

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

**UŞAK TARHANASININ ORGANİK ASİT İÇERİĞİNİN VE
LAKTİK ASİT BAKTERİ ÇEŞİTLİLİĞİ İLE İLİŞKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİZEM YAZICI

DENİZLİ, OCAK - 2016

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



**UŞAK TARHANASININ ORGANİK ASİT İÇERİĞİNİN VE
LAKTİK ASİT BAKTERİ ÇEŞİTLİLİĞİ İLE İLİŞKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİZEM YAZICI

DENİZLİ, OCAK - 2016

KABUL VE ONAY SAYFASI

Gizem YAZICI tarafından hazırlanan “**UŞAK TARHANASININ ORGANİK ASİT İÇERİĞİNİN VE LAKTİK ASİT BAKTERİ ÇEŞİTLİLİĞİ İLE İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 25/01/2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK
Pamukkale Üniversitesi



Üye
Prof. Dr. Sebahattin NAS
Pamukkale Üniversitesi



Üye
Yard. Doç. Dr. Enes DERTLİ
Bayburt Üniversitesi



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 13.02.2016 tarih ve 07/20 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



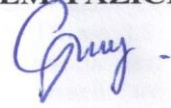
Prof. Dr. Orhan KARABULUT

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2014FBE19 nolu proje numarası 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.

GİZEM YAZICI



ÖZET

UŞAK TARHANASININ ORGANİK ASİT İÇERİĞİNİN VE LAKTİK ASİT BAKTERİ ÇEŞİTLİLİĞİ İLE İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GİZEM YAZICI

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ÖMER ŞİMŞEK)

DENİZLİ, OCAK - 2016

Tarhana, buğday unu, yoğurt, çeşitli sebzeler ile baharatların ilavesiyle hazırlanan hamurun fermente edildikten sonra kurutulup, öğütülmesi ile elde edilen geleneksel bir fermente gıdadır. Uşak tarhanası kendine has aromatik özellikleri ile, Türkiye’de üretilen tarhana çeşitlerinden birisidir. Bu yörede üretilen tarhananın özellikle uzun bir fermantasyon sürecine sahip olması hoşta giden aromatik özellikleri kazanmasında önemli bir faktördür. Bu tezin amacı da, Uşak tarhanası fermantasyonunda üretilen organik asit miktarı ve çeşitliliğinin belirlenmesidir. Buna göre Uşak bölgesinden toplanan 4 adet ev ve 5 adet işletme tipi tarhana hamurunun farklı günlerinde (0, 5, 10 ve 15. gün) yapılan organik asit analizi sonucuna göre; laktik, süksinik ve asetik asit konsantrasyonunun fermantasyonla birlikte arttığı, buna karşın fumarik ve formik asidin ise fermantasyonla ilişkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir. Fermantasyon sonunda ev tipi tarhana hamurlarında laktik, süksinik ve asetik asit miktarları sırasıyla ortalama 994, 1035 ve 333 mg/100 g, işletme tipinde ise sırasıyla ortalama 856, 795 ve 195 mg/100 g olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar ev tipi tarhana hamurlarında organik asit içeriğinin daha fazla olduğunu göstermiştir. Tez çalışmasında ayrıca daha önce tarhana hamuru florasında bulunan *Lactobacillus farciminis* PFC83, *Lactobacillus casei* PFC90, *Lactobacillus alimentarius* PFC91, *Pichia kudriavzevii* PFC126 ve *Candida humilis* PFC138 suşları kullanılarak tarhana üretilmiş ve bunların tarhana hamurunda organik asit üretimine etkisi araştırılmıştır. Söz konusu suşların tekli ve ikili kombinasyonları kullanılarak üretilen tarhana hamurlarında *Lactobacillus farciminis* PFC83, *Lactobacillus casei* PFC90 ve *Lactobacillus alimentarius* PFC91’in canlılıklarını sürdürebildikleri ve geliştirebildikleri izlenmiştir. Bununla birlikte, hamurlarda *Lactobacillus farciminis* PFC83’ün laktik asit, *Pichia kudriavzevii* PFC126’nın süksinik asit ve *Lactobacillus alimentarius* PFC91’in ise asetik asit üretiminden sorumlu olduğu gözlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Uşak Tarhanası, Organik Asit, Fermantasyon

ABSTRACT

DETERMINATION OF ORGANIC ACID CONTENT OF UŞAK TARHANA
AND ITS RELATION WITH DIVERSITY OF LACTIC ACID BACTERIA

MSC THESIS
GİZEM YAZICI

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
FOOD ENGINEERING

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. ÖMER ŞİMŞEK)

DENİZLİ, JANUARY-2016

Tarhana is a traditional fermented food produced by grinding and drying of fermented dough that is prepared with wheat flour, yoghurt, various vegetables and spices. Uşak tarhana, with its unique aromatic characteristics, is one of the tarhana variety produced in Turkey. Especially, the applied extended fermentation process of this regional tarhana is the main factor at gaining pleasurable aromatic properties. The aim of this study is to determine the organic acid content and profile of Uşak tarhana dough during the fermentation. Thus, organic acid analysis with using 4 home and 5 plant-type tarhana dough samples obtained from Uşak region at different fermentation days showed that the concentration of lactic, succinic and acetic acid of dough samples increased but formic and fumaric acids did not. The amount of lactic, succinic and acetic acids at the end of fermentation was measured as averagely 994, 1035, 333 mg/100 g at home-type where as 856, 795, 195 mg/100 g at plant-type tarhana dough samples indicating that home-type dough has higher organic acid amount than the plant-types. In this study, separate tarhana doughs were also produced with *L. farciminis* PFC83, *L. casei* PFC90, *L. alimentarius* PFC91, *P. kudriavzevii* PFC126, *C. humilis* PFC138 and the effect of these strains on the organic acid production at tarhana dough was studied. It was observed that *L. farciminis* PFC83, *L. casei* PFC90 and *L. alimentarius* PFC91 were able to maintain their growth and activity at the dough samples which were prepared with single and combination use of relevant strains. Additionally, lactic, succinic and acetic acid production at tarhana dough were found to be related with the presence of *L. farciminis* PFC83, *P. kudriavzevii* PFC126 and *L. alimentarius* PFC91 respectively.

KEYWORDS: Uşak Tarhana, Organic Acid, Fermentation

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1 Tezin Amacı	2
1.2 Literatür Özeti	3
1.2.1 Uşak Tarhanasının Genel Özellikleri ve Üretimi	3
1.2.2 Tarhana Fermantasyonunda Bulunan Laktik Asit Bakterileri	7
1.2.3 Tarhana Fermantasyonunda Bulunan Mayalar	9
1.2.4 Organik Asitler ve Fermente Gıdalar İçin Önemi	10
1.2.5 Fermente Gıdalarda Üretilen Organik Asitlerin Temel Metabolizması.....	13
1.2.5.1 Laktik asit.....	18
1.2.5.2 Süksinik Asit	19
1.2.5.3 Asetik Asit.....	20
1.2.5.4 Formik Asit	21
1.2.5.5 Fumarik Asit	22
2. MATERYAL VE METOT	23
2.1 Materyal.....	23
2.2 Mikroorganizmalar ve Gelişme Ortamları	23
2.3 Tarhana Hamurlarında Organik Asit Analizi	24
2.4 Starter Kültürler Kullanılarak Tarhana Üretimi	30
2.5 Starter Kültürler ile Hazırlanan Tarhana Hamurlarının Fermantasyonunda Mikroflora Analizi	33
2.6 İstatistiksel Analiz	35
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	36
3.1 Ev ve İşletme Tipi Tarhana Hamurlarının Organik Asit İçeriği.....	36
3.2 Kültür Kullanılarak Hazırlanan Tarhana Hamurlarının Fermantasyonundaki Laktik Mikroflora.....	42
3.3 Kültür İlave Edilerek Üretilen Tarhana Hamurlarının Organik Asit İçeriği	48
4. GENEL SONUÇLAR	55
5. KAYNAKLAR	56
6. ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Uşak tarhanası üretimi akış şeması.....	5
Şekil 1.2: Glukozun fermantasyon yolları: (A) homofermantatif fermantasyon (glikoliz, Embden Meyerhof Parnas yolu); (B) heterofermantatif fermantasyon (6-fosfoglukonat/fosfoketolaz yolu)	14
Şekil 1.3: Pürivatın alternatif yolları.....	15
Şekil 1.4: Krebs ve glioksilat çevrimi	17
Şekil 1.5: Laktik asidin izomerleri	18
Şekil 1.6: Süksinik asidin kimyasal yapısı.....	19
Şekil 1.7: Asetik asidin kimyasal yapısı	20
Şekil 1.8: Formik asidin kimyasal yapısı	21
Şekil 1.9: Fumarik asidin kimyasal yapısı	22
Şekil 2.1: Laktik asit standart eğrisi (A) ve 5000 ppm laktik asit kromatogramı (B).....	25
Şekil 2.2: Süksinik asit standart eğrisi(A) ve 5000 ppm süksinik asit kromatogramı(B).....	26
Şekil 2.3: Asetik asit standart eğrisi (A) ve 5000 ppm asetik asit kromatogramı(B).....	27
Şekil 2.4: Formik asit standart eğrisi (A) ve 5000 ppm formik asit kromatogramı(B).....	28
Şekil 2.5: Fumarik asit standart eğrisi (A) ve 5000 ppm fumarik asit kromatogramı(B).....	29
Şekil 2.6: Uşak tarhana hamurlarının starter kültür ilaveli (A) ve starter kültür ilavesiz (B) üretimlerin akım şeması	32
Şekil 3.1: Geleneksel üretim yapan evlerden (A) ve ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerden (B) temin edilen tarhana hamurlarının fermantasyonundaki laktik asit içeriklerinin değişimi	37
Şekil 3.2: Geleneksel üretim yapan evlerden (A) ve ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerden (B) temin edilen tarhana hamurlarının fermantasyonundaki süksinik asit içeriğinin değişimi (mg/100 g)	38
Şekil 3.3: Geleneksel üretim yapan evlerden (A) ve ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerden (B) temin edilen tarhana hamurlarının fermantasyonundaki asetik asit içeriğinin değişimi (mg/100g)	39
Şekil 3.4: Geleneksel üretim yapan evlerden (A) ve ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerden (B) temin edilen tarhana hamurlarının fermantasyonundaki formik asit içeriğinin değişimi (mg/100g)....	40
Şekil 3.5: Geleneksel üretim yapan evlerden (A) ve ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerden (B) temin edilen tarhana hamurlarının fermantasyonundaki fumarik asit içeriğinin değişimi (mg/100g)..	41
Şekil 3.6: L. farciminis PFC83 ve L. casei PFC90 ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası.....	43

Şekil 3.7: <i>L. alimentarius</i> PFC91 ve <i>P. kudriavzevii</i> PFC126 ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası.....	43
Şekil 3.8: <i>C. humilis</i> PFC13 ve kontrol ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası	44
Şekil 3.9: <i>L. farciminis</i> PFC83 + <i>P. kudriavzevii</i> PFC126 (Hamur 1) ve <i>L. farciminis</i> PFC83 + <i>C. humilis</i> PFC138 (Hamur 2) ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin fermantasyonun 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası	46
Şekil 3.10: <i>L. alimentarius</i> PFC91 + <i>P. kudriavzevii</i> PFC126 (Hamur 3) ve <i>L. alimentarius</i> PFC91 + <i>C. humilis</i> PFC138 (Hamur 4) ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin fermantasyonun 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası.....	46
Şekil 3.11: <i>L. casei</i> PFC90 + <i>P. kudriavzevii</i> PFC126 (Hamur 5) ve <i>L. casei</i> PFC90 + <i>C. humilis</i> PFC138 (Hamur 6) ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin fermantasyonun 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası	47
Şekil 3.12: Kültür ilave edilmeden üretilen tarhana hamuru örneklerinin fermantasyonun 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası ..	47
Şekil 3.13: Laktik asit bakterisi ve maya suşları kullanılarak tekli (A) ve ikili kombinasyonla (B) hazırlanmış tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki laktik asit miktarlarının değişimi (mg/100g).....	49
Şekil 3.14: : Laktik asit bakterisi ve maya suşları kullanılarak tekli (A) ve ikili kombinasyonla (B) hazırlanmış tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki süksinik asit miktarlarının değişimi (mg/100g).....	51
Şekil 3.15: Laktik asit bakterisi ve maya suşları kullanılarak tekli (A) ve ikili kombinasyonla (B) hazırlanmış tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki asetik asit miktarlarının değişimi (mg/100g).....	52
Şekil 3.16: Laktik asit bakterisi ve maya suşları kullanılarak tekli (A) ve ikili kombinasyonla (B) hazırlanmış tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki formik asit miktarlarının değişimi (mg/100g).....	53
Şekil 3.17: Laktik asit bakterisi ve maya suşları kullanılarak tekli (A) ve ikili kombinasyonla (B) hazırlanmış tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki fumarik asit miktarlarının değişimi (mg/100g).....	54

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Farklı yörelerde üretilen tarhanaların fermantasyon süreleri.....	4
Tablo 1.2: Bazı fermente gıdaların organik asit içerikleri	12
Tablo 1.3: Laktik asidin bazı fiziksel özellikleri.....	19
Tablo 1.4: Süksinik asidin bazı fiziksel özellikleri	19
Tablo 1.5: Fumarik asidin bazı fiziksel özellikleri.....	20
Tablo 1.6: Asetik asidin bazı fiziksel özellikleri.....	21
Tablo 1.7: Formik asidin bazı fiziksel özellikleri	22
Tablo 2.1: Çalışmada kullanılan LAB ve mayalar,izolasyon kaynakları ve besiyerleri	23
Tablo 2.2: Çalışma kapsamında kullanılan LAB ile maya suşları ve kombinasyonları	30
Tablo 2.3: Tarhana hamuru bileşimi (%) ve bileşenlerin özellikleri	33
Tablo 2.4: PZR-DDGE analizinde denatüre çözeltinin hazırlanmasında kullanılan temel bileşenler ve oranları	34

SEMBOL LİSTESİ

sa	:Saat
dk	:Dakika
sn	:Saniye
g	:Gram
L	:Litre
mL	:Mililitre
µL	:Mikrolitre
mg	:Miligram
N	:Normalite
Nm	:Nanometre
g	:Relatif santrifüj kuvveti
mmol	:Milimol
°C	:Santigrat derece
cm	:Santimetre
V	:Volt
kob	: Koloni oluşturan birim
PZR	:Polimeraz zincir reaksiyonu
µm	: Mikrometre
ppm	: Milyonda bir birim
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

ÖNSÖZ

Bu çalışmayı destekleyen Pamukkale Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine, yüksek lisans eğitimim boyunca beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan ve her türlü desteği vererek yönlendiren, birlikte çalışmaktan onur duyduğum danışman hocam sayın Doç. Dr. Ömer ŞİMŞEK'e, çalışmalarım için gerekli olanakları sağlayan Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığına ve her türlü desteğini gördüğüm Bölüm Öğretim Üyelerine, deneysel çalışmalarımda yanımda olan ve tecrübelerinden faydalandığım Arş.Gör. Halil İbrahim KAYA'ya, Arş.Gör.Dr. Engin DEMİRAY'a, Gıda Yüksek Mühendisi Selime HAZİR DALCA'ya teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca eğitim hayatım boyunca bana her zaman maddi ve manevi destek olan varlıklarıyla beni cesaretlendiren çok sevdiğim babam Yüksel YAZICI ve kardeşim H. Bartu YAZICI'ya da çok teşekkür ederim.

Ocak, 2016

Gıda Mühendisi Gizem YAZICI

1. GİRİŞ

Her ülkenin kendi kültürü ile özdeşleşmiş çeşitli geleneksel fermente gıdaları mevcuttur. Orta Asya'dan Anadolu'ya tarihsel süreç içinde gelişerek günümüze kadar ulaşmış olan tarhana da ülkemiz için önemli fermente gıdalardan biridir. Tarhana genel olarak; buğday unu, yoğurt, ekşi hamur ile çeşitli sebzelerin ve baharatların (domates, kırmızı biber, soğan, nane, tuz vd.) karıştırılıp, belirli bir süre fermente edildikten sonra kurutulup, öğütülmesi ile hazırlanmaktadır.

Ülkemizde kışın tüketim için yazdan ev ölçeğinde geleneksel yöntemlere göre hazırlanarak tüketilen tarhananın farklı tipte üretimleri mevcuttur. Bu farklılaşmanın temel nedeni, tarhana üretiminde uygulanan yöresel alışkanlıklar ve geleneklerdir. Örneğin, Güneydoğu Anadolu Bölgesinde (Kahramanmaraş ve Gaziantep) tarhana üretiminde buğday kırması, İç Anadolu Bölgesinde (Ankara, Konya, Karaman) ise un kullanımı söz konusudur. Ege Bölgesindeki (Uşak, Denizli, Kütahya) tarhana üretimlerinde daha fazla çeşitte sebze kullanımı ve uzun fermantasyon (21 gün) uygulanmaktadır. Nitekim Türk Standartları Enstitüsünün TS2282 standardına göre ülkemizde üretilen tarhanalar göce, un, irmik ve karışık olmak üzere 4 sınıfta toplanmıştır.

Türk Standartlarına göre "un tarhanası" sınıfında yer alan Uşak tarhanası, kendine özgü içeriği ve üretim şekline sahip bir çeşittir. Bu tarhananın Türkiye sınırları içerisinde üretilen diğerlerinden temel farkı içeriğinde daha fazla sebzelerin kullanılmasıdır. Yine daha uzun süre fermente edilmesi (21 gün) bu tarhana çeşidinin öne çıkan temel bazı farklılıklarıdır. Söz konusu bu özelliklerinden dolayı Uşak tarhanası ticari boyutta da önemli ölçüde yer almaya başlamıştır. Nitekim son yıllarda Uşak tarhanasının ticari üretiminde giderek artış gözlenmektedir.

Uşak tarhanası lezzeti dolayısıyla tüketicilerin dikkatini çekmektedir. Uşak tarhanasına bu özelliği kazandıran ayırıcı unsur üretimindeki fermantasyon aşamasıdır. Fermantasyon, gıda bileşenlerinin, mikroorganizmalar ve onların enzimleri ile parçalanması ve bunun sonucunda oluşan parçalanma ürünleriyle ana gıda maddesinden besinsel, duyuşal ve tekstürel açıdan daha farklı ürünlerin

üretilesidir. Gıdaların fermantasyonunda bulunan mikroorganizmaların ise temel metabolitlerinden birisi organik asitlerdir.

Organik asitler gıdaların tat-aroma, renk, stabilite ve ürün kalitesinin korunmasında önemlidir. Tarhana üretiminde kullanılan yoğurt ve ekşi hamurdan gelen laktik asit bakterileri ve mayalar, tarhana fermantasyonundaki metabolik faaliyetleri sonucunda çeşitli organik asitleri üretirler. Bu sebeple tarhana bileşiminde en çok laktik asidin olduğu bilinen bir gerçektir. Buna bağlı olarak tarhananın karakteristik ekşi ve mayhoş tadı oluşur. Diğer taraftan organik asitler antimikrobiyal etki göstererek çeşitli patojen bakterilerin inhibe edilmesi ve mikrobiyal güvenliğin sağlanması açısından da önem arz eder.

1.1 Tezin Amacı

Bu çalışmanın amacı, Uşak tarhanası hamurunun fermantasyonu sürecinde üretilen organik asitlerin çeşit ve miktarlarının tespit edilmesidir. Çalışmanın diğer amacı ise elde edilecek veriler doğrultusunda mevcut uygulama olan kendiliğinden fermantasyon yerine, kontrollü fermantasyonu gerçekleştirecek, yüksek kalitede, standart ve planlanabilir fermantasyon imkanı sunan starter kültür ve/veya kombinasyonlarının seçilmesidir.

1.2 Literatür Özeti

1.2.1 Uşak Tarhanasının Genel Özellikleri ve Üretimi

Tarhana; buğday unu, yoğurt, ekşi hamur ile çeşitli sebze ve baharatların (domates, kırmızı biber, soğan, nane, tuz vb.) karıştırılıp, laktik asit bakterileri ve mayalar vasıtasıyla fermente edildikten (İbanoğlu ve İbanoğlu 1999) sonra kurutulup, öğütülerek elde edilen geleneksel fermente bir üründür (İbanoğlu ve İbanoğlu 1999; Blandino ve diğ. 2003; Anonim 2004, Tarakçı ve diğ. 2004; Şengün ve diğ. 2009; Settanni ve diğ. 2011). Türkiye'nin hemen her bölgesinde üretilen tarhananın bileşiminde kullanılan maddelerin çeşit ve miktarları ile üretim tekniklerinde yöresel farklılıklar bulunmaktadır (Temiz ve Pirkul 1991; Tarakçı ve diğ. 2004). Türklerin Orta Asya'da yaşadıkları dönemden bu yana bilinen ve tüketilen geleneksel bir gıda olan tarhana, Orta Asya'dan göç eden Türkler ve Moğollar tarafından Anadolu, Orta Doğu, Macaristan ve Finlandiya'ya kadar yayılmıştır (İbanoğlu ve İbanoğlu 1999; Çelik ve diğ. 2005). Türk tarhanasına benzer olan ürünler Yunanistan'da trahana, Mısır'da kişk, Irak'ta kushuk, Macaristan'da tahonya ve Finlandiya'da da talkuna olarak bilinmektedir (Hayta ve diğ. 2002; Koca ve diğ. 2002; Settanni ve diğ. 2011).

Temel üretim süreçleri birbirine benzer olmasına rağmen, Türkiye sınırları içerisinde farklı tipte tarhanaların üretimi vardır. Bu farklılaşmanın temel nedeni, tarhana üretiminde uygulanan yöresel alışkanlıklar ve göreneklerdir. Örnek verecek olursak, Güneydoğu Anadolu bölgesindeki (Kahramanmaraş, Gaziantep) tarhana üretimlerinde buğday kırması, İç Anadolu bölgesinde (Ankara, Konya, Karaman) ise un kullanımı söz konusudur (Siyamoğlu 1961). Ege bölgesindeki (Uşak, Denizli, Kütahya) tarhana üretimlerinde daha fazla çeşitte sebze kullanımı ve uzun fermantasyon (21 gün) uygulanmaktadır. Dolayısıyla da Türk Standartlarında ülkemizde üretilen tarhana, göce, un, irmik ve karışık olmak üzere 4 sınıfta toplanmıştır (Anonim 2004).

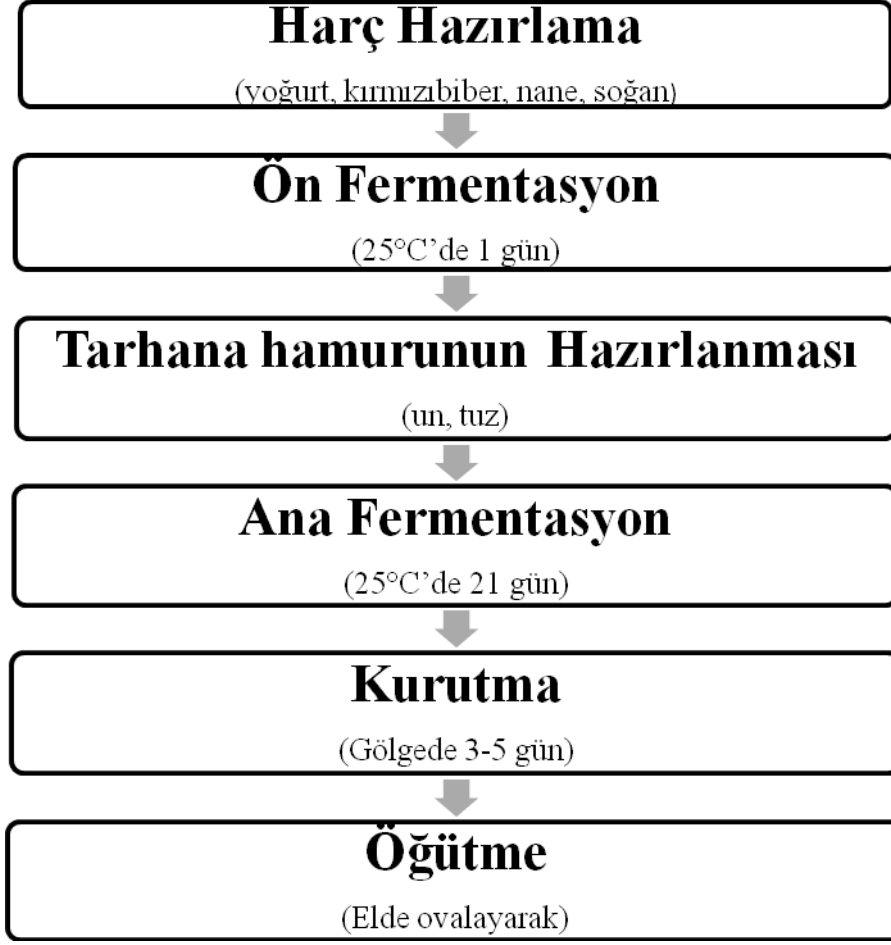
Türk Standartlarına göre "un tarhanası" sınıfında yer alan Uşak tarhanası, kendine özgü içeriği ve üretim şekline sahip bir türdür. Bu tarhananın Türkiye sınırları içerisinde üretilen diğer tarhanalardan temel farkı, bileşiminde daha fazla çiğ

sebzelerin kullanılmasıdır. Yine daha uzun süre fermente edilmesi bu tarhana türünün öne çıkan temel bazı farklılıklarıdır. Diğer yörelerde üretilen tarhanaların fermantasyon süreleri de Tablo 1.1’de gösterilerek karşılaştırılmıştır (Şengün ve diğ. 2009).

Tablo 1.1: Farklı yörelerde üretilen tarhanaların fermantasyon süreleri (Şengün ve diğ. 2009).

YÖRELER	FERMANTASYON SÜRELERİ (GÜN)
Aydın/İncirliova	2
Milas/Bodrum-Gündoğan Köyü	4
İzmir/Hatay	6
Manisa/Gölmarmara-Tiyenli Köyü	15
İzmir/Urla-Gülbahçe Köyü	1
İzmir/Çeşme-Barbaros Köyü	1
Uşak/Merkez	21
Isparta/Şarkikaraağaç	3

Tarhana üretim tekniği tüm yörelerde ortak olan basamakları içerir. Tarhana üretiminin ana basamakları hamuru hazırlanma, fermantasyon, kurutma ve öğütmedir (Dağlıoğlu 2000). Ancak geleneklere ve alışkanlıklara bağlı olarak bileşimde ve üretimde küçük bazı farklılıklar olabilmektedir. Nitekim Uşak tarhanasının da üretim süreçleri diğerlerine benzerlik gösterse de, üretiminde ve bileşimindeki farklılıklar nedeniyle diğerlerinden ayrılmaktadır. Uşak tarhanasına ait üretim akışı Şekil 1.1’de gösterilmiştir.



Şekil 1.1: Uşak tarhanası üretimi akış şeması (Anonim 2011^{a,b}).

Uşakta hemen hemen her evde tarhana üretimi mevcuttur. Bu üretimler geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Uşak halkı tarafından tarhana üretimi yaz sonu veya sonbaharda yeni mahsulün en bol olduğu dönemde yapılmaktadır. Uşak tarhanasının üretiminin ilk aşaması harcın hazırlanmasıdır. Bunun için tedarik edilen kırmızı biber, soğan, ince bir şekilde kıyıcı makineden geçirilerek, bu karışıma tam yağlı yoğurt ilave edilir. Hazırlanan bu karışım bir gün oda sıcaklığında bekletilerek fermente ettirilir. Halk arasında bu karışım tarhana ezesi olarak da isimlendirilmektedir (Anonim 2011^b).

Takip eden aşamada, harcın içine önceden hazırlanıp çoğaltılmış ekşi hamur ve un ilave edilerek kulak memesi yumuşaklığında hamur elde oluncaya kadar karıştırılır. Oluşturulan hamurun üzeri ıslak bir bez ile örtülerek oda koşullarında fermentasyona bırakılır. Fermentasyon mevsim şartlarına bağlı olarak 21 gün sürer. Halk arasında bu süreç hamurun kabarıp inmesi şeklinde ifade edilmektedir (Anonim

2011^b). Tarhana üretiminin bu aşaması ürünün kalitesi ve özelliğinin ortaya çıkması açısından çok önemlidir. Çünkü fermantasyon sürecinde florada bulunan yararlı mikroorganizmalar (Laktik asit bakterileri ve Mayalar) çalışarak ortamda bulunan karbon ve azot kaynaklarını da kullanarak laktik asit ve aromatik bileşikleri üretirler (Dağlıoğlu 2000).

21 günün sonunda ekşiyen tarhana hamuru küçük parçalara bölünür ve temiz bir bez üzerine serilerek gölgede kurutulmaya bırakılır. Ancak her gün bu parçalar biraz daha küçültülerek kurumanın daha hızlı ve etkin olması da sağlanır. Üretimin son aşamasında ise öğütme işlemi yapılır. Bunun için kuru tarhana hamurları elle ovularak iyice inceltilmeye çalışılır. Öğütme işleminin sonunda tarhana parçacıkları elekten geçirilerek, büyük parçaların ayrılması sağlanır (Anonim 2011^b).

Uşak tarhanasının en önemli farklılıklarından birisi yüksek oranlarda sebze kullanımınıdır. Bu anlamda özellikle üretimde yoğun kırmızı biber kullanımı mevcuttur. Bu farklılık tat ve lezzetin gelişmesinde etkili olduğu gibi, fermantasyonda laktik asit bakteri çeşitliliğinin artışına da katkıda bulunmaktadır. Fermantasyonda yararlı mikroorganizmaların çeşitliliğinin artışına neden olan diğer bir husus ise başka yörelerde uygulanan tarhana hamuru hazırlama esnasındaki sebze pişirme işleminin uygulanmamasıdır. Bu işlemin yapılmaması sebzeler üzerinde taşınan yararlı mikroorganizmaların ölmesini engellenmektedir (Anonim 2011^b).

Uşak tarhanası fermantasyonun oldukça uzun olması dikkati çeken diğer bir farklılıktır. Birçok yörede fermantasyon bir haftada sonlandırılırken, Uşak tarhanasının üretiminde bu süre üç haftaya kadar uzatılmaktadır. Dolayısıyla, tarhana fermantasyonunun ilk zamanlarında hızlı bir asitlik artışı sağlanmakta, daha sonra oluşan laktik asit parçalanarak aroma bileşenlerinin oluştuğu varsayılmaktadır. Diğer taraftan yine fermantasyon sürecinde mikrobiyal florada değişim meydana gelerek, tat ve lezzetin gelişmesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Anonim 2011^b).

1.2.2 Tarhana Fermantasyonunda Bulunan Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri, düşük G+C oranına sahip, Gram (+), fakültatif anaerob, sporsuz ve asit tolerant olan türleri içeren heterojen bir gruptur. Karbonhidratları heterofermantatif veya homofermantatif yolla laktik asite indirgerler. Heterofermantatif türleri yan ürün olarak asetik asit, formik asit, etanol ve karbondioksit oluşturabilmektedir. Bitkisel ve hayvansal hammaddelerin fermantasyonunda endüstriyel starter kültür olarak kullanılan bu bakteriler; *Aerococcus*, *Oenococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* olarak adlandırılan 12 cins içermektedir. *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* cinsi üyeleri, fermente süt ürünlerinin üretiminde starter kültürler olarak kullanılmaktadır (De Vuyst ve Leroy 2007).

Morfolojik açıdan çok değişken özellik gösteren (kısa veya uzun çomak veya kok şekilli) Laktik asit bakterileri, fizyolojik açıdan oldukça benzer özellik göstermektedirler. Gram (+), katalaz negatif (düşük oranda şeker ihtiva eden ortamda pseudokatalaza sahip suşlar görülebilir), spor oluşturmayan (*Sporolactobacillus inulinus* hariç), *Pediococcus* cinsi hariç tek düzlemde bölünen hareketsiz, çubuk veya kok şeklinde bakteriler olarak tanımlanmaktadır (Sharpe ve diğ. 1966; Şahin 1990; Çon 1995). Mutlak fermantatifler ve asıl fermantasyon ürünü olarak laktik asit üretmektedirler. Doğal habitatları süt ve süt mamülleri, işlenmemiş, taze veya çürümüş bitkiler, insan ve hayvanların bağırsak mukoza ve içerikleridir (Schlegel 1986; Tunail ve Köşker, 1989).

Laktik asit bakterileri, doğada çok yaygın oluşları ve bazı gıdaların üretim ve olgunlaştırılmasında teknolojik açıdan önemli rol oynamaları nedeni ile gıda teknolojisinde büyük önem taşımaktadır (Çon 1995). Yeni gıdaların üretilmesi ve çeşitli gıdaların muhafazasında çok eski yıllardan beri kullanılmaktadır. Tüm dünyada fermente et, süt, tahıl, meyve ve sebze ürünlerinin hazırlanması ve muhafaza edilmesinde kullanılmaktadırlar (Gökalp 1982; Andersson 1989; Mayra-Makinen ve Bigret 1993; Sánchez ve diğ. 2000).

Tarhana hamurunun mikroflorası üzerine yapılan çalışmalar, tarhana üretiminde laktik asit bakterilerinin anahtar role sahip olduğunu göstermiştir. Laktik asit bakterileri asitliğin artırılması yanında, hamur ortamında serbest halde çeşitli aminoasitler ve küçük peptitler açığa çıkararak diğer mikroorganizmaların

gelişmelerini ve metabolik aktivitelerini arttırmakta, tat ve aroma üzerine olumlu etkide bulunmakta, küf ve bakteriyel kaynaklı bozulmaları geciktirmektedirler (De Vuyst ve Neysens 2005; Salminen ve diğ. 2006; Çebi 2009). Türkiye tarhanalarının mikroflorasının araştırılması yönünde yapılan DNA temelli detaylı bir çalışmada, toplanan 226 izolatın %27'si *Pediococcus acidilactici*, %19'u *Streptococcus thermophilus*, %19 *Lactobacillus fermentum*, %12 *Enterococcus faecium*, %7 *Pediococcus pentosaceus*, %5 *Leuconostoc pseudomesenteroides*, %4 *Weissella cibaria*, %2 *Lactobacillus plantarum*, %2 *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus*, %2 *Leuconostoc citreum*, %1 *Lactobacillus paraplanarum* ve %0,5 *Lactobacillus casei* içerdiği tespit edilmiştir (Şengün ve diğ. 2009). Kontrollü koşullarda üretilen tarhanaların mikroflorası üzerinde yapılan bir diğer çalışmada ise *L. plantarum* ve *P. acidilactici* suşlarının ağırlıklı olarak florada yer aldığı belirtilmiştir (Settanni ve diğ. 2011).

Tarhana hamurunun mikroflorasının aydınlatılması yönünde yapılan yüksek lisans tez çalışmasında (Özel 2012) ev ve işletme ölçeğinde hazırlanan Uşak tarhanası hamurlarının çeşitliliği ve popülasyondaki değişimi ele alınmıştır. Bu çalışmada ev ve işletme ölçeğinden toplanan 9 farklı tarhana hamurunun farklı fermantasyon günlerinde (0, 1, 3, 5, 10, 15. gün) laktik asit bakterisi ve maya çeşitliliği ve değişimi izlenmiştir. Bu çalışmada LAB izolatları (GTG)₅ parmak izi analizine göre 43 gruba ayrılmıştır. Her bir grubun temsilcilerinin 16S rDNA ile tanımlanması sonucunda tarhana hamuru florasında *Lactobacillus plantarum* (16), *Lactobacillus brevis* (7), *Leuconostoc mesenteroides* (2), *Leuconostoc pseudomesenteroides* (1), *Pediococcus acidilactici* (1), *Lactococcus lactis* (3), *Lactobacillus fobifermentas* (1), *Lactobacillus mindensis* (1), *Lactobacillus paralimentarius* (1), *Lactobacillus alimentarius* (1), *Lactobacillus namurensis* (3), *Lactobacillus casei* (1), *Lactobacillus pentosus* (1), *Lactobacillus farciminis* (3), *Leuconostoc citreum* (1) suşlarının bulunduğu tespit edilmiştir. PZR-DGGE analizleri ise hakim floranın *L. sanfranciscensis*, *L. farciminis* ve *L. alimentarius* suşlarından meydana geldiğine işaret etmiştir.

1.2.3 Tarhana Fermantasyonunda Bulunan Mayalar

Mayalar uygun ortamlarda yalancı misel oluşturabilen tek hücreli, büyük (5-8 µm çapında), oval, uzun, eliptik, limon veya yuvarlak hücre şekilli ve eşeyli ya da eşeysiz çoğalabilen mikroorganizmalardır. Geniş pH, şeker ve alkol sınırları içerisinde gelişebilirler. Krem renginden pembe kırmızıya kadar değişen renklerde pigmentler oluşturabilirler (Akçelik ve Ayhan 2000). Bazı mayalar pH'sı 3 olan asit ortamda gelişebildiği gibi pH 7,5 olan alkali ortamlarda üreyen mayalar da bulunmaktadır. Ancak genel olarak mayalar optimum 4,5-5,0 pH aralığında gelişim göstermektedir. Mayalar 47°C'nin üzerinde faaliyet gösteremedikleri gibi, 0°C'de de üreyemezler. Optimum üreme sıcaklıkları 25-37°C arasındadır (Romano ve diğ. 2006).

Mayalar endüstriyel açıdan etanol, gliserol, ekmek mayası, vitamin, çeşitli enzimler, karatenoidler ve lipid üretiminde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, mayalar proteince zengin organizmalar oldukları için tek hücre proteini üretiminde kullanılan değerli mikroorganizmalardır. İnsanoğlu 8000 yıldan beri fermantasyonla ilgilenmektedir. Mayaların alkol ürettiklerinin M.Ö. 6000 yıllarında Sümerler ve Babillerce bilindiği düşünülmektedir (Albayram 2007; McNeil ve Harvey 2008).

Mayaların bazı türleri kuvvetli fermantasyon özelliği gösterirken bazıları zayıf fermantasyon özelliği göstermektedir. *Saccharomyces cerevisiae* ticari ölçekte göstermiş olduğu fermantasyon verimliliği ile en fazla tercih edilen maya türüdür (Hong ve Nielsen 2012; Dağaşan 2012). Bundan dolayı *S. cerevisiae*'nin gıda fermantasyonunda kullanımı çok yaygındır. Şarap fermantasyonu ve özellikle ekmek üretimi *S. cerevisiae*'nin seçilmiş bazı türleri tarafından gerçekleştirilmektedir (Vaughan-Martini ve Martini 2011).

Mayaların fizyolojik yapılarına bakıldığında aerobik veya fakültatif anaerobik özelliğe sahip oldukları görülür. Zorunlu anaerobik olarak bilinen maya türü yoktur. Fakültatif anaerobik mayalar, alkol fermantasyonu ile 1 molekül glukozdan 2 molekül etil alkol ve 2 molekül karbondioksit oluştururlar. Alkol fermantasyonu, üç kimyasal reaksiyon sonucu oluşur. Bu reaksiyonlar glikoliz, pürivik asidin dekarboksilasyonu ve asetaldehitin indirgenmesidir. İlk aşamada glikoliz ile heksozlar (6 karbonlu şekerler) pürivik aside dönüşür. İkinci aşamada pürivik asit bir molekül CO₂ kaybederek asetaldehide dönüşür. Son aşamada asetaldehit molekülüne

1 hidrojen atomu bağlanır ve indirgenen asetaldehitten etil alkol oluşur (Soyuduru 2007). Diğer taraftan mayaların aerobik yolu ise glikoliz sonucunda meydana gelen pirüvik asidin CO₂ ve H₂O'ya kadar parçalanması ile sürer.

Tarhana hamurunda maya florasının belirlenmesine yönelik az sayıda çalışma bulunmaktadır. Settanni ve diğ. (2011) tarhana fermantasyonu sırasında 90 maya kolonisi izole etmiş ve bu izolatların 5,8S ITS rRNA genini çoğaltarak *CfoI*, *HaeIII* ve *HinfI* restriksiyon endonükleaz enzimlerinin kullanıldığı RFLP yöntemi ile tanımlanmıştır. Buna göre örneklerin tümünde *S. cerevisiae* maya türünün baskın florayı oluşturduğunu rapor etmiştir.

Bu yönde yapılan başka bir çalışmada Özel ve diğ. (2015) fermantasyon boyunca tarhana hamurunun ekosisteminde maya çeşitliliğini belirlemiştir. Bu çalışmada *Pichia kudriavzevii*, *Candida glabrata*, *Candida humilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kazachstania servazzi* ve *Kazachstania unispara* suşlarının hamur mikroflorasında yer aldığını bildirmiştir.

1.2.4 Organik Asitler ve Fermente Gıdalar İçin Önemi

Organik asitler, yapıları karbon iskeletine dayanan asitlerdir. Laktik, asetik, propiyonik, fumarik, formik, sitrik, süksinik ve malik asit gıdalarda bulunan bazı organik asit örnekleridir. Bu asitler gıdalarda ya yapısal bir bileşik halinde doğal olarak bulunur, ya da mikrobiyal faaliyet ile fermantasyon yoluyla üretilir. Organik asitlerin gıda sistemlerinde patojen mikroorganizmaların gelişimini engelleyerek koruyucu etkisinin bulunduğu gibi (Fernandez-Garcia ve McGregor 1994) gıdaların karakteristik tat ve aromasının oluşumunda da etkili oldukları bilinmektedir (Göçmen 2001; Lefebvre ve diğ. 2002; Erbaş ve diğ. 2006; Kelebek ve diğ. 2009).

Organik asitler doğal olarak en çok meyvelerde bulunur. Sitrik, malik, asetik ve tartarik asitler; limon, portakal, elma, üzüm, diğer meyveler ve meyve suları ya da onlardan üretilen içeceklerde mevcuttur. Bunun dışında ticari olarak asetik, sitrik, fumarik, laktik, malik, süksinik ve tartarik asitler; turşu, salata soslarında, tatlılar, alkolsüz içecekler, reçel, çorba ve margarin gibi gıdalarda asit ayarlayıcı olarak kullanım alanları vardır. Propiyonik, sorbik, benzoik asitler ve bunların tuzları meyve bazlı içecekler, ekmekte, peynir, et, balık ve yumurta ürünleri gibi gıdalarda koruyucu olarak kullanılırlar (Samelis 2003).

Fermente gıdalarda organik asitler büyük oranda mikroorganizmaların çoğalmasıyla üretilir. Bu yönde özellikle laktik asit bakterilerin gelişimi sonucunda önemli miktarda başta laktik ve asetik asit olmak üzere süksinik ve formik asidin üretildiği çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. Fermente gıdalarda mikrobiyal faaliyet sonucunda üretilen laktik asit miktarının 30-3641 mg/100 g, asetik asidin ise 12-778 mg/100 g arasında olduğu rapor edilmiştir (Tablo 1.2). Ayrıca en yüksek miktarda laktik asidin sucukta (Erginkaya 1993), en düşük ise bozada olduğu yapılan çalışmalar ışığında anlaşılmaktadır (Akpınar ve diğ. 2010). Asetik asit bakımından en zengin fermente gıda ürününün ise bir çalışmada ekşi hamurda (Banu ve diğ. 2011) olduğu literatür taraması neticesinde görülmektedir.

Gıdalardaki organik asitlerin antimikrobiyal etkisi, kullanılan asit türü, konsantrasyonu ve uygulama yöntemine bağlıdır. Organik asitlerin antimikrobiyal etkisi, ayrıca sıcaklık, pH, su aktivitesi, oksijen, tuz ve diğer antimikrobiyallere bağlı olarak değişkenlik gösterir. Gıdalarda bulunan bazı organik asitler ortamın ya da hücre içinin pH'sını düşürerek veya hücre membranının geçirgenliğini değiştirip substrat taşınımını bozarak ya da mikroorganizmaların yaşamı için gerekli bazı metallerle şelat oluşturarak antimikrobiyal etki göstermektedirler. Sitrik asit, süksinik asit, malik asit ve tartarik asit bu grupta yer almaktadır (Coşkun 2006).

Bu asitlerin antimikrobiyal etki mekanizması disosiyasyon olmamış formlarının hücre içerisine girerek hızla disosiyasyon olması ve hücre içi pH'sının değişimine yol açmasıdır. Hücre içi pH değişikliği tolere edilemez seviyeye ulaştığında hücre ölümü gerçekleşir. Zayıf disosiyasyon özellikleri organik asitlerin kuvvetli asitlere nazaran daha etkili antimikrobiyal olmasını sağlamaktadır (Çon ve Gökalep 2000).

Tarhananın karakteristik tat/aromasını, laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen laktik asit başta olmak üzere pirüvik, okzalik, ve süksinik asit gibi uçucu olmayan asitler ile asetaldehit, aseton, diasetil gibi karbonil bileşikleri oluşturmaktadır (Georgala ve diğ. 1995; Beskhova ve diğ. 1998; Tamime ve Robinson 1999). Bunların yanı sıra aromayı, uçucu yağ asitleri gibi bazı uçucu bileşenler (formik, asetik, bütirik veya propiyonik asit) ve aldehitler, ketonlar, alkoller, laktonlar ve sülfür bileşenleri gibi bazı parçalanma ürünleri meydana getirmektedir. Fakat bu bileşenlerden karbonil bileşiklerinin ve laktik asitin tarhananın tat / aroma dengesinin oluşumundaki rolü birincil öneme sahiptir (Fernandez-Garcia ve McGregor 1994; Beskhova ve diğ. 1998). Asetik asit ise hem

güçlü bir aroma oluşumunu sağlamakta, hem de diğer aroma bileşenlerinin etkisini arttırmaktadır (Göçmen 2001; Kılıç 2008).

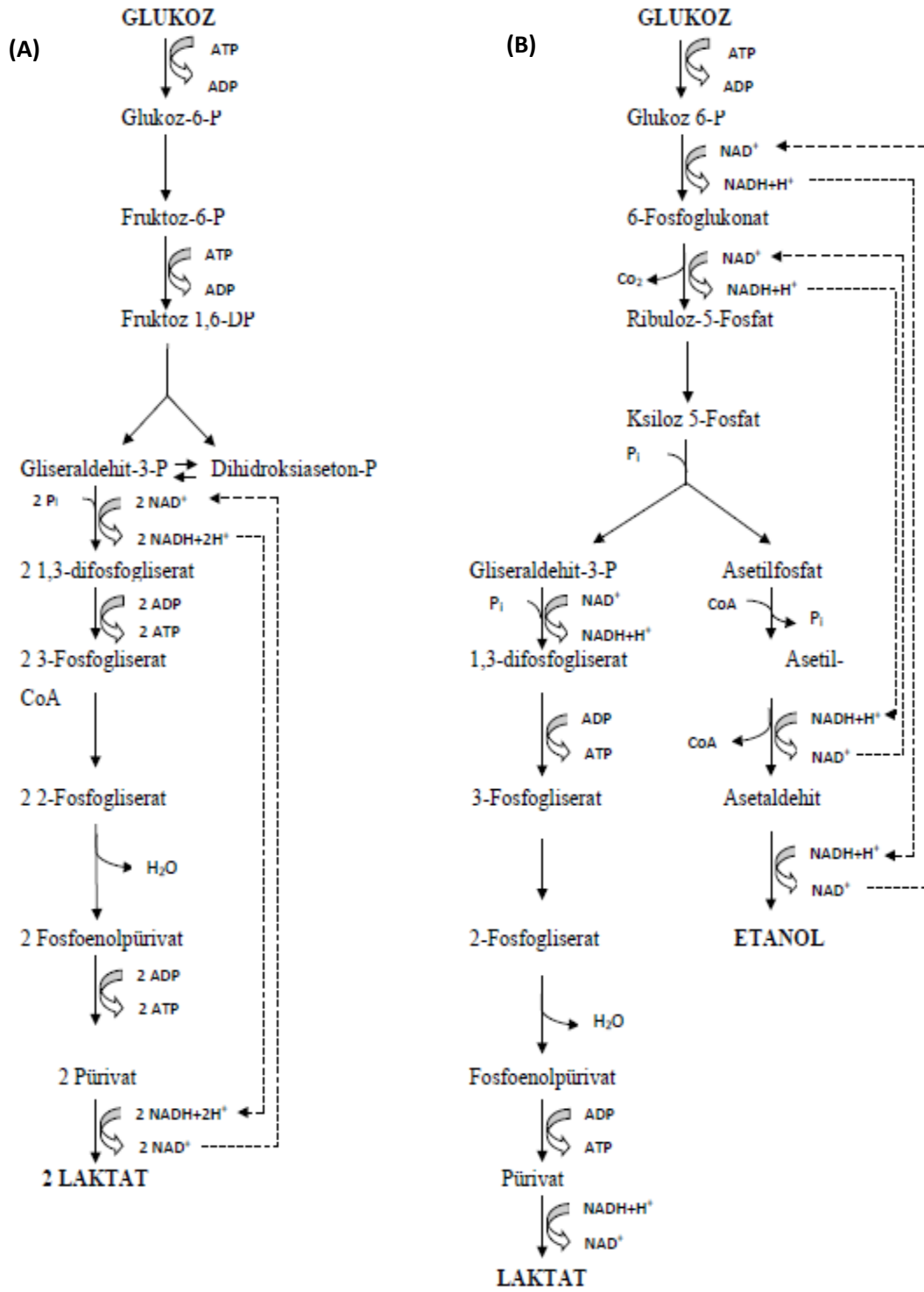
Tablo 1.2: Bazı fermente gıdaların organik asit içerikleri (mg/ 100 g)

Fermente Ürün	Organik Asitler				Kaynaklar
	Laktik	Asetik	Süksinik	Formik	
Tarhana	2026	778			Erbaş ve diğ. 2006
Tarhana	950	12,7			Magala ve diğ. 2013
Tarhana	1065,3	410,7	94,7	86,3	Gül, 2013
Zeytin	697,1		2580,8		Arslan ve Özcan 2011
Zeytin			1650		Nergiz ve Günç Ergönül 2009
Zeytin			614		Günç Ergönül ve Nergiz 2010
Gouda peyniri	2500	>200		>100	Califano ve Bevilacqua 2000
Yayık tereyağı	250				Şenel 2006
Krema tereyağı	200				Şenel 2006
Set yoğurt	1040				Atamer ve diğ. 2004
Süzme yoğurt	143				Atamer ve diğ. 2004
Mozerella peyniri	1100			>1,5	Califano ve Bevilacqua 1999
Sucuk	1489	473			Kurt 2009
Sucuk	3641	547			Erginkaya 1993
Yoğurt	125,9				Kavaz 2012
Boza	41,7	8,19			Akpınar Beyazıt ve diğ. 2010
Ekşi hamur	941	146			Ventimiglia ve diğ. 2015
Ekşi hamur	693	186			De Vuyst ve diğ. 2002
Ekşi hamur	810	120			Paramithiotis ve diğ. 2005
Ekşi hamur	381	259			Vernocchi ve diğ. 2004
Ekşi hamur	1371	174			Scheirlinck ve diğ. 2008
Ekşi hamur	1110	970			Banu ve diğ. 2011

1.2.5 Fermente Gıdalarda Üretilen Organik Asitlerin Temel Metabolizması

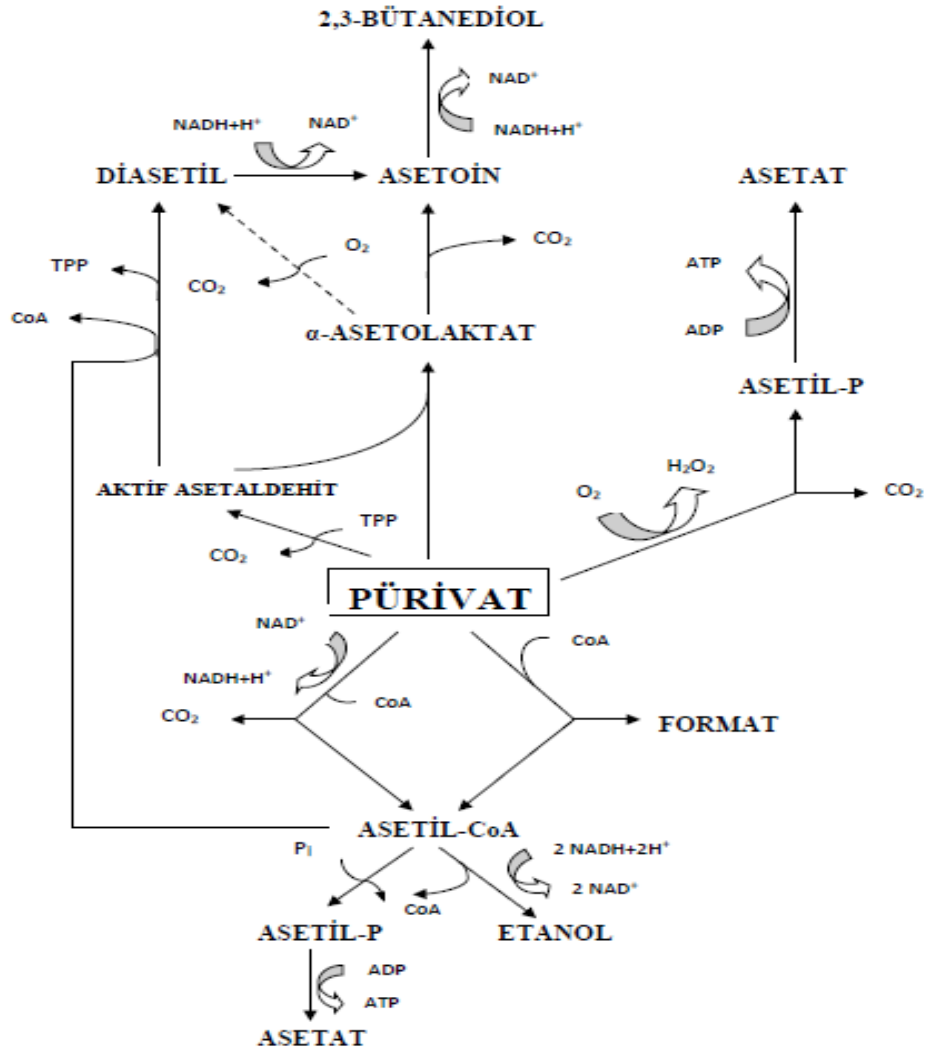
Fermente gıdaların organik asit içeriği bu gıdaların temel mikroflorası ile yakından ilişkilidir. Yapılan birçok çalışma örneklenen gıdalarda laktik asit bakterileri ile birlikte mayaların da fermantasyon gerçekleştirdiğini göstermiştir (Kabak ve Dobson 2011). Dolayısıyla fermente gıdalarda organik asit üretiminin bu iki grup mikroorganizmaların karbonhidrat metabolizması üzerinden açıklanması uygun olacaktır.

Laktik asit bakterileri enerji temin etmek üzere gıda ortamında bulunan heksoz ve pentozları farklı katabolik yolları takip ederek kullanırlar. Laktik asit bakterileri gelişme ortamında buldukları şeker birimlerini permeaz veya PEP-PTS hücre duvarı transfer sistemi ile hücre içerisine geçişini sağlar. Bu aşamadan sonra glukoz üzerinden katabolik yolları özetleyecek olursak, laktik asit bakterileri homofermantatif ve heterofermantatif yolları takip eder. Buna göre homofermantatif yolda fruktoz 1,6 difosfat (FDP) *Leuconostoc*, *Oenococci*, *Weissella* ve grup III Laktobasilluslar hariç tüm laktik asit bakterilerinde FDP aldolaz ile dihidrokso asetonfosfat ve gliseraldehit 3-fosfata parçalanır. Ardından gliseraldehit 3-fosfat substrat seviyesinde fosforilasyonla pürivik asite kadar indirgenir. Normal koşullarda ortamda oksijenin olmaması durumunda pürivik asit redoks dengesinin sağlanması için laktik aside dönüştürülür. Böylece Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) yolu ile homofermantatif fermantasyonla glukozdan laktik asit üretilir (Axelsson, 2004). Heterofermantatif yolu ise heksoz monofosfat (HMP) ya da 6-fosfoglukonat/fosfoketolaz (6-PG/PK) olarak adlandırılmaktadır. Bu katabolik yolda 6-fosfoglukonat dekarboksilasyonla oluşturulur ardından ribuloz 5-fosfat ve ksiloz 5-fosfattan fosfoketolaz ile gliseraldehit 3-fosfat ve asetilfosfat üretilir. Gliseraldehit 3-fosfattan glikolizde olduğu gibi laktik asit üretilirken, elektron alıcısının olmaması durumunda asetilfosfat asetil koenzim A ve asetaldehit üzerinden etanole dönüştürülür. Sonuç olarak heterofermantatif yol ile laktik asit bakterileri fermente gıdalarda laktik asit ile birlikte ikinci ana organik asit olan asetik asidin üretimi de bu şekilde gerçekleşir (Şekil 1.2) (Axelsson 2004).



Şekil 1.2: Glukozun fermantasyon yolları: (A) homofermantatif fermantasyon (glikolisiz, Embden Meyerhof Parnas yolu); (B) heterofermantatif fermantasyon (6-fosfoglukonat/fosfoketolaz yolu) (Axelsson 2004)

Bazı özel koşullarda, özellikle stres durumunun varlığında laktik asit bakterileri pürivik asiti laktik asite indirgemenin dışında alternatif yolları tercih edebilirler. Konuyla ilişkili olarak örneğin, anaerobik koşul altında *Lactobacillus casei* ve *Lactococcus lactis*'in gelişme ortamında besin sınırlaması olduğunda pürivik asit format-liyaz enzimi ile birlikte formik asit ve asetil koenzim A'ya çevrilmektedir. Asetil koenzim A'dan ise asetilfosfat ve asetik asit oluşturulmaktadır. Diğer taraftan ortamda oksijenin olması durumunda yine pürivik asit pürivat oksidaz enzimi ile sırasıyla asetil fosfat ve asetik asite dönüştürülebilmektedir. Ortamda dış elektron alıcısı olarak sitratın bulunması durumunda ise sitrat liyazın etkisiyle okzalaasetat ve asetat üretilmekte ve buradan süksinik veya fumarik asit oluşturulmaktadır (Şekil 1. 3). Bu reaksiyonla HMP yolu için gerekli olan NADH'den NAD⁺ üretilmektedir (Axelsson 2004).

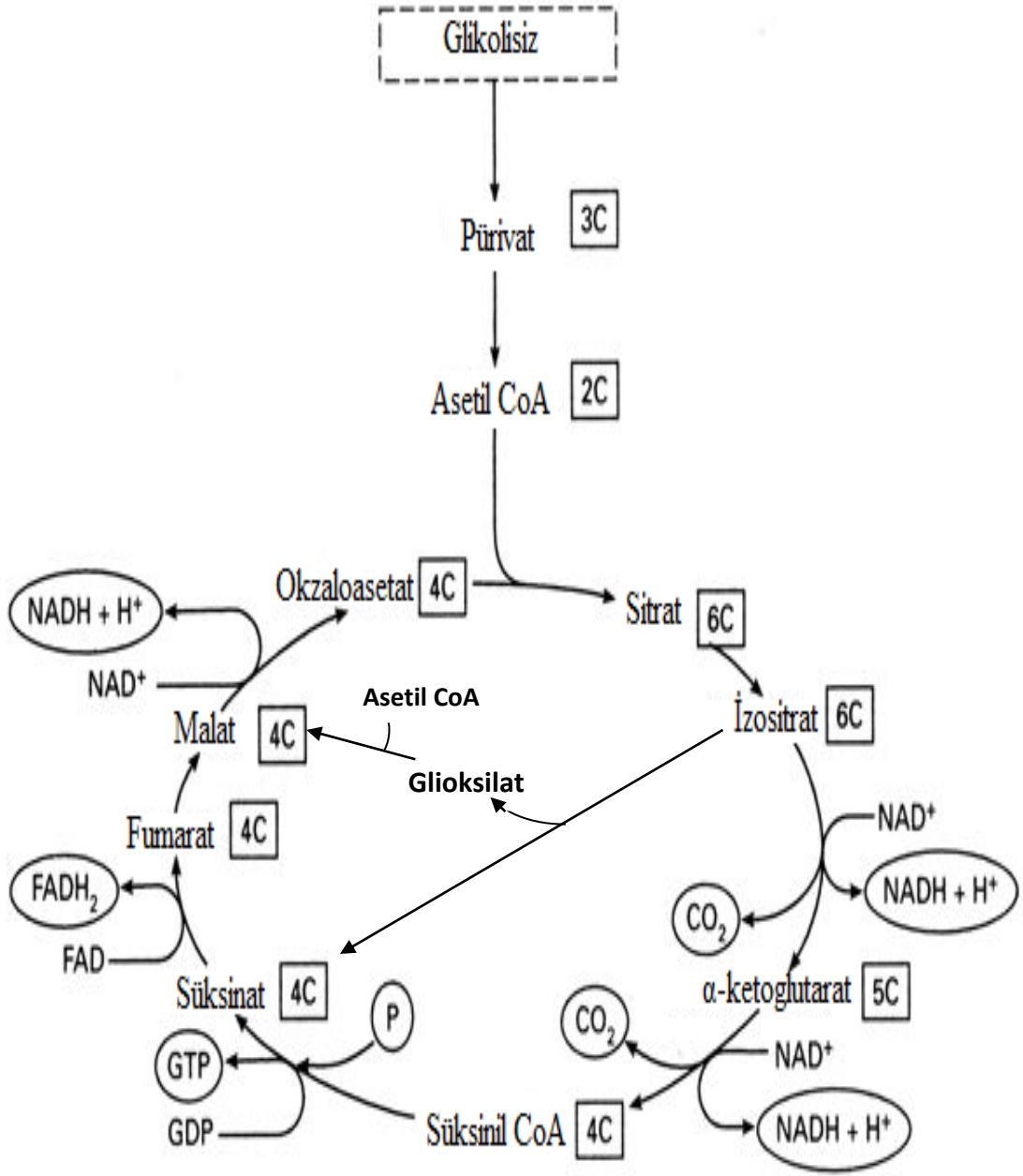


Şekil 1.3: Pürivatın alternatif yolları (Axelsson 2004)

Fermente gıdaların mikroflorasında bulunan mayaların da organik asit birikimine katkısı bulunmaktadır. Maya suşlarının karbon metabolizmaları birbirine oldukça benzerdir (Flores ve diğ. 2000). Fakültatif fermantatif maya hücrelerinde enerji üretmek için öncelikle şeker birimleri (glukoz, fruktoz, galaktoz ve mannoz) kullanılır. Bunların ortamda bulunmaması durumunda ise poliöl, alkol, organik asit ve aminoasitler de karbon kaynağı olarak tercih edilir. Maya hücrelerinde şekerlerin katabolizmasında glikoliz ve pentoz fosfat yolu ile krebs ve gliksilat çevrimi takip edilir. Söz konusu bu metabolik iz yolların sonucunda süksinik, sitrik, fumarik, malik ve asetik asit gibi organik asitler üretilir (Flores ve diğ. 2000).

Tipik bir maya hücresinde glukoz hücre içerisine fosforile edilerek alınır. Daha sonra glukoz 6-fosfat aynen laktik asit bakterilerinde olduğu gibi ya glikoliz ile ya da pentoz fosfat yolu üzerinden pürivik aside indirgenir. Bu aşamadan sonra pürivik asit asetaldehit üzerinden son ürün etanole çevrilmektedir. Ancak bu yol üstünde asetaldehitten asetat üretimi de söz konusudur. Diğer taraftan pürivik asite karbondioksit ilave edilerek okzalasetat oluşturulmakta ve gliksilat döngüsü başlatılmaktadır. Bu döngü ile birlikte krebs döngüsüne de katılan süksinik ve malik asit çıkışı olmaktadır (Bamett ve diğ. 2000).

Aerobik koşullarda mayaların geliştirilmesi durumunda ve özellikle düşük oranda glukoz varlığında Pastör etkisi ile pürivik asidin yönü Krebs döngüsüne yönelmektedir. Böylece maya hücreleri düşük karbon kaynağı ile daha yüksek enerji üretimini sağlar. Krebs döngüsünün başlangıcında asetil koenzim A oluşturulmakta bu bileşik de okzalasetik aside katılarak altı karbonlu sitrik asit oluşturulmaktadır. Sırasıyla izositrat, α -ketoglutarat, süksinat, fumarat ve malat oluşturularak döngü tamamlanır. Böylece krebs döngüsü ile birlikte sitrik, fumarik, süksinik gibi fermente gıdalarda bulunan çeşitli organik asitlerin üretimi mümkündür (Şekil 1. 4) (Bamett ve diğ. 2000).



Şekil 1.4: Krebs ve glioksilat çevrimi

1.2.5.1 Laktik asit

Laktik asit, ilk defa 1780 yılında C.W.Scheele tarafından keşfedilmiş hidroksi karboksilik asittir. Laktik asit, renksiz, kokusuz ve ekşi tada sahip, higroskopik sıvıdır. Su, alkol ve eterle kolaylıkla karışabilir, kloroformda çözünmez, iyi bir çözücü ve zayıf bir asittir. Ayrıca kolaylıkla polimerleşir, bu özellikleri nedeniyle de gıda sanayinde geniş bir kullanım alanına sahiptir (Çetin 1983). Laktik asit endüstriyel olarak önemli bir ürün olan, doğal organik asittir. Şekil 1.5'te gösterildiği gibi laktik asidin D(-) ve L(+) laktik asit olmak üzere 2 formu bulunur. İnsan metabolizmasında sadece L(+) laktik asit izomeri bulunduğundan, bu izomerin mikrobiyal yoldan eldesi son zamanlarda çok ilgi çekmektedir. Laktik asidin endüstriyel üretimi kimyasal sentez ve mikrobiyal fermantasyon ile olmaktadır. Laktoz (süt şekeri) fermente süt ürünlerinde kullanılan starter bakteriler tarafından fermantasyona uğratılır, bunun sonucunda emilimi daha kolay olan laktik asit oluşur (Altıok 2006).



Şekil 1.5: Laktik asidin izomerleri (Vick Roy 1985; Altıok 2004).

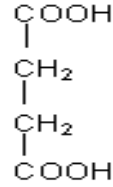
Laktik asit, asitlendirici, tat verici, pH tampon reaktifi ve bakteriyel bozulmalarda antimikrobiyal olarak kullanılabilir. Laktik asit (C₃H₆O₃) ve tuzları (potasyum, kalsiyum, amonyum, magnezyum) gıdalarda kullanılan asitlik düzenleyicilerdir. Diğer asitlerden farklı olarak daha viskoz ve uçucu olmayan bir sıvı olan laktik asitin, diğer asitlik düzenleyicilere kıyasla gıdalarda koruyucu özelliği yüksektir. Laktik asit, fermente ve salamura gıdalarda, mikroorganizma gelişimini önlemek amacıyla kullanılmaktadır. En geniş ölçüde peynir teknolojisinde uygulaması bulunur (Bayazıt 2008). Laktik asidin bazı fiziksel özellikleri Tablo 1.3'te verilmektedir.

Tablo 1.3: Laktik asidin bazı fiziksel özellikleri

Kimyasal Formülü	C₃H₆O₃
Molekül Ağırlığı	90,08 g/mol
Erime Noktası	D:53°C; L:53°C; D/L:16,8°C
Kaynama Noktası	82°C (0,5 mmHg için); 122°C (12 mmHg için)
pKa	3,86
Yoğunluk	1,21 g/cm ³ (20°C)

1.2.5.2 Süksinik Asit

Saf asit halde iken katıdır. Hafif acı ve ekşi bir lezzete sahiptir, kokusu yoktur. Doğal olarak bazı sebzelerde bulunur. Suda az çözünen ve asit gücü yaklaşık asetik asit kadar olan beyaz kristaller halinde bir dikarboksilik asittir (Şekil 1.6). Gıda sistemlerine tat-lezzet katmak amacıyla kullanımı mevcuttur. Sitrik asit döngüsünün bir parçasıdır. Bu asit Krebs çevrimi ya da mikroorganizmaların yağları mebolize etmesi sırasında oluşan bir asittir. Süksinik asit proteinlerle birleşerek ekmeğin hamurunun plastik yapısının oluşumuna katkı sağlar (Boulton ve diğ. 1996). Süksinik aside ait bazı özellikler Tablo 1.4'te verilmiştir.

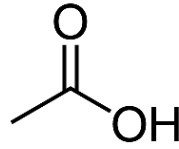
**Şekil 1.6:** Süksinik asidin kimyasal yapısı**Tablo 1.4:** Süksinik asidin bazı fiziksel özellikleri

Kimyasal Formülü	C₄H₆O₄
Molekül Ağırlığı	118 g/mol
Erime Noktası	185°C
Kaynama Noktası (760mmHg)	235°C
Çözünürlüğü	Suda çözünür, alkolde az çözünür
pKa	4,18

1.2.5.3 Asetik Asit

Asetik asit sirkeye ekşi tadını ve keskin kokusunu vermesiyle bilinir. Karboksilik asitlerin en küçüklerinden biridir. Asetik asidin kimyasal yapısı Şekil 1.7’de, bazı fiziksel özellikleri Tablo 1.5’te görülmektedir. Asetik asit, sentetik yöntemler ve fermantasyon ile olmak üzere iki türlü üretilmektedir. Metanol karbonizasyonu ile saf asetik asit üretimi çok yaygındır. Diğer taraftan asetik asit genellikle melasın fermantasyonuyla üretilen alkolün asetik asit bakterileri ile oksidasyonu sonucunda seyreltik sulu çözeltileri halinde üretilmektedir (Yoneda ve diğ. 2001).

Asetik asit ve tuzları gıda mevzuatlarında kullanılmasında sakınca olmayan gıda katkı maddeleri içinde yer almaktadır. Hububat ürünlerinde, et ve balık ürünlerinde, sirkecilikte, malt şurubu ve konsantratlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu organik asit bakteri, küf ve mayalar üzerinde koruyucu etkiye sahiptir. Özellikle salmonella ve koliform bakterileri üzerinde öldürücü etkisi bulunur (Ünlütürk ve Turantaş 2003).



Şekil 1.7: Asetik asidin kimyasal yapısı

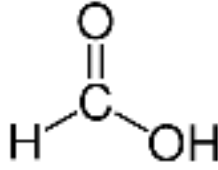
Tablo 1.5: Asetik asidin bazı fiziksel özellikleri

Kimyasal Formülü	CH₃COOH
Diğer Adlandırılması	Sirke asidi, Etanoik asit
Molekül Ağırlığı	60,05 g/mol
Erime Noktası	16,5°C
Kaynama Noktası(760mm Hg)	118,1°C
Çözünürlüğü	Su, alkol ve eterde her oranda çözünür
Yoğunluğu (20°C)	1,266 g/cm ³
pK_a	4,76

1.2.5.4 Formik Asit

Formik asit, renksiz, aşındırıcı, yakıcı ve akıcı bir sıvıdır. Latince ifadesi olan formicum, “formica” karıncadan gelmektedir. 1671 yılında John Ray tarafından kırmızı karıncalardan izole edildiği için karınca asidi olarak adlandırılmıştır. Metanoik asit olarak da bilinen tek karbonlu karboksilik bir asittir (Şekil 1.8). Su, etanol ve glikol ile çözünebilen en temel karbon asitidir (Bruice 2003). Formik asidin bazı fiziksel özellikleri Tablo 1.6’da verilmiştir.

Formik asidin birçok endüstriyel kullanımı mevcuttur. Tortu giderici olarak kullanılan formik asit ayrıca uçak sanayinde kullanılmaktadır. Organik asitlerin en yalını olan bu asit, gübrelerden plastiklere kadar birçok bileşiğin çıkış maddesidir. Formik asit, çiftlik hayvanları için besin maddesi, yiyeceklerin bozulmasını engelleyici ve antibakteriyel madde olarak kullanılır. Formik asit vücut tarafından kolayca absorbe edilerek tepkimeye girmektedir. Mutajenik ve kronik maruziyet sonunda karaciger ve böbreklerde tahrişe ve alerjiye neden olma gibi kronik etkileri de vardır (Bruice 2003).



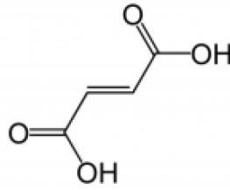
Şekil 1.8: Formik asidin kimyasal yapısı

Tablo 1.6: Formik asidin bazı fiziksel özellikleri

Kimyasal Formülü	CH₂O₂
Molekül Ağırlığı	46,0254
Erime Noktası	-8,4°C
Kaynama Noktası (760mmHg)	100,8°C
Yoğunluğu (20°C)	1,22 g/cm ³
pK_a	3,75

1.2.5.5 Fumarik Asit

Fumarik asit, dikarboksilli bir organik asittir. Fumarik asidin kimyasal yapısı Şekil 1.9'da, bazı fiziksel özellikleri Tablo 1.7'de görülmektedir. Fumarik asit saf halde iken; beyaz, kokusuz, granüler ve kristal yapıdadır. Alkolde çözünür, su ve eterde ise az çözünür. Kloroformda çözünürlüğü çok azdır. Bu beyaz kristalli bileşik iki adet izomerik doymamış dikarboksilik asitten birisidir, diğeri maleik asittir. Fumarik asitte, karboksilik asit grupları trans (E) formunda iken maleik asitte cis (Z) formundadır. Fumarik asit meyve tadı veren bir aromaya sahiptir. Tuzları ve esterleri fumaratlar olarak bilinir. Fumarat hücrelerin gıdalardan gelen enerjiyi adenozin trifosfat (ATP) formunda depolamak için kullandığı sitrik asit döngüsünün ara ürünlerinden birisidir. Burada süksinatın süksinat dehidrogenaz enzimi yardımıyla oksidasyonu sonucu oluşur (Oskay 1975).



Şekil 1.9: Fumarik asidin kimyasal yapısı

Tablo 1.7: Fumarik asidin bazı fiziksel özellikleri

Kimyasal Formülü	C₄H₄O₄
Molekül Ağırlığı	116,07 g/mol
Görünüşü	Beyaz katı
Yoğunluk	1,635 g/cm ³
Erime Noktası	287°C
pK_a	pK _{a1} :3,03 pK _{a2} :4,44

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Materyal

Çalışma materyali olarak Uşak yöresinde geleneksel üretim yapan evlerden ve ticari ölçekteki farklı işletmelerden, fermantasyonun 5 farklı zamanında temin edilen (Özel 2012) tarhana hamurları kullanılmıştır. Bu 9 adet tarhana numunesinin 5 tanesi (A, B, C, D ve E) Uşak yöresinde geleneksel üretim yapan evlerde; 4'ü ise (F, G, H ve K) ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerde üretilmiştir. Tüm hamur örnekleri -20°C'de analiz edilinceye kadar muhafaza edilmiştir.

2.2 Mikroorganizmalar ve Gelişme Ortamları

Tarhana hamurundan izole edilmiş ve çalışmada kullanılan laktik asit bakterileri ve mayalar Tablo 2.1.'de verilmiştir. Kullanılan tüm suşlar %30 gliserol içeren uygun besiyerlerinde -70 °C'de muhafaza edilen Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonundan (PUFECC) sağlanmıştır. Laktik asit bakterileri MRS (Merck, Almanya), mayalar ise %1 glukoz içeren Nutrient (Merck, Almanya) sıvı ve katı besiyeri ortamlarında 30 °C'de geliştirilmiştir. Her bir suş için %20 oranında gliserol içeren çalışma stokları da hazırlanmıştır.

Tablo 2.1: Çalışmada kullanılan laktik asit bakterileri ve mayalar, izolasyon kaynakları ve besiyerleri

Koleksiyon Adı	Mikroorganizma Adı	İzolasyon Kaynağı	Besiyeri
PFC 83	<i>Lactobacillus farciminis</i>	Tarhana	MRS
PFC 90	<i>Lactobacillus casei</i>	Tarhana	MRS
PFC 91	<i>Lactobacillus alimentarius</i>	Tarhana	MRS
PFC 126	<i>Pichia kudriavzevii</i>	Tarhana	NB
PFC 138	<i>Candida humilis</i>	Tarhana	NB

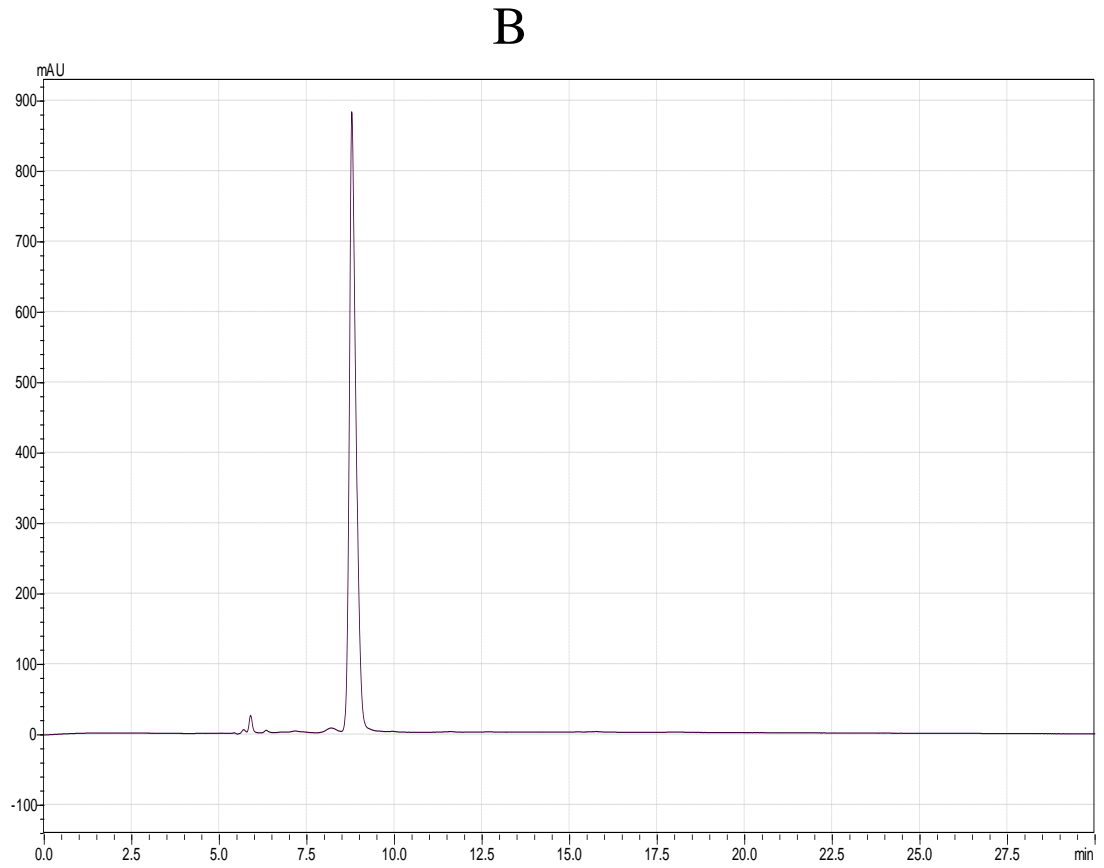
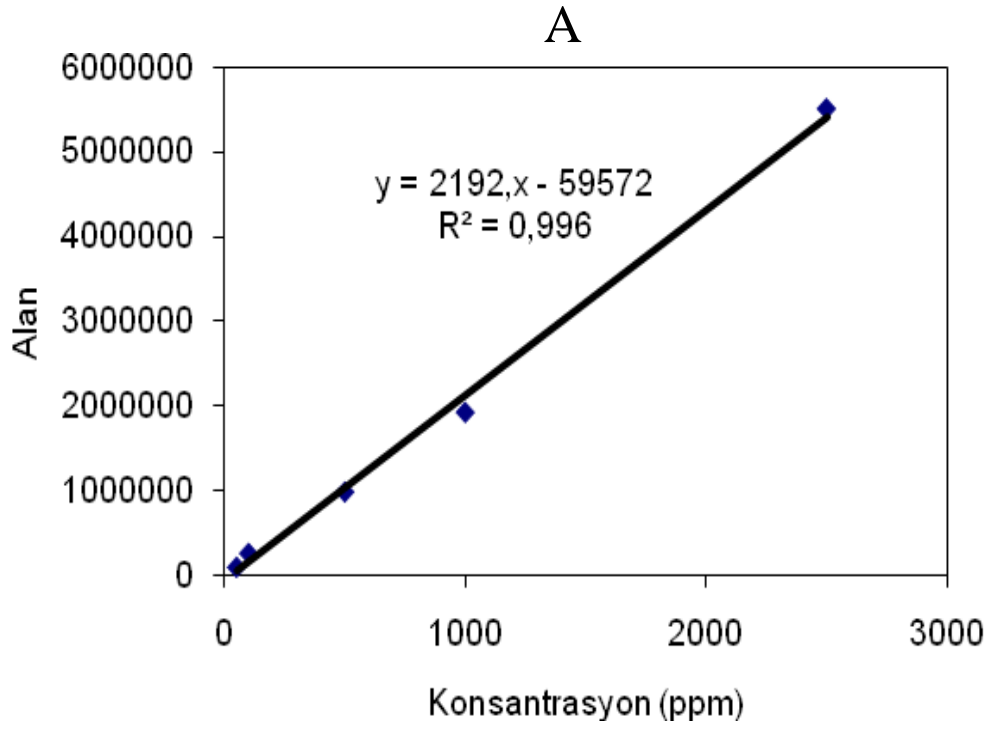
2.3 Tarhana Hamurlarında Organik Asit Analizi

Tarhana hamurlarının organik asit içeriği Kezer (2013) tarafından önerilen yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Buna göre tarhana hamurundan organik asitlerin ekstraksiyonu için 10 g örnek 90 mL destile su ile stomacher kullanılarak 180 saniye boyunca homojenize edilmiştir. Homojenizattan 10 mL alınarak üzerine 5 mL 0.1 mmol/L HClO₄ çözeltisinden ilave edilerek karıştırılmıştır. Karışım 4000 g'de 15°C'de 15 dk süreyle santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant 1 mmol/L HClO₄ ile pH'sı 3.0 olacak şekilde ayarlanmış ve ardından 25 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır. Takiben 5 mL örnek katı faz ekstraksiyon kolonundan (GracePure™ SPE Cation-X, Maryland, ABD) geçirilmiştir. Kolon 5 mL metanol (Sigma, ABD) ile şartlandırılmış ve ardından örnekler yüklenerek kolondan geçirilmiştir. Son aşamada kolondan geçen elüat 0.45 µm selüloz filtreden geçirilerek yüksek basınçlı sıvı kromatografisine (HPLC) yüklenmiştir.

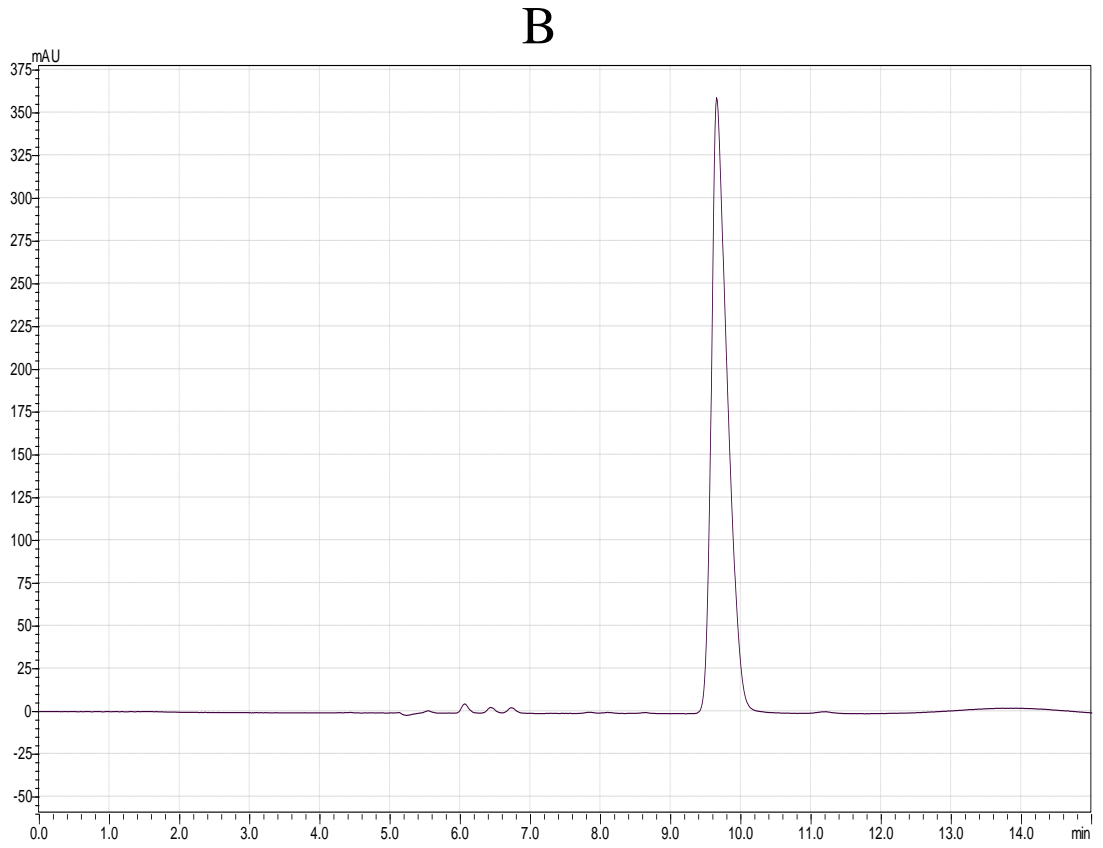
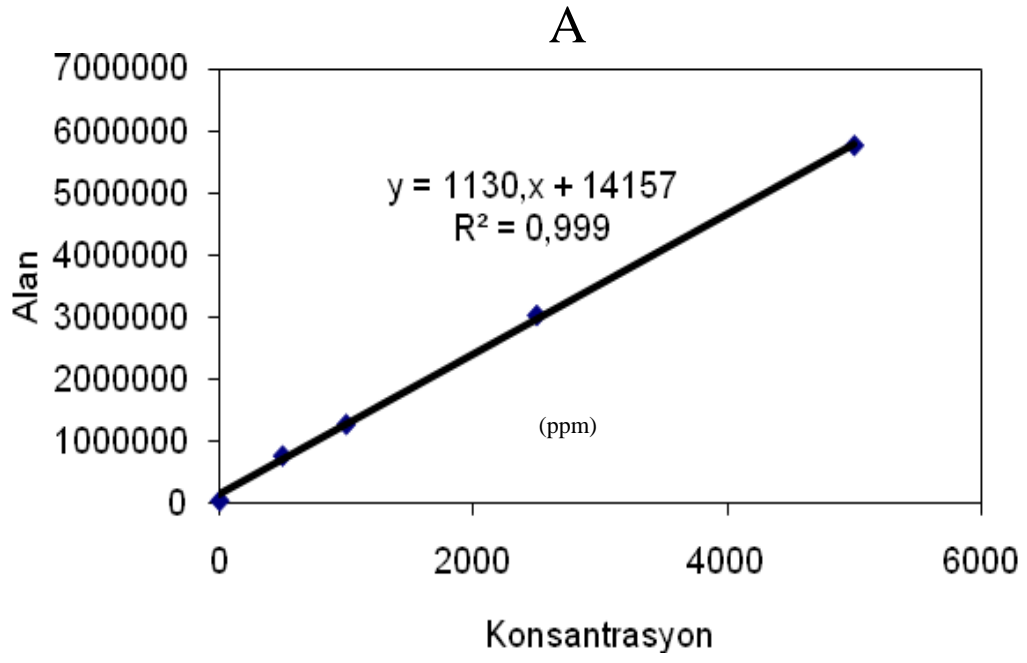
Hamur örneklerinin organik asit analizi Shimadzu (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) marka, SPD-M 20A PDA dedektörüne sahip HPLC sisteminde ve Shim-pack 150 mm, 4.6 mm iç çaplı ODS-3 kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cihazda çalışma koşulları olarak; izokratik akış hızı (0.7 ml/dk) 65°C fırın sıcaklığı, 210-280 nm dalga boyu ve 20 µl örnek enjeksiyon hacmi kullanılmıştır. Hareketli faz, örnek ve standart çözeltiler cihaza verilmeden önce 0.45 µm naylon disk filtreden geçirilmiştir.

Örneklerdeki organik asit miktarlarını belirlemek için laktik, asetik, süksinik, fumarik ve formik asidin 7 farklı konsantrasyonda (1, 5, 50, 100, 500, 1000, 2500, 5000 ppm) standart çözeltileri hazırlanmış ve standart eğrileri oluşturulmuştur (Şekil 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5).

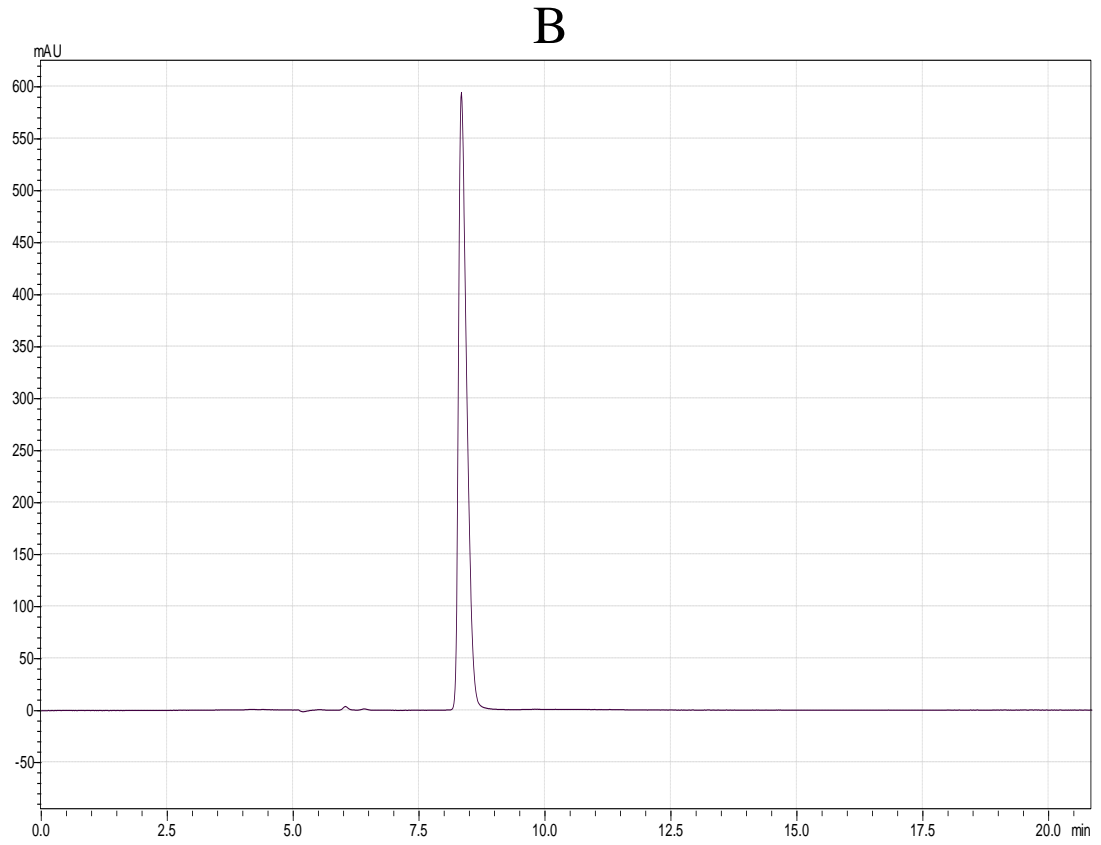
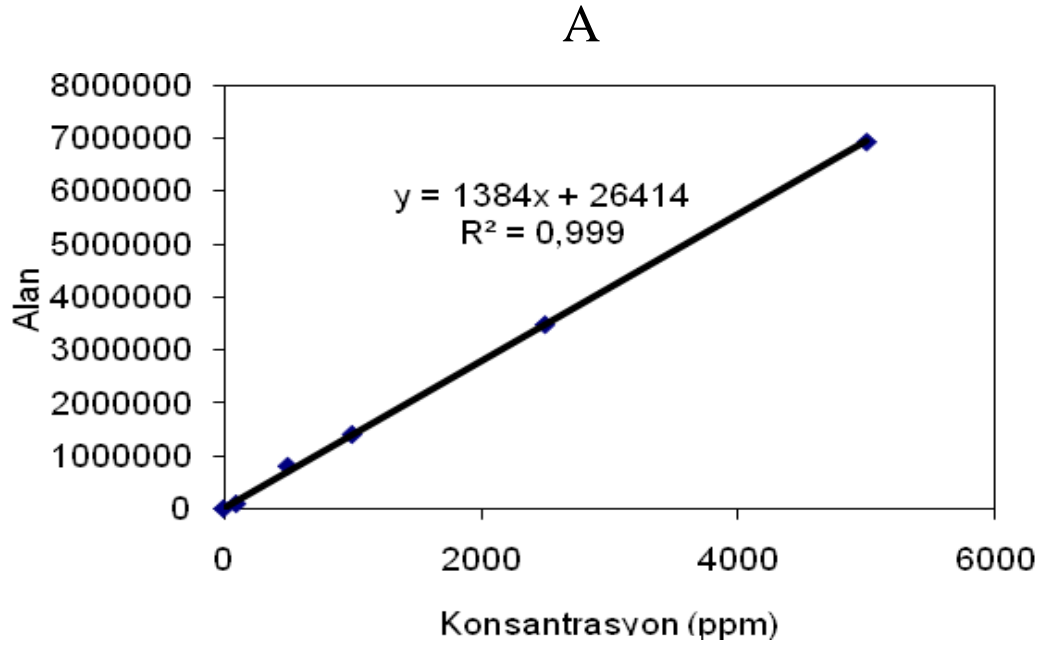
Tarhana hamurlarındaki organik asitler; standart çözeltilerden tarhana hamuruna ayrı ayrı eklenerek, örnek kromatogramlarında alıkonma süreleri ve cihazın ürettiği parmak izinden hareketle tanımlamaları yapılmıştır.



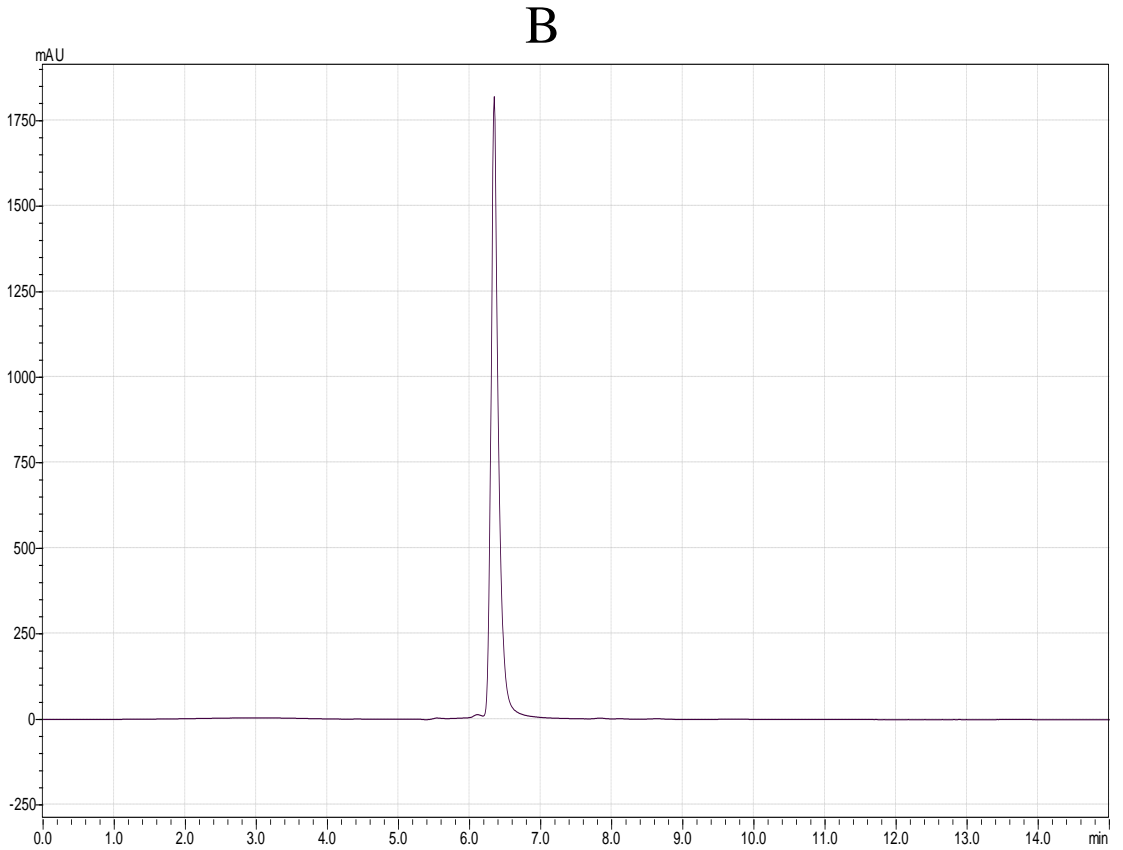
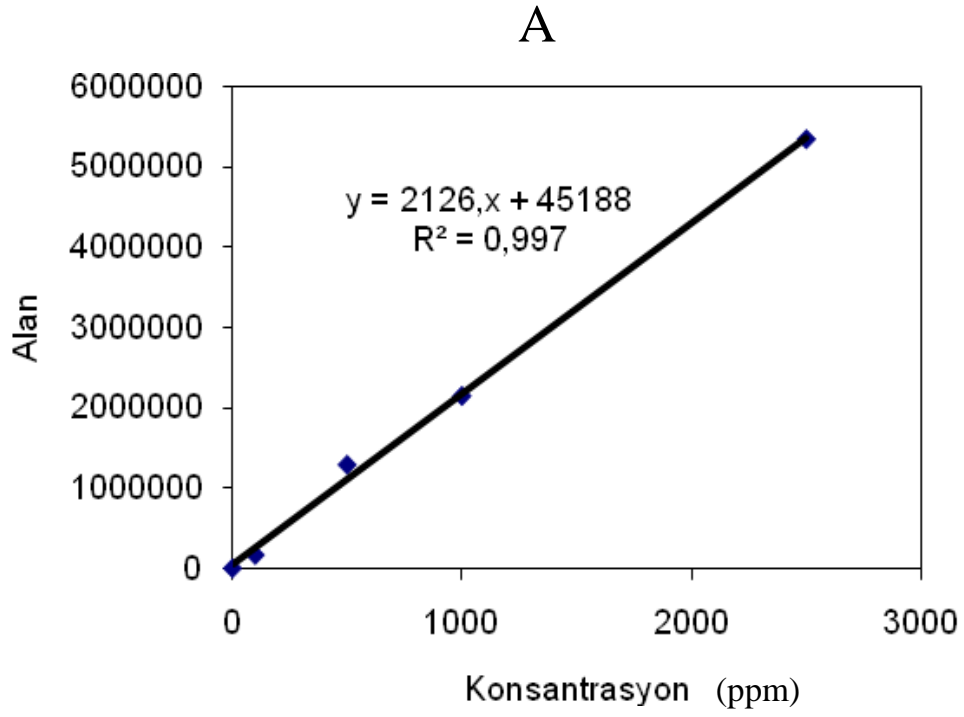
Şekil 2.10: Laktik asit standart eğrisi (A) ve 5000 ppm laktik asit kromatogramı (B)



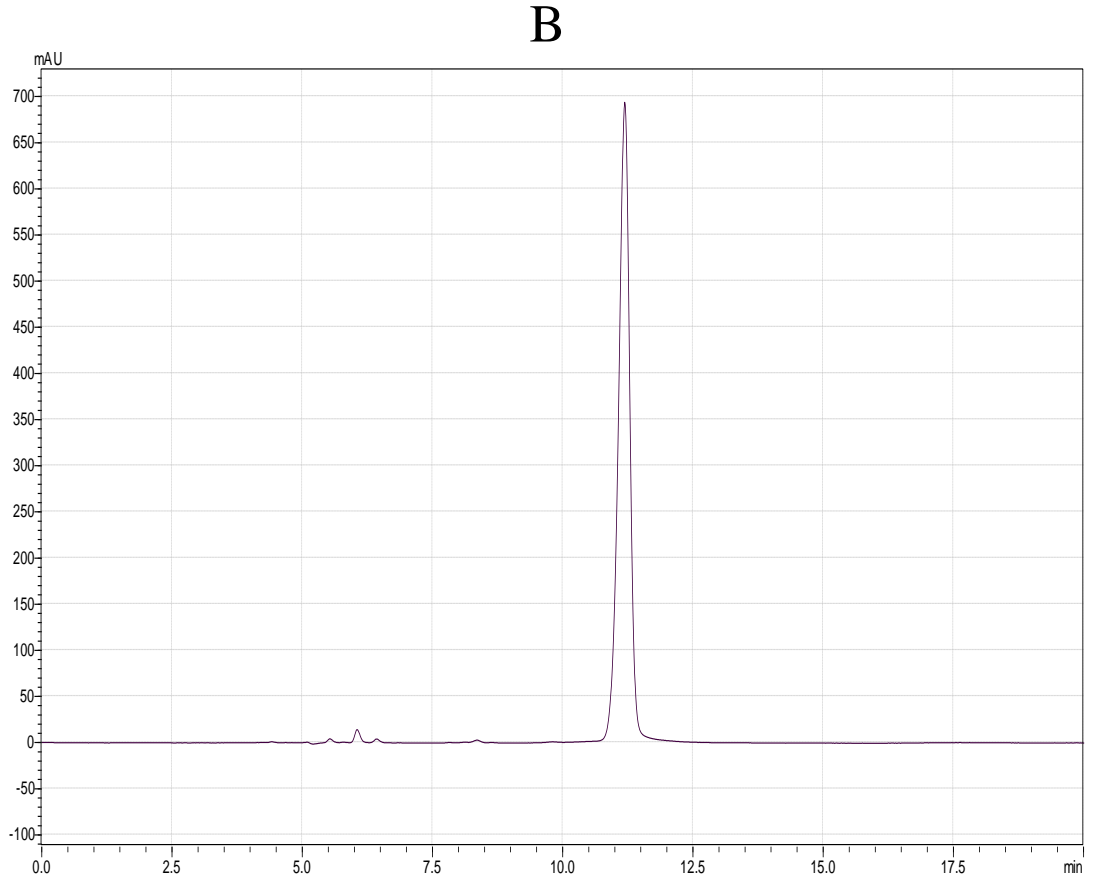
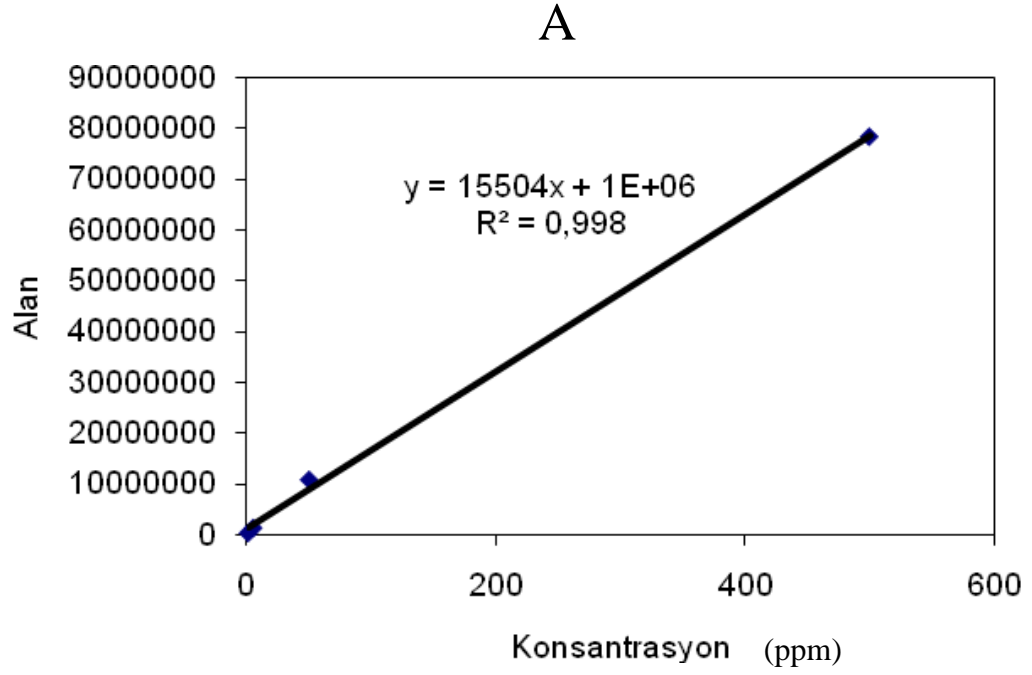
Şekil 2.11: Süksinik asit standart eğrisi(A) ve 5000 ppm süksinik asit kromatogramı(B)



Şekil 2.12: Asetik asit standart eğrisi (A) ve 5000 ppm asetik asit kromatogramı(B)



Şekil 2.4: Formik asit standart eğrisi (A) ve 5000 ppm formik asit kromatogramı(B)



Şekil 2.5: Fumarik asit standart eğrisi (A) ve 5000 ppm fumarik asit kromatogramı(B)

2.4 Starter Kültürler Kullanılarak Tarhana Üretimi

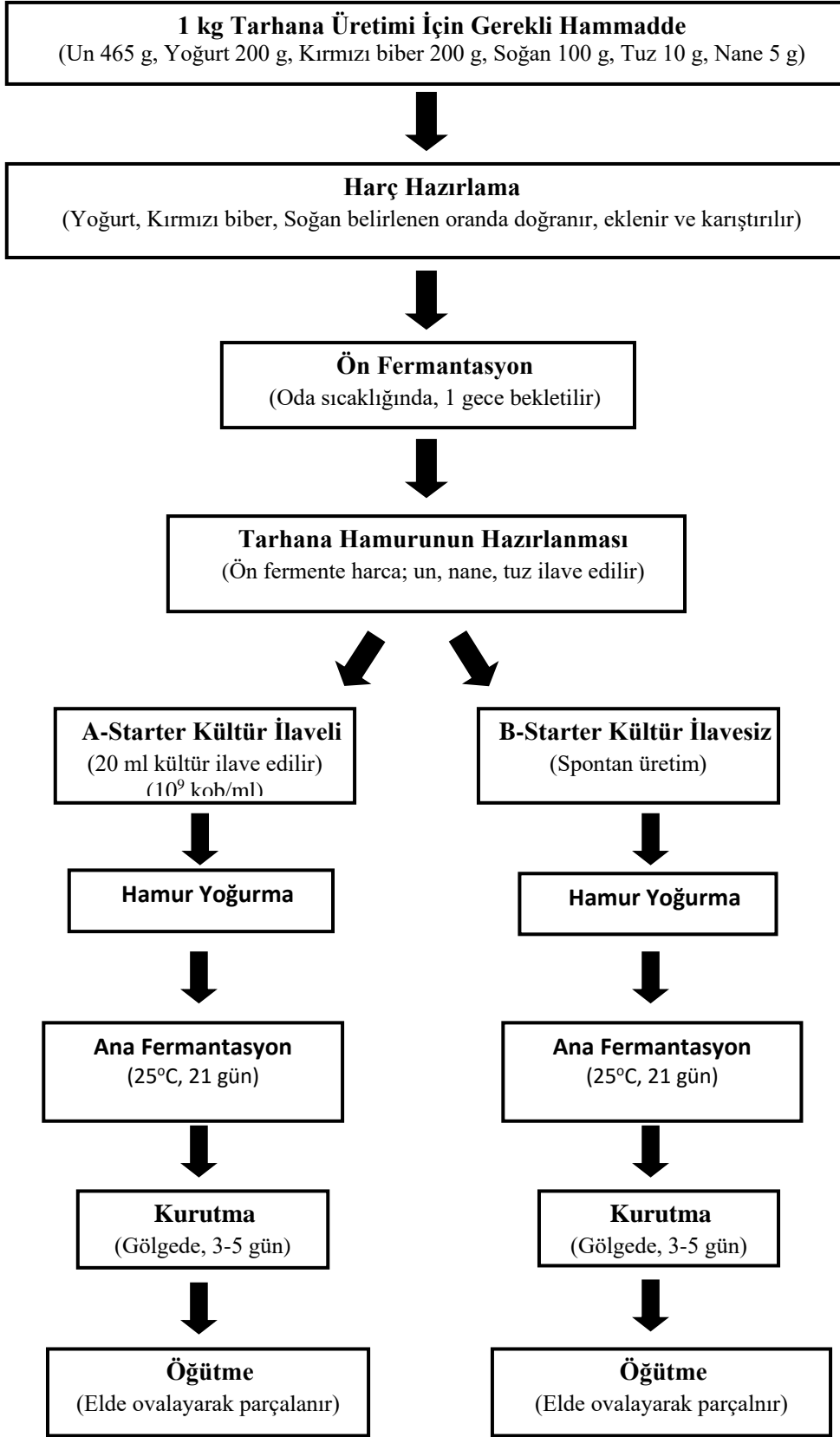
Uşak tarhanası fermantasyonun çeşitliliği ve baskın mikroflorasının belirlendiği çalışmanın (Özel 2012) ışığında, bu çalışmada Tablo 2.2’de gösterilen laktik asit bakterileri ve maya suşları tek tek ve kombinasyonlu olarak kullanılarak tarhana üretimi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.2: Çalışma kapsamında kullanılan laktik asit bakteri ile maya suşları ve kombinasyonları

ÖRNEK KODU	STARTER KÜLTÜR
1T	<i>Lactobacillus farciminis</i> PFC83
2T	<i>Lactobacillus casei</i> PFC90
3T	<i>Lactobacillus alimentarius</i> PFC91
4T	<i>Pichia kudriavzevii</i> PFC126
5T	<i>Candida humilis</i> PFC138
1K	<i>L. farciminis</i> PFC83+ <i>P. kudriavzevii</i> PFC126
2K	<i>L. farciminis</i> PFC83+ <i>C. humilis</i> PFC138
3K	<i>L. casei</i> PFC90+ <i>P. kudriavzevii</i> PFC126
4K	<i>L. casei</i> PFC90+ <i>C. humilis</i> PFC138
5K	<i>L. alimentarius</i> PFC91+ <i>P. kudriavzevii</i> PFC126
6K	<i>L. alimentarius</i> PFC91+ <i>C. humilis</i> PFC138
KONTROL	Kültür ilavesiz

Tarhana hamurunun bileşimi ve bileşenleri Tablo 2. 3’te gösterilmiştir. Tarhana hamurunun üretiminde 1 kg için: 465 g un, 200 g yoğurt, 200 g kırmızı biber, 100 g soğan, 5 g kuru nane, 10 g tuz ve 20 ml kültür kullanılmıştır. Kırmızı biber ve soğan iyice yıkanıp temizlendikten sonra küçük parçalar halinde doğranıp, yoğurt (PINAR Kurumaddesi %14) ile karıştırılıp 1 gece oda sıcaklığında bekletildikten sonra buğday unu (Söke Un), nane (Bağdat Baharat) ve tuz (Horoz Tuz) ilavesi ile orta sertlikte hamur haline getirilinceye kadar yoğrulmuştur. Hazırlanan tarhana hamuru 12 kısma ayrılmış ve bunlara 11 farklı kombinasyonda starter kültür süspansiyonu eklenmiş (1T: *L.farciminis* PFC83; 2T: *L.casei* PFC90; 3T: *L.alimentarius* PFC91; 4T: *P.kudriavzevii* PFC126; 5T: *C.humilis* PFC138; 1K: *L.farciminis* PFC83 + *P.kudriavzevii* PFC126; 2K: *L.farciminis* PFC83 + *C.humilis*

PFC138; 3K: *L.casei* PFC90 + *P.kudriavzevii* PFC126; 4K: *L.casei* PFC90 + *C.humilis* PFC138; 5K: *L.alimentarius* PFC91 + *P.kudriavzevii* PFC126; 6K: *L.alimentarius* PFC91 + *C.humilis* PFC138) ve yoğrularak homojen şekilde karışması sağlanmıştır. Bir hamura ise starter kültür ilavesi yapılmamış kontrol hamuru olarak kullanılmıştır. Elde edilen tarhana hamurları 25°C sıcaklıkta 21 gün fermantasyona bırakılmıştır. Tarhana üretimi Şekil 2.6'da şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.6: Uşak tarhana hamurlarının starter kültür ilaveli (A) ve starter kültür ilavesiz (B) üretimlerin akım şeması

Tablo 2.3: Tarhana hamuru bileşimi (%) ve bileşenlerin özellikleri

HAMMADDE	%	HAMMADDE ÖZELLİKLERİ
Un	46,5	Tip 550, Ticari Buğday Unu, Söke Un, Aydın, Türkiye
Yoğurt	20	Kuru madde oranı %13, Tam yağlı, Pınar Yoğurt, İzmir, Türkiye
Kırmızı biber	20	Mevsim sebzesidir ve semt pazarından temin edilmiştir
Soğan	10	Mevsim sebzesidir ve semt pazarından temin edilmiştir
Kuru nane	0,5	Bağdat Baharat , Ankara, Türkiye
Tuz	1	Horoz Tuz, Denizli, Türkiye
Kültür	2	Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu (PUFECC)

2.5 Starter Kültürler ile Hazırlanan Tarhana Hamurlarının Fermantasyonunda Mikroflora Analizi

Tarhana hamuru fermantasyonunda starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri ve mayaların izlenmesi Polimeraz Zincir Reaksiyonu, Denatüre Gradyent Jel Elektrofrezisi (PZR-DGGE) analizi ile gerçekleştirilmiştir. PZR-DGGE analizinde, starter kültürlerin ayırımı için %30-60 üre-formamid içeren gradyent poliakrilamid jel kullanılmıştır. Bu oranlardaki poliakrilamid jellerin hazırlanmasında kullanılan temel bileşenlerin 100 ml'si için kullanılan miktarlar Tablo 2. 4'te verilmiştir.

Tablo 2.4: PZR-DGGE analizinde denatüre çözeltinin hazırlanmasında kullanılan temel bileşenler ve oranları

BİLEŞENLER	DENATÜRE ÇÖZELTİNİN ORANLARI	
	%30	%60
%40 Akrlamid (ml)	20	20
50*TAE Tampon(ml)	2	2
Formadid (ml)	12	24
Üre (g)	12,6	25,2
Steril Saf Su (ml)	53,4	28,8
Toplam Hacim(ml)	100	100

Tablo 2. 4'te belirtilen bileşenler kullanılarak 100 ml olarak hazırlanan çözeltinin jelleşmesi için çözeltiliye 0,1g/ml'lik Amonyum Persülfat'dan (APS) 815 µl ve diğer jelleşme ajanı olan TEMED'den de 63 µl ilave edilmiş ve hızla karışım gradiyent poliakrilamid jel hazırlama sisteminin (Gradient Former Bio Rad) haznesine yüklenmiştir. Polimerleşen jeller +4°C'de bir gece bekletildikten sonra sıcaklık kontrollü dikey elektroforez (Thermo) sisteminde kullanılmıştır.

Hamurdan bakteriyel DNA'nın izolasyonu Pitcher ve diğ. (1989) tarafından yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Kısaca 10 g tarhana örneği 90 ml peptonlu fizyolojik suda iyice homojenize edilmiş, takiben bu homojenizattan 50 ml alınarak 1000 g'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatant başka bir tüpe alınmış ve 5000 g'de 15 dk santrifüj işlemi uygulanarak üst faz uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan hücre pelletleri yıkanarak ileri çalışmalar için -20°C'de muhafaza edilmiştir. DNA ekstraksiyonunda hücrelerin duvar yapıları 7,5 mg lizozim ve 1500 U mutalisin ile parçalanmıştır.

PZR-DGGE analizinde bakterilerin ribozomunun V3 bölgesi çoğlatılmış ve nükleotit farklılıkları jelde incelenmiştir. Bu amaçla bakteri hücrelerin ribozomal bölgesine homolog olan F338 ön primeri (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 3' terminal ucuna GC DNA kıskacı (5'-CGCCCGCCGCGCGGGCGGGGCGGGGG CACGGGGG-3') takılarak ve 518R geri yöndeki primer (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') ile birlikte kullanılmıştır (Van der Meulen ve diğ. 2007; Tu ve diğ. 2010).

PZR karışımının hazırlanmasında master mix'den (5*FIREPol^R Master Mix/SOLIS Bio Dyne) 8 µl, primerlerden 1 µl, DNA'dan 2 µl kullanılmış toplam hacim 40 µl olacak şekilde steril ultra su ile tamamlanmıştır. Bakteriler için uygulanan PZR programında; 95 °C 5 dk ön denatürasyon, 30 çevrim 95 °C 30 sn, 55 °C 45 sn, 72 °C 1 dk ve son olarak 72 °C 10 dk program uygulanmıştır. 16S rDNA PZR ürünleri sırasıyla %25-50 denatürant (7M üre ve %40 formadit) içeren % 8'lik poliakrilamid jel de 15 dk 50 V ve 4 saat 150 V akımda 60°C sıcaklıkta yürütülmüştür. Jeller son aşamada ethidium bromür solüsyonu (0,5 µg/ml) içinde tutularak UV altında görüntülenmiştir. Jel üzerindeki bantların değerlendirilmesi aynı jel üzerindeki referans suşların bantları ile kıyaslanmıştır (Miambi ve diğ. 2003; Van der Meulen ve diğ. 2007; Lacumin ve diğ. 2009; Oguntoyinbo ve Dodd 2010; Tu ve diğ. 2010).

2.6 İstatistiksel Analiz

Çalışmada tarhana hamurlarının organik asit analiz sonuçlarının, her bir fermantasyon gününde ki hamurlar arasında ve her bir hamurun fermantasyon günleri arasında meydana gelen değişimler SPSS 16.0 istatistik programı kullanılarak tek yönlü ANOVA varyans analizi yapılarak belirlenmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1 Ev ve İşletme Tipi Tarhana Hamurlarının Organik Asit İçeriği

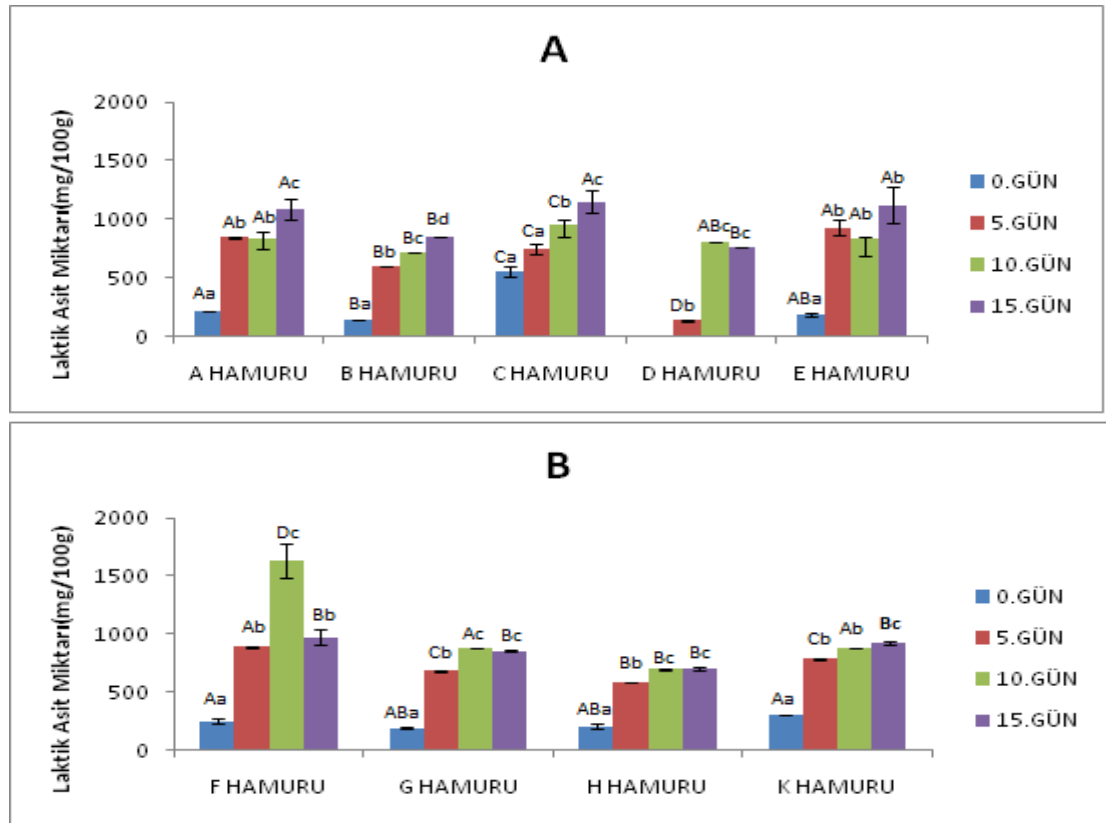
Uşak bölgesinden toplanan 9 farklı tarhana numunesinin 5 tanesi (A, B, C, D ve E) evlerden; 4 tanesi de (F, G, H ve K) Uşak yöresinde ticari ölçekte üretim yapan işletmelerden temin edilmiştir. Bu örneklerin laktik, asetik, süksinik, formik ve fumarik asit içeriği ve söz konusu bu asitlerin fermantasyon günlerindeki değişimi sırasıyla Şekil 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 ve 3.5'te verilmiştir.

Uşak tarhanası hamurlarında laktik asit konsantrasyonu fermantasyonla birlikte artmıştır ($P<0,05$). Fermantasyon sürecinde laktik asit konsantrasyonundaki en yüksek artış 5. günde olmuştur. F örneğinde 15. günde laktik asit miktarında önemli düşüş saptanmıştır. Bunun dışında işletme tipi tarhana hamurlarında 10. ve 15. günde laktik asit miktarı hemen hemen aynı oranda kalırken, ev tipi tarhana hamurlarında (D örneği hariç) 15. günde laktik asit miktarında artış devam etmiştir (Şekil 3.1).

Uşak tarhanası hamurların fermantasyonu ile biriken laktik asit miktarı en yüksek 1151 mg/100 g ile C örneğinde, en düşük ise 703 mg/100g ile H örneğinde tespit edilmiştir. Tarhana hamurlarının başlangıç laktik asit miktarları ise 0-559 mg/100g olarak belirlenmiştir. Fermantasyonun son günü dışındaki diğer günlerde hamurların laktik asit içeriği bakımından birbirinden farklı oldukları gözlenmiştir ($P<0,05$). Ayrıca ev tipi hamurların işletme tipi hamurlara kıyasla fermantasyon günlerindeki laktik asit miktarlarının daha farklı olduğu bulunmuştur ($P<0,05$). 15 günlük fermantasyon ile tarhana hamurlarında laktik asit konsantrasyonu yaklaşık 2 kat artmıştır (Şekil 3.1). Ev tipi tarhana hamurlarının fermantasyon sonundaki laktik asit içeriği işletme tipi tarhana hamurlarınkine göre daha yüksek bulunmuştur.

Toplanan hamurlar laktik asit içeriği bakımından değerlendirildiğinde, ev tipi hamurların ortalama 994 mg/100 g, işletme tipi hamurların ise ortalama 856 mg/100 g laktik asit içerdiği tespit edilmiştir. Bu farklılık işletme tipi tarhana hamurlarında sürekli üretime bağlı olarak yerleşik kültürün oluşmasından, ev tipi hamurlarda ise fermantasyonda yabancı laktik asit bakterilerinin varlığından kaynaklanmış olabilir.

Ancak birçok fermente gıdalarda tespit edilen laktik asit içeriği ile tarhana hamurlarınıninki benzerdir. Tarhana ile ilişkili yapılan üç farklı çalışmaya göre, bu bulgular Magala ve diğ. (2013) ve Gül (2013) ile uyumlu iken, Erbaş ve diğ. (2006)'ya göre (2026 mg/100 g) düşüktür. Diğer taraftan Uşak tarhanası hamurların son fermantasyonundaki laktik asit içeriği ekşi hamurlar ile oldukça benzer özelliktedir (De Vuyst ve diğ. 2002; Vernocchi ve diğ. 2004; Paramithiotis ve diğ. 2005; Scheirlinck ve diğ. 2008; Banu ve diğ. 2011; Ventimiglia ve diğ. 2015).

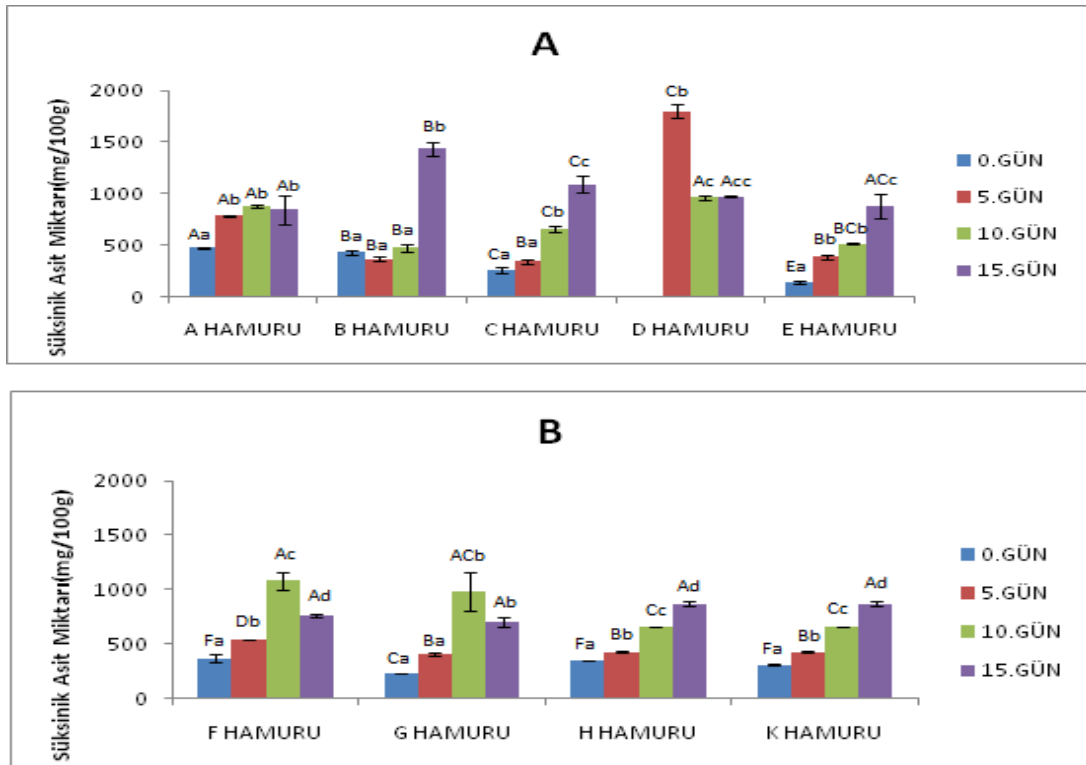


Şekil 3.13: Geleneksel üretim yapan evlerden (A) ve ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerden (B) temin edilen tarhana hamurlarının fermantasyonundaki laktik asit içeriklerinin değişimi (Büyük harfler her bir fermantasyon gününde hamurlar arasında, küçük harfler ise her bir hamurun fermantasyon günleri arasındaki $P < 0,05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir).

Uşak tarhanası hamurlarında süksinik asit konsantrasyonu fermantasyon günleri ile birlikte artmıştır (Şekil 3.2). Özellikle işletme tipi hamurlarda bu artış daha fazla dikkat çekmektedir. Nitekim 10. günde F ve G hamurlarında 2 kat diğer taraftan H ve K hamurlarında ise 1,5 kat süksinik asit artışı meydana gelmiştir. Ev tipi hamurlardan sadece C ve E örneğinde benzer düzenli artış tespit edilmiştir.

Uşak tarhanası hamurlarında fermantasyon sonunda süksinik asit miktarı en yüksek 1434 mg/100 g olarak B örneğinde, en düşük ise 702 mg/100 g olarak G örneğinde ölçülmüştür. Fermantasyon başında tarhana hamurlarının süksinik asit konsantrasyonu 0 ila 473 mg/100g aralığında bulunmuştur. Buna göre fermantasyonla birlikte tarhana hamurundaki süksinik asit miktarı yaklaşık 2,3 kat artmıştır ($P<0,05$) (Şekil 3.2).

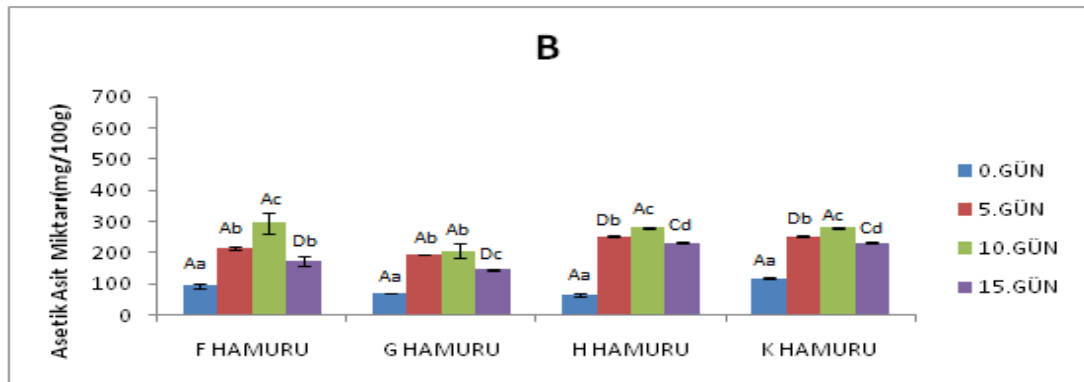
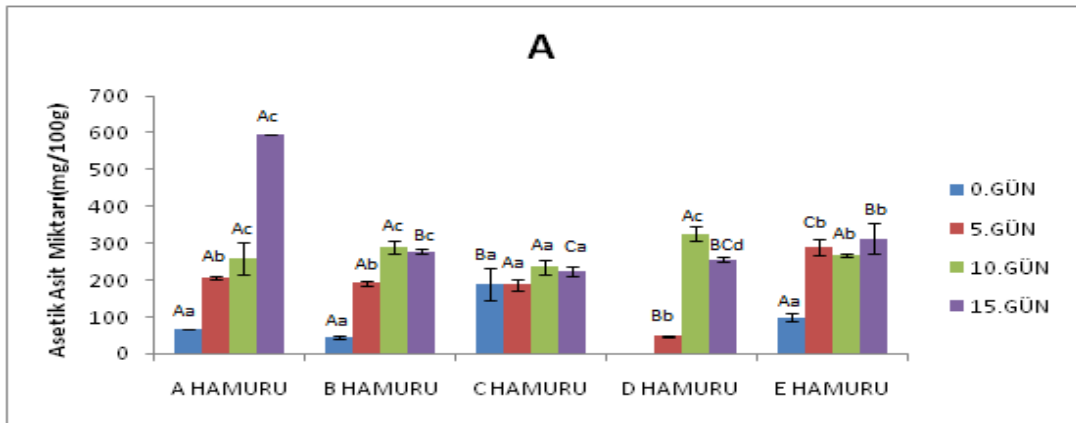
Fermantasyon sonunda hamurların ortalama süksinik asit içeriği ev tipi hamurlarda 1035 mg/100 g, işletme tipi hamurlarda ise 795 mg/100 g olarak hesaplanmıştır. Ev tipi hamurların süksinik asit içeriğinin yüksek çıkmasının mikroflora ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Çünkü işletme tipi hamurlarda sürekli üretimle birlikte stabil bir floranın oluşması söz konusudur. Yapılan literatür taramalarında süksinik asit içeriği sadece tarhana ve zeytinde tespit edilmiştir. Uşak tarhanası hamurlarındaki süksinik asit miktarı Gül (2013)'e göre oldukça yüksek, Arslan ve Özcan (2011) ile Nergiz ve Günç Ergönül (2009)'a göre ise (2580 mg/100 g ve 1650 mg/100 g) oldukça düşük olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.2: Geleneksel üretim yapan evlerden (A) ve ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerden (B) temin edilen tarhana hamurlarının fermantasyonundaki süksinik asit içeriğinin değişimi (mg/100 g) (Büyük harfler her bir fermantasyon gününde hamurlar arasında, küçük harfler ise her bir hamurun fermantasyon günleri arasındaki $P<0,05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir).

Uşak tarhanası hamurlarında asetik asit miktarı, laktik ve süksinik asit miktarlarına kıyasla düşük bulunmuştur. Fermantasyon sonunda en yüksek asetik asit miktarı 595 mg/100 g olarak A örneğinde, en düşük ise 144 mg/100 g G örneğinde bulunmuştur (Şekil 3.3). Diğer yandan ev tipi tarhana hamurlarının fermantasyon sonunda asetik asit konsantrasyonu işletme tipi hamurlardan daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

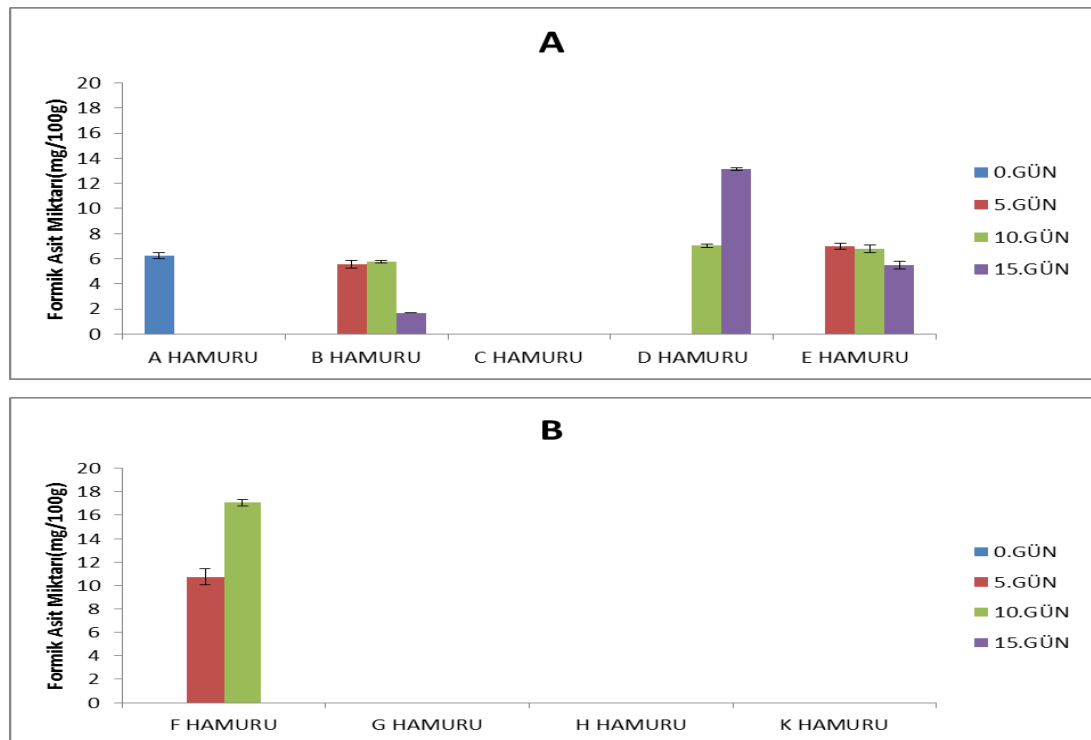
Tarhana hamurlarındaki asetik asit miktarının büyük bir kısmı 5. günde üretilmiştir. Nitekim bu günden sonra hamurlar asetik asit içeriği bakımından farklı bulunmamıştır ($P>0,05$). Buna göre ev tipi hamurlarda asetik asit konsantrasyonu 5. günde ortalama 3,4 kat artarken, işletme tipi hamurlarda aynı artış 2,7 kat olarak hesaplanmıştır. Ancak ev tipi olan C ve D hamurlarında söz konusu artış belirtilen büyüklükte olmamıştır. Diğer taraftan, 15. günde asetik asit miktarı işletme tipi hamurların tümünde, ev tipi olan B, C, D hamurlarında azalmıştır. Sadece A ve E hamur örneklerinde söz konusu günde artış olmuştur.



Şekil 3.3: Geleneksel üretim yapan evlerden (A) ve ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerden (B) temin edilen tarhana hamurlarının fermantasyonundaki asetik asit içeriğinin değişimi (mg/100g) (Büyük harfler her bir fermantasyon gününde hamurlar arasında, küçük harfler ise her bir hamurun fermantasyon günleri arasındaki $P<0,05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir).

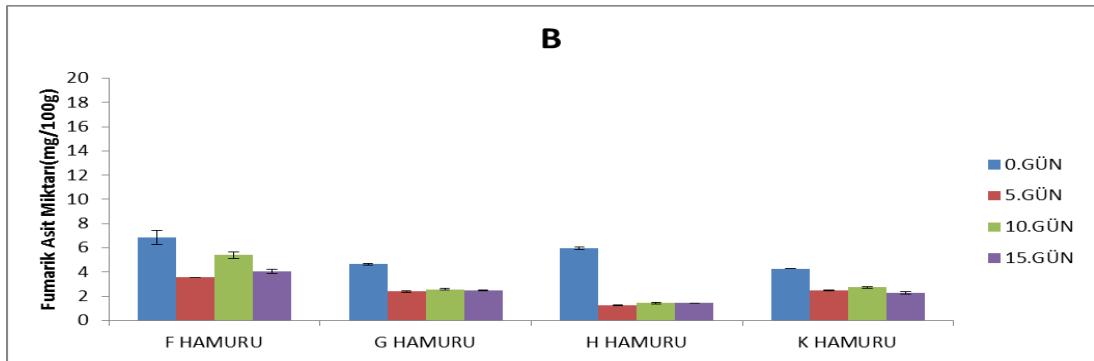
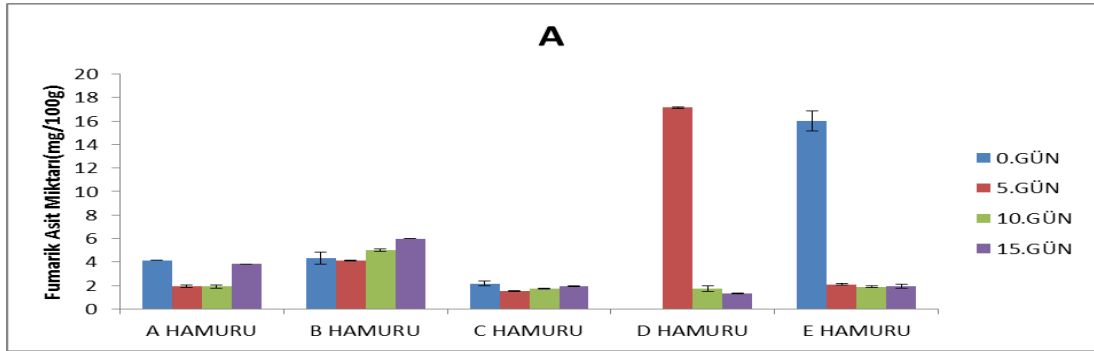
Tarhana hamurlarının son fermantasyon gününde asetik asit miktarları ev tipi tarhana hamurlarında ortalama 333 mg/100 g, işletme tipi hamurlarda ise 195 mg/100 g olarak belirlenmiştir. Bu sonuç tarhana hamurlarının laktik ve süksinik asit içeriği ile paraleldir. Asetik asit fermente gıdalarda araştırılan ikinci önemli organik asittir. Yapılan literatür araştırmalarına göre Uşak tarhanasında bulunan asetik asit miktarı ekşi hamurda bulunan oranlarla oldukça benzerdir (De Vuyst ve diğ. 2002; Vernocchi ve diğ. 2004; Scheirlinek ve diğ. 2008). Bunun dışında tarhana ile ilişkili olarak Uşak tarhanasının ortalama asetik asit miktarı Gül (2013) ile benzerlik gösterirken (411 mg/ 100 g), Erbaş ve diğ. (2006) tarafından belirtilen değerin ise (778 mg/100 g) oldukça altındadır.

Tarhana hamurlarının farklı fermantasyon günlerindeki formik asit miktarları arasında farklılık bulunmaktadır. Ev tipi hamurlardan C’de, işletme tipi hamurlardan ise G, H ve K’da formik asit tespit edilememiştir. Diğer hamurların farklı fermantasyon günlerinde düşük oranlarda formik asit varlığı belirlenmiştir (Şekil 3.4). Düzensiz artış ve azalışlar formik asit üretiminin tarhana fermantasyonu ile ilişkisinin bulunmadığına işaret etmiştir.



Şekil 3.4: Geleneksel üretim yapan evlerden (A) ve ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerden (B) temin edilen tarhana hamurlarının fermantasyonundaki formik asit içeriğinin değişimi (mg/100g) (Büyük harfler her bir fermantasyon gününde hamurlar arasında, küçük harfler ise her bir hamurun fermantasyon günleri arasındaki $P < 0,05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir).

Tarhana hamurlarının fermantasyon günlerine bağlı olarak fumarik asit içeriğinde anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir. Fermantasyon günlerinde hamurların içerdiği fumarik asit benzer oranlarda tespit edilmiştir. Ancak toplanan tarhana hamurları arasında fermantasyon sonunda en yüksek fumarik asit B hamurunda ölçülmüştür. Bunun dışında işletme tipi hamurların (F, G, H ve K) fumarik asit içeriği fermantasyonla kısmen azalmıştır. Fermantasyon sonunda ev tipi tarhana hamurlarında fumarik asit miktarı ortalama 2,99 mg/100 g, işletme tipi tarhana hamurlarında ise ortalama 2,56 mg/100 g olarak belirlenmiştir (Şekil 3.5). Bu sonuç ev ve işletme tipi tarhana hamurlarının benzer oranda fumarik asit içerdiğini göstermiştir. Fermente gıdaların fumarik asit içeriği daha önce araştırılmadığından söz konusu bulgular karşılaştırılamamıştır.



Şekil 3.5: Geleneksel üretim yapan evlerden (A) ve ticari ölçekte üretim yapan farklı işletmelerden (B) temin edilen tarhana hamurlarının fermantasyonundaki fumarik asit içeriğinin değişimi (mg/100g) (Büyük harfler her bir fermantasyon gününde hamurlar arasında, küçük harfler ise her bir hamurun fermantasyon günleri arasındaki $P < 0,05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir).

Genel bir değerlendirme yapıldığında Uşak tarhanasında en yüksek bulunan organik asit laktik ve süksinik asit olurken, bunları sırasıyla asetik ve fumarik asit takip etmiştir. Organik asit olarak en yüksek oranda; ev tipi tarhanalarda süksinik asit, işletme tipi tarhanalarda ise laktik asit tespit edilmiştir. Ancak hem ev hem de işletme tipi hamurların laktik ve süksinik asit içerikleri birbirlerine oldukça yakın bulunmuştur.

3.2 Kültür Kullanılarak Hazırlanan Tarhana Hamurlarının Fermantasyonundaki Laktik Mikroflora

Çalışmada tarhana hamurlarının 0, 5, 10, 15 ve 21. fermantasyon günlerinde; inoküle edilen laktik asit bakterisi suşlarının ve ayrıca laktik mikroflora değişimi Denatüre Gradyent Jel Elektrofrezisi (DGGE) ile izlenmiştir. Belirtilen fermantasyon günlerinde alınan hamur örneklerinden bakteri genomik DNA'ları izole edilmiş ve 16S rDNA V3 bölgesi çoğaltılarak, %25-50 aralığında denatürant içeren %8'lik poliakrilamid jelde yürütülerek görüntülenmiştir. Laktik asit bakterilerinin tanımlaması için daha önce Özel (2012) tarafından Uşak tarhanaları için hazırlanan markerlar eşzamanlı olarak denatüre gradiyent jel üzerinde yürütülmüştür. Markerlar göç uzaklıklarına göre çakışmayacak şekilde gruplandırılmış ve 3 farklı karışımda hazırlanmıştır.

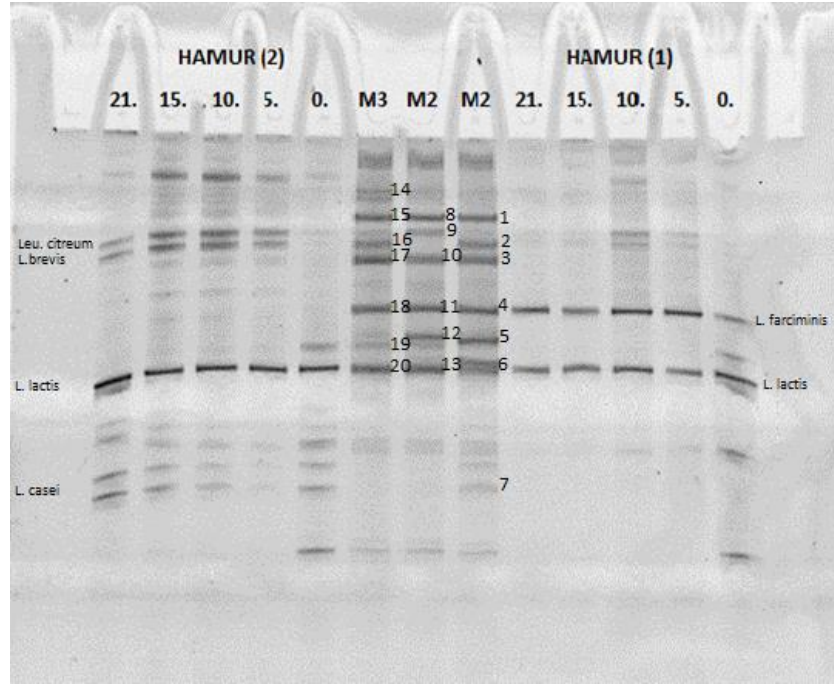
Marker1 (M1): 1. *Lactobacillus plantarum*, 2. *Leuconostoc mesenteriodes*, 3. *Lactobacillus brevis*, 4. *Lactobacillus farciminis*, 5. *Pediococcus acidilactici*, 6. *Lactobacillus namurensis*, 7. *Lactobacillus casei*

Marker2 (M2): 8. *Lactobacillus plantarum*, 9. *Leuconostoc citreum*, 10. *Lactobacillus alimentarius*, 11. *Lactobacillus farciminis*, 12. *Lactobacillus mindensis*, 13. *Lactococcus lactis*

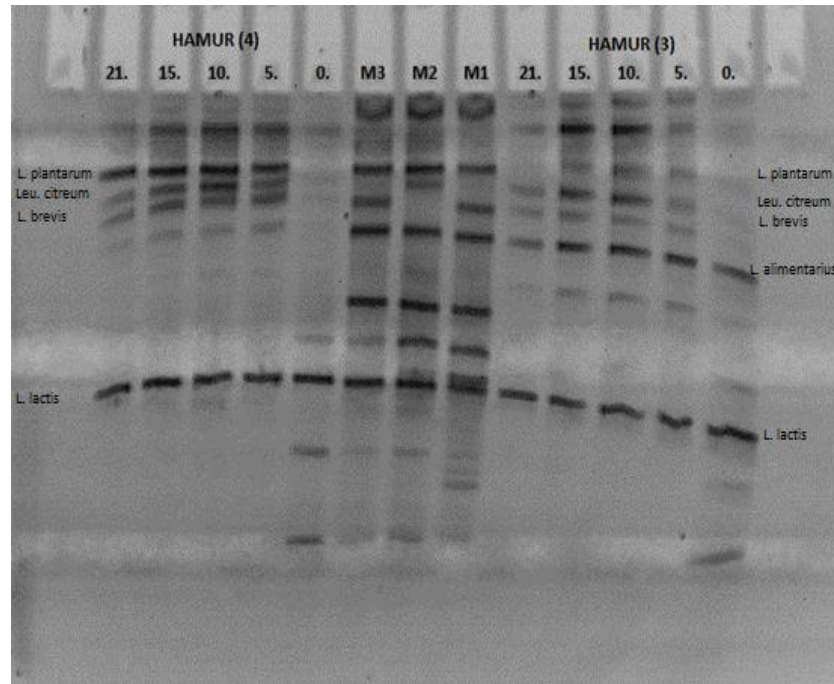
Marker3 (M3): 14. *Lactobacillus fabifermentas*, 15. *Lactobacillus plantarum*, 16. *Leuconostoc mesenteriodes*, 17. *Lactobacillus brevis*, 18. *Lactobacillus paralimentarius*, 19. *Leuconostoc pseudomesenteriodes*, 20. *Lactococcus lactis*

Tek kültür kullanılmış tarhana hamurlarından farklı fermantasyon günlerinde (0, 5, 10, 15 ve 21. gün) alınan örneklerden izole edilen bakteri genomik DNA'larının ve

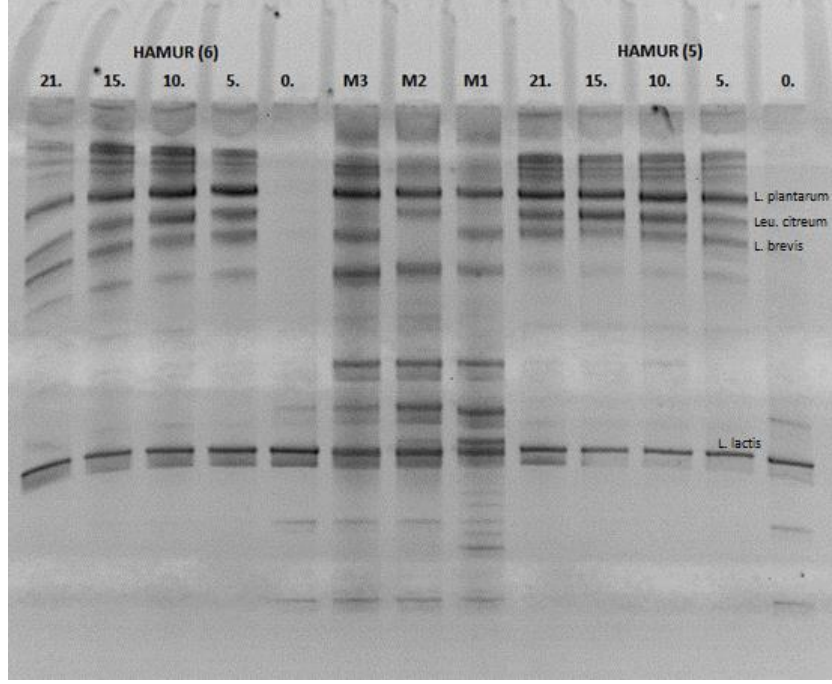
marker olarak kullanılan laktik asit bakterisi suşlarının 16S rDNA V3 bölgesi PZR ürünlerinin gradient jel üzerindeki göç yerleri Şekil 3.6, 3.7 ve 3.8’de verilmiştir.



Şekil 3.6: *L. farciminis* PFC83 ve *L. casei* PFC90 ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası



Şekil 3.7: *L. alimentarius* PFC91 ve *P. kudriavzevii* PFC126 ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası



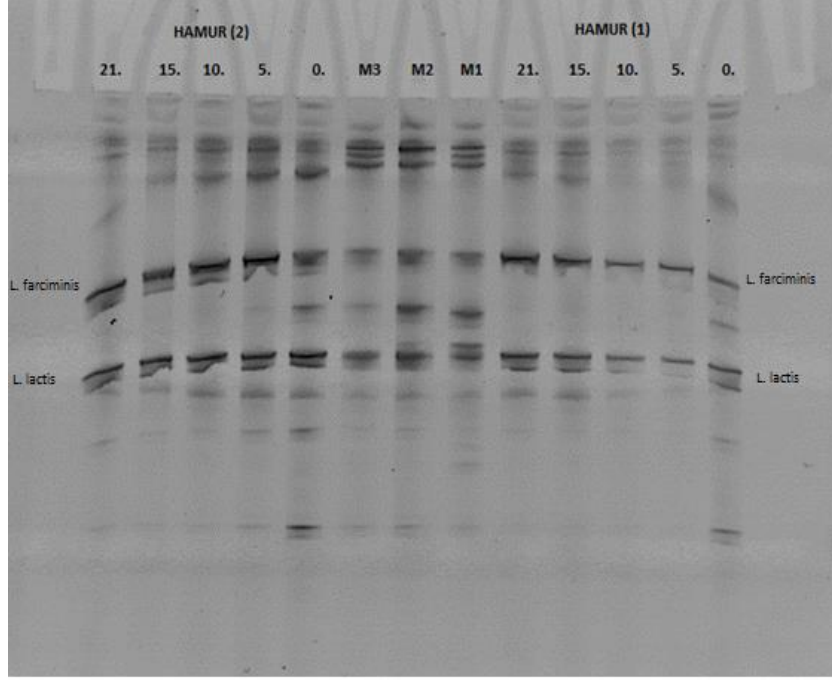
Şekil 3.8: *C. humilis* PFC13 ve kontrol ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyel florası

L. farciminis PFC83 suşunun inoküle edildiği Hamur 1 örneğinin tüm fermantasyon günlerinde bu suşa ait DNA bandı gözlenmiştir. Çalışmada üretilen tüm tarhana hamurlarında olduğu gibi bu örnekte de ayrıca *L. lactis* tüm fermantasyon günlerinde bulunmuştur (Şekil 3.6). *L. casei* PFC90 suşu aşılı olarak üretilen 2. Hamur örneğinde ise benzer şekilde fermantasyon boyunca starter suş hamur ortamında yer almıştır. Ancak bu suşun yanında fermantasyonun 5. gününden itibaren fermantasyon sonuna kadar *Leu. citreum* ve *L. brevis*'i içeren refakatçi flora da gelişmiştir (Şekil 3.6). *L. alimentarius* PFC91 suşu ile hazırlanan 3. Hamur örneğinde de diğer laktik suşlarda olduğu gibi fermantasyon boyunca starter suş varlığı tespit edilmiştir. Bunun dışında 2. Hamur örneğinde *L. plantarum*, *Leu. citreum* ve *L. brevis* suşlarını içeren refakatçi floranın da zayıf da olsa geliştiği belirlenmiştir (Şekil 3.7). *P. kudriavzevii* PFC126 ve *C. humilis* PFC138 mayalarının ayrı ayrı aşılması ile hazırlanan 4. ve 5. Hamur örnekleri ile hiçbir mikroorganizmanın aşılmadığı kontrol hamurunda (Hamur 6) *L. plantarum*, *L. brevis* ve *Leu. citreum* suşlarının 5. günden itibaren fermantasyonda baskın florayı oluşturdukları izlenmiştir (Şekil 3.7 ve Şekil 3.8). Bu sonuçlar tek kültür olarak ilave

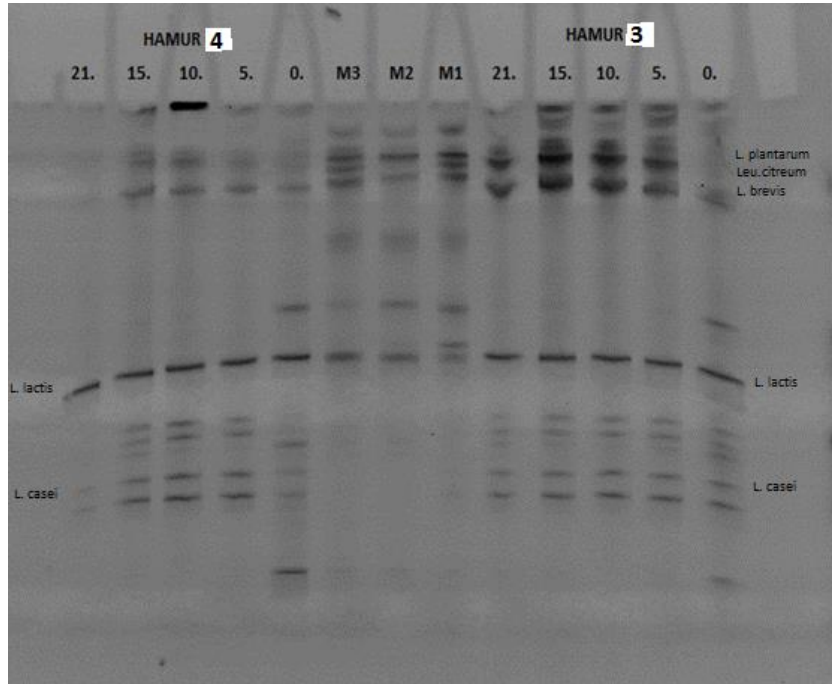
edilen *L. farciminis* PFC83, *L. casei* PFC90 ve *L. alimentarius* PFC91 suşlarının hamur ortamlarında gelişebildiklerini ve refakatçi florayı baskıladığını göstermiştir.

Karışık kültür kullanılmış tarhana hamurlarından farklı fermantasyon günlerinde (0, 5, 10, 15 ve 21. gün) alınan örneklerden izole edilen bakteri genomik DNA'larının ve marker olarak kullanılan LAB suşlarının 16S rDNA V3 bölgesi PZR ürünlerinin gradiyent jel üzerindeki göç yerleri Şekil 3.9, 3.10, 3.11 ve 3.12'de verilmiştir.

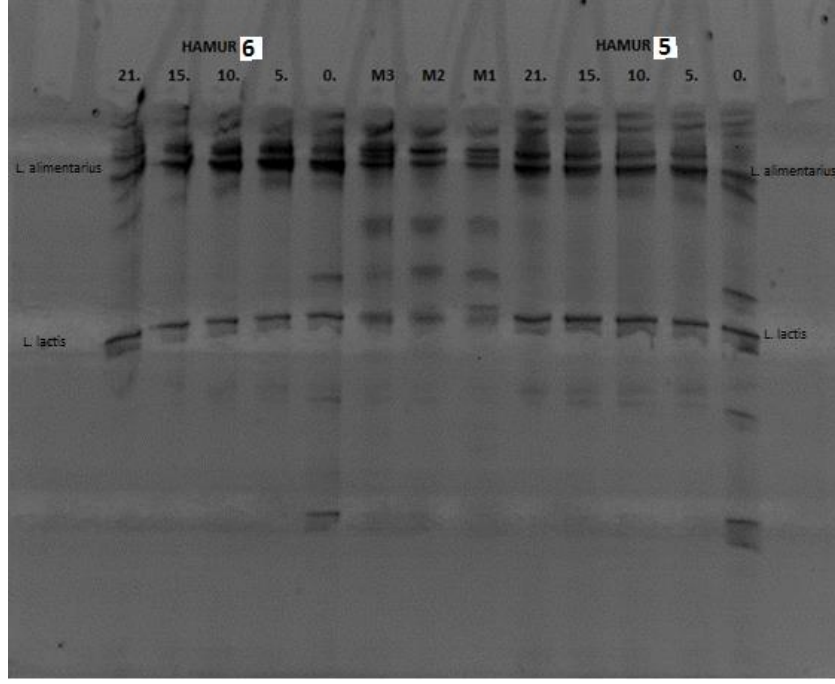
L. farciminis PFC83, *L. casei* PFC90 ve *L. alimentarius* PFC91 suşlarının, *P. kudriavzevii* PFC126 ve *C. humilis* PFC138 mayaları ile birlikte kullanılarak fermente edilen sırasıyla 1, 2, 3, 4, 5, 6 nolu tarhana hamurlarında inoküle edilen suşlara ait DNA izleri fermantasyon başından sonuna kadar izlenebilmiştir (Şekil 3.9, 3.10 ve 3.11). Benzer şekilde *L. lactis* suşunun da tüm hamurlarda varlığı belirlenmiştir. Tüm bunların dışında *L. alimentarius* suşunun maya ile birlikte kullanıldığı tarhana hamurlarında refakatçi floranın (*L. plantarum*, *L. brevis* ve *Leu. citreum*) daha fazla geliştiği izlenmiştir (Şekil 3.10). Kültür ilave edilmeyen kontrol tarhana hamurunda ise fermantasyonun 5. gününden itibaren *L. plantarum*, *L. brevis*, *Leu. citreum*, *L. farciminis* ve *L. lactis* suşlarının mikroflorada bulunduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.12). Bu sonuçlar, kullanılan laktik asit bakterilerinin mayalarla kullanılması durumunda gelişimlerinin engellenmediğini göstermiştir.



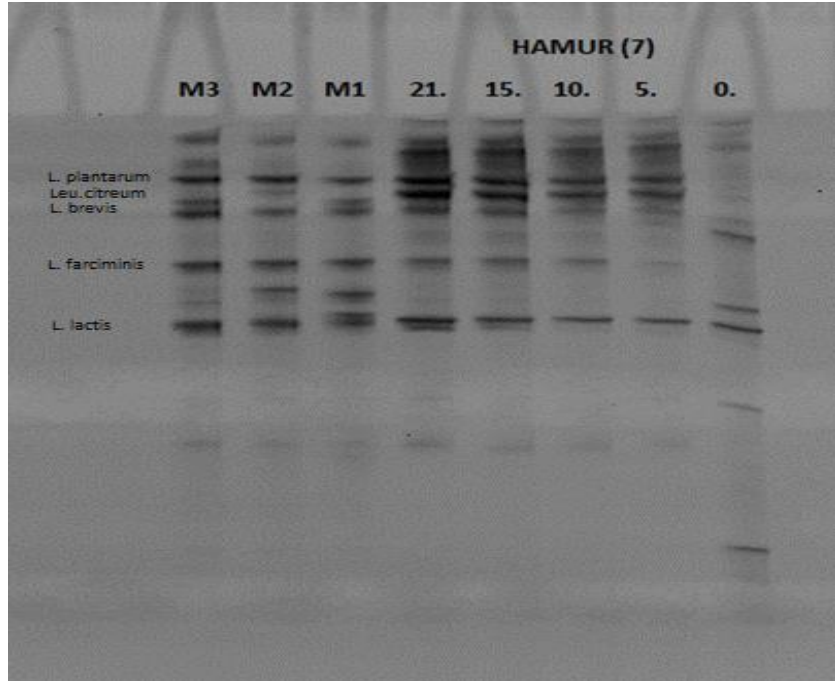
Şekil 3.9: *L. farciminis* PFC83 + *P. kudriavzevii* PFC126 (Hamur 1) ve *L. farciminis* PFC83 + *C. humilis* PFC138 (Hamur 2) ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin fermantasyonun 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası



Şekil 3.10: *L. alimentarius* PFC91 + *P. kudriavzevii* PFC126 (Hamur 3) ve *L. alimentarius* PFC91 + *C. humilis* PFC138 (Hamur 4) ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin fermantasyonun 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyal florası



Şekil 3.11: *L. casei* PFC90 + *P. kudriavzevii* PFC126 (Hamur 5) ve *L. casei* PFC90 + *C. humilis* PFC138 (Hamur 6) ile üretilmiş tarhana hamuru örneklerinin fermantasyonun 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyel florası



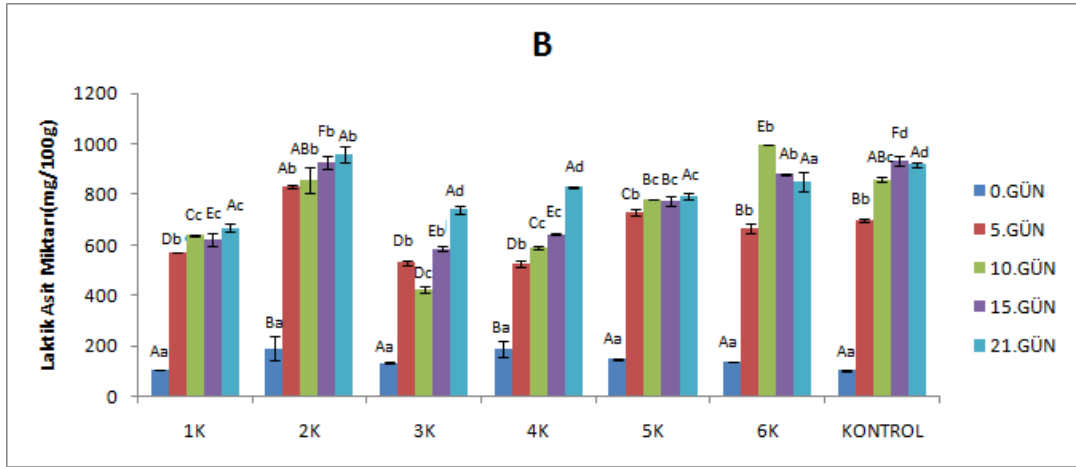
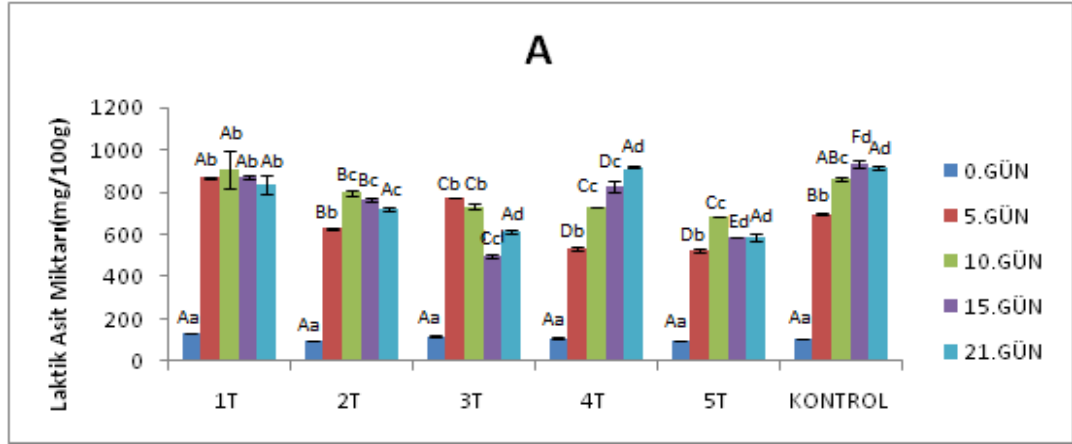
Şekil 3.12: Kültür ilave edilmeden üretilen tarhana hamuru örneklerinin fermantasyonun 0, 5, 10, 15 ve 21. günlerdeki bakteriyel florası

3.3 Kültür İlave Edilerek Üretilen Tarhana Hamurlarının Organik Asit İçeriği

Çalışma kapsamında *Lactobacillus farciminis* PFC83, *Lactobacillus casei* PFC90 ve *Lactobacillus alimentarius* PFC91 bakterileri ile *Pichia kudriavzevii* PFC126 ve *Candida humilis* PFC138 mayaları tek tek ve bir bakteri bir maya kombinasyonu olacak şekilde kullanılarak tarhana hamurları hazırlanmış ve 21 gün fermantasyon boyunca laktik, süksinik, asetik, formik ve fumarik asit içeriği belirlenmiştir. Tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki organik asit içeriği Şekil 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 ve 3.17’de gösterilmiştir.

Kültür ilave edilerek hazırlanan tarhana hamurlarının laktik asit içeriği 5. günde önemli miktarda artmıştır ($P<0,05$). Laktik asit miktarındaki artış 10. günde *L. alimentarius* PFC91 (3T) ve *L.alimentarius* PFC91 + *P.kudriavzevii* PFC126 (3K) suşlarının kullanıldığı örnekler hariç diğerlerinin tümünde devam etmiştir. Fermantasyonun sonuna kadar ise *P. kudriavzevii* PFC126 (3T), *L. farciminis* PFC83 + *C. humilis* PFC138 (2K), *L.alimentarius* PFC91+*P.kudriavzevii* PFC126 (3K) ve *L. alimentarius* PFC91+*C. humilis* PFC138 (4K) suşlarının kullanıldığı hamurlarda laktik asidin arttığı izlenmiştir (Şekil 3.13).

Son fermantasyon gününde tarhana hamurlarının laktik asit miktarları karşılaştırıldığında, en yüksek laktik asit oranı (958 mg/100g) *L. farciminis* PFC83+*C. humilis* PFC138 kullanılan 2K kodlu tarhana hamurunda belirlenmiştir. Tekli kültürlerle üretilen tarhana hamurlarının fermantasyon sonundaki laktik asit içeriği bakteri ve maya kombinasyonu ile üretilen tarhana hamurlarına kıyasla daha düşük bulunmuştur. Tekli kültürlerle hazırlanan hamurlar arasında en yüksek laktik asit *L. farciminis* PFC83’ün (1T) ve aynı şekilde *P. kudriavzevii* PFC126’nın (4T) kullanıldığı hamurlarda tespit edilmiştir. En yüksek laktik asidin tespit edildiği hem tekli hem de çoklu kültürle hazırlanan hamurların her ikisinde *L. farciminis* PFC83’ün bulunması, bu suşun laktik asit üretiminde oldukça etkili olduğuna işaret etmektedir.



Şekil 3.13: Laktik asit bakterisi ve maya suşları kullanılarak tekli (A) ve ikili kombinasyonla (B) hazırlanmış tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki laktik asit miktarlarının değişimi (mg/100g) (Büyük harfler her bir fermantasyon gününde hamurlar arasında, küçük harfler ise her bir hamurun fermantasyon günleri arasındaki $P < 0,05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir; 1T: *L. farciminis* PFC83; 2T: *L. casei* PFC90; 3T: *L. alimentarius* PFC91; 4T: *P. kudriavzevii* PFC126; 5T: *C. humilis* PFC138; 1K: *L. farciminis* PFC83 + *P. kudriavzevii* PFC126; 2K: *L. farciminis* PFC83 + *C. humilis* PFC138; 3K: *L. alimentarius* PFC91 + *P. kudriavzevii* PFC126; 4K: *L. alimentarius* PFC91 + *C. humilis* PFC138; 5K: *L. casei* PFC90 + *P. kudriavzevii* PFC126; 6K: *L. casei* PFC90 + *C. humilis* PFC138).

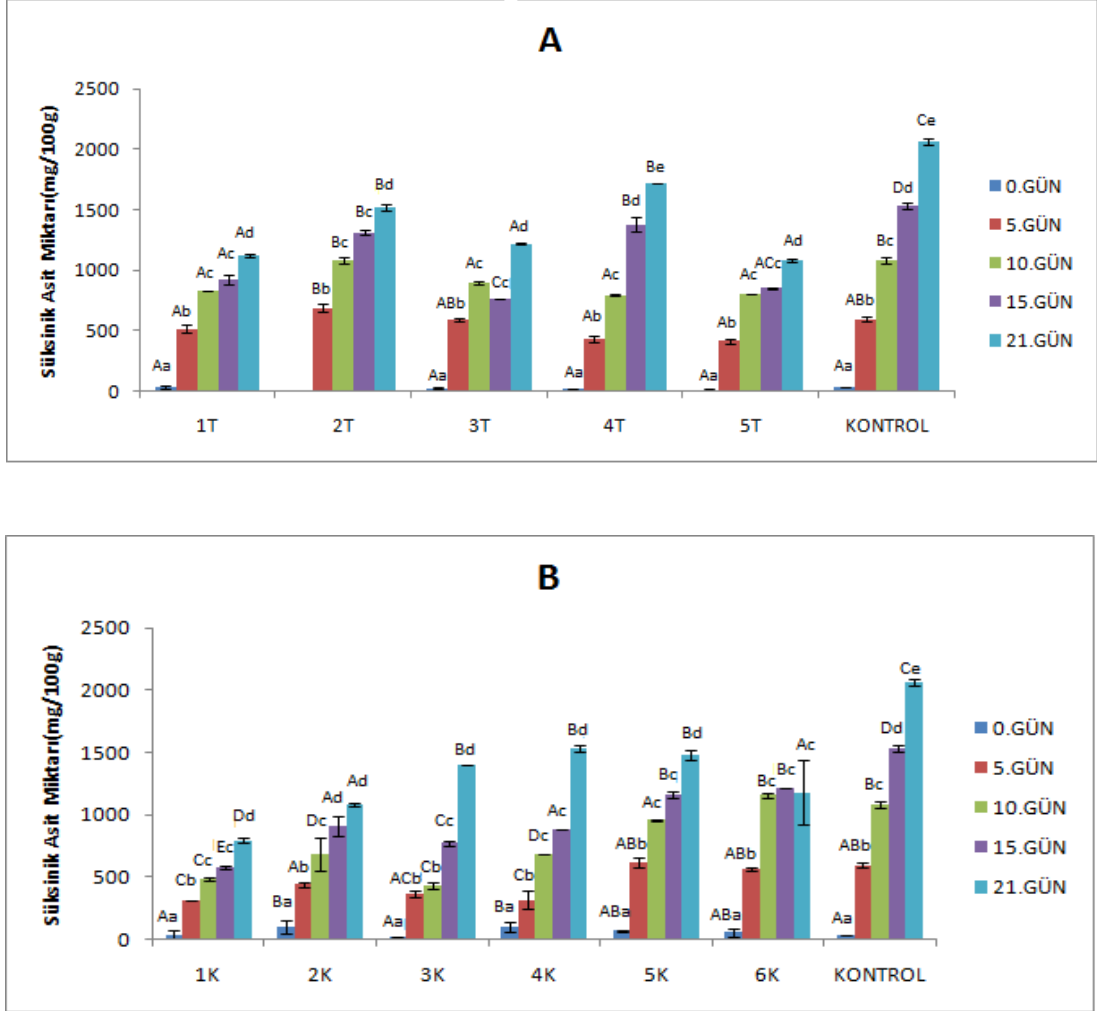
Kültür ilave edilerek hazırlanan tarhana hamurlarının süksinik asit içeriği fermantasyonun başından sonuna kadar önemli oranda artmıştır ($P<0,05$). Sadece *L. alimentarius* PFC91 suşunun kullanıldığı hamurun (3T) 15. gününde bir önceki güne göre düşme kaydedilmiştir. Bu sonuç süksinik asidin fermantasyonla birlikte üretildiğinin güçlü bir kanıtıdır (Şekil 3.14). Diğer taraftan her bir fermantasyon gününde süksinik asit içeriği bakımından hamurlar birbirinden çoğunlukla farklı bulunmuştur ($P<0,05$).

Fermantasyon sonunda tarhana hamurları arasında en yüksek süksinik asit miktarı kontrol hamurunda (2063 mg/100 g) tespit edilmiştir. Bunu *P. kudriavzevii* PFC126 ile hazırlanan hamur (4T) (1722 mg/100 g) takip etmiştir. Sadece laktik asit bakterisi ilave edilen hamurlarda en yüksek süksinik asit *L. casei* PFC90'ı içeren hamurda (2T) (1521 mg/100 g) belirlenmiştir. Karışık kültür ile hazırlanan hamurlar arasında en yüksek süksinik asit *L. casei* PFC90 + *C. humilis* PFC138 hamurunda (6K) (1533 mg/100 g) saptanmıştır. Ancak *L. alimentarius* PFC91 + *P. kudriavzevii* PFC126 hamurundaki (3K) süksinik asit miktarı (1485 mg/100 g) *L. casei* PFC90 + *C. humilis* PFC138 hamurundan (6K) farklı ($P>0,05$) değildir. Bu veriler ışığında özellikle *P. kudriavzevii* PFC126'nın tarhana hamurunda süksinik asit üretimiyle ilişkili olduğu öne sürülebilir. *L. casei* PFC90'nun da tarhana hamurlarında süksinik asit birikimine katkıda bulunduğu ifade edilebilir.

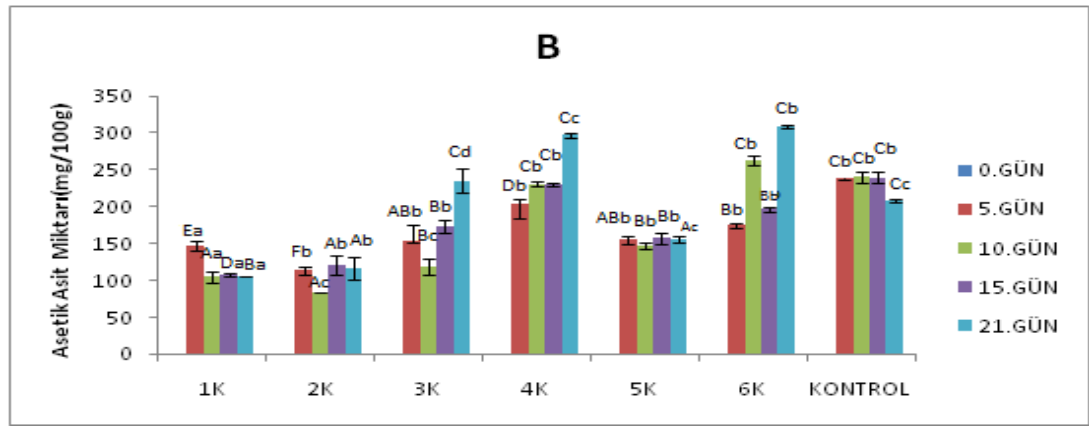
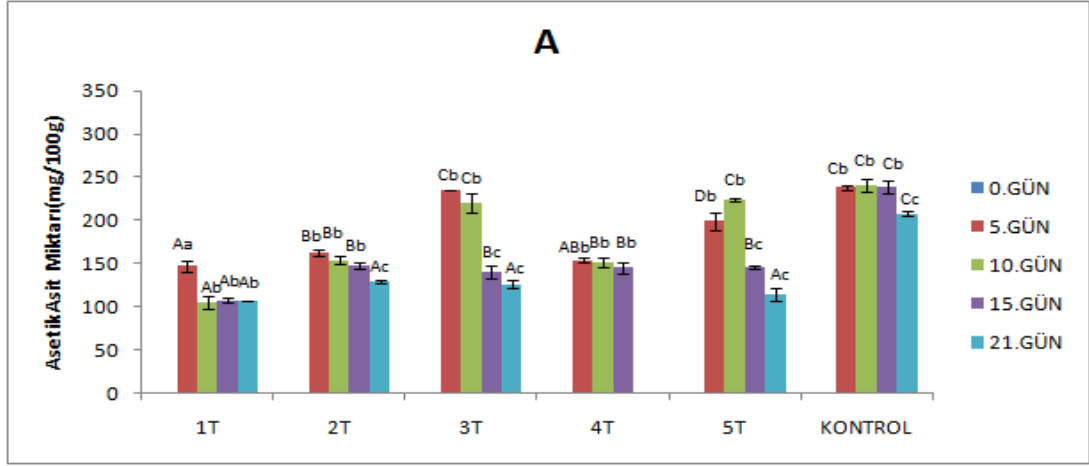
Starter kültür ilave edilerek hazırlanan tarhana hamurlarının fermantasyonun ilk gününde asetik asit tespit edilmemiştir. Ancak fermantasyonun 5. gününe ulaşıldığında tüm hamurlarda asetik asit miktarı önemli oranda artmıştır ($P<0,05$). Kontrol dâhil hazırlanan 12 hamur örneğinden 4'ü (2T, 3K, 4K ve 6K) dışında diğer 8 hamurda en yüksek asetik miktara 5. fermantasyon gününde ulaşılmıştır. Bu günde ölçülen en yüksek asetik asit miktarı 235 mg/100 g ile 3T hamurundadır. Çalışmada hazırlanan hamurların birçoğunda 5. günden sonra asetik asit miktarı ya değişmeden kalmış ya da düşmüştür. Bu sonuç asetik asidin fermantasyonun ilk zaman diliminde üretildiğini göstermektedir.

Son fermantasyon günü dikkate alındığında en yüksek asetik miktarı (308 mg/100 g) *L. alimentarius* PFC91 + *C. humilis* PFC138 içeren hamurda (4K) tespit edilmiştir. *L. alimentarius* PFC91'in tek kültür olarak kullanıldığı hamurda (3T) erken fermantasyon zaman diliminde ve ayrıca *C. humilis* PFC138 ile birlikte kullanıldığı hamurda (4K) son fermantasyonda en yüksek asetik asit miktara

ulaşılması, *L. alimentarius* PFC91'in asetik üretimi ile ilişkili olduğuna işaret etmektedir. Nitekim bu türün heterofermantatif özelliğe sahip olması çalışma sonucunu desteklemektedir.

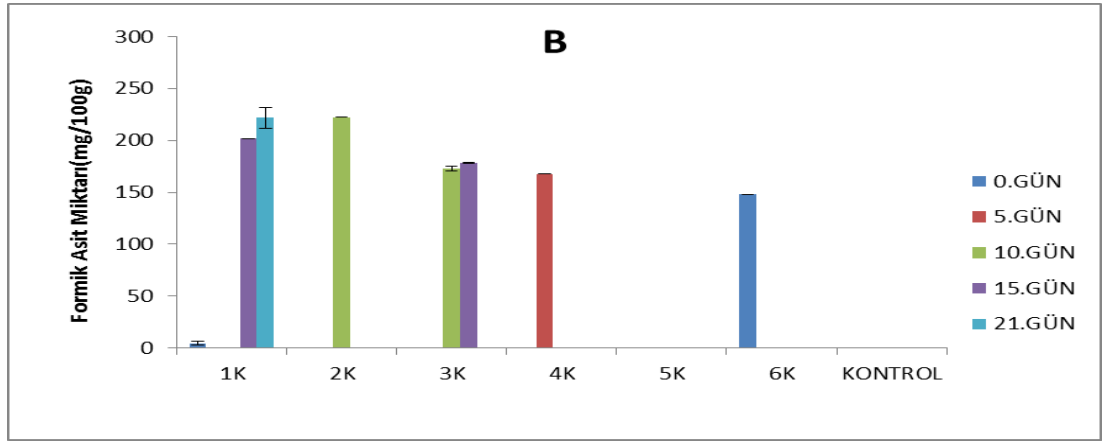
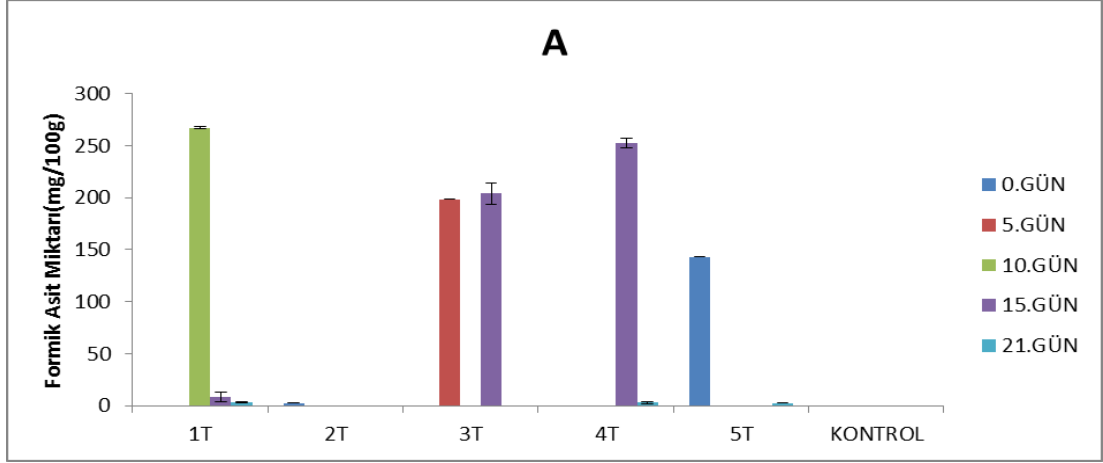


Şekil 3.14: : Laktik asit bakterisi ve maya suşları kullanılarak tekli (A) ve ikili kombinasyonla (B) hazırlanmış tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki süksinik asit miktarlarının değişimi (mg/100g) (Büyük harfler her bir fermantasyon gününde hamurlar arasında, küçük harfler ise her bir hamurun fermantasyon günleri arasındaki $P < 0,05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir; 1T: *L. farciminis* PFC83; 2T: *L. casei* PFC90; 3T: *L. alimentarius* PFC91; 4T: *P. kudriavzevii* PFC126; 5T: *C. humilis* PFC138; 1K: *L. farciminis* PFC83 + *P. kudriavzevii* PFC126; 2K: *L. farciminis* PFC83 + *C. humilis* PFC138; 3K: *L. alimentarius* PFC91 + *P. kudriavzevii* PFC126; 4K: *L. alimentarius* PFC91 + *C. humilis* PFC138; 5K: *L. casei* PFC90 + *P. kudriavzevii* PFC126; 6K: *L. casei* PFC90 + *C. humilis* PFC138).



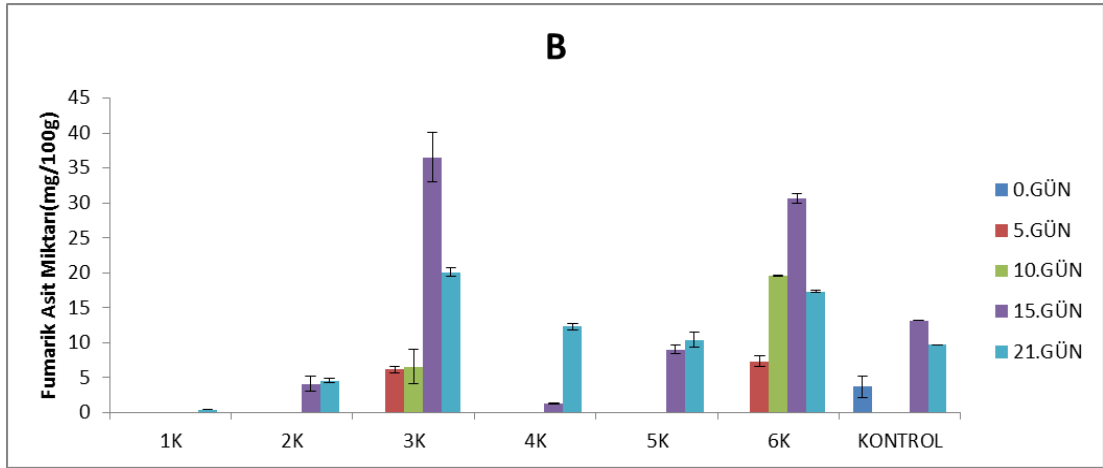
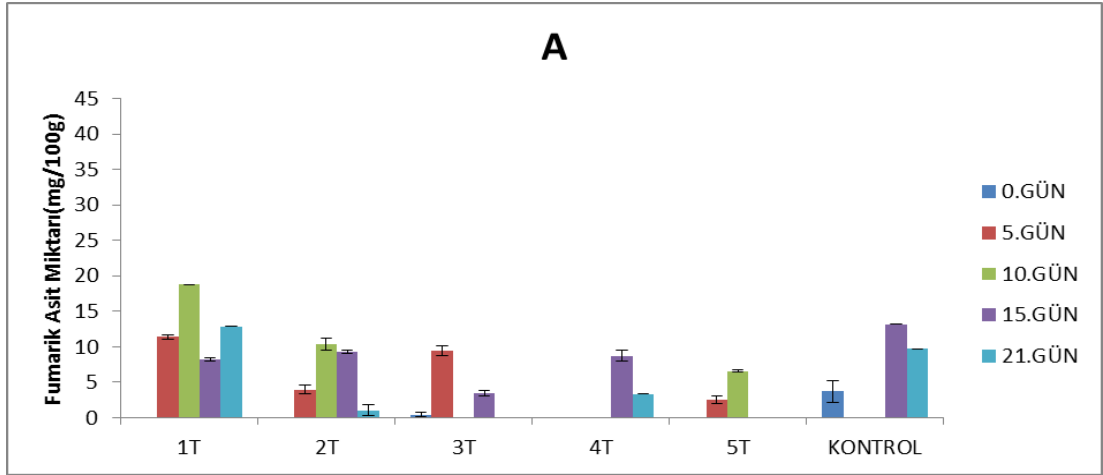
Şekil 3.15: Laktik asit bakterisi ve maya suşları kullanılarak tekli (A) ve ikili kombinasyonla (B) hazırlanmış tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki asetik asit miktarlarının değişimi (mg/100g) (Büyük harfler her bir fermantasyon gününde hamurlar arasında, küçük harfler ise her bir hamurun fermantasyon günleri arasındaki $P < 0,05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir; 1T: *L. farciminis* PFC83; 2T: *L. casei* PFC90; 3T: *L. alimentarius* PFC91; 4T: *P. kudriavzevii* PFC126; 5T: *C. humilis* PFC138; 1K: *L. farciminis* PFC83 + *P. kudriavzevii* PFC126; 2K: *L. farciminis* PFC83 + *C. humilis* PFC138; 3K: *L. alimentarius* PFC91 + *P. kudriavzevii* PFC126; 4K: *L. alimentarius* PFC91 + *C. humilis* PFC138; 5K: *L. casei* PFC90 + *P. kudriavzevii* PFC126; 6K: *L. casei* PFC90 + *C. humilis* PFC138).

Starter kültür ilave edilerek hazırlanan tarhana hamurlarının fermantasyonunda formik asit miktarında düzenli bir değişim gözlenmemiştir. Örneğin *L. casei* PFC90, *L. casei* PFC90 + *P. kudriavzevii* PFC126 suşlarını içeren ve kontrol hamurlarında (2T, 5K ve Kontrol) formik asit tespit edilmezken, diğer hamurların sadece belli günlerinde saptanmıştır. Bu sonuçlar formik asidin tarhana fermantasyonu ile veya üretimde görev alan laktik asit bakterisi ve mayalar ile anlamlı bir ilişkisinin olmadığına işaret etmiştir.



Şekil 3.16: Laktik asit bakterisi ve maya suşları kullanılarak tekli (A) ve ikili kombinasyonla (B) hazırlanmış tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki formik asit miktarlarının değişimi (mg/100g) (Büyük harfler her bir fermantasyon gününde hamurlar arasında, küçük harfler ise her bir hamurun fermantasyon günleri arasındaki $P < 0,05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir; 1T: *L. farciminis* PFC83; 2T: *L. casei* PFC90; 3T: *L. alimentarius* PFC91; 4T: *P. kudriavzevii* PFC126; 5T: *C. humilis* PFC138; 1K: *L. farciminis* PFC83 + *P. kudriavzevii* PFC126; 2K: *L. farciminis* PFC83 + *C. humilis* PFC138; 3K: *L. alimentarius* PFC91 + *P. kudriavzevii* PFC126; 4K: *L. alimentarius* PFC91 + *C. humilis* PFC138; 5K: *L. casei* PFC90 + *P. kudriavzevii* PFC126; 6K: *L. casei* PFC90 + *C. humilis* PFC138).

Starter kültür kullanılarak hazırlanan tarhana hamurlarının fermantasyon sürecinde fumarik asit içeriğinde anlamlı değişim tespit edilmemiştir. Tüm örneklerin farklı zaman dilimlerinde düşük miktarlarda fumarik asit saptanmış olmasına rağmen fermantasyon süreci veya kullanılan starter kültür kombinasyonlarıyla ilişkilendirilememiştir. Bu sonuç fumarik asidin metabolik iz yollarda ara ürün olmasından dolayı ileri gelmiştir şeklinde yorumlanabilir.



Şekil 3.17: Laktik asit bakterisi ve maya suşları kullanılarak tekli (A) ve ikili kombinasyonla (B) hazırlanmış tarhana hamurlarının fermantasyon günlerindeki fumarik asit miktarlarının değişimi (mg/100g) (Büyük harfler her bir fermantasyon gününde hamurlar arasında, küçük harfler ise her bir hamurun fermantasyon günleri arasındaki $P < 0,05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir; 1T: *L. farciminis* PFC83; 2T: *L. casei* PFC90; 3T: *L. alimentarius* PFC91; 4T: *P. kudriavzevii* PFC126; 5T: *C. humilis* PFC138; 1K: *L. farciminis* PFC83 + *P. kudriavzevii* PFC126; 2K: *L. farciminis* PFC83 + *C. humilis* PFC138; 3K: *L. alimentarius* PFC91 + *P. kudriavzevii* PFC126; 4K: *L. alimentarius* PFC91 + *C. humilis* PFC138; 5K: *L. casei* PFC90 + *P. kudriavzevii* PFC126; 6K: *L. casei* PFC90 + *C. humilis* PFC138).

4. GENEL SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında; Uşak tarhanasındaki başlıca organik asitlerin konsantrasyonlarının belirlenmesi ve bu organik asit konsantrasyonlarının laktik asit bakteri çeşitliliğiyle olan ilişkisi araştırılmıştır.

Buna göre Uşak bölgesinden toplanan 5 adet ev ve 4 adet işletme tipi tarhana hamurunun farklı günlerinde (0, 5, 10 ve 15. gün) yapılan organik asit analizi sonucuna göre; laktik ve süksinik asidin en yüksek değere sahip olduğu, bunları sırasıyla asetik, fumarik ve formik asidin takip ettiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca laktik, süksinik ve asetik asit konsantrasyonunun fermantasyonla birlikte arttığı, buna karşın fumarik ve formik asidin ise fermantasyonla ilişkisinin bulunmadığı ortaya konulmuştur.

Tez çalışmasında ayrıca daha önce tarhana hamuru florasında bulunan *L. farciminis* PFC83, *L. casei* PFC90, *L. alimentarius* PFC91, *P. kudriavzevii* PFC126 ve *C. humilis* PFC138 suşları kullanılarak tarhana üretilmiş ve bu suşların tarhana hamurundaki organik asit üretimine etkisi araştırılmıştır. Söz konusu suşların tekli ve ikili kombinasyonları kullanılarak üretilen tarhana hamurlarından, tekli kültür kullanılarak üretilenlerde *L. farciminis* PFC83, *L. casei* PFC90 ve *L. alimentarius* PFC91'in hamur refakatçi florayı baskılayarak canlılıklarını sürdürebildikleri ve gelişebildikleri izlenmiştir. İkili kombinasyonları kullanılarak üretilende ise kullanılan laktik asit bakterilerinin mayalarla kullanılması durumunda gelişimlerinin engellenmediği sonucuna varılmıştır.

Yapılan mikroflora sonuçlarını tarhanada ki organik asit çeşitliliği ile birlikte değerlendirildiğinde ise *L. farciminis* PFC83'ün laktik asit, *P. kudriavzevii* PFC126'nın süksinik asit ve *L. alimentarius* PFC91'in asetik asit üretiminden sorumlu olduğu sonucuna varılmaktadır. Tüm bunlarla birlikte, *L. alimentarius* PFC91 ve *P. kudriavzevii* PFC126 suşları organik asit açısından zengin tarhana üretimi için starter kültür olarak önerilebilir.

5. KAYNAKLAR

- Akçelik, M. ve Ayhan, K. , *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, Ankara : Sim Matbaacılık Ltd. Lti., 55-56, (2000).
- Akpınar-Bayızit, A., Yılmaz-Ersan, L. ve Özcan,T., “Determination of organic acid composition of boza as affected by raw material and fermentation process”, *Int. J. Food Prop.*,13(3), 648-656, (2010).
- Albayram, C. “Turşu ve zeytinde gelişen mayaların izolasyonu ve identifikasyonu” , Yüksek Lisans Tezi, , *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun, (2007).
- Altıok, D. Tokatlı, F. Harsa, Ş., “Kinetic modelling of lactic acid production from whey by *Lactobacillus casei*”, *J. Chem. Tech. Biotech.*, 81(7)1190-1197, (2006).
- Altıok, D., “Kinetic Modelling of Lactic Acid Production from Whey”, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, (2004).
- Andersson, R., “*Food Processing, Lactic Acid Bacteria in the Production of Food*”, SIK- Publication, Food Laboratory Newsletter 14: 17-21, (1989).
- Anonim, İl Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Gıda ve Yem Şubesi Verileri, Uşak, (2011a).
- Anonim, Tarhana üreticisi Mustafa Yeldanlı ile Yapılan Mülakat, Uşak, (2011b).
- Anonim, TSE 2282 Tarhana Standardı Türk Standardları Enstitüsü, Ankara, (2004).
- Arslan, D. ve Özcan,M. M. , “Influence of growing area and harvest date on the organic acid composition of olive fruits from Gemlik variety”, *Scientia Horticulturae*,130,633-641, (2011).
- Atamer, M., Gürsoy, A., Şenel, E. ve Öztekin, Ş. , “Keçi Sütü Yoğurtlarında Organik Asit İçeriğinin Tat-Aroma Üzerine Etkisi”. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi. 2001-07-14-041, Ankara, (2004).
- Axelsson, L., “Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology”, (eds: S. Salminen , Wright, A., Ouwehand, A.),*Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*, U.S.A :*Marcel Dekker Inc.*, , 1-66 (2004).
- Banu,I., Vasilean,I. and Aprodu,I., “Quality evaluation of the sourdough rye breads”, *Fascicle VI-Food Technology*, 35(2) 94-105, (2011).
- Barnett, J., Payne, R., Yarrow, D. “*Yeasts: characteristics and identification*” 3rd edn. Cambridge University Press, Cambridge, UK, (2000).

- Bayazit, Ş.S., “Fermantasyonla üretilen organik asitlerin ayırma yöntemlerinin karşılaştırılmalı değerlendirilmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, (2008).
- Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G. and Simov, Z., “Production of flavour compounds by yoghurt starter cultures”, *J. Ind. Microbiol Biot.*, 20,180-186, (1998).
- Blandino, A., Al-Aseeri, M. E., Pandiella, S. S., Cantero, D., and Webb, C., “Cereal-based fermented foods and beverages”. *Food Res. Int.*, 36, 527–543, (2003).
- Boulton, R.B., Singleton, V.L., Bisson, L.F. ve Kunkee, R.E. , “*Principles and Practices of Wine Making*” 1st edition, A.B.D. : Chapman and Hall, (1996).
- Bruice, P.Y. , “*Organic Chemistry*”, New Jersey, A.B.D. : Prentice Hall, (2003).
- Califano, A.N. and Babilacqua, A.E., “Freezing low moisture Mozzarella cheese: changes in organic acid content”, *Food Chem.*, 64,193-198, (1999).
- Califano, A. and Bevilacqua, A.E., “Multivariate Analysis of the Organic Acids Content of Gouda type Cheese during Ripening”, *J. Food Comp. Anal.*, 13,949-960, (2000).
- Çebi, K., “Nohut Mayası ve Hamurundan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu” Yüksek Lisans , *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, (2009).
- Çelik, İ., Işık, F., Şimşek, Ö. and Gürsoy, O., “The Effects of the Addition of Baker’s Yeast on the Functional Properties and Quality of Tarhana, a Traditional Fermented Food”, *Czech. J. Food Sci.* 23:5, 190–195, (2005).
- Çetin, E.T., *Endüstriyel Mikrobiyoloji*, İstanbul : İst. Tıp Fak. Vakfı Yayını, (1983).
- Çon, A. H., “Sucuktan Bakteriosin- Benzeri Antimikrobiyal Metabolit Üreten Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyon ve İdentifikasyonu ve Çeşitli Gıda Zararlısı ve/veya Gıda Kaynaklı Patojen Bakterilere Karşı Antogonistik Aktivite Araştırılması”, Doktora , *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, (1995).
- Çon, A.H. ve Gökalp, H.Y., “Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal metabolitleri ve etki şekilleri”, *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 30,180-190, (2000).
- Coşkun, F., “Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Derg*, (2) 27-33, (2006).
- Dağaşan L., “Ekmek mayası üretimi”, Editör: Aran, N., *Gıda Biyoteknolojisi*. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., 139-155, Ankara, (2012).
- Dağlioğlu, O., “Tarhana as a traditional Turkish fermented cereal food. Its recipe, production and composition”. *Nahrung*, 44 (2), 85-88, (2000).

- De Vuyst, L. Leroy, F., “Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications”, *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 13:194–199, (2007).
- De Vuyst, L., Neysens, P. “The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions” *Trends Food Sci. Tech.*, 16, 43-56, (2005).
- De Vuyst, L.D., Schrijvers, V., Paramithiotis, S., Hoste, B., Vancanneyt, M., Swings, J., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., Messens, W., “The Biodiversity of Lactic Acid Bacteria in Greek Traditional Wheat Sourdoughs Is Reflected in Both Composition and Metabolite Formation.” *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(12), 6059–6069, (2002).
- Erbaş, M., Uslu, M.K., Erbaş, Ö. ve Certel, M., “Effects of fermentation and storage on the organic and fatty acid contents of tarhana, a turkish fermented cereal food”, *J. Food Comp. Anal.*, 19, 294-301, (2006).
- Erginkaya, Z., “Fermente sucuklarda organik asit miktarlarının belirlenmesi”, *Gıda*, 18(6), 373-376, (1993).
- Fernandez-Garcia, E. and McGregor, J.U., “Determination of Organic Acids During the Fermentation and Cold Storage of Yogurt”, *J. Dairy Sci.*, 11, 2934-2939 (1994).
- Flores, C.L., Rodriguez C., Petit, T., Gancedo, C., “Carbohydrate and energy-yielding metabolism in non-conventional yeasts” , *FEMS Microbiol. Review*, 24, 507-529, (2000).
- Georgala, A.I.K., Tsakalidou, E., Kandarakis, I. and Kalantzopoulos, G., “Flavour production in ewe's milk and ewe's milk yoghurt, by single strains and combinations of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*”, *Lait*, 75, 271-283 (1995).
- Göçmen, D., “Ekşi Hamur ve Laktik Starter Kullanımının Ekmekte Aroma Oluşumu Üzerine Etkileri”, *Gıda*, 26, 13-16 (2001).
- Gökalp, H. Y., “Değişik Olgunlaşma Sıcaklıklarında Farklı Starter Kültürleri Uygulayarak Türk Tipi Sucuk Üretimi”, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, (1982).
- Günç Ergönül, P., Nergiz, C., “Determination of organic acids in olive fruit by HPLC”, *Czech J. Food Sci.* , 28(3)202-205, (2010).
- Hayta, M., Alpaslan, M. and Baysar, A., “Effect of drying methods on functional properties of tarhana: a wheat flour-yogurt mixture”, *J. Food Sci.* 67: 740–744, (2002).

Hong, K. K. and Nielsen, J., “Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*: a key cell factory platform for future biorefineries”. *Cell Mol. Life Sci.* <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-012-0945-1> (2012).

İbanoğlu Ş, İbanoğlu E., “Rheological properties of cooked tarhana, a cerealbased soup”, *Food Res Int.* ,32,29-33, (1999).

Kabak, B. and Dobson, A.D.W., “An Introduction to the Traditional Fermented Foods and Beverages of Turkey”, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* ,51(3)248-260, (2011).

Kavaz, A., “Farklı prebiyotik kombinasyonları ile üretilen probiyotik yoğurtların organik asit miktarı, aroma profili ve diğer kalite özelliklerinin tespiti”, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, (2012).

Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A. Ve Cabaroğlu, T., “HPLC Determination of Organic Acids, Sugars Phenolic Compositions and Antioxidant Capacity of Orange Juice and Orange Wine Made From a Turkish cv. Kozan”, *Microchem. J.* 91(2) 187-192, (2009).

Kezer, G., “İnek ve Keçi Sütü karışımından Yapılan Kefirlerin Fizikokimyasal, Mikrobiyal ve Duyusal Özellikleri Üzerine Yağ İkame Maddelerinin Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun, (2013).

Kılıç, S., *Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri*, Bornova, İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi, (2008).

Koca, A.F., Yazıcı, F. and Anıl, M., “Utilization of soy yoghurt in tarhana production”, *Eur Food Res Technol.* 215, 293–297, (2002).

Kurt, E., “Sucukta organik asit kompozisyonuna farklı karbonhidrat kaynaklarının etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, (2009).

Lacumin, L., Cecchini, F., Manzano, M., Osualdini, M., Boscolo, D., Orlic, S. and Comi, G., “Description of the microflora of sourdoughs by culture-dependent and culture-independent methods”, *Food Microbiol.* 26, 128–135, (2009).

Lefebvre, D., Gabriel, V., Vayssier, Y. And Fontagne-Faucher, C., “Simultaneous HPLC Determination of Sugar, Organic Acids and Ethanol in Sourdough Process”, *LWT-Food Sci. Technol.* , 35(5) 407-414, (2002).

Leroy, F. and De Vuyst, L., “Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for the Food Fermentation Industry”, *Trends Food Sci. Tech.*, 15, 67-78, (2004).

Magala, M. Kohajdova, Z. ve Karovicova, J., “Preparation of Lactic Acid Bacteria Fermented wheat-yoghurt mixtures”, *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 12(3)295-302, (2013).

Mayra- Makinen, A. ve Bigret, M., “Industrial Use and Production of Lactic Acid Bacteria”, (eds. Salminen, S. ve von Wright, A.), *Lactic Acid Bacteria*, New York: Marcel Dekker Inc., 65-96, (1993).

McNeil, B. ve Harvey, L.M. ,” Fermentation: An Art from the Past, a Skill for the Future”, (Eds: McNeil B., ve Harvey, L.M.), *Practical Fermentation Technology*,England : John Wiley & Sons Ltd. West Sussex PO19 8SQ , 1-3, (2008).

Miambi, E., Guyot, J. P. and Ampe, F., “Identification, isolation and quantification of representative bacteria from fermented cassava dough using an integrated approach of culture-dependent and culture independent methods”, *Int. J. Food Microbiol.* 82, 111–120, (2003).

Nergiz,C. ve Günc Ergönül,P., “Organic acid content and composition of the olive fruits during ripening and its relationship with oil and sugar”, *Scientia Horticulturae*, 122, 216-220, (2009).

Oguntoyinbo, F. A., and Dodd, C. E. R., “Bacterial dynamics during the spontaneous fermentation of cassava dough in gari production”, *Food Control* 21, 306-312, (2010).

Oskay, E. , *Organik Kimya*, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 335-477, (1975).

Özel, S., “Tarhana hamuru fermantasyonunun mikrobiyal taksonomik yapısı ve populasyon dinamiğinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Denizli, (2012).

Özel, S. Sabanoğlu, S. Çon, A.H. ve Şimşek, Ö., “Diversity and stability of yeast species during fermentation of tarhana”, *Food Biotech.*, 29(1)117-129, (2015).

Paramithiotis, S., Chouliaras, Y., Tsakalidou, E. and Kalantzopoulos, G., “Application of selected starter cultures for the production of wheat sourdough bread using a traditional three-stage procedure”, *Process Biochem.*, 40, 2813-2819, (2005).

Pitcher, D. G., Saunders, N. A. and Owen, R.J., “Rapid extraction of bacterial genomic DNA with guanidium thiocyanate”, *Lett. Appl. Microbiol.*, 8: 151–156, (1989).

Romano, P., Capece, A. ve Jespersen, L. , “Taxonomic and Ecological Diversity of Food and Beverage Yeasts”, (Eds: Querol, A. ve Fleet, G.H.), *Yeasts in Food and Beverages*, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 13-53, (2006).

Salminen, S., Von Wright, A. ve Ouwehand, A., “Lactic Acid Bacteria”, *Int. Dairy J.* 16: 940-941, (2006).

Samelis, J. And Sofos, J.N., *Yeasts in meat and meat products. In Yeasts in Food — Beneficial and Detrimental Aspects*, (Eds: Boekhout T, Robert V. Behr’s Verlag), 239-265, (2003).

- Sánchez, M. M., Delgado, T., Alonso, L. and Baltasayar, M., “Phenotypic and Genetic Characterization of a Selected Set of *Lactococcus lactis* Strains Isolated from a Starter-Free Farmhouse Cheese”, *Food Microbiol.* 17: 449-460, (2000).
- Scheirlinck, I., Van der Meulen, R., Van Schoor, A., Vancanneyt, M., De Vuyst, L., Vandamme, P. and Huys, G., “Taxonomic structure and stability of the bacterial community in belgian sourdough ecosystems as assessed by culture and population fingerprinting”, *Appl. Environ. Microbiol.* 2414-2423, (2008).
- Schlegel, H. G. ,J. “*General Microbiol.*”, Cambridge: Cambridge University Press, (1986).
- Settanni, L. , Tanguler, H. , Moschetti, G., Reale, S., Gargano, V. and Erten, H., “Evolution of fermenting microbiota in tarhana produced under controlled technological conditions”, *Food Microbiol.* 28, 1367-1373, (2011).
- Sharpe, M. E. Fryer, T. F. ve Smith, D. G. , *Identification of the Lactic Acid Bacteria*, (eds: Gibbs, B.M. and Skinner, F.A.), New York: Academic Press, (1966).
- Siyamoğlu, B. , *Türk tarhanalarının yapılışı ve terkibi üzerine araştırma*, İzmir: Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, (1961).
- Soyuduru D. , “Fermantasyonla Etanol Üretiminde Etanol Veriminin Artırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, (2007).
- Şahin, İ. , *Mikrobiyolojiye Giriş*, Samsun: Eser Matbaası, 237s, (1990).
- Şenel, E. , “Bazı üretim parametrelerinin yoğurttan üretilen yayık tereyağının nitelikleri üzerine etkisi”, Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, (2006).
- Şengün, İ.Y., Nielsen, D.S., Karapınar, M., ve Jakopsen, M., “Identification of Lactic Acid Bacteria Isolated from Tarhana, A Traditional Turkish Fermented Food”, *Int. J. Food Microbiol.*, 135,105–111, (2009).
- Tamime, A.Y. and Robinson, R.K., *Yohurt Science and Technology*, London: Woodhead Publishing, (1999).
- Tarakçı, Z., Doğan, I.S. ve Koca, A.F., “A traditional fermented Turkish soup, Tarhana formulated with corn flour and whey”. *Int. J. Food Sci. Tech.* 39, 455–458, (2004).
- Temiz, A. ve Pirkul, T., “Farklı Bileşimlerde Üretilen Tarhanaların Kimyasal ve Duyusal Özellikleri”, *Gıda* 16: 1, 7-13, (1991).
- Tu, R. J., Wu, H. Y., Lock, Y. S. and Chen, M. J., “Evaluation of microbial dynamics during the ripening of a traditional Taiwanese naturally fermented ham”, *Food Microbiol.* 27, 460-467, (2010).

Tunail, N. ve Köşker, Ö. , *Süt Mikrobiyolojisi*, Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, (1989).

Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. *Gıda Mikrobiyolojisi*, İzmir: Meta Basım Matbaacılık, (2003).

Van Der Meulen, R., Scheirlinck, I., Schoor, A. V., Huys, G., Vancanneyt, M., Vandamme, P. and Vuyst, L. D., “Population Dynamics and Metabolite Target Analysis of Lactic Acid Bacteria during Laboratory Fermentations of Wheat and Spelt Sourdoughs”, *Appl. and Environ. Microbiol.* 73(15), 4741–4750, (2007).

Vaughan-Martini A. and Alessandro M., “*Saccharomyces Meyen ex Ress*” (1870), (Eds: Kurtzman C., Fell J. W., Boekhout T.), *The Yeasts: A Taxonomic Study*, 5th ed., London: Elsevier, 733-746 (2011).

Ventimiglia, G., Alfonzo,A., Galluzzo,P., Corona,O., Francesca, N., Caracappa,S., Moschetti,G. and Setanni,L., “Codominanca of *Lactobacillus plantarum* and obligate heterofermentative lactic acid bacteria during sourdough fermentation”, *Food Microbiol.*,51,57-68, (2015).

Vernocchi,P., Valmorri,J., Torriani,S., Gianotti, A., Suzzi,G., Guerzoni,M.E., Mastrocold, D. and Gardini, F., “Characterization of the Yeast Population Involved in the Production of a Typical Italian Bread”, *Food microbiol. safety*, 69,182-186, (2004).

Vick Roy T. B., Lactic acid, In *Comprehensive biotechnology*, (ed: M. Moo-Young), Pergamon Press, 3,761-776, (1985).

Yoneda, N., Kusano, S., Yasui, M., Pujado, P., Wilcher, S. , “Recent advances in processes and catalystsfor the produstion of acetic acid”, *Appl. Catal. A, Gen.*, 221, 253–265, (2001).

6. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gizem YAZICI

Doğum Yeri ve Tarihi : Meriç / 01.02.1991

Lisans Üniversite : Pamukkale Üniversitesi

Elektronik posta : gzmm_ycz@hotmail.com

İletişim Adresi : Fatih Mah. Veli Gürkan Sok. Asilkent
sitesi No:9 A Blok Daire:12

Yayın Listesi :

Starter Kültürün Kurutulmasında Hücre Stabilitesinin Korunmasına Yönelik Uygulamalar, Poster Bildiri

Uşak tarhanası hamurunun fermantasyonunda aroma oluşumu ve mikrobiyota arasındaki ilişkinin belirlenmesi, 113O400 nolu Tübitak Projesi

Determination of the microbiological and chemical changes at the fermentation of Uşak tarhana prepared with enriched formulation for infant nutrition, Poster Bildiri