

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

**EKŞİ HAMUR FORMÜL OPTİMİZASYONUNUN
EKMEĞİN AROMATİK PROFİLİ, BİYOAKTİF
NİTELİKLERİ VE RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Hazırlayan
Müge HENDEK ERTOP**

**Danışman
Prof. Dr. Mehmet HAYTA**

Doktora Tezi

**Aralık 2014
KAYSERİ**

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

**EKŞİ HAMUR FORMÜL OPTİMİZASYONUNUN
EKMEĞİN AROMATİK PROFİLİ, BİYOAKTİF
NİTELİKLERİ VE RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ**

(Doktora Tezi)

**Hazırlayan
Müge HENDEK ERTOP**

**Danışman
Prof. Dr. Mehmet HAYTA**

**Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi
(Proje No: FDK-2014-4526) ve TUBİTAK 2211-C Öncelikli Alanlara
Yönelik Yurt İçi Doktora Burs Programı tarafından desteklenmiştir.**

**Aralık 2014
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.



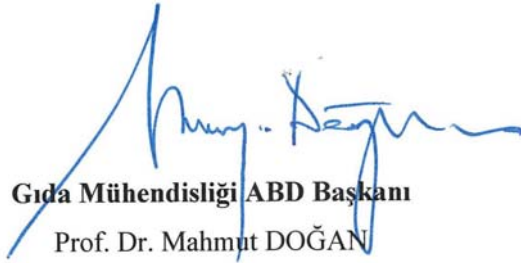
Müge HENDEK ERTOP

YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Ekşi Hamur Formül Optimizasyonunun Ekmeğin Aromatik Profili, Biyoaktif Nitelikleri ve Raf Ömrü Üzerine Etkileri” adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.


Tezi Hazırlayan
Müge HENDEK ERTOP


Danışman
Prof. Dr. Mehmet HAYTA

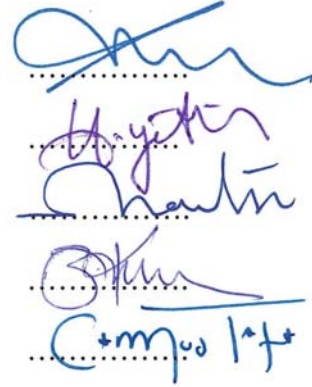

Gıda Mühendisliği ABD Başkanı
Prof. Dr. Mahmut DOĞAN

Prof. Dr. Mehmet HAYTA danışmanlığında **Müge HENDEK ERTOP** tarafından hazırlanan “**Ekşi Hamur Formül Optimizasyonunun Ekmeğin Aromatik Profili, Biyoaktif Nitelikleri ve Raf Ömrü Üzerine Etkileri**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

11/12/2014

JÜRİ:

Danışman : Prof. Dr. Mehmet HAYTA
 Üye : Prof. Dr. Hasan YETİM
 Üye : Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ
 Üye : Doç. Dr. Zülal KESMEN
 Üye : Doç. Dr. Mustafa ÇAM



ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 16/12/2014 tarih ve 2014/56-05 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Kâzım KEŞLIOĞLU
 Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca benden bilgi veyardımlarını esirgemeyen, bilimsel yetkinliğiyle daima destek bulduğum danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet HAYTA'ya;

Değerli düşünce ve önerileri ile tezin yönlendirilmesinde ve laboratuvar çalışmalarında emekleri geçen, tez izleme komitesi üyeleri Sayın Doç.Dr.Zülal KESMEN ve Sayın Doç.Dr. Mustafa ÇAM'a;

Çalışmalarım boyunca beni destekleyen Erciyes Üniversitesi Rektör Yardımcısı Sayın Prof. Dr. Hasan YETİM'e; doktora eğitimimde ders aldığım ve bu süreçte emeği geçen Erciyes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümünün saygı değer öğretim üyelerine;

Çalışmalarımda bana sağladıkları koşullarla desteklerini esirgemeyen Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Dekanı Sayın Prof.Dr. Murat KÜÇÜK'e, Dekan Yardımcısı Sayın Yrd. Doç. Dr. Cemalettin BALTACI'ya, Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Doç.Dr.Ali GÜNDOĞDU'ya ve çalışma arkadaşlarıma;

Çalışmamda maddi destek sağlayan Erciyes Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri birimine(FDK-2014-4526),TUBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığına; deneysel çalışmalarına katkı sağlayan Orta Doğu Teknik Üniversitesi MERLAB ile Erciyes Üniversitesi TAUM'a teşekkür eder saygılar sunarım.

Destek ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. S.Beyza ÖZTÜRK SARIKAYA, Arş. Gör. Büşra POLAT ve Alper ERTOP'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin tüm aşamalarında beni özveriyle destekleyen ve yardımını esirgemeyen eşim Uğur ERTOP'a; bana duydukları güvenle desteklerini daima hissettiğim ve varlıklarıyla huzur bulduğum sevgili anneme, babama, kardeşime;

Ve

hayatımın anlamı olan evlatlarım YAĞIZ ve ESMA'ya sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Müge HENDEK ERTOP

Kayseri, Aralık 2014

EKŞİ HAMUR FORMÜL OPTİMİZASYONUNUN EKMEĞİN AROMATİK PROFİLİ, BİYOAKTİF NİTELİKLERİ VE RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ

Müge HENDEK ERTOP
Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Doktora Tezi, Aralık 2014
Danışman: Prof. Dr. Mehmet HAYTA

ÖZET

Ekşi hamur eski çağlardan beri ekmek üretiminde kullanılmakta olup, ekmeğin kalitesini ve raf ömrünü olumlu yönde etkileyen bir yöntemdir. Un, su ve ortamdan gelen mikroorganizmaların etkisiyle hamurun doğal fermantasyona uğraması veya starter olarak laktik asit bakterilerinin (LAB), un ve su karışımına ilave edilmesi sonucunda oluşmaktadır. Her iki yöntemde de, ekşi hamur LAB ve maya mikroflorasının niteliklerine göre meydana gelen metabolitler biyoaktif, aromatik, tekstürel ve diğer fizikokimyasal nitelikleri etkilemektedir. Bu çalışmada, günümüz fırıncılık sektöründe yaygın olarak kullanılan spontan fermantasyon ile bilimsel olarak kabul görmüş ancak endüstriyel kullanımda yer bulamamış starter LAB ilavesi yöntemi, iki temel ekşi hamur yöntemi olarak ele alınmıştır. Her iki yöntemde, ekmek kalite niteliklerini direkt etkileyen maya, kepek ve ekşi hamur miktarı bağımsız faktörler olarak kullanılmıştır. Ekmek değer sayısı (EDS) ve ekmek kabul edilebilirliği (KE) bağımlı değişkenler olarak belirlenmiştir. EDS'nin belirlenmesinde gözenek faktörü görüntü analizi ile değerlendirilmiştir. Optimizasyon yüzey yanıt metodu (YYM) ile beş seviyeli üç bağımsız faktör merkezi bileşen deneme deseni kullanılarak gerçekleştirilmiş ve optimum modeller oluşturulmuştur. Belirlenen modellere göre üretilen ekmeklerin standart ekmeğe göre toplam fenolik madde, antioksidan etki, ferulik asit ve mineral madde içeriği gibi biyoaktif nitelikleri ile *in vitro* protein ve kül sindirilebilirliği gibi biyoyararlanım nitelikleri belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır. Ayrıca ekmeklerin raf ömrü süresince aromatik ve tekstürel profillerindeki değişim tespit edilirken, ekmek bayatlama nitelikleri, mikro yapı ve ekmek termal özelliklerinin takibi gibi farklı yöntemler ile belirlenmiştir.

Sonuç olarak optimize edilmiş ekşi hamur formülünün raf ömrü süresince ekmek kalite özelliklerine olumlu katkı sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca ekmeğin aromatik profil, biyoyararlanım ve biyoaktif niteliklerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Starter LAB

ilavesi yöntemi kullanılan optimize edilmiş ekşi hamurla belirgin olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Yüzey yanıt metodu, optimizasyon, ekşi hamur ekmeği, biyoyararlanım, ekmek kalitesi, aromatik profil, biyoaktif nitelikler, görüntü analizi

**THE EFFECT OF FORMULA OPTIMIZATION OF SOURDOUGH ON THE
AROMATIC PROFILE, BIOACTIVE PROPERTIES AND SHELF-LIFE OF
THE BREAD**

**Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
Ph. D. Thesis, December 2014
Thesis Supervisor: Prof. Dr. Mehmet HAYTA**

ABSTRACT

Sourdough is a method has been used since ancient times in bread production, it affects positively on the quality and shelf life of the bread. It is formed by natural dough fermentation through the action of microorganisms from the flour, water, environment, or by adding lactic acid bacteria (LAB) as starter to flour/water mixture. In both methods, the metabolites resulting from the nature of the LAB microflora of sourdough, affect bioactive, aromatic, textural and other physicochemical properties of bread. In this study, spontaneous fermentation which is widely used in the current bakery industry together with the starter LAB addition method that is recognized scientifically field but has not been used in the industry were considered as two basic sourdough methods. For both fermentation methods, factors affecting the quality attributes of bread such as the amount of yeast, bran and sourdough were used as independent variables. Bread value number (BVN) and bread acceptability (BE) were determined as dependent variables. Optimization was performed by using response surface methodology (RSM), three factor, five level, central composite rotatable design and the optimal models were obtained. The differences in terms of some bioactive properties such as total phenolic content, antioxidant effect, ferulic acid and mineral content, also bioavailability attributes such as in vitro digestibility of protein and ash, between the breads obtained according to optimization and standard bread were determined and compared. The changes in aromatic and textural profiles were determined during the shelf life of bread, also bread staling properties were detected with different methods, such as view of the microstructure and thermal properties of the bread. Optimized formulations of sourdough has been found to contribute positively to the bread quality properties during shelf life. Also it has, increased bioavailability and better bioactive properties and aromatic profile. The markedly positive results were obtained with sourdough that used LAB starter incorporation method.

Keywords: Response surface methodology, optimization, sourdough bread, bioavailability, bread quality, aromatic profile, bioactive properties, image analyse

İÇİNDEKİLER

EKŞİ HAMUR FORMÜL OPTİMİZASYONUNUN EKMEĞİN AROMATİK PROFİLİ, BİYOAKTİF NİTELİKLERİ VE RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	ii
KABUL ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
KISALTMALAR ve SİMGELER	xv
TABLolar LİSTESİ.....	xvi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xix
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1 Ekşi Hamur: Yöntem ve mikroflora	4
1.1.1. Ekşi hamur çeşitleri ve yapım yöntemleri.....	4
1.1.2. Ekşi hamur mikroflorası ve metabolitleri	6
1.1.2.1. Laktik asit bakterileri (LAB).....	9
1.1.2.2. Mayalar	12
1.1.2.3. Ekşi hamurda mikrobiyal interaksiyon	13
1.2. Ekşi hamur fermentasyonu: Metabolitler ve biyokimyasal değişiklikler	15
1.2.1. Ekşi hamur fermentasyonu sonucu oluşan bazı metabolitler	15
1.2.1.1. Organik asitler	16
1.2.1.2. Hidroksi yağ asitleri	17

1.2.1.3. Hidrojen peroksit	18
1.2.1.4. Bakteriosin.....	18
1.2.1.5.Reuterin (3-hidroksipropanal)	19
1.2.1.6. Diasetil (2,3-butanedion)	19
1.2.2. Ekşi hamur fermentasyonu ile meydana gelen biyokimyasal değişiklikler	19
1.2.2.1. Asidifikasyon	20
1.2.2.2. Proteolitik aktivite ve protein degradasyonu	21
1.2.2.3. Karbonhidrat modifikasyonu	22
1.2.2.4. Eksopolisakkarit oluşumu.....	24
1.2.2.5.Yağ asitlerinin enzimatik ve mikrobiyal dönüşümü.....	25
1.3. Ekşi hamur ve ekmek kalitesi	26
1.3.1. Aromatik yapı	28
1.3.2 Raf ömrü	30
1.3.2.1.Tekstür.....	30
1.3.2.2. Termal özellik.....	31
1.3.2.3. Küf gelişiminin önlenmesi	33
1.3.3. Biyoaktif nitelikler	34
1.3.3.1. Fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite.....	34
1.3.3.2. Sindirilebilirlik ve biyoyararlanım.....	36
1.3.3.2.1. Fitik asit, fitaz aktivitesi ve mineral biyoyararlanım.....	36
1.3.3.2.2.Enzime dirençli nişasta (EDN) oluşumu ve biyoyararlanım.....	40
1.3.3.2.3.Protein sindirilebilirliği	43
1.4. Yüzey yanıt metodu (YYM)	45

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal	48
--------------------	----

2.1.1. Hammadde	48
2.1.2. Laktik asit bakterileri (LAB)	48
2.1.3. Enzimler, tampon çözeltiler ve standartlar.....	50
2.1.4. Sarf malzemeleri ve kimyasal maddeler.....	50
2.1.5. Cihazlar	51
2.2. Yöntem	54
2.2.1. Un örneğinin kimyasal ve teknolojik kalite özelliklerinin belirlenmesi	56
2.2.1.1. Rutubet	56
2.2.1.2. Kül.....	56
2.2.1.3. Protein.....	56
2.2.1.4. Sedimentasyon değeri	56
2.2.1.5. Yaş ve kuru gluten miktarı, gluten indeks	56
2.2.1.6. Farinogram değerleri	57
2.2.2. YYM ile formül optimizasyonu	57
2.2.2.1. Deneysel dizayn	57
2.2.2.1.1. Değişken faktör seviyelerinin belirlenmesi	58
2.2.2.1.2. Ekmek değer sayısı (EDS)	60
2.2.2.1.3 Ekmek kabul edilebilirlik (KE) düzeyi	64
2.2.3. Ekşi hamur denemeleri	66
2.2.3.1 Spontan fermentasyon.....	66
2.2.3.2. Starter LAB ile fermentasyon.....	67
2.2.4. Ekmek denemeleri	67
2.2.5. Ekşi hamur fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri.....	68
2.2.5.1. pH ve titrasyon asitliği.....	68
2.2.5.2. LAB sayımı	69
2.2.6. Pişme sonrası ekmek fizikokimyasal kalite özellikleri	69
2.2.6.1. pH ve titrasyon asitliği.....	69
2.2.6.2. Rutubet miktarı ve rutubet kaybı (RK).....	69

2.2.6.3. Kabuk ve iç rengi	70
2.2.6.4. Hacim ve spesifik hacim	71
2.2.6.5. Kabuk kalınlığı.....	71
2.2.6.6. Laktik ve asetik asit içeriği	71
2.2.7. Raf ömrü süresince ekmekte fizikokimyasal ve mikrobiyal değişimler	72
2.2.7.1. Tekstür profil analizi (TPA)	73
2.2.7.2. Nişasta retrogradasyonunun izlenmesi.....	74
2.2.7.3. Ekmek yüzeyinde küf gelişimi	75
2.2.7.4. Mikroyapı	75
2.2.8. Raf ömrü süresince ekmek aromatik profilindeki değişim	75
2.2.9. Ekmeğin biyoaktif nitelikleri.....	78
2.2.9.1. Antioksidan aktivite.....	78
2.2.9.2. Toplam fenolik madde içeriği	79
2.2.9.3. Ferulik asit içeriği	79
2.2.9.4. Mineral madde içeriği	80
2.2.9.5. <i>In vitro</i> kül sindirilebilirlik oranı.....	81
2.2.9.6. <i>In vitro</i> protein sindirilebilirliği	83
2.2.9.7. Enzime dirençli nişasta (EDN) miktarı.....	83
2.2.10. İstatistiksel analizler	84

3. BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Un örneğinin kimyasal ve teknolojik kalite özellikleri	85
3.2. Spontan fermentasyon yöntemi ile üretilen ekmeklerde EDS ve KE değerlerine ait optimizasyon sonuçları	86
3.2.1. Spontan fermentasyon yöntemi formül optimizasyonu sonuçlarının deneysel doğrulanması	95

3.3. Starter LAB ilaveli fermentasyon yöntemi ile üretilen ekmeklerde EDS ve KE değerlerine ait optimizasyon sonuçlarının elde edilmesi.....	96
3.3.1. Starter LAB ilaveli fermentasyon yöntemi formül optimizasyonu sonuçlarının deneysel doğrulanması.....	106
3.4. Ekşi hamurların bazı kimyasal ve mikrobiyal özellikleri	107
3.4.1. Ekşi hamurların pH, titrasyon asitliği (TA) ve organik asit içerikleri.....	107
3.4.2. Ekşi hamurda LAB sayımı	108
3.5. Pişme sonrası ekmek fizikokimyasal kalite özellikleri.....	110
3.5.1. pH, titrasyon asitliği (TA) ve organik asit içeriği	111
3.5.2. Rutubet miktarı ve kabuk kalınlığı	113
3.5.3 Kabuk ve iç renk.....	114
3.5.4. Hacim ve spesifik hacim.....	115
3.6. Raf ömrü süresince ekmekte fizikokimyasal ve mikrobiyal değişimler.....	115
3.6.1. Tekstür	115
3.6.2. Ekmek rutubet kaybı (RK).....	118
3.6.3. Nişasta retrogradasyonu	119
3.6.4. Ekmek yüzeyinde küf gelişimi.....	121
3.6.5. Mikroyapı.....	122
3.7. Raf ömrü süresince ekmek aromatik profilindeki değişim.....	129
3.8. Ekmek Biyoaktif Nitelikleri	140
3.8.1. Toplam fenolik madde içeriği.....	140
3.8.2. Antioksidan aktivite	141
3.8.3. Ferulik asit içeriği.....	142
3.8.4 Mineral madde içeriği	143
3.8.5. <i>In vitro</i> kül sindirilebilirliği	144
3.8.6. <i>In vitro</i> protein sindirilebilirliği.....	145
3.8.7. Enzime dirençli nişasta (EDN)	146

4. BÖLÜM**TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER**

KAYNAKLAR	178
EKLER.....	207
ÖZGEÇMİŞ.....	223

KISALTMALAR ve SİMGELER

Sembol	Anlamı
Å	Angstrom
°C	Santigrat derece
CCRD	Merkezi Bileşen Deneme Deseni (Central Composite Rotatable Design)
dak	Dakika
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre (Differential Scanning Calorimeter)
EDS	Ekmek Değer Sayısı
EPS	Eksopolisakkarit
FK	Faktör Katsayısı
g	Gram
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography)
KE	Kabul Edilebilirlik
KSO	Kül Sindirilebilirlik Oranı
LAB	Laktik Asit Bakterisi
mJ	Milijoul
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
MRÜ	Maillard Reaksiyon Ürünleri
NE	Normal Ekmek
s	Saniye
SPME	Katı faz mikro ekstraksiyon (Solid Phase Micro Extraction)
SPE	Spontan Fermentasyonlu Ekmek
STE	Starter Fermentasyonlu Ekmek
SEM	Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu)
TTA	Toplam Titrasyon Asitliği
YYM (RSM)	Yüzey Yanıt Metodu (Response Surface Methodology)

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1.	Ekşi hamur çeşitleri ve içerdikleri LAB'leri.....	6
Tablo 1.2.	Ekşi hamur fermentasyonunda bulunan <i>Lactobacillus</i> türleri	10
Tablo 1.3.	Ekşi hamur fermentasyonu sırasında mikrobiyal ve enzimatik dönüşüm ve ekmek kalitesine etkileri.....	27
Tablo 1.4.	Ekşi hamur ile üretilen ekmeklerdeki aroma bileşenleri	30
Tablo 1.5.	TPA kontrol parametreleri	31
Tablo 2.1.	Ekmek starter kültürü olarak kullanılan üç kültüre ait teknik bilgiler.....	49
Tablo 2.2.	Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan besiyerleri ve sarf malzemeleri.....	50
Tablo 2.3.	Çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler	51
Tablo 2.4.	Tez çalışmasında kullanılan cihazlar	53
Tablo 2.5.	YYM'a göre kullanılan değişkenler ve seviyeleri	59
Tablo 2.6.	CCRD deneme planı	59
Tablo 2.7.	Ekmek gözenek alanları için hazırlanmış sınıflandırma aralıkları	63
Tablo 2.8.	Gözenek faktörünün hesaplanması	64
Tablo 2.9.	Ekmek kalite özellikleri	65
Tablo 2.10.	KE düzeyi için 5 ifadeli hedonik skala yanıt formu	65
Tablo 2.11.	Starter olarak kullanılan (LAB) sayım sonuçları	67
Tablo 2.12.	Organik asit analizi sıvı kromatografisi şartları	72
Tablo 2.13.	TPA analiz şartları	73
Tablo 2.14.	Uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu için SPME koşulları	77
Tablo 2.15.	Uçucu bileşik analizi için GC-MS koşulları	77
Tablo 2.16.	Ferulik asit analizi sıvı kromatografisi şartları	80
Tablo 2.17.	Ferulik asit analizi gradient faz şartları.....	80
Tablo 3.1.	Un örneğinin kimyasal ve teknolojik özellikleri.....	85
Tablo 3.2.	Spontan fermentasyon yöntemi için elde edilen EDS ve KE değerleri	86
Tablo 3.3.	Spontan fermentasyon yönteminde EDS için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyona ait istatistiksel parametreler	87
Tablo 3.4.	Spontan fermentasyon yönteminde KE için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyona ait istatistiksel parametreler	88

Tablo 3.5.	Spontan fermentasyon yönteminde EDS için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait varyans analizi (ANOVA) tablosu.....	89
Tablo 3.6.	Spontan fermentasyon yönteminde KE için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait ANOVA tablosu	91
Tablo 3.7.	Spontan fermentasyon formül optimizasyonu sonucunda “İstenilirlik” fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen ilk 3 çözüm.....	94
Tablo 3.8.	Optimum nokta doğrulama deneme sonuçları	95
Tablo 3.9.	Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması	96
Tablo 3.10.	Starter LAB ilaveli fermentasyon yöntemi için elde edilen EDS ve KE değerleri	97
Tablo 3.11.	Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde EDS için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyona ait istatistiksel parametreler	98
Tablo 3.12.	Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde KE için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyona ait istatistiksel parametreler	99
Tablo 3.13.	Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde EDS için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait ANOVA tablosu.....	100
Tablo 3.14.	Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde KE için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait ANOVA tablosu	102
Tablo 3.16.	Starter LAB ilaveli fermentasyon için formül optimizasyonu sonucunda “İstenilirlik” fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen ilk 3 çözüm.....	105
Tablo 3.17.	Optimum nokta doğrulama deneme sonuçları	106
Tablo 3.18.	Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması	107
Tablo 3.19.	Ekşi hamurların pH ve TA değerleri.....	108
Tablo 3.20.	Ekşi hamurların organik asit içerikleri.....	108
Tablo 3.21.	Fermentasyon türlerine göre sayım sonuçları	109
Tablo 3.22.	Çalışmada kullanılan ekmek formülleri.....	110

Tablo 3.23. Ekmek örneklerine ait pH, TA değerleri	111
Tablo 3.24. Ekmek örneklerine ait laktik ve asetik asit miktarları	113
Tablo 3.25. Ekmeklere ait nem miktarı ve kabuk kalınlığı değerleri.....	113
Tablo 3.26. Ekmeklerin kabuk ve iç renk değerleri	114
Tablo 3.27. Ekmeklerin kabuk ve içlerine ait dE^* değerleri	114
Tablo 3.28. Ekmeklere ait hacim ve spesifik hacim değerleri	115
Tablo 3.29. Ekmeklere ait TPA sonuçları	116
Tablo 3.30. Ekmeklere ait esneklik kaybı (EK) değerleri.....	118
Tablo 3.31. Ekmek örneklerinin rutubet içerikleri ve RK değerleri	118
Tablo 3.32. Ekmeklerde küf sayım sonuçları log (kob)/g.....	121
Tablo 3.33. Ekmek örneklerinin 0.gün SEM görüntülerine ait nişasta granül çapları.....	124
Tablo 3.34. NE'deki uçucu bileşiklerin günlere göre değişimi	131
Tablo 3.35. SPE'deki uçucu bileşiklerin günlere göre değişimi	132
Tablo 3.36. STE'deki uçucu bileşiklerin günlere göre değişimi.....	134
Tablo 3.37. Ekmek örneklerinin ilk güne ait uçucu bileşen profilleri	137
Tablo 3.38. Ekmek örneklerine ait toplam fenolik madde içerikleri	140
Tablo 3.39. Ekmeklerin DPPH radikali üzerindeki % inhibisyon değerleri ve troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri	141
Tablo 3.40. Ekmeklerin ferulik asit içerikleri	143
Tablo 3.41. Ekmek örneklerine ait mineral madde içerikleri.....	144
Tablo 3.42. Ekmek örneklerine ait kül sindirilebilirlik sonuçları	144
Tablo 3.43. Ekmek örneklerine ait protein sindirilebilirlik sonuçları	145
Tablo 3.44. Ekmek örneklerine ait EDN içerikleri	146
Tablo 4.1. Bazı uçucu bileşiklerin oluşum kaynakları	159
Tablo 4.2. Ekmek örneklerinde tespit edilen bazı aldehit grubu bileşikler.....	160
Tablo 4.3. Ekmeklerin uçucu bileşik sayısındaki değişim	161
Tablo 4.4. Ekmek örneklerinde tespit edilen organik asitler	162

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Ekşi hamur fermentasyonu sonucu oluşan metabolitler	16
Şekil 1.2.	Ekşi hamurda maltodekstrinlerin dönüşümü ve nişasta metabolizması	23
Şekil 1.3.	24 saat depolanmış ekmeğe ait DSC kurvesi.....	32
Şekil 1.4.	Ekşi hamur fermentasyonunun ekmek besinsel kalitesi üzerindeki mekanizması	34
Şekil.1.5.	Fitik asit ve fitik asit şelatının kimyasal yapısı.....	36
Şekil.1.6.	Fitatın, fitaz enzimi ile hidrolizinin şematik gösterimi.....	37
Şekil.1.7.	Endojen fitaz ve mikrobiyal fitazın fitat aktivesi üzerindeki etkisi	39
Şekil 1.8.	Nişasta-su karışımının ısıtılması, soğutulması ve depolanması esnasında meydana gelen değişimlerin şematik gösterimi.....	41
Şekil 1.9.	Birincil proteoliz (A), ikincil proteoliz (B), katabolizma ve aminoasitlerin serbest kalması (C).....	44
Şekil 2.1.	Tez planı ve akım şeması.....	55
Şekil 2.2.	Ekmek örneğinin tarama ve ölçeklendirilmesi	61
Şekil 2.3.	Tarayıcıdan Image ProPlus programına aktarılmış görüntü	61
Şekil 2.4.	Filtreleme ile kontrast oluşturulması ve gözenek yapısının belirginleştirilmesi ile elde edilen görüntü	62
Şekil 2.5.	Gözenek sınırlarının belirlenmesi sonucu elde edilen görüntü.....	62
Şekil 2.6.	Gözeneklerin ve alanlarının sayımı sonucu elde edilen görüntü	63
Şekil 2.7.	Örnek TPA eğrisi	74
Şekil 2.8.	Çalkalamalı inkübatörde oluşturulan <i>invitro</i> sindirim ortamı.....	82
Şekil 3.1.	Çalışmada kullanılan una ait farinograf grafiği	85
Şekil 3.2.	Spontan fermentasyon yönteminde maya kullanım oranı-kepek oranı parametrelerinin EDS'ye etkisini gösteren YY grafiği.....	90
Şekil 3.3.	Spontan fermentasyon yönteminde ekşi hamur kullanım oranı-maya kullanım oranı parametrelerinin EDS'ye etkisini gösteren YY grafiği	91
Şekil 3.4.	Spontan fermentasyon yönteminde maya kullanım oranı-kepek oranı parametrelerinin KE'e etkisini gösteren YY grafiği.....	92
Şekil 3.5.	Spontan fermentasyon yönteminde ekşi hamur kullanım oranı-maya kullanım oranı parametrelerin KE'ye etkisini gösteren YY grafiği	93

Şekil 3.6.	Spontan fermentasyon optimizasyonu sonucu 1.çözümün rampa grafikleri.....	94
Şekil 3.7.	Tarama ve ölçeklendirme yapılmış doğrulama ekmeği görüntüsü	95
Şekil 3.8.	Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde maya kullanım oranı-kepek oranı parametrelerinin EDS'ye etkisini gösteren YY grafiği	101
Şekil 3.9.	Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde ekşi hamur kullanım oranı-maya kullanım oranı parametrelerinin EDS'ye etkisini gösteren YY grafiği	102
Şekil 3.10.	Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde maya kullanım oranı-kepek oranı parametrelerinin KE'e etkisini gösteren YY grafiği	103
Şekil 3.11.	Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde ekşi hamur kullanım oranı-maya kullanım oranı parametrelerinin KE'e etkisini gösteren YY grafiği	104
Şekil 3.12.	Starter LAB ilaveli fermentasyon optimizasyon sonucu 1.çözümün rampa grafikleri.....	105
Şekil 3.13.	Tarama ve ölçeklendirme yapılmış doğrulama ekmeği görüntüsü	106
Şekil 3.14.	Starter LAB ilaveli fermentasyon sonu LAB sayımı görüntüsü.....	109
Şekil 3.15.	Spontan fermentasyon kademe sonu LAB sayımı görüntüsü	110
Şekil 3.16.	Ekmek örnekleri.....	111
Şekil 3.17.	Laktik asit ve asetik asit standartlarına ait kromotogram	112
Şekil 3.18.	Laktik asit (a) ve asetik asit (b) standartlarına ait kalibrasyon eğrileri....	112
Şekil 3.19.	TPA için hazırlanmış ekmekler	116
Şekil 3.20.	Ekmek örneklerinin 0. ve 5. günlere ait DSC termogramları	120
Şekil 3.21.	Oda koşullarında küflenmeye bırakılmış ekmek dilimleri	121
Şekil 3.22.	Ekmek örneklerinin NE (A), SPE (B), STE (C), 0.gün SEM görüntüleri (500X).....	123
Şekil 3.23.	Ekmek örneklerinin NE (A), SPE (B), STE (C), 0.gün SEM görüntüleri (1000X).....	125
Şekil 3.24.	NE'in 0 (A), 3(B), 5(C) ve 8(D). günlere ait SEM görüntüleri (1000X).....	126
Şekil 3.25.	SPE 'ye ait 0 (A), 3 (B), 5 (C) ve 8.(D) günlere ait SEM görüntüleri (1000X).....	127

Şekil 3.26.	STE'ye ait 0 (A), 3(B), 5(C) ve 8(D). günlere ait SEM görüntüleri (1000X).....	128
Şekil 3.27.	Ekmeklerin 8.güne ait SEM görüntüleri (500X)	129
Şekil 3.28.	STE'ye ait 0.gün GC-MS örnek kromotogramı.....	130
Şekil 3.29.	Gallik asit standart kalibrasyon eğrisi.....	140
Şekil 3.30.	Standart troloks kalibrasyon eğrisi	141
Şekil 3.31.	Ferulik asit ait standart kalibrasyon eğrisi	142
Şekil 3.32.	12.5 mg/kg Ferulik asit standardına ait kromotogram.....	142
Şekil 4.1.	Ekmek örneklerine ait (a,b,c) nişasta granül görüntüleri (600KX)	155
Şekil 4.2.	Uçucu bileşiklerin günlere göre değişimi	161

GİRİŞ

Temel besin maddesi ve iyi bir enerji kaynağı olması nedeniyle gıda tüketiminde ekmek önemli bir yere sahiptir. Ülkemizde de diğer gıdalara göre daha ucuz ve doyurucu olması, beslenme alışkanlıkları ve sosyo-ekonomik yapı gereğince ekmek, öğünlerin temel maddesi durumundadır.

Günlük diyetin önemli bir parçası olan ekmeğin tarihi M.Ö. 4000 yıllarına kadar uzanmasına rağmen ilk mayalı ekmeğin üretiminin M.Ö. 1800 yıllarında, eski Mısır'da, hamurun kendi haline bırakılmasıyla gerçekleştirildiği bilinmektedir. Bu tip mayalanma; su, un ve ortamdan gelen doğal maya ve bakterilerin yaptığı "spontan mayalanma" olarak adlandırılmaktadır. Bu durum daha sonraki çağlarda bazı aşamalardan geçerek ekşi hamur yöntemi olarak günümüze kadar gelmiştir [1].

Ekmek üretiminde, ekşi hamur kullanılması eski çağlardan beri kullanılan bir yöntem olup, ekmeğin kalitesini ve raf ömrünü olumlu yönde etkilemektedir. Una beyaz peynir, yoğurt gibi içinde laktik asit bakterileri (LAB) bulunan maddeler katılarak, az miktarda hamur hazırlanması ve bu hamurun ılık bir yerde ekşimeye bırakılması, bunun da ana ekmek hamuruna katılarak mayalandırma yapılması ülkemizde geçmiş dönemlerden beri yaygın olarak kullanılan bir tekniktir [2].

Ekşi hamur ilavesiyle buğday ekmeği yapım geleneği günümüzde özellikle Akdeniz ve Orta Doğu ülkeleri başta olmak üzere dünyada da geniş ölçüde kullanılmaktadır. Ekşi hamur yöntemi Anadolu'nun çeşitli yörelerinde ve özellikle Karadeniz Bölgesi'nde de hala kullanım yeri bulmaktadır. Bunlardan en bilineni olan Vakfikebir ekmeği, Trabzon yöresine ait olup ülkemizde ekşi hamur yöntemiyle üretilen ve yaygın olarak tüketilen bir ekmek çeşididir [3].

Ekmeklik buğday unu, su karışımının veya mevcut ekmek hamurunun bekletilmesi sonucunda ya da starter olarak ilave edilen LAB'ların etkisiyle gaz meydana gelmesi, koku ve tadın ekşimesi sonucunda oluşan hamura ekşi hamur veya ekşi maya adı verilmektedir Türk Gıda Kodeksi Ekmek Tebliği'nde 2012 yılında yapılan revizyon ile tebliğde de yer bulan ekşi hamur ve ekşi hamur ekmeği, ekmekçilikte kullanılan geleneksel ve eski bir yöntemdir.

Türkiye'de tahıla dayalı beslenme önemini korurken, özellikle beslenmede ilk sırayı ekmek almaktadır. Ülkemizde günlük tüketilen enerjinin %66'sı tahıllardan, bununda %56'lık kısmı sadece ekmekten, proteinin ise %50'si yine ekmekten sağlanmaktadır. Farklı bölge veya gelir gruplarına göre değişen ekmek tüketimi ülkemizde günde 100-800 g arasında olup, ortalama 400 g'dır. Türkiye'de ekmeğin üretim, dağıtım ve tüketimi günlük olarak yapılmaktadır. Taze tüketim alışkanlığı yapım teknikleri nedeniyle çabuk bayatlama niteliğinde olan ekmeğin muhafazası açısından sorunları da beraberinde getirmektedir [4]. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, ülkemizde üretilen ekmeklerin yaklaşık % 10'unun bayatlama neticesinde israf olduğunu bildirmektedir. Bu oran yılda yaklaşık 1.8 milyar ekmeğe karşılık gelmektedir. Ekşi hamur kullanımı ile ekmeğin raf ömrü süresince bayatlama olarak algıladığımız lezzet, tekstürel ve mikrobiyal yöndeki değişimleri de etkilediğinden günlük diyetimizin en önemli parçası olan ekmeğin büyük boyutlara ulaşan israfında ekşi hamur kullanımının doğal bir çözüm olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu olumsuzlukları bertaraf etmek için kullanılan katkı maddelerinin gereksiz kullanımına da doğal bir alternatif oluşturmaktadır.

Tez çalışmasının amacı, ekmek kalite niteliklerini doğrudan etkileyen ekşi hamur formülasyon faktörlerinin optimizasyonu ile tüketilebilir kalitedeki en iyi faktör modelini belirlemek, üretilen ekşi hamur ekmeğinin standart ekşi hamursuz ekmeğe göre biyoaktif parametreler, aromatik profil ve raf ömrü süresince bayatlama nitelikleri açısından farklılıklarını tespit etmektir. Starter ilaveli veya spontan fermentasyonla üretilen ekşi hamur ekmeklerinin raf ömrü kalitesi ve besinsel fonksiyonelliği açısından standart ekmeğe göre farklılıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Ekşi hamurun spontan fermentasyon yöntemiyle üretimi geleneksel ve günümüzde kullanılan bir metod olmakla birlikte, ekmek fırınlarında sabit fermentasyon

koşullarının ve hijyenik koşulların sağlanamaması bir dez avantaj olarak görülmektedir. Starter kültür kullanımının ise fermentasyondan kaynaklanacak riskleri azaltacağı, standart üretim koşullarını sağlayacağı bildirilmektedir [5]. Bu nedenle tez çalışmasında hem spontan hem de starter LAB ilaveli fermentasyon yöntemleri kullanılmış, her iki yöntemde de optimizasyon çalışması yapılmıştır.

Ekşi hamur kullanımına dair daha önce yapılan bilimsel çalışmalarda proses koşullarının belirlenmesi, ekşi hamur mikroflorası, identifikasyonu ve metabolitleri araştırılmış konular arasındadır [6-9]. Ancak formül optimizasyonuna dayanan ve her iki fermentasyon yönteminin de kullanıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada optimizasyon çalışması sonucunda belirlenen modele göre üretilen ekmeklerin standart ekmeğe göre farklılıklarının ortaya konulması hem tüketici beğenisi, hem de ekşi hamur ekmeğinin üretiminde biyoaktif nitelik, aromatik profili ve raf ömrü özellikleri açısından fermentasyon yöntemlerinin etkinliklerini bilimsel açıdan ortaya konulması hem de endüstriyel olarak kullanım tercihinde yol gösterici olunması amaçlanmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1 Ekşi Hamur: Yöntem ve mikroflora

1.1.1. Ekşi hamur çeşitleri ve yapım yöntemleri

Günümüzde yaklaşık 4000 civarında ekmek çeşidi üretilmektedir. Bu çeşitlilik, farklı formülasyonlar, farklı hamur yapım metotlarının uygulanması ve pişirme yöntemi gibi değişik faktörlerden kaynaklanmaktadır. Çeşitli formülasyonlar ile yapılabilen ekşi hamur yöntemi hamur yapma metotlarından biri olarak günümüzde oldukça önem kazanmıştır. Ekşi hamur ekmeği, *Saccharomyces cerevisiae* ve LAB' nin fermentasyonu ile üretilen ve asırlardır önemini yitirmeyen fermente bir ürün olup, mayalanmış ekmeklerin en eski ve en özgün şeklidir. Ekşi hamur parçası depolanırken, doğal olarak undan gelen LAB'nin metabolik aktivitesi nedeniyle laktik asit fermentasyonu meydana gelmektedir [2]. Ekşi hamur yönteminin genel esası, ticari kültür mayalarının yanında ortamdan ve kullanılan hamur unsurlarından gelen yabani mayaları, LAB'ni içeren hamur parçalarını bir sonraki hamurda maya olarak kullanmaktadır. Modern ekmek üretiminde hamurun ekşitilebilmesi için önemli düzeyde asit üretebilen LAB starter kültür olarak hamura ilave edilmektedir.

Son yıllarda spontan olarak veya starter kültür ilavesi ile mayalanarak yapılan ekşi hamur ekmekleri üzerinde birçok çalışma yapılmış ve ekşi hamur ekmeğinin üretim teknikleri, proses koşulları ve parametreleri gibi konular araştırmalarda yer bulmuştur [9,10]

Ekşi hamurlar, ev veya sanayi tipi üretim teknolojileri göz önüne alındığında 3 tip olarak sınıflandırılmaktadır [11].

Bunlar;

1. Tip I veya geleneksel ekşi hamur
2. Tip II veya hızlandırılmış ekşi hamur
3. Tip III veya kurutulmuş ekşi hamur

Her ekşi hamur tipi, spesifik bir ekşi hamur LAB mikroflorası ile karakterize edilmiştir (Tablo 1.1).

Tip I ekşi hamur: Geleneksel tekniklerle üretilmiş ekşi hamurdur. Temel özelliği sürekliliğidir. Mikroflorasını canlı ve aktif tutabilmek için günlük olarak tazeleme işlemi yapılır. Mikroflorası yüksek metabolik aktivite gösterir. Mikrofloranın canlandırılması işlemi 20–30 °C’de oda sıcaklığında gerçekleştirilir ve ekşi hamurun final pH’sı 4.0-4.5 oluncaya kadar devam ettirilir.

Tip I ekşi hamur kendi içinde üç sınıfa ayrılmaktadır:

Tip Ia: Farklı kaynaklardan starter LAB’leri ile hazırlanan saf kültür ekşi hamurlardır.

Tip Ib: Buğday, çavdar veya bunların karışımlarından çok kademeli fermentasyon işlemiyle hazırlanan, kendiliğinden fermente olan (spontan fermentasyon) ekşi hamurlardır.

Tip Ic: Tropikal bölgelerde yüksek sıcaklıklarda üretilen ekşi hamurlardır.

Tip II ekşi hamur: Hızlandırılmış, tek aşamalı ve sürekli çoğaltmanın yapıldığı bir fermentasyon türüdür. Bunun için de 30 °C’den daha yüksek sıcaklıklarda uygulama yapılarak 24 saat sonunda pH 3.5’ un altına düşmüştür. Yarı akışkandır ve hamura asitlik verici olarak kullanılır. Bu noktada mikroorganizmaların gelişimi sabit fazın ilerisindedir ve sınırlı metabolik aktivite gösterirler. Farklı türde hızlandırılmış ekşi hamur prosesleri mevcuttur. Daha çok yöresel fırınlarda kullanılır.

Tip III ekşi hamur: Tanımlanmış starter kültürler tarafından fermente edilmiş, toz formdaki kurutulmuş ekşi hamurdur. Ekmek yapımında asitlik verici ve aroma taşıyıcı olarak kullanılır. Çoğunlukla kurumaya karşı dayanıklı ve toz formda canlılığını

sürdürebilecek, heterofermentatif *Lactobacillus brevis*, fakültatif heterofermentatif *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus pentosaceus* gibi LAB'lerini içerir.

Tablo 1.1. Ekşi hamur çeşitleri ve içerdikleri LAB'leri [11]

TipIa	TipIb	TipIc	TipII	TipIII
Obligat heterofermentatif	Obligat heterofermentatif	Obligat heterofermentatif	Obligat heterofermentatif	Obligat heterofermentatif
<i>L. sanfranciscensis</i>	<i>Lactobacillus spp.</i> <i>L. brevis</i> <i>L. buchneri</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. fructivorans</i> <i>L. pontis</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. sanfranciscensis</i> <i>W. cibaria</i>	<i>Lactobacillus spp.</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. reuteri</i>	<i>L. brevis</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. frumenti</i> <i>L. pontis</i> <i>L. panis</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. sanfranciscensis</i> <i>W. confusa</i>	<i>L. brevis</i>
Fakültatif heterofermentatif			Fakültatif heterofermentatif	
<i>L. alimentarius</i> <i>L. casei</i> <i>L. paralimentarius</i> <i>L. plantarum</i>			<i>L. plantarum</i> <i>P. pentosaceus</i>	
Obligat homofermentatif	Obligat homofermentatif	Obligat homofermentatif	Obligat homofermentatif	
<i>L. acidophilus</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>L. farciminis</i> <i>L. mindensis</i>	<i>L. amylovorus</i>	<i>L. acidophilus</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>L. amylovorus (rye)</i> <i>L. farciminis</i> <i>L. johnsonii</i>		
Maya	Maya	Maya	Maya	Maya
<i>C. humilis</i> (<i>T. holmii</i> , <i>C. milleri</i>) <i>S. exiguus</i>	<i>C. humilis</i>	<i>I. orientalis</i> (<i>C. krusei</i>)	Maya yok <i>S. cerevisiae</i> eklenebilir.	
<i>C:Candida</i> , <i>S:Saccharomyces</i> ,	<i>I:Issatchenkia</i> , <i>T:Torulopsis</i> ,	<i>L:Lactobacillus</i> , <i>W:Weissella</i>	<i>P:Pediococcus</i> ,	

1.1.2. Ekşi hamur mikroflorası ve metabolitleri

Ekşi hamur, mayalanmış ekmeklerin en eski ve en özgün şeklidir. Ekşi hamur parçası depolanırken, doğal olarak unda bulunan LAB'nin metabolik aktivitesi nedeniyle laktik asit fermentasyonu meydana gelmektedir. Ekşi hamurda bulunan mikroorganizmalar, iki bölümde incelenmektedir. Birincisi; hamurun ekşimesini sağlayan bakterilerdir. Bakterilerin çoğu *Lactobacillus* cinsine ait türler teşkil etmektedir. LAB'leri

metabolitlerine göre homofermantatif ve heterofermantatif olmak üzere iki bölüme ayrılırlar. Homofermantatif LAB bakterileri fermentasyonda şekeri kullanarak laktik asit ve düşük miktarda diğer ürünleri oluştururken; heterofermantatif olanlar laktik asit yanı sıra önemli düzeyde asetik asit, CO₂, alkol ve diğer uçucu bileşikler meydana getirirler [11]. İkinci olarak hamurun mayalanmasını ve kabarmasını sağlayan mayalar incelenmektedir. Ekşi hamur kompozisyonunda maya/bakterilerin oranı genel olarak 1/100 olarak kabul edilmektedir. Bu konuda Gobetti *et al.* tarafından yapılan ilk çalışmalarda ekşi hamurun LAB'den *L.brevis*, *L.sanfrancisco*, *L.plantarum*, *L.pontis*, *L.fructivorans*, *L.delbrueckii*, *L.fermentum*, mayalardan ise *S.cerevisiae*, *S.inustatus*, *Torulopsis holmii* içerdiğini tespit etmişler, oldukça stabil olan bu bileşimde mayaların laktobasillerden 10-100 kat daha az olduğunu belirlemişlerdir [12].

Ekşi hamur mikroflorasının tanımlanmasına yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Farklı ülke, bölge veya ekmek türlerine göre yapılan bu çalışmalarda *L.plantarum*, *L.brevis*, *L.fermentum*, *L.sanfrancisco* gibi yaygın LAB'lerinin yanı sıra farklı birçok LAB'nin de bulunduğu görülmektedir.

Bu alanda yapılan ilk çalışmalardan Spicher *et al.*'nin araştırmasında, ekşi hamur mikroflorasının laktobasil ve mayalardan meydana geldiği belirlenmiş, *Thermobacterium* (*L. acidophilus*) *Streptobacterium* (*L. casei*, *L. plantarum*, *L. farciminis*, *L. alimentarius*) ve *Betabacterium* (*L. brevis*, *L. büchneri*, *L. fermentum*) gruplarına ait 10 adet homo ve heterofermantatif *Lactobacillus* türü tespit edilmiştir [13]. Ekşi hamur ekmeğinde kullanılan İtalyan ekşi hamurları incelendiğinde ise *Lactobacillus* türlerinden; *Lb. sanfrancisco*, *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum* ve *Lb. alimentarius* içerdikleri tespit edilmiştir. İncelenen ekşi hamurlarda LAB'leri ile beraber *S. exiguus*, *Candida humilis* ve *Candida krusei* maya türleri de tespit edilmiştir [14]. Corsetti *et al.* ile Galli *et al.*'nin yapmış oldukları çalışmalarda ekşi hamurlarda genel olarak bulunan 9 maya türü tespit edilmiştir. Bunlar; *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Torulaspora*, *Trichosporon*, *Saccharomyces* ve *Sporobolomyces*' dir [14,15].

Ekşi hamurda mikrofloranın gelişmesi ve pH değişiklikleri üzerine yapılan bir çalışmada mikrofloranın çoğunun LAB'si olduğunu tespit edilmiş, pH 4.13'de 1 g hamurda 1×10^5 kob/g bakteri bulunmuş ve bakteri gruplarından homofermentatif *Lactobacillus* türlerinin ve *P.pentosaceus*'un baskın olduğu belirlenmiştir [16].

Aynı yöntemle yapılan ekşi hamurlardaki mikrofloranın ülkeden ülkeye hatta bölge bazında da değişim gösterdiği de tespit edilmiştir. İtalya'da çavdardan üretilen Panttone ekşi hamurunda *L. brevis*, *L. hilgardii*, San Francisco ekşi hamurunda ise *L. reuteri* ve *L. curvatus* tespit edilmiştir. Alman ekşi hamurlarında *L. casei* ve *L. curvatus* türleri ve İsviçre'de üretimi yapılan çavdar ekşi hamurun da ise *L. casei* ve *L. curvatus* tanımlanmıştır [17]. Gül vd. tarafından yapılan bir çalışmada ise Isparta yöresindeki farklı fırınlardan 14 adet ekşi hamur örneği toplanmış ve örneklerden izole edilen LAB ve mayaların ekmek üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmaları sonucunda izolatların; *L. divergens* (%6.1), *L. brevis* (%15.1), *L. amylophilus* (%6.1), *L. sake* (%6.1), *L. acetotolerans* (%6.1), *L. plantarum* (%3.0), *P. halophilus* (%3.0), *P. pentosaceus* (%6.1), *P.acidilactici* (%6.1) bakterilerinin yanı sıra *S. cerevisiae* (%27.0), *S. delbrueckii* (%2.7), *T. holmii* (%10.8) ve *T. unisporus* (%2.7) maya türleri tespit edilmiştir [18].

Ankara, Bursa ve Trabzon illerinden toplanan ekşi hamur numunelerinden izole edilen bakterilerde 150 tane *Lactobacillus* türü ve alt türü bulunmuştur. Biyokimyasal, morfolojik ve kültürel testlerin sonucunda ekşi hamurda en fazla tespit edilen türlerin *L. alimentarius* (31 adet) ile *L. plantarum* (21 adet) ve sayı olarak en az tespit edilen tür ise *L. amylovorus* (1 adet)'tur. Alt türlerin sayıları 3-10 arasında değişiklik sergilemektedir. Bunlar 10 adet *L. sake*, 9 adet *L. acidophilus* ve *L. fermentum*, 8 adet *L. curvatus* ve *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, 7 adet *L. farciminis*, *L. casei* spp. *casei* ve *L. helveticus*, 6 adet *L. collinoides* ve *L. buchneri*, 4 adet *L. brevis*, *L. amylophilus*, *L. reuteri* ve *L. viridescens*'tir [19].

1.1.2.1. Laktik asit bakterileri (LAB)

LAB, terimi uzun yıllar boyunca “süt ekşitici organizmalar” terimi ile aynı anlamda kullanılmıştır. Ayrıca son yıllarda çok çeşitli fermente ürünlerin üretiminde rol oynayan en önemli endüstriyel mikroorganizmalar olarak bilinmektedirler [20]. LAB’leri, laktozu fermente ederek temelde laktik asit meydana getirmeleriyle karakterize edilen, gram pozitif ve katalaz negatif bakterilerdir. Homofermentatif LAB’leri fermente ürün olarak sadece laktik asit oluştururken, heterofermentatif tipler laktik asitten başka etil alkol ve karbon dioksit ile asetat, format ve süksinat oluşturmaktadır. Ekşi hamur mikrobiyotasında heterofermentatif LAB’nin bulunması son metabolit çeşitliliğine bağlı olarak, etkin asidifikasyon, enzim aktivitesi, renk ve tekstürel niteliklerde gelişim sağlamaktadır. Heterofermantatif *Lactobacillus* spp. ile yapılan ekşi hamurlarda, homofermantatif türlere göre daha yüksek asitlik ve daha düşük pH değeri ve ekmekte daha güçlü, aromatik lezzet sağladığı belirtilmektedir [11].

Genel olarak LAB’leri grubunda *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ve *Leuconostoc* cinsleri incelenmekte iken son yıllarda yapılan çalışmalar sonucu *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Weissella* ve *Vagococcus* cinsleri de bu grupta incelenmeye alınmışlardır. Yine son yıllara ait çalışmalarda bu grupta *Aerococcus*, *Oenococcus*, *Atopobium*, *Dolosigranum*, *Tetragenococcus*, *Alloiococcus* ve *Gemella* gibi yeni cins isimlerine rastlanmakta ise de bu cinslerle ilgili taksonomik çalışmaların henüz tamamlanmadığı belirtilmektedir [21].

LAB’leri gıda teknolojisi açısından çok önemli bir yere sahiptir. Bunlar özellikle yoğurt, kefir, kıymız gibi fermente süt ürünleri, ekmek boza, tarhana gibi tahıl ürünleri salatalık turşusu ve salamura yeşil zeytin gibi fermente bitkisel ürünler, ve bunun yanında şarap, sucuk, balık sosu gibi pek çok ürünün olgunlaştırılması, üretimi ve dayanıklılığının sağlanmasında rol oynarlar [22]. LAB’leri yüzyıllar boyunca fermantasyon işlemlerinde yeni besinlerin üretimi ve bozulabilir gıda ürünlerini korumak için kullanılmışlardır. Fermente ürünlerin ana tipleri LAB’leri tarafından gerçekleştirilen laktik asit fermentasyonu sonucu meydana gelmektedir.

Ekşi hamurda *Lactobacillus* cinsine ait türler hamurda bulunan bakterilerin büyük bölümünü temsil etmektedir. Ekşi hamur fermantasyonunda bulunan *Lactobacillus* türleri Tablo 1.2. de gösterilmiştir [23].

Tablo 1.2. Ekşi hamur fermentasyonunda bulunan *Lactobacillus* türleri [23]

Obligat heterofermentatif	Fakültatif heterofermentatif	Obligat homofermentatif
<i>L. acidifarinae</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. amylovorus</i>
<i>L. brevis</i>	<i>L. pentosus</i>	<i>L. acidophilus</i>
<i>L. buchneri</i>	<i>L. alimentarius</i>	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>delbrueckii</i>
<i>L. fermentum</i>	<i>L. paralimentarius</i>	<i>L. farciminis</i>
<i>L. fructivorans</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. mindensis</i>
<i>L. frumenti</i>		<i>L. crispatus</i>
<i>L. hilgardii</i>		<i>L. johnsonii</i>
<i>L. panis</i>		<i>L. amylolyticus</i>
<i>L. pontis</i>		
<i>L. reuteri</i>		
<i>L. rossiae</i>		
<i>L. sanfranciscensis</i>		
<i>L. siliginis</i>		
<i>L. spicheri</i>		
<i>L. zymae</i>		

Ekşi hamurda *Lactobacillus* cinsine ait türler hamurda bulunan bakterilerin büyük bölümünü temsil etmektedir. *Lactobacillus*'larla birlikte, *Pediococcus* sp., *Leuconostoc* sp. ve *Streptococcus* sp. cinslerine ait bakteri türlerini ihtiva etmektedir. Ekşi hamurun fermentasyonu sırasında, çeşitli türdeki LAB farklı substratları kullanarak pentoz şekerlerin asetik asit ve süt asidine dönüştürmektedir [24]. Ekmek hamuru fermentasyonunda rol oynayan LAB bakterilerden *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* gibi türler çeşitli araştırmacılar tarafından izole edilmiş ve zamanla farklı tip ekmeklerdeki ürün gelişimininde rol oynayan kuru-donmuş formda ticari kültür preparatların üretimine geçilmiştir. Bunlardan *L.brevis*, *L. plantarum*, *L.delbrueckii*, *L.sanfranciscensis*, *L. fermentum* starter kültürlerinin bazı spesifik özellikleri vardır;

***L. brevis*:** Birçok çeşit ekmek üretiminde kullanılan “heterofermantatif” yani fermentasyon sonucunda laktik asit oluşumunun yanı sıra asetik asit, etanol ve diğer aromatik bileşiklerin oluşumunu sağlayan bir bakteridir. Bu kültüre asetik asit oluşumu koruyucu özellik vermektedir. Asetik asit: Laktik asit oranı 1/4’dür.

***L. plantarum*:** Buğday ve çavdardan hazırlanan ekşi hamurun baskın homofermentatif türlerindendir ve özellikle heksozlardan laktik asit üretirler. Bazı pentozonlardan, laktik asit, asetik asit ve/veya etanol üretmesiyle fakültatif heterofermentatif olarak da değerlendirilebilmektedir [25]. *L. plantarum*' da ılımlı proteolitik aktivitesi, hızlı asit üretimi ve ekşi hamur fermentasyonu boyunca uçucu aromatik bileşiklerin oluşumunu sağlamasından dolayı ekşi hamur üretiminde kullanılmaktadır [18]. *L. plantarum* fermentasyonda maltoz ve glikozu tercih ederken sükrozu daha az kullanmaktadır. Glutamik asit, izolösin ve valin *L. plantarum*'un çoğalabilmesi için gereklidir [26]. Yumuşaklığının yanında ekşimsi tadın az miktarda hissedilmesi istenen ekmek çeşitleri için uygundur. Hızlı asitlenme sağlayarak ekmekte iyi bir tekstür oluşturur. Bilimsel ve ticari kuruluşlarca yapılan denemelerle bu bakteri kültürünün Türk tipi ekmekçilikte, Türk damak tadına hitap eden tat ve aromayı sağladığı görülmüştür. Ayrıca ekşi hamurun dondurulması durumunda asetik asitin kaybolacağı belirtilmektedir [27]. Dondurulacak ekşi hamurların *L. plantarum* ile fermente edilmesi durumunda da asidifikasyon oranının, titrasyon asitliğinin ve asetik asit içeriğinin geleneksel ekşi hamurlara göre artacağı belirtilmektedir [28].

***L. delbrueckii*:** Ekşi hamurla elde edilen ekmeğe yumuşaklık verir ve arzu edilen aromanın oluşmasına da katkıda bulunur. Bu kültür, beslenme için önemli olan L(+)-laktik asit oluşturmasıyla önem taşır. Düşme sayısı değeri düşük olan çavdar unlarında asitlendirme için uygun olduğu, istenilen tat ve aromayı sağladığı görülmüştür [29].

***L. sanfranciscensis*:** Laktik ve asetik asiti maltozdan üreten zorunlu heterofermentatif bir LAB olan *L. sanfranciscensis*, ekmekte, asit üretimiyle ekşi tattan ve gaz üretimiyle de hamurun kabarmasından sorumludur. *L. sanfranciscensis*'in proteolitik sistemi proteinaz, dipeptidaz ve aminopeptidazları bünyesinde bulundurmaktadır. Aynı zamanda *L. sanfranciscensis*'nin çeşitli suşlarının glutene karşı proteolitik aktivitesine bakıldığında buğday proteinleri üzerine hidroliz etkisinin zayıf olduğu görülmüştür [12].

L. sanfranciscensis ile ekşi hamur mayaları arasında çok sıkı besinsel ilişki mevcuttur. *L. sanfranciscensis*'in ekşi hamurdaki gelişimi, mayalar tarafından ortama bırakılan spesifik amino asitlerin ve peptidlerin varlığı ile ilgilidir. Amino asitlerin mayalar tarafından serbest bırakılması, esansiyel amino asitler (valin ve izolösin) bakımından eksik olan bir ortamda bile, *L. sanfranciscensis*'in gelişimini mümkün kılar [30].

***L. fermentum*:** İnsan sindirim sisteminde görevli en önemli heterofermentatif bakterilerden biridir. Optimum gelişim sıcaklığı 45°C'dir. *L. fermentum* süt ürünleri, ekşi hamur, fermente sebzeler, gübre, dış çürükleri ve dışkı gibi farklı kaynak ve gıdalardan elde edilir. Probiyotik etkisinden dolayı bebek ve yetişkinlerde diyare üzerinde de olumlu etkiler göstermektedir [31]. *L. fermentum*, asit ortamlarında yaşayabilme özelliklerin dolayı insan sindirim sisteminde canlı kalabilmektedirler. Ayrıca, *Salmonella* Enteritidis ve *Escherichia coli* gibi patojen bakterilerinin gelişimini önleyici özelliği de bulunmaktadır [32].

1.1.2.2. Mayalar

Mayalar, tek hücreli, eşeysiz üreyen, mikroorganizmalardır [33]. Mayalar genellikle yuvarlak, silindirik veya oval şeklinde hücre morfolojisine sahip olup geniş bir pH aralığında (pH 2.0-9.0) ve max. %18'e kadar etil alkolde dahi üreyebilen mikroorganizmalardır. Aynı zamanda birçoğu %55-60 şeker ve yüksek tuz konsantrasyonuna sahip ortamlarda bile gelişebilmektedir [34]. Mayalar doğadaki hava, su, toprak bitki ve hayvanlarda yaygın olarak bulunmaktadır. İşlenmiş veya işlenmemiş toprak, birçok maya türünü ihtiva etmekte ve gıda kontaminasyonunda kaynak sayılacak bir depo durumundadır [35]. Mayalar enzimatik aktiviteleri sonucu fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri etkileyerek gıdalarda bozulmaya neden olurlar. Ancak mayaların şekerleri kullanarak anaerobik yolla etil alkol ve CO₂ üretmesi sayesinde gıda sanayinde alkollü içecekler, ekmek, peynir yapımı gibi önemli ürünlerin meydana gelmesini sağlamaktadır [35]. Mayalardaki diğer bir metabolizma şekli ise, aerobik ortamda çok çeşitli besin öğelerini kullanarak enerji elde etmesi ve biyokütlesini artırmasıdır [33]. Mayaların olumsuz yönleri ise fermentasyon, asimilasyon, lipolitik ve proteolitik reaksiyonlar sonucu gıdalarda istenmeyen lezzet ve doku bozukluklarına sebep olmalarıdır [36].

Mayaların gelişip çoğalabilmesi için başta su olmak üzere karbon ve azot maddeleri, madensel maddeler ve vitaminler gereklidir. Mayalar ortamda bulunan şeker kaynağından karbonlu gıda maddeleri alır. *S. cerevisiae* glikozu parçalamak amacıyla fruktoz-di fosfat yolunu kullanır ve bu yol sonucunda bir molekül glikozdan iki molekül etanol üretir ve bu esnada karbondioksit açığa çıkar. Mayalar bu özellikleriyle endüstride hamuru fermente etmek ve ekmeği kabartmak için kullanılırlar [37]. Ekşi

hamurda ise kabarmayı ve alkol fermentasyonunun etkin olmasını sağlayan organizmalar mayalardır [30].

Mayalar ekşi hamurda LAB ile beraber bulunmaktadır ve maya/LAB oranı genellikle 1/100 dür [30]. Ekşi hamur mikroflorası içerisinde oransal olarak az bulunmalarına rağmen yapılan identifikasyon çalışmalarında çeşitlilik gösterdikleri tespit edilmiştir. Ekşi hamurda identifiye edilmiş bazı maya türleri *Pichiaa nomala*, *Saturnispora saitoi*, *Torulaspora delbrueckii*, *Debaryomyces hansenii* ve *Pichia membranifaciens* [38] ile *Saccharomyces*, *Candida*, *Pichia* ve *Torulopsis* cinsleridir [13]. Ayrıca ekşi hamurun maya florasında, *S. cerevisiae*'nın yanında *C. milleri* ve ona yakın türler bulunduğu belirtilmektedir [39].

Yapılan çalışmlarda farklı mayalar tespit edilmekle birlikte maya popülasyonunun büyük bölümünün *S.cerevisiae* olduğu bilinmektedir. [40]. Ekşi hamurun doğal mikroflorasında bulunan bu maya türünün aynı zamanda ekmek yapımı sırasında ekşi hamurla bir arada kullanımı, ekşi hamur ekmeğinin kalite niteliklerini arttırmakta ve olumlu sonuçlar vermektedir. Bunun maya ve LAB'leri arasındaki olumlu interaksiyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Beş maya ve altı laktik asit bakterisinin etkileşimi ve ekmek kalitesi üzerine yapılan bir çalışmada *S.cerevisiae* içeren tüm maya kombinasyonlarının yüksek kalitede ekmek verdiği tespit edilmiştir. Farklı mayalarla birlikte LAB'nin kullanıldığı kombinasyonlar arasında sadece *S. cerevisiae* ile olan karışımların ekmeğin pişme yeteneğini artırdığı belirlenmiştir [41].

1.1.2.3. Ekşi hamurda mikrobiyal interaksiyon

Ekşi hamur kompozisyonunda maya ve bakterilerin oranı 1/100 dür [30]. Bu ortak yaşam farklı maddeleri kullanabilme, birbirlerinin kullanabilecekleri metabolitleri üretme sistemi üzerine kurulmuştur. Örneğin, *C. milleri* haricinde birçok maya maltozu metabolize edebilme yeteneğine sahiptirler. Laktobasiller için gerekli olan şeker hamur içinde bulunan amilaz enziminin aktivitesi sonucu açığa çıkan maltozdan sağlanır. Maya, hamurun ihtiva ettiği diğer tüm şekerlerden faydalanabilir. Böylece maya ve laktobasiller maltoz fasforilaz enzimiyle maltozu sindirerek ortama glikoz bırakır. Aynı zamanda laktobasiller hamur içerisindeki kontamine mikroflorayı yok eden bir antibiyotik olan cycloheximide salgılayarak birçok mikroorganizmayı öldürür. Fakat *C. milleri* cycloheximide dirençlidir. *C. milleri*, laktobasillerin meydana getirdiği asetik

asite orta derecede dayanıklıdır. Laktobasiller canlı olmayan maya hücrelerinin oluşturduğu bazı aminoasit ve yağ asitlerine de ihtiyaç duyarlar [42].

Ekşi hamurda laktobasiller ve mayalar arasında kararlı bir mikroflora oluşur. Çünkü bu mikroorganizmalar arasındaki metabolik etkileşimin yanısıra, temelde pH, organik asit, sıcaklık gibi gelişme gereksinimleri de interaksyon gösterir. Bazı ekşi hamurlarda LAB'leri ve mayalar ortamdaki mevcut kaynaklar için rekabet gösterirler ve sonuçta heterojen bir popülasyon oluşur ki bu durum ortam kaynaklarının ve çevre koşullarının bir sonucudur. Yapıda mikrobiyal birlikler oluşur. Örneğin LAB'leri ön-ekşi hamurun içerisinde kontaminant durumundadırlar. Daha sonra ekmek mayasının ilavesiyle mikroflora değişir [43]. Sonuç olarak son ürün organoleptik özellikleri etkilenir. Benzer şekilde seçilmiş starterlerin kullanımı fermentasyon metabolitlerini etkiler ve son ürün özellikleri spontan ekşi hamur kullanılan ürünlere göre daha farklı olur.

Laktobasiller ve mayalar arasındaki antogonistik ve sinerjistik etkileşim karbondioksit üretimi, amino asitler ve karbonhidratların metabolizmasını temel aldığından dolayı önemlidir [44]. Örneğin tipik karşılıklı birlikler *L. sanfranciscensis* ve *S. exiguus* veya *C. humilis* içerirler [45].

Maltoz, *L. sanfranciscensis* tarafından enerji kaynağı olarak tercih edilirken, *S. exiguus* veya *C. humilis* tarafından kullanılmaz. Çünkü bu mayalar maltoz negatif mayalardır ve sükroz, glukoz ve fruktozu kullanırlar. Maltoz, sürekli un amilazları tarafından sağlanır. Maltozun ortamda fazla bulunması ve stres koşulları altında, *L. sanfranciscensis* türünün bazı suşları maltozu, ATP harcaması olmadan intraselüler maltoz fosforilaz aktivitesi yoluyla hidrolize eder. Ortamda glikoz birikmeye başlar [46]. Bu glikoz ekolojik sistemi etkiler, kendi üreticileri tarafından, diğer LAB'leri tarafından ve mayalar tarafından metabolize edilir [47]. Glikoz daha sonra maltoz-negatif mayalar tarafından da kullanılabilir. Maltozun ve özellikle de glikozun *S. cerevisiae* tarafından hızlı tüketiminden dolayı *L. sanfranciscensis*'in metabolizmasında bir düşüş beklenir.

Maya ve LAB'leri arasındaki etkileşimin dengeli olması mikroorganizmanın şekeri kullanma, metabolit çeşitliliği, ortamdaki metabolitleri kullanabilme yeteneği gibi özelliklerine bağlıdır. Bu interaksyon, son ürün niteliklerini de direkt olarak etkilemektedir. Hansen *et al.* tarafından yapılan bir çalışmaya göre *L. sanfranciscensis*, *L. plantarum*, and *S. cerevisiae* ile yapılan ekşi hamur ekmeklerinde dengeli bir aroma profilinin oluştuğu bildirilmiştir. Ekşi hamura *L. sanfranciscensis* ve diğer homo ve

heterofermentatif laktik asit bakterileri ile ya da *S. exiguus* ile başlandığında son üründe dengeli bir aroma profili elde edilebileceği belirtilmektedir [48]. Ancak yalnızca *L. sanfranciscensis* ve *S. cerevisiae* ile başlamış bir ekşi hamur üründe bir süre sonra yüksek konsantrasyonda maya fermentasyon ürünlerinin ve düşük miktarda bakteriyel bileşiklerin üretildiği görülecektir [27].

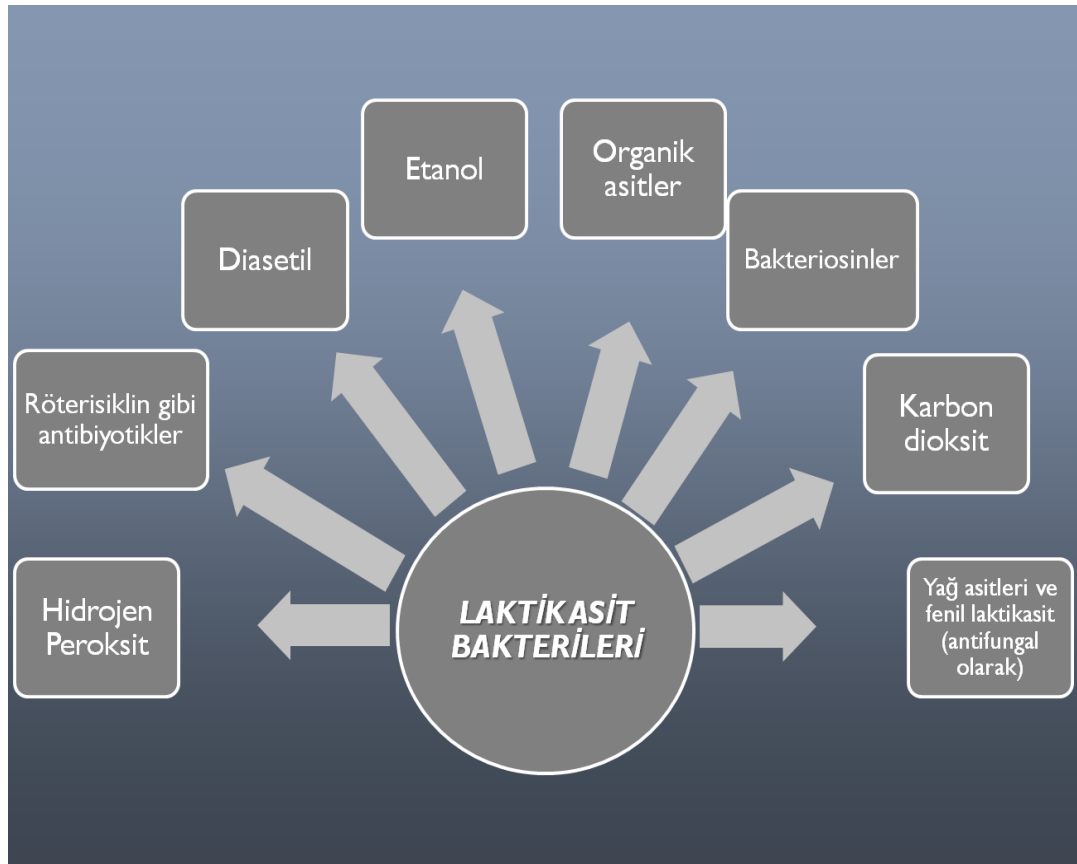
Ekşi hamur fermentasyonu boyunca değişken proses koşulları, mikrofloranın bundan etkilenme düzeyi ve mikroflorayı oluşturan mikroorganizmaların bireysel tür özellikleri ve etkileşimleri de göz önünde bulundurulduğunda, maya ve LAB'leri arasındaki interaksiyonun oldukça kompleks olduğu görülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar ko-kültürle yapılan fermentasyonların mono-kültürle yapılanlara göre daha başarılı olduğunu göstermektedir. *L. brevis* spp. *lindneri* CBI, *L. plantarum* DC400 ve *S. cerevisiae*, *S. exigus* ile yapılan bir araştırmada her iki LAB'nin ko-kültürle verdikleri fayda ve büyüme oranının, onların ayrı ayrı mono kültürlerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. LAB ve maya ko-kültürleri bir arada inkübasyona bırakılmış, LAB'sinin gelişmesi için esansiyel olan valin ve lösin aminoasitlerinin olmadığı bir besi yerinde gelişebilmişlerdir. LAB'nin gelişimi, mayalar tarafından bu aminoasitlerin sağlanması sayesinde olmuştur. Sonuç olarak mayaların, LAB hücre oluşumunu artırmak için gerekli aminoasitleri sağladıkları ve sentezledikleri tespit edilmiştir [30].

Ekmek sertliği ve bayatlaması üzerine katkıların ve ekşi hamur LAB'lerinin kombine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada *S. cerevisiae* tarafından fermente edilen hamurun kimyasal asidifikasyonu veya ekşi hamur kullanımı durumunda, yalnızca *S. cerevisiae* ile üretilen ekmeklerden daha fazla hacim elde edildiği belirlenmiştir [8].

1.2. Ekşi hamur fermentasyonu: Metabolitler ve biyokimyasal değişiklikler

1.2.1. Ekşi hamur fermentasyonu sonucu oluşan bazı metabolitler

Ekşi hamur fermentasyon sonucu LAB'leri tarafından üretilen metabolitler Şekil 1.1 de gösterilmektedir.



Şekil 1.1. Ekşi hamur fermentasyonu sonucu oluşan metabolitler

1.2.1.1. Organik asitler

LAB, heksozlardan homofermentasyon yoluyla laktik asit; heterofermentasyon yoluyla laktik asit, asetik asit, etanol ve CO₂ sentezlemektedir. Zayıf asitler olan laktik asit ve asetik asit ortam pH'sını düşürerek bozulma etkeni ve patojen mikroorganizmaların gelişimini sınırlandırmaktadır [49]. Zayıf asitler düşük pH değerinde güçlü antimikrobiyal etki gösterir [50]. Asetik asit maya, küf, bakterilere karşı daha etkilidir [51]. Laktik asit ortamın pH' sını düşürür ve hücre zarının geçirgenliğini artırır. Böylelikle diğer antimikrobiyal maddelerin aktivitesini güçlendirmektedir. Ayrıca laktik ve asetik asitin çözünmemiş formu, hidrofobik özelliği nedeniyle, hücre içinden geçerek hücre zarına nüfus etmektedir. Hücre içinde çözünmesi ve sitoplazmadaki pH düşüşü sonucu hücre ölümü meydana gelmektedir [13].

Heterofermentatif LAB tarafından üretilen organik asitlerin aroma profili üzerinde çok etkili olduğu bilinmektedir [5]. Asetik asit yalnızca kuvvetli bir aroma vermekle kalmaz, ekmekte bulunan aroma bileşiklerinin etkinliğini de artırır [2]. Aynı zamanda

düşük pH'lı ve yüksek oranda asetik ve laktik asit içeren ekşi hamur ekmeklerinin yüksek hacimli oldukları ve daha geç bayatladıkları bildirilmiştir [52]

Laktik Asit

Laktik asit, LAB'nin fermentasyonun yolu ile ürettikleri bir metabolittir ve mikroorganizmalar üzerine olumsuz etki yapmaktadır. Zayıf bir organik asit olan ve suda çözünabilir nitelikteki laktik asit, gıda endüstrisinde lezzet ve aroma verici, asitlendirici, pH düzenleyici ve koruyucu olarak kullanılmaktadır. Gıdalarda doğal olarak bulunduğu gibi ekşi hamur, zeytin, peynir gibi gıdaların fermentasyonu sırasında mikroorganizmalar tarafından da sentezlenmektedir [50].

Asetik Asit

Asetik asit heterofermentatif LAB türlerinin glikoz metabolizması sonucu açığa çıkan ürünlerden biridir. Maya, küf ve bakterilere karşı güçlü inaktivasyon özelliğine sahiptir. Düşük pH değerine etkilidir. Laktik asit ile kıyaslandığında asetik asitin antimikrobiyal aktivitesi daha güçlüdür [53].

Propionik Asit

Heterofermentatif LAB türleri tarafından çok az bir miktarda sentezlenebilmektedir. Çözünürlük sabiti (pKa 4.87) laktik asit ve asetik asitten daha yüksektir. Daha güçlü antimikrobiyal özellik göstermektedir. Antimikrobiyal özelliğinden dolayı gıdalarda yenabilir kaplama veya film olarak kullanılmaktadır [50].

1.2.1.2.Hidroksi yağ asitleri

Hidroksillenmiş yağ asitlerinin etki alanı çok geniştir. Özellikle küf mayalara karşı güçlü inaktive edici antifungal özelliktedir. Bakterinin ürettiği hidroksillenmiş yağ asiti konsantrasyonu ile bakterinin gelişiminin orantılı arttığı görülmüştür, bu durum ortamdaki hidroksi-yag asiti salımının hücre lizisinden bağımsız olduğunu göstermektedir [8]. Leylak çiçeğinden izole edilen *Kluyveromyces*, *Phichia*, *Rhodotorula* türlerine karşı etkili olan *L. plantarum* MiLAB 14 suşunun, hidroksi yağ asitlerini (3-hidroksidekanoik asit, 3-hidroksi-5-cis-dodekanoik asit, 3-hidroksi dodekanoik asit, 3-hidroksitetradekanoik asit) sentezlediği belirlenmiştir [54].

1.2.1.3. Hidrojen peroksit

LAB'leri üremeleri sonucu hidrojen peroksit oluştururlar. Yapılan bir çalışmada, bazı bakterilerin ve patojen mikroorganizmaların üremesini kontrol eden çeşitli antimikrobiyal maddeler oluşturdukları saptanmıştır [55]. Hidrojen peroksit, mikroorganizmaların enzim aktivitelerin bozulmasına, enzimlerin kimyasal yapısının, biyokimyasal karakterinin ve aktivitelerin değişikliğe uğramasına ve böylece enzimlerin inaktive olmasına neden olur. Yapılan bir çalışmada *L. sake* ATCC 15521 *L. plantarum* ATCC 14917 ve *L. lactis* NCDO 280 bakterilerin hidrojen peroksit oluşturduklarını tespit etmiştir [56]. Bir başka çalışmada ise, *L. plantarum*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. curvatus* ve *L. casei* türlerinin meyve suyu besi yeri ortamında ürettiği organik asit, H₂O₂ miktarları araştırılmıştır. Ana fermentasyon ürünü olan organik asitler arasında laktik asitin en yüksek düzeyde olduğu belirlenmiş, 0.25–1.77 mg/L aralığında değişen miktarlarda H₂O₂ üretimi tespit edilmiştir [57].

1.2.1.4. Bakteriosin

Hücre sitoplazmasındaki ribozomlar tarafından sentezlenen, hassas mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösteren, peptit yapılı moleküllere bakteriosin denir. Bakteriosinler protein yapılı olduğu için proteaz enzimine karşı hassas yapıdadırlar ve fermente gıdaların ekosisteminin oluşmasına katkıda bulunmaktadır [58]. LAB tarafından bakteriosinlerin üretimi *in vitro* şartlarda belirlenmiş, saflaştırma ve karakterizasyonları yapılmıştır. Örneğin plantartisin ST31 *L. plantarum* [59] ve bavarisin A, *L. bavaricus* MI401 [60] tarafından ekşi hamurda üretilmektedir. *L. pentosus* 2MF8 tarafından ekşi hamurda bakteriosin özelliğinde antimikrobiyal bileşik üretilmektedir. Ayrıca bakteriosin benzeri inhibitör maddelerin *Lactococcus lactis* spp. *lactis* M30 tarafından üretildiği ve hamurdan izole edildiği belirtilmiştir [61]. Ekşi hamur ekosisteminde yapılan bir çalışmada ekşi hamurun önemli suşlarından *L. sanfranciscensis*'in gelişmesi inhibe edilmezken, bazı LAB'lerinin önemli ölçüde gelişmelerinin engellendiği belirtilmektedir [62]. Daha sonra yapılan çalışmalarda bakteriosin benzeri bu inhibitör maddenin laktisin 3147 [52] olduğu ve ekşi hamur fermentasyonu sırasında LAB tarafından üretildiği belirlenmiştir [63].

Gıda endüstrisinde kullanılan redükte edici kimyasal koruyucuların yerine bakteriosinler kullanılabileceği de bildirilmektedir [64]. Gıda güvenirliliği açısından,

patojen mikroorganizmaların gıdalarda gelişiminin önlenmesi gerekmektedir. Gıdalarda gelişen patojen mikroorganizmalar üzerinde antagonistik mikroorganizmaların ve bakteriosin gibi antimikrobiyal maddelerin etkili olması nedeniyle, gıda güvenliğinde bakteriosin kullanımının önemi oldukça artmıştır. Bakteriosinlerin antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra, peptit veya protein yapılarında olmalarından dolayı mide salgılarından etkilenebildikleri ve insan vücudunda sindirilebilecekleri anlaşılmıştır. Bakteriosinlerin et ve süt ürünleri başta olmak üzere birçok gıdada kullanımı mümkün olmaktadır [65].

LAB'nin ürettiği bakteriosinlerin ekmekte, ekmek patojeni olan ve gıdalarda bozulmalara neden olan *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* gibi bakterilerin gelişmesini engellediği tespit edilmiştir [66]. Ekşi hamurdaki *L. pentosus* 2MF8 suşu tarafından da bakteriosin özelliğinde antimikrobiyal bileşik üretildiği [67], *L. bavaricus* MI401 tarafından bavarisin, *L. plantarum* tarafından da plantartisin adlı bakterioslerin üretildiği belirlenmiştir [68].

1.2.1.5.Reuterin (3-hidroksipropanal)

Anaerobik koşullarda heterofermentatif türlerin gliserolü fermente etmesi ile oluşmaktadır [69]. Oluşan molekül anaerobik ve aerobik ortamda aktivite gösterebilmektedir [70]. *L. brevis* ve *L. buchneri* gibi LAB'i türleri glikozu fermente ederken gliserol molekülünü elektron alıcısı olarak kullanmaktadır. Tek başına gliserolde gelişmemekte, glukoz bulunan ortamda da gliserol olmadan yetersiz gelişim göstermektedir [71].

1.2.1.6. Diasetil (2,3-butanedion)

Metabolik bir son üründür. Ortam asitliğinin diasetil antimikrobiyal aktivitesine direkt olarak etkisi görülmüştür. Yapılan bir çalışmada, pH 7.0'den düşük değerlerde diasetil aktivitesinin arttığı görülmüştür. 200 ppm düzeyinde mayalara, 300 ppm'de ise küflere karşı öldürücü olduğu tesbit edilmiştir. LAB' lerinin diğer bakterilere göre daha dayanıklı olduğu görülmüştür [70].

1.2.2. Ekşi hamur fermentasyonu ile meydana gelen biyokimyasal değişiklikler

Fermentasyon işleminden sonra karakteristik aroma ve tatlara sahip yeni ürünler meydana gelmekte, hem de gıdanın raf ömrü uzatılmış olmakta ve gıdalarda bozulma

kaynağı mikroorganizmaların gelişmesi önlenmektedir. Sonuç olarak gıda endüstrisinde, LAB'ların gelişimi ile birlikte oluşan enzimatik ve asidifikasyon işlemler çeşitli fermente gıdaların tat, koku, tekstür özelliklerini etkilemektedir. Ayrıca, üretmiş oldukları peptit yapısındaki “bakteriyosin” molekülü gıdalarda bozulmalara ve gıda kökenli enfeksiyonlara sebep olan bakterilerin gelişimini önlemekte ve böylece gıdanın raf ömrünü uzatmak için koruyucu işlev görmektedir.

Ekşi hamur prosesini normal ekmek üretiminden ayıran iki temel faktör vardır. Birincisi ekmek mayasının metabolik potansiyeline, LAB'nin varlığıyla heterojen bir mikroorganizma grubunun metabolik potansiyelinin de eklenmiş olmasıdır. İkincisi ise, ekşi hamur prosesi fermentasyon süresinin 8 saatten (sponç hamur aşaması) 144 saatin üzerine çıkan uzun bir süreç almasıdır. Normal ekmek prosesiyle karşılaştırıldığında bu uzun süreç, hamur aşamasında biyokimyasal dönüşüm için endojen enzimlere önemli katkı sağlar [72]. Ekşi hamur mikrobiyota metabolizması ve tahıl enzimlerinin aktivitesi birbirine bağlıdır. Meydana gelen asidifikasyon tahıl enzimlerinin aktivitesini, substratların özellikle gluten proteinlerinin ve fitatın çözünürlüğünü artırır. Ekşi hamur fermentasyonuna baskın olarak obligat heterofermentatif LAB hâkimdir [11]. Ekşi hamur fermentasyonu bazıları tek başına bazıları ise birbirini direkt veya dolaylı yoldan etkileyen biyokimyasal reaksiyonlar topluluğudur.

1.2.2.1. Asidifikasyon

Ekşi hamur fermentasyonu sonucu artan asitliğin etkisiyle aktivitesi artan enzimlerin özellikle buğdayın una öğütülmesi sırasında meydana gelen zedelenmiş nişastalar üzerine etki ederek bunları maltoz, glikoza parçalayabilmektedir. Fermentasyonla gelişen asidifikasyon sonucunda pH'nın 4.5'un altına düşmesi durumunda ise tahıl tane yapısında bulunan endojen amilaz enzimleri inhibe olur, ancak glikoamilaz bundan etkilenmez [72] Böylelikle unun amilaz aktivitesi azalmış olur ve düşme sayısı değeri yükselir [73].

Gelişen asidifikasyon ve düşük molekül ağırlıklı tiollerin birikimi nedeniyle gluten proteinlerinin çözünürlüğü ve enzimatik yıkıma karşı duyarlılıkları artar [72]. Tahıl enzimlerinin aktivitesi fitatın çözünürlüğünü de artırır [11].

1.2.2.2. Proteolitik aktivite ve protein degradasyonu

Ekşi hamurda bulunan proteolitik enzimler tahıl proteinlerini parçalar [74,75]. Proteoliz sonucu aminoasitler meydana gelir. Bu da öncül lezzet maddelerini oluşturur [7,13,76]. Gluten proteinleri hamurun dokusunu ve reolojik özelliklerini belirler. Gluten proteinlerinin bozulması ile gluten ağ oluşumu etkilenir [77]. Bu durum zayıf ve yapışkan bir hamur oluşturur. Gluten proteinlerinde ki küçük değişimler bile hamur yapısında önemli değişiklikler meydana getirir [78].

Ekşi hamur içerisinde proteolitik aktivite ile ilgili çeşitli teoremler ileri sürülmüştür, bunlar tahıl kaynaklı mayalar ve laktik asit bakterilerine göre değişmektedir. Proteolitik aktivitenin 1/3'ü tahıl kaynaklı mayalar tarafından gerçekleşmektedir [74]. Diğer çalışmalarda ise LAB tarafından üretilen proteinazlarla gluten proteinlerinden protein hidrolizatlarının oluştuğu belirtilmektedir [79,80]. Ekşi hamurda son alınan sonuçlar LAB'nin proteolitik etkinliği olduğunu da göstermektedir [75,81]. Asidik ortamda tahıl unlarındaki proteazların proteinleri, prolaminlere indirdikleri görülmüştür [82]. Bunlara ek olarak iyi bir hamurun reolojik özellikleri üzerine proteolitik enzimlerin rolü vardır [77,78,83].

Ekşi hamurda tahıl enzimleri uygun pH da glutenin ve gliadin proteinlerini hidrolize ederler; özellikle aspartik proteinaz aktivitesi bundan sorumlu tutulmaktadır [84,81]. Ayrıca ekşi hamur fermentasyonu sonucu gluten makro molekülleri oluşmaktadır [85]. Tahıl proteinazları pH 3.7 de aktif iken pH 5.5 de hiçbir aktivite gösteremezler. Yani proteinazların aktivitesi ekşi hamurların asitliği ile yakından ilgilidir. Ayrıca ekşi hamurda bulunan LAB proteinaz aktivitesine sahiptir. LAB'nin yüksek proteolitik aktivitesi için gerekli substrat ve gelişmelerini sağlayacak aminoasitlerin ortamda bulunması gerekir [86]. Ekşi hamur fermentasyonunda proteoliz sonucu aminoasitler meydana gelir. Genellikle ekşi hamur fermentasyonunda aminoasit konsantrasyonunu LAB'leri sağlar. Fakat serbest aminoasitler maya konsantrasyonunu azaltır. Hamur içerisinde ki aminoasit düzeyi fermente mikrofloranın fermentasyon süresine ve serbest aminoasit tüketimine bağlıdır [75].

Mikrofloranın proteoliz aktivitesi çok yüksek olursa aminoasit birikmesi meydana gelebilir. Glutamik asit, izolosin ve valin *L. plantarum* ile *L. brevis*'in gelişimi için gereklidir. Mayaların gelişebilmeleri için histidin, lisin ve sistein hariç tüm aminoasitler

ve peptitler gereklidir. Fermentasyon başlangıcında uygun olmayan pH da proteolitik aktivite düşüktür. Bu aşamada maya azotu kullanarak güçlü bir logoritmik faz ile gelişme gösterir. LAB'leri de uzun bir logoritmik fazda gelişim gösterirler fakat ilk 4 saat boyunca aktiviteleri yavaştır. Aminoasit birikmesi fermentasyonun son aşamalarında görülmez. Ekşi hamurda alifatik, dikarboksilik bileşikler ve hidroksi aminoasitlerin düzeylerini *L. brevis linderi*, *L. sanfranciscensis*, *L. brevis* ve *L. plantarum* türleri artırır [30].

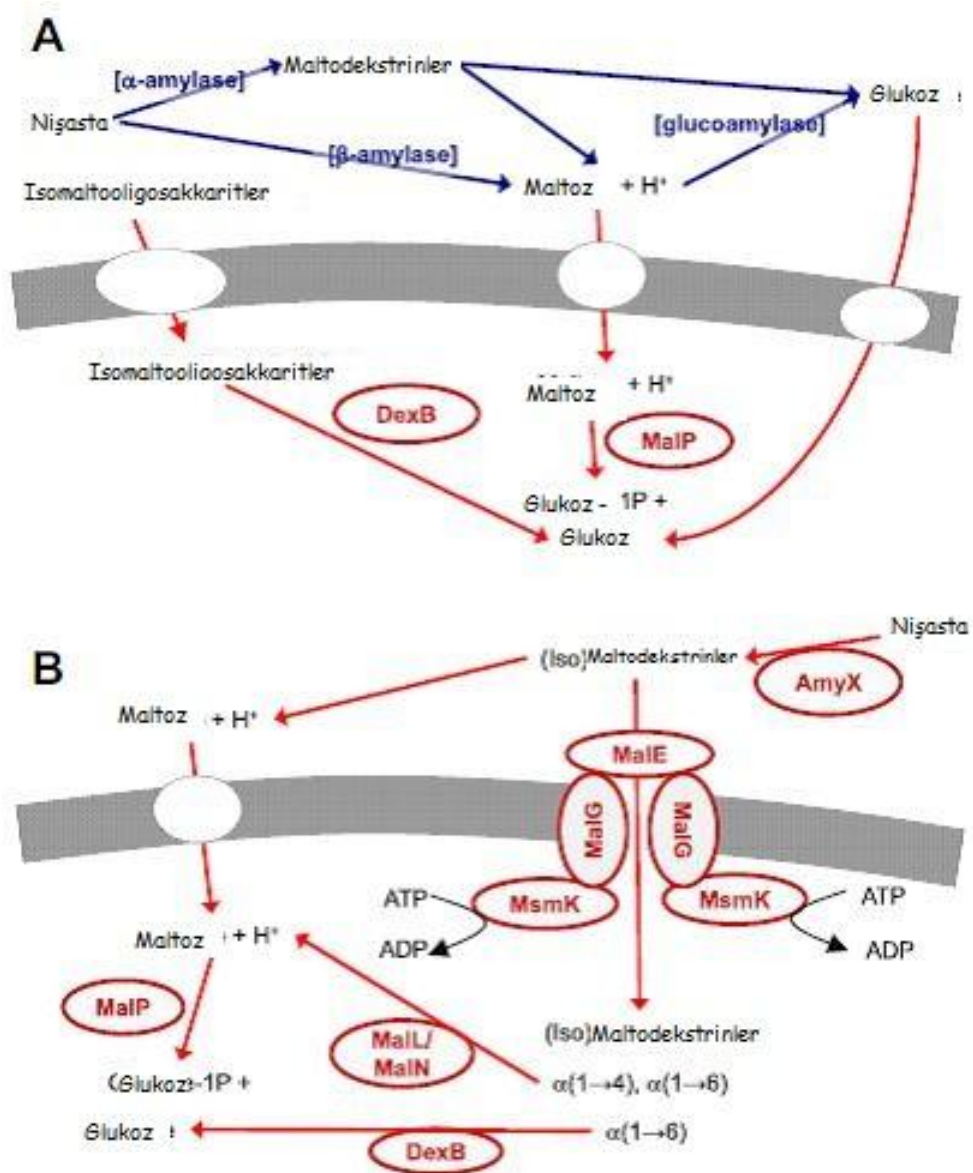
Ekşi hamurda proteolitik aktivite mikrobiyal ve starter işlem koşullarına bağlıdır. Aminoasitler hamur verimini etkiler, düşük miktarda aminoasit içeren hamurlar yumuşak bir yapıya sahiptirler [72]. Kepekli unun aminoasit miktarına etkisi muhtemelen aspartik proteinaz aktivitesinden kaynaklıdır. Bunun yanı sıra tahılların dış tabakasında bulunan proteinazların da aminoasit içeriğine etkisi vardır [81]. Peptitler, amino asitler ve mikrobiyal amino asit metabolizmasının ürünleri, ekmek kalitesini aroma-aktif bileşikler, lezzet düzenleyiciler veya biyoaktif bileşenler olarak etkilerler. Amino asitlerin dönüşümünün tür ve cinse bağlı olarak ekmek kalitesini duyuşal açıdan etkilediği çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir [87,88]. Bu alandaki son çalışmalar, ekşi hamur fermentasyonunda amino asit ve peptitlerin birikim metabolitleri ile antioksidant, antihipertansif veya kanser önleyici aktivite üzerine yoğunlaşmaktadır [89-91]

1.2.2.3. Karbonhidrat modifikasyonu

Buğday ve pirinç % 60-70 oranında nişasta içermektedir. Nişasta ekmek içi yapısının ana etkenidir ve amilopektin retrogradasyonu da ekmek bayatlamasının ana faktörüdür. Hamur aşamasında nişasta degradasyonu fermente olabilir karbonhidratların ve indirgen şekerlerin başlıca kaynağıdır. Aslında buğdayda, fermente olabilen karbonhidratların konsantrasyonu oldukça düşüktür. Sükroz ve rafinoz konsantrasyonları sırasıyla % 0.6-0.8 ve % 0.1-0.4'dür. Diğer mono ve di sakkaritler ise tane çimlenmediği sürece bulunmaz [92,93]. Fermentasyon süresince buğday ekşi hamurundaki amilaz aktivitesi, maltodekstrin, maltoz ve glikoz oluşumunu sağlar pH'nın 4.5'un altına düşmesi durumunda ise maltojenik amilaz inhibe olurken, glukoamilaz aktivitesini sürdürerek nişasta ve maltodektrinlerden glikoz üretimine devam eder [92]. Buğday ekşi hamurunda ana karbon kaynağı olarak maltozun kullanılabilen *L. sanfranciscensis*, *L. fermentum* ve *L. reuteri* anahtar ekşi hamur laktobasilleri, maltoza yüksek adaptasyon

göstermişlerdir [88]. *L. sanfranciscensis*'de maltoz fosforilaz yapısal olarak bulunur ve maltoz metabolizması diğer karbon kaynaklarının metabolizmalarından daha çok tercih edilir [87]. Maltoz fosforilaz maltoz için oldukça spesifik bir enzimdir. *L. sanfranciscensis* ve *L. reuteri* gibi pek çok LAB'si, α ,(1-6) gluko-oligosakkarit bağlarını hidrolize eden ve bir glikozidaz olan DexB'yi de yapısında bulundurur [94,95]. DexB'nin ekşi hamur fermentasyonuna katkısı tam olarak açıklanamamıştır ancak laktobasil genomları içerisinde DexB'nin dağılımı oldukça geniştir [96].

Ekşi hamur fermentasyonunda gerçekleşen maltodekstrinlerin dönüşümü ve nişasta metabolizması Şekil 1.2'de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Ekşi hamurda maltodekstrinlerin dönüşümü ve nişasta metabolizması [72]

Panel A; buğday ve pirinç ekşi hamurlarındaki enzimler ve metabolik yolu göstermektedir. Panel B ise, mısır, sorgum gibi düşük amilaz aktiviteli substratlarla ilgili metabolik yol ve enzimleri göstermektedir. Tahıl tane enzimleriyle dönüşüm mavi ile gösterilirken, mikrobiyal enzimlerle dönüşüm kırmızı renkle gösterilmiştir. Panel A, buğday ve pirinç unları, ekşi hamur fermentasyonu süresince nişastadan, maltodekstrin, maltoz ve glukoz oluşturabilecek α -amilaz, β -amilaz ve glukoamilaz aktivitesi gösterirler. Asidifikasyon $\text{pH} < 4.5$ olduğu durumlarda glukoamilazlar etkilenmezken, amilazlar inhibe olur [92,93]. *L. sanfranciscensis*, *L. reuteri* ve *L. fermentum* gibi LAB'lerini içeren ekşi hamurdaki anahtar mikroorganizmalar maltoz fosforilaz (MalP) ve 1,6- α -glukozidaz (DexB) gibi glukan parçalayıcı temel enzimleri içerirler [96]. MalP, maltoz için oldukça spesifik olup, maltozu D-glukoz ve β -D-glukoz 1-fosfat'a dönüştürür. DexB, gluko-oligosakkaritlerdeki α ,(1-6) bağlarını hidroliz edebilirken α -(1,4) bağlarını edemez. Panel B, mısır, sorgum gibi düşük amilaz aktiviteli substratlardaki nişasta degradasyonunu göstermektedir. Dinlenme durumundaki taneler genellikle β -amilaz aktivitesine sahip değildirler [97]. Bu tanelerde tanenin fermentasyonunda nişasta degradasyonu, LAB'nin extra ekstraselüler amilazının (AmyX) varlığına bağlıdır ki bu fermentasyonlardan sıklıkla *L. fermentum* veya *L. plantarum*'un amilolitik suşları izole edilmektedir [98,99]. *L. plantarum*, *L. acidophilus* ve *L. gasseri*'yi de içeren LAB'lerinin çoğu, maltodekstrin hidrolize edici enzimlerin tümünü içermektedir [96].

1.2.2.4. Eksopolisakkarit oluşumu

Eksopolisakkarit (EPS) formları hücre duvarı ile birleşmiş veya hücre duvarı dışında biriken kültür ortamına bağımsız yayılan salgılar olarak üretilen yapılardır. Bakteri kaynaklı EPS'ler genellikle immunojenik özellik gösterirler [100]. Bakterinin dış yüzeyini saran EPS, suda çözünen polimerdir ve doğada iyonik ya da iyonik olmayan yapıda bulunabilirler [101]. EPS'ler glikozit bağları ile birbirine bağlı şekerlerden meydana gelmektedir. Bakteriyel EPS'lerin çoğu düzenli oligosakkaridlerin tekrarlanmasıyla oluşan heteropolisakkarid yapıda, bazı bakteriyel EPS'ler ise tek tip şekerden oluşan homopolisakkarid yapısındadır [100].

EPS'ler bakterinin olumsuz çevre şartlarından korunmasını ve [102] ortamda bulunan metalik iyonların tutulmasını sağlarlar [103]. Bakteriler tarafından EPS'lerin sentez

amacı; koloniler halinde büyümelerine yardımcı olma ve sert yüzeylere tutunmalarını sağlamaktır [104].

EPS'ler toprak, deniz, tatlı su gibi farklı ortamlardan izole edilen, *Bacillus*'lar, *Pseudomonas*'lar, *Lactobacillus*'lar ve *Azotobacter*'ler gibi birçok bakteri tarafından sentezlenmektedir. Bu ürünlerin karbon kaynakları için yarışan metabolitler oldukları bildirilmektedir [105].

Ekşi hamurdaki LAB'nin metaboliti olan EPS'lerin bağırsak florasını düzenlediği, kolesterolü düşürdüğü ve anti-ülser aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [106]. Tahıl ilişkili laktobakteriler tarafından üretilen EPS; sakkaroz metabolizmasının çevreye karşı korunmasında ve bağırsak habitatında biyofilm oluşumunda katkı sağlar [107]. Üretilen EPS ekşi hamur ekmeğini geliştirerek ekmek hacmi, doku ve diyet lif içeriğini artırır. Ancak ekmek doku üzerinde EPS'lerin yararlı etkisi aşırı oluşan asidite ile azalabilir [108].

EPS'nin özellikleri glucansucrases ve fructansucrases üretimi ile incelenmiştir [109]. Ekmek kalitesi üzerindeki etkisi ise EPS oluşumu sağlanarak belirlenmiştir [110]. Gıdalarda eksopolisakkaritler; emülsiyon stabilizasyonu, yüzey tansiyon özelliklerinin geliştirilmesi ve gıdanın su molekülleri ile etkileşiminin iyileştirilmesi bakımından önem taşımaktadır.

1.2.2.5.Yağ asitlerinin enzimatik ve mikrobiyal dönüşümü

Un komponentlerinin oksidasyonu ile hamur reolojisi etkilenmektedir. Buğday ve pirinç unu hamurlarının karıştırılması sırasında, endojen lipoksigenaz aktivitesi ile oksijen tüketilir [93]. Lipoksigenazlar, linoleik asiti hidroperoksi asitlere okside eder. Buğday lipoksigenazı tercihen 9 hidroperoksi linoleik asit, çavdar lipoksigenaz tercihen 13 hidroperoksi izomer formları oluşturur. Enzimatik veya enzimatik olmayan reaksiyonlar hidroperoksitleri aroma-aktif aldehitlere indirger [93,111]. Sistein varlığı durumunda da, peroksitler hidroksi yağ asitlere dönüştürülür [112]. Bazı hidroksi yağ asitleri biyolojik aktiviteye sahiptirler. Koriolik asit (13-(S)-hydroxy-9Z,11 Eoctadecadienoic acid) antifungal aktiviteye sahiptir ve raf ömrü süresince küf gelişimini engeller [113]. Doymamış di ve tri-hidroksi yağ asitleri ise bitter tada sahiptir [114]. Ekşi hamurdaki

LAB'lerinin metabolizması, fermentasyon süresince lipit oksidasyonu yapabilir veya kuvvetli antioksidatif etki oluşturabilir. Homofermentatif laktobasiller lipit oksidasyonunu arttırır ve ekşi hamur fermentasyonu süresince nonenal ve dekadial oluştumunu sağlar [115]. Bu etki homofermentatif glukoz metabolizmasında hidrojen peroksit oluşumu olarak nitelendirilmiştir. Bunun tersine, obligat heterofermentatif laktobasiller, ekşi hamurun oksidasyon redüksiyon potansiyelini düşürürler ve düşük molekül ağırlıklı tiol bileşikler veya glutathion biriktirirler [116]. Heterofermentatif laktobasiller, aroma-aktif (E)-2-nonenal ve (E,E)-2,4-dekadial oluştumunu azaltırlar. Örneğin *L. sanfranciscensis*'in baskın tür olduğu bir ticari starterle yapılan ekşi hamurda aroma-aktif bileşiklerden heptenal, nonenal, nonedial ve dekadial'ın azaldığı tespit edilmiştir [111]. Laktobasiller, oleik, linoleik ve linolenik asitleri hidroksilli yağ asitlerine hidrate ederler. Linoleik asit, 13-hydroxy-9-octadecenoic acid veya antifungal 10-hydroxy-12-octadecenoic asite dönüşür [112]. Reaksiyon bir yağ asiti hidratazı tarafından katalize edilir [117].

1.3. Ekşi hamur ve ekmek kalitesi

Ekşi hamur ekmek yapımında geleneksel olarak yaş maya yerine kabartıcı ajan olarak kullanılmıştır. Günümüzde ise bu kullanım nedeni ortadan kalkmıştır. Ekşi hamurun endüstriyel kullanımında, ekmek kalitesini arttırmak ve katkı maddelerine muadil kullanımı amaçlanmaktadır. Bu teknolojik amaç, güncel fermentasyon teknolojilerinin ve metabolik özellikleri tanımlanmış starter kültürlerin geliştirilmesi ile sonuçlanmıştır [118,119]. Ekmek yapımında ekşi hamur kullanımı ekmek kalitesini tüm yönleriyle etkiler. Ekşi hamurun, ekmeğin lezzet, tekstür, raf ömrü ve besinsel kalitesi üzerindeki teknolojik etkileri hamur aşamasında un bileşenlerinin biyodönüşümüne bağlıdır (Tablo 1.3).

Tablo 1.3. Ekşi hamur fermentasyonu sırasında mikrobiyal ve enzimatik dönüşüm ve ekmek kalitesine etkileri [72]

Karbonhidrat dönüşümü ve metabolizması	
Metabolik enerjisi (maltoz, sükroz)	Tekstür (nişasta)
Kofaktör rejenerasyonu (fruktoz)	Su bağlama, bayatlama (nişasta,
Çevresel hasarlar karşı Korunması	pentozanlar, EPS)
(oligosakaritler ekzopolisakkaridlerin)	Tat ve raf ömrü (organik asitler)
	Pişme sırasında aroma oluşumu içi
Biyofilm oluşumu (ekzopolisakkaridleri)	indirgen şekerlerin üretimi
	Diyet lif ve prebiyotik oligosakaritler
Protein dönüşümü ve metabolizması	
Azot kaynağı	Hacim (gluten)
Metabolik enerjisi (alanin)	Tat ve lezzet (glütamat, ornitin, diğer
Asit direnci (Gln, Glu, Arg)	amino asitler)
Kofaktör rejenerasyonu (Glu, glutatyon); ve	Biyoaktif bileşikler, (g-aminobütirat)
korunma oksidatif strese karşı (Cys)	Biyoaktif peptitler (Tat-aktif, ACE- engelleyici)
Fenolik bileşiklerin dönüşümü	
Metabolik enerji (flavonoid hidrolizi)	Beslenme karşıtı faktörlerin ortadan
Zararlı bileşiklerin uzaklaştırılması	kaldırılması (enzim inhibitörleri)
	Bitter tadın ortadan kaldırılması
	(tanenler)
	Antioksidan olarak fenoliklerin
	biyoyararlanımının artması
	Uçucu aromatikler
Lipid metabolizması	
Metabolik enerji (kofaktör rejenerasyonu)	Lipid oksidasyonunun kontrolü (tat,
Membran homeostazi (Doymamış ve hidroksi	lezzet)
yağ asitlerinin sentezi)	Antifungal bileşiklerin oluşumu

Yapıda meydana gelen biyodönüşümler ekmek kalitesini tüm yönleriyle etkilerken karakteristik koku, renk, tekstür gibi organoleptik nitelikleri de ortaya çıkar. Gıdaların kabul edilebilirliği ya da seçimlerinde, onların kimyasal özellikleri yanında fiziksel özelliklerinin de önemi büyüktür. Ekmek kabuğu rengi, ekmek içinin tekstürü ve yumuşaklığı tüketiciler tarafından ekmeğin kalite özelliklerinin değerlendirmesinde en çok kullanılan kriterlerdir [120].

Fiziksel özelliklerde ki değişimler genellikle raf ömrü süresince bayatlama ile meydana gelmektedir. Bu değişimler; tat ve koku değişimi, sertliğin artması, ekmek kabuğunun canlılığını kaybetmesi, ekmek içinin ufalanır yapı alması, ekmek içinin opaklığının artması, ekmek içinin nem tutma kapasitesinin azalması, nişastanın amilaz enzimine duyarlılığının azalması, ekmek içinden ekstrakte edilebilir çözünmüş nişasta içeriğinin azalması [1], ekmek tat ve koku bileşiklerinin kaybına bağlı lezzet azalması, küf üremesine bağlı mikrobiyal bozulma olarak tanımlanabilir.

1.3.1. Aromatik yapı

Ekmek lezzeti, hamuru oluşturan ham ve yardımcı maddeler, pişirme koşulları ve özellikle fermentasyon ve pişirme basamaklarında oluşan yüzlerce uçucu ve uçucu olmayan bileşikten oluşmaktadır.

Lezzet maddelerinin büyük çoğunluğu pişirme sırasında oluşmakla birlikte [121] ekşi hamur kullanımı da ekmeğe kendine özgü tat ve aroma kazandırmaktadır. Örneğin buğday ekmeğinin kızarma aroması 2-asetil-1-prolin maddesinden oluşmakta ve ekmeğin iç kısmında tipik bir kokuya neden olmaktadır [16]. Messens ve De Vuyst, ekşi hamurdan izole edilen LAB'ı tarafından da bazı aromatik maddelerin üretildiğini göstermişlerdir [64]. Ekşi hamur yöntemi ile üretilen ekmeklerde heterofermantatif laktik asit bakterilerinin oluşturduğu laktik asit ve asetik asit başta olmak üzere, diğer minör asitler (propiyonik isovalerik, isobütirik, n-bütirik, α -metil-n-valerik, valerik asit) az miktarda oluşmaktadır [122]. Asetik asit hem güçlü bir aroma oluşumunu sağlar ayrıca diğer aroma maddelerine sinerjistik etki yapar [123]. Ekşi hamur ekmeklerinde aroma daha yoğun ve yüksek oranda 2-propanon, 3-metil bütanol, benzil alkol ve 2-fenil alkol bulunduğu belirlenmiştir [124]. Ayrıca ekşi hamur fermentasyonuna tabi tutulan ekmekler ile kimyasal olarak asitlendirilen ekmekler arasında hissedilebilir kalite farkı olduğu bildirilmiştir [124].

Ekşi hamur kullanımının ekmek aromatik yapısı üzerindeki etkisi iki yönlü olmaktadır. Ekşi hamur, ekmek hamurunun yapısında bulunmayan uçucu ve uçucu olmayan aromatik bileşikleri içermektedir. Bu bileşikler normal ekmek yapısında bulunmayan farklı bir tat ve lezzet profili oluşturmaktadır. Aynı zamanda ekşi hamur ekmeği raf ömrü süresince ekmek bünyesinde bulunan bu aromatik bileşikler daha uzun süre muhafaza etmektedir.

LAB'leri karbonhidratları fermente etmesi dışında serbest aminoasit oluşmasını da sağlarlar. LAB'de bulunan peptinaz ve proteaz gibi enzimler fermentasyon ile hamurda bulunan proteinleri parçalayarak aminoasitleri oluşturmakta ve böylece pişirme esnasında aroma oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Oluşan aminoasit ve miktarı mikroorganizma çeşidine ve fermentasyon sürelerine göre değişmektedir. Serbest aminoasitlerden lösin, prolin, fenilalanin, isolosin ve serin indirgen şekerlerle reaksiyona girerek aromanın oluşmasına katkıda bulunmaktadır. Örneğin; 2-fenil etanol fenilalanilin, 2-propanon ve 3-metil-1-bütanol ise serbest aminoasitlerin maillard reaksiyonu sonucunda oluşur. Fermentasyon sırasında proteoliz, şeker ve peptit metabolizması ketoasit türevlerinin hidrojenasyonu enzimatik sentez yolu ile özellikle kükürt içeren çeşitli aminoasitler ve türevlerinin miktarları artmaktadır [125-127]. Bunun yanı sıra ekşi hamur fermentasyonu ile biyoaktif peptitler de oluşmaktadır. Biyoaktif peptidler, amino asitler ve mikrobiyal amino asit metabolizma ürünlerinin tat-aktif bileşenleri ve lezzet ön maddeleri olarak ekmek kalitesine etki etmektedirler [87].

Ekmeğin bayatlaması ile ekmeğin lezzet ve kokusunda önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda ekmek bayatlaması, lezzet ve aroma maddelerinde meydana gelen değişikliklerle izah edilmektedir. Yapılan araştırmalar, ekmekteki aroma ve lezzet veren maddelerin, bayatlama ile azaldığını göstermiştir. Mesela taze ekmekteki uçucu indirgeyen maddeler 179-275 mikroekivalan seviyede bulunduğu halde 24 saat sonra, bunlar yaklaşık 40 katı azalarak 4.4-6.8 mikroekivalana düşmüştür [128]. Ekşi maya kullanılarak hazırlanan hamurlardan yapılan ekmeklerin lezzet kaybı açısından daha geç bayatladığı tespit edilmiştir. Bu ise, kültür ortamında bulunan bakteri ve mayaların faaliyeti sonucu oluşan laktik asit, asetik asit, diğer uçucu olan ve olmayan bileşiklerin varlığından ve çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır [126].

Ekşi hamur kullanılan ekmeklerin aroma ve lezzet profili ekşi hamur mikroflorasını oluşturan LAB'lerinin türlerine göre de değişim göstermektedir. Lönner ve Preve-Akesson, yaptıkları bir araştırmada, ekşi hamur yönteminde bazı heterofermentatif *Lactobacillus* spp. ile yapılan denemede homofermentatif türlere göre daha yüksek asitlik ve daha düşük pH değerine ulaşıldığını ve ekmekte daha güçlü, aromatik bir lezzet hissedildiğini tespit etmişlerdir [129].

Ekşi hamur fermentasyonu sonucu ekmeğin aromasını asitler, alkoller, esterler ve çeşitli karbonil bileşikler oluşturur. Ekşi hamur fermentasyonu ile üretilen ekmeklerdeki aroma maddeleri Tablo 1.4.'de verilmiştir.

Tablo 1.4. Ekşi hamur ile üretilen ekmeklerdeki aroma bileşenleri [130]

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

1.3.2 Raf ömrü

1.3.2.1. Tekstür

Ekmek içi yumuşaklığı veya sertliği, ekmekte tazelik algısıyla yakından ilgili olduğu için ekmeğin değerlendirilmesinde en dikkat çekici doku özelliğidir. Tekstür profil analizi (TPA) gerek ekmek kalite niteliklerini belirlemede gerekse raf ömrü süresince değişimin ortaya konulmasında en belirleyici analizdir. Bu amaçla duyuusal tekniklerin

kullanımının yanısıra, TPA ürünün yenme kalitesinin öznel ve nesnel değerlendirilebilmesi için yaygın olarak kullanılan temel bir teknik olarak kabul görmüştür [131].

Ekmek TPA’de kullanılan parametreler sertlik, yapışkanlık, esneklik ve çiğnenme olarak alınmıştır [132]. Bu parametreler duyuşal özelliklerle paralellik göstermektedir [Tablo 1.5]

Tablo 1.5. TPA kontrol parametreleri [131,132].

Parametre	Fiziksel tanım	Duyusal tanım
Sertlik (Hardness)	Deformasyon için gerekli olan güç	Maddeyi ön dişler arasında sıkıştırmak için gerekli olan güç
Esneklik (Springiness)	Deforme eden gücün ortadan kalkmasıyla birlikte materyalin deforme olmamış haline dönme oranı	Azı dişleriyle kısmi olarak sıkıştırılan maddenin orijinal yüksekliğine dönme oranı ve hızı
Yapışkanlık (Cohesiveness)	İç bağların dayanma gücü	Madde ısırılırken, kopmadan önceki deformasyon miktarı
Çiğnenme (Chewiness)	Katı gıdayı parçalara ayırıp yutma durumuna getirmek için gerekli olan enerji	Gıdayı yutmaya hazır hale getirinceye kadar gerekli çiğneme sayısı ve gücü

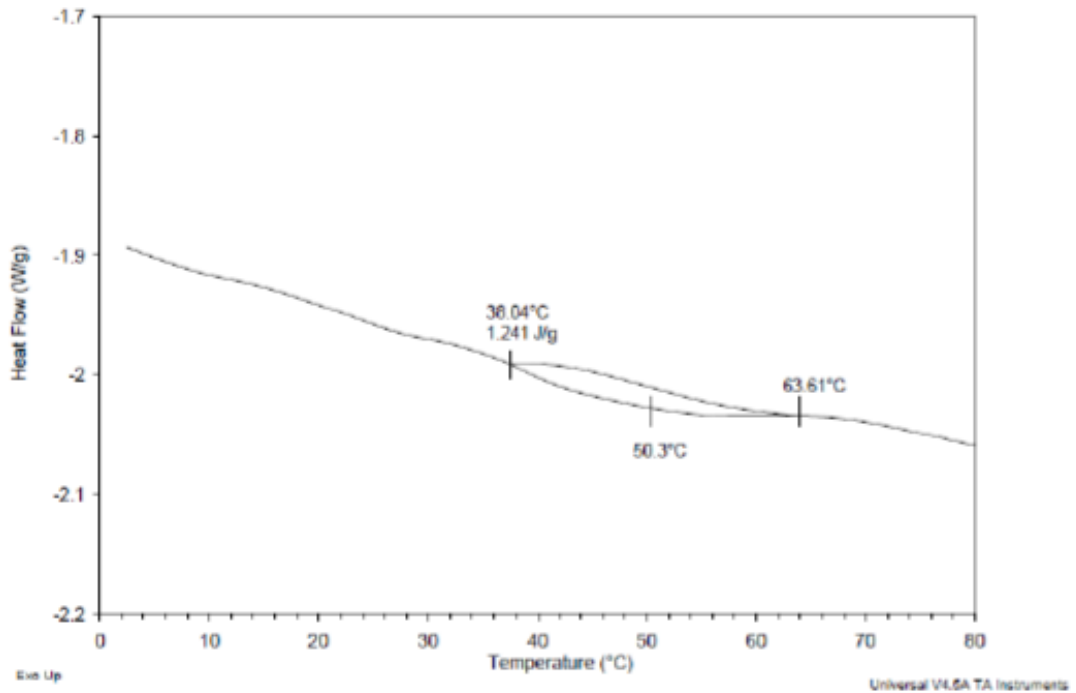
1.3.2.2. Termal özellik

İncelenen örneğe ait fiziksel özelliğin sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçüldüğü ve tepkime esnasında absorblanan ya da açığa çıkan ısının izlendiği analiz yöntemlerine termal analiz denilmektedir [133].

Bu yöntemlerin en çok kullanılanlarından birisi de diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) dir. Termal analizler hem ekmek bayatlamasının hem de nişasta retrogradasyonunun tespitinde geniş ölçüde kullanılmaktadır [134]. Ekmek bayatlamasının boyutunu kantitatif olarak ölçmede sıklıkla DSC kullanılmaktadır. Zamanın bir fonksiyonu olarak bir örneğe karşılık referans bir maddeden akan ya da

geçen diferansiyel sıcaklık ya da ısıyı ölçtüğünden dolayı; faz geçişleri, moleküler konformasyonel değişimler, diğer bileşenlerle olan interaksiyonlar da izlenebilmektedir.

DSC ölçümleri sonucunda depolama süresinin uzamasıyla birlikte retrogradasyon sıcaklığında ve amilopektinin erimesi için gerekli toplam entalpide bir artış olduğu bildirilmektedir [135-137]. Bayatlamayla birlikte endotermik pikin altındaki alan artmaktadır. Bu alan amilopektin kristallerinin erimesiyle ilişkilidir ve nişasta retrogradasyonunu ölçmede güvenilirdir. Şekil 1.3’de 24 saatlik depolama sonucu bayatlamayla birlikte DSC kurvesinde meydana gelen entalpi değişimi görülmektedir [138]. Depolanmış ekmek örnekleri DSC kapları içerisinde ısıtıldıkları zaman, retrograde olmuş amilopektinin camsı geçiş ve/veya erime sıcaklığına ulaşmasında bir endoterm gözlenir ve bu geçişle ilişkili olan entalpi değişimi ölçülebilmektedir. Endoterm gelişimi ve ekmek içinin sertliğindeki artış için zaman skalaları büyüklük bakımından geniş ölçüde benzer olduğundan dolayı, ekmek bayatlamasının boyutunu nicel olarak ölçmede DSC kullanılabilir. Bununla birlikte, analizde zorluğa neden olan bileşenlerin çeşitliliği ve yapıların alanı sebebiyle geniş bir sıcaklık sahası üzerinde üst üste binen geçişler görülebilmektedir [139].



Şekil 1.3. 24 saat depolanmış ekmeğe ait DSC kurvesi

1.3.2.3. Küf gelişiminin önlenmesi

Aspergillus, *Cladosporium*, *Endomyces*, *Fusarium*, *Monilia*, *Mucor*, *Penicilium* ve *Rhizopus* mantar türlerinin ekmekte doğal olarak bulunduğu bilinmektedir [140]. Gıdayı soğuk yerde depolamak, kurutmak, dondurarak kurutmak, havayla temasını kesmek gibi fiziksel yöntemlerle mikotoksin oluşumunun engellenebileceği de belirtilmektedir. Ayrıca insan sağlığı açısından zararlı olan mikotoksinlerin oluşmaması için fungal etkiyi durdurucu antimikrobiyal katkı maddeleri de kullanılmaktadır [141].

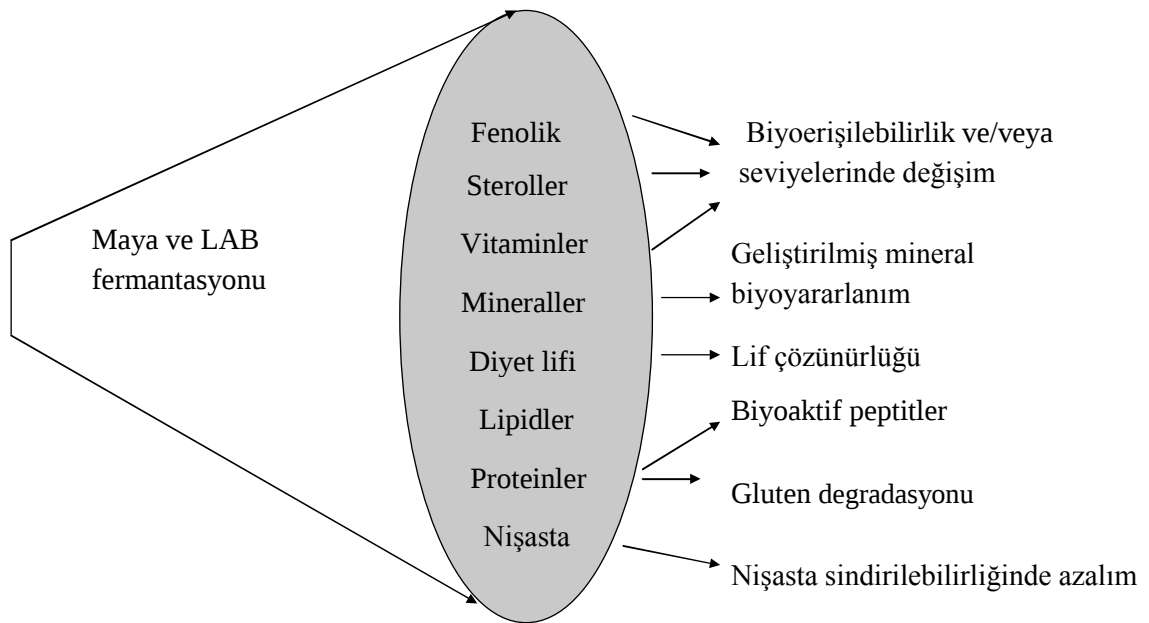
Ekşi maya ile yapılan ekmeklerde bulunan LAB'i sayesinde ekmeğin raf ömrü uzatılabilmektedir [142]. Genellikle LAB, fermente gıdaların mikroorganizmalar tarafından bozulmasının önlenmesinde önemli rol oynamaktadır [143]. Fermantasyon sonunda oluşan ürünler mikrobiyal olarak kararlı hale gelmektedir. Gıda ortamında bulunan karbonhidratları fermantasyon yoluyla moleküler kütlesi küçük organik bileşiklere dönüştürür. LAB, üretmiş oldukları organik asitler, karbondioksit, etanol, hidrojen peroksit ve diasetiller [67], antifungal olarak da yağ asitleri [144] veya fenillaktik asit [70], bakteriosinler [145] ve reuterin gibi antibiyotikler [57] ile gıdaların biyolojik olarak muhafazasında rol oynamaktadırlar. Bu bileşikler de gıda güvenliğini etkileyen ve raf ömrünü kısaltan, bozulma etkisi gösteren mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterirler [58].

Antifungal aktivitenin genel olarak heterofermentatif *Lactobacillus* 'larla sağlandığı bildirilmektedir. Bu grupta bulunan *L. sanfranciscensis* CB1'in oldukça yüksek anti-küf aktivitesi gösteren asetik, kaproik, formik, propiyonik, bütirik, n-valerik asit üreterek geniş bir antifungal aktivite gösterdiği bilinmektedir [64].

Corsetti *et al.* tarafından yapılan bir çalışmada, ekşi hamur LAB'nin anti küf etkisi ve *L. sanfrancisco* CB1 tarafından üretilen organik asitler tespit edilmeye çalışılmış, buğday unu hidrolizatında gelişen ekşi hamur LAB'nin antifungal bileşikler ürettikleri tespit edilmiştir. Türler arasında önemli derecede değişen anti küf aktivitesi esasen zorunlu heterofermantatif *Lactobacillus* spp. 'lerde tespit edilmiştir. Bunlar arasında *L. sanfrancisco* CB1 en geniş spektruma sahip olduğu gözlemlenmiş ve ekmek bozulmasıyla ilgili olan küfleri inhibe ettiği belirlenmiştir [52]. *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Monilla* gibi küfler üzerine, asetik, kaprik, formik, propionik, bütirik ve n-valerik asitlerin bir karışımının antifungal aktiviteden sorumlu olduğu ve kaproik asitin küf gelişimini inhibe etmede anahtar rol oynadığı belirlenmiştir [146].

1.3.3. Biyoaktif nitelikler

Ekşi hamurun temelinde tahıl fermentasyonu vardır ve tahıl fermentasyonu besinsel kaliteyi ve gıdaların sağlık etkilerini geliştirdiğinden dolayı önemli bir potansiyele sahiptir. Fermentasyon, tam tahıl, lifçe zengin ve glutensiz fırıncılık ürünlerinin duysal kalitesini geliştirmektedir. Ekşi hamur nişasta sindirilebilirliğini aktif olarak geciktirdiğinden dolayı kandaki glisemik yanıtı düşüktür, kan şekeri seviyesini ayarlar, bioaktif bileşiklerin gelişimini sağlar ve mineral biyoyararlanımı artırır. Tahılların fermentasyonu sindirilemeyen polisakkaritlerin üretimini sağlayabilir veya bağırsak mikrobiyotası için kompleks tahıl liflerinin geçişini modifiye edebilir. Aynı zamanda gluten degradasyonunda başarılıdır ve bu durum çölyak hastaları için de kullanılabilir [108]. Ekşi hamurun ekmek besinsel kalitesini etkileyen potansiyel mekanizması Şekil 1.4’ de verilmiştir.



Şekil 1.4. Ekşi hamur fermentasyonunun ekmek besinsel kalitesi üzerindeki mekanizması [109]

1.3.3.1. Fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite

Fitokimyasallar biyolojik olarak aktif bileşikler olup, genellikle tahıl tanesinin kepek gibi dış katmanlarında lokalize olmuşlardır [147]. Fitokimyasallar; fenolik asitler başta olmak üzere alkilresorsinol, lignanlar, fitosteroller ve tokollerden oluşmaktadırlar. Fırıncılık ürünlerinin antioksidatif özellikleri değişken içeriklerine ve fitokimyasalların

biyoyararlanımına bağlıdır [148,149] ki bu da gıdanın işlenme, tahılın öğütme sürecine dayanmaktadır [150,151]. Tahıl tanesindeki biyoaktif bileşiklerin seviyesi işleme prosesine bağlı olarak azalmakta veya artmakta, bu bileşiklerin biyoyararlanımı modifiye olabilmektedir. Ekşi hamur prosesi de biyoaktif bileşiklerin seviyesini etkileyen bir süreçtir [133]. Buğday kepeği-un karışımı ve çavdar ununun ekşi hamur fermentasyonuna maruz bırakıldığında, antioksidatif potansiyelinin normal ürünlere göre çok daha yüksek olduğu belirtilmektedir [148,152].

Ekşi hamur prosesinin tipine ve bileşiklerin yapısına bağlı olarak, ekşi hamur fermentasyonu biyoaktif bileşiklerin seviyesinde artış veya azalmaya neden olmaktadır. Ekşi hamur fermentasyonu folat içeriğini arttırırken [148], tokoferol ve tokotrienol içeriğini azalmakta, proses koşullarına bağlı olarak tiamin içeriğini azaltmakta veya arttırmaktadır [153].

Ekşi hamur fermentasyonu kolay ekstrakte edilebilir bileşiklerin seviyesini arttırmaktadır [148]. Çimlenme ve fermentasyon sonrası, yapıdaki folatların seviyesi 8 kat, fenolik asitlerin 10 kat artmaktadır [154]. Diğer taraftan, fitat [155,156], alkilrezorsinol [157] ve tokoferollerin [158] seviyesi azalmakta, lignanların ki ise değişmemektedir [159].

Fermentasyon sırasındaki asitlik gelişiminin bu değişimde etkili olduğu düşünülmektedir. Artan asitlikle birlikte toplam fenolik madde içeriğinde artış beklenirken, tiamin, ferulik asit dehidromerleri, tokoferoller ve tokotrienollerde azalma beklenmektedir [160]. Ancak ekşi hamur fermentasyonunda biyoaktif bileşen düzeylerindeki bu değişimin mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır [133].

Tahıl ve ürünlerinde fenolik asit içeriğine dair yapılan bir çalışmada beyaz buğday ekmeğinde sırasıyla miktarsal olarak ferulik asit, ferulik asit dehidrodimerleri, sinapik asit, protokateşuik asit, p-kumarik asit, vanillik asit, p-hidroksibenzoik asit tespit edilmiştir. Tam buğday ununda ise ferulik asit, ferulik asit dehidrodimerleri, sinapik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, vanillik asit, sirinjik asit, p-hidroksibenzoik asit tespit belirlenmiştir. Ekşi hamur ve maya fermentasyonunun toplam fenolik bileşikleri ve serbest fenolik asitleri arttırdığı, tahıllarda bulunan ferulik, vanillik, kafeik ve p-kumarik asitin antioksidan aktiviteye sahip başlıca fenolik asitler olduğu belirtilmektedir [149].

Ferulik asit arabinoksilana çapraz bağlanmış, tahıl hücre çeperlerinin yapısal bir bileşenidir. Fermente buğday kepeği kullanımının ekmekteki folat ve ekstrakte edilebilir

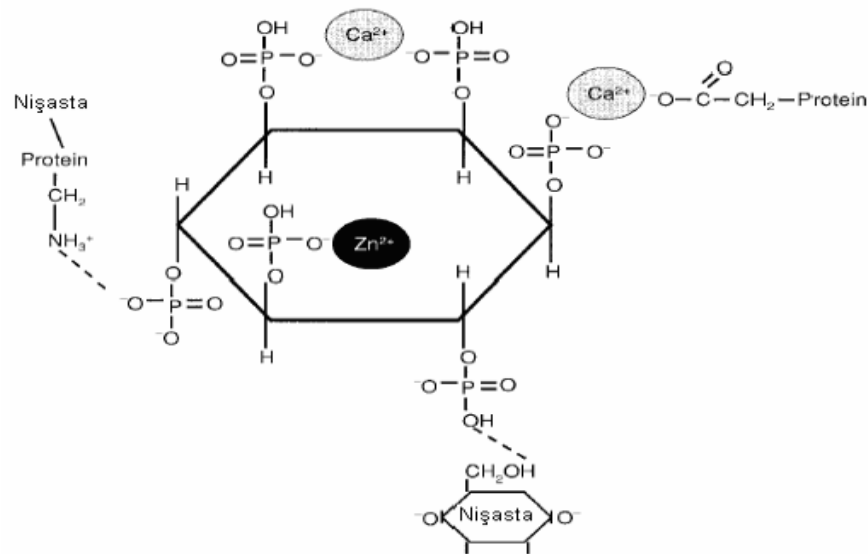
toplam fenolikler ile serbest ferulik asit içeriğini arttırdığı, ancak fermentasyon koşullarının ferulik asit düzeyini değiştirdiği tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık (35 °C) ve uzun fermentasyon süresinin (20 h) ferulik asit düzeyini düşürdüğü, serbest ferulik asit içeriğinin en fazla pH 6.0–6.5 fermentasyon asitlik düzeyinde elde edildiği, pH 3.9-4.1 asitlik düzeyinde ise en düşük seviyede elde edildiği belirtilmiştir [161].

1.3.3.2. Sindirilebilirlik ve biyoyararlanım

1.3.3.2.1. Fitik asit, fitaz aktivitesi ve mineral biyoyararlanım

Fitik asit; myo-inositol halkası ve buna bağlı inorganik fosfattan oluşan bir ester asidi olup tahıl, baklagil ve yağlı tohumlarda fosforun ana depo formunu oluşturmaktadır. Kimyasal formülü myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hekzadihidrojen fosfattır [162]. Fitik asitin tuzları fitat olarak tanımlanmaktadır. Fitat, fitik asitin potasyum, magnezyum ve kalsiyum tuzlarının karışımıdır [163]. Fitat tohum çimlenmesi için fosfor ve enerji kaynağı olarak görev yapar. Bağlı fosfor; insanlar, köpekler, domuzlar, kuşlar ve agastrik hayvanların barsaklarında fitaz sindirim enzimi bulunmamasından dolayı çok az miktarda kullanılabilir [164].

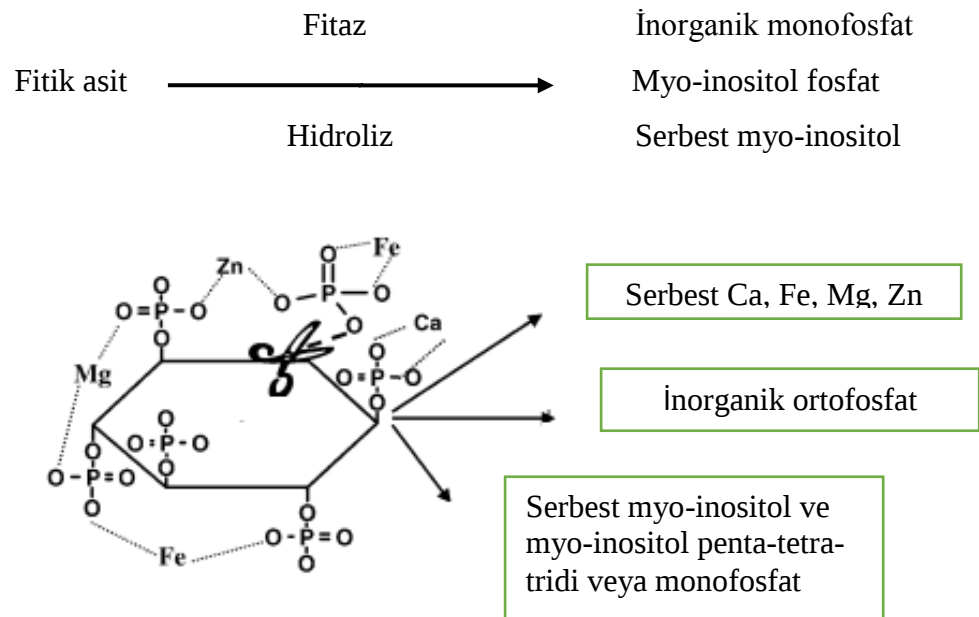
Fitik asit merkez inositol halka yapısının etrafında altı fosfat grubundan oluşan yüklü bir molekül olmasından dolayı katyonlar için yüksek afiniteye sahip şelatlama özelliğindeki bir bileşiktir (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Fitik asit ve fitik asit şelatının kimyasal yapısı [168]

Fitat, yüksek derecede negatif yüklü iyon olarak geniş pH aralığında işlev görür. Bundan dolayı Ca, Mg, Fe, Zn, Mn gibi pozitif yüklü divalent veya trivalent iyonlarla şelat oluşturarak ince barsakta bağlı metallerin emilimini azalttığı için biyoyararlılığı negatif yönde etkiler. Fitat fosforunun değerlendirilebilmesi için fitik asitin hidrolize uğraması gerekmektedir. Islatma, çimlendirme, fitaz aktivitesi, depolama, pişirme, otoklavlama, dış kabuğun soyularak öğütme yapma ve fermentasyon işlemleriyle fitat miktarı düşürülmektedir [165]. Fitatın fitaz enzimi tarafından hidrolizi, şematik olarak Şekil 1.6'da verilmiştir [166].

Fizyolojik pH değerlerinde çözünmez mineral-fitat komplekslerinin oluşumu düşük mineral emiliminin temel nedeni olarak bilinmektedir. Sindirim sisteminde fitatı parçalayacak enzimlerin olmaması nedeni ile ince barsakta sınırlı bir şekilde hidroliz olabilmektedir.



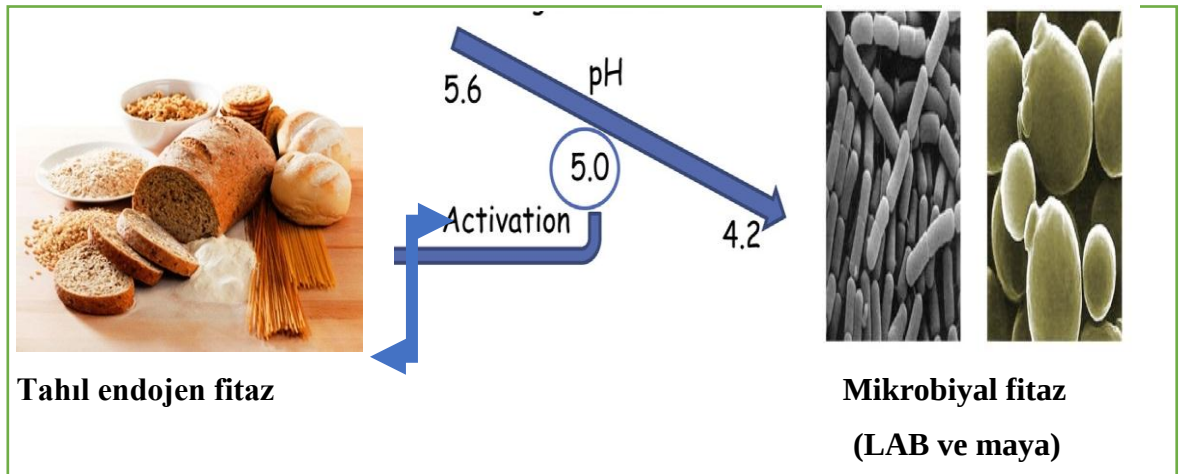
Şekil.1.6. Fitatın, fitaz enzimi ile hidrolizinin şematik gösterimi [167]

Fitik asit güçlü çelat yapma özeliği sayesinde minerallerin barsaklarda emilimini azaltır, nötral pH da katyonlarla çözünmez tuzlar meydana getirir, Ca, Mg, Fe, Zn gibi minerallerle bağ oluşturarak vücudun mineral eksikliğine neden olur. Proteinlerle kompleks oluşturarak enzimatik aktivitede proteinin çözünürlüğünde ve proteolitik parçalamada azalmalara neden olmaktadır [168]. Fitaz enzimi, fitik asiti defosforilasyon

uğratarak serbet inorganik fosfat ve inositol fosfat esterlerine dönüştürür (Şekil 1.6). Bu bileşikler daha düşük şelatlama kapasitesine sahiptirler. Böylelikle mineral, protein, peptit ve amino asit biyoyararlanımında artış meydana gelir. Ekşi hamur fermentasyonu süresince, asidifikasyon tahıl endojen fitazının aktivitesini yönetir [167].

Diyetle alınan kepekli gıdalar iyi bir mineral kaynak sağlamaktadır. Bu gıdalar kalsiyum, potasyum, magnezyum, demir, çinko ve fosfor içerirler. Minerallerin biyoyararlanımları mümkün olmakla beraber fitat ve miyoinositol heksafosfatın varlığı ile sınırlı olabilir [108]. Buğday ve çavdar unları yaklaşık % 1 oranında fitat içerir [72]. Tanelerin 3-22 mg/g fitik asit içerdiği bildirilmiştir [167]. Tanelerin alöron katmanlarında çözünmeyen güçlü kenetleme kapasitesine sahip fitik asit yoğun olarak bulunmaktadır. İnsanlarda katyonlar ile çözünmeyen kompleksler oluşturarak, diyetle alınan minerallerden yararlanılmasına engel olur. Mineral çözünürlüğü ve yararlanımı daha az kapasiteye sahip olan fitat, serbest fitazlar ile defosforile edilerek inorganik fosfat ve inositol fosfat esterlerine dönüşür. Fitaz aktivitesi maya ve laktik asit bakterilerinde olduğu gibi tahılın ham maddesinde de bulunmaktadır [108].

Fitat hidrolizi hamur içerisindeki taneden gelen endojen fitaz veya yapıda sonradan oluşan veya dışarıdan ilave edilen maya ve LAB kaynaklı mikrobiyal fitaz enziminin varlığına bağlıdır (Şekil 1.7). Fitatın enzimatik hidrolizi genel olarak pH 3.5-5.0 aralığında meydana gelmektedir. Fitat kompleksleri katyonları ile pH 5.0 ve yukarısında çözünmez. Böylece enzimatik hidrolize ulaşamaz [72]. Ekşi hamur fermentasyonunda oluşan asidik ortam endojen tahıl fitaz aktivitesini hızlandırır. Çünkü; buğdayda fitaz enzimi optimum pH 5.0'de aktivite gösterir. Ekşi hamur fermentasyonu sırasında ortamın uygun pH'ya (pH<5.5) düşmesi buğday endojen fitazındaki aktivite artışından dolayı, buğday unundaki fitat içeriğinin %70 oranında azalacağını göstermektedir [169]. Tahıl endojen fitazının yanısıra birçok LAB ve mayada fitaz aktivitesi bulunmaktadır, ancak bunların fitik asiti parçalayıcı etkileri daha azdır [170,171]. Ayrıca bunların etkinlikleri türe özgü ve çevresel koşullara da bağlıdır [172]. Bu durum, tane fitaz aktivitesinin mikrobiyal fitaz aktivitesinden daha etkin olduğunu göstermektedir.



Şekil.1.7. Endojen fitaz ve mikrobiyal fitazın fitat aktivesi üzerindeki etkisi [167]

Mayalar ve ekşi hamurdaki LAB'leri bireysel olarak fitaz enzimi üretmelerine [170] rağmen, bazı maya ve LAB kombinasyonlarının sinerjik etki göstererek fitaz aktivitesini yükselttiği bilinmektedir. Örneğin, *S. cerevisiae* / *L. plantarum* / *Leuconostoc mesenteroides* kombinasyonunun bireysel aktivitelerinden daha yüksek sonuçlar verdiği bildirilmektedir [173].

Enzimatik olarak fitatın degradasyonu birçok fermentasyon parametrelerine bağlıdır. Bunlar, mevcut fitaz aktivitesi, un partikül boyutu, asitlik, sıcaklık, zaman ve su içeriğidir [174].

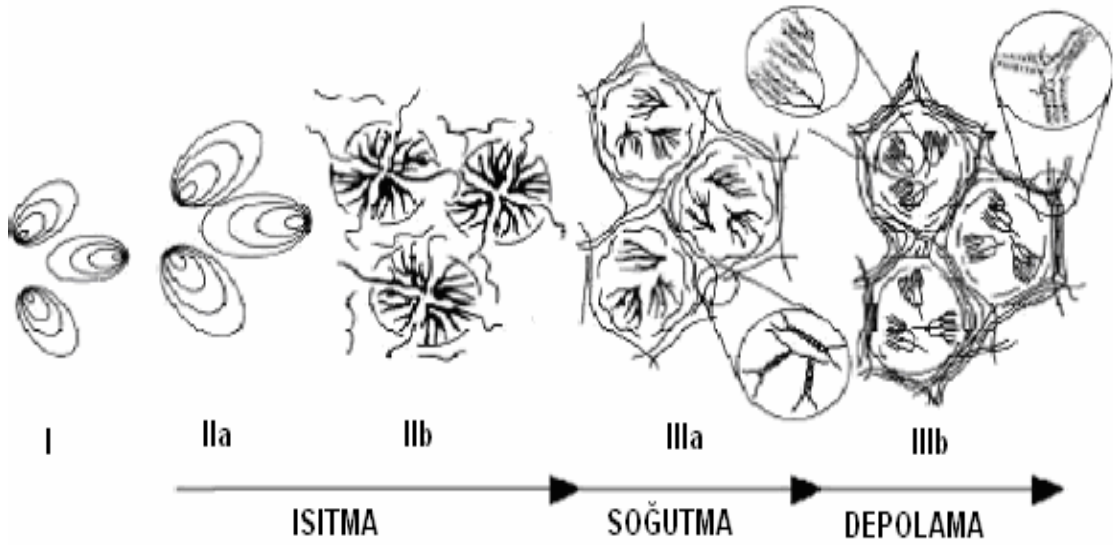
Ekşi hamur fermentasyonu tam tahıl unlarının mineral çözünürlüğüne etkili, ancak yalnızca kepek kullanımı durumunda daha az etkilidir. Fermentasyon sırasında Ca ve Fe çözünebilirliğine parçacık büyüklüğü yani tanenin ince öğütülmüş olmasının da etkili olduğu tespit edilmiştir [173]. Yapılan bir araştırmaya göre kepeğin ön fermentasyonu ile LAB, fitat parçalamasını %90'a kadar arttırmakta ve bu artış özellikle magnezyum ve fosfor çözünürlüğünde olmaktadır [108]. Pişmiş ekşi hamur ekmeğiyle beslenen sıçanlarda çinko, magnezyum, demir emiliminin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [175]. Mayalı ekmekle karşılaştırıldığında, ekşi hamur ekmeği ile beslenen farelerde hemoglobin, hematokrit, ferritin ve demir düzeyleri anlamlı derecede yüksek, vücuttan atılan demir düzeylerinde ise önemli bir azalma belirlenmiştir [167].

Fitatın birçok elementi kuvvetlice bağladığı açıklanmıştır. Böylece parçalanmamış fitatın sindirim sisteminde bulunması bazı temel katyonların biyolojik elverişliliğini azaltmaktadır. Aynı zamanda fitat formundaki fosforun organik veya inorganik bileşiklerdeki fosfor kadar yararlılığı bulunmamaktadır. Fitik asit fosforu; hemen hemen tüm bitkisel üründe özellikle tahıllarda yer alır. Fitik asit kansızlık, yorgunluk, raşitizm, kalp rahatsızlıkları gibi birçok hastalığa neden olmaktadır. Ekşi hamur fermentasyonu ile maya ve LAB tarafından oluşturulan ve aktivasyonu hızlandırılan fitaz enzimi yardımıyla fitat miktarı düşürülmektedir. Böylece ekşi hamur ekmeğinin mineral biyoyararlanımı dolayısıyla besleyici değeri artmaktadır. Fitatın yalnızca mineralleri değil, proteinleri de kısmen bağlayarak onların biyoyararlılığını engellediği ve besinsel kalitede düşüşe neden olduğu belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada ekşi hamurun oluşturduğu asitli ortamdan yararlanılarak, tam buğday unundaki fitaz enzimi aktif hale getirilmiş ve fitat içeriğinin %70 oranında düştüğü tespit edilmiştir [176].

1.3.3.2.2.Enzime dirençli nişasta (EDN) oluşumu ve biyoyararlanım

Nişasta degradasyonu

Nişasta, dokuda granüller halinde bulunur ve nişasta tanecikleri, nişastanın kökenine göre farklı görünüştedir. Nişasta granülleri soğuk suda çözünmezler, fakat suyu absorbe ederek yavaş yavaş şişerler. Isıtıldığında intermoleküler bağların kırılması sonucu, moleküllerin daha fazla su bağlamasıyla “jelatinizasyon” denen olay meydana gelir. Nişasta çözeltileri bir süre bekleyince önce görünüşü opak bir nitelik taşır. Daha sonra yumaklaşma şeklinde bulanıklık meydana gelir. Ve bu yumaklaşma çökelti meydana getirerek zamanla yapı sıklaşıp, sertleşir. Görülen bu olaya “retrogradasyon” denir. Basit bir ifadeyle retrogradasyon nişastanın tekrar kristalizasyonu olayıdır [177]. Retrogradasyon kinetiğinde esas olayı amiloz gerçekleştirmektedir. Saf amiloz çözeltisi saatler içinde retrograde olurken amilopektin çözeltisinin retrogradasyonu birkaç günde gerçekleşmektedir. Nişasta-su karışımının ısıtılması, soğutulması ve depolanması esnasında meydana gelen değişimlerin şematik gösterimi Şekil 1.8’de gösterilmektedir.



Şekil 1.8. Nişasta-su karışımının ısıtılması, soğutulması ve depolanması esnasında meydana gelen değişimlerin şematik gösterimi. (I) soğuk su içerisindeki nişasta granülleri, (IIa) şişmiş nişasta granülleri, (IIb) amilozun granül dışına çıkması, (IIIa) amiloz retrogradasyonu, (IIIb) amilopektin retrogradasyonu [178]

Nişasta belli koşullar altında amilaz enzimleriyle veya asitlerle değişik irilikteki karbonhidrat moleküllerine parçalanır. Nişasta sindirilmesi hidroliz yoluyla olur. Bu reaksiyonu katalizleyen amilaz enzimleri glikoz arasındaki bağlara etki ederler. Hayvanlar ve insanlar amilaz enzimlerine sahip olduklarından nişastayı sindirebilirler. Farklı tip amilazlar nişastayı farklı biçimlerde parçalarlar. Bunlardan kısmi parçalanma ürünlerine dekstrin denir. Nişastanın son parçalanma ürünleri, bir disakkarit olan maltoz ve son olarak glikozdur [1]. Karbonhidratları içeren besin maddeleri, ince bağırsağa inince, pankreastan salgılanan α -amilaz ile bağırsak bezleri tarafından salgılanan maltaz, sakkaraz, laktaz ve oligo-1,6-glikosidaz gibi enzimlerin etkisine maruz kalır ve sindirim devam eder. α , 1-6 glikozit bağı taşıyan yapı, oligo-1,6-glikozidaz enzimi tarafından, bu bağlardan parçalanırlar ve geriye maltoz ve glukoz kalır [179].

EDN ve biyoyararlanım

İnsan vücuduna alınan nişastanın incebağırsakta tam olarak emiliminin gerçekleşmediği görülmüş ve sindirilemeyen bu nişasta bölüntülerine ilgi artmıştır. Enzimatik hidrolizden sonra bazı nişastaların sağlam kaldığı tespit edilmiştir. İlyostomi alanında

da yapılan çalışmalarda da mide ve bağırsakta sindirime direnç gösteren nişastaların var olduğunu doğrulamıştır [180].

Yapılan çalışmalarda bu nişastaların kalın bağırsakta fermente edilebilir olduğunu açığa çıkartmıştır. Nişastanın sindirilmeyen bu bölüntüleri “EDN” olarak adlandırılmaktadır [181]. Nişastanın sindirime karşı olan direnci nişasta polimerleri arasındaki ilişkinin doğasına bağlıdır. Amiloz içeriği fazla olan nişastalar sindirime daha dirençli ve retrogradasyona daha eğilim gösterirler. Nişasta retrogradasyonu dirençli nişastanın yapısıyla doğrudan ilişki içindedir.

EDN kavramı nişastanın biyoyararlılığı ve besinsel lif kaynağı olarak kullanılması konusuna dikkat çekmiştir. Yapılan çalışmalar da EDN’nin fizyolojik fonksiyonlarının besinsel lif ile benzer olduğunu ortaya çıkarmıştır [182]. İncebağırsakta sindirilmeyen nişasta bölüntüleri kalın bağırsaktaki mikroorganizmalar için substrat görevi görmekte ve yararlı olan mikroorganizmaların, özellikle bifidobakterlerin gelişmesine öncülük etmektedir. İnce bağırsaktan sindirilmeden geçen EDN’nin kalın bağırsakta fermente edilmesiyle karbondioksit, metan, hidrojen, organik asitler ve kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) gibi mayalanma ürünleri oluşur. Üretilen KZYA asetat, bütirat ve propiyonattır. EDN’nin bu olumlu yönlerinin etkisi KZYA’dan kaynaklandığı düşünülmektedir [183]. EDN’nin yavaş sindirilmesi kandaki glikoz seviyesinin daha iyi kontrol edilmesini ve bunun sonucu olarak depo yağlarının kullanılmasını sağlayarak daha yararlı olabilmektedir [184].

Ekşi hamur ekmeğinin mayalanması sırasında nişasta hidrolize uğrayarak son üründe sindirilebilir nişasta azalmakta ve enzime dirençli nişasta yani toplam diyet lif içeriği artmaktadır. Ekmek çeşitine bağlı olmakla birlikte [185], asetik ve propiyonik asitler gastirik emilim süresini uzatırken [186], laktik asit nişasta sindirim oranını düşürmektedir [187]. Ekşi hamurdaki düşük pH ekmek yoğunluğunu artırmasının yanı sıra, düşük glisemik indeksi de sağlar [188]. Ayrıca, ekşi hamur fermentasyonu sürecinde nişasta jelatinizasyonunun derecesini azaltacak ve dirençli nişasta oluşumunu düzenleyen bazı kimyasal değişiklikler meydana gelmekte [189], böylece yapı daha az sindirilebilir olmaktadır. Oysa aynı özellikler, yalnızca ekmek mayası ile fermente edilmiş normal ekmekte tespit edilememektedir [190].

1.3.3.2.3. Protein sindirilebilirliği

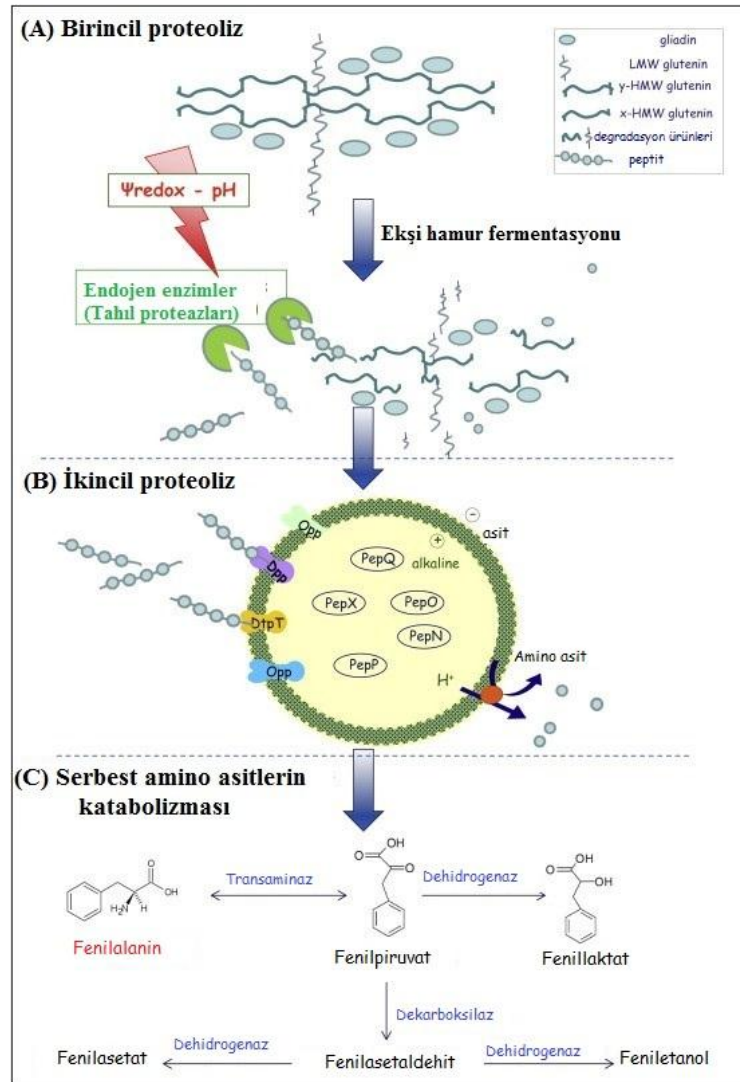
Proteoliz

Proteoliz proteinlerin ve peptitlerin, enzimlerle peptit bağlarının hidrolizi sonucu, amino asitlere parçalanması olayıdır. Polimer buğday gluten proteinleri buğday unlarından ekmek yapımında kaliteyi belirlemektedir. Gluten proteinleri hamur hidrasyonu ve gaz tutmaya katkıda bulunurlar [72]. Proteoliz lezzet ön maddeleri, amino asitlerin mikrobik dönüşümü ile pişirme sırasında uçucu aroma maddelerinin oluşumu için ön bileşiklerin oluşumunu sağlar [71]. Ekşi hamur fermentasyonu sırasında bozulma ve protein depolimerizasyonu bakterilerin metabolik aktivitesine ve tahıl enzimlerine bağlıdır [191]. Asitleştirme ve düşük molekül ağırlıklı tiol birikimi gluten proteinlerinin çözünürlüğünü ve enzimlerin bozulma duyarlılığını artırır [85]. Ayrıca, dinlendirilen buğday ve çavdar tahılları büyük proteinazları için, ekşi hamur fermentasyonunda optimum pH'da aspartik proteazlar ortam pH'sını değiştirir [192]. Endojen proteinazlar birincil proteolize bağlıdır [85]. Buğday ve çavdar proteinlerinin proteolizinde mayanın %5'ten azı bozulmaya dirençli kalmaktadır. Tahıl proteinlerinin degradasyonunda buna karşı malt veya fungal enzimlerinin ilavesi gerekmektedir [191]. Simüle edilen ekşi hamur fermentasyonunda baskın spesifik suşun hücre içindeki peptidaz aktivitesi, laktobasil artışına göre amino asitlerin konsantrasyonuna bağlıdır [79].

Biyoaktif peptidler, amino asitler ve amino asit metabolitlerinin birikimi

Biyoaktif peptidler, amino asitler ve mikrobiyal amino asit metabolizma ürünleri, tat-aktif bileşenleri ve lezzet ön maddeleri olarak ekmek kalitesine etki etmektedirler [87]. Ekşi hamur fermentasyonu sonucu oluşan biyoaktif peptidler ve amino asit metabolitlerinin birikimiyle yapının antioksidan veya antihipertansif etki kazandığı tespit edilmiştir [89]. Malt, çavdar ekşi hamurlarının içindeki biyoaktif peptidlerin birikimi, suşa spesifik peptidlerde ekşi hamurdaki laktobasili önemli ölçüde etkiler. Örneğin, yüksek starter kültür konsantrasyonlarının sergilediği düşük PepO ve yüksek PepN aktiviteleri LQP ve LLP birikmiş hipertansif tripeptidleridir [91]. Ekşi hamur fermentasyonu sırasında γ -gaminobutyrate aktif konsantrasyonu, biyolojik metabolit olan glutamat ve antihipertansif tripeptidlerin aktarılması onları zenginleştirilmiş fermentatif ürünlere dahil etmiştir [193].

Ekşi hamur fermentasyonu sırasında tahıl proteinlerin yıkımı belirgin pişmiş ürünlerin genel kalitesini etkiler. Ekşi hamur fermentasyonu sırasında tahıl proteinleri için, birinci ve ikinci proteoliz ve serbest amino asitlerin katabolizması meydana gelir. Şekil 1.9'da bu durum özetlenmiştir. Çeşitli büyüklükte polipeptidlerin kuruluşunun sebebi, asitleştirme ve glutenin disülfid bağlarını indirgemesi ile heterofermentatif laktobasilli teşvik etmek birinci proteolizin faaliyetidir. Hücre içi peptidazlar ekşi hamur laktik asit bakterilerinin tam bir proteolizine ve serbest kalan amino asitler arasında sırasıyla aynı mikroorganizmalar çeşitli katabolik reaksiyonlara tabi tutulur [191]. Optimize edilmiş ve uygun zamanda, tahıl proteinlerinin yıkımında mayalı pişmiş ürünlerin çeşitli fonksiyonel özellikleri üzerinde önemli etkilere sahip olabilir.



Şekil 1.9. Birincil proteoliz (A), ikincil proteoliz (B), katabolizma ve aminoasitlerin serbest kalması (C) [167]

1.4. Yüzey yanıt metodu (YYM)

Proseslerde işlem verimi ve ürün kabulünün yüksek olması için kullanılan önemli araçlardan biri de optimizasyondur. YYM ise optimizasyonu da içeren istatistiksel bir tekniktir. YYM, “Denemelerin Optimum Koşullara Ulaşması” ismi ile 1951 yılında Box and Wilson tarafından geliştirilmiştir. İlk olarak kimya endüstrisine uygulanmıştır [194]. Prosesi etkileyen parametrelere bağımsız değişken, yanıtlara ise bağımlı değişkenler adı verilir. Optimum bölge, yanıtların izohips eğrilerinin çizilerek üst üste yerleştirilmesi veya desirability (istenilen hedefe ulaşma) fonksiyonu veya lineer olmayan programlama yaklaşımları kullanılarak belirlenir.

YYM, 3 aşamadan oluşmaktadır. İlk aşama, ileride daha az sayıda deneme yapılmasını sağlayan, “eleme denemeleri” aşamasıdır. İkinci aşama ise “bölge araştırması”dır. Eleme denemeleri ile belirlenen bağımsız değişkenlerin sistemin yanıtında oluşturdukları değerlerin, optimum noktaya yakın sonuçlar verip vermediği araştırılır. Üçüncü aşama ise “ürün veya prosesin optimizasyonu” aşamasıdır. Gerçek yanıt fonksiyonu optimum nokta etrafında önemli eğrilik gösterir. Bu eğriliğin tahminlenmesinde lineer olmayan modeller, genellikle ikinci dereceden polinomiyal modeller, üssel modeller veya eksponensiyel modeller kullanılır. Uygun bir model elde edildikten sonra, bu model optimum noktanın araştırılmasında kullanılır [194].

Ayrıca seçilen modelin matematiksel formunun uygunluğunun da test edilmesi gerekir. Bu amaçla, varyasyon katsayısının (C.V) hesaplanması, hipotez testlerinin regresyon katsayılarına bireysel olarak uygulanması, regresyon katsayısının (R^2) ve düzeltilmiş regresyon katsayısının hesaplanması (R^2 adj), tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamının (PRESS) ve yeterli tahminleme (adequite precision) değerinin hesaplanması, model uygunsuzluğunun test edilmesi (Lack of fit testi) ve kalıntı analizi gibi farklı test yöntemleri uygulanması gerekir [194]. Bu testlerden özellikle model uygunsuzluğunun kontrolü önem taşımaktadır. Modelin matematiksel formunun uygunsuzluğundan kaynaklanan hataya, model uyumsuzluğu (lack of fit) adı verilir. İdeal olarak, istatistiksel açıdan modelin matematiksel formunun uygunsuzluğunun (lack of fit) istatistiki olarak önemsiz ve regresyon modeli için de önemli olması gerekmektedir [195].

YYM tekniğinin, gıda prosesi ve tahıl ürünleri üzerindeki etkilerini araştıran birçok çalışma literatürde mevcuttur [196]. Optimizasyon çalışmalarının, sıcaklık, süre gibi proses parametrelerinin veya ürün bileşenleri ve formül optimizasyonu üzerine olduğu görülmektedir.

Ekşi hamur kullanılmış buğday ekmeğinin kalitesi üzerine, ekmekte kullanılan maya miktarının, hamur dinlenme süresinin ve fermentasyon süresinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada yüzey yanıt metodu Central Composite Design (CCD) tekniği kullanılmıştır [196]. Buğday ekmeğinin tekstür ve aromasını geliştirmek için ekşi hamur optimum proses şartlarının araştırıldığı bir çalışmada ise yüzey yanıt metodu, CCD tekniği kullanılmış ve sıcaklık (16–32 °C), fermentasyon süresi (6–20 saat), un kül içeriği (0.6–1.8 g/100 g) faktörlerinin etkileri araştırılmıştır [9]. Ayrıca, halojen lamba-mikrodalga fırın kombinasyonunda proses koşullarının (pişirme süresi, mikrodalganın gücü, halojen lambanın gücü) ekmek kalitesi üzerine etkileri [197] ile yine aynı proses koşullarının kek kalitesi üzerindeki etkilerini inceleyen [198] çalışmalar yapılmıştır. YYM Box-Behnken modeli kullanılan çalışmalarda, bağımsız değişken olarak alınan proses faktörlerinin farklı seviyeleri araştırılarak, optimum düzeyleri belirlenmiştir. Formül bileşenlerinin optimizasyonu alanında, yapılan bir çalışmada ise glutensiz ekmek formülünde hidroksi propil metil selüloz ve su miktarının, ekmek kalitesi üzerine etkisinin optimizasyonu araştırılmıştır [199].

Çalışmanın literatüre katkısı

Ekşi hamur kullanımına dair daha önce yapılan bilimsel çalışmalarda proses koşullarının belirlenmesi, ekşi hamur mikroflorası, identifikasyonu ve metabolitleri araştırılmış konular arasındadır [6-9]. YYM ile starter LAB ilaveli fermentasyon ve spontan fermentasyon yöntemlerinin optimize formüllerinin oluşturulması, optimize formüller ile üretilen ekmeklerin standart ekmek ile karşılaştırılması hem tüketici tercihlerine yol gösterici olacak hem de bilimsel açıdan literatüre katkı sağlayacaktır. Çalışmada yanıt olarak araştırılan Ekmek Değer Sayısı (EDS)'nin hesaplanmasında görüntü analizi yönteminin kullanımıyla EDS'de daha objektif sonuçların alınması ve yöntem ile literatürün güncellenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca ekşi hamur kullanılan ekmeklerin standart ekmeğe göre toplam fenolik, antioksidan aktivite, fenolik asit, mineral madde içeriği ile biyoyararlanım gibi birçok nitelik açısından karşılaştırılması

genel biyoaktif niteliklerini bir arada verecek ve birarada değerlendirilmelerine olanak sağlayacaktır. Çalışmada elde edilecek sonuçlarla ekşi hamur kullanımı ile ekmeğin raf ömrü süresince bayatlama olarak algılanan aromatik, tekstürel ve mikrobiyal yöndeki değişimler ortaya çıkartılması hedeflenmektedir. Olumlu sonuçlar alınması durumunda günlük diyetin en önemli parçası olan ekmeğin büyük boyutlara ulaşan israfında ekşi hamur kullanımı ve araştırılan iki fermentasyon yönteminden birisi doğal bir çözüm olarak önerilerek sektöre ve bilimsel literatüre katkı sağlanmış olacaktır.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

2.1.1. Hammadde

Türk Gıda Kodeksi Ekmek ve Ekmek Çeşitleri Tebliği (Tebliğ no: 2012/2) ile Türk Gıda Kodeksi Buğday Unu Tebliği (Tebliğ no: 2013/9)'ne göre ekşi hamur ekmeklerinde özel amaçlı buğday unu kullanılacağından tebliğde belirtilen niteliklere uygun un (rutubet en çok %14.5, protein miktarı en az % 7) ve ekşi hamur yapımında da ince buğday kepeği Darıca (Cesur) Un Sanayi A.Ş. (Trabzon)'dan temin edilmiştir.

Ekmek hamurlarının hazırlanmasında instant aktif kuru maya (Dr.Oetker Gıda Sanayii A.Ş. /İzmir) formüldeki un ağırlığı üzerinden % olarak hesaplanarak kullanılmış olup yerel bir süpermarketten temin edilmiştir. Instant aktif kuru maya, pres veya ekmek mayasına göre daha uzun raf ömrüne sahip olduğu için tercih edilmiş, çalışma boyunca buzdolabında muhafaza edilmiştir.

2.1.2. Laktik asit bakterileri (LAB)

Starter kültür olarak kullanılacak olan LAB *Lactobacillus delbrueckii* (NRRL B-763), *Lactobacillus brevis* (NRRL B-3065) ve *Lactobacillus plantarum* (NRRL B-4496) ARS Kültür Koleksiyonu'ndan (Illinois/USA) liyofilize formda temin edilmiştir. Kullanılmadan önce canlandırma işlemi yapılmıştır. Çalışmada starter olarak seçilen laktik asit bakterileri ekşi hamur üretiminde bir arada kullanılmıştır. Bakterilerin seçiminde fakültatif heterofermentatif (*L. plantarum*), obligat heterofermentatif (*L. brevis*) ve obligat homofermentatif (*L. delbrueckii*) olan türlerden olmaları göz önünde bulundurulmuştur. *L. plantarum* fermentasyon için tercihen glukoz ve früktozu kullanan

[200,201] ve bundan dolayı asidifikasyon performansı kuvvetli ve buğday ekşi hamurunda da baskın bulunan bir tür olması [88] nedeniyle tercih edilmiştir.

Ayrıca, LAB'nin ve mayaların arasındaki interaksyondan, birbirlerinin metabolitlerini veya ortamdaki maddeleri hammadde olarak kullanma öncelik ve tercihleri nedeniyle, birden fazla LAB'sinin starter olarak kullanımının ürünlerin fizikokimyasal ve besinsel kalitelerini arttıracakı düşünülmektedir [202]. Ayrıca spontan fermentasyon yöntemiyle üretilen ekşi hamurlardan izole edilen LAB'nin identifikasyonları sonucu birden fazla türü içerdikleri de belirlenmiştir [18].

Çalışmada starter kültür olarak kullanılan *Lactobacillus* türlerine ait teknik bilgiler Tablo 2.1 de verilmiştir [29].

Tablo 2.1. Ekmek starter kültürü olarak kullanılan üç kültüre ait teknik bilgiler

Bakteri	<i>L. brevis</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. delbruecki</i>
Gelişme			
Minimum sıcaklık	10 °C	10 °C	10 °C
Optimum sıcaklık	37 °C	37 °C	37 °C
Maksimum sıcaklık	45 °C	45 °C	45 °C
pH	3.6-7.0	3.6-7.0	3.6-7.0
Tuz			
% 2.5	Hafif inhibisyon	Hafif inhibisyon	Hafif inhibisyon
5%	Güçlü inhibisyon	Güçlü inhibisyon	Güçlü inhibisyon
Maya	İnhibisyon yok	İnhibisyon yok	İnhibisyon yok
Fermentasyon			
Genel	Heterofermantatif	Homofermantatif	Homofermantatif
Glukoz	+	+	+
Fruktoz	+	+	+
Maltoz	+	-	+
Laktoz	-	-	+
Sakaroz	-	-	+
Nişasta	-	-	-
Ana dönüşüm ürünleri	DL-laktik asit, asetik asit, etanol, CO ₂	L(+)-laktik asit	DL-laktik asit

2.1.3. Enzimler, tampon çözeltiler ve standartlar

In vitro küf ve protein biyoyararlanım analizlerinde kullanılan pepsin enzimi (P7000, $\geq$ 250 unit/mg) ve pankreatin enzimi (P7545) toz formda olup Sigma (Almanya)'dan temin edilmiştir.

Pankreatin enziminin çözündürülmesinde kullanılan fosfat tampon çözeltisi (pH:8.0) laboratuvarda hazırlanmış ve kullanılan disodyum hidrojen fosfat ve potasyum dihidrojen fosfat Sigma (Almanya)'dan temin edilmiştir.

Enzime dirençli nişasta tayininde kullanılan pankreatik α -amilaz, amiloglukozidaz enzimleri, tamponlar ile D-glukoz ve dirençli nişasta standardı Megazyme (İrlanda)'dan kit (K-Rstar 08/11) olarak temin edilmiştir.

Organik asit tayininde HPLC standardı olarak kullanılan laktik asit (PHR1215) ve asetik asit (45727) ile fenolik asit tayininde standart olarak kullanılan ferulik asit (46278) Sigma (Almanya)'dan temin edilmiştir tüm standartlar kromatografik saflıktadır.

Antioksidatif aktivite tayininde kullanılan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ile standart olarak kullanılan (R)-(+)-6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametil-kroman-2-karboksilik asit (Troloks, 391913), toplam fenolik madde analizinde kullanılan Folin-Ciocalteu fenol reaktifi ile standart olarak kullanılan Gallik asit (91215) de Sigma (Almanya)'dan temin edilmiştir.

2.1.4. Sarf malzemeleri ve kimyasal maddeler

Çalışmamızda liyofilize formdaki LAB'nin canlandırılması, LAB'nin ekşi hamura ilave edilebilecek starter forma getirilmesi, ekşi hamurda LAB'nin sayımı, raf ömrü süresince ekmekte küf sayımı gibi mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan besiyerleri ile sarf malzemeleri Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan besiyerleri ve sarf malzemeleri

Malzeme	Firma
Anaerocult A	
Anaerobic jar	
MRS Agar	Merck, A.G., Almanya
MRS Broth	
Yeast Extrakt Glucose Chloramphenicol Agar	

Çalışmada kullanılan sarf malzemeleri ve kimyasallar Tablo 2.3’de verilmiştir.

Tablo 2.3. Çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasal adı	Marka
Aseton	Merck, A. G., Almanya, HPLC grade
Asetonitril	ACN, Merck, A. G., Almanya, HPLC grade
Etanol	Et-OH, Merck, A.G., Almanya, HPLC grade
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂ , Sigma Aldrich, Almanya
Hidroklorik asit	HCl, Merck, A. G., Almanya
Metanol	Me-OH, Merck, A.G., Almanya, HPLC grade
Nitrik asit	HNO ₃ , Merck, A.G., Almanya
Sodyum karbonat	Na ₂ CO ₃ , Merck, A. G., Almanya
Sülfirik asit	H ₂ SO ₄ , Merck, A.G., Almanya, HPLC grade
Trikloro asetik asit	TCA, Merck, A. G., Almanya

Çalışmada çözelti, tampon, besiyeri hazırlama, temizleme ve ekstraksiyon işlemlerinde saf su, kromatografik analizlerde de ultra saf su kullanılmıştır.

2.1.5. Cihazlar

Tez çalışmasının deneysel aşamasında kullanılan cihazlar (Tablo 2.4) ve kullanım amaçları aşağıda verilmiştir.

Renk Ölçüm Cihazı: Ekmek örneklerinin iç ve kabuk rengi ölçümleri için kullanılmıştır.

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre: Ekmekte raf ömrü süresince bayatlama özelliklerinin tespitine yönelik nişasta retgradasyonuna bağlı amilopektin fraksiyonunun erime özelliği ve entalpisinin tespiti amacıyla kullanılmıştır.

Çalkalamalı inkübatör: İn-vitro kül, protein biyoyararlanımı ve enzime dirençli nişasta tayinlerinde gastro-intestinal sindirim simülasyonunu sağlamak amacıyla ısıtmalı karıştırma işlemi için kullanılmıştır.

Gluten indeks cihazı: Un kalite özelliklerinin belirlenmesinde kaliteli/sağlam gluten oranının belirlenebilmesi için yaş glutenin santrüfjlenmesi amacıyla kullanılmıştır.

Glutork gluten kurutucu: Kuru gluten miktarının tespiti için yaş glutenin kurutulması amacıyla kullanılmıştır.

Farinograf cihazı: Un kalite özelliklerinin tespiti amacıyla kullanılmıştır.

Etüv: Rutubet tayini ve genel olarak deneysel çalışmalarda kurutma gereken yerlerde kullanılmıştır.

Inkübatör: Mikrobiyolojik çalışmalarda inkübasyon süresince sabit sıcaklık ortamının sağlanması amacıyla kullanılmıştır.

Santrüfj cihazı: LAB'nin starter forma hazırlanması aşamasında bakterilerin besi ortamından uzaklaştırılmaları ve yıkanmaları işlemlerinde, genel olarak kimyasal ve besinsel analizlerde supernatant ve pelet kısmın ayrılması gereken durumlarda soğutmalı santrüfj kullanılmıştır.

Manyetik karıştırıcı: Tampon ve diğer çözeltilerin hazırlanması, antioksidatif aktivite ve toplam fenolik madde tayininde radikallerin ve katı kimyasalların çözündürülmesi ve homojen karışımlarının sağlanması amacıyla kullanılmıştır.

Vorteks Karıştırıcı: Mikrobiyolojik, kimyasal ve besinsel tüm analizlerde küçük miktarlarda ve kısa süreli homojen karışımların istendiği tüm durumlarda vorteks kullanılmıştır.

Spektrofotometre: LAB'nin hamura katılabilecek starter forma getirilmesinde hücre yoğunluğunun ölçülmesi, antioksidatif aktivite, toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesi ve enzime dirençli nişasta tayininde kullanılmıştır.

Tablo 2.4. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Cihaz	Marka	Model	Ülke
Renk Ölçüm Cihazı	Konica-Minolta	CR400	Japonya
Diferansiyel Taramalı Kalorimetre	Perkin Elmer	Diamond	Amerika
Çalkalamalı inkübatör	Heidolph	Unimax 1010	Almanya
Gluten İndeks Cihazı	Yücebaş Makine		Türkiye
Glutork Gluten Kurutucu	Yücebaş Makine		Türkiye
Farinograf Cihazı	Brabender	820601,OHG	Almanya
Etüv	Memmert	UNB 400	Almanya
İnkübatör	Memmert	Ine 500	Almanya
Santrifüj Cihazı	Hettich	320	Almanya
Manyetik Karıştırıcı	Heidolph	MR Hei	Almanya
Vorteks Karıştırıcı	Heidolph	Reax Top	Almanya
Spektrofotometre	Mecasys	Optizen Pop	Kore
Taramalı Elektron Mikroskobu	Leica	SEM LEO 440	Almanya
Hassas Terazı	Ohaus	DV314C	İsviçre
Homojenizatör (ultra-turaks)	IKA	T25	Almanya
pH metre	Hanna	HI 8314	Çin
Ekmek Yapma Makinesi	Moulinex	Bread XXL	Fransa
Gaz Kromatografisi- Kütle Spektroskopisi	Agilent	7890 A GC 5975C VL MSD	Amerika
Tekstür Profil Analiz Cihazı	Stable Micro Systems	TPA,TA-XT.Plus Surrey	İngiltere
Protein Tayin Cihazı	Şimşek Labor. Teknik	AP 1080	Türkiye
Kül Fırını	Nüve	MF 106	Türkiye
Sedimentasyon Cihazı		Yücebaş Makine	Türkiye
İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi	Agilent	ICP-MS 7700	Amerika
Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi	Termo	HPLC P 2000	Amerika
Tarayıcı	Hewlett-Packard	Scanner PSC1215,	Amerika

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM): Ekmeğin raf ömrü süresince belirlenen günlerdeki mikro tekstürel yapısının incelenmesi, bayatlama, nişasta retrogradasyonu, protein yapısındaki değişimin gözlenmesi amacıyla kullanılmıştır.

Hassas Terazi: Genel olarak tüm tartım işlemlerinde hassas terazi kullanılmıştır.

Homojenizatör: Hamur ve ekmek katı materyaller oldukları için pH, titrasyon asitliği ölçümü gibi numunenin çözücü içerisinde çözündürülmesi gereken kimyasal ve besinsel analizlerin ön işlemlerinde homojenizatör kullanılmıştır.

pH metre: Hamur ve ekmek örneklerinin pH'larının ölçülmesi ve toplam titrasyon asitliği analizlerinde, kimyasal ve besinsel analizlerde nötralizasyon işlemlerinde, tampon çözeltilerin hazırlanmasında kullanılmıştır.

Ekmek Yapma Makinesi: Ekmek örneklerinin hazırlanması amacıyla kullanılmıştır.

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi: Ekmek örneklerinin raf ömrü süresince aromatik yapısındaki değişimin belirlenebilmesi için uçucu bileşiklerinin tespiti amacıyla kullanılmıştır.

Tekstür Profil Cihazı: Ekmek örneklerinin raf ömrü süresince tekstürel niteliklerindeki değişim tespiti amacıyla kullanılmıştır.

Protein Tayin Cihazı: Un kalite özelliklerinden protein miktarının belirlenmesi ve ekmekte in-vitro protein biyoyararlanımının tespiti çalışmalarında kullanılmıştır.

Kül Fırını: Un kalite özelliklerinden kül miktarının belirlenmesi ve ekmekte in-vitro mineral biyoyararlanımının tespiti çalışmalarında kullanılmıştır.

Sedimentasyon cihazı: Un kalite özelliklerinden sedimentasyon miktarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

İndüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS): Ekmek örneklerinin mineral madde içeriklerinin tespiti amacıyla kullanılmıştır.

HPLC: Hamur ve ekmekte organik asitlerin tespit edilmesi, ferulik asit içeriğinin tayini için kullanılmıştır.

Tarayıcı: Optimizasyon aşamasında ekmek gözenek yapısının tespiti ve elde edilen verilerin Image ProPlus görüntü işleme programına aktarımında kullanılmıştır.

2.2. Yöntem

Tez çalışması için planlanan aşamalar akım şeması halinde Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Tez planı ve akım şeması

Tez çalışması 2 ana bölüm şeklinde planlanmıştır. İlk bölümde Yüzey Yanıt Metodu kullanılarak 3 formül değişkeni için formül optimizasyonu yapılmış ve elde edilen modellerin deneysel doğrulamaları gerçekleştirilmiştir. 2 bölümde, ilk bölümde elde edilen optimize modele göre üretilen ekmeklerin fizikokimyasal, besinsel, lezzet ve raf ömrü nitelikleri incelenmiştir.

2.2.1. Un örneğinin kimyasal ve teknolojik kalite özelliklerinin belirlenmesi

2.2.1.1. Rutubet

AACC Metod No: 44-19.01'a göre yapılmıştır [203]. Bu amaçla, önce etüvde sonra desikatörde tutularak sabit tartıma getirilen tartım kaplarının daraları belirlenmiştir. Yaklaşık 2 g un numunesi 2 paralel tartılarak 135 °C' deki etüvde 3 saat tutularak sabit tartıma gelmesi sağlanmıştır. İşlem sonrasında desikatöre alınmış, oda sıcaklığına soğuması beklenmiş ve örneklerin ağırlıkları hassas terazi ile ölçülmüştür. Daralar hariç tutularak, başlangıç ve sondaki örneğe ait tartım farkları hesaplanarak 3 saatin sonundaki rutubet kaybı % olarak belirlenmiştir.

2.2.1.2. Kül

AACC Metod No: 08-01.01'e göre belirlenmiştir [204]. Yaklaşık 3 g un numunesi sabit tartıma getirilmiş porselen krozelere tartılarak kül fırınında 550 °C'de beyaz kül oluşuncaya kadar yakılmıştır. Oda sıcaklığına kadar desikatörde soğutulmuş ve dara hariç tutularak, başlangıçtaki numune miktarına göre % kül oranı hesaplanmıştır

2.2.1.3. Protein

AOAC 960.52 Kjeldahl yöntemine göre yarı otomatik protein tayin cihazı kullanılarak yapılmıştır [205]. Yaklaşık 1 g numune tartılarak protein yakma cihazında yakma yapılmıştır. Daha sonra sırasıyla destilasyon, borik asit ile damıtma ve HCl ile titrasyon yapılarak sonuçların ifadesi için 5.7 çevirme faktörü ile çarpılmıştır.

2.2.1.4. Sedimentasyon değeri

ICC Metod No: 116/1'e göre belirlenmiştir [206]. 3.2 g un numunesi 100 mL'lik cam mezüre tartılarak üzerine 50 mL brom fenol çözeltisi ilave edilmiş, homojen bir süspansiyon elde edilinceye kadar birkaç defa elde daha sonra da cihaza yerleştirilerek 5 dak çalkalanmıştır. Üzerine 25 mL laktik asit özeltisi ilave edilerek 5 dak daha çalkalanmış ve tüp düz bir zemin üzerinde 5 dak bekletilerek çökeltme değeri göz hizası seviyesinden mL cinsinden okunmuştur.

2.2.1.5. Yaş ve kuru gluten miktarı, gluten indeks

Yaş gluten için ICC 106/2 metodu esas alınmıştır [207]. 10 g un örneği tartılarak 5 mL, %2'lik tuz çözeltisi ile havanda yoğurulmuş aynı çözelti ile elde yıkanmıştır. Yıkama bittikten sonra yaş gluten ICC 155. metoduna göre, 600 devir/dak'da indeks cihazında

santrifüj edilmiştir [208] Santrifüjden sonra, elekte kalan ve toplam gluten miktarları tartılarak bulunmuş, gluten indeks değerleri hesaplanmıştır.

Glutork cihazı, 10 dak ısıtıldıktan sonra yıkama ile elde edilen yaş gluten alete yerleştirilip ilk 30 s elle bastırılarak toplam 5 dak cihazda bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda kurumuş olan gluten cihazdan alınıp desikatörde soğutulmuş ve tartılarak kuru gluten miktarı hesaplanmıştır.

2.2.1.6. Farinogram değerleri

ICC Metod No: 115/1, (1992)'e göre farinograf cihazında tespit edilmiştir [209]. Farinogram değerlerinden su absorpsiyon miktarı ekmek yapımında hamura ilave edilecek su miktarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

2.2.2. YYM ile formül optimizasyonu

2.2.2.1. Deneysel dizayn

Ekmekte kullanılacak maya oranı, ekşi hamur ve kepek kullanım oranları ekşi hamur üretiminde etkili değişken faktörler olarak belirlenmiştir. Bu faktörlerin ekmek değer sayısı (EDS) ve ekmeğin kabul edilebilirlik (KE) düzeyi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla Response Surface Methodology (RSM)-Yüzey Yanıt Metoduna (YYM) bağlı olarak Central Composite Rotatable Design (CCRD)-Merkezi Bileşen Deneme Desenine göre hazırlanan ve Tablo 2.5 ve Tablo 2.6'da gösterilen deneme deseni kullanılmıştır. CCRD, Design Expert 7.0.0 paket programı kullanılarak oluşturulmuştur.

“Maya kullanım oranı, Kepek kullanım oranı ve Ekşi hamur kullanım oranı” olmak üzere 3 bağımsız değişken (faktör) ve merkezi bileşen deneme desenine göre 5 merkez nokta belirlenmiştir. Yapılan ön çalışmalar ve literatür bilgileri ile faktör seviyeleri tespit edilmiştir [210-212]

Programın önerdiği 20 deneme hem starter LAB ilaveli hem de spontan fermentasyon ile üretilen ekşi hamurlu ekmeklerde ayrı ayrı yapılarak, optimizasyon çalışması her iki yöntemde de uygulanmıştır.

Deneme desenine göre yapılan ekmeklerden EDS ve KE açısından elde edilen sonuçlar CCRD Overall Desirability (istenilirlik) fonksiyonu kullanılarak bir arada değerlendirilmiş ve her iki fermentasyon yöntemi için de optimize modeller elde edilmiştir.

2.2.2.1.1. Değişken faktör seviyelerinin belirlenmesi

Maya kullanım oranı

Endüstriyel ekşi hamurlu ekmek üretiminde yaş veya kuru ekmek mayası kullanımının olmadığı çeşitler mevcuttur. Bunun yanı sıra ekmek yapımında ekşi hamur ile birlikte *S. cerevisiae* kullanımının ekmek kalite niteliklerini iyileştirdiğine dair çalışmalar da vardır [41] Bu nedenle “maya kullanım oranı” değişkeni için ilk seviye 0 (sıfır) olarak alınmıştır. Yaptığımız ön denemelerde ekşi hamur kullanımı sabit tutulup maya miktarı arttırıldığında un miktarı üzerinden %2 aktif kuru maya ilave edildiğinde ekmek gözenek yapısının büyüdüğü, tekstürün kuruduğu ve içyapıda dağılma meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu nedenle maya kullanım miktarında üst sınır %2 olarak belirlenmiştir.

Kepek kullanım oranı

Ekşi maya üretiminde buğdayın kepeğinden gelen mikroflora, enzimler, mineraller gibi yapıların laktik asit fermentasyonunda etkili olması nedeniyle ekşi mayaya 5 farklı oranda kepek ilavesi öngörülmüştür. Yalnızca un ve suyun fermentasyonu ile ekşi hamur yapılabildiği gibi (kepeksiz), buğday kepeğinin ekşi hamura ilavesiyle ekmek hacminin ve aromatik yapının geliştiğini bildiren çalışmalar da mevcuttur [213] Bu nedenle “kepek kullanım oranı” değişkeni için ilk seviye 0 (sıfır) olarak alınmıştır. Sabit ekşi hamur (%15) ve aktif kuru maya (%1) kullanılarak yapılan ön denemelerde % 0, 5, 15, 25, 40 kepek ilaveli ekşi hamurlar ekmeğe ilave edilmiştir. Birim alandaki ekmek gözenek sayısında ve ekmek hacminde artış tespit edilmiştir. Ancak yapılan ön denemelerde ekşi hamura %40 üzerinde kepek ilave edilmesi ve ekşi hamurun da ekmek hamuruna %25 ilave edilmesi durumunda yapılan ekmekler panelistlerce yeme kalitesi düşük bulunduğundan, kepek kullanım oranının üst sınırı %40 olarak belirlenmiştir.

Ekşi hamur kullanım oranı

Endüstriyel olarak genel kabul görmüş oran %15 olmakla birlikte farklı çalışmalarda farklı kullanım oranları denenmiştir. Bu amaçla ekşi hamurun ekmek hamurunda 5 farklı kullanım oranı öngörülmüştür (Tablo 2.5).

Tablo 2.5. YYM'a göre kullanılan değişkenler ve seviyeleri

Seviye no	Maya kullanım Oranı (%)	Ekşi hamur kullanım oranı (%)	Kepek kullanım oranı (%)
-1,68	0	5	0
-1	0.41	9.05	8.11
0	1.00	15.00	20.00
1	1.59	20.95	31.89
1,68	2.00	25.00	40.00

Tablo 2.6. CCRD deneme planı

	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3
Uygulama	Maya Kullanım Oranı (%)	Ekşi Hamur Kullanım Oranı (%)	Kepek Oranı (%)
1	0	0	0
2	-1.68	0	0
3	-1	1	-1
4	-1	-1	-1
5	0	1.68	0
6	0	0	-1.68
7	0	-1.68	0
8	0	0	0
9	1	-1	-1
10	0	0	0
11	1	-1	1
12	1.68	0	0
13	0	0	0
14	0	0	0
15	-1	1	1
16	1	1	-1
17	1	1	1
18	-1	-1	1
19	0	0	1.68
20	0	0	0

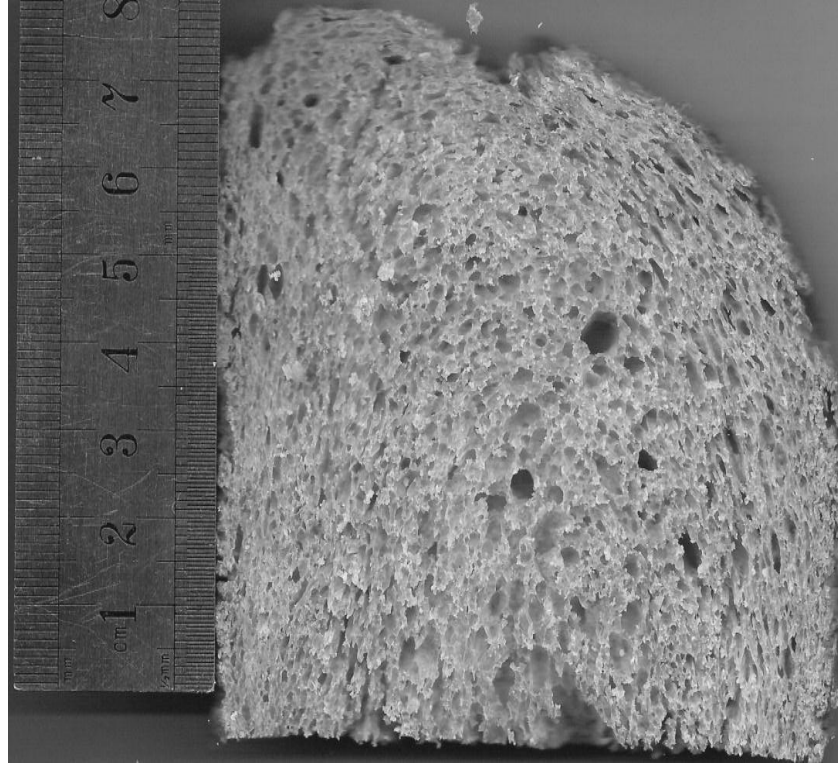
2.2.2.1.2. Ekmek değ er sayısı (EDS)

YYM deneme desenine göre önerilen 20 denemeye dair ekmekler yapılarak, EDS hesaplanmıştır. EDS ekmeklerin hacim, tekstür ve i  gözenek açısından bir arada değerlendirilmesini sağlayan bir yöntemdir. Ekmekler piştikten 2 saat sonra hacmi ölçülmüştür. Daha sonra ekmekler kesilerek ekmek içi yapısı değerlendirilmiştir EDS Dallman eşitliğine göre aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır [214];

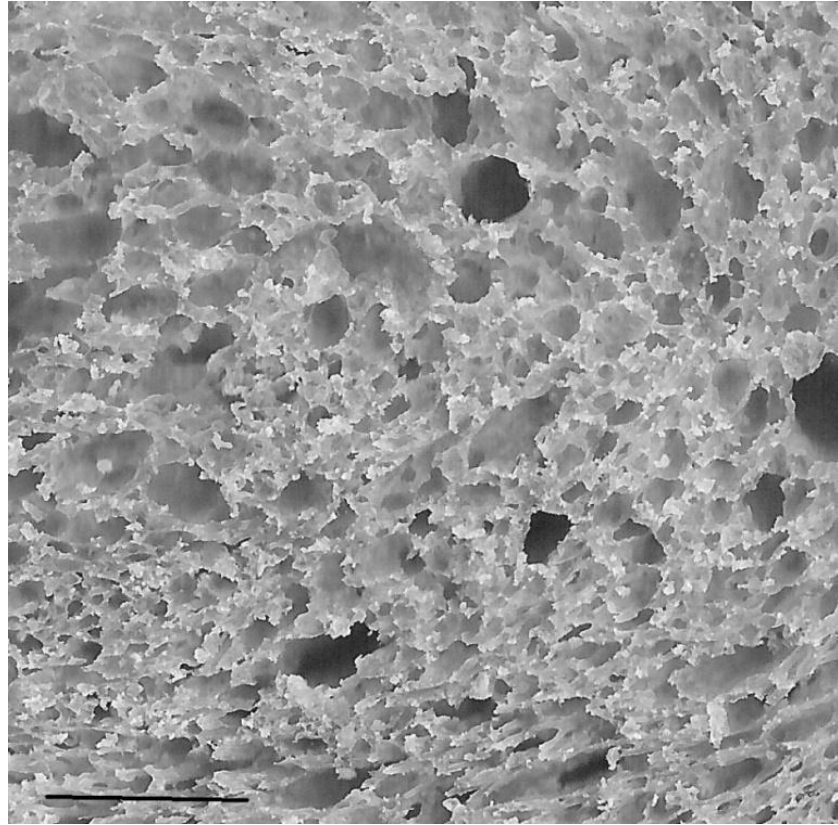
$$EDS = \frac{\text{Gözenek faktörü} \times \text{Hacim faktörü}}{100} \pm \text{Ekmek içi değerleri}$$

Gözenek faktörünün hesaplanması: Ekmek ortasından enine ikiye bölünerek gözenek durumu Dallman gözenek skalası ile karşılaştırılarak gözenek puanı tespit edilmiştir. Dallman skalası, ekmek iç yapısını karakterize eden 8 adet fotoğrafın bulunduğu bir skaladır. Numune ekmekten alınan kesit bu fotoğraflar ile karşılaştırılarak hangisine benzediği tespit edilir ve hazırlanmış skalaya [120] göre fotoğrafa karşılık gelen gözenek faktörü tespit edilir. Ancak görsel olarak yapılan bu karşılaştırma göz yanılısmalarına bağlı öznel sonuçlar verebileceğinden bu çalışmada gözenek yapısı Image Pro Plus 6.0 programı ile incelenmiş, birim alandaki gözenek sayısı tespit edilmiştir. Gözenek alanlarının oransal dağılımı belirlenmiştir ve buna bağlı gözenek faktörü hesaplanmıştır.

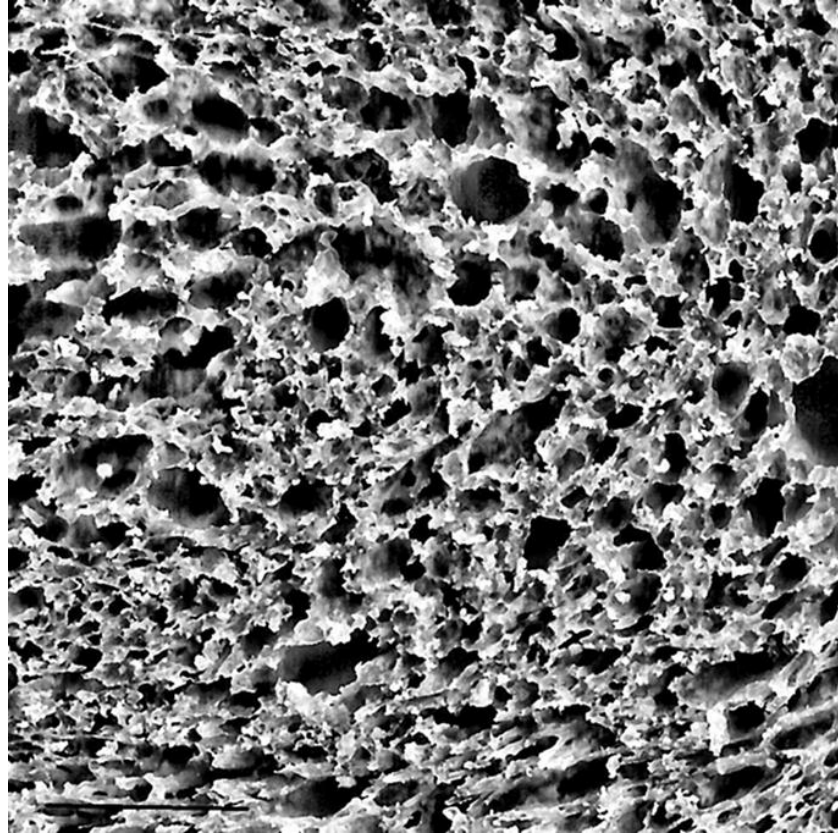
Numune ekmekten 10 mm kalınlığında düzgün kesit alınarak yatay tarayıcıda uygun  z n rl k ve gri tonlamada görüntü elde edilmiştir (şekil 2.2). Bu görüntü Microsoft Paint programına %100 görüntü büyüklüğünde aktarılarak belirli ebatlarda kesit alınmıştır (şekil 2.3) ve Image ProPlus 6.0 programında, uygun filtreleme ve kontrast ayarları yapılmıştır (şekil 2.4). Elde edilen görüntüde gözenekler siyah bölge, taban alanı ise beyaz bölge olarak algılanmıştır (şekil 2.5). Her bir alanın toplam alandaki oransal yüzdeleri, gözeneklerin alanları ve sayıları program ile hesaplanmıştır (şekil 2.6). Bu yöntemle elde edilen gözenek alanları ve sayıları Microsoft Excell programı ile sınıflandırılarak (Tablo 2.7) değerlendirilmiştir [215].



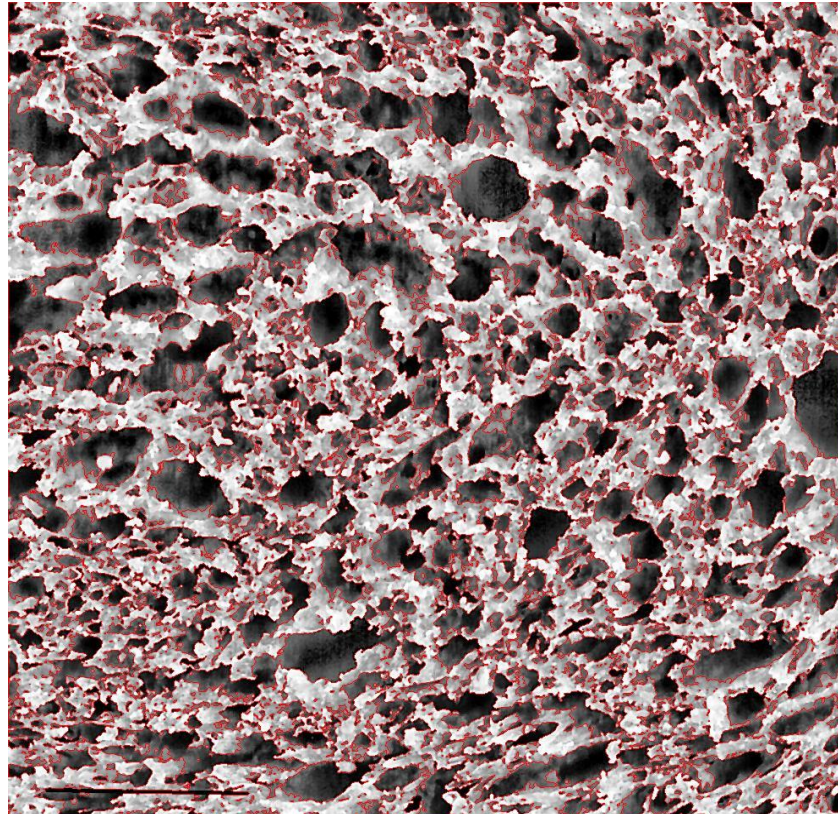
Şekil 2.2. Ekmek örneğinin tarama ve ölçeklendirilmesi



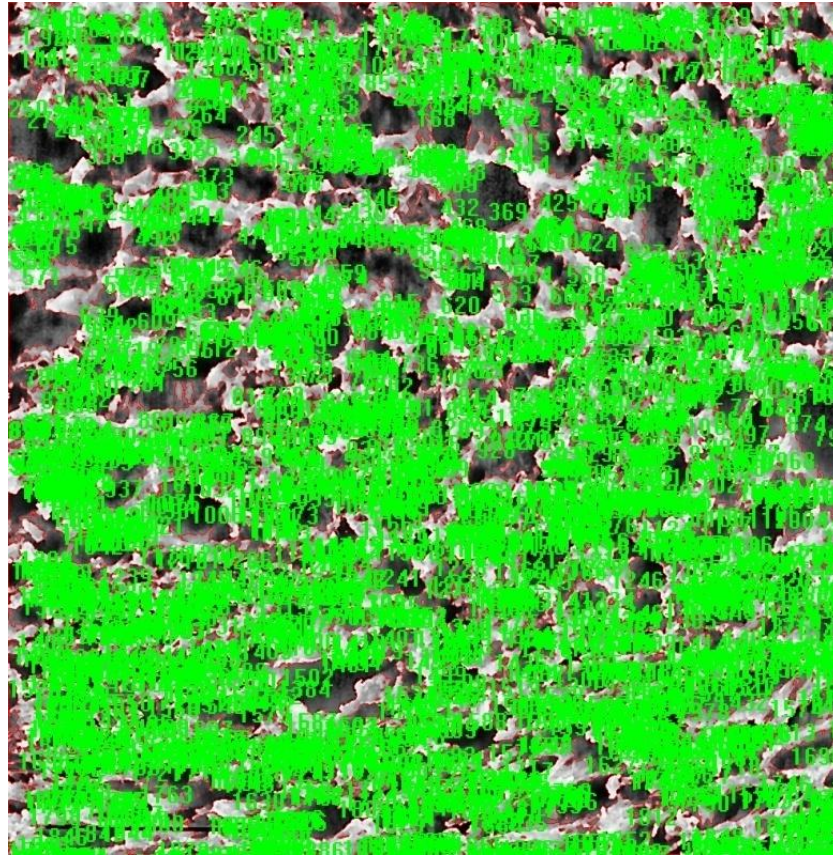
Şekil 2.3. Tarayıcıdan Image ProPlus programına aktarılmış görüntü



Şekil 2.4. Filtreleme ile kontrast oluşturulması ve gözenek yapısının belirginleştirilmesi ile elde edilen görüntü



Şekil 2.5. Gözenek sınırlarının belirlenmesi sonucu elde edilen görüntü



Şekil 2.6. Gözeneklerin ve alanlarının sayımı sonucunda elde edilen görüntü

Gözenek faktörünün hesaplanmasında kullanılan görüntü işleme analizine ait aşamalar ve elde edilen görüntüler Şekil 2.2, Şekil 2.3, Şekil 2.4, Şekil 2.5 ve Şekil 2.6'da verilmiştir.

Tablo 2.7. Ekmek gözenek alanları için hazırlanmış sınıflandırma aralıkları

Sınıf	Alan (mm ²)
1	0.05–0.49
2	0.50–0.99
3	1.00–4.99
4	5.00–49.99
5	>50

Numune ekmekte tespit edilen gözenek alanları ve sayıları Tablo 2.7'deki aralıklara göre sınıflandırıldıktan sonra, yüzde (%) dağılımları hesaplanıp, faktör kat sayıları ile

çarpılarak her bir sınıfın “Gözenek Puanı”, bunların toplamıyla da her ekmeğe ait “Gözenek Faktörü” hesaplanmıştır.

Tablo 2.8. Gözenek faktörünün hesaplanması

Sınıf aralığı	Gözenek Sayısı	Yüzde (%)	Faktör katsayısı (FK)	Gözenek Puanı (%) x (FK)
Sınıf 1 = 0.05–0.49 mm ²			1.0	
Sınıf 2 = 0.50–0.99 mm ²			0.8	
Sınıf 3 = 1.00–4.99 mm ²			0.6	
Sınıf 4 = 5.00–49.99 mm ²			0.4	
Sınıf 5 = >50 mm ²			0.2	
				Toplam Gözenek Puanları= Gözenek Faktörü

Hacim faktörü: Kolza tohumuyla yer değiştirme esasına göre önce ekmeğin hacmi ölçülmüş, sonra bundan 100 g una karşılık gelen ekmek hacmi (hacim verimi) hesaplanmıştır. Buna göre hacim verimine karşılık gelen hacim faktörü elde edilmiştir [120].

Ekmek içi değeri: Gözeneklerin homojenliğini, ekmek içi tekstürünü ve elastikiyetini değerlendirmeye alan duyuşsal bir puanlama yöntemidir [120]. Ekmek kabul edilebilirlik düzeyini belirleyen panelistler tarafından değerlendirme ve puanlaması gerçekleştirilmiştir.

Ekmek hacim faktörü, gözenek faktörü ve ekmek içi değeri ile “Ekmek Değer Sayısı” hesaplanmıştır.

2.2.2.1.3 Ekmek kabul edilebilirlik (KE) düzeyi

Ekmek kalitesinin değerlendirilmesinde ekmeğin iç ve dış özellikleri bir arada değerlendirilir. Bu özellikler ve ekmeğin ideal kalitede kabul edilebilmesi için olması gereken nitelikler Tablo 2.9’da verilmiştir [216].

Tablo 2.9. Ekmek kalite özellikleri

	Özellikler	Değerlendirme
Dış özellikler	Ekmeğin kabuk rengi	Her tarafı aynı renkte olmalı, açık, koyulu, benekli olmamalıdır
	Şekilde simetrisi	Düzgün ve simetrik olmalı, basıklık ve çökme olmamalı
	Pişme düzgünlüğü	Tüm yüzeyler düzgün ve eşit kızarmış olmalı
	Kabuk özellikleri	İnce ve kolay parçalanabilir olmalı
İç özellikler	Gözenek yapısı	Küçük, ince, homojen olmalı
	İç rengi	Kendine özgü ve uniform renkte olmalı
	Aroma ve tat	Kendine özgü olmalı, aşırı ekşi, mayalanmış, yavan veya yabancı tat ve kokuya sahip olmamalı
	Çiğneme özellikleri	Hamurumsu ve yapışkan olmamalı
	Yapı	Hamurumsu, ıslak, çok kuru, ufalanan yapıda olmamalı, yumuşak ve kadifemsi olmalı

Tablo 2.9’da verilen özellikleri göz önünde bulundurarak panelistlerden ekmek kabul edilebilirliğini değerlendirmeleri istenmiştir. Bu amaçla Tablo 2.10’da verilen 5 ifadeli Hedonik test skalası kullanılmıştır [217-219]. Panelistler 1-5 arası skor kullanarak, kabul edilebilirlik düzeyini en iyi buldukları ekmeği “Çok beğendim”=5 puan; kötü buldukları ekmeği ise “Hiç beğenmedim”=1 puan ile ifade etmişlerdir.

Tablo 2.10. KE düzeyi için 5 ifadeli hedonik skala yanıt formu

	KE düzeyi
Çok beğendim	5
Beğendim	4
Orta derecede beğendim	3
Az beğendim	2
Hiç beğenmedim	1

2.2.3. Ekşi hamur denemeleri

Ekşi hamur yapımında performansı etkileyen önemli faktörlerden bir tanesi de un/su oranıdır ve Hamur Verimi (HV) değeri ile ifade edilir. Yapılan çalışmalarda;

$$HV = \frac{\text{Kullanılan su miktarı (mL)} + \text{Kullanılan un miktarı (g)}}{\text{Kullanılan un miktarı (mL)}} \times 100$$

formülü ile hesaplanan HV=200 değeri en iyi sonuçları verdiği için [10] tez çalışmasında da bu oranlar kullanılmıştır.

Ekşi hamurların hazırlanması amacıyla endüstriyel olarak da kullanılan spontan fermentasyon ile LAB'^nin starter olarak kullanıldığı 2 tip fermentasyon yöntemi kullanılmıştır.

2.2.3.1 Spontan fermentasyon

Endüstriyel olarak ekşi mayalı ekmek üretiminde 2 kademeli fermentasyon kullanılmaktadır. Ayrıca ekşi hamurların hazırlanmasında 2-5 gün süren kademeli fermentasyon tekniği kullanılabileceği de belirtilmektedir [220,221]. Çalışmada Aksoy [222] ve Akgün [223]'ün kullandığı teknikler modifiye edilerek kullanılmıştır.

Bu amaçla 200 g un, 200 mL su ile homojen karışım yapılarak 25-27 °C'de pH 4.5'a kadar fermente edilmiştir. Bu hamurdan 40 g alınarak 180 g un, 180 mL su ile karıştırılmıştır. 25-27 °C de pH 4.5'a kadar fermente edilmiştir. Bu işlem 2 kademeli fermentasyon olarak kabul edilerek, fermentasyon kademe sayısına devam edilmiştir.

Ekşi hamur üretiminde ekmeğe ilave edilebilecek ekşi hamurun 4-6 saat içerisinde pH 4.0-4.5 asitlik düzeyine gelmesi beklenmektedir. Aynı zamanda kullanılan ekşi hamurun da, ekmek hamurunun ön fermentasyonunu 4-6 saatte gerçekleştirmesi beklenmektedir [11,167].

Bu amaçla yapılan ön denemelerde 25-27 °C [10] ortam sıcaklığında HV=200 olarak hazırlanan ekşi hamurların 1.kademe de pH 4.5'a 28-30 saatte ulaşırken, 4.kademede pH 4.5'a 4-6 saatte ulaştıkları tespit edilmiştir.

Bu tespitimize göre spontan fermentasyon için 4 kademeli ekşi hamur hazırlama yöntemi kullanılmasına karar verilmiştir.

2.2.3.2. Starter LAB ile fermentasyon

L. brevis (obligat heterofermentatif), *L. plantarum* (fakültatif heterofermentatif), *L. delbrueckii* (obligat homofermentatif) bakterileri ekşi hamurlarda yaygın olarak bulunan LAB'dir. Liyofilize olarak temin edilen bakteriler MRS agara sürme yapılmış, 36 °C ve 24 saat sonunda tek düşen ve morfolojik olarak da teyit edilen kolonilerden 1'er adet alınarak MRS Broth'a aşılama yapılmıştır. 18 saatlik genç kültürden alınarak %1 oranında MRS Broth'a tekrar aşılama yapılmıştır. 18 saatlik kültürden mikroorganizmalar santrifüj (3000 devir/dak'da 10 dak) ile ayrılmış, steril fizyolojik su ile iki kez yıkandıktan sonra her bir kültür McFarland:5 ve spektrofotometrede 650 nm dalga boyunda 1.010-1.050 aralığında ölçülerek optik yoğunlukları ayarlanmıştır. Optik yoğunlukları ölçülen hücre süspansiyonlarından dilüsyonlar hazırlanmış ve yayma yöntemi ile LAB sayımı yapılarak ortalama 10^7 hücre/mL konsantrasyonda oldukları teyit edilmiştir (Tablo 2.11).

Tablo 2.11. Starter olarak kullanılan LAB sayım sonuçları

LAB	Sayım sonuçları (kob/mL)
<i>L. brevis</i>	1.25×10^7
<i>L. plantarum</i>	1.99×10^7
<i>L. delbrueckii</i>	8.6×10^7

Denemelerde tartılan un miktarına göre hücre süspansiyonlarının herbirisi ile %1 oranında aşılama yapılmıştır [223] Her ekşi hamur yapımında hazırlanan hücre süspansiyonu spektrofotometrede 1.010-1.050 aralığına ayarlanarak, her hamura ilave edilecek hücre konsantrasyonunun aynı olması sağlanmıştır. Hazırlanan ekşi hamurlar 25-27 °C'de pH 4.5 oluncaya kadar ekşitilmiştir.

2.2.4. Ekmek denemeleri

Hammadde olarak özel amaçlı buğday un, su, tuz, instant aktif kuru maya ve ekşi hamur kullanılmıştır. Ekmek pişirme denemeleri direkt hamur metodu ile yapılmıştır [1].

Denemelerde ekmek makinesi kullanıldığından dolayı bu metodu temsil edecek program ayarlanmıştır. Farinograf analizi ile tespit edilen su (un miktarı üzerinden, %), daha sonra tuz (kuru madde üzerinden %1.5), maya, un ve ekşi hamur yoğurucu haznesine ilave edilmiştir. Ön karıştırma, yoğurma, 40 dak ana fermentasyon, havalandırma, 25 dak fermentasyon, şekil verme, 50 dak son fermentasyon ve 185°C’de pişirme aşamaları uygulanmıştır.

YYM’da değişken faktör olarak alınan ekşi hamurda kullanılacak “Kepek, ekşi hamur ve maya” kullanım oranları 2.2.2.1’de belirtildiği gibi literatür ve ön deneme çalışmaları sonucunda tespit edilmiştir.

2.2.5. Ekşi hamur fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri

2.2.5.1. pH ve titrasyon asitliği

Spontan fermentasyonlu ekşi hamurun her kademesinde ve starter LAB ilaveli fermentasyonla üretilen ekşi hamurun başlangıç ve son aşamalarında asitlik gelişimini tespit için pH ve titrasyon asitliği ölçümleri yapılmıştır.

pH; pH metre hamura batırılarak ölçülmüştür.

Ekşi hamurdaki titrasyon asitliği tayini için 10 g örnek erlen içine tartılarak, üzerine 100 mL saf su ilave edilerek homojen bir karışım elde edilinceye kadar karıştırılmıştır. Üzerine etil alkolde %3’lük hazırlanmış fenolftalein indikatöründen 3-4 damlatılarak 0.1 N NaOH ile açık kırmızı/pembe renk 1 dak sabit kalıncaya kadar ve pH 8.6 limit olarak kabul edilerek titre edilmiştir. Titrasyon sonucunda sarfedilen 0.1 N NaOH miktarı belirlenerek aşağıdaki eşitlik yardımıyla % titrasyon asitliği hesaplanmıştır [224].

$$\text{Titrasyon asitliği \%} = \frac{\text{Harcanan } 0.1 \text{ N NaOH mL} \times (f)}{\text{Titre edilen örnek miktarı mL veya g}} \times 100$$

f = Baz çözeltisinin normalitesi tam 0.1 olmadığında kullanılacak düzeltme faktörü

2.2.5.2. LAB sayımı

Spontan fermentasyon yönteminin her kademesinde, starter LAB ilaveli ekşi hamurun ise başlangıç ve fermentasyon sonunda pH 4.0-4.5 asitlik düzeyine geldiğinde LAB sayımı yapılmıştır. Bunun için 10 g örnek 90 mL steril fizyolojik tuzlu suda (SFS) homojenize edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan 10^{-1} 'lik seyreltiden 1'er mL 9 mL'lik SFS'lere aktararak diğer seyreltmeler yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 1 mL örnek, önceden otoklavlanarak sterilize edilmiş ve 45-50 °C'ye kadar soğutulmuş ve steril petri kutularına dökülmüş MRS Agar besiyeri üzerine, aseptik şartlar altında 0.1'er mL yüzeye yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petri kutuları anaerobik kavanoza yerleştirilmiş ayrıca Anaerocult A konularak oluşturulan anaerobik koşullarda 36 °C'de 2 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda petri kutularındaki koloniler sayılmıştır [225].

2.2.6. Pişme sonrası ekmek fizikokimyasal kalite özellikleri

Optimize modellerin önerdiği formül bileşenlerine göre spontan ve starter LAB ilaveli fermentasyon için ekşi maya ve ekmek hamurları hazırlanarak ekmek üretimi yapılmıştır. Pişme sonrası ekmekte temel fizikokimyasal kalite özellikleri tespit edilmiştir.

2.2.6.1. pH ve titrasyon asitliği

Ağırlık:hacim olarak 1:10 oranında ekmek ve saf su karıştırılmış, karışım homojenizatör ile homojen bir karışım elde edilene kadar parçalanmıştır. Çözelti yaklaşık 10 dak bekletilmiş ve sonra üstteki kısma pH metre probu daldırılmak suretiyle hidrojen iyonu konsantrasyonu ölçülmüştür. Hazırlanan örnekte titrasyon asitliği 2.2.5.1.'deki yöntemle göre belirlenmiştir [224].

2.2.6.2. Rutubet miktarı ve rutubet kaybı (RK)

Ekmek piştikten 3 saat sonra ölçüm yapmak amacıyla kabuk neminin belirlenmesi için ekmek yüzeyinden 2–3 mm kalınlığında ekmek kabuğu, kabuğa yakın bölgenin nem miktarının belirlenmesinde kabuk altından 2–3 mm kalınlığında iç kısım; ekmek içi nem miktarının belirlenmesi amacıyla da ekmegin orta merkezinden 3–5 g tartılarak önceden 130°C'de kurutularak darası alınmış kaplara konulmuştur. Kurutma dolabında 105°C'de

12 saat kurutulduktan sonra, kurumadan önceki ve sonraki değerler kullanılarak nem miktarı hesaplanmıştır [224]. Rutubet kaybı, numunenin başlangıç ağırlığının yüzdesi olarak ağırlık kaybıyla hesaplanmıştır [226].

Raf ömrü süresince ekmek örneklerindeki zamana bağlı rutubet kaybını tespit etmek amacıyla RK hesaplanmıştır. Bu amaçla RK₁ (İlk güne göre bağıl rutubet kaybı) ve RK₂ (Bir önceki güne göre bağıl rutubet kaybı) olmak üzere iki değer hesaplanmıştır;

$$RK_1 = \frac{(R_0 - R_{3,5,8})}{R_0} \times 100$$

$$RK_2 = \frac{(R_1 - R_2)}{R_1} \times 100$$

R₁: Bir önceki güne ait rutubet (%)

R₂: Hesaplama yapılacak güne ait rutubet (%)

2.2.6.3. Kabuk ve iç rengi

Ekmek kabuğu ve ekmek içi renk yoğunluğu kolorimetre cihazıyla belirlenmiştir. Bu cihaz üç boyutlu renk ölçümünü esas almakta olup, Y eksenindeki *L** (lightness); 0=siyahtan, 100=beyaza kadar olan örneğin açıklık-koyuluk, X eksenindeki *a**; yeşil (-a), kırmızı (+a), Z eksenindeki *b**; sarı(+b), mavi (-b) renk boyutunu göstermektedir [227].

Ekmeklerden keskin bir bıçakla 25 mm kalınlığında 4 dilim kesilmiş, *L**, *a** ve *b** değerleri ekmek içinde ve dış kabuğunda belirlenmiş ve her ölçüm 2 defa tekrarlanmıştır.

Ölçümlenen *L**, *a** ve *b** değerleri kullanılarak ekmek örneklerinin renk farklılığı aşağıdaki formüle göre hesaplanmış kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

$$dE_{ab}^* = \sqrt{(dL)^2 + (da)^2 + (db)^2}$$

dL , da ve db , örneğin L^* , a^* ve b^* değerleri ile referans değerler arasındaki farkı ifade etmektedir. Referans olarak $L=93.4$, $a=1.8$ ve $b=4.4$ olan beyaz seramik plaka kullanılmıştır [228,229].

2.2.6.4. Hacim ve spesifik hacim

Piştirme sonrası 1 saat oda koşullarında soğutulan ekmeklerde [230], kolza tohumuyla yer değiştirme esasına dayalı yöntem kullanılarak hacim belirlenmiştir [231]. Ayrıca ekmeklerin spesifik hacimleri ve yoğunlukları da aşağıdaki gibi tespit edilmiştir [230].

$$\text{Spesifik hacim (cm}^3 / \text{g)} = \frac{\text{Somun ekmek hacmi (cm}^3\text{)}}{\text{Ekmek ağırlığı (g)}}$$

2.2.6.5. Kabuk kalınlığı

Numune ekmekten 10 mm kalınlığında düzgün kesit alınarak, dijital kumpas ile 3 noktasından kabuk kalınlığı ölçümü yapılmıştır.

2.2.6.6. Laktik ve asetik asit içeriği

Ekmek numunelerinde laktik ve asetik asit içerikleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile tespit edilmiştir. HPLC ile organik asitlerin tespiti için ekmek hamurundan elde edilen ekstraktlar ile laktik ve asetik asitin kromatografik saflıkta standartları kullanılmıştır. Ekmek hamurunda organik asitlerin tayini için Lefebvre *et al.*'nin [232] ekşi hamurda, Bozkurt'un [233] tarhanada şeker, organik asit ve etanol analizi için geliştirdikleri metod esas alınmıştır.

Ekmek örneklerden organik asitlerin ekstraksiyonu için 20 g numune üzerine 60 mL saf su ilave edilerek homojenize edilmiş, daha sonra 100 mL'ye tamamlanarak 4000 devirde 15 dak santrüfjlenmiştir. Filtrelenmiş ve $\text{pH} \geq 8.0$ ayarlanarak ve şartlandırılmış Supelco katı faz ekstraksiyon kartuşundan geçirilmiştir. Kartuşun şartlandırma işlemi; kartuştan sırasıyla 1 mL bazik su (NaOH ile $\text{pH} \geq 8$ ayarlanmış) ve 1 mL saf su geçirilerek yapılmıştır. 2 mL örnek kartuşa yüklenmiş ve 1 mL 0.1 N HCl ve 0.5 mL saf su ile yıkama yapılarak kartuş çıkışı vialle toplanmış ve HPLC' ye enjekte edilmiştir.

Lefebvre *et al.*'nin ekşi hamurda organik asit, etanol ve şekerleri belirlemek için yaptıkları çalışmada, HPLC şartları; RID dedektör, ion-exclusion ORH-801 kolon (300*6,5mm), 0.001 N H₂SO₄ mobil faz, 0.7 mL/dak akış hızı ve 45 °C kolon sıcaklığı olarak belirlenmiştir [232] Aynı metod Robert *et al.* tarafından [234] ekşi hamurda, ekşi hamura benzerliği nedeniyle de Bozkurt [233] tarafından da tarhanada kullanılmıştır.

Kritsunankula *et al.* tarafından HPLC'de organik asitlerin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada ise C18 kolon (TG01-01, Thermo Fisher Scientific Inc., USA), 20 µL enjeksiyon hacmi, izokratik mobil faz (%1 asetronitril, % 99 0.05 mol L⁻¹ KH₂PO₄ buffer (pH 2.5), 1.25 mLdak⁻¹ akış hızı, UV dedektör (210 nm) ve oda sıcaklığı 25±1 °C koşulları kullanılmıştır [235] .

Bu çalışmada, daha önce yapılmış araştırmalardaki analiz şartları ile mevcut HPLC cihazı ve C18 kolona göre belirlenmiş analiz koşulları kullanılmıştır (Tablo 2.12).

Tablo 2.12. Organik asit analizi sıvı kromatografisi şartları

Şartlar	
Sistem	Thermo (USA)
Dedektör	UV-Vis dedektör
Kolon	C18 150x4.6 mm 5µm
Kolon Sıcaklığı	45 °C
Mobil Faz	KH ₂ PO ₄ çözeltisi (0.05 M)/metanol (95:5, v:v)
Mobil Faz Akış hızı	0.7 mL/dak
Enjeksiyon hacmi	50 µL
Dalga boyu	210 nm

2.2.7. Raf ömrü süresince ekmekte fizikokimyasal ve mikrobiyal değişimler

Pişmiş ekmeklerde raf ömrü süresince 0, 3, 5, ve 8. günlerde bayatlama göstergesi olarak bazı fizikokimyasal değişimler belirlenmiştir.

2.2.7.1. Tekstür profil analizi (TPA)

TPA, tekstür analiz cihazı kullanılarak belirlenmiştir. 0, 3, 5, ve 8. günlerinde analize alınan ekmeklerde sertlik, elastikiyet, yapışkanlık ve çiğnenebilirlik değerleri saptanmıştır. Gerçekaslan [132], Sadeghi *et al.* [236] ve AACC Metod (74-09) [237]'a göre yapılan analizde 2 cm kalınlığında dilimlenen ekmeklerin dış kabukları ayrılmıştır. 35 mm çaplı alüminyum silindirik prob kullanılan çalışmada ekmek parçaları orta noktalarından kalınlıklarının % 50'si kadar iki defa sıkıştırılmıştır.

Çalışmada kullanılan cihaz çalışma koşulları Tablo 2.13'de verilmiştir;

Tablo 2.13. TPA analiz şartları

	Şartlar
Prob çapı	50 mm
Ön test hız	1.0 mm/s
Test hızı	5.0 mm/s
Test sonrası hız	5.0 mm/s
Sıkıştırma oranı	Dilim kalınlığının %50'si
Ekmek dilim kalınlığı	20 mm
Triger gücü	5 g

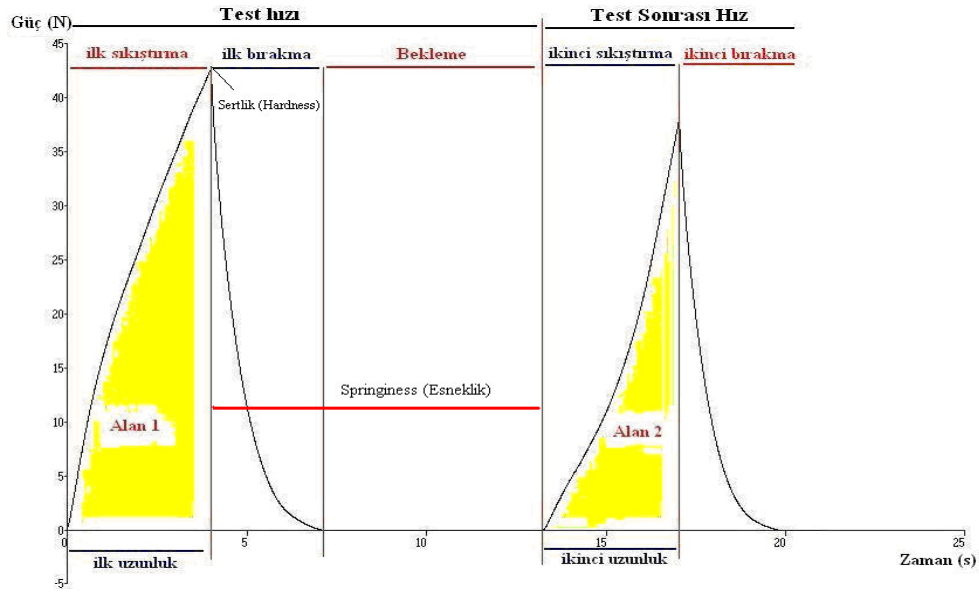
Bu şartlarda çizdirilen TPA eğrisinden 4 ana parametre (Şekil 2.7) hesaplanmıştır:

Sertlik: İlk sıkıştırma sırasındaki pik gücü (birinci eğrinin yüksekliği) (*N*)

Yapışkanlık: Her iki çevrim için de sıkıştırmanın olmadığı alanlar hariç, ikinci sıkıştırma anındaki pozitif güç alanının birinci sıkıştırmadaki alana oranı (Alan 2/Alan 1).

Esneklik: Birinci sıkıştırmanın sonu ile ikinci sıkıştırmanın başı arasındaki yükseklik farkı (mm).

Çiğnenebilirlik: Sertlik $\times$ Yapışkanlık $\times$ Esneklik'ten elde edilen iş



Şekil 2.7. Örnek TPA eğrisi

Ayrıca 0. ve 5. günlerdeki sertlik dereceleri kullanılarak aşağıdaki formüle göre ekmeklerin Bayatlama Oranı (BO) tespit edilmiştir [238].

$$BO = \frac{\text{Ekmek içi sertliği}_{5.\text{gün}} - \text{Ekmek içi sertliği}_{0.\text{gün}}}{\text{Ekmek içi sertliği}_{0.\text{gün}}}$$

Ekmekte sertlik kadar, esneklik kaybının da bayatlama niteliğini ifade eden bir faktör olduğu düşünülerek, Hager *et al.*'in kullandığı BO'nın yanısıra [238], 0. ve 5. günlere ait esneklik verileri kullanılarak ekmeklerdeki Esneklik Kaybı (EK) değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır;

$$EK = \frac{\text{Ekmek esneklik değeri}_{5.\text{gün}} - \text{Ekmek esneklik değeri}_{0.\text{gün}}}{\text{Ekmek esneklik değeri}_{0.\text{gün}}} \times 1000$$

2.2.7.2. Nişasta retrogradasyonunun izlenmesi

Ekmekte raf ömrü süresince nişasta retrogradasyonundaki değişim, diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi ile tespit edilmiştir. Ekmeklerin her birinden 10 mg örnek alınmış ve alüminyum bir kaptaki sıkıca paketlenmiştir. Kap kapatıldıktan sonra tartılarak 2-100 °C'ler arasında kalorimetrik ölçüm yapılmıştır. Isıtma oranı 10 °C/dak' dır. Katina [133] ve Torrieri *et al.* [229]'nın tayin yöntemleri referans olarak alınmıştır. Elde edilen termogramlarda endotermik entalpi (ΔH) ve pik alanı (mj) belirlenerek raf ömrünün ekmeğin bayatlaması üzerindeki etkisi tespit edilmiştir.

2.2.7.3. Ekmek yüzeyinde küf gelişimi

Raf ömrü olarak belirlenen 8 günlük süreçte aynı ortam koşullarında bekletilen ekmeklerden fırınlama sonrası, 0, 3, 5, ve 8. günlerde alınan örneklerde küf gelişimi olup olmadığı mikrobiyolojik olarak tespit edilmiştir. Yöntem olarak Bello *et al.*'nin kullandıkları metot modifiye edilerek uygulanmıştır [239]. Ekmekler fırındandıktan sonra steril bir bıçakla 20 mm kalınlığında dilimlere ayrılmıştır. Dilimler buzdolabı poşeti içerisinde ağızları kapatılmamış ve hava alacak şekilde oda koşullarında ve aynı ortamda 8 gün bekletilmişlerdir. 0,3,5 ve 8. günlerde ekmek dilimlerinden 10 g alınarak 90 mL steril FTS içerisinde homojenize edilmiş, homojenizattan 1 g alınarak 9 mL FTS içerisinde çözündürülerek farklı konsantrasyonda dilüsyonları hazırlanmıştır. Küf sayımı için kullanılacak besiyerlerinde refakatçi mikroorganizmaların gelişmemesi için besiyerinin asitlendirilmesi veya antibiyotik kullanılması tavsiye edilmektedir [225] Bu nedenle hazırlanan dilüsyonlar, içeriğinde kloramfenikol bulunan Yeast ekstrakt Glucose Chloramphenicol agara yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Hazırlanan besiyerleri 25-28 C°'de aerobik inkübasyona bırakılmıştır.

2.2.7.4. Mikroyapı

Raf ömrü olarak belirlenen 8 günlük süreçte aynı ortam koşullarında bekletilen ürünlerden pişme sonrası, 0, 3, 5, ve 8. günlerde örnek alınarak taramalı elektron mikroskopunda (SEM) incelenmiştir. Aseton içerisinde dehidre edilen örnekler yine aseton içerisinde Polaran E3100 Critical Point Dryer cihazı ile kiritik noktada kurutulmuştur. Kurutulan örnekler çift taraflı bant yardımıyla numune tutucu üzerine yapıştırıldıktan sonra SC 7620 mini Sputter Coater cihazı yardımıyla yaklaşık 135 Angstrom Au/Pd ile kaplanmış (cihaz kaplama hızı 3 Å/s) kaplanan örnekler SEM ile incelenmiştir [240].

2.2.8. Raf ömrü süresince ekmek aromatik profilindeki değişim

Ekmek örneklerindeki uçucu bileşenlerin tespiti için Katı Faz Mikro Ekstraksiyon / Gaz kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (SPME/GS-MS) yöntemi kullanılmıştır [241].

Fırınlama sonrası, 0, 3, 5 ve 8. günlerde yapılan analiz ile depolama süresince uçucu bileşik profilindeki değişim tespit edilmiştir [48,226,242]

SPME tekniğinde ilk aşama kullanılacak fiberin seçilmesidir. Çünkü fiber tarafından numuneden izole edilecek bileşiklerin fiberle uyumlu olması gereklidir. Bunun için ekstrakte edilen analitin molekül ağırlığının tespiti yapılmalı veya belirlenmiş olmalıdır. Yüksek ağırlıklı bileşikler 7-30 µm poli di-metil siloksan (PDMS) fiber kaplamaların yüzeyleri tarafından daha kolay absorblanmaktadır. Daha küçük moleküller ise kaplamasında karboksen, divinil benzen partikülleri gibi adsorbenler içeren fiberler tarafından daha kolay tutulmaktadır [243]. Bileşiklerin fiber tarafından tutulmasında üzerinde durulan diğer parametreler, fiberin vialin tepe boşluğunda kalma süresi, vialde alınan numune miktarı ve vialin sıcak su banyosunda bekletilme sıcaklığıdır.

Ekmekte uçucu bileşiklerin tespiti amacıyla yapılan çalışmalarda, farklı fiberler ve uygulama koşullarının kullanıldığı, fiberlerin genellikle 75 veya 100 µm PDMS olduğu belirlenmiştir. Plessas *et al.* tarafından farklı LAB'lerinin ekmek özelliklerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 20 mL'lik vialde alınan 2 g örnek 60 °C'de tutulmuş, SPME fiber olarak da DVD/CAR/PDMS (2 cm–50/30 mm Stable Flex Supelco, USA) kullanılmıştır [241].

Bu nedenle, çalışmamızda öncelikle ekmek örneklerindeki uçucu bileşikleri yapıdan absorblayabilecek uygun fiber ve koşulları araştırılmış ve ön denemeler yapılmıştır.

Farklı fiberlerin ekmekte koku bileşiklerini absorblama düzeylerinin karşılaştırıldığı bir optimizasyon çalışmasında ise 75 CAR/PDMS (75 µm Carboxen /Polydimethylsiloxane), 100 PDMS (100 µm Polydimethylsiloxane), 50/30 CAR/PDMS/DVB (50/30 µm Carboxen/ Polydimethylsiloxane/ Divinylbenzene) fiber çeşitleri 15-60 dak arasında değişen ekstraksiyon süreleri ve 25-50 °C sıcaklıklarda kullanılarak ekstrakte edilen uçucu bileşiklerin miktarları GC-MS'de karşılaştırılmıştır. Çalışma sonunda ekmekte uçucu koku bileşiklerinin tayininde 35 °C ekstraksiyon sıcaklığında 30 veya 60 dak'lık ekstraksiyon süresinde CAR/PDMS veya CAR/PDMS/DVB fiberlerin optimum sonuç verdiği tespit edilmiştir [244].

Literatür değerlendirmesi [245, 246] ve ön denemeler sonucunda çalışmada kullanılacak SPME ve GS-MS koşulları belirlenmiş, sırasıyla Tablo 2.14 ve Tablo 2.15’de verilmiştir.

Tablo 2.14. Uçucu bileşiklerin ekstraksiyonu için SPME koşulları

SPME Koşulları	
Fiber Türü	75 CAR/PDMS (75 µm Carboxen/ Polydimethylsiloxane)
Vial	20 mL
Numune Miktarı	5g
Sıcaklık	60 °C
Süre	45 dak
Enjeksiyon süresi	30 dak

Tablo 2.15. Uçucu bileşik analizi için GC-MS koşulları

GC Koşulları	
Sistem	Agilent (USA) 7890A
Kolon	DB-WAX 122-7032 Kapiler kolon (30m x 0.25 mm x 0.25mm)
Kolon Sıcaklığı	240 °C (60 °C, 150 °C, 240 °C’ye 6 °C/dak)
Enjektör Sıcaklığı	250 °C
Taşıyıcı gaz	He
Kolon Akış hızı	1 mL/dak
MS Koşulları	
Sistem	Agilent 5975C VL MSD
Dedektör	Triple Axis Dedektör
Sıcaklık	250 °C
İyonizasyon Enerjisi	70 eV
Kütüphane	Nist, Wiley, Organic Library

Ekmek örneklerindeki uçucu bileşiklerin raf ömrü süresince değişimlerini karşılaştırmak amacıyla her örneğin 0, 3, 5, ve 8. günlerdeki GC-MS kromatogramları kütüphanede (Nist, Wiley, Organic Library) değerlendirilmiş, her bir bileşiğin geliş zamanları, bireysel pik alanları oransal (%) ve toplam pik alanından yararlanarak rakamsal olarak belirlenmiştir

2.2.9. Ekmeğin biyoaktif nitelikleri

2.2.9.1. Antioksidan aktivite

Ekstraksiyon amacıyla beher içerisine 5 g numune tartılarak üzerine 50 mL %80'lik metanol solüsyonu ilave edilmiş ve ağzı film ile kapatılarak beher 2 saat 37°C'de manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır [247-249]. Örnekler 10000 rpm'de 15 dak santrüfjlenmiş ve supernatant kısımları alınarak filtre kâğıdından süzölmüş ve antioksidatif aktivite tayininde kullanılmak üzere cam şişelere alınmışlardır.

Antioksidan aktivite, serbest radikallerin süpürölmesine dayanan DPPH metodu kullanılarak, elde edilen ekstrakt ile yapılmıştır [250].

Ekstrakt içerisindeki fenolik bileşiklerin DPPH radikali üzerindeki süpürücü etkisini tespit etmek amacıyla, 0.2 mL ekstrakt, 0.5 mL DPPH çözeltisi ile 4 mL % 80'lik metanolden oluşan karışım 15 s vortekste karıştırılıp ve 30 dak oda sıcaklığında bekletilmiştir. Süre sonunda UV-VIS spektrofotometrede 517 nm'de absorbansları okutulmuş [251] ve % inhibisyon değeri aşağıdaki formöl ile tespit edilmiştir;

$$\% \text{ inhibisyon değeri} = [1 - (A_s/A_0)] \times 100$$

A_s : Örnek ekstraktına ait absorbans değeri

A_0 : Şahit DPPH çözeltisinin absorbans değeri

Antioksidan aktivite % inhibisyon değeri ile ifade edilebileceği gibi ekmeklerde DPPH radikal süpürme gücü tespit edilerek, antioksidan aktivitenin troloks eşdeğeri olarak ifade edildiği çalışmalar da mevcuttur [248]. Numunelerin antioksidan kapasitelerinin troloks eşdeğerlerini (TE) tespit etmek amacıyla 2500 µmolar'lık (0.62 mg/mL) stok troloks çözeltisi % 80'lik metanol kullanılarak hazırlanmış, bundan da 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25 µmolar'lık standart ara çözeltiler hazırlanmıştır. Numunelerle aynı

metod kullanılmak üzere her bir standarttan 0.2 mL alınmış, 0.5 mL DPPH çözeltisi ve 4 mL %80'lik methanol ile karıştırılmıştır. Karanlık ortamda 30 dak bekletilerek 517 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbansları belirlenmiştir. Absorbans konsantrasyon grafiği çizilerek, korelasyon katsayısı (r^2) ve regresyon denklemi ($y=ax+b$) tespit edilmiş, numune absorbans değerlerinin (y) regresyon denklemi kullanılarak troloks eşdeğerleri (TE), $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur.

2.2.9.2. Toplam fenolik madde içeriği

Folin-Ciocalteu yöntemi ile tespit edilmiştir. Bu amaçla 2.2.9.1'de hazırlanan numune ekstraktları ve Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılmıştır [248,252]. 0.1 mL ekstrakt sırasıyla, 0.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ile (reaktif:su karışımı 1:10 v/v) karıştırılmış 5 dak karanlıkta bekletilmiştir [253]. Daha sonra 0.4 mL doymuş sodyum karbonat solüsyonu ve 4 mL saf su ile karıştırılmıştır. Karışım yaklaşık 1 saat oda koşullarında karanlık ortamda bekletilmiş ve 760 nm'de UV-VIS spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür. Fenolik madde içerikleri kateşin veya gallik asit eşdeğeri üzerinden hesaplanarak verilebilmekte, aynı zamanda gıdalarda baskın olan fenolik asit üzerinden de ifade edilebilmektedir. Sonuçlar gallik asit [149] eşdeğeri olarak hesaplanarak verilmiştir [248].

2.2.9.3. Ferulik asit içeriği

Fenolik asitlerin tespitinde ilk aşama örnekten fenolik asitin ekstraksiyonu aşamasıdır. Bunun için metanol (metanol:su, 80:20, v:v) ekstraksiyonu veya asitlendirilmiş metanol (HCl:metanol:su, 1:80:10, v:v:v) ekstraksiyonu kullanılmaktadır. 5 g numune, 50 mL çözügen ile oda sıcaklığında 2 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karışım 3000 rpm'de 10 dak santrüfjlenmiş [250] ve supernatant fenolik asit içeriğinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Ferulik asit içeriğinin tespiti için HPLC analiz şartları Tablo 2.16'da verilmiştir.

Tablo 2.16. Ferulik asit analizi sıvı kromatografisi şartları

	Şartlar
Sistem	Thermo (USA)
Dedektör	UV-Vis detektör
Kolon	C18 150x4.6 mm 5µm
Kolon Sıcaklığı	30 °C
Mobil Faz	ACN : %2'lik Asetik asit çözeltisi
Mobil Faz Akış hızı	1 mL/dak
Enjeksiyon hacmi	50 µL
Dalga boyu	329 nm

60 dak'lık kromatogramda gradient faz uygulanmıştır (Tablo 2.17)

Tablo 2.17. Ferulik asit analizi gradient faz şartları

Zaman (dak)	Asetik asit (%)	ACN (%)
0	100	-
15	100	-
30	85	15
40	75	25
50	50	50
55	50	50
60	100	-

2.2.9.4. Mineral madde içeriği

Tüm çözeltiler analitik saflıktaki kimyasal ve ultra saf su ile hazırlanmıştır. Ön yakma işlemi için HNO₃ (67 % v/v) ve H₂O₂ kullanılmıştır. İçerisinde her elementten (K,Ca, Mg, Fe, Cu, Zn vb.)1000 mg/L olan standart stok çözeltisi kalibrasyon standartlarının hazırlanmasında kullanılmıştır. ICP-MS sisteminde taşıyıcı gaz olarak yüksek saflıkta Argon gazı kullanılmıştır.

Örnekler mikrodalga yakma sistemi (Milestone MLS 1200, İtalya) kullanılarak yakılmıştır. $1 \pm 0,1$ hassasiyette küçük parçalar halinde sistemin teflon şişelerin içerisine tartılmıştır. Üzerine 7 mL HNO_3 ve 2 mL H_2O_2 ilave edilmiştir. Ağızları kapatılarak sisteme yerleştirilen şişelere 250W (2 dak), 0W (2 dak), 250W (6 dak), 400W (5 dak) and 600W (5 dak) yakma programı uygulanmıştır. Bir şişeye örnek konulmamış yalnızca 7 mL HNO_3 ve 2 mL H_2O_2 ilave edilerek kör hazırlanmıştır. Yakma işlemi bittiğinde gaz çıkışı ve şişelerin içerisinde katı partikül kalıp kalmadığı kontrol edilmiştir. Örnek çözeltiler oda sıcaklığına soğutulduktan sonra 50 mL'lik polietilen şişelere aktarılmış ve 25 mL'ye ultra safsu ile tamamlanmıştır. Ekmeklerde mineral içeriğinin mikrodalgada nitrik asit yakma yöntemine göre hazırlanması ve iz elementlerin analizi prosedürü Sahan *et al.* [254] ile Kilci vd.[255]'ne göre yapılmıştır. Hazırlanan örnekler indüksiyon birleştirilmiş plazma kütle spektroskopisinde (Agilent 7700 ICP-MS) tayin edilmiştir. Analiz plazma gazı 15 L/dak, yardımcı gaz 1 L/dak, örnek 0.8 L/dak koşullarında gerçekleştirilmiştir. Ölçümler tüm örnekler için 2 paralel yapılmıştır.

2.2.9.5. *In vitro* kül sindirilebilirlik oranı

Kül sindirilebilirliğini belirlemek amacıyla, insan midesindeki asidik ortamda minerallerin ekstrakte edilebilirliği esas alındığından, ilk aşamada HCl'de ekstrakte edilebilirlik ve bunu takiben 37°C'de 3 saat pepsin enzimiyle muamele edilerek de midedeki asidik sindirim ortamının *in vitro* şartları uygulanmıştır (Şekil 3.43). Sindirilebilir kül miktarı tayini, *in vitro* olarak Bilgiçli vd.'e göre [256-258] göre yapılmıştır.

Saharan *et al.* gıdalardaki minerallerin biyoyararlanımını araştırdıkları bir çalışmada HCl'de çözünebilir minerallerin ekstrakte edilebilirliğini belirlemişler ve bunu "Minerallerin HCl'de Ekstrakte edilebilirliği" olarak adlandırmışlardır. Bu amaçla insan midesindeki asidik yapı ve sindirim ortamını benzetmek amacıyla 0.03 N HCl'de 3 saat 37°C'de ekstraksiyon yapmışlardır [257].

Bilgiçli vd.'nin tarhanada, HCl'de ekstrakte edilebilir mineral içeriğinin tespiti amacıyla yaptıkları bir çalışmada ise Saharan *et al.*'nın kullandıkları metodu kullanmışlar ve elde

ettikleri ekstraktta Mg, Zn, K gibi minerallerinin miktarındaki değişimi atomik absorbsiyon spektroskopisi ile tespit etmişlerdir [258].



şekil 2.8. Çalkalamalı inkübatörde oluşturulan *in vitro* sindirim ortamı

1 g ekmek örneği üzerine 25 mL pepsin çözeltisi (0.03 N 1 litre HCl + 2 g pepsin) ilave edilip karıştırılmıştır. Bu karışım çalkalamalı inkübatörde (şekil 3.43) 37°C’de 3 saat tutulup, sürenin sonunda her bir örnek standart külsüz filtre kağıdından süzölmüştür. Filtre kağıdında kalan kısım filtre kağıdı ile birlikte kül fırınında yakılarak kül miktarı belirlenmiştir. Bulunan değer toplam kül miktarından çıkarılarak sindirilebilir kül miktarı bulunmuştur. Bu değerler kullanılarak aşağıdaki formöle göre Kül Sindirilebilirlik Oranı (KSO) hesaplanmıştır.

$$KSO (\%) = \frac{\text{Sindirilebilir Kül Miktarı}}{\text{Toplam Kül Miktarı}} \times 100$$

2.2.9.6. *In vitro* protein sindirilebilirliği

In vitro protein sindirilebilirliğinin tespiti için Rizzello *et al.*'un metodu esas alınmıştır [228]. 1 g numune alınarak 1.5 mg pepsin içeren 15 mL 0.1 M HCl ile 37°C'de 3 saat sindirime uğratılmıştır. 7.5 mL 2 N NaOH ile nötralize edilmiş, 4 mg pankreatin içeren 7.5 mL fosfat tampon (pH=8.0) ilave edilerek 37°C'de 24 saat sindirime bırakılmıştır. Reaksiyon 10 mL %20 trikloroasetik asit (TCA) ile sonlandırılmış, 100 mL'ye tamamlanarak 5000 rpm'de 20 dak santrüfjülenmiştir. Metoda göre çöken pelet kısmı sindirilmemiş protein ve uzun peptitleri içerdiğinden, supernatant kısmı ayrılarak bu fraksiyon Kjeldahl metodu ile azot tayinine tabi tutulmuştur. Sindirilebilirlik aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır;

$$\text{Protein sindirilebilirliği \%} = \frac{\text{Supernatant içindeki N} - \text{Pepsindeki N}}{\text{Numunedeki N}} \times 100$$

2.2.9.7. Enzime dirençli nişasta (EDN) miktarı

EDN miktarının tespiti temelde enzimatik, spektroskopik tayine (AOAC Metod 2002.02) dayanmaktadır [259]. Bu amaçla Dirençli Nişasta Tayin Kiti kullanılmıştır. 100 mg örnek, çalkalamalı inkübatörde pankreatik α -amilaz ve amiloglikozidaz ile 16 saat 37 °C'de, pH 6.9 Malat tampon ortamında hidrolize edilerek nişastanın glikoza parçalanması (sindirimi) sağlanmıştır. Reaksiyon 4 mL etanol ile sonlandırılmış, sindirilmemiş dirençli nişasta santrifüjleme (3500 rpm, 10 dak) ile geri kazanılmıştır. Sindirilmiş nişastanın uzaklaştırılması amacıyla, supernatan kısmı her defasında ayrılmak ve 8 mL %50'lik etanol ilave etmek üzere 2 defa yıkama ve santrifüjleme işlemi yapılmıştır. Son olarak elde edilen pelet 2 mL 2 M KOH ilave edilerek buz içerisinde 20 dak karıştırılarak çözülmüştür. 8 mL (pH 3.8) sodyum asetat tamponu ilavesiyle nötralizasyondan sonra, dirençli nişasta (0.1 mL, 3300 U/mL) 50 °C'de 30 dak amiloglikozidaz ile glikoza hidrolize edilmiştir. Örnekteki dirençli nişasta miktarı %10'dan daha az olacağından dolayı seyreltme yapılmaksızın, örnek santrifüjlenerek (3500 rpm, 10 dak), supernatant kısmı ayrılmıştır. Paralel olmak üzere tüplere 100 μ L supernatant ve 3 mL glikoz oksidaz/peroksidaz (GOPOD) reaktifi ilave edilerek 50 °C'de 20 dak inkübasyona bırakılmıştır.

GOPOD reaksiyonu, sindirilmiş ve dirençli nişastadan ayrılmış glikoz ölçümü için kullanılmıştır. İnkübasyon periyodundan sonra örnek absorbanları 510 nm’de okuma yapılmıştır. EDN miktarı aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır:

$$\begin{aligned} \text{EDN Miktarı (g/100g örnek)} &= \Delta E \times F \times 10.3/0.1 \times 1/1000 \times 100/W \times 162/180 \\ &= \Delta E \times F/W \times 9.27 \end{aligned}$$

ΔE = Köre karşı okunan örneğin absorbanı

F = Absorbanstan mikrograma dönüşüm sayısı (Absorbans GOPOD reaksiyonundaki 100 µg D-glikoz için belirlenmiştir;

$$F = \frac{100 \text{ (D – glikozun miktarı, } \mu\text{g)}}{\text{D – glikozun (100 } \mu\text{g) GOPOD absorbanı}}$$

100/0.1 = Hacim düzeltmesi (100 mL’den 0.1 mL alınır)

1/1000 = mikrogramdan miligrama çevrim

W = Analiz edilen örneğin kuru miktarı

$$W = \text{örnek miktarı} \times [(100 - \text{rutubet içeriği})/100]$$

100/W = Örnek ağırlığının yüzde (%) olarak dirençli nişasta içeriği

162/180 = Belirlenen serbest D-Glikozdan anhidro D-Glikoza dönüşüm faktörü

10.3/0.1 = Hacim düzeltmesi (Yaklaşık 10.3 mL supernatanttan 0.1 mL alındı)

(0-10 % arasında Dirençli Nişasta içeren numuneler için)

2.2.10. İstatistiksel analizler

Deneylerde elde edilen analiz sonuçlarının istatistiksel değerlendirmesi SPSS 17.0.1 paket programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, US) kullanılarak yapılmıştır. Optimizasyon sonunda optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark olup olmadığı tek örnek *T* –testi uygulanarak belirlenmiştir. Analiz değerlendirmelerinde ise çoklu varyans analizine tabi tutulan veri ortalamaları arasındaki fark $p < 0.05$ anlamlılık düzeyinde Tukey çoklu karşılaştırma testi yapılarak belirlenmiştir.

3. BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Un örneğinin kimyasal ve teknolojik kalite özellikleri

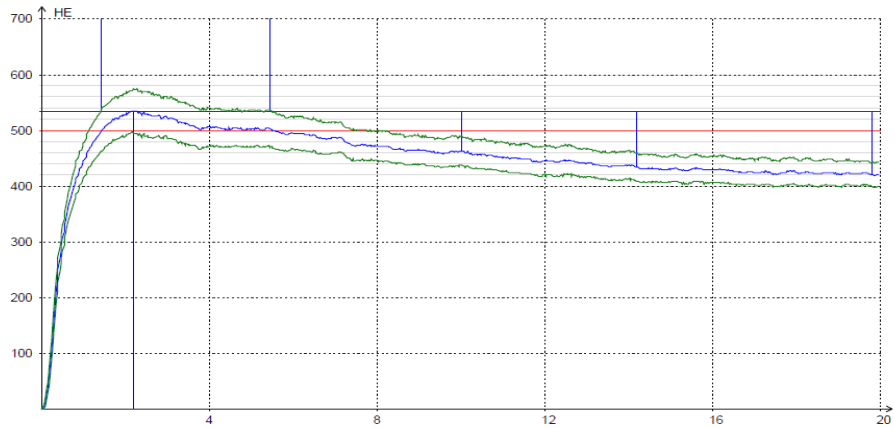
Türk Gıda Kodeksi Ekmek tebliğine göre ekşi hamur ekmeklerinde özel amaçlı buğday unu kullanımı öngörüldüğünden dolayı, çalışmada kullanılmak üzere temin edilen buğday ununa ait kimyasal ve teknolojik özellikler belirlenmiş ve Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. Un örneğinin kimyasal ve teknolojik özellikleri

Rutubet (%)	Kül (%)	Protein (Nx5.7) (%)	Sedimentasyon Değeri* (mL)	Yaş Gluten Miktarı (%)	Kuru Gluten Miktarı (%)	İndeks Değeri (%)	Su abs. (%)
14.3	0.63	11.3	41	29.5	10	86	59.2

* %14 rutubet esasına göre

Ayrıca çalışmada kullanılan unun farinograf analizi sonucu elde edilen grafik Şekil 3.1’de verilmiştir.



Haubelt-Laborgeräte GmbH

Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan una ait farinograf grafiği

Farinograf analizi sonucunda unun su absorpsiyonu %59.2, gelişme süresi 2.2 dak, stabilite 4 dak olarak tespit edilmiştir.

3.2. Spontan fermentasyon yöntemi ile üretilen ekmeklerde EDS ve KE değerlerine ait optimizasyon sonuçları

Çalışmanın Bölüm 2.2.2.1.'de YYM'na göre deneysel dizayn kısmında belirtilen koşullarda denemeler gerçekleştirilerek elde edilen EDS ve KE değerleri Tablo 3.2.'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Spontan fermentasyon yöntemi için elde edilen EDS ve KE değerleri

Bağımsız Değişkenler				Yanıt 1	Yanıt 2
Uygulama	Maya Kullanım Oranı	Ekşi Hamur Kullanım Oranı	Kepek Oranı	EDS	KE
1	1	15	20	146.50	3
2	0	15	20	102.47	1.5
3	0.41	20.95	8.11	181.54	4
4	0.41	9.05	8.11	172.91	4
5	1	25	20	165.02	2.5
6	1	15	0	183.09	4.5
7	1	5	20	190.81	4.5
8	1	15	20	143.91	3.5
9	1.59	9.05	8.11	191.39	3.5
10	1	15	20	174.17	4
11	1.59	9.05	31.89	140.03	3
12	2	15	20	113.55	1.5
13	1	15	20	151.55	3
14	1	15	20	154.06	3
15	0.41	20.95	31.89	162.80	4.25
16	1.59	20.95	8.11	177.77	2
17	1.59	20.95	31.89	127.17	1.75
18	0.41	9.05	31.89	159.65	4.5
19	1	15	40	125.79	4
20	1	15	20	161.19	3

EDS: Ekmek değer sayısı

KE: Kabul edilebilirlik

Daha sonra yazılım programına veriler analiz ettirilerek hangi fonksiyonun önerildiği belirlenmiştir. Bu belirleme yapılırken; EDS ve KE değerleri için “Ardışık Model Kareler Toplamı (Tip I)” ve “Model Uyumsuzluğu” testleri yapılmış ve her bir fonksiyon için standart sapma, R^2 , düzeltilmiş R^2 ve öngörülen R^2 değerleri göz önünde

bulundurulmuştur. Bu değerler yazılım programı tarafından karşılaştırılarak önerilen fonksiyon program tarafından belirlemiştir. EDS için girilen veriler program tarafından analiz edilerek her bir fonksiyon için istatistiksel parametreler hesaplatılmıştır (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Spontan fermentasyon yönteminde EDS için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyona ait istatistiksel parametreler

YANIT	1	EDS				
Ardışık Model Kareler Toplamı						
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Ortalaması	Değeri	Prob> F	
Mean vs Total	488381.26	1	488381.26			
Linear vs Mean	4167.75	3	1389.25	2.83	0.0718	
2FI vs Linear	797.77	3	265.92	0.49	0.6958	
Quadratic vs 2FI	5083.48	3	1694.49	8.54	0.0041	Önerildi
Cubic vs Quadratic	350.08	4	87.52	0.32	0.8543	Aliased
Residual	1634.65	6	272.44			
Toplam	500414.98	20	25020.75			
Model Uyumsuzluğu Testleri						
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Ortalaması	Değeri	Prob> F	
Linear	7252.46	11	659.31	5.37	0.0381	
2FI	6454.69	8	806.84	6.58	0.0265	
Quadratic	1371.21	5	274.24	2.24	0.1990	Önerildi
Cubic	1021.14	1	1021.14	8.32	0.0344	Aliased
Saf Hata	613.51	5	122.70			
Modelin İstatistiksel Özeti						
	Standart		Düzeltilmiş	Öngörülen		
Kaynak	Sapma	R ²	R ²	R ²	PRESS	
Linear	22.17	0.3463	0.2238	-0.1557	13907.14	
2FI	23.32	0.4126	0.1415	-0.3557	16314.46	
Quadratic	14.09	0.8351	0.6866	0.0646	11256.20	Önerildi
Cubic	16.51	0.8642	0.5698	-17.7786	225976.31	Aliased

PRESS: Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamının

Tablo 3.3’de görüldüğü gibi; “cubic” polinomda “alias” gözlenmektedir. Kullanılan diğer fonksiyonlar; “Model uyumsuzluğu”, “Düzeltilmiş R²”, “Öngörülen R²” değerleri açısından karşılaştırıldığında; Quadratic (2.dereceden) fonksiyon önerilmektedir. Bu nedenle çalışmada Quadratic fonksiyon kullanılmıştır.

KE için girilen veriler programa analiz ettirilerek her bir fonksiyon için istatistiksel parametreler hesaplatılmıştır (Tablo 3.4).

Tablo 3.4. Spontan fermentasyon yönteminde KE için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyona ait istatistiksel parametreler

YANIT	2		KE			
Ardışık Model Kareler Toplamı						
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
<u>Kaynak</u>	Toplamı	df	Ortalaması	Değeri	Prob> F	
Mean vs Total	211.25	1	211.25			Önerildi
Linear vs Mean	6.11	3	2.04	2.55	0.0919	
2FI vsLinear	1.06	3	0.35	0.39	0.7598	
<u>Quadratic vs 2FI</u>	<u>8.08</u>	<u>3</u>	<u>2.69</u>	<u>7.45</u>	<u>0.0066</u>	Önerildi
CubicvsQuadratic	2.45	4	0.61	3.15	0.1015	Aliased
Residual	1.17	6	0.19			
Toplam	230.13	20	11.51			

Model Uyumsuzluğu Testleri						
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
<u>Kaynak</u>	Toplamı	df	Ortalaması	Değeri	Prob> F	
Linear	11.89	11	1.08	6.18	0.0285	
2FI	10.83	8	1.35	7.73	0.0187	
<u>Quadratic</u>	<u>2.74</u>	<u>5</u>	<u>0.55</u>	<u>3.13</u>	<u>0.1178</u>	Önerildi
Cubic	0.29	1	0.29	1.66	0.2537	Aliased
Saf Hata	0.88	5	0.18			

Modelin İstatistiksel Özeti						
	Standart		Düzeltilmiş	Öngörülen		
<u>Kaynak</u>	Sapma	R²	R²	R²	PRESS	
Linear	0.89	0.3237	0.1969	-0.2001	22.65	
2FI	0.95	0.3800	0.0939	-0.4658	27.67	
<u>Quadratic</u>	<u>0.60</u>	<u>0.8083</u>	<u>0.6358</u>	<u>-0.1724</u>	<u>22.13</u>	Önerildi
Cubic	0.44	0.9382	0.8044	-2.4634	65.37	Aliased

PRESS: Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamının

Tablo 3.4’de görüldüğü gibi; “cubic” polinomda “alias” gözlenmektedir. Kullanılan diğer fonksiyonlar; “Model Uyumsuzluğu”, “Düzeltilmiş R²”, “Öngörülen R²” değerleri açısından karşılaştırıldığında; Quadratic (2.dereceden) fonksiyon program tarafından önerilmiştir.

Bir sonraki aşamada, önerilen fonksiyonların hangisinin en iyi modelleme yaptığı ANOVA tabloları ayrı ayrı oluşturulup karşılaştırılarak belirlenmiştir. En iyi modellemeyi yapan fonksiyon seçilirken istatistiksel parametrelerin;

- Model; Önemli,
- Model uyumsuzluğu; Önemsiz,

- Bütün model terimleri için; “ (Prob>F) değerleri <0.05”,
- R^2 ; ~1,
- Düzeltilmiş R^2 ; ~1,
- Öngörülen R^2 ; ~1,
- Düzeltilmiş $R^2 \sim$ Öngörülen R^2 ,
- Varyasyon Katsayısı (% V.K.); minimum olması gerekmektedir [194].

Dolayısıyla fonksiyon “Quadratic” olarak seçilip yazılım programına ANOVA tablosu oluşturması istenmiş, EDS ve KE yanıtları için sırasıyla Tablo 3.5. ve Tablo 3.6.’da verilen bilgiler elde edilmiştir.

Tablo 3.5. Spontan fermentasyon yönteminde EDS için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait varyans analizi (ANOVA) tablosu

YANIT	1	EDS				
	Quadratic Model Yüzey Yanıtı için ANOVA					
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
<u>Kaynak</u>	Toplamı	df	Ortalaması	Değeri	Prob> F	
Model	10049.00	9	1116.56	5.63	0.0062	önemli
A-Maya Kullanım Oranı	35.23	1	35.23	0.18	0.6824	
B-Eksi Hamur Kullanım Oranı	246.98	1	246.98	1.24	0.2907	
C-Kepek Oranı	3885.54	1	3885.54	19.58	0.0013	
AB	182.69	1	182.69	0.92	0.3600	
AC	612.33	1	612.33	3.09	0.1095	
BC	2.75	1	2.75	0.01	0.9086	
A ²	2406.17	1	2406.17	12.12	0.0059	
B ²	2003.28	1	2003.28	10.09	0.0099	
C ²	175.94	1	175.94	0.89	0.3686	
Residual	1984.72	10	198.47			
Model Uyumsuzluğu	1371.21	5	274.24	2.24	0.1990	önemsiz
Saf Hata	613.51	5	122.70			
Cor Total	12033.72	19				
Standart Sapma	14.09		R ²	0.8351		
Ortalama	156.27		Düzeltilmiş R ²	0.6866		
% V.K.	9.02		Öngörülen R ²	0.0646		
PRESS	11256.20		Hassasiyet düzeyi	8.005		

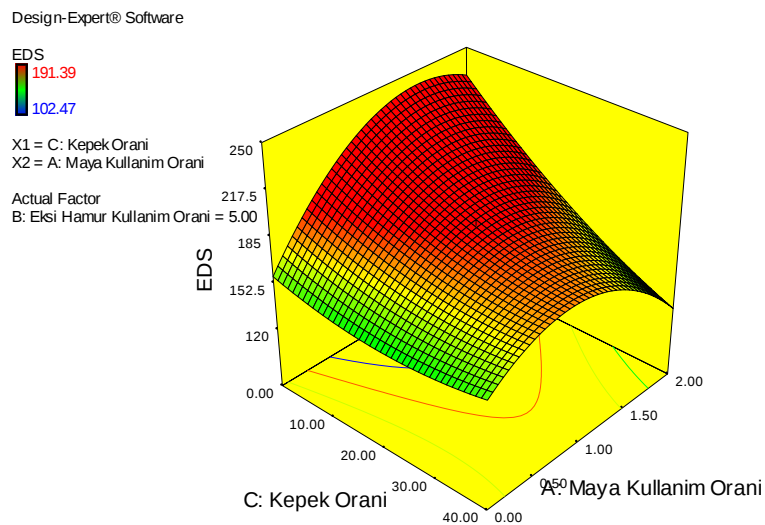
Tablo 3.5. Spontan fermentasyon yönteminde EDS için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait varyans analizi (ANOVA) tablosu devamı

Faktör	Katsayı	df	Standart Hata	95% CI	95% CI	VIF
	Tahminleri			Düşük	Yüksek	
Intercept	154.65	1	5.75	141.85	167.46	
A-Maya Kullanım Oranı	-1.61	1	3.81	-10.10	6.89	1.00
B-Eksi Hamur Kullanım Oranı	-4.25	1	3.81	-12.75	4.24	1.00
C-Kepek Oranı	-16.87	1	3.81	-25.36	-8.37	1.00
AB	-4.78	1	4.98	-15.88	6.32	1.00
AC	-8.75	1	4.98	-19.85	2.35	1.00
BC	-0.59	1	4.98	-11.68	10.51	1.00
A ²	-12.92	1	3.71	-21.19	-4.65	1.02
B ²	11.79	1	3.71	3.52	20.06	1.02
C ²	3.49	1	3.71	-4.77	11.76	1.02

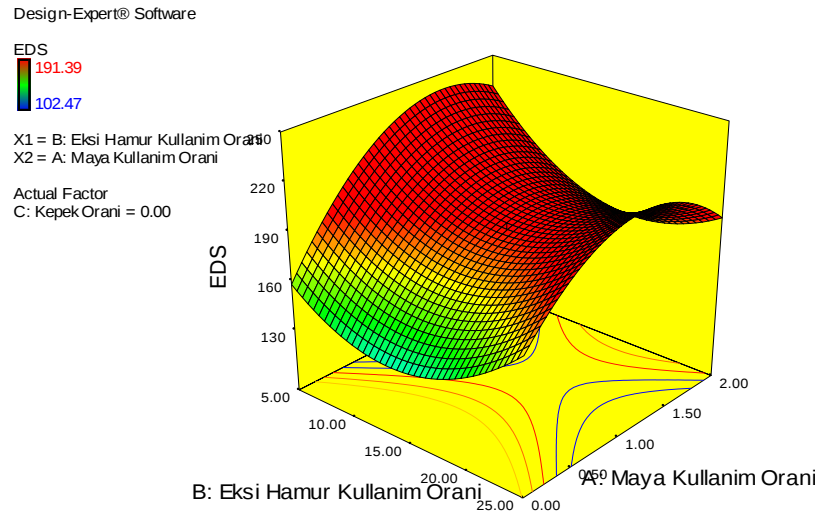
% V.K.: Varyasyon katsayısı

PRESS: Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamının

Görüldüğü gibi önerilen model “önemli”, “Model uyumsuzluğu” ise “önemsiz” dir. Yani model geçerli ve “Prob>F>0.050” değerine sahip parametreler önemsizdir. “R² değeri” 0.8351 olarak, modeli oluşturan faktörlerden bazıları $p>0.05$ yani önemsiz bulunmuştur. Önemsiz parametreler hiyerarşiyi bozmadan modelden çıkartılarak ANOVA sonuçları değerlendirildiğinde $R^2=0.73$ ’e düştüğünden dolayı önemsiz olan parametreler çıkartılmadan modele devam edilmiştir. Sistemi modelleyen en iyi fonksiyon belirlendikten sonra üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri, yazılım programı aracılığıyla elde edilmiştir (Şekil 3.2, Şekil 3.3)



Şekil 3.2. Spontan fermentasyon yönteminde maya kullanım oranı-kepek oranı parametrelerinin EDS’ye etkisini gösteren YY grafiği



Şekil 3.3. Spontan fermentasyon yönteminde ekşi hamur kullanım oranı-maya kullanım oranı parametrelerinin EDS'ye etkisini gösteren YY grafiği

Tablo 3.6. Spontan fermentasyon yönteminde KE için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait ANOVA tablosu

YANIT	2		KE			
Quadratic Model Yüzey Yanıtı için ANOVA						
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
<u>Kaynak</u>	<u>Toplamı</u>	<u>df</u>	<u>Ortalaması</u>	<u>Değeri</u>	<u>Prob> F</u>	
Model	15.26	9	1.70	4.69	0.0121	önemli
A-Maya Kullanım Oranı	3.09	1	3.09	8.55	0.0152	
B-Eksi Hamur KullanımOranı	2.97	1	2.97	8.20	0.0169	
C-Kepek Oranı	0.05	1	0.05	0.14	0.7131	
AB	0.78	1	0.78	2.16	0.1724	
AC	0.28	1	0.28	0.78	0.3986	
BC	0.00	1	0.00	0.00	1.0000	
A ²	4.44	1	4.44	12.27	0.0057	
B ²	0.33	1	0.33	0.92	0.3598	
C ²	2.51	1	2.51	6.93	0.0250	
Residual	3.62	10	0.36			
Model Uyumsuzluğu	2.74	5	0.55	3.13	0.1178	önemsiz
Saf Hata	0.88	5	0.18			
Cor Total	18.88	19				
Standart Sapma	0.60		R ²	0.8083		
Ortalama	3.25		Düzeltilmiş R ²	0.6358		
% V.K.	18.51		Öngörülen R ²	-0.1724		
PRESS	22.13		Hassasiyet düzeyi	8.5915		

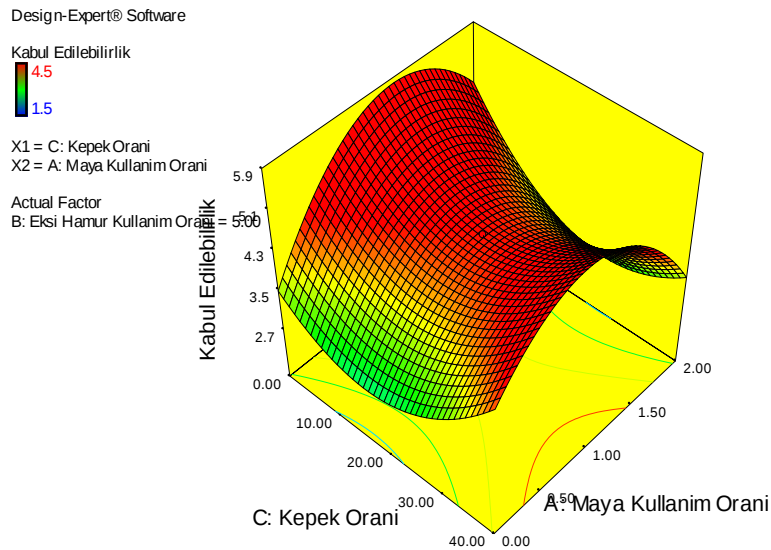
Tablo 3.6. Spontan fermentasyon yönteminde KE için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait ANOVA tablosu devamı

Faktör	Katsayı	df	Standart Hata	95% CI	95% CI	VIF
	Tahminleri			Düşük	Yüksek	
Intercept	3.24	1	0.25	2.69	3.79	
A-Maya Kullanım Oranı	-0.48	1	0.16	-0.84	-0.11	1.00
B-Eksi Hamur Kullanım Oranı	-0.47	1	0.16	-0.83	-0.10	1.00
C-Kepek Oranı	-0.06	1	0.16	-0.42	0.30	1.00
AB	-0.31	1	0.21	-0.79	0.16	1.00
AC	-0.19	1	0.21	-0.66	0.29	1.00
BC	0.00	1	0.21	-0.47	0.47	1.00
A ²	-0.56	1	0.16	-0.91	-0.20	1.02
B ²	0.15	1	0.16	-0.20	0.51	1.02
C ²	0.42	1	0.16	0.06	0.77	1.02

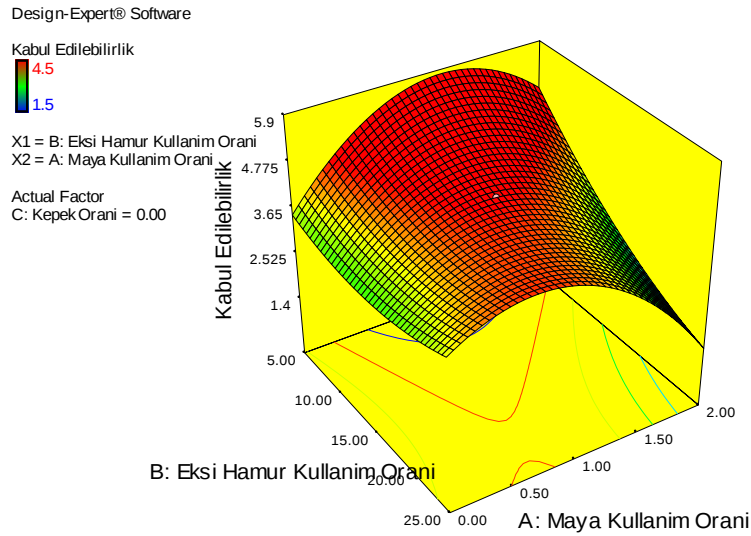
% V.K.: Varyasyon katsayısı

PRESS: Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı

Görüldüğü gibi önerilen model “önemli”, “Model uyumsuzluğu” ise “önemsiz” dir. Yani model geçerli ve “Prob>F>0.050” değerine sahip parametreler önemsizdir. “R² değeri” 0.8083’ tür. Sistemi modelleyen en iyi fonksiyon belirlendikten sonra üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri, yazılım programının aracılığıyla elde edilmiştir (Şekil 3.4, Şekil 3.5).



Şekil 3.4. Spontan fermentasyon yönteminde maya kullanım oranı-kepek oranı parametrelerinin KE’e etkisini gösteren YY grafiği

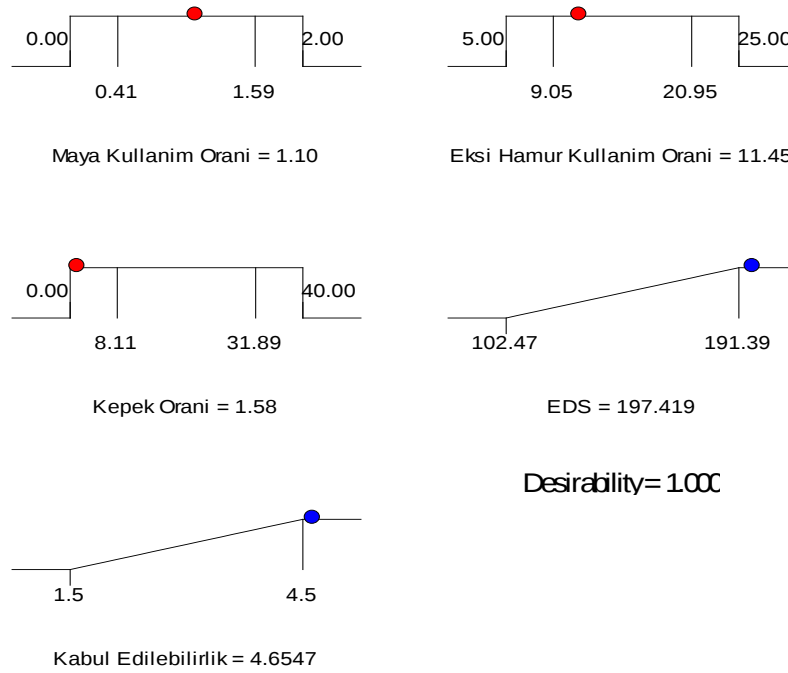


Şekil 3.5. Spontan fermentasyon yönteminde ekşi hamur kullanım oranı-maya kullanım oranı parametrelerinin KE'ye etkisini gösteren YY grafiği

Desing Expert;“ Sayısal optimizasyon, grafiksel optimizasyon, nokta tahmini” olmak üzere üç farklı optimizasyon gerçekleştirebilen bir programdır. Optimizasyonun amacı; istenilen cevabın elde edilmesini sağlayacak parametrelerin kesin değerlerinin belirlenmesini sağlamaktır. Yapılan çalışmada sayısal optimizasyon kullanılmış ve optimizasyon kriterleri olarak;

- Maya kullanım oranı; aralık içinde
- Ekşi hamur kullanım oranı; aralık içinde
- Kepek oranı; aralık içinde
- Ekmek değer sayısı (EDS); maksimum
- Kabul edilebilirlik (KE); maksimum

Olarak seçilerek çözümler istenmiştir. Program tarafından EDS ve KE değerleri bir arada değerlendirilmiş, toplam 30 çözüm sunulmuştur (Ek-1). Belirlenen çözümler içinde “İstenilirliği=1” (Desirability=1) olan 15 çözümden 1.çözüm program tarafından önerilmiş ve kullanılmasına karar verilmiştir. Bu çözüme ait rampa grafikleri Şekil 3.6’da verilmiştir.



Şekil 3.6. Spontan fermentasyon optimizasyonu sonucu 1.çözümün rampa grafikleri

Tablo 3.7.'de görüldüğü gibi optimizasyon sonucu maya kullanım oranı %1.10, ekşi hamur kullanım oranı %11.45 ve kepek kullanım oranı da %1.58 olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.7. Spontan fermentasyon formül optimizasyonu sonucunda “İstenilirlik” fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen ilk 3 çözüm

Kısıtlar						
	Hedef	Alt Limit	Üst Limit	Alt Ağırlık	Üst Ağırlık	Önem
Maya Kullanım Oranı	aralık içinde	0	2	1	1	3
Eksi Hamur Kullanım Oranı	aralık içinde	5	25	1	1	3
Kepek Oranı	aralık içinde	0	40	1	1	3
EDS	maksimum	102.47	191.39	1	1	3
Kabul Edilebilirlik	maksimum	1.50	4.50	1	1	3
Çözümler						
No	Maya Kullanım Oranı	Ekşi Hamur Kullanım Oranı	Kepek Oranı	EDS	KE	İstenilirlik
1	1.10	11.45	1.58	197.42	4.65	1.000
2	0.82	5.62	9.21	202.54	4.64	1.000
3	1.13	5.11	7.51	217.56	4.98	1.000

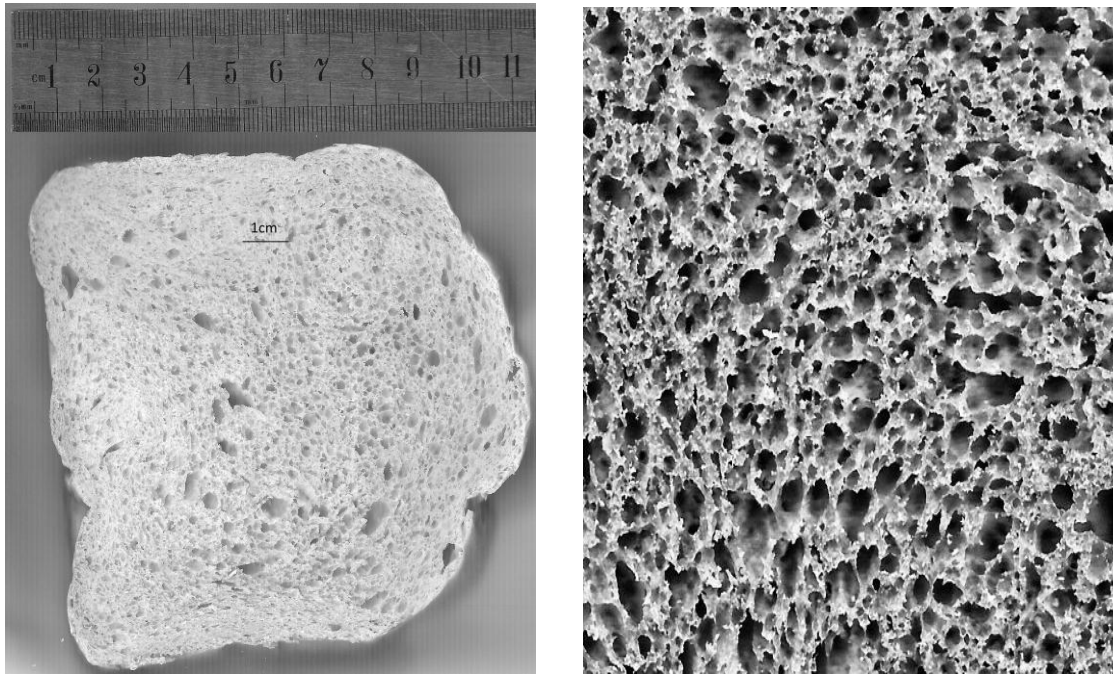
EDS: Ekmek değer sayısı

KE: Kabul edilebilirlik

Seçildi

3.2.1. Spontan fermentasyon yöntemi formül optimizasyonu sonuçlarının deneysel doğrulanması

Optimizasyon sonucu önerilen %1.58 kepek içerikli ekşi hamur spontan fermentasyon yöntemi ile üretilerek %11.45 ekşi hamur ve %1.10 toz maya kullanım oranları ile ekmek üretimi gerçekleştirilmiştir. Ekmeğe ait hacim faktörü, gözenek faktörü belirlenerek EDS hesaplanmış ve ekmek KE düzeyi panelistlerce belirlenmiştir. Elde edilen veriler Şekil 3.7 ve Tablo 3.8’de verilmiştir.



Şekil 3.7. Tarama ve ölçeklendirme yapılmış doğrulama ekmeği görüntüsü

Tablo 3.8. Optimum nokta doğrulama deneme sonuçları

Deneme No	Maya Kullanım Oranı	Ekşi Hamur Kullanım Oranı	Kepek Oranı	EDS	KE
1	1.1	11.45	1.58	190.691	4.5
2	1.1	11.45	1.58	197.260	4.6
3	1.1	11.45	1.58	182.711	4.6
Ortalama				190.221	4.57
Modelden Tahminlenen				197.42	4.65

EDS: Ekmek değer sayısı

KE: Kabul edilebilirlik

Her bir yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *T* –testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek *T* –testi SPSS 17.0.1 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek *T* –testi sonuçları Tablo 3.9.’da verilmiştir.

Tablo 3.9. Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıt	Tahminlenen Değer	Ortalama	Fark	<i>p</i> -değeri
		Deneysel Sonuç ($\pm$ SS)		
EDS	197.42	190.22 $\pm$ 7.29	-7.19	0.229
KE	4.65	4.57 $\pm$ 0.06	-0.08	0.130

EDS ve KE değeri için doğrulama denemelerinden elde edilen sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında, istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir.

3.3. Starter LAB ilaveli fermentasyon yöntemi ile üretilen ekmeklerde EDS ve KE değerlerine ait optimizasyon sonuçlarının elde edilmesi

Yüzey Yanıt Metoduna bağlı olarak, Central Composite Design-Merkezi Bileşen deneme desenine göre, çalışmanın Bölüm 2.2.2.1.’de YYM’na göre deneysel dizayn kısmında belirtilen koşullarda denemeler gerçekleştirilmiş. Elde edilen Ekmek Değer Sayısı (EDS) ve Kabul Edilebilirlik (KE) değerleri Design Expert yazılım programına Tablo 3.10’daki gibi girilmiştir.

Tablo 3.10. Starter LAB ilaveli fermentasyon yöntemi için elde edilen EDS ve KE değerleri

Bağımsız Değişkenler				Yanıt 1	Yanıt 2
Uygulama	Maya Kullanım Oranı	Ekşi Hamur Kullanım Oranı		Ekmek Değer Sayısı	Kabul Edilebilirlik
		Oranı	Kepek Oranı		
1	1	15	20	139.23	2.5
2	0.01	15	20	95.55	1.5
3	0.41	20.95	8.11	177.91	2.5
4	0.41	9.05	8.11	171.23	4.75
5	1	25.01	20	151.25	2
6	1	15	0	197.82	4
7	1	4.99	20	170.75	4.5
8	1	15	20	142.57	2.5
9	1.59	9.05	8.11	159.67	3
10	1	15	20	159.64	2.5
11	1.59	9.05	31.89	165.31	3
12	1.99	15	20	121.46	2
13	1	15	20	139.46	3
14	1	15	20	150.21	3
15	0.41	20.95	31.89	148.23	2
16	1.59	20.95	8,11	159.18	3
17	1.59	20.95	31.89	105.42	2
18	0.41	9.05	31.89	182.10	4.5
19	1	15	40	159.45	3
20	1	15	20	131.3	3

Daha sonra yazılım programına veriler analiz ettirilerek hangi fonksiyonun önerildiği belirlenmiştir. Bu belirleme yapılırken; EDS ve KE değerleri için “Ardışık Model Kareler Toplamı (Tip I)” ve “Model Uyumsuzluğu” testleri yapılmış ve her bir fonksiyon için standart sapma, R^2 , düzeltilmiş R^2 ve öngörülen R^2 değerleri göz önünde bulundurulmuştur. Bu değerler yazılım programı tarafından karşılaştırılarak önerilen fonksiyon program tarafından belirlenmiştir. EDS için girilen veriler programa analiz ettirilerek her bir fonksiyon için istatistiksel parametreler hesaplatılmıştır (Tablo 3.11).

Tablo 3.11. Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde EDS için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyona ait istatistiksel parametreler

YANIT	1		EDS			
Ardışık Model Kareler Toplamı						
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Ortalaması	Değeri	Prob> F	
Mean vs Total	<u>458360.48</u>	<u>1</u>	<u>458360.48</u>			Önerildi
Linear vs Mean	2483.34	3	827.78	1.40	0.2789	
2FI vs Linear	1493.83	3	497.94	0.81	0.5091	
Quadratic vs 2FI	<u>5865.13</u>	<u>3</u>	<u>1955.04</u>	<u>9.33</u>	<u>0.0030</u>	Önerildi
Cubic vs Quadratic	1351.54	4	337.88	2.73	0.1310	Aliased
Residual	742.93	6	123.82			
Toplam	470297.24	20,00	23514.86			
Model Uyumsuzluğu Testleri						
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
Kaynak	<u>Toplamı</u>	<u>df</u>	<u>Ortalaması</u>	<u>Değeri</u>	<u>Prob> F</u>	
Linear	8963.98	11	814.91	8.32	0.0149	
2FI	7470.15	8	933.77	9.54	0.0118	
Quadratic	<u>1605.01</u>	<u>5</u>	<u>321.00</u>	<u>3.28</u>	<u>0.1092</u>	Önerildi
Cubic	253.48	1	253.48	2.59	0.1685	Aliased
Saf Hata	489.45	5	97.89			
Modelin İstatistiksel Özeti						
	Standart		Düzeltilmiş	Öngörülen		
Kaynak	Sapma	R²	R²	R²	PRESS	
Linear	24.31	0.2080	0.0595	-0.3986	16694.50	
2FI	24.74	0.3332	0.0254	-0.6733	19973.50	
Quadratic	14.47	0.8245	0.6666	-0.0853	12954.48	Önerildi
Cubic	11.13	0.9378	0.8029	-3.7399	56579.43	Aliased
PRESS: Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı						

Tablo 3.11’de de görüldüğü gibi; “cubic” polinomda “alias” gözlenmektedir. Kullanılan diğer fonksiyonlar; “Model uyumsuzluğu”, “Düzeltilmiş R²”, “Öngörülen R²” değerleri açısından karşılaştırıldığında; Quadratic (2.dereceden) fonksiyon önerilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda Quadratic fonksiyon kullanılmıştır. KE için girilen veriler programa analiz ettirilerek her bir fonksiyon için istatistiksel parametreler hesaplatılmıştır (Tablo 3.12).

Tablo 3.12. Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde KE için yazılım programı tarafından önerilen fonksiyona ait istatistiksel parametreler

YANIT	2	KE	Ardışık Model Kareler Toplamı			
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Ortalaması	Değeri	Prob> F	
Meanvs Total	169.65	1	169.65			
Linear vs Mean	8.39	3	2.80	6.15	0.0055	
2FI vs Linear	1.96	3	0.65	1.60	0.2375	
Quadratic vs 2FI	3.83	3	1.28	8.64	0.0040	Önerildi
Cubic vs Quadratic	0.90	4	0.22	2.30	0.1726	Aliased
Residual	0.58	6	0.10			
Toplam	185.31	20	9.27			

Model Uyumsuzluğu Testleri						
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Ortalaması	Değeri	Prob> F	
Linear	6.90	11	0.63	8.36	0.0148	
2FI	4.94	8	0.62	8.23	0.0164	
Quadratic	1.10	5	0.22	2.95	0.1304	Önerildi
Cubic	0.21	1	0.21	2.78	0.1565	Aliased
Saf Hata	0.38	5	0.08			

Modelin İstatistiksel Özeti						
	Standart		Düzeltilmiş	Öngörülen		
Kaynak	Sapma	R ²	R ²	R ²	PRESS	
Linear	0.67	0.5355	0.4484	0.1717	12.97	
2FI	0.64	0.6607	0.5041	0.1458	13.38	
Quadratic	0.38	0.9055	0.8205	0.4233	9.03	Önerildi
Cubic	0.31	0.9628	0.8821	-1.9661	46.45	Aliased

PRESS: Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı

Tablo 3.12’de de görüldüğü gibi; “cubic” polinomda “alias” gözlenmektedir. Kullanılan diğer fonksiyonlar; “Model uyumsuzluğu”, “Düzeltilmiş R²”, “Öngörülen R²” değerleri açısından karşılaştırıldığında; Quadratic (2.dereceden) fonksiyon önerilmektedir.

Bir sonraki aşamada, önerilen fonksiyonların hangisinin en iyi modelleme yaptığı ANOVA tabloları ayrı ayrı çıkarılıp karşılaştırılarak belirlenmiştir. En iyi modellemeyi yapan fonksiyon seçilirken;

- Model; Önemli,
- Model uyumsuzluğu; Önemsiz,
- Bütün model terimleri için; “ (Prob>F) değerleri <0.05”,
- R^2 ; ~ 1 ,
- Düzeltilmiş R^2 ; ~ 1 ,
- Öngörülen R^2 ; ~ 1 ,
- Düzeltilmiş $R^2 \sim$ Öngörülen R^2 ,
- Varyasyon Katsayısı (% V.K.); minimum olması gerekmektedir [194].

Dolayısıyla fonksiyon “Quadratic” olarak seçilip yazılım programı tarafından ANOVA sonuçları Tablo 3.13’de verilmiştir.

Tablo 3.13. Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde EDS için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait ANOVA tablosu

YANIT	1	EDS	Quadratic Model Yüzey Yanıtı için ANOVA			
	Kareler	df	Kareler	F	p-değeri	
Kaynak	Toplamı		Ortalaması	Değeri	Prob> F	
Model	9842.30	9	1093.59	5.22	0.0082	önemli
A-Maya Kullanım Oranı	157.07	1	157.07	0.75	0.4068	
B-Eksi Hamur Kullanım Oranı	1060.84	1	1060.84	5.06	0.0481	
C-Kepek Oranı	1265.43	1	1265.43	6.04	0.0338	
AB	137.70	1	137.70	0.66	0.4363	
AC	107.38	1	107.38	0.51	0.4904	
BC	1248.75	1	1248.75	5.96	0.0347	
A ²	1611.84	1	1611.84	7.70	0.0196	
B ²	918.65	1	918.65	4.39	0.0627	
C ²	2913.67	1	2913.67	13.91	0.0039	
Residual	2094.46	10	209.45			
Model Uyumsuzluğu	1605.01	5	321.00	3.28	0.1092	önemsiz
Saf Hata	489.45	5	97.89			
Cor Total	11936.77	19				
Standart Sapma	14.47		R ²	0.8245		
Ortalama	151.39		Düzeltilmiş R ²	0.6666		
% V.K.	9.56		Öngörülen R ²	0.0853		
PRESS	12954.48		Hassasiyet düzeyi	8.992		

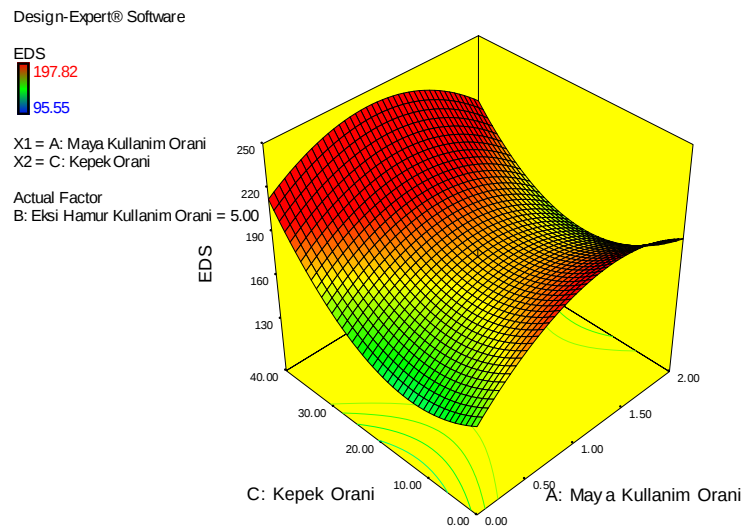
Tablo 3.13. Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde EDS için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait ANOVA tablosu devamı

Faktör	Katsayı	df	Standart Hata	95% CI	95% CI	VIF
	Tahminleri			Düşük	Yüksek	
Intercept	143.45	1	5.90	130.30	156.60	
A-Maya Kullanım Oranı	-3.39	1	3.92	-12.12	5.33	1.00
B-Eksi Hamur Kullanım Oranı	-8.81	1	3.92	-17.54	-0.09	1.00
C-Kepek Oranı	-9.63	1	3.92	-18.35	-0.90	1.00
AB	-4.15	1	5.12	-15.55	7.25	1.00
AC	-3.66	1	5.12	-15.06	7.74	1.00
BC	-12.49	1	5.12	-23.89	-1.09	1.00
A ²	-10.58	1	3.81	-19.07	-2.08	1.02
B ²	7.98	1	3.81	-0.51	16.48	1.02
C ²	14.22	1	3.81	5.72	22.71	1.02

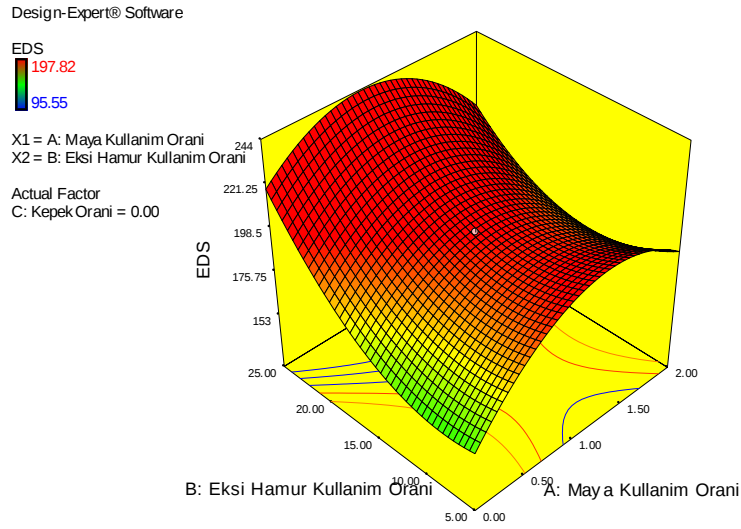
% V.K.: Varyasyon katsayısı

PRESS: Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı

Görüldüğü gibi önerilen model “önemli”, “model uyumsuzluğu” ise “önemsiz” dir. Yani model geçerli ve “Prob>F>0.050” değerine sahip parametreler önemsizdir. “R² değeri” 0.8245 bulunmuştur. Sistemi modelleyen en iyi fonksiyon belirlendikten sonra üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri, yazılım programının aracılığıyla elde edilmiştir. (Şekil 3.8. ve Şekil 3.9.)



Şekil 3.8. Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde maya kullanım oranı-kepek oranı parametrelerinin EDS’ye etkisini gösteren YY grafiği



Şekil 3.9. Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde ekşi hamur kullanım oranı-maya kullanım oranı parametrelerinin EDS'ye etkisini gösteren YY grafiği

Tablo 3.14. Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde KE için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait ANOVA tablosu

YANIT	2		KE			
Quadratic Model Yüzey Yanıtı için ANOVA						
	Kareler		Kareler	F	p-değeri	
Kaynak	Toplamı	df	Ortalaması	Değeri	Prob> F	
Model	14.18	9	1.58	10.65	0.0005	önemli
A-Maya Kullanım Oranı	0.27	1	0.27	1.80	0.2089	
B-Eksi Hamur Kullanım Oranı	7.26	1	7.26	49.04	< 0.0001	
C-Kepek Oranı	0.86	1	0.86	5.83	0.0364	
AB	1.76	1	1.76	11.88	0.0063	
AC	0.01	1	0.01	0.05	0.8229	
BC	0.20	1	0.20	1.32	0.2773	
A²	1.29	1	1.29	8.75	0.0143	
B²	0.77	1	0.77	5.18	0.0461	
C²	1.47	1	1.47	9.92	0.0104	
Residual	1.48	10	0.15			
Model Uyumsuzluğu	1.10	5	0.22	2.95	0.1304	önemsiz
Saf Hata	0.38	5	0.08			
Cor Total	15.66	19				
Standart Sapma	0.38		R²	0.9055		
Ortalama	2.91		Düzeltilmiş R²	0.8205		
% V.K.	13.21		Öngörülen R²	0.4233		
PRESS	9.03		Hassasiyet düzeyi	11.2596		

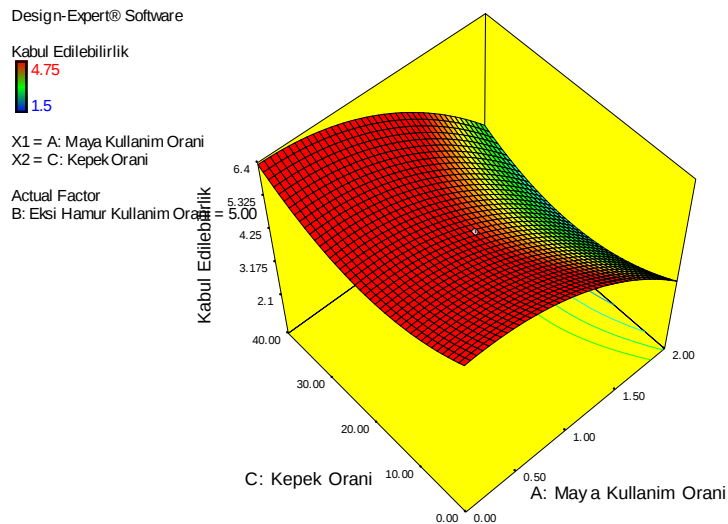
Tablo 3.14. Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde KE için yazılım programı tarafından önerilen “Quadratic fonksiyona” ait ANOVA tablosu devamı

	Katsayı		Standart	95% CI	95% CI	
Faktör	Tahminleri	df	Hata	Düşük	Yüksek	VIF
Intercept	2.74	1	0.16	2.39	3.09	
A-Maya Kullanım Oranı	-0.14	1	0.10	-0.37	0.09	1.00
B-Eksi Hamur Kullanım Oranı	-0.73	1	0.10	-0.96	-0.50	1.00
C-Kepek Oranı	-0.25	1	0.10	-0.48	-0.02	1.00
AB	0.47	1	0.14	0.17	0.77	1.00
AC	-0.03	1	0.14	-0.33	0.27	1.00
BC	-0.16	1	0.14	-0.46	0.15	1.00
A ²	-0.30	1	0.10	-0.53	-0.07	1.02
B ²	0.23	1	0.10	0.00	0.46	1.02
C ²	0.32	1	0.10	0.09	0.54	1.02

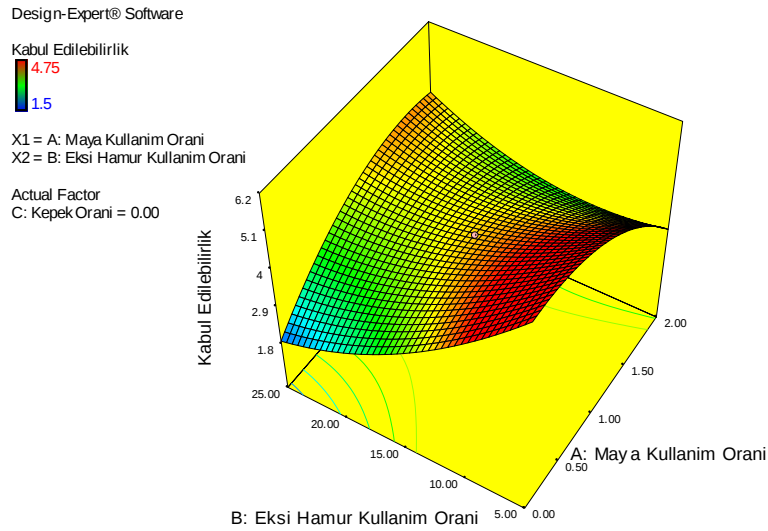
% V.K.: Varyasyon katsayısı

PRESS: Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı

Görüldüğü gibi önerilen model “önemli”, “Model uyumsuzluğu” ise “önemsiz” dir. Yani model geçerli ve “Prob>F>0.050” değerine sahip parametreler önemsizdir. “R² değeri” 0.9055’dir. Sistemi modelleyen en iyi fonksiyon belirlendikten sonra üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri, yazılım programının aracılığıyla elde edilmiştir. (Şekil 3.10. ve Şekil 3.11.)



Şekil 3.10. Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde maya kullanım oranı-kepek oranı parametrelerinin KE’e etkisini gösteren YY grafiği



Şekil 3.11. Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminde ekşi hamur kullanım oranı-maya kullanım oranı parametrelerinin KE'ye etkisini gösteren YY grafiği

Bu çalışmada Desing Expert programının üç farklı optimizasyonundan sayısal optimizasyon kullanılmış ve optimizasyon kriterleri;

Maya kullanım oranı; aralık içinde

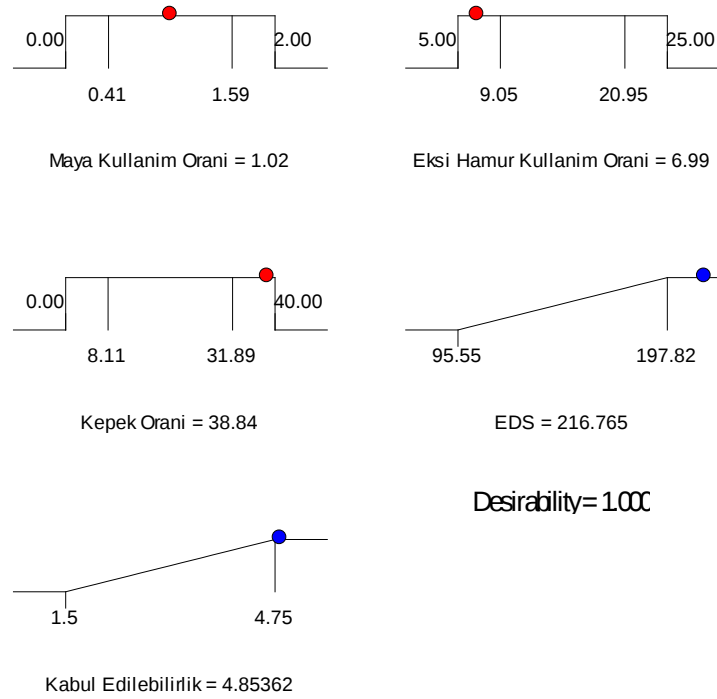
Ekşi hamur kullanım oranı; aralık içinde

Kepek oranı; aralık içinde

Ekmek değer sayısı (EDS); maksimum

Kabul edilebilirlik (KE); maksimum

olarak seçilerek çözümler istenmiştir. Program tarafından EDS ve KE değerleri bir arada değerlendirilmiş, toplam 29 çözüm sunulmuştur. Belirlenen bu çözümler Ek-2'de, ilk 3 çözüm ise Tablo 3.16'da verilmiştir. Belirlen çözümler içinde "İstenilirliği=1" (Desirability=1) olan 23 çözümden 1.çözümün kullanılması sistem tarafından önerilmiştir. Bu çözüme ait rampa grafikleri Şekil 3.12' de verilmiştir.



Şekil 3.12. Starter LAB ilaveli fermentasyon optimizasyon sonucu 1.çözümün rampa grafikleri

Tablo 3.16. Starter LAB ilaveli fermentasyon için formül optimizasyonu sonucunda “İstenilirlik” fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen ilk 3 çözüm

Kısıtlar						
	Hedef	Alt Limit	Üst Limit	Alt Ağırlık	Üst Ağırlık	Önem
Maya Kullanım Oranı	aralığı içinde	0	2	1	1	3
Ekşi Hamur Kullanım Oranı	aralık içinde	5	25	1	1	3
Kepek Oranı	aralık içinde	0	40	1	1	3
EDS	maksimum	95.55	197.82	1	1	3
Kabul Edilebilirlik	maksimum	1.5	4.75	1	1	3
Çözümler						
No	Maya Kullanım Oranı	Ekşi Hamur Kullanım Oranı	Kepek Oranı	EDS	KE	İstenilirlik
1	1.02	6.99	38.84	212.76	4.85	1.000
2	0.96	5.23	0.36	199.57	5.48	1.000
3	0.17	5.30	38.46	212.54	6.07	1.000

EDS: Ekmek değeri sayısı

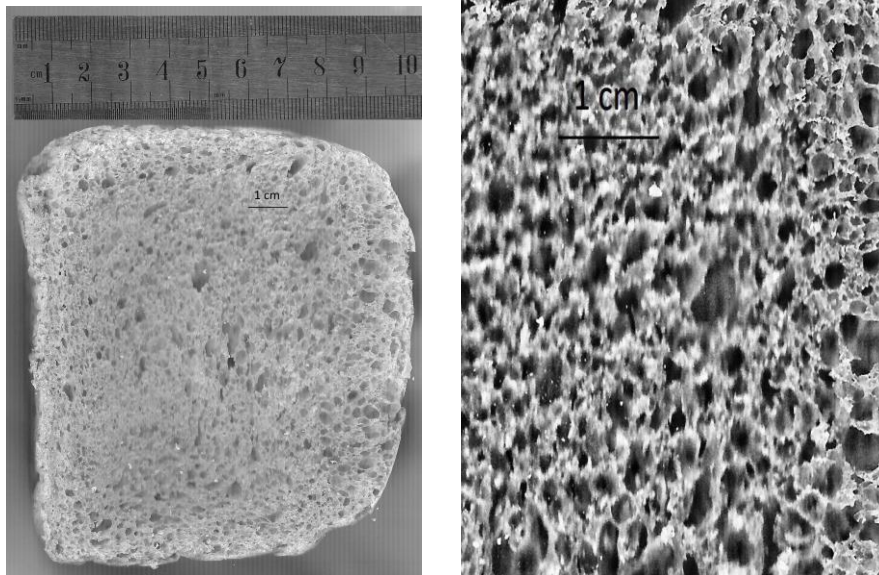
KE: Kabul edilebilirlik

Seçildi

Tablo 3.16’da görüldüğü gibi optimizasyon sonucu maya kullanım oranı %1.02, Ekşi hamur kullanım oranı %6.99 ve kepek kullanım oranı da %38.84 olarak belirlenmiştir.

3.3.1. Starter LAB ilaveli fermentasyon yöntemi formül optimizasyonu sonuçlarının deneysel doğrulanması

Optimizasyon sonucu önerilen %38.84 kepek içerikli ekşi hamur, starter LAB ilaveli fermentasyon yöntemi ile üretilerek %6.99 ekşi hamur ve %1.02 toz maya kullanım oranları ile ekmek üretimi gerçekleştirilmiştir. Ekmeğe ait hacim faktörü, gözenek faktörü belirlenerek EDS hesaplanmış ve ekmek KE düzeyi panelistlerce belirlenmiştir. Elde edilen veriler Şekil 3.13 ve Tablo 3.17.’ de verilmiştir.



Şekil 3.13. Tarama ve ölçeklendirme yapılmış doğrulama ekmeği görüntüsü

Tablo 3.17. Optimum nokta doğrulama deneme sonuçları

Deneme No	Maya Kullanım Oranı	Ekşi Hamur Kullanım Oranı	Kepek Oranı	EDS	KE
1	1.02	6.99	38.84	198.228	4.8
2	1.02	6.99	38.84	208.027	4.6
3	1.02	6.99	38.84	200.515	4.6
Ortalama				202.257	4.7
Modelden Tahminlenen				212.76	4.75

EDS: Ekmek değer sayısı

KE: Kabul edilebilirlik

Her bir yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *T* –testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek *T* –testi SPSS 17.0.1 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek *T* –testi sonuçları Tablo 3.18’de verilmiştir.

Tablo 3.18. Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıt	Tahminlenen Değer	Ortalama Deneysel Sonuç ($\pm$ SS)	Fark	<i>p</i> -değeri
EDS	212.76	202.26 $\pm$ 5.12	-10.5	0.071
KE	4.75	4.67 $\pm$ 0.12	-0.083	0.338

EDS: Ekmek değer sayısı

KE: Kabul edilebilirlik

EDS ve KE değerleri için doğrulama denemelerinden elde edilen sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında, istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı ($p < 0.05$) belirlenmiştir.

3.4. Ekşi hamurların bazı kimyasal ve mikrobiyal özellikleri

3.4.1. Ekşi hamurların pH, titrasyon asitliği (TA) ve organik asit içerikleri

Spontan fermentasyonda kademeli fermentasyon yöntemi kullanıldığından, her kademe pH 4.5 altına düştüğünde kademeye son verilerek pH, titrasyon asitliği tespit edilmiş ve LAB sayımı yapılmıştır. Starter LAB ilaveli fermentasyonda ise starter ilave edildikten yaklaşık 10-12 saat sonra pH 4.5 altına düşmüş, titrasyon asitliği tespit edilmiştir (Tablo 3.19).

Tablo 3.19. Ekşi hamurların pH ve TA değerleri

Kademe	Spontan fermentasyon		Starter LAB ilaveli fermentasyon		
	pH	Titrasyon Asitliği %		pH	Titrasyon Asitliği %
1.	4.45	8.47±0.28	Başlangıç		
2.	4.32	10.17±0.42			
3.	4.30	10.29±0.19			
4.	4.40	10.46±0.29	Bitiş	4.2	10.56±0.34

Ekşi hamur fermentasyonunda en baskın ve karakteristik organik asitler laktik asit ve asetik asittir [10]. Çalışmadaki hamurların laktik ve asetik asit içerikleri Tablo 3.20’de verilmiştir.

Tablo 3.20. Ekşi hamurların organik asit içerikleri

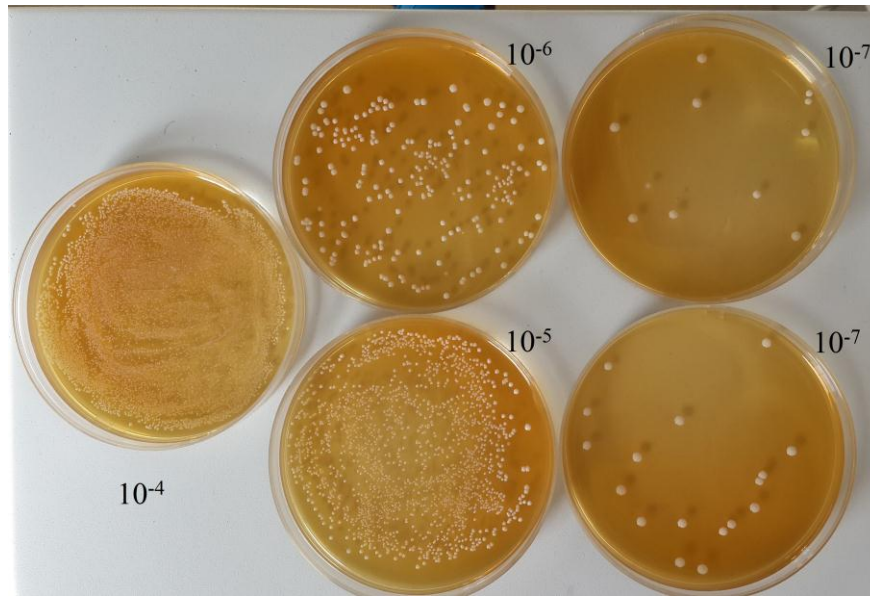
Hamur	mg laktik asit/g	mg asetik asit/g
SPH	1.491	0.206
STH	1.104	0.447

SPH: Spontan fermentasyonla üretilen ekşi hamur
STH: Starter LAB ilaveli ekşi hamurla üretilen ekşi hamur

Her iki fermentasyon yöntemi ile üretilen ekşi hamurlarda laktik asit miktarları asetik asite göre daha yüksek bulunmuştur (Tablo 3.20). Ancak, spontan fermentasyonla üretilen ekşi hamurda (SPH) laktik asit miktarı, starter LAB ilaveli fermentasyonla üretilen (STH) ekşi hamura göre daha yüksek iken, asetik asit üretimi açısından tersi durum söz konusudur.

3.4.2. Ekşi hamurda LAB sayımı

Ekşi hamur örneğindeki LAB sayım sonuçları Tablo 3.21’ de verilmiştir. Sayım sonuçlarına göre spontan fermentasyon yöntemi ile elde edilen ekşi hamurlarda 1.kademe sonundaki 6.86 log (kob)/g hücre sayısının 4.kademe sonunda 12.08 log (kob)/g düzeyine yükseldiği tespit edilmiştir.



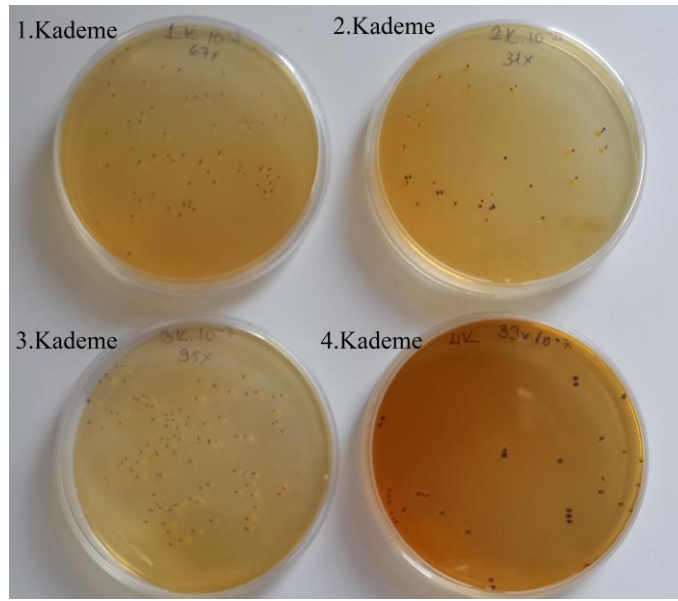
Şekil 3.14. Starter LAB ilaveli fermentasyon sonu, LAB sayımı görüntüsü

Starter LAB'leri ekşi hamura ilave edilip karıştırıldıktan sonra ekşi hamurdan alınan örnekte yapılan sayım (Şekil 3.14) sonucu başlangıçta 6.56 log (kob)/g olarak belirlenirken, pH 4.28 fermentasyon sonunda LAB sayısının 9.76 log (kob)/g düzeyine yükseldiği belirlenmiştir.

Tablo 3.21. Fermentasyon türlerine göre sayım sonuçları

	Spontan fermentasyon		Starter LAB ilaveli fermentasyon
	log (kob)/g		log (kob)/g
1.Kademe	6.86	Başlangıç	6.56
2.Kademe	8.11		
3.Kademe	12.49		
4.Kademe	12.08	Bitiş	9.76

Spontan fermentasyonla üretilen ekşi hamurlarda un ve suyun karıştırılarak fermentasyona bırakılmasından sonra pH'nın 4.5'un altına düşmesi yaklaşık 30 saatlik bir süreci almaktadır. Her kademenin tekrar edilmesi ve pH 4.5'un altına düşmesi bir sonraki kademe daha kısa bir süreç almaktadır ki Tablo 3.21'deki LAB sayım sonuçları da bu durumu açıklamaktadır. 1.kademe yaklaşık 30 saat süren fermentasyonu tamamlayan LAB sayısı 6.86 log (kob)/g iken yaklaşık 4-6 saat süren 4.kademe fermentasyonu tamamlayan LAB sayısı 12.08 log (kob)/g'dır.



Şekil 3.15. Spontan fermentasyon kademe sonu LAB sayımı görüntüsü

3.5. Pişme sonrası ekmek fizikokimyasal kalite özellikleri

Formül optimizasyonları sonucunda elde edilen SPE ve STE'ler ekşi hamursuz kontrol ekmeğine göre (NE), fizikokimyasal kalite özellikleri açısından karşılaştırılarak fermentasyon yöntemlerinin kalite niteliklerine etkileri belirlenmiştir.

Optimizasyonu sonucu spontan fermentasyon için belirlenmiş % 1.58 kepek, % 1.1 maya, % 11.45 ekşi hamur ile starter LAB ilaveli fermentasyon için belirlenmiş % 38.84 kepek, %1.02 maya ve %6.99 ekşi hamur kullanım oranlarına göre Tablo 3.22' deki ekmek formülleri oluşturulmuştur.

Tablo 3.22. Çalışmada kullanılan ekmek formülleri

Ekmek	Un (g)	Su (mL)	Ekşi hamur (g)	Tuz (g)	Maya (g)	Toplam (g)
SPE	464.29	232.80	91.60	6.50	5.11	800.30
STE	475.65	257.40	55.90	6.50	4.85	800.30
NE	493.05	295.82	0.00	6.50	4.93	800.30

SPE: Spontan ekmek

STE: Starter LAB ilaveli ekmek

NE: Normal ekmek

Şekil 3.16’da spontan fermentasyon yöntemine göre üretilen ekmek (SPE) , Starter LAB ilaveli fermentasyon yöntemine göre üretilen ekmek (STE) ve ekşi hamursuz normal ekmek (NE) görülmektedir.



Şekil 3.16. Ekmek örnekleri

3.5.1. pH, titrasyon asitliği (TA) ve organik asit içeriği

Ekmek örneklerinde pH ve TA tayinleri yapılmıştır ve sonuçlar Tablo 3.23’ de görülmektedir. Ekşi hamur kullanılan STE ve SPE’nin pH değerleri NE’ye göre daha düşük bulunmuş yani asitlik daha yüksek tespit edilmiştir. Buna bağlı olarak da TA değerleri NE’ye daha yüksek olarak belirlenmiştir. Ekşi hamur kullanılarak yapılan ekmekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise starter LAB ilave edilerek yapılan STE’deki asitlik düzeyi SPE’ye göre daha yüksek bulunmuş yani daha düşük pH, daha yüksek TA değeri olarak tespit edilmiştir. Ekmek numunelerine ait pH ve TA değerleri arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo 3.23. Ekmek örneklerine ait pH, TA değerleri

Ekmek	pH	TA (%)
STE	5.04 ^c	5.34±0.016 ^a
SPE	5.29 ^b	4.60±0.012 ^b
NE	6.15 ^a	2.65±0.067 ^c

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.

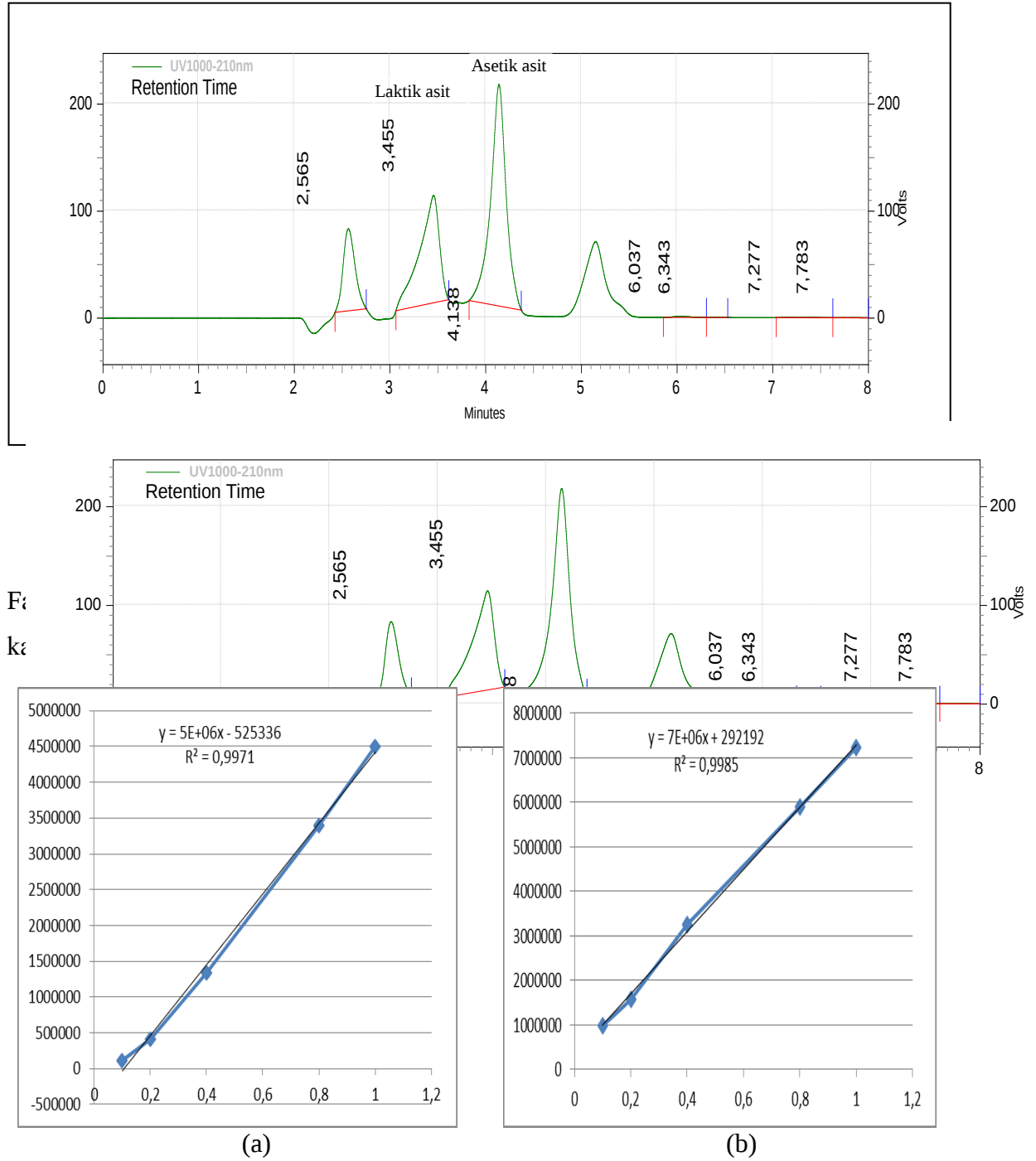
Ortalama ± standart sapma

SPE: Spontan ekmek

STE: Starter LAB ilaveli ekmek

NE: Normal ekmek

HPLC’de organik asit tayini için belirlenen şartlarda laktik ve asetik asit standartları hazırlanarak cihaza verilmiş ve 8 dak’lık kromotogramda standart laktik asit 3.4 dak’da, asetik asit 4.1 dak’da belirlenmiştir (Şekil 3.17).



Şekil 3.18. Laktik asit (a) ve asetik asit (b) standartlarına ait kalibrasyon eğrileri

Ekmek örneklerine ait elde edilen kromatogramlardan elde edilen pik alanları, standart kalibrasyon eğrilerinden elde edilen regresyon denklemlerinden faydalanılarak

konsantrasyona çevrilmiş ve ekmeklerdeki laktik asit ve asetik asit miktarları belirlenmiştir (Tablo 3.24).

Tablo 3.24. Ekmek örneklerine ait laktik ve asetik asit miktarları

Ekmek	Organik asit miktarı (mg/g)	
	Laktik asit	Asetik asit
STE	0.610±0.05 ^b	0.577±0.03 ^a
SPE	0.835±0.08 ^a	0.237±0.05 ^b
NE	0.294±0.05 ^c	0.098±0.00 ^c

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($P<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Ortalama ± standart sapma

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

Ekşi hamur kullanılan STE ve SPE'nin laktik ve asetik asit içeriklerinin NE'ye göre daha yüksek oldukları belirlenmiştir. Organik asit çeşiti açısından karşılaştırıldığında tüm ekmeklerde laktik asit miktarı asetik asit miktarından daha fazla bulunmuştur. Ekmek çeşitlerine göre asit miktarı karşılaştırıldığında ise laktik asit içeriği en yüksek ekmek SPE iken bunu STE ve NE takip etmektedir. Asetik asit içeriği en yüksek ekmek ise STE'dir ve bunu SPE ve NE takip etmiştir. Ekmek numunelerine ait organik asit miktarları arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

3.5.2. Rutubet miktarı ve kabuk kalınlığı

Ekmek numunelerinin ölçülen kabuk kalınlıkları ve nem tayin sonuçları Tablo 3.25'de verilmiştir. Ekşi hamur kullanılan STE ve SPE'lerin kabuk kalınlıkları NE'ye göre daha yüksek ve bu farklılık da istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Rutubet ölçüm sonuçları da buna paralellik göstermiş ve SPE ve NE arasındaki fark istatistik açıdan önemli görülmemekle birlikte ($p>0.05$) ekşi hamur ekmeklerinin nem içeriklerinin NE'ye göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.25. Ekmeklere ait nem miktarı ve kabuk kalınlığı değerleri

	Rutubet	Kabuk kalınlığı
	(%)	(mm)
STE	39.68±0.21 ^a	4.29±0.02 ^a
SPE	38.20±0.14 ^b	4.27±0.06 ^a
NE	38.11±0.10 ^b	3.46±0.13 ^b

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($P<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Ortalama ± standart sapma

3.5.3 Kabuk ve iç renk

Ekmeklerin kabuk ve iç yapılarına ait renk ölçüm değerleri Tablo 3.26’da verilmiştir.

Tablo 3.26. Ekmeklerin kabuk ve iç renk değerleri

	Kabuk			İç		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
STE	66.70±2.56 ^c	5.95±0.78 ^a	25.50±0.42 ^a	67.71±1.54 ^b	0.63±0.04 ^a	15.60±0.74 ^a
SPE	69.31±1.29 ^b	6.00±0.68 ^a	24.68±0.50 ^b	71.23±0.83 ^a	0.49±0.05 ^a	14.27±0.25 ^c
NE	71.31±1.76 ^a	4.31±0.90 ^b	22.22±0.57 ^c	71.01±1.39 ^a	-0.26±0.07 ^b	14.75±0.45 ^b

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Ortalama ± standart sapma

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

Ekmek kabuğunda L^* değerleri arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Parlaklık değeri NE’de en yüksek düzeyde (71.31) iken, ekşi hamur ekmeklerinde (STE, SPE) daha düşük düzeyde bulunmuştur (Tablo 3.26).

Kırmızılık parametresi a^* değeri NE’de en düşük düzeyde (4.31) tespit edilmiştir ve bu farklılık istatistiki olarak önemlidir ($p<0.05$). Hem STE hem de SPE’de kontrol ekmeklerine göre bu değer daha yüksek tespit edilmiştir (Tablo 3.26).

Sarılık göstergesi b^* değerinin NE’in kabuğunda en düşük düzeyde (22.22) olduğu, tespit edilmiş, bu farklılık istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Ekşi hamur ilaveli ekmeklerde b^* sarılık değerini NE’e göre önemli düzeyde ($p<0.05$) yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.26).

Ekmek örneklerinin L^* , a^* ve b^* değerlerinden faydalanılarak hem iç hem de kabul için dE^* değerleri belirlenmiştir (Tablo 3.27).

Tablo 3.27. Ekmeklerin kabuk ve içlerine ait dE^* değerleri

	dE^* Kabuk	dE^* İç
STE	34.86 ^a	28.13 ^a
SPE	32.44 ^b	24.38 ^b
NE	29.03 ^c	24.72 ^b

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek
 dE^* : Renk farklılığı değeri

Ekmek kabuğında en yüksek dE^* (34,68) STE’de belirlenirken bunu SPE ve NE takip etmiştir. Ekmek içi dE^* değeri en yüksek (28.13) STE’de, en düşük (24.72) NE’de belirlenmiştir. dE^* değerleri arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

3.5.4. Hacim ve spesifik hacim

Ekşi hamur kullanılan STE ve SPE ekmeklerinin, NE’e göre hem hacim hem de spesifik hacim açısından daha yüksek değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.28).

Tablo 3.28. Ekmeklere ait hacim ve spesifik hacim değerleri

Ekmek	Hacim (cm ³)	Spesifik hacim (cm ³ /g)
STE	2732±18 ^a	4.081 ^a
SPE	2691±15 ^b	4.029 ^b
NE	2610±10 ^c	3.915 ^c

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($P<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Ortalama ± standart sapma

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

En yüksek hacim ve spesifik hacim değeri STE’ye ait olup, bunu SPE ve NE takip etmektedir. Ekmeklerin her iki özelliğe ait değerleri arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemlidir ($p<0.05$).

3.6. Raf ömrü süresince ekmekte fizikokimyasal ve mikrobiyal değişimler

3.6.1. Tekstür

Ekmekler fırınılandıkları ilk gün (0.gün), 3, 5 ve 8. günlerde TPA gerçekleştirilmiştir. Analizden önce 2 cm kalınlığında kesilen ekmeklerin (Şekil 3.19); sertlik esneklik yapışkanlık ve çiğnenebilirlik değerleri belirlenmiştir. Ayrıca 0. ve 5. gün sertlik sonuçlarını kullanılarak ekmeklerin bayatlama oranı (BO) tespit edilmiştir.



Şekil 3.19. TPA için hazırlanmış ekmekler

Ekmeklere ait TPA sonuçları Tablo 3.29’da verilmiştir. Ekmeklerin tümünde raf ömrü süresince sertlik değerinin arttığı buna bağlı olarak çiğnenmeye karşı direnci ifade eden çiğnenebilirlik değerinin de artış gösterdiği tespit edilmiştir. Yine tüm örneklerin raf ömrü süresince esnekliğini kaybettiği ve buna ait ölçüm değerlerinin düştüğü, yapışkanlık değerinin de zamana bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (Tablo 3.29).

Tablo 3.29. Ekmeklere ait TPA sonuçları

Ekmek	Zaman (gün)	Sertlik	Esneklik	Yapışkanlık	Çiğnenebilirlik	BO
STE	0	883.3±173.3	0.981±0.014	0.819±0.032	706.2±114.2	2.90
	3	3154.2±357.5	0.953±0.010	0.580±0.036	1721.9±313.3	
	5	3443.6±565.7	0.942±0.012	0.533±0.043	1742.5±404.8	
	8	5287.8±521.4	0.929±0.018	0.506±0.002	2494.8±518.2	
SPE	0	721.8±109.9	1.002±0.005	0.826±0.005	597.4±90.0	4.55
	3	2075.2±201.7	0.948±0.034	0.575±0.044	1126.8±189.9	
	5	4003.7±381.2	0.938±0.010	0.465±0.011	1743.7±167.0	
	8	5200.9±581.6	0.928±0.028	0.454±0.040	2425.7±329.8	
NE	0	484.7±41.1	1.009±0.010	0.832±0.004	406.4±32.3	7.14
	3	2352.6±260.7	0.948±0.013	0.606±0.045	1351.2±161.1	
	5	3943.6±702.8	0.936±0.020	0.510±0.029	1879.8±414.8	
	8	5461.5±521.4	0.935±0.012	0.503±0.036	2540.3±518.7	

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

BO : Bayatlama oranı

BO değeri en yüksek NE’de (7.14) bulunurken, en düşük STE’de (2.90) tespit edilmiştir. Buna göre, ilk günkü durumuna göre 5. gün en yüksek sertlik değeri değişimine ulaşan ekmek NE’dir (Tablo 3.29).

Raf ömrü süresince tüm ekmeklerde sertlik değerinde artış gözlenmekle birlikte bu ölçümlerin günlere göre değerlendirmesi yapıldığında NE ilk gün diğer ekmeklere göre daha düşük sertliğe sahipken, 8.gün diğerlerinden daha yüksek sertlik derecesine ulaştığı belirlenmiştir. STE ise ilk gün diğerlerinden daha yüksek sertlik değerine sahipken raf ömrü süresince özellikle 5. güne kadar diğerlerinden daha farklı bir profil seyrettiği, sertlik değerindeki artışın daha yavaş olduğu görülmektedir (Tablo 3.29).

Ekmek örneklerindeki çiğnenme değerlerindeki artış ve değişim, ekmeklerin sertlik değerlerindeki değişim ile paralellik göstermektedir. 0.gün yapılan ilk ölçümde en düşük çiğnenme değeri (406.4 ± 32.3) NE’e aitken, 8. gün en yüksek değer (2540.3 ± 518.7) yine NE’e aittir. Yani raf ömrü süresince çiğnenebilirliğini en fazla kaybeden ekmek NE’dir. İlk gün yapılan ölçümde STE en yüksek çiğnenme değerine sahipken (706.2 ± 114.2), 8.gün ulaştığı değere (2494.8 ± 518.2) göre çiğnenebilirliğini en az kaybeden ekmek STE’dir (Tablo 3.29).

Ekmek örneklerinin raf ömrü süresince hem esneklik hem de yapışkanlık değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. İlk gün yapılan ölçümde esnekli değeri en düşük ekmek STE olmasına rağmen, 0.gün ve 8.gün değerleri arasındaki farklılık değerlendirildiğinde en az kaybın STE’de olduğu belirlenmiştir. Ekmeklerin esneklik ve yapışkanlık değerlerindeki en belirgin azalmanın 0-3.gün arasında olduğu belirlenmiştir. 3.günden sonra esneklik değeri daha yavaş azalmıştır (Tablo 3.29).

Hager *et al.* [238]’in TPA sertlik değerini kullanarak buldukları BO’nın yanısıra, 0. ve 5. günlere ait (Tablo 3.29) ortalama esneklik verileri kullanılarak ekmeklerdeki esneklik kaybı (EK) parametresi de hesaplanmıştır (Tablo 3.30).

Tablo 3.30. Ekmeklere ait esneklik kaybı (EK) değerleri

Ekmek	EK
STE	39.7 ^c
SPE	63.8 ^b
NE	72.3 ^a

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

Ekmeklerde en yüksek esneklik kaybı NE’de, daha sonra SPE ve az kayıp ise STE’de meydana gelmiştir.

3.6.2. Ekmek rutubet kaybı (RK)

Ekmek örneklerinin raf ömrü süresince rutubetleri (%) tespit edildikten (Tablo 3.31) sonra RK değerleri belirlenmiş, böylece zamana bağlı kayıp tespit edilmiştir.

Tablo 3.31. Ekmek örneklerinin rutubet içerikleri ve RK değerleri

Ekmek	Zaman (gün)	Rutubet (%)	RK ₁ (%)	RK ₂ (%)
STE	0	39.68±0.21 ^a		
	3	36.39±0.28 ^b	8.30 ^b	8.30 ^a
	5	36.45±0.15 ^b	8.14 ^c	0.11 ^b
	8	36.09±0.42 ^b	9.05 ^a	0.99 ^b
SPE	0	38.20±0.14 ^a		
	3	35.81±0.22 ^b	6.26 ^c	6.26 ^a
	5	34.89±0.06 ^c	8.66 ^b	2.57 ^b
	8	34.56±0.37 ^c	9.53 ^a	0.95 ^c
NE	0	38.11±0.10 ^a		
	3	35.04±0.10 ^b	8.05 ^c	8.05 ^a
	5	34.46±0.26 ^c	9.58 ^b	1.66 ^b
	8	34.38±0.19 ^c	9.79 ^a	0.23 ^b

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

RK₁: İlk güne göre bağlı rutubet kaybı

RK₂: Bir önceki güne göre bağlı rutubet kaybı

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Ortalama ± standart sapma

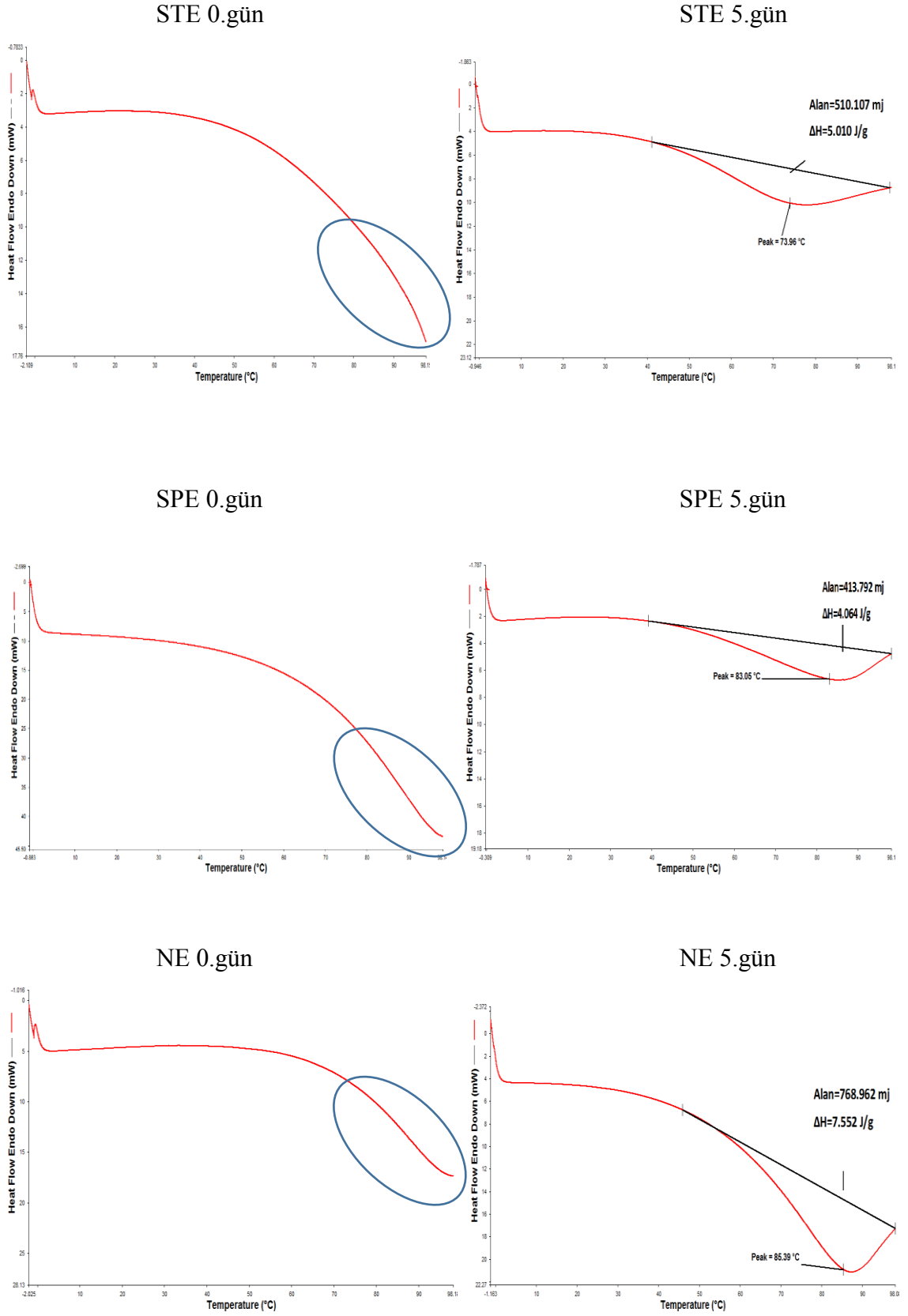
Raf ömrü süresince ekmek örneklerinin, rutubetleri arasında önemli ($p<0.05$) farklılık tespit edilmiştir. Özellikle tüm ekmeklerde ilk günkü rutubet değeri diğer günlerden farklı bulunmuştur. Bu durumda ekmeğin raf ömrü süresinin rutubet kaybı üzerindeki etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir.

Ekmeklerdeki RK, ilk günkü rutubet esas alınarak diğer günlerdeki kayıp % olarak hesaplanmış (RK_1) ve tüm ekmeklerde en büyük kaybın (%) ilk üç günde meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu kayıp STE’de % 8.30, NE’de % 8.05 iken en az kayıp en az SPE’de % 6.26 düzeyinde belirlenmiştir (Tablo 3.31).

Diğer günlerde de kayıp devam etmesine rağmen (RK_2) bu kayıpların ilk 3 günkü kayba göre çok daha az olduğu, örneğin 8.gün kayıplarının STE’de % 0.99, SPE’de % 0.95, NE’de % 0.22 olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.31).

3.6.3. Nişasta retrogradasyonu

Termal analiz sonucunda elde edilen 0. ve 5. güne ait termogramlar Şekil 3.20’de verilmiştir. Çalışmada, 8.gün yapılan DSC analizinde örneklerin hiç birisinde endotermik pik elde edilemediğinden bu güne ait veriler değerlendirme dışı tutulmuştur. İlk gün yapılan analizlerde retrogradasyon ilerlemediğinden herhangi bir endotermik alan hesaplanamamıştır. Ancak ekmeklerin termogramlarından retrogradasyon başlangıç durumları gözlemlenebilmektedir. Ekmekler aynı saatte üretilmelerine rağmen STE’de herhangi bir endotermik pik gelişimi gözlenmezken, SPE ve özellikle NE’ye ait termogramlarda bu başlangıç (mavi renk ile işaretlenmiş bölümler) görülebilmektedir. 5. güne ait termogramlarda nişasta retrogradasyonuna bağlı endotermik pik alanlarında artış gözlenmektedir. 5.gün en düşük endotermik pik alanı SPE için 413.792 mj bulunurken, STE için 510.107 mj, NE için de 768.962 mj olarak belirlenmiştir (Şekil 3.20).



Şekil 3.20. Ekmek örneklerinin 0. ve 5. günlere ait DSC termogramları

3.6.4. Ekmek yüzeyinde küf gelişimi

Ekmek numunelerinin oda koşullarında raf ömrü süresince küflenme durumları yayma sayım yöntemi ile belirlenmiştir (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. Oda koşullarında küflenmeye bırakılmış ekmek dilimleri

Örneklerin, yayma sayım yöntemine göre tespit edilen küf sayım sonuçları Tablo 3.32’de verilmiştir.

Tablo 3.32. Ekmeklerde küf sayım sonuçları log (kob)/g

Ekmek	Gün			
	0.	3.	5.	8.
	log(kob)/g			
STE	0	1.00	4.63	5.51
SPE	0	1.30	4.83	5.67
NE	0	1.30	2.30	5.08

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

İlk gün taze ekmekte yapılan ekim sonuçlarında küf gelişimi gözlenmemiştir. Tüm ekmeklerde 3. günden sonra küf gelişimi tespit edilmiştir. 0.ve 3. günlerde yapılan ilk iki sayımda STE’de küf sayım sonucu diğerlerine göre daha düşük olmakla birlikte 5. ve 8. günlerde yapılan sayım sonuçlarında yükselme tespit edilmiştir. Genel olarak ekşi hamur kullanılan STE ve SPE’de 5. ve 8. gün sayım sonuçlarında paralellik gözlenmiştir. Her iki ekmekteki küf sayım sonuçlarının özellikle 5. ve 8. gün yapılan sayımlarda NE’den daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

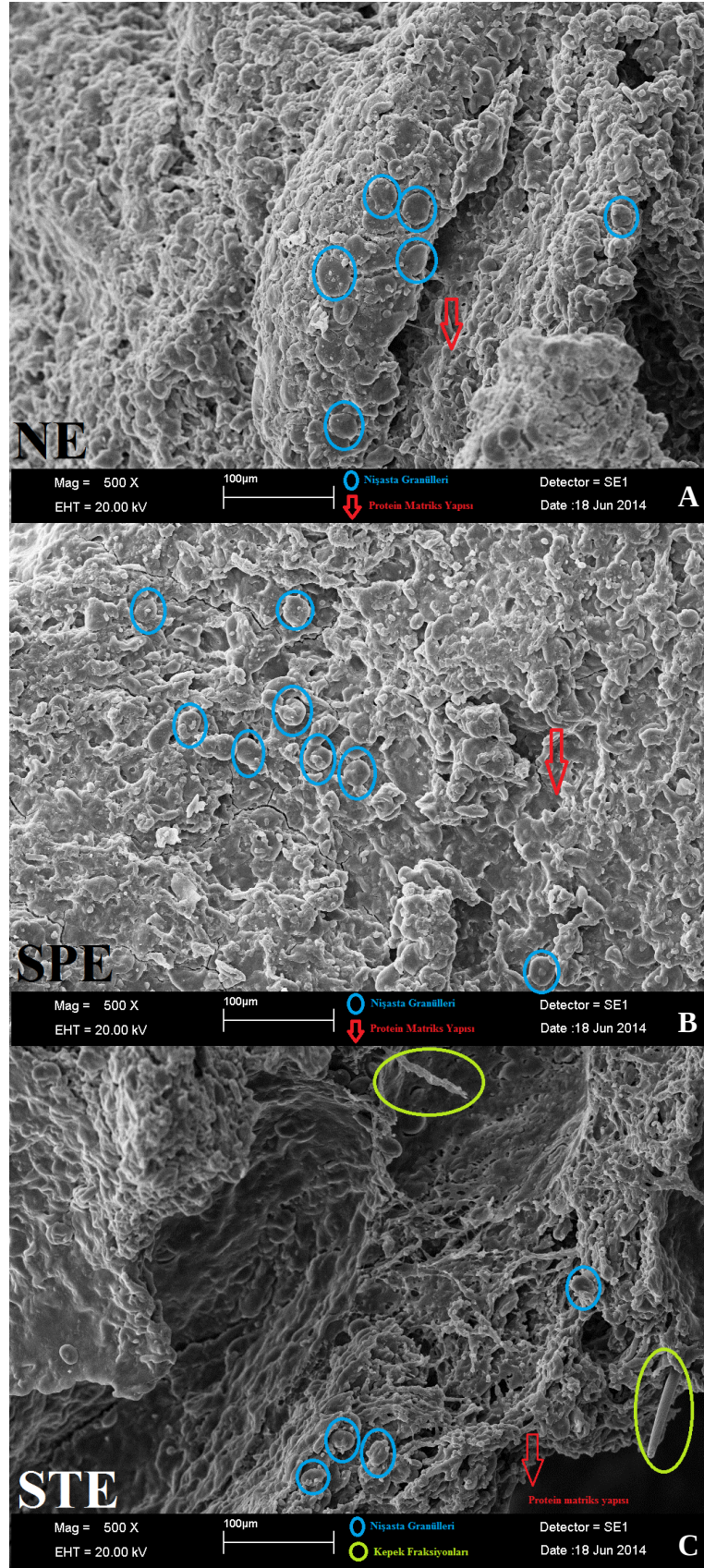
3.6.5. Mikroyapı

Tahıl kaynaklı fırıncılık ürünleri taneden son ürüne taşınan bir mikrotekstürel yapıya sahiptir [260]. Yapı protein esaslı matriks bir oluşum ve bu yapı içerisinde yer alan nişasta, su gibi ürüne özgü bileşenlerden meydana gelmektedir. Ekmek yapısı una kadar taşınmış nişasta, protein, kepek gibi buğday fraksiyonları ve sudan oluşmaktadır. SEM tekniğinin temelinde örnekten suyun uzaklaştırılması olduğundan dolayı SEM ile elde edilen görüntülerde su molekülleri görüntülenememektedir. Bu nedenle mikroyapı protein fraksiyonlarının ve nişastanın tekstürü ve son ürünün stabilitesinin görüntülenmesi ile belirlenmektedir [261].

Çalışmada ekmek mikroyapısının raf ömrü süresince değişiminin tespiti amaçlandığından dolayı, özellikle nişasta moleküllerinin durumu ve yapısal değişimleri gözlemlenmiş, bunun retrogradasyonla ilişkilendirilmesi yapılmıştır. Bu amaçla SEM görüntüleri Image ProPlus programına aktarılmış, uygun kalibrasyon ayarından sonra nişasta moleküllerinin çapları ölçülmüştür. Ayrıca ekmek örneklerinin raf ömrü süresince nişasta ve protein matriks yapısındaki değişim izlenerek görsel olarak yorumlanmıştır.

Farklı fermentasyon ve formül içeriğinin etkilerine bakılmak üzere 3 örneğe ilişkin 0. güne ait mikrotekstürel yapı karşılaştırılmıştır ve buna ilişkin SEM fotoğrafları Şekil 3.22 (500X) ve Şekil 3.23 (1000X)'da verilmiştir.

İlk güne ait SEM görüntüleri (500X) karşılaştırıldığında NE'in protein matriks yapısının daha sıkı, parçalanmamış olduğu görülmektedir (Şekil 3.22-a). Matriks yapı içerisinde nişasta granüllerinin oval veya yuvarlak yapılarını muhafaza ettikleri, yüzeylerinin düzgün olduğu ve yapı içerisinde genel olarak homojen dağılmış kürecikler halinde bulundukları görülmektedir. SPE'e ait görüntülerde (b) protein matriks yapısı daha gevşek ve parçalanmış formda görülürken, nişasta granüllerinin ise NE'deki nişasta yapısına göre yuvarlak/oval yapısını kaybetmiş, düzgün nişasta granüllerinin sayısının daha az olduğu, protein matriks yapısı ile girift halde bulunduğu gözlenmiştir. STE'in protein yapısının (c) ise daha fazla parçalanmış olduğu, nişasta granüllerinin yapı içerisinde çok dağınık, şekillerini kaybetmiş ve daha küçük parçalar halinde bulundukları belirlenmiştir. Bu durum 1000X büyütme ile elde edilmiş Şekil 3.23'deki SEM fotoğraflarında da görülmektedir.



Şekil 3.22. Ekmek örneklerinin NE (A), SPE (B), STE (C), 0.gün SEM görüntüleri (500X)

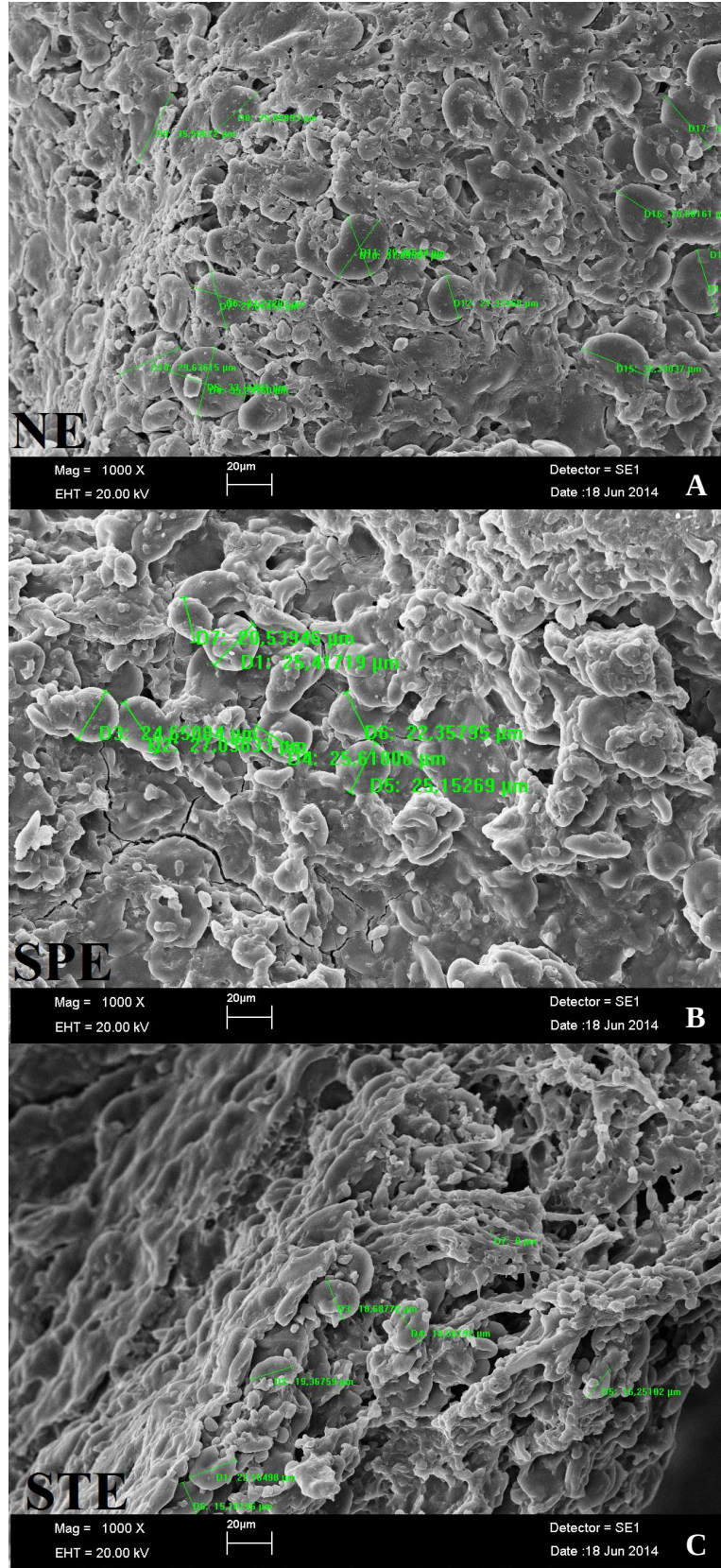
Şekil 3.23’ de verilen her üç ekmeğe ait SEM fotoğrafları 1000X büyütme yapılmış görüntülerdir. Görüntülerdeki nişasta moleküllerinin ebatlarının görsel olarak da farklı olduğu dikkat çekicidir. Bu nedenle her üç görüntü de Image ProPlus programında değerlendirilmiş, görüntü kalibrasyonu fotoğrafların elde edildiği ölçek olan 20 μ ’a göre ayarlanmış ve nişasta moleküllerinin çapları ölçülmüştür (Tablo 3.33).

Tablo 3.33. Ekmek örneklerinin 0.gün SEM görüntülerine ait nişasta granül çapları

Ekmek	Çap (μ)/1000
NE	29.904 $\pm$ 4.007 ^a
SPE	23.831 $\pm$ 2.399 ^b
STE	18.356 $\pm$ 2.478 ^c

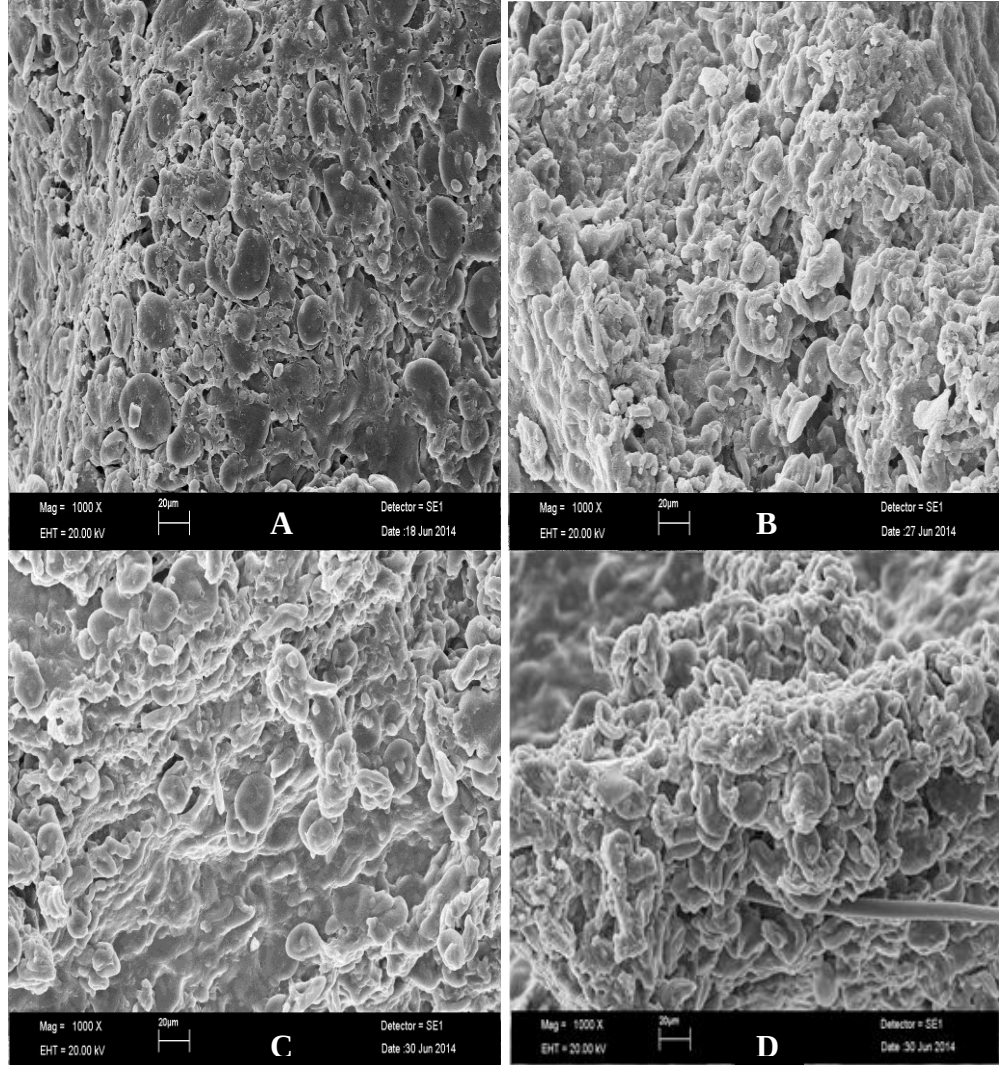
SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek
a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.

NE’e ait nişasta molekülleri en büyük çapa sahipken, STE’e ait nişasta moleküllerinin çapı en düşük olarak belirlenmiştir. Çaplar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 3.23. Ekmek örneklerinin NE (A), SPE (B), STE (C), 0.gün SEM görüntüleri (1000X)

Ekmek örneklerinin raf ömrü süresince yapısal değişimini belirlemek amacıyla her bir ekmeğin 0, 3, 5 ve 8. günlere ait SEM görüntüleri (1000X) karşılaştırılmıştır (Şekil 3.24, Şekil 3.25, Şekil 3.26).

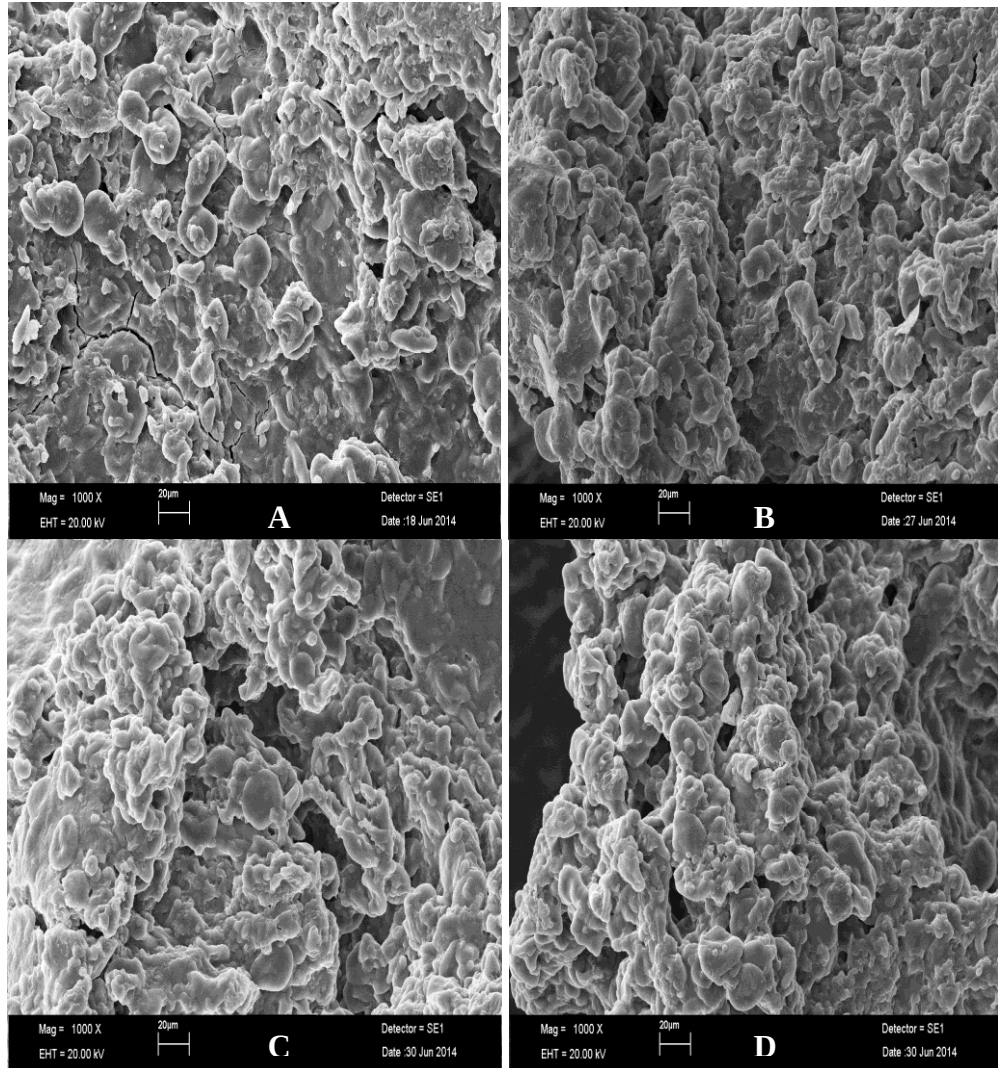


Şekil 3.24. NE'in 0 (A), 3(B), 5(C) ve 8(D). günlere ait SEM görüntüleri (1000X)

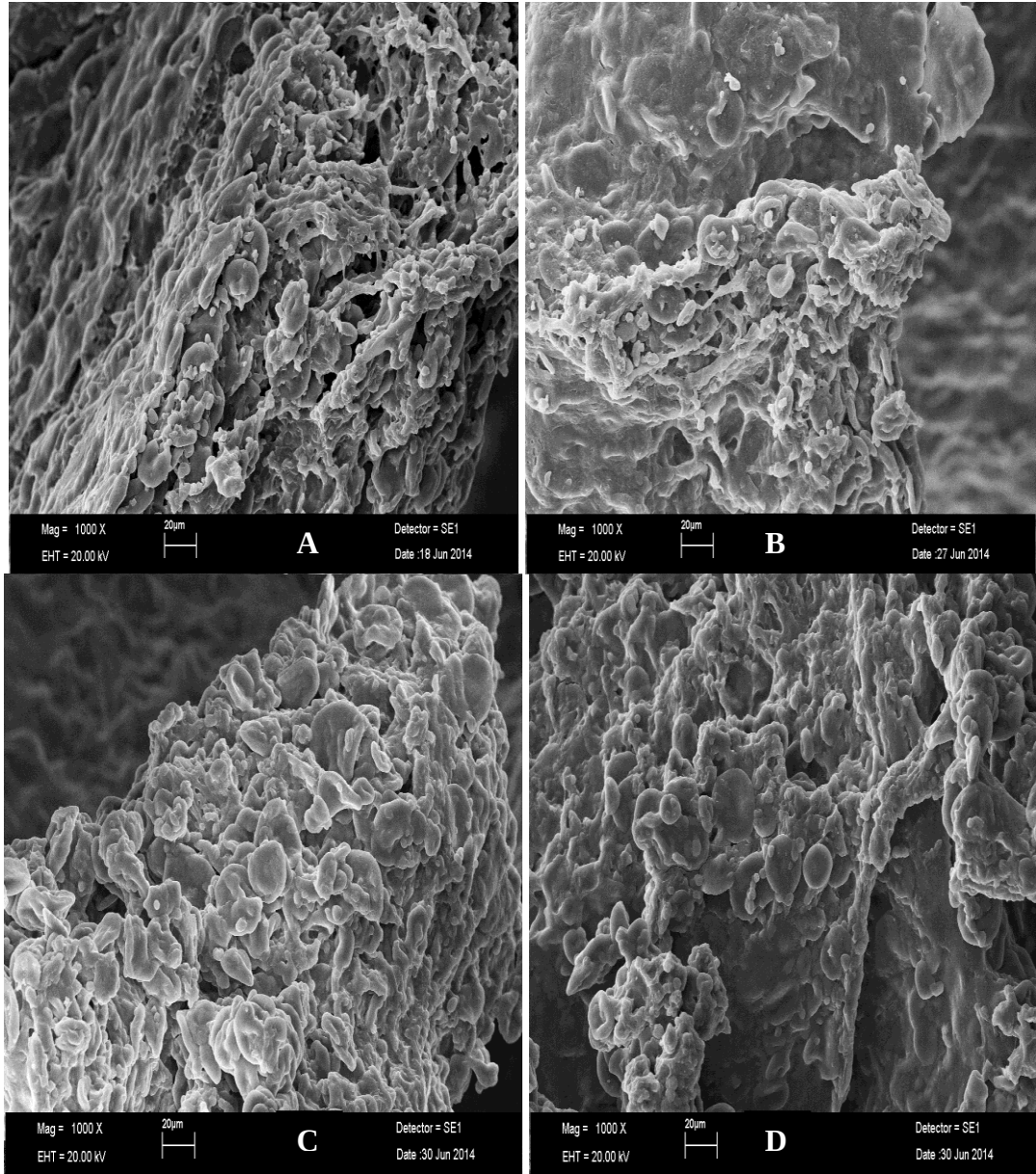
NE'e ait ilk günlük SEM görüntülerinde mikroyapının daha düzgün ve sıkı, olduğu görülmektedir. Protein matriks yapı içerisine yerleşmiş nişasta granülleri ve bu granüllerin düzgün yuvarlak yapılarını muhafaza ettikleri belirgin olarak görülmektedir. Yüzey yapıları düzgün nişasta granülleri sayılabilecek kadar net görülmekte, protein yapı içerisinde genel olarak homojen ve girift olarak bulunmaktadır. 3.gün yapının düzgün formunu yitirdiği, agregat formunda yığınlara dönüştüğü görülmektedir. Nişasta molekülleri protein matriksi içerisinde net olarak görülememektedir. Granüllerin çoğu

düzgün şeklini yitirmiş ve ebatları farklılaşmış durumdadır. Protein matriksi de sıkı ağısı yapısını yitirmiş, kırık ve dağılmış forma dönüşmüştür. 5. ve 8. güne ait görüntülerde de benzer durum olup, bu durum ilerlemiştir. Özellikle 8. gün yapıda nişasta granüllerinin içi boşalmış, dış yüzey gerginliğini kaybetmiş, protein matriksi ile kaynaşmış amorf yapıları belirgin olarak görülmektedir. Yapıda birleşme, topaklaşma oluşmuş ve kesikli yığınlar meydana gelmiştir (Şekil 3.24).

SPE'nin raf ömrü süresince değişimi incelendiğinde genel olarak diğer ekmeklerde olduğu gibi 3.günden sonra nişasta granülleri arasında bir araya gelme ve yığınlara dönüşme eğilimi gözlenmektedir. Aynı durum 5. ve 8. Gün görüntülerinde de devam etmektedir. Ekmek tekstürünün temelini oluşturan gluten matriks yapısı özellikle 8.gün görüntülerinde ağısı yapısını yitirmiş ve yapı topaklaşmış forma dönüşmüş durumdadır.

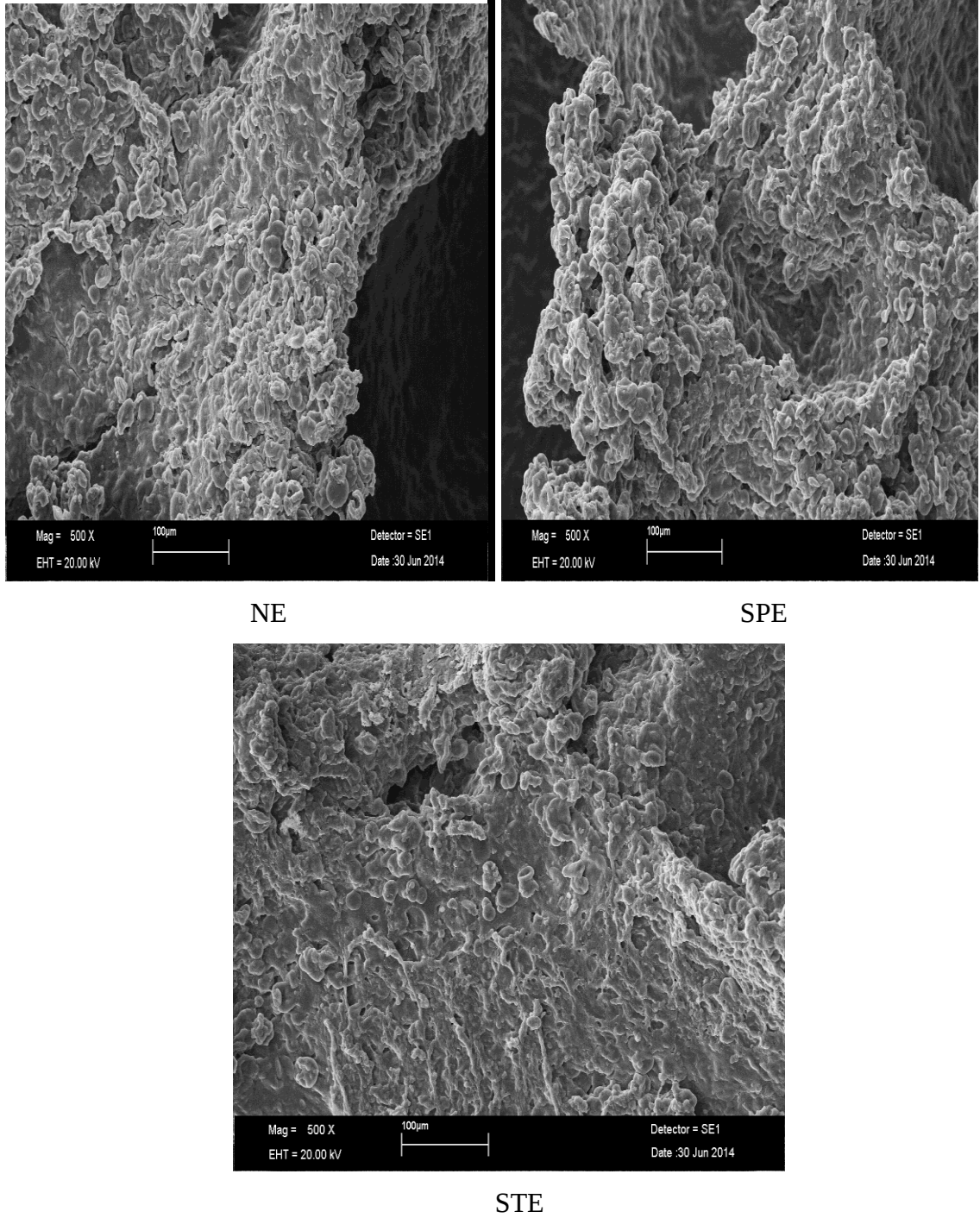


Şekil 3.25. SPE' ye ait 0 (A), 3 (B), 5 (C) ve 8.(D) günlere ait SEM görüntüleri (1000X)



Şekil 3.26. STE'ye ait 0 (A), 3(B), 5(C) ve 8(D). günlere ait SEM görüntüleri (1000X)

STE'e ait ilk gün görüntülerinde yapı diğer ekmeklerden farklı olarak daha az sıkı olmakla birlikte proteinin ağ şeklinde bağ kurmuş yapısı ve aralardaki nişasta granülleri belirgin olarak görülmektedir. 8. gün görüntüsünde ise kümeleşmeler olmakla birlikte protein matriksinin yer yer yapısını korumakta olduğu ve aralardaki nişasta granüllerinin de şekillerini muhafaza ettikleri görülmektedir (Şekil.3.27).



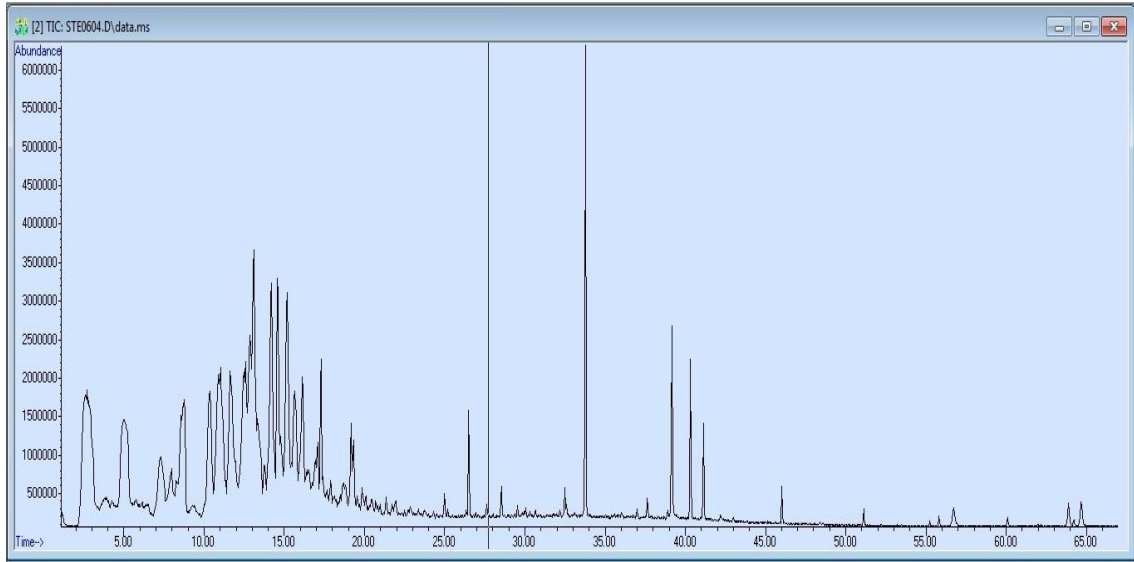
Şekil 3.27. Ekmeklerin 8.güne ait SEM görüntüleri (500X)

3.7. Raf ömrü süresince ekmek aromatik profilindeki değişim

Ekmekte aromatik yapıyı oluşturan uçucu bileşiklerdir. Uçucu bileşiklerin analizi, örnekten izolasyonları, daha sonra da bileşiklerin tanımlanmaları şeklinde yapılmaktadır. Çalışmada da izolasyon amacıyla katı faz mikro ekstraksiyon (SPME)

tekniki kullanılırken, tanımlama için Gaz Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi (GC-MS) kullanılmıştır. Fırınlama sonrası, 0, 3, 5 ve 8. günlerde ekşi hamurlu ekmekler (STE, SPE) ile ekşi hamursuz ekmeğin (NE) uçucu bileşik profillerinin depolama süresince değişimleri tespit edilmiştir.

Uçucu bileşenlerin tanımlanmaları için GS-MS’de 65 dak’lık analiz süresi öngörülmüş (Şekil 3.28) ancak elde edilen sonuçlara bakıldığında her üç ekmek için de uçucu bileşiklerin büyük çoğunluğu ilk 30 dak’da tespit edilmiştir.



Şekil 3.28. STE’ye ait 0.gün GC-MS kromatogramı

Kromatogramda da görüleceği gibi ilerleyen dakikalarda algılanan maddeler vardır ve pik olarak görülmektedir. Ancak bunların çoğu siloksan türevi maddelerdir ki bu da fiberin ana maddesidir. Bu konuda yapılmış daha önceki çalışmalar da [262-265] göz önünde bulundurularak ilk 30 dak’lık süreçte gelen bileşikler ve değişimleri değerlendirmeye alınmıştır. Her ekmek örneğinin uçucu bileşen içeriği öncelikli olarak günlere (0, 3, 5 ve 8.) göre incelenmiş ve değişim profili tespit edilmiştir (Tablo 3.34, Tablo 3.35, Tablo 3.36)

Tablo 3.34. NE'deki uçucu bileşiklerin günlere göre değişimi (PAx10⁴)

RT (dak)	Uçucu bileşik	0.gün		3.gün		5.gün		8.gün	
		%	Pik alanı	%	Pik alanı	%	Pik alanı	%	Pik alanı
2.72	Etanol	62.70	130.199	25.56	44.516	49.35	82.847	28.66	56.257
3.26	Asetik asit	2.26	4.691	2.45	4.268	-	-	-	-
3.32	1-Propanol,2-metil	5.10	10.589	3.65	6.359	-	-	-	-
3.32	<i>*Triklorometan</i>	-	-	-	-	20.29	34.067	-	-
3.33	<i>2-pentanon</i>	-	-	-	-	-	-	16.49	32.366
3.48	<i>1 amino-2 propanol</i>	-	-	15.53	27.038	-	-	-	-
3.61	Bütan (n-bütan)	3.99	8.288	-	-	-	-	-	-
3.74	3 metil bütanal	3.52	7.305	4.06	7.064	-	-	-	-
3.82	<i>Triklorobenzen</i>	-	-	-	-	-	-	0.15	298
4.05	<i>3 hidroksi bütanon</i>	-	-	-	-	2.32	3.887	44.60	87.523
4.38	Isoamil alkol (3 metil 1 bütanol)	18.07	37.532	38.40	66.881	18.33	30.770	4.26	8.361
5.08	<i>Bütanal,3-hidroksi</i>	-	-	-	-	-	-	0.12	229
5.12	<i>Formik asit,(1-metiletil ester)</i>	-	-	-	-	-	-	0.37	733
5.54	Heksanal	1.09	2.256	3.09	5.378	1.22	2.055	-	-
5.67	2-Pentanone, 5-methoxy	0.29	603	-	-	-	-	0.32	618
5.79	<i>3,3,-Dietoksi-1-propanol</i>	-	-	-	-	-	-	0.23	458
6.14	<i>Pirazin, metil-</i>	-	-	-	-	-	-	1.05	2.062
6.27	2-furan karboksi aldehit/furfural	0.14	290	2.66	4.631	1.79	3.012	0.34	664
6.75	<i>2-furan metanol</i>	-	-	0.53	918	0.78	1.302	1.18	2.313
7.19	1-Heksanol	0.96	1.988	1.90	3.308	1.82	3.053	-	-
7.27	<i>1-Pentanol, 4-metil</i>	-	-	0.71	1.238	1.21	2.035	1.31	2.565
7.91	3-Butenamid	0.04	89	-	-	-	-	-	-
8.20	<i>Ethanamin, 2-propoksi-</i>	-	-	-	-	0.42	712	-	-
8.21	1-Tetra dekanol	0.10	201	-	-	-	-	-	-
8.38	Propanamid,2-metil	0.03	67	-	-	-	-	-	-
8.66	<i>1,4-Heksadien, 2,5-dimetil</i>	-	-	-	-	-	-	0.16	321
8.72	<i>2-Isopropilfuran</i>	-	-	-	-	-	-	0.12	229
8.85	<i>Pirimidin, 4,6-dimetil-</i>	-	-	-	-	-	-	0.02	46
9.43	α -pinen	0.23	469	0.42	726	0.58	977	-	-
9.45	<i>β-ocimen</i>	-	-	-	-	-	-	0.22	435
10.41	Benzaldehit	0.39	804	0.38	662	0.36	611	0.07	137
10.66	Dimetil amin	0.06	134	-	-	-	-	-	-
10.76	<i>Tridekanol</i>	0.00	0	-	-	0.22	366	-	-
11.00	İmidazaol	0.15	313	-	-	-	-	-	-
11.07	<i>1,3,6-oktatrien</i>	-	-	-	-	0.34	570	-	-
11.39	<i>(trans)-2-nonadecen</i>	-	-	-	-	-	-	0.04	69
11.61	2-pentil furan	0.16	335	-	-	-	-	-	-
12.43	Dikloro benzen	0.06	134	-	-	-	-	-	-
13.09	<i>3 metil 1 hekzen</i>	0.00	0	-	-	0.35	590	-	-
13.09	1-Heksanol, 2-etil	0.26	536	0.23	405	-	-	-	-
16.16	Heptadekanal	0.06	134	-	-	-	-	-	-
16.39	Dodekanoik asit	0.04	89	-	-	-	-	-	-
16.41	<i>Dekanal</i>	-	-	0.44	768	0.18	305	-	-
16.87	Benzen etanol	0.15	313	-	-	0.42	712	0.29	573

**İlk gün (0.)'den sonra raf ömrü süresince tespit edilen bileşikler italik olarak belirtilmiştir.*

NE: Normal ekmek

RT: Alıkonma zamanı

PA:Pik alanı

Tablo 3.35. SPE'deki uçucu bileşiklerin günlere göre değişimi (PA x 10⁴)

RT (dak)	Uçucu bileşik	0.gün		3.gün		5.gün		8.gün	
		Pik		Pik		Pik		Pik	
		%	Alanı	%	Alanı	%	Alanı	%	Alanı
2.64	Etanol	51.11	151.814	46.13	112.442	46.66	97.736	42.24	77.117
3.20	Asetik asit	1.65	4.901	-	-	-	-	-	-
3.25	<i>Triclorometan</i>	-	-	-	-	21.42	44.856	17.66	32.234
3.26	1-pentanol,2-3 dimetil	2.88	8.555	3.13	7.630	-	-	-	-
3.27	1-propanol, 1-metil	0.98	2.911	-	-	-	-	-	-
3.57	Bütanal,3-metil	13.59	40.367	12.60	30.724	0.40	846	-	-
3.97	<i>2-bütanon, 3-hidroksi</i>	-	-	-	-	1.27	2.652	3.73	6.811
4.38	İsoamil alkol (1-Bütanol, 3-metil)	21	62.377	26.59	64.816	22.19	46.479	25.30	46.188
4.97	Propanoik asit	0.25	743	0.30	720	0.28	594	-	-
5.13	<i>bütanoik asit</i>	-	-	-	-	-	-	0.56	1.014
5.15	<i>Butanal, 3-hidroksi</i>	-	-	-	-	-	-	0.71	1.304
5.52	n-hekzanal	1.87	5.555	2.00	4.866	1.57	3.292	2.02	3.685
6.07	indol,1-metil, 2-fenil	0.07	208	0.25	605	0.10	206	0.31	559
6.34	furankarboksi aldehit	1.9	5.644	1.94	4.722	1.90	3.978	2.27	4.141
6.79	<i>2-Furanmethanol</i>	-	-	-	-	-	-	0.92	1.677
7.18	formik asit, (hexyl ester)	0.41	1.218	1.23	2.995	0.43	892	-	-
7.21	4-pentanal	0.3	891	-	-	-	-	-	-
7.22	1-hekzanol	1.08	3.208	1.28	3.110	1.45	3.041	1.08	1.967
7.28	<i>1 pentanol, 4-metil</i>	-	-	0.60	1.469	-	-	0.69	1.263
7.32	1- bütanol	0.34	1.010	-	-	-	-	-	-
7.84	<i>1-bütanol, 2-amino</i>	-	-	0.07	173	0.00	-	-	-
8.01	Heptanal	0.15	446	0.08	202	0.04	91	-	-
8.02	<i>Piperazine, 2-metil</i>	-	-	-	-	-	-	0.03	62
8.12	<i>1-Deckanol, 2-metil</i>	-	-	-	-	-	-	0.07	124
8.14	<i>2-Tridecen, 1,2-dikloro-1,1-difloro-</i>	-	-	-	-	-	-	0.03	62
8.15	Gamma-Amino-Butirik asit	0.17	505	0.20	490	-	-	-	-
8.16	<i>Pentafloro propiyonik asit</i>	-	-	-	-	0.05	114	-	-
8.18	Fenol, 4-(2-aminopropil)	0.05	149	-	-	-	-	-	-
8.19	<i>Hekzanal, 5-metil</i>	-	-	-	-	0.03	69	-	-
8.27	Heptaldehit (heptan)	0.03	89	-	-	-	-	-	-
8.32	2-Propen-1-amin	0.05	149	0.26	633	-	-	-	-
8.57	<i>Furan, 2-ethyl-5-methyl-</i>	-	-	0.14	346	-	-	0.17	311
8.65	<i>2-Isopropylfuran</i>	-	-	-	-	-	-	0.19	352
8.68	<i>1,4-Hexadiene, 2,5-dimethyl</i>	-	-	-	-	0.10	206	0.14	248
9.36	α -pinen	0.23	683	0.17	403	0.20	412	0.15	269
9.47	limonen	0.06	178	-	-	-	-	-	-
9.54	β -ocimen	0.04	119	-	-	-	-	0.17	311

Tablo 3.35. SPE'deki uçucu bileşiklerin günlere göre değişimi (PA x 10⁴) devamı

10.15	<i>2 heptanal</i>	-	-	-	-	-	-	0.03	62
10.20	<i>dodekan</i>	-	-	0.02	58	-	-	-	-
10.35	Benzaldehit	0.34	1.010	0.40	979	0.41	869	0.36	662
10.73	<i>Siklobutan, 1-butil-2-etil</i>	-	-	-	-	0.04	91	0.08	145
10.77	<i>1-Pentadecen</i>	-	-	-	-	-	-	0.03	62
10.95	Hekzanoik asit	0.46	1.366	0.53	1.296	0.42	869	0.17	311
11.02	Beta pinen	0.08	238	0.05	115	0.11	229	-	-
11.07	Tetra dekan	0.12	356	0.14	346	-	-	-	-
11.51	Furan, 2-pentil	0.32	951	0.40	979	0.17	366	0.18	331
12.36	1,2- di kloro benzen	0.06	178	0.06	144	-	-	-	-
13.07	2 etil hekzanol	0.16	475	0.31	749	0.16	343	0.12	228
13.12	<i>1-Tridecen</i>	-	-	-	-	-	-	0.08	145
13.25	Siklododekan	-	-	0.02	58	0.14	297	0.03	62
13.75	Heksadecen	-	-	0.02	58	-	-	-	-
13.76	Benzaldehit, 2-nitro	0.05	149	0.00	-	-	-	-	-
13.78	<i>3-Kloropropionik asit</i>	-	-	0.05	115	0.04	91	0.03	62
14.37	<i>1-Dodecen</i>	-	-	0.07	173	0.04	91	0.06	104
14.93	<i>Heptafluorobutanoik asit</i>	-	-	0.07	173	-	-	-	-
15.53	<i>2-nonadecen(trans)</i>	-	-	0.04	86	-	-	-	-
15.57	<i>Tridekanol</i>	-	-	0.04	86	-	-	-	-
16.15	<i>Nonan, 4-metil</i>	-	-	0.07	173	-	-	-	-
16.39	<i>Karbonik asit</i>	-	-	-	-	-	-	0.11	207
16.40	<i>Sikloheptan</i>	-	-	0.06	144	-	-	-	-
16.43	<i>Trikloro asetik asit</i>	-	-	0.07	173	-	-	-	-
16.85	Benzen etanol	0.09	267	0.25	605	0.16	343	-	-
16.88	<i>Fenil etil alkol</i>	-	-	0.00	0	-	-	0.25	455
19.17	Benzen metanol	0.09	267	0.11	259	0.10	206	-	-
19.56	<i>3-sikloheksen-1-ol</i>	-	-	0.08	202	-	-	-	-
20.72	<i>Pentafluoropropionik asit</i>	-	-	0.05	115	-	-	-	-
20.94	<i>Benzotiazol</i>	-	-	-	-	0.09	194	0.02	41
21.98	<i>Tiyosiyonik asit</i>	-	-	0.06	144	-	-	-	-
24.79	Dodekan	0.02	59	-	-	-	-	-	-
24.80	<i>Naftalin</i>	-	-	0.08	202	-	-	-	-
29.78	2-Piridin propanoik asit	0.04	119	-	-	-	-	-	-

*İlk gün (0.)'den sonra raf ömrü süresince tespit edilen bileşikler italik olarak belirtilmiştir.

SPE: Spontan ekme

RT: Alikonma zamanı

PA:Pik alanı

Tablo 3.36. STE'deki uçucu bileşiklerin günlere göre değişimi (PA x 10⁴) devamı

13.26	1,3-Hexadiene, 3-etil-2-metil	-	-	0.40	984	-	-	-	-
	Pentafluoropropionik asit, heksadecyl ester	-	-	-	-	0.49	1.192	0.02	33
13.28		-	-	-	-	-	-	-	-
13.33	10-metilen-onadekan	1.50	14.263	-	-	-	-	-	-
13.47	Benzen, 1,2-dietil	-	-	-	-	0.72	1.769	-	-
13.49	Undekan, 3,6-dimetil	0.72	6.846	-	-	-	-	-	-
13.76	Hexane, 2,3,5-trimetil	0.90	8.558	-	-	-	-	-	-
13.78	Benzaldehit, 4-metil	-	-	0.15	361	-	-	-	-
13.79	Benzen, 1,4-dietil	-	-	-	-	0.33	808	-	-
14.12	Thiosiyamik asit, fenil ester	-	-	0.03	66	-	-	-	-
14.18	Undekan, 3,5-dimetil	4.30	40.887	-	-	-	-	-	-
14.34	Dekan, 2,3,5,8-tetrametil	0.62	5.895	-	-	-	-	-	-
14.35	9-Octadecen	-	-	0.24	591	-	-	-	-
14.36	Benzen, 1-metil-2-(1-metil etil)	-	-	-	-	0.61	1.500	-	-
14.55	Benzen, 1-etil-2,3-dimetil-	-	-	-	-	0.39	962	-	-
14.58	Undekan, 3,6-dimetil	3.09	29.381	-	-	-	-	-	-
14.77	Nonan, 2-bromo-5-etil	1.30	12.361	-	-	-	-	-	-
14.86	5-Tetradecen	-	-	0.12	295	-	-	-	-
14.88	Benzen, 1-metil-4-(1-metil etil)	-	-	-	-	0.61	1.500	-	-
14.94	3-Octadecen,	-	-	0.20	492	-	-	-	-
15.16	Heptan, 2,4-dimetil	6.10	58.002	-	-	-	-	-	-
15.24	Benzen, 1,2,3,4-tetrametil-	-	-	-	-	0.96	2.346	-	-
15.53	Benzaldehit, 3-metil-, oxim	-	-	0.19	459	-	-	-	-
15.62	1-Decanol, 2-etil-	-	-	-	-	2.21	5.423	-	-
15.93	Oksalik asit, allil pentadesil ester	-	-	-	-	0.36	885	-	-
16.13	Heksan, 3,3-dimetil-	2.79	26.529	-	-	-	-	-	-
	Heptaflorobutirik asit, n-tetradesil ester	-	-	0.11	263	-	-	-	-
16.17		-	-	0.24	591	-	-	-	-
16.40	2-Aminopurin	-	-	-	-	-	-	-	-
16.42	2-Butenal, 2-etil-	-	-	-	-	1.91	4.692	-	-
16.42	Silan, triklorodokosil	0.64	6.085	-	-	-	-	-	-
16.48	Heptan, 2,4-dimetil	0.12	1.141	-	-	-	-	-	-
16.54	1-Octanol, 2-butyl-	0.52	4.944	-	-	-	-	-	-
16.86	Benzen etanol	0.18	1.712	0.44	1.083	-	-	-	-
16.94	Undekan	1.10	10.459	-	-	-	-	-	-
17.07	Decane, 2,2,3-trimethyl	0.90	8.558	-	-	-	-	-	-
17.17	Oxalic acid, isobutyl hexadecyl ester	-	-	-	-	0.28	692	-	-
17.25	Benzothiazole	-	-	-	-	-	-	21.05	40.594
17.28	Undecane, 3,6-dimethyl-;	1.00	9.509	-	-	-	-	-	-
17.51	1-Pentadecene	-	-	0.05	131	-	-	-	-
17.52	4-Dodecene,	-	-	-	-	0.38	923	0.03	65
17.67	Propanoic acid, nonyl ester;	0.46	4.374	-	-	-	-	-	-
17.86	Pyrrolidine	-	-	-	-	0.33	808	-	-
17.89	Tridecane, 4-methyl-	0.55	5.230	-	-	-	-	-	-
18.06	4-Aminopyrazolo(3,4-d)pyrimidine	-	-	0.01	33	-	-	-	-
	2- Chloropropionic acid, octadecyl ester	-	-	0.01	33	-	-	-	-
18.11		-	-	-	-	-	-	-	-
18.25	Nonane	0.15	1.426	-	-	-	-	-	-
18.35	1-Dodecanol, 2-methyl	-	-	-	-	0.27	654	-	-
18.49	Hydroxylamine, O-decyl-	0.26	2.472	-	-	-	-	-	-
18.69	Nonadecane	0.57	5.420	-	-	-	-	-	-
18.83	2-Piperidinone, N-[4-bromo-n-butyl	-	-	-	-	0.09	231	-	-
18.94	Cyclododecane	-	-	0.05	131	-	-	-	-
18.95	1-Pentadecene	-	-	-	-	0.22	538	-	-
19.16	Decane, 4-methyl	0.95	9.033	-	-	-	-	-	-
19.19	1-Hexadecene	-	-	-	-	0.44	1.077	-	-

Tablo 3.36. STE'deki uçucu bileşiklerin günlere göre değişimi (PA x 10⁴) devamı

19.31	Tridekan, 3-metil-	0.91	8.653	-	-	-	-	-	-
19.54	Undekan	0.29	2.757	-	-	-	-	-	-
19.56	<i>Siklododekanol, 1-ethenil</i>	-	-	0.05	131	-	-	-	-
19.56	<i>Octenal</i>	-	-	-	-	0.30	731	-	-
19.69	Nonan	0.13	1.236	-	-	-	-	-	-
18.82	<i>Tridekanol</i>	-	-	-	-	0.09	231	-	-
19.84	Dekan, 2,8,8-trimetil	0.46	4.374	-	-	-	-	-	-
20.06	Naftalin	0.26	2.472	-	-	-	-	-	-
20.23	1-Octanol, 2-butil	0.11	1.046	-	-	-	-	-	-
20.33	3-Heptadecen	0.09	856	-	-	-	-	-	-
20.59	<i>Benzen metanol</i>	-	-	0.01	33	-	-	-	-
20.70	Dodekan	0.19	1.807	-	-	-	-	-	-
20.83	2-Heksil-1-octanol	0.16	1.521	-	-	-	-	-	-
21.23	Oksalik asit, isobutyl octadecyl ester	0.10	951	-	-	-	-	-	-
21.34	Bisiklo[3.1.1]hept-3-en-2-one,,6-trimetil-	0.25	2.377	-	-	-	-	-	-
21.53	Oksalik asit, 3,5-diflorofenil undesil ester	0.08	761	-	-	-	-	-	-
21.73	Oksalik asit, isobutyl heptadesil ester	0.21	1.997	-	-	-	-	-	-
22.49	Dodekan, 1,1'-oksibis-	0.09	856	-	-	-	-	-	-
22.73	<i>2-Butenal, 2-etil-</i>	-	-	0.01	33	-	-	-	-
22.84	2-Propanol, 1-fenoksi	0.12	1.141	-	-	-	-	-	-
22.91	Ethanol, 2-(hexadesiloksi)-	0.08	761	-	-	-	-	-	-
23.05	Ethanol, 2-(octadesiloksi)-	0.02	190	-	-	-	-	-	-
23.51	Heksadekan, 2,6,10,14-tetrametil	0.09	856	-	-	-	-	-	-
23.71	Dodekan, 2,6,10-trimetil-	0.10	951	-	-	-	-	-	-
23.79	Oksalik asit, isobutyl heksadesil ester	0.08	761	-	-	-	-	-	-
23.99	Octadekan, 1-kloro-	0.06	571	-	-	-	-	-	-
24.42	7-Tetradecen	0.01	95	-	-	-	-	-	-
24.51	1-Tridecen	0.06	571	-	-	-	-	-	-
24.71	Trifloro asetik asit, n-octadesil ester	0.06	571	-	-	-	-	-	-
24.79	<i>Benzaldehit, 4-metoksi</i>	-	-	-	-	-	-	0.08	163
24.80	Heksadekan, 1-(etheniloksi)-	0.02	190	-	-	-	-	-	-
24.99	Benzoik asit- 4-(N'-Acridin-9-yl-hidrazin)-	0.24	2.282	-	-	-	-	-	-
25.61	Octadekan, 1-kloro	0.01	95	-	-	-	-	-	-
25.70	1-Octadecen	0.04	380	-	-	-	-	-	-
25.95	Oksiran, [(dodecyloxy)metil]	0.01	95	-	-	-	-	-	-
26.11	Sulfurous asit, butil octadecil ester	0.05	475	-	-	-	-	-	-
26.21	1-Heptadecen	0.03	285	-	-	-	-	-	-
26.34	E-15-Heptadecenal	0.07	666	-	-	-	-	-	-
26.79	Sikloheksadekan, 1,2-dietil-2-Furan nonanoik asit,3-methyl-5-propil-	0.05	475	-	-	-	-	-	-
26.94		0.06	571	-	-	-	-	-	-
27.09	Siclo undekan, (1-metil etil)	0.03	285	-	-	-	-	-	-
27.18	Trifloro asetik asit, n-octadecil ester	0.05	475	0.04	98	-	-	-	-
27.61	Butanoik asit, butil ester	0.37	3.518	-	-	-	-	-	-
28.72	Heksadekan, 1-bromo	0.05	475	-	-	-	-	-	-

*İlk gün (0.)'den sonra raf ömrü süresince tespit edilen bileşikler italik olarak belirtilmiştir.

STE: Starter LAB ilaveli ekmek

RT: Alikonma zamanı

PA:Pik alanı

Tüm örneklerinin ilk gün (0.) yapılan analizleri sonucunda ekmeklerin kendine özgü uçucu bileşikleri tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden çoğu daha önceki çalışmalarda da tespit edilmiş asetik asit, etanol, isoamil alkol, propanol, metil bütanal gibi alkol, asit, ester ve karbonil grubu bileşiklerdir.

Tablo 3.34, Tablo 3.35 ve Tablo 3.36’de sırasıyla NE, SPE ve STE’ye ait günlere göre uçucu bileşen profilleri verilmiştir. İlk günkü analizden sonra ortaya çıkan bileşikler *italik* olarak belirtilmiştir.

Ekmek örneklerinin ilk gün yapılan analizler sonucu elde edilen uçucu bileşik profilleri de karşılaştırılmış ve Tablo 3.37’de verilmiştir. İlk güne ait bileşen profili, gerek uçucu madde içeriği gerekse sayısı açısından her 3 ekmek için büyük farklılık göstermiştir. STE için 95, SPE için 35, NE için 23 bileşik tespit edilmiştir.

Tablo 3.37. Ekmek örneklerinin ilk güne ait uçucu bileşen profilleri (PA x 10⁴)

RT (dak)				STE		SPE		NE	
STE	SPE	NE	Uçucu bileşik	%	Pik alanı	%	Pik alanı	%	Pik alanı
2.58	2.64	2.72	Etanol	7.15	67.986	51.11	151.814	62.80	130.199
3.30	3.20	3.26	Asetik asit	0.80	7.607	1.65	4.901	2.26	4.691
-	3.26	-	1-pentanol,2-3 dimetil	-	-	2.88	8.555	-	-
-	3.27	3.32	1-propanol, 1-metil	-	-	0.98	2.911	5.10	10.589
3.41	-	-	Bütanoik asit, 3-hidroksi	0.20	1.902	-	-	-	-
-	-	3.61	Bütan (n-bütan)	-	-	-	-	3.99	8.288
3.65	3.57	3.74	Butanal, 3-metil	2.10	19.968	13.59	40.367	3.52	7.305
3.84	-	-	Pentanal	0.42	3.994	-	-	-	-
4.26	4.38	4.38	İsoamil alkol (1-Bütanol, 3-metil)	8.65	82.249	21	62.377	18.07	37.532
4.99	-	-	Metil benzen	4.80	45.641	-	-	-	-
5.04	-	-	1-Pentanol	0.51	4.849	-	-	-	-
5.06	4.97	-	Propanoik asit, (3-hidroksi-)	0.24	2.282	0.25	743	-	-
5.70	5.52	5.54	Heksanal	0.68	6.466	1.87	5.555	1.09	2.256
-	-	5.67	2-Pentanon, 5-metoksi	-	-	-	-	0.29	603
-	6.07	-	İndol,1-metil, 2-fenil	-	-	0.07	208	-	-
6.14	6.34	6.27	Furfural (2-Furancarboxaldehyde)	0.82	7.797	1.9	5.644	0.14	290
-	7.18	-	Formik asit, (hekzil ester)	-	-	0.41	1.218	-	-
-	7.21	-	4-pentanal	-	-	0.3	891	-	-
7.22	7.22	7.19	1-Heksanol	2.10	19.968	1.08	3.208	0.96	1.988
7.29	-	-	Benzene, (1,3-dimetil)	2.60	24.722	-	-	-	-
-	7.32	-	1- bütanol	-	-	0.34	1.010	-	-
-	-	7.91	3-Butenamid	-	-	-	-	0.04	89
7.99	-	-	Pentanoik asit	1.51	14.358	-	-	-	-
8.19	8.01	-	Heptanal	0.20	1.902	0.15	446	-	-
-	8.15	-	Gamma-Amino-Butirik Asid	-	-	0.17	505	-	-
-	8.18	-	Fenol, 4-(2-aminopropil)	-	-	0.05	149	-	-
-	-	8.21	1-Tetra dekanol	-	-	-	-	0.10	201

Tablo 3.37. Ekmek örneklerinin ilk güne ait uçucu bileşen profilleri (PA x 10⁴) devamı

8.26	-	-	Etanol, 2-butoksi	0.68	6.466	-	-	-	-
-	8.27	-	Heptaldehit (heptan)	-	-	0.03	89	-	-
-	8.32	-	2-Propen-1-amin	-	-	0.05	149	-	-
-	-	8.38	Propanamid,2-metil	-	-	-	-	0.03	67
8.57	-	-	Dihidro-2(3H)-furanon	3.64	34.611	-	-	-	-
9.27	-	-	2,2-dimetil-4-etil heksan	0.28	2.662	-	-	-	-
9.31	-	-	Propanoik asit, 2-metil-	0.05	475	-	-	-	-
9.35	-	-	Siklopentanol, 3-metil	0.06	571	-	-	-	-
9.40	-	-	2-Tridekanon	0.18	1.712	-	-	-	-
9.42	9.36	9.43	α -Pinen	0.06	571	0.23	683	0.23	469
-	9.47	-	limonen	-	-	0.06	178	-	-
-	9.54	-	β -ocimen	-	-	0.04	119	-	-
10.34	-	-	Undekan, 3-metil-	3.16	30.047	-	-	-	-
10.35	10.35	10.41	Benzaldehit	0.90	8.558	0.34	1.010	0.39	804
-	-	10.66	Dimetil amin	-	-	-	-	0.06	134
10.88	-	-	Heptane	2.74	26.053	-	-	-	-
11.01	-	-	Oktan, 2,4,6-trimetil	3.19	30.332	-	-	-	-
11.11	10.95	-	Heksanoik asit	0.61	5.800	0.46	1.366	-	-
-	-	11.00	İmidazaol	-	-	-	-	0.15	313
-	11.02	-	Beta pinen	-	-	0.08	238	-	-
-	11.07	-	Tetra dekan	-	-	0.12	356	-	-
11.54	11.51	11.61	Furan, 2-pentil-	0.60	5.705	0.32	951	0.16	335
11.64	-	-	Nonan, 2,6-dimetil-	4.74	45.070	-	-	-	-
12.42	12.36	12.43	Benzen, 1,3-dikloro	0.13	1.236	0.06	178	0.06	134
12.49	-	-	Octan, 2,6-dimetil-	2.79	26.529	-	-	-	-
12.58	-	-	Dekan, 5,6-diproil	1.69	16.069	-	-	-	-
12.85	-	-	Heptan, 2,2-dimetil	3.48	33.090	-	-	-	-
13.09	13.07	13.09	1-Hksanol, 2-etil-	4.43	42.123	0.16	475	0.26	536
13.33	-	-	10-metil nonadekan	1.50	14.263	-	-	-	-
13.49	-	-	Undekan, 3,6-dimetil	0.72	6.846	-	-	-	-
13.76	-	-	Heksan, 2,3,5-trimetil	0.90	8.558	-	-	-	-
-	13.76	-	Benzaldehit, 2-nitro	-	-	0.05	149	-	-
14.18	-	-	Undekan, 3,5-dimetil	4.30	40.887	-	-	-	-
14.34	-	-	Decane, 2,3,5,8-tetramethyl	0.62	5.895	-	-	-	-
14.58	-	-	Undecane, 3,6-dimethyl	3.09	29.381	-	-	-	-
14.77	-	-	Nonane, 2-bromo-5-ethyl-	1.30	12.361	-	-	-	-
15.16	-	-	Heptane, 2,4-dimethyl	6.10	58.002	-	-	-	-
16.13	-	-	Hexane, 3,3-dimethyl-	2.79	26.529	-	-	-	-
-	-	16.16	Heptadekanal	-	-	-	-	0.06	134
-	-	16.39	Dodekanoik asit	-	-	-	-	0.04	89
16.42	-	-	Silane, trichlorodocosyl	0.64	6.085	-	-	-	-
16.48	-	-	Heptane, 2,4-dimethyl	0.12	1.141	-	-	-	-
16.54	-	-	1-Octanol, 2-butyl-	0.52	4.944	-	-	-	-
16.86	16.85	16.87	Benzeneeethanol	0.18	1.712	0.09	267	0.15	313
16.94	-	-	Undecane	1.10	10.459	-	-	-	-
17.07	-	-	Decane, 2,2,3-trimethyl	0.90	8.558	-	-	-	-
17.28	-	-	Undekan, 3,6-dimethyl-	1.00	9.509	-	-	-	-
17.67	-	-	Propanoik asit, nonil ester;	0.46	4.374	-	-	-	-
17.89	-	-	Tridekane, 4-metil-	0.55	5.230	-	-	-	-
18.25	-	-	Nonan isomeri (=Oktan, 4-metil-)	0.15	1.426	-	-	-	-
18.49	-	-	Hydroksilamin, O-decyl-	0.26	2.472	-	-	-	-
18.69	-	-	Nonadekan	0.57	5.420	-	-	-	-

Tablo 3.37. Ekmek örneklerinin ilk güne ait uçucu bileşen profilleri (PA x 10⁴) devamı

19.16	-	-	Dekan, 4-methyl	0.95	9.033	-	-	-	-
-	19.17	-	Benzen metanol	-	-	0.09	267	-	-
19.31	-	-	Tridekan, 3-metil-	0.91	8.653	-	-	-	-
19.54	-	-	Undekan	0.29	2.757	-	-	-	-
19.69	-	-	Nonan	0.13	1.236	-	-	-	-
19.84	-	-	Dekane, 2,8,8-trimetil-	0.46	4.374	-	-	-	-
20.06	-	-	Naftalin	0.26	2.472	-	-	-	-
20.23	-	-	1-Octanol, 2-butil	0.11	1.046	-	-	-	-
20.33	-	-	3-Heptadecen	0.09	856	-	-	-	-
20.70	24.79	-	Dodekan	0.19	1.807	0.02	59	-	-
20.83	-	-	2-Heksil-1-octanol	0.16	1.521	-	-	-	-
21.23	-	-	Oxalic acid, isobutyl octadecyl ester	0.10	951	-	-	-	-
21.34	-	-	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one,,6-trimethyl-	0.25	2.377	-	-	-	-
21.53	-	-	Oxalic acid, 3,5-difluorophenyl undecyl ester	0.08	761	-	-	-	-
21.73	-	-	Oxalic acid, isobutyl heptadecyl ester	0.21	1.997	-	-	-	-
22.49	-	-	Dodecane, 1,1'-oxybis-	0.09	856	-	-	-	-
22.84	-	-	2-Propanol, 1-penoksi	0.12	1.141	-	-	-	-
22.91	-	-	Etanol, 2-(heksadesiloksi)-	0.08	761	-	-	-	-
23.05	-	-	Etanol, 2-(octadesiloksi)-	0.02	190	-	-	-	-
23.51	-	-	Heksadekan, 2,6,10,14-tetrametil	0.09	856	-	-	-	-
23.71	-	-	Dodekan, 2,6,10-trimetil-	0.10	951	-	-	-	-
23.79	-	-	Oksalik asit, isobutil heksadesil ester	0.08	761	-	-	-	-
23.99	-	-	Octadekan, 1-kloro-	0.06	571	-	-	-	-
24.42	-	-	7-Tetradecen	0.01	95	-	-	-	-
24.51	-	-	1-Tridecene	0.06	571	-	-	-	-
24.71	-	-	Trifluoroasetik asit, n-octadesil ester	0.06	571	-	-	-	-
24.80	-	-	Heksadekan, 1-(etheniloksi)-	0.02	190	-	-	-	-
24.99	-	-	Benzoik asit- 4-(N'-Acridin-9-yl-hydrazino)-	0.24	2.282	-	-	-	-
25.61	-	-	Octadekan, 1-kloro	0.01	95	-	-	-	-
25.70	-	-	1-Octadecen	0.04	380	-	-	-	-
25.95	-	-	Oxiran, [(dodesiloksi)metil]-	0.01	95	-	-	-	-
26.11	-	-	Sulfurous asit, butil octadesil ester	0.05	475	-	-	-	-
26.21	-	-	1-Heptadecene	0.03	285	-	-	-	-
26.34	-	-	E-15-Heptadecenal	0.07	666	-	-	-	-
26.79	-	-	Sikloheksadekan, 1,2-dietil-	0.05	475	-	-	-	-
26.94	-	-	2-Furan nonanoic asit,3-metil-5-propil-	0.06	571	-	-	-	-
27.09	-	-	Siklo undekan, (1-metiletil)	0.03	285	-	-	-	-
27.18	-	-	Trifluoro asetik asit, n-octadesil ester	0.05	475	-	-	-	-
27.61	-	-	Butanoik asit, butil ester	0.37	3.518	-	-	-	-
28.72	-	-	Heksadekan, 1-bromo	0.05	475	-	-	-	-
29.78	-	-	2-Piridin propanoik asit	-	-	0.04	119	-	-
Toplam				100.00	950.852	100.04	297.152	100.00	207.363

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

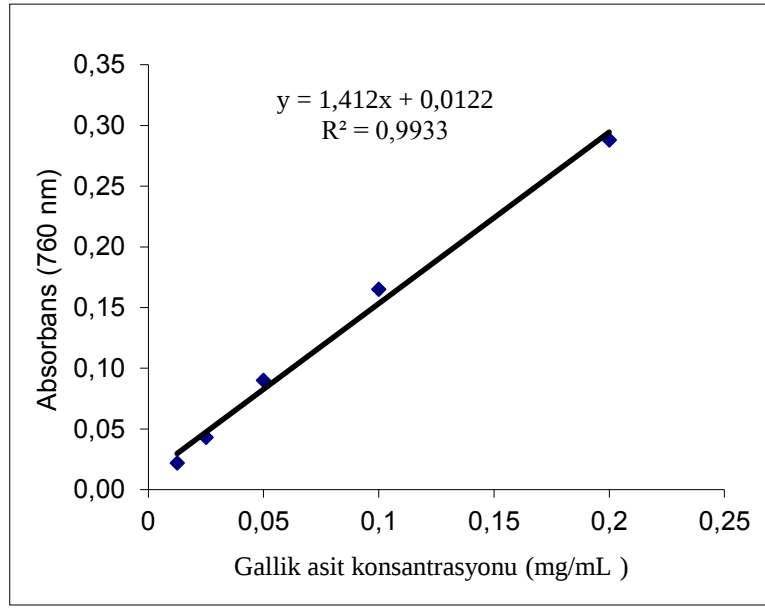
RT: Alıkonma zamanı

PA: Pik alanı

3.8. Ekmek Biyoaktif Nitelikleri

3.8.1. Toplam fenolik madde içeriği

Ekmek örneklerinin toplam fenolik madde içerikleri gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak tespit edilmiştir. Bu amaçla 12.5 µg-200 µg aralığında hazırlanan gallik asit standartları kullanılarak gallik asit standart kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 3.29)



Şekil 3.29. Gallik asit standart kalibrasyon eğrisi

Ekmek örneklerine ait toplam fenolik madde içerikleri Tablo 3.38’de verilmiştir. Toplam fenolik madde içeriği NE’de 811.30 mg/100 g düzeyinde tespit edilirken, SPE’de 2341.23 mg/100 g, STE’de ise 3107.76 mg/100 g olarak bulunmuştur. Ekşi hamur ilave edilerek yapılan ekmeklerin toplam fenolik madde içerikleri NE’e göre önemli düzeyde ($p < 0.05$) yüksek bulunmuştur.

Tablo 3.38. Ekmek örneklerine ait toplam fenolik madde içerikleri

Ekmek	GAE (mg /100 g)
NE	811.30 ^c
SPE	2341.28 ^b
STE	3107.76 ^a

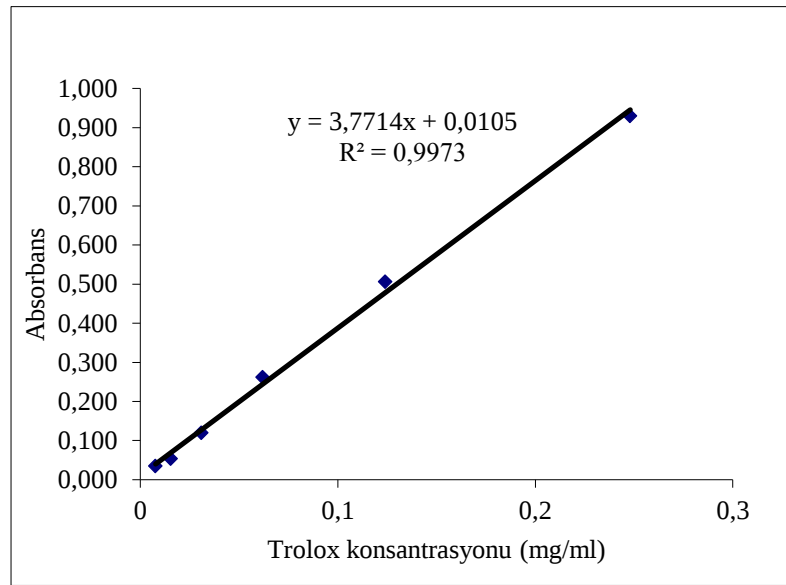
SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

GAE: Gallik asit eşdeğeri

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($P < 0.05$) olduğunu göstermektedir.

3.8.2. Antioksidan aktivite

Ekşi hamur kullanılan ekmeklerin (STE, SPE) ve normal ekmeğin (NE), DPPH radikali üzerindeki % inhibisyon etkisi belirlenmiştir. Bu amaçla 0.0078-0.250 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan standart troloks kalibrasyon eğrisi kullanılmıştır (Şekil 3.30). Elde edilen sonuçlar hem % inhibisyon hem de trolox eşdeğeri üzerinden Tablo 3.39’da verilmiştir.



Şekil 3.30. Standart troloks kalibrasyon eğrisi

Ekmeklerin DPPH radikali üzerindeki % inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında ekşi hamur kullanılan STE (% 19.51) ve SPE (% 11.92)’nin NE (% 6.37)’e göre daha yüksek inhibisyona sahip olduğu belirlenmiştir. Ekmeklerin antioksidan aktivitelerinin troloks eşdeğerleri (µg/mL) karşılaştırıldığında ise en yüksek değere sahip olan ekmek STE’dir. Bunu SPE ve NE takip etmektedir ve ekşi hamur kullanılan ekmekler NE’ye göre daha yüksek aktivite göstermişlerdir (Tablo 3.39).

Tablo 3.39. Ekmeklerin DPPH radikali üzerindeki % inhibisyon değerleri ve troloks eşdeğeri antioksidan aktiviteleri

Ekmek	TE (µg/mL)	İnhibisyon (%)
STE	28.24 ^a	19.51 ^a
SPE	16.04 ^b	11.92 ^b
NE	8.22 ^c	6.37 ^c

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

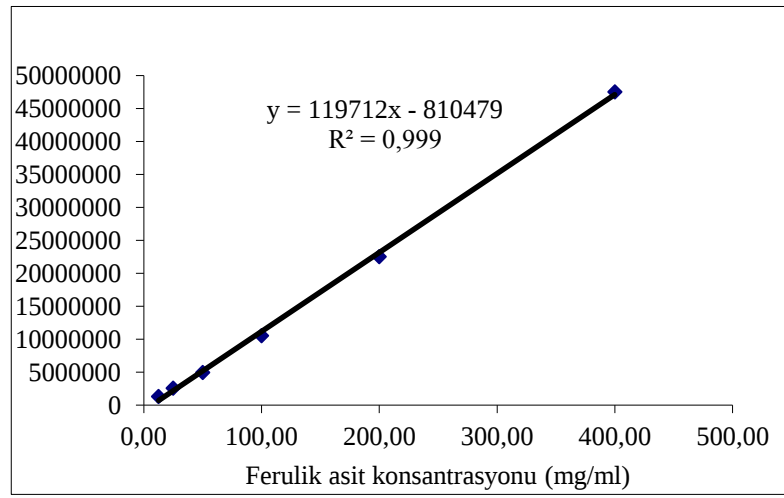
TE: Troloks eşdeğeri

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($P < 0.05$) olduğunu göstermektedir.

TE ($\mu\text{g/mL}$) ve (%) inhibisyon sonuçları paralel olarak tespit edilirken, ekmeklerin antioksidan aktiviteleri arasındaki farklılıklar da istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur (Tablo 3.38).

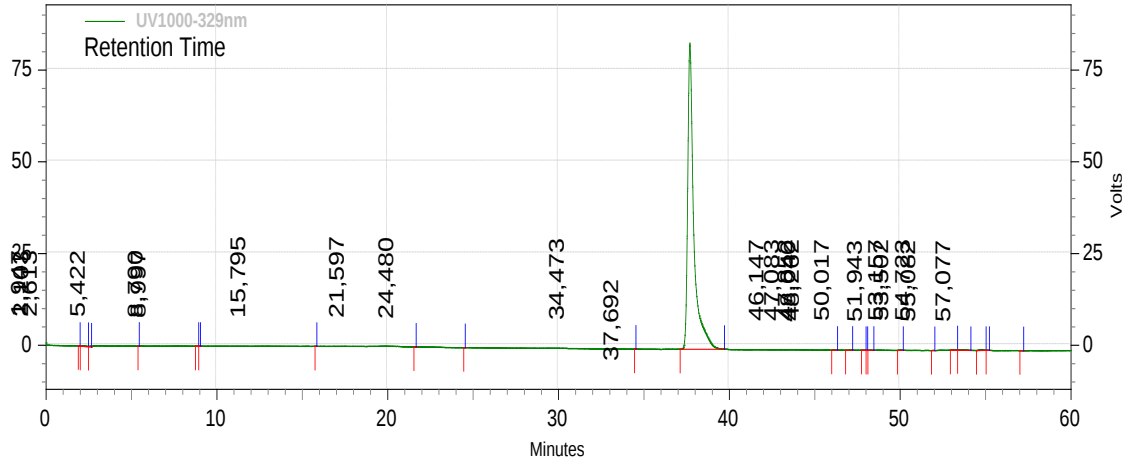
3.8.3. Ferulik asit içeriği

Ferulik asit içeriğinin tespiti için HPLC’de saf ferulik asitin 12.5-400 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanmış standardı gradient fazda verilerek standart kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır (Şekil 3.31).



Şekil 3.31. Ferulik asite ait standart kalibrasyon eğrisi

Verilen konsantrasyon aralığında ferulik asit standardının HPLC kromotogramında 37.6 dak’da geldiği tespit edilmiştir (Şekil 3.32).



Şekil 3.32. 12.5 mg/kg ferulik asit standardına ait kromotogram

Ekmek örneklerinden elde edilen ekstraktlar önce izokratik fazda verilmiş ancak uygulanan ekstraksiyon yöntemiyle ekmeğin yapısından ferulik asit haricinde ekstrakte edilebilir diğer fenolik asitler de geldiğinden piklerde çakışma görülmüş net kromatogram sağlanamamıştır.

Yöntemde belirtilen gradient faz uygulandığında net bir ayırım sağlanmış (Ek-6.), 37.757 dak'da ferulik asit tespit edilmiştir. Ekmek örneklerine ait ferulik asit içerikleri Tablo 3.40'de verilmiştir.

Tablo 3.40. Ekmeklerin ferulik asit içerikleri (mg/kg)

Ekmek	Miktar
NE	67.7 ^a
SPE	39.1 ^b
STE	23.8 ^c

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek
a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($P<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Ferulik asit içeriği NE'de en yüksek seviyede (67.7 mg/kg) tespit edilmiştir. Ekşi hamur kullanılarak hazırlanan SPE (39.1 mg/kg) ve STE (23.8 mg/kg)'de ise daha düşük bulunmuştur. Ekmeklerin ferulik asit içerikleri arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemli ($p<0.05$) bulunmuştur.

3.8.4 Mineral madde içeriği

Ekmek örneklerine ait mineral madde içerikleri Tablo 3.41'de verilmiştir. Ekmeklerin Ca içeriğindeki farklılık istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmamıştır. Ekşi hamur kullanılan ekmekler STE ve SPE ile kontrol ekmeği NE arasında Na, Mg, K elementleri arasında istatistiki farklar bulunmasına rağmen, bunlar belirgin farklılıklar değildir. Ancak Al, Fe, Co, Cu, Cd, Ba ve Pb elementlerinin içerikleri STE'de belirgin olarak yüksek bulunmuş, miktarsal olarak bunu SPE izlemiştir. Bu elementler açısından en düşük değere sahip ekmek NE'dir ve ekmekler arasındaki bu farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo 3.41. Ekmek örneklerine ait mineral madde içerikleri

Ekmek	Na (ppm)	Mg(ppm)	K (ppm)	Ca (ppm)	Al (ppb)	Fe (ppb)
STE	139.70±0.28 ^b	12.27±0.06 ^a	57.69±0.09 ^b	1.15±0.02 ^a	242.88±1.00 ^a	637.89±2.00 ^a
SPE	162.46±0.53 ^a	11.79±0.04 ^b	57.46±0.09 ^b	1.10±0.03 ^a	164.95±0.52 ^b	520.67±0.90 ^b
NE	138.96±0.37 ^b	11.86±0.06 ^b	60.41±0.05 ^a	1.03±0.02 ^a	42.69±0.12 ^c	216.28±0.41 ^c

Ekmek	Co (ppb)	Cu (ppb)	Zn (ppb)	Cd (ppb)	Ba (ppb)	Pb (ppb)
STE	0.462±0.03 ^a	78.73±0.05 ^a	429.12±2.00 ^b	0.404±0.01 ^a	41.27±0.150 ^a	4.72±0.14 ^a
SPE	0.364±0.00 ^a	76.25±0.03 ^b	495.58±0.80 ^a	0.369±0.01 ^b	32.69±0.09 ^b	2.74±0.05 ^b
NE	0.224±0.00 ^b	65.90±0.06 ^c	264.48±5.00 ^c	0.192±0.00 ^c	27.93±0.07 ^c	nd ^c

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.

nd: Belirlenemedi

Ekmeklerde en yüksek bulunan elementler sırasıyla Na, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Al, Cu, Ba, Co ve Cd'dir. Pb ekşi hamur kullanılan STE (4.72 ± 0.14) ve SPE (2.74 ± 0.05)'de tespit edilirken, NE'de algılanabilir düzeyin altında olduğundan tespit edilememiştir.

3.8.5. *In vitro* kül sindirilebilirliği

Ekmek örneklerinin kül sindirilebilirlik sonuçları Tablo 3.42.'de verilmiştir. Ekmeklerin optimizasyon sonucunda önerilen ve ekşi mayadan gelen kepek kullanım miktarları farklı olduğundan dolayı toplam kül miktarları da farklı bulunmuştur. Buna göre NE'ye ek olarak kepek ilave edilmediğinden dolayı kül içeriği 0.7845 bulunurken, SPE'de 0.9633 ve STE'de ise 1.0447 olarak bulunmuştur.

Tablo 3.42. Ekmek örneklerine ait kül sindirilebilirlik sonuçları (%)

Ekmek	Toplam kül (%)	Sindirilebilir kül (%)	KSO (%)
NE	0.7845	0.5305 ^c	67.62 ^c
SPE	0.9233	0.7070 ^b	76.57 ^b
STE	1.0447	0.9559 ^a	91.49 ^a

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

KSO: Kül sindirilebilirlik oranı

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Sindirilebilir kül miktarının tespiti amacıyla yapılan HCl ve pepsin enzimi muamelesi sonrası bulunan kül tayini sonuçları Tablo 3.42’de verilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar her bir ekmek için kendi toplam kül miktarlarına göre oranlanarak yüzdeleri hesaplandığında en düşük (%67.62) kül sindirilebilirlik oranının NE’e ait olduğu belirlenmiştir. Ekşi hamur kullanılan ekmeklerde KSO değerlerinin ise NE’ye göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. SPE’de %76.57 olan değer STE’de ise %91.49 olarak tespit edilmiştir. Ekşi hamur kullanılan SPE ve STE’te başlangıç kül seviyesi daha yüksek olmasına rağmen sindirilebilirlik seviyeleri NE’ye göre daha yüksek bulunmuştur.

3.8.6. *In vitro* protein sindirilebilirliği

Ekmek örneklerinin protein sindirilebilirliğini belirlemek amacıyla öncelikle toplam protein miktarları tespit edilmiştir. *In vitro* sindirim ortamından geçirilen örneklerden sindirilemeyen kısım ayrıldıktan sonra tekrar protein tayini yapılarak sindirilebilir protein miktarı bulunmuştur. Ancak *in vitro* analiz ortamının sağlanmasında enzimler kullanıldığından ve enzimlerden gelebilecek protein miktarı sonuçları yanıltabileceğinden numune ilave edilmeksizin çalışma çözeltileri kullanılarak kontrol protein analizi yapılmış ve 0.043 olarak bulunmuştur. Ekmek örneklerinin sindirilebilir protein miktarından bu değer çıkartıldığında Tablo 3.43’de verilen sindirilebilir protein miktarları tespit edilmiştir. Sindirilebilir protein miktarı toplam protein miktarına oranlandığında ise protein sindirilebilirlik oranı (PSO) hesaplanmıştır.

Tablo 3.43. Ekmek örneklerine ait protein sindirilebilirlik sonuçları

Ekmek	Toplam Protein (%)	Sindirilebilir Protein (%)	PSO (%)
NE	8.77 ^a	5.15 ^c	58.70 ^c
SPE	8.58 ^a	7.70 ^b	89.77 ^b
STE	8.50 ^a	8.35 ^a	98.23 ^a

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

PSO: Protein Sindirilebilirlik Oranı

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p < 0.05$) olduğunu göstermektedir.

Ekmeklerin toplam protein içerikleri arasındaki fark istatistiki açıdan önemli ($p>0.05$) bulunmamıştır. Ancak sindirilebilir protein miktarları arasında önemli ($p<0.05$) düzeyde fark tespit edilmiştir. NE’de 5.15 olan sindirilebilir protein miktarı, SPE’de 7.70, STE’de ise 8.35 olarak bulunmuştur. Ekşi hamur kullanılan SPE ve STE’deki sindirilebilir protein miktarı NE’ye göre oldukça yüksektir. Bu değerler başlangıç protein miktarlarına oranlandığında PSO değerleri arasındaki farklılığın da istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) olduğu belirlenmiştir. NE’de %58.70 düzeyinde olan PSO, SPE’de %89.77 düzeyine artarken, STE’de % 98.23 düzeyine yükselmiştir.

3.8.7. Enzime dirençli nişasta (EDN)

Ekmek örneklerinin EDN miktarları Tablo 3.44’de verilmiştir.

Tablo 3.44. Ekmek örneklerine ait EDN içerikleri

Ekmek	Rutubet (%)	EDN	EDN
		(g/100g örnek)	(g/100 g kuru örnek)
NE	38.11	0.952±0.02 ^c	1.505±0.04 ^c
SPE	38.20	1.038±0.04 ^b	1.678±0.04 ^b
STE	39.68	1.437±0.03 ^a	2.383±0.03 ^a

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

EDN: Enzime dirençli nişasta

a-c: Aynı sütundaki birbirinden farklı harfler, veriler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<0.05$) olduğunu göstermektedir.

Ekmek örneklerine ait EDN içerikleri 100 g yaş örnek ve 100 g kuru örnek üzerinden verilmiştir. Ekmek örneklerinin EDN içerikleri arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Dirençli nişasta içeriği en yüksek olan ekmek STE (2.296) iken bunu sırasıyla SPE (1.668) ve NE (1.405) takip etmiştir.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

Ekşi hamur formül optimizasyonu

Spontan fermentasyon yöntemi günümüz endüstriyel ekşi hamur üretiminde yaygın olarak kullanılırken, starter kullanımı daha çok bilimsel araştırma düzeyinde kalmış ve endüstriyel kullanıma aktarılamamış bir yöntemdir. Oysa spontan fermentasyon yönteminde stabil olmayan koşulların yine stabil olmayan ekşi hamur mikroflorasına bağlı değişken son ürün özelliklerine neden olması riski her zaman bulunmaktadır. Starter kullanımı ise sabit ve bilinen mikrofloraya bağlı nihai üründe stabilite sağlayacağı bildirilmektedir [23]. Ekşi hamur ilaveli ekmek üretiminde proses koşullarının yanısıra ekşi hamur kullanım miktarı, maya kullanım miktarı ve unun kepek miktarı ekmek kalitesini etkileyen önemli faktörler arasındadır.

Çalışmanın optimizasyon aşamasında YYM kullanılarak SPE ve STE, bu 3 faktör açısından 5 farklı seviyede denenerek, Ekmek Değer Sayısı (EDS) ve ekmek Kabul Edilebilirliği (KE) açısından değerlendirilmişlerdir. Optimizasyon sonuçlarına göre SPE için maksimum EDS ve KE için istenilirliği (desirability)=1 olan model maya için %1.10, ekşi hamur 11.45, kepek için 1.58 kullanım oranı olarak belirlenmiştir. Optimizasyon sonuçlarına göre STE içinse maksimum EDS ve KE için istenilirliği (desirebility)=1 olan model maya için %1.02, ekşi hamur 6.99, kepek için 38.84 kullanım oranı olarak belirlenmiştir.

Optimizasyon sonucu önerilen modellerin deneysel doğrulamaları yapıldığında SPE için EDS=190, KE=4.57 bulunurken STE için EDS=202.26, KE=4.67 olarak bulunmuştur. STE nin EDS ve KE değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Üstelik optimizasyon sonucunda STE için önerilen kepek oranı daha fazla olmasına rağmen duyusal olarak belirlenen KE değeri daha yüksek belirlenmiştir. Aynı zamanda STE’de

ekşi hamur oranı da yüksektir. Oysa aynı durum SPE için geçerli değildir. Aynı model SPE için uygulanmasına rağmen optimizasyon sonucu daha düşük kepek oranı ve daha düşük ekşi hamur kullanım oranı önerilmiştir ki KE ve EDS değerleri de daha düşüktür. Bu durumun Starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminin etkinliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu yöntemle göre starter olarak kullanılan LAB'lerinin etkin metabolit üretimi ve hamur ve ekmek üzerindeki etkisi daha fazla kepek kullanılabilirliğini mümkün kılmıştır. Aynı zamanda daha yüksek ekşi hamur kullanımına bağlı EDS ve KE değeri de artış göstermiştir.

Çalışmada respons olarak alınan ilk özellik EDS için Tablo 3.5'deki ANOVA analizi sonuçlarından da görüleceği gibi SPE'de, EDS için maya ve ekşi hamur kullanım oranı faktörleri model açısından önemsiz ($p>0.05$) bulunurken, Kepek kullanım oranı önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Aynı durum STE için yapılan ANOVA analizinde de tespit edilmiştir (Tablo 3.13). EDS'nın belirlenmesindeki yöntem göz önüne alındığında, formüldeki;

$$EDS = \frac{\text{Gözenek faktörü} \times \text{Hacim faktörü}}{100} \pm \text{Ekmek içi değerleri}$$

görüntü analizi yoluyla elde edilen gözenek faktörü, hacim faktörü ve ekmek içi değeri'nin belirleyici olduğu görülmektedir. Elde edilen sonuçlar göstermektedir ki ekmek kalitesinin objektif ve rakamsal bir ifadesi olarak kullandığımız EDS üzerindeki en önemli faktör kepek kullanım miktarıdır. Çünkü kullanılan kepek miktarı doğal olarak gözenek faktörünü ve ekmek hacmini etkilemiştir. Yapılan çalışmalar da unun kepek içeriğinin ekmek hacim ve gözenek yapısı üzerindeki önemli bir faktör olduğunu belirtmektedir [213].

Çalışmada yanıt olarak belirlenen diğer özellik KE için aynı değerlendirme yapıldığında, Tablo 3.6 'daki SPE, ANOVA tablosundan da görüleceği gibi maya kullanım oranı ve ekşi hamur kullanım oranı model üzerinde önemli ($p<0.05$) bulunurken, Kepek kullanım oranı önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur. STE için ANOVA analizi sonuçlarına göre (Tablo 3.14); KE üzerinde maya kullanım oranı önemsizken, ekşi hamur ve kepek kullanım oranları önemli olarak bulunmuştur ($p<0.05$). KE üzerindeki sonuçlar ortak olarak değerlendirildiğinde her iki ekmek için de kabul edilebilirlik açısından en önemli faktörün ekşi hamur kullanımı olduğu görülmektedir. KE değeri panalistler tarafından

duyusal olarak belirlenen bir değerdir. Ekmeklerin duyusal analizi sırasında panelistlerce algılanan en önemli özellik ekşi hamurun ekmeğe verdiği asidite ve kendine özgü lezzettir.

Ayrıca optimizasyon çalışması sonucunda optimum nokta doğrulama deneme sonuçlarına bakıldığında modelden tahminlenen değerler ile ortalama deneysel sonuçlar arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli ($p>0.05$) olmadığı belirlenmiştir. Bu da yapılan optimizasyon çalışmasından elde edilen modellerin doğrulandığını, uygulamada da başarılı olduğunu göstermektedir.

Ekşi hamurların bazı kimyasal ve mikrobiyal özellikleri

Spontan fermentasyon yöntemi ile üretilen ekşi hamurda (SPH) her kademe sonunda pH 4.0-4.5 aralığına geldiğinde TA değerleri belirlenmiştir. Yalnızca un/su (1/1) karışımının fermentasyona bırakılmasıyla başlatılan 1.kademede pH 4.45 olmasına rağmen TA 8.47 olarak belirlenmiştir ki, bunun yaklaşık 24-30 saat alan bu süreçte ortamda yeteri kadar LAB olmaması ve yeterli düzeyde metabolit (laktik, asetik asit gibi primer metabolitler ile amino asit gibi sekonder metabolitler) üretilmemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Daha sonraki kademelere bir önceki ekşi hamurdan ilave edilmesiyle fermentasyon sürecinin kısaltılması, ortamdaki LAB'lerinin yeterli sayıya ulaşmaları, ortama adapte olmaları ve yeterli düzeyde metabolit üretebilmeleri pH 4.0-4.5 aralığında TA değerini 10.17-10.46 aralığına yükseltmiştir. Her kademe sonunda yapmış olduğumuz LAB sayımları da bu yargıyı destekler niteliktedir. 1.kademe sonundaki 6.86 log (kob)/g hücre sayısının 4.kademe sonunda 12.08 log(kob)/g düzeyine yükseldiği tespit edilmiştir. Starter olarak hazırlanan LAB'lerinin %1 olarak inoküle edilmesinden sonra başlangıçta 6.56 log (kob)/g olarak belirlenen sayım, fermentasyon sonunda (pH 4.28) 9.76 log (kob)/g düzeyine yükseldiği belirlenmiştir.

Ayrıca Spontan hamurun (SPH) laktik asit miktarı, starter LAB ilaveli ekşi hamurdaki (STH) düzeyden daha yüksek bulunmuştur. STH'daki asetik asit miktarı ise SPH'dan daha fazladır. Bu durumun STH üretiminde kullanılan LAB'den *L.plantarum* ve *L.brevis*'in heterofermentatif LAB olmaları ve metabolit olarak laktik asitin yanısıra asetik asit de üretmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Ekmeklerin fizikokimyasal özellikleri

Ekmek örneklerinin fizikokimyasal kalite özellikleri kapsamında, ekşi hamur kullanılan STE ve SPE'nin NE'ye göre kabuk kalınlığının daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Günümüzde yöresel olarak da ekşi hamurla üretilen köy ekmekleri, Trabzon Vakfikebir ekmeği gibi ekmeklerin en belirgin özelliği kabuk kalınlıklarının fazla yüzeylerinin de sert olmasıdır. Ekmek örneklerimizin rutubet içeriklerine bakıldığında da ekşi hamurla üretilen STE ve SPE'nin rutubetlerinin NE'ye göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Ekmeğin fırında pişmesi sırasında son aşama kalan rutubetin uzaklaştırılması ve kabuk oluşumu aşamasıdır. Ekşi hamur ekmeklerinde (SPE, STE) tespit edilen kalın kabuk formasyonunun pişmenin son aşamasında rutubet atımını engellediği söylenebilir. Böylece hem ekmeğin pişme aşamasında hem de raf ömrü süresince ekşi hamur kullanılan ekmeklerin kabuk kalınlığının fazla olmasına bağlı iç rutubetin muhafazası mümkün olmaktadır.

Ekmeklerin TA ve organik asit içerikleri de önemli düzeyde farklı bulunmuştur. En düşük toplam asitlik NE'de (%2.65) belirlenmiştir ki yalnızca maya fermentasyonu ile üretilmesinden kaynaklanmıştır. TA değeri SPE (%4.60) iken STE'de %5.34 olarak tespit edilmiştir. NE, SPE ve STE'de artan TA değerine paralel olarak pH değerlerinde de düşüş tespit edilmiştir. LAB, heksozlardan homofermentasyon yoluyla laktik asit; heterofermentasyon yoluyla laktik asit, asetik asit, etanol ve CO₂ sentezlemektedir [49]. Çalışmada STE üretiminde kullanılan LAB'den *L.plantarum* ve *L.brevis* heterofermentatif iken *L.delbrueckii* homofermentatiftir. Dolayısıyla ortamda laktik asit yanında suda çözününen ve asitliği arttıran asetik asit ile diğer minör asitler de meydana gelmiştir (Tablo 4.4). Aromatik uçucu bileşik tayininde elde edilen sonuçlar da göstermiştir ki asidik bileşiklerin çeşitliliği ve oranı en yüksek olan ekmek STE, daha sonra sırasıyla SPE ve NE'dir. Ortam pH'sının düşmesi, tahıl proteazlarının aktivitelerinde artış meydana getirmekte bununla birlikte LAB'nin kendi enzim aktiviteleri ile birlikte proteinlerde parçalanma sonucu ortamda serbest amino asit varlığında artış olmaktadır [2]. Bu artışın da TA üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Hansen *et al.* [125], *L.sanfrancisco*, *L.brevis*, *L.fermentum* gibi üç heterofermantatif ve *L.delbrueckii*, *L.plantarum* gibi iki homofermantatif laktik asit bakterisi kullanarak yaptıkları çalışmada, asitlikteki en hızlı artışın 35°C'de meydana

geldiğini ve titre edilebilir asitliğin en fazla heterofermantatif LAB'leri tarafından artırıldığını belirlemişlerdir.

Ekmek çeşitlerine göre asit miktarı karşılaştırıldığında ise laktik asit içeriği en yüksek ekmek SPE (0.835 mg/g) iken bunu STE (0.610 mg/g) ve NE (0.294 mg/g) takip etmektedir. Ekşi hamur kullanılan STE ve SPE'nin laktik ve asetik asit içeriklerinin NE'ye göre daha yüksek oldukları belirlenmiştir. Bu ekmeklerdeki yüksek asitlik gelişimi TA değerlerindeki yükseklik olarak belirlenmişti ki bu durum organik asit içeriği değerleriyle paralellik arz etmektedir. Ekmek çeşitlerine göre asit miktarı karşılaştırıldığında ise laktik asit içeriği en yüksek ekmek SPE iken bunu STE ve NE takip etmektedir. Asetik asit içeriği en yüksek ekmek ise STE'dir (0.577 mg/g) ve bunu SPE (0.237 mg/g) ve NE (0.098 mg/g) takip etmiştir. Bu durum NE'de yalnızca maya fermentasyonu, SPE ve STE'de ise sahip oldukları LAB mikroflora çeşitliliği ve metabolitleriyle ilişkilidir. STE'de starter olarak kullanılan LAB'lerinden ikisinin heterofermantatif olması asetik asit oranını arttırmıştır. Ekmek numunelerine ait organik asit miktarları arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Ekmek örneklerinin hacimleri karşılaştırıldığında STE'nin en yüksek değere sahip olduğu, bunu SPE ve NE'nin takip ettiği görülmektedir. Bu durum iki şekilde açıklanabilir. NE'de yalnızca maya fermentasyonuna bağlı gaz üretimi olurken, STE ve SPE'de hem maya hem de LAB kaynaklı gaz üretimi meydana gelmektedir. Çünkü heterofermantatif LAB'nin metabolitlerinden birisi de CO₂'dir. Ayrıca LAB'nin fermentasyon sırasında üretmiş olduğu organik asitlerin sekonder etkisi olarak enzimatik aktivitenin artışı nişasta, dekstrin, maltoz ve glukozu parçalanma reaksiyonlarını arttırmakta, böylece dolaylı yoldan maya gelişimi buna bağlı gaz üretimi teşvik edilmektedir. Yapılan çalışmalar maya ve ekşi hamurun bir arada kullanımının ekmek hacmini, tek başlarına kullanılan kontrol ekmeklerine göre arttırdığını göstermektedir. Bu durum maya ve laktik asit bakterilerinin pozitif interaksyonu şeklinde açıklanabilir.

Renk ekmek kalitesini ve tüketici beğenisini yansıtan en önemli niteliklerden bir tanesidir. Esmerleşmeye neden olan Maillard reaksiyonu ve karamelizasyon gibi kimyasal reaksiyonlar pişirme sırasında ekmek iç ve kabuğunda farklı düzeyde renk değişimine neden olurlar [230]. Ekşi hamur kullanılan STE ve SPE'deki a^* değerleri ile

dE^*_{kabuk} ve $dE^*_{iç}$ değerleri NE'ye göre daha yüksek ve aralarındaki farklılık da istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Ekşi hamur fermentasyonu sırasında mikrofloranın metabolit olarak basit şekerleri üretmesi bunların da kimyasal esmerleşme reaksiyonlarına katılmalarının, a^* değerinde artışa neden olduğu düşünülmektedir. Fermentasyon süresince pH'nın düşmesi kahverengileşme reaksiyonlarını pozitif yönde etkiler. Çünkü amadori düzenlenmesi için H^+ 'e ihtiyaç duyulduğu sanılmaktadır. Fermentasyon düzeyinin renk oluşumunu etkilediği, fermentasyona bırakılmış hamurlardan elde edilen ekmeklerde fermentasyona bırakılmamış hamurlardan elde edilen ekmeklere göre daha fazla ara ürün ve kahverengi bileşik oluştuğu bildirilmiştir [266].

Ekşi hamurun ekmek hacmi üzerindeki olumlu etkisi, ekşi hamur içeren asidik hamurlarda glutenin daha iyi gaz tutma kapasitesine sahip olması [6], ekşi hamur prosesi sırasında pentozanların çözünürlüğü [8], ekşi hamur kullanımına bağlı olarak pH'nın düşmesi nedeniyle endojen enzim aktivitelerindeki artış [196] ve LAB'lerinin varlığında daha hızlı maya aktivitesi [6] ile ilişkilendirilmiştir. Ekşi hamur kullanımı hacim ve spesifik hacim üzerinde olumlu etkiye neden olmuştur. Yapılan çalışmalar ekşi hamur ilavesiyle ekmek hacmi ve spesifik hacmin genel olarak arttığını bildirmektedir [239,246]. Ancak ekmek spesifik hacminin yüksek oranda asidifikasyon seviyesine bağlı olduğu belirtilmektedir [267]. Ekmek hacmi üzerinde ekşi hamurun olumlu etkisi, hamurun gaz tutma kapasitesini geliştirilmesiyle ilişkilidir [6]. Bununla birlikte hamurda çok yüksek asidifikasyon, ekşi hamur fermentasyonu süresince gluten proteinlerinin depolimerize ve hidrolize olmasına neden olur. Sonuçta ekmek hamurundaki gluten bağları kırılır ve ekmek spesifik hacmi düşer [85].

Raf ömrü süresince ekmekte fizikokimyasal değişimler

Tekstür ve Mikroyapı

Ekmek, diğer işlenmiş gıdalardan çok daha kısa raf ömrüne sahip bir gıda maddesidir. Hızlı bir şekilde tazeliğini kaybeder ve küflenerek bozulmaya başlar. Mikrobiyolojik bozulmanın yanı sıra, tüketici tarafından ölçülen kalitedeki gerileme bayatlama olarak tanımlanmaktadır. Bayatlama ile ekmeğin duyu özellikleri kaybolur ve tüketici tarafından ekmek reddedilir [210].

Raf ömrü süresince ekmeklerin sertlik değerlerinde artış gözlenmekle birlikte bu ölçümlerin günlere göre değerlendirilmesi yapıldığında NE ilk gün diğer ekmeklere göre daha düşük sertliğe sahipken, 8.gün diğerlerinden daha yüksek sertlik derecesine ulaştığı belirlenmiştir. STE ise ilk gün diğerlerinden daha yüksek sertlik değerine sahipken raf ömrü süresince özellikle 5. güne kadar diğerlerinden daha farklı bir profil seyrettiği, sertlik değerindeki artışın daha yavaş olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.29). Bu da diğer iki örnekten farklı olarak, STE'nin 5.güne kadar yumuşaklığını daha fazla muhafaza ettiği şeklinde yorumlanabilir. Genel TPA sonuçları günlere göre değerlendirildiğinde, ekmek örneklerinin tekstürel niteliklerdeki en büyük değişimin ilk 3 günde meydana geldiği belirlenmiştir. Ekmeklerin TPA sertlik değerleri kullanılarak hesaplanan BO parametreleri de paralel sonuçlar göstermiş, en yüksek BO değeri (7.14) NE'de tespit edilirken, ekşi hamur kullanılan SPE (4.55) ve STE'de (2.90) bu değer daha düşük bulunmuştur. Ekşi hamur ilavesi ekmeğin raf ömrü süresince bayatlamasını yavaşlatıcı yönde etki etmiştir.

Ekmekte esneklik TPA'de uygulanan basıncın yani birinci sıkıştırmanın sonu ile ikinci sıkıştırmanın başı arasındaki yükseklik farkı olup ne kadarlık bir geri gelmenin olduğunu göstermektedir (mm). Raf ömrü açısından ekmek kalitesinin sürdürülebilirliğinde önemli bir kriterdir. 0. ve 5. günlere ait ort. esneklik verileri kullanılarak ekmeklerdeki esneklik kaybı (EK) parametresi de hesaplanmış, en yüksek EK (72.3) NE'de belirlenirken bunu SPE (63.8) ve STE (39.7) takip etmiştir. Ekşi hamur kullanımının ekmeğin raf ömrü süresince esnekliğini muhafaza etmesinde olumlu katkı sağladığı belirlenmiştir.

Ekmekte balangıç rutubetinin muhafazası duyusal olarak yumuşaklık ile ilişkilendirildiğinden dolayı yeme kalitesinin sürdürülebilirliği açısından önemli bir kriterdir. Rutubet kaybı ise, hem enstrümental hem de duyusal olarak ekmekte sertlik artışı olarak ifade edilebilmektedir. Raf ömrü süresince ekmek örneklerinin rutubetleri arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Raf ömrü sonunda 8.gün RK₁ değerleri en yüksek ekmek (9.79) NE'de belirlenirken, ekşi hamur kullanılan ekmeklerde daha düşük tespit edilmiştir. RK₂ parametresi ise ekmeklerin bir önceki güne göre bağlı rutubet kaybını göstermektedir. Ekmeklerin tümünde en yüksek RK₂ değerinin 3. gün elde edildiği belirlenmiştir ki bu da raf ömrü süresince en yüksek rutubet kaybının ilk üç

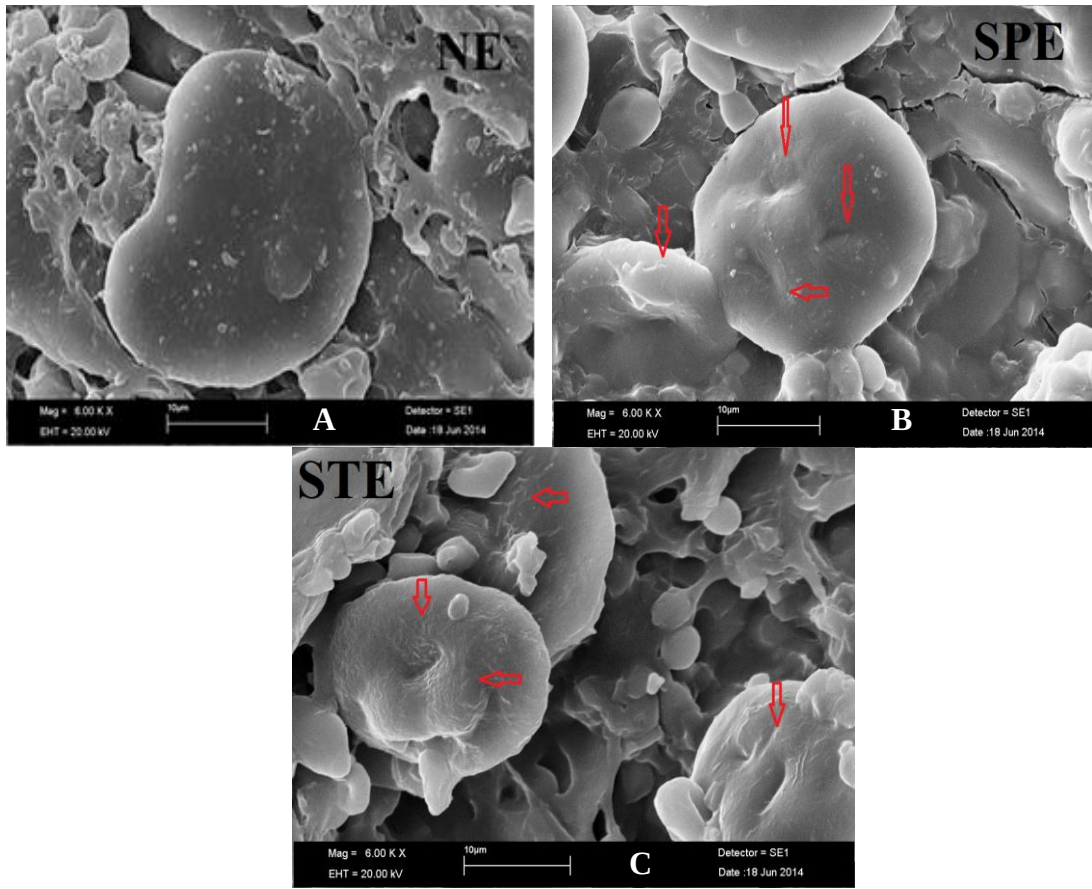
günde meydana geldiğini göstermektedir. Bu durum TPA sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Ekmek tekstürüne kadar taşınan hamurun doğasındaki değişim gluten proteinleri üzerinde etkili olan proteolitik aktiviteden kaynaklanmaktadır. Hamur fermentasyonu ilerledikçe yapının daha az elastik hale geldiği bildirilmektedir [267]. Çünkü hamurun ve nihai ürünün bütünlüğünden büyük protein yapıları sorumlu olduğundan, ekşi hamur fermentasyonu sonucu protein yapısı üzerine tahıl proteazlarının artan etkisiyle polimerik protein yapısı parçalanmakta daha az elastik bir yapı oluşmaktadır. Laktik asit fermentasyonundan sorumlu LAB'nin de proteolitik aktivitelerinin bu durum üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmada en yüksek asitlik gelişimi STE'de elde edilmiş bunu SPE ve NE takip etmiştir. Bu ekmeklerin TPA analizinde elastikiyetlerine bakıldığında STE'nin en az elastikiyete sahip olduğu, bunu SPE ve NE'nin takip ettiği görülmektedir. Bu durumda fermentasyon sonucu artan asitlikle, enzim aktivitelerindeki artışa bağlı olarak ekmeğin esneklik değerinin azaldığı söylenebilir. Bunun yanısıra ilerleyen raf ömrü süresine bağlı olarak da ekmek esnekliğinin azaldığı tespit edilmiştir.

Mikroyapı incelendiğinde polimerik protein yapısının preferment yani ekşi hamur ilavesiyle azalacağı, böylece fermentasyon sırasında biyolojik olarak asitlendirilmiş hamurun gluten ağları daha fazla amorf, kısmen bozulmuş olarak görülebileceği de bildirilmektedir [240]. Polimerik protein yapısının fermentasyona bağlı enzimatik yıkımı ve amorf hal alması olarak yorumlayabileceğimiz bu durum elektron mikroskobu görüntülerinde de teyit edilmiştir. Ekmek numunelerine ait ilk günlük görüntülere bakıldığında nişasta moleküllerini kafes gibi tutan protein matriks yapısının STE'de daha amorf ve düzensiz, NE'de ise daha düzgün ve nişasta moleküllerinin de daha yuvarlak şeklini muhafaza ettiği görülmektedir. Protein matriks yapısındaki bu değişim, ekşi hamur kullanımına bağlı organik asit içeriğinin artması, pH'nın düşmesi ve tanedeki proteolitik enzimlerin aktivite kazanması şeklinde yorumlanabilir. Aynı zamanda laktik asit bakterilerinin kendilerinin de proteolitik aktivitelerinin olduğu belirtilmektedir [81].

Ekmeklerin ilk günlük SEM görüntülerinde nişasta moleküllerinin çapları ölçülerek çalışmada uygulanan formül optimizasyonunun özellikle de ekşi hamur kullanımından kaynaklanan etki tespit edilmeye çalışılmıştır. Normalde buğday nişasta granüllerinin bimodel dağılım gösterdikleri, A-tip:20-35 µm ve B-tip:2-10 µm olarak

sınıflandırılabilirler belirtilmektedir [268]. İlk güne ait görüntülerdeki A tip nişasta granülleri incelendiğinde NE’de daha büyük çaplı granüller (29.904 ± 4.007) bulunurken, SPE’de daha küçük (23.831 ± 2.399), STE’nin ise en düşük çaplı (18.356 ± 2.478) granüllere sahip oldukları belirlenmiştir. Deckard *et al.* [269], tarafından organik asit uygulamasının nişasta granülü üzerindeki etkileri incelenmiş ve laktik asit uygulamasının nişasta granüllerinde modifikasyona yol açabileceği belirtilmiştir. Elde ettikleri SEM görüntülerinde artan asitlik düzeyi ile birlikte nişasta granüllerinde değişiklik ve yüzeyinde hafif deformasyon tespit etmişlerdir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Ekmek örneklerine ait (A,B,C) nişasta granül görüntüleri (600KX)

Ekmek örneklerinin nişasta granül görüntüleri (600KX) incelendiğinde, NE granülünün üst yüzeyinin düzgün yapısı diğerlerinden ayırt edilebilmektedir. SPE granül yüzeyinde deformasyon, STE granülünde çok daha belirgin olarak görülmektedir. Ekmek örneklerinde TA sonuçlarına göre de en yüksek asitlik sırasıyla STE, SPE ve NE’de tespit edilmiştir. Literatürle benzer olarak asitlik artışıyla nişasta granüllerinin fiziksel

yapısının etkilendiği ve üst yüzeylerinin deforme olduğu mikrotekstürel olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışmada ekşi hamur ilave edilen ekmeklerde (STE, SPE) organik asit içeriğinin NE'ye göre çok daha yüksek olduğu belirlenmişti. Aynı ekmeklerin ilk günkü SEM görüntüleri incelendiğinde Deckard *et al.* [269]'nın tespitinde olduğu gibi, organik asit içeriği yüksek olan STE ve SPE'de nişasta yapısının protein matriksi içerisinde dağıldığı ve girift hale geldiği belirlenmiştir. Gerek granüler düzeydeki yapının değişmesi, gerekse nişasta granülünün özellikle proteinle interaksyonunun, nişastanın enzimatik hidrolizini azalttığı ve buna bağlı son ürünlerdeki enzime endirençli nişasta miktarını arttırdığı belirtilmektedir [269,270]. Bu çalışmada da STE ve SPE nin dirençli nişasta içerikleri NE'ye göre daha fazla tespit edilmiştir ki SEM görüntülerinden elde edilen nişasta yapısındaki değişim ve dirençli nişasta miktarındaki artış birbirini destekler niteliktedir.

Kimyasalların, nişastanın granüler yapısını değiştirerek ve gluten ve protein gibi diğer tane komponentleriyle interaksyonu sonucu, tanenin genel nişasta yapısını değiştirebileceği de belirtilmektedir.

Ekmeklerin 8.gün görüntülerinde bayatlama olayının mikrotekstürel açıdan görseli tespit edilebilmektedir. Ekmek ve fırıncılık ürünlerinin bayatlaması, fırınlamadan sonra raf ömrü süresince meydana gelen fiziksel ve kimyasal değişimlerin bir kombinasyonudur. Bayatlama olayı, nişasta ve proteinler arasındaki interaksyon ve nişasta polimerlerinin retrogradasyonundan dolayı iç tekstür yapısının sıkılaşması dökülgen hal alması, iç yapıdan kabuğa nem transferinden dolayı kabuğun yumuşaması ile karakterize edilmektedir. Çalışmada ekmeklerin günlere göre, görüntüleri karşılaştırıldığında 3.günden itibaren yapının düzgün formunu yitirdiği, agregat formunda yığınlar dönüştüğü, nişasta molekülleri protein matriksi içerisinde net olarak seçilemediği, granüllerin çoğunun düzgün şeklini yitirdiği, özellikle sıkı ağısı yapısını yitiren protein matriksi ile içi boşalmış, dış yüzey gerginliğini kaybetmiş nişasta granüllerinin girift hale gelerek, amorf yapılara dönüştüğü belirgin olarak gözlenmiştir. Raf ömrü süresince ekmek rutubet kaybı (RK) değerlerinde de paralel sonuçlar elde edilmiştir. Ekmeklerde rutubet kaybının büyük bölümü ilk 3 günde meydana gelirken,

ilerleyen günlerde RK yavaşlamıştır (Tablo 3.31). Bayatlama ile karakterize edilen makrotekstürel durumlar, mikrotekstürel yapıda da tespit edilmiştir.

Aromatik Profil

Ekşi hamur ekmeğinin aromatik yapısını inceleyen çalışmalarda genel olarak ekmeğin ana aromatik profilini oluşturan temel bileşikler tespit edilmiş ve karşılaştırılmıştır [2,88,121,200,262,263,264]. Raf ömrü süresince aromatik profili inceleyen çalışma sayısı ise çok azdır. Plessas *et al.* tarafından yapılan çalışmada karışık kültür kullanılarak yapılan ekşi hamur ekmeğinin raf ömrü süresince aromatik profildeki değişim araştırılmış, alkol, asit, ester ve karbonil grubunu oluşturan temel bileşiklerde (etanol, heksanal, asetik asit vb) zamana bağlı azalma belirlenmiştir.

Bu çalışmada ise ekmeğin ilk gün tespit edilen bileşenlerinin raf ömrü süresince değişimi belirlenmiş, aynı zamanda depolama süreciyle oluşan yeni bileşikler de değerlendirmeye alınmıştır. Ekmekte temel aromatik profil maya ve LAB metabolitleri ile üretim sürecinden kaynaklanmakla birlikte, depolama sırasında da profilde değişim meydana gelmektedir. Isıl işlem sırasında oluşan esmerleşme reaksiyonu ve buna bağlı aromatik bileşikler istenmekle birlikte, depolama süresince meydana gelen esmerleşme reaksiyonu istenmemektedir. Ekmekte enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu tüketilinceye kadar devam eder ve bir çok karakteristik aroma meydana gelir. Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu komplekstir ve oluşumu sırasında sıcaklık, pH, a_w gibi faktörler rol oynamaktadır [265]. Bu nedenle ekmeğin raf ömrü süresince aromatik profilindeki değişimin yorumlanabilmesi için yalnızca temel bileşiklerdeki azalmanın değil, yeni oluşan bileşiklerin de değerlendirmeye alınması gerektiği düşünülmektedir.

Ekşi hamur fermentasyonunun ekmeğe kattığı en önemli özelliklerden birisi uçucu bileşik profiline bağlı tat ve koku karakteristiğidir. Ekşi hamur ekmeğinin beyaz ekmekle karşılaştırıldığında çok yüksek miktarda uçucu bileşiğe sahip olduğu belirtilmektedir [48,245] İlk gün yapılan analiz sonucu ekmekler karşılaştırıldığında STE'de 95, SPE'de 35, NE'de 23 adet uçucu bileşik tespit edilmiştir. Literatürle benzer olarak ekşi hamur kullanılan ekmeklerin (STE, SPE) uçucu bileşik profilleri NE'ye göre daha zengin olarak nitelendirilebilir.

Ekşi hamur ekmeklerinde önemli düzeyde konsantrasyona sahip olan ve karakteristik yapıyı oluşturan bileşikler arasında metilpropanol, etil asetat ve etil laktat [271] ile 2-metilpropanal, 2- ve 3-metil bütanal, pentanal, heksanal, heptanal, oktanal ve nonanal gibi aldehitler bulunmaktadır [245,246,272]. Bu bileşikler genel olarak alkoller, asitler, esterler ve karbonil bileşikler olarak sınıflandırılmaktadır [241].

İlk gün yapılan analiz sonucu STE uçucu bileşik profilinin %24.77, SPE’de %77.73, NE’de %87.59’unun alkol ve türevlerinden oluştuğu belirlenmiştir. Alkol grubunda en yüksek konsantrasyona sahip etil alkol (NE:%62.80, SPE:%51.11, STE:%7.15), isoamil alkol (NE:%18.07, SPE:%21, STE:%8.65), heksanol (NE:%0.96, SPE:%1.08, STE:%2.10) gibi alkoller üç ekmek örneğinde de ortak tespit edilirken, 2-3 dimetil,1-pentanol, (%2.88), 1-bütanol (%0.38) yalnızca SPE’de, 1-pentanol (%0.51) ve pentanol türevleri yalnızca STE’de tespit edilmiştir.

Yapılan çalışmalar ekşi hamur kullanılan ekmeklerin lezzet profilinin normal ekmeğe göre daha zengin olduğunu göstermektedir [2,264]. Çalışma sonucunda elde ettiğimiz veriler de bu görüşü desteklemektedir. Bu sonucu oluşturan en önemli etken LAB’lerinin oluşturduğu metabolitlerdir. Ancak ekşi hamur ekmeklerindeki kalın kabuk oluşumunun özellikle pişme sürecinde aromatik profilin kaybını engellediği ve ekmek iç tekstüründe tutulmasını sağladığı da düşünülmektedir. Ekşi hamur ekmeklerinin kabuk kalınlıkları NE’e göre daha fazla bulunmuştur (Tablo 3.25) Yani ekşi hamur ekmeklerinin fiziksel kabuk yapısı lezzet profilinin muhafazasında etkili bir faktördür. Chang *et al.* [273] yaptıkları çalışmada ekmekte 74 uçucu bileşik tespit ederken, Meignen *et al.* [27] fırınlama öncesi ekşi hamurda 150 uçucu bileşik tespit etmişlerdir. Yani fırınlama sırasında pek çok uçucu bileşik evapore olmaktadır ve ekşi hamur ekmeklerindeki kalın kabuk formasyonu da bunların kaybını engelleyen önemli bir faktördür.

Ekmek aromasının temelini oluşturan alkol, asit, ester, karbonil olmak üzere temel 4 bileşik grubu, maya veya LAB metabolizması sonucunda oluşmakta veya ekmek üretim prosesinde meydana gelmektedir [241]. Ekşi hamur ekmeklerinde de uçucu bileşiklerin oluşumu ve ekmeğe kazandırdıkları kendine özgü lezzet profili büyük oranda, içerdikleri LAB ve maya aktivitesi ile ilgili olmakla birlikte, bu aktivite sonunda oluşan metabolitlerin ikincil metabolizmaları, etkileşimleri ve pişirme prosesiyle de ilgilidir

[2,226]. Ekşi hamurun ekmek aroması üzerine etkisi, asitlik oluşumu, amino asit gibi ön maddelerin oluşumu ve uçucu bileşenlerin oluşumu olmak üzere üç ana faktöre dayanmaktadır [133]. Çalışmada tespit edilen bazı bileşiklerin oluşum kaynakları Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Bazı uçucu bileşiklerin oluşum kaynakları

Uçucu Bileşik	Kaynak	Literatür
Etanol	Fermentasyon	[2,274]
Asetik asit	Fermentasyon	[2,274,275]
1-propanol, 1-metil	Fermentasyon	[2,274]
Butanal, 3-metil	Maillard reaksiyonu	[276]
İsoamil alkol (1-Bütanol, 3-metil)	Fermentasyon	[2,274,277,278]
1-Pentanol	Lipit oksidasyonu	[274,279] .
Furfural (2-Furancarboxaldehyde)	Maillard reaksiyonu, Fermentasyon	[274,276,280]
1-Heksanol	Lipit oksidasyonu	[274,279]
1- bütanol	Fermentasyon	[2]
Butirik Asit	Fermentasyon	[281]
Dihidro-2(3H)-furanon	Maillard reaksiyonu	[280,276].
Benzaldehit	Fermentasyon, Lipit oksidasyonu	[274,279,282]
Heksanoik asit	Fermentasyon, Lipit oksidasyonu	[276,279,281]
Furan, 2-pentil-	Maillard reaksiyonu	[279,280]

Fırınlamanın ilk dakikalarında hızlı olan enzimatik reaksiyonlar kısmen jelatinize olmuş nişastaya etki ederek indirgenmiş şeker ve dekstrin oluşumunu sağlar. Sıcaklık artışıyla proteinlerin denaturasyonundan sonra kabuk kahverengileşme aşamasında enzimatik olmayan reaksiyonlar devreye girer (Maillard ve karemelizasyon) polisakkarit ve özellikle nişastadan renkli degradasyon ürünleri, uçucu bileşikler, karbonil bileşikler ve furfurallar oluşur [266]. Tablo 3.37’de verilen furan bileşiklerden furfural, her üç ekmek çeşitinde tespit edilmiştir ve literatüre göre fermentasyon ve Maillard reaksiyonu sonucu meydana gelmektedir. Ancak furfural pik alanları üzerinden STE’de 7.797, SPE’de 5.644, NE’de 290 ($\times 10^4$) olarak belirlenmiştir. Diğer furan kaynaklı bileşikler (Dihidro-2(3H)-furanon ve Furan, 2-pentil-) ise yalnızca STE’ de tespit edilmiştir. LAB’leri genel olarak asidifikasyondan sorumlu olmakla birlikte, pH’nın proteolitik enzimlerin çalışabileceği optimum seviyeye düşmesini de sağlayarak aroma oluşumuna öncülük edecek yapıların da serbest hale geçmesini sağlarlar. Bunların başında da

serbest amino asitler gelir [2]. Ekşi hamur fermentasyonu süresince serbest amino asit miktarında önemli düzeyde artış meydana geldiği belirtilmektedir [2,125]. Maillard reaksiyonuna girebilecek serbest amino asit varlığı ise, furan bileşiklerinin artışına neden olmaktadır. STE'deki furan bileşiklerinin çeşitliliği ve düzeyinin, temelde sahip olduğu asidifikasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Hamur fermentasyonu süresince, amino asitlerin temel degradasyon reaksiyonu Ehrlich yolu olarak kabul edilmektedir ve aldehit ile alkol oluşumuna neden olur [71]. Pişme süresince ise Strecker reaksiyonu, α -dikarbonil bileşikler tarafından başlatılır ve aldehitler ile asitlerin oluşumundan sorumludur. STE'nin asidifikasyonu ve bunun ikincil etkisi olan enzim aktivasyonu sonucu meydana geldiğini düşündüğümüz serbest aminoasitlerin özellikle Ehrlich ve Strecker degradasyonları yoluyla aldehit oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir. Ekşi hamur kullanılan ekmeklerdeki (STE, SPE) aldehit grubu bileşiklerin çeşitliliği ve düzeyi (pik alanı üzerinden) NE'ye göre daha yüksektir. Tespit edilen aldehit grubu bileşiklerin bazıları Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Ekmek örneklerinde tespit edilen bazı aldehit grubu bileşikler

Aldehit grubu bileşik	Ekmek		
	STE	SPE	NE
Butanal, 3-metil	+ <	+ >	+
Pentanal	+	-	-
Heksanal	+ >	+ >	+
4-pentanal	-	+	-
Heptanal	+	+	-
Heptaldehit	-	+	-
Benzaldehit	+ >	+ >	+

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

Ayrıca serbest amino asit varlığındaki artış alkol çeşitliliğini de etkilemektedir. Örneğin amino asitlerden valin;2-metil-1-propanol, lösin;1 pentanol, alanin iseetanol üretiminin ön amino asitleridir [266].

Ekşi hamur ekmeğinin raf ömrüne ilişkin çalışmalar olmakla birlikte [202,229,283] depolama sırasında ekmekte uçucu bileşik değişimini araştıran çok az sayıda çalışma

vardır [241]. Bu değişim yalnızca ekmeğin yeme kalitesinde azalma olarak ele alınmamalı, uçucu bileşiklerdeki kayıp veya yeni oluşumlar, ekmek bayatlaması, bileşiklerin yapıdan evaporasyonu ve mikrobiyal aktivite ile de ilişkilendirilmelidir. Bu nedenle ekmeklerin raf ömrü süresince lezzet profilindeki değişim 2 bölümde incelenmiştir.

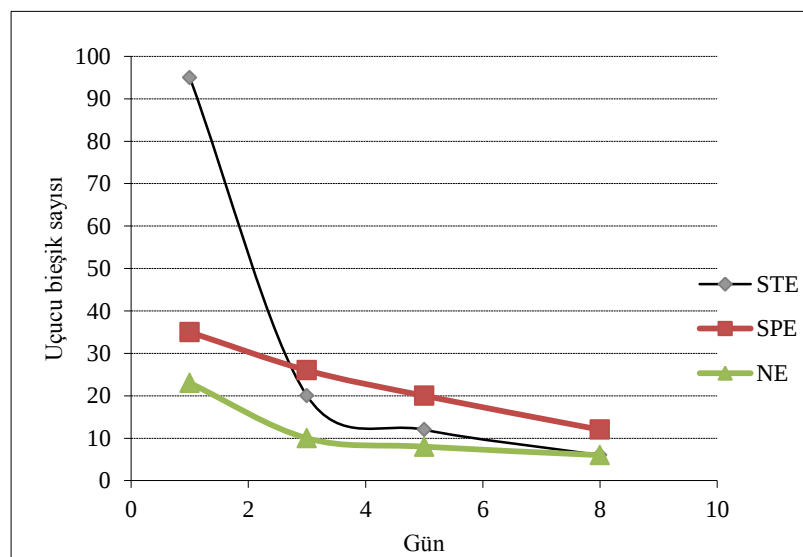
1. aşamada ilk gün (0.) tespit edilen temel uçucu bileşenlerin raf ömrü süresince değişimi tespit edilmiştir. Buna göre ekmeklerdeki ilk günkü ölçüme göre bileşen sayısındaki değişim Tablo 4.3’de verilmiştir.

Tablo 4.3. Ekmeklerin uçucu bileşik sayısındaki değişim

Gün	Bileşik sayısı		
	STE	SPE	NE
1	95	35	23
3	20	26	10
5	12	20	8
8	6	12	6

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

Ekmeklerin başlangıç uçucu bileşik yapıları çok farklı olmakla birlikte zamana bağlı olarak azalma gözlenmiş, özellikle en büyük kaybın ilk 3 günde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2) 8.gün ekmeklerin uçucu bileşik profilleri benzer düzeye gelmiştir.



Şekil 4.2. Uçucu bileşiklerin günlere göre değişimi

Raf ömrü süresince uçucu bileşik profilini en yavaş kaybeden ekmek SPE olarak belirlenmiştir. 8.güne rağmen başlangıç bileşen profilini en yüksek düzeyde taşıyan ekmek de SPE'dir. En büyük kayıp ise STE'de ilk 3 gün içerisinde meydana gelmiştir.

Çalışma sonucu tespit edilen değişim literatürle benzer niteliktedir. Plessas *et al.* [241] tarafından yapılan çalışmada karışık kültür kullanılan ekşi hamur ekmeklerinin 5 gün süreyle aromatik uçucu bileşik profilindeki değişim incelenmiş ve ekmeklerin ilk 2 gün süreyle aromatik yapılarını muhafaza ettikleri 5. günün sonunda ise profillerini büyük ölçüde kaybettikleri tespit edilmiştir.

Ekmeklerin organik asit profilleri Tablo 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.4. Ekmek örneklerinde tespit edilen organik asitler

STE	SPE	NE
Asetik asit ve türevleri	Asetik asit	Asetik asit
3-hidroksi,bütanoik asit	Gama-amino, bütirik asit	Dodekanoik asit
3-hidroksi,propanoik asit	Propanoik asit ve türevi	
Pentanoik asit	Heksanoik asit	
2-metil,propanoik asit	Formik asit	
Heksanoik asit		
Oksalik asit ve türevleri		
Benzoik asit türevi		
Bütanoik asit türevi		

SPE: Spontan ekmek, STE: Starter LAB ilaveli ekmek, NE: Normal ekmek

Ekmeklerdeki en baskın uçucu organik asit, asetik asit olarak belirlenmiştir. Pik alanları ve HPLC'de tespit edilen asetik asit miktarları karşılaştırıldığında sonuçlar paralel bulunmuş. En yüksek içeriğe STE sahipken en düşük NE olarak belirlenmiştir. Asetik asit yalnızca ilk gün sonuçlarında tespit edilmiş ve yapıdan uzaklaşmıştır. Tablo 4.4'de verilen asitler 5.güne kadar yapıda tespit edilebilmiş, 8.gün ise yalnızca SPE'de heksanoik asit belirlenmiş, diğerleri bulunamamıştır. Gerek GS-MS gerekse HPLC analizi sonucunda ekşi hamur kullanılan ekmeklerde özellikle de STE'deki asetik asitin yüksek bulunmasının nedeni starter olarak 2 heterofermentatif (*L.plantarum*, *L.brevis*) 1 homofermentatif (*L.delbrueckii*) LAB kullanılması, heterofermentatif LAB'nin ise bilinen en önemli metabolitlerinin asetik asit olmasıdır [2]. Yapılan bir çalışmada ekşi

hamur kullanılan ekmeklerin aromatik uçucu bileşikleri ile kullanılmayan kontrol ekmeğinin profili karşılaştırıldığında ekşi hamur ekmeklerinin kontrol ekmeğine göre daha fazla asetik asit içerdiği tespit edilmiştir [246]. Bu çalışmadaki bulgular da literatür ile paralellik göstermektedir.

2.aşamada ekmeklerde raf ömrü süresince oluşan yeni bileşenler değerlendirilmiştir. Gıdalarda raf ömrü süresince oluşan aromatik profildeki değişimin enzimatik olmayan esmerleşme, ışık ve lipid oksidasyonu gibi kimyasal değişimler ile enzimatik aroma değişimlerinden kaynaklanabileceği bildirilmektedir [265].

Ekmek örneklerinin tümünde 5.günden itibaren trikloro metan oluşumu belirlenmiştir ki trikloro metan depolanmış tahıl ürünlerinde oluşabilen bir bileşiktir [284]. Kendine özgü eter benzeri kokusu ile ekmeğin yeme kalitesini düşürmektedir.

İlk günden sonra oluşan bileşiklerin bazıları da enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu ile meydana gelmiştir. Enzimatik olmayan esmerleşme ile oluşan koku, çok tipik olarak gıdanın “bayat” sözcüğü ile nitelendirilmesine yol açar. Benzotiazol ve o-amino asetofenonlar enzimatik olmayan esmerleşme yoluyla oluşmaktadır ve bayatsı aromaya katkıda bulunurlar [265]. Ekmek örneklerinden SPE’de yalnızca 5 ve 8. günlerde benzotiazol oluşumu tespit edilirken, STE’de ise 3.günden itibaren benzotiazol ve türevleri belirlenmiştir. NE’de ise oluşuma rastlanmamıştır.

Oksidasyona duyarlı bazı uçucu bileşiklerin ise farklı uçucu oksidasyon ürünlerine dönüştüğü bildirilmektedir [265]. Örneğin benzaldehit oksidasyona duyarlı bir aroma maddesidir ve benzoik asite dönüşmektedir. Ekmek örneklerinin tümünde benzaldehit tespit edilmiş, 8.güne kadar azalmakla birlikte varlığını sürdürmüştür. 3.günden itibaren oksitlenme sonucu benzoik asit ve benzaldehit türevleri tespit edilmiştir.

Raf ömrü süresince ekmeklerin aroma profillerin incelenmesi bazı sonuçları ortaya çıkartmıştır.

- Ekmeklerin üretildikleri ilk günkü yapıları karşılaştırıldığında starter LAB kullanılarak üretilen STE en fazla uçucu bileşik yapısına sahipken bunu sırasıyla SPE ve NE takip etmektedir. Genel olarak ekşi hamur kullanılan ekmeklerin aromatik yapısının NE’e göre çok daha zengin olduğu belirlenmiştir. Buradaki asıl etkenin ekşi hamur

kullanım miktarından çok, yapıdaki LAB'nin çeşitliliği ve ürettikleri metabolitler olduğu düşünülmektedir. Çünkü ekşi hamur kullanım oranının tek başına, ekmek aromasını olumlu yönde etkilemede yeterli olmayacağı gibi, olumsuz ekmek aromasını ortadan kaldırmada da yeterli olamayacağı kabul edilmektedir [202]. Ekşi hamur kullanımıyla geleneksel buğday ekmeğine farklı lezzet profili kazandırmak mümkündür [2,111]. Ayrıca ekmek lezzet profili üzerinde LAB'nin etkilerini inceleyen araştırmalar göstermiştir ki bazı spesifik türlerin metabolik özelliklerinden dolayı kendine özgü lezzet kompozisyonu oluşturması da mümkündür [285].

- Ayrıca ekmek lezzetiyle ilişkili “malt, terayağı” vb. karakterde aktif koku bileşiklerinin üretilmesinin ekmek yeme niteliğini arttırdığı bunun da farklı LAB'lerinin ve maya kombinasyonlarının bulunması ile mümkün olduğu belirtilmektedir [111,285]. Çalışmada ekşi hamur kullanılan STE ve SPE'nin uçucu bileşik yapısının NE'ye göre çok daha zengin olduğu belirlenmiştir.
- Tüm ekmeklerin raf ömrü süresince lezzet profillerindeki değişim karşılaştırıldığında yapılarını ilk 3 günde hızla kaybettikleri dikkat çekmektedir.
- Ekmeklerin yapısında diğer bazı maddelerin de raf ömrü süresince oluştuğu tespit edilmiştir (Trikloro metan, benzotiazol vb). Ekmeğin raf ömrü süresince tüketilebilirlik kalitesindeki düşüşte başlangıç uçucu madde profili kaybetmesi kadar, yeni oluşan maddelerin olumsuz koku profilinin de etkili olduğu düşünülmektedir.
- Ekmeklerin başlangıç uçucu bileşik miktarlarının raf ömrü süresince hızla azaldığı belirlenmiştir. Tüketilebilir raf ömrü (8.gün) sonunda kaybettikleri profil farklı olsa da, düşükleri düzey benzerdir (Şekil 4.2).

Nişasta retrogradasyonu

Çalışmada depolama süresinin ekmekte rekristalize amilopektinin erime entalpisi (ΔH) üzerinde artışa neden olduğu ve bunun da DSC termogramlarında endotermik pik alanlarında artış şeklinde gözlemlendiği belirlenmiştir (Şekil 3.20). Enzim ve starterler ile formüle edilmiş ekmek hamurunun termo özelliklerinin araştırıldığı çalışmalarda benzer sonuçlar bulunmuş, Andreu *et al.* [286] ile Kaditzky *et al.* [287] rekristalize amilopektinin erime entalpisinin depolama sürecinden etkilenirken, starter türünden etkilenmediğini belirlemişlerdir. Torrieri *et al.* ise ekşi hamur kullanım %20 ve %30 ekşi hamur kullanım miktarının ΔH üzerinde önemli etkisi olmadığını ancak depolama

süresinin etkili olduğunu tespit etmişlerdir [229]. Çalışmamızda elde edilen sonuçlar literatürle paralellik göstermektedir. Ekmek çeşitlerine göre bu pik alanları değerlendirildiğinde 0.gün yapılan analizlerde retrogradasyon ilerlemediğinden herhangi bir endotermik alan alınamamış, ancak ekmeklerin termogramlarından retrogradasyon başlangıç durumları gözlemlenebilmiştir. STE’de herhangi bir endotermik pik gelişimi gözlenmezken, SPE ve özellikle NE’ye ait termogramlarda bu başlangıç (mavi renk ile işaretlenmiş bölümler) görülebilmıştır. 5. güne ait termogramlarda nişasta retrogradasyonuna bağlı endotermik pik alanlarında artış tespit edilmiştir. Bu durum depolama süresinin rekristalize amilopektinin erime entalpisi üzerinde önemli etkiye sahip olduğunu göstermektedir. 5.gün en düşük endotermik pik alanı SPE için 413.792 mj bulunurken, STE için 510.107 mj, NE için de 768.962 mj olarak belirlenmiştir. Bu durumda STE’nin bayatlamaya karşı daha dayanıklı olduğu, NE’nin ise daha dayanıksız olduğu şeklinde yorumlanabilir. Corsetti *et al.* [8,52], Katina *et al.* [213], Ribotta *et al.* [210], tarafından yapılan benzer çalışmalarda da depolama süresince artan retrogradasyona bağlı olarak endotermik pik alanlarında artış olduğu belirtilmiştir ki bu da elde ettiğimiz sonuçlarla paralellik göstermektedir. Bu açıdan, özellikle LAB’lerinin proteolitik aktivitesinden [84,85] ve fermentasyon ürünü metabolitlerden kaynaklanan [287,288] biyolojik asidifikasyonun ekmeğin bayatlaması üzerinde olumlu etkileri olduğu söylenebilir. Ayrıca ekmeğin örnekleri arasındaki rutubet farkı da bu sonuçları etkileyebilir. Genellikle yüksek ekmeğin rutubetinin nişasta retrogradasyonunu elemine ettiği ve raf ömrünü arttırdığı bildirilmektedir [229] .

S. cerevisiae ve ekşi hamur kullanımının etkisi karşılaştırıldığında, ekşi hamur kullanımının nişasta retrogradasyonunu geciktirdiği belirtilmiştir. Nişasta retrogradasyonunun gecikmesinde yalnızca ekşi hamur mayalanmasının etkili olduğu ve bu etkinin asidifikasyonun seviyesine ve LAB türlerine bağlı olduğu belirtilmiştir [8].

Küf gelişimi

Stater olarak LAB kullanılan veya spontan ekşi hamur ilaveli ekmeklerde küf gelişiminin yavaşlatılarak mikrobiyal raf ömrünün uzatıldığı daha önceki çalışmalarda belirtilmesine rağmen [239], bu çalışmada ekşi hamur kullanılan ekmeklerde (STE, SPE) kullanılmayan ekmeğe karşı (NE) özellikle 8.gün sonuçları değerlendirildiğinde raf ömründe bir gelişme tespit edilememiştir. Ekmeklerin ilk günlük sayımlarında küf gelişimi gözlenmezken, 3. gün sonuçlarına göre en az gelişim STE’de $1.0 \log(kob)/g$,

daha sonra SPE ve NE’de 1.3 log(kob)/g gelişim belirlenmiştir. Sayım sonuçlarına göre STE’in ilk 3 günlük süreçte küf gelişimine karşı direnci, diğer ekmeklere göre daha yüksektir. Ancak 8.gün gün sonuçlarına göre ekmekler arasında fark tespit edilememiştir. Beklenenden farklı olarak ekşi hamur ekmeklerinde küf gelişimine karşı direnç tespit edilememesinde en önemli etkenin ekmek formülasyon içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Optimizasyon sonuçlarına göre farklı kepek oranlarıyla hazırlanan ekmeklerde, rutubet içerikleri yüksekten düşüğe doğru (kepek oranı en yüksek olan) STE’de, SPE’de ve (kepek ilave edilmeyen) NE olarak belirlenmişti. Kepek içeriğine bağlı su bağlama ve rutubet oranlarındaki farklılığın küf gelişiminde etkili olduğu düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalar ekşi hamur kullanım oranının küfe karşı dirençte en etkili faktör olduğunu ve % 50 kullanımın etkili oran olduğunu göstermektedir. Bu durumda ekmek final pH’sının 4.3-5.2, ekmeğin küfe dayanım süresinin de 12-8 gün arasında olduğu belirtilmektedir [241] Bu çalışmada ekşi hamur kullanılarak üretilen STE ve SPE’nin pH değerleri sırasıyla 5.04 ve 5.29 olarak ölçülmüştür. Ekşi hamur kullanım oranları da STE’de %6.99, SPE’de %11.45’dir. Ekşi hamur ekmeklerinin rutubet içeriklerindeki yüksekliğin küf üremesini teşvik edici bir unsur olduğu da göz önünde bulundurulursa, bu asitlik düzeyinin küf gelişimini engellemede yeterli olmadığı düşünülmektedir. Özellikle glutensiz ekmekte ekşi hamur kullanımını çalışmalarında buğday ununa muadil olarak kullanılan nişasta, kıvam arttırıcı veya diğer tahıl unlarının su bağlama kapasitelerinin fazla olması nedeniyle ekşi hamurun küf gelişimini engellemede yetersiz kaldığı belirtilmektedir [202].

Ekmek biyoaktif nitelikleri

Çalışmanın ilk bölümünde elde edilen optimizasyon sonuçlarına göre üretilen SPE ve STE biyoaktif özellikleri açısından da NE’ye göre karşılaştırıldığında ekşi hamur kullanılan STE ve SPE’nin NE’e göre olumlu biyoaktif nitelikler gösterdiği tespit edilmiştir.

Toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve ferulik asit içeriği

Ekmeklerin DPPH radikali üzerindeki % inhibisyon değerleri karşılaştırıldığında ekşi hamur kullanılan STE (% 19.51) ve SPE (% 11.92)’nin, NE (% 6.37)’e göre daha yüksek inhibisyona sahip olduğu belirlenmiştir. Ekmeklerin antioksidan aktivitelerinin

troloks eşdeğerleri ($\mu\text{g/mL}$) karşılaştırıldığında ise buna paralel sonuçlar elde edilmiştir. Toplam feneolik madde içeriklerinde de aynı paralellik tespit edilmiştir. Her üç özellik açısından da en yüksek değerlere sahip ekmek STE'dir ve ekşi hamur kullanılan ekmeklerin değerleri NE'ye göre daha yüksektir. Literatürde de buna benzer sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Buğday kepeği-un karışımı ve çavdar ununun ekşi hamur fermentasyonuna maruz bırakıldığında, antioksidatif potansiyelinin normal ürünlere göre çok daha yüksek olduğu belirtilmektedir [148,152]. Hayta vd. [289] tarafından yapılan çalışmada farklı oranlarda üzüm posası katılan ekmeklerin antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmış, posa katılmayan (un, tuz, şeker, maya, askorbik asit, hemiselüloz içeren) kontrol ekmeğinin % inhibisyonu %11.06 bulunmuştur. Bu çalışmada NE'nin % inhibisyonu % 6.37'dir, ancak un, su maya ve tuz'dan üretilmiştir. Buna göre bulunan değer esas alındığında ve ekşi hamur kullanılan ekmeklerin değerleri göz önünde bulundurulduğunda, ekşi hamur kullanımı antioksidan aktiviteyi arttırmıştır.

Fırıncılık ürünlerinde antioksidan kapasitenin çeşitli faktörlerden olumlu veya olumsuz yönde etkilendiği bilinmektedir. Bunlardan en önemlisi unlardaki yüksek ekstraksiyon oranıdır ki son üründe yüksek antioksidan kapasiteye neden olur. Ancak ürünün pişirilmesi sırasında uygulanan ısı işlemin un ve hamura göre son üründe düşüşe neden olduğu bilinmektedir [248]. Tez çalışmasında STE'nin antioksidan aktivitenin diğerlerine göre çok daha yüksek çıkmasında içerdiği kepek miktarının etkili olduğu düşünülebilir. Ancak SPE'nin kepek içeriği oldukça düşüktür ve bu açıdan NE'ye benzer niteliktedir. Buna rağmen antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği daha yüksektir. Bu farkı oluşmasında da ekşi hamur kullanımı etkili olmuştur.

Ekşi hamur fermentasyonunun antioksidatif aktivitede artışa neden olması farklı biyokimyasal ve metabolik olaylarla açıklanabilir. Ekşi hamurdaki LAB'lerinin metabolizması, fermentasyon süresince lipit oksidasyonu yapabilir veya kuvvetli antioksidatif etki oluşturabilir. Homofermentatif laktobasillerin lipit oksidasyonunu arttırdığı bilinmektedir [115]. Ayrıca pişme sırasında, indirgen şekerlerin karbonil grupları ve proteinler arasındaki reaksiyonun sonucu olarak Maillard reaksiyon ürünleri de baskın olarak ekmek kabuğunda meydana gelmektedir. Bu ürünler insan sağlığına zararlı olduğu tartışılmakla birlikte, yapılan bazı çalışmalar bu bileşiklerin antioksidan özellik taşıdığını ve fırıncılık ürünlerinin özellikle kabuk kısımlarının da bu özelliği kazanmasına neden olduklarını belirtmektedir [248]. Çalışmada ekşi hamur

ekmeklerinin kabuk a^* (kızılılık) değerlerinin daha yüksek olması Maillard reaksiyon ürünleri ve pigment oluşumu ile ilişkilendirilebilir. Çünkü Maillard reaksiyon ürünlerinin en önemlilerinden biri de melanoidin pigmentleridir ki melanoidinlerin üstün radikal süpürme özellikleri, oksijenle reaksiyonları, $O_2^{\bullet-}$ ve $OH^{\bullet}$ gibi ürünlerle reaksiyonları ile açıklanmaktadır [290] Bu alanda HMF (hidroksi metil furfural), L^*, a^*, b^* renk değerleri ve antioksidatif aktivite arasındaki ilişkiyi açıklamaya yönelik çalışmalar da mevcuttur [291,292].

Diğer bir yaklaşım da, ekşi hamur fermentasyonu ile meydana gelen asidifikasyon ve proteoliz arasındaki etkileşimin sonucunda biyoaktif peptitlerin oluşumudur [89,293]. Biyoaktif peptitler insan vücut fonksiyonlarını ve kondüsyonunu direkt etkileyen spesifik protein fragmentleridir. Genellikle, biyoaktif peptitler bitkisel proteolitik enzimler ile mikrobiyal ve sindirim enzimlerinin bazı doğal proteinleri hidrolizi sonucunda meydana gelirler ve çoğunlukla gıdaların fermentasyonu sürecinde miktarları artar. Bu peptitlerin mineral bağlama, antioksidatif, antihipertansif etkileri vardır. Seçilmiş bazı LAB'lerinin ekşi hamur fermentasyonu süresince antioksidan peptitler ürettikleri tespit edilmiştir [293].

Fermentasyon sırasındaki asitlik gelişiminin bu değişimde etkili olduğu düşünülmektedir. Artan asitlikle birlikte toplam fenolik madde içeriğinde artış beklenirken, tiamin, ferulik asit dehidromerleri, tokoferoller ve tokotrienollerde azalma beklenmektedir [160]. Ancak ekşi hamur fermentasyonunda biyoaktif bileşen düzeylerindeki bu değişimin mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır [133].

Ferulik asit içeriği NE'de en yüksek seviyede (67.7 mg/kg) tespit edilmiştir. Ekşi hamur kullanılarak hazırlanan SPE (39.1 mg/kg) ve STE (23.8 mg/kg)'de ise daha düşük bulunmuştur. Ekmeklerin ferulik asit içerikleri arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemlidir ($p < 0.05$). Bu durumda ekşi hamur kullanımına bağlı ferulik asit içeriğinde azalma meydana geldiği söylenebilir. Bu alanda yapılan çalışmalar fermentasyon ve buna bağlı asitlik ve enzim aktivitesi artışı ile tiamin ve ferulik asit gibi bioaktif bileşenlerin azalabileceğini bildirmektedir [161]. Ayrıca ısı ve mikroorganizmaların fenolik asitleri bazı kimyasal bileşiklere ayrıştırabileceği ve bu dönüşümün de kuvvetli aroma oluşumuna neden olacağı bildirilmektedir. Örneğin ferulik asitin 2-metil, 4-vinil fenol kaynağı olduğu belirtilmektedir [48]. Fermentasyon

koşullarının fenolik bileşiklerin seviyesi üzerine etkili oldukları da bilinmektedir. Katina *et al.* [161] tarafından yapılan bir çalışmada, fermente buğday kepeği kullanımının ekmekteki folat ve ekstrakte edilebilir toplam fenolikler ile serbest ferulik asit içeriğinin arttırdığı, ancak fermentasyon koşullarının ferulik asit düzeyini değiştirdiği tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık (35 °C) ve uzun fermentasyon süresinin (20 h) ferulik asit düzeyini düşürdüğü, serbest ferulik asit içeriğinin en fazla pH 6.0–6.5 fermentasyon asitlik düzeyinde elde edildiği, pH 3.9-4.1 asitlik düzeyinde ise en düşük seviyede elde edildiği belirtilmektedir. Yüksek sıcaklık ve uzun fermentasyon süresinde serbest fenolik asitlerin seviyesi fermente olmamış kepekteki ile aynı düzeyde bulunmuştur. Çalışmadaki ekmek örneklerinin tümünün aynı süre ve sıcaklıkta pişirildiği göz önünde bulundurulursa ekşi hamur ilaveli ekmeklerdeki ferulik asit miktarındaki düşüşün özellikle fermentasyon kaynaklı asitlik artışı kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Ferulik asitin enzimatik degradasyonunun, ferulik asit esteraz (FAE) ile ester bağlarının parçalanmasına bağlı olduğu bildirilmektedir. Esterazlar, ksilanaz içeren hemiselülozlar gibi arabinoksilan parçalayan enzimler ile sinerji içinde çalışırlar. Selülozlar ve proteazlar ayrıca kepeğin hücre duvarı matriksindeki çapraz bağlı yapının da açılmasını sağlarlar [294]. Bazı LAB'nin de FAE aktivitesi gösterdiği bilinmektedir. *In vitro* koşullarda yapılan bir çalışmada bazı *Bacillus* spp. ve laktobasillerin FAE aktiviteleri incelenmiş, en yüksek aktiviteye sahip LAB *L. fermentum* olarak belirlenmiştir [295]. Yapılan çalışmada alınan sonuçlar, ekşi hamur ekmeklerinde artan asitlikle birlikte, gerek LAB kaynaklı gerekse tahıl kaynaklı proteaz aktivitesinin arttığını göstermektedir. Enzim aktivitesindeki artışın tahılların hücre duvarının açılmasını teşvik ettiği ve LAB'lar tarafından üretilen FAE ile ferulik asitin parçalanmış olabileceği de ferulik asit miktarındaki düşüşü açıklayan bir başka yaklaşımdır.

Ayrıca, yalnızca hamur yoğurma işlemi ferulik asit içeriğinde önemli azalmaya neden olurken, diğer fenolik bileşiklerin hiç birisinde hamur yoğurma, kabarma veya pişirme aşamalarında herhangi bir değişiklik olmadığı bildirilmektedir [160]. Liukkonen *et al.* [148] tarafından ekşi hamurun çavdar fenolik asit düzeyleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışma da benzer sonuçlar bulunmuştur.

Mineral madde içeriği ve kül sindirilebilirlik oranı (KSO)

Ekmek örneklerinde KSO'ları arasındaki farklılık önemli ($p<0.05$) bulunmuştur. Ekşi hamur ilaveli ekmeklerde ve özellikle STE'de bu oran %91.49 düzeyine kadar yükselmiştir. Hububat ve baklagillerde yaygın olarak bulunan fitik asit, vücut için gerekli olan birçok mineral ile çözünmeyen kompleksler oluşturarak, bunların biyoyararlılığını düşürmektedir. Oysa LAB'lerinin en önemli metabolitlerinden olan fitaz enzimi tanedeki fitik asitin parçalanmasını sağlamaktadır. Ekşi hamur kullanımıyla LAB'lerinin fitaz aktivitesi sonucu mineraller serbest kalmış, böylece sindirilebilir kül ve buna bağlı KSO'nında artış gözlenmiştir.

Ekşi hamur kullanılan STE ve SPE'nin mineral madde düzeylerinin genel olarak NE'ye göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu noktada optimizasyon sonucu önerilen kepek içeriklerindeki farklılıkların da etkili olduğu söylenebilir. Tablo 3.42'deki ekmeklerin toplam kül miktarları arasındaki farklılık da bunu doğrular niteliktedir.

Mineral madde içeriği ve KSO'ları bir arada değerlendirildiğinde, STE'de kepek ilavesinden gelen yüksek mineral madde içeriği olmasına rağmen ekşi hamur kullanımıyla birlikte % 91.49 düzeyinde KSO'nına ulaşılmıştır. Ekşi hamur kullanılan diğer ekmek SPE'de % 0.9237 kül ve toplam mineral içeriğinde genel olarak NE'ye göre yükseklik olmasına rağmen %76.57 KSO oranı tespit edilmiştir.

Elde edilen bu sonuçlar göstermektedir ki ekmeklerin kepek içeriğine bağlı olarak mineral madde miktarında artış meydana gelmektedir. Ancak önemli olan mineral madde içeriğindeki artış değil bundan yararlanım oranıdır. Ekşi hamur kullanımı ekmek içeriğindeki KSO'nını artırmakta yani minerallerin biyoyararlanımını yükseltmektedir. Ekşi hamur gibi fermente bir ürün olan tarhanada, sindirilebilir protein ve kül miktarı üzerine maya, malt unu ve fitaz katkılarının etkilerinin incelendiği bir çalışmada, tarhana hamurlarında % 68.32 olan kül sindirilebilirlik oranının, fermentasyondan sonra tarhanada % 82.07'e çıktığı, malt unu ve fitaz enzimi katkılarının fermentasyonun kül sindirilebilirlik oranı üzerindeki etkisini arttırdığı belirlenmiştir [256].

Günümüz tüketici tercihlerinin ve ekmek üretim politikalarının tam buğday ekmeği ve kepekli ekmek yönünde değiştiği göz önünde bulundurulduğunda, ekşi hamur kullanımı yalnızca ekmeğin fiziksel kalite özelliklerini iyileştirmekle kalmayacak, mineral biyoyararlanım gibi önemli bir biyoaktif niteliği de geliştirmiş olacaktır.

Protein sindirilebilirlik oranı (PSO)

Bitkisel proteinlerden vücudun yararlanma oranı %75'in altındadır [296]. Ekmekteki PSO ise ekmek içeriğine göre değişik düzeylerde tespit edilmekle birlikte Dhingra *et al.* [297] tarafından en yüksek % 74 düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise yalnızca ekmek mayası, un, su ve tuz ile üretilen NE'nin % 58.70 PSO sahip olduğu tespit edilmiştir ki literatüre uygun olarak %75 düzeyinin altında bulunmuştur. Bunun yanısıra ekşi hamur kullanılan SPE ve STE de aynı içeriğe sahip olmasına rağmen PSO sırasıyla %89.77 ve %98.23 seviyesine yükselmiştir. PSO'larındaki yükseklik ekşi hamur ekmeklerinin tüketilmesi durumunda vücutta metabolize edilebilirliğinin yani günlük diyetdeki besinsel değerinin yüksekliğini ortaya koymaktadır. PSO'ndaki bu artışın LAB'lerinin sahip olduğu proteaz aktivitesi yanısıra, ürettikleri en önemli metabolit olan organik asitlerle ortam asitliğini arttırmaları ve tahılın doğal yapısında bulunan enzimleri aktif hale getirmeleridir. Böylelikle, hamurun yapısında hem direkt hem dolaylı olarak artan proteaz aktivitesi protein yapının parçalanmasına, bir anlamda insan vücudunda metabolize olmadan henüz ürün formunda ön-metabolize olmasına neden olmaktadır. Proteaz aktivitesi sonucu eriyebilir azotlu maddelerin artışının protein sindirilebilirlik oranını arttırabileceği bildirilmektedir [167,256,298]. STE'de bu oranın yüksek olması starter olarak ilave edilen LAB'lerinin daha etkin metabolit üretmelerinden dolayıdır. STE'de pH, TTA ve özellikle asetik asit içeriğinin daha yüksek bulunması da bunu destekler niteliktedir.

Fitik asitin proteinlerle reaksiyona girerek bunların sindirilebilirliğini azalttığı çeşitli kaynaklarda bildirilmiştir [299,300,301]. Fitik asit, proteinlerin izoelektrik noktalarından daha düşük pH değerlerinde proteinlerle kompleks oluşturarak proteinlerin sindirilebilirliğini de azaltmaktadır [299,300]. Fitaz enzimi ise, fitik asiti parçalayarak proteinle reaksiyona girmesini engellemektedir. LAB'lerinin en önemli metabolitlerinden biri de fitaz enzimidir. Ekşi hamur katkılı örneklerde protein sindirilebilirlik oranının yüksek olmasının fitaz etkinliğinden de kaynaklandığı düşünülmektedir. Ekşi hamura fermentatif yönüyle çok benzeyen tarhanada PSO'nın araştırıldığı bir çalışmada tarhana yapım prosesinin PSO'nı %93'e kadar yükselttiği belirlenmiştir [256]. Aynı çalışmada dışarıdan ilave edilen fitaz enzimi, maya ve malt katkısının PSO'nı arttırdığı tespit edilmiştir.

Enzime dirençli nişasta (EDN) içeriği

EDN ince bağırsakta vücut enzimleri tarafından parçalanamayan nişastadır. Kalın bağırsağa geçtikten sonra bir kısmı ya da tamamı fermente olur. Dirençli nişasta genellikle toplam diyetleri oluşturan komponentlerden birisidir. Enzimatik hidrolize dayanıklı bu nişasta fraksiyonu ilk olarak Englyst *et al.* [180]'in nişasta olmayan polisakkaritlerin ölçülmesi hakkındaki araştırmalarında tanımlanmıştır.

Genel olarak buğday unu kaynaklı ekmeklerdeki EDN içeriğinin $< 2\%$ olduğu belirtilmektedir [302,303]. Bu çalışmadaki ekmek örneklerinin EDN içerikleri karşılaştırıldığında STE'in 2.383 (g/100g kuru örnek) en yüksek içeriğe sahip olduğu, bunu SPE (1.678) ve NE (1.505)'nin takip ettiği belirlenmiştir. Örneklerin EDN içerikleri arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur. Çalışmada daha önceki bulgulara paralel olarak ekşi hamur kullanılan ekmeklerde *in vitro* nişasta hidrolizinin daha az yani dirençli nişasta miktarlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [304,305]

En düşük EDN içeriğine sahip ekmek NE olarak belirlenmiştir ki beyaz buğday ekmeği gibi nişastalı gıdalarda, nişasta yüksek oranda jelatinize olmakta ve sonuçta ince bağırsakta nişastanın hızlı degradasyonu ve kan glikoz seviyesinde hızlı artış meydana gelmektedir [108]. Buğday ekmeği için, ön fermentasyon teknolojisi (ekşi hamur) kullanmanın ve çözünür lif ilavesinin EDN içeriğini arttırdığı dolayısıyla glisemik indeksi düşürdüğü belirtilmektedir Ekşi hamur kullanılan STE ve SPE nin hem kendi aralarındaki, hem de NE'ye göre dirençli nişasta içerikleri arasındaki farklılığın bu iki nedenden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu alanda yapılan farklı çalışmalar ekmek formülasyonlarına ilave edilen farklı tahıl unlarının, kıvam arttırıcıların ekmekteki EDN içeriğini de arttırdığını belirtmektedir. Ragae *et al.* [306] tarafından yapılan çalışmada buğday unundan yapılmış kontrol ekmeğinde 4 g EDN (100g toplam nişasta üzerinden) tespit edilirken, ekmeğe % 30 oranında farklı tahıl unları ilave edilmesi durumunda EDN içeriğinin % 6-10 (100 g toplam nişasta üzerinden) arasında değiştiği tespit edilmiştir. Tahıl unlarıyla gelen farklı diyet lif içeriği ekmeğin EDN içeriğini etkilemektedir. Tas *et al.* [307] buğday ununa %30 tam buğday unu katılması durumunda ekmekteki EDN içeriğinin 6g/100g olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmadaki örnekler de optimizasyondan gelen farklı kepek içeriklerine sahiptirler.

STE ekşi hamurdan gelen 10.85 g kepek/475.65 g un, SPE ise 0.72 g/464.29 g un kepek içeriklerine sahiptirler. NE’de ise ekşi hamur kullanılmadığından dolayı dışarıdan kepek ilave edilmemiştir. Literatürle benzer olarak çalışmadaki ekmeklerin EDN miktarlarındaki artışın kepek içeriklerinden de etkilenmiş olduğu söylenebilir.

Bunun yanı sıra ekşi hamur kullanımı, nişastanın enzimatik hidrolizini azaltarak dirençli nişasta içeriğinde artışa neden olmakta böylece glisemik indeksi de düşürerek ekmeğin besinsel kalitesini arttırmaktadır [308]. Bu mekanizma, tam olarak açıklanamamasına rağmen ekşi hamur kullanımıyla ortamda organik asitlerin özellikle de laktik asitin bulunması nişasta hidrolizini (sindirimini) düşürmektedir [309]. Bu etki, ekşi hamur veya laktik asit ilavesinin ekmeğin pişirme sürecinde amilopektin kısımlarının biraraya gelmesine ve dallanmasına engel olarak nişasta retgradasyonunu engellemesi [310] ve böylece dirençli nişasta oluşumunu arttırması şeklinde izah edilebilir [190]. Buğday ekmeğinde, ısıtıl işlem öncesi hamura ilave edilen laktik asitin, nişasta jelatinizasyonu süresince glüten-nişasta interaksiyonunu teşvik ettiği böylece nişasta sindirim hızını azalttığı da belirtilmektedir [309]. Bu etkileşim glütensiz ürünlerde ekşi hamur kullanımının araştırıldığı çalışmalarda laktik asitin yalnızca glüten varlığında nişasta sindirimini azaltığının belirlenmesiyle ortaya çıkmıştır [202,309].

Diğer taraftan ekşi hamur ilavesinin nişastanın enzimatik hidrolizini azaltması, ekşi hamurun yapısından gelen organik asitlerin nişastayı hidrolize eden enzimlerin çalışmasını engellemesiyle de açıklanabilir. Çünkü yapılan *in vitro* çalışmalar hamurda laktik asit bulunmasının buğday veya arpa ekmeğinde *in vitro* nişasta hidrolizini düşürdüğünü göstermektedir. Bu durum laktik asitin, bazı tahıl ürünlerinin sindirim prosesini engellediği şeklinde yorumlanmaktadır [202]. Çünkü insan sindirim sistemini taklit eden *in vitro* sindirim simülasyonu çalışmalarında da sindirim enzimleri belirli asidik ortamlarda çalışmaktadırlar. Çalışmada *in vitro* dirençli nişasta tayininde kullanılan amiloglikozidaz ve pankreatik amilaz enzimleri de nötr (pH 6.9-7.0) malat tampon ortamında kullanılmıştır. Yapılan bazı çalışmalar da organik asitlerin oluşumuyla düşen pH’nın, hidroliz süresince α -amilazın inhibe olabileceğini göstermektedir [304,305,308]. Bu çalışmada starter olarak kullanılan özellikle *L.plantarum* kuvvetli asit üreten LAB olarak bilinmektedir [202]. Spontan fermentasyonda ise 4 kademeli yöntem kullanılarak 4-6 saatte pH 4.5’a gelmesi sağlanarak asidik ortam oluşturulmuştur. Her iki yöntemin de ekmeklerdeki (STE, SPE)

laktik asit üretimini arttırdığı ve NE'e göre çok üst seviyelere çıkardığı tespit edilmiştir (Tablo 3.24). Ekşi hamur ilavesiyle ekmeğin ulaştığı asidik yapının, nişastanın enzimatik hidrolizini engellemede etkili olduğu düşünülmektedir.

Farklı bir yaklaşım olarak, ekşi hamur kullanımıyla sağlanan ekmek hamurundaki organik asit içeriğinin dirençli nişasta oluşumunda direkt etkisi olabileceği de belirtilmektedir [202].

Çalışmadan elde edilen çıkarımlar, özgün değer ve çalışma önerileri

Genel Çıkarımlar

- Optimizasyon sonuçlarına göre SPE için %1.10, STE için de %1.05 olarak belirlenmesi her iki fermentasyon yöntemi için de instant aktif maya kullanımının ortalama % 1 kullanımını optimal kılmıştır ki, bu sonuç literatürle benzer niteliktedir.
- EDS ve KE değerlerini maksimum sağlayacak kepek oranı SPE'de %1.58 iken, STE'de %38.84'tür. Yani ekşi hamur yapımında starter LAB kullanımı durumunda ekmekte daha fazla kepek kullanılabilir.
- Spontan fermentasyon yöntemi günümüz ekmek endüstrisinde hala kullanılmaktadır. Bu yöntemin etkin olabilmesi için kademeli fermentasyon yönteminin uygulanması (en az 4 kademe), pH 4.5 düzeyine 4-6 saat arasında gelebilmesini sağlamaktadır ki bu da ekmeğe ilave edilebilecek (10^7 kob/g) yeterli düzeyde LAB içerdiğini göstermektedir.
- Çalışmada mikrobiyal sayım açısından aynı düzeyde LAB içeren ekşi hamurlar kullanılmasına rağmen, hamur ve ekmek özellikleri genel olarak değerlendirildiğinde, miktarın değil LAB profilinin ve metabolitlerinin daha önemli olduğu ortaya çıkmıştır. SPE'de %11 ekşi hamur kullanılmasına rağmen, STE'de %6 düzeyde ekşi hamur kullanılması ve genel olarak daha etkin sonuçlar alınması bu görüşü doğrular niteliktedir.
- Ekşi hamur kullanımının ekmeğin biyoyararlanımını arttırdığı tespit edilmiştir. Günümüzde endüstriyel olarak kullanımı devam eden spontan fermentasyon yönteminin bu konuda standart ekmeği limitlerin üzerine taşıdığı belirlenmekle birlikte uygun starter LAB kullanımının bu konuda çok daha etkin olduğu tespit edilmiştir.

- Ekşi hamur kullanılan ekmeklerin özellikle de starter LAB kullanılarak hazırlanan STE'nin BO, EK, RK ve nişasta retrogradasyonu açısından raf ömrünü uzatıcı etki gösterdiği belirlenmiştir.
- Genel tekstürel özellikler açısından değerlendirildiğinde ekmeklerin yeme niteliklerindeki en büyük kayıp ilk 3 gün içinde meydana gelmektedir. TPA ve mikro yapı sonuçları bu konuda paralellik göstermektedir.
- Ekşi hamur kullanılması durumunda meydana gelen etkin asidifikasyon ekmek hamuru yapısında protein ve nişasta interaksyonunu güçlendirmiş. Bu da enzime dirençli nişasta miktarında artış sağlamış. Nişasta-protein interaksyonun daha güçlü olması raf ömrü süresince nişasta granüllerinin kendi aralarındaki etkileşimi azalttığından retragradasyonun azalmasına neden olmuştur.
- Çalışmada heterofermentatif ve homofermentatif ko-kültür kullanımı özellikle STE'de organik asit, uçucu bileşikler, biyoaktif nitelikler açısından bu ekmeğin farklı sonuçlar ortaya koymasını sağlamıştır. Bu da, ekşi hamur yapımında starter olarak kullanılan starter LAB metabolit niteliklerinin son ürüne kadar taşınabildiğini göstermektedir.
- Ekşi hamur ekmekleri fermentasyon yöntemleri açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında metabolit oluşturma özellikleri açısından belirli starterlerin seçiminin daha verimli olacağı, böylelikle ekmek nihai özelliklerinin kontrol altına alınabileceği blirlenmiştir.

Özgün değer ve gelecek çalışma önerileri

- Ekşi hamur ekmeği, proses koşulları üzerine çok fazla çalışma yapılmış olmasına rağmen, raf ömrü sürecini makro ve mikroyapı, aromatik profili, fizikokimyasal kalite nitelikleri ve biyoaktif nitelikler açısından değerlendiren optimizasyona dayalı kapsamlı bir çalışma daha önce yapılmamıştır.
- Ekşi hamur ekmeğinin raf ömrü süresince aromatik profilindeki değişimi uçucu bileşik kaybı ve yeni oluşan bileşikler açısından değerlendiren daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.
- Ekmek kalitesinin hacim, tekstür ve iç gözenek açısından bir arada değerlendirilmesini sağlayan EDS'nin hesaplanmasında "iç gözenek" yapısı Dallman

skalasına göre görsel olarak kullanılmaktayken, ilk defa bu çalışmada görüntü analizi (image analyse) yöntemiyle Image ProPlus yazılımı kullanılarak gözenek sınıflandırması yapılarak hesaplanmıştır.

- Ekmeğin raf ömrü süresince bayatlamasını ifade etmede kullanılan Esneklik Kaybı (EK), Rutubet Kaybı (RK₁, RK₂) kavramları ilk defa bu çalışmada kullanılmıştır.
- Ekşi hamur ekmekleri SPE ve STE kendi arasında değerlendirildiğinde genel ürün özellikleri açısından STE'nin daha üstün özelliklere sahip olduğu söylenebilir. Çalışmada STE üretiminde starter olarak kullanılan LAB'leri liyofilize formda temin edilerek laboratuvarda canlandırma ve starter forma getirme aşamalarından sonra ekmek hamuruna ilave edilmiştir. Yani starter kullanımı laboratuvar ön işlemleri gerektirmektedir. Çalışma sonunda ortaya konulan bu niteliklerin ekmek sanayiine kazandırılması gerekli görülmekle birlikte, günümüz ekmek sektörünün %70'lik bölümünün küçük fırınlardan oluştuğu göz önünde bulundurulduğunda starter kullanımının fırıncılık sektörüne aktarımı yöntemlerinin araştırılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır.
- Çalışmada, günümüzde endüstriyel olarak kullanılan spontan fermentasyon ve starter LAB ilaveli fermentasyon yöntemleri karşılaştırılmıştır. Spontan fermentasyon yönteminde kademeli fermentasyon tekniği kullanılarak hedeflenen (10⁷ kob/g) LAB sayısına erişilerek 4-6 saatte pH 4.5'a ulaşılmıştır. Ancak elde edilen ekşi hamurun LAB profili bilinmemektedir. Günümüz ekmek sektöründe de kullanılan kademeli fermentasyon yöntemi LAB sayısını arttıran bir yöntem olmasına rağmen, asidik ortama dayanıklı bazı LAB türlerinin varlığını devam ettirmesine olanak sağlarken, bazılarının da yok olmasına neden olmuş olabilir. Dolayısıyla her kademe için LAB profilinin belirlenmesi fermentasyon sürecinde LAB türlerinin değişimini ortaya çıkartacaktır.

Ayrıca çalışmada, LAB'leri bir arada kullanılmışlardır. Bireysel olarak kullanılarak, ekmek kalite nitelileri üzerindeki etkilerinin de araştırılabileceği düşünülmektedir.

- Özellikle starter LAB ilaveli fermentasyon yönteminin ekmeğin kalite nitelikleri üzerindeki etkisinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Günümüz ekmek tüketim tercihleri sağlıklı, katkısız, lif oranı yüksek ürünler yönünde değişmektedir. Bu tez kapsamında yapılan çalışmaların tam buğday ekmeği, farklı tahıl ve fraksiyonlarını içeren ekmekler

için de uygulanarak, özellikle ekmeklerin biyoaktif ve raf ömrü niteliklerinin ortaya çıkartılması, tüketiciler ve ekmek sektörü için veri oluşturacaktır.

- Çalışma sonucu, ekşi hamur kullanımının NE'e göre belirgin farklılıklar ortaya koyması, bu yöntemin maya ile kabartılmayan diğer fırıncılık ürünlerinde kullanımının da olumlu katkı sağlayacağını düşündürmektedir.
- Çalışmada biyoaktif nitelikler kapsamında protein ve kül sindirilebilirliği ile EDN, *in vitro* olarak belirlenmiştir. Gıdaların bileşenlerinin, sindirim sonucunda biyoyararlanımını ortaya çıkartan bu yöntemlerin diğer gıda bileşenleri için de geliştirilebileceği, ayrıca insan sindirim sistemindeki enzimatik/asidik yapı ve ortam koşullarını esas alan bu yöntemlerin çeşitliliğinin de arttırılabileceği düşünülmektedir.
- Bu tez çalışmasında response olarak alınan ve ekmeğin genel değerlendirme kriteri olan EDS formülündeki Gözenek Faktörü imaj analizi yöntemiyle daha objektif hale getirilmiştir. Formül içeriğindeki Ekmek İçi Değerleri faktörünün de TPA analizinden faydalanılarak rakamsal forma dönüştürülebileceği, böylece EDS'nın tamamen objektif bir değerlendirme yöntemine dönüştürülebileceği düşünülmektedir.
- Özellikle mineral ve protein biyoyararlanımının artışında temel faktör olan fitik asitin parçalanması teorisi fitik asit tayini ve fitaz enzim aktivitesinin ölçülmesi ile birlikte yapıldığında ve biyoyararlanım ölçümleri ile birlikte değerlendirildiğinde biyoyararlanım mekanizması ve etki eden faktörler daha fazla aydınlatılmış olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Elgün,A., Ertugay, Z., 2011. Tahıl İşleme Teknolojisi, Atatürk Üniversitesi Yayınları, No:718, Erzurum.
2. Hansen, A., Schieberle, P., 2005. Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: applied and fundamental aspects. **Trends in Food Science and Technology**, **16**:85-94.
3. Kotancılar, H.G., Çelik, İ., Karaoğlu, M.M., 1998. Trabzon Vakfıkebir Ekmeği. **Un Mamülleri Dünyası**, 7:4 – 14.
4. Boyacıoğlu,H., 2010. Küresel ekmek tüketiminde son eğilimler, Doruk Grup Hububat ve Ürünleri Estitüsü Araştırma Notları.
5. Şimşek, Ö., Çon, A.H., Tulumluoğlu,Ş., 2006. Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. **Food Control**, **17**: 263–270.
6. Gobbetti, M., Corsetti, A., Rossi, J., 1995a. Interaction between lactic acid bacteria and yeasts in sourdough using a rheofermentometer. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, **11**:625–630.
7. Gobbetti, M., Simonetti, M. S., Corsetti, A., Santinelli, F., Rossi, J., Damiani, P., 1995b. Volatile compound and organic acid productions by mixed wheat sour dough starters: Influence of fermentation parameters and dynamics during baking. **Food Microbiology**, **12**: 497–507.
8. Corsetti, A., Gobbetti, B., De Marco, B., Balestrieri, F., Paoletti, F., Rossi, J. 2000. Combined effect of sourdough lactic acid bacteria and additives on bread firmness and staling. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **48**: 3044–3051.
9. Katina, K., Heinio, R. L., Autio, K., & Poutanen, K., 2006a. Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. **LWT, Food Science and Technology**, **39**: 1189-1202.
10. Chavan, R.S., Chavan, S.R., 2011. Sourdough Technology—A Traditional Way for Wholesome Foods: A Review. **Food Science and Food Safety**,**10**: 170-183.
11. De Vuyst, L., Neysens, P., 2005, The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions, **Trends in Food Science and Technology**, **16**:43-56.

12. Gobbetti, M., Corsetti A., 1998a, *Lactobacillus sanfrancisco* a key sourdough lactic acid bacterium: a review. **Food Microbiology**, **14**: 175-187.
13. Spicher, G., Nierle, W., 1984. Die Mikroflora des Sauerteiges XVIII. Mit. Das eiweissabbauvermögen der Milchsäurebakterien des Sauerteiges, **Z. Lebensm. Unters. Forsch.** **178**: 389-392.
14. Corsetti, A., Lavermicocca, P., Morea, M., Baruzzi, F., Tosti, N., Gobbetti, M., 2001, Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy. **International Journal of Food Microbiology**, **64**:95–104.
15. Galli, A., Franzetti, L., & Fortina, M. G., 1987. Isolation and identification of yeasts and lactic bacteria in wheat flour. **Microbiologie–Aliments–Nutrition**, **5**: 3–9.
16. Lönner, C., Welender, T., Molin, N., Dostalek, M., 1986, The microflora in a sourdough started spontaneously on typical swedish rye meal. **Food Microbiology**, **3**: 3 -12.
17. Okada, S., Ishikawa, M., Yoshida I., Ohara, N., Kozaki, M., 1992, Identification and characteristics of lactic acid bacteria isolated from sourdough sponges. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, **56**: 572-575.
18. Gül, H., Özçelik, S., Sağdıç, O., Certel, M., 2003, Sourdough bread production with lactobacilli and *S.cerevisiae* isolated from sourdoughs. **Process Biochemistry**, **40**:691-697.
19. Menteş, M., Akçelik, M., Ercan R., 2004, Türkiye ‘de üretilen ekşi hamurdan laktobacillus suşlarının izolasyonu, identifikasyonu ve bu suşların temel endüstriyel özellikleri. **Gıda**, **29**:307-315
20. Low, B.A., Hansen, E.B., 1997, Microbiology and Biochemistry of cheese and fermented milk, Low, B.A. (eds), Blackie Academic and Professional, London, 337s.
21. Caplice, E., Fitzgerald, G.F., 1999, Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. **International Journal of Food Microbiology**, **50**: 131-149.
22. Kleanhammer, Y.R., 1998, Bacteriocins of lactic acid bacteria, **Biochimie**, **70**: 337-349.

23. Corsetti, A., Settanni, L., 2007. Lactobacilli in sourdough fermentation. **Food Research International**, **40**: 539–558.
24. Oura, E., Suomalainen, H., Viskari, R., 1982. Breadmaking. in Fermented Foods. Economic Microbiology, Vol. 7. p 87-146A. H. Rose, ed. Academic Press: London.
25. Özcangaz, Ç., 2000. Characterization of Lactic Isolates From Turkish Sourdough and Interactions with Yeast, Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara.
26. Katina, K., Sauri, M., Alakomi, H.-L., Mattila-Sandholm, T., 2002, Potential of lactic acid bacteria to inhibit rope spoilage in wheat sourdough bread, **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, **35**: 38–45.
27. Meignen, B., Onno, B., Gelinas, P., Infantes, M., Guilois, S., Cahagnier, B., 2001. Optimization of sourdough fermentation with *Lactobacillus brevis* and baker's yeast. **Food Microbiology**, **18**: 239–245.
28. Gobbetti, M., Lavermicocca, P., Minervini, F., De Angelis, M., & Corsetti, A., 2000. Arabinose fermentation by *Lactobacillus plantarum* in sourdough with added pentosans and α-L-arabinofuranosidase: a tool to increase the production of acetic acid. **Journal of Applied Microbiology**, **88**: 317–324.
29. Dinçer, A., ve Çam, G., 1992. Ekmek üretiminde starter kültür kullanımı ve ekşi hamur fermantasyonu, *Gıda Mühendisliği Kongresi*, İzmir, s.104-109.
30. Gobbetti, M., Corsetti, A. and Rossi, J. 1994. The sourdough microflora. Interactions between lactic acid bacteria and yeasts: metabolism of amino acids. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, **10**: 275-279.
31. Gusils, C., Gonzalez, S.N., Oliver, G., 1999. Some probiotic properties of chicken lactobacilli. **Canadian Journal of Microbiology**, **45**: 981– 987.
32. Miyamoto, T., Horie, T., Fujiwara, T., Fukata, T., Sasai, K., Baba, E., 2000, *Lactobacillus* flora in the cloaca and vagina of hens and its inhibitory activity against *Salmonella enteritidis* in vitro. **Poultry Science**, **79**: 7-11.
33. Deak, T., 2008. Handbook of Food Spoilage Yeasts, CRC Press, Boca Raton, London, New York, 326 p.
34. Jay, J.M., 1992. Modern Food Microbiology, 4th Edition, Chapman & Hall, London, 701 p.

35. Deak, T., Beuchat, L. R., 1996. Handbook of Food Spoilage Yeasts, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL. 210 p.
36. Gadaga, T. H., Mutukumira, A. N., Narvhus, J. A., 2001. The growth and interaction of yeasts and lactic acid bacteria isolated from Zimbabwean naturally fermented milk in UHT milk, **International Journal of Food Microbiology**, **68**: 21–32.
37. Campbell, N. A., Reece, J. B., 2006. Biyoloji (6. Baskı), Gündüz, E., Demirsoy, A., Türkan, G., Palme yayıncılık, Ankara, s.627
38. Succi, M., Reale, A., Andrighetto, C., Lombardi, A., Sorrentino, E., Coppola, R., 2003, Presence of yeasts in Southern Italian sourdoughs from *Triticum aestivum* flour. **FEMS Microbiology Letters**, **225**:143–148.
39. Stolz, P., 2003. Biological Fundamentals of Yeast and Lactobacilli Fermentation in Bread Dough. In: Kulp, K. and Lorenz, K. (eds.). Handbook of Dough Fermentations. Marcel Dekker, New York, pp. 23-43.
40. Salovaara, H. And J. Savolainen, 1984. Yeast type isolated from Finnish sour rye dough starters. **Acta Aliment. Polonica**, **10**: 241-245.
41. Martinez-Anaya, M.A., Pitarch, B., Bayarri, P., Benedito de Barber, C., 1990. Microflora of the Sourdoughs of Wheat Flour Bread. X. Interactions Between Yeasts and Lactic Acid Bacteria in Wheat Doughs and Their Effects on Bread Quality. **Cereal Chemistry**, **6**:85-91.
42. Ganzle, M.G., Ehrmann, M., Hammes, W.P., 1998. Modeling of growth of *Lactobacillus sanfranciscensis* and *Candida milleri* in response to process parameters of sourdough fermentation. **Applied Environmental Microbiology** **64**: 2616-2623.
43. De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., Harth, H., Huys, G., Daniel H. M., Weckx, S., 2014. Microbial ecology of sourdough fermentations: Diverse or uniform?, **Food Microbiology**, **37**:11-29.
44. Gobbetti, M., & Corsetti, A., 1997. *Lactobacillus sanfrancisco* a key sourdough lactic acid bacterium: a review. **Food Microbiology**, **14**:175–187.
45. Ottogalli, G., Galli, A., & Foschino, R., 1996, Italian bakery products obtained with sourdough: characterization of the typical microflora. **Advances in Food Science**, **18**:131–144.

46. Stolz, P., Bocker, G., 1996, Technology, properties and applications of sourdough products. **Advances in Food Science**, **18**: 234–236.
47. Hammes, W. P., Stolz, P., & Ganzle, M., 1996. Metabolism of lactobacilli in traditional sourdoughs. **Advances in Food Science**, **18**: 176–184.
48. Hansen, A., Hansen, B., 1996. Flavour of sourdough wheat bread crumb, **Z Lebensm Unters Forsch**, **202**: 244–249.
49. Schnürer, J., Magnusson, J., 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives, **Trends in Food Science & Technology**, **16**: 70–78.
50. Dalié, D. K. D., Deschamps, A.M., Richard-Forget, F., 2010. Lactic acid bacteria – potential for control of mould growth and mycotoxins: a review, **Food Control**, **21**: 370–380.
51. Narayanan, N., Roychoudhury, P. K., Srivastava, A., 2004. L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization, **Electronic Journal of Biotechnology**, **7**: 167–180.
52. Corsetti, A., Gobbetti, M., Balestrieri, F., Paoletti, F., Russi, L., Rossi, J., 1998. Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and staling. **Journal of Food Science**, **63**: 347–351.
53. Theron, M. M. ve Lues, J. F. R., 2011. Organic Acids And Food Preservation. CRC Press, ABD. pp. 21–95.
54. Yang, E. J., Chang, H. C., 2010. Purification of a new antifungal compound produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi, **International Journal of Food Microbiology**, **139**: 56–63.
55. Nes, I.F., Diep, D.B., Havarstein, L.S., Brurberg, M.B., Eijsink, V., Holo, H., 1996. Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, **70**: 113–128.
56. Rosenquist, H., Hansen, A. 1998. The antimicrobial effect of organic acids, sour dough and nisin against *Bacillus subtilis* and *B. licheniformis* isolated from wheat bread. **Journal of Applied Microbiology**, **85**: 621–631.
57. Spicher, G., 1983. Bedeutung and Biologie der Milchsäurebakterien des Sauerteiges. **Brot Backwaren** **10**: 271–273.
58. Legan, J.D., 1993. Mould spoilage of bread: the problem and some solutions. **International Biodeterioration and Biodegradation**, **32**: 33–53.

59. Rosenkvist, H., Hansen, A. 1995. Contamination profiles and characterisation of *Bacillus* species in wheat bread and raw materials for bread production. **International Journal of Food Microbiology**, **26**: 353–363.
60. Keshri, G., Voysey, P., Magan, N., 2002. Early detection of spoilage moulds in bread using volatile production patterns and quantitative enzyme assays. **Journal of Applied Microbiology**, **92**:165–172.
61. Farkas, J., 2001. Physical Methods for Food Preservation. (M. P. Doyle, L. R. Beuchat, & T. J. Montville Editör), Food microbiology: Fundamentals and frontiers (p. 67–592). Washington: ASM Pres.
62. Rossi, J., 1996. The yeasts in sourdough, **Advances in Food Science**, **18**:201–211.
63. Gourama, H., 1997. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Penicillium* by *Lactobacillus* species. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**, **30**:279–283.
64. Messens, W., De Vuyst, L., 2002. Inhibitory substances produced by lactobacilli isolated from sourdoughs – a review. **International Journal of Food Microbiology**, **72**: 31–43.
65. Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F., Chinkandas, M.L., 2001. Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. **International Journal of Food Microbiology**, **71**: 1-20.
66. Larsen, A.G., Vogensen, F.K., Josephsen, J., 1993 Antimicrobial activity of Lactic Acid Bacteria isolated from Sourdoughs: Purification and Characterization of Bavaricin A, a Bacteriocin Produced by *Lactobacillus bavaricus* N1401. **Journal of Applied Bacteriol.** **75**:113-122.
67. De Vuyst, L., Vandamme, E.J., 1994. Antimicrobial Potential of Lactic Acid Bacteria. (L. De Vuyst & E. J. Vandamme Editör). Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria: microbiology, Genetics and Applications p. 91–142. London: Blackie Academic and Professional.
68. Todorov, S., Onno, B., Sorokine, O., Chobert, J.M., Ivanova, I., Dousset, X. 1999. Detection and characterization of a novel antibacterial substance produced by *Lactobacillus plantarum* ST 31 isolated from sourdough. **International Journal of Food Microbiology**, **48**:167–177.

69. El-Ziney, M. G., Debevere, J. M., Jakobsen M., 2000. Reuterin in Naidu, A. S., eds, Natural Food Antimicrobial Systems, CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C.
70. Ouwehand A. C., Vesterlund, S., 2004. Antimicrobial Components From Lactic Acid Bacteria, (from Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Third Edition) CRC Press, Boca Raton, London, pp. 375-396.
71. Schieberle, P. 1996. Intense aroma compounds-Useful tools to monitor the influence of processing and storage on bread aroma. **Advances in Food Science**, **18**: 237-244.
72. Ganzle, M.G., 2014. Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. **Food microbiology**, **37**: 2-10.
73. Neumann, H., Stephan, H., Brümmer, J.-M., 2006. Roggen als Rohstoff und Technik der Roggensauerteigführung. In: Brandt, M.J., Gänzle, M.G. (Eds.), Handbuch Sauerteig. Behr's Verlag, Hamburg, pp. 185-284.
74. Thiele, C., Gänzle, G., Vogel, R.F., 2002. Contribution of sourdough lactobacilli, yeast, and cereal enzymes to the generation of amino acids in dough relevant for bread flavour. **Cereal Chemistry**, **79**: 45-51.
75. Spicher, G. and Nierle, W. 1988. Proteolytic activity of sourdough bacteria. **Applied Microbiology and Biotechnology** **28**: 487-492.
76. Schieberle, P., 1990. The role of free amino acids present in yeast as precursors of the odorants 2-acetyl-1-pyrroline and 2-acetyltetrahydropyridine in wheat bread crust. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung** **191**: 206-209.
77. Kawamura, Y., Yonezawa, D., 1982. Wheat flour proteases and their action on gluten proteins in dilute acetic acid. **Agricultural and Biological Chemistry** **46**: 767-773.
78. Pizzinatto, A., Hoskeney, R., 1980. Rheological changes in cracker sponges during fermentation. **Cereal Chemistry** **57**: 185-188.
79. Gobbetti, M., Smacchi, E., Fox, P., Spaniak, L., Corsetti, A., 1996. The sourdough microflora. Cellular localisation and characterization of proteolytic enzymes in lactic acid bacteria. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, **29**: 561-569.

80. Wehrle, K., Crowe, N., van Boeijen, I., Arendt, E., 1999. Screening methods for the proteolytic breakdown of gluten by lactic acid bacteria and enzyme preparations. **European Food Research and Technology** **209**:428-433.
81. Loponen, J., Mikola, M., Katina, K., Sontag-Strohm, T., Salovaara, H., 2004. Degradation of HMW glutenins during wheat sourdough fermentations. **Cereal Chemistry** **81**: 87-90.
82. Brijs, K., Bleukx, W., Delcour, J., 1999. Proteolytic activities in dominant rye (*Secale cereale* L.) grain. **Journal of Agriculture and Food Chemistry** **47**: 3572-3578.
83. Lin, W., Lochart, G. and Hoseney, R., 1993. Partially purified proteolytic enzymes from wheat flour and their effect on elongational viscosity of cracker sponges. **Cereal Chemistry** **4**: 448-452.
84. Thiele, C., Ganzle, G., Vogel, R. F., 2003. Fluorescence labelling of wheat proteins for determination of gluten hydrolysis and depolymerisation during dough processing and sourdough fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **51**: 2745–2752.
85. Thiele, C., Grassi, S., Gänzle, M., 2004. Gluten Hydrolysis and Depolymerization during Sourdough Fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** **52**: 1307-1314.
86. Di Cagno, R., De Angelis, M., Corsetti, A., Lavermicocca, P., Arnault, P., Tossut, P., Gallo, G. and Gobbetti, M., 2003. Interactions between sourdough lactic acid bacteria and exogenous enzymes: effects on the microbial kinetics of acidification and dough textural properties. **Food Microbiology** **20**:67-75.
87. Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A., Di Cagno, R., 2005. Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. **Trends in Food Science and Technology**, **16**: 57-69.
88. Ganzle, M. G., Vermeulen, N., Vogel, R.F., 2007. Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. **Food Microbiology** **24**: 128-138.

89. Rizzello, C.G., Cassone, A., Di Cagno, R., Gobbetti, M., 2008. Synthesis of angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides and γ -aminobutyric acid (GABA) during sourdough fermentation by selected lactic acid bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** **56**:6936-6943.
90. Rizzello, C.G., Nionellia, N., Coda, R., Gobbetti, M., 2011. Synthesis of the cancer preventive peptide lunasin by lactic acid bacteria during sourdough fermentation. **Nutrition and Cancer** **64**:111-120.
91. Hu, Y., Stromeck, A., Loponen, J., Lopes-Lutz, D., Schieber, A., Gänzle, M.G., 2011. LCMS/ MS quantification of bioactive antiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in rye malt sourdoughs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **59**: 11983-11989.
92. Brandt, M.J., 2006. Bedeutung von Rohwarenkomponten. In: Brandt, M.J., Gänzle, M.G. (Eds.), *Handbuch Sauerteig*. Behr's Verlag, Hamburg, pp. 41-56.
93. Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P., 2004. Cereals and Cereal Products. In: *Food Chemistry*, third ed., Chapter 15, p 673-743. Springer, Berlin.
94. Vogel, R.F., Pavlovic, M., Ehrmann, M.A., Wiezer, A., Liesegang, H., Offschanka, S., Voget, S., Angelov, A., Böcker, G., Liebl, W., 2011. Genomic analysis reveals *Lactobacillus sanfranciscensis* as stable element in traditional sourdoughs. **Microbial Cell Factories**, **10**: 3-11.
95. Møller, M.S., Fredslund, F., Majumder, A., Nakai, H., Poulsen, J.-C.N., Lo Leggio, L., Svensson, B., Hachem, M.A., 2012. Enzymology and structure of the GH13_31 glucan 1,6-a-glucosidase that confers isomaltooligosaccharide utilization in the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Bacteriology** **194**: 4249-4259.
96. Gänzle, M.G., Follador, R., 2012. Metabolism of oligosaccharides in lactobacilli: a review. **Frontiers in Microbiology**, **3**:1-15.
97. Taylor, J.R.N., Schober, T.J., Bean, S.R., 2006. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. **Journal of Cereal Science** **44**: 252-271.
98. Songré-Quattara, L.T., Mouquet-Rivier, C., Icard-Vernière, C., Humblot, C., Diawara, B., Guyot, J.P., 2008. Enzyme activities of lactic acid bacteria from a pearl millet fermented gruel (ben-saalga) of functional interest in nutrition. **International Journal of Food Microbiology** **128**:395-400.

99. Turpin, W., Humblot, C., Guyot, J.-P., 2011. Genetic screening of functional properties of lactic acid bacteria in a fermented pearl millet slurry and in the metagenome of fermented starchy foods. **Applied and Environmental Microbiology**, **77**:8722-8734.
100. Gugliandola, C., Maugeri T.L., Cacamo, D., Stackebrandt, E., 2003. *Bacillus aeolius* spp. Nov a Novel Thermophilic, Holophilic Marine *Bacillus* Species from Eolian Islands (Italy), **Systematic and Applied Microbiology**, **26**: 172-176
101. Calazans G. M. T., 1997. Antitumor activities of levans produced by *Zymomonas mobilis* strains, **Biotechnol Letter**: **19**: 19-21.
102. Moriello, V., Lama L., 2003. Production of exopolysaccharides from a thermophilic microorganism isolated from a marine hot spring in flegrean areas. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, **30**: 95-101.
103. Denny, T.P., 1995. Involvement of Bacterial Polysaccharides in Plant Pathogenesis, **Annual Review of Phytopathology**, **33**:173-197.
104. Costerton, J. W., 1987. Biofilms the Customized Microniche. **Journal of Bacteriology**, **176**: 2137-2142.
105. Lee, I. Y., 1997. Optimization of Fermentation Conditions for Production of Exopolysaccharide by *Bacillus polymyxa*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, **16**:71-75.
106. Tavernier P., 1997. Exopolysaccharide and Poly-b-Hydroxybutyrate Coproduction in two *Rhizobium Meliloti* Strains. **Applied Environmental Microbiology**, **63**: 21-26.
107. Ganzle, M.G., Schwab, C., 2009. Ecology of exopolysaccharide formation by lactic acid bacteria: sucrose utilization, stress tolerance, and biofilm formation. In: Ullrich, M. (Ed.), *Bacterial Polysaccharides: Current Innovations and Future Trends*. Caister Academic Press, Norfolk, pp. 263-278.
108. Poutanen, K. , Flander, L. , Katina, K. , 2009. Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. **Food Microbiology** **26**: 693-699.

109. Van Hijum, S.A.F.T., Kralj, S., Ozimek, L.K., Dijkhuizen, L., van Geel-Schutten, I.G.H., 2006. Structure-function relationships of glucansucrase and fructansucrase enzymes from lactic acid bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** **70**: 157-162
110. Galle, S., Arendt, E.K., 2014. Exopolysaccharides from sourdough lactic acid bacteria. A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, **54**: 891-901
111. Czerny, M., Schieberle, P., 2002. Important aroma compounds in freshly ground wholemeal and white wheat flour - Identification and quantitative changes during sourdough fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** **50**: 6835-6840.
112. Shahzadi, A., 2011. Bio-transformation of Fatty Acids. Ph.D. thesis. University of Alberta.
113. Black, B.A., Zannini, E., Curtis, J.M., Gänzle, M.G., 2013. Antifungal hydroxy-fatty acids produced during sourdough fermentation: microbial and enzymatic pathways, and antifungal activity in bread. **Applied and Environmental Microbiology**, **79**: 1866-1873.
114. Biermann, V.U., Wittmann, A., Grosch, W., 1980. Occurrence of bitter hydroxy fatty acids in oat and wheat. **Fette Seifen Anstrichmittel**, **82**:236:240.
115. Vermeulen, N., Czerny, M., Gänzle, M.G., Schieberle, P., Vogel, R.F., 2007. Reduction of (E)-2-nonenal and (E, E)-2,4-decadienal during sourdough fermentation, **Journal of Cereal Science** **45**: 78-87.
116. Capuani, A., Behr, J., Vogel, R.F., 2012. Influence of lactic acid bacteria on the oxidation-reduction potential of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) sourdoughs. **European Food Research and Technology**, **235**: 1063-1069.
117. Yang, B., Chen, H., Song, Y., Chen, Y.Q., Zhang, H., Chen, W., 2013. Mysoin-crossreactive antigens from four different lactic acid bacteria are fatty acid hydratases. **Biotechnology Letters**, **35**: 75-81.
118. Gobbetti, M., Gänzle, M.G., 2007. Sourdough applications for bread production: industrial perspectives. **Food Microbiology** **24**: 149.
119. Brandt, M.J., 2007. Sourdough products for convenient use in baking. **Food Microbiology**, **24**: 161-164.

120. Özkaya, H. ve Özkaya, B. 2005. Tahıl ve Ürünleri Analiz Yöntemleri. Gıda Teknolojisi Dernegi Yayınları, No:31, 157 s., Ankara.
121. Kirchhoff, E., Schieberle, P., 2002. Quantitation of odor-active compounds in rye flour and rye sourdough using a stable isotope dilution assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **50**: 5378–5385.
122. Galal, A.M., Johnson, J.A. and Varriano-Marston, E., 1977. Lactic and volatile (C2-C5) organic acids of San Francisco sourdough French bread. **Cereal Chemistry**, **55**: 461-468.
123. Garly, L., 1993. Culture dough in breadmaking. **Baking Industry Europe** , 461-468.
124. Paterson, R.L.S., Charlwood, B.V., Mac Leod, G., Williams, A.A., 1992. Bioformation of Flavours. Royal Society of Chemistry, Great Britain. 212p.
125. Hansen, A., Lund, B., Lewis, M.J., 1989. Flavour Of Sourdough Rye Bread Crumb. **Lebensm. -Wiss. U. -Technol.**, **22**: 141-144.
126. Hansen, A. and Hansen, B., 1993. Flavour Compounds In Wheat Sourdoughs. Proceedings From *The 25th Nordic Cereal Congress*.
127. Collar, C., Mascaros, A.F. Prieto, J.A., Barber C.B., 1991. Changes in free amino acids during fermentation of wheat dough started with pure culture of lactic acid bacteria. **Cereal Chemistry**, **68**: 66-71.
128. Jensen S, Ostdal H, Skibsted LH, Thybo A.K., 2011. Antioxidants and shelf life of whole wheat bread. **Journal of Cereal Science**, **53**:291-297.
129. Lönner, C., and Preve-Akesson K., 1988. Effects of Lactic acid bacteria on the properties of sourdough bread. **Food Microbiology**, **3**:19-35.
130. Göçmen, A. 2001. Ekşi hamur ve laktik starter kullanımının ekmekte aroma oluşumu üzerine etkileri, **Gıda**, **26**: 13–16.
131. Carr, L.G., Tadini, C.C., 2003. Influence of yeast and vegetable shortening on physical and textural parameters of frozen part baked French bread. **Lebensm.-Wiss.u.-Technol.** **36**: 609–614.
132. Gerçekaslan, K.E. 2006. Trabzon Vakfıkebir Ekmeğinin Bayatlamasının Çeşitli Yöntemlerle Takibi ve Francala Ekmeği İle Mukayesesi, Atatürk Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 22-23.

133. Katina, K., 2005. Sourdough: a tool for the improved flavour, texture and shelf-life of wheat bread, PhD Thesis, University of Helsinki, Technical Research Centre of Finland, **VTT Publications**, 569:81- 92 .
134. Gerçekaslan, K.E., Kotancılar, H.G., Karaoğlu, M. M., 2007. Ekmek bayatlaması ve bayatlama derecesini ölçmede kullanılan yöntemler – I, **Gıda**, 32; 305-315.
135. Sahlström S, Brathen E. 1997. Effects of enzyme preparations for baking, mixing time and resting time on bread quality and bread staling. **Food Chem**, 58: 75-80.
136. Shaikh, I.M, Ghodke, S.K, Ananthanarayan, L., 2007. Staling of *Chapatti* (Indian unleavened flat bread). **Food Chemistry**, 101: 113–119.
137. Bárcenas ME, Haros M, Benedito C, Rosell CM. 2003. Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread. **Food Research International**, 36: 863–869.
138. Mert, İ.D., 2013. Development of Gluten Free Bread Formulation of Baking in Infrared-Microwave Combination Oven. Doktora Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara.
139. Vodovotz Y, Baik M, Vittadini E, Chinachoti P. 2001. Instrumental Techniques Used İn Bread Staling Analysis. In: Chinachoti P, Vodovotz Y, editors. Bread Staling. New York: CRC Press. p 93–111.
140. Settanni, L., Massitti, O., Van Sinderen, D., Corsetti, A., 2005. In situ activity of a bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* strain. Influence in the nteractions between lactic acid bacteria during sourdough ermentation. **Journal of Applied Microbiology**, 99:670–681.
141. Corsetti, A., Settanni, L., Van Sinderen, D., 2004. Characterization of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) from sourdough lactic acid bacteria and evaluation of their in vitro and in situ activity. **Journal of Applied Microbiology**, 96: 521–534.
142. Hartnett, D. J., Vaughan, A., Van Sinderen, D., 2002. Antimicrobial producing lactic acid bacteria isolated from raw barley and sorghum. **Journal of the Institute of Brewing**, 108:169–177.

143. Lavermicocca, P. Valerio, F, Evidente, A. Lazzaroni, S. Corsetti, A., Gobbetti, M., 2000. Purification and characterization of novel antifungal compounds by sourdough *Lactobacillus plantarum* 21B. **Applied and Environmental Microbiology**, **66**:4084–4090.
144. Holtzel, A., Ganzle, M. G., Nicholson, G.J., Hammes, W. P., Jung, G. 2000. The first low-molecular-weight antibiotic from lactic acid bacteria: reutericyclin, a new tetrameric acid. **Angewandte Chemie International Edition**, **39**: 2766–2768.
145. Atrih, A., Rekhif, N., Moir, A.J.G., Lebrihi, A., Lefebvre, G. 2001. Mode of action, purification and amino acid sequence of plantaricin C19, an anti-*Listeria* bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* C19. **International Journal of Food Microbiology**, **68**: 93–104.
146. Jayanainen, P. and Linko, Y.Y., 1993. Mixed-culture pre-ferments of lactic and propionic acid bacteria for improved wheat bread shelf life. **Journal of Cereal Science** **18**: 75-88.
147. Slavin, J., 2003. Why whole grains are protective: biological mechanisms. **Proceedings of the Nutrition Society** **62**: 129,134.
148. Liukkonen, K.-H., Katina, K., Wilhelmson, A., Myllymaki, O., Lampi, A.-M., Kariluoto, S., Piironen, V., Heinonen, S.-M., Nurmi, T., Adlercreutz, H., Peltoketo, A., Pihlava, J.-M., Hietaniemi, V., Poutanen, K., 2003. Process-induced changes on bioactive compounds in whole grain rye. **Proceedings of The Nutrition Society**, **62**:117–122.
149. Mattila P, Pihlava J, Hellstro J., 2005. Contents of Phenolic Acids, Alkyl- and Alkenyl resorcinols, and Avenanthramides in Commercial Grain Products, **Journal of The Agricultural Food Chemistry**, **53**: 8290-8295.
150. Bondia-Pons, I., Aura, A.M., Vuorela, S., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., Poutanen, K., 2009. Rye phenolics in nutrition and health. **Journal of Cereal Science**, **49**:323-336.
151. Slavin, J., Jacobs, D., Marquardt, L., 2000. Grain processing and nutrition. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, **40**:309,326.

152. Rizzello, C.G., Coda, R., Mazzacane, F., Minervini, D., Gobbetti, M., 2012b. Micronized by-products from debranned durum wheat and sourdough fermentation enhanced the nutritional, textural and sensory features of bread. **Food Research International**, **46**: 304-313.
153. Ternes, W., Freund, W., 1988. Effects of different doughmaking techniques on thiamin content of bread. **Getreide, Mehl und Brot** **42**:293,297.
154. Katina, K., Liukkonen, K.H., Kaukovirta-Norja, A., Adlercreutz, H., Heinonen, S.M., Lampi, A.M., Pihlava, J.M., Poutanen, K., 2007b. Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. **Journal of Cereal Science**, **46**:348,355.
155. Frolich, W., Crakenberg, T., Asp, N.G., 1986. Enzymatic degradation of phytate (myoinositol hexaphosphate) in whole grain flour suspensions and dough. A comparison between ³¹P NMR spectroscopy and ferric ion method. **Journal of Cereal Science**, **4**:325,334.
156. Larsson, M., Sandberg, A.S., 1991. Phytate reduction in bread containing oat flour, oat bran or rye bran. **Journal of Cereal Science**, **14**: 141-149.
157. Verdeal, K., Lorenz, K., 1977. Alkylresorcinols in wheat, rye, and triticale. **Cereal Chemistry**, **54**: 475-483.
158. Piironen, V., Varo, P., Koivistoinen, P., 1987. Stability of tocopherols and tocotrienols in food preparation procedures. **Journal of Food Composition and Analysis**, **1**:53-58.
159. Nilsson, M., Aman, P., Harkonen, H., Hallmans, G., Knudsen, K.E.B., Mazur, W., Adlercreutz, H., 1997. Nutrient and lignan content, dough properties and baking performance of rye samples used in Scandinavia. **Acta Agriculturae Scandinavica**, **47**:26-34.
160. Hansen, B.H., Andersen, M., F., Nielsen, L., M., Back-Knudsen, K.-E., Meyer, A.S., Christensen, L.P., Hansen, A., 2002. Changes in dietary fibre, phenolic acids and activity of endogenous enzymes during rye bread baking. **European Food Research and Technology**, **214**:33-42.

161. Katina, K., Laitila, A., Juvonen, R., Liukkonen, K.H., Kariluoto, S., Piironen, V., Landberg, R., Åman, P., Poutanen, K., 2007a. Bran fermentation as a means to enhance technological properties and bioactivity of rye. **Food Microbiology** **24**: 175,186.
162. IUPAC-IUB (Commission on Biochemical Nomenclature), 1977. Nomenclature of Phosphorus Containing Compounds of Biochemical Importance. **European Journal of Biochemistry**, **79**:1-9.
163. Vohra, A., and Satyanarayana, T., 2003. Phytases: Microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, **23**(1): 29-60.
164. Holm, P.B., Kristiansen, K.N., Pedersen, H.B., 2002. Transgenic approaches in commonly consumed cereals to improve iron and zinc content and bioavailability. **Journal of Nutrition**, **132**: 514–516.
165. Pekşen, E., ve Artık, C., 2005. Antibesinsel maddeler ve yemeklik tane baklagillerin besleyici değerleri, **Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, **20**: 110-120.
166. LEI, X.G. and Stahl, C.H., 2001. Biotechnological development of effective phytases for mineral nutrition and environmental protection. **Applied Microbiology and Biotechnology**, **57**:474–481.
167. Gobbetti, M. , Rizzello, C.G. , Raffaella Di Cagno, Maria De Angelis., 2014. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods. **Food Microbiology** **37**: 30-40.
168. Sümengen, M. , 2011. Laktik Asit Bakterilerinden Fitaz Üretimi ve Endüstriyel Kullanım Olanakları. Yüksek lisans tezi. Çukurova Üniversitesi. Adana
169. Leenhardt, F., Levrat-Verny, M.-A., Chanliaud, E., Remesy, C., 2005. Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **53**: 98–102.
170. Chaoui, A., Faid, M., Belhcen, R., 2003. Effect of natural starters used for sourdough bread in Morocco on phytate biodegradation. **Eastern Mediterranean Health Journal**, **9**: 141–147.

171. Reale, A., Mannina, L., Tremonte, P., Sobolev, A.P., Succi, M., Sorrentino, E., Coppola, R., 2004. Phytate degradation by lactic acid bacteria and yeast during the wholemeal dough fermentation: a ³¹P NMR study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **52**: 6300-6305.
172. Reale, A., Konietzny, U., Coppola, R., Sorrentino, E., Greiner, R., 2007. The importance of lactic acid bacteria for phytate degradation during cereal dough fermentation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **55**: 2993-2997.
173. Lioger, D., Leenhardt, F., Demigne, C., Remesy, C., 2007. Sourdough fermentation of wheat fractions rich in fibres before their use in processed food. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **87**:1368–1373.
174. Lopez, H. , Krspine, V. , Guy, C. , Messenger, A. , Demigne, C. , Remesy, C. , 2001. Prolonged fermentation of whole wheat sourdough reduces phytate level and increases soluble magnesium. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **49**: 2657–2662.
175. Lopez, H., Duclos, V., Coudray, C., Krespine, V., Feillet-Coudray, C., Messenger, A., Demigne' , C., Reme' sy, C., 2003. Making bread with sourdough improves mineral bioavailability from reconstituted whole wheat flour in rats. **Nutrition**, **19**:524–530.
176. Shirai, K., Revah-Moiseev, S., Garcí'a-Garibay, M., Marshall, V., 1994. Ability of some strains of lactic acid bacteria to degrade phytic acid. **Letters in Applied Microbiology**, **19**: 366–369.
177. Ertugay, Z., Kotancılar, G., 1988. Nişastanın bazı fizikokimyasal özellikleri ile ekmek içi sertliği arasındaki ilişkiler. **Gıda**, **13**: 115-121.
178. Hug-Iten, S., Escher, F., Conde-Petit, B., 2003. Staling of bread: role of amylose and amylopectin and influence of starchdegrading enzymes. **Cereal Chemistry**, **80**: 654–661.
179. Keha, E.E., Küfrevioğlu, İ.,2007, Biyokimya, Aktif Yayınevi, 647 s., İstanbul.
180. Englyst, H., Wiggins, H.S., Cummings, J.H., 1982. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. **Analyst.**, **107**: 307–318
181. Nugent, A.P., 2005. Health properties of resistant starch. British Nutrition Foundation, **Nutrition Bulletin**, **30**: 27-54.

182. Kahraman, K. , Köksel, H. , 2006b. Yüksek amilozlu nişastadan enzime dirençli nişasta üretimi ve karakterizasyonu. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, 24-26 Mayıs, Bolu.
183. Rahman, S. , Bird, A. , Regina, A. , Li, Z. , Ral, J.P. , McMaugh, S. , Topping, D., Morell, M. , 2007. Resistant starch in cereals: Exploiting genetic engineering and genetic variation. **Journal of Cereal Science**, **46**: 251-260.
184. Anonim, 2005b. Resistant Starch – Questions and Answers. British Nutrition Foundation, [http://www.nutrition.org.uk/upload/Resistant%20Starch\(1\).Pdf](http://www.nutrition.org.uk/upload/Resistant%20Starch(1).Pdf) (Erişim tarihi:10 Mart 2014).
185. Novotni, D., Curic, D., Bituh, M., Baric, I.C., Skevin, D., Cukelj, N., 2011. Glycemic index and phenolics of partially-baked frozen bread with sourdough. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, **62**:26-33.
186. Liljeberg, H., Björck, I., 1998. Delayed gastric emptying rate may explain improved glycaemia in healthy subjects to a starchy meal with added vinegar. **European Journal of Clinical Nutrition**, **52**: 368-371.
187. Liljeberg, H., Lönner, C., Björck, I., 1995. Sourdough fermentation or addition of organic acids or corresponding salts to bread improves nutritional properties of starch in healthy humans. **Journal of Nutrition**, **125**: 1503-1511.
188. Burton, P., Lightowler, H.J., 2006. Influence of bread volume on glycaemic response and satiety. **British Journal of Nutrition**, **96**: 877-882.
189. Östman, E., 2003. Fermentation as a Means of Optimizing the Glycaemic Index - Food Mechanisms and Metabolic Merits with Emphasis on Lactic Acid in Cereal Products. Lund University, PhD thesis.
190. Scazzina, F., Del Rio, D., Pellegrini, N., Brighenti, F., 2009. Sourdough bread: starch digestibility and postprandial glycemic response. **Journal of Cereal Science**, **49**:419-421.
191. Ganzle, M.G., Loponen, J., Gobbetti, M., 2008. Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality. **Trends in Food Science and Technology**, **19**: 513-521.
192. Bleukx, W., Brijs, K., Torrekens, S., van Leuven, F., Delcour, J.A., 1998. Specificity of a wheat gluten aspartic proteinase. **Biochimica Biophysica Acta**, **1387**: 317-324.

193. Coda, R., Rizzello, C.G., Gobbetti, M., 2010. Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread of gaminobutyric acid (Gaba). **International Journal of Food Microbiology**, **137**: 236-245.
194. Koç, B., 2008. Püskürtmeli kurutma yöntemi ile yoğurt tozu üretim koşullarının optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Bornova, İzmir.
195. Castillo, E.D., 2007. Process Optimization, a Statistical Approach. Springer Science Business Media, LLC, New York, NY.
196. Clarke, C. I., Schober, T. J., Angst, E. and Arendt, E. K., 2003. Use of response surface methodology to investigate the effects of processing conditions on sourdough wheat bread quality. **European Food Research and Technology**, **217**: 23-33.
197. Demirekler, P., Şumnu, G., Şahin, S., 2004. Optimization of bread baking in a halogen lamp–microwave combination oven by response surface methodology. **European Food Research and Technology**, **219**: 341–347.
198. Sevimli, K.M, Şumnu, G., Şahin, S., 2005. Optimization of halogen lamp–microwave combination baking of cakes: a response surface methodology study. **European Food Research and Technology**, **221**:61–68.
199. McCarthy, D.,F., Gallagher, E., Gormley, T., R., Schober, T. J., Arendt,E.,K., 2005. Application of Response Surface Methodology in the Development of Gluten-Free Bread, **Cereal Chemistry**, **82**: 609-615.
200. Gobbetti, M., 1998b. The sourdough microflora: Interactions of lactic acid bacteria and yeasts. **Trends in Food Science & Technology**, **9**: 267-274.
201. Siezen, R. J., Vlieg, J.E.H., 2011. Genomic diversity and versatility of *Lactobacillus plantarum*, a natural metabolic engineer. **Microbial Cell Factories**,**10**:1-13, <http://www.microbialcellfactories.com/content/10/S1/S3>.
202. Wolter, A.. 2013. Fundamental studies of sourdoughs fermented with *Weissella cibaria* and *Lactobacillus plantarum*: influence on baking characteristics, sensory profiles and in vitro starch digestibility of glutenfree breads. PhD Thesis, University College Cork.
203. AACC., 1999. Metod 44-19.01, Metod 08-01.01. 11th edition. American Association of Cereal Chemists, Inc, St. Paul, Minnesota, USA.

204. AACC.,1990. American Association of Cereal Chemists International, Approved Methods of the AACC, Method: 08-01, Method: 10-11, Method: 10-54, Method: 10-90, Method: 38-11, Method: 44-01, Method: 46-12, Method: 55-10, Method: 54-21, Method: 56-60, Method: 56-81B, The Association: St. Paul, MN, USA.
205. AOAC. 1990. Method 960.52, Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists, 15th edn., Arlington, VA.
206. ICC Standard methods.1994. Determination of Sedimentation Value (ac. to Zeleny) as an Approximate Measure of Baking Quality No:116/1.
207. ICC Standard methods.1984. Working Method for the Determination of Wet Gluten in Wheat Flour, No:106/2.
208. ICC Standard methods. 1994. Determination of Wet Gluten Quantity and Quality (Gluten Index ac. to Perten) of Whole Wheat Meal and Wheat Flour (*Triticum aestivum*) No:155.
209. ICC Standard methods. 1992. Method for using the Brabender Farinograph, No:115/1.
210. Ribotta, P.D., Cuffini, S., Leon, A.E. and Anon, M.C., 2004. The staling of bread: an Xray diffraction study. **European Food Research and Technology**, **218**: 219–223.
211. Asghar,A., Anjum,F.M., Butt, M.S., Tariq, M.W., Hussain, S., 2007. Rheological and storage effect of hydrophilic gums on the quality of frozen dough pizza. **Food Science and Technology Research**, **13**: 96–102
212. Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C.G., 2007. Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations, **Journal of Food Engineering**, **79** : 1033–1047.
213. Katina,K, Salmenkallio-Marttila,M., Partanen, R., Forssell,P., Autio,K., 2006. Effects of sourdough and enzymes on staling of high-fibre wheat bread, **LWT Food Science and Technology**, **39**: 479–49.
214. Pelshenke, P. F., Boilling, H., Hampel, G., Kampw, W., Menger, A., Rotsch, A., Schulz, S., Spincher, G. and Tegge, G., 1964. Standart Methoden fur Getreide Mehl und Brot. 4. Auflage. Im. Verlag Moritz Scheafer. 159 p., Detmold.

215. Bianchia, F., Careria, M., Chiavarob, E., Muscia, M., Vittadinib E., 2008. Gas chromatographic–mass spectrometric characterisation of the Italian Protected Designation of Origin “Altamura” bread volatile profile, **Food Chemistry**, **110**: 787–793.
216. Özkaya,H., 1998. Analitik Gıda Kalite Kontrolü, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları:1086, 137s.,Ankara.
217. Altuğ, T., Elmacı,Y.,2005. Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, Meta Basım, 130 s., Bornova, İzmir.
218. Keswet, L.M., Ayo, J.A., Bello, C.B., 2003. The effect of four Nigerian wheat flours on the loaf volume and sensory quality of bread, **Nutrition & Food Science**, **33**: 34 – 37.
219. Olapade, A., Adetuyi D.O., 2007. Comparison of different methods of producing bambara (*Voandzeia subterranean* L. Thou) flours for preparation of ‘moin-moin’, **Nigerian Food Journal**, **25**:150-157.
220. Bocker, G., Stolz, P., Hammes, W.P.1995. Neue Erkenntnisse zum Ökosystem Sauerteig und zur Physiologie des sauerteig-typischen Stämme *Lactobacillus sanfrancisco* und *Lactobacillus pontis*. **Getreide Mehl und Brot**, **49**: 370–374.
221. Hammes, W.P., Gänzle, M.G., 1998. Sourdough breads and related products. In: Wood, B.J.B. (Ed.), Microbiology of Fermented Food. Chapman and Hall, London, pp. 199-216.
222. Aksoy,Z., 2009. Kahramanmaraş Ve Yöresinde Geleneksel Olarak Üretilen Ekşi Hamur Örneklerinden Laktik Asit Bakteri İzolasyonu, Antibiyotik Dirençliliği, Plazmid İçeriklerinin Belirlenmesi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş.
223. Akgün, F.B., 2007. Ekşi Hamur Tozu Eldesi Ve Ekmek Üretiminde Kullanılabilme Olanakları, Pamukkale Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi,Denizli.
224. Elgün, A., Türker, S., Bilgiçli,N. 2001. Tahıl ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü, Konya Ticaret Borsası Yayınları,No:2,Konya.
225. Gürgün,V.,Halkman,K.,1990.Mikrobiyolojide sayım yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:7, Ankara.

226. Poinot,P., Arvisenet Ggrua-Priol J, Colas D., 2008. Influence of formulation and process on the aromatic profile an physical characteristics of bread, **Journal of Cereal Science**, **48**: 686-697.
227. Elgün, A.,Certel, M., Ertugay, Z., ve Kotancılar, H.G., 1998. Tahıl ve Ürünlerinde Analitik Kalite Kontrolü ve Laboratuvar Uygulama Klavuzu, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi YayınlarıNo: 335, Erzurum, 238s.
228. Rizzello, C.,G., Curiel,J.,A., Nionelli,L., Vincentini,O., Cagno,R.,D., Silano,M., Gobbetti,M., Coda,R., 2014. Use of fungal proteases and selected sourdough lactic acid bacteria for making wheat bread with an intermediate content of gluten. **Food Microbiology**, **37**: 59-68.
229. Torrieri, E., Pepe, O., Ventrino, V., Masi, P., Cavella, S.2014. Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. **LWT - Food Science and Technology**, **56**:508-516.
230. Artan,M.Y., Karim,R., Chern,B.H., Ariffin,A.A., Man,Y.C., Chin,N.L., 2010. The influence of different formulation of palm oil /Palm stearin –based shortenings on the quality of white bread. **Middle-East Journal of Scientific Research**. **5**: 469-476.
231. Elgün, A., Türker, S., 1998. Buğday ve Unda Analitik Kalite Kontrolü, Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği
232. Lefebvre,D., Gabriel,V, Vayssier,Y., Fontagné-Faucher C., 2002. Simultaneous HPLC determination of sugars, organic acids and ethanol in sourdough process. **Food Science and Technology**, **35**: 407-414.
233. Bozkurt, O. 2006. Farklı üretim tekniklerinin tarhananın organik asit içeriğine etkisi.Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa.
234. Robert,H., Gabriel,V., Lefebvre, D., Rabier, P., Vayssier,Y., Faucher,C.F., 2006. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. **LWT Food Science and Technology**, **39**: 256–26.
235. Kritsunankula,O., Pramotea, B., Jakmuneeb,J. 2009. Flow injection on-line dialysis coupled to high performance liquid chromatography for the determination of some organic acids in wine. **Talanta**, **79**: 1042–1049.

236. Sadeghi, A., Shahidi, F., Mortazavi, S.E., Koocheki, A., Mohebbi, M., 2007. Evaluation of sourdough effect on Iranian Barbari bread staling, **World Applied Sciences Journal**, **2**:490-498.
237. AACC International, 2000. Approved Methods of Analysis, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, USA. Method 74-09.
238. Hager, A.S., Wolter, A., Czerny, M., Bez, J., Zannini, E., Arendt, E.K., Czerny, M., 2012. Investigation of product quality, sensory profile and ultrastructure of breads made from a range of commercial gluten-free flours compared to their wheat counterparts, **European Food Research and Technology**, **235**:333–344.
239. Dal Bello, F., Clarke, C.I., Ryan, L.A.M, Ulmera, H., Schober, T.J., Strom, K., Sjogrend J., Sinderen, D. Schnurer, J., Arendt, E.K., 2007. Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. **Journal of Cereal Science**, **45**:309–318.
240. Aponte, M., Boscaino, F., Sorrentino, A., Coppola, R., Masi, P., Romano, A., 2014. Effects of fermentation and rye flour on microstructure and volatile compounds of chestnut flour based sourdoughs. **LWT Food Science and Technology**, **58**:387-395.
241. Plessas, P., Bekatorou, A., Gallanagh, J., Nigam, P., Koutinas, A.A., Psarianos, C., 2008. Evolution of aroma volatiles during storage of sourdough breads made by mixed cultures of *Kluyveromyces marxianus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* or *Lactobacillus helveticus*, **Food Chemistry**, **107**: 883–889.
242. Decock, P., Cappelle, S., 2005. Bread technology and sourdough technology. **Trends in Food Science & Technology**, **16**:113–120.
243. Anonim, 2014. Selection Guide for Supelco SPME Fibers, Supelco, USA.
244. Poinot, P., Grua-Priol, J., Arvisenet, G., Rannou, C., Semenou, M., Le Bail, A., Prost, C., 2007. Optimisation of HS-SPME to study representativeness of partially baked bread odorant extracts. **Food Research International**, **40**:1170–1184.
245. Kim, Y., Huang, W., Zhu, H., Rayas-Duarte, P., 2009. Spontaneous sourdough processing of Chinese Northern-style steamed breads and their volatile compounds, **Food Chemistry**, **114**:685–692.

246. Wu, C., Liu,R. Huang,W., Rayas-Duarte,P., Wang,F. Yao,Y., 2012. Effect of sourdough fermentation on the quality of Chinese Northern-style steamed breads, **Journal of Cereal Science** **56**:127-133.
247. Banu, I., Vasilean, I., Aprodu,I., 2010. Effect of Lactic Fermentation on Antioxidant Capacity of Rye Sourdough and Bread, **Food Science and Technology Research**, **16**: 571 – 576.
248. Michalska, A., Ceglinska,A., Amarowicz,R., Piskula, M.K., Szawara-Nowak,D., Zielinski, H. 2007. Antioxidant Contents and Antioxidative Properties of Traditional Rye Breads, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **55**:734-740.
249. Villauenga, C.M., Michalska, A., Frias, J., Piskula, M.K., Vidal-Valverde, C. and Zielinski, H., 2009. Effect of flour extraction rate and baking on thiamine and riboflavin content and antioxidant capacity of traditional rye bread. **Journal of Food Science**, **74**:49-55.
250. Beta,T., Nam,S., Dexter,J.E., Sapirstein,H.D., 2005. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Pearled Wheat and Roller-Milled Fractions, **Cereal Chemistry**, **82**: 390-393.
251. Karamach, M., Amarowicz, R., Weidner, S., Abe, S., Shahidi,F., 2002. Antioxidant Activity of Rye Caryopses and Embryos Extracts, **Czech Journal of Food Science**, **20**: 209–214.
252. Shahidi, F., Naczki, M., 1995.Methods of Analysis And Quantification of Phenolic Compounds. In Food Phenolic: Sources, Chemistry, Effects and Applications; Shahidi, F., Naczki, M., Eds.; Technomic Publishing Co.: Lancaster, PA,; pp 287-293.
253. Cemeroğlu,B., 2010. Gıda Analizleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:34, 657s., Ankara.
254. Sahan, Y., Basoglu, F., Gucer, S., 2007. ICP-MS analysis of a series of metals (Namely: Mg, Cr Co, Ni, Fe, Cu, Zn, Sn, Cd and Pb) in black and green olive samples from Bursa, Turkey. **Food Chemistry**, **105**:395–399.
255. Kilci, A., Gocmen, D., 2014. Phenolic acid composition, antioxidant activity and phenolic content of tarhana supplemented with oat flour, **Food Chemistry** **151**:547–553.

256. Bilgiçli, N., Türker, S., 2004. Tarhanada sindirilebilir protein ve kül miktarı üzerine maya, malt unu ve fitaz katkılarının etkileri1 , **Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi** **18** (33): 90 – 97.
257. Saharan, K., Kheterpaul, N. and Bishnoi, S., 2001. HCl-extractibility of minerals from ricebean and fababean : influence of domestic processing methods. **Innovative Food Science Emerging Technology**, **2** : 323-325.
258. Bilgicli, N., Elgun,A, Turker,S., 2006, Effects of various phytase sources on phytic acid content, mineral extractability and protein digestibility of tarhana, **Food Chemistry**, **98**:329–337.
259. AOAC Method 2002.02. Resistant Starch Assay Procedure (Megazyme, RSTAR 11/02) (McCleary, B.V.,McNally, M.& Rossiter, P. 2002. J.AOAC International, 85:1103-1111.)
260. Autio, K., Salmenkallio-Marttila, M., 2001. Light microscopic investigations of cereal grains, doughs and breads. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-Food Science and Technology**, **34**:18–22.
261. Gorinstein,S., Pawelzik,E., Delgado-Licon,E., Yamamoto,K., Kobayashi,S., Taniguchi,H., Haruenkit,R.,Seo Park,Y., Teck Jung,S., Drzewiecki,J. Trakhtenberg,S., 2004. Use of scanning electron microscopy to indicate the similarities and differences in pseudocereal and cereal proteins, **International Journal of Food Science and Technology**, **39**:183–189.
262. Hansen,B., Hansen,A., 1994. Volatile compounds in wheat sourdoughs produced by lactic acid bacteria and sourdough yeasts, **Z Lebensm Unters Forsch**, **198**:202-209.
263. Kirchhoff, E., Schieberle, P., 2001. Determination of key aroma compounds in the crumb of a three-stage sourdough rye bread by stable isotope dilution assays and sensory studies. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **49**:4304–4311.
264. Rehman,S., Paterson,A., Piggott,J.R., 2006. Flavour in sourdough breads: a review. **Trends in Food Science & Technology**, **17**:557-566.
265. Bayrak,A.2006. Gıda Aromaları, Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No:32, Ankara.
266. Martinez Anaya,M.A., 1996. Enzymes and Bread Flavour. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, **44**:2470-2480.

267. Clarke, C.I., Schober, T.J., Arendt, E.K., 2002. Effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures on rheological properties of wheat dough and on bread quality. **Cereal Chemistry**, **79**: 640–647.
268. Delcour, J. A., Hoseney, R. C., 2010. Principles of cereal science and technology. St. Paul, MN, USA: AACC International.
269. Deckardt, K., Khiaosaard, R., Grausgruber, H., Zebeli, Q., 2014. Evaluation of various chemical and thermal feed processing methods for their potential to enhance resistant starch content in barley grain. **Starch/Stärke**, **66**: 558–565.
270. Hallström, E., Sestili, F., Lafiandra, D., Björck, I., Östman, E., 2011. A novel wheat variety with elevated content of amylose increases resistant starch formation and may beneficially influence glycaemia in healthy subjects. **Food Nutritional Research**, **55**: 7074:1–7074:8.
271. Hansen, A., Lund, B., 1987. Volatile Compounds in Rye Sourdough., *Flavour Science And Technology* (pp. 43–49). New York: Wiley.
272. Seitz, L.M., Chung, O.K., Rengarajan, R., 1998. Volatiles in selected commercial breads. **Cereal Chemistry**, **75**: 847–853.
273. Chang, C. Y., Seitz, L. M., Chambers, E., 1995. Volatile flavor components of breads made from hard red winter wheat and hard white winter wheat. **Cereal Chemistry**, **72**: 237–242.
274. Galey, C., Potus, J., Drapron, R., Poiffait, A., Bar, C., Fischer, J., 1994. Les composés volatiles de la mie du pain: étude de quelques facteurs de variation et conséquences sur l'arôme. **Industrie des Cereales**, **89**: 5–14.
275. Javanainen, P., Linko, Y.Y., 1993. Mixed-culture pre-ferments of lactic and propionic acid bacteria for improved wheat bread shelf-life. **Journal of Cereal Science**, **18**: 75–88.
276. Pozo-Bayo'n, M.A., Guichard, E., Cayot, N., 2006. Flavor control in baked cereal products. **Food Reviews International**, **22**: 335–379.
277. Frasse, P., Lambert, S., Levesque, C., Melcion, D., Richard-Molard, D., Chiron, H., 1992. The influence of fermentation on volatile compounds in French bread crumb. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie** **25**: 66–70.
278. Grosch, W., Schieberle, P., 1997. Flavor of cereal products – a review. **Cereal Chemistry**, **74**: 91–97.

279. Grosch, W., 1987. Reaction Of Hydroperoxides – Products Of Low Molecular Weight. In: Chan, H.W.S. (Ed.), *Autoxidation of Unsaturated Lipids*. Academic Press, London, pp. 95–139.
280. Aubry, V., Etie´vant, P.X., Ginies, C., Henry, R., 1997. Quantitative determination of potent flavor compounds in Burgundy Pinot Noir wines using a stable isotope dilution assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **45**: 2120–2123.
281. Daigle, P., Gelinas, P., Leblanc, D., Morin, A., 1999. Production of aroma compounds by *Geotrichum candidum* on waste bread crumb. **Food Microbiology** **16**:517–522.
282. Oruna-Concha, M.J., Bakker, J., Ames, J.M., 2002. Comparison of the volatile components of eight cultivars of potato after microwave baking. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, **35**: 80–86.
283. Mortazavi, S.A., Sadeghi, A., 2011. Investigating the sourdough potential for enhance microbiological shelf life and roasty aroma of traditional Lavash bread, **African Journal of Biotechnology**, **10**: 9668-9672.
284. Rizzello, C.G., Nionelli, L., Coda, R., Angelis, M.D., Gobbetti, M., 2010. Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ, **Food Chemistry**, **119**:1079–1089.
285. Czerny, M., Schieberle, P., Brandt, M.J., 2005. Zum Aromapotentail von Lactobazillen in Weizenteigen - The aroma potential of lactobacilli in wheat dough. **Getreide Technologie**, **59**: 15-19.
286. Andreu, P., Collar, C., Martinez-Anaya, M. A. 1999. Thermal properties of doughs formulated with enzymes and starters. **European Food Research and Technology**, **209**(34): 289-293.
287. Kaditzky, S., Vogel, R. F. 2008. Optimization of exopolysaccharide yield in sourdoughs fermented by lactobacilli. **European Food Research and Technology**, **228**: 291-299.
288. Pepe, O., Blaiotta, G., Anastasio, M., Moschetti, G., Ercolini, D., Villani, F., 2004. Technological and molecular diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from naturally fermented sourdoughs. **Systematic and Applied Microbiology**, **27**:443-453.

289. Hayta, M., Özuğur, G., Etgü, H., Şeker, İ. T., 2014. Effect of grape (*Vitis Vinifera*) pomace on the quality, total phenolic content and anti-radical activity of bread, **Journal of Food Processing and Preservation**, 38:980–986.
290. O. Yıldız, H. Sahin, M. Kara, R. Aliyazıcıoğlu, Ö. Tarhan, S. Kolaylı, 2010. Maillard Reaksiyonları ve Reaksiyon Ürünlerinin Gıdalardaki Önemi, **Akademik Gıda** 8:44-51.
291. Burdurlu, H. S., Karadeniz, F., 2003. Effect of storage on nonenzymatic browning of apple juice concentrates. **Food Chemistry**, 80: 91–97.
292. Küçük, M, Kolaylı, S., Karaoğlu S.A., Sahinbas, E., Baltacı, C., 2007. Biological activities of three different Turkish honey. **Food Chemistry**, 100: 526-534.
293. Coda, R, Rizzello, C.G., Pinto, D., Gobbetti, M., 2012. Selected lactic acid bacteria synthesize antioxidant peptides during sourdough fermentation of cereal flours. **Applied Environmental Microbiology**; 78:1087–1096.
294. Giet, J.-M., Roiseux, O. and Blecker, C., 2010. Enzymatic process development for the extraction of ferulic from wheat bran. **Biotechnology, Agronomy and Society and Environment**, 14 , p. 539.
295. Donaghy, J. , Kelly, P. F., McKay, A. M., 1998. Detection of ferulic acid esterase production by *Bacillus* spp. and lactobacilli, **Applied Microbiology and Biotechnology**, 50: 257-260.
296. Isikoglu, M. 1986. Beslenme. Mili Egitim Basimevi. 2. baski, Istanbul.
297. Dhingra, S. and Jood, S., 2001. Organoleptic and nutritional evaluations of wheat breads supplemented with soybean and barley flour. **Food Chemistry**, 77:479-488.
298. Pyler, E.J., 1988. Baking Science and Technology. Sosland Publishing Company 3th.Edt. USA.
299. Cheryan, M., 1980. Phytic acid interaction in food system. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 13 : 297-355.
300. Reddy, N.R, Sathe, S.K., Salunke, D.H., 1982. Phytates in legumes and cereals. **Advances In Food Research**. 28 : 1-92.
301. Carnovale, E., Lugaro, E. and Lombardi-Boccia, G. 1988. Phytic acid in faba bean and pea : Effect on protein availability. **Cereal Chemistry**, 65 : 114-117.

302. Englyst, H. N., Kingman, S.M., Cummings, J.H., 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**, **46**: Suppl 2: S33-50.
303. Akerberg, A., Liljeberg, H., Björck, I., 1998. Effects of amylose/amylopectin ratio and baking conditions on resistant starch formation and glycaemic indices. **Journal of Cereal Science**, **28**: 71-80.
304. De Angelis, M., Rizzello, C.G., Alfonsi, G., 2007. Use of sourdough lactobacilli and oat fibre to decrease the glycaemic index of white wheat bread. **British Journal of Nutrition**, **98**: 1196-1205.
305. De Angelis, M., Damiano, N., Rizzello, C. G., 2000. Sourdough fermentation as a tool for the manufacture of low-glycemic index white wheat bread enriched in dietary fibre. **European Food Research and Technology**, **229**: 593-601.
306. Ragaei, S., Guzar, I., Dhull, N., Seetharaman, K., 2011. Effects of fiber addition on antioxidant capacity and nutritional quality of wheat bread, **Food Science and Technology**, **44**: 2147:2153.
307. Tas, A. A., El, S. N., 2000. Determination of nutritionally starch fractions of some Turkish breads. **Food Chemistry**, **70**:493-497.
308. Liljeberg, H.G.M., Lonner, C.H., Björck, I.M.E., 1995. Sourdough fermentation or addition of organic-acids or corresponding salts to bread improves nutritional properties of starch in healthy humans. **Journal of Nutrition**, **125** (6): 1503-1511.
309. Östman, E.M., Nilsson, M., Liljeberg Elmståhl, H.G.M., Molin, G., Björck, I.M.E., 2002. On the effect of lactic acid on blood glucose and insulin responses to cereal products: Mechanistic studies in healthy subjects and in vitro. **Journal of Cereal Science**, **36**: 339-346.
310. Liljeberg, H., Akerberg, A., Björck, I., 1996. "Resistant starch formation in bread as influenced by choice of ingredients or baking conditions." **Food Chemistry**, **56**: 389-394.

EKLER

Ek-1 Spontan fermantasyon formül optimizasyonu sonucunda desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen çözümler

İsim	Hedef	Kısıtlar		Üst Limit	Alt Ağırlık	Üst Ağırlık	Önem
		Alt Limit	Üst Limit				
Maya Kullanım Oranı	aralık içinde	0	2	1	1	3	
Eksi Hamur Kullanım Oranı	aralık içinde	5	25	1	1	3	
Kepek Oranı	aralık içinde	0	40	1	1	3	
EDS	maksimum	102.47	191.39	1	1	3	
Kabul Edilebilirlik	maksimum	1.50	4.50	1	1	3	

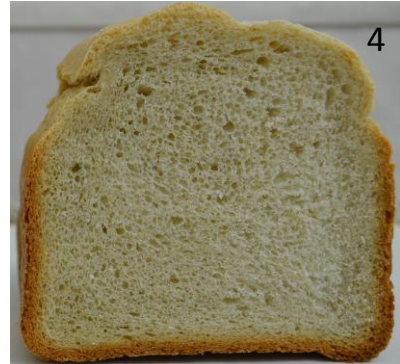
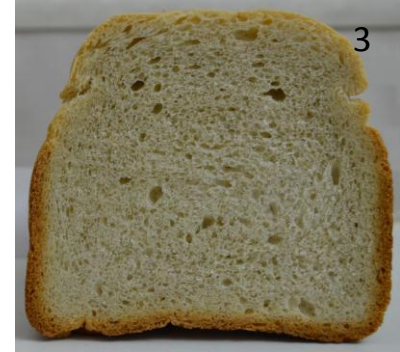
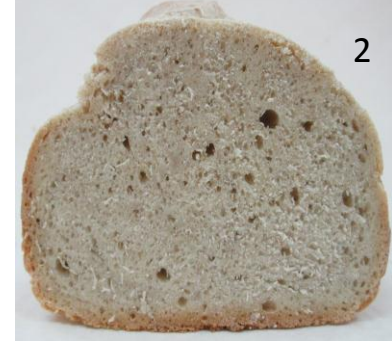
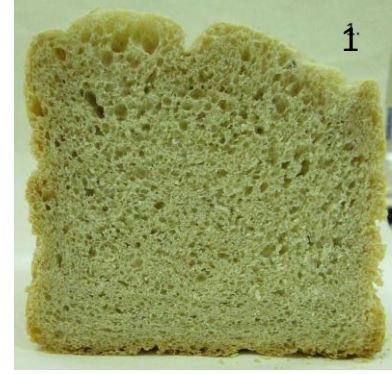
Çözümler							
Numara	Maya Kullanım Oranı	Ekşi Hamur Kullanım Oranı	Kepek Oranı	EDS	KE	İstenilirlik	Seçildi
1	1.10	11.45	1.58	197.42	4.65	1.000	
2	0.82	5.62	9.21	202.54	4.64	1.000	
3	1.13	5.11	7.51	217.56	4.98	1.000	
4	1.02	10.37	0.38	202.22	4.93	1.000	
5	0.91	5.18	13.38	201.68	4.55	1.000	
6	0.98	11.61	0.26	197.54	4.81	1.000	
7	0.89	5.39	13.21	200.09	4.52	1.000	
8	1.12	7.73	3.82	208.64	4.90	1.000	
9	1.10	5.43	13.27	203.66	4.56	1.000	
10	0.92	9.73	4.26	193.28	4.57	1.000	
11	0.85	9.21	4.82	191.95	4.54	1.000	
12	1.14	9.53	4.60	198.14	4.56	1.000	
13	1.04	14.37	0.00	194.35	4.56	1.000	
14	0.85	5.53	0.57	220.44	5.46	1.000	
15	0.91	5.38	13.57	199.96	4.51	1.000	
16	1.03	5.00	23.08	191.39	4.46	0.994	
17	0.64	25.00	0.00	212.72	4.38	0.980	
18	0.65	24.98	0.00	212.98	4.38	0.980	
19	0.69	25.00	0.00	214.33	4.38	0.980	
20	0.65	24.50	0.00	209.79	4.36	0.977	
21	0.91	5.00	27.08	186.43	4.56	0.972	
22	0.71	22.45	0.00	200.69	4.32	0.969	
23	0.84	5.00	37.70	180.04	5.31	0.934	
24	0.44	25.00	40.00	172.14	4.71	0.885	
25	0.45	25.00	39.97	172.13	4.71	0.885	
26	0.42	25.00	40.00	172.13	4.72	0.885	
27	0.41	25.00	40.00	172.09	4.73	0.885	
28	0.47	25.00	39.72	172.07	4.66	0.885	
29	0.47	25.00	38.40	171.94	4.50	0.884	
30	0.55	25.00	38.83	171.67	4.50	0.882	

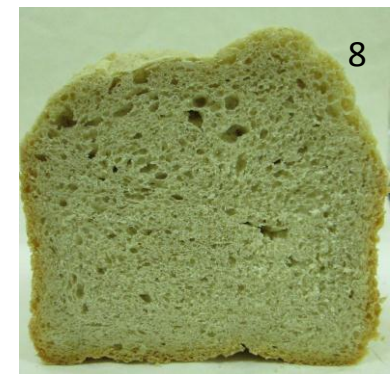
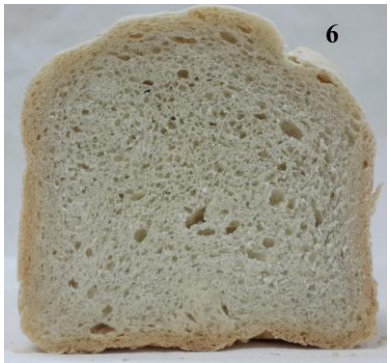
**Ek-2 Starter LAB ilaveli fermantasyon için formül optimizasyonu sonucunda
desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen çözümler**

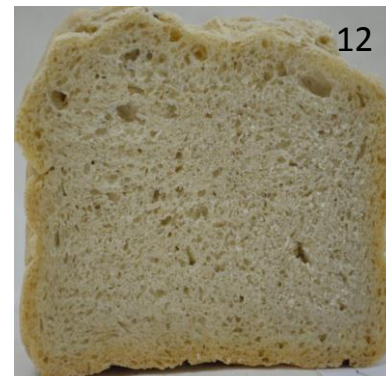
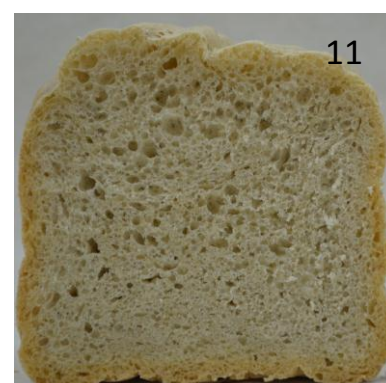
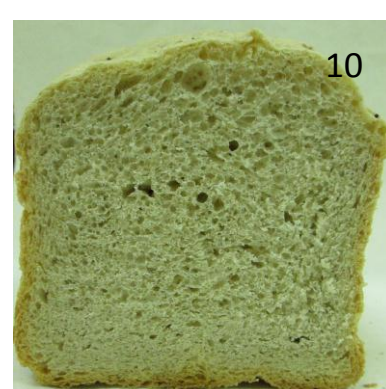
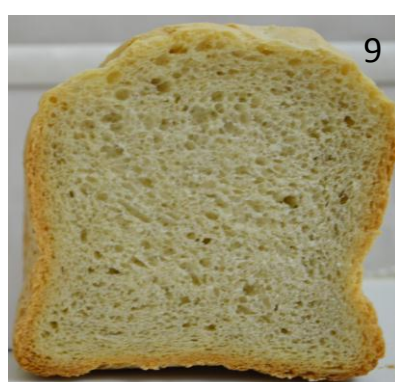
İsim	Hedef	Kısıtlar		Alt	Üst	Ağırlık	Önem
		Limit	Limit				
Maya Kullanım Oranı	aralık içinde	0	2	1	1	3	
Eksi Hamur Kullanım Oranı	aralık içinde	5	25	1	1	3	
Kepek Oranı	aralık içinde	0	40	1	1	3	
EDS	maksimum	95.55	197.82	1	1	3	
Kabul Edilebilirlik	maksimum	1.5	4.75	1	1	3	

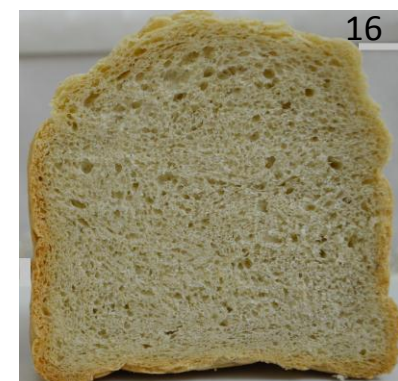
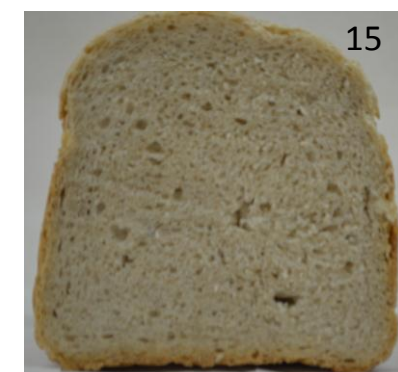
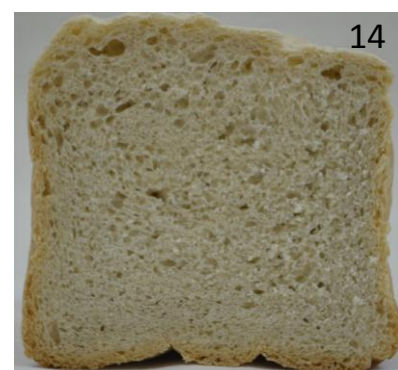
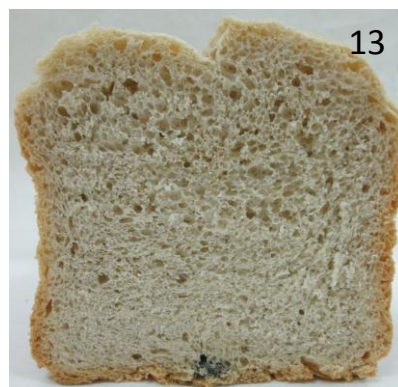
Numara	Maya Kullanım Oranı	Ekşi Hamur Kullanım Oranı	Kepek Oranı	EDS	KE	İstenilirlik	Seçildi
1	1.02	6.99	38.84	212.76	4.85	1.000	
2	0.96	5.23	0.36	199.57	5.48	1.000	
3	0.17	5.30	38.46	212.54	6.07	1.000	
4	0.84	5.22	38.29	229.72	5.56	1.000	
5	1.13	6.59	0.17	199.43	4.98	1.000	
6	0.63	7.38	39.34	214.09	5.20	1.000	
7	0.81	7.97	38.22	206.46	4.77	1.000	
8	1.10	5.27	0.03	202.49	5.29	1.000	
9	0.92	6.05	0.08	197.91	5.39	1.000	
10	0.84	5.01	32.29	207.02	5.20	1.000	
11	0.73	5.51	32.23	201.43	5.18	1.000	
12	1.18	5.69	38.75	226.05	4.92	1.000	
13	1.00	5.13	0.19	201.05	5.45	1.000	
14	1.13	6.64	0.46	198.31	4.96	1.000	
15	1.03	5.21	38.67	231.60	5.31	1.000	
16	0.92	5.57	0.28	198.31	5.46	1.000	
17	1.19	6.73	0.06	199.76	4.89	1.000	
18	0.91	5.71	0.20	197.98	5.46	1.000	
19	0.92	5.74	0.20	198.25	5.43	1.000	
20	1.27	5.17	1.87	197.99	4.85	1.000	
21	0.84	5.36	37.06	222.95	5.43	1.000	
22	1.15	5.02	38.37	230.90	5.12	1.000	
23	0.93	5.76	33.85	207.06	4.96	1.000	
24	0.66	10.26	0.00	188.23	4.75	0.952	
25	1.69	25.00	0.00	223.65	4.34	0.936	
26	1.81	24.91	0.00	216.85	4.32	0.931	
27	1.62	24.93	0.18	225.10	4.31	0.929	
28	1.48	23.56	0.00	224.32	4.15	0.904	
29	1.20	18.46	0.00	208.56	3.90	0.860	

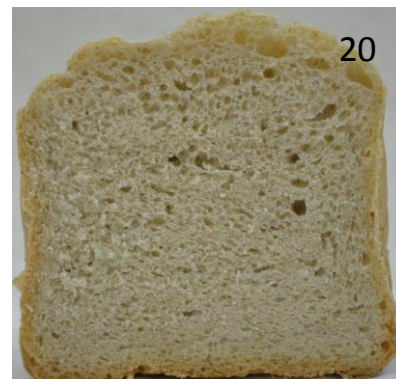
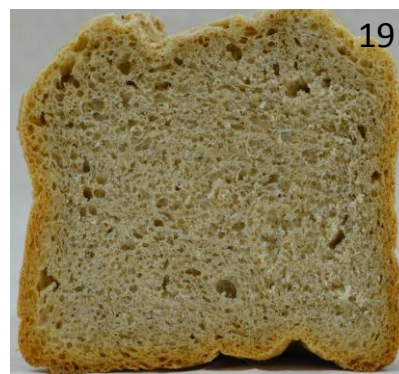
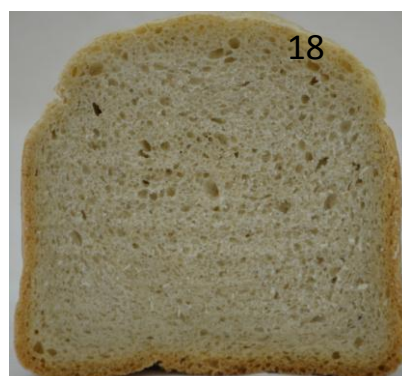
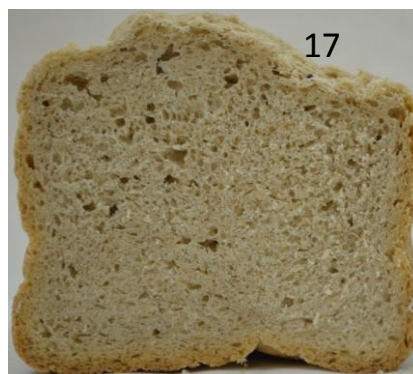
Ek-3. Spontan fermentasyon formül optimizasyonu için önerilen 20 modele ait ekmek fotoğrafları



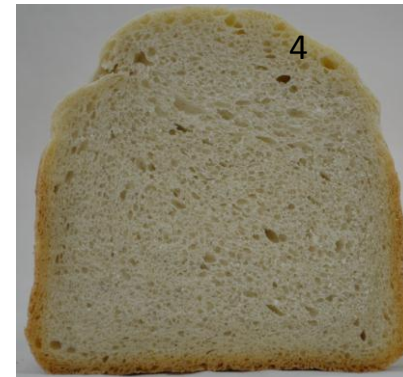
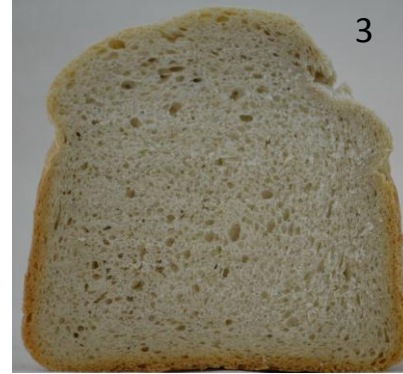
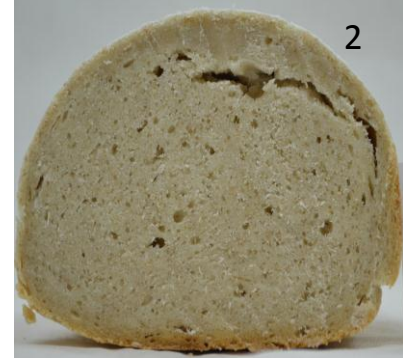
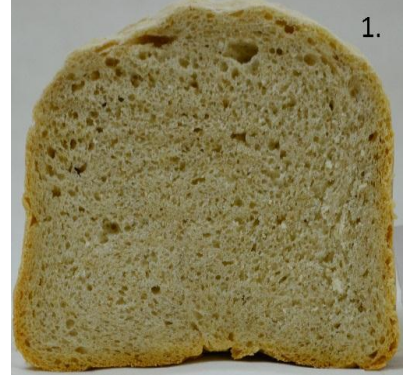




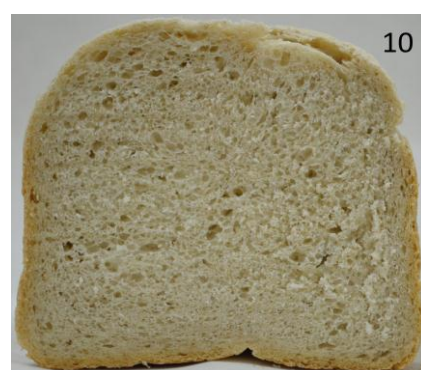
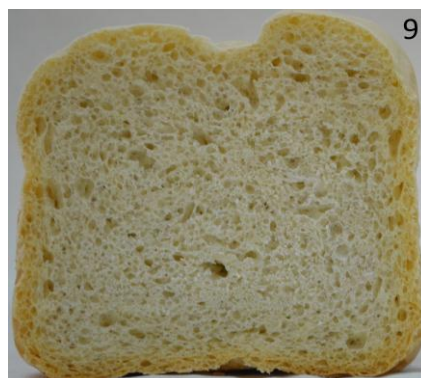


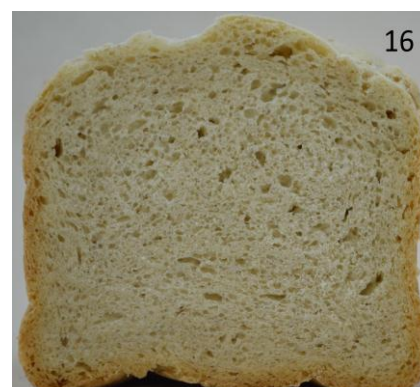
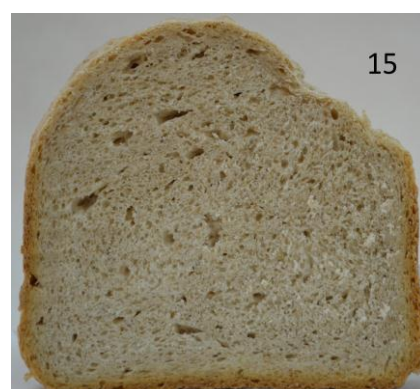
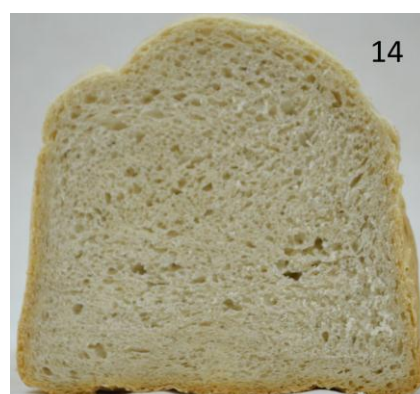


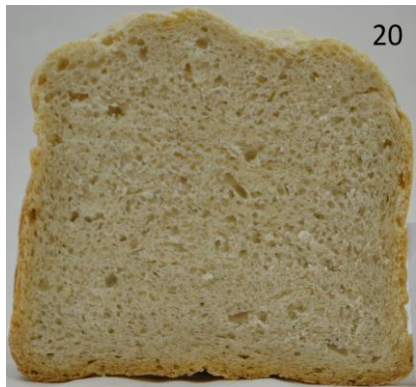
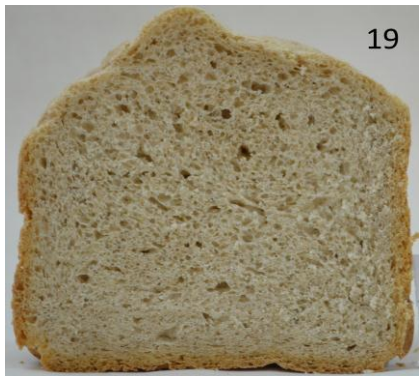
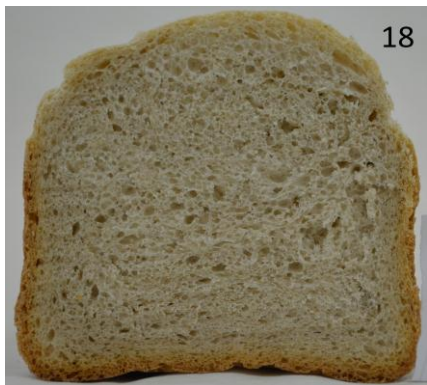
Ek-4. Starter LAB ilaveli fermentasyon formül optimizasyonu için önerilen 20 modele ait ekmek fotoğrafları







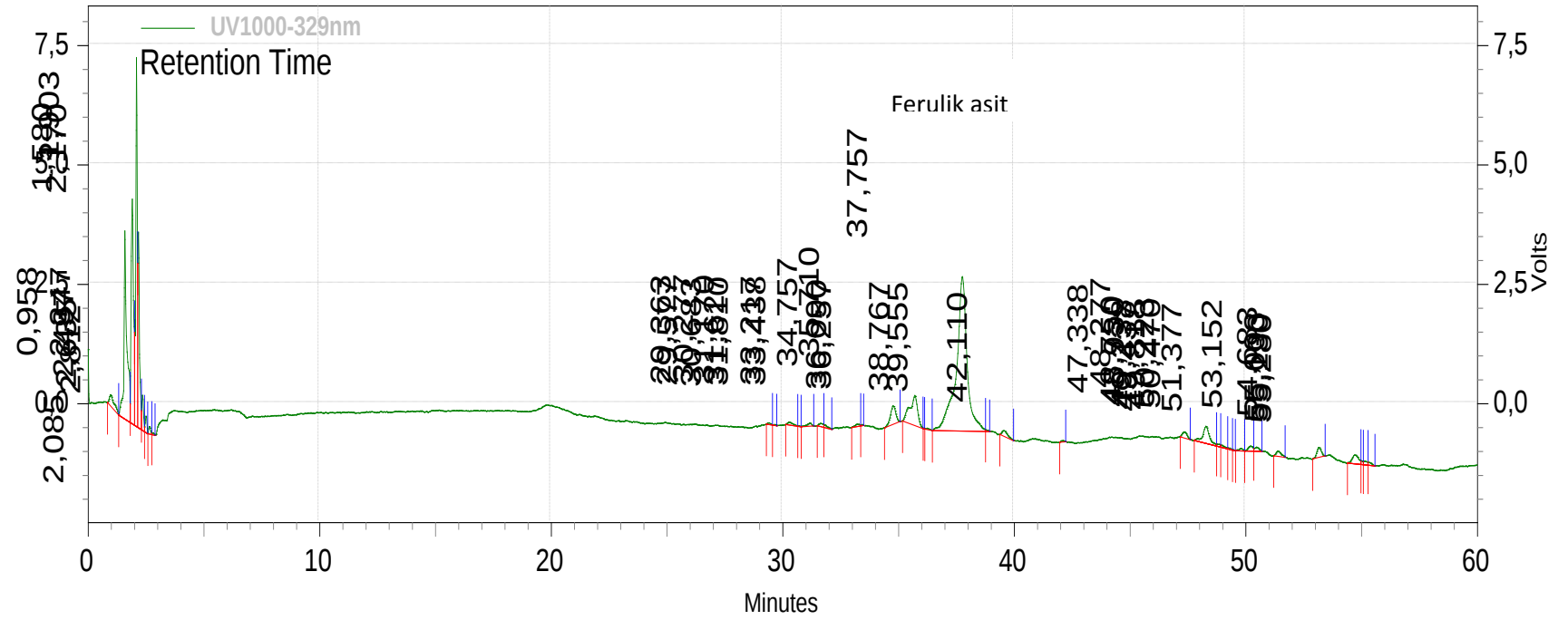




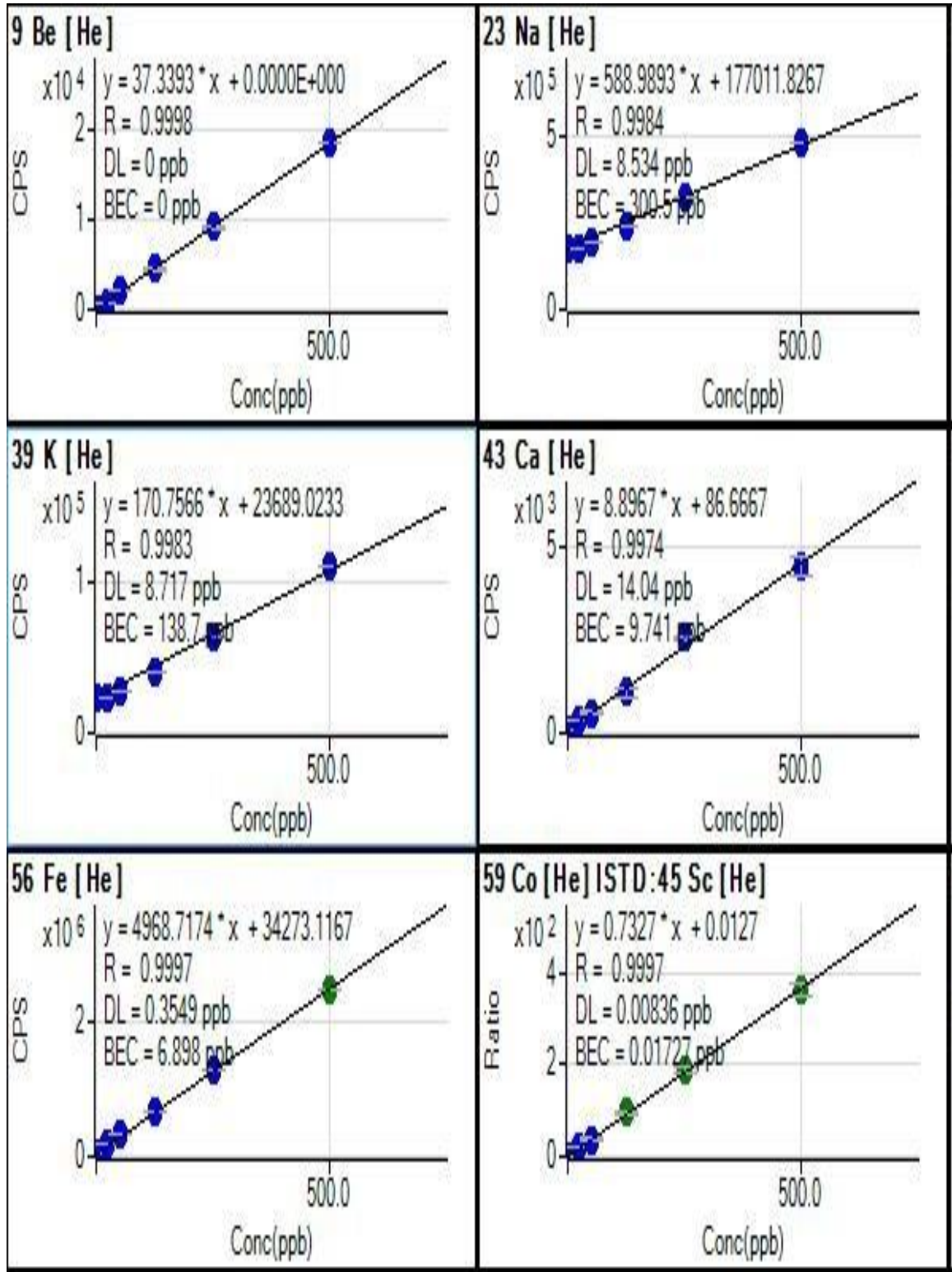
Ek-5. Ekmeklerin renk değerleri

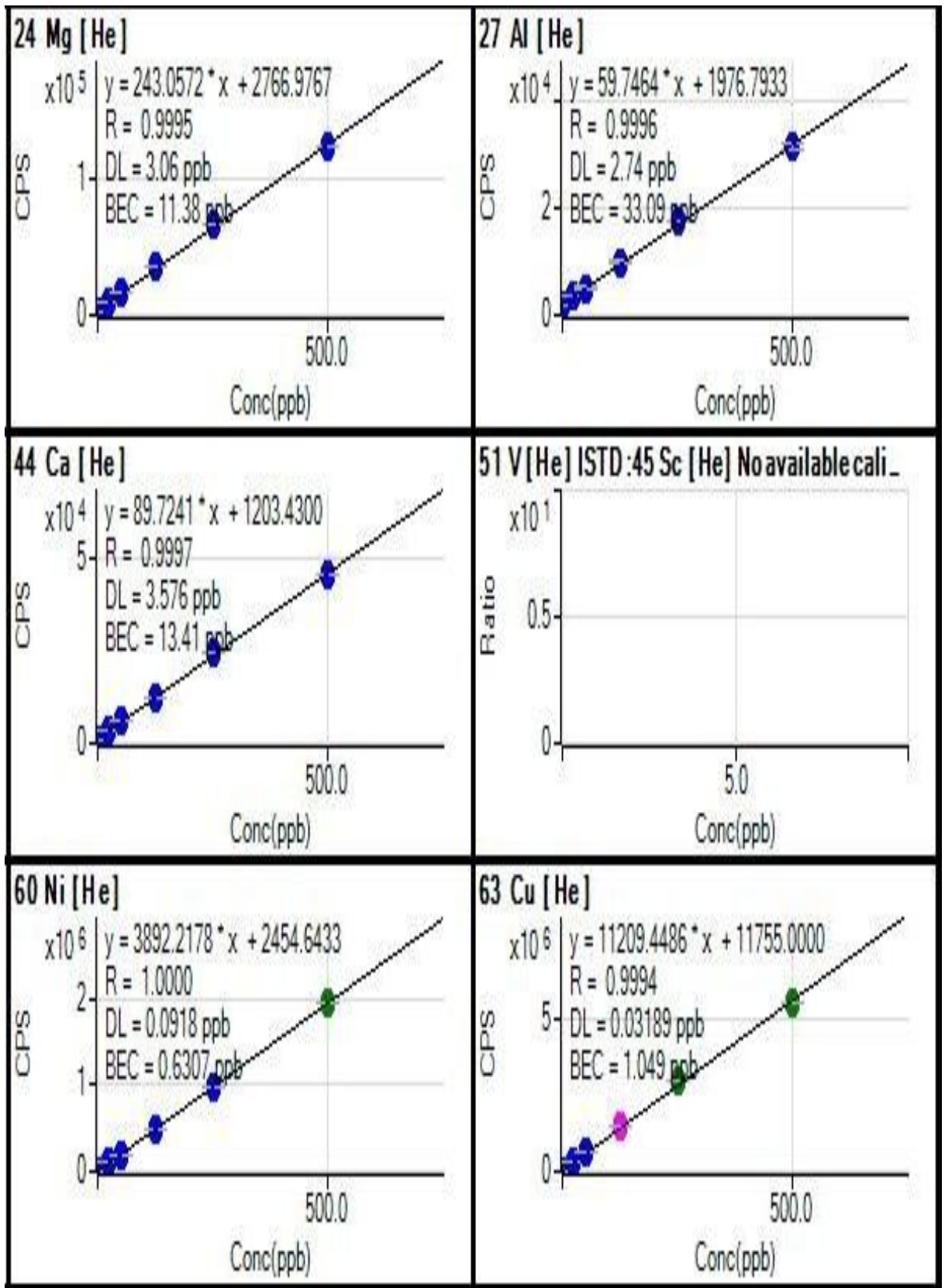
		KABUK			İÇ		
		L*	a*	b*	L*	a*	b*
STARTER EKMEK (STE)		67,26	2,49	22,90	67,73	0,67	15,08
		70,57	3,36	22,37	65,66	0,60	14,48
		63,03	6,71	26,07	70,24	0,68	16,94
		67,67	5,86	26,87	68,19	0,59	16,42
		64,97	6,35	27,30	66,73	0,63	14,56
	Ort.	66,70	4,95	25,10	67,71	0,63	15,50
	Std.Spm.(±)	2,56	1,70	2,06	1,54	0,04	1,00
SPONTAN EKMEK (SPE)		69,43	5,89	28,99	70,88	-0,50	14,20
		71,42	5,24	28,11	71,41	-0,56	14,61
		69,71	5,44	28,01	71,55	-0,40	14,01
		67,73	6,28	27,94	69,88	-0,53	14,53
		68,24	7,16	30,14	72,41	-0,48	14,02
	Ort.	69,31	6,00	28,64	71,23	-0,49	14,27
	Std.Spm.(±)	1,29	0,68	0,84	0,83	0,05	0,25
NORMAL EKMEK (NE)		71,58	2,65	22,61	65,87	-0,70	14,79
		65,96	5,95	25,05	68,29	-1,07	13,89
		72,34	1,59	21,22	72,88	-0,80	15,08
		73,06	1,71	22,39	68,74	-0,93	15,16
		73,59	1,67	22,85	69,25	-0,80	14,84
	Ort.	71,31	2,71	22,82	69,01	-0,86	14,75
	Std.Spm.(±)	2,76	1,66	1,25	2,26	0,13	0,45

Ek-6. Normal ekmek (NE)'e ait ferulik asit örnek kromotogramı



Ek-7. Mineral maddelere ait kalibrasyon grafikleri





ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı: Ali KILIÇ

Uyruğu: Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri: 1 Nisan 1976, Afyon

Medeni Durumu: Bekâr

Tel: +90 312 210 22 92

Fax: +90 312 210 22 91

email: eryaman@erciyes.edu.tr

Yazışma Adresi: Erciyes Üniversitesi Strateji Geliştirme Dairesi Başkanlığı 38039
Talas/KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	EÜ Sosyal Bilimler Enstitüsü	2010
Lisans	EÜ İ.İ.B.F Maliye	2008
Lise	Atatürk Anadolu Lisesi, Ankara	2003

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2008- Halen	Erciyes Üniversitesi Strateji Geliştirme	Uzman
2003–2008	Hürriyet Spor Kompleksi	Satış / Rezervasyon (Part Time)

YABANCI DİL

İngilizce, Almanca

YAYINLAR

1. Eryaman Y., Savucu S. ve Mert M. "Kurala Dayalı İktisat Politikaları ve Mali Disiplin" Maliye Dergisi, Sayı 15, ss 45-61, (2009)
2. Eryaman Y., Mert M. "Anayasal İktisat ve Ekonomik İstikrar", Marmara İ.İ.B.F Dergisi, Cilt 15, Sayı 19, ss 121-138 (2008)