015). Bu nedenle, uçucu bileşimin konsantrasyonu bileşimin koku eşiğini aştığında bileşik algılanır (Birch ve diğ. 2014).

Ekmek uçucularının KAD'larını hesaplarırken, sudaki koku eşiğı değerleri kullanılır. Bununla birlikte, ekmeğın karmaşık bir gıda matrisi olmasından dolayı bir aroma bileşiminin sudaki koku eşik değeri, ekmeğın içindeki KAD ile birlikte değerlendirilmelidir. Bu hususta, 2-asetil-1-pirolin, yüksek KAD'a sahip olmasından dolayı ekmeğın kabuğının en önemli bileşiklerinden biridir. 2-Asetil-1-pirolinden daha düşük KAD'a sahip nonenalin konsantrasyonu, 2-asetil-1-pirolinin konsantrasyonundan daha fazla olmasına rağmen 2-asetil-1-pirolinden çok daha az

algılanır. Bu nedenle, 2-asetil-1-pirolin, buğday ekmeğinin kabuğunun birincil koku bileşiği olarak düşünülmektedir (Birch ve diğ. 2014, Cho ve Peterson 2010).

1.2.4.3 Lezzet Seyreltme Faktörü

Lezzet seyreltme faktörü (LS faktörü), başlangıç ekstrakttaki uçucu bileşiğin konsantrasyonunun, kokunun GC kolonundan ayrılan uçucu bileşikleri saptandıktan sonra dedektör tarafından hala tespit edilebildiği en seyreltik ekstrakttaki konsantrasyonuna oranı olarak tanımlanmaktadır. Aroma ekstraksiyonu seyreltme analizi, gıdanın sıvı ekstraktının gaz kromatografisi olfaktometrisine (GC-O) dayanır (Schieberle ve Grosch 1987). Aroma ekstraksiyonu seyreltme analizinde, aroma bileşikleri tamamen uçucu hale getirilir. Daha sonra aroma bileşiklerinin gıdalardaki uçuculuğu, su ve lipit fazlarındaki çözünürlüklerine ve ayrıca uçucu olmayan gıda bileşenlerine bağlanmalarına göre değerlendirilir (Grosch 1994). KAD tipik olarak LS faktörlerinin sınırlamaları nedeniyle LS'ye ek olarak hesaplanır. Bu nedenle, LS faktörlerinin hesaplanması, güçlü uçucu bileşiklerin analizi için uygun bir tarama yöntemidir. Bununla birlikte, Grosch (1994) aroma aktif bileşikleri bulmak için LS faktörlerinin yanında, KAD'ların hesaplanması gerektiğini belirtmiştir (Grosch 1994). KAD ve LS faktörleri, uçucu bileşiklerin aroma aktivitesi hakkında bilgi sağlar. Bununla birlikte, bileşiklerin genel aroma profiline olumlu ya da olumsuz katkıda bulunup bulunmadığına dair bilgi, koku tanımlarıyla ve ilave duyuşsal analizlerle değerlendirilir (Birch ve diğ. 2014).

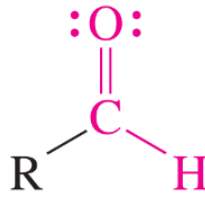
1.2.5 Ekmekteki Uçucu Aroma Bileşikleri

Alkoller, aldehitler, esterler, karbonik asitler, eterler, ketonlar, furanlar, hidrokarbonlar, laktonlar, pirazinler, piroller ve kükürt bileşikleri dahil olmak üzere ekmeğın kompleks aroma fraksiyonunda 500'den fazla bileşik tespit edilmiştir (Paraskevopoulou ve diğ. 2012). Bu uçucu bileşikler; ekmek içinde, ekmek kabuğunda veya her ikisinde bulunabilmektedir. Ekmek içindeki uçucu fraksiyon, hamur yoğurma sırasında hamurda bulunan karbonhidratların maya ve laktik asit bakterileri tarafından fermantasyonu ile üretilir (Birch ve diğ. 2013^b). Buğday unundan yapılan ekmek içinin

aroması, esas olarak mayanın fermantasyon aktivitesinden ve un lipitlerinin oksidasyonundan oluşurken (Birch ve diğ. 2013^a, Frasse ve diğ. 1993, Schieberle ve Grosch 1991), kabuktaki uçucu fraksiyon, enzimatik olmayan Maillard reaksiyonları ve şekerlerin karamelizasyonu gibi pişirme sırasında meydana gelen termal reaksiyonlar tarafından oluşur (Birch ve diğ. 2014, Maillard 1912, Nursten 1980, Purlis 2010). Bunun yanında, kabuk oluşumu sırasında ekmek içinden kabuğa veya tersi yönde koku transferi olabilir (Onishi ve diğ. 2011, Pico ve diğ. 2015).

1.2.5.1 Aldehitler

Aroma bileşenlerinden aldehitler, yapılarındaki karbonil grubuna (C=O) bağlı olarak bir hidrojen ve bir radikal taşıyan (R-CHO) bileşiklerdir. Şekil 1.2’de aldehitlerin genel yapısı gösterilmiştir (Vollhardt ve Schore 2009).



Şekil 1.2: Aldehitlerin genel yapısı

Bu bileşikler, gıdaların lezzetine ve aromasına katkıda bulunur ve birçok enzimin biyolojik fonksiyonlarına yardımcı olur (Vollhardt ve Schore 2009). Literatürde ekmek içinde önemli uçucu aroma aldehit bileşikleri olarak; hexanal, nonanal, benzaldehit, 2,4-decadienal, furfural, fenilasetaldehit, 3-metilbütanal belirtilmiştir. Ekmek içinde tespit edilen uçucu aromatik aldehit bileşikleri ve koku tanımları Tablo 1.1’de verilmiştir (Birch ve diğ. 2014).

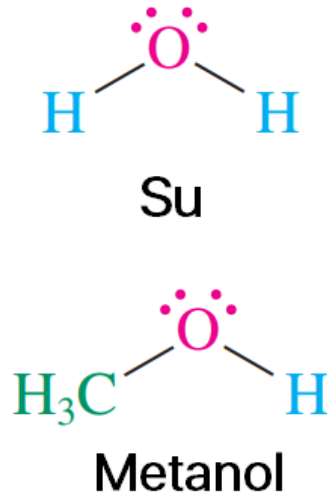
Tablo 1.1: Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik aldehit bileşikleri ve koku tanıları

Aldehit	Koku
Hexanal	Yeşil, çimen
Nonanal	Narenciye
Benzaldehit	Badem, karamel
2,4-Decadienal	Kızarmış yağ, mumsu
Furfural	Bademsi
Fenilasetaldehit	Bal benzeri, tatlı
3-Metilbütanal	Maltımsı

Ekmek içinde tanımlanmış aroma aktif aldehitler; 3-metilbütanal ve fenilasetaldehit'tir. 3-metilbütanal gibi aldehitlerin Maillard reaksiyonu sonucu oluşabileceği belirtilmiştir. Bazı aldehitler lipit oksidasyonundan kaynaklanabilirken, bazı aldehitler ise maya hücresi içindeki Ehrlich yoluyla, undaki aminoasitlerin degradasyonu ile de oluşabilmektedir (Birch ve diğ. 2014).

1.2.5.2 Alkoller

Alkoller, su molekülündeki bir hidrojenin yerine bir alkil grubunun bulunduğu su türevleri olarak adlandırılabilir. Su ve metanol yapısı Şekil 1.3'te gösterilmiştir (Vollhardt ve Schore 2009).



Şekil 1.3: Su ve metanol molekülünün yapısı

Maya, alkol fermantasyonlarında uzun zincirli ve karmaşık yapıda alkoller üretir. Bu bileşikler ve bunların türetilmiş esterleri ilginç organoleptik özelliklere sahiptir. Uçucu aromatik alkol bileşiklerinden biri, gül benzeri bir kokuya sahip olan 2-feniletanol'dür (Longo ve Sanromán 2006). Ekmek içindeki önemli uçucu aromatik alkoller; 3-metil-1-bütanol, 2-metil-1-propanol, 2-feniletanol, 1-propanol, 1-heptanol, 1-hexanol ve 1-octen-3-ol'dür. Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik alkol bileşikleri ve koku tanıları Tablo 1.2'de gösterilmiştir (Birch ve diğ. 2014).

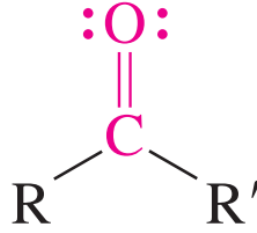
Tablo 1.2: Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik alkol bileşikleri ve koku tanıları

Alkol	Koku
3-Metil-1-bütanol	Balzemik, alkollü, malt
2-Metil-1-propanol	Tutkal, alkollü, şarap benzeri, malt
2-Feniletanol	Çiçekli, maya benzeri, bal
1-Propanol	Meyveli, alkollü, plastik, keskin
1-Heptanol	Yeşil
1-Hexanol	Yeşil çimen, çiçekli, odunsu, yumuşak, tatlı
1-Octen-3-ol	Mantar benzeri

3-metil-1-bütanol; koku aktivite değeri, yüksek lezzet seyreltme faktörü ve buğday ekmek içi aroma profili ile yaptığı pozitif korelasyon sebebiyle, literatürde en çok belirtilen fermantasyon kaynaklı aroma bileşimidir. Bir yüksek alkol olarak kabul edilen 3-metil-1-bütanol, fermantasyon sırasında maya hücresinde Ehrlich yolundaki, L-lösin aminoasidinin keto asit yoluyla bozunması ile oluşur (Pico ve diğ. 2015).

1.2.5.3 Ketonlar

Ketonlar, yapılarındaki karbonil grubuna (C=O) bağlı olarak iki radikal taşıyan (R-CO-R) bileşiklerdir. Ketonların genel yapısı Şekil 1.4'te gösterilmiştir (Vollhardt ve Schore 2009).



Şekil 1.4: Ketonların genel yapısı

Lipitlerin otooksidasyonu ile oluşan alifatik ketonlar ayrıca yağların ve gıda ürünlerinin lezzetine katkıda bulunur (Ho ve Chen 1994). Ekmek içindeki önemli uçucu aromatik ketonlar; 2,3-butanedion (diasetil), 3-hidroksi-2-butanon (acetoin), 2-octanon ve 6-metil-5-hepten-2-on'dir. Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik keton bileşikleri ve koku tanıları Tablo 1.3'te verilmiştir (Birch ve diğ. 2014).

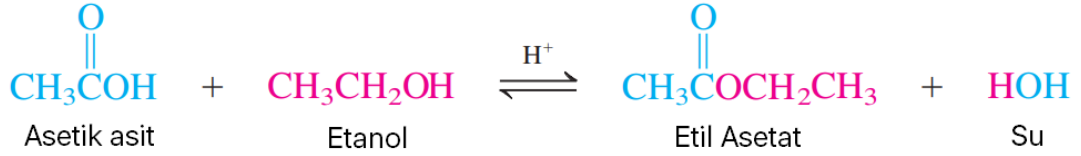
Tablo 1.3: Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik keton bileşikleri ve koku tanıları

Keton	Koku
2,3-Butanedion	Tereyağ, karamel
3-Hidroksi-2-butanon	Karamela, tereyağı, yoğurt, krema
2-Octanon	Sabunlu, meyveli
6-Metil-5-hepten-2-on	Otsu, yeşil

2,3-Bütandion; yüksek KAD, düşük koku eşik değeri (6.5 µg/kg) ve tereyağ-karamel kokusuna sahip olmasından dolayı ekmek içindeki önemli bir uçucu aromatik keton bileşiğidir. 3-Hidroksi-2-bütanon ayrıca 2,3-bütandiol'e enzimatik olarak parçalanabilir (Ehsani ve diğ. 2009). 2,3-Bütandion ve 3-hidroksi-2-butanon gibi ketonlar, maya hücresinden dışarıya enzimatik olmayan bir reaksiyonla maya hücresinden çıkan α-asetolaktattan üretilir (Duong ve diğ. 2011, Wainwright 1973). α-Asetolaktat, maya hücresinde, maya büyümesi için gerekli olan biyosentetik yolda valin ve lösin sentezinde bir ara ürün olarak üretilir (Bartowsky ve Henschke 2004, Wainwright 1973). 2,3-Bütandion, maya hücresine yeniden emilip, burada diasetil redüktaz ile 3-hidroksi-2-butanona indirgenir (Birch ve diğ. 2014, Dulieu ve diğ. 2000, Duong ve diğ. 2011).

1.2.5.4 Esterler

Alkol bileşiklerinin karboksilli asit ile reaksiyonu sonucu su ve ester bileşiği oluşur. Esterleşme reaksiyonu Şekil 1.5'te verilmiştir (Vollhardt ve Schore 2009).



Şekil 1.5: Esterleşme reaksiyonu: Asetik asit ve etanolün reaksiyonu sonucu etil asetat ve su oluşumu

Uçucu aromatik bileşiklerden esterler, alkollü içeceklerin lezzetine ve aromasına katkıda bulunan, aynı zamanda ürüne meyveli ve çiçekli koku veren önemli bileşik gruplarından biri olarak kabul edilir (Dzialo ve diğ. 2017). Etil asetat, hexil asetat, izoamil asetat ve 2-feniletıl asetat gibi asetat esterler, şarap ve diğ. üzüm türünden üretilen alkollü içeceklerde önemli uçucu aroma bileşikleri olarak kabul edilmektedir (Longo ve Sanromán 2006).

Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik ester bileşikleri; etil octanoat, etil 3-metilbütanoat, etil decanoat, izobutil asetat ve 2-feniletıl asetat'tır. Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik ester bileşikleri ve koku tanıları Tablo 1.4'te verilmiştir (Birch ve diğ. 2014).

Tablo 1.4: Ekmek içinde tespit edilen önemli uçucu aromatik ester bileşikleri ve koku tanıları

Ester	Koku
Etil octanoate	Tatlı, sabun, taze, meyveli
Etil 3-metilbutanoate	Meyveli, elma
Etil decanoate	Meyveli
Isobütil asetat	Meyveli, çiçekli
Etil fenilasetat	Gül

Ekmek içinde tespit edilen esterler, genellikle ekmek içinde bulunan diğ. bileşik sınıflarıyla karşılaştırıldığında düşük KAD ve LS faktörlerine sahip olduğu bulunmuştur. Özellikle etil asetat ve etil 3-metilbutanoat son derece uçucudur ve pişirme sırasında buharlaşır. Ekmek içinde tanımlanan esterler, kısa ila orta zincirli

yağ asitleri ve alkoller arasındaki asetil-CoA türevleri arasındaki transferazlarla katalize edilen bir enzimatik reaksiyon ile maya hücresinde üretilir (Birch ve diğ. 2014, Lilly ve diğ. 2000). Ekmek içinde tespit edilen önemli aroma bileşiklerinin orjini, koku tanısı, koku aktivite değeri, lezzet seyreltme faktörü, koku eşiği ve ekmek içinde veya kabuğunda tespiti Tablo 1.5'te gösterilmiştir (Birch ve diğ. 2014, Pico ve diğ. 2015).

1.2.6 Ekmekte Aroma Oluşumunu Etkileyen Biyolojik ve Kimyasal Faktörler

Ekmeğin aromasını kazanması açısından aşağıda sıralanan üç aşama çok önemlidir:

1-) Yoğurma; ekzopeptidaz, lipoksijenaz, amilaz gibi enzimlerin mekanik karışması ve lipitle beraber ortamda oksijenin mevcudiyetiyle gerçekleşen lipit oksidasyonu sayesinde aroma prekürsörlerinin oluşması,

2-) Fermantasyon; mikroorganizmaların aktivitesi sonucu uçucu aroma bileşikleri oluşumu,

3-) Pişirme; Maillard reaksiyonlarının sonucu olarak ekmekte uçucu aroma bileşiklerinin oluşumu (Prost ve diğ. 2012).

Tablo 1.5: Ekmekte tespit edilen önemli uçucu aromatik bileşikler

Kimyasal Grup	Uçucu Bileşik Adı	Orijini	Koku Tanısı	KAD	LS Faktörü	Koku Eşiği (µg/kg)	Ekmek içi/ Ekmek kabuğu
Aldehitler	Hexanal	L	Yeşil, çimen	12-20 ^d ve 49-87 ^c	16 ^a	4.5	İç +Kabuk
	2-Nonenal	L	Yeşil, donyağı	40-65 ^d	256 ve 128 ^b , 512 ^a	0.08	İç +Kabuk
	Benzaldehit	M,F,L	Badem, karamel	0-0.2 ^d ve 0.1-0.2 ^c	...	350	İç + Kabuk
	2,4-Decadienal	L	Kızarmış yağ, mumsu	...	512 ^a	0.1	İç + Kabuk
	Furfural	M,F	Bademsi	3000	
	Fenilasetaldehit	S,E	Bal benzeri, tatlı	8-13 ^d ve 6-35 ^c	<8 ve 16 ^b	4	İç + Kabuk
	3-Metilbutanal	S,E	Maltımsı	25-54 ^d ve 56-236 ^c	...	0.2	İç + Kabuk
Alkoller	3-Metil-1-butanol	E	Balzemik, alkollü, malt	17-25 ^d ve 25-35 ^c , 18 ve 10 ^b	128 ve 32 ^b , 32 ve 256 ^a	250	İç + Kabuk
	2-Metil-1-propanol	E	Tutkal, alkollü, şarap benzeri, malt	0.1-0.3 ^d ve 0.2-0.8 ^c	...	3200	İç + Kabuk
	2-Feniletanol	S,E	Çiçekli, maya benzeri, bal	0.2-0.4 ^d ve 0.1 ^c , 12 ve 3 ^b	512 ve 128 ^b , 4 ve 256 ^a	750-1100	İç + Kabuk
	1-Propanol	G	Meyveli, alkollü, plastik, keskin	0.1-2 ^e	...	9000	İç
	1-Heptanol	L	Yeşil	2-3 ^d ve 8-14 ^c	...	3	İç
	1-Hexanol	L	Yeşil çimen, çiçekli, odunsu	2500	İç + Kabuk

Tablo 1.5 (Devamı): Ekmekte tespit edilen önemli uçucu aromatik bileşikler

Kimyasal Grup	Uçucu Bileşik Adı	Orijini	Koku Tanısı	KAD	LS Faktörü	Koku Eşiği (µg/kg)	Ekmek içi/ Ekmek kabuğu
Alkoller	1-Octen-3-ol	L	Mantar benzeri	9-13 ^d	...	1	İç + Kabuk
Ketonlar	2,3-Butanedione	M,F	Tereyağ, karamel	9-33 ^d ve 19-103 ^c	8 ve 16 ^b , 64 ve 128 ^a	6.5	İç + Kabuk
	3-Hidroksi-2-butanone	M,F	Karamela, tereyağı, yoğurt, krema	0.8-1.5 ^c	...	800	İç + Kabuk
	2-Octanone	...	Sabunlu, meyveli	0.1-0.2 ^d	...	50	İç + Kabuk
	6-Metil-5-hepten-2-one	...	Otsu, yeşil	2-5 ^c	...	50	İç + Kabuk
Esterler	Etil octanoate	F	Tatlı, sabun, taze, meyveli	0-0.1 ^c , 19 ve 15 ^b	512 ve 128 ^b	92	İç + Kabuk
	Etil 3-metilbutanoate	F	Meyveli, elma	1.5-11 ^d	...	0.2	İç
	Izobütil asetat	...	Meyveli, çiçekli	66	İç
	Etil fenilasetat	...	Gül	650	İç
Pirazin	2,6-Dimetilpirazine	...	Kavrulmuş	200-9000	Kabuk
Furan	2-Pentilfuran	F,M,L	Tereyağı, yeşil fasulye, çiçek, meyveli, mantar, çiğ fındık	1-3 ^{c,d}	...	6	İç + Kabuk
Pirolin	2-Asetil-1-pyrroline	M	Mısır cipsi, roasty, kabuk benzeri, tatlı, tahıl, patlamış mısır benzeri, ekmek	...	16 ve 32 ^a	...	İç + Kabuk

Harflerle gösterilen kodlar: a=(Schieberle ve Grosch 1991) b=(Gassenmeier ve Schieberle 1995) c=(Birch ve diğ. 2013^b) d=(Birch ve diğ. 2013^a). Sütünde belirtilen kısaltmalar: KAD (koku aktivite değeri), uçucu bileşik konsantrasyonunun sudaki koku eşiğine oranı olarak tanımlanır. LS (lezzet seyreltme) faktörü, ilk ekstrakttaki koku verici maddenin konsantrasyonunun, kokunun hala bulunduğu en seyreltik ekstrakttaki konsantrasyonuna oranı olarak tanımlanır. Uçucu bileşiğin orijini: F = mayanın fermantasyon aktivitesinden; L = lipit bozulmasından; M = maillard reaksiyonundan; S = strecker degradasyonundan; E = ehrlich yolundan; G = glikolizisten geldiğini göstermektedir.

1.2.6.1 Lipit Oksidasyonu

Uçucu aroma bileşiklerinden aldehitler, ketonlar, alkoller ve esterler lipoksijenaz etkisi ile lipit oksidasyonundan üretilir. Doymamış yağ asitlerinin degradasyonu, buğday ekme içi aroma profilinde önemli bir rol oynar. Özellikle koku eşik değerleri düşük olan aldehitler; (E) -2- nonenal, nonanal, heksanal, heptanal ve oktanal, ekmekteki önemli uçucu aroma bileşiklerinin büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Bu aldehitler çoğunlukla çimen, donyağı, mantar veya narenciye kokuya sahiptir ve genellikle istenmeyen aroma bileşikleri olarak belirtilirler (Birch ve diğ. 2014, Zehentbauer ve Grosch 1998).

Lipit oksidasyonu ile uçucu aroma bileşiklerinin oluşmasında yoğurma önemli bir faktördür. Ekme yapımının başlangıcı olan yoğurma sırasında lipooksijenaz ve amilaz aktiviteleri başlar ve bunun yanında yoğun bir karıştırma yapılırsa daha yüksek oksijen katılımı ve daha fazla substrat-enzim teması nedeniyle lipit oksidasyonunun aktivitesi artar. Amilazların aktivitesinin başlamasıyla monosakkaritlerin ve disakkaritlerin salınımı artar. Amilazlar, amiloz ve amilopektinin α -1,4-glikozidik bağlarını hidrolize ederek etki gösterir. α -Amilaz, nişasta zincirlerini keserek glikoz birimi içeren kısa dekstrinler oluşturur. β -Amilaz, nişasta ve dekstrin zincirlerinin indirgeyici olmayan uçlarından maltoz birimleri üreten bir etkiye sahiptir. Lipoksijenazlar ise, lipitleri aldehitlere ve ketonlara dönüştürmek için oksijen kullanır (Prost ve diğ. 2012). Bu uçucu aroma bileşiklerinin oluşumu buğdaydaki çoklu doymamış yağ asitlerinin (esas olarak linoleik ve linolenik asit), buğday tanesinin öğütülmesi sırasında ortamda eğer oksijen bulunuyorsa oksijenle tepkimeye girmesi ve hamurun karıştırılması sırasında peroksidasyonu ile başlar (Birch ve diğ. 2014, Maraschin ve diğ. 2008). Sonrasında oksijenin kullanılmasıyla, hidroperoksit oluşur. Üretilen hidroperoksitler kararsızdır ve hızlı bir şekilde birkaç ikincil peroksit ürününe ayrılan serbest radikallere ayrılır. Linoleik ve linolenik asidin peroksidasyon işleminden sonra kararsız olan hidroperoksidasyon bileşikleri, pişirme sırasında uçucu aldehit bileşiklerine dönüşür. Bu aşamada yaygın olarak pentanol ve farklı bağlanmalar ile aldehit grubundan asetaldehit de oluşur. Peroksit ürünleri ayrıca hamur karıştırma sırasında çok çeşitli uçucu bileşiklere ayrıştırılır (Prost ve diğ. 2012). Aldehitlerin oksidasyonu ile ise asitler ve esterler oluşur. Maya sayısı düşük ekmekte

lipoksigenazların lipitleri dönüştürmesi için daha fazla oksijen mevcuttur. Bu yüzden bu tür ekmeklerde lipitlerin oksidasyonundan kaynaklanan uçucu bileşiklerin üretiminde bir artış meydana gelir. Genel olarak, alkanallar, 2-alkenaller ve 2,4-alkanodienaller, lipit oksidasyonundan gelen uçucu bileşiklerdir (Parker ve diğ. 2000, Pico ve diğ. 2015).

Lipit oksidasyonu ile üretilen, buğday unu ekmeğinin içindeki aroma profilinde birkaç furan tanımlanmıştır. Ekmek içindeki en aroma aktif furan, çiçekli ve meyveli kokusu olan 2-pentilfuran'dır (Tablo 1.5). 2-pentilfuran, linoleik asidin lipit oksidasyon ürünü olan (E)-2-nonenal'den pişirme sırasında oluşturulur (Adams ve diğ. 2011, Birch ve diğ. 2014). Ekmek içinde bulunan ve maya fermentasyonundan oluşmayan alkollerin çoğu alkol dehidrogenaz ile lipit oksidasyonundan kaynaklanan aldehitlerin reaksiyona girmesiyle oluşur. Bu alkollerden 1-heptanol (çimene yakın koku) ekmek içinde en çok aroma aktif olanıdır (Birch ve diğ. 2014).

1.2.6.2 Maillard Reaksiyonu

Ekmek kabuğunda tespit edilen uçucu aroma bileşikleri pişirme sırasında oluşan termal reaksiyonlardan oluşmaktadır. Bu uçucu aroma bileşiklerinden furanlar, pirazinler, piroller, pirolinler, oksazoller ve tiyofenler gibi sülfürik bileşikler enzimatik olmayan Maillard reaksiyonlarından oluşur (Birch ve diğ. 2014, Bianchi ve diğ. 2008, Cho ve Peterson 2010, Pico ve diğ. 2015). Bu bileşiklerin çoğu, ekmek kabuğunda yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir ancak spesifik olarak, lipit oksidasyonu ve maya fermentasyonu ile ilişkili olmayan uçucu aroma bileşiklerinden olan pirolinler ve pirazinler ekmek kabuğunda diğer uçucu aroma bileşiklerine göre daha yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir (Birch ve diğ. 2014, Poinot ve diğ. 2010, Schieberle ve Grosch 1994). Pişirme sırasında oluşan termal reaksiyonlar, öncesinde uçucu aroma bileşikleri üretimi için önemli olan un, yoğurma ve fermentasyon gibi aşamalardan etkilenmektedir (Birch ve diğ. 2014, Bianchi ve diğ. 2008, Cho ve Peterson 2010, Pico ve diğ. 2015).

Aminoasitler ve indirgen şekerler arasındaki enzimatik olmayan Maillard reaksiyonları, kahverengi pigmentlerin (melanoidinler) ve çok sayıda uçucu bileşiğin oluşmasına yol açar. Maillard reaksiyonundaki ana aşamalardan biri Strecker

degradasyonudur. Burada amino asitler, dehidroredüktonlarla reaksiyona girerler. Daha sonrasında, reaksiyona katılan başlangıç aminoasidinin yapısına benzer aldehitler üretilir. Sonuç olarak: Alaninden asetaldehit; glisinden formaldehit; serinden glikokal ve treoninden 2-hidroksipropanal türetilir (Pico ve diğ. 2015). Maillard reaksiyonları sırasında gerçekleşen Strecker degradasyonu veya fermantasyon sırasında Ehrlich yolu sonucu oluşabilecek bazı aldehitler ve prekürsörleri şunlardır: Valinden 2-metilpropanal; lösinden 3-metilbutanal; izolösinden 2-metilbutanal; fenilalaninden 2-metilbutanal ve metiyoninden metional (Martínez-Anaya 1996, Pico ve diğ. 2015, Salem ve diğ. 1967).

Şeker türü, Maillard reaksiyonunun hızını ve üretilen karbonil bileşiklerinin miktarını etkilerken, amino asit tipi, aroma profilini ve oluşan karbonil bileşiklerinin türünü etkiler (Kiely ve diğ. 1960, Pico ve diğ. 2015). Enzimatik hidrolizlerden kaynaklanan şekerlerin ve amino asitlerin tümü fermantasyon metabolizmasında yer almaz. Hamur yüzeyinde kalan kısım, tipik ekmek kabuğu lezzetinin ve renginin oluşmasında rol alır. Bu lezzet ve renk, pişirme sırasında Maillard reaksiyonu ve karamelizasyon ile gerçekleşir. Karamelizasyon 120 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda meydana gelir (Kroh 1994, Prost ve diğ. 2012). Karamelizasyon; şekerlerin (çoğunlukla maltoz ve daha az bir ölçüde nişasta hidrolizinden oluşan diğer oligosakkaritler) erime noktalarının üzerine ısıtılması işlemidir. Bu olay, asit ve acı bir tada sahip, çözünür veya çözünmez renkli bozunma ürünlerine yol açar. Karamelizasyon, Maillard reaksiyonuyla eşzamanlı olarak gerçekleşir ve her reaksiyonun kabuk aroması ve rengine katkısını ayırt etmek zordur. Bununla birlikte, karamelizasyon genel kabuk aromasında küçük bir rol oynamaktadır ve Maillard reaksiyonunun karamelizasyona baskın olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir. Çeşitli koku verici notalarla karakterize edilen aldehitler, ketonlar veya furfural gibi karbonil bileşikleri de oluşturulabilir (Pozo-Bayón ve diğ. 2006, Prost ve diğ. 2012, Schieberle ve Grosch 1985). Salem ve diğ. (1967) amino aside (alanin, glisin, treonin...) bağlı olarak, üretilen aldehitin farklı olduğunu bildirmiştir (Salem ve diğ. 1967). Lizin, lösün ve izolösinden hoş aromalar üretilirken, metiyoninden hoş aroma üretilmez (Pico ve diğ. 2015).

Maillard bileşiklerinin konsantrasyonu fırındaki sıcaklık ve nemden etkilenir (Prost ve diğ. 2012). Pişirme sıcaklıkları genellikle 195 °C ila 220 °C arasındadır ve

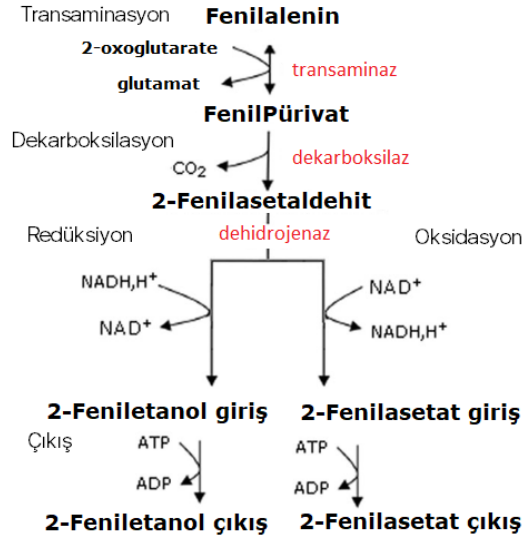
Maillard reaksiyonları, sıcaklık artışı ile artabilmektedir. Ekmeğin pişirilmesi genellikle kabuk oluşumunu geciktirmek ve daha fazla ekmek içine sahip ekmek üretmek için su buharı ile doymuş bir atmosfere sahip yerde gerçekleştirilir. Buhar, ayrıca ekmeğin kurummasını da önler. Ekşi hamurun kullanımı ayrıca Maillard uçucu bileşiklerinin üretimini de etkiler, çünkü fermantasyon sırasında pH'ın düşmesi Maillard reaksiyonlarını tetikler. LAB'lar, fermantasyon sırasında asitleri üretir ve bunlar proton taşıyıcılarıdır. Maillard reaksiyonlarının bir parçasını oluşturan Amadori yeniden düzenlemesi prosesine başlanması için ortamda protonun bulunması gerekir (Pico ve diğ. 2015). Amadori ürünlerinin bozulması ayrıca ortamın pH'ına da bağlıdır. pH 7 veya daha düşük olduğunda, pentozlardan furfural ve heksozlardan hidroksimetilfurfural üretilir (Martins ve diğ. 2000). Bu nedenle, ekşi hamur kullanımı Maillard reaksiyonlarını etkiler. Ekşi hamur ekmeğinde, yüksek pişirme sıcaklıkları, Maillard reaksiyonlarının ana ürünleri olan pirazinler, piroller, furanlar ve kükürt içeren bileşiklerin üretimine neden olur (Parker ve diğ. 2000). Pişirme sıcaklığı arttığında, pirol, tiofen, tiyopiran ve tiyazolin miktarı artarken, furanlar ve aldehitler azalır (Bredie ve diğ. 2002, Pico ve diğ. 2015). Rychlik ve Grosch (1996), Maillard ürünleri arasında, 2-asetil-1-pirolinin, kızarmış kokuya sebep olması ve ekmek kabuğundaki uçucu bileşikler arasında en yüksek KAD değerine sahip olduğu için buğday ekmeği kabuğunun ana aroma bileşiği olduğunu bildirmiştir (Rychlik ve Grosch 1996). 3-metilbutirik asit, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, metiyonal (her üçü de Ehrlich yolu tarafından üretilir), 2,3-bütandion (fermantasyondan üretilir), 4-hidroksi-2,5-dimetil-3(2H)-furanon ve 2-metil-propanal, yüksek KAD'lı güçlü koku vericiler oldukları için kabuk aromasından da sorumlu bileşikler olarak bilinirler (Pico ve diğ. 2015).

1.2.6.3 Fermantasyon

Uçucu aroma bileşiklerinin üretiminde fermantasyon önemli bir süreçtir (Prost ve diğ. 2012). Fermantasyon ile temel olarak alkoller, aldehitler, asitler, esterler ve ketonlar üretilir (Bianchi ve diğ. 2008, Birch ve diğ. 2013^b, Cho ve Peterson 2010, Martínez-Anaya 1996, Pico ve diğ. 2015). Bu aroma bileşikleri arasında bazıları ekmek içi lezzetinin büyük bir bölümünü oluşturan güçlü koku vericilerdir (Prost ve diğ. 2012, Schieberle ve Grosch 1991). Bu uçucu bileşikler un-su karışımının içinde

bulunan şekerlerin maya veya diğerk mikroorganizmalar tarafından fermente edilmesi ile üretilir. Mayalar ve laktik asit bakterileri, un-su karışımındaki şekerlerin fermantasyonunu gerçekleştiren mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmalardan *S. cerevisiae*'nin ana işlevleri hamuru mayalamak ve bunun yanında sekonder metabolit olan uçucu bileşikler üretmektir. Mayalar hamur yoğurma sırasında aerobik bir ortama maruz kalırken, fermantasyon sırasında anaerobik bir ortamla karşılaşır (Pico ve diğ. 2015). Hamuru fermente etmek amacıyla, un ve su ile birlikte *S. cerevisiae* eklendikten sonra, ilk olarak, monosakkaritler maya tarafından hızla fermente edilir (Prost ve diğ. 2012). Bu monosakkaritler undaki nişastanın hidrolizinden oluşur veya doğal olarak unda bulunur (Pico ve diğ. 2015). Eğer sükröz unda doğal olarak ya da ilave edilmiş şekilde bulunuyorsa, mayaya ait invertaz enzimi ile glikoz ve fruktoza hidrolize edilerek metabolize edilir. Bu aşamada, amilazlar ve daha özel olarak β -amilaz, nişastanın maltoza hidrolizini gerçekleştirir. Bu disakkarit daha sonra maltaz enzimi ile glikoza ayrılır ve fermantasyonun ilerlemesi sağlanır (Prost ve diğ. 2012).

S. cerevisiae, un içinde bulunan fermente edilebilir karbonhidratların % 95'ini "Embden-Meyerhof-Parnas" yolu veya glikoliz ile pirüvik aside dönüştürür. Daha sonra pirüvik asitin dekarboksilasyonu sonucu asetaldehit oluşur. Asetaldehit oluşumunun yanında karbondioksit salınımı gerçekleşir. Dekarboksilatlanan pirüvik asitten sonra oluşan asetaldehit, alkol dehidrogenaz yoluyla etanole indirgenir (Koshland ve Westheimer 1950, Prost ve diğ. 2012). Etanolün büyük bir kısmı pişirme sırasında buharlaşır. Kalan %5 ise, kısa zincirli alkollere, kısa zincirli yağ asitlerine, esterlere ve karbonil bileşiklerine dönüştürülen ikincil fermantasyon reaksiyonlarına katılır (Martínez-Anaya 1996, Pico ve diğ. 2015). Fermantasyon sonucu; alkoller, karboniller, esterler ve organik asitler gibi çeşitli lezzet bileşik grupları oluşur. Bunlar arasında tereyağ kokusu (2,3-bütandion, 3-hidroksi-2-butanon), ransit koku (bütirik asit), ekşi koku (asetik asit) veya bir çözücü kokusu (aseton) bulunur. Bu bileşiklerin çoğu, aroma için önemlidir (Prost ve diğ. 2012). Daha yüksek moleküler ağırlıklı alkoller, Ehrlich yolu adı verilen başka bir ikincil fermantasyon reaksiyonundan elde edilir. Buna örnek olarak fenilalenin aminoasidinin maya tarafından Ehrlich yolu ile metabolize edilmesi Şekil 1.6'da gösterilmiştir (Pico ve diğ. 2015).



Şekil 1.6: Fenilalenin aminoasidinin maya tarafından Ehrlich yolu ile metabolize edilmesi

Alkol fermantasyonunun yanı sıra, serbest amino asitler, 'Ehrlich – Neubauer – Fromherz' yolundan sonra maya tarafından metabolize edilir. Amino asidin deaminasyonu ve ardından dekarboksilasyonu sonrasında α -keto asit oluşur. Reaksiyona katılan amino asitten bir veya iki karbona sahip aldehitler üretilir. Bunlar daha sonra asitlere (ester formunda) oksitlenebilir veya alkollere indirgenebilir. Bu şekilde, valin, izolösin veya fenilalaninden; izobütül alkoller, izoamil alkoller veya 2-feniletıl alkol gibi bazı yüksek molekül ağırlıklı alkoller oluşabilmektedir. Bu reaksiyonların yönlendirilmesinde ozmotik basınç ve pH'ın da etkisi vardır. Ozmotik basıncın çok yüksek olmaması için tuz ve şeker konsantrasyonları kontrol altında tutulmalıdır. Bu hususların yanı sıra, optimum fermantatif aktivite için pH 4 ile 6 arasında olmalıdır (Maga ve Pomeranz 1974, Prost ve diğ. 2012).

Buğday unu ekmeğindeki aminoasitlerden oluşan Ehrlich uçucu bileşikleri aşağıdaki aminoasitlerden türetilir:

- (i) Lösin'den; 3-metilbutanal, 3-metil-1-butanol (izoamil alkol) ve 3-metilbutanoat;
- (ii) valin'den; 2-metilpropanal, 2-metilpropanol (izobütanol) ve 2-metilpropanoat;
- (iii) izolösin'den 2-metilbutanal, 2-metil-1-butanol ve 2-metilbutanoat;
- (iv) fenilalaninden 2-feniletanal, 2-feniletanol ve 2-feniletanoat; ve

- (v) metiyoninden 3- (metiltio) -propanal (metional), 3- (metiltio) -1-propanol (metionol) ve 3- (metiltio) -propanoat oluşur (Hazelwood ve diğ. 2008).

Un-su karışımına maya eklendiğinde esterler, ketonlar, laktonlar ve kükürt bileşikleri artarken, aldehitler azalır (Frasse ve diğ. 1993). Mayaların ilave edilmesiyle gerçekleşen fermantasyon sonucunda, ekmeğin son uçucu fraksiyonunda en fazla bulunan bileşikler alkollerdir ve bu alkoller esas olarak 3-metil-1-bütanol ve 2-feniletanol'dür (Birch ve diğ. 2014, Dall'Asta ve diğ. 2013, Pico ve diğ. 2015, Schieberle ve Grosch 1991). Maya ilave edildiğinde, içinde majör aroma bileşiklerinin bulunduğu fermantasyon bileşiklerinin, ekmekte konsantrasyonun pişirme buharlaşması nedeniyle daha az olması gerektiği araştırmalarla belirtilmiştir (Pico ve diğ. 2015).

Frasse ve diğ. (1993), hamura *S. cerevisiae* ilave edilmezse, hamurdaki ana aroma aktif bileşiklerinin (daha yüksek LS faktörü) 2,4-(E,E)-dekadienal, 2-(E)-nonenal ve metional olduğunu bildirmişlerdir (Frasse ve diğ. 1993). Bununla birlikte, hamura *S. cerevisiae* eklendiğinde, aroma bileşiklerinden; 3-metil-1-bütanol, 2-metil-1-bütanol, 2,3-bütandion (diasetil), metional ve 2-feniletanol üretilmiştir. Bu, 2,4-(E,E)-decadienal ve 2-(E)-nonenal'ın lipit oksidasyon ürünleri olması ile açıklanabilirken, 3-metil-1-bütanol, 2-metil-1-bütanol, 2,3- bütandion (diasetil) ve 2-feniletanol'ün, Ehrlich yolundan gelen fermantasyon ürünleri olarak açıklanmaktadır. Bu nedenle, maya ilavesi olmadığında, mevcut oksijen mayalar tarafından kullanılmadığı için (unda bulunan maya popülasyonunun azlığından dolayı), fazla oksijen lipooksijenaz enzimleri tarafından lipitlerin oksidasyonu ile bu aldehitleri üretmek için kullanılır (Poinot ve diğ. 2008). Bununla birlikte, *S. cerevisiae* ilave edildiğinde, mayalar, yoğurma sırasında büyümek için mevcut oksijeni kullanırlar, böylece maya popülasyonunu artırırlar. Sonuç olarak, Ehrlich yolunda üretilen 3-metil-1-bütanol, 2-metil-1-bütanol ve 2-feniletanol gibi alkollerin yanında, methional gibi aldehitler de anaerobik fermantasyon ile daha fazla miktarda üretilir (Pico ve diğ. 2015).

Hamuru asitlendirmek ve ekmeğin aromasını iyileştirecek yeni bileşikler oluşturmak için mayanın yanında LAB'lar eklenebilmektedir. Ekşi hamurun kullanımı, ekmeğin uçucu bileşik fraksiyonunda farklı etkilere neden olmaktadır (Pico ve diğ.

2015). Homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterileri, ekmek içi aroması üretiminde büyük öneme sahiptir. LAB'lar aroma üzerinde bilinen bir etkiye sahip olan organik asitlerin (asetik ve laktik asit) üretilmesini sağlar (Hansen ve Schieberle 2005, Prost ve diğ. 2012).

Ekşi hamur ilave edildiğinde, 2-metil-1-bütanol, 3-metil-1-bütanol, n-propanol, 2-feniletanol, benzil alkol, 2-metilpropanoik asit, 3-metilbutanoik asit, asetik asit gibi uçucu bileşiklerin miktarı daha yüksek bulunmuştur (Hansen ve Schieberle 2005). Öte yandan, ekşi hamurdaki esterlerin miktarı, ekşi hamur ekmeğinden daha yüksek olmasına rağmen, ekşi hamur ilave edilmeden yapılan ekmekten daha düşüktür (Pico ve diğ. 2015).

Sadece LAB'lar eklendiğinde, laktik asit 3 karbonlu organik asit üretimi gözlenmemiş, ancak maya içeren hamur içine dahil edildiklerinde propiyonik asit (propanoik asit) ve izobütirik asit (2-metilpropanoik asit) artarken izovalerik asitte (3-metilbutanoik asit) bir azalma gözlenmiştir (Martinez-Anaya ve diğ. 1990). Bu sonuç, fermantasyon sürecinde organizmalar arasındaki etkileşimi göstermektedir. Mayaların ve LAB'ların bir arada bulunması ile yapılan ekşi hamur ekmeğinde, sadece LAB'ların eklendiği ekşi hamur ekmeğinden daha fazla sayıda uçucu bileşik tespit edilmiştir (Hansen ve Hansen 1994). Bununla birlikte, ilave maya içeren hamurlara LAB'ların eklenmesi, uçucu bileşiklerin miktarını önemli ölçüde değiştirmemektedir. 2,3-Bütandion (diasetil), hem LAB'lar hem de mayalar tarafından üretilen bileşiklerden biridir. 2,3-Bütandion uçucu aroma bileşiğinin kokusu tereyağı ve karamel olarak tanımlanır. Hem 2,3-bütandion hem de 3-hidroksi-2-butanonun oluşumunun hamurdaki fermentatif maya aktivitesiyle doğrudan bağlantılı olduğu bildirilmiştir. 2,3-Bütandion, maya ile enzimatik olarak 3-hidroksi-2-bütanon veya 2,3-bütandioll'e indirgenebilir (Birch ve diğ 2013^a, Pico ve diğ. 2015).

Lund ve diğ. (1989), ekşi hamur uçucu bileşiklerinin daha uzun fermantasyon sürelerinin (9 saat) LAB'ların etkisiyle 5 saat fermente edilenlere kıyasla üç kat daha yüksek olduğunu bildirmiştir (Lund ve diğ. 1989). Ayrıca düşük sıcaklıkların (25 °C) LAB'lar için daha uygun olduğunu, ancak mayanın aktivitesini sınırladığını ve daha yüksek uçucu profiller oluşturmak için daha yüksek sıcaklıkların (30 °C) daha uygun olduğunu belirtmişlerdir. Bunun nedeni, mayaların LAB'larla sinerjik olarak çalışmasına rağmen, uçucu profilden daha fazla sorumlu olmaları ve 35 °C civarında

optimal aktivite göstermeleridir (Cauvain 2015, Pico ve diğ. 2015). Daha uzun fermantasyon süresi uygulanarak veya uzun fermente edilen ekşi hamur kullanarak, daha aromatik ekmek üretilir ancak uzun zaman gereksinimi nedeniyle ekonomik açıdan avantajlı değildir (Pico ve diğ. 2015).

1.2.6.4 Fermantasyonu Etkileyen Faktörler

Birch ve diğ. (2014)'a göre, hamur fermantasyon koşullarının ekmekte aroma oluşumunu nasıl etkilediğini anlamak, ekmekte aroma profili kontrolünü ve gelişimini destekleyecektir (Birch ve diğ. 2014).

1.2.6.4.1 Maya Suşunun Etkisi

Starter kültür mikroorganizmaları ekmek veya diğer gıdalar için lezzet ve aromanın geliştirilmesinde faydalı olmuştur (McKinnon ve diğ. 1996). Bu mikroorganizmalardan pişmiş ürünlerde mayalama görevinde kullanılan mayalar, karbonhidratları alkol ve karbondioksit'e fermente edebilen, Fungi alemine ait, tek hücreli, aseksüel bir ökaryottur. Bu mayalardan ticari adı ekmek mayası olan *Saccharomyces cerevisiae*, ekmek fermantasyonu için en yaygın kullanılan mikroorganizmadır (Mondal ve Datta 2008, Heitmann ve diğ. 2018). Farklı ticari ekmek mayaları, farklı *S. cerevisiae* suşlarından oluşabilmektedir. Ancak ekmek mayasının mayalama gücü ön planda tutulduğunda, maya suşunun ekmek aroması üzerindeki etkisine çok az dikkat edilmiştir. (Birch ve diğ. 2014, Procopio ve diğ. 2011, Suárez-Lepe ve Morata 2012).

Pichia anomala, *Kluyveromyces marxianus* veya *Saccharomyces cerevisiae* gibi farklı maya suşları, biyo-dönüştürme yoluyla 2-fenilalaninden türetilmiş 2-feniletanol gibi aroma bileşiklerinin endüstriyel üretimi için önemli niteliğe sahiptir. Farklı 2-feniletanol üreticileri arasında, *K. marxianus* göze çarpmıştır ve bu suşun endüstriyel bir süreçte uygulanması önerilmiştir. *K. marxianus*'un crabtree-negatif olması, büyük ölçekli üretim prosesleri için bir avantajdır, çünkü aerobik koşullar altında toksik yan ürünlerin üretiminden kaçınılabilmektedir (Longo ve Sanromán 2006).

Hamurda yüksek konsantrasyonlarda ester üreten *Saccharomyces* olmayan maya suşlarının kullanımı ile yapılan başka deneyler, daha meyveli ve çekici bir aromaya sahip ekmek geliştirmek için kullanılabilmesine işaret etmiştir. Suş seçiminde, alkol fermantasyonu için önemli olan *Pichia anomala*, *Hanseniaspora guilliermondii* ve *Hanseniaspora osmophila* suşlarının kullanımı bazı esterlerin oluşumunu önemli ölçüde artırmıştır (Birch ve diğ. 2014, Rojas ve diğ. 2001, Rojas ve diğ. 2003, Viana ve diğ. 2008).

Saccharomyces olmayan mayalar, alkol fermantasyonunda *S. cerevisiae* ile kombine edilerek karışık kültür olarak kullanılmıştır (Andorrà ve diğ. 2012, Ciani ve diğ. 2006). Bazı *Saccharomyces* olmayan şarap mayalarının (*Hanseniaspora uvarum*, *Torulaspota delbrueckii*, *Candida zemplinina* ve *Kluyveromyces thermotolerans*) saf kültürlerinin, *S. cerevisiae* kültürlerine kıyasla daha düşük fermantasyon oranlarına sahip olduğu bulunmuştur (Hansen 2012).

Birch ve diğ. (2013^b), Avrupa’da üretilmiş yedi farklı ticari ekmek mayası ile gerçekleştirilmiş fermantasyonun ekmek aroması üzerindeki etkisini araştırmıştır. Araştırmacılar, yedi farklı ticari ekmek mayası tarafından fermente edilip pişirilmiş ekmekler arasında önemli ölçüde farklı aroma profilleri bulmuşlardır. Belçika’da üretilmiş iki farklı ekmek mayasının fermantasyonu ile yapılan ekmeklerde, tipik fermantasyon bileşikleri olan 1-propanol, 2-metil-1-propanol, 3-metilbutanal, etil asetat ve 2,3-bütandion’un daha yüksek konsantrasyonda tespit edildiği belirtilmiştir. Bununla birlikte, iki fermantasyon bileşiğinin, (2-feniletanol ve fenilasetaldehit) iki farklı ekmek mayası ile fermente edilip pişirilmiş ekmekte daha yüksek bir konsantrasyonda olduğu bulunmuş ve hamur fermantasyonu sırasında aroma oluşumu, bazı ticari ekmek mayaları için farklı olduğu belirtilmiştir. Lipit oksidasyonundan oluşan bileşikler de maya türünden etkilenmiştir ve özellikle bu iki farklı ekmek mayası ile fermente edilip pişirilen ekmeklerde, heksanal gibi oksidasyon bileşiklerinin daha yüksek bir konsantrasyonuna sahiptir. Farklı aroma profillerinin, bazı ticari ekmek mayaları için farklı maya suşları veya farklı yetiştirme koşulları nedeniyle oluştuğu öne sürülmüştür. Aroma profillerindeki farklılıklar, hamur fermantasyonu sırasında bu farklı maya suşları arasında genetik farklılıklara bağlı aroma bileşiği oluşumunun biyosentetik yollarındaki farklılıklardan kaynaklanabilmektedir. Farklı maya suşları ile hamur fermantasyonu sırasında aroma

oluşumunun anlaşılması için ilave araştırmalara ihtiyaç duyulmakta ve aroma oluşumunda yüksek kabiliyete sahip maya suşlarının seçimindeki araştırmalar endüstriyel açıdan ilgi çekici olabilmektedir. Özellikle, ester oluşumunu artıran maya suşlarının seçimi mevcut yönelimlerdenidir (Birch ve diğ. 2013^b).

Plessas ve diğ. (2008^b), 2 ve 3-nonen-1-ol, benzil alkol ve furfural gibi uçucu bileşikleri *Kluyveromyces marxianus* + *Lactobacillus bulgaricus* veya *K. marxianus* + *Lactobacillus helveticus* kombinasyonlarıyla yapılan ekmekte tespit etmişler ancak bu bileşiklerin doğal mikrofloraya sahip geleneksel ekşi hamur ile yapılan ekmekte tespit etmediklerini bildirmişlerdir (Plessas ve diğ. 2008^b). Plessas ve diğ. (2008^a), *K. marxianus* + *L. bulgaricus* suşları kullanılarak fermente edilen ekşi hamurla yapılan ekmekte *K. marxianus* + *L. helveticus* suşları kullanılarak fermente edilen ekşi hamur ekmeğine göre daha fazla aroma bileşiği tespit etmişlerdir (Plessas ve diğ. 2008^a).

Hansen ve Schieberle (2005), heterofermentatif *L. sanfranciscensis* ile fermente edilen ekşi hamur ile yapılan ekmeğin hoş bir kokuya sahip olduğunu, homofermentatif *L. plantarum* ile fermente edilenlerin hoş olmayan, asidik bir kokuya sahip olduğunu bildirmiştir. Bu, yalnızca 3.86'lık pKa ile laktik asit üreten *L. plantarum*'un homofermentatif doğasından kaynaklanabilmektedir. Bununla birlikte, *L. sanfranciscensis*, 4.80 pKa ve 3.75'lik bir pKa ile laktik asit, asetik asit ve formik asit üretir. Bu nedenle hamurun, ekmeğe metalik ekşi bir koku veren homofermentatif *L. plantarum* ile daha asidik olacağı belirtilmiştir (Hansen ve Schieberle 2005).

Rehman ve diğ. (2006), *L. brevis* + *S. cerevisiae* içeren ekşi hamurda etanol miktarının azaldığını ancak asetik asidin arttığını bildirmiştir. Bu, mayanın büyümesini sınırlayan ve böylece etanol miktarını azaltan LAB'ların varlığıyla açıklanabilmektedir. *L. brevis*'in heterofermentatif doğasından dolayı, asetik asitte bir artış meydana gelmiştir (Pico ve diğ. 2015, Rehman ve diğ. 2006).

1.2.6.4.2 Fermantasyon Sıcaklığının Etkisi

Fermantasyon sıcaklığı ekmek yapımında önemli bir parametredir ve uçucu aroma fraksiyonunu etkiler (Prost ve diğ. 2012). Ticari ekmek normalde 25 ile 35 °C arasında sıcaklıkla birlikte 2 ila 4 saat arasında fermente edilir (Pico ve diğ. 2015).

S. cerevisiae için hamur fermantasyon sıcaklığı 25 °C civarında optimumdur (Attfield 1997). Fermantasyon ne kadar uzun olursa, oluşan uçucu bileşiklerin miktarının o kadar fazla olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, günümüzde ekmek endüstrisi maliyetlerini azaltmak için üretim süresi azaltılmaya çalışılmaktadır (Pico ve diğ. 2015). 20 °C ile 40 °C arasında, fermantasyon sıcaklığında 1 °C'lik bir artış fermantif aktiviteleri artırılabilir (Prost ve diğ. 2012).

Gassenmeier ve Schieberle (1995), un, su ve maya içeren pre-ferment kullanarak, farklı sıcaklıkta fermantasyonları gerçekleştirdiklerinde, 35 °C de, 3-metil-1-bütanol ve 2-feniletanol konsantrasyonunu 25 °C, 30 °C ve 40 °C'ye göre daha yüksek bulmuşlardır (Gassenmeier ve Schieberle 1995).

Fermantasyon sıcaklığının ekmek içi aroma profili üzerindeki etkisine ilişkin bir başka çalışmada, fermantasyon sıcaklığı olarak 5 °C, 15 °C ve 35 °C seçilmiştir. 5 °C'de fermantasyonun sonucunda; etil asetat, etil heksanoat ve etil oktanoat miktarının diğer sıcaklıklara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Birch ve diğ. 2013^a). Esterlerin, düşük şarap fermantasyon sıcaklığı sırasında oluşumlarının arttığı da bulunmuştur (Beltran ve diğ. 2008, Molina ve diğ. 2007).

Birch ve diğ. (2013^a), 3-metilbutanal miktarını, 5 ve 35 °C'de fermente edilen ekmeklere kıyasla 15 °C'de fermente edilen ekmeklerde daha yüksek bir konsantrasyonda olduğunu belirtmiştir. Ayrıca 15 ve 35 °C fermantasyon sıcaklıklarında, 5 °C'deki fermantasyona kıyasla doymamış yağ asitlerinin bozulmasından oluşan bazı bileşiklerin oluşumunun arttığı rapor edilmiştir (Birch ve diğ. 2013^a). Yüksek sıcaklıklarda lipid oksidasyon hızı artmaktadır ve bununla birlikte maya fermantasyonu sırasında hamurdaki anaerobik koşullar nedeniyle, sıcaklığın un lipidlerinin oksidasyonu üzerindeki etkisi azalabilmektedir. Birçok lipid oksidasyon bileşiği düşük koku eşiklerine sahiptir ve genellikle çimene yakın kokuya sahip, istenmeyen aroma bileşikleri olarak karakterize edilir (Birch ve diğ. 2014, Zehentbauer ve Grosch 1998).

1.2.6.4.3 Fermantasyon Süresinin Etkisi

Fermantasyon süresi ve sıcaklığı, ekmekteki uçucu fraksiyonu etkileyen faktörlerdendir (Pico ve diğ. 2015). Nitekim Zehentbauer ve Grosch (1998), 4 °C'de 24 saat ve 4 °C'de 48 saat fermente edilmiş un-su-maya pre-fermentini, geleneksel metotla hazırlanan ekmekle kıyaslamıştır. Ekmeğe hoş malt kokuları veren Strecker aldehitleri; 2-metilpropanal, 2-metilbutanal ve 3-metilbutanal miktarı, geleneksel ekmekte çok daha düşük bulunmuştur. Bununla birlikte, bu aroma bileşiklerinin miktarını geleneksel tarifle hazırlanan ekmekte daha uzun fermantasyon süreleriyle arttırmanın bir yolunu bulmuşlardır. 22 °C'de 2 saatlik fermantasyondan sonra, 4 °C'de 18 saat ek fermantasyon ile üretilen pre-fermentin kullanıldığı ekmeklerde benzer miktarlarda Strecker aldehitleri tespit edilmiştir (Zehentbauer ve Grosch 1998).

Maeda ve diğ. (2009), 27 °C'de fermantasyon sıcaklığı sabit tutularak, fermantasyon süresinin (15 dakika, 1, 2 ve 5 saat) ekmek içi aroma profili üzerindeki etkisini araştırmıştır. Araştırmacılar, fermantasyon süresi arttıkça alkollerin ve aromatik bileşiklerin arttığını bunun yanında aldehitler ve keton gruplarının azaldığını belirtmişlerdir. Fermantasyon süresi daha kısa olduğunda ise (15 dakika) karboksilik asitlerin oranının daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Fermantasyon süresi daha uzun olduğunda (5 saat) ise esterlerin oranı yüksek ve diketon grubunun oranının düşük olduğunu belirtmişlerdir (Maeda ve diğ. 2009).

Schieberle ve Grosch (1991), 35 °C'de fermente edilen hamurlarda, 2,3-bütandion, 3-metil-1-bütanol ve 2-feniletanol konsantrasyonunun, uzun süreli fermente (3 saat) ekmekte kısa süreli fermente ekmeğe kıyasla (zaman belirtilmemiştir) sırasıyla 2, 8 ve 64 kat arttığını bulmuştur (Schieberle ve Grosch 1991).

1.2.6.5 Diğer Faktörlerin Etkisi

Fermantasyon ve pişirmenin yanında ekmek nihai aromasını etkileyebilecek başka faktörler de vardır. Bunlar esas olarak un, enzimler ve katkı maddeleri, fırın tipi ve depolama gibi faktörlerdir.

1.2.6.5.1 Un

Un, ekmek aromasının oluşumunda etkili olan bir hammaddedir. Un, daha önce buğday ekmeği aroması için önemli olarak belirtilen methional veya 4-heptenal gibi büyük miktarlarda uçucu bileşikler içermektedir. Dolayısıyla, kullanılan un türü buğday ekmeğinin aromasını etkilemektedir. Buğday ununda, heksanal en çok bulunan bileşiktir, bunu heptanal, pentanal veya 1-heksanol takip eder. Tam buğday unu (TBU) veya rafine buğday unu (RBU) kullanımı da ekmek aromasında belirleyici olabilir. Rafine buğday unu kullanılarak (RBU) yapılan ekmek kabuğunun, tam buğday unu (TBU) kullanılarak yapılan ekmeğe kıyasla daha yüksek miktarlarda 2-asetil-1-pirolin, 4-hidroksi-2,5-dimetil-3(2H)-furanon, 2-feniletanol, 2-asetil-2-tiazolin ve 2,4-dihidroksi-2,5-dimetil-3(2H)-furanon içerdiği, ancak daha düşük miktarlarda 2-(E)-nonenal ve 2,4-(E,E)-decadienal (lipit oksidasyonundan oluşan istenmeyen aroma bileşikleri) içerdiği belirtilmiştir. Bu nedenle TBU ekmeğinde kabuk aromasının yoğunluğu ve kalitesi daha düşüktür. Bu, RBU ekmeğinde, buğday ekmeği kabuğunun önemli bir aroması olan 2-asetil-1-pirolin üretimini baskılayan ferulik asidin pişirilme sırasında serbest bırakılmasından kaynaklanabilir. Ferulik asidin, 2-asetil-1-pirolinin önemli bir öncüsü olan metilglükoksal ile reaksiyona girmesi nedeniyle oluşur. Her durumda, ekmek aroması, una göre fermantasyon ve pişirmeden daha fazla etkilenmektedir. Bu nedenle, un içinde bulunmayan 3-metil-1-bütanol, etil oktanoat veya asetoin (3-hidroksi-2-butanon) gibi bazı bileşikler fermantasyon ile üretilir (Cho ve Peterson 2010, Czerny ve Schieberle 2002, Moskowicz ve diğ. 2012, Pico ve diğ. 2015, Quílez ve diğ. 2006, Rychlik ve Grosch 1996, Torner ve diğ. 1992).

1.2.6.5.2 Enzimlerin ve Katkı Maddelerinin Kullanımı

Hamur yoğurma sırasında, daha sonra aroma substratları olarak kullanılan öncülleri oluşturan enzimatik reaksiyonlar gerçekleşir. Hamura enzimlerin eklenmesi ekmek aromasını geliştirir, çünkü enzimler fermantatif ve termal reaksiyonlar için öncüler sağlar. Amilazlar ve glukozidazlar, daha sonra fermantasyon substratları olarak kullanılan ve ayrıca Maillard reaksiyonlarına katılan indirgen şekerlerin üretilmesinden sorumludur. Proteazlar, peptitler ve amino asitler oluşturur. Proteolitik aktivitenin zayıf olması, gluten ve heksopeptidazları korur ve mayalar tarafından

metabolize edilen ve Maillard reaksiyonlarına katılabilen kısa peptitlerin ve serbest amino asitlerin oluşumuna yol açar. Lipoksijenazlar, istenmeyen aroma karbonil bileşiklerine ayrışan kararsız ürünler oluşturur. Buğday lipazları trigliseritleri hidrolize ederek yağ asitlerini oluştururlar. Daha sonra oluşturulan linoleik asit, lipit oksidasyon reaksiyonlarında lipooksijenazlar tarafından kullanılarak uçucu bileşikler üretilir. Bu enzimler ya tek ya da sinerjistik bir şekilde etki gösterebilir. Bu nedenle, unda bulunan ya da dışardan eklenen amilazlar, lipazlar, oksidazlar, proteazlar veya ksilanazlar karışım halinde kullanılarak etki arttırılır. Ekmek geliştirici olarak kullanılan soya unu, hoş aromaları olan aldehitler, alkoller ve ketonlar üretmekten sorumlu olan ancak aynı zamanda depolama sırasında istenmeyen aromalardan sorumlu üç izo-enzim lipooksijenaz içerir (Gassenmeier ve Schieberle 1995, Luning ve diğ. 1991, Martínez-Anaya 1996, Morris ve Morris 2012, Pico ve diğ. 2015, Torner ve diğ. 1992).

1.2.6.5.3 Pişirme Yöntemleri

Pişirme, ekmek yapımının son aşaması olduğu için ekmeğin son aromasına etki eder. Pişirme şekli de ekmeğin uçucu profilini etkiler. Özellikle odun ateşinde veya gaz ateşinde olmak üzere farklı pişirme yöntemleri vardır. Farklı pişirme tekniklerine bağlı olarak kabuklardaki furanlar ve aldehitler arasında önemli farklılıklar bulunmuştur, çünkü odun ateşinde ekmek daha belirgin Maillard reaksiyonlarına maruz kalır. Daha spesifik olarak, odun ateşinde pişirilen ekmekte daha fazla miktarda furan, tetrahidrofuran, 2-metilfuran ve 2-propenil-2-furan bulunmuştur. Bütanal, pentanal, 2-metil-2-butenal, 2-oktenal, 1-butanol, etil propanoat ve limonen de odun ateşinde pişirilen ekmekte daha fazla bulunmuştur. Bununla birlikte, gazla pişirilmiş ekmekte furfural daha fazla miktarda tespit edilmiştir. Son olarak, 2-furanekarbonitril, 2-propenal ve pentanal sadece odun ateşinde ekmekte tespit edilirken, 3-metilfuran sadece gazla pişirilmiş ekmeklerde görülmüştür (Bianchi ve diğ. 2008, Heenan ve diğ. 2009, Pico ve diğ. 2015, Poinot ve diğ. 2008, Torner ve diğ. 1992).

1.2.6.5.4 Ekmeğin Pişirildikten Sonra ve Depolanması Sırasında Aroma Değişimi

Ekmeğin aroması, pişirildikten sonra raf ömrü boyunca dinamik bir değişim geçirir. Bu evrim, ekmeğin içinden kabuğa su difüzyonu ve kabukta sertleşme gibi fiziko-kimyasal modifikasyonlarla ilişkilidir. Aromadaki bu değişikliğin kaynakları: uçucu bileşiklerin ekmeğin yüzeyinden buharlaşması, oksidatif reaksiyonlar, uçucuların kabuktan içe difüzyonu ve ekmeğin içi bileşenlerinin proteinler ve nişasta tarafından adsorpsiyonu olabilmektedir. Ekmeğin pişirilmesinden sonraki ilk birkaç saat içinde yağlı koku artarken maltımsı ve tatlı kokular azalır. Bu durum, 2-metilpropanal, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, 2,3-butandion ve 2-asetil-1-pirolin kaybı olurken diğer taraftan heksanal ve (E)-2 nonenal artışı ile açıklanmaktadır (Prost ve diğ. 2012, Schieberle ve Grosch 1992, Zehentbauer ve Grosch 1997).

Buğday unu ekmeğinin son aroması uçucu koku bileşiklerinin bileşimi ile belirlenir. Konsantrasyon ile ekmeğin aroma algısı arasında pozitif veya negatif ilişki olabilir. Pozitif korelasyon gösteren bileşiklerin ekmeğindeki konsantrasyonu ne kadar yüksek olursa, tüketiciler için daha hoş ekmeğin aroması sağlanır. Öte yandan, negatif korelasyon gösteren bileşiklerin ekmeğindeki konsantrasyonu azalırsa, ekmeğin aromasının tüketiciler tarafından kabulü artar. Genel olarak, buğday unu ekmeğinin duyu analizinde yüksek seviyelerde alkol, keton ve esterlerin, düşük asit ve aldehitler seviyesinin daha fazla tercih edildiği belirtilmiştir. (Birch ve diğ. 2013^a, Pico ve diğ. 2015, Plessas ve diğ. 2008^a, Quílez ve diğ. 2006). Bununla birlikte Paraskevopoulou ve diğ. (2012), 1-heksanol ve 1-okten-3-ol gibi lipit oksidasyonundan türetilen alkollerin buğday unu ekmeğinde hoş olmayan aromalara sebep olduğunu, 2-metilpropanal, oktanal, nonanal veya fenilasetaldehit gibi bileşiklerin ise hoş kokulara neden olduğunu bildirmiştir (Paraskevopoulou ve diğ. 2012). Özellikle, izoasitlerin ekmeğin aroması üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu dikkat çelmiş ve bu aroma bileşiklerinin miktarının hamura eklenen ekmeğin mayası miktarıyla orantılı olduğu belirtilmiştir (Hansen ve Hansen 1996). Ekmeğin aromasındaki tazelik kaybı, spesifik bileşiklerin uçuculuğundan kaynaklanır. Bu nedenle, önemli koku maddeleri depolama sırasında hızla azalırken, lipit oksidasyonundan üretilen istenmeyen aroma bileşikleri nispeten değişmeden kalır. Bazı bileşikler, örneğin 2,3-bütandion (tereyağı kokusu), furfural (kızarmış koku) veya

2-metilbutanal (maltımsı koku) tazelik ile ilişkilidir (Jensen ve diğ. 2011, Pico ve diğ. 2015).

1.2.7 Maya Aroma Metabolizması

Maya, şekerleri (enzimatik hidroliz ile ilave edilen veya üretilen) alkol ve karbondioksite fermente edebilen ve bu nedenle pişmiş ürünlerde mayalama görevi bulunan, Fungi alemine ait, tek hücreli, aseksüel bir ökaryottur. Şekilleri tipik olarak yaklaşık 8 µm çapında küresel, oval veya silindirikdir. Hücreler, hücrenin besinleri absorbe edebildiği ve metabolitleri salgıladığı çift katmanlı bir hücre duvarı içerir. Taze ekmek mayası %30–33 kuru madde, %40,6-58.0 protein, %35,0-45,0 karbonhidrat, %5,0- 7,5 mineral, %4,0-6,0 lipit ve çeşitli vitaminlerden oluşur. Maya optimal parametrelerin dışında büyütüldüğünde karmaşık bir stres tepkisi oluşturur. Stresler, zar geçirgenliğini etkileyen, enzim aktivitesini inhibe eden ve reaktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olan doğrudan veya dolaylı hücre hasarına neden olabilmektedir. Bu stresin maya hücresi tarafından gösterdiği reaksiyonlar arasında; gliserol üretimi yoluyla hücre içi pH'da bir azalma, glutatyon gibi birkaç antioksidan savunma oluşumu ve hücre içi bileşenler için artan membran geçirgenliği bulunur. Stres tepkisi endüstriyel uygulamalarda hayatta kalma ve büyüme için önemli bir faktördür (Attfield 1997, Bekatorou ve diğ. 2006, Cauvain 2015, Fleet 2007, Heitmann ve diğ. 2018).

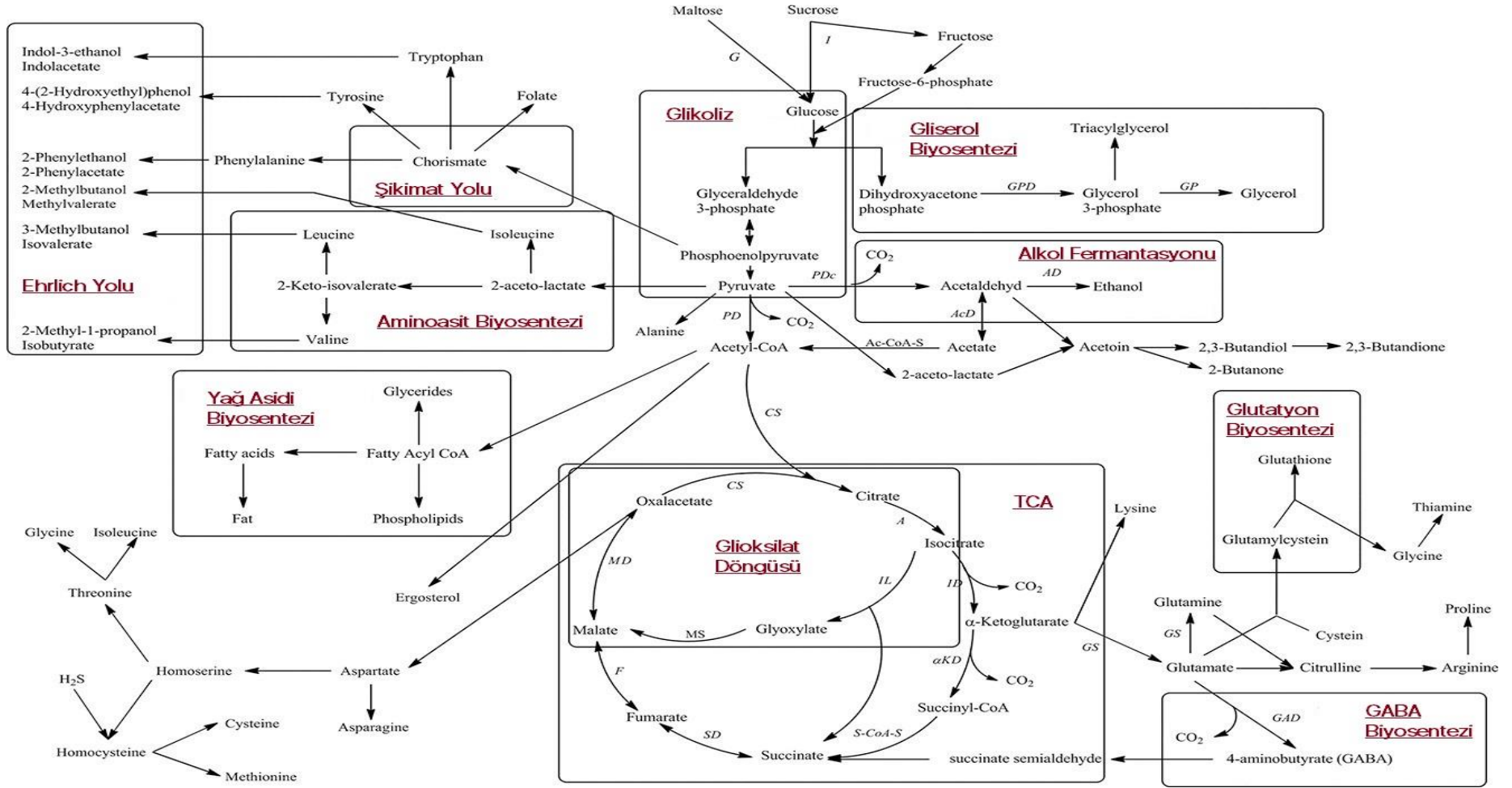
Biyokimyasal ve mikrobiyolojik araştırmalar, *S. cerevisiae* türünden bir veya daha fazla suş içeren ekmek mayası preparatlarının üretilmesine imkan sağlamıştır. Ekşi hamurun eklenmesi ile *Pichia* ve *Candida* gibi ekmek yapım sürecine başka cinsler de dahil olmaktadır. Genel olarak, fırıncılık endüstrisi için kullanılan mayada bulunması gereken teknolojik özellikler arasında; homojen bir hamur mayalanması, çok çeşitli pH, sıcaklık, tuz ve şeker konsantrasyonlarına tolerans sağlaması, yeterli gaz üretimi, uygulama ve işleme karakteristiklerinin yanında arzu edilen aroma bileşiklerinin oluşması gibi özellikler sayılmaktadır. Özel bira mayaları ekmek yapım sürecine dahil edilebilmekte ancak ekmek yapım sürecine uyum sağlayamadıkları için farklı metabolizmaları ve toleransları nedeniyle uygun olmadıkları yaygın olarak bilinmektedir. *Saccharomyces*'e alternatif olarak kullanılacak ilginç maya türleri

arasında *Debaromyces*, *Kluyveromyces* ve *Schizosaccharomyces* bulunur. Heitmann ve diğ. (2015) farklı bira mayalarının ekmek mayası ile karşılaştırıldığında buğday ekmeği kalitesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda, çeşitli bira mayalarının ekmek yapımı için uygun olduğunu ancak ortaya çıkan buğday ekmeğinin ticari ekmek mayası kullanılarak üretilen kontrol ekmeğine kıyasla hem üstün hem de düşük özellikler gösterdiği belirtilmiştir (Cauvain 2015, Heitmann ve diğ. 2015, Heitmann ve diğ. 2018, Linko ve diğ. 1997, Vuyst ve Neysens 2005).

Mayalar fakültatif anaeroblardır, yani oksijen ile veya oksijen olmadan büyüeyebilen mikroorganizmalardır. Genel olarak mayalar şekeri oksijen varlığında karbondioksit, enerji, biyokütle ve etanole dönüştürür. Oksijenin yokluğunda şekeri etanol, karbondioksit ve gliserole dönüştürmek için alkol fermantasyonunu kullanırlar. Ekmek hamurunun mayalanması üzerinde en büyük etkiye sahip fermantasyon ürünleri, karbondioksit ve etanoldür. *S. cerevisiae* ayrıca gliserol, organik asitler, lezzet bileşikleri ve prekürsör gibi başka ikincil metabolitler üretir. Bu bileşiklerin üretimi, Şekil 1.7'de özetlenen glikoliz, alkol fermantasyonu, trikarboksilik asit döngüsü (TCA) ve glikoksilat döngüsü gibi çeşitli farklı metabolik yollarla bağlantılıdır (Heitmann ve diğ. 2018). Birincil karbon metabolizması glikoliz ile gerçekleşir. Glikoliz sırasında maya, hamurda bulunan düşük moleküler ağırlıklı şekerleri (sükroz, maltoz, glikoz ve fruktoz) katabolize ederek enerji üretir. Glikoz ve fruktoz gibi heksozlar, glikolitik metabolik yola giren şekerlerdir. Bununla birlikte, glikoz fruktoza tercih edilir, çünkü glikoz için daha büyük bir bağlanma spesifitesine sahip olan taşıyıcı ile hücre içine taşınırlar. Glikoz ve fruktoz tüketildiğinde, maya maltozu tüketmeye başlar, ancak ekmek mayası gerekli enzime sahip olmadığından maltozu glikoza hidrolize edemez. Maya hücresinin maltozu kullanabilmesi için plazma membranı boyunca aktif bir taşıma sistemi gerekir (Alves-Jr ve diğ. 2007, Heitmann ve diğ. 2018, Pronk ve diğ. 1996, Verstrepen ve diğ. 2004).

Maya hücresinde, sükroz gibi diğer yüksek molekülü şekerlerin, metabolizma için kullanılmasından önce invertaz ile parçalanması gerekir. Bu nedenle, maya iki farklı invertaz enzimini barındırır. Birinci invertaz, maya hücresinin sitoplazmasında, ikinci invertaz ise plazma zarı ile hücre duvarı arasında bulunur. Bu enzimin oluşturduğu heksozlar, heksoz taşıma sistemleri tarafından hücre içine alınır ve maya metabolizması için hazır hale getirilir. Tüm şekerleri metabolize eden ve

mikroorganizmalarda yer alan ortak metabolik yol, Embden-Meyerhof-Parnas yolu ile piruvat oluşumudur (Heitmann ve diğ. 2018, Koshland ve Westheimer 1950, Pronk ve diğ. 1996). Piruvat, Şekil 1.7'de görülebildiği gibi birçok metabolik yolda merkezi bir konuma sahiptir. Piruvat üretimi ve dolayısıyla glikoliz, mayanın fermantasyon metabolizmasında önemli bir rol oynar. Glikolizin tanımı, enerji kaynağı olarak ATP üretimi için glikoz gibi şekeri piruvata dönüştüren on enzim katalizli reaksiyon dizisi olarak bilinmektedir. Anaerobik büyüme sırasında sitosolik redoks dengesinde önemli bir rol oynayan ve gliserolün öncüsü olan di-hidroksi aseton fosfat oluşur (Ansell ve diğ. 1997, Bakker ve diğ. 2001, Heitmann ve diğ. 2018, Nevoigt ve diğ. 2002, Nevoigt ve Stahl 1997, Van Dijken ve Scheffers 1986).



Şekil 1.7: Ekmekte önemli aroma bileşiklerinin üretilmesinde izlenen maya metabolizmasındaki önemli metabolik yolların şematik gösterimi (Heitmann ve diğ. 2018)

Di-hidroksi aseton fosfat, gliserol-3-fosfat dehidrogenaz (GPD) ile gliserol-3-fosfata indirgenir ve son olarak gliserol-3-fosfataz (GP) ile gliserole defosforalize edilir. Ek olarak, mayanın büyümesi sırasında piruvat, ekme kalitesi üzerinde etkisi olan karbondioksit, etanol ve diğer organik metabolitler gibi birçok farklı bileşiğe dönüştürülür. Maya, solunum yerine alkol fermantasyonunu tercih ettiğinden dolayı (Crabtree etkisi) (De Deken 1966), yüksek şeker konsantrasyonlarının varlığında, dikkate alınması gereken ana metabolik yol piruvattan başlayarak devam eden alkol fermantasyonudur. Bu Crabtree etkisi; düşük fermantasyon verimi, istenmeyen aroma bileşikler üretimi, istenmeyen yan ürünler ve biyokütle verim kaybı gibi çeşitli sorunlara neden olabilmektedir. Alkol fermantasyonu sırasında piruvatın asetaldehit ve karbon dioksit'e dönüştürülmesinden sonra piruvat dekarboksilaz (PDC) yoluyla etanol üretilir. Ayrıca, alkol dehidrogenaz (AD), NADH'nin oksidasyonu ile asetaldehiti etanole indirgemektedir (Fiaux ve diğ. 2003, Gancedo 1998, Heitmann ve diğ. 2018, Nevoigt ve diğ. 2002, Pronk ve diğ. 1996, Sigler ve Höfer 1991, Verstrepen ve diğ. 2004).

Bir başka önemli metabolit, iki farklı yolda oluşturulabilen asetil-CoA'dır ve piruvat (glikoliz) veya asetaldehitten (alkol fermantasyonu) oluşturulabilmektedir. İkinci yolda, asetaldehit, asetaldehit dehidrogenaz (AcD) ile asetata oksitlenir. Asetat, asetil-CoA sentaz (Ac-CoA-S) ile asetil-CoA'ya dönüştürülür. Şeker konsantrasyonlarının düşürülmesi ile maya, metabolizmalarını alkol fermantasyonundan, "diyaksik kayma" olarak bilinen trikarboksilik asit döngüsünü (TCA) kullanan solunuma dönüştürür (DeRisi ve diğ. 1997, Foulkes 1951, Galdieri ve diğ. 2010, Gasch ve Werner-Washburne 2002, Heitmann ve diğ. 2018). Piruvattan asetil-CoA üretimi, piruvat dehidrogenaz (PD) ile gerçekleştirilir. Asetil-CoA, yağ asitleri ve yağ üretimi için kullanılabilir. Asetil-CoA, mitokondri içindeki TCA döngüsüne girerek ikincil metabolitlerin ve ek karbondioksit oluşumunu sağlayan reaksiyona dahil olur. Tanım olarak, TCA döngüsü, asetatin oksidasyonu yoluyla karbondioksit ve ATP üretimi için kullanılan bir dizi kimyasal reaksiyon olarak bilinir. Bu döngüde, piruvat, eşzamanlı ATP üretimi ile karbondioksit'e ve suya oksitlenir. Hamur fermantasyonunda yer alan karbondioksitin çoğu, mayanın Crabtree etkisi nedeniyle alkol fermantasyonundan gelir. TCA döngüsünün birincil rolü ATP üretimidir. TCA döngüsünde sitratı izositrate dönüştüren akonitaz yer alır. Akonitaz, mitokondride fakat aynı zamanda glikosilat döngüsünün bir parçası olarak sitozolde

bulunur (Dduntze ve diğ. 1969, Gangloff ve diğ. 1990, Heitmann ve diğ. 2018, Regev-Rudzki ve diğ. 2005). İzositrat dehidrogenaz enzimi, izositrat oksidazları a-ketoglutatata dönüştürür, ayrıca glutamat metabolizmasının başlangıç noktasını temsil eden karbon dioksit üretimi gerçekleşir. TCA döngüsünün indirgeyici yolu ile oksaloasetattan başlayarak malat ve fumarat üretilebilmektedir. Gliserol, etanol ve organik asit üretimine ek olarak, maya, şikimat yola bağlı Ehrlich Neubauer-Fromherz yolunu kullanarak serbest amino asitler üretebilir. Amino asit biyosentezi, farklı yollar içeren yaklaşık 30 enzim tarafından kontrol edilir. Valin, lösin, fenilalanin veya triptofan gibi serbest amino asitlerin bir deaminasyonu ve ardından dekarboksilasyon ile aldehit üretimi başlar. Bu aldehitler, yüksek alkollere (izobütil alkol, izoamil alkol, feniletanol) indirgenebilir veya oksidasyon ile esterlere dönüştürülebilir. Genel olarak, yüksek alkollerin biyosentezi, valin, lösin ve fenilalanin gibi amino asidin transaminasyon reaksiyonu ile başlar ve aminotransferazlar tarafından katalize edilir. Üretilen α -keto asit ayrıca dekarboksilasyon ile fusel alkollere dönüştürülür ve son olarak Ehrlich yoluyla yüksek alkollere indirgenir (Arikawa ve diğ. 1999, Hazelwood ve diğ. 2008, Heitmann ve diğ. 2018, Herrmann ve Weaver 1999, Maga ve Pomeranz 1974, Procopio ve diğ. 2011, Pronk ve diğ. 1996).

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Çalışmada Kullanılan Maya Suşları, Besiyeri Ortamları ve Saklama Koşulları

Bu tezde, çeşitli fermente gıda kaynaklarından izole edilen ve Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Kültür Koleksiyonu'nda (PUFECC) saklanan 20 adet maya izolatu kullanılmıştır. Bunlar: *Saccharomyces cerevisiae* PFC107, PFC108, PFC110, PFC121; *Candida glabrata* PFC124, PFC128, PFC129, PFC139, PFC140, PFC141, PFC142, PFC148, PFC 151; *Candida humilis* PFC146; *Issatchenkia orientalis* PFC132, PFC135, PFC144; *Pichia kudriavzevii* PFC113; *Torulasporea delbrueckii* PFC150 ve *Kluyveromyces marxianus* PFC120 suşlarıdır. Koleksiyonda yer alan maya suşları, YPD Broth (20 g/L glukoz; 20 g/L bakto pepton; 10 g/L maya ekstraktı) sıvı besiyeri ortamında 30 °C'de 24 saat inkübasyon ile geliştirilmiştir. Gelişen mayalar, Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (Merck, Almanya) agar (DRBC) üzerinde 28-30 °C'de 48 saat inkübe edilerek saklanmıştır. Mayaların uzun süreli muhafazası, gelişme ortamına son konsantrasyonu %20 gliserol ilave edilerek, ependorflara alınıp -80 °C'de saklanmıştır.

2.2 Fermantasyon Substratı ve Hazırlanması

Tezde kullanılan unlar; tam buğday unu, tam çavdar unu ve tam yulaf unu yerel un değirmenlerden (Denizli) temin edilmiştir. Fermantasyon substratı, hamur verimi 1000 olacak şekilde unun ve suyun karıştırılması ile hazırlanmıştır. Hamur verimi aşağıdaki gibi belirlenmiştir:

$$Un\ Verimi = \frac{Un\ miktarı + su\ miktarı}{Un\ miktarı} * 100 \quad (2.1)$$

Ortamın glukoz miktarını standardize etmek için 1 U alfa amilaz (Fungamyl 4000 SG, Novozymes, Danimarka), 1 U glukoamilaz (AMG 1100 BG, Novozymes, Danimarka) ve $7,5 \times 10^{-4}$ U proteaz (Neutrased 1,5 MG, Novozymes, Danimarka) enzimleri kullanılmıştır. Enzimler, 30°C'de 2 saat su banyosunda bekletilmiş daha

sonra enzimler 80 °C’de 30 dakika deaktive edilmiştir. Glukoz miktarını ölçmek için Colorimetric/Fluorometric Assay Kit BioVision (Milpitas, CA, ABD) kullanılmıştır.

2.3 Çeşitli Maya Suşları Kullanılarak Pre-ferment Hamur Üretimi

Ekmekçilik açısından önemli aroma bileşikleri üreten maya suşunu belirlemek için, tam buğday unu-su içeren ortama 20 farklı maya suşu ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Bunun için önce hamur verimi 1000 olacak şekilde un-su ortamı hazırlanmış, enzim muamelesinden sonra enzimler deaktive edilmiş ardından 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Maya suşları, YPD Broth (20 g/L glukoz; 20 g/L bakto pepton; 10 g/L maya ekstraktı) sıvı besiyeri ortamında 30 °C’de 24 saat geliştirilmiştir. Elde edilen kültür daha sonra 6000 g’de 15 dakika santrifüjlenmiştir (Minispın, Eppendorf, Hamburg, Almanya). Oluşan pelet, sodyum fosfat tamponlu çözelti (PBS; NaCl 0.138 M; KCl - 0.0027 M; pH7.4) (Sigma-Aldrich Co.) ile yıkanmıştır. Her hücre peleti flasklara inokülasyondan önce maya hücresi sayısı yaklaşık 10^6 KOB/ml olacak şekilde ayarlanmıştır. İnokülasyonun sonrasında, flasklar 25°C’de 48 saat süresince çalkalayıcı (WiseShake SHO-1D, Birleşik Krallık) ile inkübasyona bırakılmıştır. 48. saatin sonunda alınan örnekler, 5000 g’de 5 dakika süreyle santrifüj (Hettich Universal 30 RF, Almanya) edilerek çökelti uzaklaştırılmış ve üst sıvı 0,45 µm por çaplı membran filtreden (Millex, Millipore, Amerika Birleşik Devletleri) geçirilmiştir.

2.4 Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin Uçucu Aroma Bileşik İçeriğinin Belirlenmesi

Farklı maya suşlarıyla fermente edilen hamur örneklerindeki uçucu aroma bileşikleri, Plessas ve diğ. (2008^b) tarafından uygulanan yöntem modifiye edilerek headspace analizi solid-faz mikroekstraksiyon teknolojisi (SPME) kullanılarak Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC-MS) ile belirlenmiştir. SPME analizlerinin her biri için 5 g hamur örneği 40 mL’lik bir vial alınmış, üzerine 5µL iç standart (2-metil valerik asit ve 2-metil-3-heptanon içeren) eklenmiş ve SPME enjektörü vial septumundan içeriye sokulmuştur. Daha sonra vial 55°C’deki su banyosuna

daldırılmış ve SPME elyafı (2 cm-50/30 mm DVD/Carboxen/PDMS Stable Flex Supelco, Bellefonte, PA, USA) 55 dakika headspace işlemine maruz bırakılmıştır. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra elyaf splitsiz modda 10 dakika uçucuların termal desorpsiyonu için 250°C'ye ayarlanmış gaz kromatografisinin injeksiyon bölümüne yerleştirilmiştir. GC-MS cihazında aroma bileşiklerinin analizinde stabil wax kolon (60 m, 0.32 mm id. 0,25 µm film kalınlığı; Restek, USA) kullanılmıştır. Literatürde verilen bilgi ışığında seçilen GC programı, kullanılan örnek ve kolon ile yapılan yaklaşık 15 farklı metodun denendiği ön çalışmalar sonucu en uygun aroma bileşen piklerinin alınacağı şekilde modifiye edilmiştir. Kullanılan GC-MS programı şu şekildedir: 40°C'de 1 dakika bekletme, dakikada 7°C'lik artışlarla 100°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 5 dakika bekletme, dakikada 4°C artışlarla 130°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 1 dakika bekletme, dakikada 2°C artışlarla 180°C'ye ulaşma ve bu sıcaklıkta 4 dakika bekletme olarak gerçekleştirilmiştir. Taşıyıcı gaz helyum ve akış oranı 3 mL/dakika olarak uygulanmıştır. GC-MS'den elde edilecek uçucu bileşik piklerinin tanımlanması ve standart bileşenlerinin MS verileriyle karşılaştırılması MS'de yer alan NIST (National Institute of Standards and Technology, Willey Registry of Mass Spectral Data, 7th Edition, FFNSC Library), Wiley ve Aroma (FFNSC, Flavor and Fragrance Natural and Synthetic Compounds) kütüphanelerinden yararlanılarak yapılmıştır.

2.5 Ekmekçilik Açısından Önemli Uçucu Aroma Bileşikleri Üreten Maya Suşları ile Fermente Edilen Pre-ferment Örnekleri Kullanılarak Ekmek Yapımı

Ekmek hamuru hazırlanırken; %14 nem esasına göre 200 g un tartılmış ve karıştırıcının (Kitchen Aid, Amerika) yoğurma kabına konulmuştur. Üzerine %1,5 tuz ve maya suşları ile fermente edilen %15 oranında pre-ferment örnekleri ilave edildikten sonra un testi sonucu hesaplanan su miktarı konularak 10 dakika yoğrulmuştur. Hamurlar dört eşit parçaya bölünmüş ve %80'in üzerindeki nispi rutubetteki fermantasyon dolabında, 30°C'de 30 dakika dinlendirilmiştir. Daha sonra elde katlamak suretiyle havalandırılarak 10 dakika fermantasyona bırakılmıştır. Son fermantasyon süresi olarak ise 1 saat fermantasyona bırakılmıştır. Ekmekler hava sirkülasyonlu fırına (ASL, APF-50 Model, Konya) alınarak buhar verilmiş ve 220

°C’de 12 dakika pişirilmiştir. Üretilen ekmekler soğuduktan sonra analizlerde kullanılmak üzere polietilen poşetlerde muhafaza edilmiştir.

2.6 Ekmekçilik Açısından Önemli Uçucu Aroma Bileşikleri Üreten Maya Suşları ile Fermente Edilen Pre-ferment Örnekleri Kullanılarak Pişirilen Ekmeklerin Duyusal Analizi

Denemeler sonucu üretilen ekmeklerin duyusal değerlendirmesi, 20 panelistin katılımıyla gerçekleştirilmiştir. Kontrol olarak, geleneksel ekmek mayası ile üretilen ekmek kullanılmıştır. Gıda Mühendisliği Bölümü öğrencileri ve öğretim elemanları arasından 18 panelist seçilmiştir. Ekmekler elektrikli bıçak ile kesilerek enine dilimler alınmış ve üç rakamlı sayılarla rastgele kodlanmıştır. Duyusal özelliklerin belirlenmesinde 1 (En Az) – 4 (En Çok) arasında değerlere göre aroma yoğunluğu ve lezzet beğenisi faktörlerine göre sıralama testi kullanılmıştır. Duyusal analiz testi için kullanılan form Şekil A.1’de gösterilmiştir.

2.7 *S. cerevisiae* PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinde Pre-ferment Hamurun Üretimi

Farklı parametrelerin etkisini incelemek amacıyla, aroma üretim miktarına ve duyusal analiz sonuçlarına göre seçilen *S. cerevisiae* PFC121 suşu; ayrı ayrı tam buğday, tam yulaf ve tam çavdar unu içeren ortama inoküle edilmiştir. Farklı un içeren her bir un-su karışımı bulunan ortam 30 °C ve 20 °C olmak üzere 2 farklı inkübasyon sıcaklığında fermantasyona bırakılmıştır. Un-su ortamının başlangıç pH’sı 4 ve 6 olmak üzere iki farklı koşula ayarlanmıştır. Daha sonra 24, 48 ve 72. saatlerde alınan örneklerden Bölüm 2.4’de belirtildiği gibi aroma analizi yapılmıştır. Tüm koşullar 2 tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir. Tüm parametreler ve kodları Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1: Pre-ferment örneklerinin deneysel kodlarını içeren substrat, sıcaklık ve başlangıç pH'sının gösterimi

Örnek Kodu	Substrat	Sıcaklık	Başlangıç pH
W-T30-p6	Buğday	30 °C	6±0,1
W-T20-p6	Buğday	20 °C	6±0,1
W-T30-p4	Buğday	30 °C	4±0,3
W-T20-p4	Buğday	20 °C	4±0,3
R-T30-p6	Çavdar	30 °C	6±0,1
R-T20-p6	Çavdar	20 °C	6±0,1
R-T30-p4	Çavdar	30 °C	4±0,3
R-T20-p4	Çavdar	20 °C	4±0,3
O-T30-p6	Yulaf	30 °C	6±0,1
O-T20-p6	Yulaf	20 °C	6±0,1
O-T30-p4	Yulaf	30 °C	4±0,3
O-T20-p4	Yulaf	20 °C	4±0,3

2.8 *S. cerevisiae* PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinde Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin Maya Sayımı

10 g örnekler, 90 mL peptonlu fizyolojik su (8.5 g NaCl, 1.0 g pepton, 0.3 g Na₂HPO₄, dH₂O pH 5.5) ile stomacherde (Seward Medical, London, UK) 1,5 dakika homojenize edilerek farklı dilüsyonları hazırlanmıştır. Ardından bu dilüsyonlardan Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (Merck, Almanya) agar içeren petrilere yayma usulü ekim yapılmış, petrilere 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda petrileredeki maya kolonileri sayılmıştır.

2.9 *S. cerevisiae* PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinin Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin pH Ölçümü

Hamur örneklerinin pH değerlerinin ölçümü için 5 g'lık bir numuneye 25 mL damıtılmış H₂O (dH₂O) ilave edilmiş ve karışım, stomacherde (Seward Medical, London, UK) 1 dakika homojenize edilmiştir. pH değerleri daha sonra bir pH metre

(Hanna Instruments HI 8314) kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler oda sıcaklığında iki tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

2.10 İstatistiksel Analiz ve Modelleme

Çeşitli maya suşları ile fermente edilen hamur örnekleri arasındaki önemli farklılıklar ($p < 0.05$) tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak Minitab Statistical Software v.19.1.1 (Minitab Inc., State College, PA, ABD)'de istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve her bir suş aroma profili %95 güven düzeyinde Fisher testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Aroma bileşikleri ve fermantasyon parametreleri arasındaki önemli farklılıklar ($p < 0.05$) tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) kullanılarak Minitab Statistical Software v.19.1.1 (Minitab Inc., State College, PA, ABD)'de istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve %95 güven düzeyinde Tukey's testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Farklı uçucu aroma bileşikleri ile parametreler arasındaki ilişkiyi kurmak amacıyla yapılan optimizasyonda;

Kısmi En Küçük Kareler (PLS-R) Regresyon modeli (Algorithm: Fast, Stop Conditions: Fixed Number = 4, Cross-validation: Jackknife(LOO), Variables: Center: Yes / Reduce: Yes, Confidence interval (%): 95),

Temel Bileşen Analizi (PCA Type: Correlation, Filter Factors Maximum Number = 5, Standardisation: (n), Type of Biplot: Distance Biplot / Coefficient = Automatic) ve

Isı Haritası (Center: Yes, Reduce: Yes, Color Scale: Red to green through black, Color calibration: Automatic (Min: -1/ Max: 1), Chart scaling factor: Width: 2 / Height: 1) için XLSTAT yazılımı (sürüm 2020.3.1.3, Addinsoft, Paris, Fransa) kullanılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1 Fermantasyon Substratının Özellikleri

Tezde, fermantasyon ortamı olarak un-su karışımı kullanılmıştır. Çünkü ekmekçilik ve fırın ürünlerinde doğrudan kullanılabilecek aroma karışımının hazırlanması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda öncelikle hamur verimine ve glukoz içeriğine karar verilmiştir. Maya suşlarının ihtiyacı olan şeker, α -amilaz ve glukoamilaz ile ve ihtiyacı olan aminoasitler proteaz enzimleri ile ön işlem uygulamaları vasıtasıyla sağlanmıştır.

α -Amilaz, glukoamilaz ve proteaz enzimlerinin uygulandığı farklı hamur verimine sahip hamurların glukoz miktarı (g/L) Tablo 3.1'de verilmiştir. 400 un verimine sahip un-su Her iki hamur verimine sahip fermantasyon ortamlarındaki glukoz miktarı zamana bağlı olarak artmıştır. Ancak hamur verimi artışı glukoz miktarını un miktarındaki düşüşe bağlı olarak azaltmıştır. Fermantasyon ortamındaki şeker konsantrasyonunun ekmekçilik açısından önemli metabolitlerin üretimi açısından oldukça önemlidir (Pronk ve diğ. 1996). Maya, yüksek şeker konsantrasyonlarının varlığında, solunum yerine alkol fermantasyonu tercih ettiğinden dolayı (Crabtree etkisi) (De Deken 1966), piruvattan başlayarak devam eden alkol fermantasyonu önemli ana metabolik yoldur (Fiaux ve diğ. 2003, Gancedo 1992, Heitmann ve diğ. 2018). Diğer önemli bir husus ise un-su karışımının akışkanlık özelliğidir. Fermantasyon sistemlerinde akışkan substrat mikrobiyal gelişimde homojenliği sağlar (Raimbault 1998). Bu bakış açılarından dolayı çalışmamızda fermantasyon substratının glukoz içeriği 15 g/L ayarlanmış ve 1000 hamur veriminde çalışılmasına karar verilmiştir.

Tablo 3.1: Farklı hamur verimlerinde hazırlanan un-su karışımında enzim aktivitesi sonundaki glukoz miktarı (g/L)

İnkübasyon Süresi	Glukoz Miktarı (g/L)	
	400 Hamur Verimi	1000 Hamur Verimi
30 Dakika	2,73	1,22
1 Saat	7,98	4,93
2 Saat	36,9	14,8

3.2 Maya Suşlarıyla Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin Uçucu Aroma Bileşik İçeriği

Tam buğday unu ve su ile 1000 hamur veriminde hazırlanan ve enzimatik ön işlem uygulanmış fermantasyon ortamına inoküle edilen 20 farklı maya suşunun fermantasyonu sonucunda uçucu yüksek alkol, keton, aldehit, ester gruplarını içeren 31 farklı bileşik tespit edilmiştir. Ancak çalışmada ekmekçilik ve fırın ürünlerinde kullanılmak üzere pre-ferment aroma üretimi hedeflendiği için, ekmekçilik açısından önemi çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuş uçucu aroma bileşikleri (Tablo 3.2) ve miktarları dikkate alınarak suşlar karşılaştırılmış ve değerler Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.2: Ekmekçilik açısından önemli olan 10 farklı aroma bileşiğinin, koku tanımı ve orijini içeren genel görünümü

Kimyasal Grup	Aroma Bileşikleri	Koku Tanısı ^{a,b}	Bileşik Kaynağı ^{b,c,d}
Alkoller	3-Metil-1-bütanol	Balzemik, alkollü, malt	Ehrlich Yolu
	2-Metil-1-propanol	Tutkal, alkol	Ehrlich Yolu
	2-Feniletıl alkol	Çiçekli, maya benzeri, bal	Strecker Degredasyonu ve Ehrlich Yolu
Aldehitler	Asetaldehit	Meyvemsi	Glikoliz ve Strecker Degredasyonu
	Benzaldehit	Badem, karamel	Fermantasyon, Lipit Oksidasyonu ve Maillard Reaksiyon
	Nonanal	Narenciye, sabunlu	Lipit Oksidasyonu
Esterler	3-Metil-1-bütıl asetat	Muz	Fermantasyon
	2-Metil-1-propil asetat	Meyveli, çiçekli	Fermantasyon
	2-Feniletıl asetat	Bal, elma	Fermantasyon
	Etil asetat	Tatlı, meyveli	Glikoliz

^a (Lee ve Noble 2003)

^b (Pico ve diğ. 2015)

^c (Birch ve diğ. 2014)

^d (Jackson 2000)

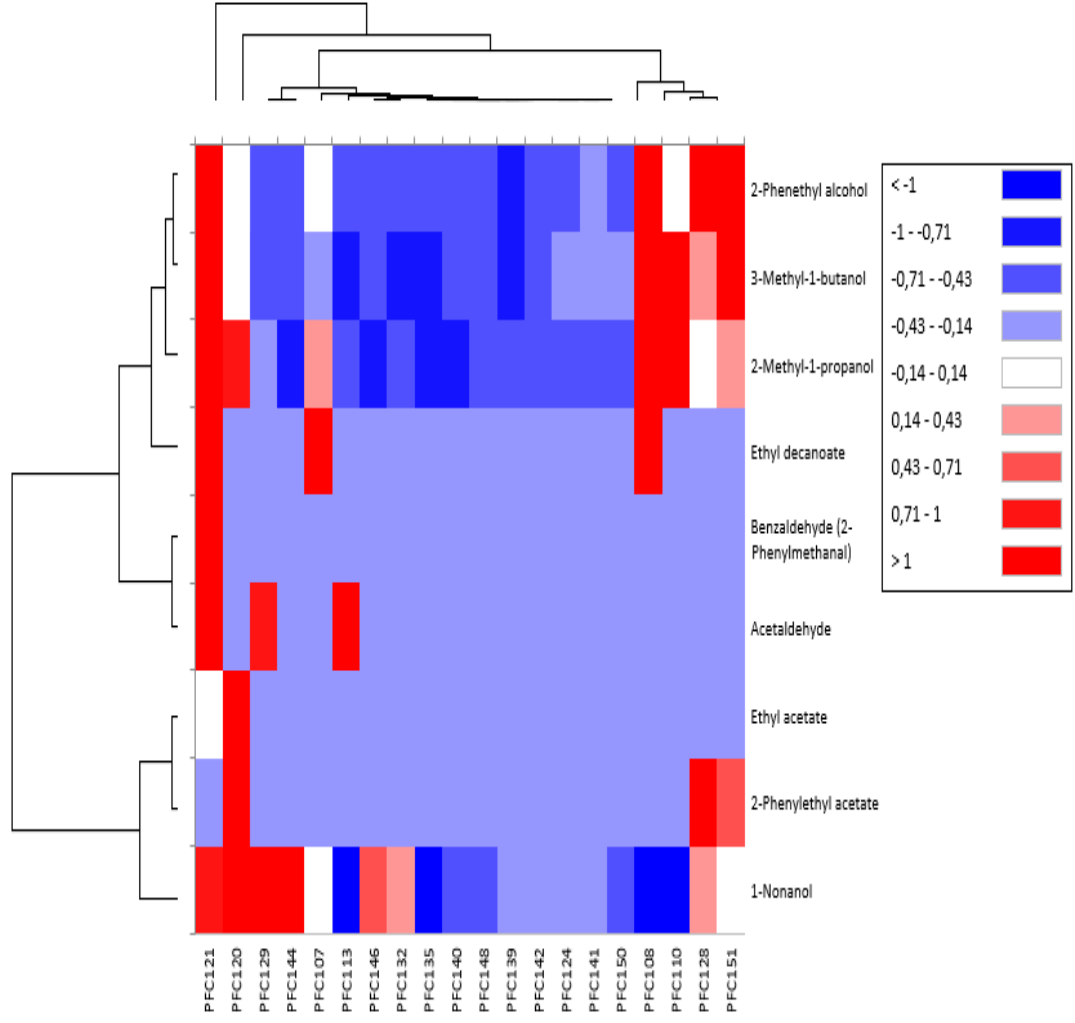
Tablo 3.3: 20 farklı maya suşu ile fermente edilen her bir fermantasyon ortamının fermantasyon sonundaki ekmekçilik açısından önemli aroma uçucu bileşik profili ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

	107 ^{b,c}	108 ^{a,b,c}	110 ^{a,b,c}	121 ^a	124 ^{b,c}	128 ^{a,b,c}	129 ^c	139 ^c	140 ^{b,c}	141 ^{b,c}	142 ^c	148 ^c	151 ^{a,b}	146 ^c	132 ^c	135 ^c	144 ^{b,c}	113 ^{b,c}	150 ^{b,c}	120 ^{a,b,c}
Aldehitler																				
Asetaldehit	-	-	-	108	-	-	31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43	-	-
Benzaldehit (Fenilmethanal)	-	-	-	241	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alkoller																				
3-Metil-1-bütanol	926	3004	2885	4579	954	1765	399	173	426	741	363	305	4224	251	121	118	366	137	619	1364
2-Metil-1-propanol	85	228	217	291	25	55	27	8	-	21	14	14	89	-	12	-	-	25	20	127
2-Feniletıl alkol	1872	6288	2310	8301	768	5689	350	187	847	1085	526	455	5787	405	476	417	632	745	851	1662
1-Nonanol	31	-	-	52	19	34	69	19	18	19	21	15	33	46	38	-	79	-	13	84
Esterler																				
2-Feniletıl asetat	-	-	-	-	53	430	-	-	-	-	-	-	282	-	-	-	-	-	-	1113
Etil asetat	20	55	64	85	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3309
Etil decanoate	152	285	-	204	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Suş numaralarının yanında yer alan a,b ve c harfleri ; farklı sütunlarda bulunan suşların Fisher karşılaştırma sonucuna göre aralarındaki gruplandırmayı belirtmektedir. Gruplar arasında istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır. ($p=0.1>0.05$). Tablodaki birbirinden bağımsız sütunlar PFC kodlarını göstermektedir. Maya suş isimleri, Bölüm 2.1’de verilmiştir. “-“ tespit edilemediğini ifade etmektedir.

Maya suşlarıyla fermente edilen hamur örneklerinin ekmekçilik açısından önemli uçucu aroma bileşik içeriği Tablo 3.3'te gösterilmiştir. Ekmeğin son uçucu fraksiyonunda en fazla bulunan bileşikler alkollerdir ve bu alkoller 3-metil-1-bütanol ve 2-feniletanol gibi alkollerdir (Birch ve diğ. 2014, Dall'Asta ve diğ. 2013, Pico ve diğ. 2015, Schieberle ve Grosch 1991). Bu çalışmadaki maya suşları da 3-metil-1-bütanol, feniletanol ve 2-metil-1-propanolü en yüksek miktarda üretmiştir. Tablo 3.3'te görüldüğü gibi 20 farklı maya suşu arasında *S. cerevisiae* PFC121 diğer maya suşlarına kıyasla daha fazla 3-metil-1-butanol, 2-fenilethanol ve 2-metil-1-propanol üretebilmiştir. Ekmekçilik açısından anahtar uçucu bileşikler izlendiğinde PFC120 ve PFC107 suşlarının da ön plana çıktığı görülmektedir. Un-su karışımına maya eklendiğinde aldehit miktarında azalma görülmektedir (Frasse ve diğ. 1993). Bunun sebebi; mayaların, Ehrlich yolunu kullanarak aldehitlerin redüksiyon ve oksidasyonu sonucu alkoller ve esterleri üretmesidir (Hazelwood ve diğ. 2008). Tablo 3.3'ten izlendiği üzere , 20 farklı maya suşunun fermantasyonu sonunda sadece *S. cerevisiae* PFC121 suşunda benzaldehit ve asetaldehit tespit edilmiştir. *S. cerevisiae*, un içinde bulunan fermente edilebilir karbonhidratların büyük bir kısmı "Embden-Meyerhof-Parnas" yolu veya glikoliz ile pirüvik aside dönüştürür. Daha sonra pirüvik asitin dekarboksilasyonu sonucu asetaldehit oluşur (Koshland ve Westheimer 1950). Etil asetat gibi esterler, yüksek ihtimalle maya hücresi içindeki enzimatik reaksiyonlar tarafından üretilmiştir (Lilly ve diğ. 2000)

Tablo 3.3'te gösterildiği gibi, *Kluyveromyces marxianus* PFC120 suşu diğer suşlara kıyasla daha fazla miktarda 2-feniletanol asetat ve etil asetat esterlerini üretmiştir. Ekmek içinde tespit edilen esterler, genellikle ekmek içinde bulunan diğer bileşik sınıflarıyla karşılaştırıldığında düşük KAD ve LS faktörlerine sahip olduğu bulunmuştur. Özellikle etil asetat ve etil 3-metilbutanoat son derece uçucudur ve pişirme sırasında buharlaşır. Ekmek içinde tanımlanan esterler, kısa ila orta zincirli yağ asitleri ve alkoller arasındaki asetil-CoA türevleri arasındaki transferazlarla katalize edilen bir enzimatik reaksiyon ile maya hücresinde üretilir (Birch ve diğ. 2014, Lilly ve diğ. 2000).

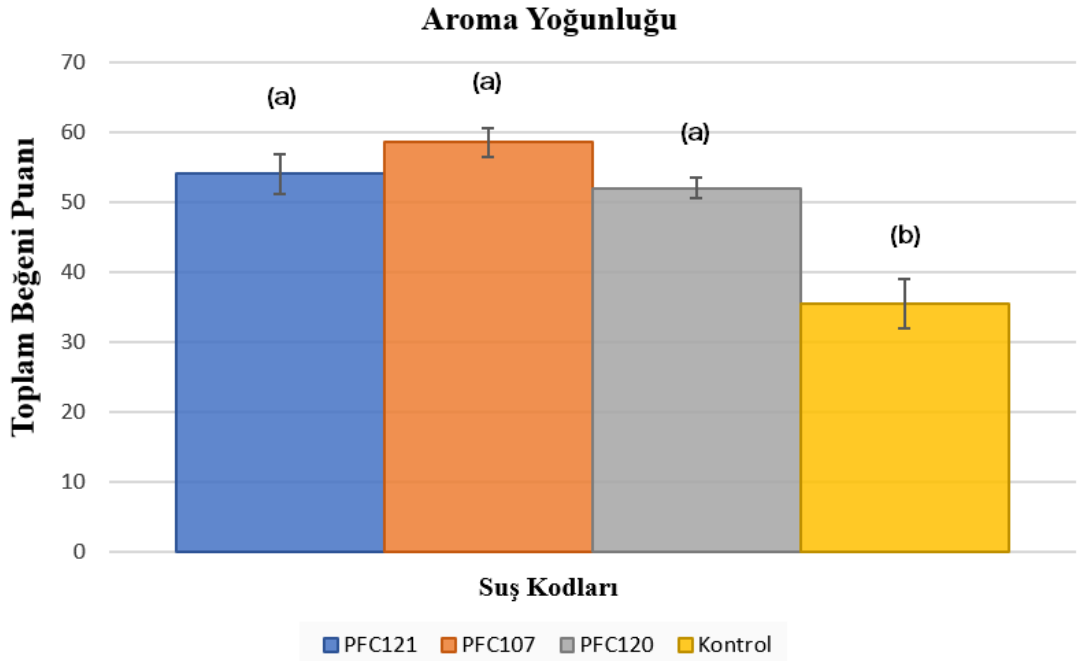


Şekil 3.1: 20 farklı maya suşu ile ayrı ayrı fermente edilmiş pre-fermentlerin uçucu bileşik profillerine göre ısı haritası gösterimi

20 farklı maya suşu ile ayrı ayrı fermente edilmiş pre-fermentlerin uçucu bileşik profillerine göre ısı haritası Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Isı haritasında görüldüğü gibi *Saccharomyces cerevisiae* PFC121 suşu, asetaldehit, benzaldehit (2-fenilmetanal), 3-metil-1-bütanol, 2-metil-1-propanol, 2-feniletıl alkol, 1-nonanol ve etıl decanoate miktarında diğer suşlara kıyasla en fazla üretımı göstermiştir. *Kluyveromyces marxianus* PFC120 suşu ise, PFC121'in az miktarda ürettiği etıl asetat ve feniletıl asetat üretimini en fazla miktarda gerçekleştirmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* PFC107 suşu ise, 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, 2-feniletıl alkol, 1-nonanol, etıl decanoate ve etıl asetat miktarında ise diğer suşlara kıyasla ortalama bir üretim göstermiştir. Isı haritası (Şekil 3.1) gruplama hiyerarşisinde de görüldüğü gibi, PFC121 ve PFC120 tamamen farklı bir suş olarak gruplanma gösterirken, PFC107 ise diğer suşlar ile gruplarda yer almıştır.

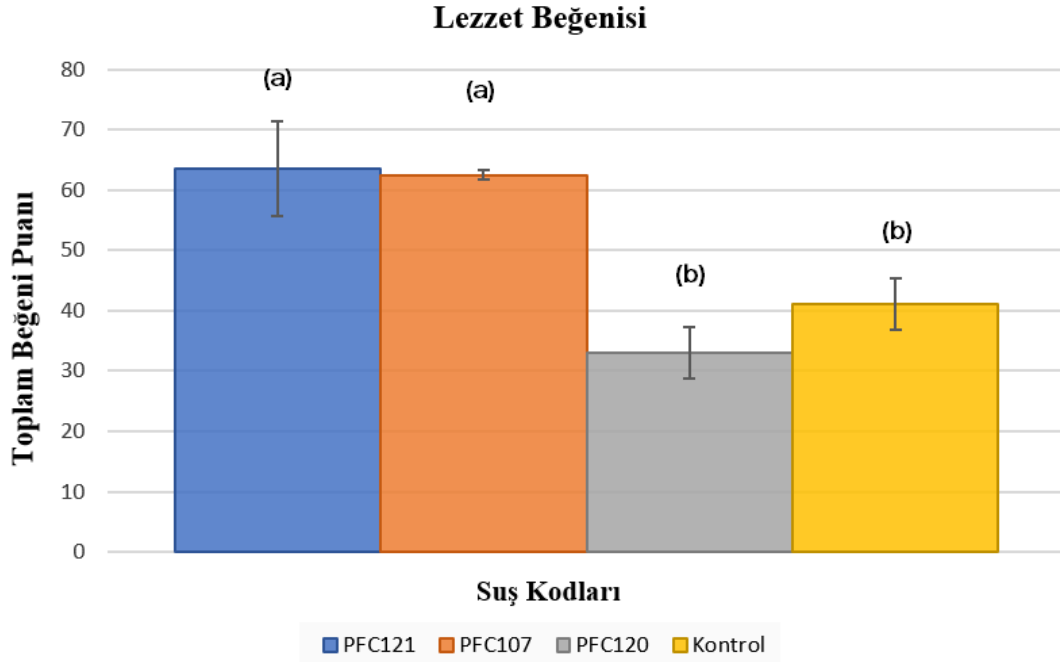
3.3 Maya Suşları ile Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örnekleri Kullanılarak Pişirilen Ekmeklerin Duyusal Analiz Özellikleri

Tam buğday unu ve su karışımının maya suşları ile fermantasyonu sonunda öne çıkan üç suş *S. cerevisiae* PFC121, *K. marxianus* PFC120 ve *S. cerevisiae* PFC107 kullanılarak ve bunun yanında pre-ferment kontrol grubuyla yapılan ekmeğin duyusal analiz özellikleri; aroma yoğunluğu Şekil 3.2’de, lezzet beğenisi ise Şekil 3.3’te gösterilmiştir. Sıralama testi yöntemi ile gerçekleştirilen duyusal analiz sonuçlarında, kontrol grubuyla yapılan ekmeğin, aroma yoğunluğu açısından maya suşları kullanılarak hazırlanan pre-ferment örnekleri ile üretilen ekmeklere göre daha az yoğun bulunmuş ve istatistiksel açıdan kontrol grubu ile yapılan ekmeğin aroma yoğunluğu Tukey’s testi sonucuna göre PFC121, PFC107 ve PFC120 suşları kullanılarak hazırlanan pre-ferment örnekleri ile üretilen ekmeklere göre farklı bulunmuştur ($p < 0,05$). *S. cerevisiae* PFC121, *S. cerevisiae* PFC107 ve *K. marxianus* PFC120 suşlarına ait pre-fermentler ile üretilen ekmeklerin aroma yoğunluğu bakımından bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 3.2: *S. cerevisiae* PFC121, *K. marxianus* PFC120 ve *S. cerevisiae* PFC107 suşlarının pre-fermenti kullanılarak ve pre-ferment kullanılmadan üretilen ekmeklerin aroma yoğunluğu açısından duyusal analiz sonuçları

Şekil 3.3'te gösterilen lezzet beğenisine göre en düşük puanı *K. marxianus* PFC120 suşunun pre-fermenti kullanılarak yapılan ekmek alırken, en yüksek puanı *S. cerevisiae* PFC121 ve PFC107 suşları ile fermente edilen pre-fermentin kullanılması ile üretilen ekmekler almıştır ($p<0,05$). Pre-fermentin kullanılmadığı kontrol ekmeği ile *K. marxianus* PFC120 suşunun pre-fermentinin kullanıldığı ekmekler benzer puanları almıştır ($p>0,05$).



Şekil 3.3: *S. cerevisiae* PFC121, *K. marxianus* PFC120 ve *S. cerevisiae* PFC107 suşlarının pre-fermenti kullanılarak ve pre-ferment kullanılmadan üretilen ekmeklerin lezzet beğenisi açısından duyusal analiz sonuçları

Duyusal analiz sonuçlarına göre, seçilen üç suş kullanılarak hazırlanan pre-ferment ile üretilen ekmeklerin aroma yoğunluğu üzerinde anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Bu sonuç söz konusu suşların uçucu aroma bileşiklerinin analizi ile aynı paraleldir. Suşlar tarafından üretilen uçucu aroma bileşikleri panelistler tarafından belirgin bir şekilde tespit edilebilmiştir. Ancak suşların ürettiği bazı uçucu aroma bileşiklerinin lezzete olumsuz etkisi olabileceği temel sorunlardan birisidir. Bu doğrultuda yapılan lezzet beğenisi analiz sonuçlarına göre, *S. cerevisiae* PFC121 ve PFC107 suşları ile hazırlanan pre-fermentlerin ekmek lezzet beğenisine önemli katkı sağlarken, *K. marxianus* PFC120 suşu ile hazırlanan pre-fermentinin ekmek lezzet beğenisini düşürdüğü görülmüştür. Bu sonuç suşlar tarafından üretilen uçucu bileşik çeşitliliği ve miktarının lezzet beğenisini etkilediğine işaret etmiştir. Bu nedenle pre-

ferment içerisinde uçucu aroma bileşiklerinin miktarı ve çeşitliliği dengeli olmalıdır. Duyusal analizde panelistler tarafından değerlendirilen ekmekler Şekil 3.4'te gösterilmiştir.



Şekil 3.4: Duyusal analizde panelistler tarafından değerlendirilen ekmekler

3.4 *S. cerevisiae* PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinde Pre-ferment Hamur Üretimi

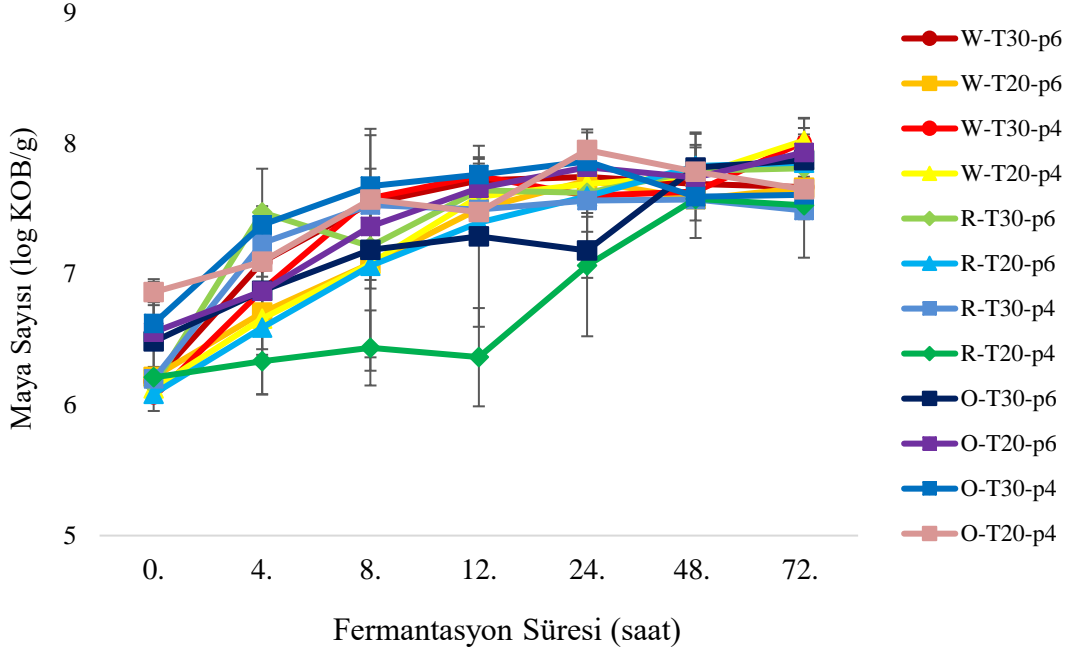
Öncü çalışmaların ışığında gerek analitik olarak gerekse de duyusal açıdan *S. cerevisiae* PFC121 suşunun başarılı olduğunun anlaşılması ile, farklı fermantasyon parametrelerinin uçucu aroma bileşik üretimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu doğrultuda farklı; un tipi, fermantasyon sıcaklığı, fermantasyon başlangıç pH'sı ve fermantasyon süresinin etkileri araştırılmıştır. Daha önce materyal ve yöntemde Bölüm 2.7'de verilen deneme deseni ile pre-fermentler hazırlanmış ve sırasıyla maya sayımları ve pH değişim takibi ve bunun yanında uçucu aroma bileşik analizi gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.5'te, *S. cerevisiae* PFC121 maya suşunun DRBC agar besiyeri içeren petrideki kolonileri gösterilmiştir.



Şekil 3.5: *S. cerevisiae* PFC121 maya suşunun DRBC agar besiyeri içeren petrideki kolonileri

3.5 *S. cerevisiae* PFC121 ile Farklı Fermantasyon Parametrelerinde Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin Maya Sayım Sonuçları

Örneklerdeki maya sayısı Şekil 3.6'da gösterildiği gibi inokülasyondan sonra tüm örneklerde artış göstermiştir. Maya sayısı 24. saate kadar anlamlı açıdan artış gösterirken ($p < 0,05$), 24. saatten sonra fermantasyon sonuna kadar anlamlı değişim meydana gelmemiştir ($p > 0,05$). Fermantasyon sonunda tam buğday unu ile başlangıç pH'sı $4 \pm 0,3$ olan W-T30-p4 ve W-T20-p4 kodlu örnekler diğer örneklere kıyasla yaklaşık 8 log KOB g^{-1} maya sayısı ile en yüksek miktara ulaşmışlardır.

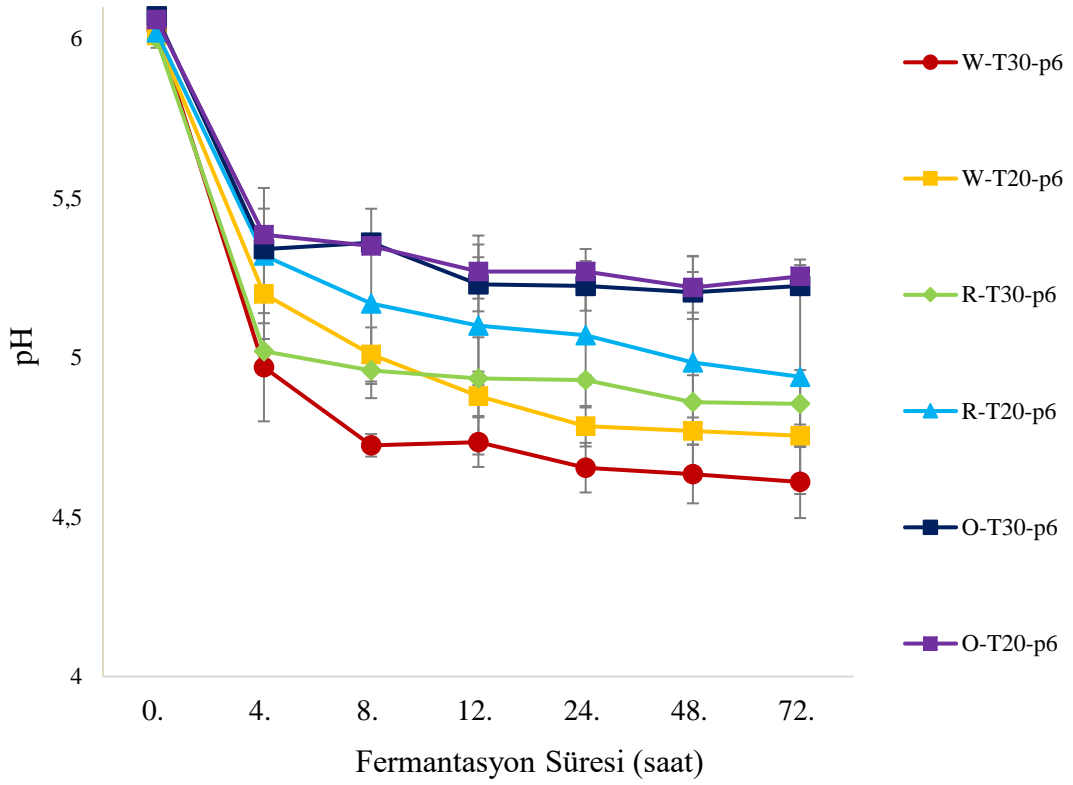


Şekil 3.6: *S. cerevisiae* PFC121 suşu ile farklı koşullarda fermente edilen örneklerin ortamdaki maya sayısı (log KOB/g). (Örneklerin kodları Tablo 2.1’de gösterilmiştir.)

Yüksek sıcaklıkta (30 °C) fermente edilen örneklerdeki maya sayısı 0-8. saat arasında hızlı artış gösterirken, düşük sıcaklıkta (20 °C) fermente edilen örnekler 4-12. saat arasında maksimum hızda artış göstermiştir. Thiele ve diğ. (2002)’de yaptığı çalışmada, saf *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida. milleri* kültürleri ile ayrı ayrı fermente edilmiş hamurlarda, maya sayısını 60. saatin sonunda 10^8 KOB g⁻¹ bulmuşlardır ki bu çalışmada bulunan sonuçlarla kıyaslandığında tutarlıdır (Thiele ve diğ. 2002).

3.6 *S. cerevisiae* PFC121 ile Farklı Fermentasyon Parametrelerinde Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin pH Ölçüm Sonuçları

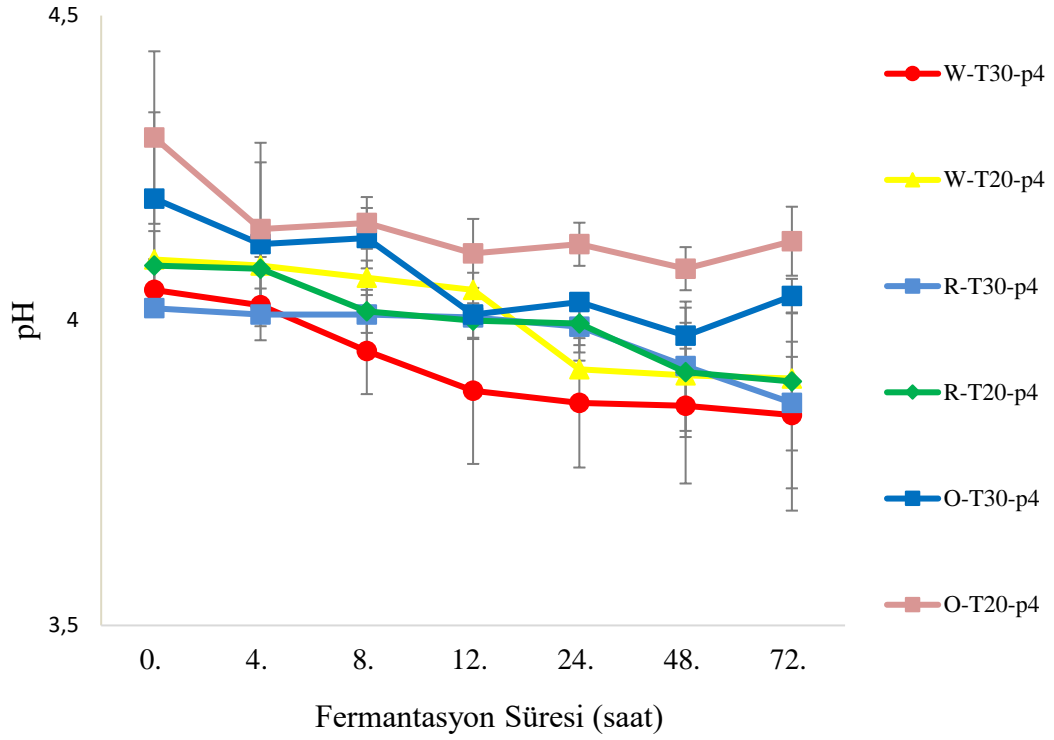
Ortam başlangıç pH’sı $6\pm 0,1$ ve $4\pm 0,3$ olan iki farklı örnek grubunun fermentasyon boyunca pH değimi sırasıyla Şekil 3.7’de ve Şekil 3.8’de gösterilmiştir. Ortam başlangıç pH’sı $6\pm 0,1$ olan örneklerde 4. saatte önemli bir ($p < 0,05$) pH düşüşü gözlenmiştir. Aynı örneklerin fermentasyonun 8. saatinden sonra ise daha az miktarda pH değişimi gözlenmiştir ve istatistiksel açıdan bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 3.7: *S. cerevisiae* PFC121 inoküle edilen ve fermantasyon başlangıç pH'sı $6\pm 0,1$ olan pre-ferment örneklerinin pH değişimi. (Örneklerin kodları Tablo 2.1'de gösterilmiştir.)

Fermentasyonun 72. saatinde en düşük pH, tam buğday unu ile hazırlanmış W-T30-p6 ve W-T20-p6 kodlu pre-ferment örneklerinde tespit edilmiştir. Bu örneklere kıyasla tam çavdar unu ile hazırlanmış R-T30-p6 ve R-T20-p6 kodlu pre-ferment örneklerinde daha yüksek pH değerleri bulunmuştur. Tam yulaf unu ile hazırlanmış O-T30-p6 ve O-T20-p6 kodlu pre-ferment örnekleri ise bu 3 grup örnek arasında en yüksek pH değerine sahip olduğu görülmüştür. *S. cerevisiae* PFC121 ile fermente edilen pre-ferment örneklerindeki pH düşüşü un çeşidine bağlı ($p < 0,05$) iken, fermantasyon sıcaklığının pH üzerinde etkisi görülmemiştir ($p > 0,05$).

Ortam başlangıç pH'sı $4\pm 0,3$ olan tüm örneklerde fermantasyonun 12. saatine kadar az miktarda düşüş gözlenmiştir. ($p < 0,05$). Aynı örneklerin pH değişiminde 12. saatten sonra fermantasyonun sonuna kadar istatistiksel farklılık bulunmamıştır ($p > 0,05$). Başlangıç pH'sı 4 olan bunun yanında tam yulaf ve tam çavdar unu ile hazırlanan, düşük sıcaklıkta ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$) fermente edilen O-T20-p4 ve R-T20-p4 kodlu örneklerin pH'sı, yüksek sıcaklıkta ($30\text{ }^{\circ}\text{C}$) fermente edilen O-T30-p4 ve R-T30-p4 kodlu örneklere göre daha fazla düşmüştür.



Şekil 3.8: *S. cerevisiae* PFC121 inoküle edilen ve fermentasyon başlangıç pH'sı $\pm 0,3$ olan pre-ferment örneklerinin pH değişimi. (Örneklerin kodları Tablo 2.1'de gösterilmiştir.)

Tam buğday unu ile hazırlanan W-T30-p4 ve W-T20-p4 kodlu pre-ferment örneklerinde pH düşüşü en yüksek miktarda gözlenirken bunu sırasıyla tam çavdar unu ve tam yulaf unu ile hazırlanan R-T30-p4, R-T20-p4, O-T30-p4, O-T20-p4 kodlu pre-ferment örnekleri takip etmiştir. İstatistiksel olarak başlangıç pH'sı $4 \pm 0,3$ olan pre-ferment örneklerinde un çeşidi ve fermentasyon sıcaklığı, pH değerlerini anlamlı şekilde etkilemiştir ($p < 0,05$).

3.7 *S. cerevisiae* PFC121 ile Farklı Fermentasyon Parametrelerinde Fermente Edilen Pre-ferment Hamur Örneklerinin Uçucu Aroma Bileşik İçeriği

S. cerevisiae PFC121 suşuyla fermente edilen örneklerin aroma uçucu bileşik profilinde aldehitler, ketonlar, esterler, yüksek alkoller, furanlar ve diğer heterosiklik bileşikler olmak üzere toplamda 71 uçucu aroma bileşiği tespit edilmiştir (Tablo C.1). Fermentasyon koşullarının aroma oluşumuna olan etkisini anlamak amacıyla; sıcaklık, un çeşidi, süre ve başlangıç pH değişkenleri farklı kombinasyonlarla denenmiş,

ekmekçilik açısından anahtar rolü bulunan Tablo 3.2’de belirtilen 10 uçucu aroma bileşiğinin değişimi değerlendirilmiştir.

3.7.1 Fermantasyon Sıcaklığının *S. cerevisiae* PFC121 Suşunun Uçucu Aroma Bileşik Üretimine Etkisi

Hamur örneklerinin *S. cerevisiae* PFC121 ile fermantasyonu için 30 °C ve 20 °C olmak üzere iki farklı fermantasyon sıcaklığı denenmiştir. *S.cerevisiae* PFC121 suşunun optimum fermantasyon sıcaklığı 25 °C’dir (Attfield 1997). 3-Metil-1-bütanol, tam buğday ve çavdar unu ile hazırlanan örneklerde fermantasyon sıcaklığı arttıkça azalırken, tam yulaf unu ile hazırlanan örneklerdeki 3-metil-1-bütanol miktarı, fermantasyon sıcaklığı arttıkça artmıştır. Farklı fermantasyon sıcaklıklarının (5,15 ve 35 °C) ve maya konsantrasyonlarının (20, 40 ve 60 g maya / kg un) ekmek içi aroma oluşumu üzerine etkisinin incelendiği çalışmada, 20 ve 60 g maya/kg un konsantrasyonlarında sıcaklık artışıyla 3-metil-1-butanol miktarı azalmıştır (Birch ve ark 2013^a). 2-Feniletanol üretimi, farklı sıcaklıklarda değişen miktarlarda üretilmiş; başlangıç pH’sı 6±0,1 olan 30 °C’de fermente edilen çoğu örnekte miktarı zamanla artarken, başlangıç pH’sı 4±0,3 olan 20 °C’de fermente edilen çoğu örnekte zamanla artmıştır. 3-metil-1-butanol ve 2-feniletanolün oluşumunun etkisi incelenmek amacıyla, farklı fermantasyon sıcaklıkları uygulanmış (25, 30, 35 ve 40 °C), 8 saat inkübasyondan sonra her iki yüksek alkol bileşiğinin pre-ferment hamurda en yüksek konsantrasyonunu 35 °C’de bulunmuştur. (Gassenmeier ve Schieberle 1995) 2-Metil-1-propanol miktarı, fermantasyon sıcaklığı 20 °C’den 30 °C’ye artırılınca arttığı görülmektedir. 2-Metil-1-propanol miktarı sıcaklığa göre istatistiksel açıdan farklıdır (p<0,05) Asetaldehit, fermantasyon sıcaklığı 30 °C olan koşullarda diğer sıcaklık koşullarına göre en fazla miktarda üretilmiştir. 86 farklı *S. cerevisiae* suşunun kullanıldığı bazı şarap türlerinde, farklı fermantasyon sıcaklıkları uygulandığında, asetaldehit üretimi 12 °C ile 24 °C arasında sabit kalırken, 30 °C’de önemli ölçüde artmıştır (Romano ve diğ. 1994). Benzaldehit, 30 °C’de az miktarda üretilmişken, 20 °C’de daha fazla miktarda üretilmiştir. Benzaldehit miktarı sıcaklığa göre istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur (p<0,05). Nonanal, benzaldehit’e benzer şekilde yüksek sıcaklıkta daha az üretilirken, düşük sıcaklıkta daha fazla üretilmiştir.

Esterler, asetil / asil-CoA ve bir alkol arasındaki kondenzasyon reaksiyonu ile oluşur (Dzialo ve diğ. 2017). 3-Metil-1-bütül asetat miktarı, tam buğday unu ile hazırlanmış örneklerde yüksek sıcaklıklarda (30 °C), 48. saate kadar artarken daha sonra azalma göstermiştir. Aynı bileşiğin miktarı, düşük sıcaklıklarda (20 °C), fermantasyon süresi arttıkça artarak, zamanla pozitif korelasyon göstermiştir. Aynı zamanda tam yulaf unu kullanılan fermantasyon ortamında, başlangıç pH'sı $4\pm 0,3$ ve 30°C fermantasyon koşulunda 48. saate kadar söz konusu bileşiğin miktarı artmış, daha sonra azalmıştır. Bunun dışında tam çavdar ve yulaf unu kullanılan örneklerde sıcaklıktan bağımsız olarak fermantasyon süresi ile birlikte 3-metil-1-bütül asetat miktarının arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, 2-metil-1-propil asetat miktarı, sıcaklık arttıkça artış göstermiştir. Genel olarak, yüksek sıcaklıklar hızlı alkol üretimine, bu da daha yüksek asetat ester üretimi ile sonuçlanmaktadır (Landaud ve diğ. 2001). 2-Metil-1-propil asetat sıcaklık baz alındığında farklı sıcaklıklardaki miktarı istatistiksel açıdan anlamlıdır ($p<0,05$). 2-Feniletıl asetat miktarı, tüm örneklerde 30 °C'de daha fazla üretilirken 20 °C'de daha az miktarda üretilmiştir. Bunun yanında etil asetat miktarında fermantasyon sıcaklığının artmasıyla beraber artış gözlenmiştir. Etil asetatın farklı sıcaklıklardaki miktarı, istatistiksel açıdan farklıdır ($p<0,05$). *S. cerevisiae* PFC121 ile fermente edilen pre-ferment örneklerinde en yüksek miktarda tespit edilen ester çeşidi etil asetatdır. Birch ve diğ. (2013^a) yaptıkları çalışmada ekmek içinde en yüksek miktardaki ester çeşidi olarak etil asetat tespit etmişler ve bizim sonucumuzla benzer sonuç bulmuşlardır (Birch ve diğ. 2013^a).

3.7.2 Un Çeşidinin *S. cerevisiae* PFC121 Suşunun Uçucu Aroma Bileşik Üretimine Etkisi

Un çeşidinin *S. cerevisiae* PFC121 suşunun uçucu aroma bileşik oluşumuna olan etkisini incelemek amacıyla tam buğday, çavdar ve yulaf unu olmak üzere 3 farklı un kullanılmıştır. 3-Metil-1-bütanol, en fazla miktarda tam buğday ununda, daha sonra tam çavdar ununda en az ise tam yulaf ununda tespit edilmiştir. 3-Metil-1-bütanol; balzamik, alkol veya maltımsı koku tanımı olarak karakterize edilir ve literatürde en çok atıf alan bileşiktir (Pico ve diğ. 2015). 2-Metil-1-propanol, 2-feniletıl alkol, asetaldehit, nonanal, 2-feniletıl asetat tam buğday unu ile hazırlanan hamur örneklerinde daha fazla miktardayken, tam çavdar ve tam yulaf unu ile hazırlanan

örneklerdeki miktarı hemen hemen aynıdır. 3-Metil-1-bütül asetat miktarı tüm un çeşitlerinde hemen hemen yakın miktarda üretilmiş ancak tam buğday unu ile hazırlanmış örneklerde çok az miktarda fazla üretilmiştir. Etil asetat ve 2-metil-1-propil asetat, tam buğday unu ve tam çavdar ununda yaklaşık aynı miktarda ancak tam yulaf ununa göre daha fazla miktarda tespit edilmiştir. Benzaldehit, her parametrede üretilmemiş ancak her üç un çeşidinde de tespit edilmiştir. Buğday ve çavdar ununun ekmek aromasına etkisini inceleyen çalışmada benzaldehit ve nonanal hem çavdar unuyla hazırlanan ekmekte hem de buğday unuyla hazırlanan ekmekte tespit edilmiştir (Schieberle ve Grosch 1987). Genel olarak yüksek alkoller ve aldehitler tam buğday ununda daha fazla tespit edilmiştir. 2-Metil-1-propil asetat haricindeki diğer aroma bileşikleri 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol, 2-feniletıl alkol, asetaldehit, benzaldehit, nonanal, 3-metil-1-bütül asetat, 2-feniletıl asetat ve etil asetat istatistiksel anlamda un çeşidi açısından önemli düzeyde farklılık göstermişlerdir ($p < 0,01$).

3.7.3 Fermantasyon Süresinin *S. cerevisiae* PFC121 Suşunun Uçucu Aroma Bileşik Üretimine Etkisi

Fermantasyon süresinin *S. cerevisiae* PFC121 suşunun uçucu aroma bileşik üretimine olan etkisini araştırmak için fermantasyonun 24, 48 ve 72. saati olmak üzere 3 farklı fermantasyon süresinde aroma analizi yapılmıştır. 3-Metil-1-butanol, 30 °C’de fermantasyonda, 48. saatte maksimum miktara ulaşırken, 20 °C’de fermantasyonda 72. saatte maksimum miktara ulaşmıştır. Kısa ve uzun fermantasyon sonrasında ekmek aromanın değişimini incelendiğinde, uzun süreli hamur fermantasyonunda kısa süreli fermantasyona göre 3-metil-1-butanol ve 2-feniletıl alkol LS faktörlerinin sırasıyla 8 ve 64 kat arttığı bulunmuştur (Schieberle ve Grosch 1991). 2-Metil-1-propanol, farklı unlarda farklı miktarlarda üretilmiş; tam buğday ununda 30 °C fermantasyonda 48. saatte maksimum miktarda üretilirken, 20 °C fermantasyon ve tam buğday ile tam çavdar ununun tüm parametrelerinde 72. saatte en yüksek miktarda üretilmiştir. 3 saatlik bir hamur fermantasyon periyodunun ekmek içindeki aroma profilinde daha kısa sürelerdeki fermantasyona kıyasla en yüksek alkol, ester ve aromatik bileşik içeriğiyle sonuçlandığı bulunmuştur (Maeda ve diğ. 2009). 2-Feniletıl alkol üretimi, farklı sıcaklıklarda değişen miktarlarda üretilmiş; başlangıç pH’sı $6 \pm 0,1$ olan 30 °C’de fermente edilen örneklerdeki miktarı zamanla çoğunlukla artarken, başlangıç pH’sı

4±0,3 olan 20 °C'de fermente edilen örneklerde çoğunlukla zamanla artmıştır. Asetaldehit, tam buğday unu içeren 30 °C'de fermantasyona bırakılmış örneklerde miktarı zamanla doğru orantılı olacak şekilde artmaktadır ancak endüstriyel bağlamda yüksek asetaldehit miktarları tercih edilmez (Dzialo ve diğ. 2017). Nonanal, 30 °C fermantasyon ve 6±0,1 başlangıç pH örneğinde ve 20°C sıcaklık ve 4±0,3 başlangıç pH örneğinde diğer saatlere göre en fazla 24. saatte tespit edilmiştir. 3-Metil-1-bütül asetat miktarı, tam buğday unu ile hazırlanan örneklerde 30 °C'de 48. saatte maksimum miktardayken, 20 °C'de 72. saatte maksimum miktardadır. 3-Metil-1-bütül asetat, fermantasyon süresi açısından istatistiksel anlamda farklılık göstermiştir (p<0,05). 2-Metil-1-propil asetat, tam buğday ve tam yulaf ununda 48. saatte en yüksek miktarda tespit edilirken, tam çavdar ununda 48. saatte tespit edilmiştir. 2-Metil-1-propil asetat miktarı zaman açısından istatistiksel farklılık göstermiştir (p<0,05). 2-Feniletıl asetat miktarı, tam buğday ununda 48. saatte en yüksek miktarda tespit edilirken, tam çavdar ve yulaf ununda 72. saatte en yüksek miktarda tespit edilmiştir. Etil asetatın, en yüksek miktarı 72. saatte tespit edilmiştir. Etil asetat miktarı zaman açısından istatistiksel farklılık göstermiştir (p<0,05). Genel olarak, çoğunlukla yüksek alkoller yüksek sıcaklıkta 48. saatte en yüksek miktarda tespit edilirken düşük sıcaklıklarda 72. saatte tespit edilmiştir. 2-Feniletıl asetat hariç olmak üzere; 3-metil-1-bütül asetat, 2-metil-1-propil asetat ve etil asetat miktarları zamana bağlı istatistiksel farklılık göstermektedir (p<0,05).

3.7.4 Fermantasyon Ortamı Başlangıç pH'sının *S. cerevisiae* PFC121 Suşunun Uçucu Aroma Bileşik Üretimine Etkisi

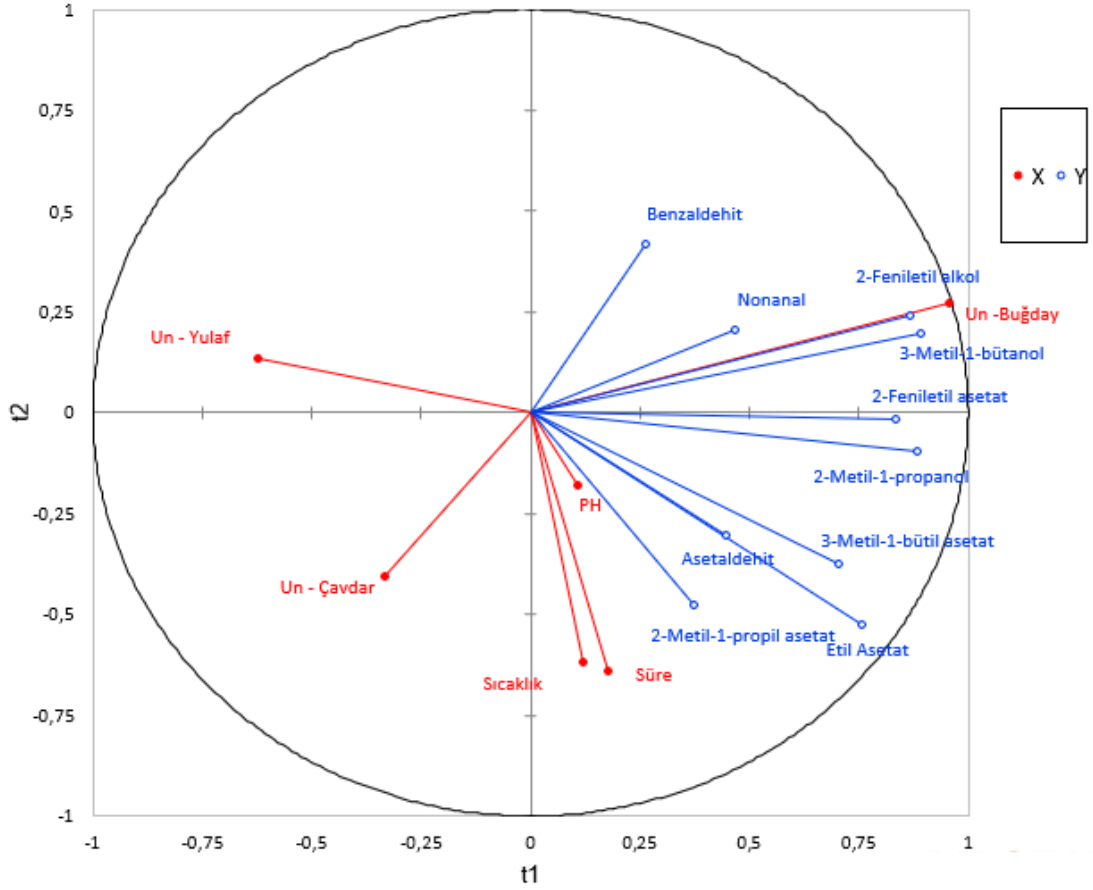
Fermantasyon ortamı başlangıç pH'sının *S. cerevisiae* PFC121 suşunun uçucu aroma bileşik oluşumunu nasıl etkileyeceğini anlamak amacıyla, örneklerin başlangıç pH'ları 6±0,1 ve 4±0,3 olmak üzere 2 farklı pH değeri seçilmiştir. Ekmek aroması için önemli amino asit oluşumunu inceleyen çalışmada prolin oluşumu, pH 5,5'ten daha yüksek değerlerle desteklenirken, fenilalanin, lösin ve sistein salınımı esas olarak daha düşük pH'da meydana gelmiştir (Thiele ve diğ. 2002). Yüksek alkoller, pH'ya göre sıcaklıktan daha fazla etkilenmişlerdir. pH'nın değişiminin yüksek alkoller üzerindeki etkisi oldukça sınırlıdır. Aldehitler, sıcaklığa göre pH'dan daha fazla etkilenmişlerdir. Asetaldehit ve nonanal miktarı, başlangıç pH'sı 4±0,3 olan

örneklerde başlangıç pH'sı $6\pm 0,1$ olan örneklerle göre daha yüksek miktarda tespit edilmiştir. Fermantasyon ortamında nonanal ve benzaldehit birikimi, pH'dan önemli düzeyde etkilenmiştir ($p<0,05$). Lu ve diğ. (2017), 3.9 ve 3.1 pH değerleri ile 20 ve 30 °C fermantasyon sıcaklığı ile aroma oluşumunu incelemiş, ester oluşumunun pH'ya göre sıcaklıktan daha fazla etkilediğini bildirmiştir (Lu ve diğ. 2017). Bu çalışmada da esterler, yüksek alkoller gibi pH'ya göre sıcaklıktan daha fazla etkilenmiştir. 3-Metil-1-bütül asetat, pH'dan önemli düzeyde etkilenen esterdir ($p<0,05$). 2-Feniletıl asetat ve etıl asetat miktarı, tam yulaf unu içeren ve başlangıç pH'sı $6\pm 0,1$ olan örneklerde daha fazla miktarda tespit edilmiştir.

3.8 Fermantasyon Koşulları ve Aroma Bileşikleri Arasındaki Korelasyonun İncelenmesi

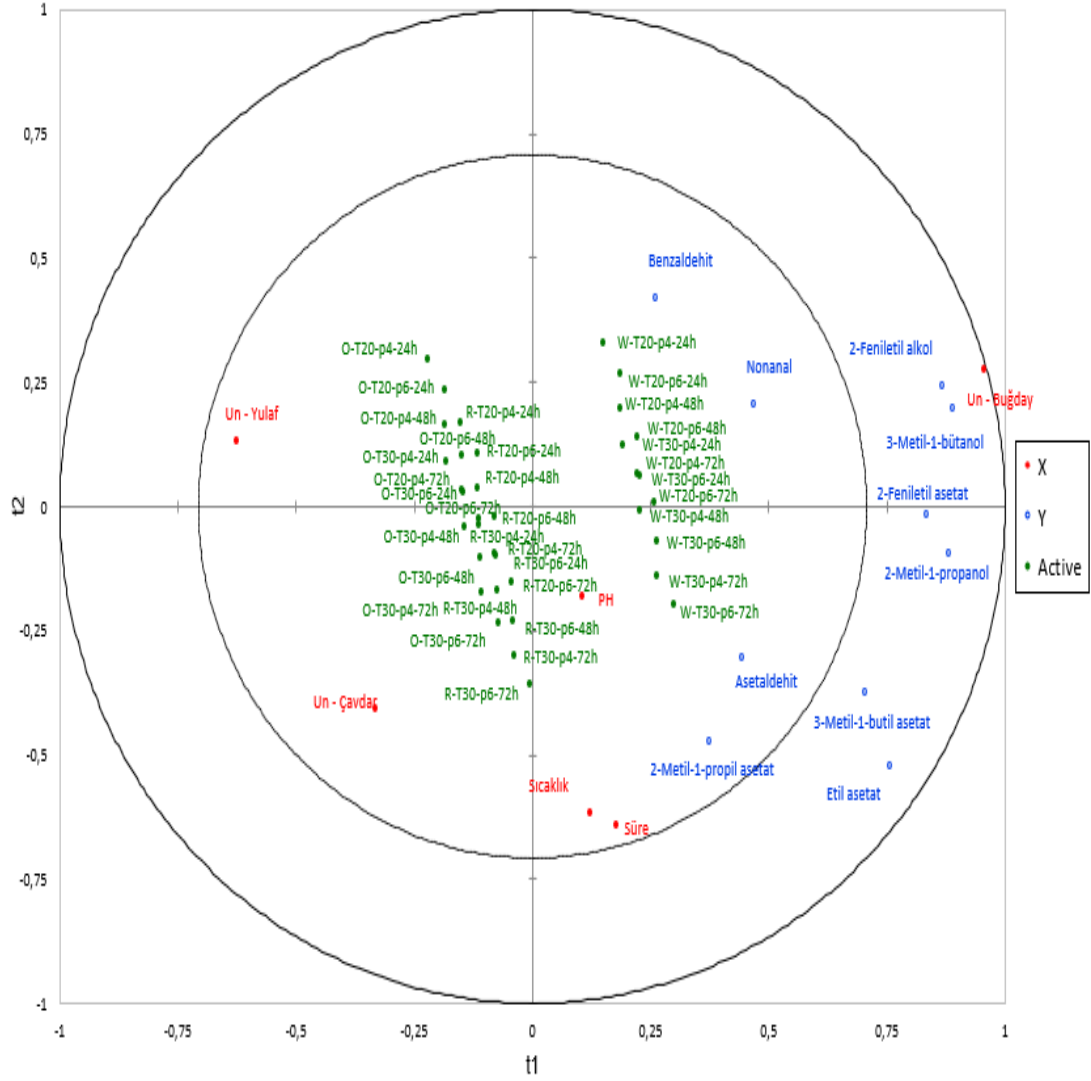
3.8.1 Kısmı En Küçük Kareler Regresyon Modeli (PLS-R)

S. cerevisiae PFC121 suşuyla, farklı fermantasyon parametreleri kullanılarak fermente edilen örneklerin, aroma uçucu bileşikleri ile fermantasyon parametreleri arasındaki korelasyon Kısmı En Küçük Kareler Regresyon Modeli (Partial Least Squares Regression; PLS-R) ile gösterilmiştir. Uçucu aroma bileşikleri (t1-matris) ve fermantasyon parametreleri (t2-matris) arasındaki kısmi en küçük kare regresyon (PLSR) korelasyon grafikleri Şekil 3.9'da ve Şekil 3.10'da gösterilmiştir. Fermantasyon parametre değişkenleri X (kırmızı) ; aroma bileşikleri Y (mavi); örnekler active (yeşil) olarak gösterilmiştir. Örnek kodları daha önce Tablo 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3.9: Uçucu aroma bileşikleri ve fermantasyon parametreleri arasındaki kısmi en küçük kareler regresyon (PLS-R) korelasyon grafiği. (Fermantasyon parametre değişkenleri X (kırmızı); aroma bileşikleri Y (mavi) olarak gösterilmiştir.)

İlk olarak Şekil 3.9'da gözlemlendiği gibi, fermantasyon parametre değişkenlerinden tam buğday unu, önemli aroma bileşikleriyle pozitif korelasyona sahipken, tam çavdar ve tam yulaf unu negatif korelasyon göstermiştir. pH, fermantasyon sıcaklığı ve fermantasyon süresi ile pozitif korelasyona sahip olan aroma bileşikleri, yüksek pozitif korelasyon değerinden düşük pozitif korelasyon değerine doğru sırasıyla 2-metil-1-propil asetat, etil asetat, asetaldehit, 3-metil-1-bütül asetat, 2-metil-1-propanol ve 2-feniletil asetat olarak gözlemlenmiştir. Benzaldehit, nonanal, 2-feniletil alkol ve 3-metil-1-bütanol; fermantasyon sıcaklığı, fermantasyon süresi ve pH ile kısmi korelasyon gösterirken, tam çavdar ve yulaf unu ile negatif korelasyona sahip olduğu gözlemlenmiştir. Aroma bileşikleriyle korelasyon gösteren değişkenler arasında pH en düşük düzeydedir. Fermantasyon sıcaklığı ve süresinin, pH'dan etkili olduğu ve tam buğday ununun yüksek korelasyon gösterdiği anlaşılmaktadır.



Şekil 3.10: Uçucu aroma bileşikleri, fermantasyon parametreleri ve pre-ferment örnekleri arasındaki kısmi en küçük kareler regresyon (PLS-R) korelasyon grafiği. (Fermantasyon parametre değişkenleri X (kırmızı); aroma bileşikleri Y (mavi); ve örnekler active (yeşil) olarak gösterilmiştir. Örneklerin kodları Tablo 2.1’de belirtilmiştir.)

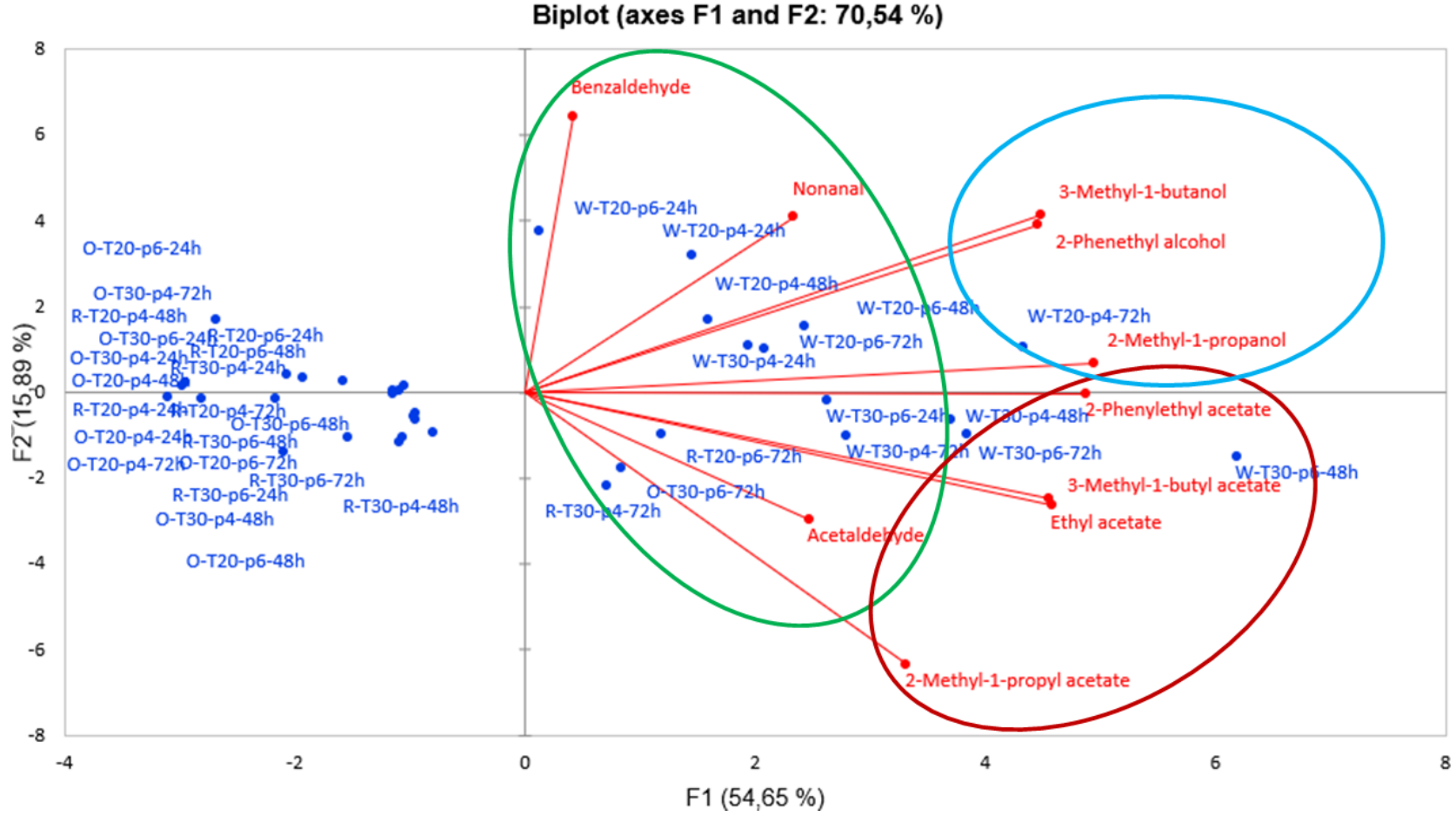
Şekil 3.10’da görüldüğü gibi, örneklerden tam buğday unu ile hazırlanmış olanlar ekme aroma uçucu bileşiklerin üretimiyle pozitif korelasyon gösteriyorken, tam çavdar ve yulaf unu ile hazırlanmış olan örneklerin negatif korelasyonlu olduğu görülmüştür. PLS-R modeli ile, ekme açısından önemli uçucu aroma bileşiklerin fermantasyon parametresinden daha çok substrat kaynağından etkilendiğini göstermektedir.

3.8.2 Temel Bileşen Analizi (PCA)

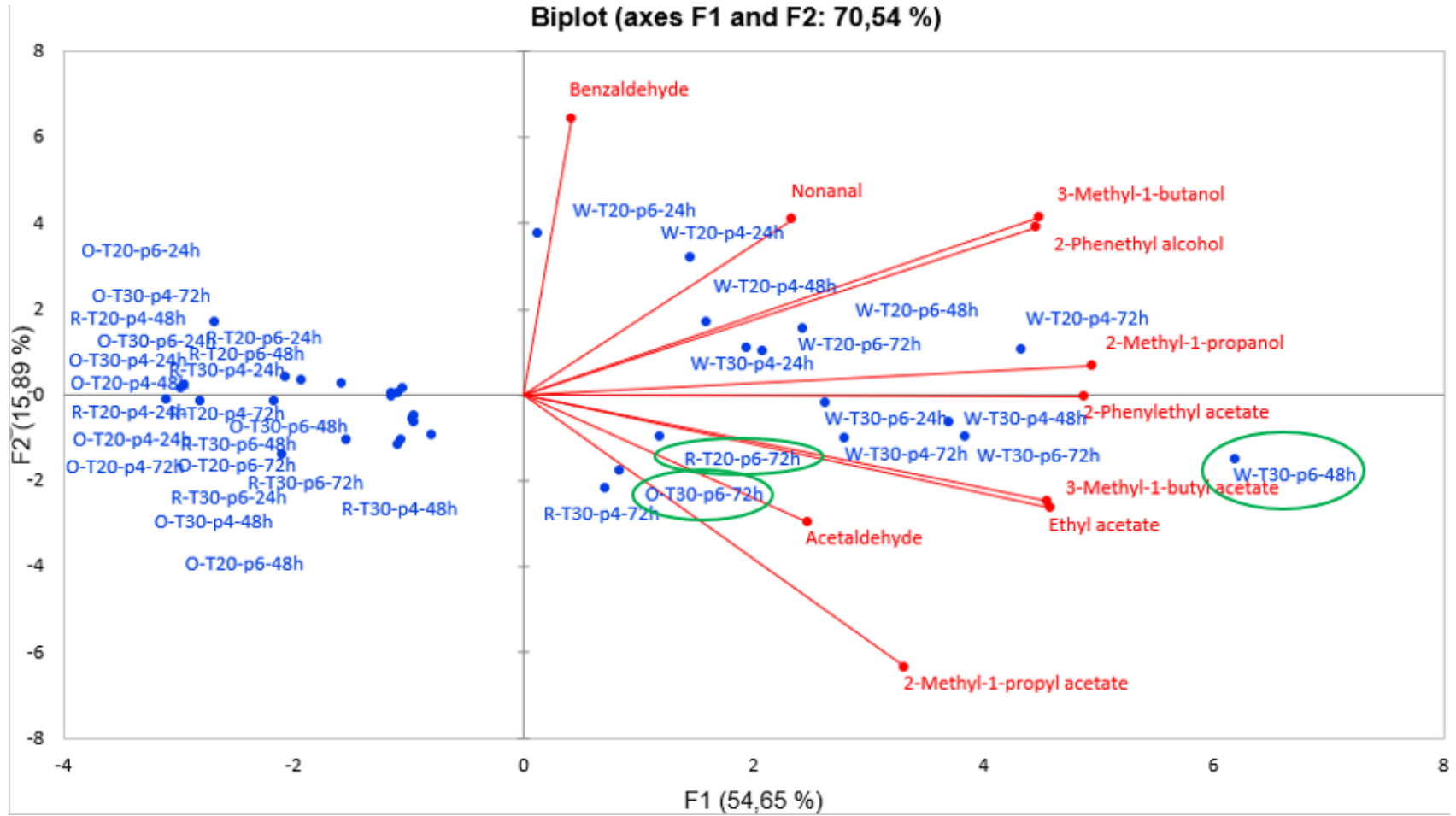
S. cerevisiae PFC121 suşuyla, farklı fermantasyon parametreleri kullanılarak fermente edilen pre-ferment örneklerinin aroma uçucu bileşikleri ile fermantasyon parametreleri arasındaki etkileşimi Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis; PCA) metodu ile analiz edilmiştir. Şekil 3.11’de görüldüğü gibi, PCA’nın ilk boyutu olan yatay eksen, başlangıç informasyonunun %54,65’ini temsil ederken, PCA’nın ikinci boyutu olan dikey eksen, başlangıç informasyonunun %15,89’unu temsil etmektedir.

Görüldüğü gibi, esterlerden olan 2-feniletıl asetat, 3-metil-1-bütıl asetat, etıl asetat ve 2-metil-1-propıl asetat’ın birbirleriyle olan yüksek düzeydeki pozitif ilişkili gruplanmıştır. Ayrıca yüksek alkollerden olan 3-metil-1-butanol, 2-metil-1-propanol ve 2-feniletıl alkol, kendi arasında bir grup oluşturmuşlardır. Benzaldehit ile asetaldehit arasında bağlantısız bir korelasyon varsa da, nonanal ve asetaldehit arasında pozitif bir korelasyon olduğu izlenmektedir.

Şekil 3.12’de, mavi nokta olarak gösterilen örneklerden tam buğday unu ile hazırlanan örnekler ve diğer un çeşitleri olan tam çavdar unu ile tam yulaf unu ile hazırlanan örnekler arasındaki fark görülmektedir. Tam buğday unu ile hazırlanan örnekler grafikte orjinin sağ tarafında yer almaktayken, diğer un çeşitleri ile hazırlanan örnekler sol tarafta yer almaktadır. Örnekler arasından optimizasyon sonrasında W-T30-p6-48h, belirtilen aroma bileşiklerini önemli düzeyde içererek ön plana çıkmıştır. Diğer bir örnek olan W-T20-p4-72h, aroma bileşiklerini içeren ikinci önemli örnek olarak görülmektedir. Tam çavdar ve tam yulaf ile hazırlanan örnekler, birçok tam buğday unu ile hazırlanan örnekten geride olsalar da R-T20-p6-72h ve O-T30-p6-72h, kendi un grubu içinde aroma bileşiklerini içeren önemli örnekler olarak değerlendirilebilir. Sonuç olarak PCA, substrat, fermantasyon sıcaklığı ve pH’sı ile fermantasyon süresi kombinasyonlarının ekmekçilik açısından önemli aroma uçucu bileşiklerinin sentezi için; tam buğday unu, 30 °C, 6 başlangıç pH’sı ve 48 saat fermantasyon süresinin uygun olduğunu işaret etmiştir.



Şekil 3.11: Farklı parametrelerde PFC121 maya suşuyla fermente edilen pre-ferment hamur örnekleri ile uçucu aroma bileşiklerinin Temel Bileşen Analizi'ndeki önemli bileşik gruplarının gösterimi. (Yeşil çember aldehitleri, kırmızı çember esterleri ve mavi çember yüksek alkollerini belirtmektedir. Örneklerin kodları Tablo 2.1'de gösterilmiştir.)

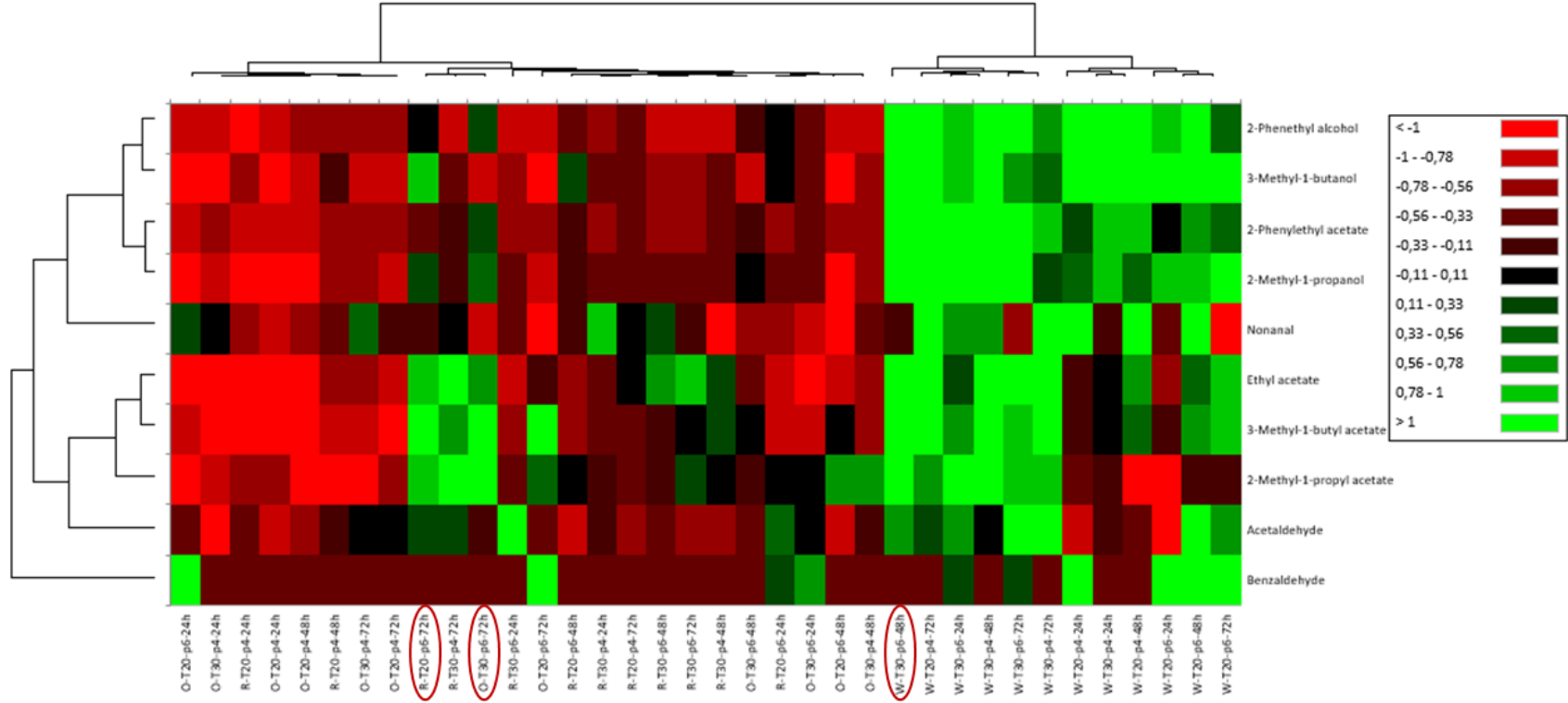


Şekil 3.12: Farklı parametrelerde PFC121 maya suyuyla fermente edilen pre-ferment hamur örnekleri ile uçucu aroma bileşiklerinin Temel Bileşen Analizi'ndeki önemli parametrelerin gösterimi. (Örneklerin kodları Tablo 2.1'de gösterilmiştir.)

3.8.3 Isı Haritası (HeatMap) Modeli

Pre-ferment hamur örneklerinin uçucu aroma bileşik içeriğine ve uçucu bileşik çeşitliliğine göre dağılımını gösteren ısı haritası Şekil 3.13'te gösterilmiştir. Renk kodu kırmızı olan veriler düşük değerleri, siyahlar orta değerleri, yeşiller ise yüksek değerleri göstermektedir. Örneklerin benzerliğini gösteren dendrogramda, iki ana grup olduğu görülmektedir; tam buğday unu ile hazırlanan örnekler ilk grup, tam çavdar unu ve tam yulaf unu ile hazırlanan örnekler ise ikinci grup olarak ayrılmıştır. Tam buğday unu ile hazırlanan örnekler arasında ise iki farklı küme oluşmuştur. Farklı parametre değişkenleri içerseler de bu iki farklı kümeyi ayıran temel parametre fermantasyon sıcaklığıdır. Çoğunlukla 20 °C'de fermente edilen örnekler en sağda yer alırken, çoğunlukla 30 °C'de fermente edilen örnekler onların yanındaki sol tarafta yer almaktadır.

Sol tarafta yer alan 30 °C'de fermente edilen örneklerdeki yeşil alanlar yani yüksek değerler daha fazla görülürken, sağ tarafta yer alan 20 °C'de fermente edilen örneklerdeki yeşil alanlar daha azdır. Değerlendirmeler sonrasında yeşil alanlara en fazla sahip olan W-T30-p6-48h pre-ferment hamur örneği ön plana çıkarak, Şekil 3.12'de verilen PCA grafiğindeki sonucu desteklemiştir. Tam çavdar ve yulaf unu ile hazırlanan, yeşil alana sahip R-T20-p6-72h ve O-T30-p6-72h örnekleri yine PCA ile benzer sonucu vermiştir.



Şekil 3.13: Pre-ferment hamur örneklerinin uçucu aroma bileşik içeriği ve çeşitliliğine göre dağılımını gösteren ısı haritası. (Renk kodu kırmızıdan (düşük bolluk) siyahtan yeşile (yüksek bolluk) kadar değişen bolluğu gösterir. Örneklerin kodları Tablo 2.1’de belirtilmiştir.)

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, ekmeğin aromatik özelliklerini geliştiren ve ekmeğin aromalarını içeren pre-ferment hamurun üretimi için maya suş seçimi ve temel fermantasyon koşullarının belirlenmesi araştırılmıştır. Ekmek aroma bileşiklerini içeren pre-ferment hamurun ekmeğin üretiminde doğrudan kullanılması ile ekmekçilik sektöründeki hızlı üretime bağlı aroma zayıflığı sorunu aşarak, tüketici beğenisi kazanan ekmeğin üretiminin başarılması hedeflenmiştir.

Çalışmada öncelikle mevcut kültür koleksiyonundan çeşitli maya suşları, ekmekçilik uçucu aroma bileşiklerini üretebilme yeteneği bakımından araştırılmış, ardından seçilen maya için; un tipi, sıcaklık, pH ve süre parametreleri ele alınarak üretim optimizasyonu çalışmaları yürütülmüştür. Bu doğrultuda tezde ulaşılan genel sonuçlar ve öneriler aşağıda sıralanmıştır:

- 1) Tez çalışması neticesinde *S. cerevisiae* PFC121 suşunun ekmekçilik açısından kritik önem taşıyan 3-metil-1-bütanol, 2-feniletanol, etil asetat, 2-feniletanol, 3-metil-1-bütanol asetat bileşiklerini önemli miktarda ürettiği tespit edilmiştir. Un-su temelli fermantasyon ortamında bu aroma bileşiklerinin üretimi, söz konusu suşun başta ekmekçilik olmak üzere fırıncılık sektöründe kullanılabilir kültür olarak ön plana çıkarmıştır. Özellikle bu suş potansiyel starter kültür özelliği göstermektedir.
- 2) Bu çalışmada ulaşılan bir diğer kazanım ise un-su temelli fermantasyon ortamının aroma üretiminde başarılı olmasıdır. Kullanılan maya suşları enzimatik ön işlem uygulanmış un-su karışımı ortamında ekmekçilik açısından oldukça önemli olan uçucu aroma bileşiklerinin üretilmesinde önerilmektedir. Bu doğrultuda un-su kompozisyonu ayarlamaları yapılarak daha yüksek aroma üretimi sağlanabilir.
- 3) *S. cerevisiae* PFC121 suşu kullanılarak; farklı un tipi, sıcaklık, pH ve sürelerde yapılan kombinasyonlu denemeler, en iyi üretimin tam buğday unu, 30 °C, 6 pH ve 48 saat fermantasyon sonunda gerçekleştiğini göstermiştir. Bu

parametreler endüstriyel boyutta ekmekçilik aromaları içeren pre-ferment hamurların hazırlanması için kullanılabilir.

4) Modelleme analizleri, *S. cerevisiae* PFC121 suşunda ekmekçilik açısından önemli aroma bileşenlerinin üretiminde özellikle un tipinin oldukça etkili olduğunu göstermiştir. Özellikle tam buğday ununun diğer unlara kıyasla daha fazla uçucu aroma bileşikleri üretimi bakımından faydalı olduğu açıkça görülmüştür. Bu sonuç endüstriyel boyutta ekmekçilik uçucu aroma bileşiklerinin üretilmesinde tam buğday ununun kullanılması gerektiğine işaret etmiştir. Ayrıca, sıcaklığın da pH'ya kıyasla aroma üretiminde daha fazla önemli olduğu görülmüştür. Ekmekçilik aroma bileşiklerinin üretiminin artırılması bakımından daha detaylı optimizasyon çalışmalarına ihtiyaç bulunmaktadır. Özellikle benzer bir ortamda amino asit kompozisyonu değişiminin etkisinin aydınlatılmasına gerek vardır.

5. KAYNAKLAR

Adams, A., Bouckaert, C., Van Lancker, F., De Meulenaer, B., De Kimpe, N., “Amino acid Catalysis of 2-alkylfuran formation from lipid oxidation-derived α,β -unsaturated aldehydes”, *J. Agric. Food Chem.*, 59 (20), 11058–11062, (2011).

Alves-Jr, S. L., Herberts, R. A., Hollatz, C., Miletti, L. C., Stambuk, B. U., “Maltose and maltotriose active transport and fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*”, *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 65 (2), 99–104, (2007).

Andorrà, I., Berradre, M., Mas, A., Esteve-Zarzoso, B., Guillamón, J. M., “Effect of mixed culture fermentations on yeast populations and aroma profile”, *LWT*, 49 (1), 8–13, (2012).

Ansell, R., Granath, K., Hohmann, S., Thevelein, J. M., Adler, L., “The two isoenzymes for yeast NAD⁺-dependent glycerol 3-phosphate dehydrogenase encoded by GPD1 and GPD2 have distinct roles in osmoadaptation and redox regulation”, *EMBO J.*, 16 (9), 2179–2187, (1997).

Araneda, R. C., Kini, A. D., Firestein, S., “The molecular receptive range of an odorant receptor”, *Nat. Neurosci.*, 3 (12), 1248–1255, (2000).

Arikawa, Y., Kobayashi, M., Kodaira, R., Shimosaka, M., Muratsubaki, H., Enomoto, K., Okazaki, M., “Isolation of sake yeast strains possessing various levels of succinate- and/or malate-producing abilities by gene disruption or mutation”, *J. Biosci. Bioeng.*, 87 (3), 333–339, (1999).

Attfield, P. V., “Stress tolerance: The key to effective strains of industrial baker’s yeast”, *Nat. Biotechnol.*, 15 (13), 1351–1357, (1997).

Bakker, B. M., Overkamp, K. M., van Maris, A. J. A., Kötter, P., Luttik, M. A. H., van Dijken, J. P., Pronk, J. T., “Stoichiometry and compartmentation of NADH metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*”, *FEMS Microbiol. Rev.*, 25 (1), 15–37, (2001).

Bartowsky, E. J., Henschke, P. A., “The ‘buttery’ attribute of wine—diacetyl—desirability, spoilage and beyond”, *Int. J. Food Microbiol.*, 96 (3), 235–252, (2004).

Bekatorou, A., Psarianos, C., Koutinas, A. A., “Production of Food Grade Yeasts”, *Food Technol. Biotechnol.*, 44 (3), 407–415, (2006).

Belitz, H. D., Grosch, W., Schieberle, P., *Food Chemistry*, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 340-400, (2009).

Beltran, G., Novo, M., Guillamón, J. M., Mas, A., Rozès, N., “Effect of fermentation temperature and culture media on the yeast lipid composition and wine volatile compounds”, *Int. J. Food Microbiol.*, 121 (2), 169–177, (2008).

Bianchi, F., Careri, M., Chiavaro, E., Musci, M., Vittadini, E., “Gas chromatographic-mass spectrometric characterisation of the Italian Protected Designation of Origin “Altamura” bread volatile profile”, *Food Chem.*, 110 (3), 787–793, (2008).

Birch, A. N., Petersen, M. A., Arneborg, N., Hansen, Å. S., “Influence of commercial baker’s yeasts on bread aroma profiles”, *Food Res. Int.*, 52 (1), 160–166, (2013^b).

Birch, A. N., Petersen, M. A., Hansen, Å. S., “The aroma profile of wheat bread crumb influenced by yeast concentration and fermentation temperature”, *LWT - Food Sci. Technol.*, 50 (2), 480–488, (2013^a).

Birch, A. N., Petersen, M. A., Hansen, Å. S., “Aroma of wheat bread crumb”, *Cereal Chem.*, 91 (2), 105–114, (2014).

Bredie, W. L. P., Mottram, D. S., Guy, R. C. E., “Effect of temperature and pH on the generation of flavor volatiles in extrusion cooking of wheat flour”, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (5), 1118–1125, (2002).

Buck, L. B., “A novel multigene family may encode odorant receptors”, *Soc. Gen. Physiol. Ser.*, 47, 39–51, (1992).

Bushdid, C., Magnasco, M. O., Vosshall, L. B., Keller, A., “Humans can discriminate more than 1 trillion olfactory stimuli”, *Science*, 343 (6177), 1370–1372, (2014).

Carbajo, J. P., “Analysis of volatile compounds in bread and related products. Improvement of gluten-free breads aroma”, Ph.D Thesis, *University of Valladolid*, Valladolid, (2018).

Cauvain, S., *Technology of breadmaking*, Switzerland : Springer International Publishing, (2015).

- Cho, I. H., Peterson, D. G., “Chemistry of bread aroma: A review”, *Food Sci. Biotechnol.*, 19 (3), 575–582, (2010).
- Ciani, M., Beco, L., Comitini, F., “Fermentation behaviour and metabolic interactions of multistarter wine yeast fermentations”, *Int. J. Food Microbiol.*, 108 (2), 239–245, (2006).
- Czerny, M., Schieberle, P., “Important aroma compounds in freshly ground wholemeal and white wheat flour identification and quantitative changes during sourdough fermentation”, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (23), 6835–6840, (2002).
- Dall’Asta, C., Cirlini, M., Morini, E., Rinaldi, M., Ganino, T., Chiavaro, E., “Effect of chestnut flour supplementation on physico-chemical properties and volatiles in bread making”, *LWT - Food Sci. Technol.*, 53 (1), 233–239, (2013).
- Dduntze, W., Neumann, D., Atzpodien, W., Holzer, H., Gancedo, J. M., “Studies on the regulation and localization of the glyoxylate cycle enzymes in *Saccharomyces cerevisiae*”, *Eur. J. Biochem.*, 10 (1), 83–89, (1969).
- De Deken, R. H., “The Crabtree effect: a regulatory system in yeast”, *J. Gen. Microbiol.*, 44 (2), 149–156, (1966).
- DeRisi, J. L., Iyer, V. R., Brown, P. O., “Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale”, *Science*, 278 (5338), 680 – 686, (1997).
- Dulieu, C., Moll, M., Boudrant, J., Poncelet, D., “Improved performances and control of beer fermentation using encapsulated α -acetolactate decarboxylase and modeling”, *Biotechnol. Prog.*, 16 (6), 958–965, (2000).
- Duong, C. T., Strack, L., Futschik, M., Katou, Y., Nakao, Y., Fujimura, T., Shirahige, K., Kodama, Y., Nevoigt, E., “Identification of Sc-type ILV6 as a target to reduce diacetyl formation in lager brewers’ yeast”, *Metab. Eng.*, 13 (6), 638–647, (2011).
- Dzialo, M. C., Park, R., Steensels, J., Lievens, B., Verstrepen, K. J., “Physiology, ecology and industrial applications of aroma formation in yeast”, *FEMS Microbiol. Rev.*, 41, 95–128, (2017).
- Ehsani, M., Fernández, M. R., Biosca, J. A., Julien, A., Dequin, S., “Engineering of 2,3-butanediol dehydrogenase to reduce acetoin formation by glycerol-overproducing, low-alcohol *Saccharomyces cerevisiae*”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 75 (10), 3196 – 3205, (2009).

- Fiaux, J., Sonderegger, M., Wu, K., Szyperski, T., Sauer, U., “Metabolic-flux proling of the yeasts”, *Society*, 2 (1), 170–180, (2003).
- Fleet, G. H., “Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety”, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 18 (2), 170–175, (2007).
- Foulkes, E. C., “The occurrence of the tricarboxylic acid cycle in yeast”, *Biochem. J.*, 48 (3), 378–383, (1951).
- Frasse, P., Lambert, S., Richard-Molard, D., Chiron, H., “The influence of fermentation on volatile compounds in french bread dough”, *LWT - Food Sci. Technol.*, 25, 126-132, (1993).
- Galdieri, L., Mehrotra, S., Yu, S., Vancura, A., “Transcriptional regulation in yeast during diauxic shift and stationary phase”, *Omics*, 14 (6), 629–638, (2010).
- Gancedo, J. M., “Yeast carbon catabolite repression”, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62 (2), 334–361, (1998).
- Gancedo, J. M., “Carbon catabolite repression in yeast”, *Eur. J. Biochem.*, 206 (2), 297–313, (1992).
- Gangloff, S. P., Marguet, D., Lauquin, G. J., “Molecular cloning of the yeast mitochondrial aconitase gene (ACO1) and evidence of a synergistic regulation of expression by glucose plus glutamate”, *Mol. Cell. Biol.*, 10 (7), 3551–3561, (1990).
- Gasch, A. P., Werner-Washburne, M., “The genomics of yeast responses to environmental stress and starvation”, *Funct. Integr. Genomics.*, 2 (4), 181–192, (2002).
- Gassenmeier, K., Schieberle, P., “Potent aromatic compounds in the crumb of wheat bread (French-type) - influence of pre-ferments and studies on the formation of key odorants during dough processing”, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 201 (3), 241–248, (1995).
- Grosch, W., “Determination of potent odourants in foods by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs)”, *Flavour Fragr.*, 9 (4), 147–158, (1994).

- Hansen, Å., Schieberle, P., “Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: applied and fundamental aspects”, *Trends Food Sci. Technol.*, 16 (1–3), 85–94, (2005).
- Hansen, Å., “Sourdough Bread”, (eds: Y. H. Hui, E. Özgül Evranuz), *Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology*, Boca Raton : CRC Press, 493–516, (2012).
- Hansen, Å., Hansen, B., “Flavour of sourdough wheat bread crumb”, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 202 (3), 244–249, (1996).
- Hansen, B., Hansen, Å., “Volatile compounds in wheat sourdoughs produced by lactic acid bacteria and sourdough yeasts”, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 198 (3), 202–209, (1994).
- Hazelwood, L., Daran, J. M., Van Maris, A., Pronk, J., Richard Dickinson, J., “The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 2259–2266, (2008).
- Heenan, S. P., Dufour, J. P., Hamid, N., Harvey, W., Delahunty, C. M., “Characterisation of fresh bread flavour: Relationships between sensory characteristics and volatile composition”, *Food Chem.*, 116 (1), 249–257, (2009).
- Heitmann, M., Zannini, E., Arendt, E. K., “Impact of different beer yeasts on wheat dough and bread quality parameters”, *J. Cereal Sci.*, 63, 49–56, (2015).
- Heitmann, M., Zannini, E., Arendt, E. K., “Impact of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites produced during fermentation on bread quality parameters: A review”, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 58 (7), 1152–1164, (2018).
- Herrmann, K. M., Weaver, L. M., “The Shikimate pathway”, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50 (1), 473–503, (1999).
- Ho, C. T., Chen, Q., “Lipids in food flavors: An overview”, (eds: Chi-Tang Ho and Thomas G. Hartman), *Lipids in Food Flavors*, 558, Washington: American Chemical Society, 2–14, (1994).
- Jackson, R. S., “Postfermentation treatments and related topics”, *Wine Sci.*, 355–433, (2000).

- Jensen, S., Oestdal, H., Skibsted, L. H., Larsen, E., Thybo, A. K., “Chemical changes in wheat pan bread during storage and how it affects the sensory perception of aroma, flavour, and taste”, *J. Cereal Sci.*, 53(2), 259–268, (2011).
- Kiely, R. J., Nowlin, A. C., Moriarty, J. H., “Bread aromatics from browning systems”, *Cereal Chem.*, 37, 273, (1960).
- Koshland, D. E., Westheimer, F. H., “Mechanism of alcoholic fermentation. The fermentation of glucose-1-C¹⁴”, *J. Am. Chem. Soc.*, 72 (8), 3383–3388, (1950).
- Kroh, L. W., “Caramelisation in food and beverages”, *Food Chem.*, 51 (4), 373–379, (1994).
- Lambert, J. L., Le-Bail, A., Zuniga, R., Van-Haesendonck, I., Vnzeveren, E., Petit, C., Rosell, M. C., Collar, C., Curic, D., Colic-Baric, I., Sikora, M., Ziobro, R., “The attitudes of European consumers toward innovation in bread; interest of the consumers toward selected quality attributes”, *J. Sens. Stud.*, 24 (2), 204–219, (2009).
- Lee, S. J., Noble, A. C., “Characterization of odor-active compounds in californian chardonnay wines using GC-Olfactometry and GC-Mass spectrometry”, *J. Agric. Food Chem.*, 51 (27), 8036–8044, (2003).
- Lilly, M., Lambrechts, M. G., Pretorius, I. S., “Effect of increased yeast alcohol acetyltransferase activity on flavor profiles of wine and distillates”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 66 (2), 744–753, (2000).
- Linko, Y. Y., Javanainen, P., Linko, S., “Biotechnology of bread baking”, *Trends Food Sci. Technol.*, 8 (10), 339–344, (1997).
- Longo, M. A., Sanromán, M. A., “Production of food aroma compounds: Microbial and enzymatic methodologies”, *Food Technol. Biotechnol.*, 44 (3), 335–353, (2006).
- Lu, Y., Voon, M. K. W., Huang, D., Lee, P.-R., Liu, S. Q., “Combined effects of fermentation temperature and pH on kinetic changes of chemical constituents of durian wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae*”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 101 (7), 3005–3014, (2017).
- Lund, B., Hansen, A., Lewis, M. J., “The influence of dough yield on acidification and production of volatiles in sourdoughs”, *LWT - Food Sci. Technol.*, 22 (4), 150–153, (1989).

Luning, P. A., Roozen, J. P., Moëst, R. A. F. J., Posthumus, M. A., “Volatile composition of white bread using enzyme active soya flour as improver”, *Food Chem.*, 41 (1), 81–91, (1991).

Maeda, T., Kikuma, S., Araki, T., Ikeda, G., Takeya, K., Sagara, Y., “The effects of mixing stage and fermentation time on the quantity of flavor compounds and sensory intensity of flavor in white bread”, *Food Sci. Technol. Res.*, 15 (2), 117–126, (2009).

Maga, J. A., Pomeranz, Y., “Bread flavor”, *C R C Crit. Rev. Food Technol.*, 5 (1), 55–142, (1974).

Maillard, L. C., “The action of amino acids on sugar: The formation of melanoidin by a methodic route”, *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.*, 154, 66–68, (1912).

Maraschin, C., Robert, H., Boussard, A., Potus, J., Baret, J.-L., Nicolas, J., “Effect of storage temperature and flour water content on lipids, lipoxygenase activity, and oxygen uptake during dough mixing”, *Cereal Chem.*, 85 (3), 372–378, (2008).

Martínez-Anaya, M. A., “Enzymes and bread flavor”, *J. Agric. Food Chem.*, 44 (9), 2469–2480, (1996).

Martinez-Anaya, M. A., José Torner, M., de Barber, C. B., “Microflora of the sour dough of wheat flour bread”, *Zeitschrift für Leb. und Forsch.*, 190 (2), 126–131, (1990).

Martins, S. I. F. S., Jongen, W. M. F., van Boekel, M. A. J. S., “A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling”, *Trends Food Sci. Technol.*, 11 (9), 364–373, (2000).

McKinnon, C. M., Gélinas, P., Simard, R. E., “Wine yeast preferment for enhancing bread aroma and flavor”, *Cereal Chem.*, 73 (1), 45–50, (1996).

Molina, A. M., Swiegers, J. H., Varela, C., Pretorius, I. S., Agosin, E., “Influence of wine fermentation temperature on the synthesis of yeast-derived volatile aroma compounds”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 77 (3), 675–687, (2007).

Mondal, A., Datta, A. K., “Bread baking - A review”, *J. Food Eng.*, 86 (4), 465–474, (2008).

Morris, C., Morris, G. A., “The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review”, *Food Chem.*, 133 (2), 237–248, (2012).

Moskowitz, M. R., Bin, Q., Elias, R. J., Peterson, D. G., “Influence of endogenous ferulic acid in whole wheat flour on bread crust aroma”, *J. Agric. Food Chem.*, 60 (45), 11245–11252, (2012).

Mrvacic, J., Mikelec, K., Krizanovic, S., Stanzer, D., Brncic, M., Jezek, D., Grba, S., Stehlik-Tomas, V., “Influence of pre-ferment on wheat bread freshness and quality”, (ed: Z. UgarcicHardi), *Proceedings of The 5th International Congress Flour-Bread '09 and 7th Croatia Congress of Cereal Technologists*, 376–384, (2009).

Nevoigt, E., Pilger, R., Mast-Gerlach, E., Schmidt, U., Freihammer, S., Eschenbrenner, M., Garbe, L., Stahl, U., “Genetic engineering of brewing yeast to reduce the content of ethanol in beer”, *FEMS Yeast Res.*, 2 (2), 225–232, (2002).

Nevoigt, E., Stahl, U., “Osmoregulation and glycerol metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*”, *FEMS Microbiol. Rev.*, 21 (3), 231–241, (1997).

Nursten, H. E., “Recent developments in studies of the maillard reaction”, *Food Chem.*, 6 (3), 263-277, (1980).

Onishi, M., Inoue, M., Araki, T., Iwabuchi, H., Sagara, Y., “Odorant transfer characteristics of white bread during baking”, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75 (2), 261–267, (2011).

Paraskevopoulou, A., Chrysanthou, A., Koutidou, M., “Characterisation of volatile compounds of lupin protein isolate-enriched wheat flour bread”, *Food Res. Int.*, 48 (2), 568–577, (2012).

Parker, J. K., Hassell, G. M. E., Mottram, D. S., Guy, R. C. E., “Sensory and instrumental analyses of volatiles generated during the extrusion cooking of oat flours”, *J. Agric. Food Chem.*, 48 (8), 3497–3506, (2000).

Pico, J., Bernal, J., Gómez, M., “Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review”, *Food Res. Int.*, 75, 200–215, (2015).

Plessas, S., Alexopoulos, A., Bekatorou, A., Mantzourani, I., Koutinas, A. A., Bezirtzoglou, E., “Examination of freshness degradation of sourdough bread

made with kefir through monitoring the aroma volatile composition during storage”, *Food Chem.*, 124 (2), 627–633, (2011).

Plessas, S., Bekatorou, A., Gallanagh, J., Nigam, P., Koutinas, A. A., Psarianos, C., “Evolution of aroma volatiles during storage of sourdough breads made by mixed cultures of *Kluyveromyces marxianus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* or *Lactobacillus helveticus*”, *Food Chem.*, 107 (2), 883–889, (2008^a).

Plessas, S., Fisher, A., Koureta, K., Psarianos, C., Nigam, P., Koutinas, A. A. 2008. Application of *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *L. helveticus* for sourdough bread making. *Food Chemistry*, 106(3):, 985–990, (2008^b).

Plessas, S., Pherson, L., Bekatorou, A., Nigam, P., Koutinas, A. A., “Bread making using kefir grains as baker’s yeast”, *Food Chem.*, 93 (4), 585–589, (2005).

Poinot, P., Arvisenet, G., Grua-Priol, J., Colas, D., Fillonneau, C., Le Bail, A., Prost, C., “Influence of formulation and process on the aromatic profile and physical characteristics of bread”, *J. Cereal Sci.*, 48 (3), 686–697, (2008).

Poinot, P., Arvisenet, G., Grua-Priol, J., Fillonneau, C., Le-Bail, A., Prost, C., “Influence of inulin on bread: Kinetics and physico-chemical indicators of the formation of volatile compounds during baking”, *Food Chem.*, 119 (4), 1474–1484, (2010).

Poinot, P., Grua-Priol, J., Arvisenet, G., Rannou, C., Semenou, M., Bail, A. Le, Prost, C., “Optimisation of HS-SPME to study representativeness of partially baked bread odorant extracts”, *Food Res. Int.*, 40 (9), 1170–1184, (2007).

Pozo-Bayón, M. A., Guichard, E., Cayot, N., “Flavor control in baked cereal products”, *Food Rev. Int.*, 22 (4), 335–379, (2006).

Procopio, S., Qian, F., Becker, T., “Function and regulation of yeast genes involved in higher alcohol and ester metabolism during beverage fermentation”, *Eur. Food Res. Technol.*, 233 (5), 721–729, (2011).

Pronk, J. T., Steensma, H. Y., Van Dijken, J. P., “Pyruvate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*”, *Yeast*, 12 (16), 1607–1633, (1996).

Prost, C., Poinot, P., Rannou, C., Arvisenet, G., “Bread aroma”, (ed: Stanley P. Cauvain), *Breadmaking: Improving Quality*, 2nd edition, Cambridge: Woodhead Publishing, 523–561, (2012).

- Purlis, E., “Browning development in bakery products – A review”, *J. Food Eng.*, 99 (3), 239–249, (2010).
- Quílez, J., Ruiz, J. A., Romero, M. P., “Relationships between sensory flavor evaluation and volatile and nonvolatile compounds in commercial wheat bread type baguette”, *J. Food Sci.*, 71 (6), 423–427, (2006).
- Raimbault, M., “General and microbiological aspects of solid substrate fermentation”, *Electron. J. Biotechn.*, 1 (3), 1–15, (1998).
- Regev-Rudzki, N., Karniely, S., Ben-Haim, N. N., Pines, O., “Yeast aconitase in two locations and two metabolic pathways: seeing small amounts is believing”, *Mol. Biol. Cell.*, 16(9), 4163–4171, (2005).
- Rehman, S. U., Paterson, A., Piggott, J. R., “Flavour in sourdough breads: a review”, *Trends Food Sci. Technol.*, 17 (10), 557–566, (2006).
- Rojas, V., Gil, J. V., Piñaga, F., Manzanares, P., “Studies on acetate ester production by non-*Saccharomyces* wine yeasts”, *Int. J. Food Microbiol.*, 70 (3), 283–289, (2001).
- Rojas, V., Gil, J. V., Piñaga, F., Manzanares, P., “Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations”, *Int. J. Food Microbiol.*, 86 (1–2), 181–188, (2003).
- Romano, P., Suzzi, G., Turbanti, L., Polsinelli, M., “Acetaldehyde production in *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts”, *FEMS Microbiol. Lett.*, 118 (3), 213–218, (1994).
- Rychlik, M., Grosch, W., “Identification and quantification of potent odorants formed by toasting of wheat bread”, *LWT - Food Sci. Technol.*, 29 (5), 515–525, (1996).
- Salem, A., Rooney, L. W., Johnson, J. A., “Studies of the carbonyl compounds produced by sugar-amino acid reactions. II. In bread systems”, *Cereal Chem.*, 44, 576–583, (1967).
- Schieberle, P., Grosch, W., “Identification of the volatile flavour compounds of wheat bread crust — comparison with rye bread crust”, *Zeitschrift für Leb. und Forsch.*, 180 (6), 474–478, (1985).

Schieberle, P., Grosch, W., “Evaluation of the flavour of wheat and rye bread crusts by aroma extract dilution analysis”, *Zeitschrift für Leb. und Forsch.*, 185 (2), 111–113, (1987).

Schieberle, P., Grosch, W., “Potent odorants of the wheat bread crumb differences to the crust and effect of a longer dough fermentation”, *Zeitschrift für Leb. und Forsch.*, 192 (2), 130–135, (1991).

Schieberle, P., Grosch, W., “Changes in the concentrations of potent crust odourants during storage of white bread”, *Flavour Fragr. J.*, 7 (4), 213–218, (1992).

Schieberle, P., Grosch, W., “Potent odorants of rye bread crust-differences from the crumb and from wheat bread crust”, *Zeitschrift für Leb. und Forsch.*, 198 (4), 292–296, (1994).

Sigler, K., Höfer, M., “Mechanisms of acid extrusion in yeast”, *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Biomembr.*, 1071 (4), 375–391, (1991).

Suárez-Lepe, J. A., Morata, A., “New trends in yeast selection for winemaking”, *Trends Food Sci. Technol.*, 23 (1), 39–50, (2012).

Thiele, C., Gänzle, M. G., Vogel, R. F., “Contribution of sourdough lactobacilli, yeast, and cereal enzymes to the generation of amino acids in dough relevant for bread flavor”, *Cereal Chem.*, 79 (1), 45–51, (2002).

Torner, M. J., Martínez-Anaya, M. A., Antuña, B., Benedito de Barber, C., “Headspace flavour compounds produced by yeasts and lactobacilli during fermentation of preferments and bread doughs”, *Int. J. Food Microbiol.*, 15 (1), 145–152, (1992).

Van Dijken, J. P., Scheffers, W. A., “Redox balances in the metabolism of sugars by yeasts”, *FEMS Microbiol. Lett.*, 32 (3), 199–224, (1986).

Verstrepen, K. J., Derdelinckx, G., Dufour, J.-P., Winderickx, J., Thevelein, J. M., Pretorius, I. S., Delvaux, F. R., “Flavor-active esters: Adding fruitiness to beer”, *J. Biosci. Bioeng.*, 96 (2), 110–118, (2003).

Verstrepen, K. J., Iserentant, D., Malcorps, P., Derdelinckx, G., Van Dijck, P., Winderickx, J., Pretorius, I. S., Thevelein, J. M., Delvaux, F. R., “Glucose and sucrose: Hazardous fast-food for industrial yeast?”, *Trends Biotechnol.*, 22 (10), 531–537, (2004).

Viana, F., Gil, J. V., Genovés, S., Vallés, S., Manzanares, P., “Rational selection of non-*Saccharomyces* wine yeasts for mixed starters based on ester formation and enological traits”, *Food Microbiol.*, 25 (6), 778–785, (2008).

Vollhardt, P., Schore, N., *Organic Chemistry*, 6th edition, New York: W.H. Freeman and Company, (2009).

Vuyst, L., Neysens, P., “The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions”, *Trends Food Sci. Technol.*, 16 (1–3), 43–56, (2005).

Wainwright, T., “Diacetyl—A review: Part I—Analytical and biochemical considerations: Part II—Brewing experience”, *J. Inst. Brew.*, 79 (6), 451–470, (1973).

Zehentbauer, G., Grosch, W., “Apparatus for quantitative headspace analysis of the characteristic odorants of baguettes”, *Zeitschrift für Leb. und -forsch.*, 205 (4), 262–267, (1997).

Zehentbauer, G., Grosch, W., “Crust aroma of baguettes II. Dependence of the concentrations of key odorants on yeast level and dough processing”, *J. Cereal Sci.*, 28 (1), 93–96, (1998).

EKLER

6. EKLER

EK A. Şekil A.1

EK B. Tablo B.1

EK C. Tablo C.1

SIRALAMA TESTİ					
Sayın Panelist,					
Size verilen ekmek örneklerini aşağıdaki çizelgelerde aroma yoğunluğuna ve lezzet beğenisine göre sıralayınız.					
	<u>Aroma Yoğunluğu</u>	<u>Örnek Kodu</u>		<u>Lezzet Beğenisi</u>	<u>Örnek Kodu</u>
En az	Sıra		En az	Sıra	
	1	_____		1	_____
	2	_____		2	_____
	3	_____		3	_____
En çok	4	_____	En çok	4	_____
Cinsiyet:					
Yaş:					

Şekil A.1: Duyusal analiz panelist formu

Tablo B.1: Ekmekçilik açısından anahtar rolü olan 10 uçucu aroma bileşiğinin miktarları ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Uçucu Aroma Bileşik İsimleri

Örnek Kodları	3-Metil-1-bütanol	2-Metil-1-propanol	2-Feniletanol	Asetaldehit	Benzaldehit	Nonanal	3-Metil-1-bütül asetat	2-Metil-1-propil asetat	2-Feniletül asetat	Etil asetat
W-T30-p6-24sa	8132,1	944,6	8972,6	64	67,3	313,8	357,4	19,3	313,8	384,2
W-T30-p6-48sa	11041,7	1697	9911,8	59,1	-	192	630,9	26,2	590,5	698,2
W-T30-p6-72sa	7861	1370,5	10282,9	108,5	84,8	114,5	418,4	16,8	246	745,2
W-T20-p6-24sa	9161,8	847,7	8659,9	-	450,8	140,6	252,8	-	116,5	220
W-T20-p6-48sa	9392,7	860,2	11396,9	80,5	205,7	392,3	358,4	9	199,8	432,6
W-T20-p6-72sa	10957,1	1029,3	7042,4	64,6	272,6	-	403,3	8,3	170,8	513,1
W-T30-p4-24sa	9921,1	892,4	14972,5	33,7	-	192,2	275,1	8,8	239,3	336,8
W-T30-p4-48sa	9110,1	955,6	11510,2	44,5	-	342,8	467,4	22,3	342,4	575,6
W-T30-p4-72sa	6504,4	682,5	7899,8	128	-	503,5	444	16,3	223,6	550,6
W-T20-p4-24sa	10153,3	705,2	10410,3	13	187	798,7	243,5	7,3	139,7	312,1
W-T20-p4-48sa	9327,6	691,1	12552,1	27,9	-	386,6	328,5	-	225,7	463,8
W-T20-p4-72sa	11167,6	945,8	15553,4	46,8	-	675,3	487,1	13,9	292,8	649,9

Tablo B.1 (devamı): Ekmekçilik açısından anahtar rolü olan 10 uçucu aroma bileşiğinin miktarları (µg/kg)

Uçucu Aroma Bileşik İsimleri

Örnek Kodları	3-Metil-1-bütanol	2-Metil-1-propanol	2-Feniletanol	Asetaldehit	Benzaldehit	Nonanal	3-Metil-1-bütül asetat	2-Metil-1-propil asetat	2-Feniletül asetat	Etil asetat
R-T30-p6-24sa	3245,3	401,6	1345,7	135,9	-	145,6	188,6	7,7	31,8	185
R-T30-p6-48sa	3355,8	381,3	1463,7	27,8	-	240,6	253,6	9,1	32,3	446
R-T30-p6-72sa	3071,7	420,9	1304,4	19,2	-	189,2	270	10,9	39,8	510,2
R-T20-p6-24sa	5467,6	443,7	5024,9	57,3	89,1	107,4	155,4	10,2	26,6	175,7
R-T20-p6-48sa	6146,6	478	2866,7	10,9	-	155	178,1	10	74,5	213,7
R-T20-p6-72sa	8135,5	664,8	5021	46,3	-	174,2	440,2	16,1	50,7	504,2
R-T30-p4-24sa	3753,4	428,3	2270,7	34,2	-	369,4	203,5	8,3	41,3	238,5
R-T30-p4-48sa	3448,8	404,5	1438,1	17,4	-	28,5	308,1	10,4	48,3	399
R-T30-p4-72sa	3774,8	482,1	1613,9	49,5	-	202,3	382,6	22,3	91,5	621,1
R-T20-p4-24sa	2897	168,3	653,1	27,4	-	104,1	87	6	-	93,1
R-T20-p4-48sa	4433,9	342,7	2275,3	34,9	-	126,5	155	-	33,	226,9
R-T20-p4-72sa	4162,7	385	2774,7	21	-	231,3	204,3	6,7	56	349,4

Tablo B.1 (devamı): Ekmekçilik açısından anahtar rolü olan 10 uçucu aroma bileşiğinin miktarları (µg/kg)

Uçucu Aroma Bileşik İsimleri

Örnek Kodları	3-Metil-1-bütanol	2-Metil-1-propanol	2-Feniletanol	Asetaldehit	Benzaldehit	Nonanal	3-Metil-1-bütül asetat	2-Metil-1-propil asetat	2-Feniletül asetat	Etil asetat
O-T30-p6-24sa	3828,3	402	3270,4	38,6	135,2	69,7	149,2	9,5	61,1	130,6
O-T30-p6-48sa	2636,9	540,6	4539,3	24,7	-	111,4	265,6	9,3	80,3	253,4
O-T30-p6-72sa	2047,3	687,5	5961,5	33,2	-	70,8	474,8	17,7	151,6	482,7
O-T20-p6-24sa	1504,2	217,2	1546,6	24,8	250,5	249,4	152,6	-	8,5	87,6
O-T20-p6-48sa	1005,4	173,2	1018,3	15	-	29,6	285,9	14,4	19,4	163,3
O-T20-p6-72sa	1544,7	255,4	1349,4	28,8	236,8	37,2	469,5	13,8	42,3	293,7
O-T30-p4-24sa	1613,9	224,3	1164,6	9,9	-	203,5	64,6	4,9	20,1	67,7
O-T30-p4-48sa	2784,4	353,4	1554,9	37,2	-	119,6	170,9	14,9	35,7	214,3
O-T30-p4-72sa	2623,8	340	1822,3	41,1	-	280,6	139,5	-	27,6	210,9
O-T20-p4-24sa	1806,4	218	1350,7	12,1	-	51,4	40,8	6,1	15,4	60,6
O-T20-p4-48sa	2166,9	212,7	1831	21,2	-	89,1	55,4	3,3	12	85
O-T20-p4-72sa	2264,8	289	1788,2	43,2	-	190,7	98,4	5,3	31,6	182,5

Tablo C.1: *S. cerevisiae* PFC121 suşuyla fermente edilen örneklerde tespit edilen uçucu aroma bileşikleri

No	Uçucu Aroma Bileşikleri	No	Uçucu Aroma Bileşikleri
1	1-Octen-3-ol (CAS) Vinyl amyl carbinol	26	Acetaldehyde (CAS) Ethanal
2	1-Butanol, 3-methyl- (impure) (CAS) 3-Methyl-1-butanol	27	Acetic acid, 2-methylpropyl ester (CAS) Isobutyl acetate
3	1-Butanol, 3-methyl-, acetate (CAS) Isoamyl acetate	28	Acetic acid, 2-phenylethyl ester (CAS) Phenethyl acetate
4	1-Decanol (CAS) Decyl alcohol	29	Acetic acid, ethyl ester (CAS) Acetic acid ethyl ester (CAS) Ethyl acetate
5	1-Heptanol (CAS) HEPTANOL	30	Acetic acid, hexyl ester (CAS) 1-Hexyl acetate
6	1-Hepten-6-one, 2-methyl-	31	Benzaldehyde (CAS) Phenylmethanal
7	1-Hexanol (CAS) n-Hexanol	32	Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)- (CAS) 1,3-Di-tert-butylbenzene
8	1-Nonanol (CAS) n-Nonyl alcohol	33	Benzeneethanol (CAS) Phenethyl alcohol
9	1-Propanol (CAS) Propanol	34	Capronate <ethyl->
10	1-Propanol, 2-methyl- (CAS) Isobutyl alcohol	35	Capryl alcohol
11	(CAS) 4-Hydroxynonanoic acid lactone	36	Caprylate <octyl->
12	2,3-Butanedione; Diacetyl; Dimethyl diketone; Dimethyl glyoxal	37	Carbon dioxide (CAS) Dry ice
13	2,4-Dimethyl-1-heptene	38	Decane (CAS) n-Decane
14	2,5-Octanedione	39	Decane, 4-methyl- (CAS) 4-METHYLDECANE
15	2-Butanone, 3-hydroxy- (CAS) Acetoin	40	Decanoate <ethyl->
16	2-Furanmethanol (CAS) Furfuryl alcohol	41	Dodecane
17	2-Heptanone (CAS) Heptan-2-one	42	Ethanol (CAS) Ethyl alcohol
18	2-Nonanol (CAS) nonan-2-ol	43	ethyl 9-decenoate
19	2-Octanol, (S)-	44	Furan, 2-pentyl-
20	2-Octanone (CAS) Octan-2-one	45	Hexanal (CAS) n-Hexanal
21	2-Propanone (CAS) Acetone	46	Hexanoic acid, ethyl ester (CAS) ETHYL N-CAPROATE
22	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-	47	Hexanol <2-ethyl->
23	3-Nonen-1-ol, (Z)-	48	Hexanol <n->
24	6-Methyl-5-hepten-2-one	49	Hexyl methyl ketone
25	7-Octen-2-one (CAS)	50	ISOCTANE

Tablo C.1 (devamı): *S. cerevisiae* PFC121 suşuyla fermente edilen örneklerde tespit edilen uçucu aroma bileşikleri

No	Uçucu Aroma Bileşikleri
51	Dodecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl laurate
52	Linalool
53	Nonanal (CAS) n-Nonanal
54	Nonane, 2,5-dimethyl- (CAS) 2,5-Dimethylnonane
55	Nonane, 5-(2-methylpropyl)- (CAS) OCTANE, 4-BUTYL-2-METHYL-
56	Nonane, 5-butyl-
57	Octanal (CAS) n-Octanal
58	Octane, 4-ethyl- (CAS) 4-Ethyloctane
59	Octane, 6-ethyl-2-methyl- (CAS)
60	Octanoate <ethyl->
61	Pelargol
62	Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)- (CAS) 2,4-Di-tert-butylphenol
63	Phenol, 2-methoxy- (CAS) Guaiacol
64	Propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester (CAS)
65	Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,4,4-trimethylpentyl ester (CAS) 3-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester of isobutanoic aci
66	Propanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl propanoate
67	Tetradecane (CAS) n-Tetradecane
68	Tetradecanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl myristate
69	trans-Geraniol
70	Tridecane (CAS) n-Tridecane
71	Undecane (CAS) n-Undecane

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ramazan NİÇİN

Doğum Yeri ve Tarihi : DENİZLİ – 05/03/1994

Lisans Üniversite : Akdeniz Üniversitesi

Elektronik posta : nicin.ramazan@outlook.com

İletişim Adresi : Pamukkale Üniversitesi/Mühendislik Fakültesi/
Gıda Mühendisliği Bölümü, Pamukkale/DENİZLİ

Konferans listesi :

- Şimşek, Ö., Niçin, R., Özdemir, N., Çon, A.H., “Production of Volatile Aromatic Compounds for Bakery with Some Yeast Species”, The 35th International Specialised Symposium on Yeasts, 2019 (Antalya, Türkiye)