T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİYEZ BUĞDAYI VE KAVUZSUZ ARPA EKŞİ HAMURLARINDAN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ VE MAYALARIN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

Elif ÇAKIR

DOKTORA TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Prof. Dr. Muhammet ARICI

Eş Danışman

Doç. Dr. M. Zeki DURAK

Haziran, 2020

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİYEZ BUĞDAYI VE KAVUZSUZ ARPA EKŞİ HAMURLARINDAN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ VE MAYALARIN İZOLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

Elif Çakır tarafından hazırlanan tez çalışması 26.06.2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Muhammet ARICI
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Doç. Dr. M. Zeki DURAK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Muhammet ARICI, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Banu METİN, Üye
İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi _____

Doç. Dr. Enes DERTLİ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR, Üye
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Muhammet ARICI sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Siyez Buğdayı ve Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurundan Laktik Asit Bakteri ve Mayaların İzolasyonu ve Karakterizasyonu başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Elif ÇAKIR

İmza



Sevgili Aileme,

TEŞEKKÜR

Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü değerli bölüm kurucularımız, Prof. Dr. Muhammet ARICI ve Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ'a öncelikle teşekkür ederim.

Tez çalışmamda ve akademik hayatımda bilgisini, tecrübesini ve desteğini benden esirgemeyen değerli danışman hocam, Prof. Dr. Muhammet ARICI'ya,

Yönlendirmeleriyle tez çalışmama sunmuş olduğu bilimsel destek ve doktora eğitimim sırasında öğrettiği her türlü bilgi için değerli eşdanışman hocam Doç. Dr. M. Zeki DURAK'a,

Tez izleme toplantıları boyunca değerli fikirlerini ve vaktini bizimle paylaştığı için saygı değer juri üyesi değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Banu METİN'e,

Bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen hocalarım, Doç. Dr. Salih KARASU, Öğr. Gör. Dr. Ruşen METİN YILDIRIM ve Dr. Öğr. Üyesi Görkem ÖZÜLKÜ'ye,

Tüm eğitim hayatım boyunca bana emeği geçen tüm öğretmenlerime, her zaman destek olan dostlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Maddi-manevi her konuda, her zaman yanımda olan annem ve babam, kardeşlerim Emre ve Ömer ÇAKIR'a teşekkürü bir borç bilirim.

Elif ÇAKIR

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ viii
KISALTMA LİSTESİ ix
ŞEKİL LİSTESİ x
TABLO LİSTESİ xii
ÖZET xiii
ABSTRACT xv
1 GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti ... 1
1.2 Tezin Amacı ... 2
1.3 Hipotez ... 3
2 KURAMSAL TEMELLER 4
2.1 Ekşi Hamur Teknolojisi ... 4
2.2 Ekşi Hamur Mikrobiyotasına Etki eden Faktörler ... 5
2.3 LAB ve Mayaların Tanımlanması ... 10
2.3.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu Temelli Moleküler Yöntemler ... 11
2.3.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu Ribotiplendirme ... 12
2.3.3 DNA Sekans Analizi ... 13
2.4 FTIR ile LAB ve Mayaların Tanımlanması ... 13
2.5 Moleküler Metotlar ile LAB ve Mayaların Tanımlanması ... 15
2.6 Ekşi Hamur Mikrobiyotası ile ilgili Literatür Çalışması ... 17
2.6.1 Ekşi Hamur LAB ... 17
2.6.2 Ekşi Hamur mayaları ... 18
2.7 LAB ve Mayaların Ekmek Kalitesi Üzerine Etkisi ... 20

2.8 Siyez unu ve Fırıncılıkta Kullanımı 22
2.9 Arpa unu ve Fırıncılıkta Kullanımı 25
3 MATERYAL METOT **29**
3.1 Materyal 29
3.2 Metot 29
3.2.1 Unların Fizikokimyasal Analizi 29
3.2.2 Siyez ve Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurlarının Hazırlanması 30
3.2.3 Spontan Ekşi Hamurlardan İzole edilen LAB ve Mayaların Tanımlanması . 31
3.2.4 Tanımlanan LAB ve Mayaların Teknolojik Karakterizasyonu 32
3.2.5 Ekmek Hamurunun Hazırlanması 37
3.2.6 Ekşi Hamur Ekmeklerinin Üretimi 39
3.2.7 Ekmeklerin Kalite Analizleri 40
3.3 İstatistik Analizi 41
4 ARAŞTIRMA BULGULARI **42**
4.1 Unların Fizikokimyasal Özellikleri 42
4.1.1 Siyez Ununun Teknolojik Özellikleri 42
4.1.2 Kavuzsuz Arpa Ununun Teknolojik Özellikleri 44
4.2 Ekşi Hamurların Genel Özellikleri 45
4.2.1 Siyez Spontan Ekşi Hamurunun pH, TTA Değerleri ve LAB, Maya Sayımları 45
4.2.2 Kavuzsuz Arpa Spontan Ekşi Hamurunun pH, TTA Değerleri ve LAB, Maya Sayımları 47
4.3 Ekşi Hamurlardaki Laktik Asit Bakteri ve Mayaların Tanımlanması 49
4.3.1 Siyez Ekşi Hamurdaki LAB'lerin FTIR ve PCR Teknikleriyle Tanımlanması . 49
4.3.2 Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurundaki LAB'lerin Tanımlanması 54
4.4 Ekşi Hamurdan İzole Edilen Mayalar 59
4.4.1 Mayaların Tanımlanması 59
4.5 Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların Teknolojik Özelikleri 62

4.5.1 Siyez Ekşi Hamurundan İzole Edilip Tanımlanan LAB'nin Teknolojik Özellikleri 62
4.5.2 Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurundan İzole Edilip Tanımlanan LAB'nin Teknolojik Özellikleri 65
4.5.3 Mayaların Teknolojik Özellikleri 72
4.6 Üretilen Ekşi Hamur ve Ekmeklerin Özellikleri 75
4.6.1 Siyez Ekşi Hamurunun pH, TTA Değerleri ve LAB, Maya Sayımları 75
4.6.2 Siyez Unu Ekmeklerinin Spesifik Hacim ve Sertlik Değerleri 77
4.6.3 Siyez Unu Ekmeklerinin Renk ve Duyusal Özellikleri 80
4.7 Kavuzsuz Arpa Unu Ekşi Hamuru ve Ekmeklerinin Kalite Özellikleri 86
4.7.1 Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurunun Ph, TTA Değerleri ve LAB, Maya Sayımları 86
4.7.2 Üretilen Kavuzsuz Arpa Ekmeklerinin Hacim ve Sertlik Özellikleri 88
4.7.3 Kavuzsuz Arpa Unu Ekmeklerinin Renk ve Duyusal Özellikleri 90
5 SONUÇ VE ÖNERİLER **95**
KAYNAKÇA **100**
A SEKANSLANAN LAB'NİN 16S rDNAGEN DİZİLİMLERİ **125**
B MAYALARIN 26S rDNA GEN DİZİLİMLERİ **156**
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **160**

SİMGE LİSTESİ

bp	Baz Çifti uzunluğu
BU	Brabender birimi
°C	Santigrat derece
Dk	dakika
g	gram
Log	Logaritma
L	Litre
L*	Parlaklık
a*	Kırmızılık
b*	Sarılık
Mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
µL	mikrolitre
NaCl	Sodyum klorür
OD	Optik yoğunluk
Rm	Uzamaya karşı maksimum direnç
rpm	Dakikada devir sayısı
S	Saat
Tm	Primerin erime sıcaklığı
W	Sodyum klorür
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

AACC	American Association of Cereal Chemist
APT	All purpose Tween Agar
BLAST	Basic Local Aligment Search Tool
ÇL	Çözünebilir Lif
DNA	Deoksiribonükleik Asit
EH	Ekşi Hamur
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetat
FTIR	Fourier Transform İnfrared
ITS	Internal Transcribed Spacer Gen Bölgesi
K.M	Kuru Madde
KOB	Koloni Oluşturan Birim
LAB	Laktik Asit Bakteri
MRS	deMan, Rogosa and Sharpe Agar
ModMRS	Modifiye MRS Agar
m.o	Mikroorganizma
k.a	Kavuzsuz Arpa
PDA	Patato Dekstrose Agar
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rRNA	Ribozomal Ribonükleik Asit
RA	Rogosa Agar
SDA	Saboraoud Dekstroz Agar
TÇL	Toplam Çözünebilir Lif
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA Buffer
TE	Tris-EDTA Buffer
YGC	Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Bir bakteri hücre numunesinin kızılötesi (FTIR) spektrumu, ... 14
Şekil 3.1 FTIR analiz aşamaları 32
Şekil 3.2 PCR analiz cihazları 35
Şekil 3.3 Siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamur ekmeklerinin yapım şeması 38
Şekil 4.1 Spontan siyez ekşi hamurunun besleme zamanına göre pH, LAB ve maya sayısı değişimi log kob/g 45
Şekil 4.2 Spontan siyez ekşi hamurunun 0. ve 4. günlerdeki pH değişimi ve farklı besiyerlerindeki LAB sayımı log kob/g..... 47
Şekil 4.3 Farklı besiyerlerindeki LAB izolatları 47
Şekil 4.4 Spontan kavuzsuz arpa ekşi hamurunun besleme zamanına göre pH, LAB ve maya sayısı değişimi log kob/g..... 48
Şekil 4.5 Spontan kavuzsuz arpa ekşi hamurunun 0. ve 4. günlerdeki pH değişimi ve farklı besiyerlerindeki LAB sayısımı log kob/g 48
Şekil 4.6 Siyez LAB'nin FTIR cluster ağacı spektral pencereler: W4 (1200-900 cm, W5 (900-700 cm-1), W3 (1500-1200 cm-1) 50
Şekil 4.7 6S rRNA gen bölgesi PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü; 1: DNA marker (100 bp-1,5 kbp)..... 51
Şekil 4.8 Siyez LAB ait filogenetik ağaç 52
Şekil 4.9 Kavuzsuz arpa LAB'nin FTIR cluster ağacı spektral pencereler: W4 (900 ile 1200 cm−1, W5 (700 ile 900 cm − 1), W3 (1200–1500 cm− 1) 55
Şekil 4.10 16S rRNA gen bölgesi ürünleri agaroz jel görüntüsü M:DNA marker (100bp-1,5 kbp) 56
Şekil 4.11 Kavuzsuz arpa LAB'nin filogenetik ağacı 57
Şekil 4.12 Siyez maya izolatlarının FTIR cluster ağacı 60
Şekil 4.13 Kavuzsuz arpa maya izolatlarının FTIR cluster ağacı..... 61
Şekil 4.14 Seçilen mayaların filogenetik ağacı 61
Şekil 4.15 *Lb. curvatus* ve *P. acidilactici* 'nin *B. cereus* ve *B. Subtilis*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu..... 64
Şekil 4.16 *Lb. plantarum* ve *P. pentosaceus*'un *B. subtilis*'e *Lb. plantarum* ve *P. acidilactici*'nin *B. cereus*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu 68
Şekil 4.17 *P. acidilactici* ve *Lb. plantarum*'un *A. niger*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu..... 69
Şekil 4.18 LAB'lerinin fitaz aktivitesi 72
Şekil 4.19 Mayaların fitaz aktivitesi..... 73
Şekil 4.20 Üretilen siyez ve buğday unu ekşi hamur örnekleri 75
Şekil 4.21 Kontrol ekmek hacmine göre ekmek çeşitlerinin % hacim kaybı 78
Şekil 4.22 Starter kültür ile üretilen ekmeklerin spontan katkılı ekmeklere göre % hacim artışı 79
Şekil 4.23 Siyez ekmeklerinin kabuk rengi L*, a*, b* değerleri..... 81
Şekil 4.24 Siyez ekmeklerinin ekmek içi renginin L*, a*, b*değerleri..... 81

Şekil 4.25 Spontan ekşi hamur katkılı siyez unu ekmeklerinin dış ve iç kesit görüntüsü, 1. kontrol, siyez Oranları: 2.%25 siyez, 3. %50 siyez, 4.%75siyez, 5. %100 siyez 83
Şekil 4.26 Yüzdeyüz buğday un ile farklı maya kullanılarak üretilen SKE1 ve SEK kontrol ekmekleri 83
Şekil 4.27 *Lb.brevis* SB68, *Lb.plantarum* SB22, *S. cerevisiae* 3SM3-3 starter kültür içeren siyez ekmeklerinin dış ve iç kesit görüntüleri, 1. %100 buğday kontrol, siyez oranı 2. %25, 3. %50, 4. %75, 5. %100 siyez 84
Şekil 4.28 *Lb.brevis* SB68, *Lb.plantarum* SB32, *S.cerevisiae* 3SM1-3 starter kültür içeren ekmeklerin dış ve iç kesit görüntüsü,1. %100 buğday kontrol, 2. %25, 3. %50, 4. %75, 5. %100 siyez 84
Şekil 4.29 Spontan Ekşi Hamur İçeren %100 buğday ve siyez unu ekmeklerinin iç kesiti. 85
Şekil 4.30 Ekmek örneklerinin duyusal durumu 85
Şekil 4.31 Üretilen buğday unu ve kavuzsuz arpa ekşi hamur örnekleri 86
Şekil 4.32 AKE kontrol ekmeğinin hacmine göre ekmek çeşitlerinin %hacim kaybı.... 89
Şekil 4.33 Starter kültür ile üretilen ekmeklerin spontan katkılı ekmeklere göre %hacim artışı 89
Şekil 4.34 Arpa ekmeklerinin kabuk renk (L*, a*, b*) değerleri 91
Şekil 4.35 Arpa ekmeklerinin ekmek içi renk (L*,a*,b*) değerleri 91
Şekil 4.36 Spontan kavuzsuz arpa unu ekmeklerin dış ve iç kesit görüntüsü 1. kontrol %100 buğday, kavuzsuz arpa unu oranı 2. %25, 3. %50, 4. %75, 5. %100 .. 92
Şekil 4.37 *Lb. brevis*SAB31, *Lb. plantarum* SAB15, S. *cerevisiae* SAM1-4 starter kültür içeren kavuzsuz arpa unu ekmeklerinin dış ve iç kesit görüntüsü, 1. % buğday kontrol, 2. %25, 3. %50, 4. %75, 5. %100 kavuzsuz arpa 92
Şekil 4.38 Ekmek örneklerinin duyusal durumu 93

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Ekşi hamurların sınıflandırılması ve mikrobiyotası 8
Tablo 2.2 Siyez ununun bileşimi 23
Tablo 2.3 Arpanın besinsel değeri 26
Tablo 2.4 Kavuzsuz arpanın besinsel değeri 27
Tablo 2.5 Kavuzsuz arpa ununun kepek, TÇL ve ÇL bileşimi 28
Tablo 3.1 PCR amplifikasyonu için hazırlanan karışım 33
Tablo 3.2 Kullanılan primerlerin dizilimi 33
Tablo 3.3 PCR amplifikasyonu için primerlere göre termal döngü şartları 34
Tablo 3.4 Çalışmada kullanılan ekşi hamur izolatları 37
Tablo 4.1 Siyez ve buğday unu katkılı unların teknolojik özellikleri 42
Tablo 4.2 K. arpa ve buğday unu katkılı unların teknolojiközellikleri 44
Tablo 4.3 Fermente siyez ekşi hamurundan izole edilen LAB'nin 16S rDNA dizi analizi İle genotip tanımlama 53
Tablo 4.4 Fermente kavuzsuz arpa ekşi hamurundan izole edilen LAB'nin 16S rDNA dizi analizi ile genotip tanımlama 58
Tablo 4.5 Fermente siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamurdan izole edilen mayaların 26S rDNA dizi analizi ile genotip tanımlama 62
Tablo 4.6 %6 NaCl ,%0,3 Safra İçeren ve pH 2,5'a ayarlanmış MRS brothlarda 13LAB'ın % canlılık oranları 63
Tablo 4.7 Tanımlanmış 13 LAB'ın antimikrobiyal ve fitaz aktivitesi 65
Tablo 4.8 %6 NaCl, %0,3 safra İçeren ve pH 2,5'a ayarlanmış MRS brothlarda 19 LAB'ın canlılık oranları 67
T**ablo 4.9** Tanımlanmış 19 LAB'ın antimikrobiyal ve fitaz aktivitesi 70
Tablo 4.10 Tanımlanan mayaların teknolojik ve antimikrobiyal özellikleri 74
Tablo 4.11 Starter ve spontan ekşi hamurlarını pH, TTA ve Mikrobiyolojik sayım değerleri 76
Tablo 4.12 Ekmek çeşitlerinin teknolojik özellikleri 77
Tablo 4.13 Ekmek çeşitlerinin renk özellikleri 80
Tablo 4.14 Ekmek çeşitlerinin duyusal özellikleri 82
Tablo 4.15 Starter ve spontan ekşi hamurlarının pH, TTA ve mikrobiyolojik sayımlarının değerleri 86
Tablo 4.16 Ekmek çeşitlerinin teknolojik özellikleri 88
Tablo 4.17 Ekmeklerin renk özellikleri 90
Tablo 4.18 Üretilen ekmeklerin duyusal özellikleri 93

ÖZET

Siyez Buğdayı ve Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurlarından Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Elif ÇAKIR

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Eş-Danışman: Doç. Dr. M. Zeki DURAK

Tahılların hem teknolojik hem de besleyici özelliklerinin geliştirilmesi için laktik asit bakterileri (LAB) ve mayalardan oluşan ekşi hamur fermentasyonu potansiyel bir araç olarak görülmektedir. Beslenme açısından üstün ve kendine özgü özelliklere sahip siyez buğdayı ve kavuzsuz arpa unlarının ekşi hamur teknolojisine yeni bir kaynak olması amacıyla LAB ve maya biyoçeşitliliği araştırılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında spontan olarak laboratuar şartlarında hazırlanan siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamurlarından farklı kültür ortamlarınan izole edilen LAB ve maya izolatları FTIR'da ön tanımlama yapılıp, cluster ağaçlarından LAB ve mayalar seçilip PCR (16S)'da tanımlanmıştır. Siyez ekşi hamurunda *Lactobacillus crustorum* (baskın tür), *Pediococcus spp., Lactobacillus. brevis*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus curvatus* olmak üzere yedi farklı tür PCR ile tanımlanmıştır. Kavuzsuz arpa ekşi hamurunda ise *Pediococcus spp*. (baskın tür)*, Lb. brevis*, *Lb. curvatus*, *Lb. fermentum*, *Lb. crustorum*/*Lb.musae*, *Lb. plantarum*, *Lb. paralimentarius*, *Leu. mesenteroides* ve *Lb. equigenerosi* olmak üzere 9 farklı tür belirlenmiştir. *Lb. crustorum*/*Lb.musae* 16S ile iyi bir ayrım göstermemiştir. Her iki ekşi hamurda mayalardan *Saccharomyces cerevisiae* türü baskın bulunmuştur. Çalışmanın

ikinci aşamasında teknolojik özellikleri incelemek için tanımlanan her türden seçilen LAB ve mayaların tuz ve aside yüksek toleranslı bakteriler olduğu belirlenmiştir. *Lb. paraplantarum* SB22 ve *P. acidilactici* 2AB*, P. acidilactici* SAB26, *Lb. plantarum* SAB15 ve *P. acidilactici* SAB13 *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Bacillus cereus* ATCC11778 ve *Escherichia coli* ATCC25922 patojen bakterilerine karşı yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir. *Lb. crustorum, Lb. paraplantarum* SB22*, Lb. brevis* SB68, *Lb. paralimentarius* SAB23*, Lb. brevis* SAB16, *Lb. brevis* SAB31, *Lb. plantarum* SAB15 ve *Pediococcus* türleri *Penicillium carneum, Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger'e* karşı antifungal aktivite göstermiştir. *Lb. paraplantarum* SB22, *Lb. plantarum* SB17, *Lb. plantarum* SAB30, *P. pentosaceus* SAB7 ve *Leu. mesenteroides* SAB20 ve mayalardan *S. cerevisae* 3SM7-0 ve *C. glabrata* 4SAM3-4'te yüksek fitaz aktivitesi görülmüştür. Çalışmanın son aşamasında siyez ve kavuzsuz arpa unlarına (ve %25, %50, %75 oranlarda buğday unu katkılı) seçilen LAB ve mayalardan siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamur ekmekleri ile spontan ekmekler yapılmıştır. SS1 ve EHS1 siyez ekşi hamurları SB68 kodlu *Lb. brevis,* SB22 kodlu *Lb. paraplantarum ve* 3SM3-3 ve 3SM1-3 kodlu *S. cerevisiae* olmak üzere 2 faklı maya ile oluşturulmuş olup EAS1 kavuzsuz arpa ekşi hamuru ise SAB31 kodlu *Lb. brevis*, SAB15 kodlu *Lb. plantarum* ve SAM1-4 kodlu *S. cerevisiae* ile üretilmiştir. Starter kültür içeren siyez ve kavuzsuz arpa ekmekleri spontan ekmeklerden daha yüksek hacim, spesifik hacim ve daha düşük sertlikte elde edilmiştir. Siyez ekmekleri siyez oranı arttıkça ekmek içi daha sarı ve daha az kırmızı, arpa ekmekleri de arpa oranı arttıkça daha kırmızı ve daha az sarı bulunmuştur. Duyusal analiz sonuçlarına göre en çok beğenilen EHS1 ekşi hamur eklenmiş SE1 (5.86) ve SE2 (5.77) ekmeği ile kavuzsuz arpa ekmeklerinden ise EHA1 ekşi hamur eklenmiş arpa unu içeren AK1 (5.60) ve AK2 (5.16) ekmeklerinde görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Ekşi hamur**,** LAB, siyez unu, kavuzsuz arpa unu, PCR.

ABSTRACT

Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria and Yeast From Einkorn Wheat and Hull-Less Barley Sourdough

Elif ÇAKIR

Department of Food Engineering

Doctor of Philosophy Thesis

Advisor: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Co-advisor: Assoc. Prof. Dr. M. Zeki DURAK

Sourdough fermentation consisting of lactic acid bacteria (LAB) and yeasts, which are characterized for both nutritious and technological development of cereals, is seen as a potential tool. The nutritionally superior and unique features of einkorn wheat and hull-less barley flour have an effect on the microbiota of which it has a biodiversity. In the first stage of the study, pre-identification performed with FTIR to LAB and yeast isolates isolated from different media from spontan einkorn and hull-less barley sourdough. LAB and yeasts representing the obtained cluster trees were chosen and identified with PCR. From einkorn, seven different LAB species of *Lactobacillus crustorum* (dominat species)*, Pediococcus* spp., *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, and *Lactobacillus curvatus* were identified. From hull-less barley, nine LAB species of *Pediococcus* spp*.,* (dominant species), *Lb. curvatus*, *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum*, *Lb.crustorum*/*Lb. musae*, *Lb. paralimentarius*, *Leu. mesenteroides* and *Lb. equigenerosi* were identified. *Lb. crustorum / Lb.musae* did not distinguish well with 16S. Of the yeasts, *Saccharomyces cerevisiae* species was dominant. In the second stage of the study, it was determined that the LABs and yeasts selected from each type identified to

examine the technological properties are bacteria with high tolerance to salt and acid. *Lb. paraplantarum* SB22 and *P. acidilactici* 2AB*, P. acidilactici* SAB26, *Lb. plantarum* SAB15 and *P. acidilactici* SAB13 were shown to have high antibacterial activity against *B. subtilis* ATCC6633, *B. cereus* ATCC11778 and *E. coli* ATCC25922. *Lb. crustorum, Lb. paraplantarum* SB22*, Lb. brevis* SB68, *Lb. paralimentarius* SAB23*, Lb. brevis* SAB16, *Lb. brevis* SAB31, *Lb. plantarum* SAB15 and *Pediococcus* sp. Showed antifungal activity against *Penicillium carneum, Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger'e. Lb. paraplantarum* SB22, *Lb*. *plantarum* SB17, *Lb. plantarum* SAB30, *P. pentosaceus* SAB7 and *Leu. mesenteroides* SAB20 and *S. cerevisae* 3SM7-0 and *C. glabrata* 4SAM3-4 showed high phytase activity. In the final stage of the study, the selected LAB and yeasts from different proportions of einkorn and hull-less barley (25%, 50%, 75%) added to wheat flour were used to make einkorn and hull-less barley sourdough breads. For SS1 and EHS1 2 different einkorn sourdough, SB68 *Lactobacillus brevis,* SB22 *Lactobacillus paraplantarum* with 3SM3-3 and 3SM1-3 coded *Saccharomyces cerevisiae* using 2 different yeasts were used for EAS1 hull-less barley sourdough, SAB31 *Lactobacillus brevis*, SAB15 *Lactobacillus plantarum* and SAM1-4 *Saccharomyces cerevisiae* were used as starter culture. Breads containing starter culture sourdough had higher specific volume compared to spontaneous breads and lower hardness was obtained with einkorn and hull-less barley breads. Einkorn breads had more yellow and less red linked to the increase in einkorn proportion, while hull-less barley breads had more red color and less yellow linked to the increase in barley According to sensory analysis results for einkorn bread samples with bests cores SE1 (5.86) and SE2 (5.77) sourdough bread added to EHS1 sourdough containing, and AK1 (5.60) and AK2 (5.16) sourdough bread with added to EHA1 sourdough containing hull-less barley.

Keywords: Sourdough, LAB, einkorn flour, hull-less barley flour, PCR.

1
GİRİŞ

1.1. Literatür Özeti

Ekşi hamur, un (buğday, çavdar, pirinç gibi) ve suyun karışımının spontan [1] ya da starter kültür ile kontrollü bir şekilde fermentasyonu ile elde edilen biyoteknolojik ve geleneksel bir üründür [2, 3]. Aynı zamanda ekşi hamur kendine özgü heterojen laktik asit bakterilerinden (LAB) ve mayalardan oluşan fermente edici mikrobiyotayı temsil eder [4]. Ekşi hamurda mayalanma sırasında oluşan laktik asit fermentasyonu, proteoliz, uçucu bileşikler, anti küf ve rope önleyici bileşikler [5, 6] gibi önemli aktiviteler sayesinde tekstür, raf ömrü, aroma ve besinsel özelliklerin gelişmesini artırarak ekmekçilik özelliklerini gelişirmektedir [7]. Bundan dolayı ekşi hamur fırıncılık ürünlerinde ticari maya ile (*Saccharomyces cerevisiae*) birlikte kullanıldığı gibi alternatif olarak da kullanılmaktadır [3]. Son yıllarda tüketicilerin kaliteli ve sağlıklı gıdalara yönelmesi fırıncılık sektörünü besleyici ve duyusal özellikleri güçlendirilmiş fırın ürünlerinin üretimine yöneltmiştir [8, 9]. Bu durum buğday ununa alternatif ya da buğday unu ile birlikte diyet lifi, protein, mineral, vitamin, fenolik bileşiklerce zengin farklı kökenli unların kullanımı [10] ile yapılan ekşi hamur ekmeklerinin üretiminin ve bu alandaki çalışmaların artmasına kapılarını açmıştır. Siyez, düşük glisemik indekse sahip olmasının yanında, protein, yağ (zengin doymamış yağ asidi), fruktanlar, fenolikler, tokoferoller ve karotenoid gibi bazı antioksidan fonksiyonel bileşikleri ve çinko, demir gibi önemli olan bazı iz elementleri [11-13] diğer buğday türlerine göre daha yüksek oranda içermektedir. Aynı şekilde arpa da sahip olduğu protein, diyet lif ve zengin beta-glukan ve nişasta ile gıda uygulamalarında ilgi çekmektedir. Dünyada ekşi hamurdan farklı çeşitte ekmek üretiminde değişik hamur metotları ve kullanılan LAB ve maya türlerinin çeşitliliği rol oynamakta ve [14, 15] ve hamur teknolojisi hamurun içerdiği LAB ve mayaların tanımlamasına bağlı olarak ilerleme göstermektedir [15, 16]. Bu yüzden ekşi hamurların mikrobiyal karakterizasyonu önem kazanmaktadır. Farklı

ülkelerde üretilen ekşi hamurların LAB popülasyonunun karakterizasyonu üzerine birçok çalışma [17-23] yapılmasına rağmen ülkemizde yetişen siyez ve kavuzsuz arpanın LAB ve maya karakterizasyonu üzerine çalışma bulunmamaktadır. Aynı zamanda ülkemizde ekşi hamurlar genellikle buğday ununda üretilmektedir. Siyez ve kavuzsuz arpanın ekşi hamurda kullanım olanaklarının artırılması üzerine yeterli araştırma bulunmamaktadır. Siyez ve kavuzsuz arpa unlarının mikrobiyal çeşitliliği üzerine yapılan araştırmaların ve besinsel değeri yüksek bu unların ekmeklik özelliklerinin geliştirilmesine yönelik kısıtlı çalışma olması bu araştırmanın yapılmasına ihtiyaç doğurmuştur.

1.2. Tezin Amacı

Bu araştırmada siyez buğdayı ve kavuzsuz arpadan laboratuvar koşullarında spontan olarak üretilen ekşi hamurların teknolojik ve mikrobiyolojik özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda üretilen spontan hamurlardan izole edilen LAB ve mayalar tanımlanıp, teknolojik özellikleri tespit edilerek seçilen LAB/maya kombinasyonu ile starter kültür oluşturmak amaçlanmıştır. Kendi ekşi hamurlarına adapte olan suşlar ile üretilen starter kültürle farklı oranlarda buğday unu katkılı siyez ve kavuzsuz arpa unlarından ekşi hamur ekmek üretim imkânları da planlanmıştır.

Bu bağlamda çalışma kapsamında;

1.Yüzde yüz siyez buğdayı ve kavuzsuz arpa unları ile bu unların %25, %50, %75 buğday unu katkılı unların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi (%nem, %kül, %protein, sedimentasyon, farinograf)

2. Ekşi hamur formülasyonun hazırlanması ve bu hamurlardan LAB ve mayaların izole edilmesi,

3. İzolatların FTIR metodu ile ön tanımlamaları yapılarak Clustur ağaçları oluşturulması,

4. Seçilen farklı LAB ve maya izolatların moleküler yöntemlerle (PCR) tanımlanarak filogenetik ağaç oluşturulup LAB ve mayaların çeşitliliğinin belirlenmesi,

5. LAB ve mayaların teknolojik özelliklerinin belirlenmesi ve özellikleri en iyi olan LAB/maya kombinasyonları ile starter oluşturulması

6. Ekmek üretimi ve ekmeklerin tekstürel ve duyusal özelliklerinin tespiti hedeflenmiştir.

Günümüzde artan obezite, şeker hastalığı, kalp, kolestrol vb. hastalıkların çoğalması siyez ve arpa gibi tahılların önemini gittikçe arttırmakta ve geleceğin tahılları olarak nitelendirilmektedir. Dünyada organik siyezin yaygın kullanımını amaçlayan araştırmalar başlatılmıştır. Bu durum ülkemiz için siyez tarımının gelişimine fırsat teşkil etmekte ve yerel gıda üreticilerine katkı sağlaması açısından da özgün bir değere sahiptir.

1.3 Hipotez

Besinsel değeri yüksek olan siyez ve kavuzsuz arpa unlarının daha çok beslenme özelliklerinin üzerine çalışmalar olması, bu ürünlerin fermente gıdalarda kullanımında aday gösterilmesi açısından önemli oluşu ve mikrobiyotalarının araştırılması üzerine yeterli çalışma olmayışı, ekmekçilik kalitesini artırmak amacıyla ekşi hamur kullanımı ile birlikte gluten içeriği düşük besinsel değeri yüksek farklı unların buğday unu ile birlikte kullanılması üzerine yapılan çalışmalara ihtiyaç duyulmasından dolayı bu fikir ortaya çıkmıştır. Siyez ve kavuzsuz arpa unlarının içerdiği LAB ve mayaların teknolojik özellikleri belirlenerek seçilen bu bakteri ve mayalar yapılacak siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamurlarının kalitesini artıracağı aynı zamanda buğday unu ile de desteklenerek siyez ve kavuzsuz arpa ekmeklerin fırıncılık özelliklerinin iyileşeceği düşünülmektedir. Bu olgulardan yola çıkarak siyez ve kavuzsuz arpa unlarından hazırlanan ekşi hamurlardan izole edilen LAB ve mayalardan starter oluşturulması ve elde edilecek ekşi hamurun siyez, kavuzsuz arpa ve bunların buğday unu karışımlarından yapılacak ekmeklerde etkin bir şekilde kullanılabileceği çalışmanın hipotezini oluşturmuştur.

2
KURAMSAL TEMELLER

2.1 Ekşi Hamur Teknolojisi

Eski çağlardan beri hamurun mayalanması amacı ile kullanılan ekşi hamur [24] un ve su karışımının heterojen LAB ve mayalar tarafından fermentasyonu sonucu meydana gelmiştir [25-27]. Ekşi hamur ana hamurdan devamlı besleme yapılarak ya da starter kültür kullanılarak üretilmektedir [25-27]. Farklı hamurlar farklı mikrobiyotaya sahip oldukları için yeni LAB ve maya türlerinin kaynağı olarak görülmektedir. 10^8kob/g'dan fazla LAB içeren ekşi hamur düşük pH, sınırlı oksijen, yüksek karbonhidrat içeriği ile stresli ve spesifik bir ekoksistem olduğu görülmüştür [28-30]. LAB ve mayaların ekşi hamurda 100:1 olarak bulunduğu belirlenmiştir [31]. Ekşi hamur laktik asit bakterileri çoğunlukla laktobasiller, özellikle de heterofermentatif olanlar stabil ekşi hamur ekosistemlerini oluşturmaktadır. Ekşi hamurda suşlar genellikle *Lactobacillus* türlerine ait olup *Leuconostoc* spp., *Wiesella* spp., *Pediococcus* spp., ve *Entrococcus* spp., gibi türlerde bulunmaktadır [25].

-Spontan (Doğal Fermantasyon) : Unun kendi mikrobiyotasına bağlı olarak un ve suyun karışımı ile başlar, ortam koşullarından, unun orjini, depolama koşulları, hijyenik koşullar, bunun yanında uygulanan fermentasyon prosesinin teknolojik parametreleri spontan ekşi hamur mikroflorası üzerine etkili olmaktadır [32, 33]. Doğal fermantasyon her zaman uygun tat ve aroma verememektedir [34].

-Starter Kültür ile Fermantasyon: Ticari ekşi hamur tesadüfî mikrobiyotaya dayanmaz, saf LAB kültürü veya LAB/maya karışımı kullanılmakta olup ekşi hamuru kısa sürede asitlendirerek ekmek yapımında kulanılmaktadır. Ticari starter kültür; Dondurarak kurutulmuş tek veya karışık saf starter türlerin tozu olarak yada aktif ekşi hamurlardan elde edilen starter kültürlerden oluşmaktadır [32, 33]. Ticari olarak satışa sunulan ekşi hamur starterleri, genellikle iyi asidifkasyon ve aroma sağlayan farklı heterofermetatif ve homofermentatif LAB gruplarından meydana gelmektedir.

2.2 Ekşi Hamur Mikrobiyotasına Etki eden Faktörler

-Ekşi Hamur Mikrobiyotasının Orjini, Un Tipi

Ekşi hamur fermentasyon süreci içinde LAB ve mayaların varlığı stabilitesi uygulanan teknolojik prosedür ve fırıncılık uygulamaların yanı sıra ham materyale bağlıdır. Bazı hammaddelerin kullanımı tahıl çeşidine ek olarak karbonhidrat, tuz, yoğurt, meyve, işlem parametreleri, hamur verimi, besleme süresi gibi bir bölgenin yerel geleneklerine bağlı olabilir. Ayrıca trofik ve metabolik işbirliklerinin etkileşimi sonucu LAB ve/veya maya türleri spesifik coğrafi alanı ile ilişkilendirilmektedir [30, 35]. Un içerisindeki besin mevcudiyeti ve fizikokimyasal parametreler açısından ekşi hamur ortamına adapte tür ve/veya suşlar bu ekosistemde gelişir ve stabil simbiyotik mikrobiyal toplulukların kurulmasında anahtar rol oynar [30, 36]. Bununla birlikte LAB türleri ekşi hamurdaki kontaminasyondan dolayı spesifik değildir. Buna karşılık *Lb. fermentum* ve *Lb. plantarum* fermentasyon boyunca un tipine veya yeteri kadar dirençli olmayan starter kültürlere bakılmaksızın fermentasyon boyunca hakimdir[30, 37-39]. Çoğu ekşi hamur buğday ve çavdar unundan yapılmaktadır. 38 yayında buğday ekşi hamurunda *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. fermentum, Lb. sanfranciscensis* ve *Leu. mesenteroides*; 12 çavdar ekşi hamurunda *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. fermentum Lb. sanfrancensis* belirlenmiştir. Karabuğday, amarant ve kinoa kinoa gibi pseudo tahıllarda *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum*, *Lb. paralimentarius* ve *Lb. helveticus* belirlenmiştir [30, 40, 41].

-Ekşi Hamur Fermentasyon İşlemlerinin Çeşitleri

Ekşi hamur uygulanan teknolojiye bağlı olarak

-Tip I ekşi hamurlar veya geleneksel ekşi hamur;

-Tip II ekşi hamurlar veya hızlandırılmış ekşi hamur;

-Tip III kurutulmuş ekşi hamurlar ve

-Tip IV ekşi hamur [42] olmak üzere 4 grup altında sınıflandırılmaktadır [43].

Geleneksel tekniklerle üretilen Tip I ekşi hamur (28-30^{o}C de pH 4 ortamında) mikroorganizmaların gaz üretimini sürdürebilmeleri için günlük olarak aktif tutulmaktadır. İlk olarak Fransız ekmeğinde asit üretiminden sorumlu olduğu bulunan *Lb. sanfranciscensis* maltozdan yüksek miktarlarda laktik asit ve asetik asit üreten

zorunlu bir heterofermentatif LAB türüdür [44]. Tip I ekşi hamurda heterofermentatif *Lactobacillus* türleri olan *Lb. brevis, Lb. plantarum, Lb. rossiae, Lb. sanfranciscensis* [30] baskın türler olarak belirlenmiştir (Tablo 2.1). Zorunlu heterofermentatif laktik asit bakterileri maltozdan yüksek miktarda laktik asit ve asetik asit üretmektedir. Bu nedenle ekşi hamur ekmeğindeki ekşime aktivitesine ve gaz üretimine yardımcı olduğu belirlenmiştir [45, 46]. Geleneksel buğday ve çavdar ekmeği üretiminde 3-48 sa arasında fermentasyon ile oluşmaktadır [47]. Tip II ekşi hamur üretiminde fermentasyon sıcaklığı genellikle 30^{o}C'nin üzerinde ve 2 ile 5 gün sürmektedir. Çavdar ekmeğinin daha hızlı daha verimli büyük ölçekli kontrollü ekşi hamur mayalama işlemlerine yönelik endüstriyel talepler ile tip 2 ekşi hamurların gelişmesine neden olmuştur. Bu hamurlarda 24 saat içinde pH 3,5 altına düşer. Tip II ekşi hamurlar endüstriyel uygulamalara uygun özelliktedir. Bu tip ekşi hamurlar yarı-akışkan karaktere sahip olup kolayca işlenebilir niteliktedir. Tip II ekşi hamurların hazırlanmasında kontrollü koşullarda un, çeşitli malt ve fungal amilazların katkılanması ile LAB ve maya fermentasyonu gerçekleştirilmektedir[48]. Mikroorganizmalar genellikle geç durağan fazda olduğu için sınırlı metabolik aktivite gösterdiklerinden fermentasyona hükmedecek kadar rekabetçi değildirler. Tip II ile yürütülen fermentasyonları tamamen farklı proses parametreleri, kompozisyon ve popülasyon dinamikleri içerdiğinden farklı bir mikrobiyal ekosisteme yol açmaktadır. Zorunlu homofermentatif *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. amylovorus* (çavdar), *Lb. farciminis* ve *Lb. johnsonii* ve heterofermentatif için zorunlu *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *Lb. frumenti*, *Lb. pontis*, *Lb. panis*, *Lb. reuteri*, ayrıca *Weissella'*nın türleri (Tablo 2.1) bulunmuştur [49-51]. Bu mikroorganizmaların en belirgin metabolik aktivitesi asit ve karbondioksit üretimidir. Tip III ekşi hamur ise starter kültür tarafından başlatılan ekşi hamurun kurutulup toz haline getirilmesi ile elde edilmiş olup ekmek yapımında asit arttırıcı ve aroma taşıyıcısı olarak kullanılmaktadır. Çoğunlukla kurumaya dirençli hayatta kalabilen heterofermentatif *Lb. brevis* ve fakültatif heterofermentatif *P. pentosaceus* ve *Lb. plantarum* suşlarını içermektedir [52]. Çeşitli dehidrasyon teknikleri (sprey drying gibi) [48, 53] uygulandığı için TipI ve Tip II'ye göre sabit kalite, daha uzun raf ömrü, daha küçük hacim, kullanım, nakliye, depolama ve son olarak da üretim kolaylığı gibi arasında tost ekmeği, waffle, çavdar ekmeği, San Francisco ekmeği ve Panettone çeşitli avantajlar sunmaktadır. Tip III ekşi hamurdan üretilen ekmek ürünleri bulunmaktadır [42, 48, 54]. Tip IV ekşi hamur starter kültür ile başlatılıp besleme ile çoğaltılıp geleeksel fırınlarda ve laboratuvar çalışmalarında kullanılır [55, 56]. Öncelikle hamur

mikrobiyotası undan kaynaklı oluşuyor ve ekşi hamur fermentesyonunun ardından ekşi hamurla besleme ile (çevreden bulaşmalarla) ve adepte LAB'leri hamur mikrobiyotasının oluşmasına yardımcı oluyor [57]. Ayrıca, esas olarak bağırsakta laktobasillerin hamurda oluşumu çapraz bulaşmanın bir sonucu olarak görülebilmektedir [58]. Spelt, Emmer ununa göre daha geniş biyoçeşitliliğe sahiptir. Nadirende olsa *Lb. rossiae* ve *W. confusa* bulunmuştur [59]. Organik un hamurlarında en baskın tür *Lb. plantarum* iken eski Afrika tahıllarında (Acha, beyaz fonio ya da aç pirinç ve İburu olarak da bilinir) *P. pentosaceus* da bulunmuştur [60, 61]. Karabuğday veya Teff unlarından yapılan glutensiz ekşi hamurlarda, *Lb. plantarum, Lb. pontis, P. pentosaceus, Leu. holzapfelii, Lb. gallinarum, Lb. graminis ve W. cibaria* [62, 63] türlerini içermektedir. Amaranth unlarının spontan ekşi hamurunda *Lb. plantarum, Lb. sakei* ve *P. pentosaceus* tespit edilmiştir [64]. Baklagil unları da laktik asit bakterilerinin diğer kaynaklarıdır. Buğday-baklagil hamurunun mikrobiyotası *Lb. plantarum*, *Lb. sanfranciscensis*, *Leu. mesenteroides, Lb. fermentum, W. cibaria, Lb. pentosus, Lb. coryneformis, Lb. rossiae, Lb. brevis, Lb. parabuchneri* ve *Lb. paraplantarum* dahil olmak üzere çok geniş bir çeşitlilik ile karakterize edilmiştir [65]. Olgun bir ekşi hamur stabilitesi çevresel mikrobiyotaya, metabolik aktivitesine (un ve/veya mikroorganizmaların amilaz aktivitesi, kofaktörrejenerasyon kabiliyeti ve mikroorganizmaların enerji üretme kabiliyeti) spesifik teknolojik işlem parametrelerine (unun kimyasal ve enzimatik bileşimi, mayalanma ve depolama sıcaklığı, pH ve redoks potansiyeli, hamur hidrasyonu ve verimi, fermentasyon süresi, starterlerin kullanımı ve/veya ticari mayası)'na bağlıdır. Yunan ekşi hamurundan *Lb. sanfranciscensis, Lb. brevis, Lb. paralimentarius ve W. cibaria* LAB türleri izole edilmiştir [21]. *Lb. fermentum* İsveç ekşi hamurlarında baskın [67] olup Rus ekşi hamurlarında ise *Lb. brevis* ve *Lb. plantarum* ile birlikte ortaya çıkar [68]. Alman tip II. Çavdar ekşi hamurunda *Lb. fermentum*'un baskın olduğu tespit edilmiştir. *Lb. curvatus, Lb. crispatus* nadiren ekşi hamurdan izole edilmiştir [22]. İnkübasyon sıcaklığı, geri besleme uygulamaları hamurun pH'sı gibi uygulanan teknolojiler hamur mikrobiyotasındaki türlerin çeşitliğini etkilemektedir [56, 69-72]. Buna karşın ekşi hamurdaki LAB'lerin geniş yayılımcı oluşu sadece fermentasyon koşullarından etkilenmez aynı zamanda LAB'nin spesifik genotiplemesine bağlı olarak tür içi heterojenliği neden olmaktadır [30, 73, 74].

Tablo 2.1 Ekşi hamurların sınıflandırılması ve mikrobiyotası

Ekşi Hamur Tip I	**Ekşi Hamur Tip II**	**Ekşi Hamur Tip III**
Obligat Heterofermentatif	**Obligat Heterofermentatif**	**Obligat Heterofermentatif**
Lb. sanfranciscensis	*Lb. sanfranciscensis*	*Lb. brevis*
Lb. brevis	*Lb. brevis*	
Lb. fermentum	*Lb. fermentum*	
Lb. reuteri	*Lb. reuteri*	
Lb. pontis	*Lb. pontis*	
Lb. rossiae	*Lb. panis*	
	Lb. frumenti	
	Wiesella spp.	
Fakültatif Heterofermentatif		**Fakültatif Heterofermentatif**
Lb. alimentarius		*P. pentosaceus*
Lb. paralimentarius		*Lb. plantaum*
Lb. plantarum		
Obligat Homofermentatif	**Obligat Homofermentatif**	
Lb. amylovorus	*Lb. acidophilus*	
Lb. delbrueckii	*Lb. johnsonii*	
	Lb. farciminis	
	Lb. delbrueckii	
	Lb. amylovorus(rye)	
	Yeast	
Saccharomyces cerevisiae		
Kazachstania exigua		
Candida humilis		
Pichia kudriavzevii		
Torulaspora delbrueckii		
Wickerhamomyces anomalus		

Papadimitriou vd.[66]

-Sıcaklık

Fermentasyon sıcaklığı ekşi hamurda fermentasyon boyunca mikroorganizma topluluklarını ve metabolitlerini etkiler. Fermentasyon katsayısı olarak laktik asidin /asidik aside oranına etki yapararak sıcaklık arttıkça laktik asit artışına bağlı olarak asitleşme artar [30, 75-77]. Düşük fermentasyon sıcaklığında ise maya gelişimi artarak etanol ve lezzet oluşumunu destekler. Literatüre göre düşük ya da orta fermentasyon sıcaklığı 30ºC'nin altındadır. Bu durum *Lb. sanfrancensis* ve *C. humulis* arasında pozitif bir ilişki yaparken *Lb. fermentum* için negatif bir ilişkiye yol açar. Çünkü *Lb. fermentum* tip 2 ekşi hamurlarında yüksek sıcaklıkları tercih eder. Geri beslemeli sıvı ekşi hamurlarda ise *Lb. fermentum* 30ºC ve 37ºC'de baskınken *Leu. citreum* 23ºC'de baskın olduğu belirlenmiştir [30, 78]. Mevsimsel ve günlük sıcaklık değişimleride mikroorganizma topluluklarını etkileyebilir. Fransız tip 1 ekşi hamurlarında çevre sıcaklığında *Lb. frumenti* ve *Lb. panis*'in varlığı belirlenmiştir [79]. Sudan ekşi hamurlarında yüksek sıcaklık koşullarında sorgum ekşi hamur femantasyonunda *Lb. helveticu*s sorumlu olurken çavdar ekşi hamurlarında yüksek sıcaklıkta *Lb. amylovorus*'tur [36, 49].

-Geri Besleme

Ekşi hamurda geri besleme miktarı gerekliliği, süresi ekşi hamur mikrobiyotasının stabilitesine ve mikrobiyal biyotanın canlılıklarını etkilemektedir. Kısa zaman aralıklarla ekşihamurun tazelenmesi hızlı büyüyen hızlı asitleştiren LAB türlerinin seçilmesinde etkili olmaktadır. *Lb. sanfrancensis* 4-6 saat arasında hızlı geri besleme ekşi hamurlarının gelişmesine izin verir [80-83]. Besleme adımlarının uzunluğu, tazeleme sıklığı LAB'nin büyüme yoğunluğunu belirler [29, 30, 77]. Uzun geri besleme zamanları ve geri besleme olmayan ekşi hamurlarda besin açısından fakir fermentasyonlara yüksek adaptasyon sağlayan, aside toleranslı LAB türlerine (*Lb. fermentum, Lb. plantarum, Lb. reuteri*) rastlanmaktadır [30, 84-86].

-Hamur Verimi ve pH

Hamur verimi olgun ekşi hamurun su aktivitesi ve asitliği üzerine doğrudan etkilidir. Düşük ekşi hamur verimi büyüyen mikrobiyotaya fermentasyon için daha yüksek karbonhidrat sağlayarak unun etkisini arttırır, yüksek hamur verimine kıyasla asitleşme oranını yavaşlatır [30, 77, 87]. Hamur verimi ne kadar yüksek olursa olsun akışkan ekşi hamurlarda asetik asit üretimi olumsuz etkilense de asitleşme daha hızlı ve daha

güçlüdür [48, 87]. Aside toleranlı *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum* ve *Lb. reuteri* akışkan hamur verimi yüksek tip2 ekşi hamurlarda yaygındır[30, 38, 77, 86, 88].

-Bölgeye özgüllüğü

Bellirli bir ekşi hamurun coğrafi kökeni ile mikrobiyota arasında ilişki olduğu düşünülsede LAB ve mayaların izolasyon cins/tür taksonomisi için kullanılan metodolojinin geçerliliğine bağlıdır. Bu nedenle, örnekleme ve tanımlama prosedürlerini belirleyen faktörler, ilgili mikroorganizmaların tespitinin doğruluğu üzerinde büyük etkiye sahiptir [25, 26, 89].

2.3 LAB ve Mayaların Tanımlanması

Farklı ülkelerde üretilen ekşi hamur popülasyonlarının LAB ve mayaların karakterizasyonu için birçok çalışmalar yapılmıştır[19-23, 90]. Bu çalışmalarda kullanılan yöntemler genel olarak fenotipik ve genotipik (moleküler) yöntemler olarak iki temel başlık altında incelenmiştir. Geleneksel fenotipik yöntemler morfolojik, fizyolojik (farklı pH, sıcaklık, tuz konsantrasyonlarında gelişme, gaz üretimi vb), metabolik, biyokimyasal özellikler (karbonhidrat fermentasyonu) ve kemotaksonomik markörler (hücresel yağ asitleri, mikolik asit, polar lipitler, quininler, poliaminler, hücre duvarı bileşikleri, ekzopolisakkaritler) ile beraber fajtiplendirmeleri, hücre yüzeyindeki antijenler, antimikrobiyel duyarlılık profilleri ve toplam hücre ya da hücre duvarı proteinlerinin elektroforetik patternleri (1D yada 2D) içermektedir [91-93]. Yapılan çalışmalarda kullanılan API CHL50 gibi biyokimyasal tanı yöntemlerinin özellik kazanmış türlerin veya alt türlerin tanımlanmasında yetersiz kalması [93] fenotipik yöntemler arasında en güvenilir yöntem olan protein profil analizininde de bazı türler için sınırlı olması, protein profiline dayalı tiplendirme tekniğinin yeterli olmadığı ve doğruluğunu kanıtlamak için moleküler yöntemlere ihtiyaç duyulmasına neden olmuştur [94]. DNA'yı kromozomun kesimine dayanan DNA restriksiyon patternlerindeki poliformizmini ve ekstrakromozomal DNA'nın varlığına ve yokluğuna dayanan birçok yöntemi içerir. LAB ve mayaların suşlarının tiplendirilmesinde kullanılan genotip yöntemler arasında plazmid profili, vurgulu alan jel elektroforezi (PFGE), Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP), gibi PCR temelli olmayan yöntemler ile Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD), Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi (AFLP), Tekrarlanan Palindromlara Dayalı PCR (REP), Çoğaltılmış Ribozamal DNA Geni Restriksiyon Analizleri (ARDRA), 16S-23S Genler Arası Ayırıcı

Bölge (ISR), PCR gibi PCR temelli Yöntemler ve 16S rRNA ‘ya dayalı dizi analizleri yer almaktadır [95].

2.3.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu Temelli Moleküler Yöntemler

-Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RFLP):

Genomdaki hedef bölgelerinin spesifik primerler ile çoğaltılıp, retriksiyon enzimleri ile kesilip agaroz jel elektroforeziyle ayrılmasına dayanan hızlı bir yöntemdir. Hedef bölgenin önceden bilinmesi gerektiğinden evrensel primerler kullanılmaktadır [93, 96]. Çalışılacak bölgenin kısıtlı genomu ayrım gücünü düşürmekte olması dezavantajdır [93, 97].

-Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA-PZR (RAPD)

Özgül nükleotit dizisi bilinmeden PCR ile rastgele bir primer kullanılarak belli bir türe veya suşa özgü DNA sekanslarını amplifiye etmek için kullanılabilmektedir. RAPD PCR analizlerinde primer tasarlamak için tanımlanacak olan genomun sekansının bilinmesine ihtiyaç duyulmaz. Yakın ilişkili türleri ve tür içi ayrımları sağlayabilme olanığına sahiptir [98-100]. Primerlerin bağlanmasıyla DNA molekülleri çoğaltılarak agaroz jel veya poliakrilamid jel ektroforezi ile birbirinden ayrılarak boyanabilmekte ve ayrım sağlanmaktadır. Primerlerin bağlanma yerleri arasındaki uzaklık farklılıkları agaroz jelde görünür farklı sayı ve uzunluktaki bantların oluşması ile ayrılmaktadır. Seçilen primerler kenine özgün olmayan bölgere bağlanması dez avantaja neden olmaktadır. Ayrıca aynı türün farklı suşlarında primerlerin bağlanma yerlerinin sayı ve bağlanma uzaklıklarının değişik olması amplifiye edilen parçaların sayı ve büyüklük farklılığına neden olmaktadır [99, 100]. Ayrıca özgünlüğü ve tekrarlanabilirliği kontrol etmek amacıyla her faklı tür için reaksiyon koşullarının optimizasyonuna ihtiyaç duyulmaktadır [100]. Diğer moleküler yöntemlere göre hızlı, ucuz, kolay ve kısa sürede sonuç verebilmektedir [93, 100, 101]. Gıdalarda izole edilen LAB’lerin cins, tür ve suşların ayrılmasında başarılı kulanılmaktadır [100].

-Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi (AFLP)

AFLP yakın türlerin karakter analizinde genetik markör teknikleri içersinde çoklu lokus parmak izine dayanmaktadır. DNA üzerindeki spesifik bir bölgeyi ve sekansı tanıyan farklı retriksiyon enzimleri ile kesim işlemi sonucu farklı yüzlerce DNA fragmanları oluşmaktadır [102]. Daha sonra istenilen hedef PCR tekniği ile çoğaltılır. Reaksiyon

sonucu elde edilen 30-80 fragman jel elektroforezde ayrılır [103]. Tür ve alt tür seviyesinde ayrım sağlaması, geniş bir alan taraması, ucuz kısa zaman alması ve kolay yorumlanması yönünden avantaj sağlamaktadır [100, 104, 105].

-Tekrarlanan Palindromlara dayalı PZR (Rep-PZR)

DNA içindeki değişken sayıda tekrarlayan ve ökaryotik organizmalarda Rep olarak isimlendirilen bu elementler bakteri hücrelerinde merkezi korunmuş palindromik yapı PZR ile amplifikasyonundan elde edilen spesifik bantların incelenmesiyle yapılan bir tiplendirme yöntemi tanımlamıştır[106]. Üç çeşide ayrılan REP'in ilki 35-40 baz çifti büyüklüğünde ve çeşitli halkaları yapısında bulundurmaktadır. İkincisi 124-127 baz çifti büyüklüğüne sahip Enterobakteriyal tekrarlanan interjenik palindromik konsensus (ERIC) ve son olarak 154 baz çiftlik box A, B ve C olarak alt ünitelere sahip elemenlerdir. Çok sayıda örneğe uygulanabilen tekniğin en önemli dez avantajı serilerdeki yüksek değişimdir. Tür ayrımında pek tercih edilmemektedir [107-109].

2.3.2 Polimeraz Zincir Reaksiyonu Ribotiplendirme

-Çoğaltılmış rDNA Geni Restriksiyon Analizi (ARDRA)

Evrensel primerler veya spesifik primerler kullanılarak Temeli 16S rDNA bölgesinin çoğaltılması esasına dayanan PZR-RFLP esaslı bir yöntemdir [109, 110]. Çoğaltılan bölgenin nükleotit kompozisyonuna göre seçilen retriksiyon enzimleri geniş sayıda türün net bir ayrımını sağlamaktadır. Sonuçta oluşan fragmentler agaroz jelde görüntülenerek sınıflandırılır [109]. Sınırlı retriksiyon enzimleri kullanımı yöntemi kolaylaştırmakta hızlı bir tarama yöntemine olanak sağlamaktadır [100].

-16S-23S İç Transkribe Edilen Ayırıcı Bölge PZR

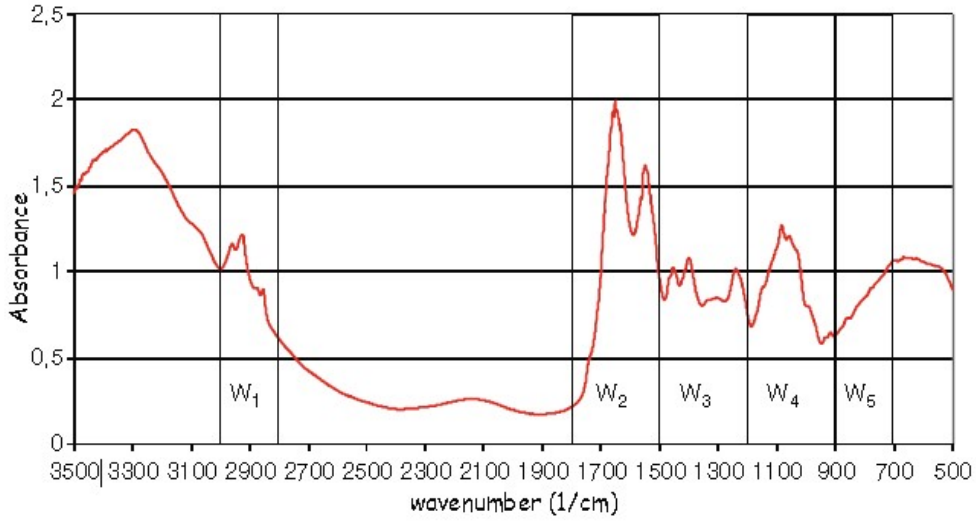
Prokaryotlarda bulunan 16S, 23S ve 5S gen bölgeleri ara bölgelerle ayrılmakta sekansta hem genus hem tür seviyesinde uzunluk açısından çeşitlilik göstermektedir. Bu bölgelere özgü primerler kullanılarak PZR işlemi gerçekleştirilerek sekanslama işlemi yapılarak sonuca gidilmektedir[111]. Prokaryotlarda r RNA'yı kodlayan 16S, 23S ve 5S olmak üzere 3 gen bölgesi bulunmaktadır. Bunlar ara bölgelerle ayrılmakta ve sekansta hem genus hem tür seviyesinde uzunluk açısından çeşitlilik göstermektedir. 16S ve 23S rRNA bölgeleri yüksek derecede korunmuş dizileri içeren bölgelerdir. Bu bölgelere özgü primerler kullanılarak PZR işlemi gerçekleştirilerek sekanslama işlemi neticesinde sonuca gidilebilir [109, 112]. Agaroz jelde ayrılan çoğaltılan bölgeler karşılaştırıldığı için restriksiyon analizi veya sekansı, yöntemin ayrım gücünü için önemlidir [109, 113].

2.3.3 DNA Sekans Analizi

DNA molekülünün nükleotit kompozisyonunun belirlenmesine dayanan yöntem, DNA'daki farklılıklar üzerine kurulmuştur. Her izolatın tüm genomunun sekanslanması pratik olmadığı için 16S rRNA sekansları veri bankaları oluşturulmuş ve bu sekansların karşılaştırılması tanımlanmasına olanak sağlamaktadır. Bakterilerin taksonomik çalışmaları 16S rRNA sekansları için oldukça kullanışlı olup bu sekanslara göre evrimsel ağaçlar ile bakteriyel türlerin filogenetik ilişkileri belirlenmektedir [109, 114] .

2.4 FTIR ile LAB ve Mayaların Tanımlanması

Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, mikroorganizmalar için hızlı, ucuz, hassas ve yüksek verimli bir teknolojidir. FTIR yöntemi, bozulmamış mikroorganizma hücrelerin kimyasal temelli ayrımını mümkün kılar ve farklı bakteri için farklı ve tekrarlanabilir karmaşık biyokimyasal parmak izleri üretir [115, 116]. Bu teknikte, çok renkli bir kızılötesi kaynak (400-4000 cm^{-1}), örnekle etkileşime girer ve içindeki moleküller, titreşim hareketlerinin uyarıldığı radyasyonu ya absorbe eder ya da yansıtabilir. Kimyasal bağ, kompozisyon ve yapılarına özgü olan moleküler titreşim modlarına karşılık gelen sadece belirli frekanslar absorbe edilmektedir. Hangi moleküler grupların var olduğu ve bunların nasıl düzenlendiği veya bu moleküler grupların etkişimleri spesifik frekanslardaki ışık absorbsiyonundaki değişikliklerle belirlenmektedir. Sonuçlar FTIR spektrumu modeli altında verilmektedir. Bakteri FTIR spektrumları, bireysel suşlar için benzersiz olabilecek oldukça spesifik modellerdir. Bakterilerin IR spektrumları, proteinler, membranlar, hücre duvarı ve nükleik asitler gibi temel bileşenlerin toplam kimyasal bileşimini temsil eder [116]. Böylece bu spektrum üzerinde onun frekansı ve yoğunluğu ile karakterize edilen her spektral bant, karakteristik moleküllerin "moleküler parmak izini" yansıtır [117-119]. Bakteriler, bireysel suşlar için benzersiz olabilecek oldukça spesifik orta kızılötesi spektral pikler göstermiştir [116]. Bu pikler için beş spektral pencere yaygın olarak kullanılır (Şekil 2.1)[120].



Şekil 2.1 Bir bakteri hücre numunesinin kızılÖtesi (FTIR) spektrumu,

Spektrum beş bilgilendirici spektral pencereleri içerir: Wı veya yağ asidi bölgesi (3000-2800 cm $^{-1}$), W2 veya amid bölgesi (1800-1500 cm^{-1}); W3 veya karışık bölge (1500–1200 cm^{-1}); W4 veyapolisakkaritbölgesi (1200–900 cm^{-1}); ve W5 veya fingerprint bölgesi (900–700 cm^{-1}) [121].

Zengin tür çeşitliliğine sahip olan LAB'nin tanımlanması güçtür. FTIR spektrometresi ile bakteri tanımlanması ve sayım hızlı ve ucuz maliyette gerçekleştirilmektedir. FTIR spektroskopisi üzerine çalışmaların arttırılmasına ihtiyaç bulunmaktadır. Curk ve vd. [117] yaptıkları çalışmada P4-P5 (1200–900 ve <900), P3-P5 (1500–1200 ve <900) ve P3-P4 (1500–1200 ve 1200–900) pencerelerini kullanarak LAB suşlarını ayırmışlardır. Weinrichter vd.[122] 2974–2857 ve 1800–1580 cm^{-1} aralığında *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus*, *Lb. delbrueckii* ve *Lb. helveticus*'u tanımlamışlardır. *Lb. plantarum* suşları %100, *Lb. rhamnosus* suşları %91 ve *Lb. casei* suşları ise %87 doğrulukla tespit edilmişken, *Lb. casei* suşlarının %7'si *Lb. rhamnosus* olarak belirlenmiş, diğer %6'sı teşhis edilememiştir. *Lb. acidophilus suşlarını* ayırmak için kullanılan 3000–2700 ve 1800– 750 cm^{-1} aralığı *Lb. acidophilus* suşları %95, *Lb. amylovorus* %95, *Lb. crispatus* %69, *Lb. gallinarum* %100, *Lb. gasseri* %88, *Lb. helveticus* %100 ve *Lb. johnsonii* %91 doğrulukla tanımlanmıştır [123]. Homofermentatif laktobasiller *Lb. plantarum*, *Lb. acidophilus, Lb. kefirgranum*, *Lb. kefiranofaciens* ve *Lb. casei'*nin tanısında ise 1230–900, 1777–1690, 1357–1240 ve 2960–2870 cm^{-1} spektral pencereleri kullanılmıştır [124]. Yapılan çalışmalarda FTIR spektroskopisini insan ve hayvanlardan izole edilen en sık maya türlerinin tanımlanması için duyarlı ve etkili bir analiz olarak değerlendirmektedir [125]. FTIR ile maya tanımlaması üzerine yapılan bir çalışmada 39 maya izolatını FTIR spektroskopi yöntemi ile tanımlayarak karşılaştırmışlardır [125]. FTIR da üç spektral pencere kullanılarak

(3030 - 2830, 1350 - 1200 ve 900 - 700 cm^{-1}) Ward algoritması ile maya cinsi iki kümeye ayrılmıştır. Mevcut çalışma, farklı kaynaklardan izole edilen çeşitli *Candida, Cryptococcus, Trichosporon, Rhodotorula* ve *Geotrichum* türleri arasındaki önemli spektral farklılıkları göstermişlerdir. FTIR tekniğinin, üç *Candida* türünün (*C. albicans, C. glabrata ve C. parapsilosis*) karşılaştırılmasına imkân vererek spektral pencerelerin en iyi ayırt edici özelliği olduğu sonucuna varmışlardır.

2.5 Moleküler Metotlar ile LAB ve Mayaların Tanımlanması

Günümüzde, LAB identifikasyon/tiplendirme çalışmalarında ilgi odağı fenotipik yöntemlerden daha kesin ve hassas sonuçlar veren moleküler (genotipik) yöntemlere doğru kaymıştır [93, 126]. Cins düzeyinden suş düzeyine kadar mikroorganizmaların farklı seviyelerde tanımlanmasında gelişmiş bir bakış açısı sunmaktadır [93]. DNA tiplendirme yöntemleri, DNA'daki farklılıklarının ayrımına dayanmış olup 16S rDNA klonlama yöntemi mikrobiyal ekoloji alanında en çok kullanılan yöntemlerden biridir. 16S rDNA türler arasında değişken dizilere sahip olması ve korunmuş bölge olmasından dolayı mikroorganizmaların sınıflandırılmasında kullanılmaktadır [109, 127]. PCR'ın prensibi çift zincirli DNA molekülüne ısıl işlem uygulanması sonucu iki zincir arasındaki hidrojen bağlarının kopması sonucu istenen hedef bölgenin iki ucuna spesifik 20-30 baz uzunluğunda iki ayrı oligonükleotitinin uygun sıcaklıkta DNA'ya yapışmaları ve yeni çift DNA'lar oluşturacak şekilde uzamasına dayanmaktadır. Bu adımların herbirinin gerçekleşmesi için uygulanan sıcaklık aralıkları birinci adım için 94-98°C aralığında, ikinci adım için 37-65°C aralığında ve üçüncü adım için ise 72°C'de gerçekleştirilmekte ve bu döngüler 30-35 kez tekrarlanmaktadır [128]. LAB'nin tanımlanmasında 16S rDNA veya 23S rDNA'yı hedef alan primerlerden yararlanılan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)'na dayalı yöntemler (Şekil 2), araştırılan *Lactobacillus* türlerinin tanımlanmasında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Moleküler teknikler, güçlü bir ayrım gücüne sahip olmaları, tekrarlanabilir olmaları, uygulamasının kolay olmasının yanında, sonuçların kolay yorumlanabilmesi gibi nedenlerden dolayı son yıllarda sıklıkla kullanılmakta ve geliştirilmektedir [129, 130]. Rizello vd. [65] yaptıkları çalışmada buğday ununa baklagil unu ile Tip 1 ekşi hamur hazırlayıp (nohut, mercimek ve fasulye) ekmek yapımı için LAB tanımlamışlardır. Buğday baklagil unundan hazırlanan ekşi hamurdan RapdPCR ile seçilen laktik asit bakterilerine PCR yapılarak mikrobiyotasını tanımlayıp *Lb. plantarum*, *Lb. sanfranciscensis*, *Leu. mesenteroides*, *Lb. frosacill*, *W. cibaria*, *Lb. parabuchneri* ve *Lb.*

paraplantarum [63] türlerini belirlemişlerdir. Diğer bir çalışmada ise kavuzlu buğday unundan (spelt unu)ve emmer unundan yapılan ekşi hamurdan laktik asit bakterinin karakterize edilmesinde 45 izolattan p4, p7 ve m13 primerleri kullanılarak RAPD PCR sonucu spelt unundan *Lb .plantarum* (dört izolat), *Lb. brevis* [131], *Lb. curvatus* [132], *Lb. sanfranciscensis* (üç), *Lb. fermentum*, *W. confusa* (üç) ve *P. pentosaceus /acidilactici*; emmer unundan ise *Lb. plantarum* [18], *Lb. rossiae, Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* ve *W. confusa* tespit etmişlerdir [59]. Benzer bir çalışmada ise beş amarant undan spontan olarak hazırlanan ekşi hamurdan baskın LAB araştırılmıştır. Fermentasyon sırasında RAPD PCR ile seçilmiş suşlar16S rDNA ile tanımlanmıştır. *Lb. plantarum* RTa12, *Lb. sakei* RTa14 ve *P. pentosaceus* RTa11 baskın tür olarak belirlenmiştir [64]. Meksika fermente mısır hamuru olan pozolun LAB çeşitliği 16S rRNA'nın PCR amplifikasyonu kullanılarak incelenmişt, 36 koloniden 14'ü farklı tanımlanmıştır. Bunlardan *Lc. lactis*, *Streptococcus* sp*., Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. alimentarius* [133] ve *Lb*. *delbrueckii* ve *Clostridium* türlerini tanımlamışlardır [134]. Geleneksel/tipik ekmeklerin üretimi için kullanılan 19 İtalyan hamurunun mikrobiyotası araştırılmıştır. RAPD PCR ile LacbF/LacbR ve LpCoF/LpCoRprimerleri kullanılarak *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus* ve *Lb. paraplantarum* ayırt edilmiştir [135, 136]. Ayrıca PheS primerleri ile *Enterococcus, Weissella, Leuconostoc* [136] *Lb. casei*, *Lb. paracasei* ve *Lb. rhamnosus* türleri ayırt edilmiştir [136, 137]. En sık tanımlanan laktik asit bakterileri ise *Lb. sanfranciscensis* (toplam LAB izolatlarının (yaklaşık %28'i), *Lb. plantarum* (yaklaşık %16) ve *Lb. paralimentarius* (yaklaşık %14) olarak belirlenmişlerdir. 16 adet ekşi hamurdan *S. cerevisiae* tespit edilmiş olup ayrıca *C. humilis*, *K. barnettii* ve *K. exigua* da tanımlamışlardır [136]. Dünya çapında analiz edilen farklı unların ekşi hamurlarında en çok karşılaşılan maya türleri *S. cerevisiae*, *C. humilis, T. delbrueckii*, *W. anomalus*, *K. exigua* ve *P. kudriavzevii*'dir [29, 138]. PCR esaslı teknikler ile mayalar hem tür, hem de suş düzeyinde tanımlanabilmektedir [139]. Yapılan çalışmalarda 5.8S rRNA geni, 18S ve 26S rRNA genlerine göre türler arasında daha fazla değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir [140]. Minervini vd. [141] yaptıkları çalışmada geri besleme boyunca ekşi hamurdan LAB ve mayaları tanımlamışlardır. Mayalarda 18S rRNA verilerine dayanarak *S. cerevisiae, K. exigua*'nın baskın türler olarak belirlemişlerdir. Palla vd. [142] yaptıkları çalışmada Tuscan fırınlarından aldıkları geleneksel ekşi hamurların maya popülasyonları araştırılmıştır. İzole edilmiş 200 suş arasından 78'i rastgele seçildi ve moleküler olarak karakterize edilmiştir. Maya

suşlar 5.8S-ITS bölgelerinin amplifikasyonu ile tanımlanmış olup *S. cerevisiae* baskın tür olarak belirlenmiştir.

2.6 Ekşi Hamur Mikrobiyotası ile İlgili Literatür Çalışması

2.6.1 Ekşi Hamur LAB

LAB topluluklarına gelince, çoğunlukla laktobasiller özellikle heterofermentatif LAB stabil ekşi hamur ekosistemlerini oluşturmaktadır [143]. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ekşi hamurdan 60'tan fazla laktobasil türü (zorunlu homofermentatif, fakültatif heterofermentatif ve zorunlu heterofermentatif olanlar) izole edilmiştir. Zorunlu heterofermentatif laktobasillerin yüksek oranda karbohidrata adapte metabolizmaları (örneğin, *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri* ve *Lb. sanfranciscensis*'in maltoz fermentasyon kabiliyeti) amino asit asimilasyonu (örneğin, *Lb. fermentum* ve *Lb. reuteri* metabolik yolunda arjinini deiminasyonu) ve stres yanıtları (örneğin, ADI metabolik yolu ile ilişkili asidik stres yanıtı ve stres proteinlerinin üretimi) gibi özelliklerine sahiptir [144-146]. *Weissella* (zorunlu heterofermentatif; *Weissella cibaria*, *Weissella confusa*), *Pediococcus* (fakültatif heterofermentantatif, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*) ve *Leuconostoc* bakterileri (zorunlu heterofermentatif; *Leu. mesenteroides*, *Leu. citreum*) homofermentatif *Lactococcus*, *Enterococ*cus ve *Streptococcus* türleri daha az baskın türleri oluşturmaktadır. Milenyumdan (2000 yılından) önce yapılan çalışmalarda zorunlu homofermentatif olarak *Lb. amylovorus*, fakültatif heterofermentatif *Lb. alimentarius* ve *Lb. plantarum* ve zorunlu heterofermentatif temsilcisi ise *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri*, *Lb. panis*, *Lb. pontis* ve *Lb. sanfranciscensis* ekşi hamur LAB türlerinin çoğunluğunu oluşturduğu bilinmekteydi. Bu LAB türlerinin ortaya çıkması hem hâkim LAB'lerin ekşi hamur mayalanma koşullarına adaptasyonlarını hem de spesifik olmayan heterojenliği yansıtmaktadır. *Lb. sanfranciscensis* ve *Lb. alimentarius* hemen hemen sadece ekşi hamurlarla ilişkili olduğu bilinmekteyken, sık sık ekşi hamurdan izole edien *Lb. brevis* ve *Lb. plantarum'*un ise çoğu zaman diğer fermente gıdalardan da izole edildiği belirlenmiştir [30]. Daha sonra (2000 yılından sonra) yapılan çalışmalarda ise ekşi hamurlardan, homofermentatif *Lb. crustorum*, *Lb. midensis, Lb. nantensis ve Lb. nodensis*, fakültatif heterofermentatif *Lb. spicheri* ve zorunlu heterofermentatif *Lb. acidifarinae, Lb. frumenti*, *Lb. hammesii*, *Lb. namurensis, Lb. rossiae*, *Lb. secaliphilus*, *Lb. siliginis* ve *Lb. zymae* yeni *laktobacillus* türleri izole edilmiştir. Bu LAB türleri ilk olarak ekşi hamurun ekosisteminden izole edilmiştir. Fakat bu LAB türlerinin ekşi hamura özgü olup olmadığı diğer fermente gıda

ekosistemlerinin araştırılmasıyla çözümlenebilir. Örneğin *Lb. namurensis* çeşitli fermente gıdalarda bulunurken [73, 74, 147] *Lb. rossiae* ise Orta ve Güney İtalya ve Belçika'daki çeşitli ekşi hamurlardan izole edilmiştir [147].

2.6.2 Ekşi Hamur Mayaları

Ekşi hamur ekosisteminin özellikleri göz önüne alındığında, Basidiomycetes mayalar ve dimorfik Ascomycetes aksine fermentasyon yeteneği nedeniyle sadece Ascomycetes mayalar bulunur. Ekşi hamurlarda 1970'ten sonraki 40 yayında en sık karşılaşılan 6 maya türü *S. cerevisiae, K. exigua, S. exiguus*, *C. humilis*, *P. kudriavzevii*, *T. delbrueckii*, ve *W. anomalus*'tur [143]. Sadece orijinal olarak *K. exigua* (*S. exiguus* olarak) ekşi hamurdan izole edilmiştir [44]. Bu maya türlerinin çoğu ekosistemde bulunmaktadır. Bir tek ekşi hamur genellikle bir veya iki maya türü baskın olmakta bunlar arasında 12'den fazla yapılan çalışmada *C. humilis* (ve *K. exigua*), *P. kudriavzevii* ve *S. cerevisiae* en sık görülen mayalar içersindedir [29]. Bazı ekşi hamurların stabilitesi LAB ve maya türleri arasındaki işbirliğine bağlı olmasına rağmen çoğu ekşi hamurda en çok *S. cerevisiae* (ticari maya) mevcudiyeti ortamındaki varlığına bağlanabilir. Ayrıca, ekmek hamurları sık sık *W. anomalus*, *K. barnettii*, *K. unispora* ve *T. delbrueckii* mayalarını barındırmaktadır [29, 148]. Buna karşılık, laboratuvarda üretilen geri beslemeli ekşi hamur fermentasyon sürecinde *W. anomalus*, *C. glabrata* ve *S. cerevisiae* hakim bulunmuştur [29]. Hem *S. cerevisiae* hem de *W. anomalus*, maltoz-pozitiftir ve düşük bir pH ve yüksek ozmotik basınca karşı bir dereceye kadar toleranslıdır. *K. exigua* olarak, *K. barnettii*, maltoz negatiftir ve *Lb. sanfranciscensis* ile bir tür trofik ilişki içerisindedir [29]. Tek bir ekşi hamur genellikle birlikte basit veya çok karmaşık bir mikrobiyatı temsil eden birçok LAB türünü barındırır. Alternatif olarak, spesifik antimikrobiyallerin üretilmesi (örneğin ekşi hamurlarda *Lb. reuteri*'nin ürettiği eutericyclin gibi) nedeniyle rekabet edebilirlik tek bir türün ve/veya suşun egemen olduğu ekşi hamurlara neden olabilir [149]. Tek tek türlerden ziyade toplam mikrobiyal topluluklar göz önüne alındığında, maya ekosistemleri, maya ve LAB türleri ve/veya LAB türlerinin kararlı ilişkileri ile karakterize edilir. Bu mikrobiyal topluluklar, dahil olan türlerin metabolik yeteneklerini yansıtır ve maya ekosisteminde önemli olan trofik ilişkilere işaret eder. Stabil maya-LAB birlikteliğinin örnekleri*, K. exigua* (maltoz-negatif, asittolerant) ve *Lb. sanfranciscensis* (maltoz pozitif)'dir. *C. humilis* (maltoz negatif, aside toleranslı) ve *Lb. sanfranciscensis, K. barnettii* (maltoz negatif) ve *Lb. sanfranciscensis, S. cerevisiae* (maltoz pozitif) ve *Lb. plantarum* (glukoz ve

fruktoz tercih eder) [27, 29]. Stabil LAB tür birlikteliğinin örnekleri arasında *Lb. sanfranciscensis, Lb. plantarum, Lb. alimentarius* ya da *Lb. brevis* bulunur [20, 56, 81, 150, 151]. *S. cerevisiae* ekmek üzerinde şekil, kabuk, yenilebilirlik ve lezzet üzerindeki olumlu etkilerden dolayı diğer mayalardan daha iyi görülmektedir [152]. Mayanın temel fonksiyonu fermente edilebilir şekeri kullanarak CO_2 üretmek ve böylece ekmek hacmi oluşturmaktır. Fermentasyon boyunca kimyasal bileşikler üreterek ekmeğin aromasını oluşturmaktadır. Mayanın CO_2 üretme yeteneği; suşa, hücre miktarına, hücre aktivitesine ve ortamdaki fermente şeker miktarı ile ilişkilidir [153]. Almeida vd. [154], geleneksel ekmek hamurlarından izole ettikleri *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* suşlarının ticari mayaya benzer hamur kabartma yeteneğine sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Tüm tahıllarda bulunan mayalar 10^2-10^4 adet/g arasında değişmektedir [155]. Daha yüksek hacimli ve düşük yoğunluğa sahip ekmek üretimi için diğer mayalara göre daha iyi bir performans gösteren *S. cerevisiae* en iyi tadı da sağladığı belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda laktik asit bakterileri ve *S. cerevisiae* kullanılarak yapılan hamurlardan üretilen ekmeklerin şekil, kabuk, yenilebilirlik ve lezzet açısından çok iyi sonuçlar elde edildiği açıklanmıştır [156, 157]. Finlandiya'da ekşi hamur starteri üzerine yapılan çalışmalarda mikrobiyotanın çoğunluğunun *T. holmii* ve *S. cerevisiae*'den oluştuğunu belirlemişlerdir. Bazı hamur örneklerinde ise *Hansenula anomala*, *Endomycopsis fibuligera*, *Torulopsis stellata* ve *Torulopsis unisporus* maya türlerini teşhis etmişlerdir. İspanya'da Barber ve Baguena [158], yaptıkları çalışmada ekşi hamur kullanılarak hazırlanan hamurların mikrobiyotasında fermentasyon süresince maya sayısında meydana gelen değişiklikleri belirlemişlerdir. Fermentasyonun ilk aşamasında maya sayısı ($2{,}4 \times 10^3$ kob/g) değişmezken diğer aşamalarda düzenli olarak artmış ve fermentasyonun sonunda $4{,}9 \times 10^6$ kob/g'a ulaşmıştır. Ekşi hamurda *S. cerevisiae*, *C. boidinii*, *H. minutau, C. parapsilosis* ve *R. glutinis* gibi mayalar teşhis etmişlerdir. Vernocchi vd. [159] tipik İtalyan ekmeği üretiminde kullanılan hamurun maya popülasyonunda baskın maya türünün *C. milleri* olduğunu ve mayaların önemli bir kısmının maltozu fermente edemeyenlerden oluştuğunu tespit etmişlerdir. Bir araştırmada, Güney İtalya'da ekşi hamurdan laktik asit bakterileri ve maya izole edilmiş, izole edilen mayaların büyük çoğunluğunun *S. cerevisiae* olduğu rapor edilmiştir [20]. Buğday ve çavdar ekşi hamurlarında en sık bildirilen mayalar *S. cerevisiae* ve *C. humilis*; diğer türler *P. kudriavzevii* ve *K. exigua* [25, 39, 81, 159, 160], *W. anomalus* [19], *W. subpelliculosa* [161], *C. Glabrata* [22, 279], *K. unispora* ve *T. delbrueckii* [162]'dir.

2.7 LAB ve Mayaların Ekmek Kalitesi Üzerine Etkisi

Altın standart olarak ekmek yapımında kullanılan ekşi hamur yöreye özgü unlardan gelen mikrobiyal enzimlerin etkisi ile meydana gelen biyokimyasal değişiklikler ile ekşi hamur özelliklerini ve bu sayede ekmek kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir. Ekşi hamur fermentasyonun ekmeğin dokusu, lezzeti, raf ömrü ve beslenme üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır [42]. Homofermentatif ve heterofermentatif LAB ve mayaları değişen oranlarda ve bileşimlerde [163] içeren ekşi hamurda; homofermentatif LAB şekeri fermente ederek laktik asit oluştururken; heterofermentatifler laktik asidin dışında önemli miktarda CO_2, etil alkol, asetik asit ve diğer uçucu bileşikler oluşmaktadır [164]. Aynı zamanda mayalar ve LAB''nin sürdürdükleri simbiyotik yaşam sonucunda mayalar ve heterofermentatif LAB'leri hamurun kabarmasından sorumlu olurken, homofermentatif LAB'leri ekmeğin elastikiyetini, asitlik ve lezzeti üzerine etki etmektedir [164]. Gluten, hamurun viskozitesine ve esnekliğine büyük ölçüde katkıda bulunur [42, 66]. LAB suşları tarafından laktik ve asetik asit üretimine bağlı olarak, asidik bir ortamın varlığı gluten proteinlerinin şişmesine ve daha yüksek çözünürlüğüne neden olduğu için ekmek uzayabilirliği ve elastikiyetinde bir artışa neden olmaktadır [66, 165]. LAB ve mayalar tarafından sınırlı proteolitik aktivite, daha fazla karbondioksit tutulmasını sağlayarak ekmeğin yumuşaklığını ve hacmini olumlu yönde etkilemektedir [66, 166]. Ayrıca bazı LAB'ler tarafından üretilen ekzopolisakaritler (EPS'ler), hamur reolojisini ve ekmek yapısını iyileştirme potansiyeline sahiptir [23, 167]. Ekşi hamur aynı zamanda ekmek bayatlaması üzerine olumlu etkisi vardır [167]. EPS üretimi ve nişasta regrogradasyonu sayesinde ekmek bayatlama oranını azaltmakta ekmek hacmi ve ekmek içi yumuşaklığı sağlamaktadır [168, 169]. Ekşi hamur fermentasyonu boyunca üretilen aroma bileşenleri homofermentatif ve heterofermentatif laktik asit bakterilerinin ürettiği organik asitleri içeren uçucu olmayan aroma bileşenleri ile alkolleri, aldehidleri, ketonları ve esterleri içeren uçucu bileşenlerden meydana gelmektedir [34, 170, 171]. Ekşi hamur ekmeğinin kalitesini mikrobiyal fermentasyon olumlu olarak etkilemektedir. Ekşi hamurun içerdiği farklı maya ve bakteri türleri yalnızca istenen uçucu bileşenlerin miktarını arttırmaz aynı zamanda pişirme sıcaklığında reaksiyona girebilecek aromatik bileşikleride üretmektedir. Dahası bazı ekşi hamur mikroorganizmaları istenmeyen bileşikleri de indirgemektedir [172, 173]. Homofermentatif LAB temel olarak diasetil, asetaldehit ve heksanal sentezler [66, 165]. İzoalkoller ilgili aldehitleri ve etil-asetat, maya fermentasyonunun karakteristik uçucu

bileşikleridir [66]. Ekşi hamur ekmeği daha fazla uçucu bileşiğe sahip olduğundan kimyasal olarak asitlendirilmiş ekmeğe kıyasla duyusal testlerde daha yüksek puanlar alır, bu da ekmek hamurunun iyileştirilmesinden yalnızca hamur asitlenmesinin sorumlu olmadığını göstermiştir. Üstelik LAB fermentasyonu ile yeterli miktarda uçucu bileşik oluşumu, yaklaşık 12-24 saatlik birçoklu aşama prosesinde gerçekleştirilirken, sadece ticari maya ile birkaç saat içinde fermentasyon yapılır [24, 66]. Mikrobiyal fermentasyon esas olarak asitler, alkoller, aldehitler, esterler ve ketonlar üretir ve ekşi hamur ve ekmek içi uçucu bileşiklerin oluşum için ana yoldur [66, 174]. Heterofermentatif LAB esas olarak asetik asit ve etanol üretimine katkıda bulunur, ancak aynı zamanda spesifik esterler üretir ve aldehitleri karşılık gelen alkollere indirger [66, 175]. *K. marxianus* ve *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ile hazırlanan ekşi hamur ekmeği, ticari mayalı ekmeğe kıyasla daha karmaşık bir aroma profili sunduğu belirlenmiştir [176]. Ekşi hamur içerdiği mikrobiyota sayesinde biyolojik koruma görevi yapmaktadır [132, 177, 178]. Küf gelişimi ekmek bozulmasına neden olduğu için ekmek üretim endüstrisinde büyük kayıplara neden olmaktadır. Mısır, pirinç, sorgum, darı, karabuğday, teff gibi çeşitli tahıl türlerinin, farklı mikotoksinlerle (örneğin, triktotenen, zearalenon, fumonisine, okratoksin, aflatoksin vb.) kirletildiği rapor edilmiştir [66, 179]. Ekşi hamur LAB suşları, mikotoksinle kontamine olmuş ürünlerin ilgili molekülleri bağlayarak veya degradasyon yolu ile detoksifikasyonu sağlamaktadır [180]. Ekşi hamurdaki LAB [181] ve mayalar fitaz aktivitesi göstermektedir [182]. Ayrıca mayalar, özellikle B vitamini kompleksi olmak üzere birçok vitamin üretme kabiliyetine sahiptir [66]. Vitaminler dışında ekmekte fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşikler içeren tahıl bazlı gıdaların antioksidan durumunu arttırmaktadır [66, 181]. Ekşi hamur fermentasyonu nişastanın jelatinizasyon derecesini azaltır ve daha az sindirilebilir olan dirençli nişasta oluşumunu destekler [183, 184]. Aynı zamanda serbest kalan amino asitlerin, peptidlerin ve serbest fenolik bileşenlerin, glukoz metabolizmasını düzenlediği ve glisemik indeksi düşürdüğü bildirilmektedir [40, 185]. Ekşi hamurdaki bazı LAB, insan tahıl intoleransında yer alan prolamin peptidlerine yönelik hidrolize edici aktiviteler gösterdiği için, geleneksel ekmeğe kıyasla ekşi hamur ekmeğini geliştirmektedir [186]. Torrierri vd. [187] yaptıkları çalışmada, ekzopolisakkarit (EPS) üreten laktik asit bakteri (LAB) suşları ile elde edilen ekşi hamur ekmeğinin kalitesi ve raf ömrü üzerindeki etkisini incelenmiştir. Yüksek orandan ekşi hamur içeren ekmek numuneleri (30g/100 g) daha düşük ekşi hamur (20g/100 g) içeren ekmek numunelerine göre depolama sırasında daha yüksek hacim, daha yüksek

nem içeriği ve daha iyi mekanik özellikler göstermişlerdir. Ayrıca 30 g/100 g ekşi hamur ekmeğin işlenmesinde koruyucu bir etki göstermiş, bu yüzden ekşi hamur konsantrasyonunun ve EPS'nin fonksiyonel özellikler üzerindeki olumlu rolünü doğrulamışlardır. *Lb. plantarum* FST 1.7'nin, buğday ekmeğinin raf ömrünü artıran antifungal bileşikler ürettiği gösterilmiştir. Moore vd.[188] yaptıkları çalışmada glutensiz ekmeğin kalitesini ve raf ömrünü iyileştirme kabiliyeti açısından *Lb. plantarum* FST1.7 ve *Lb. sanfranciscensis* TMW 1.52 araştırılmıştır. Sonuç olarak *Lb. plantarum* FST 1.7 içeren glutensiz ekmeklerde küflenme gecikmiş olup *L. plantarum* FST 1.7'nin daha yüksek kalite ve raf ömrüne sahip glutensiz ekmek üretmek için kullanılabileceğini göstermişlerdir. Tahıl fermentasyonlarından izole edilmiş *Lb. reuteri* tarafından üretilen birçok bakteriyosinin tanımlanmış ve *Lb. sanfranciscensis* suşlarının proteinli bileşiklere inhibitör aktivite ürettiği rapor edilmiştir [189, 190]. Buğday unu hidrolizatında *Lb. sanfranciscensis*'in büyümesi, küfleri inhibe eden asetik ve kaproik asitlerin oluşmasına neden olduğu [190, 191] ayrıca hamurda fenillaktik asit oluşumunun, ekmeklerde küf inhibisyonuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir [190]. Ekşi hamurdan izole edilen *Lb. pontis*, *Lb. panis*, *Lb. mukoza*, *Lb.reuteri*, *Lb.oris* ve *Lb. acidophilus* [190, 192] suşlarının bazıları, insan bağırsak hücrelerine yapışma kabiliyetine sahip olduğu [190, 193] ve yapışma ve antagonistik bileşiklerin oluşumu kombinasyonu, özellikle tahıl kaynaklı probiyotik suşlarının gelişimi için cazip görülmektedir [190].

2.8 Siyez Unu ve Fırıncılıkta Kullanımı

Mikro ve makro besin maddesi açısından zengin olan tahıllar insane gıdası beslenmesinde oldukça büyük bir öneme sahiptir [194]. Buğday ekmeği günümüzde dünya nüfusunun büyük bir kısmı için temel gıda maddesi olmasına karşın mikrobesin maddesi eksikliğine [195] sahiptir. Son yıllarda düşük etkili ve sürdürülebilir tarıma olan eğilim ve gıdaların beslenme yönlerinin daha fazla dikkat çekmesinden dolayı siyez de dâhil olmak üzere birçok unutulan "eski" tahılın yeniden keşfedilmesine yol açtı. Siyez düşük verimine rağmen (ekmeklik buğdayın yaklaşık üçte biri) günümüzde Fransa, Almanya, Avusturya, Macaristan, Bulgaristan ve İtalya da dâhil olmak üzere birçok ülkede bu kabuklu buğdayın ekiminde önemli bir gelişmelerle sürdürülmektedir [12]. Makarnalık ve ekmeklik buğdayların yakın akrabası olan siyez (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*), Türkiye'nin yaklaşık 10.000 yıl önce Karacadağ bölgesinde bulunan diploid kabuklu buğdaydır [196]. Siyez buğdayı yaklaşık 12.000 yıl

önce Mezopotamya ve Doğu Akdeniz'de evcilleştirilmesi ile siyez tarımının yayılmasında etkili olmuştur. Binlerce yıldır Avrupa'da ve Yakın Doğu'da geniş çapta hasat edilen ve yenilen siyez Tunç Çağı'nda daha verimli olan durum ekmeklik buğdayların yerini aldı. Yeni araştırma projeleri *T. monococcum*'un hem beslenme hem de teknolojik kalite açıdan insan tüketimi potansiyelini hedef almakta modern teknikler ve ıslah çalışmaları ile İtalya, Almanya ve Kanada da dâhil olmak üzere pek çok ülkede çalışmalara devam edilmektedir. Siyez (*Triticum monococcum*) [196] günümüzde, geleneksel Einkorn buğdayları, Akdeniz bölgesi, Türkiye, Balkan ülkeleri, güney İtalya, güney Fransa, İspanya ve Fas'ın dağlık bölgelerinde [196] ülkemizde özellikle Karadeniz bölgesinde Kastamonu ve Sinop çevresinde yetiştirilmektedir [13]. Siyez buğdayı içerdiği yüksek protein, karotenoid, tokol gibi beslenme açısından üstün ve kendine özgü özelliklerin keşfi ile önem kazanmaya başlamıştır (Tablo 2.2). Organik tarım ile yetiştirilmeye uygun ve çevre dostudur. Ekmeklik buğday ile karşılaştırıldığında einkorn genellikle hastalıklara karşı daha dirençli olup kuraklığa dayanma kabiliyetine sahiptir fakat verimi düşüktür.

Tablo 2.2 Siyez ununun bileşimi

Besin Özellikleri[a]		**Miktar**
Protein[b]	g/100g	15,5-22,8
Yağ[c]	g/100g	4,0-4,4
Nişasta[b]	g/100g	60,6-71,4
Amiloz[b]	g/100g nişasta	23,2-28,6
Karoteneid[d]	mg/kg	5,3-13,6
Tokol[d]	mg/kg	61,5-115,9
Çinko[e]	mg/kg	42,7-71,1
Demir[e]	mg/kg	37,2-62,6
Manganez[e]	mg/kg	34,4-68,2
Bakır[e]	mg/kg	4,9-8,3
Magnezyum[f]	mg/kg	1,19-2,00
Fosfor[f]	mg/kg	4,54-6,27
Fenolikmadde[f]	mgGAE/g	1,48-1,63

a:Bandolini vd.[201], b: Barandoli vd. [11] c: Hidalgo, Brandoli ve Ratti[202], d:Hidalgo vd. [203], e: Özkan vd. [204], f: Zengin[13]

Siyez buğdayı yüksek protein, kül, karotenoid ve tokol içerikli küçük tohumlara sahiptir [197-200]. Siyez ununun hamur ve ekmekçilik özelliği genellikle düşük olarak kabul edilmektedir [205, 206] fakat besinsel değerlerinin yüksek olması ekmek kalitesini artırmaktadır [207]. Siyez unu yapışkan ve güçsüz hamur reolojiközellikleri nedeniyle fırın ürünleri için uygun görülmemiş, daha çok hayvan beslenmesinde tercih edilmiştir. Bununla birlikte, hamur işleme zorluklarına rağmen, somun hacmi ve özellikleri ile buğday ekmeğe benzer formda ekmekler elde edilebildiği açıklanmıştır [208]. Protein

içeriği ve bileşimi, ekmek yapımını etkileyen en önemli kriter olarak kabul edilir [13]. Diploid buğday olan siyez, yüksek seviyelerde protein, fosfor, potasyum, piridoksin (B6), lutein ve beta-karoten içermektedir [198]. Siyez buğdayı diğer buğdaylardan daha düşük beta-amilaz ve lipoksijenaz enzimlerine sahip olduğu için önemli antioksidan bileşikleri olan karotenoidleri, tokoferolleri, konjugefenolikleri ve fitosterollerin bozulmasını önleyerek gıdanın besleyici özelliklerini korumaktadır. Einkorn, buğday ile karşılaştırıldığında lipid miktarı (doymamış yağ asitleri dahil) ve eser elementler (Zn, Fe) daha yüksek olarak karakterizedir [13]. Mineral açısından özellikle çinko ve demir gibi önemli bazı iz elemental yüksek konsantrasyonda bulunur [13]. Arabinoksilan (diyet lif) ve beta-glukanlarsiyezde sınırlı miktarlarda bulunur [209]. Gebruers vd. [210] yaptıkları çalışmada 5 siyez ekmeğin ve 151 buğday ekmeğinde toplam arabinoksilan (diyet lif) içeriğini, 14,5-23,5'e karşı 13,5-27,5 g/kg^{-1} km, beta glukan içeriği 2,5-3,5 ve 5,0-9,5 g/kg^{-1} km aralığında belirlemişlerdir [12, 211, 212]. Antognoni vd. [213], yaptıkları çalışmada siyez içeren ekşi mayalı ekmeklerin karotenoidlerın ve serbest folik asitleri in vitro olarak sindirim öncesi ve sonrası karakterize etmişler ve siyez ekşi hamuru fermentasyonu modern buğdaylardan daha yüksek seviyede karotenoidleri koruduğunu doğrulamışlardır. Barone vd. [214] yaptıkları çalışmada siyez ekmeğinin domuz modelli olarak bağırsak fizyolojisi ve metabolizması üzerindeki etkilerini glisemik ve insülinemik yanıtı, mikrobiyota ve metabolik profillerini karakterize etmişlerdir. Bağırsak mikrobiyotasındaki kısa zincirli yağ asidi üreticilerini (örn, *Blautia*, *Faecalibacterium* ve *Oscillospira*) zenginleştirmeye ve muhtemelen daha iyi emilim sağladığı ve daha yüksek metabolik çeşitliliğe yol açtığını belirlemişlerdir. Siyez ekmeği tüketiminin bağırsak ekosisteminin sağlığını teşvik ettiğini açıklamışlardır. Siyezdeki germ, kepek ve endosperm ekmeklik buğday ununa göre üstünlük göstermektedir [11]. Siyezde kepek (%16-22,9) ve endosperm (%74-81) ekmeklik buğdaydan daha büyük farklılıklar gözlenirken germ oranı, ekmeklik buğdaydan (marjinal olarak) (%3,1-2,9) üstündür [205, 215]. Aynı şekilde protein içeriği ortalama 18g/100 g kuru maddeyi (km) ve genellikle 20g/100 g aşmakta olup ekmek buğdayından yüksektir [11, 199, 215]. Siyez ekmeklik buğdaydan %50 daha yüksek lipid içeriğine sahip olup yağ asidi kompozisyonunda 14 farklı bileşik içermektedir. Linoleik (C18: 2n6) (%50,9-54), oleik (C18: 1n9 18 C18: 1n7) (%24,8-26,4) ve palmitik (C16: 0) (%13,9-16,7) asitleri en fazla içermektedir [202, 216, 217]. Ekmeklik buğdayda linoleik asit de yaygın yağ asididir, ancak palmitik asit oleik asitten daha fazla miktarda bulunurken, diğer yağ asitleri türler arasında oldukça sabittir. Sonuç

olarak, siyezlipidleri, ekmeklik buğdaydan daha yüksek tekli doymamış yağ asitlerine (MUFA), düşük çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA) ve düşük doymuş yağ asitlerine (SFA) sahiptir [202]. Ayrıca, yüksek lipoksijenaz aktivitesi [218] işleme sırasında besin kalitesini diğer buğdaylara göre daha iyi korumasına katkıda bulunur [201, 219]. Siyez iyi bir mikro besin kaynağı olarak kabul edilir, yapılan çalışmalarda siyez ekmekleri buğday ekmeklerinden daha yüksek oranda P, Mg, Zn, Fe, Mn, K, Sr ve Mo minerallerini içermektedir [220]. Siyez sarı renginden dolayı birçok araştırmacı tarafından pigment analizine tabi tutulmuş olup poliploit buğdaylarınkinden çok daha yüksek karotenoid değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir [215]. Bu durum lutein bakımından zengin durum ve ekmeklik buğdaydan 2-5 kat daha fazla değere sahip olduğu belirlenmiştir. Renk tonu işlem sırasında yoğunlaşarak, çoğu tüketiciler için çekici bir özellik olan siyez içerikli gıdaların (makarna gibi koyu sarı renkte) olmasını sağlar [226]. Yüksek oranda diyet lifi karotenoid ve tokol içeriği ile bebek maması gibi yeni veya özel gıdaların geliştirilmesi için umut verici bir aday olduğu sonucuna varılmıştır [198, 199, 203, 211, 215]. Zayıf toksit etkileri ile siyezçölyak hastaları için uygun görülmemektedir. Üstün beslenme özellikleri ile fonksiyonel ve özel gıdaların geliştirilmesinde dikkatleri üzerine çekmektedir [12]. Bunun için siyez üzerine araştırmaların çoğaltılmasına ihtiyaç duyulmaktadır [13].

2.9 Arpa Unu ve Fırıncılıkta Kullanımı

Son yıllarda, normal buğday ekmeğinin beslenme profilinin iyileştirilmesi büyük ilgi çekmiştir. Bu durum genellikle buğday ununun son ürün içeriğinde ve bileşiminde diyet lifi veya vitamin, mineral, protein zenginleştirilmesine katkı sağlayan farklı kökenli unların desteklenmesi ile başarılmıştır [10]. Arpa 10000 yıldan fazla zamandan beri Etiyopya ve Güneydoğu Asya'da yetiştirilmektedir. Mısır, Yunanlılar, Romalılar gibi eski uygarlıklar gıda ve yem olarak kullanmaktaydı. Günümüzde de çoğunlukla hayvan yemi, malt ve bira üretimi için tahıl olarak kullanılır; kahve ikame maddeleri ve alkolsüz içeceklerin yanı sıra doğu Avrupa'da çorbalar ve güveçlerin hazırlanmasında da kullanılmaktadır [221]. Kışlık yazlık olarak fazla soğuk ve sıcak olmayan nemi yüksek yerlerde verim alınabilmektedir. Çoğunlukla yemlik ve maltlık olarak kullanıldığı açıklanmıştır [222-225].

Tablo 2.3 Arpanın besinsel değeri

Arpanın besinsel değeri	%
Protein[a]	8-13
Yağ[a]	2-3
Nişasta[a]	52-71
Selüloz/lignin[c]	4-6
Arabinoksilan[c]	4-7
Toplam diyet lif[b]	18-20
Beta glukan[b]	3,6-10
Mineral madde	2-3

a: Mac Gregor vd.[226], b: Karaduman[227] c: Altan vd. [228],
d: Doğan vd. [229]

Arpaların ekmeklerde kullanılmasının besin değerini (Tablo 2.3) ve dolayısıyla insan sağlığına faydalarını arttırdığı bildirilmiştir [223, 230]. Beta-glukan gibi çözünebilir liflerin sağlıkla ilgili önemi uzun zamandır bilinmektedir; özellikle beta-glukanlar, fonksiyonel özelliklerinden ötürü çok dikkat çekmiştir [221, 230]. Nilsson vd. [231]'nın çalışmasında beta-glukanın, glisemik insülin yanıtı çalışması üzerinde olumlu bir etkisi olduğu göstermiştir [230, 231]. Arpanın tüketimden sonra 10 saate kadar kan şekeri seviyesini düzenleyebileceğini gösterdi. Ayrıca, dünya çapında biyoaktif bileşenler olarak kabul edilir [232]. Beta-glukan, tahılların endosperm hücre duvarlarında, özellikle yulaf ve arpada (1- 3) ve - (1-4) bağları olan lineer glikoz zincirlerinden oluşan nişasta olmayan bir polisakarittir [230]. Arpanın yetersiz protein alanlarda gıda takviyesi olarak tüketimi için mükemmel bir seçim olduğu bilinir [233]. Arpa B vitamini özellikle P, K, Ca, Mg, Se minerallerini ve yüksek oranda antioksidan bileşiklerin (örneğin tokoferoller ve tokotrienolleri) ve karışık bağlı (1/3), (1/4) beta D-glukanları içermektedir [234]. Beta glukanların yüksek diyabet kontrolü, bağırsaktaki probiyotik bakterilerin gelişmesini teşvik etmektedir [235]. Aynı zamanda plazma kolesterolünü düşürme, glisemik indeksi azaltma, lipit metabolizmasını iyileştirme, bağışıklık sistemini arttırma ve kolon kanseri riskini azaltma yetenekleriyle bilinmektedir [224, 236]. Arpa genotipleri kabuklu ve kabuksuz olarak sınıflandırılır [237]. Kavuz içereğininarpanın gıdalarda kullanımında sınırlayıcı bir faktör olarak görülmesi kavuzsuz arpaya dikkatleri çekmiştir [238]. Dünyada kavuzsuz arpanın insan gıdası olarak tüketimi gittikçe önem kazanmaya başlamıştır. Yüksek çözünelebilir lif içeriği, protein, beta glukan ve enerji içeriği ile ekmek yapımında paçalda

kullanılabilmesi ve hayvan rasyonları için uygun bir kaynak olması kavuzsuz arpanın önemini artırmıştır [239].

Tablo 2.4 Kavuzsuz arpanın besinsel değeri

Bileşen	**%**
Protein	13-18
Nişasta	60-74
Çözünebilir diyet lif	3-6
Beta glukan	4-8
Toplam diyet lif	12-17

Karaduman [227, 240]

Öğütülebilen kavuzsuz arpa kepek ve una işlenebilmektedir. Protein ve nişasta kavuzsuz arpanın önemli bileşenlerinden olup beta -glukanı kavuzlu arpaya göre daha yüksek çeşitleri bulunmaktadır [241]. Protein oranı %13-18 (Tablo 2.4) arasında değişmekle birlikte endüstriyel kullanım için proteinlerin miktar ve kompozisyonu etkili olmaktadır[205]. Kabuksuz çeşitler kabuklu çeşitlerden daha fazla protein, lipit, çözülebilir diyet lif içeridiğinden daha iyi besin değerine sahiptir[10, 237]. Yalın (kabuksuz) arpa çözünür (SDF) ve çözünmez (IDF) iyi bir diyet lifi kaynağıdır (Tablo 2.5). Dünyanın ilk beş önemli üreticilerinden biri olan Türkiye de hiç ekim alanı olmamasına rağmen başta Kanada olmak üzere, Çin, Rusya, Japonya, Kore, Brezilya, Şili, Arjantin, Avustralya ve Ekvator da kavuzsuz arpa üretimden önemli paya sahiptir [239, 242]. Pejcz vd.[243] yaptıkları çalışmada arpayla zenginleştirilmiş ekmekler çözünen ve çözünemeyen diyet lif %40 oranında ve arpa içeren ekmeğin kontrol ekmekten %67'den daha fazla diyet lif ve %160' dan daha fazla beta glukan içermekte olduğunu belirlemişlerdir. Maiya vd. [244] yaptıkları çalışmada %10, %20, %30 ve %40 arpa ununun hamurun reolojik ve kalite özelliklerine etkisi incelenmiştir. Kontrol (%0) ile %40 oranında arpa unufarinograf su emilimi artışını ve uzamaya karşı ekstensograf direncini arttırmış ve uzayabilirlikte azalma gösterirken amilografta geriye bırakmada azalma ve yüksek viskozite değerleri belirlemişlerdir. Arpa ve yerel buğday unundan yapılan *Balade* ekmeklerinin fiziksel kimyasal ve duyusal analizleri üzerine yapılan çalışmada tüketiciye kabul edilebilir oranı %15 ve %30 oranında arpa ununun buğday unu ile karıştırılabileceğini göstermişlerdir [245]. Zanini vd. [246] yaptıkları çalışmada seçtikleri LAB ve mayadan oluşturdukları starter kültürden yaptıkları ekşi hamuru %100 buğday unu, %50 buğday unu ve %50 kavuzsuz arpa unu (karma unu); %100 kavuksuz arpa unundan ekmek yaparak fırıncılık özelliklerini incelemişlerdir.

Tablo 2.5 Kavuzsuz arpa ununun kepek, TÇL ve ÇL Bileşimi

	Toplam Çözünebilir Lif (%)		Çözünebilir lif (%)	
Bileşenler	**Kepek**	**Un**	**Kepek**	**Un**
Beta glukan	22,4	20,3	38,4	26,80
Dayanıklı nişasta	6,3	8,3	5,4	6,9
Lignin	7,8	6,4	TE	TE
Pentozanlar	19,7	13,9	6,5	5,7
Üronik asit	1,2	2	1,1	1,2

Karaduman, [227]

Çözünebilir lif oranını artırmak için ekşi hamur ekmek yapımına buğday ununu kısmen veya tamamen arpa unu katmışlardır. Arpa ekmeğinin daha yüksek besin değeriyle elde edilmesinde kullanılabileceğini göstermiştir. Fırın endüstrisinde arpanın başarılı bir şekilde kullanılabileceği onaylanmıştır. Monogastriklerde sindirim oranını yavaşlatan viskoz solüsyonlar oluşturma kabiliyetlerinden dolayı beta-glukanlara benzer fizyolojik etkilerinin olabileceği tahmin edilmektedir [224]. Mısır, buğday ve çavdardan suda çözünebilen arabinoksilanların fermentasyonu kısa zincirli yağ asitlerinin üretimi, serum kolesterolünün azaltılması ve kalsiyum ve magnezyumun adsorpsiyonunda iyileştirme üzerinde olumlu bir etkisi olduğu gösterilmiştir [224]. Ayrıca arpadaki beta glukanların arabinoksilan ile kombinasyon halinde ekmeğin raf ömrünü uzatabileceği düşünülmektedir [223].

3
MATERYAL METOT

3.1 Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan siyez, kavuzsuz arpa ve buğday unu İstanbul Halk Ekmek (İHE) A.Ş'den temin edilmiştir. Numuneler analizleri yapılana kadar buzdolabında (4ºC) muhafaza edilmiştir.

3.2 Metot

3.2.1 Unların Fizikokimyasal Analizi

3.2.1.1 Nem Tayini

Örneklerin nem miktarı, AACC Metot No: 44-15A'ya göre belirlenmiştir [247].

3.2.1.2 Kül Analizi

Çalışmada kullanılacak siyez ve kavuzsuz arpa unları ve karışımlarının kül tayini AACC Metot No: 08-01'e [248] göre yapılmıştır. Krozeler içerisine 1-2 g civarında un içeren örnekler 900°C'de siyahlık kalmayacak şekilde kül fırınında (Wise Therm-Daihan FH-03, Kore) yakılmıştır. Krozeler tartılarak kuru maddeüzerinden % kül miktarı hesaplanmıştır**.**

3.2.1.3 Protein Tayini

Çalışmada kullanılacak siyez ve kavuzsuz arpa unları ve karışımlarının protein miktarı tayini, Kjeldahl AACC Method No: 46-11A'ya[249] göre yapılmıştır. Un örneklerinden 1g tartılıp Kjeldahl balonuna konulmuş, 25 mL derişik H_2SO_4 ve 1 adet katalizör tableti (Potasyum sülfat (K_2SO_4), sodyum sülfat (Na_2SO_4), titanyum oksit (TiO_2) ve bakır sülfat ($CuSO_4$) karışımlarını içeren tablet) ilave edilip, köpürme bitene kadar 200–250ºC'de 15 dakika, daha sonra 350–400ºC'de 8 saat yakma işlemine tabi tutulmuştur. Örnekler mavi-yeşil renge dönüşene kadar yakma işlemi sürmüştür. Örnekler soğumaya bırakıldıktan sonra 5 mL %40'lık NaOH, 3 mL %3'lük borik asit ilave edilmiş ve

destilasyon başlatılmıştır (BehrDistillation Unit-S5, Almanya). Destilasyon işlemi yapıldıktan sonra 1M HCI ile titrasyon gerçekleştirilmiştir. 5,70 ile hesaplanarak % ham protein hesaplanmıştır.

3.2.1.4 Zeleny Sedimentasyon Tayini

Tayin için un örneklerinden 3,2 g tartılmış 100 mL'lik ağzı kapaklı ölçü silindirine konulmuştur. Üzerine 4 ppm'lik bromfenol mavisi çözeltisinden 50 mL ilave edildikten sonra 5 dk mekanik çalkalayıcıda çalkalandıktan sonra üzerine 25 mL laktik asit sedimantasyon test çözeltisi ilave edilerek 5 dk daha çalkalanarak düz bir yüzeyde 5 dk bekletildikten sonra çöken miktar mL içende bulunduğu ölçü silindirinden okunmuştur [248].

3.2.1.5 Unların Farinograf Analizi

Unların farinograf özellikleri (AACC Metot 5410)'a göre belirlenmiştir [249]. Formülasyonlarda kullanılan siyez ve kavuzsuz arpa un karışımları (BrebenderInc., Almanya) cihaz 30ºC sıcaklığa geldikten sonra %14 rutubet içeriği esasına göre yapılmıştır. Farinograf cihazında unun yoğrulurken 500 FU çizgisini yakalaması için gerekli olan su miktarı süre sonunda unun yaklaşık % su grafik değerleri hesaplanarak belirlenmiştir.

3.2.2 Siyez ve Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurlarının Hazırlanması

Spontan ekşi hamur dışardan starter kültür veya ana ekşi hamurdan ekleme yapmadan un ve su karışımının fermentasyonu sonucu oluşmaktadır. Siyez ve kavuzsuz arpa ununda laboratuvar şartlarında 100 g un 100 g steril su ile karıştırılıp 4 dk karıştırılıp homojen hale getirildikten sonra 28ºC'de 24 saat fermentasyona fermentasyona bırakılarak ekşi hamur hazırlanmıştır. Fermentasyon kademeli gerçekleştirilmiştir. 1:1 oranında un ve su ile beslenerek her 24 saatte pH ve TTA ölçümü yapılarak 7 gün boyunca fermentasyon sürdürülmüştür.

3.2.2.1 Ekşi Hamurların pH ve TTA Analizi

Ekşi hamur numunelerin pH değeri bir pH metre (HANNA Instruments, ABD) ile ölçülmüş ve daha sonra 10 g numune 90 mL damıtılmış su içinde seyreltilmiş, bu çalkalama altında pH 8,5 oluncaya kadar 0,1 M NaOH ile titrayon yapılmıştır [250]. Her örnek için iki bağımsız ölçüm yapılmıştır.

3.2.2.2 Toplam LAB ve Maya Tespiti

LAB tanımlamak amacıyla modifiye edilmiş maltoz MRS (ModMRS) Agar (Merck, Almanya), MRS Agar (Merck, Almanya), Rogosa Agar (RA) (Merck, Almanya) ve MRS-5 Agar (Merck, Almanya) besiyerleri kullanılmıştır. Modifiye edilmiş maltoz MRS agar besiyeri bileşimine %1 w/v maltose, %5 v/v taze maya ekstraktı ilave edilerek (pH 5,6) hazırlanmıştır. MRS-5 agar ise 5g/L glukoz, 10g/L maltoz, 5 g/L fruktoz kullanılarak hazırlanmıştır. Laktik asit bakterileri 37ºC'de 48 saat aneorobik olarak inkübe edilmiştir. Mayaların tanımlanmasında ise Sabaroud Dekstroz Agar (SDA, Merck, Almanya) kullanılmıştır. Mayalar 28ºC'de 48 saat inkübe edilmiştir. Siyez ve kavuzsuz arpa unundan spontan olarak hazırlanan ekşi hamurlardan 10 g hamur steril numune poşetlerinde %0,1'lik 90 mL tamponlanmış steril peptonlu suda homojenize edilerek 10^{-1}'den 10^{-6}'e kadar seri dilüsyonlar hazırlanmış, yayma yöntemiyle farklı besiyerlerine ekim yapılmış olup 30-300 koloni aralığında sayımları gerçekleştirilmiştir. Besiyerleri, pipet uçları, metal spatüller vb. malzemeler ekimlerden önce otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiştir.

3.2.3 Spontan Ekşi Hamurlardan İzole Edilen LAB ve Mayaların Tanımlanması

3.2.3.1 LAB ve Mayaların İzolasyonu

Laktik asit bakterileri siyez unu ve kavuzsuz arpa ekşi hamurundan 155 izolat mayalar ise 49 izolat seçilerek tanımlanmıştır.

3.2.3.2 Kültür Stoklarının Oluşturulması ve Depolanması

Saf küf izolatları, stokları yapılmak üzere laktik ait bakterileri izole edildikten sonra MRS brothda 37ºC'de 24 saat, mayalar ise SDA brothda 30ºC'de 24 saat inkübe ediltikten sonra steril mikrosantrifüj tüplerine aktarılmış, 10,000 rpm 4 °C'de santrifüjlenip elde edilen pelletlere 100 µL gliserol eklenip -80°C'de muhafaza edilmiştir [251].

3.2.3.3 İzolatların FTIR Tekniği Kullanılarak Seçilmesi

Ekşi hamur örneklerinden elde edilen laktik asit bakterileri ise MRS Agar'da geliştirildikten sonra APT Agar'da (All purpose Tween Agar) 34ºC'de 24 saat aneorobik koşullarda geliştirilmiştir. Maya izolatları ise SDA agarda inkübe edildikten sonra YGC agarda (Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar) 30ºC'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen kolonilerden 1 öze dolusu alınıp 100 µL saf su içerisinde

çözündürülmüştür. Kızılötesi geçirgen ZnSe taşıyıcısına (çapı 25 mm) çözündürülen koloninin 25 µL'si aktarılarak 40°C'de 45 dk kurutulmuştur. Süre sonunda FTIR Spektrofotometre cihazında 4000– 400 cm^{-1} dalgaboyu aralığında kolonilerin spektrum okuması yapılmıştır. FTIR spektrumları, mikroplaka okuyucu module sahip HTS-XT modülüne sahip FTIR spektrometresi kullanılarak elde edilmiştir (Şekil 3). Bu sınıflandırma işleminde en spesifik ve tanımlayıcı sınıflandırmanın sağlanabilmesi için LAB'de Ward's algoritması ve birincil türev, mayalarda Ward's algoritması ve ikincil türev birlikteliğinden yararlanılmıştır [252-254].

3.2.3.4 İzolatların PCR ile Tanımlanması



Şekil 3.1 FTIR analiz aşamaları

3.2.4 Tanımlanan LAB ve Mayaların Teknolojik Karakterizasyonu

FTIR analizi sonucu elde edilen cluster ağacı değerlendirilerek farklı kollardan yer alan LAB ve mayalardan seçilerek sekans analizine gönderilmiştir.

- Genomik DNA İzolasyonu

Mayaların ve LAB'lerin Genomik DNA ekstraksiyonunda ise, uygun sıvı besiyerinde gelişen kültürden 1 mL santrifüj tüplerine aktarılarak 4°C'de 10 dakika boyunca 13.000 g'de santrifüjlendikten sonra, supernatantı ayrılmıştır. Pellet -80°C'de 15 dakika bekletildikten sonra 95 ml 1X TAE buffer içinde yeniden süspansiyona alınmış, 5 µL (2,5 mg/mL) Lizozim (Sigma, Saint Louis, ABD) ilave edilerek 15 dakika boyunca 25°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 2 µL proteinaz K eklenerek (20 mg/mL, Sigma, Saint Louis, ABD) karışım 1 saat 58°C'de su banyosunda bekletilmiştir. Ardından 8 dakika boyunca 95°C su banyosunda bekletilerek enzim inaktive edilmiştir [255].

16S rDNA Gen Dizilimi ile Bakteri ve 26S Gen Dizilimi ile Mayaların Tanımlaması

-PCR Karışımının Hazırlanması

Amplifikasyon için oluşturulacak PCR karışımı (25 µL) ve termal döngü (BioRad, AppliedBiosystems, ABD) şartları Tablo 3.1, 3.2 ve 3.3' te verilmiştir [28, 61]. Primerler ise, 1X TE (Tris-EDTA) buffer/ultra saf su ile sulandırılarak 100 µM stoklar halinde hazırlanmış ve PCR karışımında kullanılmak üzere 12,5 µM'a 1X TE buffer/ultra saf su ile seyreltilmiştir.

Tablo 3.1 PCR amplifikasyonu için hazırlanan karışım

Taq DNA Polimeraz Miksi (2X PCR Master Mix, Intron)	12,5 µL	Taq DNA Polimeraz (Sigma, USA) (5U of Taq DNA polymerase)	0,5 µL
H_2O (Ultra Saf)	7,5 µL	10X Buffer	2 µL
ForwardPrimer (12,5 µM)	2 µL	2.5 mM of dNTP mixture	2 µL
ReversePrimer (12,5 µM)	2 µL	H_2O (Ultra Saf)	17,5 µL
Örnek (Template) DNA	1 µL	ForwardPrimer (12,5 µM)	1 µL
		ReversePrimer (12,5 µM)	1 µL
		Örnek (Template) DNA	1 µL
Toplam PCR Karışımı	25 µL	Toplam PCR Karışımı	25 µL

Tablo 3.2 Kullanılan primerlerin dizilimi

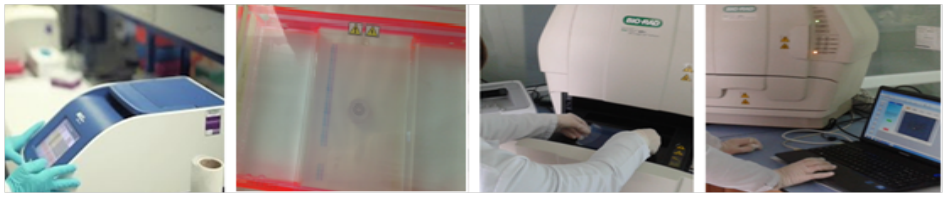
Primer Çeşidi	Primer Dizilim
PEU7 (forward) (16S)	5′-GCA AAC AGG ATT AGA TAC CC-3′
DG74 (reverse) (16S)	5′-AGG AGG TGA TCC AAC CGC A-3′
P8FPL (16S)	5′-AGTTTGATCCTGGCTCAG-3′
P806R (16S)	5′- GGACTACCAGGGTATCTAAT-3′
27f (16S)	5′-AGAGTTTGATCCTGGCTCA-3`
1492r (16S)	5′-CGGCTACCTTGTTACGAC-3′
NL1 (26S)	5′-GCCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3′
LS2 (26S)	5′-ATTCCCAAACAACTCGACTC-3′

Tablo 3.3 PCR amplifikasyonu için primerlere göre termal döngü şartları

Primerler		Primer döngü		
PEU7 ve DG74		İlk Denatürasyon	94°C 5dk	
	LAB	Denatürasyon	94°C 15 sn,	
		Bağlanma	52°C de 30sn,	Baker vd. [256]
		Uzama	72°C 2dk,	
		Son Uzama	72°C 5dk.	
		Döngü Sayısı	30	
-		İlk Denatürasyon	95°C 4dk,	
P806 ve P8FPL	LAB	Denatürasyon	94°C 1 dk	Chen vd. [257].
		Bağlanma	55°C 2dk	
		Uzama	72°C 7dk	
		Son Uzama	72°C 10dk	
		Döngü Sayısı	30	
		İlk Denatürasyon	94°C 2dk	
27F-1492R	LAB	Denatürasyon	94 °C 40 sn	Chen vd. [257]
		Bağlanma	45°C 50 sn	
		Uzama	45°C 50 sn	
		Son Uzama	72 °C 2 dk	
		Döngü Sayısı	35	
NL1-LS2	MAYA	İlk Denatürasyon	95°C 5 dk,	
		Denatürasyon	95°C 60 sn	
		Bağlanma	52°C 45sn,	
		Uzama	72°C 60sn,	
		Son Uzama	72°C 5dk	
		Döngü Sayısı	30	

PCR Ürünlerinin Saflaştırılması (Clean-up)

PCR ürünleri, GF-1 PCF (Vivantis, Malezya) ve MEGA quick-spin (Intron, Güney Kore) purifikasyon kitleri kullanılarak saflaştırılmıştır.



Şekil 3.2 PCR analiz cihazları

(Sırasıyla amplifikasyon, elektroferez ve görüntü alma işlemleri)

-Amplikonların Yürütülmesi ve Görüntülenmesi:

Amplifikasyondan sonra oluşan PCR ürünleri ve negatif kontrol, bir miktar yükleme boyasıyla (loading dye) karıştırılmış ve 5'er µL alınarak jele yüklenmiştir. DNA ladder (100 baz çifti) eşliğinde elektroforezde (ThermoFisherScientific, ABD) %1,2'lik agaroz jelde, 0,5 X TBE tamponunda (Tris-Borik asit-EDTA), 1,5 saat elektoroforezde yürütülmüş, UV-görüntüleme sisteminde (BioRad EZ, Almanya), bant görüntülerine bakılmıştır (Şekil3.1).

-Sekans ve BLAST Analizi

Clean-up işlemiyle elde edilen son ürünler jel görüntüsü alındıktan sonra sekansa gönderilmiştir. Sekans kromatogramları, CLC Main Workbench (Qiagen, Almanya) programına aktarılmış ve düzenlenmiştir. Nükleotid dizilimleri ClustalW'da hizalanmıştır. Dizi analizi sonuçları, BLAST (Basic Local Alingment SearchTool) programı kullanılarak veritabanları ile karşılaştırılmış ve tarama sonucunda dizinin hangi mikroorganizmaya ait olduğu benzerlik yüzdesiyle belirlenmiştir [258]. BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) sistemi ile %97-100 arasında benzerlik gösteren izolatların hangi türe ait olduğu belirlenmiştir [17, 28, 62].

3.2.4.1 LAB ve Mayaların Safra ve Asit Toleranslarının Belirlenmesi

Chung vd. [259]'nin metoduna göre brothda aktifleştirilen LAB'nin optikal yoğunlukları Spektrometrede (600 nm) optikal yoğunlukları eşitlendi. OD değerleri ayarlanan bakteriler pH'sı 2,5'e ayarlanan MRS broth ve %0,3 oranında safra (Sigma, ABD) içeren MRS Broth'a inoküle edilerek 37ºC'de 24 saat inkübe edilmiş ve MRS Agar'a ekim yapılmıştır. OD değerleri kontrol grubu (pH' sı 6,0 olan MRS sıvı besiyerinde gelişen kültürün yoğunluğu) ile 24 saat sonraki sayım sonuçları ile karşılaştırılarak suşlar üzerindeki yüzde canlılık değeri hesaplanmıştır.

Safra tuzuna /pH direnç gösteren bakteri sayısı (%)=A/B*100

A: Safra tuzuna /pH brothda 24h sonraki bakteri sayısı

B: Başlangıç bakteri sayısı bakteri sayısı

3.2.4.2 LAB ve Mayaların NaCl'e Toleranslarının Belirlenmesi

Chung vd. [259]'nın metoduna göre brothda aktifleştirilen LAB OD değerleri 1'e ayarlanan bakterilerden tuz oranı %6 ayarlanan MRS Broth'a inoküle edilerek 37ºC'de 24 saat inkübe edilmiştir. MRS Agar'a ekilerek sayımı yapılmıştır. Kontrol grubu ile 24 saat sonraki sayım sonuçları ile karşılaştırılarak % canlılık değeri belirlenmiştir.

NaCl direnç gösteren bakteri sayısı (%)=A/B*100

A: NaCl brothda 24h sonraki bakteri sayısı

B: Başlangıç bakteri sayısı bakteri sayısı

3.2.4.3 Antimikrobiyal Aktivite

LAB'nin antimikrobiyal aktivitesi difüzyon agar yöntemi [260, 261] ile belirlendi. *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Bacillus cereus* ATCC11778 ve *Escherichia coli* ATCC25922 patojen bakterileri YTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan (YTÜGMKK) temin edilmiştir. Nutrient Broth'da *B. subtilis* ATCC6633, *B. cereus* ATCC11778 ve *E. coli* ATCC25922 patojen bakterileri 37ºC'de 24 saat aktifleştirilmiş, yaklaşık 10^5-10^7kob/mL olan 100 mikrolitre Nutrient Agarlı petriye yayılmış, 37ºC' de aktifleştirilen LAB 10mL MRS Broth'a %1 inoküle edilmiş mayalar ise SDA brotha inoküle edilmiştir. 14000g de 5 dk santrifüj edilmiş, elde edilen süpernatant Nutrient Agar'da açılan 6mm kuyulara aktarıldıktan sonra LAB'ler 37ºC' de mayalar ise 30ºC 24 saat inhibe edilip inhibisyon zonları mm olarak ölçülmüştür.

-Antifungal Aktivite

Ekşi hamur izolatlarının antifungal aktiviteleri, *Penicillium carneum*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger*'e karşı belirlenmiştir. *Penicillium carneum*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger* küfleri YTÜ Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonundan (YTÜGMKK) temin edilmiştir. LAB MRS Agar üzerine çizilip aktive edilmiş ve MRS broth'ta 24 saat geliştirilmiştir. MRS agar üzerine 10 mikrolitre spot ekim olarak difüze edildikten sonra 24 saat 34 °C'de inkübe edilmiştir. Mayalar ise SDA agarda aktivite edilip, SDA broth'da 24 saat 30ºC'de geliştirilmiştir. SDA agar üzerine 10 mikrolitre spot ekim yapılmış, 10 mL Malt ekstrakt Yumuşak Agar hazırlanarak (3% malt ekstraktı, 0,7% agar, %1 küf sporları) spot ekimi yapılmış bakteri ve maya besiyerleri

üzerine aktarılıp 30°C'de 72 saat aerobik olarak inkübe edilmiştir. Oluşturan inhibisyon bölgeleri incelenmiştir [262].

3.2.4.4 LAB ve Mayaların Katı Besiyerinde Fitaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Laktik asit bakterilerileri ve mayaların fitaz üretme yetenekleri kalsiyum fitat veya sodyum fitat içeren besiyerinde belirlenmiştir. Bu besiyeri D-glikoz (20 g/L), sodyum fitat (4 g/L), kalsiyum klorür (2 g/L), amonyum nitrat (5 g/L), potasyum klorür (0,5 g/ L), magnezyum sülfat (0,5 g/L), demir sülfat (0,01 g/L), manganez sülfat (0,01 g/ L) ve agar (15 g/L) dan hazırlanmıştır [263]. LAB ve mayalar spot yöntemi ile inokule edilip 30ºC'de 7 gün inkübe edilmiş, şeffaf zon oluşumu görülen suşlar fitaz aktif olarak, zon oluşturmayanlar negatif olarak değerlendirilmiştir. Zon çapı mm olarak ölçülmüştür.

3.2.5 Ekmek Hamurunun Hazırlanması

Yapılan çalışmada siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamur ekmekleri Şekil 3.2'de gösterildiği gibi hazırlanmıştır. Ekşi hamurların yapılmasında kullanılan starter kültür kombinasyonu Tablo 3.3'te gösterilmiştir.

Tablo 3.4 Çalışmada kullanılan ekşi hamur izolatları

Ekşi Hamur Çeşidi	İzolat Kodu	Tür adı
Siyez	SB68	*Lactobacillus brevis*
Buğday (Kontrol)	SB22	*Lactobacillus paraplantarum*
	3SM3-3	*Saccharomyces cerevisiae*
Siyez	SB68	*Lactobacillus brevis*
Buğday (Kontrol)	SB22	*Lactobacillus paraplantarum*
	3SM1-3	*Saccharomyces cerevisiae*
Kavuzsuz Arpa	SAB31	*Lactobacillus brevis*
Buğday (Kontrol)	SAB15	*Lactobacillus plantarum*
	SAM1-4	*Saccharomyces cerevisiae*



Şekil 3.3 Siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamur ekmeklerinin yapım şeması

3.2.5.1 Starter Kültür ile Siyez Ekşi Hamuru ve Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurlarının Hazırlanması

Ekmek yapımında kullanılacak ekşi hamurun hazırlanmasında spontan siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamurlarının ekosisteminden izole edilip tanımlanan LAB ve mayalardan rekabet gücü yüksek, teknolojik özellikleri bakımından özellikle tuza ve aside yüksek tolerans gösteren antimikrobiyal aktiviteye sahip en iyi suşlar seçilip kullanılmıştır. Seçilen *Lactobacillus brevis* SB68, *Lactobacillus paraplantarum* SB22, *Saccharomyces cerevisiae* 3SM3-3 ve *Saccharomyces cerevisiae* 3SM1-3 oluşan 2 farklı kombinasyon kullanılmış olup %100 siyez unundan ve kontrol olarak %100 buğday unundan ekşi hamur üretilmiştir. Kavuzsuz arpa ekşi hamuru ise *Lactobacillus brevis* SAB31, *Lactobacillus plantarum* SAB15 ve *Saccharomyces cerevisiae* SAM1-4' den oluşan tek bir kombinasyon kullanılmış olup, %100 arpa unundan ve kontrol olarak %100 buğday unundan ekşi hamur üretilmiştir. Buna göre -80ºC'de stoklanan suşlar öncelikle katı besiyerine laktik asit bakterileri MRS Agara 24 saat, mayalar SDA Agara çizme yöntemi ile 48 saat süre ile aktifleştirilmiş, ardından mayalar 5 mL SDB Broth içerisinde, laktik asit bakterileri ise 5 mL MRS Broth besiyerinde 24 saat süre ile inkübe edilmiştir. Ardından ikinci kez 50 mL sıvı besiyerlerine alınan kültürler 20 saat tekrar

inkübe edilmiş ve hücre pelletleri 4ºC'de santrifüjlenerek yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Yıkama işlemi için öncelikle % 0,9'luk NaCl kullanılmış ardından steril saf su ile yıkama işlemine tabi tutulmuştur. Sonrasında tüm hücre pelletleri alınmış ve 100g siyez unu, 100g steril saf su karışımı içerisine alınmıştır. Üretilen ekşi hamur örnekleri 25°C sıcaklıkta %80 nisbi nemde 20 saat fermentasyona tabi tutulmuştur. Spontan ekşi hamurlarda 100g un, 100g saf su ile homojen karışım yapılarak 25°C sıcaklıkta %80 nisbi nemde 24 saat fermentasyona bırakılmıştır. Üretilen ekşi hamurdan 100g alınıp 50 g un, 50 g oranında su ile beslenerek tekrar aynı şekilde fermete edilmiştir.

3.2.5.2 Ekşi Hamurların pH ve TTA Tayini

Üretilen ekşi hamurların pH ölçümü için (HANNA, ABD) pH metre cihazı kullanılmıştır. Ekşi hamur örneğinden 10g tartılıp 90 mL saf su ile hızlı karıştırıcıda (DAIHAN HG-15D, Güney Kore) homojenize edilmiştir. Titrasyon asitliği ise 0,1 N NaOH kullanılarak pH 8,5'e kadar titrasyonu ile belirlenmiştir. Sonuçlar % laktik asit cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.5.3 Ekşi Hamurların LAB ve Maya Sayımı

Maya ve laktik asit bakterilerinin (LAB) sayımı için, 10g hamur 90 mL steril pepton suyu ile homojenize edilmiştir. Maya ve LAB'in sırasıyla SDA (Merck, Almanya) ve MRS agar (Merck, Almanya) besiyerleri kullanılarak ekimleri yapılmış mayalar için 30ºC'de LAB için ise 37ºC'de inkübe edilmiştir. Mayalar için 48 saat LAB için 24 saat sonunda sayımlar yapılmıştır. Sayım işlemleri ekşi hamur üretiminde fermentasyon öncesi ve sonrası olarak iki aşamada da gerçekleştirilmiştir.

3.2.6 Ekşi Hamur Ekmeklerinin Üretimi

3.2.6.1 Siyez Unu ve Kavuzsuz Arpa Unu ile Ekmek Yapımı

Çalışmada kullanılan siyez ekmek hamurları siyez ununa 0/100, 25/75, 50/50, 75/25, 100/0 oranlarında buğday unu karıştırılarak hazırlanmıştır. Kontrol ekmeği %100 buğday undan hazırlanmıştır. Buna ilaveten ekmek hamurunda su, tuz ve hem kültürler ile hazırlanan hem de spontan fermentasyona tabi tutulan ekşi hamur örnekleri kullanılmıştır. Bunun için 100g una %20 oranında ekşi hamur, %1,5 tuz ve farinografta belirlenen miktarda içme suyu katıldı. Siyez unların farinograf değerleri sırasıyla %60,65, %58,3, %55,90, %54,50 ve %52,5 oranlarında kullanılmıştır. Kavuzsuz arpa ekmekleri ise kavuzsuz arpa ununa 0/100, 25/75, 50/50, 75/25, 100/0 oranlarında buğday unu karıştırılarak hazırlanmıştır. Kontrol ekmeği %100 normal undan

hazırlanmıştır. Buna ilaveten su, tuz ve hem kültürler ile hazırlanan hem de spontan fermentasyona tabi tutulan ekşi hamur örnekleri kullanılmıştır. Bu unların farinograf değerleri sırasıyla %60,65, %61,45 %63,40, %65,10 ve %66,15 oranlarında kullanılmıştır. Spontan kavuzsuz arpa ve kavuzsuz arpa unu ekmekleride aynı oranlarda unlar ile farinograftaki su aktivitesi miktarları kadar su, %1,5 tuz ve %20 sponatan ekşi hamurdan üretilmiştir. Önce unlar 1 dk yavaş devirde karıştırıldı. Üzerine hazırlanan ekşi maya, su ilave edilip 1 dk orta devirde yoğurulup, sonra kalan su ile tuz çözündürülerek eklenip 4 dk yüksek devirde yoğurulmuştur. Ekmek yapımında laboratuvar tipi spiral hamur yoğurma makinesi (Öztiryakiler, Türkiye) kullanılmıştır. Yoğurulan hamurlar 20 dk oda sıcaklığında bekletilmiş, elle şekil verilip pişirme tavalarına koyulduktan sonra 30ºC'de 3saat %85 nemde fermentasyon kabininde (Nüve TK252, Türkiye) fermentasyona bırakılmıştır. Hamurlar taş tabanlı pilot ölçekli elktrikli fırında (Fimak, Türkiye) 190ºC'de 40 dk pişirilmiştir. Ekmekler fırına konulduktan sonra hemen buhar enjekte edilmiş ve piştikten sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğuduktan sonra hacmi, ağırlığı ölçülerek kesilmiş ve içyapısı değerlendirilmiştir.

3.2.7 Ekmeklerin Kalite Analizleri

3.2.7.1 Ekmek Hacminin Ölçülmesi

Üretilen ekmekler oda sıcaklığına geldikten sonra ağırlık (g) ölçümleri yapılmış ve kolza tohumu ile yer değiştirme esasına dayandırılarak hacim[264] değerleri belirlenmiş olup elde edilen hacim değerlerinin ağırlığa oranlanmasıyla spesifik hacim (mL/g) değerleri bulunmuştur. % ne kadar hacim kaybına neden olduğu aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır [265].

% hacim kaybı = (Vt - Vd) / Vt x 100

3.2.7.2 Renk Ölçümü

Ekmek iç ve dış rengi L*, a* ve b* renk değerleri, renk tayin cihazı (Konica Minolta CR-100, Japonya) ile belirlenmiştir. Kaydedilen renk değerlerinden L*, koyuluk (0-siyah) /parlaklık (100-beyaz), a* değeri kırmızıya (+a)/yeşile (–a) ve b* değeri de sarıya (+b)/maviye (–b) çalan değerler olarak ifade edilmiştir [266].

3.2.7.3 Tekstür Analizi

Ekmek örneklerinin tekstürel özelliklerinden sertliğin belirlenmesinde her ekmek numunesi, 1,25 mm kalınlıkta dilimlenmiş ve 5 kg yük hücresi ve 36 mm çaplı silindirik

sıkıştırma probu ile donatılmış doku analiz cihazı (SMS TA.XT2 Plus, İngiltere) kullanılarak bir sıkıştırma testine tabi tutularak sertlik özellikleri saptanmıştır.

3.2.7.4 Duyusal Analiz

Duyusal analiz de kabuk ve ekmek içi rengi, gözenek yapısı, tat, koku, çiğnenebilirlik ve genel kabul olarak değerlendirilmiştir. Toplam 12 eğitimsiz panelist örnekleri 1 (çok kötü)- 7 (çok mükemmel) skala aralığında değerlendirilmiştir [267].

3.3 İstatistik Analizi

JMP 9 programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi [268] ve iki faktör varyans analizi uygulanmış ve gruplar arasındaki önemli farkları $\alpha=0,05$ düzeyinde bildirilmiş, üç tekerrürün ortalaması ± standart sapması da hesaplanmıştır.

4
ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Unların Fizikokimyasal Özellikleri

4.1.1 Siyez Ununun Teknolojik Özellikleri

Çalışmada kullanılan siyez unu ve siyez-buğday un karışımlarının protein, kül, sedimentasyon ve su absorbsiyonu değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1 Siyez ve buğday unu katkılı unların teknolojik özellikleri

Un	Un Oranları	Kül %	Protein %	Sedimantasyon ml	Su Absorbsiyonu %
BU	100 B	0,61±0,06^{e}	12,10±0,4^{c}	30±0,7^{a}	60,65±0,5^{a}
SB1	25S %75B	0,85±0,04^{d}	12,39±0,4^{c}	21±1,4^{b}	58,30±0,1^{b}
SB2	50S %50B	1,57±0,00^{c}	13,85±0,3^{bc}	18±0,0^{c}	55,90±0,3^{c}
SB3	75S %25B	1,69±0,08^{b}	14,18±0,2^{ab}	16±0,7^{cd}	54,50±0,3^{d}
SU	100S	2,23±0,01^{a}	14,65±0,2^{a}	15±0,0^{d}	52,50±0,2^{e}

BU %100 buğday, SB1 %25 siyez, SB2: %50 siyez, SB3: %75 siyez, SU: %100 buğday.
Aynı kolondaki farklı küçük harfler unlar arasındaki farklılığı belirtmektedir ($p<0.05$).

Hamurun elastikiyeti uzaması, şekil alması, gaz tutma gücü ve kapasitesi içerdiği protein kalitesi miktarı ve gluten içeriğine bağlıdır [269]. Buğdayda protein içeriği %6-22 arasında olup mayalı ekmek yapımında %10-12 oranında orta seviyede proteine sahip buğdaylar kullanılmaktadır. Bu çalışmada siyez ununa %25, %50, %75 oranlarında buğday unu katılan paçalların protein ve kül içeriği istatistiksel olarak ($p<0,05$) önemli bulunmuş olup %100 siyez ununa doğru protein oranı artmıştır. Protein oranı siyez unu oranı arttıkça %12,39'dan %14,65'e artış göstermiştir (Tablo 4.1). %100 siyez ununun protein değeri normal buğday unundan %17 oranında fazla bulunmuştur. Siyez buğdayının daneleri, ekmek buğdayınınkinden çok daha yüksek bir protein içeriği göstermektedir [199, 215], ortalama 18 g/100 g kuru maddeyi (K.M) ve genellikle 20 g/100 g km'yi aşmaktadır. Loje vd.[211], yaptıkları çalışmada 10 siyez çeşidinde yüksek kül içeriği (%2,3-2,8 K.M) ile değişken protein oranına (%10,3-19,5) sahip olduğunu belirlemişlerdir. Siyez buğday ununun protein miktarı en yüksek

%16,46 en düşük ise %12,41 değerlerine sahip olup ortalaması %15,00±1,14 olduğu tespit edilmiştir [13]. Piasecka vd. [270] yaptıkları çalışmada farklı siyez unlarında analiz edilen protein içeriğini %12,34 ile %14,8 aralığında belirlemişlerdir. Hidalgo vd. [9, 11] tarafından bildirilen verilere göre genellikle siyez unundaki protein içeriği yüksek olup normal ekmek unundan daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Siyez buğdayının protein içeriğinin ekmeklik buğdaydan oldukça fazla miktarda olduğu bildirilmiştir [199, 215]. Yapılan çalışmada siyez unlarının kül içeriğide siyez katma oranındaki artışa bağlı olarak %0,85'den %2,23'e çıkmıştır (Tablo 4.1). Piasecka vd.[270] yaptıkları çalışmada %0,89 ile %1,89 arasında belirledikleri kül içeriğini buğday unundan yüksek bulmuşlardır. Zengin[13] yaptığı çalışmada siyez buğdayının kül içeriğini %1,78-2,28 arasında bulmuş olup ortalama %2,02±0,15 olarak tespit etmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda siyezin kül oranları %1,9, %1,88, %2,20, %2,21 aralığında rapor edilmiştir [197, 271-273]. Unun kabarma yeteneğini değerlendirme amaçlı sedimentasyon testleri yapılmaktadır. Tablo 4.1 de görüldüğü gibi buğday unu arttıkça sedimentasyon değerinde artış görülmüştür. %100 siyezunun sedimentasyon değeri 15 mL bulunmuş olup siyez oranı artıkça sedimantasyon değeri düşmüştür ($P<0,05$). Kalite açısından sedimantasyon değerinin yüksek olması beklenmektedir. Yapılan çalışmalarda siyez ununun sedimentasyon değeri 11-93 mL arasında değiştiği ve ortalama 50mL olduğu bildirilmiştir [215]. Zeleny sedimantasyon testinin sonuçlarına göre siyezin kabarma açısından kalitesinin çok düşük olduğu belirlenmiştir. Çünkü ekmeklik buğday için gerekli olan seviye minimum 25 mL'dir. Ekmeklik unlarda su absorbsiyonun yüksek olması istenmektedir [274]. Su absorbsiyonu yüksek unların pişme performansı yüksek olduğu kabul edilmektedir. Zengin [13], yaptığı analiz sonucunda siyez buğdayının su absorbsiyonu %52,4 tespit etmiştir. Piasecka vd. [270] yaptıkları çalışmada farklı siyez unlarındaki su absorsiyonu %53,4, %52,3 ve %55,4 oranlarında belirlemişlerdir. Farinograf analizi yapılan 5 farklı siyez-buğday un paçalından elde edilen veriler Tablo 4.1 incelendiğinde en yüksek su absorbsiyon değeri %60,65 ile %100 buğday ununda belirlenmiştir. Un örnekleri arasında su kaldırma miktarı bakımından $p<0,05$ önem düzeyinde istatistiksel olarak bir farklılık bulunmuştur. Buğday ununa ilave siyez oranının artmasıyla doğru orantılı olarak paçalların su absorbsiyonu kapasitelerinin de düşmesine neden olmuştur. Siyez buğdayının su absorbsiyonu %52,5 tespit edilmiştir.

4.1.2 Kavuzsuz Arpa Ununun Teknolojik Özellikleri

Çalışmada kullanılan siyez unu ve siyez-buğday un karışımlarının protein, kül, sedimentasyon ve su absorbsiyonu değerleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2 K.arpa ve buğday unu katkılı unların teknolojik özellikleri

Un %	Un Oranları	Kül %	Protein %	Sedimentasyon mL	Su Absorbsiyonu %
B	%100 B	0,61±0,01^{e}	12,10±0,6^{e}	30±0,7^{a}	60,65±0,00^{a}
AB1	%25A %75B	0,90±0,01^{d}	12,67±0,3^{d}	25±1,4^{b}	61,45±0,21^{b}
AB2	%50A %50B	1,26±0,03^{c}	13,20±0,1^{c}	23±0,0^{c}	63,40±0,20^{c}
AB3	%75A %25B	1,47±0,03^{b}	13,60±0,2^{b}	21±0,7^{d}	65,10±0,00^{d}
AU	%100A	1,90±0,04^{a}	14,05±0,2^{a}	19±0,0^{d}	66,15±0,07^{e}

B: %100 buğday, SB1: %25 arpa, SB2: %50 arpa, SB3: %75 arpa, SU:%100 buğday.
Aynı kolondaki farklı küçük harfler unlar arasındaki farklılığı belirtmektedir (P <0.05).

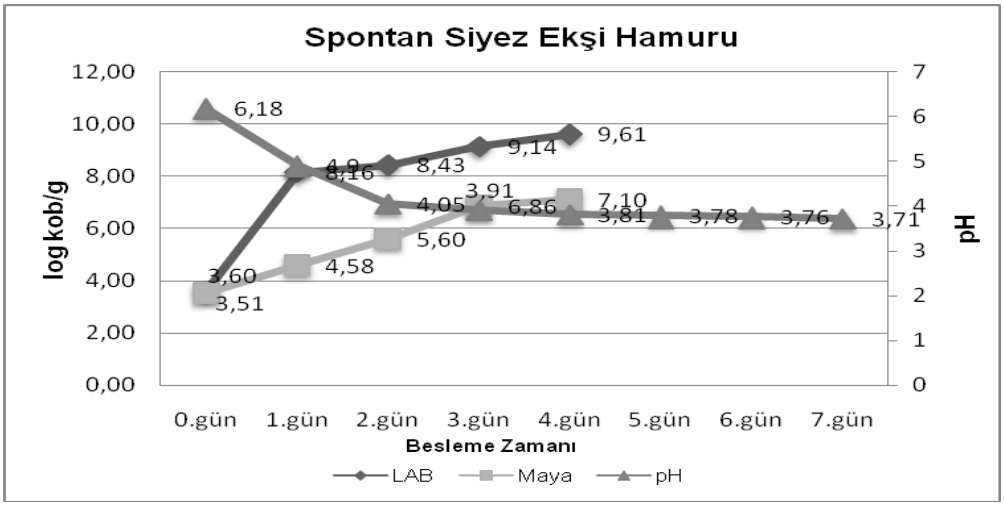
Protein oranı %13-18 arasında değişmekle birlikte proteinlerin miktar ve kompozisyonu endüstriyel açıdan önemli görülmektedir [227]. Arpa genotipleri açısından kavuzlu ve kavuzsuz olarak sınıflandırılmaktadır. Kavuzsuz çeşitler, daha fazla protein, lipit ve çözülebilir diyet lifi içerdiklerinden, kavuzluya oranla daha iyi besin değerine sahiptir [10, 237, 243]. Farklı oranlarda (%25, %50, %75, %100) arpa unu içeren unlarda arpa oranı artışına bağlı olarak protein oranı artış göstermiş olup istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.2). Kontrol un olarak kullanılan buğday ununun protein içeriği (%12,10) kavuzsuz arpadaki protein içeriğinden (%14,05) düşük bulunmuş olduğundan arpa oranı artışı unlarda protein oranının artışına sebep olmuştur. Kül içeriği ise %0,61 den %1,9'a artış göstermiş olup arpa oranı arttıkça istatiksel olarak önemli bulunmuştur. Sedimantasyon değerlerine bakıldığında kavuzsuz arpa oranı artışı ile birlikte düşüş (%100 arpa 19mL) gözlemlenmiştir (Tablo 4.2). Yapılan çalışmalarda düşük protein içeriğine sahip olan unların, düşük pişirme kalitesine yol açacağından, un kalitesinin protein içeriğinden etkilendiğini açıklanmıştır [230]. Ayrıca, arpa unu oranının artmasının, ekmek kalitesinin düşmesine aynı zamanda arpa proteini artışı ile karma unların kimyasal bileşimini ve fonksiyonel özelliklerini iyileştireceğini belirtmişlerdir [275]. Yapılan çalışmalarda arpa unu oranının artması sonucunda kül içeriği önemli ölçüde artmıştır ($p <0,05$). Saf buğday unu içinde 0,59 g/100 g, %25 arpa karışımı unda 0,71/100g'a yükselmiştir. [276]. Kolett vd.[277] saf buğday unu içindeki kül oranının 0,63/100 g, arpa ununda ise 1,26/100 g olduğunu bildirmişlerdir. Ereifej

vd. [245], arpa unu ile balady ekmeği üzerine yaptıkları çalışmada farklı arpa unlarının protein miktarını %14,2 ile %16,2 kül içeriğini %0,5-3 arasında belirlemişlerdir. Kavuzsuz arpadaki kül içeriğinin değişimi içerdiği perikarp materyalinin varlığına bağlıdır [277]. Farinograf analizi yapılan 5 farklı arpa-normal un paçalından elde edilen veriler Tablo 4.2'de incelendiğinda en yüksek su absorbsiyon değeri %66,15 ile %100 kavuzsuz arpa ununda belirlenmiştir. Un örnekleri arasında su kaldırma miktarı bakımından $p<0,05$ önem düzeyinde istatistiksel olarak bir farklılık bulunmuştur. Buğday ununa ilave arpa oranının artmasıyla doğru orantılı olarak paçalların su absorbsiyon kapasitelerinin de artmasına neden olmuştur.

4.2 Ekşi Hamurların Genel özellikleri

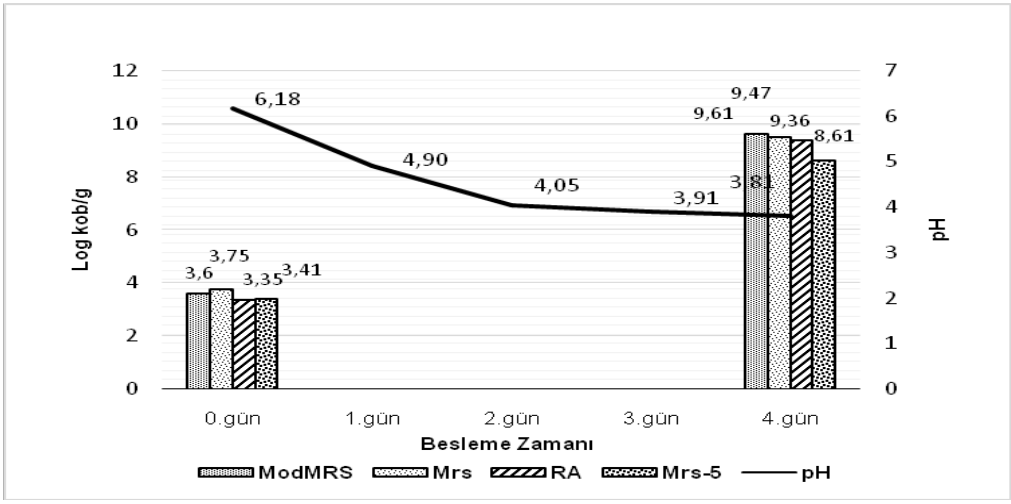
4.2.1 Siyez Spontan Ekşi Hamurunun pH, TTA Değerleri ve LAB, Maya Sayımları

Çalışmanın ilk aşamasında 1:1 un su karışımından hazırlanan siyez unlu spontan ekşi hamurun genel özellikleri Şekil 4.1 'de verilmiştir. Olgun ekşi hamur (mature sourdough) üretimi için, hazırlanan bu ekşi hamur örnekleri sabit pH değerine ulaşana kadar beslenmiş ve 7 gün boyunca pH ölçümü yapılmıştır. Dört günlük beslemenin sonunda pH değeri 6,18'den 3,81 civarına ulaştığı ve bu değerde sabit kaldığı tespit edildiğinden pH değeri açısından 4 günlük besleme işlemi ile olgun bir ekşi hamur üretildiği görülmüştür (Şekil 4.1). Siyez unlu ekşi hamur örneği, sabit pH'ya 4 günlük besleme işleminin yeterli olduğu görülmüş, 4 gün boyunca TTA ise %0,16'dan %1,87'ye ulaşmıştır.



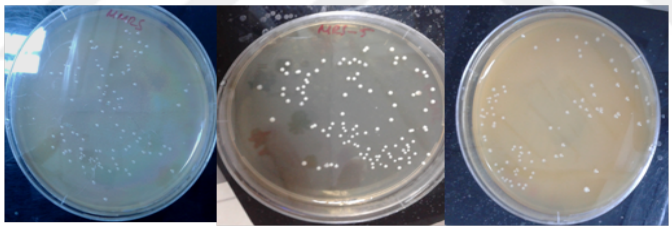
Şekil 4.1 Spontan siyez ekşi hamurunun besleme zamanına göre pH, LAB ve maya sayısı değişimi log kob/g

Yapılan çalışmalarda olgun bir ekşi hamur üretiminde maya:LAB oranının 1:100 olduğu bildirilmiştir. Spontan siyez ekşi hamurunda bu oran 4. günde görülmektedir. LAB sayısı 9,61 log kob/g maya sayısı ise 7,1 log kob/g olarak bulunmuş olup (Şekil 4.1) maya: LAB oranı açısından olgun bir ekşi hamur üretimi için geçen sürenin spontan olarak üretilen siyez ekşi hamurunda 4 gün sürdüğü sonucuna varılmıştır (Şekil 4.1). Un içerdiği çeşitli LAB türleri ve farklı mayalar da dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizmaların kaynağı olarak görülmektedir. Un içerdiği enzimler ve karbonhidrat, amino asit, yağ asidi, mineral, vitamin gibi büyüme faktörleri ile de ekşi hamur ekosisteminin oluşmasında önemli bir yere sahip olduğu belirlenmiştir. Unun çeşidi ve kalitesinin etkili olduğu olgun ekşi hamurun stabilitesine bir hafta içinde ulaştığı belirlenmiştir [30]. Yapılan bir çalışmada laboratuvarda üretilen ekşi hamur [278] buğday unu ve su karışımının kendiliğinden fermentasyonu ile başlatılmıştır. Tüm ekşi hamurlarda, sekiz günlük bir süre boyunca ilk sekiz geri besleme sırasında pH önemli ölçüde azalmıştır. (> 6,0'dan <4,0'a). Başka bir araştırmada *T. aestivum*'dan üretilen 13 ekşi hamur örneğinde 3,65 ve 4,22 arasında değişen pH değerleri belirlenmiştir [279]. Düşük pH'da aside toleranslı laktobasiller gelişirken, yüksek pH'da *Enterococcus*, *Lactococcus* ve *Weissella* türlerinin yer aldığı belirlenmiştir [30]. Diğer bir çalışmada ise 28 Çin ekşi hamurundan laktik asit bakterilerinin (LAB) sayısı 6,56 ile 8,72 log kob/g arasında değişirken, maya sayısı 4,13 ile 6,37 log kob/g arasında belirlenmiştir [280]. Spontan olarak 2 ay boyunca geri besleme ile üretilen buğday ekşi hamur üretiminde LAB sayıları tüm ekşi hamurlarda 8,5 log kob/g değeri üzerinde belirlenmiştir. Ürettikleri ekşi hamurlarda maksimum LAB sayısı 9,6 log kob/g'a kadar ulaştığını belirlemişlerdir [278]. Ekşi hamurdaki biyoçeşitlilik ilk olarak agar ortamında değerlendirilir. MRS agar ortamı sayım için uygun görülmekte fakat biyoçeşitlilik için yeterli görülmemektedir[281]. Ekşi hamur *Lactobacilleri* maltozun bol olduğu yerde rekabetçidir [282]. Maltoz/fruktoz ile birlikte amino asit ve vitaminlerle takviye edilmiş pH 6'dan düşük MRS agar ortamlarının aneorobik koşullarda yeni LAB'nin izolasyonu için başarılı olduğu açıklanmıştır [26]. Ekşi hamur biyoçeşitliliğni kapsayan geniş kapsamlı bir ortam olmadığı için birkaç agarın kombinasyonu m.o çeşitliliğnin tespit edilmesinde uygun görülmektedir. Özellikle maltozlu MRS ve MRS-5 agar uygun görülmektedir [281]. Şekil 4.3'te siyez unlu spontan ekşi hamurunun besleme ile farklı besiyerlerindeki LAB sayısının değişimini göstermektedir.



Şekil 4.2 Spontan siyez ekşi hamurunun 0. ve 4. günlerdeki pH değişimi ve farklı besiyerlerindeki LAB sayımı log kob/g

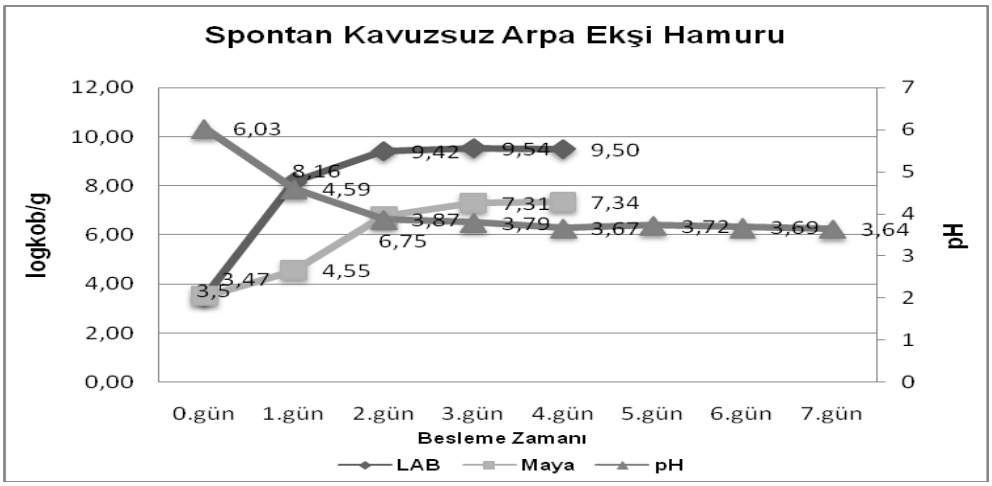
Kantitatif olarak, izolatların sayısı, ModMRS ve MRS, RA ve MRS-5 kullanılarak sırasıyla 3,60, 3,75, 3,35 ve 3,41 log kob/g olarak 0. günde spontan siyez ekşi hamurunda belirlendi. Dördüncü günde, MRS ve ModMRS ortamları sırasıyla ortalama 9,47 ve 9,61 log kob/g, RA ve MRS-5 ortamları sırasıyla biraz daha düşük seviyelerde 9,36 ve 8,61 log kob/g göstermiştir.



Şekil 4.3 Farklı besiyerlerindeki LAB izolatları

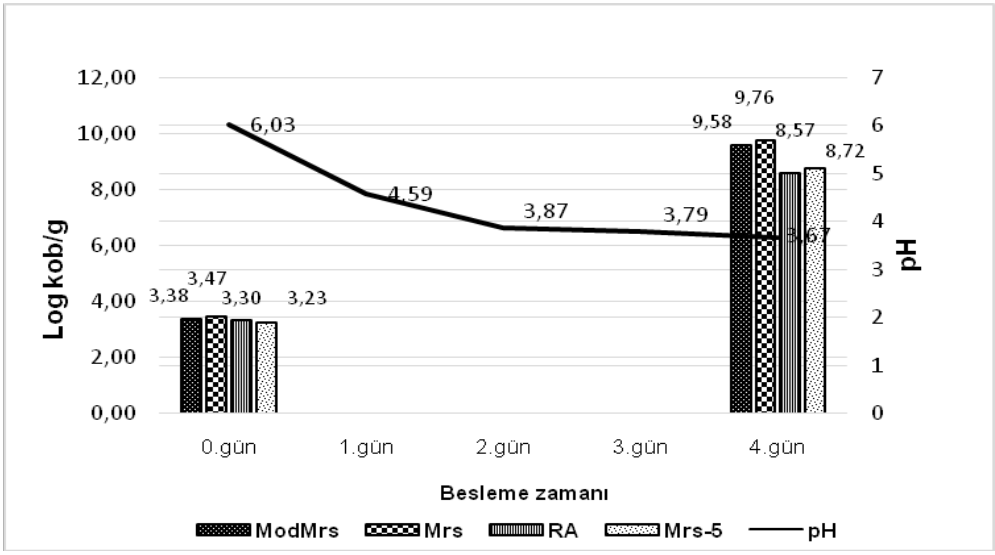
4.2.2 Kavuzsuz Arpa Spontan Ekşi Hamurunun pH, TTA Değerleri ve LAB, Maya Sayımları

Çalışmada 1:1 oranında un-su karışımı ile oluşturularak üretilen spontan kavuzsuz arpa ekşi hamur 7 gün boyunca besleme işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 4.5). Beslemenin 4. gün sonunda pH değ 6,08'den 3,7 civarına ulaşarak 3. günden sonra pH sabit kaldığı tespit edildiğinden pH değeri açısından da 3 günlük besleme işlemi yeterli görülmüştür. LAB sayısı 9,4 log kob/g, maya sayısı ise 7,9 log kob/g olarak bulunmuş olup (Şekil 4,6) maya:LAB oranı açısından olgun bir ekşi hamur üretimi için geçen sürenin uygun olduğu görülmüştür. TTA ise 4 günde %0,33'ten %2,05'e çıkmıştır.



Şekil 4.4 Spontan kavuzsuz arpa ekşi hamurunun besleme zamanına göre pH LAB ve maya sayısı değişimi log kob/g

Kantitatif olarak, izolatların sayısı, ModMRS ve MRS, RA ve MRS-5 Agarları kullanılarak sırasıyla 3,47, 3,38, 3,23 ve 3,30 log kob/g olarak 0. günde spontan kavuzsuz arpa ekşi hamurunda belirlendi (Şekil 4.5). Dördüncü günde, MRS ve ModMRS ortamları sırasıyla 9,76 ve 9,58 ortalama log kob/ g, MRS-5 ve Rogosa ortamları sırasıyla biraz daha düşük seviyelerde 8,72 ve 8,57 log kob/g göstermiştir. Şekil 4,5'te görüldüğü gibi 4. gün sonunda en yüksek değer MRS agarda bulunmuş olup (9,76 log kob/g) en düşük RA'da (8,57 log kob/g) görülmüştür.

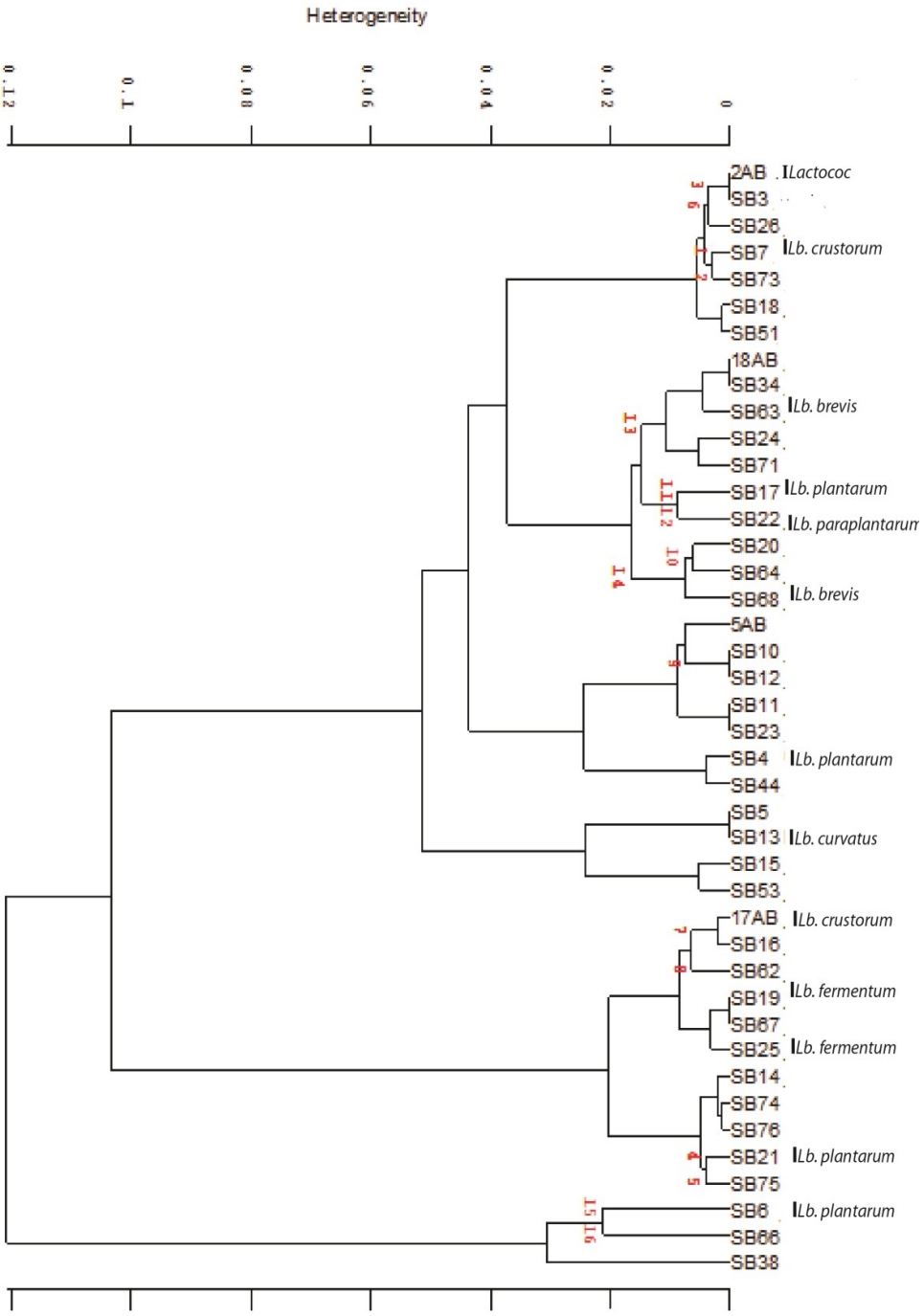


Şekil 4.5 Spontan kavuzsuz arpa ekşi hamurunun 0. ve 4. günlerdeki pH değişimi ve farklı besiyerlerindeki LAB sayısımı log kob/g

4.3 Ekşi Hamurlardaki Laktik Asit Bakteri ve Mayaların Tanımlanması

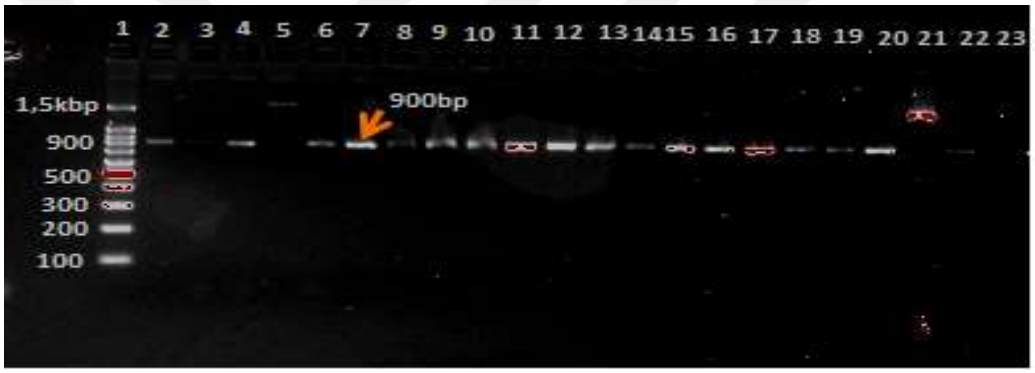
4.3.1 Siyez Ekşi Hamurdaki LAB'lerin FTIR ve PCR Teknikleriyle Tanımlanması

FTIR, tüm spektrumların analizi ve karşılaştırılması ile bilgisayar verilerinin işlenmesi yoluyla mikroorganizmaların matematiksel olarak tanımlanmasını sağlar [283]. Son yirmi yılda, FTIR spektroskopisinin mikroorganizmaların tanımlanmasında etkili bir araç olduğu gösterilmiştir [284]. Dizuba vd.[285] yaptıkları çalışmada LAB'lerini W4-W5-W3 spektral bölgelerine göre W5:1500–1200 cm^{-1} protein, yağ ve fosfat bileşenleriniiçeren karışım bölgesi; W4:1200-900cm^{-1} hücre duvarı içinde bulunan karbonhidratların parmak izi benzeri absorbsiyon gruplarının baskın olduğu polisakkarit bölgesi; W3:900–700 cm^{-1} henüz hücresel bileşenlere veya fonksiyonel gruplara atanmamış bazı spesifik spektral modelleri gösteren parmak izi bölgesini kullanarak başarılı bir şekilde tanımlayıp ayırt etmişlerdir. MRS, ModMRS, Rogosa ve MRS-5 agarlarından 4. gün rastgele seçilen 57 izolata FTIR'da ön-tanımlama yapılmıştır. İzolatlar W4-W5-W3 spektral bölgeleri ve Ward's algoritması ile birincil türev uygulanarak spektrumlar arasındaki benzerliğe göre gruplara [286] ayrılmıştır. Tanımlanan bu izolatlardan 42 izolatın *hit quality*'si iyi, 15 izolat ise negatif sonuçlanmıştır (Şekil 4.6). Çalışmada, 650 LAB spektrumlarını içeren FTIR Kütüphanesi kullanılmıştır. LAB'den oluşan cluster ağacı 6 sınıfa ve 25 gruba ayrılmıştır. FTIR cluster ağacı Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Buna göre %19 *Lb. brevis*, %24 *Lb. crustorum*, %14 *Lactococcus*, %14 *Lb. fermentum*, %19 *Lb. plantarum*, %10 *Lb. curvatus* tanımlanmıştır. Cluster ağacından (Şekil 4.6) genotipik tanımlama için farklı branşlardan 32 temsili LAB'leri seçilmiştir.



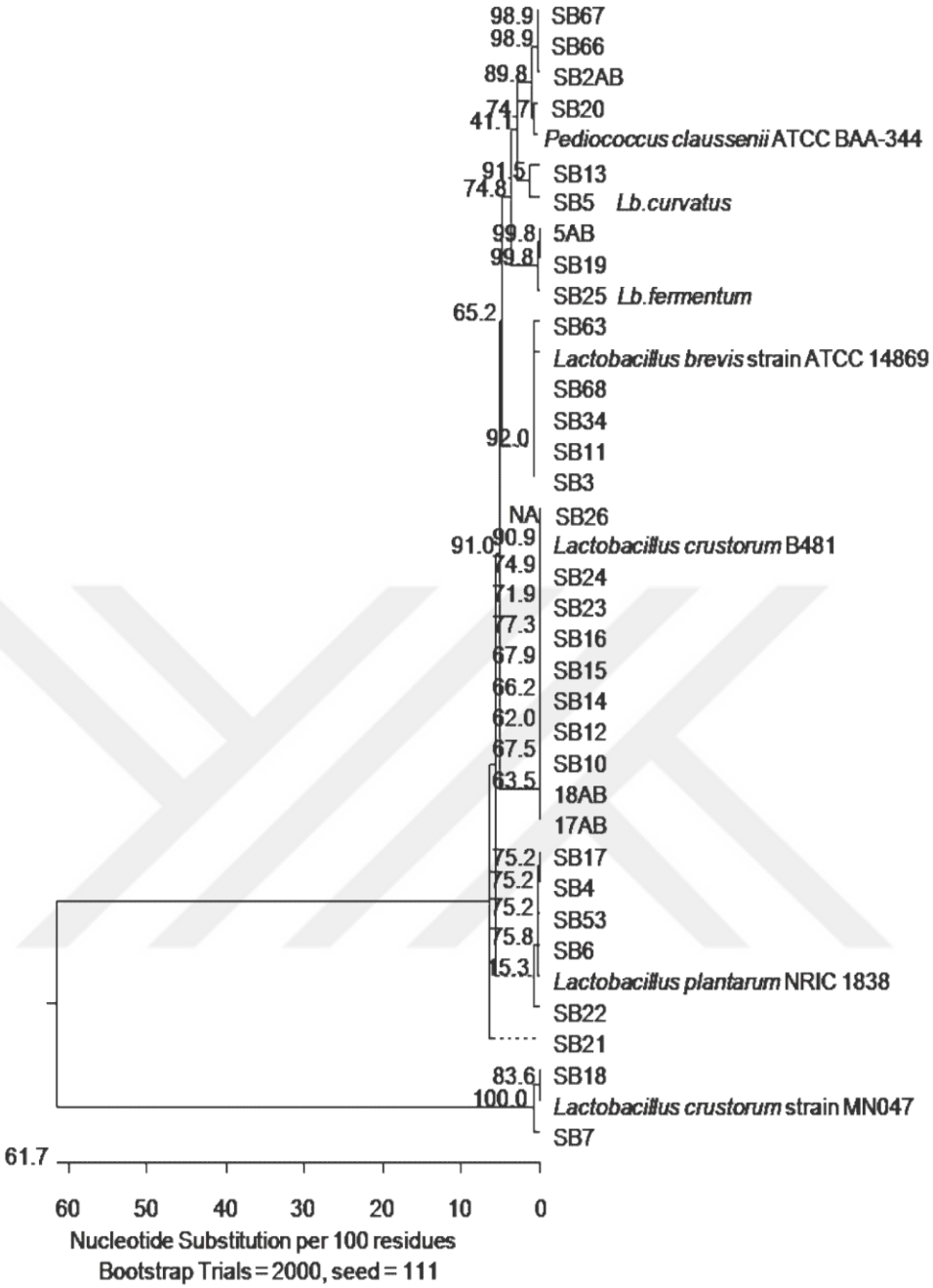
Şekil 4.6 Siyez LAB'nin FTIR cluster ağacı spektral pencereler: W4 (1200-900 cm^{-1}, W5 (900-700 cm^{-1}), W3 (1500-1200 cm^{-1})

PEU7- DG74 primeri ile en çok sonuç alınmış olup boyutu yaklaşık 900 baz çifti (bp) uzunluğundadır. Şekil 4.7'de 22 izolatın PCR reaksiyonu sonucu elde edilen %1,2'lik jel görüntüsü yer almaktadır. Seçilen 32 LAB 16S rDNA sekanslaması yoluyla tanımlandı ve sekanslama sonuçları Tablo 4.3'te gösterilmiştir. Sekans sonuçları Neighbour-Joining yöntemiyle filogenetik ağaç oluşturularak gruplandırılmıştır (Şekil 4.8). *Lb. crustorum*, *Pediococcus spp., Lb. brevis*, *Lb. paraplantarum*, *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum*, *Lb. curvatus* olmak üzere yedi farklı türe ait 32 LAB suşu PCR (16S) ile tanımlanmıştır. Dominant tür *Lb. crustorum* bulunmuştur. *Lb. crustorum* iki farklı primer (PEU7-DG74; P806-P8FPL) ile tanımlandığı için filogeneteik ağaçta 2 farklı dallanma yapmıştır. ModMRS ve MRS-5 ortamı, diğer ortamlara kıyasla en yüksek tür çeşitliliğini ortaya çıkarmıştır. *Lb. crustorum* tüm agar ortamlarından izole edilmiştir.



Şekil 4.7 6S rRNA gen bölgesi PCR ürünleri agaroz jel görüntüsü; 1: DNA marker (100 bp-1,5 kbp)

SB1, SB2, SB3, SB4, SB5, SB6, SB7, SB8, SB9, SB10, SB11, SB12, SB13, SB14, SB15, SB16, SB1, SB18, SB19, SB20, SB21, SB22



Şekil 4.8 Siyez LAB ait filogenetik ağaç

Tablo 4.3 Fermente siyez ekşi hamurundan izole edilen LAB'nin 16S rDNA Dizi analizi ile genotiptanımlama

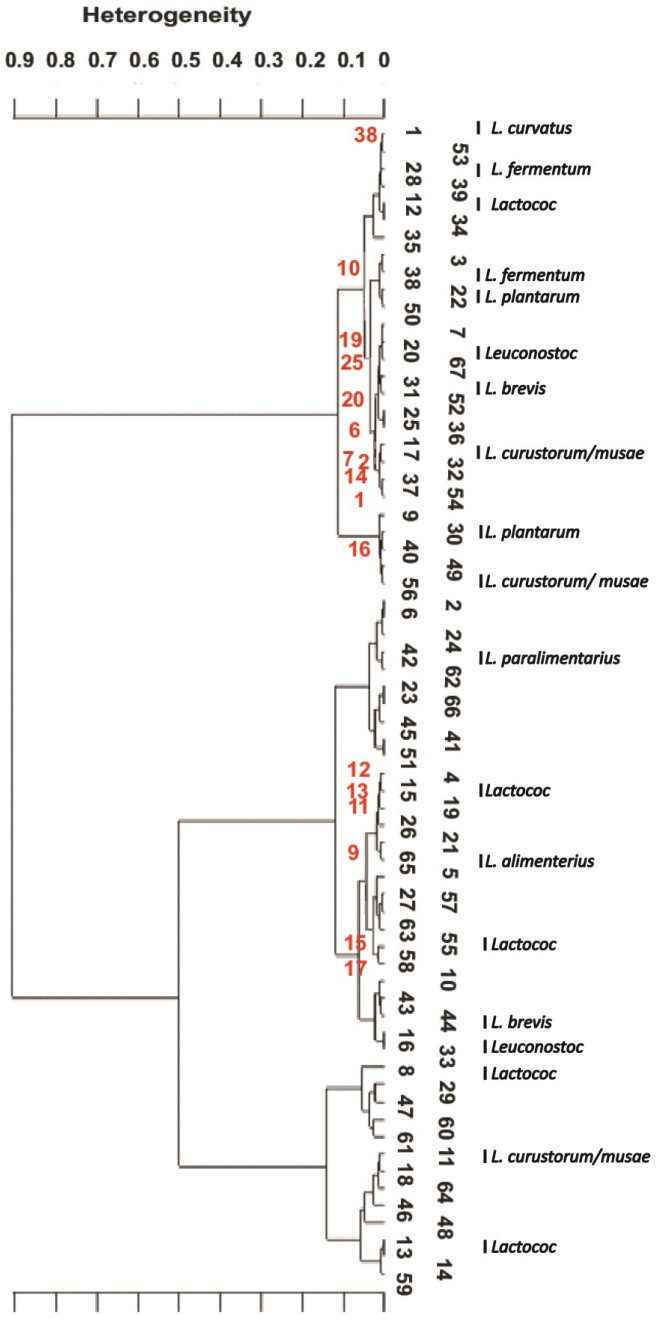
İzolat Kodu	Karşılaştırıldığı yakın ilişkili LAB tür	Selektif Besiyeri	Gen Bank Erişim Numarası	Benzerlik %
SB3	*Lb. brevis* 0138	MRS	AB362619.1	99
SB4	*Lb. plantarum* AAS3	MRS	CP028326.1	99
SB5	*Lb. curvatus* LII	ModMRS	MH107109.1	99
SB6	*Lb. plantarum* FM02	MRS	MG913360.1	99
SB7	*Lb. crustorum* MN047	ModMRS	CP017996.1	99
SB10	*Lb. crustorum* B-481	MRS	MF540543.1	99
SB11	*Lb. brevis* 0138	ModMRS	AB362619.1	99
SB12	*Lb. crustorum* B-481	ModMRS	MF540543.1	99
SB13	*Lb. curvatus LII*	RA	MH107109.1	99
SB14	*Lb. crustorum* B-481	ModMRS	MF540543.1	99
SB15	*Lb. crustorum* B-481	MRS	MF540543.1	99
SB16	*Lb. crustorum* B-481	ModMRS	MF540543.1	99
SB17	*Lb.plantarum* AAS3	MRS-5	MK336791.1	99
SB18	*Lb. crustorum MN047*	MRS-5	CP017996.1	99
SB19	*Lb. fermentum* NRIC1949	MRS-5	AB362766.1	100
SB20	*P. pentosaceus 0123*	RA	AB362605.1	99
SB21	*Lb. plantarum* GM1403	ModMRS	MH231456.1	99
SB22	*Lb. paraplantarum* 72815	ModMRS	JX974348.1	99
SB23	*Lb. crustorum* B-481	MRS	MF540543.1	99
SB24	*Lb. crustorum* B-481	MRS-5	MF540543.1	99
SB25	*Lb. fermentum IMDO130101*	RA	LT906621.1	99
SB26	*Lb. crustorum* B-481	MRS-5	MF540543.1	99
SB34	*Lb.brevis* 0138	ModMRS	AB362619.1	99
SB53	*Lb.plantarum* 1838	MRS-5	AB362759.1	99
SB63	*Lb. brevis* qp109	RA	KM495932.1	100
SB67	*P. acidilactici* A-4	ModMRS	MF093222.1	100
SB66	*P. acidilactici* A-4	ModMRS	MF093222.1	100
SB68	*Lb. brevis* R-1	ModMRS	MH191229.1	99
2AB	*P. acidilactici* A-4	ModMRS	MF093222.1	100
5AB	*Lb. fermentum* NRIC 1949	MRS-5	AB362766.1	100
17AB	*Lb. crustorum* B-481	ModMRS	MF540543.1	99
18AB	*Lb. fermentum* NRIC1949	MRS-5	AB362766.1	100

Dertli vd. [287] yaptıkları çalışmada Türkiye'nin Doğu Karadeniz bölgesinden gelen geleneksel Türk buğday ekşi hamurlarından izole ettikleri toplam 249 LAB'nin genotipik karakterizasyonu sonucu *Lb. plantarum*, *Lb. paraplantarum*, *Lb. curvatus*, *Lb. rossiae*, *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. brevis*, *Lb. paralimentarius*, *W. paramesenteroides*, *Leu. mesenteroides*, *Leu. pseudomesenteroides* and *W. cibaria* olmak üzere 11 farklı türe ait 47 farklı LAB suşunu tanımlamışlardır. Baskın tür olarak obligat heterofermantatif LAB'leri belirlemişlerdir. Gül vd.[288] yaptıkları çalışmada Ispartaki farklı fırınlardan 14 ekşi hamur örneğinden *Lb. divergens*, *Lb. brevis*, *Lb. amylophilus*, *Lb. sake*, *Lb. acetotolerans, Lb. plantarum, P. pentosaceus ve P. acidilactici*, *P. halophilus* türlerini belirlemişlerdir. Coda vd. [59] yaptıkları çalışmada spelt unundan izole ettikleri LAB *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. curvatus*, *Lb. sanfranciscensis*, *Lb. fermentum*, *W. confusa* ve *P. pentosaceus*, emmer buğdayından buğdayından, *Lb. plantarum*, *Lb. rossiae* ve *W. confuse* tanımlamışlardır. Organik un ekşi hamurlarında baskın tür *Lb. plantarum* belirlenirken eski Afrika tahıllarından baskın tür *P. pentosaceus* belirlenmiştir [60, 289]. Gül vd.[288] yaptıkları çalışmada Ispartaki farklı fırınlardan 14 ekşi hamur örneğinden *Lb. divergens*, *Lb. brevis*, *Lb. amylophilus*, *Lb. sake*, *Lb. acetotolerans, Lb. plantarum, P. pentosaceus ve P. acidilactici*, *P. halophilus* türlerini belirlemişlerdir.

4.3.2 Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurundaki LAB'lerin Tanımlanması

Son yirmi yılda, Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) spektroskopisinin mikroorganizmaların tanımlanmasında etkili bir araç olduğu gösterilmiştir [283]. LAB gibi heterojen gruplar da dahil olmak üzere mikroorganizmaları tanımlamak için hızlı, ucuz, hassas ve yüksek verimli bir teknolojidir. MRS, ModMRS, Rogosa ve MRS-5 agarlarından 4. gün rastgele seçilen 80 izolat FTIR'da ön-tanımlama yapılmıştır. FTIR'da izolatları tanımlamak için 1500–1200 cm^{-1} protein bölgesi; 1200-900cm^{-1} karbonhidrat bölgesi ve parmak izi bölgesi olan 900–700cm^{-1} bölgeleri ile Ward's algoritması ve birincil türev kullanılmıştır. Tanımlanan bu izolatlardan 67 izolatın *hit quality* iyi, 13 izolat ise negatif sonuçlanmıştır. 650 LAB spektrumunu içeren FTIR Kütüphanesi kullanılarak W4xW3xW5 aralığında tanımlanmıştır. FTIR cluster ağacı Şekil 4.9'da gösterilmektedir. Laktik asit bakterilerinden oluşan cluster ağacı 10 sınıf ve 25 gruba ayrılmıştır. FTIR cluster ağacı Şekil 4.9'da gösterilmiştir. FTIR, %30 *Lb. plantarum*, %20 *Lb. brevis*, %10 *Leuconostoc*, %1 *Lb. fermentum*, %4 *Lb. paralimentarius*, %10 *Lb. casei/paracasei*, %15 *Lactococcus*, %2 *Lb. curvatus* %7 *Lb.*

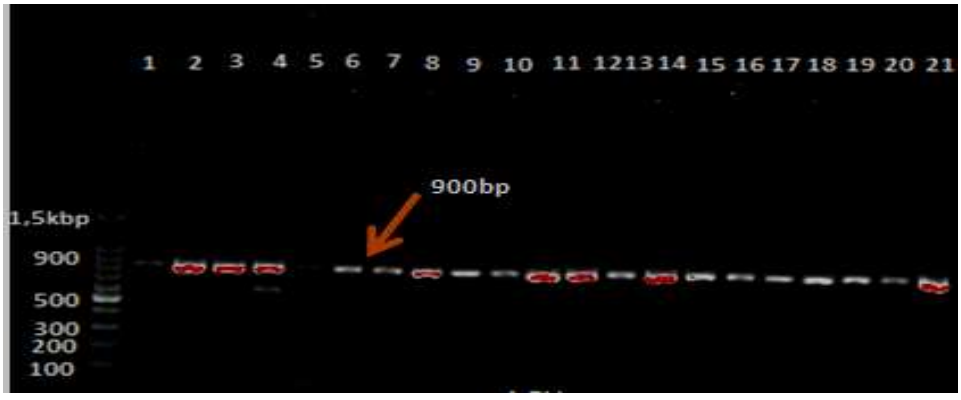
pentosaceus ve %1 *Lb. alimentarius* olarak tanımlanmıştır. Cluster ağacının farklı dallarından 32 farklı laktik asit bakterisi seçilmiş ve 16S rDNA dizilimi ile genetik olarak tanımlanmıştır. 16S rDNA sekanslama sonuçlarının Tablo 4.4'te gösterilmektedir.



Şekil 4.9 Kavuzsuz arpa LAB'nin FTIR cluster ağacı spektral pencereler: W4 (900 ile 1200 cm^{-1}, W5 (700 ile 900 cm^{-1}), W3 (1200–1500 cm^{-1})

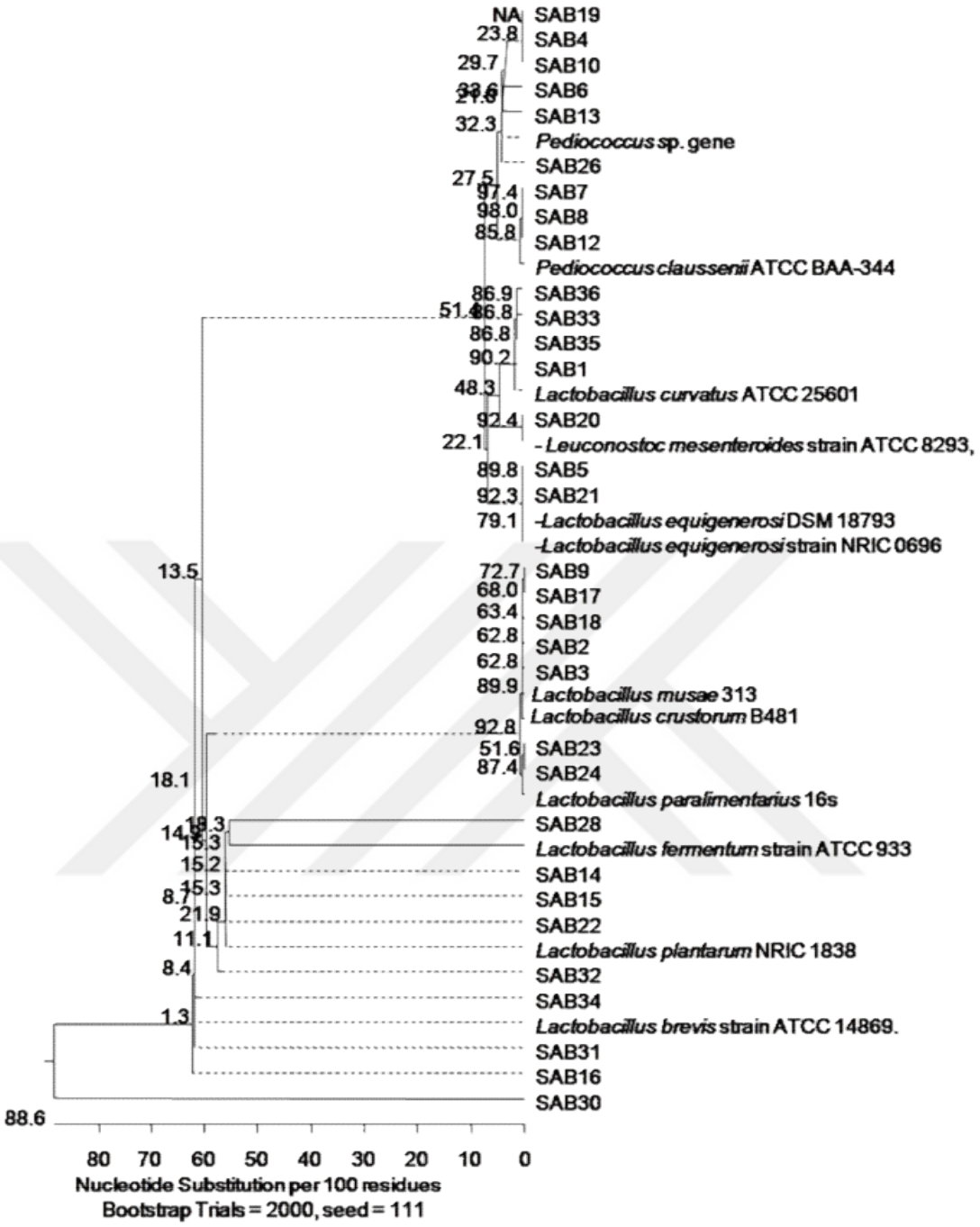
PEU7- DG74 primeri ile en çok sonuç alınmış olup boyutu yaklaşık 900 baz çifti (bp) uzunluğundadır. Şekil 4.10'da 21 izolatın PCR reaksiyonu sonucu elde edilen %1,2'lik jel görüntüsü yer almaktadır. Neighbour-Joining yöntemiyle elde edilen Blast

verilerinden bir filogenetik ağaç (Şekil 4.11) oluşturuldu. Bu çalışmada elde edilen 67 LAB'den seçilen 32 LAB'nin genotipik karakterizasyonu sonucu *Pediococcus* spp., *Lb. brevis*, *Lb. curvatus*, *Lb. fermentum*, *Lb. crustorum/Lb.musae*, *Lb. plantarum*, *Lb. paralimentarius*, *Leu. mesenteroides* ve *Lb. equigenerosi* olmak üzere 9 farklı türe ait 32 farklı LAB suşu (Tablo 1) belirlenmiştir. *Pediococcus* spp. kavuzsuz arpa ekşi hamurunda baskın tür olarak belirlenmiştir. *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus*'un DNA/DNA homolojileri birbirlerine çok yakın olduğu için filogenetik olarak yakın ilişkili bulunmaktadır [290, 291]. *Lb. musae, Lb. crustorum* suşları da genotip olarak birbirine çok yakın suşlar olduğu için filogenetik ağaçta (Şekil 4.11) görüldüğü gibi iyi bir ayrım yapılamamıştır [292]. Sadeghi vd.[293] yaptıkları çalışmada tam arpa ununda spontan olarak elde ettikleri ekşi hamurda baskın tür olarak *P. pentosaceus* belirlemişlerdir. Kavuzsuz arpa ekşi hamuru üzerine yapılan çalışmalara ek olarak, *Lb. curvatus*, *Lb. paralimentarius* ve *Lb. equigenerosi* türleri de bu çalışmada tanımlanmıştır. *Lb. equigenerosi*, MRS-5 agarda, *Lb. paralimentarius* ModMRS agar'dan ve *Lb. crustorum*/*Lb. musae* ve *Lb. curvatus* MRS-5 ve ModMRS agardan izole edilmiştir. *Pediococcus* spp. esas olarak ModMRS ve RA agar'dan izole edilmiştir. ModMRS ortamı, diğer ortamlara kıyasla en yüksek tür çeşitliliğini ortaya çıkarmıştır.



Şekil 4.10 16S rRNA gen bölgesi ürünleri agaroz jel görüntüsü M:DNA marker (100bp-1,5 kbp)

SAB1, SAB2, SAB3, SAB4, SAB5, SAB6, SAB7, SAB8, SAB9, SAB10, SAB11, SAB12, SAB13, SAB14, SAB15, SAB16, SAB17, SAB18, SAB19, SAB20, SAB21



Şekil 4.11 Kavuzsuz arpa LAB'nin filogenetik ağacı

Tablo 4.4 Fermente kavuzsuz arpa ekşi hamurundan izole edilen LAB'nin 16S rDNA dizi analizi ile genotip tanımlama

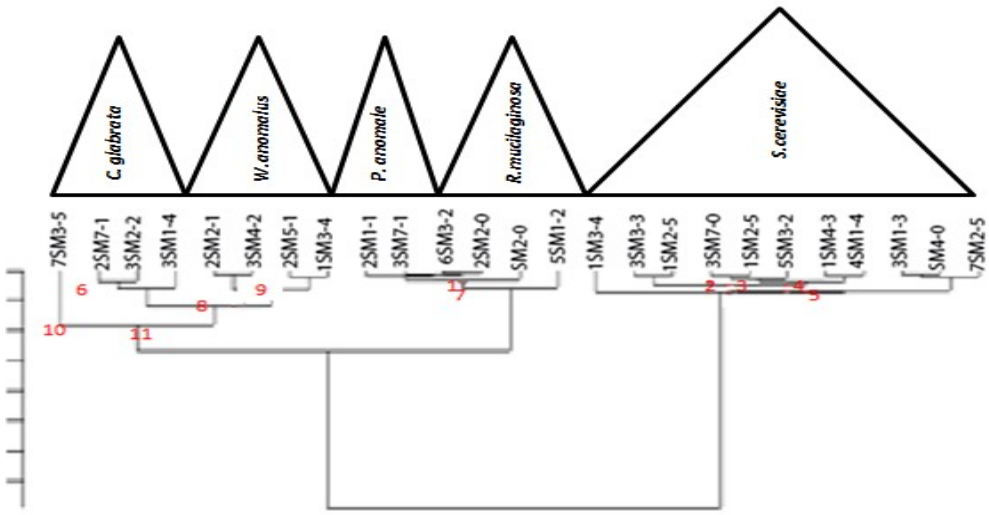
İzolat kodu	Karşılaştırıldığı yakın ilişkili LAB tür	Selektif Besiyeri	Genk Bank Erişim Numarası	Benzerlik %
SAB6	*P. acidilactici* IRSL_11	ModMRS	MT084011.1	99
SAB13	*P. acidilactici* JQII-5	RA	CP023654.1	100
SAB4	*P. acidilactici* CACC 537	MRS-5	CP048019.1	99
SAB19	*P. acidilactici* OUBN4	MRS-5	MF992177.1	100
SAB10	*P. acidilactici* SRCM 102732	RA	CP028249.1	99
SAB26	*P. acidilactici* IRSL_11	ModMRS	MT084011.1	99
SAB7	*P. pentosaceus* UAM6	MRS-5	MF000323.1	100
SAB8	*P. pentosaceus* NRIC 0123	RA	AB362605.1	100
SAB12	*P. pentosaceus SRCM 102734*	RA	CP028254.1	100
SAB38	*Lb.curvatus* CBA 3617	RA	CP042389.1	99
SAB33	*Lb. curvatus* MG 5279	MRS-5	MN759458.1	100
SAB35	*Lb. curvatus* MG 5238	ModMRS	MN720519.1	99
SAB1	*Lb. curvatus* MG 5279	ModMRS	MN759458.1	100
SAB20	*Leu. mesenteroides* NRIC 1517	ModMRS	AB362705.1	99
SAB5	*Lb. equigenerosi* NRIC 0697	MRS-5	NR_041566.1	99
SAB21	*Lb. equigenerosi* NRIC 0697	MRS-5	NR_041566.1	99
SAB31	*Lb. brevis* G167	MRS	MN065579.1	99
SAB34	*Lb. brevis* E24-169	ModMRS	KP221635.1	96
SAB16	*Lb. brevis* UCCL B521	ModMRS	CP031208.1	100
SAB30	*Lb. plantarum* HBU AS51131	ModMRS	MH715359.1	98
SAB14	*Lb. plantarum* 113X	MRS-5	MK774558.1	100
SAB15	*Lb. plantarum* MXG-68	MRS	KY750314.1	100
SAB22	*Lb. plantarum* CIP 103151	ModMRS	NR_104573.1	100
SAB32	*Lb. plantarum* FFNL635	ModMRS	MT109373.1	100
SAB9	*Lb. crustorum JCM/Lb. musae* 313	ModMRS	LC258400.1	100
SAB17	*Lb. crustorum JCM/Lb. musae* 313	ModMRS	NR_159230.1	100
SAB18	*Lb. crustorum MN047/Lb. musae*	MRS-5	LC258400.1	99
SAB2	*Lb. crustorum B481/Lb. musae*	Modmrs	LC258400.1	99
SAB3	*Lb.crustorum JCM/Lb. musae*	MRS	NR_159230.1	100
SAB23	*Lb. paralimentarius* LP238	ModMRS	CP045185.1	100
SAB24	*Lb. paralimentarius* DSM 13238	ModMRS	NR_114844.1	100
SAB28	*Lb. fermentum* NRIC 1949	ModMRS	AB362766.1	99

4.4 Ekşi Hamurdan İzole Edilen Mayalar

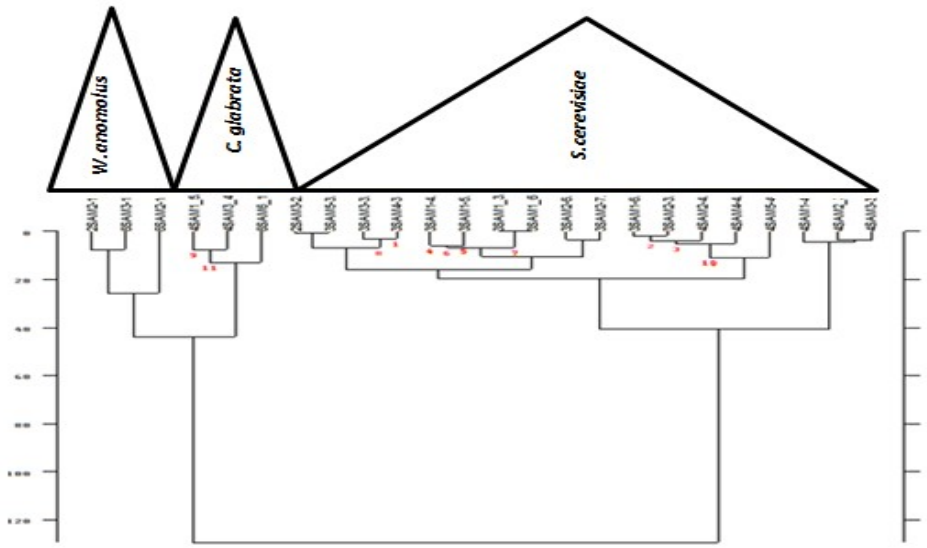
4.4.1 Mayaların Tanımlanması

Ekşi hamur ile ilgili çoğu yayınında (287 adet) spontan ekşi hamurdan tanımlanan mayalarda *S. cerevisiae*, *C. humilis*, *W. anomalus*, *T. delbrueckii*, *K. exigua, P. kudriavzevii* ve *C. glabrata* olmak üzere 7 tür belirlenmiştir. İtalyan ekşi hamurlarında genellikle *C. humilis* ve/veya *S. cerevisiae* baskın maya türleridir. Bazı Fransız organik ekşi hamurları *K. bulderi* ve *C. humilis*'i barındırır, böylece *S. cerevisiae* nadirdir [251]. Arıcı vd.[294] mayalar izole edilmiş ve Türkiye'nin Karadeniz ve Ege bölgelerine ait olan on iki geleneksel hamur mayasın izole ettikleri mayaları FTIR ve 26S rDNA sekansı ile tanımlamışlardır. %50 *S. cerevisiae*, %40 *T. delbrueckii* ve % 10 *K. marxianus* belirlemişlerdir. Ege bölgesinde en baskın türü *S. cerevisiae*, Karadeniz bölgesinde ise T. *delbrueckii*'yi belirlemişlerdir. Belçika fırınlarındaki ekşi hamur mayası türleri olarak *S. cerevisiae* ve *W. anomalus*'u barındırdığı bilinmektedir [29]. *S. cerevisiae*'nin yaygın oluşu, fırıncılık ortamında ticari mayanın mevcudiyeti ile bağlantılı olabilir [29, 138, 141]. Ticari maya genellikle mayalama ajanı olarak kullanılır ve özellikle hızlı ve endüstriyel ekmek üretimi için yıllarca ekşi hamur kullanımına alternatif olarak kullanılmıştır. Laboratuvarda üretilen geri beslemeli spontan ekşi hamurlarda en çok karşılaşılan *S. cerevisiae*, *C. glabrata*, *K. unispora*, *W. anomalus* ve *C. humilis* mayalarıdır. Böylece *S. cerevisiae* sadece yukarıda belirtildiği gibi ticari maya olarak kullanılmakla kalmaz aynı zamanda spontan geri besleme yoluyla elde edilen laboratuvar ekşi hamurlarından da elde edilmektedir. Ekşi hamurlarda *S. cerevisiae'*nin çok büyük oranda olması yerli un kökenli olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir [22, 138, 279, 295]. Geri beslemeli laboratuvar buğday ekşi mayasının fermentasyon süreçlerine genellikle *C. glabrata* ve *W. anomalus* hakimdir [29]. Laboratuvarda üretilen teff ekşi hamurlarında *S. cerevisiae* ile birlikte *C. glabrata'*nın hâkim olduğu belirlenmiştir [37]. *C. glabrata*, *K. unispora*, *P. kudriavzevii* ve *S. cerevisiae*, laboratuarda 56 gün geri besleme çavdar ekşi hamurlarında farklı kombinasyonlarda tanımlanmıştır [131]. Hem *S. cerevisiae* hem de *W. anomalus* maltoz pozitif mayalardır ve bir dereceye kadar düşük pH ve yüksek ozmotik basınca karşı toleranslıdır. Spontan siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamurundan SDA agara ekilip izole edilen izole edilen ekşi hamur örneklerinden toplam 49 adet izolat (Şekil 4.16-4.17) seçilerek FTIR da tanımlanmıştır. Wenning vd.[296]

yaptıkları çalışmada 3030-2830 yağ aside bölgesi, 1350-1200 protein, yağ ve fosfat bileşenini içeren karışım bölgesi, 900-700 henüz hücresel bileşenlere veya fonksiyonel gruplara atanmamış bazı spesifik spektral modelleri gösteren parmak izi bölgesini içeren spekturum aralığında *S. cerevisiae*'yi %92 doğrulukla homojen bir şekilde ayırmış olup yapılan çalışmada bu spekturum aralıkları ve mayalarda Ward's algoritması ve ikincil türev birlikteliğinden yararlanılmıştır. Siyez ekşi hamurunun geri beslemesinde 4. gününden elde edilen maya izolatlarının FTIR'da tanımlanması sonucu 11 adeti *S. cerevisiae,* 4'ü *W. anomolous*, 4 adeti *C. glabrata*, 4'ü *P. anomale,* 2'si *R. mucilaginosa* tanımlanmıştır (Şekil 4.12). Kavuzsuz arpa ekşi hamur örneklerinden izole edilen maya izolatları *S. cerevisiae* (18 adet), *W. anomolous* (3adet), *C. glabrata* (3 adet) olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.13).

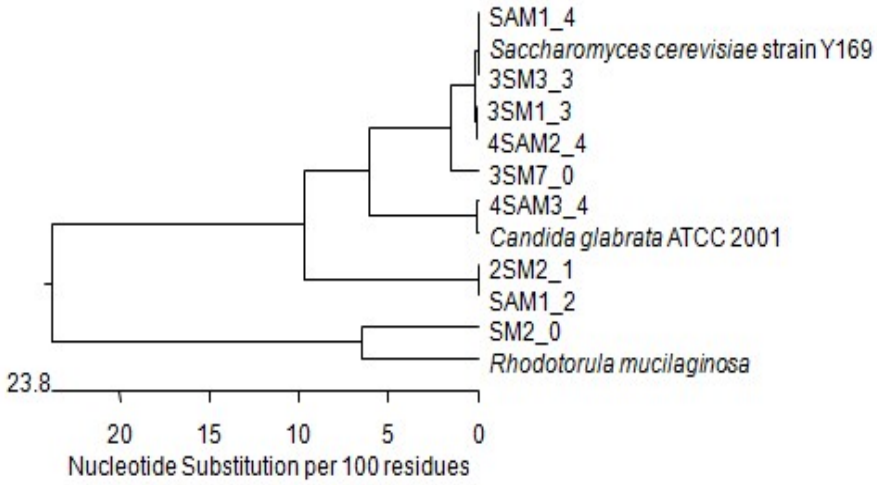


Şekil 4.12 Siyez maya izolatlarının FTIR cluster ağacı



Şekil 4.13 Kavuzsuz arpa maya izolatlarının FTIR cluster ağacı

Cluster analizine göre farklı dallardan seçilen maya 26S rDNA'ya göre sekanslanmıştır. Neighbour-Joining yöntemiyle elde edilen Blast verilerinden bir filogenetik ağaç (Şekil 4.14) oluşturuldu. 10 maya ve 26S rDNA sekanslama sonuçlarının Tablo 4.5'de gösterilmektedir.



Şekil 4.14 Seçilen mayaların filogenetik ğacı

Tablo 4. 5 Fermente siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamurdan izole edilen mayaların 26S rDNA dizi analizi ile genotip tanımlama

İzolat Kodu	Karşılaştırıldığı yakın ilişkili Maya Türü	Genk Bank Erişim Numarası	Benzerlik %
3SM1-3	*Saccharomyces cerevisiae* strain RHTD4	MK027355.1	99
3SM3-3	*Saccharomyces cerevisiae* isolate pfbio101	MN944425.1	100
3SM7-0	*Saccharomyces cerevisiae*i solate MON-22	MT079140.1	100
2SM2-1	*Wickerhamomyces anomalus* strain CDBT7	MK910216.1	100
SM2-0	*Rhodotorula mucilaginosa* strain CHF-15E	MN755513.1	100
3SM3-4	*Candida glabrata* strain DMKU-GTEC1-11	MN447268.1	100
4SAM2-4	*Saccharomyces cerevisiae* strain RHTD4	MK027355.1	99
4SAM3-4	*Candida glabrata* isolate CA323 l	MK110325.1	100
SAM1-2	*Wickerhamomyces anomalus* strain DQ-21	KY022746.1	100
SAM1-4	*Saccharomyces cerevisiae* strain OTG007	MN880429.1	100

Yapılan çalışma da siyez ve kavuzsuz arpa unlarından laboratuvar şartlarında geri beslemeli olarak üretilen spontan ekşi hamurlarda baskın tür *S. cerevisiae* olarak belirlenmiştir (Şekil 4.14). Bunun dışında *C. glabrata*, *W. anomalus* ve *R. mucilaginosa* da belirlenmiştir [138].

4.5 Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların Teknolojik Özelikleri

4.5.1 Siyez Ekşi Hamurundan İzole Edilip Tanımlanan LAB'nin Teknolojik Özellikleri

4.5.1.1 NaCl, Safra Tuzu ve Asitlik Toleransı

Gıdaların korunmasında en önemli katkı maddelerinden biri olan tuzlar, fermente gıdalarda kullanılan starter kültürler içinde aranılan bir özelliktir [297]. Bu nedenle toleranslı türler tercih edilir [298]. Siyez spontan ekşi hamurundan tanımlanan LAB suşlarının toleransları için %6 NaCl, %0,3 safra tuzu içeren ve pH 2,5'e ayarlı MRS brothlarda 24 saat sonunda toplam canlı hücre sayısı belirlenmiştir. Tablo 4.6'da gösterildiği gibi tanımlanan her bir türden seçilen 13 LAB izolatının %6 NaCl konsantrasyonuna toleranslı olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.6 %6 NaCl ,%0,3 safra İçeren ve pH 2,5'a ayarlanmış MRS brothlarda 13LAB'ın % canlılık oranları

	NaCl		Safra		pH	
	NaCl[a] log kob/mL	**Canlılık %**	**Safra[a] log kob/mL**	**Canlılık %**	**pH[a] log kob/mL**	**Canlılık %**
Lb. brevis SB63	8,26±0,2^{d}	90^{d}	8,35±0,2^{c}	91^{bc}	7,38±0,7^{ef}	81^{f}
Lb. curvatus SB13	8,25±0,5^{d}	89^{d}	7,86±0,3^{h}	85^{f}	7,86±0,3^{cd}	85^{e}
Lb. p.plantarum SB22	8,11±0,5^{e}	90^{d}	8,07±0,3^{ef}	89^{cd}	8,40±0,2^{b}	93^{b}
Lb. fermentum SB19	8,39±0,2^{bc}	93^{c}	8,36±0,3^{c}	92^{b}	7,84±0,3^{cd}	91^{d}
P. acidilactici 2AB	8,11±0,5^{e}	95^{b}	8,12±0,8^{de}	94^{a}	7,90±0,2^{cd}	95^{a}
Lb. crustorum SB7	7,88±0,5^{f}	95^{ab}	7,90±0,6^{h}	95^{a}	7,49±0,3^{e}	91^{d}
Lb. plantarum SB17	8,34±0,2^{cd}	90^{d}	8,05±0,5^{efg}	87^{e}	7,22±0,2^{g}	78^{g}
Lb. crustorum 17AB	8,06±0,2^{e}	96^{a}	7,91±0,3^{gh}	94^{a}	7,76±0,2^{d}	93^{bc}
Lb. brevis SB68	8,44±0,3^{bc}	95^{b}	7,94±0,5^{fgh}	90^{d}	8,53±0,2^{ab}	92^{bcd}
Lb. fermentum SB25	7,87±06^{f}	86^{e}	8,21±0,5^{d}	89^{cd}	7,81±0,5^{cd}	85^{e}
Lb. plantarum SB6	8,45±0,6^{b}	91^{c}	8,74±0,2^{a}	94^{a}	7,25±0,5^{fg}	78^{g}
Lb. plantarum SB53	811±05^{e}	86^{e}	8,49±0,5^{b}	90^{cd}	7,93±0,1^{c}	84^{e}
Lb. plantarum SB21	8,.81±0,2^{a}	94^{b}	8,81±0,2^{a}	94^{a}	7,54±0,2^{a}	91^{cd}

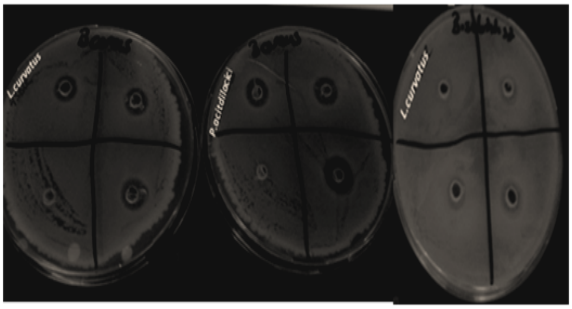
Aynı kolondaki farklı harfler birbirinden önemli ölçüde farklılığı göstermektedir (P <0.05). a: LAB suşları 37 °C'de 24 saat süreyle %6 NaCl, %0,3 safra içeren MRS broth ile 2,5 pH'da inkübe edildi. Canlı hücre sayıları, 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyondan sonra MRS agar üzerinde sayıldı (logkob/ml).

Lb. brevis SB63, *Lb. fermentum* SB19, *P. acidilactici* 2AB, *Lb. paraplantarum* SB22, *Lb. crustorum* SB7, *Lb. crustorum* 17AB, *Lb. plantarum* SB17, *Lb. plantarum* SB6, *Lb. plantarum* SB21 ve *Lbbrevis* SB68 %90'ın üzerinde canlı kalma oranı göstermiştir. İnsan safra konsantrasyonuna yakın olan %0,3'lük kritik bir değer olarak kabul edilir [299]. 13 LAB izolatı Tablo 4.6'da canlılık yüzdeleri verilmiştir. İnsan safra konsantrasyonuna yakın olan % 0,3'lük bir konsantrasyon kritik bir değer olarak kabul edilir [299]. Tablo 4.6'da gösterildiği gibi 13 farklı LAB izolatı arasında istatistiksel olarak anlamlı olan farklı safra tolerans dereceleri gözlenmiştir. *P. acidilactici* 2AB, *Lb. crustorum* 17AB, *Lb. plantarum* SB6, *Lb. plantarum* SB21, *Lb. crustorum* SB7 suşları safraya karşı en yüksek tolerans gösterirken, *Lb. curvatus* SB13 ise en düşük tolerans sergilemiştir. Probiyotik mikroorganizmaların bir diğer kritik özelliği LAB türlerinin asit toleransıdır. Bunlar midenin asidik ortamında hayatta kalır ve bağırsak sistemine ulaşır ve patojenik bakterilerle rekabet etmek için koloniler oluşturur [300]. Test edilen 13 türün 24 saat boyunca bir pH 2,5'de inkübe edilmiş ve canlılık oranları hesaplanmıştır (Tablo 4.6). En yüksek canlılık oranları

Lb. paraplantarum SB22, *Lb. fermentum* SB19, *P. acidilactici* 2AB, *Lb. crustorum* SB7, *Lb. crustorum* 17AB, *Lb. brevis* SB68 izolatlarında gözlenirken *Lb. plantarum* SB21 %90 üzerinde canlılık göstermiştir.

4.5.1.2 Antimikrobiyal Aktivite

LAB gıda sınıfı bileşenler olarak kabul edildiğinden, gıda işleme uygulamalarında patojenlere karşı laktik antagonizme büyük ilgi duyulmaktadır [301, 302]. Siyez ekşi hamurundan izole edilen LAB'lerin antimikrobiyal aktiviteleri *B. subtilis* ATCC6633, *B. cereus* ATCC 11778 ve *E. coli* ATCC 25922 patojen bakterilerine karşı zon çapı ölçülerek (Şekil 4.15) hesaplanmıştır (Tablo 4.7). *B. subtilis* ekmekte rope bozulmasına neden olduğundan [303], *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel aktivite ekmeğin raf ömrünü uzatmak için çok önemlidir. 13 LAB izolatının *B. subtilis* ATCC 6633'e karşı antimikrobiyal aktivite sergilediği gözlenmiştir. *Lb. paraplantarum* SB22, *P. acidilactici* 2AB and *Lb. crustorum* SB7, *B. subtilis*, *B. cereus* ve *E. coli'*ye karşı yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.7). *Lb. paraplantarum* SB22, *Lb. fermentum* SB19, *P. acidilactici* 2AB, *Lb. crustorum* SB7, *Lb. plantarum* SB17, *Lb. brevis* SB68 *E. coli* ATCC 25922'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdi. Bebek dışkısından izole LAB'nin *B. cereus'a* karşı yüksek bir inhibisyon göstermiştir. *Lb. rhamnosus* ve *Lb. curvatus* en yüksek inhibisyon zonu belirlemişlerdir [304]. Küf bozulmaları, ekmek ve diğer unlu mamullerin temel sorunlarından biridir ve ekonomik kayıplara ve sağlık sorunlarına neden olur [305] . Bu çalışmada, LAB türlerinin *P. carneum*, *A. flavus* ve *A. niger*'e karşı antifungal aktivitesi incelenmiştir. Tablo 4.7'de gösterildiği gibi, *Lb. paraplantarum* SB22, *Lb. crustorum* SB7, *Lb. crustorum* 17AB ve *Lb. brevis* SB68, *P. carneum*, *A. flavus* ve *A. niger* küflerine karşı antifungal aktivite göstermişler ancak *Lb. brevis* SB63, *Lb. curvatus* SB13, *Lb. fermentum* SB19, *Lb. fermentum* SB25 ve *Lb. plantarum* SB21'in antifungal aktiviteleri tespit edilememiştir.



Şekil 4.15 *Lb. curvatus* ve *P. acidilactici* 'nin *B. cereus* ve *B. Subtilis*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

Tablo 4.7 Tanımlanmış 13 LAB'ın antimikrobiyal ve fitaz aktivitesi

LAB	***B. subtilis***	***B. cereus***	***E. coli***	***Aspergillus niger***	***Penicillium carneum***	***Aspergillus flavus***	**Fitaz (mm)**
Lb.brevis SB63	++	-	-	-	-	-	5,93±0,1
Lb.curvatus SB13	+	+	-	-	-	-	-
Lb.paraplantarum SB22	++	++	++	+	+	+	13,70±0,1
Lb.fermentum SB19	++	+	+	-	-	-	8,90±0,1
P.acidilactici 2AB	++	++	++	-	+	+	9,50±0,1
*Lb.crustorum*SB7	++	+	+	+	+	+	-
Lb.plantarum SB17	++	++	+	+	-	-	14,00±0,0
Lb.crustorum 17AB	++	-	-	+	+	+	12,30±0,1
Lb.brevis SB68	++	++	+	+	+	+	-
Lb.fermentum SB25	++	+	-	-	+	-	-
Lb.plantarum SB6	++	-	-	-	+	-	-
Lb.plantarum SB53	++	++	-	-	+	-	-
Lb.plantarum SB21	++	++	-	-	-	-	5,95±0,0

Antibakteriyel inhibisyon bölgelerinin çapı (mm): ++ > 10 mm; + <9mm; antifungal pozitif (+), belirlenmemiş (-), Fitaz (-) aktivite yok. Aynı kolondaki farklı harfler birbirinden önemli ölçüde farklılığı göstermektedir (P <0.05).

4.5.2 Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurundan İzole EdilipTanımlanan LAB'nin Teknolojik Özellikleri

4.5.2.1 NaCl, Safra Tuzu ve Asitlik Toleransı

Kavuzsuz arpa spontan ekşi hamurundan tanımlanan her türden seçilen 19 LAB suşunun toleransları için %6 NaCl, %0,3 safra tuzu içeren ve pH 2,5'a ayarlı MRS brothlarda 24 saat sonunda toplam canlı hücre sayısı hesaplandı. Yüksek tuzlu ortamda büyüme NaCl starter kültürleri için arzu edilen bir özelliktir, çünkü tuz gıdaların korunmasında en önemli katkı maddelerinden biridir [306]. Seçilen 19 LAB'nin tuza tolerans (NaCl) %90'dan yüksek bulunmuştur (Tablo 4.8). Bu çalışmada %6 NaCl varlığında *P. acidilactici*'nin bazı suşları, *Lb. curvatus*, *Leu. mesentoriedes*, *Lb. plantarum* ve *Lb.musae* SAB3 türlerinde en yüksek canlılık göstermiştir. Salvucci vd. [298] Arjantin'den hububat ve tohumlardan izole edilen LAB'nin teknolojik özelliklerini incelemişlerdir. NaCl (%6,5) varlığında *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* ve *P. pentosaceus*'un bazı suşları hariç %88 gelişme gösterdiği bildirilmiştir. Mide suyunun düşük pH'ı ve midede safra tuzuna direnç, probiyotik bakterilerin seçimi için önemli kriterlerden biridir, çünkü probiyotik bakterilerin mide ve ince bağırsaktan geçerken hayatta kalabilmeleri gerekir [297]. Tablo 4.8'de gösterildiği gibi arpa ekşi hamurundan izole edilen 19 farklı LAB arasında istatistiksel olarak anlamlı olan farklı safra tolerans dereceleri tespit edilmiştir. *P. acidilactici* SAB19, *P. acidilactici* SAB10, *P. pentosaceus* SAB7, *P. acidilactici* SAB26, *Lb. curvatus* SAB33, *Lb. curvatus* SAB1, *Lb. fermentum* SAB21, *Lb. brevis* SAB31 ve *P. acidilactici* SAB13 %95'in üzerinde canlılık belirlenmiştir. Safra'ya karşı en yüksek toleransı *Lb. brevis* SAB34, *Lb. plantarum* SAB15 ve *Lb. curvatus* SAB35 gösterirken, en düşük tolerans *Leu. mesenteroides* SAB20, *P. acidilactici* SAB12 ve *Lb. plantarum* SAB32'de belirlenmiştir. Kleinberg vd. [307] 'de, safra tuzu varlığının %0,3 oranında inhibisyona yol açabileceği, ancak test edilen kültürlerin en az %86'sı canlılık göstererek probiyotik özellik sergilediği bulunmuştur. Tablo 4.8'de, 9 LAB türüne ait seçilen 19 suşunun pH 2,5'e maruz bırakıldıktan 24 saat sonunda yaşayabilir sayısını göstermektedir. Genel olarak, LAB'ın çoğunun diğer benzer çalışmalarda belirtildiği gibi canlılıklarını pH 2,5'ta koruduğu gözlenmiştir [300]. Bu çalışmada, teknolojik özellikleri incelenen tüm suşların aside toleranslı (%80 üzerinde) oldukları belirlenmiştir (Tablo 4.8). *Lb. paralimentarius* SAB23 ve *P. acidilactici* SAB12 hariç diğer izolatlarda canlılık %90

ve üzerinde belirlenmiştir. En yüksek tolerans *Lb. plantarum* SAB15 (%98) ve en düşük tolerans *Lb. paralimentarius* SAB23 ve *P. acidilactici* SAB12 göstermiştir. Santos vd. [308]'nin tüm izolatları "tuz ve aside toleranslı" olarak tanımlanmıştır ve potansiyel probiyotik olarak nitelendirilmiştir.

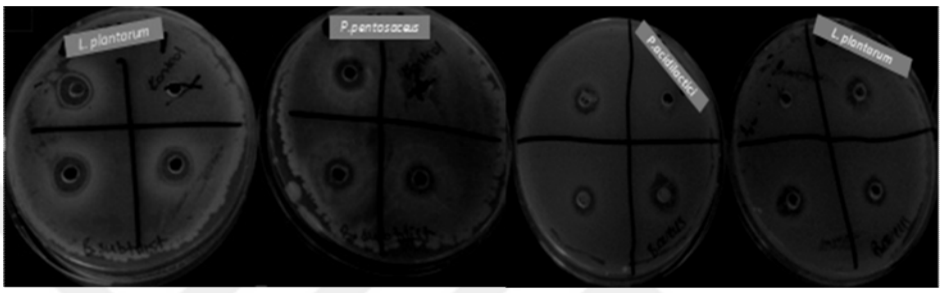
Tablo 4.8 %6 NaCl, %0,3 Safra İçeren ve pH 2,5'a ayarlanmış MRS brothlarda 19 LAB'ın canlılık oranları

		NaCl	Safra		pH	
LAB	**NaCl[a] log kob/mL**	**Canlılık %**	**Safra[a] log kob/mL**	**Canlılık %**	**pH[a] log kob/mL**	**Canlılık %**
P. acidilactici SAB19	8,82±0,2^{b}	94^{ef}	8,66±0,3^{a}	95^{e}	8,89^{a}±0,8	95^{b}
P. acidilactici SAB10	8,48±0,8^{fg}	98^{a}	8,30±0,6^{fg}	96^{cd}	8,07^{hı}±0,5	93^{cd}
P.pentosaceus SAB7	8,87±0,3^{ab}	95^{cde}	8,75±0,2^{b}	95^{e}	8,52^{c}±0,7	92de
Lb. curvatus SAB33	8,50±0,9^{f}	97^{ab}	8,33±0,7^{fg}	96de	7,52^{l}±0,8	87^{h}
Lb.curvatus SAB35	8,40±0,6^{gh}	96^{bc}	8,56±0,3^{e}	98^{ab}	8,26^{fg}±0,5	94^{bc}
Lb. curvatus SAB1	8,26±0,5^{ı}	97^{ab}	8,24±0,7^{gh}	97^{bc}	7,83^{j}±0,6	92de
Lb.mesenteroides SAB20	8,95±0,9^{a}	97^{ab}	8,27±0,5^{fg}	89^{hı}	8,19^{gh}±0,6	89^{g}
Lb.equigenerosi SAB21	8,80±0,3^{b}	95^{cde}	8,67±0,2^{bc}	95^{e}	8,49^{cd}±0,7	92de
Lb. brevis SAB31	8,65±0,6^{cd}	92^{gh}	8,88±0,7^{bc}	95^{e}	8,76^{b}±0,6	94^{c}
Lb. brevis SAB34	7,78±0,2^{j}	93^{fg}	8,34^{f}±0.,6	99^{a}	8,07^{hı}±0,8	96^{b}
Lb. brevis SAB16	8,66±0,7^{c}	94^{def}	8,88^{de}±0,3	93^{f}	8,35^{ef}±0.,5	91^{ef}
Lb. plantarum SAB30	8,29±0,5^{ı}	93^{fg}	8,12^{ı}±0,8	91^{g}	8,02^{ı}±0,2	90^{fg}
Lb. plantarum SAB15	8,34±0,2^{hı}	97^{ab}	8,40^{ef}±0,6	98^{ab}	8,39^{de}±0,5	98^{a}
Lb. plantarum SAB32	8,81±0,6^{b}	96^{cd}	8,17^{ij}±0,7	89^{h}	8,38^{de}±0,5	92^{e}
Lb.paralimentarius SAB23	8,55±0,4^{def}	92^{gh}	8,64^{cd}±0,6	93^{f}	7,38^{m}±0,8	80^{ı}
P. acidilactici SAB13	8,62±0,8^{cde}	94^{def}	8,66^{cd}±0,9	95^{e}	8,70^{b}±0,2	95^{b}
P. acidilactici SAB26	7,81±0,9^{j}	92^{gh}	8,18^{hı}±0,6	97^{bc}	7,68^{k}±0,7	91^{ef}
Lb.musae SAB3	8,54±0,6^{ef}	96^{cd}	8,03^{jk}±0,3	90^{gh}	7,79^{jk}±0,5	87^{h}
P. acidilactici SAB12	8,24±0,6^{ı}	91^{h}	8,00^{k}±0,5	89^{h}	7,17^{n}±0,7	80^{ı}

Aynı kolondaki farklı harfler birbirinden önemli ölçüde farklılığı göstermektedir (P <0.05). a: LAB suşları 37^{o}C'de 24 saat süreyle %6 NaCl,%0,3 safra içeren MRS broth ile 2,5 pH'da inkübe edildi. Canlı hücre sayıları, 37^{o}C'de 24 saat süreyle inkübasyondan sonra MRS agar üzerinde sayıldı (log kob/ml).

4.4.2.2 Antimikrobiyal Aktivite

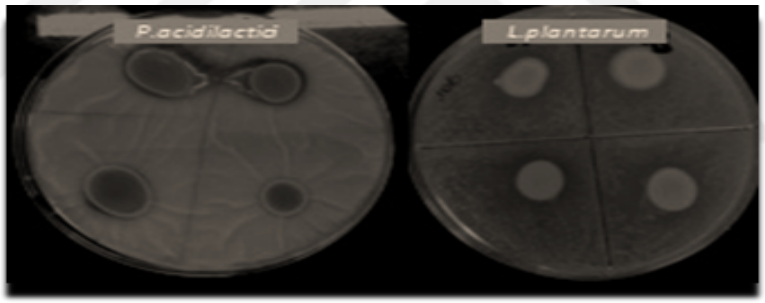
LAB'nin mikrobiyal koruyucu olarak kullanımı güvenli bir strateji olarak görülmektedir [309]**.** Bu çalışmada, izole edilmiş LAB'nin *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* ATCC 11778 ve *E. coli* ATCC 2592'ye karşı antimikrobiyal aktivitesi zon çapı (Tablo 4.9) ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 4.16). *Lb. curvatus* SAB35 ve *Lb. plantarum* SAB32 suşları hariç 17 LAB izolatında *B. subtilis*'e karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.16 *Lb. plantarum* ve *P. pentosaceus*'un *B. subtilis*'e *Lb. plantarum* ve *P. acidilactici*'nin *B. cereus*'a karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

B. subtilis ekmekte rop bozulmasına neden olduğundan ekmeğin raf ömrünü etkilemektedir [303]. Tanımlanan suşlar arasında *Lb. curvatus* SAB33, *Lb. mesentoriedes* SAB20, *Lb. plantarum* SAB15, *Lb. curvatus* SAB1, *Lb. fermentum* SAB21, *Lb.musae* SAB3, *P. acidilactici* SAB13, *P. acidilactici* SAB12 ve *Lb. equigenerosi* SAB21 suşları *B. subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* ATCC 11778 ve *E. coli* ATCC 25922'ye karşı bölge çapı 10 mm'nin üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.9). *Pediococcus* türlerinin diğer *Lactobacillus* türlerinden daha fazla antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, *Lb. curvatus* SAB35, *Lb. plantarum* SAB32 *B. substilist*'e; *P. acidilactic*i SAB19, *Lb. brevis* SAB34 ve *Lb. curvatus* SAB35 ise *B. cereus*'a karşı engelleyici bir etki göstermedikleri tespit edilmiştir. Ayrıca *Lb. brevis* SAB31, *P. acidilactici* SAB10 ve *Lb. plantarum* SAB32'nin *E. coli*'ye karşı bir antibakteriyel bölge oluşturmadığı gözlenmiştir. Olumsuz sağlık etkileri de olan küf bozulması, ekmek ve diğer unlu mamullerde ekonomik kayıplara neden olan en önemli sorunlardan biridir [305]. Bu çalışmada, LAB'lerin *P. carneum*, *A. flavus* ve *A. niger* küflerine karşı antifungal aktiviteleri spot ekim metoduyla incelenmiş olup zon oluşturması gözlenmiştir (Şekil 4.17). *Lb. paralimentarius* SAB23, *Lb. brevis* SAB16, *Lb. brevis*

SAB31, *P. acidilactici* SAB26, *Lb. plantarum* SAB15, *P. acidilactici* SAB10 ve *P. acidilactici* SAB13 LAB'leri her üç küfe karşı antifungal etki gösterdiği gözlenmiştir. Türler arasında en yüksek antifungal etkiyi *Pediococcus* türlerinin gösterdiği ve *P. acidilactici* SAB19 hariç diğer *Pediococcus* türlerinin A. *niger* ve *P. carneum*'a karşı antifungal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. *Lb. curvatus* SAB33, *Lb. plantarum* SAB30, *Lb. plantarum* SAB32 ve *Lb. musae* SAB3'ün antifungal etki göstermediği belirlenmiştir. Benzer bir çalışmada *L. paraplantarum* N-15, *Lb. paralimentarius* E-106, *A. niger* ve *P. chrysogenum*'a karşı yüksek antifungal aktivite gösterirken, *Leu. pseudomesenteroides* N-13 and *Lb. rossiae* ED-1 ve *Lb. brevis* E-25'in antimikrobiyal etki görülmedikleri bildirilmiştir [310]. Sadeghi vd. [293] yaptıkları çalışmada ekşi hamurdan izole ettikleri LAB'lerinin antifungal özelliklerini araştırmışlar *A. flavus* ve *A. niger*'e karşı *Pediococcus* türlerinin antifungal aktiviteye sahip olduklarını belirleyerek ekşi hamur ve ekmek üretimi için biyoprotektif starter veya yardımcı starter adayı olarak kullanılabileceklerini belirtmişlerdir [293].



Şekil 4.17 *P. acidilactici* ve *Lb. plantarum*'un *A. niger*'e karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

Tablo 4.9 Tanımlanmış 19 LAB'ın antimikrobiyal ve fitaz aktivitesi

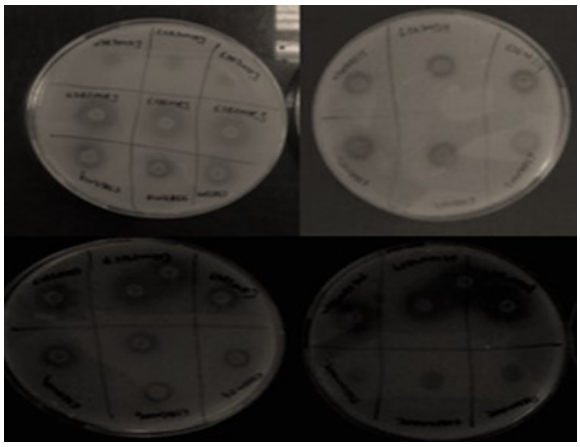
LAB	*B. subtilis*	*B. cereus*	*E. coli*	*A. niger*	*P. carneum*	*A. flavus*	Fitaz Aktivitesi (mm)
P.acidilactici SAB10	++	+	-	+	+	+	$7\pm0,0^{f}$
Lb. plantarum SAB15	++	++	++	+	+	+	$14\pm0,1^{ab}$
Lb. plantarum SAB30	++	+	+	-	-	-	$15\pm0,1^{a}$
P.acidilactici SAB19	+	-	++	+	-	-	$10\pm0,1^{de}$
P.acidilactici SAB13	++	++	++	+	+	+	$11\pm0,0^{cd}$
P. pentosaceus SAB7	++	+	+	+	+	-	$15\pm0,1^{a}$
Lb. curvatus SAB1	++	++	++	+	-	+	-
Lb. equigenerosi SAB21	++	++	++	-	+	+	-
Lb. plantarum SAB32	-	-	-	-	-	-	$12\pm0,0^{bcd}$
Lb.musae SAB3	++	++	++	-	-	-	-
P. acidilactici SAB12	++	++	++	+	+	-	-
Lb. curvatus SAB35	-	-	+	+	-	+	$9\pm0,1^{ef}$
Lb. paralimentarius SAB23	+	+	+	+	+	+	$9\pm0,1^{ef}$
Lb.brevis SAB16	++	+	++	+	+	+	-
P. acidilactici SAB26	++	++	++	+	+	+	-
Lb.curvatus SAB33	++	++	++	-	-	-	$12\pm0,1^{bcd}$
Leu.mesenteroides SAB20	++	++	++	-	+	+	$14\pm0,2^{ab}$
Lb. brevis SAB31	++	+	-	+	+	+	$11\pm0,1^{cde}$
Lb.brevis SAB34	++	-	+	-	+	+	$13\pm0,1^{abc}$

Antibakteriyel inhibisyon bölgelerinin çapı (mm): ++ > 10 mm; + <9mm; antifungal pozitif (+), belirlenmemiş (-), Fitaz (-) aktivite yok Aynı kolondaki farklı harfler birbirinden önemli ölçüde farklılığı göstermektedir ($P < 0.05$).

Siyez ve Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurundan Tanımlanan LAB'lerin Fitaz Aktivitesi

Tahıl ürünleri vitamin ve mineral içerdikleri için önemli gıdalardır [311]. Ancak çalışmalar bu minerallerin çoğunun fitat üretmek için fitik asit ile karmaşık bir bağ oluşturduğunu göstermektedir, bu nedenle bu minerallerin faydaları azalmaktadır [312]. Ekşi hamur, laktik asit fermentasyonu, proteoliz ve uçucu bileşiklerin sentezi sonucu oluşan doğal ürünleri içeren LAB'nin metabolik aktivitelerine dayanır [313-315]. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki birçok bakteri, maya küf fitaz enzimine

sahiptir [316]. Fitaz aktivitesine sahip küf, bakteri ve mayaların kullanıldığı tahıl ürünlerinde fitatların indirgenmesi sonucu yüksek mineral biyoyaralılığı görülmüştür [315, 317, 318]. Kevser vd.[315] yaptıkları çalışmada farklı bölgelerden topladıkları ekşi hamurlardan tanımladıkları LAB ve mayaların yüksek oranda fitaz aktivesi yeteneklerine sahip olduğu belirlenmiştir. Yıldırım vd.[319] İstanbul'dan 5 fırından toplanan ekşi hamurla, laboratuvarda spontan olarak ürettikleri 2 farklı ekşi hamurdan izole ettikleri 93 LAB'yi Na-fitat ile takviye edilmiş ortam üzerinde fitaz aktivitesi açısından incelemişler ve altmış dört izolat, fitaz pozitif olarak belirlenmiştir. *Lb. plantarum* ve *Lb. brevis* suşlarında yüksek fitaz aktivitesi belirlemişlerdir. Siyez ve kavuzsuz arpadan izole edilip tanımlanan LAB'lerinin fitaz aktivitelerini belirlemek amacıyla Na-fitatlı besiyerine spot ekim yapılmış ve zon oluşturması gözlenmiştir (Şekil 4.18). Bu çalışmada ekşi mayalı ekmek minerallerinin biyoyararlanımını artırmak için izolatların fitaz aktivitesinin araştırılması gerektiği sonucunu destekleyen sonuçlar elde edilmiştir. Siyez ekşi hamurundan izole edilen LAB izolatlarının fitaz aktivitesi Tablo 4.7'de gösterilmiştir. LAB izolatlarının fitaz aktiviteleri bakımından önemli farklılıklar gösterdikleri belirlenmiştir ($p<0,05$). En yüksek fitaz aktivitesi, *Lb. paraplantarum* SB22 *ve Lb. plantarum* SB17'de (14mm), en düşük aktivite ise *Lb. brevis* SB63 ve *Lb. plantarum* SB21'de (6mm) tespit edilmiştir (Tablo 4.7). Bazı LAB izolatları fitaz aktivitesi göstermemiştir. Önceki çalışmalardan, minerallerin çoğunun fitat üretmek için fitik asit ile kompleks bir bağ oluşturduğu ve bu minerallerin biyoyararlanımının azaldığı gösterilmiştir [37, 38]. Ekmek üretiminde fitatların azaltılması enzimatik bozunma, endojen fitaz aktivitesi artışı veya LAB, mayalar ve diğer mikroorganizmalar yoluyla elde edildiği belirlenmiştir. Fitat bozulması, fitik asidin fosfat kaynağı olduğu bir ortamda meydana gelir. Kavuzsuz arpa ekşi hamurundan izole edilen LAB izolatlarının fitaz aktivitesi Tablo 4.9'da gösterilmiştir. Burada görüldüğü gibi 19 LAB' nin 6'sı dışında hepsinde fitaz aktivitesi belirlenmiştir. *Lb. plantarum* SAB30, *P. pentosaceus* SAB7, *Leu. mesenteroides* SAB20 ve *Lb. plantarum* SAB15 en yüksek fitaz aktivitesini gösterirken *Lb. curvatus* SAB35 ve *Lb. paralimentarius* SAB23 en düşük aktiviteyi gösterdiği belirlenmiştir.

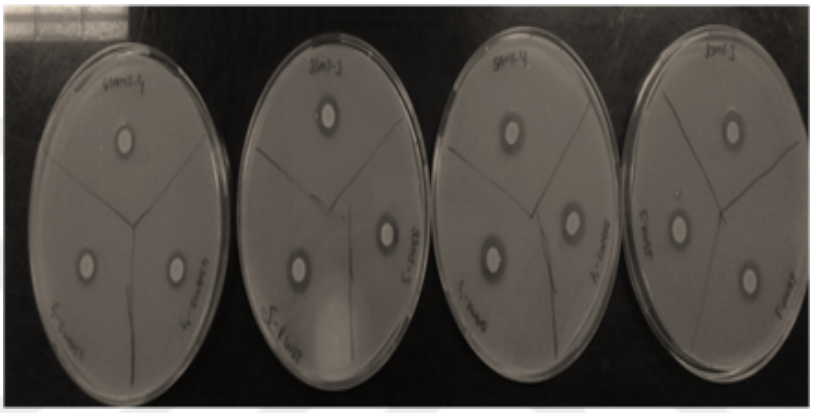


Şekil 4.18 LAB'lerinin fitaz aktivitesi

4.5.3 Mayaların Teknolojik Özellikleri

Ekşi hamura adepte olmuş mayalar besin mevcudiyeti eksikliğine (açlık), asidik strese (pH), karbonhidratların ve tuzların varlığına, oksijen yokluğuna, sıcaklık dalgalanmalarına, mikrobiyal etkileşimlere (LAB ve maya türleri arasında ve/veya maya türleri arasında) karşı oluşan strese cevap verebilmektedirler [138, 320]. Bu nedenle ekmekçilik özelliklerin iyileştirilmesinde LAB ve mayaların teknolojik özelliklere sahip olması önemlidir. Bu amaçla tanımlanan mayalardan seçilen türlerin teknolojik özellikleri incelenmiştir. Maya izolatlarının tuza, safraya ve asitliğe karşı toleransları incelenmiştir (Tablo 4.10). Aynı zamanda antimikrobiyal ve fitaz aktiviteleri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada %6 NaCl tuzuna karşı %95 ve üzerinde canlılık görülmüştür. %0,3 safraya karşı en yüksek canlılık *S. cerevisiae*, *W. anomalus* ve *R. mucilaginosa* mayalarında görülmüştür. pH 2,5 en dayanıklı *S. cerevisiae* 3SM3-3 ve *R. mucilaginosa* SM2-0 da belirlenmiştir. Mayaların tuza toleransı LAB'den daha yüksektir [321]. Yapılan çalışmada %4'lük NaCl konsantrasyonu (m/m), *Candida miller*i'yi etkilemezken, *Lb. sanfranciscensis*'in gelişmesini inhibe etmektedir. Yapılan çalışmalarda *K. exigua* ekşi hamurda asetik asit ve tuz varlığına *S. cerevisiae*'den daha toleranslı olduğu bildirilmektedir [138, 141]. Siyez ekşi hamurundan izole edilen en yüksek fitaz aktivitesi *S. cerevisiae* 3SM7-0'da bulunmuştur. *S. cerevisiae* ve *W. anomalus* mayalarında *B. subtilis'* e karşı antimikrobiyal etki gözlenmiştir. Tüm mayalar da *B. cereus* ve *E. coli'*ye karşı antimikrobiyal etki görülmemiştir (Tablo 4.10). Spontan kavuzsuz ekşi hamurdan tanımlanan mayalarda ise *S. cerevisiae* SAM2-4 ve *S. cerevisiae* SAM1-4 suşu %6 tuza karşı %99 canlılık göstermiştir. Tüm mayalar da %0,3 safra toleransına %95 üzerinde canlılık görülmüştür. Asitlik pH 2,5'ta en yüksek *S. cerevisiae* SAM1-4'de,

en düşük *W. anomalus* SAM1-2 mayasında görülmüştür (Tablo 4.10). Mayaların fitaz aktivitesi Na-fitatlı besiyerine ekim yapılıp zon çapı ölçülmüştür (Şekil 4.19). Mayalarda fitaz aktivitesi en yüksek *C. glabrata* 4SAM3-4 görülmüş olsa da, *S. cerevisiae* türlerinde de yüksek değerler bulunmuştur. Antikmikrobiyal aktiviteleri açısından sadece *S. cerevisiae* SAM1-4, *W. anomalus* SAM1-2, *B. subtilis'*e karşı antimikrobiyal aktivite zonu oluşturmuştur (Tablo 4.10). Mayalarda antifungal aktivite görülmemiştir. Fitaz aktivitesine sahip suşlar bazı sınırlı minerallerin biyoyararlanımının arttırılmasını sağlamaktadır [312].



Şekil 4.19 Mayaların fitaz aktivitesi

Tablo 4.10 Tanımlanan mayaların teknolojik ve antimikrobiyal özellikleri

Maya (Siyez)	NaCl[a] logkob/mL	Canlılık %	Safra logkob/mL	Canlılık %	pH[a] logkob/mL	Canlılık %	Fitaz (mm)	*B. subtilis*
S.cerevisiae 3SM1-3	7,14±0,5^{bc}	97^{b}	7,21±0,5^{a}	98^{ab}	7,23±0,4^{c}	97^{a}	10,0±0,1^{e}	-
S.cerevisiae 3SM3-3	6,94±0,5^{c}	98^{a}	6,95±0,0^{ab}	98^{a}	6,90±0,3^{c}	97^{a}	14,1±0,2^{c}	+
W.anomalus 2SM2-1	6,75±0,7^{d}	93^{d}	7,18±0,5^{a}	99^{a}	6,44±0,8^{e}	89^{d}	12,5±0,2^{c}	+
R.mucilaginosa SM2-0	7,09±0,7^{ab}	97^{ab}	7,2±0,6^{a}	98^{b}	7,13±0,6^{a}	97^{a}	14,3±0,1^{b}	+
S.cerevisiae 3SM7-0	6,93±0,3^{c}	97^{b}	6,68±0,3^{b}	93^{d}	7,0±0,7^{b}	96^{b}	18,0±0,0^{a}	+
S.cerevisiae 3SM3-4	6,95±0,3^{a}	95^{c}	6,99±0,3^{a}	96^{c}	6,62±0,3^{d}	91^{c}	10,2±0,1^{d}	-
Maya (Kavuzsuz arpa)	**NaCl[a] logkob/mL**	**Canlılık %**	**Safra logkob/mL**	**Canlılık %**	**pH[a] logkob/mL**	**Canlılık %**	**Fitaz (mm)**	***B. subtilis***
S. cerevisiae 4SAM2-4	6,76±0,5^{b}	98^{ab}	6,65±0,3^{c}	97^{a}	6,42±0,7^{b}	94^{ab}	10,0±0,1^{c}	-
S. cerevisiae SAM 1-4	7,15±0,7^{a}	99^{a}	7,03±0,5^{b}	98^{a}	6,96±0,5^{a}	97^{a}	12,7±0,2^{b}	+
C. glabrata 4SAM3-4	7,15±0,3^{a}	97^{b}	7,12±0,3^{cb}	97^{a}	6,78±0,3^{a}	92^{b}	15,3±0,1^{a}	-
W.anomalus SAM1-2	6,67±0,7^{c}	91^{c}	7,20±0,5^{a}	99^{a}	6,34±0,8^{b}	87^{c}	12,3±0,2^{b}	+

Aynı kolondaki farklı harfler birbirinden önemli ölçüde farklılığı göstermektedir (P <0.05). a: Maya suşları 30^{o}C'de 48 saat süreyle %6 NaCl, %0,3 safra içeren SDA broth ile 2,5 pH'da inkübe edildi. Canlı hücre sayıları, 30^{o}C'de 48 saat süreyle inkübasyondan SDA agarda sayıldı.

4.6 Üretilen Ekşi Hamur ve Ekmeklerin Özellikleri

4.6.1 Siyez Ekşi Hamurunun pH, TTA Değerleri ve LAB, Maya Sayımları

Siyez spontan ekşi hamurdan izole edilmiş rekabet gücü yüksek asit ve tuza toleranslı iki laktik asit bakterisi ve bir mayadan oluşan starter kültür kombinasyonu oluşturulmuştur. Bu amaçla 3SM3-3 ve 3SM1-3 kodlu 2 faklı *S. cerevisiae* mayası ve *Lb. paraplantarum* SB22, *Lb. brevis* SB68 LAB'leri ile oluşturulan 2 farklı starter ile ekşi hamur üretilmiştir (Şekil 4.20). Tablo 3.3'te oluşturulan kombinasyonlar ve ekmek kodları görülmektedir. BS1 ekşi hamuru buğday ununda SS1 ekşi hamur ise siyez ununda *Lb. paraplantarum* SB22, *Lb. brevis* SB68 ve *S. cerevisiae* 3SM3-3 starter kültürü ile oluşturulmuştur. 2. starter ekşi hamur EHB1 buğday unu EHS1 siyezununda *Lb. paraplantarum* SB22, *Lb. brevis* SB68 ve *S. cerevisiae* 3SM1-3 starter kültürü ile üretilmiştir. SHB1 buğday ununda ve SHS1 ekşi hamur ise siyez ununda spontan olarak üretilmiştir. Ekşi hamur örnekleri 25^{o}C'de 20 saatfermentasyona bırakılmış ve ekmek üretimi için yeterli pH, LAB ve maya sayısına ulaşması hedeflenmiştir.



Şekil 4.20 Üretilen siyez ve buğday unu ekşi hamur örnekleri

Tablo 4.11'de üretilen ekşi hamurlara ait pH, TTA ve mikrobiyolojik özellikleri görülmektedir. Üretilen ekşi hamur örneklerinde 0. ve 20. saatlerde pH ölçülerek gelişimi izlenmiştir. Fermentasyonun başlangıcında örneklerin pH ve TTA'ları benzerlik göstermekle beraber pH 5,59-6,23 aralığında, TTA ise 0,19-0,26 aralığında olduğu belirlenmiştir. 20. saat sonunda ölçülen pH değerleri önemli düzeyde düşüş göstermiş olup ($p<0,05$) starterle üretilen hamur örnekleri, spontan fermentasyonla üretilenlerden daha düşük pH değerine ulaşmışlardır. Starter örneklerin pH değeri 3,39-3,47 ve spontan örneklerin pH değerleri ise 4,17-3,68 aralığında ölçülmüştür. TTA tüm örneklerde pH düşüşüne bağlı olarak artış göstermiştir.

Tablo 4.11 Starter ve spontan ekşi hamurlarını pH, TTA ve mikrobiyolojik sayım değerleri

Süre saat	EH Çeşidi	Un Çeşidi	Suş Kombinasyonu	pH	TTA%	Lab (kob/g)	Maya (kob/g)
0.	BS1	Buğday	SB68-SB22-3SM3-3	$5,59\pm0.02^{Aa}$	$0,21^{a}\pm0,1^{Ba}$	$7,90\pm0,7^{Bb}$	$6,00^{a}\pm0,61^{Bb}$
20.	BS1	Buğday	SB68-SB22-3SM3-3	$3,47\pm0,01^{Cb}$	$1,21^{b}\pm0,1^{Cb}$	$8,51\pm0.4^{Cb}$	$6,65^{a}\pm0,7^{Cb}$
0.	SS1	Siyez	SB68-SB22-3SM3-3	$5,60\pm0,00^{Ab}$	$0,26^{a}\pm01^{Aa}$	$7,88\pm0,3^{Bb}$	$6,02^{a}\pm0,9^{Bb}$
20.	SS1	Siyez	SB68-SB22-3SM3-3	$3,35\pm0,01^{Eb}$	$1,43^{a}\pm0,1^{Aa}$	$9,60\pm0,6^{Aa}$	$6,55^{a}\pm0,4^{Db}$
0.	EHB1	Buğday	SB68-SB22-3SM1-3	$5,63\pm0,01^{Aa}$	$0,19\pm0,03^{Ca}$	$7,76\pm0,8^{Aa}$	$6,08\pm0,5^{Aa}$
20.	EHB1	Buğday	SB68-SB22-3SM1-3	$3,48\pm0,01^{Cb}$	$1,26\pm0,02^{Ba}$	$8,84\pm0,2^{Ba}$	$7,37\pm0,5^{Aa}$
0.	EHS1	Siyez	SB68-SB22-3SM1-3	$5,62\pm0,00^{Ab}$	$0,23\pm002^{Bb}$	$7,70\pm0,5^{Aa}$	$6,11\pm0,6^{Aa}$
20.	EHS1	Siyez	SB68-SB22-3SM1-3	$3,39\pm0,01^{Db}$	$1,30\pm0,01^{Bb}$	$9,42\pm0,5^{Ab}$	$7,28\pm0,9^{Ba}$
0.	SHB1	Buğday	Spontan	$6,23\pm0,00^{Aa}$	$0,14\pm0,03^{Eb}$	$3,75\pm04^{Dc}$	$3,48\pm0,6^{Cc}$
20.	SHB1	Buğday	Spontan	$4,17\pm0,01^{Aa}$	$1,16\pm0,09^{Dc}$	$8,48\pm08^{Eb}$	$6,50\pm0,2^{Ec}$
0.	SHS1	Siyez	Spontan	$6,18\pm0,01^{Aa}$	$0,16\pm0,01^{Dc}$	$3,96\pm0,8^{Cc}$	$3,59\pm0,4^{Dc}$
20.	SHS1	Siyez	Spontan	$3,68\pm0,02^{Ba}$	$1,27\pm0,01^{Bb}$	$8,41\pm0,5^{Fc}$	$6,47\pm0,5^{Ec}$

SB68: *Lactobacillus brevis*, SB22: *Lactobacillus plantarum*, 3SM3-3: *Saccharomyces cerevisiae,* 3SM3-3: *Saccharomyces cerevisiae.* Aynı kolondaki farklı büyük harfler aynı suşların un farklılığına göre farklılıklarını, farklı küçük harfler, suşlar arasındaki farklılığı belirtmektedir.

Üretilen ekşi hamurların fermentasyon başlangıcında ve 20. saat sonunda LAB ve maya sayımları yapılmıştır. Seçilen türler ile hazırlanan starter ekşi hamurların fermentasyon başlangıcında LAB içeriği 7,7-7,9 log kob/g aralığında belirlenmiştir (Tablo 4.11). Başlangıçta aynı miktarda suş içermesinden dolayı LAB ve maya sayımları istatistiksel olarak benzer görülmüştür. Spontan ekşi hamur üretimi steril su ve ekipman kullanılmasından dolayı spontan fermentasyon başlangıcında gelen LAB ve mayalar undan gelmektedir. Spontan fermente ekşi hamurların LAB miktarı ise 3,75-3,96 log kob/g aralığında bulunmuştur. Fermentasyonun başlangıcında kendiliğinden fermente ekşi hamurların LAB içerikleri diğerlerinden önemli ölçüde düşük olmasına rağmen ($p<0,05$) fermentasyonun sonunda LAB sayıları 8,41-8,48 log kob/g'a ulaşmış olup starter kültürden hazırlanan ekşi hamurların ise 8,51-9,60 log kob/g'a ulaşmıştır. *Lb. brevis*, *Lb. plantarum* ve *S. cerevisiae* ile hazırlanan ekşi hamurlardaki LAB sayısı spontan ekşi hamurlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda siyez ununda hazırlanan ekşi hamurda buğday ununda hazırlanan ekşi hamurdan daha yüksek LAB içeriği bulunmuştur. Fermentasyonun başlangıcındaki maya sayıları starter kültürle hazırlanan hamurlarda istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemiş olup 6 log kob/g, bununla birlikte, kendiliğinden fermente olmuş ekşi maya hamurlarında maya sayısı 3,48-3,59 log kob/g olup starterle hazırlananlardan

önemli ölçüde farklılık görülmüştür ($p<0,05$). Starterle hazırlanan ekşi hamur örneklerinin fermentasyon sonrasında maya sayıları 6,55-7,37 log kob/g arasında değişmektedir. *S. cerevisiae* 3SM1-3 mayası ile hazırlanan EHS1 ekşi hamurdaki maya sayısı, *S. cerevisiae* 3SM3-3 ile hazırlanan SS1 ekşi hamurdaki maya sayısından önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). En düşük maya sayısı, fermentasyonun sonunda SHB1 ve SHS1 ekşi hamurlarında tespit edilirken en yüksek EHB1 starter buğday ekşi hamurunda bulunmuştur.

4.6.2 Siyez Unu Ekmeklerinin Spesifik Hacim ve Sertlik Değerleri

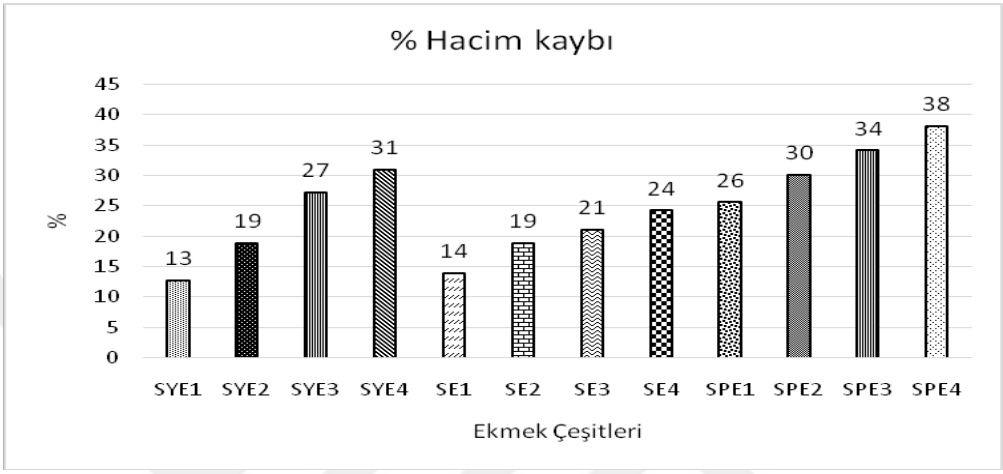
Yapılan çalışmada starter kültürle hazırlanan ekşi hamurdan üretilen %25, %50, %75 buğday unu katkılı ve %100 siyez unundan yapılan ekmek numelerinin hacim, spesifik hacim, sertlik ve yumuşaklık değerleri Tablo 4.12'de verilmiştir.

Tablo 4.12 Ekmek çeşitlerinin teknolojik özellikleri

Ekmek Çeşidi	Un Çeşidi	Tür kombinasyonu	Hacim ml	S.hacim (ml/g)	Sertlik (N)
SKE1	%100 B	SB22-SB68 -3SM3-3	$288,0\pm1,25^{Ab}$	$2,13\pm0,03^{Ab}$	$3,79^{e}\pm0,4^{Eb}$
SYE1	%25S %75B	SB22-SB68 -3SM3-3	$249,3\pm4,00^{Bb}$	$1,86\pm0,01^{Bb}$	$6,53^{d}\pm0,0^{Db}$
SYE2	%50S %50B	SB22-SB68 -3SM3-3	$234,4\pm1,75^{Cb}$	$1,73\pm0,02^{Cb}$	$9,70^{c}\pm0,1^{Cb}$
SYE3	%75S %25B	SB22-SB68 -3SM3-3	$214,1\pm4,53^{Db}$	$1,55\pm0,04^{Db}$	$12,53^{b}\pm0,4^{Bb}$
SYE4	%100S	SB22-SB68 -3SM3-3	$206,0\pm1,51^{Eb}$	$1,47\pm4,95^{Eb}$	$15,69^{a}\pm0,3^{Ab}$
SEK	%100 B	SB22-SB68-3SM1-3	$304,2\pm2,55^{Aa}$	$2,23\pm0,03^{Aa}$	$2,60\pm0,02^{Ec}$
SE1	%100 B	SB22-SB68-3SM1-3	$261,9\pm2,12^{Ba}$	$1,92\pm0,01^{Ba}$	$3,47\pm0,26^{Dc}$
SE2	%25S %75B	SB22-SB68-3SM1-3	$252,1\pm1,41^{Ca}$	$1,81\pm0,00^{Ca}$	$5.,77\pm0,33^{Cc}$
SE3	%50S %50B	SB22-SB68-3SM1-3	$234,7\pm4,17^{Da}$	$1,76\pm0,03^{Da}$	$9,70\pm0,29^{Bc}$
SE4	%75S %25B	SB22-SB68-3SM1-3	$225,4\pm2,12^{Ea}$	$1,69\pm0,02^{Ea}$	$13,46\pm0,76^{Ac}$
SPK1	%100S	Spontan	$252,9\pm2,76^{Ac}$	$1,75\pm0,06^{Ab}$	$5,26\pm0,73^{Ea}$
SPE1	%100 B	Spontan	$228,1\pm3,54^{Bc}$	$1,66\pm0,03^{Bb}$	$7,49\pm0,22^{Da}$
SPE2	%50S %50B	Spontan	$213,9\pm5,80^{Cc}$	$1,56\pm0,05^{Cb}$	$12,49\pm0,35^{Ca}$
SPE3	%75S %25B	Spontan	$197,8\pm3,89^{Dc}$	$1,47\pm0,03^{Db}$	$17,33\pm0,12^{Ba}$
SPE4	%100S	Spontan	$179,1\pm4,95^{Ec}$	$1,38\pm0,03^{Eb}$	$23,54\pm1,54^{Aa}$

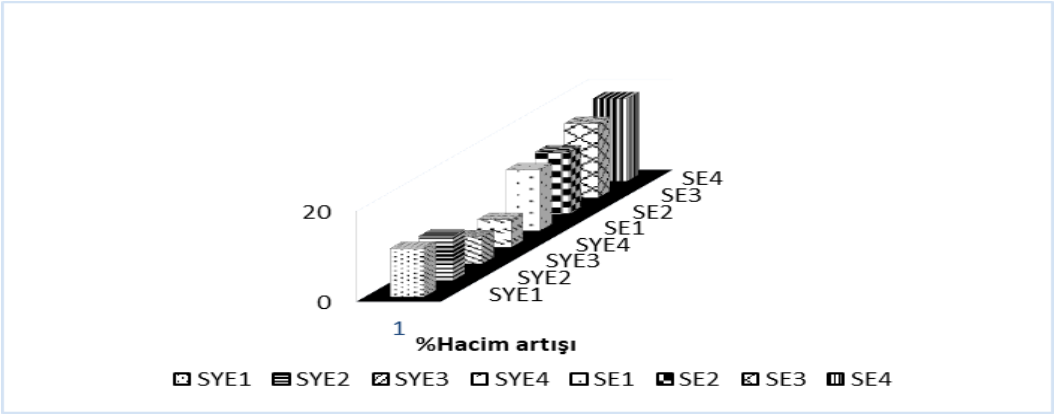
SB68:*Lactobacillus brevis*, SB68:*Lactobacillus brevis*, SB22: *Lactobacillus paraplantarum*, 3SM3-3 *Saccharomyces cerevisiae,* SM3-3: *Saccharomyces cerevisiae*. Aynı kolondaki farklı büyük harfler ise aynı suşların unarklılığına göre farklılıklarını, farklı küçük harfler, suşlar arasındaki farklılığı belirtmektedir. (SKE1 ve SEK %100 buğday starter kontrol ekmeği, SPKE1 %100 buğday spontan kontrol ekmeği)

Tabloya göre ekmek hacmi 302,5 ml-179,3 ml; spesifik hacim 2,23 -1,35 ml/g aralığında değişmektedir. Starter kültürle hazırlanan siyez buğday unu katkılı ekmekler spontan olarak hazırlanan siyez-buğday unu katkılı ekmeklerden hacim, spesifik hacim ve sertlik değerleri bakımından istatistiksel açıdan önemli farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Starter kültürle hazırlanan siyez ve buğday unu katkılı ekmekler daha yüksek hacime ve spesifik hacime sahip bulunmuştur.



Şekil 4.21 Kontrol ekmek hacmine göre ekmek çeşitlerinin % hacim kaybı

Buğday unundan yapılan kontrol ekmeklerine bakıldığında EHB1ekşi hamurla hazırlanan SEK buğday unu ekmeği, SS1 ekşi hamurla hazırlanan SKE1 buğday unu ekmeğinden daha yüksek hacim ve spesifik hacime sahipken en düşük spesifik hacim spontan SKE1 ekmeğinde bulunmuştur. Kontrol ekmeklere kıyasla siyez ekmekleri EHS1 ekşi hamurla hazırlanan ekmekler SS1 ekşi hamurla hazırlanan ekmeklerden istatistiksel olarak önemli seviyede ($p<0,05$) hacim ve sepesifik hacmi yüksek bulunmuştur. Buğday unu artışı ekmek hacimi artışına yol açmış olsa da kullanılan suşlarda hacim üzerine etkide bulunmuştur. Bu durum sonucunda SKE1 kontrol ekmeğine göre, SYE1 ekmeği %13, SYE2 ekmeği %19, SYE3 %27, SYE4 %31, SEK kontrol ekmeğine göre SE1 %14, SE2 %19, SE3 %21, SE4 ise %24 daha düşük hacime sahip olduğu tespit edilmiştir. Spontan ekmekleri SEK kontrol ekmeğine göre ise SPE1 %26, SPE2 %30, SPE3 %34, SPE4 %38 daha düşük hacime sahip bulunmuştur (Şekil 4.21). Spontan ekşi hamur ekmeklerinin starter ekşi hamur ekmeklerinden hacim kaybı sırasıyla SPE4>SPE3>SPE2>SPE1>SPK1 şeklinde tespit edilmiştir.



Şekil 4.22 Starter kültür ile üretilen ekmeklerin spontan katkılı ekmeklere göre % hacim artışı

Starter ekmeklerin spontan ekmelerin hacmine göre en yüksek artış SE4 ve SE3 ekmeklerinde görülmüştür (Şekil 4.22). Starter ve spontan ekşi hamurdan üretilen siyez ekmeklerinde siyez oranı artıkça hacim ve spesifik hacim düşüşü gözlenmiş olsa da starter ekmeklerin hacmi ve spesik hacmi spontanlardan yüksek bulunmuştur. Ayrıca buğday unlu formülasyonlarda daha az hacim kaybı görülmüştür. Buğday unu gluten içeriği artışı ile ekmek hacim artışını artırsa da buğday unu ilavesi olmayan %100 siyez içeren starter kültürle üretilen SE4 ve SYE4 ekmeklerinin hacmi ve spesifik hacmi spontan SPK4 ekmeğinden istatistiksel olarak ($p<0,05$) yüksek bulunmuş olup burada starter kültürün olumlu etkisi görülmüştür. *S. cerevisiae* 3SM1-3 mayası, *S.cerevisiae* 3SM3-3 mayasından daha yüksek aktiviteye sahip olduğu hacim artışı farkı ile belirlenmiştir. Buğday unlarının pişirme kalitesi çoğunlukla gluten kalitesi ve miktarı ile belirlenir. Tahıllar arasında, genel buğday, ekmek yapımı için en uygun olanıdır, çünkü un, su karıştırıldığında viskoelastik bir hamur oluşturur. Buğday unlarına düşük gluten içeren unlar eklendiğinde düşük elastikiyete ve yüksek uzayabilirliğe sahip daha yumuşak hamurlar vermektedir [322-324]. Siyez unuda gluten gücü zayıf unlar arasında olduğu için yapışkan hamur ve yetersiz reolojik özellikleri nedeniyle unlu mamullerin üretimi için uygun görülmemektedir [325]. Ekmeklerin sertlik değerleri Tablo 4.12'de verilmiştir. Sertlik starter kültürle üretilen ekmeklerde 2,60-15,69N iken spontan fermentasyonla üretilen ekmeklerde ise 5,26-23,54N arasında bulunmuştur. Tüm sıcaklıklarda spontan ekşi hamur eklenmiş ekmek örneklerinin sertlik değerleri, starter eklenerek yapılanlara göre belirgin düzeyde yüksek tespit edilmiştir ($p<0,05$). En düşük sertlik starter kontrol ekmeklerine en yakın SYE1 ve SE1 ekmeklerinde görülmüş olup en sert ekmekler %100 siyez unundan yapılan spontan ekşi hamur ekmeği olan SPE4 ekmeğinde bulunmuştur. 3SM1-3 maya içeren starter kültür ekmekleri 3SM3-3 starter

kültür içeren siyez-buğday unlu ekmeklerinden daha düşük sertliğe sahip bulunmuştur. Spontan fermentasyon ekmekleri starterle üretilen ekmeklerden daha sert bulunmuş olup buğday unu ve starter kültür sertliği etkilemiştir. En düşük hacime sahip ekmeklerin sertliğide en yüksek bulunmuştur.

4.6.3 Siyez Unu Ekmeklerinin Renk ve Duyusal Özellikleri

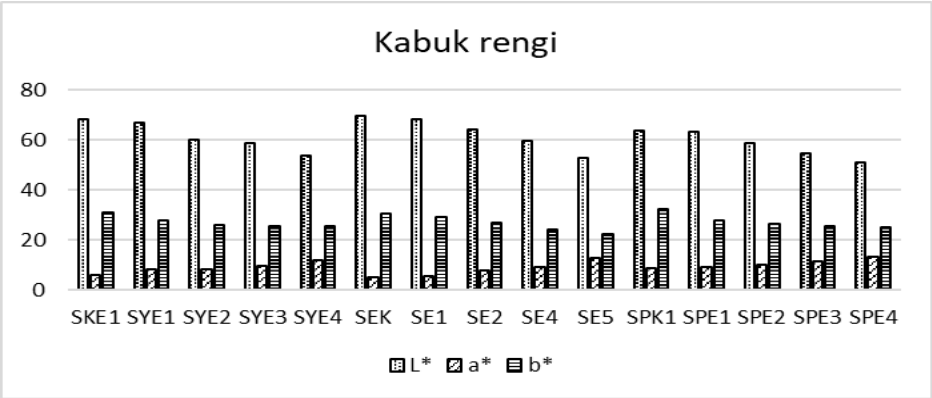
Tablo 4.13'de görüldüğü gibi siyez unu oranı artışı ekmek renk parametrelerini önemli ölçüde etkilemiştir ($p<0,05$). Buğday unu ilavesi, ekmek örneklerinin, L*(parlaklık) değerini hem ekmek içinde hem de ekmek kabuğunda arttırmıştır ($P<0,05$) (Tablo 4.13).

Tablo 4.13 Ekmek çeşitlerinin renk özellikleri

	Ekmek kabuk rengi			**Ekmek İçi renk**		
Ekmek kodu	**L***	**a***	**b***	**L***	**a***	**b***
SKE1	68,34±0,9^{Aa}	6,01±0,5^{Db}	30,97±0,8^{Ab}	70,50±0,2^{Aa}	0,29 ±0,1^{Ea}	18,01±0,5^{Ba}
SYE1	66,82±0,7^{Bb}	8,32±0,4^{Cb}	27,84±0,5^{Bb}	62,66±0,1^{Bb}	2,45±0,0^{Da}	17,89±0,5^{Bc}
SYE2	60,34±0,3^{Cb}	8,59±0,4^{Cb}	26,31±0,3^{Ca}	61,00±0,0^{Ca}	3,98±0,3^{Ca}	20,13±0,2^{Ab}
SYE3	58,73±0,1^{Da}	9,91±0,2^{Bb}	25,59±0,7^{Ca}	58,65±0,2^{Da}	5,29±0,2^{Ba}	20,35±0,3^{Ab}
SYE4	53,88±0,1^{Ea}	11,82±0,1^{Ab}	25,43±0,5^{Ca}	55,02±0,03^{Ea}	6,41±0,2^{Aa}	20,7±0,4b^{Ab}
SEK	69,61±059^{Aa}	5,42±0,34^{Db}	30,62±0,43^{Ab}	66,70±0,37^{Ac}	0,31±0,04^{Ea}	17,19±0,10^{Db}
SE1	68,42±0,50^{Aa}	5,63±0,^{28Dc}	29,27±0,71^{Ba}	65,18±064^{Ba}	2,30±0,16^{Da}	18,99±0,52^{Cb}
SE2	64,22±1,11^{Ba}	8,04±1,25Cb	26,99±0,56^{Ca}	61,17±0,15^{Ca}	4,04±0,30^{Ca}	19,85±0,08^{Bb}
SE4	59,47±±0,95^{Ca}	9,32±0,61Bb	24,41±0,45^{Db}	59,13±064Da	5,16±0,18^{Ba}	20,20±0,04^{Bb}
SE5	52,76±0,76^{Da}	12,75±0,15^{Aab}	22,45±0,89^{Eb}	54,74±0,25^{Ea}	5,43±0,27^{Aa}	21,10±0,07^{Ab}
SPK1	65,16±0,56^{ABb}	8,71±0,28^{Da}	32,58±1,09^{Aa}	69,60±020^{Ab}	0,21±0,01^{Ea}	18,60±0,41^{Da}
SPE1	63,45±0,19^{Bb}	9,12±0,49^{Da}	27,97±0,61^{Bb}	62,44±0,58^{Bb}	2,64±0,31Da	20,13±0,25^{Da}
SPE2	59±0,77^{Cb}	10,43±0,59^{Ca}	26,60±0,32^{Ca}	59,38±0,31^{Cb}	4,42±0,24^{Ca}	20,48±0,03^{Ca}
SPE3	54,73±0,51^{Db}	11,63±0,19^{Ba}	25,45±0,33^{Cab}	58,57±0,24^{Da}	5,26±0,11^{Ba}	21,70±0,47^{Ba}
SPE4	51,07±0,81^{Eb}	13,32±0,54^{Aa}	25,17±0,51^{Db}	54,62±0,33^{Ea}	6,32±0,29^{Aa}	23,58±0,15^{Aa}

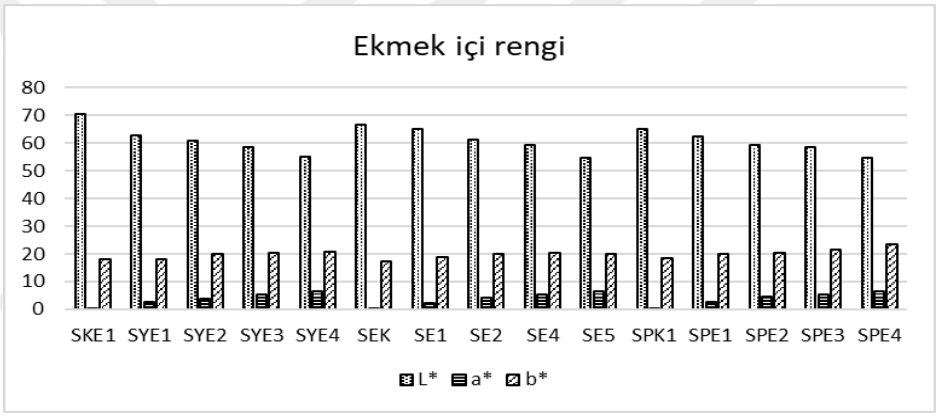
Aynı kolondaki farklı büyük harfler aynı suşların un farklılığına göre farklılıklarını, farklı küçük harfler, suşlar arasındaki farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$).

Parlaklık aynı zamanda starterle üretilen ekmeklerde spontan fermentasyonla üretilen ekmeklere göre daha yüksek bulunmuştur. Kabuk rengindeki ve ekmek içindeki parlaklık en yüksek kontrol ekmeğine en yakın SYE1 ve SE1 ekmeklerinde görülmüştür.



Şekil 4.23 Siyez ekmeklerinin kabuk rengi L*, a*, b* değerleri

Şekil 4.23'de görüldüğü gibi renginde kırmızılık (a*) siyez miktarına bağlı olarak starter ve spontan fermentasyonla üretilen ekmeklerde artış gösterirken, sarılık (b*) değerinde ise düşüş göstermiştir.



Şekil 4.24 Siyez ekmeklerinin ekmek içi renginin L*, a*, b*değerleri

Ekmek içi renginde buğday unu artışına bağlı olarak a* değeri azalmış ve spontan fermentasyonla üretilen ekmeklerle istatistiksel olarak benzer bulunmuştur. Starter ve spontan fermentasyonla üretilen ekmeklerde a* değerinde istatistiksel olarak farklılık görülmemiştir. Siyez oranı yüksek ekmeklerin b* değeri yüksek olup spontan ekmeklerin suş içerenlerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.24). Starterle üretilen ekmeklerde b* değerleri arasında (sarılık) istatiksel olarak fark bulunmamıştır. Buğday ekmeği içi daha parlak olup, siyez oranı artan ekmeklerin ekmek içi rengi daha sarı ve daha kırmızı bulunmuştur. Starter kullanılarak yapılan ekmeklerde spontan fermentasyonla üretilen ekmeklere göre ekmek içi rengi daha parlak, kırmızılık ve sarılık daha düşük bulunmuştur. Hidalgo vd.[326] yaptıkları çalışmada siyez unu içeren kurabiyelerde L* değerini buğday unu içerenlerden daha düşük belirlemişler ve aynı zamanda siyez ilavesinin kırmızımsı ve sarı renk tonlarına yol açtığını göstermişlerdir.

Özellikle siyez ile zenginleştirilmiş kurabiyelerin sarı renk tonu, karotenoidlerin varlığını gösterdiği belirtilmiştir [326]. Siyez unu buğday ununda yüksek oranda lutein içermesi [198] siyez ekmeklerinin daha sarı olmasına neden olmuştur. Çalışmanın bu aşamasında üretilen ekmeklere ait duyusal analiz sonucu Tablo 4.14'te gösterilmektedir. Panelistler örnekleri tat, gözenek yapısı, kabuk ve iç renk, çiğnenebilirlik ve genel beğeni açısından değerlendirmiştir (Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27, Şekil 4.28, Şekil 4.29). Ekmekler tat gözenek yapısı, çiğnenebilirlik ve genel beğeni olarak değerlendirildiğinde starter kültür içeren ekmekler spontan ekmeklerden daha yüksek puanlamıştır.

Tablo 4.14 Ekmek çeşitlerinin duyusal özellikleri

Ekmek Çeşidi	Lezzet	Kabuk Rengi	Ekmek İç Rengi	Çiğnenebilirlik	Gözenek Yapısı	Genel Beğeni
SE1	5,79±0,29^{Aa}	5,82±0,13^{Aa}	5,58±0,04^{Ba}	5,65±0,10^{ABa}	5,40±0,27^{Ba}	5,86±0,06^{ABa}
SE2	5,54±0,10^{Ba}	5,55±0,13^{Ba}	5,39±0,08^{Ca}	5,21±0,29^{BCa}	5,14±0,03^{Ca}	5,77±0,20^{Ba}
SE3	5,00±0,12^{Ca}	5,36±0,00^{Ba}	4,89±0,03^{Da}	5,08±0,24^{CDa}	4,90±0,03^{Da}	4,95±0,07^{Ca}
SE4	4,79±0,06^{Ca}	5,14±0,06^{Ca}	4,62±0,03^{Ea}	4,66±0,10^{Db}	4,80±0,05^{Da}	4,63±0,04^{Da}
SPK1	4,26±0,08^{Ab}	5,125±0,13^{Ab}	4,24±0,12^{Ac}	4,38±0,1^{Ab}	4,38±0,17^{Ac}	4,94±0,08^{Ac}
SPE1	4,07±0,12^{Ab}	4,87±0,02^{Bc}	4,00±0,0^{Bc}	4,3±0,04^{Ab}	4,15±0,15^{Ac}	4,18±0,08^{Bc}
SPE2	3,80±0,08^{Bc}	4,81±0,01^{Bb}	3,9±0,11B^{Cc}	3,94±0,09^{Bb}	3,67±0,18^{Bc}	4,14±0,2^{BCc}
SPE3	3,62±0,09^{Bc}	4,74±0,05^{Cb}	3,8±0,14C^{Dc}	3,73±0,04^{Bc}	3,38±0,13^{Cc}	3,93±0,06^{BCc}
SPE4	3,25±0,06^{Cc}	3,85±0,07^{Dc}	3,62±0,05^{Dc}	3,21±0,013^{Cc}	3,18±0,09^{Cc}	3,88±0,04^{Cc}

Aynı kolondaki farklı büyük harfler ise aynı suşların un farklılığına göre farklılıklarını, farklı küçük harfler, suşlar arasındaki farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$).

EHS1 ekşi hamurla üretilen siyez ekmekleri, SS1 ekşi hamurla üretilen siyez ekmeklerinden daha çok beğenilmiştir. Kabuk ve ekmek içi rengi açısından spontanlara göre farklılık görülmemiştir. SYE1 ve SE1'i ekmekleri tat, çiğnenebilirlik ve genel beğeni değerlendirme açısından kontrol ekmeklere istatiksel olarak benzer olup en yüksek puanı almıştır (Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27, Şekil 4.28, Şekil 4.29).



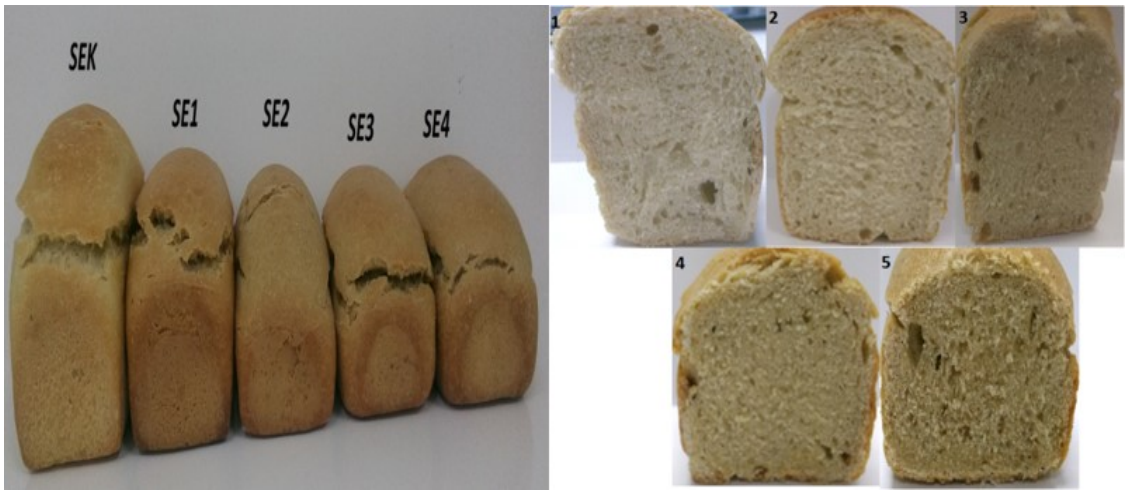
Şekil 4.25 Spontan ekşi hamur katkılı siyez unu ekmeklerinin dış ve iç kesit görüntüsü, 1. Kontrol, siyez oranları: 2. %25 siyez, 3. %50 siyez, 4.%75 siyez, 5. %100 siyez



Şekil 4.26 Yüzdeyüz buğday un ile farklı maya kullanılarak üretilen SKE1 ve SEK kontrol ekmekleri



Şekil 4.27 *Lb.brevis* SB68, *Lb.plantarum* SB22, *S. cerevisiae* 3SM3-3 starter kültür içeren siyez ekmeklerinin dış ve iç kesit görüntüleri, 1. %100 buğday kontrol, siyez oranı 2. %25, 3. %50, 4. %75, 5. %100 siyez

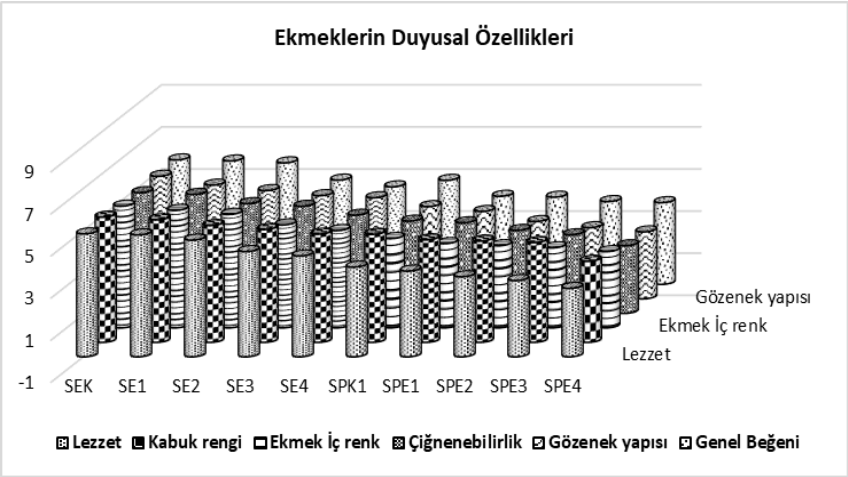


Şekil 4.28 *Lb.brevis* SB68, *Lb.plantarum* SB32, *S.cerevisiae* 3SM1-3 starter kültür içeren ekmeklerin dış ve iç kesit görüntüsü,1. %100 buğday kontrol, 2. %25, 3. %50, 4. %75, 5. %100 siyez



Şekil 4.29 Spontan ekşi hamur İçeren %100 buğday ve siyez unu ekmeklerinin iç kesiti

Starter kültürle üretilen ekmekler genel olarak değerlendirildiğinde spontan fermentasyonla üretilen ekmeklerden daha çok beğenilmiş olup aralarındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Siyez oranı arttıkça tat, kabuk-iç renk, gözenek yapısı çiğnenebilirlik ve genel beğeni açısından puanlama düşsede siyez oranı yüksek ekmeklerde starter kullanımı olumlu etki yapmış olup spontan fermentasyonla üretilenlerden daha yüksek değerlendirilmiş olup tüketici tercihinde suşların etkisi puanlamada fark oluşturmuştur (Tablo 4.14).



Şekil 4.30 Ekmek örneklerinin duyusal durumu

Gözenek yapısı bakımından SYE1 ve SE1 ekmekleri en çok beğenilmiştir. Starter kültürle üretilen ekmeklerde gözenek yapısı siyez oranı artışına bağlı olarak düşüş gösterse de iyi olarak skorlanmıştır. Tat açından en düşük spontan fermentasyonla üretilen ekmekler olup kullanılan laktik asit bakteri ve mayaların ekmeğin tadı üzerine olumlu katkısı panelistler tarafından belirlenmiştir (Şekil 4.30). En çok takdir edilen 5 üzerinde skorlananörnek *Lb. paraplantarum* SB22, *Lb. brevis* SB68, *S. cerevisiae* 3SM1-3 suş kombinasyonunu içeren (EHS1) ekşi hamur eklenmiş %25 ve %50 siyez unu katkılı SE1 ve SE2 ekşi hamur ekmeği olmuştur.

4.7 Kavuzsuz Arpa Unu Ekşi Hamuru ve Ekmeklerinin Kalite Özellikleri

4.7.1 Kavuzsuz Arpa Ekşi Hamurunun pH, TTA Değerleri ve LAB, Maya Sayımları

Kavuzsuz arpa spontan ekşi hamurdan izole edilmiş rekabet gücü yüksek asit ve tuza toleranslı iki laktik asit bakteri ve bir mayadan oluşan starter kültür kombinasyonu oluşturulmuştur (Şekil 4.31). Üretilen hamurlarda asitliğin artmasına bağlı olarak meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla yoğurma sonrası ve fermentasyon sonrası pH değerleri ölçülüp asitlik tespit edilmiştir (Tablo 4.15).



Şekil 4.31 Üretilen buğday unu ve kavuzsuz arpa ekşi hamur örnekleri

Tablo 4.15 Starter ve spontan ekşi hamurlarının pH, TTA ve mikrobiyolojik sayımlarının değerleri

Süre saat	EH çeşidi	Un Çeşidi	Suş Kombinasyonu	pH	TTA %	Lab (log kob/g)	Maya (log kob/g)
0.	ESB1	Buğday	SAB31-SAB15-SAM1-4	$5,62\pm0,0^{Cb}$	$0,27\pm0,1^{Aa}$	$7,67\pm0,3^{Aa}$	$6,23\pm0,2^{Aa}$
20.	ESB1	Buğday	SAB31-SAB15-SAM1-4	$3,71\pm0,1^{Cb}$	$1,23\pm0,2^{Ca}$	$9,04\pm0,6^{Ba}$	$7,05\pm0,2^{Ba}$
0.	ESA1	K.arpa	SAB31-SAB15-SAM1-4	$5,60\pm0,01^{Cb}$	$0,29\pm0,2^{Aa}$	$7,64\pm0,2^{Aa}$	$6,26\pm0,3^{Aa}$
20.	ESA1	K.arpa	SAB31-SAB15-SAM1-4	$3,62\pm0,0^{Db}$	$1,40\pm0,1^{Aa}$	$9,32\pm0,2^{Aa}$	$7,21\pm0,5^{Aa}$
0.	SHB1	Buğday	Spontan	$6,10\pm0,1^{Aa}$	$0,18\pm0,1^{Cb}$	$4,57\pm0,4^{Ba}$	$3,40\pm0,4^{Cb}$
20.	SHB1	Buğday	Spontan	$4,21\pm0,0^{Aa}$	$1,15\pm0,0^{Db}$	$8,46\pm0,7^{Db}$	$6,56\pm0,3^{Db}$
0.	SHA1	K.arpa	Spontan	$5,97\pm0,01^{Ba}$	$0.,23\pm0,3^{Bb}$	$4,46\pm0,6^{Cb}$	$3,52\pm0,5^{Bb}$
20.	SHA1	K.arpa	Spontan	$4,12\pm0,0^{Ba}$	$1,32\pm0,2^{Bb}$	$8,97\pm0,3^{Cb}$	$6,70\pm0,5^{Cb}$

Aynı kolondaki farklı büyük harfler ise aynı suşların un farklılığına göre farklılıklarını, farklı küçük harfler, suşlar arasındaki farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$).

Tablo 4.15 te oluşturulan kombinasyonlar ve ekmek kodları görülmektedir. ESB1 ekşi hamuru buğday unundan, ESA1 ekşi hamur ise kavuzsuz arpa unundan *Lb. paraplantarum* SAB15, *Lb. brevis* SAB31 ve *S. cerevisiae* SAM1-4 starter kültür kombinasyonu ile oluşturulmuştur. SHB1 buğday unundan ve SHA1 ekşi hamur ise kavuzsuz arpa unundan spontan olarak üretilmiştir. Tablo 4.15'te görüldüğü gibi pH ve TTA değerleri fermentasyonun başlangıcında starter ekşi hamurlarında benzer olup spontan ekşi hamurlarından düşük bulunmuştur. 20 saatlik fermentasyondan sonra, ekşi hamur numunelerinin pH değeri 3,62 ve 4,21 arasında değişirken, TTA değerleri %0,15 ile 1,40 arasında değişmektedir. Tablo 4.15'de seçilen türler ile hazırlanan starter ekşi hamurların fermentasyon başlangıcında LAB içeriği 7,64-7,67 log kob/g aralığında belirlenmiştir. Spontan fermente ekşi hamurların LAB miktarı 4,57-4,46 log kob/g aralığında bulunmuştur. Fermentasyonun başlangıcında kendiliğinden fermente ekşi

hamurların LAB içerikleri diğerlerinden önemli ölçüde düşük olmasına rağmen, fermentasyonun sonunda LAB sayımları 8,46, 8,97 log kob/g'a starter kültürden hazırlanan ekşi hamurların ise 9,04 - 9,32 log kob/g'a ulaşmıştır. *Lb. brevis*, *Lb. plantarum* ve *S. cerevisiae* ile hazırlanan ekşi hamurlardaki LAB sayısı spontan ekşi hamurlardan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda kavuzsuz arpa unundan hazırlanan ekşi hamur, buğday unundan hazırlanan ekşi hamurdan daha yüksek LAB içeriği bulunmuştur. Fermentasyonun başlangıcındaki maya sayıları starter kültürle hazırlanan hamurlardaki maya sayılarından istatistiksel olarak önemli bir farklılık görülmemiş olup (ortalama 6,3 log kob/g); bununla birlikte, kendiliğinden fermente olmuş maya hamurlarında maya sayısı başlangıçta 3,40-3,52 log kob/g olup starterlerden önemli ölçüde farklılık görülmüştür. ($p<0,05$). Starter ekşi hamurlarında 7,05-7,21 log kob/g iken spontan ekşi maya örneklerinin fermentasyon sonunda maya sayıları 6,56 log kob/g ile 6,70 log kob/g arasında değişmektedir. En düşük maya sayımı, fermentasyonun sonunda SHB1ekşi hamurunda görülürken en yüksek ESA1 starter arpa ekşi hamurunda görülmüştür. Yoğurma sonrası asitlik değerlerinde LAB suşlarının kullanıldığı hamur örnekleri ile kontrol grupları arasında asitlik düzeyleri bakımından istatiksel anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0,05$). Bunun temel nedeni bu gruplarda kullanılan LAB suşlarınınfermentasyon sürecinde laktik asit ve asetik asit gibi organik asitleri üretmelerinden dolayı hem yoğurma, hem de fermentasyondan sonra laktik asit bakterilerini içeren ekşi hamur kullanılan ekmek hamurlarının pH'sı hızlı düşmesine ve titrasyon asitliği değerlerinin ise artmasına sebep olmuştur [246]. Arpa unundan hazırlanan ekşi hamurda bakteri ve maya sayının yüksek bulunması pH düşüşünün daha yüksek olduğunu göstermiştir.

4.7.2 Üretilen Kavuzsuz Arpa Ekmeklerinin Hacim ve Sertlik Özellikleri

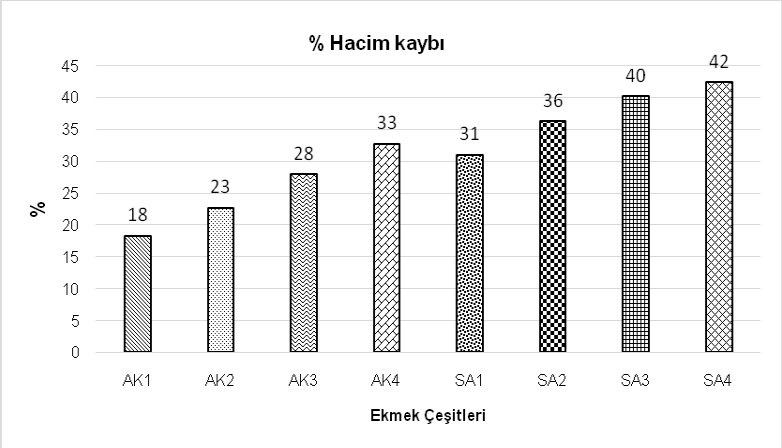
Ekşi hamur ekmek numunelerinin ağırlık, spesifik hacim, sertlik, yapışkanlık ve renk değerleri Tablo 4.16'da verilmiştir.

Tablo 4.16 Ekmek çeşitlerinin teknolojik özellikleri

Ekmek çeşidi	Un Çeşidi	Suş Kombinasyonu	Hacim ml	S. hacim ml/g	Sertlik N
AKE	%100 B	Starter	302,5±3,54^{Aa}	2,29±0,05^{Aa}	2,59±0,1^{Eb}
AK1	%25A %75B	Starter	254,9±0,14^{Ba}	1,87±0,00^{Ba}	3,56±0,8^{Db}
AK2	%50A %50B	Starter	243,1±6,22^{Ca}	1,77±0,04^{Ca}	7,52±0,2^{Cb}
AK3	%75A %25B	Starter	228,0±1,84^{Da}	1,65±0,02^{Da}	11,97±0,2^{Bb}
AK4	%100A	Starter	205,5±2,83^{Ea}	1,54±0,02^{Ea}	20,06±1,3^{Ab}
SK1	%100 B	Spontan	247,1±4,2^{Ab}	1,65±0,04^{Ab}	5,53±0,2^{Ea}
SA1	%25A %75B	Spontan	215,6±0,0^{Bb}	1,58±0,03^{Bb}	11.,86±0,3^{Da}
SA2	%50A %50B	Spontan	206,5±2,8^{Cb}	1,46±0,02^{Cb}	14,99±1.,1^{Ca}
SA3	%75A %25B	Spontan	194,4±4,2^{CDb}	1,37±0,01^{Db}	17,77±0,8^{Ba}
SA4	%100A	Spontan	181,9±2,1^{Eb}	1,32±0,03^{Eb}	27,06±1,1^{Aa}

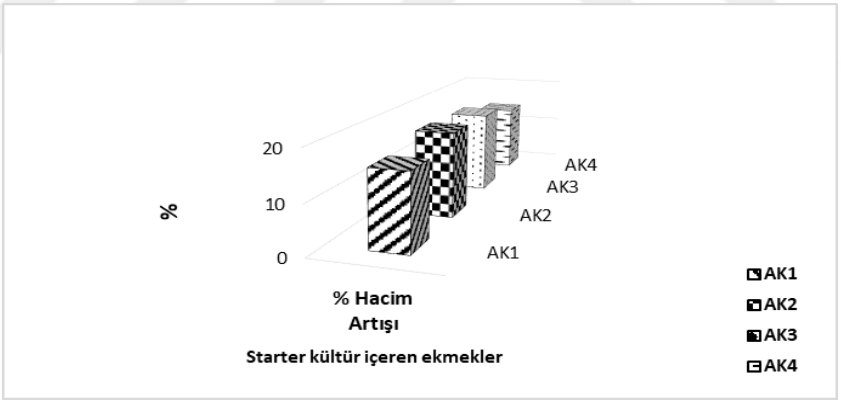
Aynı kolondaki farklı büyük harfler ise aynı suşların un farklılığına göre farklılıklarını, farklı küçük harfler, suşlar arasındaki farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$).

Tabloya göre ekmek hacmi 302,5 ml-181,90 ml; spesifik hacim 2,29 ml/g -1,32 ml/g aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Arpanın buğday bazlı gıdalara dahil edilmesi, arpa bileşenlerinin gluten oranının düşmesine ve fizikokimyasal özelliklerinin birleşik etkileri nedeniyle hamur gücünün azalmasına neden olmaktadır [223]. ESB1 ekşi hamurla üretilen buğday unu AKE kontrol ekmeği, SHB1 spontan ekşi hamur içeren SK1 buğday unu kontrol ekmeğinden daha yüksek hacim ve spesifik hacim kabul görülmüştür. Buğday ununda etkili olan seçilen suşlar kavuzsuz arpa unu ile hazırlanan ekşi hamurda da etkili olmuş olup ESA1 starter kültürle hazırlanan arpa unu katkılı ekmekler SHA1 spontan ekşi hamurla hazırlanan arpa unu katkılı ekmeklerden hacim ve spesifik hacim değerleri istatistiksel açıdan önemli farklılık göstermiştir ($p<0,05$) (Tablo 4,16). Hacim AKE kontrol ekmeğine en yakın starter ekşi hamurdan üretilen AK1 ekmeğinde görülmüştür. En düşük hacim ise spontan SA4 ekmeğinde görülmüştür.



Şekil 4.32 AKE kontrol ekmeğinin hacmine göre ekmek çeşitlerinin hacim kaybı

Bu durum sonucuna göre Şekil 4.32'de görüldüğü gibi AKE kontrol ekmeğine, göre AK1 ekmeği %18, AK2 ekmeği %23, AK3 ekmeği %28, AK4 ekmeği %33, spontan ekmekler ise SA1 ekmeği %31, SA2 ekmeği %36, SA3 ekmeği %40 ve SA4 ekmeği ise %42 daha düşük hacime sahip bulunmuştur. Spontan ekşi hamur ekmeklerinin starter ekşi hamur ekmeklerinden % hacim kaybı sırasıyla SA4>SA3>SA2>SA1>SK1 şeklinde sıralanmıştır.



Şekil 4.33 Starter kültür ile üretilen ekmeklerin spontan katkılı ekmeklere göre %hacim artışı

Starter kültürle üretilen ekmeklerin spontan fermentasyonla üretilen ekmelerin hacmine göre en yüksek artış %18 oranında belirlenen AK2 ekmeği ile %17 oranında artış ile AK3 ekmeğinde belirlenmiştir (Şekil 4.33). Starter kültürle üretilmiş kavuzsuz arpa ekmeklerinde hacim artışı beklendiği gibi en yüksek buğday unu katkılı ekmeklerde görülmüştür. ESA1 starter ekşi hamurdan üretilen kavuzsuz arpa ekmeklerinde ve SHA1 spontan ekşi hamurla üretilen ekmeklerde arpa oranı artıkça hacim ve spesifik hacim düşüşü gözlenmiş olsa da starter ekmeklerin hacmi ve spesik hacmi spontan fermentasyonla üretilenlerden yüksek bulunmuştur. Tekstür analizi (Tablo 4.16)

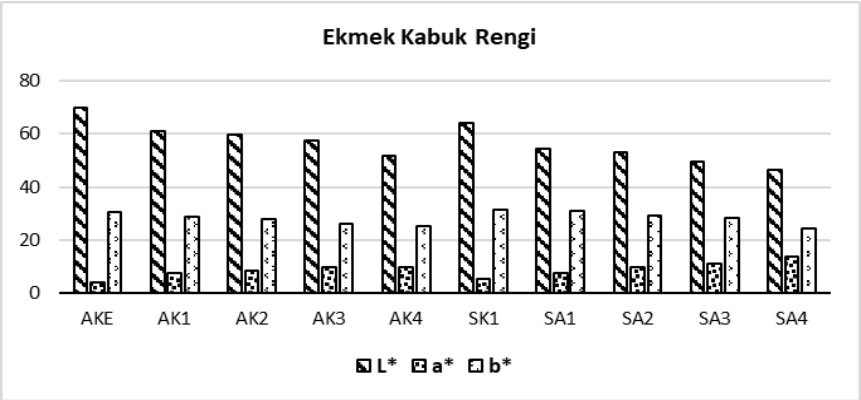
sonucuna göre buğday unu oranı artıkça sertlikte düşüş görülmektedir. Starter kültürle üretilmiş ekmeklerde sertlik değeri 2,59-20,06N iken spontan fermentasyonla üretilen ekmeklerde ise 5,53-27,06N olarak bulunmuştur. En düşük sertlik AK1 ekmeğinde görülmüş olup en yüksek sertlik spontan ekşi hamur ekmeği olan SA4 ekmeğinde tespit edilmiştir. Özellikle sertliği diğer ekmeklerden yüksek olan %100 arpa unu içeren SA4 ekmeği SK4 ekmeğinden %26 daha sert bulunmuştur. Spontan arpalı ekmekler starter arpalı ekmeklerden daha sert olup buğday unu artışına bağlı olarak azalma göstermiş olup suş içeren kavuzsuz arpa ekmeklerinde de sertlik azalışı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

4.7.3 Kavuzsuz Arpa Unu Ekmeklerinin Renk ve Duyusal Özellikleri

Tablo 4.17 Ekmeklerin renk özellikleri

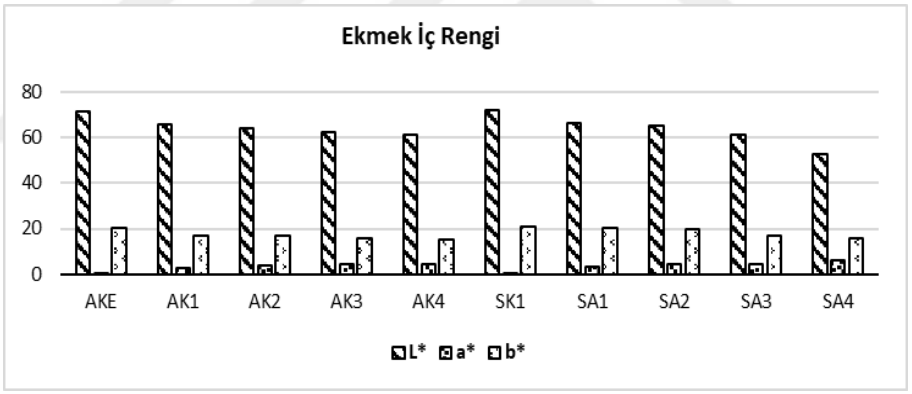
	Kabuk Rengi			Ekmek İçi Renk		
Ekmek Çeşidi	**L***	**a***	**b***	**L***	**a***	**b***
AKE	$70,01\pm0,38^{Aa}$	$3,98\pm0,20^{Db}$	$30,43\pm0,34^{Ab}$	$71,64\pm0,12^{Aa}$	$0,28\pm0,01^{Eb}$	$20,56\pm0,3^{Ab}$
AK1	$60,99\pm0,08^{Ba}$	$7,55\pm0,71^{Cb}$	$28,64\pm0,25^{Bb}$	$65,97\pm0,61^{Ba}$	$2,95\pm0,08^{Da}$	$17,17\pm0,30^{Bb}$
AK2	$59,90\pm0,04^{Ca}$	$8,63\pm0,51^{Bb}$	$28,01\pm0,14^{Cb}$	$64,14\pm0,04^{Ca}$	$3,63\pm0,07^{Ca}$	$16,87\pm0,29^{BCb}$
AK3	$57,72\pm0,09^{Da}$	$9,94\pm0,45^{Ab}$	$26,32\pm0,39^{Db}$	$62,62\pm0,05^{Da}$	$4,16\pm0,11^{Ba}$	$16,03\pm0,20^{Cb}$
AK4	$51,97\pm0,05^{Ea}$	$9,97\pm0,17^{Ab}$	$25,32\pm0,38^{Eb}$	$61,49\pm0,23^{Ea}$	$4,49\pm0,15^{Aa}$	$15,19\pm0,34^{Cb}$
SK1	$63,98\pm0,39^{Aa}$	$5,48\pm0,27^{Ea}$	$31,64\pm0,26^{Aa}$	$71,88\pm0,44^{Aa}$	$0,29\pm0,14^{Eb}$	$20,64\pm0,56^{Aa}$
SA1	$54,6\pm0,60^{Ba}$	$7,63\pm0,14^{Da}$	$30,92\pm0,14^{Aa}$	$66,28\pm0,24^{Ba}$	$3,10\pm0,06^{Db}$	$20,50\pm0,14^{ABa}$
SA2	$53,11\pm0,41^{Ca}$	$9,75\pm0,10^{Ca}$	$29,17\pm0,84^{Ba}$	$65,14\pm0,11^{Ca}$	$4,18\pm0,11^{Cb}$	$19,95\pm0,54^{Ba}$
SA3	$49,65\pm0,42^{Da}$	$10,97\pm0,22^{Ba}$	$28,35\pm1,39^{Ba}$	$61,43\pm0,12^{Db}$	$4,43\pm0,04^{Ba}$	$16,24\pm0,13^{Ca}$
SA4	$46,67\pm1,31^{Ea}$	$14,01\pm0,09^{Aa}$	$24,41\pm1,30^{Ca}$	$52,58\pm0,26^{Eb}$	$5,97\pm0,2^{Aa}$	$15,64\pm0,30^{Ca}$

Aynı kolondaki farklı büyük harfler ise aynı suşların un farklılığına göre farklılıklarını, farklı küçük harfler, suşlar arasındaki farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$).



Şekil 4.34 Arpa ekmeklerinin kabuk renk (L*, a*, b*) değerleri

Tablo 4.17'de görüldüğü gibi arpa unu oranı artışı ekmek renk parametrelerini önemli ölçüde etkilemiştir ($p<0,05$). Kabukta arpa oranı arttıkça L* değeri ve b* değerinin düştüğü gözlenmiştir. Ayrıca a* değeri arpa oranı artıkça artış göstermiş olup spontan fermentasyonla üretilmiş ekmeklerde suş kullanılanlara göre daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.34). Starter kültür içeren ekmeklerde b* değeri spontanlardan düşük bulunmuştur. Spontan ekmekler daha kırmızı ve daha sarı bulunmuştur.



Şekil 4.35 Arpa ekmeklerinin ekmek içi renk (L*,a*,b*)değerleri

Ekmek içi L* değeri arpa ilavesi artıkça düşsede suş kullanılan ekmekler spontanlardan daha parlak bulunmuştur. Kırmızılık (a*) ekmek içinde artış gösterse de spontan fermentasyonla üretienlerin daha yüksek değere sahip oldukları belirlenmiştir. Sarılık (b*) değeride %100 arpa unu içeren ekmeklere doğru düşüş göstermiş olup starter kültür içeren ekmekler de spontan fermentasyonla üretilen ekmeklere göre daha düşük değerde belirlenmiştir. Arpa ilavesi artıkça ekmek içi de daha düşük sarı (daha düşük b*) ve daha fazla kırmızı renk (daha yüksek a*) oluşumu ile daha koyu hale gelmiştir (Şekil 4.35). Benzer çalışma yapan Blandino vd. [327] ve Holtekjølen vd. [223] arpa

ürünlerinin buğday ekmeğine dahil edilmesinin daha yüksek a* değerleri ile sonuçlandığını göstermiştir.



Şekil 4.36 Spontan kavuzsuz arpa unu ekmeklerin dış ve iç kesit görüntüsü 1. kontrol %100 buğday, kavuzsuz arpa unu oranı 2. %25, 3. %50, 4. %75, 5. %100



Şekil 4.37 *Lb. brevis* SAB31, *Lb. plantarum* SAB15, *S. cerevisiae* SAM1-4 starter kültür içeren kavuzsuz arpa unu ekmeklerinin dış ve iç kesit görüntüsü, 1. % buğday kontrol, 2. %25, 3. %50, 4. %75, 5. %100 kavuzsuz arpa

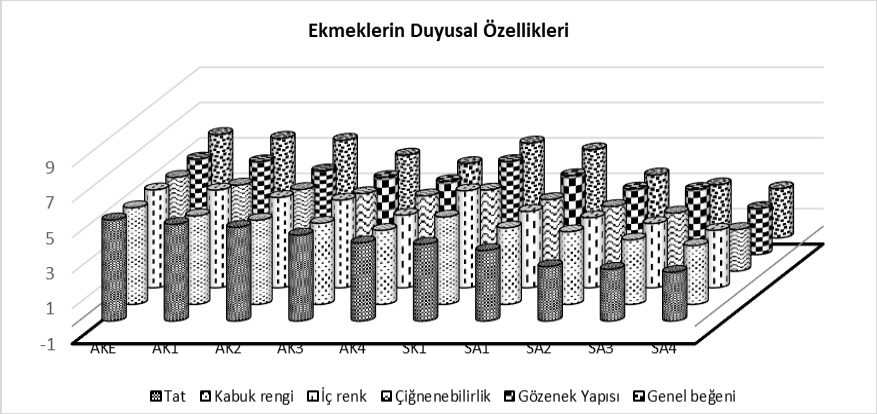
Ekmek örneklerinin duyusal özellikleri Tablo 4.18' de verilmiştir. Panelistler örnekleri tat, aroma, gözenek yapısı, kabuk ve iç renk, çiğnenebilirlik ve genel beğeni açısından değerlendirmiştir (Şekil 4.36, 4.37).

Tablo 4.18 Üretilen ekmeklerin duyusal özellikleri

Ekmek Çeşidi	Tat	Kabuk rengi	İç renk	Çiğnenebilirlik	Gözenek Yapısı	Genel beğeni
AKE	5,71±0,06^{Aa}	5,46±0,18^{Aa}	5,53±0,10^{Aa}	5,30±0,18^{Aa}	5,39±0,03^{Aa}	5,84±0,08^{Aa}
AK1	5,46±0,14^{Ba}	5,00±0,11A^{Ba}	5,52±0,03^{Aa}	4,86±0,06^{Ba}	5,24±0,15^{Aa}	5,63±0,13^{Ba}
AK2	5,29±0,05^{Ba}	4,76±0,13^{BCa}	5,1±0,14^{Ba}	4,61±0,10^{BCa}	4,72±0,14^{ABa}	5,52±0,02^{Ba}
AK3	4,85±0,10^{Ca}	4,58±0,34^{Ca}	4,95±0,06^{Ba}	4,38±0,06^{CDa}	4,35±0,18^{Ca}	4,68±0,12^{Da}
AK4	4,41±0,12^{Da}	4,18±0,08^{Da}	4,50±0,07^{Ca}	4,25±0,12^{Da}	4,12±0,04^{Da}	4,20±0,03^{Ea}
SK1	4,33±0,07^{Ab}	4,94±0,08^{Ab}	5,48±0,27^{Ab}	4,58±0,42^{Ab}	5,25±0,15^{Ab}	5,36±0,11^{Ab}
SA1	3,98±0,04^{Bb}	4,32±0,04^{Bb}	4,31±0,44^{Bb}	4,04±0,26^{ABb}	4,45±0,18^{Bb}	4,98±0,24^{Ab}
SA2	3,07±0,10^{Cb}	4,10±0,34^{BCb}	3,96±0,34^{BCb}	3,65±0,11^{BCb}	3,70±0,22^{Cb}	3,56±0,18^{Bb}
SA3	2,92±0,11^{CDb}	3,64±0,34^{CDb}	3,63±0,29^{BCb}	3,28±0,05^{Cb}	3,68±0,05^{Cb}	3,00±0,20^{Cb}
SA4	2,75±0,08^{Db}	3,32±0,05^{Db}	3,25±0,15^{Cb}	2,35±0,10^{Db}	2,60±0,17^{Db}	2,79±0,11^{Cb}

Aynı kolondaki farklı büyük harfler ise aynısuşların un farklılığına göre farklılıklarını, farklı küçük harfler suşlar arasındaki farklılığı belirtmektedir ($p<0,05$).

Arpa bakımından zengin ekmeklerin tat, kabuk- iç rengi, gözenek yapısı ve çiğnenebilirlik açısından Starterle üretilmiş kontrol ekmeğe göre (SKE) en çok beğenilen ESA1 ekşi hamurla üretilen AK1 ve AK2 ekmekleri skorlanmış olup, en düşük puanlama ise SHA1 spontan ekşi hamurla üretilen SA4 ekmeğinde görülmüştür. Aynı zamanda kavuzsuz arpa oranı en yüksek oranda içeren AK3 ve AK4 ekmekleri SA3 ve SA4 ekmeklerinden lezzet, kabuk-iç renk, gözenek yapısı çiğnenebilirlik ve genel beğeni açısından daha yüksek skorlanmıştır (Şekil 4.36, Şekil 4.37).



Şekil 4.38 Ekmek örneklerinin duyusal durumu

Tüm ekmeklerde kabuk ve iç rengi arpa unu artıkça düşük puanlansa da tüketici tercihi olarak iyi olarak değerlendirilmiştir. AK1 ve AK2 örnekleri iç renk ve dış kabuk rengi bakımından en çok tercih edilen örnekler olarak bulunmuştur. Gözenek yapısı ve çiğnenebilirlik puanları en yüksek AK1 ve AK2 ekmekleri olsa da AK3 ve AK4 ekmekleri de 4'ün üzerinde puanlamıştır. Spontan ekmekler de buğday unu oranı artışına bağlı olarak gözenek yapısı ve çiğnenebilirlik puanı artsa da 4'ün üzerine çıkamamıştır. En düşük SA4 ekmeğinde görülmüş olup çok kötü olarak değerlendirilmiştir. Genel beğeni olarak düşük puanlara sahip olan spontan fermentasyon ile hazırlanan ekşi hamur ilavesiyle üretilen SA3 ve SA4 kavuzsuz arpa ekmeği örnekleri, genel tercih puanları açısından en az takdir edilen ekmek örnekleri olmuşlardır (Şekil 4.38). En çok beğenilen örnek *Lb. plantarum* SAB15, *Lb. brevis* SAB31, *S. cerevisiae* SAM1-4 kültür kombinasyonunu içeren EHA1 ekşi hamur eklenmiş %25 ve %50 arpa unu katkılı AK1(5.60) ve AK2 (5.16) ekşi hamur ekmeği olmuştur. Duyusal özellikler açısından kontrol ekmekler ile kıyaslandığında starter ile üretilen ekmekler spontan katkılı ekmeklerden yüksek puanlanmış olup suşun ekmeğin duyusal özellikleri üzerine olumlu katkısı tüketici tercihi ile belirlenmiştir. Aynı zamanda da panelistlerce ekşi hamur içeriğinin %100 arpa unu içeren AK4 ve SA4 ekmeklerinde yoğun arpa tadını baskıladığı görüşünde bulunmuşlardır.

5
SONUÇ VE ÖNERİLER

Biyoteknolojik bir ürün olan ekşi hamurun hamur çeşidine bağlı olarak sayı ve tür bakımından farklılık gösteren LAB ve mayalar bulunmaktadır. Buğday dışı tahılların hem besleyici hem teknolojik açıdan iyileştirilmesinde LAB mikrobiyotası ve karakterizasyonu çok önemli olup bu unların biyoçeşitliliği ve starter kültürün seçimi için araştırılmalar son yıllarda artmıştır. Ülkemizde yetiştirilen besinsel değeri yüksek olan siyez ve kavuzsuz arpa ununun mikrobiyotası üzerine az sayıda çalışma bulunmaktadır. Ayrıca siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamurunun ekmek yapımında kullanımına yönelik çalışmalar azdır. Bu çalışmada siyez ve kavuzsuz arpa ununda spontan ekşi hamur üretilerek LAB ve maya mikrobiyotası araştırılmıştır. Bu amaçla öncelikle hızlı bir ön tanımlama amacıyla FTIR kullanılmış daha sonra moleküler yöntem olan PCR ile moleküler olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan bu LAB ve mayaların teknolojik özellikleri incelenerek uygun ekşi hamur formülasyonu belirlenmeye çalışılmıştır. Siyez ve kavuzsuz arpa ununda ekşi hamur üretilmiş ve bu ekşi hamur örnekleri ile ekmek üretilerek siyez ve kavuzsuz arpa ekmeklerin teknolojik özellikleri incelenmiştir. Bu kapsamda elde edilen ana sonuçlar şu şekilde özetlenebilir:

- Siyez ununda spontan olarak hazırlanan ekşi hamur 4 günlük besleme sonunda pH ve maya/ LAB oranı olgun ekşi hamur için yeterli olduğu belirlenmiştir. Kavuzsuz arpa ununda hazırlanan spontan ekşi hamur ise 3 gün beslemenin sonunda maya/LAB sayısı olgun bir ekşi hamur üretimi için uygun olduğu görülmüştür.
- Siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamurunun LAB biyoçeşitliliğini belirlemek açısından ModMRS, MRS, MRS-5 ve Rogosa agar gibi faklı besiyerlerine ekim yapılarak bakteri izole edilmiştir. Siyez ekşi hamurunda en yüksek LAB miktarı ModMRS agarda en düşük değer MRS-5 agarda belirlenmiş olup kavuzsuz arpa ekşi hamurunda ise en yüksek değer ModMRS ve MRS agarda en düşük değer ise MRS agarda görülmüştür. LAB tür çeşitliliği açısından ModMRS ve MRS-5 agar ortamları biyoçeşitliliği belirlemek açısından uygun bulunmuştur.

- Siyez ve kavuzsuz arpa ekşi hamurundan izole edilen izolatlara ilk olarak FTIR'da ön tanımlama yapılmıştır. Siyez ekşi hamurundan elde edilen 57 izolattan 42'si FTIR'da iyi sonuç vererek LAB olarak tanımlanmıştır. Cluster analizine göre farklı branşlardan 32 temsili LAB'leri seçilmiştir. Seçilen 16S rDNA sekanslaması sonuçlarına göre *Lb. crustorum*, *Pediococcus spp., Lb. brevis, Lb. paraplantarum*, *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum*, *Lb. curvatus* olmak üzere farklı LAB'leri tanımlanmıştır. Siyez ekşi hamurunda dominant tür olarak *Lb. crustorum* bulunmuştur.
- Kavuzsuz arpa ekşi hamurundan elde edilen 80 izolattan 67'si FTIR'da iyi sonuç vererek LAB olarak tanımlanmıştır. Cluster analizine göre farklı branşlardan 32 temsili LAB'leri seçilmiştir. Seçilen 16S rDNA sekanslaması sonuçlarına göre dokuz ana grup kümelenmiş olarak *Pedioscoccus* spp*., Lb. brevis*, *Lb. curvatus*, *Lb. fermentum*, *Lb. crustorum/Lb.musae*, *Lb. plantarum*, *Lb. paralimentarius*, *Lb. equigenerosi* ve *Leu. mesenteroid*es LAB'leri tanımlanmış olup *Pediococcus* kavuzsuz arpada baskın cins olarak belirlenmiştir. *Lb. crustorum/Lb.musae* ayrımı tam olarak yapılamamıştır.
- Yapılan çalışmada siyez ve kavuzsuz arpa unlarından laboratuvar şartlarında geri beslemeli olarak üretilen spontan ekşi hamurlarından izole edilen mayalardan FTIR'da tanımlandıktan sonra 26S rDNA sekanslaması sonuçlarına göre baskın tür *S. cerevisiae* belirlenmiştir. Bunun dışında *C. glabrata*, *W. anomalus* her iki ekşi hamurda belirlenmiş olup *R. mucilaginosa* ise siyez ekşi hamurundan tanımlanmıştır.
- Tanımlanan LAB'lerin NaCl, safra tuzu ve pH'ya karşı dirençleri (% canlılıkları) belirlenmiş olup antibakteriyel, antifungal ve fitaz aktiviteleri gibi teknolojik özellikleri incelenmiştir. Siyez ekşi hamurundan tanımlanan LAB'lerinin her bir türünden seçilen 13 LAB ve kavuzsuz arpa ekşi hamurununda tanımlanan her bir türden seçilen 19 LAB'nin asit ve tuza toleranslı bakteriler olduğu belirlenmiştir. *Lb. fermentum* SB19, *P. acidilactici* 2AB, *Lb. crustorum* SB7, *Lb. crustorum* 17AB, *Lb. brevis* SB68 ve *Lb. plantarum* SB21 ve *Lb. paraplantarum* SB22 NaCl, safra ve aside karşı %90 üzerinde canlılık gözlenmiştir.
- Kavuzsuz arpadan seçilen *P. acilactici* SAB19, *P. acilactici* SAB10*, P. acilactici S*AB13*, P. acilactici* SAB26, *P. pentosaceus SAB7*, *Lb. curvatus*

SAB30, *Lb. curvatus* SAB35, *Lb. curvatus* SAB1, *Lb. equigenerosi* SAB21, *Lb. brevis* SAB31, *Lb. brevis* SAB34*, Lb. brevis* SAB16, *Lb. plantarum* SAB30*, Lb. plantarum* SAB15 *ve Lb. plantarum* SAB32 NaCl, safra ve aside karşı %90 üzerinde canlılık gözlenmiştir.

- LAB'lerin antibakteriyal açıdan incelendiğinde siyezden teknolojik özellikleri incelenen 13 LAB'si *B. subtilis'*e karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, kavuzsuz arpadan teknolojik özellikleri incelenen 19 LAB'den 2 tanesi hariç (*Lb. curvatus* SAB35, *Lb. plantarum* SAB31) geri kalan bakteriler *B. subtilis'*e karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. *Lb. plantarum* SB22, *P. acidilactici* 2AB, *P. acidilactici* SAB26, *P. acidilactici* SAB13, *P. acidilactici* SAB12, *Lb. curvatus SAB33, Lb. curvatus SAB1, Leu. mesenteroides SAB20, Lb. plantarum SAB15, Lb. equigenerosi SAB21, Lb. musae SAB3 B. subtilis* ATCC6633, *B. cereus* ATCC 11778 ve *E. coli* ATCC 25922'ye karşı (>10mm zonantimikrobiyal aktivite göstermiştir.
- LAB türlerinin *Penicillium carneum*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger*'e karşı antifungal aktivitesi incelenmiştir. *Lb. paraplantarum* SB22, *Lb. crustorum* SB7, *Lb. crustorum* 17AB ve *Lb. brevis* SB68, *Lb. paralimentarius* SAB23, *Lb. brevis* SAB16, *Lb. brevis* SAB31, *P. acidilactici* SAB26, *Lb. plantarum* SAB15, *P. acidilactici* SAB10 ve *P. acidilactici* SAB13 *Penicillium carneum*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger* küflerine karşı antifungal aktivite göstermiştir.
- En yüksek fitaz aktivitesi laktik asit bakterilerinden *Lb. paraplantarum* SB22 *ve Lb. plantarum* SB17 (14mm), *P. pentosaceus* SAB7, *Leu. mesenteroides* SAB20 ve *Lb. plantarum* SAB15 izolatlarında belirlenmiştir.
- Siyez ve kavuzsuz arpadan teknolojik özellikleri incelenen mayalardan 3SM1-3, 3SM3-3, 3SM7-0, 4SAM2-4, SAM1-4 kodlu *S. cerevisiae* NaCl'ye ortalama %98, safraya ortalama %97 ve aside karşı ortalama %96 canlılık göstermişlerdir.
- Tanımlanan tüm mayalarda fitaz aktivitesi görülse de en yüksek fitaz aktivitesi *S. cerevisiae* 3SM7-0 ve *C. glabrata* 3SAM1-4'te görülmüştür. Ayrıca 3SM3-3, SM7-0 ve SAM1-4 kodlu *S. cerevisiae*'da da görülmüştür.
- *S. cerevisiae* 3SM3-3, *W. anomalus* 2SM2-1, *R. mucilaginosa* SM2-0, *S. cerevisiae* 3SM7-0, *W. anomalus* SAM1-2, *S. cerevisiae* SAM1-4 türlerinde *B. subtilis*'e karşı antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir.

- Teknolojik özellikleri incelen LAB ve mayalardan starter kombinasyonu oluşturularak siyez ve kavuzsuz arpa ekmeği yapılmıştır. Siyez unu spontan ekşi hamurundan izole edilmiş rekabet gücü yüksek asit ve tuza toleranslı 3SM3-3 ve 3SM1-3 kodlu 2 farklı *S. cerevisiae* ile SB22 *Lb. plantarum,* SB68 *Lb. brevis* izolatlarından üretilen SS1 ve EHS1 ekşi hamurlarının siyez ve siyez-buğday ekmeği üzerinde kullanım potansiyeli incelenmiştir.
- Kavuzsuz arpa unu spontan ekşi hamurundan izole edilmiş rekabet gücü yüksek asit ve tuza toleranslı SAM1-4 kodlu *S. cerevisiae* ile SAB15 kodlu *Lb. platarum*, SAB31 kodlu *Lb. brevis* izolatlarından üretilen ESA1 ekşi hamurunun kavuzsuz arpa ekmeği üzerinde kullanım potansiyeli araştırılmıştır.
- Üretilen ekşi hamurların pH'ları 20. saat sonunda pH 4,00 ve altına düşmüştür.
- Starter ekşi hamurları spontanlardan LAB ve maya sayımları bakımından daha yüksek düzeyde bulunmuştur.
- SS1, EHS1 ekşi hamur içeren siyez unu katkılı ekmekler ile ESA1 ekşi hamur içeren kavuzsuz arpa unu katkılı ekmeklerin göre hacim ve spesifik hacimleri spontan üretilen ekmeklere göre önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir.
- Tekstür değerleri açısından buğday unu oranı artan siyez ve kavuzsuz arpa unu ekmeklerin daha iyi bulunduğu ve spontan ekmekler starter kullanılarak üretilen ekmeklere göre daha sert bulunmuştur.
- Buğday unu ilavesi siyez ve kavuzsuz arpa unu ekmek örneklerinin, L* (parlaklık) değerini, hem ekmek içinde hem de ekmek kabuğunda arttırmıştır. Parlaklık aynı zamanda starter ekmeklerde spontan ekmeklere göre daha yüksek bulunmuştur.
- Siyez ekmeklerinde siyez oranı artışına bağlı olarak kabuk renginde a* değeri daha yüksek bulunurken, b* değerinin azaldığı görülmüştür. Ekmek içi ise siyez oranı artışına bağlı olarak a* ve b* değerlerinde artış görülürken, suş kullanımı b* değerini düşürmüştür. Siyez ilavesi ekmek içini daha az kırmızı daha fazla sarı renk oluşumu görülmüştür.
- Kavuzsuz arpa ekmeklerinde kabukta arpa oranı arttıkça L* değeri ve b* değerinin düştüğü a* değerinin arttığı gözlenmiştir. Arpa ilavesi artıkça ekmek içinde daha fazla kırmızı renk (daha yüksek a*) ve daha düşük sarı (daha düşük b*) görülmüştür. Starter kültür katkılı ekmekler spontan ekşi hamur içeren ekmeklere göre daha az sarı ve kırmızı belirlenmiştir.

- Duyusal analiz sonuçlarına göre siyez ve kavuzsuz arpa ekmeklerinde starter içeren ekşi hamur ekmekleri spontan fermentasyonla üretilenlere göre daha çok beğenilmiş olup buğday unu katkılı ekmekler tat, tekstür, renk, çiğnenebilirlik ve genel kabul açısından beğenisi daha yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonucu olarak siyez ve kavuzsuz arpa ununun teknolojik özelliklere sahip LAB ve maya açısından yeni bir kaynak olduğu belirlenmiştir. LAB ve maya izolatlarından farklı türler seçmek için genotipleme öncesi FTIR analizinin kullanımının, seçim hızını arttırarak iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Çalışma sonucunda ekmek kalite parametreleri, duyusal analiz sonuçları göz önüne alındığında *Lb. paraplantarum* SB22, *Lb. brevis* SB68, *S. cerevisiae* 3SM1-3 starter kültürünün siyez ve siyez-buğday ekmeği üzerinde, *Lb. plantarum* SAB15, *Lb. brevis* SAB31 ve *S. cerevisiae* SAM1-4'ün ise kavuzsuz arpa-buğday unu katkılı ekmeklerde kullanımı önerilmektedir. Siyez ve kavuzsuz arpa unlarının %15 üzerinde bir oranda katılımının ürün özelliklerini olumsuz etilediği bildirilmiştir. Fakat ekşi hamur fermentasyonu ile bu miktarın artırılabilmesinin mümkün olduğu belirlenmiştir. Böylece, besleyici özellikleri yüksek bu unların kullanımın oranları artırılabilecektir.

KAYNAKÇA

[1] Weckx, S. Van der Meulen, R. Allemeersch, J. Huys, G. Vandamme, P. Van Hummelen, P. ve De Vuyst, L., (2010). "Community dynamics of bacteria in sourdough fermentations as revealed by their metatranscriptome", Applied and Environmental Microbiology, 76: 5402-5408.

[2] Gobbetti, M. Corsetti, A. ve Rossi, J., (1994). "The sourdough microflora. Interactions between lactic acid bacteria and yeasts: metabolism of carbohydrates", Applied Microbiology and Biotechnology, 41: 456-460.

[3] Minervini, F. De Angelis, M. Di Cagno, R. ve Gobbetti, M., (2014). "Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough", International Journal of Food Microbiology, 171: 136-146.

[4] Corsetti, A. Gobbetti, M. ve Smacchi, E., (1996). "Antibacterial activity of sourdough lactic acid bacteria: isolation of a bacteriocin-like inhibitory substance fromLactobacillus sanfranciscoC57", Food Microbiology, 13: 447-456.

[5] Gobbetti, M., (1998). "The sourdough microflora: interactions of lactic acid bacteria and yeasts", Trends in Food Science & Technology, 9: 267-274.

[6] Gänzle, M.G. Ehmann, M. ve Hammes, W.P., (1998). "Modeling of growth of Lactobacillus sanfranciscensis and Candida milleri in response to process parameters of sourdough fermentation", Applied and Environmental Microbiology, 64: 2616-2623.

[7] Cavallo, N. De Angelis, M. Calasso, M. Quinto, M. Mentana, A. Minervini, F. Cappelle, S. ve Gobbetti, M., (2017). "Microbial cell-free extracts affect the biochemical characteristics and sensorial quality of sourdough bread", Food Chemistry, 237: 159-168.

[8] Rieder, A. Holtekjølen, A.K. Sahlstrøm, S. ve Moldestad, A., (2012). "Effect of barley and oat flour types and sourdoughs on dough rheology and bread quality of composite wheat bread", Journal of Cereal Science, 55: 44-52.

[9] Sullivan, P. Arendt, E. ve Gallagher, E., (2013). "The increasing use of barley and barley by-products in the production of healthier baked goods", Trends in Food Science & Technology, 29: 124-134.

[10] Škrbić, B. Milovac, S. Dodig, D. ve Filipčev, B., (2009). "Effects of hull-less barley flour and flakes on bread nutritional composition and sensory properties", Food Chemistry, 115: 982-988.

[11] Hidalgo, A. ve Brandolini, A., (2008). "Protein, ash, lutein and tocols distribution in einkorn (Triticum monococcum L. subsp. monococcum) seed fractions", Food Chemistry, 107: 444-448.

[12] Hidalgo, A. ve Brandolini, A., (2014). "Nutritional properties of einkorn wheat (Triticum monococcum L.)", Journal of the Science of Food and Agriculture, 94: 601-612.

[13] Zengin, G., (2015). Bazı ilkel buğdaylarda kalite parametrelerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma, ed^eds.: Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

[14] Turantaş, F., (1999). "Fermentasyonda rol oynayan mikroorganizmalar", Gıda Mikrobiyolojisi.

[15] Gerçekaslan, K.E. Kotancılar, H.G. Kaban, G. ve Karaoğlu, M.M., (2012). "Vakfıkebir Ekmek Hamurundan Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Tanısı", Academic Food Journal, 10.

[16] Clarke, C.I. ve Arendt, E.K., (2005). "A review of the application of sourdough technology to wheat breads", Advances in food and nutrition research, 49: 137-161.

[17] Galli, A. Franzetti, L. ve Fortina, M., (1988). "Isolation and identification of sourdough microflora", Microbiologie Aliments Nutrition, 6: 345-351.

[18] Gabriel, V. Lefebvre, D. Vayssier, Y. ve Faucher, C., (1999). "Characterization of the microflora from natural sourdoughs", Microbiologie Aliments Nutrition, 17: 171-179.

[19] Rocha, J.M. ve Malcata, F.X., (1999). "On the microbiological profile of traditional Portuguese sourdough", Journal of Food Protection, 62: 1416-1429.

[20] Corsetti, A. Lavermicocca, P. Morea, M. Baruzzi, F. Tosti, N. ve 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.

[21] De Vuyst, L. Schrijvers, V. Paramithiotis, S. Hoste, B. Vancanneyt, M. Swings, J. Kalantzopoulos, G. Tsakalidou, E. ve Messens, W., (2002). "The biodiversity of lactic acid bacteria in Greek traditional wheat sourdoughs is reflected in both composition and metabolite formation", Applied and Environmental Microbiology, 68: 6059-6069.

[22] Meroth, C.B. Walter, J. Hertel, C. Brandt, M.J. ve Hammes, W.P., (2003). "Monitoring the bacterial population dynamics in sourdough fermentation processes by using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis", Applied and Environmental Microbiology, 69: 475-482.

[23] Corsetti, A. Settanni, L. Valmorri, S. Mastrangelo, M. ve Suzzi, G., (2007). "Identification of subdominant sourdough lactic acid bacteria and their evolution during laboratory-scale fermentations", Food Microbiology, 24: 592-600.

[24] Hansen, A. ve Schieberle, P., (2005). "Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: applied and fundamental aspects", Trends in Food Science & Technology, 16: 85-94.

[25] De Vuyst, L. ve Neysens, P., (2005). "The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions", Trends in Food Science & Technology, 16: 43-56.

[26] De Vuyst, L. ve Vancanneyt, M., (2007). "Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria", Food Microbiology, 24: 120-127.

[27] Corsetti, A. ve Settanni, L., (2007). "Lactobacilli in sourdough fermentation", Food Research International, 40: 539-558.

[28] Vogel, R.F. Müller, M. Stolz, P. ve Ehrmann, M.A., (1996). "Ecology in sourdoughs produced by traditional and modern technologies", Advences in Food Sciences, 18: 152-159.

[29] Vrancken, G. De Vuyst, L. Van der Meulen, R. Huys, G. Vandamme, P. ve Daniel, H.-M., (2010). "Yeast species composition differs between artisan bakery and spontaneous laboratory sourdoughs", FEMS Yeast Research, 10: 471-481.

[30] De Vuyst, L. Van Kerrebroeck, S. Harth, H. Huys, G. Daniel, H.-M. ve Weckx, S., (2014). "Microbial ecology of sourdough fermentations: diverse or uniform?", Food Microbiology, 37: 11-29.

[31] Ottogalli, G. Galli, A. ve Foschino, R., (1996). "Italian bakery products obtained with sour dough: characterization of the typical microflora", Advences in Food Sciences, 18: 131-144.

[32] Stolz, P., (2003). Biological fundamentals of yeast and Lactobacilli fermentation in bread dough in Handbook of dough fermentations (ed Kulp, K. & Lorenz, K.) 23–42, ed^eds.: Marcel Dekker, Inc., New York.

[33] Katina, K., (2005). "Sourdough: a tool for the improved flavour, texture and shelf-life of wheat bread".

[34] Küçükçuban, A., (2012). Sıvı ekşi hamur sistemi için uygun laktik asit bakteri kombinasyonunun belirlenmesi, ed^eds.: Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

[35] Palomba, S. Blaiotta, G. Ventorino, V. Saccone, A. ve Pepe, O., (2011). "Microbial characterization of sourdough for sweet baked products in the Campania region (southern Italy) by a polyphasic approach", Annals of microbiology, 61: 307-314.

[36] Hamad, S. Dieng, M. Ehrmann, M.A. ve Vogel, R.F., (1997). "Characterization of the bacterial flora of Sudanese sorghum flour and sorghum sourdough", Journal of Applied Microbiology, 83: 764-770.

[37] Moroni, A.V. Arendt, E.K. Morrissey, J.P. ve Dal Bello, F., (2010). "Development of buckwheat and teff sourdoughs with the use of commercial starters", International Journal of Food Microbiology, 142: 142-148.

[38] Van der Meulen, R. Scheirlinck, I. Van Schoor, A. Huys, G. Vancanneyt, M. Vandamme, P. ve De Vuyst, L., (2007). "Population dynamics and metabolite target analysis of lactic acid bacteria during laboratory fermentations of wheat and spelt sourdoughs", Applied and Environmental Microbiology, 73: 4741-4750.

[39] Vogelmann, S.A. Seitter, M. Singer, U. Brandt, M.J. ve Hertel, C., (2009). "Adaptability of lactic acid bacteria and yeasts to sourdoughs prepared from cereals, pseudocereals and cassava and use of competitive strains as starters", International Journal of Food Microbiology, 130: 205-212.

[40] Katina, K. Laitila, A. Juvonen, R. Liukkonen, K.-H. Kariluoto, S. Piironen, V. Landberg, R. Åman, P. ve Poutanen, K., (2007). "Bran fermentation as a

means to enhance technological properties and bioactivity of rye", Food Microbiology, 24: 175-186.

[41] Rizzello, C.G. Nionelli, L. Coda, R. De Angelis, M. ve Gobbetti, M., (2010). "Effect of sourdough fermentation on stabilisation, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ", Food Chemistry, 119: 1079-1089.

[42] Siepmann, F.B. Ripari, V. Waszczynskyj, N. ve Spier, M.R., (2018). "Overview of sourdough technology: from production to marketing", Food and bioprocess technology, 11: 242-270.

[43] Böcker, G. Stolz, P. ve Hammes, W., (1995). "Neue Erkenntnisse zum Ökosystem Sauerteig und zur Physiologie der sauerteigtypischen Stämme *Lactobacillus sanfrancisco* aund *Lactobacillus pontis*", Getreide, Mehl und Brot, 49: 370-374.

[44] Kline, L. ve Sugihara, T., (1971). "Microorganisms of the San Francisco sour dough bread process: II. Isolation and characterization of undescribed bacterial species responsible for the souring activity", Applied and Environmental Microbiology, 21: 459-465.

[45] Gobbetti, M. ve Corsetti, A., (1997). "Lactobacillus sanfranciscoa key sourdough lactic acid bacterium: a review", Food Microbiology, 14: 175-187.

[46] Gobbetti, M. Corsetti, A. ve Rossi, J., (1996). "Lactobacillus sanfrancisco, a key sourdough lactic acid bacterium: physiology, genetic and biotechnology", Advances in Food Sciences, 18: 167-175.

[47] Stephan, H. ve Neumann, H., (1999). "Technik der Roggen-Sauerteigführung", Handbuch Sauerteig: Biologie, Biochemie, Technologie: 161-245.

[48] Decock, P. ve Cappelle, S., (2005). "Bread technology and sourdough technology", Trends in Food Science & Technology, 16: 113-120.

[49] Müller, M.R. Wolfrum, G. Stolz, P. Ehrmann, M.A. ve Vogel, R.F., (2001). "Monitoring the growth of Lactobacillus species during a rye flour fermentation", Food Microbiology, 18: 217-227.

[50] Knorr, R. Müller, M.R. Steudel, U. Gänzle, M.G. ve Ehrmann, M.A., (1999). "Non-dairy lactic fermentations: the cereal world. Antonie van Leeuwenhoek 76, 1-4, 403-411", Antonie Van Leeuwenhoek, 76: 403-411.

[51] Vogel, R.F. Knorr, R. Müller, M.R. Steudel, U. Gänzle, M.G. ve Ehrmann, M.A., (1999). "Non-dairy lactic fermentations: the cereal world", Antonie Van Leeuwenhoek, 76: 403-411.

[52] Stolz, P. Hammes, W.P. ve Vogel, R.F., (1996). "Maltose-phosphorylase and hexokinase activity in *Lactobacilli* from traditionally prepared sourdoughs", Advences in Food Sciences, 18: 1-6.

[53] Chavan, R.S. ve Chavan, S.R., (2011). "Sourdough technology—a traditional way for wholesome foods: a review", Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 10: 169-182.

[54] Corsetti, A., (2013). Technology of sourdough fermentation and sourdough applications, ed. Handbook on sourdough biotechnology. Springer, 85-103.

[55] Minervini, F. De Angelis, M. Di Cagno, R. Pinto, D. Siragusa, S. Rizzello, C.G. ve Gobbetti, M., (2010). "Robustness of Lactobacillus plantarum starters during daily propagation of wheat flour sourdough type I", Food Microbiology, 27: 897-908.

[56] Siragusa, S. Di Cagno, R. Ercolini, D. Minervini, F. Gobbetti, M. ve De Angelis, M., (2009). "Taxonomic structure and monitoring of the dominant population of lactic acid bacteria during wheat flour sourdough type I propagation using Lactobacillus sanfranciscensis starters", Applied and Environmental Microbiology, 75: 1099-1109.

[57] Scheirlinck, I. Van der Meulen, R. De Vuyst, L. Vandamme, P. ve Huys, G., (2009). "Molecular source tracking of predominant lactic acid bacteria in traditional Belgian sourdoughs and their production environments", Journal of Applied Microbiology, 106: 1081-1092.

[58] Toit, M.D. Dicks, L. ve Holzapfel, W., (2003). "Identification of heterofermentative Lactobacilli isolated from pig faeces by numerical analysis of total soluble cell protein patterns and RAPD‐PCR", Letters in Applied Microbiology, 37: 12-16.

[59] Coda, R. Nionelli, L. Rizzello, C.G. De Angelis, M. Tossut, P. ve Gobbetti, M., (2010). "Spelt and emmer flours: characterization of the lactic acid bacteria microbiota and selection of mixed starters for bread making", Journal of Applied Microbiology, 108: 925-935.

[60] Jideani, I. Owusu, R. ve Muller, H., (1994). "Proteins of acha (Digitaria exilis Stapf): Solubility fractionation, gel filtration, and electrophoresis of protein fractions", Food Chemistry, 51: 51-59.

[61] Coda, R. Di Cagno, R. Edema, M.O. Nionelli, L. ve Gobbetti, M., (2010). "Exploitation of Acha (Digitaria exiliis) and Iburu (Digitaria iburua) flours: Chemical characterization and their use for sourdough fermentation", Food Microbiology, 27: 1043-1050.

[62] Moroni, A.V. Arendt, E.K. ve Dal Bello, F., (2011). "Biodiversity of lactic acid bacteria and yeasts in spontaneously-fermented buckwheat and teff sourdoughs", Food Microbiology, 28: 497-502.

[63] Gobbetti, M. ve Gänzle, M., (2012). Handbook on sourdough biotechnology: Springer Science & Business Media.

[64] Sterr, Y. Weiss, A. ve Schmidt, H., (2009). "Evaluation of lactic acid bacteria for sourdough fermentation of amaranth", International Journal of Food Microbiology, 136: 75-82.

[65] Rizzello, C.G. Calasso, M. Campanella, D. De Angelis, M. ve Gobbetti, M., (2014). "Use of sourdough fermentation and mixture of wheat, chickpea, lentil and bean flours for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of white bread", International Journal of Food Microbiology, 180: 78-87.

[66] Papadimitriou, K. Zoumpopoulou, G. Georgalaki, M. Alexandraki, V. Kazou, M. Anastasiou, R. ve Tsakalidou, E., (2019). Sourdough Bread, ed. Innovations in Traditional Foods. Elsevier, 127-158.

[67] Spicher, G. ve Lönner, C., (1985). "Die Mikroflora des Sauerteiges XXI. Mitteilung: Die in Sauerteigen schwedischer Bäckereien vorkommenden

Lactobacillen", Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 181: 9-13.

[68] Kazanskaya, L. Afanasyeva, O. ve Patt, V., (1983). "Microflora of rye sours and some specific features of its accumulation in bread baking plants of the USSR", Developments in food science: 59-61.

[69] Gänzle, M.G. Ehmann, M. ve Hammes, W.P., (1998). "Modeling of growth of *Lactobacillus sanfranciscensis* and *Candida milleri* in response to process parameters of sourdough fermentation", Applied and Environmental Microbiology, 64: 2616-2623.

[70] Kitahara, M. Sakata, S. ve Benno, Y., (2005). "Biodiversity of *Lactobacillus sanfranciscensis* strains isolated from five sourdoughs", Letters in Applied Microbiology, 40: 353-357.

[71] Picozzi, C. D'anchise, F. ve Foschino, R., (2006). "PCR detection of Lactobacillus sanfranciscensis in sourdough and Panettone baked product", European Food Research and Technology, 222: 330-335.

[72] Ferchichi, M. Valcheva, R. Prévost, H. Onno, B. ve Dousset, X., (2007). "Molecular identification of the microbiota of French sourdough using temporal temperature gradient gel electrophoresis", Food Microbiology, 24: 678-686.

[73] Miyashita, M. Yukphan, P. Chaipitakchonlatarn, W. Malimas, T. Sugimoto, M. Yoshino, M. Potacharoen, W. Tanasupawat, S. Nakagawa, Y. ve Kirtikara, K., (2012). "16S rRNA gene sequence analysis of lactic acid bacteria isolated from fermented foods in Thailand", Microbiology and Culture Collections, 28: 1-9.

[74] Sakamoto, N. Tanaka, S. Sonomoto, K. ve Nakayama, J., (2011). "16S rRNA pyrosequencing-based investigation of the bacterial community in nukadoko, a pickling bed of fermented rice bran", International Journal of Food Microbiology, 144: 352-359.

[75] Banu, I. ve Aprodu, I., (2012). "Studies concerning the use of Lactobacillus helveticus and Kluyveromyces marxianus for rye sourdough fermentation", European Food Research and Technology, 234: 769-777.

[76] Katina, K. Heiniö, R.-L. Autio, K. ve Poutanen, K., (2006). "Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread", LWT-Food Science and Technology, 39: 1189-1202.

[77] Vogelmann, S.A. ve Hertel, C., (2011). "Impact of ecological factors on the stability of microbial associations in sourdough fermentation", Food Microbiology, 28: 583-589.

[78] Vrancken, G. Rimaux, T. Weckx, S. Leroy, F. ve De Vuyst, L., (2011). "Influence of temperature and backslopping time on the microbiota of a type I propagated laboratory wheat sourdough fermentation", Applied and Environmental Microbiology, 77: 2716-2726.

[79] Vera, A. Ly-Chatain, M.H. Rigobello, V. ve Demarigny, Y., (2012). "Description of a French natural wheat sourdough over 10 consecutive days focussing on the lactobacilli present in the microbiota", Antonie Van Leeuwenhoek, 101: 369-377.

[80] Ferchichi, M. Valcheva, R. Oheix, N. Kabadjova, P. Prévost, H. Onno, B. ve Dousset, X., (2008). "Rapid investigation of French sourdough microbiota by restriction fragment length polymorphism of the 16S-23S rRNA gene intergenic spacer region", World Journal of Microbiology and Biotechnology, 24:2425-2434.

[81] Garofalo, C. Silvestri, G. Aquilanti, L. ve Clementi, F., (2008). "PCR ‐ DGGE analysis of lactic acid bacteria and yeast dynamics during the production processes of three varieties of Panettone", Journal of Applied Microbiology, 105: 243-254.

[82] Picozzi, C. Bonacina, G. Vigentini, I. ve Foschino, R., (2010). "Genetic diversity in Italian Lactobacillus sanfranciscensis strains assessed by multilocus sequence typing and pulsed-field gel electrophoresis analyses", Microbiology, 156: 2035-2045.

[83] Venturi, M. Guerrini, S. Granchi, L. ve Vincenzini, M., (2012). "Typing of Lactobacillus sanfranciscensis isolates from traditional sourdoughs by combining conventional and multiplex RAPD–PCR profiles", International Journal of Food Microbiology, 156: 122-126.

[84] Parente, E. Ciocia, F. Ricciardi, A. Zotta, T. Felis, G.E. ve Torriani, S., (2010). "Diversity of stress tolerance in Lactobacillus plantarum, Lactobacillus pentosus and Lactobacillus paraplantarum: a multivariate screening study", International Journal of Food Microbiology, 144: 270-279.

[85] Serrazanetti, D.I. Guerzoni, M.E. Corsetti, A. ve Vogel, R., (2009). "Metabolic impact and potential exploitation of the stress reactions in lactobacilli", Food Microbiology, 26: 700-711.

[86] Vrancken, G. Rimaux, T. De Vuyst, L. ve Leroy, F., (2008). "Kinetic analysis of growth and sugar consumption by Lactobacillus fermentum IMDO 130101 reveals adaptation to the acidic sourdough ecosystem", International Journal of Food Microbiology, 128: 58-66.

[87] Banu, I. Vasilean, I. ve Aprodu, I., (2011). "Effect of select parameters of the sourdough rye fermentation on the activity of some mixed starter cultures", Food Biotechnology, 25: 275-291.

[88] Weckx, S. Van der Meulen, R. Maes, D. Scheirlinck, I. Huys, G. Vandamme, P. ve De Vuyst, L., (2010). "Lactic acid bacteria community dynamics and metabolite production of rye sourdough fermentations share characteristics of wheat and spelt sourdough fermentations", Food Microbiology, 27: 1000-1008.

[89] De Vuyst, L. Vrancken, G. Ravyts, F. Rimaux, T. ve Weckx, S., (2009). "Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota", Food Microbiology, 26: 666-675.

[90] Galli, A. Franzetti, L. ve Fortina, M., (1988). "Isolation and identification of sour dough microflora".

[91] Daud Khaled, A. Neilan, B. Henriksson, A. ve Conway, P., (1997). "Identification and phylogenetic analysis of *Lactobacillus* using multiplex RAPD-PCR", FEMS Microbiology Letters, 153: 191-197.

[92] Falsen, E. Pascual, C. Sjödén, B. Ohlén, M. ve Collins, M.D., (1999). "Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel *Lactobacillus* species from human sources: description of *Lactobacillus iners* sp. nov", International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 49: 217-221.

[93] Kıran, F. ve Osmanoğlu, Ö., (2011). "Laktik asit bakterilerinin (LAB) identifikasyonunda/tiplendirmesinde kullanılan moleküler yöntemler", Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi, 27: 62-74.

[94] Temmerman, R. Huys, G. ve Swings, J., (2004). "Identification of lactic acid bacteria: culture-dependent and culture-independent methods", Trends in Food Science & Technology, 15: 348-359.

[95] Vandamme, P. Pot, B. Gillis, M. De Vos, P. Kersters, K. ve Swings, J., (1996). "Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics", Microbiology Molecular Biology Reviews, 60: 407-438.

[96] Kabadjova, P. Dousset, X. Le Cam, V. ve Prevost, H., (2002). "Differentiation of closely related Carnobacterium food isolates based on 16S-23S ribosomal DNA intergenic spacer region polymorphism", Applied and Environmental Microbiology, 68: 5358-5366.

[97] Olive, D.M. ve Bean, P., (1999). "Principles and Applications of Methods for DNA-Based Typing of Microbial Organisms", Journal of Clinical Microbiology, 37: 1661-1669.

[98] Welsh, J. ve McClelland, M., (1990). "Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers", Nucleic Acids Research, 18: 7213-7218.

[99] Williams, J.G. Kubelik, A.R. Livak, K.J. Rafalski, J.A. ve Tingey, S.V., (1990). "DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers", Nucleic Acids Research, 18: 6531-6535.

[100] Aydın Osmanoğlu, Ö.T.D. ve Başak, O.Y., Laktik asit bakterilerinde tür içi ve türler arası ayrımda 16S-ARDRA tekniğinin değerlendirilmesi, ed^eds.: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı.

[101] Ehrmann, M.A. ve Vogel, R.F., (2005). "Molecular taxonomy and genetics of sourdough lactic acid bacteria", Trends in Food Science & Technology, 16: 31-42.

[102] Janssen, P. Coopman, R. Huys, G. Swings, J. Bleeker, M. Vos, P. Zabeau, M. ve Kersters, K., (1996). "Evaluation of the DNA fingerprinting method AFLP as a new tool in bacterial taxonomy", Microbiology, 142: 1881-1893.

[103] Mueller, U.G. ve Wolfenbarger, L.L., (1999). "AFLP genotyping and fingerprinting", Trends in Ecology & Evolution, 14: 389-394.

[104] Huys, G. Coopman, R. Janssen, P. ve Kersters, K., (1996). "High-resolution genotypic analysis of the genus Aeromonas by AFLP fingerprinting", International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 46: 572-580.

[105] Blears, M. De Grandis, S. Lee, H. ve Trevors, J., (1998). "Amplified fragment length polymorphism (AFLP): a review of the procedure and its applications", Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 21: 99-114.

[106] Belfiore, C. Castellano, P. ve Vignolo, G., (2007). "Reduction of Escherichia coli population following treatment with bacteriocins from lactic acid bacteria and chelators", Food Microbiology, 24: 223-229.

[107] Settanni, L. ve Corsetti, A., (2008). "Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation", International Journal of Food Microbiology, 121: 123-138.

[108] Hwanhlem, N. Chobert, J.-M. ve Aran, H., (2014). "Bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from mangrove forests in southern Thailand as potential bio-control agents in food: Isolation, screening and optimization", Food Control, 41: 202-211.

[109] Özlü, H., (2015). Bazı Peynirlerden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bakteriyosin Üretme Yeteneği, ed^eds.

[110] von Staszewski, M. ve Jagus, R.J., (2008). "Natural antimicrobials: effect of Microgard™ and nisin against Listeria innocua in liquid cheese whey", International Dairy Journal, 18: 255-259.

[111] Leblond-Bourget, N. Philippe, H. Mangin, I. ve Decaris, B., (1996). "16S rRNA and 16S to 23S internal transcribed spacer sequence analyses reveal inter- and intraspecific Bifidobacterium phylogeny", International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 46: 102-111.

[112] Freitas, W.C.d. Souza, E.L.d. Sousa, C.P.d. ve Travassos, A.E.R., (2008). "Anti-staphylococcal effectiveness of nisaplin in refrigerated pizza doughs", Brazilian Archives of Biology and Technology, 51: 595-599.

[113] Naghmouchi, K. Kheadr, E. Lacroix, C. ve Fliss, I., (2007). "Class I/Class IIa bacteriocin cross-resistance phenomenon in Listeria monocytogenes", Food Microbiology, 24: 718-727.

[114] Klaenhammer, T.R., (1993). "Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria", FEMS Microbiology Reviews, 12: 39-85.

[115] Helm, D. Labischinski, H. Schallehn, G. ve Naumann, D., (1991). "Classification and identification of bacteria by Fourier-transform infrared spectroscopy", Microbiology, 137: 69-79.

[116] Helm, D. Labischinski, H. ve Naumann, D., (1991). "Elaboration of a procedure for identification of bacteria using Fourier-Transform IR spectral libraries: a stepwise correlation approach", Journal of Microbiological Methods, 14: 127-142.

[117] Curk, M. Peledan, F. ve Hubert, J., (1994). "Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for identifying Lactobacillus species", FEMS Microbiology Letters, 123: 241-248.

[118] Naumann, D., (2000). "Infrared spectroscopy in microbiology", Encyclopedia of analytical chemistry: 1-32.

[119] Lecellier, A. Gaydou, V. Mounier, J. Hermet, A. Castrec, L. Barbier, G. Ablain, W. Manfait, M. Toubas, D. ve Sockalingum, G., (2015). "Implementation of an FTIR spectral library of 486 filamentous fungi strains for rapid identification of molds", Food Microbiology, 45: 126-134.

[120] Alvarez-Ordóñez, A. ve Prieto, M., (2012). Fourier transform infrared spectroscopy in food microbiology.

[121] Wenning, M. ve Scherer, S., (2013). "Identification of microorganisms by FTIR spectroscopy: perspectives and limitations of the method", Applied Microbiology and Biotechnology, 97: 7111-7120.

[122] Weinrichter, B. Luginbühl, W. Rohm, H. ve Jimeno, J., (2001). "Differentiation of facultatively heterofermentative lactobacilli from plants, milk, and hard type cheeses by SDS-PAGE, RAPD, FTIR, energy source utilization and autolysis type", LWT-Food Science and Technology, 34: 556-566.

[123] Luginbühl, W. Jimeno, J. ve Zehntner, U., (2006). "Identification of seven species of the *Lactobacillus acidophilus* group by FT–IR spectroscopy", LWT-Food Science and Technology, 39: 152-158.

[124] Bosch, A. Serra, D. Prieto, C. Schmitt, J. Naumann, D. ve Yantorno, O., (2006). "Characterization of Bordetella pertussis growing as biofilm by chemical analysis and FT-IR spectroscopy", Applied Microbiology and Biotechnology, 71: 736.

[125] Taha, M. Hassan, M. Essa, S. ve Tartor, Y., (2013). "Use of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectroscopy for rapid and accurate identification of yeasts isolated from human and animals", International journal of veterinary science and medicine, 1: 15-20.

[126] Naumann, D. Fijala, V. Labischinski, H. ve Giesbrecht, P., (1988). "The rapid differentiation and identification of pathogenic bacteria using Fourier transform infrared spectroscopic and multivariate statistical analysis", Journal of Molecular Structure, 174: 165-170.

[127] OSMANAĞAOĞLU, Ö. KIRAN, F. ve ORAL, B., "Bazı laktik asit bakterilerinde 16s rdna dizi analizi ve 16s-23s rdna ara bölge (ısr) temel alınarak gerçekleştirilen filogenetik analizler".

[128] AYDIN, A. ve SUDAĞIDAN, M., (2016). "Gıda Mikrobiyolojisinde Moleküler Biyolojik Tekniklerin Kullanımı ve Tiplendirme Yöntemleri", Turkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics, 2: 1-9.

[129] Lefier, D. Hirst, D. Holt, C. ve Williams, A.G., (1997). "Effect of sampling procedure and strain variation in *Listeria monocytogenes* on the discrimination of species in the genus *Listeria* by Fourier transform infrared spectroscopy and canonical variates analysis", FEMS Microbiology Letters, 147: 45-50.

[130] Busch, U. ve Nitschko, H., (1999). "Methods for the differentiation of microorganisms", Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 722: 263-278.

[131] Bessmeltseva, M. Viiard, E. Simm, J. Paalme, T. ve Sarand, I., (2014). "Evolution of bacterial consortia in spontaneously started rye sourdoughs during two months of daily propagation", PloS one, 9.

[132] Cizeikiene, D. Juodeikiene, G. Paskevicius, A. ve Bartkiene, E., (2013). "Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread", Food Control, 31: 539-545.

[133] Cocolin, L. ve Ercolini, D., (2007). Molecular techniques in the microbial ecology of fermented foods: Springer Science & Business Media.

[134] Escalante, A. Wacher, C. ve Farres, A., (2001). "Lactic acid bacterial diversity in the traditional Mexican fermented dough pozol as determined by 16S rDNA sequence analysis", International Journal of Food Microbiology, 64: 21-31.

[135] Torriani, S. Felis, G.E. ve Dellaglio, F., (2001). "Differentiation of *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, and *L. paraplantarum* by recA gene sequence analysis and multiplex PCR assay with recA gene-derived primers", Applied and Environmental Microbiology, 67: 3450-3454.

[136] Minervini, F. Di Cagno, R. Lattanzi, A. De Angelis, M. Antonielli, L. Cardinali, G. Cappelle, S. ve Gobbetti, M., (2012). "Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of 19 sourdoughs used for traditional/typical Italian breads: interactions between ingredients and microbial species diversity", Applied and Environmental Microbiology, 78: 1251-1264.

[137] Naser, S.M. Thompson, F.L. Hoste, B. Gevers, D. Dawyndt, P. Vancanneyt, M. ve Swings, J., (2005). "Application of multilocus sequence analysis (MLSA) for rapid identification of *Enterococcus* species based on rpoA and pheS genes", Microbiology, 151: 2141-2150.

[138] De Vuyst, L. Harth, H. Van Kerrebroeck, S. ve Leroy, F., (2016). "Yeast diversity of sourdoughs and associated metabolic properties and functionalities", International Journal of Food Microbiology, 239: 26-34.

[139] Vaughan-Martini, A., (2003). "Reflections on the classification of yeasts for different end-users in biotechnology, ecology, and medicine", International Microbiology, 6: 175-182.

[140] Cai, J. Roberts, I.N. ve Collıns, M.D., (1996). "Phylogenetic relationships among members of the ascomycetous yeast genera *Brettanomyces*, *Debaryomyces*, *Dekkera,* and *Kluyveromyces* deduced by small-subunit rRNA gene sequences", International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 46: 542-549.

[141] Minervini, F. Lattanzi, A. De Angelis, M. Celano, G. ve Gobbetti, M., (2015). "House microbiotas as sources of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Italian sourdoughs", Food Microbiology, 52: 66-76.

[142] Palla, M. Agnolucci, M. Calzone, A. Giovannetti, M. Di Cagno, R. Gobbetti, M. Rizzello, C.G. ve Pontonio, E., (2019). "Exploitation of autochthonous Tuscan sourdough yeasts as potential starters", International Journal of Food Microbiology, 302: 59-68.

[143] Huys, G. Daniel, H.-M. ve De Vuyst, L., (2013). Taxonomy and biodiversity of sourdough yeasts and lactic acid bacteria, ed. Handbook on Sourdough Biotechnology. Springer, 105-154.

[144] Gänzle, M.G. Vermeulen, N. ve Vogel, R.F., (2007). "Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough", Food Microbiology, 24: 128-138.

[145] Gobbetti, M. De Angelis, M. Corsetti, A. ve Di Cagno, R., (2005). "Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria", Trends in Food Science & Technology, 16: 57-69.

[146] Rollan, G. Lorca, G. ve de Valdez, G.F., (2003). "Arginine catabolism and acid tolerance response in *Lactobacillus reuteri* isolated from sourdough", Food Microbiology, 20: 313-319.

[147] Ilse, S. Gino, V. Luca, S. Peter, V. ve Geert, H., (2009). "Polyphasic taxonomic characterization of *Lactobacillus rossiae* isolates from Belgian and Italian sourdoughs reveals intraspecific heterogeneity", Systematic and Applied Microbiology, 32: 151-156.

[148] Daniel, H.-M. Moons, M.-C. Huret, S. Vrancken, G. ve De Vuyst, L., (2011). "Wickerhamomyces anomalus in the sourdough microbial ecosystem", Antonie Van Leeuwenhoek, 99: 63-73.

[149] Gänzle, M.G. ve Vogel, R.F., (2003). "Contribution of reutericyclin production to the stable persistence of *Lactobacillus reuteri* in an industrial sourdough fermentation", International Journal of Food Microbiology, 80: 31-45.

[150] Paramithiotis, S. Tsiasiotou, S. ve Drosinos, E.H., (2010). "Comparative study of spontaneously fermented sourdoughs originating from two regions of Greece: Peloponnesus and Thessaly", European Food Research and Technology, 231: 883-890.

[151] Scheirlinck, I. Van der Meulen, R. Van Schoor, A. Vancanneyt, M. De Vuyst, L. Vandamme, P. ve Huys, G., (2007). "Influence of geographical origin and flour type on diversity of lactic acid bacteria in traditional Belgian sourdoughs", Applied and Environmental Microbiology, 73: 6262-6269.

[152] Akinola, S.A. ve Osundahunsi, O.F., (2017). "Lactic acid bacteria and yeast diversities in spontaneously fermented millet sourdoughs", The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 6: 1030.

[153] Kamel, B.S. ve Stauffer, C.E., (2013). Advances in Baking Technology, USA: Springer.

[154] Almeida, M. ve Pais, C., (1996). "Leavening ability and freeze tolerance of yeasts isolated from traditional corn and rye bread doughs", Applied and Environmental Microbiology, 62: 4401-4404.

[155] Berghofer, L.K. Hocking, A.D. Miskelly, D. ve Jansson, E., (2003). "Microbiology of wheat and flour milling in Australia", International Journal of Food Microbiology, 85: 137-149.

[156] Akinola, S.A. ve Osundahunsi, O.F., (2017). "Lactic acid bacteria and yeast diversities in spontaneously fermented millet sourdoughs", The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 6: 1030-1035.

[157] İpek, Ö., (2017). Türkiye'deki değişik yörelerden sağlanan ekşi hamurdan izole edilen ekmek mayalarının teknolojik özellikleri, ed^eds. Gıda Mühendisliği. Ankara: Ankara Üniversitesi, 46.

[158] Martínez-Anaya, M. Barber, S. Torner, M. ve Báguena, R., (1983). "Microflora de masa madre panaria: I. Identificación y propiedades funcionales

de microorganismos de masas madre industriales, elaboradas con harina de trigo", Revista de agroquímica y tecnología de alimentos, 23: 552-562.

[159] Vernocchi, P. Valmorri, S. Dalai, I. Torriani, S. Gianotti, A. Suzzi, G. Guerzoni, M. Mastrocola, D. ve Gardini, F., (2004). "Characterization of the yeast population involved in the production of a typical Italian bread", Journal of Food Science, 69: 182-186.

[160] Gullo, M. Romano, A. Pulvirenti, A. ve Giudici, P., (2003). "*Candida humilis* dominant species in sourdoughs for the production of durum wheat bran flour bread", International Journal of Food Microbiology, 80: 55-59.

[161] Barber, S. Torner, M.J. Martínez-Anaya, M.A. ve de Barber, C.B., (1989). "Microflora of the sourdough of wheat flour bread IX. Biochemical characteristics and baking performance of wheat doughs elaborated with mixtures of pure microorganisms", Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 189: 6-11.

[162] Almeida, M. ve Pais, C., (1996). "Leavening ability and freeze tolerance of yeasts isolated from traditional corn and rye bread doughs", Applied and Environmental Microbiology, 62: 4401-4404.

[163] Bakırcı, F. ve Köse, E., (2017). "Ekşi Hamurlardan Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu ve Tanımlanması", Academic Food Journal/Akademik GIDA, 15.

[164] Bakırcı, F. ve Köse, E., (2017). "Ekşi Hamurlardan Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların İzolasyonu ve Tanımlanması", Akademik Gıda, 15: 149-154.

[165] Nionelli, L. ve Rizzello, C., (2016). "Sourdough-based biotechnologies for the production of gluten-free foods", Foods, 5: 65.

[166] Clarke, C. Schober, T. ve Arendt, E., (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.

[167] Arendt, E.K. Ryan, L.A. ve Dal Bello, F., (2007). "Impact of sourdough on the texture of bread", Food Microbiology, 24: 165-174.

[168] Chavan, R.S. ve Chavan, S.R., (2011). "Sourdough technology a traditional way for wholesome foods: a review", Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 10: 169-182.

[169] Corsetti, A. Gobbetti, M. De Marco, B. Balestrieri, F. Paoletti, F. Russi, L. ve 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.

[170] Göçmen, D., (2001). "Ekşi Hamur ve Laktik Starter Kullanımının Ekmekte Aroma Oluşumu Üzerine Etkileri", GIDA, 26: 13-16.

[171] Kılıç, S., (2014). Süt endüstrisinde laktik asit bakterileri: Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi.

[172] Czerny, M. ve 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.

[173] Ravyts, F. ve De Vuyst, L., (2011). "Prevalence and impact of single-strain starter cultures of lactic acid bacteria on metabolite formation in sourdough", Food Microbiology, 28: 1129-1139.

[174] Pico, J. Bernal, J. ve Gómez, M., (2015). "Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review", Food Research International, 75: 200-215.

[175] Kaseleht, K. Leitner, E. ve Paalme, T., (2011). "Determining aroma‐active compounds in Kama flour using SPME‐GC/MS and GC–olfactometry", Flavour and Fragrance Journal, 26: 122-128.

[176] Plessas, S. Bekatorou, A. Gallanagh, J. Nigam, P. Koutinas, A.A. ve 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.

[177] Gerez, C.L. Torino, M.I. Rollán, G. ve de Valdez, G.F., (2009). "Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties", Food Control, 20: 144-148.

[178] Hassan, Y.I. ve Bullerman, L.B., (2008). "Antifungal activity of *Lactobacillus paracasei* ssp. tolerans isolated from a sourdough bread culture", International Journal of Food Microbiology, 121: 112-115.

[179] Oliveira, P.M. Zannini, E. ve Arendt, E.K., (2014). "Cereal fungal infection, mycotoxins, and lactic acid bacteria mediated bioprotection: from crop farming to cereal products", Food Microbiology, 37: 78-95.

[180] Hassan, Y.I. Zhou, T. ve Bullerman, L.B., (2016). "Sourdough lactic acid bacteria as antifungal and mycotoxin-controlling agents", Food Science and Technology International, 22: 79-90.

[181] De Vuyst, L. Van Kerrebroeck, S. ve Leroy, F., (2017). Microbial ecology and process technology of sourdough fermentation, ed. Advances in Applied Microbiology. Elsevier, 49-160.

[182] Lioger, D. Leenhardt, F. Demigne, C. ve 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.

[183] 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.

[184] Singh, J. Dartois, A. ve Kaur, L., (2010). "Starch digestibility in food matrix: a review", Trends in Food Science & Technology, 21: 168-180.

[185] Novotni, D. Ćurić, D. Bituh, M. Colić Barić, I. Škevin, D. ve Čukelj, N., (2011). "Glycemic index and phenolics of partially-baked frozen bread with sourdough", International Journal of Food Sciences and Nutrition, 62: 26-33.

[186] Di Cagno, R. De Angelis, M. Lavermicocca, P. De Vincenzi, M. Giovannini, C. Faccia, M. ve Gobbetti, M., (2002). "Proteolysis by sourdough lactic acid bacteria: effects on wheat flour protein fractions and gliadin peptides involved in human cereal intolerance", Applied Environmental Microbiology, 68: 623-633.

[187] Torrieri, E. Pepe, O. Ventorino, V. Masi, P. ve Cavella, S., (2014). "Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread", LWT-Food Science and Technology, 56: 508-516.

[188] Moore, M.M. Dal Bello, F. ve Arendt, E.K., (2008). "Sourdough fermented by *Lactobacillus plantarum* FSTá1. 7 improves the quality and shelf life of gluten-free bread", European Food Research and Technology, 226: 1309-1316.

[189] Corsetti, A. Gobbetti, M. ve Smacchi, E., (1996). "Antibacterial activity of sourdough lactic acid bacteria: isolation of a bacteriocin-like inhibitory substance from *Lactobacillus sanfrancisco* C57", Food Microbiology, 13: 447-456.

[190] Vogel, R.F. Ehrmann, M.A. ve Gänzle, M.G., (2002). "Development and potential of starter *Lactobacilli* resulting from exploration of the sourdough ecosystem", Antonie Van Leeuwenhoek, 81: 631-638.

[191] Corsetti, A. Gobbetti, M. Rossi, J. ve Damiani, P., (1998). "Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1", Applied Microbiology and Biotechnology, 50: 253-256.

[192] Simpson, J.M. McCracken, V.J. Gaskins, H.R. ve Mackie, R.I., (2000). "Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA amplicons to monitor changes in fecal bacterial populations of weaning pigs after introduction of *Lactobacillus reuteri* strain MM53", Applied and Environmental Microbiology, 66: 4705-4714.

[193] Winters, A. Merry, R. Müler, M. Davies, D. Pahlow, G. ve Müller, T., (1998). "Degradation of fructans by epiphytic and inoculant lactic acid bacteria during ensilage of grass", Journal of Applied Microbiology, 84: 304-312.

[194] Welch, R.M. ve Graham, R.D., (1999). "A new paradigm for world agriculture: meeting human needs: productive, sustainable, nutritious", Field Crops Research, 60: 1-10.

[195] Cakmak, I., (2002). "Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways", Plant and Soil, 247: 3-24.

[196] Brandolini, A. Hidalgo, A. Plizzari, L. ve Erba, D., (2011). "Impact of genetic and environmental factors on einkorn wheat (*Triticum monococcum L. subsp. monococcum)* polysaccharides", Journal of Cereal Science, 53: 65-72.

[197] Abdel-All, E. Hucl, P. ve Sosulski, F., (1995). "Compositional and nutritional characteristics of spring einkorn and spelt wheats", Cereal chemistry (USA).

[198] Abdel-Aal, E. Young, J. Wood, P. Rabalski, I. Hucl, P. Falk, D. ve Fregeau-Reid, J., (2002). "Einkorn: A potential candidate for developing high lutein wheat", Cereal Chemistry, 79: 455-457.

[199] Corbellini, M. Empilli, S. Vaccino, P. Brandolini, A. Borghi, B. Heun, M. ve Salamini, F., (1999). "Einkorn characterization for bread and cookie production in relation to protein subunit composition", Cereal Chemistry, 76: 727-733.

[200] Degidio, M. ve Vallega, V., (1994). "Bread baking and dough mıxıng qalıty of dıploıd wheat *Trıtıcum-monococcum L*", Industrie Alimentari: 6-&.

[201] Brandolini, A. ve Hidalgo, A., (2011). Einkorn (*Triticum monococcum*) flour and bread, ed. Flour and breads and their fortification in health and disease prevention. Elsevier, 79-88.

[202] Hidalgo, A. Brandolini, A. ve Ratti, S., (2009). "Influence of genetic and environmental factors on selected nutritional traits of *Triticum monococcum*", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57: 6342-6348.

[203] Hidalgo, A. Brandolini, A. Pompei, C. ve Piscozzi, R., (2006). "Carotenoids and tocols of einkorn wheat (*Triticum monococcum ssp. monococcum L*)", Journal of Cereal Science, 44: 182-193.

[204] Ozkan, H. Brandolini, A. Torun, A. Altintas, S. Eker, S. Kilian, B. Braun, H. Salamini, F. ve Cakmak, I., (2007). Natural variation and identification of microelements content in seeds of einkorn wheat (*Triticum monococcum*), ed. Wheat Production in Stressed Environments. Springer, 455-462.

[205] Abdel-Aal, E.M. Hucl, P. Sosulski, F. ve Bhirud, P., (1997). "Kernel, milling and baking properties of spring-type spelt and einkorn wheats", Journal of Cereal Science, 26: 363-370.

[206] D'egidio, M. Nardi, S. ve Vallega, V., (1993). "Grain, flour, and dough characteristics of selected strains of Diploid Wheat, *Triticum monococcum L*", Cereal Chemistry, 70: 298-303.

[207] Borghi, B. Corbellini, M. Minoia, C. Palumbo, M. Di Fonzo, N. ve Perenzin, M., (1997). "Effects of Mediterranean climate on wheat bread-making quality", European Journal of Agronomy, 6: 145-154.

[208] Degidio, M. ve Vallega, V., (1994). "Bread baking and dough mıxıng qalıty of dıploıd wheat *Trıtıcum-monococcum L*", Italyan Food & BeverageTechnology, 4: 6-9.

[209] Hidalgo, A. ve Brandolini, A., (2014). "Nutritional properties of einkorn wheat (*Triticum monococcum L*)", Journal of the Science of Food and Agriculture, 94: 601-612.

[210] Gebruers, K. Dornez, E. Boros, D. Fraś, A. Dynkowska, W. Bedő, Z. Rakszegi, M. Delcour, J.A. ve Courtin, C.M., (2008). "Variation in the Content of Dietary Fiber and Components Thereof in Wheats in the HEALTHGRAIN Diversity Screen", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 9740-9749.

[211] Løje, H. Møller, B. Laustsen, A. ve Hansen, Å., (2003). "Chemical composition, functional properties and sensory profiling of einkorn (*Triticum monococcum L.*)", Journal of Cereal Science, 37: 231-240.

[212] Grausgruber, H. Scheiblauer, J. Schönlechner, R. Ruckenbauer, P. ve Berghofer, E., (2004). Variability in chemical composition and biologically active constituents of cereals, Printed in Austria: University of Natural Resources and Applied Life Sciences.

[213] Antognoni, F. Mandrioli, R. Bordoni, A. Di Nunzio, M. Viadel, B. Gallego, E. Villalba, M. Tomás-Cobos, L. Taneyo Saa, D. ve Gianotti, A., (2017). "Integrated evaluation of the potential health benefits of einkorn-based breads", Nutrients, 9: 1232.

[214] Barone, F. Laghi, L. Gianotti, A. Ventrella, D. Taneyo Saa, D. Bordoni, A. Forni, M. Brigidi, P. Bacci, M. ve Turroni, S., (2019). "In Vivo Effects of Einkorn Wheat (*Triticum monococcum)* Bread on the Intestinal Microbiota, Metabolome, and on the Glycemic and Insulinemic Response in the Pig Model", Nutrients, 11: 16.

[215] Borghi, B. Castagna, R. Corbellini, M. Heun, M. ve Salamini, F., (1996). "Breadmaking quality of einkorn wheat (*Triticum monococcum ssp. monococcum*)", Cereal chemistry (USA).

[216] Gabrovská, D. Fiedlerová, V. Holasová, M. Mašková, E. Smrčinov, H. Rysová, J. Winterová, R. Michalová, A. ve Hutař, M., (2002). "The nutritional evaluation of underutilized cereals and buckwheat", Food and nutrition bulletin, 23: 246-249.

[217] Suchowilska, E. Wiwart, M. Borejszo, Z. Packa, D. Kandler, W. ve Krska, R., (2009). "Discriminant analysis of selected yield components and fatty acid composition of chosen *Triticum monococcum*, *Triticum dicoccum* and *Triticum spelta* accessions", Journal of Cereal Science, 49: 310-315.

[218] Hidalgo, A. ve Brandolini, A., (2012). "Lipoxygenase activity in wholemeal flours from *Triticum monococcum*, *Triticum turgidum* and *Triticum aestivum*", Food Chemistry, 131: 1499-1503.

[219] Hidalgo, A. ve Brandolini, A., (2010). "Tocols stability during bread, water biscuit and pasta processing from wheat flours", Journal of Cereal Science, 52: 254-259.

[220] Zhao, F. Su, Y. Dunham, S. Rakszegi, M. Bedo, Z. McGrath, S. ve Shewry, P., (2009). "Variation in mineral micronutrient concentrations in grain of wheat lines of diverse origin", Journal of Cereal Science, 49: 290-295.

[221] Brennan, C.S. ve Cleary, L.J., (2005). "The potential use of cereal (1→ 3, 1→ 4)-β-D-glucans as functional food ingredients", Journal of Cereal Science, 42: 1-13.

[222] Collar, C. ve Angioloni, A., (2014). "Nutritional and functional performance of high β-glucan barley flours in breadmaking: mixed breads versus wheat breads", European Food Research and Technology, 238: 459-469.

[223] Holtekjølen, A.K. Bævre, A. Rødbotten, M. Berg, H. ve Knutsen, S.H., (2008). "Antioxidant properties and sensory profiles of breads containing barley flour", Food Chemistry, 110: 414-421.

[224] Izydorczyk, M. ve Dexter, J., (2008). "Barley β-glucans and arabinoxylans: Molecular structure, physicochemical properties, and uses in food products–a Review", Food Research International, 41: 850-868.

[225] Skendi, A. Biliaderis, C. Papageorgiou, M. ve Izydorczyk, M., (2010). "Effects of two barley β-glucan isolates on wheat flour dough and bread properties", Food Chemistry, 119: 1159-1167.

[226] MacGregor, A. Bazin, S. Macri, L. ve Babb, J., (1999). "Modelling the contribution ofalpha-amylase, beta-amylase and limit dextrinase to starch degradation during mashing", Journal of Cereal Science, 29: 161-169.

[227] Karaduman, Y., (2006). Kavuzsuz arpa potansiyeli, Eskişehir: Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü.

[228] Altan, A. Yağcı, S. Maskan, M. ve Göğüş, F., (2006). Arpanın ürün bazında değerlendirilmesi, ed^eds. Türkiye 9. Gıda Kongresi. Bolu, 495-498.

[229] Şimşekli, N. ve Doğan, I., (2015). "Tahıl esaslı beta-glukan ilavesinin gıdaların teknolojik ve fonksiyonel özelliklerine etkisi", Turkish Journal Of Agriculture-Food Science And Technology, 3: 190-195.

[230] Sullivan, P. O'Flaherty, J. Brunton, N. Arendt, E. ve Gallagher, E., (2010). "Fundamental rheological and textural properties of doughs and breads produced from milled pearled barley flour", European Food Research and Technology, 231: 441-453.

[231] Nilsson, A. Granfeldt, Y. Östman, E. Preston, T. ve Björck, I., (2006). "Effects of GI and content of indigestible carbohydrates of cereal-based evening meals on glucose tolerance at a subsequent standardised breakfast", European Journal of Clinical Nutrition, 60: 1092.

[232] Cui, W. ve Wood, P., (2000). Relationships between structural features, molecular weight and rheological properties of cereal β-D-glucans, ed. Hydrocolloids. Elsevier, 159-168.

[233] Sarac, H. ve Henry, R.J., (1998). Use of cereals in aquaculture production systems, ed^eds. Pacific People and Their Food.

[234] Newman, R. ve Newman, C., (1991). "Barley as a food grain", Cereal foods world (USA), 36: 800-805.

[235] Crittenden, R. Karppinen, S. Ojanen, S. Tenkanen, M. Fagerström, R. Mättö, J. Saarela, M. Mattila‐Sandholm, T. ve Poutanen, K., (2002). "In vitro fermentation of cereal dietary fibre carbohydrates by probiotic and intestinal bacteria", Journal of the Science of Food and Agriculture, 82: 781-789.

[236] Dickin, E. Steele, K. Frost, G. Edwards-Jones, G. ve Wright, D., (2011). "Effect of genotype, environment and agronomic management on β-glucan concentration of naked barley grain intended for health food use", Journal of Cereal Science, 54: 44-52.

[237] Kinner, M. Nitschko, S. Sommeregger, J. Petrasch, A. Linsberger-Martin, G. Grausgruber, H. Berghofer, E. ve Siebenhandl-Ehn, S., (2011). "Naked barley—optimized recipe for pure barley bread with sufficient beta-glucan according to the EFSA health claims", Journal of Cereal Science, 53: 225-230.

[238] Yalçın, E. Çelik, S. ve Antakya, H., (2006). "Kavuzsuz Arpa Proteinlerinin Bazı Fonksiyonel Özelliklerinin İncelenmesi".

[239] Ottekin, A. Akar, T. Tosun, H. Ozan, A.N. ve Demir, Z., (1996). Kavuzsuz arpanın tarımsal ve teknolojik özelliklerinin belirlenmesi, ed^eds. IV. Ulusal Nükleer Tarım ve Hayvancılık Kongresi. Bursa: Müdürlüğü, Tarta Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, 29.

[240] Bhatty, R. ve Rossnagel, B., (1998). "Comparison of pearled and unpearled Canadian and Japanese barleys", Cereal Chemistry, 75: 15-21.

[241] Altan, A. Yağcı, S. Maskan, M. ve Göğüş, F., (2006). "Arpanın ürün bazında değerlendirilmesi", Türkiye, 9: 24-26.

[242] Anderson, J.W. Deakins, D.A. Floore, T.L. Smith, B.M. ve Whitis, S.E., (1990). "Dietary fiber and coronary heart disease", Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 29: 95-147.

[243] Pejcz, E. Czaja, A. Wojciechowicz-Budzisz, A. Gil, Z. ve Spychaj, R., (2017). "The potential of naked barley sourdough to improve the quality and dietary fibre content of barley enriched wheat bread", Journal of Cereal Science, 77: 97-101.

[244] Maiya, G.K. Shwetha, B. ve Indrani, D., (2015). "Effect of barley flour on rheological characteristics of dough, organoleptic, nutritional and storage characteristics of south Indian parotta", Food Science and Technology International, 21: 24-32.

[245] Ereifej, K. Al-Mahasneh, M. ve Rababah, T., (2006). "Effect of barley flour on quality of balady bread", International Journal of Food Properties, 9: 39-49.

[246] Zannini, E. Garofalo, C. Aquilanti, L. Santarelli, S. Silvestri, G. ve Clementi, F., (2009). "Microbiological and technological characterization of sourdoughs destined for bread-making with barley flour", Food Microbiology, 26: 744-753.

[247] Chemists, A.A.o.C., (2005). "Approved methods. Method number 44 - 15 A", Moisture by oven drying method.

[248] Committee, A.A.o.C.C.A.M., (2000). Approved methods of the American association of cereal chemists: Amer Assn of Cereal Chemists.

[249] AACC, C., (2000). "Approved methods of the American association of cereal chemists", Methods, 54: 21.

[250] Lacumin, L. Cecchini, F. Manzano, M. Osualdini, M. Boscolo, D. Orlic, S. ve Comi, G., (2009). "Description of the microflora of sourdoughs by culture-dependent and culture-independent methods", Food Microbiology, 26: 128-135.

[251] Lhomme, E. Lattanzi, A. Dousset, X. Minervini, F. De Angelis, M. Lacaze, G. Onno, B. ve Gobbetti, M., (2015). "Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of sixteen French traditional sourdoughs", International Journal of Food Microbiology, 215: 161-170.

[252] Oust, A. Møretrø, T. Kirschner, C. Narvhus, J.A. ve Kohler, A., (2004). "FT-IR spectroscopy for identification of closely related lactobacilli", Journal of Microbiological Methods, 59: 149-162.

[253] Kümmerle, M. Scherer, S. ve Seiler, H., (1998). "Rapid and reliable identification of food-borne yeasts by Fourier-transform infrared spectroscopy", Applied Environmental Microbiology, 64: 2207-2214.

[254] Dziuba, B. Babuchowski, A. Niklewicz, M. ve Brzozowski, B., (2006). "FTIR spectral characteristics of lactic acid bacteria: A spectral library", Milchwissenschaft, 61: 146-149.

[255] Durak, M.Z. Churey, J.J. Danyluk, M.D. ve Worobo, R.W., (2010). "Identification and haplotype distribution of *Alicyclobacillus spp.* from different juices and beverages", International Journal Food Microbiology, 142: 286-291.

[256] Baker, G. Smith, J.J. ve Cowan, D.A., (2003). "Review and re-analysis of domain-specific 16S primers", Journal of Microbiological Methods, 55: 541-555.

[257] Chen, C.C. Chang, C.K. Duh, P.-D. Wang, P.S. ve Wang, S.C., (2013). "Antibacterial properties of *Lactobacillus plantarum* isolated from fermented mustards against *Streptococcus mutans*", African Journal of Microbiology Research, 7: 4787-4793.

[258] Tamura, K. Peterson, D. Peterson, N. Stecher, G. Nei, M. ve Kumar, S., (2011). "MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods", Molecular Biology and Evolution, 28: 2731-2739.

[259] Chung, H. Kim, Y. Chun, S. ve Ji, G.E., (1999). "Screening and selection of acid and bile resistant bifidobacteria", International Journal of Food Microbiology, 47: 25-32.

[260] Reinheimer, J. Demkow, M. ve Candioti, M., (1990). "Inhibition of coliform bacteria by lactic cultures", Australian Journal of Dairy Technology, 45: 5-9.

[261] González, L. Sandoval, H. Sacristán, N. Castro, J. Fresno, J. ve Tornadijo, M., (2007). "Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity", Food Control, 18: 716-722.

[262] Magnusson, J. ve Schnürer, J., (2001). "*Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound", Applied and Environmental Microbiology, 67: 1-5.

[263] Bae, H. Yanke, L. Cheng, K.-J. ve Selinger, L., (1999). "A novel staining method for detecting phytase activity", Journal of Microbiological Methods, 39: 17-22.

[264] Bramley, P. Elmadfa, I. Kafatos, A. Kelly, F. Manios, Y. Roxborough, H. Schuch, W. Sheehy, P. ve Wagner, K., "Rewiew Vitamin E. 2000", Journal of the Science of Food and Agriculture, 80: 913-938.

[265] Zhang, C. Zhang, H. Wang, L. Gao, H. Guo, X.N. ve Yao, H.Y., (2007). "Improvement of texture properties and flavor of frozen dough by carrot (Daucus carota) antifreeze protein supplementation", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 9620-9626.

[266] Chen, Z. Zhu, C. Zhang, Y. Niu, D. ve Du, J., (2010). "Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on enzymatic browning and shelf-life of fresh-cut asparagus lettuce (*Lactuca sativa L.*)", Postharvest Biology and Technology, 58: 232-238.

[267] Epler, S. Iv, E.C. ve Kemp, K.E., (1998). "Hedonic scales are a better predictor than just-about ‑ rıght scales of optimal sweetness in lemonade ", Journal of Sensory Studies, 13: 191-197.

[268] Nakov, G. Brandolini, A. Ivanova, N. Dimov, I. ve Stamatovska, V., (2018). "The effect of einkorn (Triticum monococcum L.) whole meal flour addition on physico-chemical characteristics, biological active compounds and in vitro starch digestion of cookies", Journal of Cereal Science, 83: 116-122.

[269] Ertugay, Z., (2010). "Buğday, un ve ekmek arasindaki kalite ilişkileri", Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 13.

[270] Piasecka-Jóźwiak, K. Słowik, E. Rozmierska, J. ve Chabłowska, B., (2015). "Characteristic of organic flour produced from einkorn wheat and rheological properties of einkorn dough in terms of bread obtaining", Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 60: 61--66.

[271] Haghayegh, G. Schoenlechner, R. ve Berghofer, E., (2007). "Comparison of functional properties of isolated emmer and einkorn wheat starches": Faculty of Food Technology, University of Josip Juraj Strossmayer.

[272] Gabrovská, D. Fiedlerová, V. Holasová, M. Mašková, E. Smrčinov, H. Rysová, J. Winterová, R. Michalová, A. ve Hutař, M., (2002). "The nutritional evaluation of underutilized cereals and buckwheat", Food and nutrition bulletin, 23: 246-249.

[273] Vollmann, J. Grausgruber, H. ve Ruckenbauer, P., (2004). "Genetic variation for plant breeding": University of Natural Resources and Applied Life Sciences.

[274] Uluöz, M., (1965). "Buğday, un ve ekmek analiz metodları", Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 57.

[275] Mohamed, A. Hojilla‐Evangelista, M.P. Peterson, S.C. ve Biresaw, G., (2007). "Barley protein isolate: thermal, functional, rheological, and surface properties", Journal of the American Oil Chemists' Society, 84: 281-288.

[276] Al-Attabi, Z.H. Merghani, T.M. Ali, A. ve Rahman, M.S., (2017). "Effect of barley flour addition on the physico-chemical properties of dough and structure of bread", Journal of Cereal Science, 75: 61-68.

[277] Koletta, P. Irakli, M. Papageorgiou, M. ve Skendi, A., (2014). "Physicochemical and technological properties of highly enriched wheat breads with wholegrain non wheat flours", Journal of Cereal Science, 60: 561-568.

[278] Oshiro, M. Momoda, R. Tanaka, M. Zendo, T. ve Nakayama, J., (2019). "Dense tracking of the dynamics of the microbial community and chemicals constituents in spontaneous wheat sourdough during two months of backslopping", Journal of Bioscience and Bioengineering, 128: 170-176.

[279] Succi, M. Reale, A. Andrighetto, C. Lombardi, A. Sorrentino, E. ve Coppola, R., (2003). "Presence of yeasts in southern Italian sourdoughs from *Triticum aestivum* flour", FEMS Microbiology Letters, 225: 143-148.

[280] Zhang, J. Liu, W. Sun, Z. Bao, Q. Wang, F. Yu, J. Chen, W. ve Zhang, H., (2011). "Diversity of lactic acid bacteria and yeasts in traditional sourdoughs collected from western region in Inner Mongolia of China", Food Control, 22: 767-774.

[281] Picozzi, C. Gallina, S. Fera, T. ve Foschino, R., (2005). "Comparison of cultural media for the enumeration of sourdough lactic acid bacteria", Annals of microbiology, 55: 317.

[282] Vera, A. Rigobello, V. ve Demarigny, Y., (2009). "Comparative study of culture media used for sourdough lactobacilli", Food Microbiology, 26: 728-733.

[283] Mouwen, D. Hörman, A. Korkeala, H. Alvarez-Ordóñez, A. ve Prieto, M., (2011). "Applying Fourier-transform infrared spectroscopy and chemometrics to

the characterization and identification of lactic acid bacteria", Vibrational Spectroscopy, 56: 193-201.

[284] Chen, Z. Shen, Y. ve Somorjai, G.A., (2002). "Studies of polymer surfaces by sum frequency generation vibrational spectroscopy", Annual review of physical chemistry, 53: 437-465.

[285] Dziuba, B. Babuchowski, A. Nałęcz, D. ve Niklewicz, M., (2007). "Identification of lactic acid bacteria using FTIR spectroscopy and cluster analysis", International Dairy Journal, 17: 183-189.

[286] Kümmerle, M. Scherer, S. ve Seiler, H., (1998). "Rapid and reliable identification of food-borne yeasts by Fourier-transform infrared spectroscopy", Applied and Environmental Microbiology, 64: 2207-2214.

[287] Dertli, E. Mercan, E. Arıcı, M. Yılmaz, M.T. ve Sağdıç, O., (2016). "Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics", LWT-Food Science and Technology, 71: 116-124.

[288] Gül, H. Özçelik, S. Sağdıç, O. ve Certel, M., (2005). "Sourdough bread production with lactobacilli and S. cerevisiae isolated from sourdoughs", Process Biochemistry, 40: 691-697.

[289] Gobbetti, M. Minervini, F. Pontonio, E. Di Cagno, R. ve De Angelis, M., (2016). "Drivers for the establishment and composition of the sourdough lactic acid bacteria biota", International Journal of Food Microbiology, 239: 3-18.

[290] NAKAGAWA, A. ve KITAHARA, K., (1959). "Taxonomic studies on the genus Pediococcus", The Journal of General and Applied Microbiology, 5: 95-126.

[291] Collins, M. Rodrigues, U. Ash, C. Aguirre, M. Farrow, J. Martinez-Murcia, A. Phillips, B. Williams, A. ve Wallbanks, S., (1991). "Phylogenetic analysis of the genus Lactobacillus and related lactic acid bacteria as determined by reverse transcriptase sequencing of 16S rRNA", FEMS Microbiology Letters, 77: 5-12.

[292] Chen, Y.-s. Wang, L.-t. Liao, Y.-j. Lan, Y.-s. Chang, C.-h. Chang, Y.-c. Wu, H.-c. Lo, H.-y. Otoguro, M. ve Yanagida, F., (2017). "Lactobacillus musae sp. nov., a novel lactic acid bacterium isolated from banana fruits", International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 67: 5144-5149.

[293] Sadeghi, A. Raeisi, M. Ebrahimi, M. ve Sadeghi, B., (2016). "Antifungal activity of *Pediococcus pentosaceus* isolated from whole barley sourdough", Journal of food quality and hazards control, 3: 30-36.

[294] Arici, M. Ozulku, G. Yildirim, R.M. Sagdic, O. ve Durak, M.Z., (2018). "Biodiversity and technological properties of yeasts from Turkish sourdough", Food science and biotechnology, 27: 499-508.

[295] Pulvirenti, A. Caggia, C. Restuccia, C. Gullo, M. ve Giudici, P., (2001). "DNA fingerprinting methods used for identification of yeasts isolated from Sicilian sourdoughs", Annals of microbiology, 51: 107-120.

[296] Wenning, M. Seiler, H. ve Scherer, S., (2002). "Fourier-transform infrared microspectroscopy, a novel and rapid tool for identification of yeasts", Applied and Environmental Microbiology, 68: 4717-4721.

[297] Grajek, W. Olejnik, A. ve Sip, A., (2005). "Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods", Acta Biochimica Polonica, 52: 665.

[298] Salvucci, E. LeBlanc, J.G. ve Pérez, G., (2016). "Technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw cereal material", LWT-Food Science and Technology, 70: 185-191.

[299] Erkkilä, S. ve Petäjä, E., (2000). "Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use", Meat science, 55: 297-300.

[300] Mathara, J.M. Schillinger, U. Kutima, P.M. Mbugua, S.K. Guigas, C. Franz, C. ve Holzapfel, W.H., (2008). "Functional properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Maasai traditional fermented milk products in Kenya", Current Microbiology, 56: 315-321.

[301] Cálix-Lara, T.F. Rajendran, M. Talcott, S.T. Smith, S.B. Miller, R.K. Castillo, A. Sturino, J.M. ve Taylor, T.M., (2014). "Inhibition of *Escherichia coli* O157: H7 and Salmonella enterica on spinach and identification of antimicrobial substances produced by a commercial Lactic Acid Bacteria food safety intervention", Food Microbiology, 38: 192-200.

[302] Manini, F. Casiraghi, M. Poutanen, K. Brasca, M. Erba, D. ve Plumed-Ferrer, C., (2016). "Characterization of lactic acid bacteria isolated from wheat bran sourdough", LWT-Food Science and Technology, 66: 275-283.

[303] Katina, K. Sauri, M. Alakomi, H.-L. ve Mattila-Sandholm, T., (2002). "Potential of lactic acid bacteria to inhibit rope spoilage in wheat sourdough bread", LWT-Food Science and Technology, 35: 38-45.

[304] Arici, M. Bilgin, B. Sagdic, O. ve Ozdemir, C., (2004). "Some characteristics of Lactobacillus isolates from infant faeces", Food Microbiology, 21: 19-24.

[305] Schnürer, J. ve Magnusson, J., (2005). "Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives", Trends in Food Science & Technology, 16: 70-78.

[306] Chikthimmah, N. Anantheswaran, R.C. Roberts, R.F. Mills, E.W. ve Knabel, S.J., (2001). "Influence of sodium chloride on growth of lactic acid bacteria and subsequent destruction of *Escherichia coli* O157: H7 during processing of Lebanon bologna", Journal of Food Protection, 64: 1145-1150.

[307] Klingberg, T.D. Axelsson, L. Naterstad, K. Elsser, D. ve Budde, B.B., (2005). "Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages", International Journal of Food Microbiology, 105: 419-431.

[308] Santos, A. San Mauro, M. Sanchez, A. Torres, J. ve Marquina, D., (2003). "The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir", Systematic and Applied Microbiology, 26: 434-437.

[309] Sáez, G.D. Hébert, E.M. Saavedra, L. ve Zárate, G., (2017). "Molecular identification and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented kidney beans flours (*Phaseolus vulgaris L*. and *P. coccineus*) in northwestern Argentina", Food Research International, 102: 605-615.

[310] Demirbaş, F. İspirli, H. Kurnaz, A.A. Yilmaz, M.T. ve Dertli, E., (2017). "Antimicrobial and functional properties of lactic acid bacteria isolated from sourdoughs", LWT-Food Science and Technology, 79: 361-366.

[311] Slavin, J., (2003). "Why whole grains are protective: biological mechanisms", Proceeding of the Nutrition Society, 62: 129-134.

[312] Kumar, V. Sinha, A.K. Makkar, H.P. ve Becker, K., (2010). "Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review", Food Chemistry, 120: 945-959.

[313] Hammes, W.P. ve Gänzle, M., (1998). Sourdough breads and related products, ed. Microbiology of fermented foods. Springer, 199-216.

[314] Gobbetti, M. De Angelis, M. Arnaut, P. Tossut, P. Corsetti, A. ve Lavermicocca, P., (1999). "Added pentosans in breadmaking: fermentations of derived pentoses by sourdough lactic acid bacteria", Food Microbiology, 16: 409-418.

[315] Karaman, K. Sagdic, O. ve Durak, M.Z., (2018). "Use of phytase active yeasts and lactic acid bacteria isolated from sourdough in the production of whole wheat bread", LWT, 91: 557-567.

[316] Nayini, N. ve Markakis, P., (1983). "Effect of fermentation time on the inositol phosphates of bread", Journal of Food Science, 48: 262-263.

[317] Sanz-Penella, J.M. Laparra, J.M.s. Sanz, Y. ve Haros, M., (2012). "Assessment of iron bioavailability in whole wheat bread by addition of phytase-producing bifidobacteria", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60: 3190-3195.

[318] Brune, M. Rossander-Hultén, L. Hallberg, L. Gleerup, A. ve Sandberg, A.-S., (1992). "Iron absorption from bread in humans: inhibiting effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups", The Journal of nutrition, 122: 442-449.

[319] Yildirim, R.M. ve Arici, M., (2019). "Effect of the fermentation temperature on the degradation of phytic acid in whole-wheat sourdough bread", LWT-Food Science and Technology, 112: 108224.

[320] Guerzoni, M.E. Serrazanetti, D.I. Vernocchi, P. ve Gianotti, A., (2013). Physiology and biochemistry of sourdough yeasts, ed. Handbook on Sourdough Biotechnology. Springer, 155-181.

[321] Simonson, L. Salovaara, H. ve Korhola, M., (2003). "Response of wheat sourdough parameters to temperature, NaCl and sucrose variations", Food Microbiology, 20: 193-199.

[322] Longin, C. Ziegler, J. Schweiggert, R. Koehler, P. Carle, R. ve Würschum, T., (2016). "Comparative study of hulled (einkorn, emmer, and spelt) and naked wheats (durum and bread wheat): Agronomic performance and quality traits", Crop Science, 56: 302-311.

[323] Sobczyk, A. Pycia, K. Stankowski, S. Jaworska, G. ve Kuźniar, P., (2017). "Evaluation of the rheological properties of dough and quality of bread made with the flour obtained from old cultivars and modern breeding lines of spelt (*Triticum aestivum* ssp. spelta)", Journal of Cereal Science, 77: 35-41.

[324] Wieser, H. ve Koehler, P., (2009). "Is the calculation of the gluten content by multiplying the prolamin content by a factor of 2 valid?", European Food Research and Technology, 229: 9-13.

[325] Hidalgo, A. ve Brandolini, A., (2019). Nutritional, Technological, and Health Aspects of Einkorn Flour and Bread, ed. Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention. Italy: Elsevier, 99-110.

[326] Hidalgo, A. Fongaro, L. ve Brandolini, A., (2017). "Colour screening of whole meal flours and discrimination of seven *Triticum* subspecies", Journal of Cereal Science, 77: 9-16.

[327] Blandino, M. Locatelli, M. Gazzola, A. Coïsson, J.D. Giacosa, S. Travaglia, F. Bordiga, M. Reyneri, A. Rolle, L. ve Arlorio, M., (2015). "Hull-less barley pearling fractions: Nutritional properties and their effect on the functional and technological quality in bread-making", Journal of Cereal Science, 65: 48-56.

A

SEKANSLANAN LAB'NİN 16S rDNA GEN DİZİLİMLERİ

SB3 ***Lactobacillus brevis***

TGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGC
ACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGA
ACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCT
TCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGC
ATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAATCTCTTA
AAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGA
ATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTT
GTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGA
GATAACCTTCGGGAGTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAA
GTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTGTAATCCACCGTTCCT
GCATACCGCTACCTTGTTACGACATCACCCTAATCATCTGTCCACCTTAGA

SB4 ***Lactobacillus plantarum***

GCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCA
TTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTT
CGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAG
ATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCA
TTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGG
GGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTAC
AATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAA
AGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAA

TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
TACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGG
GTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAA
GTCGTAACAAGGTAGCC

SB5 ***Lactobacillus curvatus***

GTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGG
TTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGG
TTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACC
ACTCTAGAGATAAAGCTTTCCCTTCGGGGACAAAATGACAGGTGGTGCATG
GTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC
AACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTA
TGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAAAC
CGCGAGGTTTAGCTAATCTCTTAAAACCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTG
CAACTCGCCTACATGAAGCCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCC
GCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGA
GTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGAGGTAACCTT

SB6 ***Lactobacillus plantarum***

ATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAA
GCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCC
CTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTG
AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAG
CATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGT
GGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT
ACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTT
AAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCC
TTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGT

GGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGT
GAAGTCGTA

SB7 ***Lactobacillus crustorum***

GTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCC
GCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTT
ACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCGGG
GACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAG
TTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGG
TCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAACCG
ATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAA
CCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTC
GTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAAACTGCGGTTGAACCACCTGTCATAGATA
AGGCTACCTTGGTACGACTTCACCCTAATCATTTGTCCCACTTAGGCGGCTA
GTTCCCGAAGGGTTA

SB10 ***Lactobacillus crustorum***

TGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAG
CACTCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAG
AACCTTACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCC
TTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGC
ATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT
ACAATGGTCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTT
AAAACCGATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC

CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGT
GGGGTAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGG
TGAAGTCGTAACAAGGTAAACGTAGGAGAACCTGCGGTTCATAACCCCCCT
CCCTACAATACGGTTACTTTGTTACGACCTTCACCCTAAATCACTTTGTCCAC
CCTTAGGCGGCTAGTTTCCGAAGGGTTTACCCCACCGA

SB11 ***Lactobacillus brevis***

GTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCC
GCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCT
TACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGG
GGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTC
AGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAATCTCTTAAAG
CCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGAGA
TAACCTTCGGGAGTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAAGGTGAAGT
CCTAACAAGGTAGCCGTAGGACAACCTGGGGTATCTAATCCCCGTCTTGACT
AACGCTACCTTGTTACGACTTCACCCTAATCATCTGTCCACCTTA

SB12 ***Lactobacillus crustorum***

AAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACT
CCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGG
CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACC
TTACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCG
GGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATT
CAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGTCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAA

CCGATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGG
TAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAA
GTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTCAATACAACAAACCTA
GAATAACGGCTACCTTTGTGTACGACTTCACCCTAATCATTTGTCCACCTTA
GCGGCTAGTTCCCGAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCAG
GTG

SB13 ***Lactobacillus curvatus***

GGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCACTC
CGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGG
CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACC
TTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTTCCCTTCG
GGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATT
TAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACCA
TGGATGGTACAACGAGTCCCGAGACCGCGAGGTTTACCTTATCTCTTAAAAC
CATTCTCACTTTCGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGGGGTCT
TTCGTATTCCCGGATAATAATGCCCCGGTGAATACGTTTGCGGGGCTTGTGC
ACACTCCCCTTGACTCCCAGAGAGGTTGTGACACCCCCAAGGCGGAGGGTT
TAATGCTTGAGCTGCGGCCCTCAAGGGTGGAACACCCTCCTACGCGGAACA
ATCCTCGTTGTATCAAATGAACAACCAGGGTATCTACCCCGGTCTTGGCTTA
AGCTACCTTGTTACGACTTCACCCTAATCATCT

SB14 ***Lactobacillus crustorum***

GTGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAG
CACTCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAG
AACCTTACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCC
TTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGC

ATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT
ACAATGGTCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTT
AAAACCGATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC
CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGT
GGGGTAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGG
TGAAGTCGTAACAAGGTAGCCATAGGAGAACCTGCGGTTGAATCCACGTTC
TGCATACGCTACCTTGTTACGACTTCACCCTAATCATTTGTCCA

SB15 ***Lactobacillus crustorum***

TAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCAC
TCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAAC
CTTACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTC
GGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGA
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCAT
TCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG
GACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGTCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAA
ACCGATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAAT
CGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGG
TAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAA
GTCGTAACAAGGTAGCAGTAGGAGAACCTGCGGTCGTAACCCACCATCCTA
GACATACGGCTACCTTTGTTTACGACCTTCACCCTAGATCATTTGTCCACCTT
TAGGCGGCTAGTTCCCGAAGGGTTACCCCACCGACTTGGGTGTTACAAACTC
TCAGGGTGTG

SB16 ***Lactobacillus crustorum***

GTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCC
GCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTT
ACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCGGG
GACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAG
TTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGG
TCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAACCG
ATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAA
CCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTC
GTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTACATAACCACCCTCCCTACC
TAACGGCTACCTTTGTTACGACTTCACCCTAATCATTTGTCCACCTTAGGC

SB17*Lactobacillus plantarum*

ATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAA
GCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCC
CTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTG
AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAG
CATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGT
GGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT
ACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTT
AAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCC
TTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGT
GGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAAGTGGGACAGATGATTAGGGT
GAAGTCGTAACAAGGTAGCAAAAAGGACAACTGCGGTATCAACCCCCGTCT
TACATACGGCTACCTTTGTTACGACTTCACCCTAATCATCT

SB18 *Lactobacillus crustorum*

AGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTC
CGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCT
TACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCGG
GGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTC
AGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGTCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAA
CCGATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGG
TAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAA
GTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTGATATCAACCTCCTAA
AAACGGCTACCTTGTTACGAATCACCCTAATCATTTGTCCACCTTAGGCGGC
TAGTTCCCGAAGGGTTACCCCACCGACTTGGGGTGTTACAAACTCTCAGGT

SB19 ***Lactobacillus fermentum***

TAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCAC
TCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAAC
CTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCAACCCTAGAGATAGGGCGTTTCCTTC
GGGAACGCAATGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGA
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTACTAGTTGCCAGCAT
TAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG
GACGACGTCAGATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGACGGTACAACGAGTCGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCTCTTAAA
ACCGTTCTCAGTTCGGACTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCACGAAGTCGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
TACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGG
GTAACCTTTTAGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAA
GTCGTAACAAGGTAGCCAAAAGAGAACCTGCGGTTGAATCCCCCCTCCTAA

CAACGCTACCTTTGTTACGACTTCACCCTAATCATCTGTCCACCTTAGGCGG
CTGGCTCCTAAAAGGTTACCCCACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCAGGT

SB20 ***Pediococcus pentosaceus***

CTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTA
ATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGACAGTCTAAGAGATTAGAGGTTCCCTT
CGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAG
ATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGCA
TTAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGG
GGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTAC
AATGGATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTAAGCTAATCTCTTAA
AACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGA
ATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTT
GTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGG
GGTAACCTTTTAGGAGCTAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGA
AGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTGATACCCCCATCCTT
GAATAAGGCTACCTTTGTTACGACTTCACCCTAATCATCTGTCCACCTTTAG
ACGGCTAGCTCTAAAAGGTTACCCCACCGGCTTTGGGTGTTACAAACTCTCA
TGGTG

SB21 ***Lactobacillus plantarum***

TGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAG
CATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAG
AACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCCAATCTAAGAGATTAGACGTTCCC
TTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGC
ATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAAATCGCGAGAGTTAGCTAATCTCTTA
AAACCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGA

ATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTT
GTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGG
GGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAA

SB22 ***Lactobacillus paraplantarum***

CTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTC
AAAGGAATTGACGGGGGCCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAA
GCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGA
TTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAG
CTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTA
TCAGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAAC
CGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGC
TACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTA
AGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCT
ACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATA
CGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACAC
CCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAAGTGGGACAG
ATGATTAG

SB23 ***Lactobacillus crustorum***

AGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTC
CGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCT
TACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCGG
GGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTC
AGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGTCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAA
CCGATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGG
TAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAA
GTCGTAACAAGGTAGCAAGTAGGAGAACCTGCGGTTGGATTCACCGTTCTT

GACAAACGGCTACCTTGTTACGACTTCACCCTAAATCATTTTGTCCACCTTA
GGCGGCTAGTTCCCGAAGGG

SB24 ***Lactobacillus crustorum***

TGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCG
CCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTA
CCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCGGGG
ACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTG
GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGT
TGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGG
TCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAACCG
ATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAA
CCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTC
GTAACAAGGTAG

SB25 ***Lactobacillus fermentum***

AGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCACT
CCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAAC
CTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCAACCCTAGAGATAGGGCGTTTCCTTC
GGGAACGCAATGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGA
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTACTAGTTGCCAGCAT
TAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG
GACGACGTCAGATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGACGGTACAACGAGTCGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCTCTTAAA
ACCGTTCTCAGTTCGGACTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCACGAAGTCGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
TACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGG
GTAACCTTTTAGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAA

GTCGTAACAAGGTTGCCAGAATGAACAACTGCGGTATCTATCCCCCTTCTTA
GCATAGCTACCTTGTTACGACTTCACCCTAATCATCTGTCCACCTTAGGCGG
CTGGCTCTAAAAGGTTTACCCCACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCATGG

SB26 ***Lactobacillus crustorum***

GTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCC
GCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTT
ACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCGGG
GACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAG
TTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGG
TCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAACCG
ATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAACATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAA
CCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAAGTGG

SB34 ***Lactobacillus brevis***

TGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGC
ACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGA
ACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCT
TCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGC
ATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAATCTCTTA
AAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGA
ATCGCTAGTAATCGCGGATC

SB53 ***Lactobacillus plantarum***

TCACGCTAACGATGATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGC
AGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAAC
TCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATT
CGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAA
GAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTC
GTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TTATTATCAGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGA
CAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACC
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGA
GAGTAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACT
CGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGT
GAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGT
AACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAGGTGG
GACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCG
GTTGGATCACCTCCTAAAAAAAGG

SB63 ***Lactobacillus brevis***

GTGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAG
CACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAG
AACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCC
TTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTG
AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAG
CATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGT
GGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGA

SB67 ***Pediococcus acidilactici***

ATTACTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTA
AGTAATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGA
CGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGA
AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAACCTAAGAGATTAGGCGTTC
CCTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGT

GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCA
GCATTCAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG
TGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTG
CTACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAAACCGCGAGGTTTAGCTAATCTC
TTAAAACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTG

SB66 ***Pediococcus acidilactici***

ACTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGT
AATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGA
ACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAACCTAAGAGATTAGGCGTTCCCT
TCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGC
ATTCAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT
ACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAAACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTT
AAAACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC

SB68 ***Lactobacillus brevis***

AGTGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAA
GCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCC
CTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGT
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCA
GCATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG
TGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGC
TACAATGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAATCTCT
TAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGG

2AB –*Pediococcus acidilactici*

CTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTA
ATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAACCTAAGAGATTAGGCGTTCCCTT
CGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAG
ATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGCA
TTCAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGG
GGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTAC
AATGGATGGTACAACGAGTCGCGAAACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTTAA
AACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGA
ATCGCTAGTAATCGCGGATC

5AB *Lactobacillus fermentum*

GTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGGAGCTAACGCATTAA
GCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCAACCCTAGAGATAGGGCGTTTC
CTTCGGGAACGCAATGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCGT
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTACTAGTTGCCA
GCATTAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG
TGGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTG
CTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCTC
TTAAAACCGTTCTCAGTTCGGACTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCACGAAGTC
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGG
CCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCG
GTGGGGTAACCTTTTAGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGG
GTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTATTACCCCCTTC
CTTTAACGGCTACCTTGTTACGACTTCACCCTAATCATCTGTCCCACCTTAGG
CGGCTGGCTCCTAAAGGTTACCCCACCGACTTGGGTGTTACAAACTCTCAGG
GT

17AB *Lactobacillus crustorum*

ATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAA
GCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCC
CTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTG
AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAG
CATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGT
GGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT
ACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTT
AAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCC
TTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGT
GGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAAGTGGGACAGATGATTAGGGT
GAAGTCGTAACAAGGTAGCAAAAAGGACAACTGCGGTATCAACCCCCGTCT
TACATACGGCTACCTTTGTTACGACTTCACCCTAATCATCT

18AB *Lactobacillus fermentum*

TAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCAC
TCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAAC
CTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCAACCCTAGAGATAGGGCGTTTCCTTC
GGGAACGCAATGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGA
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTACTAGTTGCCAGCAT
TAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG
GACGACGTCAGATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGACGGTACAACGAGTCGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCTCTTAAA
ACCGTTCTCAGTTCGGACTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCACGAAGTCGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
TACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGG
GTAACCTTTTAGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAA
GTCGTAACAAGGTAGCCAAAAGAGAACCTGCGGTTGAATCCCCCCTCCTAA
CAACGCTA

SAB6 ***Pediococcus acidilactici***

CTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTA
ATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAACCTAAGAGATTAGGCGTTCCCTT
TCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGC

SAB13***Pediococcus acidilactici***

TGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTAATCCG
CCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACGGGGGCCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTA
CCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAACCTAAGAGATTAGGCGTTCCCTTCGGGG
ACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATTCAG
TTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGG
ATGGTACAACGAGTTGCGAAACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTTAAAACCA
TTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGGGGTAA
CCTTTTAGGAGCTAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCG
TAACAAGGTAGCCGTAGGAGAA

SAB4 ***Pediococcus acidilactici***

CTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTA
ATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAACCTAAGAGATTAGGCGTTCCCTT
CGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAG
ATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGCA
TTCAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGG
GGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTAC
AATGGATGGTACAACGAGTCGCGAAACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTTAA
AACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGA

ATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTT
GTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGG
GGTAACCTTTTAGGAGCTAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGA
AGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTGAATCCACCCTCTCT
GCAAAGGCTACCTTGTTACGACATCACCCTAATCATCTGTCCCACCTTAGAC
GGCTAGCTCTAAAAGGTTACCCCACCGGCTTTGGGTGTTACAAACTCTC

SAB19 ***Pediococcus acidilactici***

TACTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAG
TAATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAG
AACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAACCTAAGAGATTAGGCGTTCCC
TTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTG
AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAG
CATTCAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGT
GGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGC
TACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAAACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCT
TAAAACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC
CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGG
TGGGGTAACCTTTTAGGAGCTAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGG
TGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTGA

SAB10 ***Pediococcus acidilactici***

TACTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAG
TAATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAG
AACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAACCTAAGAGATTAGGCGTTCCC
TTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTG
AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAG
CATTCAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGT
GGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGC
TACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAAACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCT
TAAAACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCG

GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC
CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGG
TGGGGTAACCTTTTAGGAGCTAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGG
TGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTGGATTCACCCTC
CTATATACGGCTACCTTGTTACGACTTCACCCTAATCATCTGTCCCACCTTAG
ACGGCTAGCTCTAAAAGGTTACCCCACCGGCTTTGGGTGTTACAAACTCTCA
GGT

SAB26 ***Pediococcus acidilactici***

AGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTAATC
CGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACGGGGG
CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACC
TTACCAGGTCTTGACATCTTCTGACAACCTAAGAGATTAGGGGTTCCCTTCG
GGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATT
CAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGATGGTACAACGAGTCGCGAAA

SAB7 ***Pediococcus pentosaceus***

TTACTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAA
GTAATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGACAGTCTAAGAGATTAGAGGTTCC
CTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGT
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCA
GCATTAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG
TGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTG
CTACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTAAGCTAATCTC
TTAAAACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTC
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGG
CCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCG
GTGGGGTAACCTTTTAGGAGCTAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGG
GTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCA

SAB8 ***Pediococcus pentosaceus***

TAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTAA
TCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACGGGG
GCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAAC
CTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGACAGTCTAAGAGATTAGAGGTTCCCTTC
GGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGA
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGCAT
TAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG
GACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTAAGCTAATCTCTTAAA
ACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAAT
CGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGGGG
TAACCTTTTAGGAGCTAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAG
TCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTG

SAB12 ***Pediococcus pentosaceus***

ACTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGT
AATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGA
ACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGACAGTCTAAGAGATTAGAGGTTCCCT
TCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGC
ATTAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT
ACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTAAGCTAATCTCTT
AAAACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC
CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGG
TGGGGTAACCTTTTAGGAGCTAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGG
TGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTG

SAB38 ***Lactobacillus curvatus***

GGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCACTC
CGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGG
CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACC
TTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTTCCCTTCG
GGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGAT
GTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATT
TAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTTAAAA
CCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGAGG
TAACCTTCGGGAGCCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGT
CGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTG

SAB33 ***Lactobacillus curvatus***

GCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGC
ACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGA
ACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTTCCCT
TCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGC
ATTTAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCT
ACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTT
AAAACCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCCG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC
CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGC

SAB35 ***Lactobacillus curvatus***

TGTTGGAGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGC
CTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCC

GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTA
CCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTTCCCTTCGGGG
ACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATTTAG
TTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGG
ATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTTAGCTAATCTCTTAAAACCA
TTCTCAGTTCGGATTGTAAGCTGCAACTCGCCCTACATGAAGCCGGAATCGC
TAGTAATCGCGGAATCAGCATGCCGCGGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCC

SAB1 ***Lactobacillus curvatus***

GTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAA
GCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTTCC
CTTCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGT
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCA
GCATTTAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG
TGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTG
CTACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTTAGCTAATCTC
TTAAAACCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCC
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGG
CCT

SAB20 ***Leuconostoc mesenteroides***

CTAGGTGTTAGGAGGTTTCCGCCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCATTAAGTG
TTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGG
GACCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGAAGCTTTTAGAGATAGAAGTGTTCTCT
TCGGAGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTTGCCAGC
ATTCAGATGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGCG
GGGACGACGTCAGATCATCATGCCCCTTATGGCCTGGGCTACACACGTGCT

ACAATGGCGTATACAACGAGTTGCCAACCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCTT
AAAGTACGTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTC
TTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTTGTAATGCCCAAAGCCGGT
GGCCTAACCTTTTAGGAAGGAGCCGTCTAAGGCAGGACAGATGACTGGGGT
GAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTGATCAAACCTCCT
AATACGGCTACCTTGTTACGACTTCACCCAGTCATCTGTCCGCCTTAGACGG
CTCCTCCTAAAAGGTTAGGCCACCGGCTTTGGGCATTACAAACTCCATGGTG
TG

SAB5 ***Lactobacillus equigenerosi***

GTGCTAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGGAGCTAACGCATTAA
GCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCAACCCTAGAGATAGGGCGTTTC
CTTCGGGAACGCAATGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCGT
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTACTAGTTGCCA
GCATTAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG
TGGGGACGACGTCAGATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTG
CTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCTC
TTAAAACCGTTCTCAGTTCGGACTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCACGAAGTC
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGG
CCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCG
GTGGGGTAACCTTTTAGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGG
GTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTATTACCCCCTTC
CTTTAACGGCTACCTTGTTACGACTTCACCCTAATCATCTGTCCCACCTTAGG
CGGCTGGCTCCTAAAGGTTACCCCACCGACTTGGGTGTTACAAACTCTCAGG
GT

SAB21 ***Lactobacillus equigenerosi***

GAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGG
GGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAG
GTCTTGACATCTTGCGCCAACCCTAGAGATAGGGCGTTTCCTTCGGGAACGC

AATGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTACTAGTTGCCAGCATTAAGTTGG
GCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACG
TCAGATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACG
GTACAACGAGTCGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCTCTTAAAACCGTTC
TCAGTTCGGACTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCACGAAGTCGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACA
CCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACC
TTTTAGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTA
ACAAGGTAGACGTAGGAGAACCTGCGGTTGAAATCACCCCTTCCTGAAACG
GCTACCTTTGTTACGACTTCACCCTAAATCATCTGTCCCACCTTAGGCGGCT
GGCTCCTAAAAGGTTACCCCACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCAGGTGT
G

SAB31*Lactobacillus brevis*

TGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGA
AACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTA
ATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCT
TAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTG
TCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGT
GACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGA
CCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGT
GAGGCTAAGCTAATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAA
CTCGCCTACATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGC

SAB34 *Lactobacillus brevis*

AGTGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAA
GCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCC
CTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGT
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCA
GCATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG

TGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGC
TACAATGGACGGTACAACGAGTTGCAAAAGTCGTGGAGGGCTAAGCTAAAT
CTCTTTAAGGCCGTTCTCAGTTTCGGGATTGGAAGGCCTGCAAACTCCCCCT
ACATGAAAGTTTGGAAATCGCTAGGTAAATCGCGGGATCCACCATG

SAB16 ***Lactobacillus brevis***

GCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCA
CTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGG
GGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTT
CGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAG
ATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCA
TTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGG
GGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTAC
AATGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAATCTCTTAA
AGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
TACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGAG
ATAACCTTCGGGAGTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAG
TCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGG

SAB30 ***Lactobacillus plantarum***

GTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCC
GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGGTGAAACTCAAAAGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCT
TACCAGGTCTTGACATCCTATGCCAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGG
GGACATGGAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTA
AGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGATGGTACAACGAGTCGCGAAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTTCTTAA
AGCCATTCTCAGTTCGGACTTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGA
ATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAT

SAB14 ***Lactobacillus plantarum***

TGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAG
CATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAG
AACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCC
TTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGC
ATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTA
AAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGA
ATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTT
GTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGG
GGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGA
AGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTGAAAACCCCCCTCCC
TAAAACGGCTACCTTTGTTTACGACATCACCCTAATCATCTGTCCACCTTAG
GCGGCTGGTTCCTAAAGGTTACCCACCGACTTGGGTGTTACAAACTCTCAGG
TG

SAB15 ***Lactobacillus plantarum***

GATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTA
AGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGA
CGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGA
AGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTC
CCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGT
GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCA
GCATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG
TGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGC
TACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCT
TAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC
CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGT
GGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGT
GAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGT

SAB22 ***Lactobacillus plantarum***

TGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAG
CATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAG
AACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCC
TTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGC
ATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTG
GGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTA
CAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTA
AAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGA
ATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTT
GTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGG
GGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGA
AGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTGATAAAAACCTTCCTA
AAAACGGCTACCTTTGTTTACGACTTCACCCTAATCATCTGTCCACCTTAGG
CGGCTGGTTCCTAAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCAG
GG

SAB32 ***Lactobacillus plantarum***

ATGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCC
GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCT
TACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGG
GGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTA
AGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGATGG

SAB9 ***Lactobacillus crustorum/Lactobacillus musae***

TGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCG
CCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTA

CCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCGGGG
ACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTG
GGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGT
TGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGG
TCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAACCG
ATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAA
CCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTC
GTA

SAB17*Lactobacillus crustorum/Lactobacillus musae*

AGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTC
CGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCT
TACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCGG
GGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTC
AGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGTCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAA
CCGATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGG
TAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAA
GTCGT

SAB18 *Lactobacillus crustorum/Lactobacillus musae*

AGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTC
CGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCT
TACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCGG
GGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATG

TTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTC
AGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
ACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAA
TGGTCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAA
CCGATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGG
TAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAA
GTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTGATATCAACCTCCTAA
AAACGGCTACCTTGTTACGAATCACCCTAATCATTTGTCCACCTTAGGCGGC
TAGTTCCCGAAGGGTTACCCCACCGACTTGGGGTGTTACAAACTCTCAGGT

SAB2 ***Lactobacillus crustorum/Lactobacillus musae***

AGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGG
GGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAG
GTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCCCTTCGGGGACAT
GGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGG
CACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTC
AAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGT
ACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACTTAAAACCGATCTC
AGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTA
ATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACC
GCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCCT
TCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTCGTAA
C

SAB3 ***Lactobacillus crustorum/Lactobacillus musae***

GTGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAA
GCACTCCGCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAA
GAACCTTACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTAAGAGATTAGTCTTTCC
CTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTG

AGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAG
CATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGT
GGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGC
TACAATGGTCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGTAAGCAAATCACT
TAAAACCGATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGC
CTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGT
GGGGTAACCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGG
TGAAG

SAB23 ***Lactobacillus paralimentarius***

GAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGG
GGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCAC
AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAG
GTCTTGACATACCATGAAAAGCTTAGAGATAAGTCTTTCCCTTCGGGGACAT
GGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTT
AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGG
CACTCTGGTGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTC
AAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGT
ACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCACTTAAAACCGATCTC
AGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCTAGTA
ATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACC
GCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCCT
TCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTCGTAA
CAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTTGATAAAAACCTTCCTTAAATACG
GCTACCTTGGTTACGACTTCACCCTAATCATTTGTCCACCTTAGCGGCTAGTT
CCCGAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCAGGTG

SAB24 ***Lactobacillus paralimentarius***

GTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCC
GCCTGGGGAGTACGATCGCAAGATTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTT
ACCAGGTCTTGACATACCATGAAAAGCTTAGAGATAAGTCTTTCCCTTCGGG
GACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTT

GGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAG
TTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGATAAACCGGAGGAAGGTGGGGACG
ACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGG
TCGGTACAACGTGCTGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCACTTAAAACCG
ATCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAATCGCT
AGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAA
CCCTTCGGGGAACTAGCCGCCTAAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTC
GTAACAAGGTAGCAATAGGAGAACCTGCGGTTGAAACCCCCCTCCTACAAT
ACGGCTACCTTGTTACGACTTCACCCTAATCATTTGTCCCACCTTAGGCGGC
TAGTTCCCGAAAGGTTACCCC

SAB28 ***Lactobacillus fermentum***

TAGGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGGAGCTAACGCATTAAGCAC
TCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAAC
CTTACCAGGTCTTGACATCTTGCGCCAACCCTAGAGATAGGGCGTTTCCTTC
GGGAACGCAATGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGA
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTTACTAGTTGCCAGCAT
TAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGG
GACGACGTCAGATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACA
ATGGACGGTACAACGAGTCGCGAACTCGCGAGGGCAAGCAAATCTCTTAAA
ACCGTTCTCAGTTCGGACTGCAGGCTGCAACTCGCCTGCACGAAGTCGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTG
TACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGG
GTAACCTTTTAGGAGCCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAA
GTCGTAACAAGGTAGCCAAAAGAGAACCTGCGGTTGAATCCCCCCTCCTAA
CAACGCTA

B
MAYALARIN 26S rDNA GEN DİZİLİMLERİ

3SM1-3 *Saccharomyces cerevisiae*

AGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTA
ATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCTTGTCTATGTTCATTGGAACAG
GACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTTGTA
AAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGG
TAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTA
CAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGT
GAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGACATGGTGTTTTGTGCCCTC
TGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTCGCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTT
GGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTTGCCTCGGTAAGTATTATAG
CCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGATGTAAGTCAAGGA
TGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGAAC

3SM3-3 *Saccharomyces cerevisiae*

ACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGTG
CCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCTTGTCTATGTT
CCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGC
GGTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCT
AAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAG
CGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGA
AAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGACATGGTGT
TTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTCGCATTTCACTGGGCCA
GCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTTGCCTCGGTA
AGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACGT
AAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGAA

3SM7-0 *Saccharomyces cerevisiae*

TACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGT
GCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGTGCCGGCTCCTTGTCTAT
GTTCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGACGAGGAG
TGCGGTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGC
TCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGA
TAGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAG
TGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGACATGG
TGTTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTC

2SM2-1 *Wickerhamomyces anomalus*

ACGGCGAGTGAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTAGCACCTTCGGTGT
TCGAGTTGTAATTTGAAGATGGTAACCTTGGGTTTGGCTCTTGTCTATGTTCC
TTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTCTGATGAGATGCCCAT
TCCTATGTAAGGTGCTATCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAA
GTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCG
AACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAA
AAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTAGATCAGACTTGGTGTTT
TACGATTATCTTCTCTTCTTGAGTTGTGCACTCGTATTTCACTGGGCCAGCAT
CGATTCGGATGGCAAGATAATGGCAGTTGAATGTGGCTTCACTTCGGTGGA
GTGTTATAGCTTCTGCTGATATTGCCTGTCTGGATCGAGGGCTGCGTCTTTTG
ACTAGGATGCTGGCGTAATGATCTAATGCCGCCCGTCTTGAA

SM2-0 *Rhodotorula mucilaginosa*

TGGAATACAGCGGCATAGTGGTGAGACCCCCGTATATGGTGCGGACGCCCA
GCGCTTTGTGATACATTTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAA
ATTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGC
GAACAAGTACCGTGAGGGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAAGAGAGTTAA
CAGTACGTGAAATTGTTGGAAGGGAAACGCTTGAAGTCAGACTTGCTTGCC
GAGCAATCGGTTTGCAGGCCAGCATCAGTTTTCCGGGATGGATAATGGTAG
AGAGAAGGTAGCAGTTTCGGCTGTGTTATAGCTCTCTGCTGGATACATCTTG

GGGGACTGAGGAACGCAGTGTGCCTTTGGCGGGGGTTTCGACCTCTTCACA
CTTAGGATGCTGGTGGAATGGCTTTAAACGACCCGTCTTGAAA

4SAM2-4 *Saccharomyces cerevisiae*

GGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCC
CGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCTTGTCTATGTTCC
TTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGG
TTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAA
GTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCG
AACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAA
AAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGACATGGTGTTT
TGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTCGCATTTCACTGGGCCAGC
ATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTTGCCTCGGTAA
GTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGATGTA
AGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGAAC

4SAM3-4 *Candida glabrata*

TACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTTGGT
GCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGTACCACTTTGGGACTGTACTTTGCCTATGT
TCCTTGGAACAGGACGTCATGGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGGTGT
CAGTTCTTTGTAAAGGGTGCTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTC
TAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATACAGGCGAGAGACCGATA
GCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTG
AAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGACATGGTG
TTTTGCGCCCCTTGCCTCTCGTGGGCTTGGGACTCTCGCAGCTCACTGGGCC
AGCATCGGTTTTGGCGGCCGGAAAAAACCTAGGGAATGTGGCTCTGCGCCT
CGGTGTAGAGTGTTATAGCCCTGGGGAATACGGCCAGCCGGGACCGAGGAC
TGCGATACTTGTTATCTAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCT
TGAA

SAM1-2 *Wickerhamomyces anomalus*

ACGGCGAGTGAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTAGCACCTTCGGTGT
TCGAGTTGTAATTTGAAGATGGTAACCTTGGGTTTGGCTCTTGTCTATGTTCC
TTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTCTGATGAGATGCCCAT
TCCTATGTAAGGTGCTATCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAA
GTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCG
AACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAA
AAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTAGATCAGACTTGGTGTTT
TACGATTATCTTCTCTTCTTGAGTTGTGCACTCGTATTTCACTGGGCCAGCAT
CGATTCGGATGGCAAGATAATGGCAGTTGAATGTGGCTTCACTTCGGTGGA
GTGTTATAGCTTCTGCTGATATTGCCTGTCTGGATCGAGGGCTGCGTCTTTTG
ACTAGGATGCTGGCGTAATGATCTAATGCCGCCCGTCTTGAAC

SAM1-4 *Saccharomyces cerevisiae*

GTGAAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGT
TGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCTTGTCTATGTTCCTTGGA
ACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTT
TGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGG
GTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACA
AGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGT
ACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTTGATCAGACATGGTGTTTTGTG
CCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTCGCATTTCACTGGGCCAGCATCA
GTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTTGCCTCGGTAAGTATT
ATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACGTAAGTCA
AGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGAAACACGGACC

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

İletişim Bilgisi:cakir.elif2014@gmail.com

Makaleler

1. Çakır, E., Arıcı, M., Durak, M. (2020). Biodiversity and Techno-Functional Properties of LAB in Fermented Hull-less Barley Sourdough, Journal of Bioscience and Bioengineering, 10.1016 / j.jbiosc.2020.05.002

2. Çakır, E., Arıcı, M., Durak, M. Z., & Karasu, S. (2020). The molecular and technological characterization of Lactic acid bacteria in einkorn sourdough: effect on bread quality. Journal of Food Measurement and Characterization, doi: 10.1007/s11694-020-00412-5