

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EKŞİ HAMURDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ VE
MAYALARIN FİTAZ AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Ruşen METİN YILDIRIM

**DOKTORA TEZİ
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Muhammet ARICI**

Şubat, 2020

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EKŞİ HAMURDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ VE MAYALARIN
FİTAZ AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

Ruşen METİN YILDIRIM tarafından hazırlanan doktora tez çalışması 05.02.2020 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

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Muhammet ARICI, Danışman

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. M.Zeki DURAK, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Tuncay GÜMÜŞ, Üye

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Banu METİN, Üye

İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Muhammet ARICI sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Ekşi Hamurdan İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri ve Mayaların Fitaz Aktivitelerinin Belirlenmesi 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.

Ruşen METİN YILDIRIM

İmza



*Babama
ve
Oğluma*

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince, desteğini her zaman hissettiğim, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım çok değerli danışman hocam Prof.Dr. Muhammet ARICI başta olmak üzere, değerli bilgilerini ve yardımlarını benden esirgemeyen çok değerli hocam Prof.Dr. Osman SAĞDIÇ'a; tecrübesinden ve bilgisinden faydalandığım sevgili hocam Doç Dr. M.Zeki DURAK'a ve Dr. Öğr. Üyesi Banu METİN'e, değerli fikirlerinden faydalandığım Dr. Öğr. Üyesi Görkem ÖZÜLKÜ'ye ve her zaman ihtiyacım olduğunda yanımda olan Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünün tüm değerli hocalarına teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Doktora eğitimim ve tez çalışmamın her aşamasında destekçim olan sevgili eşim Hasan Özgür YILDIRIM'a ve aileme sonsuz saygı ve sevgilerimi sunarım.

Ruşen METİN YILDIRIM

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	VII
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	5
2.1 Ekşi Hamur	5
2.1.1 Ekşi Hamurun Özellikleri.....	6
2.1.2 Ekşi Hamurun Sınıflandırılması.....	8
2.1.3 Ekşi Hamur Mikrobiyotası	12
2.1.4 Ekşi Hamur Teknolojisinin Yararlı Uygulamaları	18
2.2 Fitik asit	24
2.2.1 Mineral Alımı Üzerine Fitatın Etkisi.....	26
2.2.2 Fitatın Protein Sindirilebilirliği Üzerine Etkisi	29
2.2.3 Fitatın Karbonhidrat Kullanımı Üzerine Etkisi	30
2.2.4 Fitik Asit Parçalanması	31
3 MATERYAL VE YÖNTEM	36
3.1 Materyal.....	36
3.2 Yöntem	36
3.2.1 Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu	37
3.2.2 Maya İzolasyonu	37
3.2.3 Laktik Asit Bakterilerinin ve Mayaların Katı Besiyeri Üzerinde Fitaz Aktivitesinin Tespiti.....	37
3.2.4 Ekstraselüler Fitaz Aktivitesi Tayini.....	38

3.2.5 Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması.....	38
3.2.6 Fitaz Aktivitesi Gösteren LAB ve Mayaların FT-IR ile Tanımlanması	40
3.2.7 16S rDNA ve 26S rDNA Gen Analizi	40
3.2.8 Ekşi Hamur Üretimi	42
3.2.9 Ekmek Üretimi	42
3.2.11 Ekşi Hamurda LAB ve Maya Sayımı	43
3.2.12 Ekmek Hamurunun Reolojik Ölçümleri.....	43
3.2.13 Spesifik Hacim Analizi	43
3.2.14 Renk Ölçümü.....	43
3.2.15 Tekstür Profil Analizi.....	43
3.2.16 Duyusal Analiz.....	44
3.2.17 Ekmek Örneklerinde Fitik Asit Tayini	44
3.2.18 Mineral Madde Analizi	44
3.2.19 Real Time PCR ile Bazı Mayaların Gen Ekspresyonunun İncelenmesi.....	44
3.2.20 İstatistiksel Analiz	46
4 ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	47
4.1 LAB ve Maya İzolasyonu.....	47
4.2 Laktik Asit Bakterilerinin ve Mayaların Katı Besiyeri Üzerinde Fitaz Aktivitesinin Tespiti	48
4.3 Laktik Asit Bakterileri ve Maya İzolatlarının Spektrofotometrik Ekstraselüler Fitaz Aktiviteleri	49
4.4 İzolatların Fourier Transform Infrared Spektroskopisi ile Tanımlanması	50
4.5 İzolatların PCZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile Tanımlanması.....	54
4.6 Ekşi Hamur ve Ekmek Üretimi.....	61
4.6.1 Ekşi Hamur Örneklerinin pH ve Toplam Titrasyon Asitliği (TTA).....	61
4.6.2 Ekşi Hamur Örneklerinin LAB ve Maya Sayımları	62
4.6.3 Ekmek Hamuru Örneklerinin Viskoelastik Özellikleri	65
4.6.4 Üretilen ekmeklerin spesifik hacim ve renk ölçümleri.....	71
4.6.5 Ekmek Örneklerinin Tekstür Profil Analiz Sonuçları	77
4.6.6 Duyusal Analiz Sonuçları.....	77
4.6.8 Fitik Asit Parçalanma Oranları	81
4.6.9 Mineral Madde İçeriği.....	84
4.7 Hedef Gene (<i>PHO3</i>) Ait Real Time Analizi.....	86
4.7.1 <i>PHO3</i> Geninin Ekspresyonuna Ait Erime Profili	87
4.7.2 Kontrol genine ait (Housekeeping gene) Real Time PCR Analizi	88

4.7.3 <i>ACT1</i> geninin ekspresyonuna ait erime profili	88
5 SONUÇ VE ÖNERİLER	90
KAYNAKÇA	93
A Sekanslanan Laktik Asit Bakterilerinin 16s rDNA Gen Dizilimleri	110
B Sekanslanan Mayaların 26s rDNA Gen Dizilimleri	132
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	138



SİMGE LİSTESİ

%	Yüzde
°	Santigrad
Zn	Çinko
Fe	Demir
G'	Elastik (depo modülü)
g	gram
Hz	Hertz
Ca	Kalsiyum
a*	Kırmızılık
G*	Kompleks modülü
η^*	Kompleks viskozite
L	Litre
Log	Logaritma
Mg	Magnezyum
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
mL	mililitre
L*	Parlaklık
b*	Sarılık
G''	Viskoz (kayıp) modülü
V	Volt

KISALTMA LİSTESİ

APT	All purpose tween agar
DNA	Deoksiribonükleik asit
DRBC	Dichloran rose bengal chloramphenicol agar
EH	Ekşi hamur
FT-IR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
kob	Koloni oluşturan birim
LAB	Laktik asit bakterisi
MRS	deMan, Rogosa and Sharpe agar
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SDA	Sabouraud dextrose agar
TPA	Tekstür profil analizi
YGC	Yeast extract glucose chloramphenicol agar

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Ekşi Hamur Tipleri	9
Şekil 2.2 Fitik Asidin Kimyasal Yapısı	24
Şekil 3.1 Kalibrasyon Grafiği	39
Şekil 3.2 FT-IR Spektrofotometre Cihazı	40
Şekil 3.3 PCR Analiz Aşamaları	41
Şekil 4.1 Saflaştırılan Maya İzolat Örnekleri	47
Şekil 4.2 Saflaştırılan LAB izolat örnekleri.....	47
Şekil 4.3 Fitaz Tarama Besiyerinde Zon Oluşturan İzolat Örnekleri	48
Şekil 4.4 Fitaz Tarama Besiyerinde Yıkama Sonrası Stabil Kalan Zon Örnekleri....	48
Şekil 4.5 LAB İzolatlarına Ait Ekstraselüler Fitaz Aktiviteleri.....	51
Şekil 4.6 Maya İzolatlarına Ait Ekstraselüler Fitaz Aktiviteleri	52
Şekil 4.7 Bazı Maya İzolatlarının FTIR Spektrumları	53
Şekil 4.8 Bazı LAB İzolatlarının FTIR Spektrumları	53
Şekil 4.9 Maya İzolatlarının Sınıflandırma Analizi	54
Şekil 4.10 LAB İzolatlarının Sınıflandırma Analizi	55
Şekil 4.11 LAB İzolatlarına Ait Filogenetik Ağaç	60
Şekil 4.12 Maya İzolatlarına Ait Filogenetik Ağaç.....	60
Şekil 4.13 Üretilen Ekşi Hamur Örnekleri.....	62
Şekil 4.14 Ekşi Hamur Örneklerinin 0. ve 20.saat LAB Sayıları.....	64
Şekil 4.15 Ekşi Hamur Örneklerinin 0. ve 20.saat Maya Sayıları	65
Şekil 4.16 25°C'de Suş Kombinasyonlarına Bağlı Olarak Ekmek Hamurundaki Elastik Modül (G') ve Viskoz Modül (G'') Değişimi	66
Şekil 4.17 30°C'de Suş Kombinasyonlarına Bağlı Olarak Ekmek Hamurundaki Elastik Modül (G') ve Viskoz Modül (G'') Değişimi	67
Şekil 4.18 35°C'de Suş Kombinasyonlarına Bağlı Olarak Ekmek Hamurundaki Elastik Modül (G') ve Viskoz Modül (G'') Değişimi	67
Şekil 4.19 EH1 Ekşi Hamurunun Sıcaklığa Bağlı Olarak Elastik Modül (G') ve Viskoz Modül (G'') Değişimi	68
Şekil 4.20 EH2 Ekşi Hamurunun Sıcaklığa Bağlı Olarak Elastik Modül (G') ve Viskoz Modül (G'') Değişimi	68
Şekil 4.21 EH3 ekşi Hamurunun Sıcaklığa Bağlı Olarak Elastik Modül (G') ve Viskoz Modül (G'') Değişimi	69
Şekil 4.22 EH4 Ekşi Hamurunun Sıcaklığa Bağlı Olarak Elastik Modül (G') ve Viskoz Modül (G'') Değişimi	69
Şekil 4.23 Ekmek Örneklerinin Spesifik Hacim Değerleri	72
Şekil 4.24 Ekmek Kabuk Rengine Ait L* Değeri.....	74
Şekil 4.25 Ekmek Kabuk Rengine Ait a* Değeri	74
Şekil 4.26 Ekmek Kabuk Rengine Ait b* Değeri.....	74
Şekil 4.27 Ekmek İç Rengine Ait L* Değeri	75

Şekil 4.28 Ekmek İç Rengine Ait a^* Değeri.....	75
Şekil 4.29 Ekmek İç Rengine Ait b^* Değeri	75
Şekil 4.30 Ekmeklerin Dış Görünüşleri	78
Şekil 4.31 Ekmeklerin İç Kesiti.....	79
Şekil 4.32 Ekmek Örneklerindeki Fitik Asit Miktarı	81
Şekil 4.33 Tam Buğday Unundaki Miktarı Göre Fitik Asit Parçalanma Oranları ...	83
Şekil 4.34 <i>PHO3</i> Gen Ekspresyonu	86
Şekil 4.35 <i>PHO3</i> Geni Ekspresyon Analizine Ait Erime Grafiği	87
Şekil 4.36 <i>ACT1</i> Gen Ekspresyonuna Ait Döngü Sayılarına Karşılık Gelen Relatif Florasan Birimi	88
Şekil 4.37 <i>ACT1</i> Geni Ekspresyon Analizine Ait Erime Grafiği.....	89
Şekil 4.37 TGM38, TGM41, 39LM3'e ait fitaz genlerinin kontrol genine göre normalize edilmiş $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri	90



TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Tiplerine Göre Olgun Ekşi Hamurlardaki Karakteristik LAB ve Maya Mikrobiyotasına Genel Bakış	13
Tablo 3.1 Ekşi hamur kodları ve toplanan bölgeler	36
Tablo 3.2 Sentetik Fitaz Tarama Besiyeri.....	38
Tablo 3.3 Kalibrasyon Eğrisi İçin Hazırlanan Stok Çözeltiler	39
Tablo 3.4 Real Time PCR’da Kullanılan Primerler	45
Tablo 4.1 Maya İzolatlarının Sekans Sonucu.....	58
Tablo 4.2 Laktik asit bakterilerinin Sekans Sonucu	59
Tablo 4.3 Örnek Kodları ve Suş Kombinasyonları	61
Tablo 4.4 Ekşi Hamur Örneklerinin pH Ve TTA Ölçümleri.....	63
Tablo 4.5 Ekşi Hamur Örneklerinin LAB ve Maya Sayımları	64
Tablo 4.6 Ekmek Hamurlarının Elastik Modül (G'), Viskoz Modülü (G'') ve Kompleks Modül (G^*) Değerleri	70
Tablo 4.7 Ekmek Örneklerinin Hacim ve Spesifik Hacim Değerleri.....	71
Tablo 4.8 Ekmek Örneklerinin Kabuk ve İç Rengi	73
Tablo 4.9 Ekmek Örneklerinin TPA Değerleri.....	76
Tablo 4.10 Ekmek Örneklerine Ait Duyusal Analiz Sonuçları.....	80
Tablo 4.11 Ekmek Örneklerindeki Fitik Asit Miktarı.....	82
Tablo 4.12 Ekmek Örneklerinin Mineral Madde İçeriği	85
Tablo 4.13 <i>PHO3</i> Geninin Ekspresyonuna Ait Cq Değerleri.....	86
Tablo 4.14 <i>ACT1</i> Kontrol Geninin Ekspresyonuna Ait Cq Değerleri	88

EKŞİ HAMURDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ VE MAYALARIN FİTAZ AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Ruşen METİN YILDIRIM

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Tam buğday ekmeği mineraller, vitaminler, fenolik bileşenler, steroller ve tokoferoller gibi birçok fitokimyasalı içermektedir. Aynı zamanda divalent mineralleri bağlayıp ince bağırsakta mineral alımını olumsuz yönde etkileyen fitik asidi de bünyesinde barındırmaktadır. Bu çalışma kapsamında fitaz aktivitesi yüksek laktik asit bakterileri ve mayalar belirlenip çeşitli kombinasyonlar oluşturulmuş ve farklı sıcaklıklarda ekşi hamur fermentasyonu gerçekleştirilerek ekmek üretimi yapılmış ve kullanılan sıcaklık ve suş kombinasyonunun fitik asit ve mineral içeriği üzerine etkilerinin yanında ekmek kalitesi üzerine etkileri de incelenmiştir. Bu amaçla farklı işletmelerden ekşi hamur toplanarak ve laboratuvarında ekşi hamur üretilerek laktik asit bakterileri ve mayalar izole edilmiş ve ekstraselüler fitaz aktiviteleri belirlenmiştir. Fitaz aktif olan izolatların FT-IR ile spektrumları alınarak sınıflandırma analizi yapılmış, farklı kollardan seçilen izolatlar genetik olarak tanımlanmıştır. En yüksek fitaz aktivitesi, laktik asit bakterilerinden 803,95 U/mL ile HEB33 kodlu *Lactobacillus brevis* ve 797,88 U/mL ile ELB78 kodlu *Lactobacillus plantarum*'da, mayalarda ise 582,12 U/mL ile TGM38 kodlu *Saccharomyces cerevisiae*'da tespit edilmiştir. Bu izolatlardan üç farklı starter kombinasyonu oluşturulmuş ve bunlara ilaveten spontan ekşi hamur üretimi gerçekleştirilmiştir. Starter kullanılan her üç kombinasyonda TGM38 *Saccharomyces cerevisiae* kullanılmıştır. Ekşi hamur örnekleri 25°C, 30°C, 35°C'de fermentasyona bırakılmış ve ekmek üretiminde kullanılmıştır. Ekşi hamur örneklerinde fermentasyonun 0.saati ve 20.saatinde pH ve toplam titrasyon asitlik

(TTA) oranları ölçülmüş ve laktik asit bakteri (LAB) sayımı ve maya sayımı yapılmıştır. Fermentasyonun başlangıcında örneklerin pH ve TTA'ları benzerlik göstermekle beraber fermentasyon sonunda ekşi hamur örneklerinin pH'sı 3,71-4,06 aralığında, TTA'sı ise 6,30-8,80 aralığında olduğu belirlenmiştir. Fermentasyon sonundaki LAB ve maya sayımları ise sırasıyla 6,99-9,47 log kob/g ve 5,54-7,25 log kob/g aralığında bulunmuştur. Ekmek hamurlarında yapılan reolojik analiz sonuçlarında tüm ekmek hamuru örnekleri benzer reolojik davranış sergilemiş, tüm örneklerde frekansa bağlı olarak elastik modülü, viskoz modülü ve bunların bir fonksiyonu olan kompleks modülü değerleri artış sergilemiştir. Üretilen ekmeklerin spesifik hacim değerleri 1,39-2,01 arasında değiştiği belirlenmiştir. Ekmeklerin tekstür parametreleri incelenmiş ve tüm sıcaklıklarda üretilen spontan ekşi hamur eklenmiş ekmek örneklerinin sertlik değerleri, suş eklenerek yapılanlara göre belirgin düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ekmek örneklerinin duyu analizi sonuçlarına göre genel değerlendirmede en yüksek beğeniyi 25°C'de *Lactobacillus plantarum* ELB78+ *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 suşlarıyla üretilen ekşi hamurundan elde edilen ekmek almıştır. Ekmek örneklerinde fitik asit oranı 2,88-6,40 mg/g aralığında farklılık göstermiş, belirlenen sonuçlara göre fitik asit parçalanma oranı %30,47-69,76 arasında değiştiği bulunmuştur. En yüksek oranın (%69,76) 25°C'de fermente edilen, *Lactobacillus brevis* HEB33, *Lactobacillus plantarum* ELB78 ve *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 suşlarının birlikte kullanıldığı ekşi hamurdan üretilen ekmek örneğinde olduğu görülmüştür. Ekmek örneklerinin Ca, Mg, Fe ve Zn değerleri de belirlenmiş ve en yüksek Ca ve Mg oranlarının da yine aynı ekmek örneğinde olduğu bulunmuştur. Yüksek fitaz aktivitesi gösteren bazı *Saccharomyces cerevisiae* izolatları ve aktivite göstermeyen ticari maya izolatının fitaz geninin belirlenmesine yönelik primer geliştirilerek Real Time PCR ile fitaz geninin ekspresyonu incelenmiş ve aktivite gösteren izolatların ekspresyonunun daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ekşi hamur, fitaz aktivitesi, fitik asit, laktik asit bakterisi, maya.

DETERMINATION OF PHYTASE ACTIVITIES OF LACTIC ACID BACTERIA AND YEAST ISOLATED FROM SOURDOUGH

Ruşen METİN YILDIRIM

Department of Food Engineering

Doctor of Philosophy Thesis

Adviser: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Whole wheat bread contains many phytochemicals such as minerals, vitamins, phenolic compounds, sterols and tocopherols. However, it also contains phytic acid, which binds divalent minerals and negatively affects mineral intake in the small intestine. In this study, lactic acid bacteria and yeasts with high phytase activity were determined and sourdough productions were performed with these isolates at different temperatures. The whole wheat breads were produced with sourdough samples and the effects of strains and temperature used in sourdough fermentation were investigated on the bread quality, phytate and mineral content of the bread samples. For this purpose, the sourdough samples were collected from different companies and produced in the laboratory. Lactic acid bacteria and yeast were isolated from these sourdough samples and extracellular phytase activities of the isolates were determined. The spectral measurement of the phytase active isolates was taken by FT-IR spectroscopy and cluster analysis was performed from the spectra. The isolates were selected from different branches of the dendrogram and identified genotypically. The highest extracellular phytase activities were determined to be 803.95 U/mL and 797.88 U/mL, observed with *Lactobacillus brevis* HEB33 and *Lactobacillus plantarum* ELB78 among lactic acid bacteria, respectively and 582.12 U/mL observed with *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 among yeast. Three different starter combinations were formed from these isolates and in

addition, spontaneous sourdough production was performed. *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 was used in all three starter combinations. The sourdough samples were fermented at 25°C, 30°C, 35°C and used in bread production. The pH, total titratable acidity, yeast and LAB counts of the sourdough samples were determined at the beginning and after 20h of fermentation. At the beginning of fermentation, pH and TTA values of the samples were similar. At the end of fermentation, pH and TTA of the sourdough samples were determined in the range of 3.71-4.06 and 6.30-8.80, respectively. LAB and yeast contents of the sourdough samples were in the range of 6.99-9.47 log CFU/g and 5.54-7.25 CFU/g, respectively. In the results of the rheological analysis of the bread dough, all bread dough samples showed similar rheological behaviour, values of storage modulus, loss modulus and complex modulus which is a function of storage and loss modulus increased according to frequency. The specific volume values of the bread samples varied between 1.39-2.01. The texture parameters of the breads were also studied and it was found that the hardness values of the bread samples with spontaneous sourdough produced at all temperatures were significantly higher than those produced by adding the starter cultures. Considering the overall acceptability scores of the bread samples, the highest score was assigned to the bread sample produced with *Lactobacillus plantarum* ELB78 and *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 fermented at 25 °C. The phytic acid content of the bread samples varied between 2.88-6.40 mg/g. The phytic acid degradation ratio was in the range of 30.47–69.76%, with the highest value found in bread sample fermented at 25 °C, using both *Lactobacillus brevis* HEB33 and *Lactobacillus plantarum* ELB78. Ca, Mg, Fe ve Zn content of the bread samples were determined and the highest Ca and Mg contents were found in the same bread sample. The primer was developed in order to determine the phytase gene of some *Saccharomyces cerevisiae* isolates with high phytase activity and non-active commercial baker's yeast. The phytase gene expression of the isolates was studied by Real Time PCR and the expression of the isolates with high phytase activity was determined to be higher.

Keywords: Sourdough, phytase activity, phytic acid, lactic acid bacteria, yeast.

YILDIZ TECHNICAL UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

1.1 Literatür Özeti

Ekmek, dünyada en çok tüketilen gıdalardandır ve binlerce yıldır insan diyetinin ayrılmaz bir parçası olmuştur. Ekşi hamurun ekmeğin yapımında doğal bir starter olarak kullanılması en eski gıda biyoteknolojisi uygulamalarından biridir (Papadimitriou vd., 2019). Ekşi hamur ekmeği, çok eski zamanlardan beri bilinen, laktik asit bakterileri (LAB) ve mayalar tarafından gerçekleştirilen fermentasyonla ortaya çıkan geleneksel bir üründür (Katina, 2005). Çeşitli tahıllardan üretilen ekşi hamur ekmeği ve diğer ekşi hamur ürünleri; tarımsal uygulamalar ve teknolojik süreçlerden kültürel mirasa kadar birçok bilgide tarihe ışık tutan özel bir gıdadır. Ekmek ve özellikle ekşi hamur ekmeği, köylü toplumlarının beslenmesinin merkezi haline gelmiştir. Tarih boyunca kırsal kesimin fermentasyona bıraktıkları ekmekleri diğerlerine göre tercih etmesi, kırsal nüfusun ekmekte ekşi hamur fermentasyonu ile oluşan duyu ve besinsel gelişimi algıladıklarını göstermektedir (Gobbetti ve Gänzle, 2012). Ekşi hamurun ekmeğin üretiminde kullanılmasının ekmeğin tekstürünü düzenlemesi, aroma vermesi ve raf ömrünü iyileştirmesi gibi pozitif etkileri vardır (Arendt vd., 2007). Ekşi hamur fermentasyonu fırıncılık ürünlerinin raf ömrü ve duyu kalitesi üzerine etkileri iyi bilinen ve üzerine çok çalışılan bir konudur. Ekşi hamur, asitlendirici, enzimleri aktive etmesi, mikrobiyal metabolitlerin üretilmesi gibi hamurda ve ekmeğin matrisinde ürünün besinsel kalitesini de etkileyen önemli değişiklikler yapmaktadır (Gobbetti ve Gänzle, 2012).

Son yıllarda ekşi hamur fermentasyonunun ekmeğin mineral biyoyararlılığını arttırması dikkat çekmektedir (Katina, 2005). Özellikle tam buğday ekmeği mineraller, vitaminler, fenolik bileşenler, steroller ve tokoferoller gibi birçok fitokimyasal içerdiğinden dolayı önerilen bir gıdadır. Tüm bu besinlerin yanında önemli düzeyde fitik asit içermektedir. Fitik asidin (myo-inositol-1,2,3,4,5,6-hexakis dihidrojen fosfat) önemli bir miktarı tahıl ve baklagil tohumlarının olgunlaşması sırasında birikmekte olup bu tohumların çoğunda ve yan ürünlerinde %1-2 fitik asit bulunmaktadır ve bu oran tohumlardaki toplam fosforun %60'dan fazlasını

oluşturur (Reddy vd., 1982). Bununla birlikte birçok bitki türünün köklerinde, yumrularında, spor ve polenlerinde de daha düşük miktarlarda bulunabilmektedir (Feil, 2001).

Fitik asit, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , and Mn^{2+} gibi divalent mineralleri bağlayarak fitatları oluşturmakta, ince bağırsakta emilimini azaltıp biyoyararlılığını negatif yönde etkilemektedir (Febles vd., 2002; Kumar vd., 2010; Ekren, 2013). Fitaz [myo-inositol hexakis (dihydrogenphosphate) phosphohydrolase] fitattan fosfomonoester bağlarını penta-mono fosfat yolu ile myoinositol ve fosforik asite hidrolize ederek fitik asitin antibesinsel özelliklerini bertaraf eder (Konietzny ve Greiner, 2002). Bir önceki asrın başlarında (1907 yılında) literatüre geçmiş olan fitaz, kimyasal olarak myo-inositol heksakisfosfat fosfohidrolaz adıyla bilinmektedir. Enzimlerin fosfomonoesterazlar sınıfına ait olan fitazlar, fitik asitten fosfatın ayrılmasını ya da fitatın indirgenmiş inositol fosfat esterlere ve inorganik fosfata hidrolizini katalize etmektedir (Lei ve Porres, 2003; Konietzny ve Greiner, 2002). Fitaz enzimi çavdar ve buğdayda bulunmasına karşın tam tahıllı ekmeklerde mineral biyoyararlılığını arttırmak için yeterli düzeyde değildir. Unun ekmeğe dönüşümü sırasında, unda bulunan fitaz aktivitesinin bir sonucu olarak fitat içeriği azalmakta, ancak bu azalma mineral biyoyararlılığını büyük ölçüde artıracak düzeyde olmamaktadır. Ekmek yapımında fitat içeriğinin azalması, un ekstraksiyonunun derecesi, fermentasyon süresi ve sıcaklığı, hamur asitliği, hamura maya veya enzim eklenmesi, kalsiyum tuzlarının varlığı gibi çeşitli faktörlere bağlı olan fitaz aktivitesine bağlıdır. Fitat oranının etkili bir biçimde düşürülmesi eksojen fitik asit parçalayan enzimlerin eklenmesiyle, gıda prosesi sırasında enzimatik degradasyonla ya da fitaz aktif maya, laktik asit bakterisi veya diğer mikroorganizmaların eklenmesiyle gerçekleştirilebilir (Turk ve Sandberg, 1992; Haros vd., 2001). Diğer bir taraftan fitatın, ekşi hamur eklenerek yapılan çavdar ekmeklerinde tamamen parçalandığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Nielsen vd., 2007). Fitaz aktivitesi fermentasyonda görev alan maya ve LAB gibi mikroorganizmalarda belirlenmiştir (Singh vd., 2013).

1.2 Tezin Amacı

Ülkemizde beyaz undan üretilen ekmek tüketimi oldukça yaygındır. Tam buğday unu içerdiği besinsel lif, protein, vitamin ve mineral içeriği ile rafine beyaz una göre

yüksek besin değeri olmasından dolayı tüketimi teşvik edilmektedir. Fakat bununla beraber içerdiği fitik asitin tam buğday ununun besinsel özelliklerini negatif yönde etkilemesi bir sorun oluşturmaktadır. Ekmeğin en çok tüketilen gıdalardan biri olduğu düşünülürse bu sorunun çözümüne yönelik yapılan çalışmalar önem arz eder. Bu kapsamda yapılan tez çalışmasında geleneksel olarak üretilen ekşi hamurlardan ve laboratuvar ortamında kontrollü olarak üretilen ekşi hamurlardan fitaz aktivitesine sahip laktik asit ve maya izolasyonu gerçekleştirilmesi, yüksek fitaz aktivitesi gösteren laktik asit bakterisi ve mayaların seçilerek farklı sıcaklıklarda ekşi hamur üretilmesi ve bu ekşi hamurlardan ekmek yapılarak en yüksek parçalanma oranına bağlı olarak ekşi hamur üretimi için en uygun sıcaklığın belirlenmesi ve suş seçimi amaçlanmıştır. Bu kapsamda;

1. Çeşitli yörelerden ekşi hamur toplanarak LAB ve maya izolasyonu yapılması
2. İzole edilen mikroorganizmaların fitaz aktivitelerinin belirlenmesi
3. Fitaz aktivitesine sahip mikroorganizmaların moleküler yöntemlerle belirlenmesi,
4. Yüksek fitaz aktivitesine sahip LAB ve maya ile starter kültür kombinasyonlarının oluşturulması ve farklı sıcaklıklar uygulanarak üretilen ekşi hamurla ekmek yapılarak fitik asit oranının maksimum düzeyde düşürülmesi hedeflenmiştir.

1.3 Hipotez

Ülkemizde geleneksel olarak ekşi hamur üretimi gerçekleştirilmekte, bölgenin iklim koşullarına göre ekşi hamur mikrobiyotasının değişmesi sebebiyle de farklı tekstürel özellikte ve farklı tatta ekmekler üretilmektedir. Fermentasyonun spontan olarak yapılmasından dolayı ekmek üretimi aynı standartta bir ürün ile sonuçlanmamaktadır. Bununla beraber fitik asit parçalanması temel alınarak yapılan çalışmalar çok sınırlı olduğu için ülkemizdeki durum iyi bilinmemektedir. Ayrıca geleneksel olarak üretilen ekşi hamurlar üzerine yapılan çalışmalar yeterli düzeyde değildir. Bu çalışmanın farklı bölgelerden toplanan ekşi hamurlardan LAB ve mayaların tanımlamalarının yapılmasıyla ülkemizdeki ekşi hamurların mikrobiyotasının belirlenmesine ışık tutması beklenmektedir. Bu çalışma kapsamında izole edilen LAB ve mayaların fitaz aktivitelerinin belirlenmesi ve en uygun suşların seçimiyle ve farklı sıcaklık uygulamalarıyla duyuşal olarak uygun

ekmeklerin yanı sıra mineral biyoyararlılığının en iyi düzeyde olacağı kombinasyonlarının belirlenmesi öngörülmektedir. Aynı zamanda literatürde şu ana kadar yapılan çalışmalarda ekşi hamur üzerinde sıcaklığın fitik asit parçalanması üzerine etkisi çalışılmadığından bu çalışma kapsamında sıcaklık etkisinin çalışılması literatüre de katkı sağlayacaktır.



2.1 Ekşi Hamur

Ekmek, tahıl kökenli en önemli ürünlerden birisidir. Dünya çapında temel bir gıda olmuştur ve insan beslenmesi ve ekonomisi için büyük değeri vardır. Ekmek yapımı insanoğlunun bildiği en eski teknolojilerden biridir. Ekşi hamur ekmeğinin belgelenmiş üretimi ve tüketimi M.Ö. çok eski yıllara kadar uzanmaktadır (Gobbetti ve Gænzle, 2012). Bulgular, milattan önce çok eski dönemlerden beri Babil, Mısır, Yunanistan ve Roma'nın beslenmelerinde ekmeğin var olduğunu göstermektedir. Eski Mısır mezarlarında ekmeğin somunu kalıntılarının ve insanların yaşadığı mağaralarda buğdayın bulunması, ekmeğin tarihinin 8000 yıldan daha öncesine dayandığını göstermektedir (Rubel, 2011). Un ve suyu karıştırarak hacmin artması amacıyla fermentasyona bırakan ve bunu taze hamur ile birleştirerek pişirip yumuşak ve taze ekmeğin üreten ilk toplumun Mısırlılar olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda Mısırlılar un üretimi için en uygun buğday varyetesini seçip ekmeğin yapımı için elek ve değirmen gibi yenilikçi araçları kullanmışlardır (Cappelle vd., 2013).

Ekmek, kültürel alışkanlıklara bağlı olarak farklı yapı ve şekillerde tüm dünyada yüksek oranda tüketilmektedir (Chavan ve Chavan, 2011). Zamanla ekşi hamur ekmeği, köylü toplumlarının beslenmesinde merkezi bir rol kazanmıştır. Ekmeğin duyu ve besinsel özellikleri üzerine yaptığı olumlu etkinin anlaşılmasına başlanmasıyla köylü nüfus, mayasız olarak tüketilen tahıl ürünlerinin yerine ekşi hamur ekmeğini tercih etmiştir (Cappelle vd., 2013). Endüstriyel ekmeğin üretimi, üstün mayalama özelliğinden dolayı ekşi hamur yerine mayalama aracı olarak ticari maya (*Saccharomyces cerevisiae*) keşfedildikten sonra, geçen yüzyılın ilk yarısında başlamıştır. Yıllar boyunca da lezzeti arttırmak ve yapıyı düzenlemeye yönelik birçok ekmeğin yapım süreci geliştirilmiştir (Katina, 2005).

Ekşi hamur, genellikle buğday (*Triticum spp.*) veya çavdar (*Secale cereale L.*) unu, su ve tuz kullanılarak elde edilen, LAB ve mayaların fermentasyonu ile oluşan bir üründür. Laktik asit, asetik asit, etanol ve CO₂, karışımdaki karakteristik asidik tadı, aromasını ve hacmini veren fermentasyon son ürünleridir (Papadimitriou vd., 2019). Bu mikroorganizmalar genellikle undan, hamur ingredientlerinden veya çevreden

gelmektedir. Ekşi hamur, klasik ekmeğin, atıştırmalıkların, pizzaların ve tatlı pişmiş ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Ekşi hamur fermentasyonu hamur özelliklerini geliştirir; ekmeğin hacmini, tekstürünü, aromasını ve besinsel özelliklerini iyileştirir, bayatlama prosesini geciktirir ve maya ve küf bozulmalarına karşı ekmeği korur. Tüm dünyada farklı türde yüzlerce geleneksel ekşi hamur ekmeği bulunmaktadır. Bu ekmekler un, diğer ingredientler, uygulanan teknoloji ve fermentasyon prosesine göre farklılaşır. Ekşi hamur farklı maya ve LAB türleri ve suşları için önemli bir kaynaktır. Bu suşlardan bazıları ekşi hamur fermentasyon prosesi sırasında önemli rol oynamaktadır ve ekşi hamur starteri olarak kullanılır (De Vuyst ve Vancanneyt, 2007).

Buğday ve çavdarın yanında mısır (*Zea mays* L.), kavuzlu buğday (*Triticum aestivum* subsp. *spelta* L.), arpa (*Hordeum vulgare* L.) ve yulaf (*Avena sativa* L.) da dünyanın çeşitli yerlerinde kullanılmaktadır (De Vuyst vd., 2017). Bunlara ek olarak amarant (*Amaranthus* spp.) (Alencar vd., 2015), kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) (Iglesias-Puig vd., 2015; Rizzello vd., 2016), kara buğday (*Fagopyrum esculentum* Moench) (Stokic vd., 2015) ve çiya da (*Salvia hispanica* L.) (Costantini vd., 2014) ekşi hamur üretiminde kullanılmış ve farklı çeşitlilikte ürünler üretilmiştir (Arendt ve Zannini, 2013; Papadimitriou vd., 2019).

2.1.1 Ekşi Hamurun Özellikleri

Buğday ekmeklerinde ekşi hamurun kullanımı, ekmeğin kalitesi ve aromasını arttırmasından dolayı popülerlik kazanmıştır. Ekşi hamur fermentasyonu kendine özgü kalite karakteristiğine sahip fırıncılık ürünleri elde etmek için kullanılır. Ekşi hamurun kendisinde ve ekşi hamur içeren ekmek hamurunda olmak üzere hamur reolojisini iki düzeyde etkiler. Hamurda fermentasyon, elastikiyeti ve viskoziteyi azalttığı için ekmek hamuruna ekşi hamur eklenmesi daha az elastik ve yumuşak hamur elde edilmesine sebep olur. Hamurda meydana gelen reolojik değişikliklerin düzeyi ve ekmek üzerine etkileri, fermentasyon süresinin ayarlanmasıyla ve unun kül içeriğiyle ön fermentasyon prosesi sırasında kontrol edilebilir (Clarke vd., 2004). Ekşi hamurun birçok kendine özgü olan özelliği laktik asit bakterilerine dayanır; laktik fermentasyon, proteoliz, uçucu bileşenlerin sentezi, antifungal ve sünmeye karşı etkileri ekşi hamur prosesi sırasındaki en önemli aktiviteleri arasındadır (Hammes ve Gänzle, 1998; Gobbetti vd., 1999).

Bundan başka tahıl ürünlerindeki endojen faktörler (karbonhidratlar, nitrojen kaynakları, mineraller, lipitler, serbest yağ asitleri, enzim aktivitesi) ve proses parametreleri (sıcaklık,

hamur verimi (DY), oksijen, fermentasyon zamanı, ekşi hamur çoğaltma basamağı) önemli düzeyde ekşi hamur mikrobiyotasını ve mayalı fırıncılık ürünlerinin özelliklerini etkilemektedir (Hammes ve Gænzle, 1998).

- **Hamur verimi**

Ekşi hamur farklı kıvamlarda olabilmektedir. Ekşi hamur fermentasyonu suda unun sıvı süspansiyonu olarak yapılabildiği gibi katı formda da olabilmektedir. Bu un ve suyun arasındaki oran, hamur verimi (DY) olarak isimlendirilmektedir. DY;

$$\text{Hamur verimi} = (\text{un miktarı} + \text{su miktarı}) \times 100 / \text{un miktarı}$$

olarak tanımlanır.

Ekşi hamurun DY değeri önemli düzeyde aroma profilini etkiler. Daha katı olan ekşi hamurda (düşük DY değeri olan) daha fazla asetik asit üretilirken, daha az laktik asit oluşmaktadır. Asidifikasyon oranı da DY'den etkilenmektedir. DY oranının yükselmesi daha hızlı asidifikasyonu getirir. Bunun muhtemel sebebi üretilen organik asitlerin ortama daha iyi difüzyonundan olabilir (Chavan ve Chavan, 2011).

- **Sıcaklık**

Sıcaklık, DY'yi asidifikasyon oranından daha fazla etkilediğinden dolayı önemli bir faktördür. Aynı zamanda ekşi hamurun mikrobiyal kompozisyonunu da etkiler. Bir sonraki fermentasyonu inoküle etmek için önceki ekşi hamur kullanılacaksa sıcaklık kritik bir rol üstlenir. Kontrol edilmediği takdirde ekşi hamur, yeniden tazelenmesi sırasında mikrobiyotanın bir kısmını kaybedebilir (Chavan ve Chavan, 2011). Laktobasillerin optimum gelişme sıcaklığı türe bağlı olarak değişmekle birlikte 30-40°C, mayaların ise 25-27°C'dir. Genellikle yüksek sıcaklık, yüksek su içeriği buğday ekşi hamurunda asit üretimini arttırır (Brummer ve Lorenz, 1991).

- **Starter Kültür**

Laktik starter kültürler heterofermentatif ve homofermentatif LAB olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir. Aroma, yukarıda anlatıldığı gibi fermentasyon sıcaklığının değişmesinden kolayca etkilenebilmektedir. Ticari olarak satışa sunulan ekşi hamur starterleri, genellikle iyi asidifikasyon ve aroma sağlayan farklı LAB gruplarının karışımından oluşmaktadır.

- **Titrasyon asitliği ve pH**

Hamurun titrasyon asitliği ve pH'sı ekşi hamur fermentasyonunda önemlidir. Başlangıç fazında hem asitlik hem pH değişmeden kalır, buna karşın ara fazda mayaların varlığına bağlı olarak artmaya başlar. Uzun sũren fermentasyon sırasında maya varlığı azalmakta ve titrasyon asitliği ve pH başlıca laktik asitlerine bağlı olarak değişmektedir. Ekşi hamurdaki maya varlığı laktik asitten ve asetik asitten etkilenmektedir (Chavan ve Chavan, 2011).

- **Substrat**

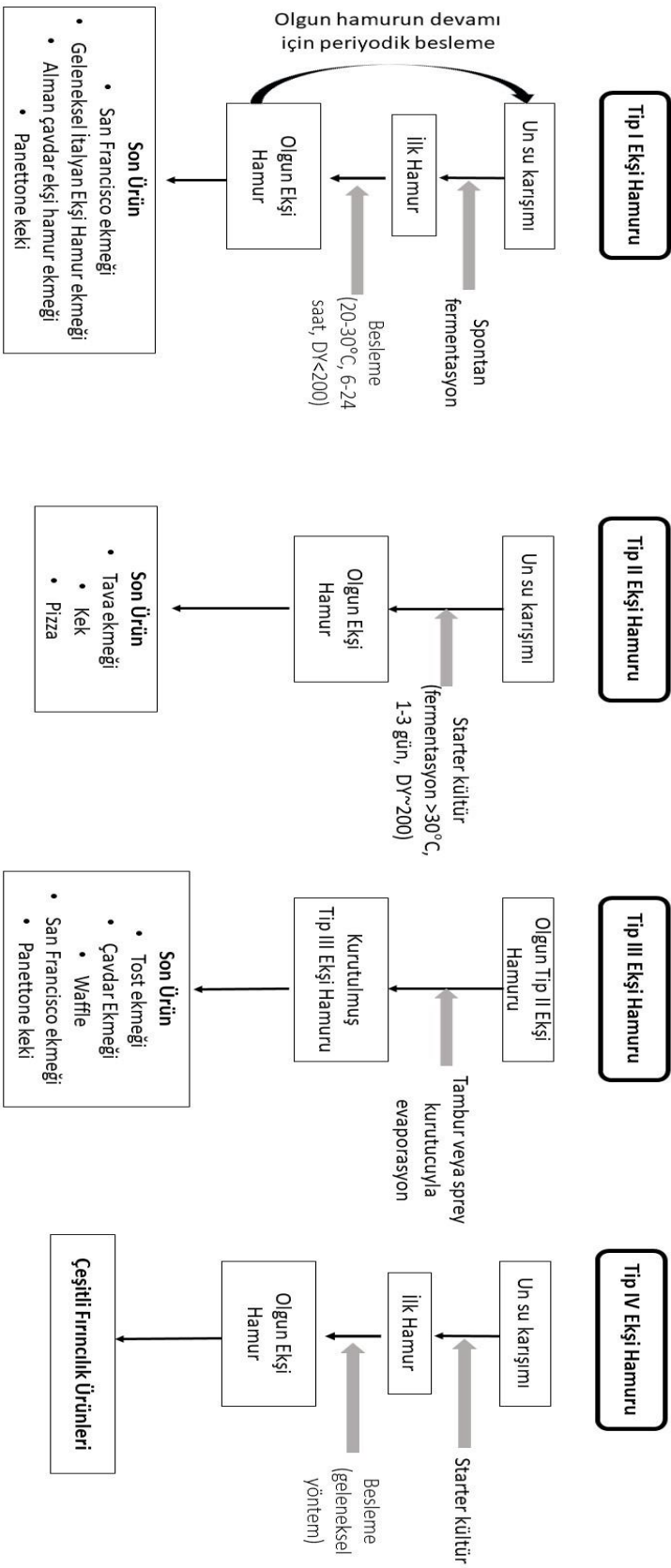
Ekşi hamur fermentasyonunda başlıca un olmak üzere kullanılan substrat ekşi hamuru önemli düzeyde etkileyen bir diğer parametredir. Kũl iğeriği kepekte endospermden 20 kat daha fazla olmasından dolayı unun sınıflandırılmasında ve ekstraksiyon oranını belirlemede önem arz eder (Matz, 1991). Kũçük tohumlarda kepek oranı endosperm oranından fazladır (Kulp, 2000). Tohumun kepek fraksiyonu LAB'lerin gelişimi için önemli olan mineral ve mikroblesinleri daha fazla içermektedir. Kũl aynı zamanda daha yũksek toplam titre edilebilir aktiviteye ulaşmayı mũmkũn kılan ekşi hamur sisteminin tamponlama kapasitesini de etkiler. Dũřme sayısı, unun enzimatik aktivitesi için bir indikatördür. Dũřme sayısı ne kadar dũřük olursa undaki amilaz aktivitesi o kadar fazla olur. Bu durumda daha fazla serbest şeker mikrobiyotanın gelişimi için kullanılabilir durumda olacaktır (Chavan ve Chavan, 2011).

2.1.2 Ekşi Hamurun Sınıflandırılması

Uygulanan teknolojiye dayanarak, bugũne kadar ũç tũr ekşi hamur tanımlanmış, son zamanlarda dũrdũncũ bir tũr eklenmiştir (şekil 2.1) (Siepmann vd., 2018).

Tip I Ekşi hamuru

Tip I, bir ũnceki fermentasyondan bir paręa kullanılarak ũretilen geleneksel ekşi hamur prosesidir. Bu tũr un ve suyla hazırlanarak, unda, ortamda ya da kullanılan hammaddelerde bulunan LAB ve mayalarla fermente edilir (De Vuyst vd., 2002; Ripari vd., 2016). İlk hazırlanan hamur, sonradan yeni bir un ve su karışımına %5-



Şekil 2.1 Ekşi hamur tipleri (Papadimitriou vd., 2019)

20 (m/v) düzeylerinde inoküle edilir. Bu prosese besleme ya da canlandırma denilmektedir. Besleme geleneksel olarak ortam sıcaklığında (20-30°C) 6-24 saatlik fermentasyonlarla yapılır. Bu işlem 5-10 kez tekrar edilmektedir. Besleme tekrarları ekşi hamur ekosisteminde en iyi adapte olmuş suşların seçimi için gereklidir. Bunun yanında ekşi hamurun sıvılaştırma ve asitlenme kapasitesini de belirleyen mikrobiyotanın metabolik aktivitelerinin optimizasyonu ve gelişimi için de gereklidir (De Vuyst vd, 2014). Bu şekilde hazırlanmış kararlı bir ekşi hamurla birçok fırıncılık ürünü üretilebilir (Corsetti, 2013).

Mikrobiyal dinamikler üzerine yapılan çalışmalarda günlük olarak besleme yapılmış bir ekşi hamurda bir haftalık besleme prosesi ekşi hamur ekosistemini kararlı düzeye getirdiği belirlenmiştir (Ercolini vd., 2013; Minervini vd., 2014; Weckx vd., 2010). Genellikle Tip I'in mikrobiyal kompozisyonu oldukça geniş çeşitliliktedir. Ekşi hamur mikrobiyotasını etkileyen faktörler kullanılan un çeşidi, inoküle edilen ekşi hamur miktarı, fermentasyon süresi ve sıcaklığıdır (Papadimitriou vd., 2019).

Tip II Ekşi Hamuru

Tip II ekşi hamuru, un su karışımına 100:1 oranında LAB ve maya içeren starter kültür eklenerek tek bir fermentasyon basamağıyla üretilen ekşi hamur türüdür. Fermentasyon, 15-20 saat yapılabildiği gibi (Siepmann vd., 2018), 1-3 gün de (De Vuyst vd., 2014) sürebilmektedir. Tip I ekşi hamuruyla karşılaştırıldığında daha yüksek sıcaklıkta (30°C) ve daha yüksek hamur verimiyle (sıvı ekşi hamur) fermentasyon gerçekleştirilir (Papadimitriou vd., 2019). Elde edilen ekşi hamur soğutulularak stabilize olması sağlanır ve ardından pastörizasyonla ya da NaCl eklenmesiyle CO₂ ve organik asit üretimini durdurmak için starter kültürler deaktive edilir. Son ürün birkaç gün depolanabilir. Yarı sıvı tip II ekşi hamuru endüstriyel boyutta biyoreaktörlerde üretilir ve kullanım kolaylığı, pompalanabilir olması ve toz oluşturmaması açısından endüstriyel olarak üretilen fırıncılık ürünlerinde yaygın bir proses olarak kullanılmaktadır (Brandt, 2007; Chavan ve Chavan, 2011). Tip II ekşi hamuru, daha çok asitliği geliştirmek için kullanılmaktadır ve pizza, kek, tava ekmeği gibi bir çok ticari fırıncılık ürününe uygulanmaktadır (Kulp, 2003; Siepmann vd., 2018).

Tip III Ekşi Hamuru

Sıvı olan tip II ekşi hamurunun dehidrasyonu ile üretilmektedir. Tamburlu kurutma ve püskürtmeli kurutma olmak üzere çeşitli dehidrasyon teknikleri uygulanmaktadır (Chavan ve Chavan, 2011; Decock ve Cappelle, 2005). Sprey-kurutmada sıvı ekşi hamur, sıcak hava akışında püskürtülür. Ekşi hamur damlaları sıcak havayla nem içeriği (yaklaşık %90) düşer. Ürün, kahverengileşmeyi önlemek için proses sırasında soğutulur. Tambur-kurutma teknolojisinde paslanmaz çelik silindirler buharla ısıtılır. Ürünün ince bir filmi silindire yayılır ve hızlıca buharlaşma meydana gelir. Tamburdaki yarı kuruyan ürünün geri kalan kuruma süresi de Maillard reaksiyonunun olması için kullanılmaktadır. Sıcaklık/zaman kombinasyonuna bağlı olarak son ekşi hamur daha çok ya da daha az karamelize olabilmektedir. Tambur-kurutma yapılmış Tip III ekşi hamuru sadece son ürüne ekşi hamur aroması vermekle kalmaz aynı zamanda karamelize aroma da vermiş olur. Suyun buharlaşması sırasında uçucu aroma bileşenlerinin bir kaybı meydana gelir (Chavan ve Chavan, 2011).

Tip III ekşi hamuru, tip I ve II ekşi hamur türlerine göre kalitenin sürekliliği, daha uzun raf ömrü, daha küçük hacim, kullanım kolaylığı, taşıma ve depolamada kolaylık açısından avantajlar sağladığı gibi standardize edilmiş bir son ürün de sunmaktadır. Bu sebeple bu ürünlerin ticarileşmesi edüstriyel olarak kullanılmaktadır (Papadimitriou vd., 2019).

Tip IV Ekşi Hamuru

Tip IV ekşi hamuru bazı geleneksel fırınlarda ve laboratuvar çalışmalarında kullanılır. Diğer türlerin karışım prosesleriyle elde edilmektedir. Fermentasyonda starter kültür kullanılır ve geleneksel besleme prosedürüyle çoğaltılır. Starter kültürün ortamdaki diğer suşlara göre daha az rekabetçi olması ve ekşi hamur ortamına adapte olamaması doğal mikrobiyotanın baskınlığıyla sonuçlanabilmektedir (Minervini vd., 2010; Siragusa vd., 2009). Bu tür ekşi hamurlarda oluşan LAB ve maya türleri, kullanılan unun türüne ve kalitesine, uygulanan fermentasyon koşullarına ve starter kültürün LAB ve mayalarla etkileşimlerine bağlıdır (Meroth vd., 2003a; Minervini vd., 2010; Moroni vd., 2010; Siragusa vd., 2009).

2.1.3 Ekşi Hamur Mikrobiyotası

Ekşi hamur, ekmek yapım prosesi ve ingrediyeentleri arasında interaktif etkilerden ve mikrobiyal kompozisyonundan dolayı çok kompleks bir üründür (Gobbetti vd., 1999). Ekşi hamur olarak adlandırılan tahıl fermentasyonunda baskın mikroorganizmalar LAB'lerdir. LAB ekşi hamurda yaklaşık 10^8 kob/g düzeyinde bulunurken, birarada yaşadıkları ya da simbiyoz olarak birlikte yaşadıkları mayalar çok daha az düzeyde bulunurlar.

Ekşi hamurda mayalar LAB'ler ile ilişkilidir. Maya/LAB oranı genellikle 1/100 oranındadır (Gobbetti vd., 1994; Ottogalli, 1996). Ekşi hamurda yirmiden fazla türe ait maya bulunur (Rossi, 1996; Gullo vd., 2003). Hamurdaki maya sayısı ve çeşitliliği hamurun su alması, düzeyi ve kullanılan unun çeşidi, fermentasyon sıcaklığı ve hamurun bulunduğu ortamın sıcaklığı gibi bir çok faktöre bağlıdır (Gobbetti vd., 1994).

2.1.3.1 Ekşi Hamurdaki Laktik Asit Bakterileri ve Metabolik Aktiviteleri

Mikrobiyoloji açısından bakıldığında, ekşi hamur, bu ortama adapte edilmiş LAB suşlarının seçilmesinde uygun bir substrat olarak stresli bir ekosistem olarak kabul edilir (De Vuyst ve Vancanneyt, 2007). Kullanılan un türünden bağımsız olarak, LAB'lerin dinamik popülasyonu, ekşi hamur fermentasyonunda üç fazda gelişir (Minervini vd., 2014);

1. Fermentasyonun ilk aşamalarında *Enterococcus*, *Lactococcus* ve *Leuconostoc* türleri baskındır.
2. Ekşi hamura spesifik olarak *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Weisella* türleri ikinci aşamada baskındır.
3. Son aşamada obligat heterofermentatif türler olmakla birlikte *Lactobacillus* (Lb.) türleri baskın olmaktadır.

Sadece obligat heterofermentatif türler değil aynı zamanda fakültatif heterofermentatif ve obligat homofermentatif türler olmak üzere 60'dan fazla *Lactobacillus* türü ekşi hamur ile ilişkilendirilmiştir (De Vuyst vd., 2017). Tablo 2.1'de ekşi hamur tipine göre arakteristik LAB ve maya mikrobiyotası verilmiştir. En fazla izole edilen türler *Lb. brevis*, *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri*, *Lb. rossiae* ve *Lb. sanfranciscensis* (obligat heterofermentatif); *Lb. alimentarius*, *Lb. paralimentarius*,

ve *Lb. plantarum* (fakültatif heterofermentatif); *Lb. amylovorus* ve *Lb. delbrueckii* (obligat homofermentatif)'dir (Minervini vb., 2014). Bununla birlikte, gıda mikrobiyolojisinde moleküler parmak izi ve sekansa dayalı taksonomik yöntemlerin gelişmesiyle çeşitli yeni *Lactobacillus* türleri ekşi hamur habitatında belirlenmiştir (De Vuyst vd., 2014).

Tablo 2.1 Tiplerine göre olgun ekşi hamurlardaki karakteristik lab ve maya mikrobiyotasına genel bakış (Papadimitriou vd., 2019)

Tip I Ekşi Hamuru	Tip II Ekşi Hamuru	Tip III Ekşi Hamuru
Laktik Asit Bakterileri		
Obligat Heterofermentatif	Obligat Heterofermentatif	Obligat Heterofermentatif
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus pontis</i> <i>Lactobacillus rossiae</i>	<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus pontis</i> <i>Lactobacillus panis</i> <i>Lactobacillus frumenti</i> <i>Weissella</i> spp.	<i>Lactobacillus brevis</i>
Fakültatif Heterofermentatif		Fakültatif Heterofermentatif
<i>Lactobacillus alimentarius</i> <i>Lactobacillus paralimentarius</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>		<i>Pediococcus pentosaceus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>
Obligat Homofermentatif	Obligat Homofermentatif	
<i>Lactobacillus amylovorus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus johnsonii</i> <i>Lactobacillus farciminis</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Lactobacillus amylovorus</i> (çavdar)	
Mayalar		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Kazachstania exigua</i> <i>Candida humilis</i> <i>Pichia kudriavzevii</i> <i>Torulasporea delbrueckii</i> <i>Wickerhamomyces anomalus</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (eklenmiş)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (eklenmiş)

Lactobacillus türleri LAB hamur mayası mikrobiyotasında belirgin şekilde baskın olsa da daha az baskın veya alt dominant LAB türleri de bulunmaktadır. *Weissella*,

Pediococcus ve *Leuconostoc* türlerinin ekşi hamurdaki varlıkları sadece birkaç türle sınırlı kaldığından daha az baskın olarak bulunmaktadırlar (Huys vd., 2013). Obligat heterofermentatif *Weissella cibaria* ve *Weissella confusa*, fakültatif heterofermentatif *Pediococcus acidilactici* ve *P. pentosaceus*, obligat heterofermentatif *Leuconostoc mesenteroides* ve *Leuconostoc citreum* ekşi hamurda sıklıkla karşılaşılan türlerdir (De Vuyst vd., 2017). Bu türler bitkisel kaynaklı ortamlara iyi adapte olarak gelişebilmektedirler (Corsetti vd., 2007; De Vuyst ve Neysens, 2005). Homofermentatif laktokoklar, enterokoklar ve streptokoklar ekşi hamurda subdominant olarak bulunmaktadırlar (De Vuyst vd., 2014).

Ekşi hamurdaki belirli LAB türlerinin baskınlığı ve rekabet gücü unda bulunan karbonhidratlarla ilişkilendirilir (De Vuyst vd., 2009). Buğday unundaki mevcut karbonhidratlar, maltoz, maltotrioz, rafinoz, sukroz, glukoz ve fruktozdur. Glukoz miktarı fermentasyon sırasında artmakta, buna karşın mayalardaki invertaz aktivitesinden dolayı sukroz miktarı düşmektedir. Homofermentatif LAB'ler glukozdan başlayarak glikoliz yoluyla laktik asit üretirler (homolaktik fermentasyon), heterofermentatif LAB'ler 6-fosfoglukonat/fosfoketolaz (6-PG/PK) yoluyla laktik asitin yanında CO₂, asetik asit ve/veya etanol üretirler (heterolaktik fermentasyon). Glukoz dışındaki heksozlar izomerizasyondan ve/veya fosforilasyondan sonra glukoz-6-fosfat veya fruktoz-6-fosfatla metabolik yola dahil olurlar (Axelsson, 2004). Disakkaritler ise spesifik hidrolazlarla ve/veya fosfohidrolazlarla, monosakkaritlere kadar parçalanırlar. Pentozlar fosforilasyona uğrayarak epimerazlar veya izomerazlar sayesinde ribuloz-5-fosfat'a ya da ksiloz-5-fosfat'a dönüşürler ve sonrasında 6-PG/PK yolunun yarısında metabolize olurlar (Axelsson, 2004). Pentozların kullanımı LAB türleri ile sınırlı değildir. Obligat heterofermentatif LAB türleri 6-PG/PK yolunun kilit enzimi olan temel fosfoketolaza sahiptirler, glikolizle heksozları fermente eden fakültatif heterofermentatif LAB'ler glikolizin anahtar enzimi olan fruktoz-1,6-difosfat aldolaza sahiptir. Obligat heterofermentatif türler de aynı yolla pentozları fermente ederler. Bu koşullar altında, fakültatif heterofermentatif LAB'lerin sahip olduğu fosfoketolaz, mevcut pentozlar tarafından uyarılır (Hammes ve Vogel, 1995). Pentozların fermentasyonu eşit mollerde laktik ve asetik asitin üretimine neden olmaktadır. Obligat homofermentatif LAB'ler pentozları fermente etmez (Axelsson, 2004).

Obligat heterofermentatif laktobasiller için elektron alıcısı olarak oksijen ya da fruktoz gibi kosubstratın kullanımı, hamurda artan asetat üretimine bağlanır. Kofaktör rejenarasyonu için metabolik gereksinimlerden dolayı homo- ve heterofermentatif laktobasiller, redoks reaksiyonları üzerindeki çeşitli etkilerden dolayı enerji harcarlar (Chavan ve Chavan, 2011).

Hemen hemen tüm LAB'lerin gelişmeleri için birden fazla aminoasit (4-14 aminoasit) ihtiyaç duyduğu bilinmektedir (Calderon vd., 2003). Bu sebeple protein degradasyonunu sağlayan proteolitik sistemler LAB'ler için önemlidir. Proteolitik sistem, ekstraselüler olarak bulunan serin-proteinazını, di/tri peptitleri, oligopeptitler için spesifik transport sistemini ve bir çok intraselüler peptidazı içermektedir. Genel olarak proteolitik enzimler (proteazlar) proteinazlar ve peptidazlar olarak gruplandırılırlar. Proteinazlar, proteinin daha küçük peptit fraksiyonlarına degradasyonunu katalizler; peptidazlar spesifik peptit bağlarını hidrolize eder ya da peptitleri tamamen aminoasitlere parçalar. Buğday ve çavdar unlarının proteolitik aktivitesinden başlıca aspartik proteinazlar ve karboksipeptidazlar sorumludur. Bu iki proteaz grubu da asidik koşullarda aktive olur (Chavan ve Chavan, 2011).

Buğday ve çavdar proteinlerinin degradasyonu, ekmek aroması, hacim ve tekstür için kritik öneme sahiptir. Gluten proteinleri, glutenin ve gliadin, buğday tanesi için ana depo proteinleridir. Gliadin buğday tanesinin alkolde çözünür proteini olmakla birlikte glutenin seyreltik asitte çözünmektedir (Osborne, 1907). Gluteninler yüksek molekül ağırlıklı (HMW) ve düşük molekül ağırlıklı (LMW) fraksiyonlarına bölünen yüksek polimerik proteinlerdir (Shewry ve Tatham, 1994). Gliadinler intramoleküler disülfid bağları içerdiğinden monomeriktir. Aminoasit kompozisyonuna bağlı olarak α -, γ -, and ω - tip gliadinler olarak sınıflandırılır. Alpha- ve γ -gliadin, sistein kalıntıları içermesine karşın ω -gliadinler içermez (Shewry ve Tatham, 1997). Çavdarın ana depo proteini ise alkolde çözünür sekalindir. Sekalin, γ -sekalin, ω -sekalin ve HMW sekalin olmak üzere üçe ayrılır. Tüm ekşi hamur fermentasyonu süresince sınırlı ölçüde gerçekleşen proteoliz, tekstür ve hacme ters bir etki yapmadan, ekmek aromasını olumlu yönde geliştirir (Thiele vd., 2002). Aminoasitler ve peptitler fermente gıdalarda aromaya etki eder. Özellikle uçucu aroma bileşenlerinin önemli öncülleridir. Aminoasitler, mikrobiyal

değişimler için substrat olarak hizmet etmekte ya da pişirme sırasında aroma bileşenlerine dönüşmektedir. Bu yüzden fermentasyon sırasında sınırlı ölçüde proteoliz ekmek aromasını iyileştirir (Thiele vd., 2002). Ekmek içi aroması mikrobiyal fermentasyon ürünleriyle oluşur. Buna karşın kabukta termal reaksiyonlardan kaynaklı tat ve aroma oluşumu baskındır (Kirchhoff ve Schieberle, 2001).

Optimum pH'ları 3,0-4,0 olan endojen buğday proteinazlarının ve asidifikasyonun etkisinin, özellikle uzun süreli ekşi hamur fermentasyonlarında hamurda proteoliz için önemli olduğu düşünülmektedir. LAB'lerin suşa spesifik proteolitik aktivitesi proteolize ek olarak katkıda bulunabilmektedir. Heterofermentatif laktobasiller tarafından gerçekleştirilen mikrobiyal asidifikasyon ve gluten proteinlerinde disülfid bağlarının azalması, gluten proteinlerinin çözünürlüğünü arttırmakta ve proteolitik degradasyona daha açık hale getirmektedir. Peptitlerin hidrolizi (sekonder proteoliz) suşa bağlı olarak hamurda aminoasit biriktirmekte, buna karşın mayalar hamurda aminoasit düzeyini düşürmektedir (Chavan ve Chavan, 2011).

2.1.3.2 Ekşi Hamur Mayaları ve Metabolik Aktiviteleri

Ekşi hamurda mayalar, düşük pH, sınırlı oksijen, yüksek karbonhidrat (esas olarak maltoz) konsantrasyonları ve LAB'lerle rekabet ortamına ilişkin stresli bir ortama dayanmak zorundadırlar (De Vuyst vd., 2014). Uzun yıllardan (1971'den) beri yapılan 353 ekşi hamurda maya kompozisyonunun incelendiği çalışmada spontan hamurlarda belirlenen maya türleri; *S. cerevisiae*, *K. humilis*, *T. delbrueckii*, *W. anomalus*, *K. exigua*, *P. kudriavzevii* ve *Candida glabrata*'dır (De Vuyst vd., 2017). Bazı maya türleri çok çeşitli mikrobiyal ekosistemlerde gelişebilirler (örn., *S. cerevisiae* ve *W. anomalus*), bazıları (örn., *C. humilis* and *K. exigua*) ise ekşi hamur matriksine iyi uyum sağlarlar (De Vuyst vd., 2016). Tek bir ekşi hamur genellikle bir veya iki maya türü içerir. Spesifik olarak, *S. cerevisiae* ve *C. humilis* çifti İtalyan fırıncılık mayalı hamurlarında bulunur. *Kazachstania bulderi* ve *C. humilis* bazı Fransız ekşi hamurlarında görülür, Belçika orijinli ekşi hamurlarda ise *S. cerevisiae* ve *W. anomalus* belirlenmiştir (De Vuyst vd., 2017). Türkiye'deki ekşi hamurlarda bulunan maya türleri ise *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulopsis holmii*, *Torulasporea delbrueckii* ve *Kluyveromyces marxianus*'tur (Gül vd., 2005; Arici vd., 2017). Ekşi

hamurlardaki *S. cerevisiae*'nin yaygın olarak izole edilmesi ticari mayanın kullanılması ile ilişkilendirilmektedir (Minervini vd., 2015). Spontan olarak beslenen ekşi hamurlarda da *S.cerevisiae* belirlenmişse de (Rizzello vd., 2015), bunun da un orijinli olduğu belirtilmiştir (Meroth vd., 2003b; Pulvirenti vd., 2004). Ayrıca, laboratuvar ortamında üretilen ekşi hamurlardaki maya çeşitliliği sadece undan değil aynı zamanda proses koşullarından, antimikrobiyal etki gösteren flavonoidler ve tanninler gibi belirli un bileşenlerinden ve maya türleri için spesifik metabolik adaptasyon kapasitesinden kaynaklanmaktadır (Moroni vd., 2010, 2011; Bessmeltseva vd., 2014; De Vuyst vd., 2016; Viard vd., 2016; Lhomme vd., 2016).

Unda bulunan karbonhidratlar, *S.cerevisiae* tarafından glikoliz yoluyla ve ardından pirüvat parçalanmasıyla (NAD1'in rejenerasyonu) karbondioksit ve etanole kadar fermente edilir (De Vuyst vd., 2016). NAD1'in rejenerasyonu, trikarboksilik asit döngüsüyle süksinatın oluşumuyla birlikte gliserol üretimi ile sağlanır (Merico vd., 2007; Rezaei vd., 2015). Başlıca maltoz olmak üzere fermente edilebilir karbonhidratların konsantrasyonları un amilazlarına bağlıdır. Undaki amilaz aktivitesi ile mayanın maltozu yükseltgemesi arasındaki dengesizlik, mayalar için karbonhidrat ve nitrojen kaynağının sınırlı olmasına neden olur (Guerzoni vd., 2013). Enerji kaynağı olarak maltozu tercih eden *S. cerevisiae* suşlarının aksine, *C. humilis* ve *K. exigua* gibi ekşi hamura özgü mayalar maltoz negatiftir ve obligat heterofermentatif LAB türleri ile trofik bir ilişki (beslenme mutualizmi) oluşturur. Mayalar sükrozu invertaz aktivitesi ile hidrolize eder, glukozu kullanır ve LAB suşlarına fruktoz ve amino asit sağlar (De Vuyst vd., 2017).

Genellikle mayaların karbonhidrat metabolizması aşağıdakilere bağlıdır;

1. Pasteur etkisi; *S. cerevisiae*'de görüldüğü gibi anaerobik koşullarda aerobik koşullardan daha hızlı karbonhidrat tüketimi
2. Kluyfer etkisi, *Candida* spp. ve *Pichia* spp. için glikoz fermentasyonunun yanında oligosakkaritlerin aerobik tüketimi.
3. Crabtree etkisi, ekşi hamur fermentasyonunda genel olarak görülmeyen bir durum olmasıyla birlikte respirasyon ve fermentasyonun bir arada bulunma durumu

4. Karbon kaynağı türüne bağlı ve transkripsiyonal düzeyde düzenlenen karbon katabolit baskısı (Barnett ve Entian, 2005).

Mayaların dallı zincirli aminoasitleri Ehrlich yoluyla metabolize ettiği belirlenmiştir. İlk transaminasyon reaksiyonundan sonra, elde edilen α -keto asit, alkole indirgenebilen veya hücrenin dışına atılan aside okside olan aldehite dönüştürülür. Bu bağlamda, 3-metil-1-bütanol ve diasetil, pek çok maya suşu tarafından üretilir (Pico vd., 2015). Ayrıca, mayalar, hamurda az düzeyde pH düşüşüne neden olan asetik asit ve süksinik asit gibi organik asitleri düşük miktarda üretmektedirler (Jayaram vd., 2013, 2014a, 2014b). Sonuç olarak maya metabolizması tahıl temelli gıdalarda fenoliklerin varlığını, fitazların aktivitesiyle fitatın defosforilasyonunu (Lioger vd., 2007; Moslehi-Jenabian vd., 2010) ve antifungal ajan olan etilpirüvat oluşumunu (Coda vd., 2011, 2013) etkilemektedir.

2.1.4 Ekşi Hamur Teknolojisinin Yararlı Uygulamaları

Sağlıkla ilişkili olan, spesifik fizyolojik fonksiyonlara sahip fonksiyonel gıdalara olan tüketici ilgisi gittikçe artmaktadır. Fakat tüketici tercihleri açısından fonksiyonel gıda olsa da duyusal olarak iyi özelliklere sahip ürün olması gereklidir. Tüketiciler aynı zamanda gıdanın güvenli ve uygunluğu gibi diğer kriterlerinin de tam olması beklentisi içerisinde. Gıda olarak tahıl ürünleri, karbonhidrat, protein, Diyet Lifi (DF), çeşitli vitaminler ve non-nutrientler için önemli bir kaynaktır (Chavan ve Chavan, 2011).

- **Diyet Lifi**

Diyet lifi (DF) uzun yıllardır tahılların sağlığa faydalı başlıca bileşeni olarak bilinir. Fakat yapılan çalışmalar, DF ile tahıl tanesinin dış kabuğunda bulunan oligosakkaritler ve fitokimyasallar gibi başka faydalı bileşenlerin de varlığını göstermiştir. Karbonhidratların ve çeşitli bileşenlerin düzeyleri ve biyoyararlılıkları, önemli düzeyde prosesten etkilenmektedir. Ekşi hamurun bir diğer avantajı tahılın kepek fraksiyonunu (lifçe zengin) modifiye etmesidir. Böylece ekmekte daha fazla kepek kullanılabilir. Diyet lifinin besinsel önemi birçok çalışmada belirtilmiştir. Oteriteler tarafından önerilen günlük alımın 25-30 g olmasına karşın batıda tipik bir diyet günde 20 g kepek içermektedir. Günümüzde birçok insan çok az düzeyde lif tüketmektedir. Batı diyetindeki diyet lifinin bu düşük

düzei tip 2 diyabetinden koroner kalp hastalıklarına, kolorektal kanserden obeziteye, kabızlığa dental rahatsızlıklara kadar çok çeşitli hastalıkların oluşmasında pay sahibidir. Fırıncılık ürünlerinde diyet lifinin genel kaynağı başta buğday kepeği olmak üzere tahıl kepeğidir. Bunun yanında arpa kepeğinin ya da yulaf kepeğinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Özellikle karışık bağı β-glukanları içermesinden dolayı yulaf ve arpa kepekleri yüksek çözünür diyet lifi içermektedir. Fakat özellikle sağlığa faydalı olması beklenen tahıl kepeğinin eklenmesi ekmek kalitesinde çeşitli problemlere sebep olur. Lif eklenmesi şu değişikliklere neden olmaktadır: (1) hamurun su tutma kapasitesinin artması ve sert hamur oluşması (2) fermentasyon toleransının azalması (son fermentasyon sırasında daha kısa sürede optimum hacmi tutabilme) (3) ekmek hacminin düşmesi (4) sıkı ve elastik olmaya ekmek içi oluşması (5) ekmek çeşidi ve lif çeşidine bağılı olarak farklı aroma oluşumu (Chavan ve Chavan, 2011).

• Eksopolisakkarit (EPS) Üretimi

Ekmek üretiminde veya dondurulmuş hamur üretiminde ekmeğin raf ömrünü ve tekstürel özelliklerini iyileştirmek amacıyla polisakkaritlerin eklenmesi, genel olarak uygulanan bir işlemdir. *L. mesenteroides*'in ürettiği dekstranın ticari uygulamaları vardır (Decock ve Cappelle, 2005). Tieking vd. (2003a) una 5g/kg düzeyinde dekstran eklenmesinin ekmek hamurunun viskoelastik özelliklerini etkilediğini ve aynı oranda katılan reuteran ve levana göre ekmeğin daha hacimli olduğunu belirtmişlerdir. Laktobasillerin ürettiği polimerler (1) hamurun su absorpsiyonu (2) hamur reolojisi ve işlenebilirliği (3) dondurulma sürecinde hamurun stabilitesi (4) hacmi (5) ekmeğin bayatlaması gibi bir kaç teknolojik özelliğini etkilemektedir.

• Besin Değeri ve Duyusal Özelliklerin Geliştirilmesi

Besin kalitesi ve duyusal özelliklerin geliştirilmesiyle ilgili olarak, LAB'ler uzun yıllardır gıdada kullanılmakta ve GRAS olarak nitelendirilmektedirler (Magnusson vd., 2003). Tahıl taneleri lizin, treonin, metionin, triptofan ve izolösin gibi esansiyel aminoasitleri düşük miktarda içerir. Bu sebeple tahıl tanelerinin yüksek kalitede protein içeriğine sahip olmadığı düşünülür. Dünyanın birçok yerinde yaygın olan tahıl temelli beslenme, esansiyel aminoasitlerde eksikliğe yol açar. Mikroorganizmaların liyofilize kültürleri temel protein kalitesini arttırmak için tahıl

tanelerine eklenebilir (El-Megeed ve Sands, 1989). Ekşi hamurdan üretilen fırıncılık ürünlerinin mineral kullanılabilirliği de arttırılabilir (Larsson ve Sandberg 1991; Lopez vd., 2003). Buğday hamurunun mikrobiyolojik ya da kimyasal olarak asitlendirilmesiyle elde edilen düşük pH, fitat komplekslerinin parçalanmasına neden olarak minerallerin kullanılabilmesini sağlar. *Lb. sanfranciscensis*'in ürettiği EPS, ekşihamurun besinsel özelliklerini geliştirmekte, fakat bifidobakterler tarafından metabolize edilebilmektedirler (Korakli vd., 2001). Bazı ekşi hamur LAB'lerinin insanlarda tahıl intoleransına sebep olan prolamin peptitlerini hidrolize ettiği görülmüştür (Di Cagno vd., 2002).

• Aroma Gelişimi

Mayalı fırıncılık ürünlerinin aroması hammaddeden, ekşi hamur fermentasyonundan, starter çeşidinden, son fermentasyon ve fırın koşullarından etkilenir. Laktik asit ve asetik asit arasındaki oran nihai ekmeğin aromasını etkileyen önemli bir faktördür (Corsetti ve Settanni, 2007). Bu oranı fermentasyonu gerçekleştiren mikroorganizmalar, fermentasyon sıcaklığı ve un çeşidi etkiler (Hansen ve Schieberle, 2005). Ekşi hamurun optimal kullanımı, ekmeğin tadını ve aromasını geliştirebilmektedir (Paterson ve Piggott, 2006). Buğday ekşi hamur ekmeğinin aroması normal buğday ekmeğinin aromasından daha zengin ve aromatiktir. Bu durum ekşi hamurun uzun fermentasyon süresine bağlanmaktadır (Brummer ve Lorenz, 1991). Ekmek içindeki en etkili aromatik bileşenlerden biri olan 2-feniletanol konsantrasyonu ekşi hamur ekmeğinde fazladır (Gassenmeier ve Schieberle, 1995). Yakın bir zamanda, fermentasyonun glutensiz ürünlerde de bulunan aroma bileşenlerini tetiklediği görülmüştür. Örneğin Towga'nın üretiminde sorgumun fermentasyonunda farklı aroma bileşenleri oluşmuştur (Mugula vd., 2003). *Lb. orientalis*, *Lb. brevis* veya *Lb. plantarum*'un gerçekleştirdiği fermentasyonda yüksek konsantrasyonda alkol, *Lb. plantarum* ve *Pediococcus pentosaceus*'un bulunduğu fermentasyonda da önemli miktarda diasetil üretildiği belirlenmiştir. *Lb. plantarum* ve mayaların birlikte gerçekleştirdikleri fermentasyonda aldehit üretimi artmıştır. *Lb. plantarum* içeren karışık kültürlerle yapılan fermentasyon, mısır temelli ürünlerde diasetil miktarını arttırmıştır (Edema ve Sanni, 2008). Fırıncılık ürünlerinde EPS üreten laktobasiller, hamurda polimer oluşumuna ek olarak ekmekte aromayı, tekstürü ve raf ömrünü geliştirici yönde rol

oynar. Örneğin *Lb. pontis* ve *Lb. reuteri*'nin EPS üreten suşları, ekmek aromasını pozitif yönde etkileyen arginini metabolize etme özelliği gösterirler. Buna ek olarak *Lb. reuteri*'nin EPS üreten suşları, rop oluşumuna neden olan basillerin gelişmesine engel olan reutericyclin üretirler (Gænzle ve Vogel, 2003; Thiele vd., 2002; Tieking vd, 2003b).

• Hamur Yapısı ve Ekmek Özellikleri

Ekşi hamur fermentasyonu hem ekşi hamurun kendisini hem de ekşi hamur içeren ekmek hamurunun özelliklerini etkiler. Hamurda fermentasyon, elastikliği ve viskoziteyi azaltır, buna karşın ekmek hamuruna ekşi hamur katılması daha az elastik ve yumuşak hamur oluşumuna yol açar (Clarke vd., 2004). Di Cagno vd. (2002), deneysel tekniklerle fermente hamurun reolojisini incelemişlerdir; hamurun uzamaya karşı direnci azalmış ve yumuşaklığı artmıştır. Ekşi hamur fermentasyonu sırasında farklı organik asitler üretilir. Bu organik asitler ekmeğin aromasını geliştirir, glutenin şişmesine yardımcı olur, gaz tutuşu artırır, iyi teksütere sahip ve hacimli bir ürün meydana gelir (Park vd., 2006). Fermentasyon sırasında LAB'ler tarafından üretilen EPS'lerin hidrokolloidlerin yerini alabilecek potansiyele sahip olabilecekleri görüşü bulunmaktadır (Korakli vd., 2001).

Fermentasyon sırasında üretilen asitler hamurun yoğurma özelliklerini güçlü bir şekilde etkiler. Düşük pH'ya sahip hamur daha kısa yoğurma süresine ihtiyaç duyar (Hoseney, 1994). Olgun ekşi hamurun pH'sı 3,5-4,3 aralığındadır fakat kullanılan starter kültüre ve prosese göre değişir. Unun özellikleri, özellikle kül içeriği, asidifikasyonda önemli düzeyde etkilidir (Esteve vd., 1994; Clarke vd., 2002). Asit buğday unundan ekstrakte edilen glutenin fraksiyonunun çözünmesiyle artar ve glutenin şişme gücünü etkiler (Axford vd., 1979). Ticari mayayla yapılan ekmekle kıyaslandığında, ekşi hamur ekmeği daha nemli, sıkı ve sakızımsı tekstüre sahiptir (Qarooni, 1996). Buğday ekmeğine eklenen ekşihamurun, ekmek hacmine olumlu etkisi bulunmaktadır (Esteve vd., 1994; Clarke vd., 2004). Fırıncılık ürünlerinde nispeten küçük gözenekler (1 ya da 2 mm) istenir. Buna karşın büyük boşluklar ve ekmek içinde düzensiz gözenek dağılımı istenmeyen bir durumdur. Hamura %20 oranında ekşi hamur eklenmesiyle ortalama gözenek oranında artış gözlenmiştir ve ürünün kabul edilebilirliği artmıştır (Crowley vd., 2002).

- **Raf Ömrü**

Fırıncılık sektöründe bayat ürünler tüketici tercihini olumsuz yönde etkiler. Bayatlama, bozulmaya sebep olan organizmaların faaliyetinden çok, ekmeğin içindeki bazı değişikliklerle olur (Bechtel vd., 1953). Ekmeğin kontaminasyonunda havadan gelen tozlar ve küf sporları başlıca etmenlerdir (Legan, 1993). Ekonomik kayba ek olarak ekmeğin bozulması tüketici sağlığı açısından risk oluşturmakta, özellikle ekmeğin mikotoksijenik küflerle kontamine olması bu durumu daha da önemli kılmaktadır. Ekşi hamurdaki LAB'lerin ekmeğin bayatlamasına karşı olumlu etkileri vardır. Bayatlama oranının azalmasına etkili olan ekmeğin spesifik hacminin artışı bu etkilerden biridir (Axford vd., 1968). Ekmeğin ekşi hamur içermesi bayatlamayı geciktirir. Bayatlama diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile ölçülebilir (Corsetti vd., 2001). Ekşi hamur bağlantılı LAB'ler organik asitler, CO₂, etanol, hidrojen peroksit, diasetil, yağ asitleri, fenillaktik asit, reuterin ve fungusin gibi birçok antimikrobiyal madde üretir (Messens ve De Vuyst, 2002; Schnürer ve Magnusson, 2005). Organik asitler arasında heterofermentatif LAB'lerin ürettiği asetik asit ve propiyonik asit laktik asitten daha etkilidir (Schnürer ve Magnusson, 2005). *Lb. sanfranciscensis* CB1'in ürettiği kaproik asit; asetik, formik, propionik, butirik ve n-valerik asitlerle birlikte ekmeğe *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* türlerinin gelişimini inhibe etmede kilit rol oynar (Corsetti vd., 1996). *Lb. plantarum* da çok geniş antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve ürettiği fenillaktik asitin fungal inhibisyonundan sorumlu olduğu belirlenmiştir (Dal Bello vd., 2007; Lavermicocca vd., 2000; Ryan vd., 2009). Buğday ekmeğinde antifungal *Lb. plantarum* suşlarıyla fermente edilen ekşi hamurla kalsiyum propiyanatın birlikte kullanılmasının sinerjistik etki oluşturduğu bulunmuştur (Ryan vd., 2008). Ekşi hamurda *Lb. reuteri*'nin, düşük molekül ağırlıklı antibiyotik olan, Gram-pozitif LAB ve mayalara karşı etkili reutericyclin'i ürettiği görülmüştür (Gænzle vd., 2000). *Lb. reuteri* suşlarının aynı zamanda bakteri, maya ve funguslara karşı etkili bir antimikrobiyal madde olan reuterin ürettiği belirlenmiştir (Gænzle, 2004). Ekşi hamur LAB'leri muhtemelen organik asitlere ve diğer bilinmeyen antibakteriyel maddelere bağlı olarak ekmeğe *Bacillus* spp.'nin neden olduğu rop oluşumuna karşı etkisi vardır (Katina vd., 2002; Valerio vd., 2008).

- **Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite**

Genellikle LAB'ler fermente gıdaların korunumunda ve mikrobiyal güvenlik açısından kritik rol oynar. Böylece fermentasyon sonunda oluşan nihai üründe mikrobiyal stabilite korunmuş olur

Ekmek ve diğer mayalı ürünler bozucu bakteri ve mayalarla kontamine olabilirler. LAB'ler hem antibakteriyel hem de antifungal özellik gösterirler. Ekşi hamur eklenmesi ekmeği bozulmaya karşı korumanın etkili yollarından biridir. Bu sayede tüketici isteklerine uygun, katkı maddesi eklenmemiş bir ürün üretilir (Messens ve De Vuyst, 2002). Çeşitli bileşenlerin ilave edilmesinin yanısıra (örneğin organik asitler, hidrojen peroksit, diasetil), ekşi hamur LAB'leri ürettikleri bakteriyosin veya diğer maddeler sayesinde diğer mikroorganizmaları inhibe edebilmektedir. Örneğin *Lb. reuteri* LTH2584'nin ürettiği düşük molekül ağırlıklı antibiyotik olan reutericyclin bunlardan biridir (Höltzel vd., 2000).

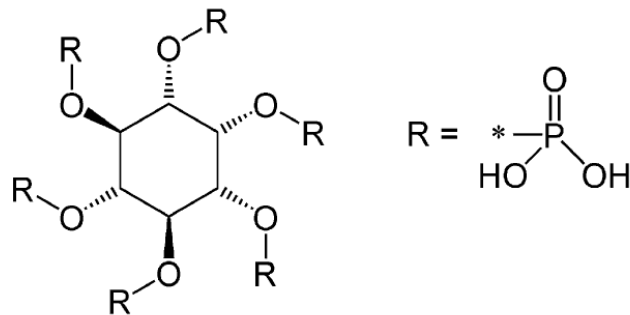
Antibakteriyel bileşenler, karmaşık gıda sistemlerinde mikrobiyal interaksyonları düzenler. Sadece ekşi hamur LAB'lerinin ürettiği birkaç bakteriyosin ya da bakteriyosin benzeri inhibitör madde (BLIS) tanımlanmıştır. *Lb. bavaricus* MI401'in ürettiği bavarisin (Larsen vd., 1993), *Lb. plantarum* ST31'in ürettiği plantarisin ST31 (Todorov vd., 1999) ve *Lb. sanfranciscensis* C57'nin ürettiği BLIS C57 (Corsetti vd., 1996) bunlardan birkaçıdır. LAB bakteriyosinleri *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* gibi gıda kaynaklı patojenleri ve/veya gıdayı bozucu bakterileri inhibe edebildiğini göstermiştir. Böylece bunların gıda katkısı olarak kullanımı, starter ya da koruyucu kültür olarak bakteriyosin üretici suşların kullanımı, daha güvenli gıda üretmek amacına katkı sağlayabilir. Üstelik bakteriyosinler gıda endüstrisinin kullandığı kimyasal koruyucu maddelerinin azaltılmasını da destekleyebilir (Messens ve De Vuyst, 2002).

Fırıncılık ürünlerinde en çok görülen bozulma, fungal gelişmeyle olur. Mikotoksin üretebilme kabiliyetleri göz önüne alınırsa bu durum halk sağlığını tehdit etmektedir (Legan, 1993). Fırıncılık ürünlerinde bozulmaya yol açan küfler genellikle *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Endomyces*, *Fusarium*, *Monilia*, *Mucor*, *Penicillium* ve *Rhizopus* türleridir (Legan 1993; Keshri vd., 2002). *Lb. sanfranciscensis* CB1'in ekmekte bozulmaya sebep olan *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* ve *Monilia*'ya karşı inhibitör aktivitesinin sorumlusu, kaproik asitin kilit

rol oynamasıyla birlikte asetik, kaproik, propionik, butirik ve n-valerik asitlerinin karışımının sinerjist etkisidir (Corsetti vd., 1996). *Lavermicocca* vd. (2000) *Lb. plantarum* ITM21B'nin ürettiği iki antifungal bileşeni saflaştırıp tanımlamışlardır. Fenillaktik ve 4-hydroxy-fenillaktik asit olarak tanımladıkları bu bileşenlerin fungusit aktivitelerinin pişirmeden sonra da devam ettiğini belirlemişlerdir. Laktobasillerin yukarıda belirtilen iki antifungal bileşeni üretme yetenekleri vardır. Bunlardan fenillaktik asit daha güçlüdür. *Aspergillus niger* ve *Penicillium roqueforti* gelişimini 7 günün üzerinde engelleyerek ekmeğin raf ömrünü önemli düzeyde arttırdığı görülmüştür. *Lb. casei*, *Lb. pentosus*, *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* ve *Lb. coryniformis* subsp. *coryniformis*'in fungusinleri ürettiği bulunmuştur (Gourama, 1997; Okkers vd., 1999; Magnusson ve Schnürer, 2001).

2.2 Fitik asit

Fitik asit, hekza hidrik siklik alkol meso-inositolün heksafosforik esterleridir. Tuz yapısının fitat olarak nitelendirildiği ve inositol heksakisfosfat (IP6) olarak da bilinen fitik asit (Şekil 2.2), yaygın olarak bitki tohumlarında veya tahıllarda (Harland ve Oberleas, 1987; Reddy vd., 1989), köklerde ve yumrulara (Harland ve Oberleas, 1987; Wolters vd, 1993; Ravindran vd., 1994), meyve ve sebzelerde (Harland ve Oberleas, 1987; Wolters vd, 1993; Ravindran vd., 1994), kuruyemişlerde (Harland ve Oberleas, 1987; Wolters vd, 1993), çeşitli bitki türlerinin polenlerinde (Baldi vd., 1987) bulunmaktadır. Birçok bitki dokusunda fosforun temel depo formudur. Inositol penta-(IP5), tetra- (IP4) and trifosfat (IP3) da fitat olarak nitelendirilir (Reddy, 2001).



Şekil 2.2 Fitik asidin kimyasal yapısı (Kumar vd., 2010)

Fitik asit, birçok hububat ve yağlı tohumun ağırlıkça %1-3'ünü ve toplam fosforun %60-90'ını oluşturan bütün bitki tohumlarının önemli bir bileşenidir (Graf, 1983).

Fitatlar, özellikle tohum çimlenmesinde, birçok fizyolojik fonksiyona hizmet eder (Afinah vd., 2010). Tahıllarda, fitat, aleuron tabakasında ve ruşeyimde bulunurken, endosperm fitat içermez. Fitatın yaklaşık %80'i, buğday, pirinç gibi küçük taneli tahıllarda aleuron tabakasında bulunurken, %20'si ise dokularda bulunmaktadır (Schlemmer vd., 2009)

Fitatlar Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} ve Fe^{2+} gibi iki değerli minerallerin güçlü şelatörleri olduğu için antinütrient bileşenler olarak kabul edilmektedir. Fizyolojik pH değerlerinde oluşan çözünmeyen mineral-fitat kompleksleri, insan gastrointestinal yolundan emilemedikleri için mineral biyoyararlılığını zayıflatmaktadır (Greiner ve Konietzny, 2006). Fitik asidin mineralleri şelatlama yeteneği, insan beslenmesinde bir endişe kaynağı olarak kabul edilmekte ve hayvanlarda ve insanlarda yapılan birçok *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla, fitik asitin bu minerallerle kompleksler oluşturarak mineral biyoyararlılığını azalttığı ortaya konmaktadır (Reddy vd., 1989; Krebs, 2000). Mineraller, intraselüler ve ekstraselüler enzimlerin aktivasyonunda, metabolik reaksiyonların kontrolü için gerekli vücut sıvılarında ve hücre ile çevresi arasında ozmotik dengenin sağlanmasında kritik pH seviyelerinin düzenlenmesinde rol oynarlar. Esansiyel minerallerden herhangi birinin eksikliği, ciddi metabolik bozukluklara neden olmakta ve sağlığı tehlikeye atabilmektedir. Bazı mineral eksiklikleri gelişmekte olan ülkelerde oldukça yaygın olmasına karşın gelişmiş ülkelerde de mineral yetersizlikleri görülebilmektedir (Lopez vd., 2002). Çocuklar, gençler, hamile kadınlar ve yaşlılar dahil olmak üzere toplumun belirli kesimleri için mineral yetersizliği ciddi rahatsızlıklara sebebiyet vermektedir. Özellikle büyüme dönemlerinde olan çocuklar, gençler ve hamile kadınlar için diyetle birlikte alınan fitat düzeyi oldukça önem arz eder (Weaver ve Kannan, 2002). Fitatlar doğada iyonik olduklarından, doğrudan yüklü protein gruplarıyla veya dolaylı olarak, kalsiyum gibi pozitif yüklü bir mineral iyonunun aracılık ettiği negatif yüklü protein gruplarıyla reaksiyona girebilirler. Elde edilen fitat proteini ve fitat-mineral-protein kompleksleri ayrıca protein sindirimini ve biyoyararlılığını olumsuz yönde etkilemektedir (Cheryan ve Rackis, 1980; Thompson, 1993). Fitat ayrıca, doğrudan bir fosfat grubu ile hidrojen bağlanmasıyla veya dolaylı olarak proteinler (Rickard ve Thompson, 1997) aracılığıyla nişasta ile bağlanabilmekte ve nişasta çözünürlüğünün ve sindirilebilirliğinin azalmasına neden olabilmektedir (Reddy ve Sathe, 2001). Antinütrient özelliklerinin aksine, bitkilerde fitat güçlü bir demir ve

çinko şelatörü olarak bu metallerin aracılık ettiği serbest radikal oluşumunu azaltarak bir antioksidan olarak da işlev görmektedir (Lei ve Porres, 2003).

Fitatlar ısıtma işlemi, ziraat işleme teknolojilerine, depolama ortamlarına karşı oldukça dayanıklıdır. Gıda işleme (evde ve endüstride) ısıtma, pişirme, çimlenme, ışınlatma, ekstrüzyon, öğütme, kızartma, fermentasyon, kızartma, mikrodalga gibi çeşitli yöntemleri içerir. Bu işleme yöntemlerinin her biri, işlenecek gıda türüne ve kullanılan işleme yönteminin türüne bağlı olarak fitatı bir dereceye kadar azaltabilir. Birçok durumda, fitat redüksiyonu tam değildir ve bu nedenle bazı fitatlar tipik olarak işlenmiş gıdada kalır. Bu nedenle, tek başına gıda işleme fitatın olası olumsuz etkilerini önleyemez. Monogastrik beslenmede fitat azalması için eksojen enzimlerin kullanımı son zamanlarda gözden geçirilmiş ve fitat azaltma amacıyla termostabil fitazların geliştirilmesi önerilmiştir (Bedford, 2000).

2.2.1 Mineral Alımı Üzerine Fitatın Etkisi

Diyetle alınan fitat, çözünmeyen bir fitat mineral kompleksi oluşturmakta ve bu komplekslerin gastrointestinal sistem tarafından kolayca emilememesi minerallerin biyolojik olarak kullanılabilirliğini azaltmaktadır. Ayrıca ince bağırsakta fitat parçalayıcı enzim bulunmadığından ve sindirim sisteminin üst kısmındaki mikrobiyal popülasyon sınırlı olduğundan dolayı fitat-mineral kompleksi, insan bağırsağında kısmi olarak hidrolize edilebilmektedir (Iqbal vd., 1994). Fitik asit altı güçlü ayrılmış protona (pKs 1,1 ila 2,1) ve altı zayıf ayrılmış protona (pKs 4,6 ila 10,0) sahiptir. Mineraller üzerindeki etki, fitat mineral (M) veya peptid-mineral-fitat komplekslerinin oluşumu ile gözlenir. Fitat, iki ve üç değerlikli katyonlarla çok çeşitli çözünmeyen tuzlar oluşturur. Genellikle, Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} gibi iki değerlikli katyonlar çözünmez penta ve hekza ikameli tuzlar oluşturur. Bu komplekslerin çözünmezliği, fitik asit bakımından yüksek diyetlerde minerallerin biyoyararlılığının azaltılmasının ana nedeni olarak kabul edilir. Kompleks, peptid içerdiğinde, proteinlerin biyoyararlılığı ve enzimatik aktivite de azalmaktadır (Heaney vd., 1990).

Harland ve Oberleas (1987) ortalama 200 gıdadaki fitat oranlarını değerlendirmiş ve mineral emilimi üzerine fitatın inhibitör etkisinin doza bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Çok düşük fitat konsantrasyonlarında dahi demir emilimi olumsuz

etkilenir. Örneğin, fitat : demir oranı 0,2 : 1,0 gibi düşük olduğunda bile, fitat hala güçlü bir inhibe edici etki sergiler (Hallberg vd.,1989; Hurrell vd., 1992). Kalsiyum emiliminde ise bu oran belirsizdir. Bazı araştırmacılar fitat : kalsiyum molar oranı 0,17'den düşük olmasını önermektedirler (Umeta vd., 2005). İnositol fosfatların kalsiyum emilimi üzerindeki olumsuz etkisinin, IP5 ve IP6 gibi yüksek inositol fosfatlarla sınırlı olup olmadığı halen bilinmemektedir (Gibson vd., 2010). Çinko biyoyararlılığı üzerine diyetle alınan fitatın inhibe edici etkisi için bir eşik bulunmamaktadır. Hambidge vd. (2004) fraksiyonel çinko emilimi ve fitat alımı arasındaki etkiyi fitat:çinko molar oranı 7:1'den 37:1'e kadar geniş bir aralıkta incelemiş ve arasında negatif etki olduğunu belirtmişlerdir. Fitat varlığında kalsiyumca zengin gıdaların tüketilmesinin çinko alımını olumsuz etkilediği ile ilgili kanıtlar vardır. Mısır ekmeği ile kalsiyumca zengin tortilla ekmeklerinin fraksiyonel çinko emilimi açısından karşılaştırıldığı bir çalışmada çinko emiliminin mısır ekmeği tüketiminden sonra daha fazla olduğu belirtilmiştir (Barnett vd., 2005). Bununla birlikte, Uluslararası Çinko Beslenme Danışma Grubu (IZiNCG), fitat:çinko oranının tek başına fitatın, çinko biyoyararlılığı üzerinde olumsuz etkisi olduğu yönünde değerlendirilmesini önermektedir. Çoğu diyetle, hem kalsiyumun hem de proteinin, emilen çinko yüzdesini tahmin etmek için anlamlı bir öngörü gücü vermediği sonucuna varmışlardır. Sonuç olarak, Hotz ve Brown (2004) diyetleri, fitat:çinko oranına göre iki kategoriye ayırmıştır. Fitat:çinko molar oranı >18 (örneğin tahıl temelli diyetler) olan diyetlerde, çinko absorpsiyonunun erişkin erkek ve kadınlarda sırasıyla %18 ve %25 olduğu, buna karşın oranın 4-18 aralığında olan diyetlerde (örneğin vejeteryan diyetlerde) %26 ve %34 olduğunu belirtmişlerdir. Hurrell (2004) ise erişkinlerde izotop çalışmalarından elde edilen verilere dayanarak, fitat:çinko molar oranı 4 ila 8 arasındaki diyetlerde, yetişkinlerde çinko emiliminin ~% 20 oranında olması gerektiğini rapor etmiştir. Fakat bu emilim tahminlerinin, bebeklerin ve küçük çocukların diyetlerine uygulanabilir olup olmadığı kesin değildir (Gibson vd., 2010).

Farklı minerallerin fitik aside bağlanma kuvvetleri büyük farklılıklar gösterir. Şelasyon kuvveti, periyodik cetvelde alkalın toprak metallere ağır metallere geçerken mineralin atom sayısı ile artmaktadır. Vohra vd. (1965) tekli katyonların varlığında serbest asit olarak fitatın titrasyon kurvesini kullanarak katyonlarla fitat komplekslerinin $Cu^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Fe^{3+} > Ca^{2+}$ kuvvet sırasına göre katyonlarla

kompleksler oluşturduğunu belirtmişlerdir. Fitat-mineral komplekslerinin stabilitesinin ise $Zn^{2+}>Cu^{2+}>Ni^{2+}>Co^{2+}>Mn^{2+}>Ca^{2+}$ şeklinde olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada fitattan en çok etkilenen mineralin çinko olduğu görülmektedir. Orta Doğu'daki çinko eksikliğinin sorumlusunun mayalandırılmamış ekmeklerdeki hidrolize olmamış fitatlardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Weaver ve Kannan, 2002). Fitat kompleksleri ayrıca diyetteki çeşitli minerallerle de doğrudan veya dolaylı olarak etkileşime girerek biyoyararlılıklarını azaltmaktadırlar (Wise, 1983). İki katyon, eşzamanlı olarak mevcut olduğunda, fitat oluşum miktarı artmaktadır. Fitat ve kalsiyum varlığında, çözünmeyen komplekslerin oluşumu nedeniyle diğer minerallerin emilimi baskılanır (Sandberg vd., 1993). Örneğin kalsiyum fitat Zn'ye daha fazla çekim göstererek alt presipitasyonlar oluşturur. Böylece diyetle alınan Zn'nin yararlılığını etkilediği gibi endojen Zn'nin de reabsorpsiyonunu düşürür. Bununla birlikte Zn-fitat bileşeninde Zn'nin fitata göre yüksek molarlarda bulunduğu durumlarda Ca^{2+} , Zn^{2+} 'yı fitat-bağlanma bölgelerinden uzaklaştırmakta ve çözünürlüğünü arttırabilmektedir. Serbest Zn^{2+} miktarı doğrudan Ca^{2+} konsantrasyonu ile orantılıdır. Ayrıca, Mg^{2+} 'nın Zn^{2+} 'nın fitat varlığında bileşik oluşturmasını kuvvetlendirdiği gösterilmiştir, ancak Zn^{2+} çözünürlüğü üzerinde Ca^{2+} 'dan daha az belirgin bir etki yaptığı görülmüştür (Wise, 1983).

İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar fitatın, demir emiliminde çok güçlü bir inhibe edici etkisi olduğunu göstermektedir (Brune vd., 1992). Ayrıca fitatın Ca^{2+} emilimini azalttığı ancak bunun insanlarda Zn^{2+} ve $Fe^{2+/3}$ emilimini azaltması kadar belirgin olmadığı belirlenmiştir. Kolonda bulunan mikrobiyotanın fitatı defosforilizasyon etme yeteneğine sahip olması Ca^{2+} 'un serbest kalmasına sebebiyet vermektedir (Sandström vd., 1990). Fitatın Cu^{2+} , Mn^{2+} ve Mg^{2+} üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır (Lopez vd., 2002; Lönnerdal, 2002).

Komplekslerin kararlılığı ve çözünürlüğü pH değerine, ortamdaki katyona, fitat-katyon molar oranına ve çözeltideki diğer bileşiklerin varlığına bağlıdır (Oberleas, 1983). pH, fitatın çözünürlüğünü etkileyen en önemli faktördür (Cheryan vd., 1983). Fitat kompleksleri düşük pH değerlerinde daha çözünür formdadır (Torre vd., 1991). Ca^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} ve Cu^{2+} tuzları pH 4-5'ten düşük pH'larda çözünür olma eğilimindedir, Mg-fitat ise pH 7.5'tan sonra asidik pH'larda çözünebilir duruma gelir

(Nolan vd., 1987). Buna karşın demir-fitat kompleksinde iki bileşenin de eşit molar olduğu durumlarda kompleksin pH 1,0-3,5 aralığında çözünmez formda olduğu, pH 4'ün üzerinde de çözünebilir duruma geldiği belirlenmiştir (Kumar vd., 2010). Bununla birlikte, kepekte bulunan fitat, gastrik pH'da (yaklaşık olarak pH 2), Ca'nın aslında bağlanmadığını ve bu bileşenin Ca iyonunun çözünürlüğüne katkıda bulunmadığını belirtmişlerdir (Siener vd., 2001).

Fitatın bebeklerde ve küçük çocuklarda demir, çinko ve kalsiyumun biyoyararlılığı üzerindeki etkisi üzerine çalışmalar sınırlıdır. Bu nedenle, yetişkin diyetleri için arzu edilen fitat-mineral molar oranlarının, bebeklerin ve küçük çocukların diyetleri için de uygun olup olmadığı belirsizdir (Sheng vd., 2006). Benzer şekilde, çocukların yüksek fitat içeren bir diyetin bu minerallerin emilimindeki engelleyici etkisine uyum sağlama yeteneğine sahip olup olmadıkları belirsizdir. Bağırsak çinko emiliminin artmasıyla yetişkinlerin düşük çinko ve fitat içerikli diyetlere adapte olabileceğine dair bazı kanıtlar vardır. Bununla birlikte, yüksek fitatlı diyetlerle kıyaslanabilir bir uyum görülmemektedir (Hunt vd., 2008). Benzer durum demirde de görülmektedir. Demir emilimi yetişkinlerde ve çocuklarda yüksek fitat içeren diyetlerle düşmektedir (Brune vd., 1989). Çinko ve demirin aksine, tahıl bazlı gıdaların yüksek fitat içeriği, bebeklik döneminde ve erken çocukluk döneminde kalsiyum durumu üzerinde önemli bir etkiye sahip olmamakla birlikte yüksek kalsiyum içeren gıda alan bebeklerde kalsiyum emiliminin yüksek (% 60) olduğu bildirilmiştir (Davidsson vd., 1996). Bunun yerine, küçük çocuklar arasındaki kalsiyum eksikliğinin zayıf emilimden ziyade düşük alım nedeniyle olması muhtemeldir (Hurrell, 2004).

2.2.2 Fitatın Protein Sindirilebilirliği Üzerine Etkisi

Fitat, hem asidik hem de alkali pH'da proteinlerle kompleksler oluşturmaktadır. Bu fitat-protein interaksyonu, enzimatik aktiviteyi, protein çözünürlüğünü ve proteolitik sindirilebilirliği etkileyebilecek protein yapısındaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Protein-fitat komplekslerinin beslenmedeki önemi hala araştırılmakla beraber *in vitro* çalışmalar fitat-protein etkileşimlerinin protein sindirilebilirliğini olumsuz yönde etkilediğine dair güçlü kanıtlar sunmaktadır (Cheryan ve Rackis, 1980). *In vitro* çalışmalar fitat-protein komplekslerinin proteolitik enzimler tarafından parçalanamayacağını göstermiştir (Kumar vd.,

2010). Bununla beraber çalışmalarda pepsin, tripsin, kimotripsin (Deshpande ve Damodaran, 1989; Inagawa, 1987; Singh ve Krikorian, 1982), lipaz (Knuckles, 1988) ve amilaz (Deshpande ve Cheryan, 1984; Knuckles ve Betschart, 1987) gibi sindirim enzimlerinin fitat tarafından inhibe edildiği belirlenmiştir (Kumar vd., 2010). Fakat fitatın, proteinin besin değeri üzerindeki olumsuz etkisi, monogastrik hayvanlarla yapılan çalışmalarda açıkça doğrulanamamıştır (Sebastian vd., 1998). İnhibitör etki, miyo -inositol fosfat konsantrasyonu ile artmaktadır. Fitat-protein etkileşimlerinin spesifik olmayan yapısı, tripsin ve α -amilazın aktivitesi için gerekli olan kalsiyum iyonlarının şelasyonu veya bu enzimlerin substratları ile etkileşimi nedeniyle bu inhibisyonun gerçekleşebildiği düşünülmektedir (Greiner ve Konietzny, 2006).

Fitatlar bitkinin proteini ile ilişkilidir. Proteolize direnç gösteren bazı proteinlerle güçlü bir kompleks oluşturur. Proteinin *in vitro* sindirilebilirliği üzerine yapılan bir çalışmada, faba fasulyesi, bezelye, tam buğday unu, protein konsantresi, protein izolatu, laktalbümin, kazein, serum albümin ve zein örneklerinde oda sıcaklığında bir saat süreyle inkübasyondan sonra 10 mg N içeren herhangi bir proteine, 10 mg'a kadar fitik asit ilavesinin olumsuz etkileri olmuştur. Bu çalışma, fitik asit: protein etkileşimlerinin *in vitro* protein sindirilebilirliğini olumsuz yönde etkilediğine dair güçlü kanıtlar sunmaktadır (Harland ve Morris, 1995).

2.2.3 Fitatın Karbonhidrat Kullanımı Üzerine Etkisi

İnsanlarda fitat alımı ile kan şekeri tepkisi arasında negatif bir ilişki belirlenmiştir (Lee vd., 2006). Bunun nedeninin, fitatın, karbonhidratlar ile kompleksler oluşturmasına bağlanmaktadır. Fitatlar karbonhidratlarla kompleks oluşturarak çözünürlüklerinin azalmasına ve glikozun sindirilebilirliğini ve emilimini olumsuz yönde etkilemesine sebep olmaktadır. Fitat, nişasta ile hidrojen bağları yoluyla doğrudan ya da nişasta ile bağlı olan proteinler aracılığıyla dolaylı olarak bağlanabilmektedir (Rickard ve Thompson, 1997). Ayrıca, kan şekeri tepkisindeki azalma, düşük glisemik indeks, diyabet hastalarına kan glikozunu kontrol etmede yardımcı olabilir (Thompson vd, 1987; Yoon vd., 1983). Bu nedenle, fitat bakımından zengin yiyeceklerin batı toplumunda yaygın olarak görülen ve beslenmeye bağlı hastalıklardan biri olan *diabetes mellitusun* önlenmesi ve yönetiminde büyük bir besinsel öneme sahip olduğu düşünülmektedir (Greiner ve Konietzny, 2006). Ayrıca fitatın, Ca^{2+} iyonu ile kompleks oluşturarak amilaz

aktivitesini inhibe ettiği ileri sürülmektedir (Selle vd., 2000). Thompson vd. (1987) defitasyona tabi tutulan fasulye unu tüketiminin insanlarda glisemik indeks artışına sebebiyet verdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca yapılan bir çalışmada sodyum fitat ile kompleks oluşturmuş buğday ve fasulye nişastasına sodyum fitat eklenmiş ve insan tükürüğü üzerinde inkübe ederek nişasta hidrolizini incelenmiş, nişasta hidrolizinin azaldığı belirtilmiştir (Thompson vd., 1987; Yoon vd., 1983).

2.2.4 Fitik Asit Parçalanması

Fitat degradasyonu, gıda prosesi sırasında ve gastrointestinal kanalda meydana gelmektedir (Sandberg, 2001). Çeşitli gıda işleme ve hazırlama teknikleri ve ayrıca eksojen enzimlerin eklenmesi, gıdalardaki fitat miktarını azaltmak için uygulanan yöntemlerdir (Kumar vd., 2010). Fitat degradasyonu fosfatın inositol halkasından uzaklaşmasıyla meydana gelir. Bu durum mineral bağlama gücünü zayıflatacağından ve kompleksin çözünürlüğünü arttıracığından dolayı minerallerin biyoyararlılığını arttırmaktadır. Islanma, çimlenme, malt oluşumu ve fermentasyon gibi biyolojik gıda proses aşamaları sırasındaki fitatın hidolizi, bitkilerde ve mikroorganizmalarda doğal olarak bulunan fitaz aktivitesinin bir sonucu olarak gerçekleşir (Sandberg, 2001).

2.2.4.1 Fitatların Enzimatik Degradasyonu

Fitazlar (miyo-inositol heksafosfat fosfohidrolaz, EC 3.1.3.8 ve EC 3.1.3.26) bitkilerde, mikroorganizmalarda ve hayvansal dokularda bulunmaktadır. Fitatı ve aynı zamanda düşük inositol fosfatlar ya da nükleotidler gibi diğer organik fosfatları farklı afinite ve etkinlikleri ile hidrolize ederler (Schlemmer vd., 2009). Fosfat gruplarının aşamalı olarak parçalanması, düşük fosforilize edilmiş inositol fosfat ve inorganik fosfat oluşumuna yol açar, reaksiyon miyo-inositol oluşumuna kadar devam eder. Farklı fitazların fitattan fosfat gruplarını hidrolize etme yolu da farklı olmaktadır. Bu durum da farklı inositol pentaforfat izomerleri oluşumuna sebebiyet vermektedir (Konietzny ve Greiner, 2002; Sandberg, 1991; Schlemmer vd., 2009). 3-fitaz (EC 3.1.3.8) ve 6-fitaz (EC 3.1.3.26) olmak üzere sınıflandırılmış iki tür fitaz vardır. İsimlendirme ilk hidrolize edilen fitat fosforester bağının pozisyonuna göre yapılmıştır (Persson vd., 1991; Quan vd., 2004). 3-fitaz mikroorganizma kaynaklı iken 6-fitaz bitki kaynaklıdır (Wodzinski ve Ullah, 1996). Fakat *Escherichia coli*'nin

6-fitaz ve soya fitazlarının 3-fitaz olması gibi istisnalar da bulunmaktadır. Baskın olan inositol fosfatın, kademeli inositol fosfat bozulmasının herhangi bir aşamasında olduğu görülmektedir ve hidroliz oranı, fosforilasyon derecesi ile azalmaktadır (Konietzny ve Greiner, 2002; Sandberg, 1991; Schlemmer vd., 2009).

Tahıllarda fitaz için optimum sıcaklık 45°C'dir, yaklaşık 55°C'ye kadar stabil şekilde çalışır, optimum pH ise 5,0–5,6' arasındadır (Wodzinski ve Ullah, 1996). Küfler tarafından üretilen fitazlarda 2,5 ve 5,0 olmak üzere genellikle iki optimum pH vardır (Konietzny ve Greiner, 2002; Simon ve Igbasan, 2002; Ullah ve Gibson, 1987). Bu fitazlarda en uygun sıcaklık ise 58°C olmakla beraber 68°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda aktivite göstermezler. *Bacillus subtilis*'in ürettiği gibi bakteriyel fitazlarda optimum pH, 7,0'den 7,5'e kadar değişiklik göstermektedir ve bir çoğu için aktivite gösterdiği en uygun sıcaklık yaklaşık 50°C'dir (Schlemmer vd., 2009).

Çok sayıda bitkisel kaynaktan fitaz enzimi izole edilerek karakterizasyonu sağlanmıştır. Özellikle tohumlarda yüksek fitaz aktivitesine rastlanmıştır (Greiner ve Egli, 2003). Aktivite daha çok aleuron dokularında belirlenmiş, fakat az düzeyde de olsa endosperm ve skutellumda da tespit edilmiştir. İşlenmemiş tahıllarda fitaz aktivitesi çok değişken düzeylerde aktivite göstermekle beraber en yüksek çavdarda, en düşük düzeyde ise buğday, yulaf, kavuzlu buğday ve mısırdaki bulunmuştur (Greiner ve Konietzny, 2006). Fitaz aktivitesi ayrıca hasat zamanına ve ekim çeşidine göre değişmektedir (Steiner vd., 2007). İşlenmemiş yulaf, buğday ile benzer fitaz aktivitesi gösterir (Frølich vd., 1988), ancak yulaf lipidinde ransiditeyi önlemek için uygulanan ısı işleminden dolayı, yulaf fitazları büyük ölçüde inaktive olmaktadır (Bartnik ve Szafrńska, 1987). Gıdalardaki bitkisel ya da mikrobiyal fitazlar, gıdalardaki fitat içeriğini düşürmek ve dolayısıyla minerallerin ve iz elementlerin biyoyararlılığını arttırmak için gıda prosesi sırasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Schlemmer vd., 2009).

2.2.4.2 Gıda İşleme Sırasında Fitatın Enzimatik Degradasyonu

Fitat hidrolizi, gıda hazırlama ve üretimi sırasında hem bitkilerde doğal olarak bulunan fitazlardan hem de maya ve diğer mikroorganizmaların fitaz aktiviteleriyle olmaktadır. Tahıl ve baklagillerin doğal enzimlerinin yanında aktivitenin artmasını sağlayan biyolojik proses teknikleri yumuşatma, çimlendirme, pişirme ve fermentasyondur. Malt yapımı sırasındaki çimlendirme aşaması sırasında enzimler

sentezlenmekte veya aktive edilmektedir. Fermentasyon prosesinde oluşan organik asitler sonucunda ortamın pH'sı tahıllardaki fitaz aktivitesi için uygun duruma gelmektedir. Fermentasyonda starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmaların ayrıca fitaz aktiviteleri bulunmakla beraber gıda prosesleri sırasında fitaz preparatları da eklenebilmektedir. Fitat degradasyonu mineral biyoyararlılığını arttırmaya yönelik gıda prosesini optimize etmek için fitazların optimal koşullarının bilinmesi gereklidir. Farklı bitki türlerinin fitaz aktiviteleri için optimum koşullar da farklılık göstermektedir (Sandberg, 2001). Çeşitli çalışmalarda tahılların (Greiner vd., 2000; Greiner ve Alminger, 1999; Nakano vd., 1999; Konietzny vd., 1994; Hayakawa vd., 1989), baklagillerin (Greiner, 2002; Greiner vd., 2001; Houde vd., 1990; Gibson ve Ullah, 1988; Mandal vd., 1972) ve fermentasyonda kullanılan mikroorganizmaların (Sumengen vd., 2013; De Angelis vd., 2003; Nayini, 1984) fitaz enzimleri saflaştırılarak özellikleri çalışılmıştır. Bununla birlikte, saflaştırılmış bir enzimin özellikleri, bir gıda matrisindeki aynı enzimin özellikleri ile aynı değildir (Greiner ve Konietzny, 2006).

- **Islatma**

Islatma genellikle baklagil ve tahıl tohumlarının işlenmesini kolaylaştırmak için ön işlem olarak kullanılır. Bu işlem 15-20 dakikalık kısa prosesler şeklinde yapılabildiği gibi 12-16 saatlik prosesler şeklinde de uygulanabilmektedir. Evlerde, tahıllar ve baklagiller oda sıcaklığında gece boyunca suya batırılır. Fitat suda çözünür olduğundan dolayı islatma suyunun atılmasıyla önemli bir fitat azalması gerçekleştirilebilmektedir. Bununla birlikte endojen fitazların etkisi fitat azalmasına katkıda bulunmaktadır. Proses sırasında uygulanan sıcaklık ve pH'nın, enzimatik fitat hidrolizinde önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Greiner ve Konietzny, 1999; Greiner ve Konietzny, 1998; Fredlund vd., 1997). Sıcaklık 45-65°C aralığında ve pH 5,0-6,0 aralığında gerçekleştirilirse bitkisel fitazlar için optimum koşullar gerçekleştirilmiş olup fitatların önemli bir düzeyde (26-100 %) enzimatik hidrolizi gerçekleşmiş olur (Greiner ve Konietzny, 1999; Fredlund vd., 1997).

- **Pişirme**

Fitatlar sıcaklığa dayanıklı bileşenler olması sebebiyle pişirme sırasında önemli düzeyde fitat yıkımının olması beklenmemektedir. Bu nedenle pişirme sırasındaki önemli düzeyde fitat defosforilasyonu pişirme suyunun atılmasıyla ya da

pişirmenin erken zamanlarındaki bitki fitazlarının faaliyetiyle gerçekleşir (Greiner ve Konietzny, 1998). Uzun süre yüksek sıcaklık uygulamaları endojen enzimlerin kademeli olarak etkisizleşmesine neden olur. Bu nedenle, ısıl işleme dayanıklı fitazlara sahip bitkilerin kullanılması veya aynı özellikteki eksojen fitazların eklenmesi pişirme sırasında fitat fosforilasyonunu iyileştirmek için önerilmektedir. (Kumar vd., 2010; Greiner ve Konietzny, 2006)

- **Çimlenme**

Çimlenme, baklagillerde ve tahıllarda, özellikle fitat ve proteaz inhibitörleri gibi bazı anti-besinsel maddelerin parçalanmasıyla besin değerini ve lezzetini arttırmak için yaygın olarak kullanılan bir işlemdir. Bazı buğday türleri, çavdar ve arpa hariç çimlenmemiş baklagil ve tahıllarda az düzeyde fitaz aktivitesi görülmüştür (Egli vd., 2002; Steiner vd., 2007; Viveros vd., 2000). Fakat çimlenme sırasında önemli düzeyde fitat düzeyinde düşme meydana geldiği belirlenmiştir (Greiner vd., 2001; Greiner, 2002; Vidal-Valverde vd., 1998). Bitki tohumları çimlenme sırasında fitatı inorganik fosfat kaynağı olarak kullanmaktadır. Mineral düzeyinde ciddi bir artışa neden olan fitat seviyesi, 6 ila 10 günlük çimlenmeden sonra elde edilebilmektedir. Çimlenme yoluyla mineral biyoyararlılığını arttırmak için uzun süre gerektiğinden, bu yaklaşımın gıda üretimi için ekonomik bir endüstriyel yöntem olarak görülmemektedir (Greiner ve Konietzny, 2006).

- **Fermentasyon ve Ekmek Yapımı**

Fermentasyon raf ömrünün uzatılması, gıda güvenliğinin artırılması, aroma gelişimi, besinsel içeriğinin zenginleşmesi, anti-besinsel bileşenlerin uzaklaştırılması ve sağlığı desteklemesi gibi istenen karakteristiklere ulaşmak için gıdanın ve bileşenlerinin çok çeşitli mikrobiyal ve enzimatik işlemde geçmesini kapsamaktadır. Birçok tahıl, baklagil ve sebze ile çok çeşitli fermente ürünler üretilmektedir. Fermentasyonlarda kullanılan mikroorganizmalar, fermente edilen tahıl ya da baklagillerde doğal olarak bulunmakta veya starter kültür olarak özel tasarlanmaktadır. Mikroorganizma türü, kullanılan fermentasyon koşulları ve hammaddede bulunan başlangıç fitat düzeyi fitatın parçalanma derecesini önemli ölçüde etkiler. Başlıca fermentasyonda aktif rol oynayan mikroorganizmalar laktik asit bakterileri, mayalar ve küflerdir. Fitatın parçalanması ekmek yapımı sırasında üretilen ekmek türüne bağlı olarak üretimin farklı aşamalarında

gerçekleşebilmektedir. Hamurun pH değerini, endojen tahıl fitazlarının aktivitesi için daha elverişli bir seviyeye düşürmek, fermentasyon sırasında mikroorganizmaların fitat hidrolizine katkısını da sağlamaktadır (Greiner ve Konietzny, 2006). Mikrobiyal enzimlerin verimliliği, fermentasyon sırasında fitatı uzaklaştırmanın oranını ve derecesine etki eder. Birçok çalışma, fermentasyon sırasında fitat hidrolizinin, minerallerin (kalsiyum, magnezyum, bakır, çinko ve demir) biyoyararlılığını önemli ölçüde arttırdığını göstermektedir. Fitat hidrolizi, ekmek yapımının farklı aşamalarında görülebilmektedir ve ekmek türüne bağlıdır. Fitat hidrolizini önemli ölçüde etkileyen faktörlerden bazıları şunlardır:

1. Un çeşidi, ekstraksiyon oranı
2. Maya miktarı ve türü
3. Hamur pH'sı, su içeriği, fermentasyon süresi
4. Pişirme koşulları; kabarma süresi ve sıcaklık
5. Katkı maddeleri; kalsiyum ve magnezyum tuzları, sodyum bikarbonat

Mikroorganizmaların fitatı hidrolize etme kabiliyetleri yeterli düzeyde araştırılmamıştır (Reddy vd., 1989; Lopez vd., 2000). Hangi mikroorganizmanın fermente ürünlerde en etkili ve ekonomik düzeyde fitaz ürettiği henüz bilinmemektedir. Bu tür mikrobiyal fitazların moleküler düzeyde anlaşılabilmesi, fermentasyona gerek olmadan belirli bir gıdadan fitatın uzaklaştırılmasını etkileyebilecek yöntemlerin geliştirilmesine yardımcı olabilir. Tahıllar ve baklagiller tüketilmeden önce pişirildiği veya ekstrüzyon işleminde olduğu gibi farklı yüksek sıcaklıklara maruz kaldığı göz önüne alındığında 100°C veya daha yüksek sıcaklıklara dayanabilen termostabil bir enzimin tanımlanması ve geliştirilmesi bu konuda özellikle faydalı olabilir (Sathe ve Venkatachalam, 2001).

3.1 Materyal

Çalışmada kullanılan laktik asit bakterileri, İstanbul'da endüstriyel olarak faaliyet gösteren beş işletmeden alınan ekşi hamur örneğinden ve laboratuvar koşullarında üretilen iki ekşi hamur örneğinden izole edilmiştir. Maya izolatları ise TAGEM/13/Ar-GE/4 ve TUBITAK 5150003 nolu projeler kapsamında Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden alınan ekşi hamurlardan elde edilenlerden kullanılmış, bununla birlikte laboratuvarında üretilen iki ekşi hamur örneğinden de izole edilmiştir. İstanbul'dan beş işletmeden alınan ekşi hamur örnekleri ST1, ST2, ST3, ST4 ve ST5 olarak kodlanmış, laboratuvar üretimi ekşi hamurlar ise LB1 ve LB2 olarak kodlanmıştır. Projeler kapsamında toplanan örnek kodları ve toplanan bölgeler Tablo 3.1'de verilmiştir. Ekmek üretiminde kullanılan %72,57 karbonhidrat, %13,7 protein, %1,87 yağ ve %1,2 kül içeren tam buğday unu (Erişler Gıda San. ve Tic. A.Ş., İstanbul) temin edilmiştir. İyotlu tuz ve içme suyu lokal marketlerden alınmıştır.

Tablo 3.1 Ekşi hamur kodları ve toplanan bölgeler

Ekşi Hamur Kodları	Alınan Bölge	Ekşi Hamur Kodları	Alınan Bölge
SB	Safranbolu	VK-6	Ege
AK-3	Trabzon	39LM	Kırklareli
AK-4	Trabzon	39ÇM	Kırklareli
AK-5	Trabzon	37KM	Kastamonu
L-1	Trabzon	61TM	Trabzon
SP-1	Isparta	78SM	Karabük
SP-2	Isparta	78STM	Karabük
VK-1	Ege	5901	Tekirdağ
VK-3	Ege	0301	Afyon
VK-5	Ege	0302BM	Afyon

3.2 Yöntem

3.2.1 Laktik Asit Bakterileri ve Maya İzolasyonları İçin Ekşi Hamur Üretimi

Laktik asit bakterileri ve maya izolasyonu gerçekleştirmek üzere iki farklı ekşi hamur laboratuvar koşullarında üretilmiştir. Bir hamur %100 buğday unu, diğer hamur ise %75 buğday unu, %25 nohut unundan hazırlanarak elde edilmiştir. Hamur verimi 160 olacak şekilde hazırlanmış ve %80 nisbi nemde 30°C'de fermentasyona bırakılmıştır. Hamur verimi sabit tutularak üç gün süreyle hamur beslenmiştir.

3.2.2 Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Toplanan ve üretilen ekşi hamurlardan 10 g alınıp 90 mL steril peptonlu su ile homojenize edildikten sonra seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Bu dilüsyonlardan MRS agara (de Man, Rogosa and Sharpe, Merck, Almanya) ekim yapılmış ve 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Atipik olarak görünen laktik asit bakterileri tekrar aynı agara çizilerek koloniler tek koloni çizme yöntemi ile saflaştırılmıştır. İki defa bu işlem tekrar edildikten sonra saf laktik asit bakterisi izolatları MRS broth'a alınmış 37°C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra sıvı besiyerlerinden 1 mL alınarak 10.000 rpm 4°C'de santrifüj edilmiştir. Supernatantı atılıp pellet üzerine 100 µL gliserol eklenerek -80°C'de izolatlar kullanılıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.3 Maya İzolasyonu

Hazırlanan seri dilüsyonlardan yayma yöntemi kullanılarak Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agara (DRBC, Merck, Almanya) ve Saboraud Dextrose Agar'a (Merck, Almanya) ekim yapılmış ve 30°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Atipik görülen mayalar aynı agarlar üzerinde tek koloni düşürme yöntemi ile çizilerek saflaştırılmıştır. Aynı işlem iki defa gerçekleştirildikten sonra saf maya izolatları Saboraud Dextrose Borth'a (Merck, Almanya) alınmış ve 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası sıvı besiyerlerinden 1 mL alınarak 10.000 rpm 4°C'de santrifüj edilmiştir. Supernatantı atılıp pellet üzerine 100 µL gliserol eklenerek -80°C'de izolatlar kullanılıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.4 Laktik Asit Bakterilerinin ve Mayaların Katı Besiyeri Üzerinde Fitaz

Aktivitesinin Tespiti

Elde edilen suşların fitaz üretme yetenekleri fosfat kaynağı olarak sodyum fitat içeren sentetik fitaz tarama besiyerinde (Tablo 3.1) belirlenmiştir. İzole edilen maya ve LAB'ler nokta ekim yöntemiyle ekilip 30°C'de 72 saat inkübe edildikten sonra şeffaf zon oluşumu gözlenmiştir. Şeffaf zon oluşumu görülen suşlar fitaz pozitif olarak, zon oluşturmayan suşlar da fitaz negatif olarak değerlendirilmiştir. İnkübasyondan sonra oluşan şeffaf zonun çapı ölçülerek fitaz aktivitesi kalitatif olarak belirlenmiştir. Kolonilerin etrafında oluşan zonların fitaz üretiminden mi yoksa mikrobiyal asit üretiminden mi olduğunun anlaşılması için besiyerinin yüzeyi saf su ile yıkanarak kolonilerin besiyerinden ayrılması sağlanmıştır. Daha sonra petri kutusuna %2'lik kobalt klorür çözeltisi eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda çözelti dökülerek yerine taze hazırlanmış eşit hacimde %6,25'lik amonyum molibdat çözeltisi ve %0,42'lik amonyum vanadat çözeltisi karışımı eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra çözelti dökülmüş ve şeffaf zonun varlığı incelenmiştir (Bae vd., 1999).

Tablo 3.2 Sentetik fitaz tarama besiyeri

Besiyeri Bileşimi	g/L
D-glikoz	20
Sodyum fitat	4
Kalsiyum klorür	2
Amonyum nitrat	5
Potasyum klorür	0,5
Magnezyum sülfat	0,5
Demir sülfat	0,01
Mangan sülfat	0,01
Agar	15

3.2.5 Ekstraselüler Fitaz Aktivitesi Tayini

Sentetik fitaz tarama katı besiyerinde zon oluşumu belirlenmiş maya izolatları Sabouraud dextrose broth'ta (Merck, Almanya) 30°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra %0,1 sodyum fitat (Sigma, ABD) içeren Sabouraud dextrose broth'a %2 oranında transfer edilerek 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sentetik fitaz

tarama katı besiyerinde zon oluşumu belirlenmiş LAB izolatları ise MRS broth'ta 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra %0,1 Sodyum fitat ve % 0,2 glikoz eklenen MRS borth'a %2 oranında inoküle edilmiş ve 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra besiyerleri 4°C ve 9.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatanttan 250 µL alınarak 250 µL reaksiyon substratıyla (0,1 mol/L sodyum asetat-asetik asit çözeltisi içerisinde (2 mmol/L Na-fitat) karıştırılarak 50°C'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyonu durdurmak için karışıma 500 µL 10% (w/v) trikloroasetik asit (TCA) eklenmiştir. Hazırlanan örnekler 1 mL taze hazırlanan renklendirme çözeltisiyle karıştırılarak 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Renklendirme çözeltisi; %5,5'lik (v/v) sülfürik asit çözeltisi içerisinde %2,5'lük amonyum molibdat içeren çözeltiden 4 hacim, 2,5% (w/v) demir sülfat içeren çözeltiden 1 hacim karıştırılarak elde edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra örneklerin absorbanı 700 nm'de spektrofotometrede ölçülmüştür (Raghavendra ve Halami, 2009). Fitaz aktivitesi, farklı konsantrasyonlarda fosfor kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.6 Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması

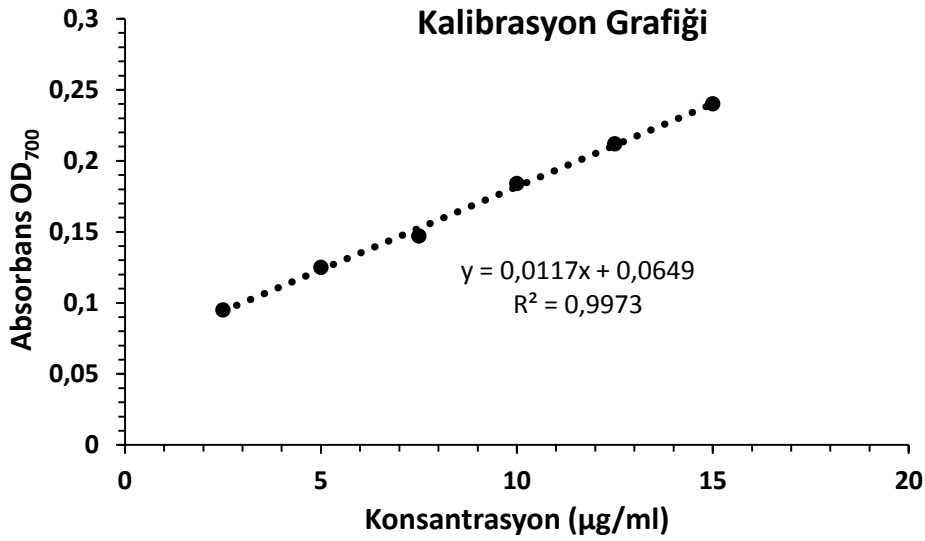
Kalibrasyon grafiğinin hazırlanması için stok çözeltiler Tablo 3.2'deki miktarlara göre hazırlanmıştır. 1 mL örnek çözeltiler üzerine 1,5 mL yukarıda belirtilen renklendirme çözeltisinden eklenmiştir. Elde edilen karışım, spektrofotometrede 700 nm absorbansta ölçülmüştür.

Tablo 3.3 Kalibrasyon eğrisi için hazırlanan stok çözeltiler

	Kör	Örnek 1	Örnek 2	Örnek 3	Örnek 4	Örnek 5	Örnek 6
Saf su (mL)	5	4,75	4,5	4,25	4	3,75	3,5
Stok çözelti (mL)	0	0,25	0,50	0,75	1	1,25	1,5
Hazırlanan çözelti derişimi (µg/mL)		2,5	5	7,5	10	12,5	15

Fosfor konsantrasyonuna (µg/mL) karşı okunan absorban değerleriyle kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Tablo 3.2, kalibrasyon eğrisi için hazırlanan

stok çözelti bileşimi ve seviyelerini göstermektedir. Hazırlanan bu çözeltiler ile Şekil 3.1'de verilmiş olan kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur.



Şekil 3.1 Kalibrasyon grafiği

3.2.7 Fitaz Aktivitesi Gösteren LAB ve Mayaların FT-IR ile Tanımlanması

Ekşi hamur örneklerinden elde edilen maya izolatları Sabaroud Dekstroz Agar (SDA, Merck, Almanya)'da geliştirildikten sonra YGC agara (Merck, Almanya) ekilmiş ve 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. LAB izolatları ise MRS agar'da geliştirildikten sonra All Purpose Tween agar (APT, Merck, Almanya)'da anaerobik olarak 34°C 24 saat inkübe edilmiştir.

Gelişen kolonilerden bir öze dolusu alınarak 100 µL steril saf su içerisinde çözüldürülmüştür. Kızılötesi geçirgen ZnSe taşıyıcısına (çapı 25 mm) çözüldürülen koloninin 25 µL 'si yerleştirilerek 40°C de 45 dk kurutulmuştur. Süre sonunda FT-IR Spektrofotometre cihazında 4000 – 500 cm⁻¹ dalgaboyu aralığında kolonilerin spektrum okuması yapılmıştır. FT-IR spektrumları, HTS-XT mikropilaka okuyucu modüle sahip FTIR spektrometresi (Bruker Tensor 27, Almanya) (Şekil 3.2) kullanılarak elde edilmiştir.

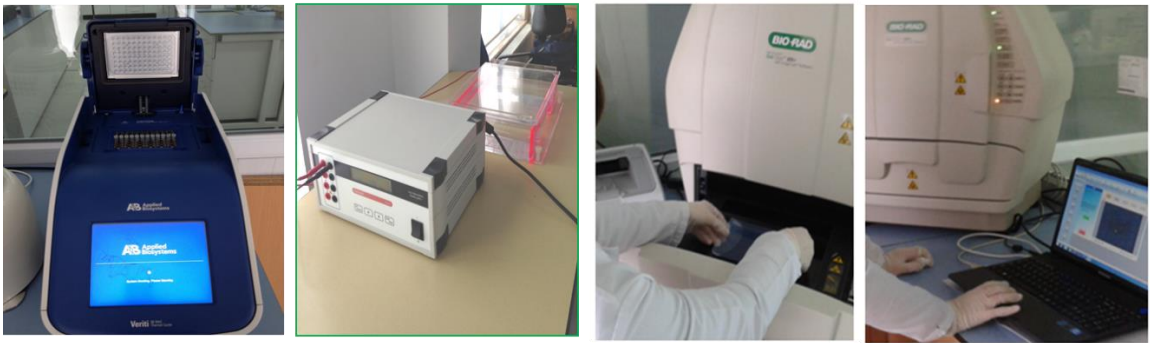
3.2.8 16S rDNA ve 26S rDNA Gen Analizi

İzolatların DNA Ekstraksiyonu için GF-1 nükelik asit ekstraksiyon kiti (Vivantis, Malezya) kullanılmıştır. Ekstraksiyon üretici firmanın protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. Mayalarda NL1, 5'-GCC ATA TCA ATA AGC GGA GGA AAA G-3'



Şekil 3.2 FT-IR spektrofotometre cihazı

ve LS2, 5P-ATT CCC AAA CAA CTC GAC TC-3P primerleri kullanılmıştır (Cocolin vd., 2000). Döngü; 95°C 5 dk, 95°C 60 sn, 52°C de 45sn, 72°C 60sn, 72°C 7 dak koşullarında 30 döngü olarak gerçekleştirilmiştir. Laktik asit bakterilerinde ise PEU7 (5'-GCA AAC AGG ATT AGA TAC CC-3'), DG74 (5'-AGG AGG TGA TCC AAC CGC A-3') çifti kullanılmıştır (Durak vd., 2006). 95°C 5 dk, 94°C 15 sn, 52°C de 30sn, 72°C 2d, 72°C 5 dk (30 döngü) koşulları uygulanmıştır. PCR cihazı (Applied Biosystems, Verity, ABD) PCR ürününe %1 lik jelde 120 V'ta 1,5 saat elektorofrez işlemi uygulandıktan sonra görüntü alınmıştır (GelDoc-XR, Bio-Rad, Fransa) (Şekil 3.3). Jel görüntüsü alınan örneklerin DNA'ları saflaştırılarak sekans analizine yollanmıştır. Dizi analizi sonuçları, BLAST (Basic Local Alingment Search Tool) programı kullanılarak veritabanları ile karşılaştırılmış ve tarama sonucunda dizinin hangi mikroorganizmaya ait olduğu benzerlik yüzdesiyle belirlenmiştir. Filogenetik ağaçların oluşturulmasında MegAlign programı kullanılmış, Neighbor-Joining metodunda bootstrap değeri 2.000 replikasyon olarak alınmıştır.



Şekil 3.3 PCR analiz aşamaları
(Sırasıyla amplifikasyon, elektorofrez ve görüntü alma işlemleri)

3.2.9 Ekşi Hamur Üretimi

En yüksek fitaz aktivitesi gösteren HEB33 kodlu *Lactobacillus brevis* ve ELB78 kodlu *Lactobacillus plantarum* ile TGM38 kodlu *Saccharomyces cerevisiae* suşları ekşi hamur üretiminde kullanılmıştır. Üç hamurda da TGM38 *Saccharomyces cerevisiae* kullanılmış, bir hamurda HEB33 *Lactobacillus brevis*, bir hamurda ELB78 *Lactobacillus plantarum*, bir hamurda da ikisinin karışımı şeklinde kombinasyon oluşturulmuştur. Bunun yanında hiçbir suş kullanılmadan spontan ekşi hamur üretimi gerçekleştirilerek izole edilen suşlarla yapılan hamurlarla karşılaştırılmıştır. Buna göre -80°C'de stoklanan suşlar öncelikle katı besiyerinde (SDA ve MRS agar) çizme yöntemi ile 24 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 +4°C'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 100 g tam buğday unu +120 g saf su karışımı içerisine alınmıştır. Her bir kombinasyonla üretilen ekşi hamur örnekleri 25°C, 30°C ve 35°C sıcaklıklarda %80 nisbi nemde 20 saat fermentasyona tabi tutulmuştur. Spontan fermentasyonda ise 100 g tam buğday unu, 120 g saf su ile homojen karışım yapılarak 25°C, 30°C ve 35°C sıcaklıklarda %80 nisbi nemde 24 saat fermentasyona bırakılmıştır. Bu hamurdan 110 g alınarak 50 g un, 60 mL su ile karıştırılarak 24 saat süre ile yeniden fermente edilmiştir.

3.2.10 Ekmek Üretimi

Hammadde olarak tam buğday unu, saf su, tuz ve hem kültürler ile hazırlanan hem de spontan fermentasyona tabi tutulan ekşi hamur örnekleri kullanılmıştır. Farinograf analizi ile tespit edilen su (un miktarı üzerinden, %60,3), tuz (un miktarı üzerinden %1,5), un ve ekşi hamur yoğurucu haznesine ilave edilmiştir. Ön karıştırma (1 dk), yoğurma (5 dk), 20 dk ön fermentasyon, 3 saat ana fermentasyon, (30°C, %80 nispi nem) ve alt sıcaklık 195°C ve üst sıcaklık 190°C olacak şekilde pişirme aşamaları uygulanmıştır. Ekşi hamurlar ekmek hamuru ağırlığı üzerinden %30 olacak şekilde hamura ilave edilmiştir.

3.2.11 Ekşi Hamurda pH Gelişimi ve Titrasyon Asitliği

10 g ekşi hamur örneği 90 mL saf su ile manyetik karıştırıcı kullanılarak homojenize edilmiştir. Ekşi hamurun pH'ı pH metre (Hanna, Almanya) kullanılarak ölçülmüştür. Titrasyon asitliği ise 0,1 N NaOH kullanılarak pH 8,5'e kadar titre edilerek belirlenmiştir. Sonuçlar sarfiyat (mL) cinsinden verilmiştir.

3.2.12 Ekşi Hamurda LAB ve Maya Sayımı

Maya ve laktik asit bakterilerinin (LAB) sayımı için, 10 g hamur 90 mL steril pepton suyu (1 g/L) ile homojenize edilmiştir. Maya ve LAB'in sırasıyla SDA (Merck, Almanya) ve MRS agar (Merck, Almanya) besiyerleri kullanılarak ekimleri yapılmış mayalar için 30°C'de LAB için ise 37°C'de inkübasyon yapılmıştır. 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.

3.2.13 Ekmek Hamurunun Reolojik Ölçümleri

Hamur numunelerinin dinamik reolojik ölçümleri stres ve sıcaklık kontrollü rotasyonel reometre (Antonpaar MCR 302, Avusturya) ile gerçekleştirilmiştir. Öncelikle lineer viskoelastik bölgenin belirlenmesi için amplitude sweep test yapılmış ve %0,1 olarak bulunmuştur. Freqans sweep test 25°C'de 0,628 ile 62,8 rad/s arasında gerçekleştirilmiş elastik modül (G'), viskoz modül (G'') ve kompleks modül (G*) belirlenmiştir.

3.2.14 Spesifik Hacim Analizi

Üretilen ekmekler oda sıcaklığına geldikten sonra ağırlık (g) ölçümleri yapılmış ve kolza tohumu ile yer değiştirme esasına dayandırılarak hacim (mL) değerleri belirlenmiştir. Elde edilen hacim değerlerinin ağırlığa oranlanmasıyla spesifik hacim (mL/g) değerleri bulunmuştur.

3.2.15 Renk Ölçümü

Ekmek iç ve dış rengi, Hunter L, a ve b renk değerleri, renk tayin cihazı (CR-400 Konica Minolta, 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.

3.2.16 Tekstür Profil Analizi

Ekmek örneklerinin tekstürel özelliklerinin belirlenmesinde (TPA) 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 tutulmuştur. Sertlik, esneklik, yapışkanlık, sakızimsılık, çiğnenebilirlik, elastikiyet özellikleri saptanmıştır.

3.2.17 Duyusal Analiz

Tam buğday ekmeklerinin kabuk dış rengi, iç renk, tat ve aroma, yabancı tat ve koku, gözenek yapısı, tekstür, çiğnenebilirlik ve genel durum kriterlerine göre duyu analizi yapılmıştır. Ekşi hamur ekmeği hakkında fikri olan 12 panelist seçilmiş ve duyu özelliklerinin belirlenmesinde 1 (Aşırı kötü) – 7 (Mükemmel) arasında değerlendirme yapılması istenmiştir.

3.2.18 Ekmek Örneklerinde Fitik Asit Tayini

Ekmek örneklerinin fitik asit oranları high-performance liquid chromatography (HPLC) ile belirlenmiştir. HPLC ve mineral analizi öncesi ekmek örnekleri dondurularak kurutulmuş ve öğütülmüştür. Bu örneklerden 40 mg alınarak 24 saat 0,4 M, 1,6mL HCl ile ekstrakte edilmiş ve 5.000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir (Nielsen vd., 2007). Elde edilen supernatant 0,45 µm'lik filtreden geçirilerek HPLC sistemine enjekte edilmiştir. HPLC sisteminde PDA detektörü ve 4,6 x 250 mm çapı ve uzunluğundaki C18 kolonu (SunFire, Waters, ABD) kullanılmıştır. Analiz akış hızı 1 mL/dk, kolon sıcaklığı 40°C'de gerçekleştirilmiş ve mobil faz kullanılmıştır. Fitik asit 195nm'de belirlenmiştir.

3.2.19 Mineral Madde Analizi

Dondurularak kurutulup öğütülmüş ekmek örneklerinin mineral içeriği (Zn, Fe, Mg, Ca and K) Shimadzu ICPE-9000 Plasma Atomic Emission Spectrometer cihazıyla belirlenmiştir. Her örnek 0,5 g teflon kaplara tartılmış ve üzerine 7 mL %65'lik HNO₃ ve 1 mL %35 (v/v)'lik H₂O₂ eklenmiştir. Mikrodalga fırında (Milestone SK10,

Avusturya) yakma işlemi yapıldıktan sonra çözelti 0,45 µm'lik filtreden geçirilerek sisteme verilmiştir.

3.2.20 Real Time PCR ile Bazı Mayaların Gen Ekspresyonunun İncelenmesi

• Primer Tasarımı

PHO3 (Fitaz geni) geninin ekspresyonunun Real Time PCR'da (BioRad, CFX96, Fransa) analizi için *PHO3* genine özgü primer tasarımı Primer3 Input (version 0.4.0) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. *ACT1* geninin primer dizilimi Balaban vd. (2016)'nin yaptığı çalışmadan alınmıştır. Çalışmada kullanılan primerlerin dizileri Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.4 Real Time PCR'da kullanılan primerler

Gen Adı	İleri Primer Dizisi (5'→3')	Geri Primer Dizisi (5'→3')
<i>ACT1</i> (Kontrol)	CTT TCA ACG TTC CAG CCT TC	TCA CCG GAA TCC AAA ACA AT
<i>PHO3</i>	GGT CCT GGC CGT ATG AGT AA	ATT TTC GCC GCT AGT TCT GA

• RNA İzolasyonu

Belirtilen suşlar Sabouraud Dextrose Agar'da 30°C'de 48 saat inkübe edilerek aktiveledikten sonra Sabouraud Dextrose Broth'a alınmış ve 30°C'de 12 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübe edilen örneklerden 2 mL alınarak RNase (Sigma) solusyonu ve ddH₂O ile yıkanmış havana alınmıştır. Örneklerin üzerine sıvı azot eklenerek havaneli ile dövülmüştür. Üzerine 1 mL Trizol eklendikten sonra tekrar sıvı azot ile örnek muamele edilmiştir. Elde edilen numuneler 2 mL'lik eppendorf tüplere alınmış 10 dk, 12.000 rpm 4°C'de santrifüj edilmiştir. 1 mL supernatant alınarak üzerine 200 µL kloroform eklenmiş ve tekrar 10 dk 12.000 rpm 4°C'de santrifüj edilmiştir. Supernatant alınarak üzerine 500 µL isopropanol eklenmiş ve 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Tekrar 10 dk 12.000 rpm 4°C'de santrifüj edildikten sonra süpernatant atılmıştır. Kalan fazın üzerine 1000 µL %75'lik etil alkol eklenmiş ve 5 dk 7.500 g'de santrifüj edilmiştir. Supernatant tekrar döküldükten sonra kalan fazın kuruması için 50°C'lik su banyosunda bekletilmiştir. Kuruyan numunelerin üzerine 100 µL RNA free sudan eklenerek 50 °C'de 10 dk bekletilmiştir. Elde edilen toplam

RNA -80°C'de saklanmıştır. Toplam RNA konsantrasyonları ve saflık dereceleri spektrofotometrede (Shimadzu Bio Spec-nano, Japonya) A260 nm'de ölçülmüştür (Wang vd., 2006).

- **c-DNA Sentezi**

Toplam RNA'lardan cDNA sentezi, kit (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak üretici talimatına göre gerçekleştirilmiştir. Daha önce ölçülmüş olan total-RNA konsantrasyon değerleri kullanılarak, cDNA sentezi öncesinde her bir örneğin RNA konsantrasyonu 1 µg/µL'ye eşitlenmiştir. c-DNA sentezi sonrasında tekrar konsantrasyonlar spektrofotometrede ölçülmüştür.

- **Real Time Koşulları**

PHO3 geninin ekspresyonu Real Time cihazı (BioRad, CFX96, Fransa) ile SYBR Green QPCR Master Mix (Agilent Technologies, ABD) kiti kullanılarak belirlenmiştir. Kontrol geni (housekeeping gene) olarak, maya çalışmalarında sıklıkla tercih edilen, beta-aktin (β -actin, *ACT1*) geni kullanılmıştır.

PHO3 geni için; 95°C 10 dk'da ön inkübasyon yapıldıktan sonra 45 döngü olarak 95°C'de 10 s, 57°C 30 s, 72°C 20 s amplifikasyon işlemi uygulanmıştır. Erime eğrisi ise sıcaklık 65°C'den 95°C'ye çıkarılarak elde edilmiştir.

ACT1 geni için; 95°C 10 dk'da ön inkübasyon yapıldıktan sonra 45 döngü olarak 95°C'de 10 s, 56°C 18 s, 72°C 30 s amplifikasyon işlemi uygulanmıştır. Erime eğrisi ise sıcaklık 65°C'den 95°C'ye çıkarılarak elde edilmiştir.

Her örnek için reaksiyon üç tekrarlı olarak yapılmıştır. Ekspresiyon düzeyi karşılaştırmalı eşik döngüsü (Ct) metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fitaz aktivitesi tespit edilmeyen ticari *Saccharomyces cerevisiae* suşu kontrol olarak seçilmiştir.

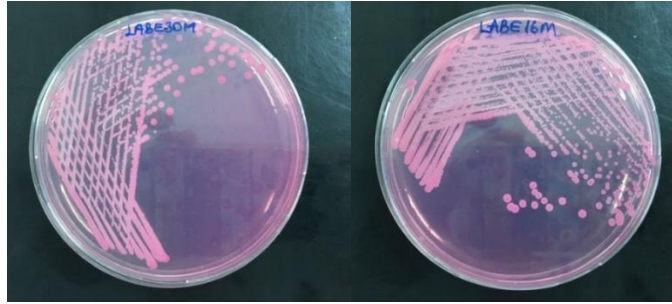
- **İstatistiksel Analiz**

Elde edilen verilerin analizi ve değerlendirilmesi için JMP6 paket programı kullanılmıştır. Değerlendirilen parametrelere iki faktör varyans analizi uygulanmış ve gruplar arasındaki farklılıklar $\alpha=0,05$ manidarlık düzeyinde belirlenmiştir.

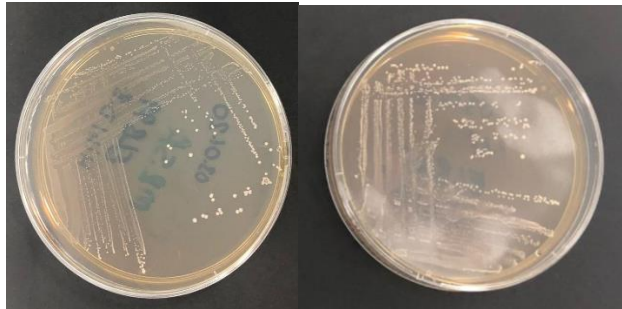
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Ekşi Hamurlardan İzole Edilen LAB ve Mayalar

Endüstriyel olarak faaliyet gösteren işletmelerden ve laboratuvar koşullarında üretilen ekşi hamur örneklerinden ekim yapılmış, uygun dilüsyonlardan morfolojik farklılık görülenlerden seçim yapılarak LAB ve maya izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Seçilen kolonilerden stok kültürler hazırlanarak -80°C'de analize kadar muhafaza edilmiştir. Bu hamurlardan fitaz aktiviteleri belirlenmek üzere toplamda doksan üç LAB izolatu, yirmi yedi maya izolatu elde edilmiştir. Bununla birlikte elli altı maya izolatu TAGEM/13/Ar-GE/4 ve TUBITAK 5150003 nolu projeler kapsamında Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan ekşi hamurlardan elde edilen mayalar kullanılmıştır. Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de saflaştırılan LAB ve maya izolat örneklerinin koloni görüntüleri verilmiştir. Ekşi hamur örneklerinden izole edilen LAB ve mayaların tanımlama sonuçları bölüm 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.1 Saflaştırılan maya izolat örnekleri



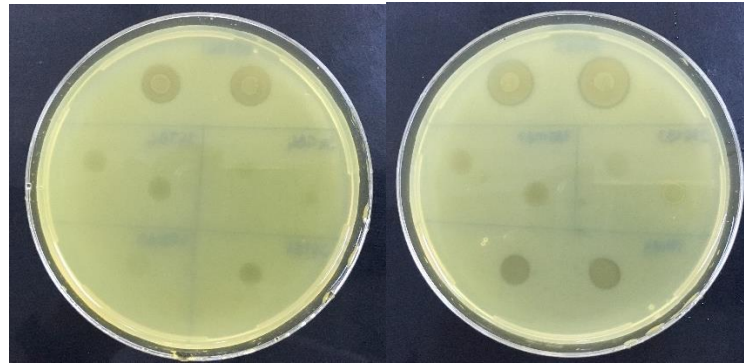
Şekil 4.2 Saflaştırılan LAB izolat örnekleri

4.2 Laktik Asit Bakterilerinin ve Mayaların Katı Besiyeri Üzerinde Fitaz Aktiviteleri

İzole edilen laktik asit ve mayaların fitaz aktivitesine sahip olduğunu belirlemek amacıyla Na-fitatlı besiyerine nokta ekim yapılmış ve zon oluşturması gözlenmiştir (Şekil 4.3). Oluşan zonların fitaz aktivitesinden ya da asit üretiminden kaynaklandığını belirlemek amacıyla yıkama yapılmıştır. Bunun için zon içeren bütün besiyerleri, üzerindeki bakteri ya da maya kolonisi saf su içeren piset yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra %2'lik kobalt klorit çözeltisi ve eşit hacimde hazırlanmış %6,25'lik amonyum molibdat ve %0,42'lik amonyum vanadat çözeltileriyle muamele edilmiştir. Yıkama sonrasında zonun kaybolup kaybolmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.4). Zon oluşumunun yıkama sonrasında kaybolmadığı örnekler doğrudan fitaz pozitif LAB ya da maya olarak değerlendirilmiştir. Bu kapsamda 93 laktik asit bakterisi ve 83 maya izolatının fitaz aktivite taramaları yapılmıştır. İncelenen laktik asit bakterilerinden 64 tanesinin, mayalardan ise 58 tanesinin fitaz pozitif olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.3 Fitaz tarama besiyerinde zon oluşturan izolat örnekleri



Şekil 4.4 Fitaz tarama besiyerinde yıkama sonrası stabil kalan zon örnekleri

4.3 Laktik Asit Bakterileri ve Maya İzolatlarının Spektrofotometrik Ekstraselüler Fitaz Aktiviteleri

Katı besiyerinde fitaz pozitif olarak belirlenen LAB ve maya izolatlarının spektrofotometrik ekstraselüler fitaz aktiviteleri belirlenmiştir. LAB ve maya izolatlarına ait ekstraselüler fitaz aktiviteleri sırasıyla Şekil 4.5'te ve Şekil 4.6'da verilmiştir. LAB izolatlarının aktiviteleri 711,97 – 803,95 U/mL aralığında değişirken, en yüksek aktiviteyi HEB33 kodlu *Lactobacillus brevis* izolatı (803,95 U/mL) göstermiştir. *Lactobacillus brevis* HEB33'ü, 797,88 U/mL ile ELB78 kodlu *Lactobacillus plantarum* takip etmiştir. Bu iki suş sonrasında ekşi hamur üretiminde starter olarak kullanılmıştır. Mayalarda ise ekstraselüler fitaz aktivitesi 582,12 – 90,58 U/mL aralığında değişmiş, en yüksek aktiviteyi TGM 38 kodlu *Saccharomyces cerevisiae* izolatı göstermiştir. LAB izolatları maya izolatlarına göre belirgin olarak daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Nuobariene vd. (2015) ekşi hamurdan laktik asit bakterisi izole etmişler ve fitaz aktif izolatları tanımlamışlardır. *Lactobacillus panis*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus fermentum* ve *Pediococcus pentosaceus* türlerini fitaz aktif olarak belirlemişler, *Lb. panis*'i 140 U/mL ile en yüksek aktivite gösteren izolat olduğunu belirtmişlerdir. Sumengen vd. (2013) şalgamdan izole ettikleri laktik asit bakterilerinin ekstraselüler fitaz aktivitelerini incelemiş ve en yüksek aktivitenin 984,50 U/mL ile *Lactobacillus plantarum*'da olduğunu belirtmişlerdir. Raghavendra ve Halami (2009) farklı kaynaklardan izole ettiği LAB'lerin aktivitelerini incelemiş ve en yüksek aktivitenin *Pediococcus pentosaceus*'ta olduğunu bulmuşlardır. Nuobariene vd. (2012)'nin yaptığı bir başka çalışmada ekşi hamurdan izole ettikleri mayaların ekstraselüler fitaz aktivitelerini incelemişler ve en yüksek aktiviteyi *S. cerevisiae*'da bulmakla beraber *Candida humilis* ve *Pichia kudriavzevii*'nin de yüksek aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Caputo vd. (2015) ekşi hamurlardan 60 maya izolatı elde etmişler ve en yüksek ekstraselüler fitaz aktivitesini *Kluyveromyces exigua* ve *Saccharomyces bayanus*'da olduğunu belirlemişlerdir.

Demirbas vd. (2017) ve Turk (2000) ekstraselüler fitaz aktivitesinin suşa bağlı olarak değiştiğini bildirmiştir. Bu çalışmada da benzer şekilde türden ziyade suş farklılıklarına bağlı olarak aktivitenin değiştiği görülmüştür.

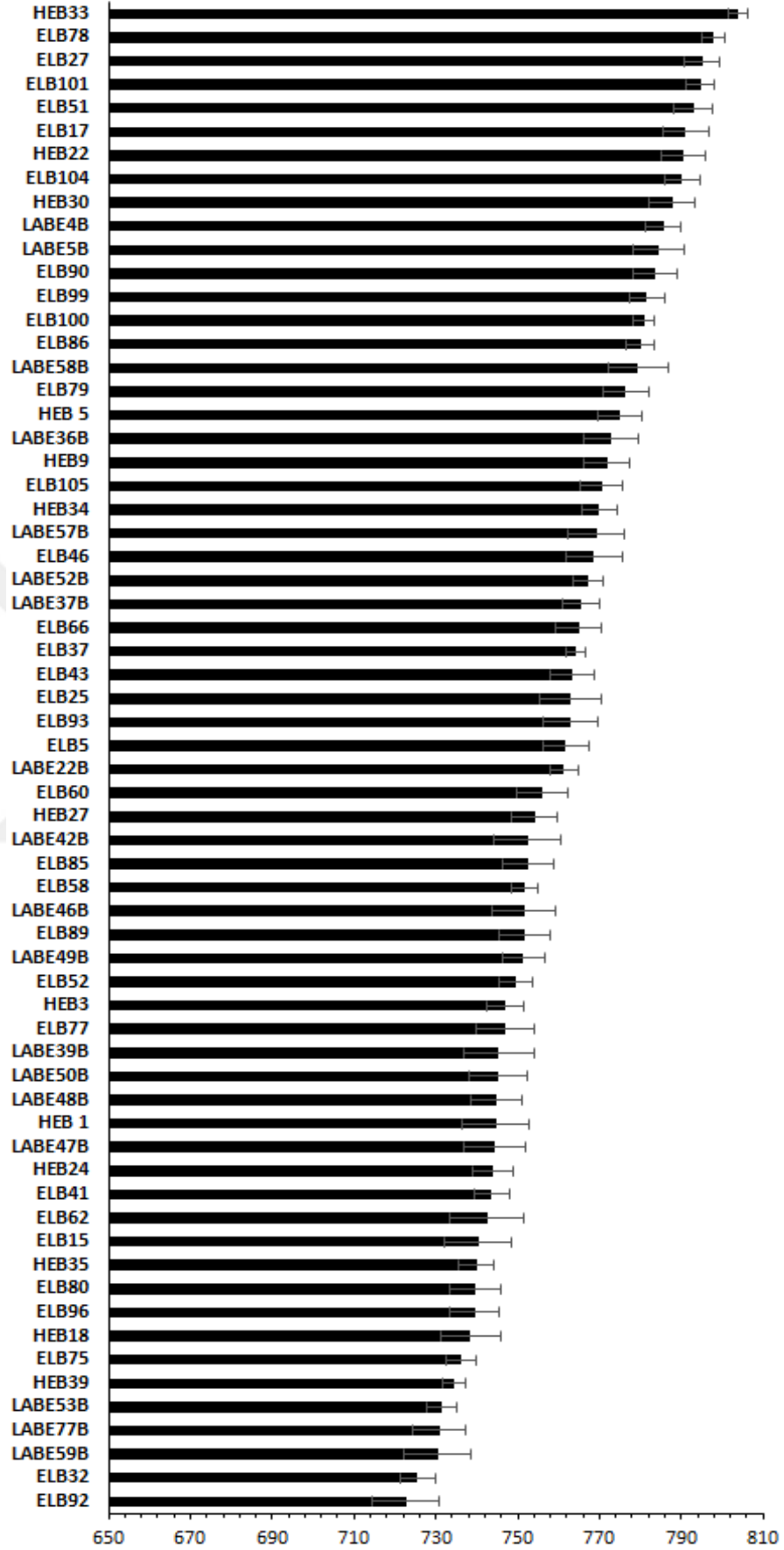
İzolatlar, alındığı ekşi hamur örnekleri üzerinden değerlendirildiğinde en yüksek fitaz aktivitesine sahip laktik asit bakterileri olan HEB33, ST1 kodlu, ELB78 ise ST3 kodlu İstanbul'dan alınan hamurdan izole edildiği görülmüştür. Maya izolatlarında en yüksek fitaz aktivitesine sahip olan TGM38, AK-4 kodlu Trabzon'dan alınan ekşi hamur örneğinden izole edilmiştir. Yüksek fitaz aktivitesine sahip 39LM3, 39LM6, 39LM4 izolatları 39LM kodlu Kırklareli'nden alınan hamurdan elde edilmiştir. Bununla birlikte maya izolatlarında düşük aktivite gösteren LABE kodlu izolatlar laboratuvarında üretilen hamurdan (LB1) alınan izolatlar olduğu görülmüştür.

Lactobacillus brevis HEB33 en yüksek aktiviteyi (803,95 U/mL) gösterirken ELB32 kodlu *L. brevis* suşu LAB'ler arasında düşük aktivite (725,58 U/mL) göstermiştir.

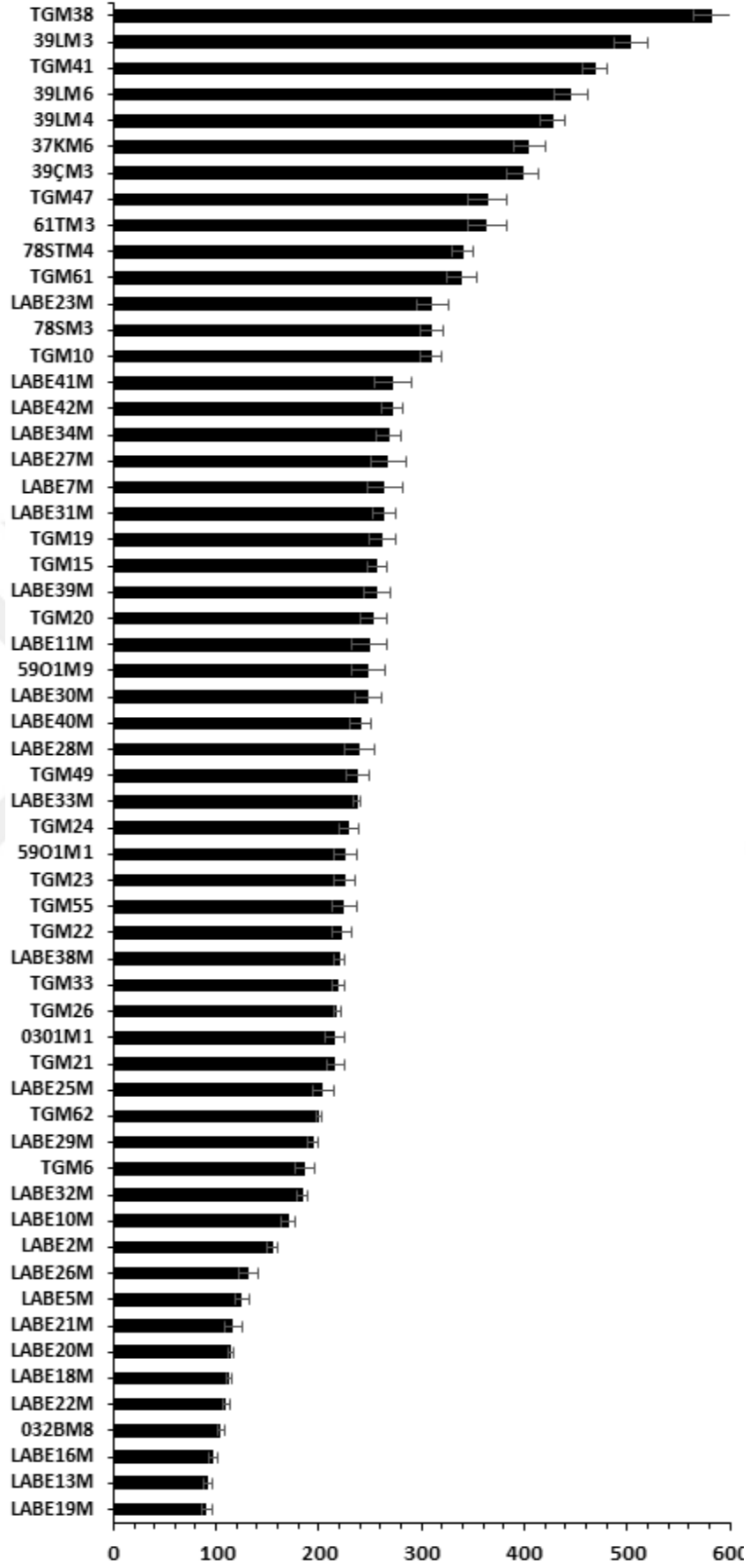
Benzer olarak ELB78 kodlu *Lactobacillus plantarum* 797,88 U/mL ile yüksek aktiviteye sahipken ELB75 kodlu *L. plantarum* 736,25 U/mL ile diğer LAB'lerle karşılaştırıldığında düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Mayalar için de aynı durum gözlenmiştir. TGM 38 kodlu *Saccharomyces cerevisiae* mayalar arasında en yüksek aktiviteye (582,12 U/mL) sahipken, LABE19M kodlu *S. cerevisiae* ise en düşük aktiviteyi (90,58 U/mL) göstermiştir.

4.4 İzolatların Fourier Transform Infrared Spektroskopisi ile Tanımlanması

Mikroorganizmaların hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanabilmesi yönünden bir vibrasyonel teknik olan Fourier Transform Infrared Spektroskopisi (FT-IR), değerli ve yararlı bir hale gelmiştir. Bu teknik kullanılarak pahalı reaktiflerin veya kimyasalların kullanımı gereksizdir ekonomik bir şekilde, hızlı ve yüksek doğrulukta sonuçlar elde etmek mümkündür. İnfrared spektroskopisinde temel prensip olarak IR radyasyonu, incelenen hücrenin komponentleri tarafından absorplanır ve hücrenin tüm kimyasal yapısını yansıtan, parmak izi niteliğindeki bir spektrum elde edilir. Diğer teknikler ile kıyaslandığında, gerçekleştirilen tanımlamanın çeşitli faktörler ile sınırlı olmadığı görülmektedir. Elde edilen bir infrared spektrumu çok fazla miktarda bilgi içermektedir. Dolayısıyla, farklı türdeki tanımlama problemlerinin çözülmesi yönünden avantaj sağlamaktadır (Wenning ve Scherer, 2013).



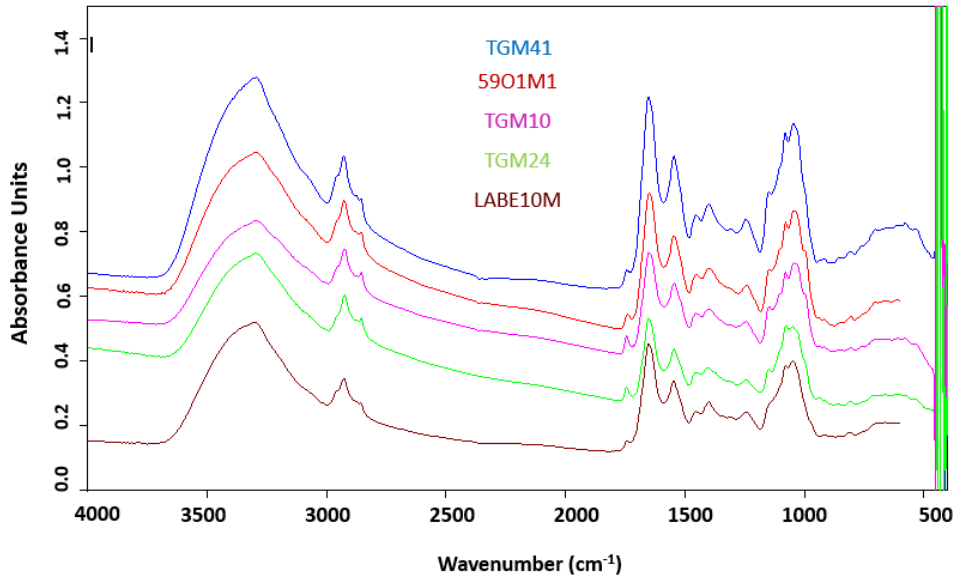
Şekil 4.5 LAB izolatlarına ait ekstraselüler fitaz aktiviteleri (U/mL)



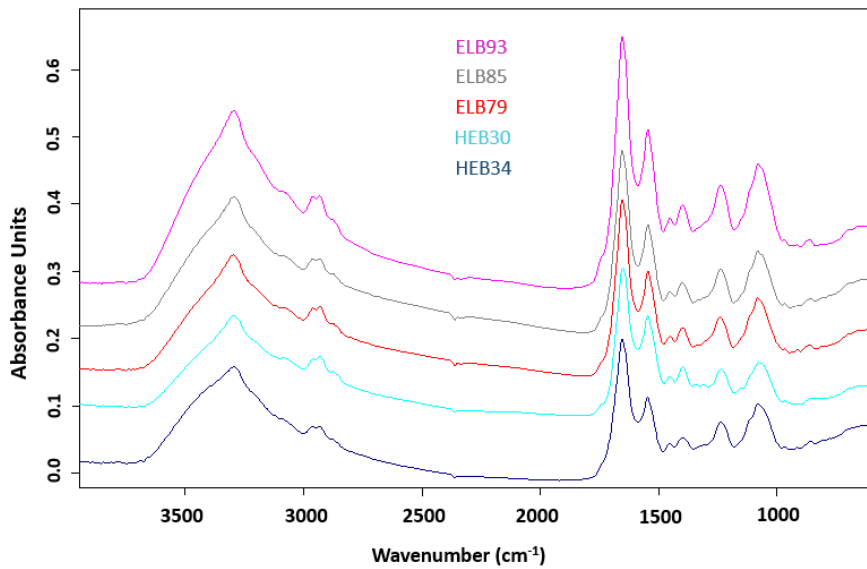
Şekil 4.6 Maya izolatlarına ait ekstraselüler fitaz aktiviteleri (U/mL)

Tüm FTIR spektrumları, mikroplaka okuyucu module sahip HTS-XT modülüne sahip FTIR spektrometresi kullanılarak elde edilmiştir. Numunelerin IR ışığını geçiren, ZnSe yüzey üzerine yerleştirilmesiyle ölçümler gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerde infrared spektrumunun 4000 cm^{-1} ve 500 cm^{-1} aralığındaki verilerden yararlanılmıştır. Spektral çözünürlük, 4 cm^{-1} değerindedir. Her bir infrared spektrumu, 40 taramanın ortalaması alınarak elde edilmiştir.

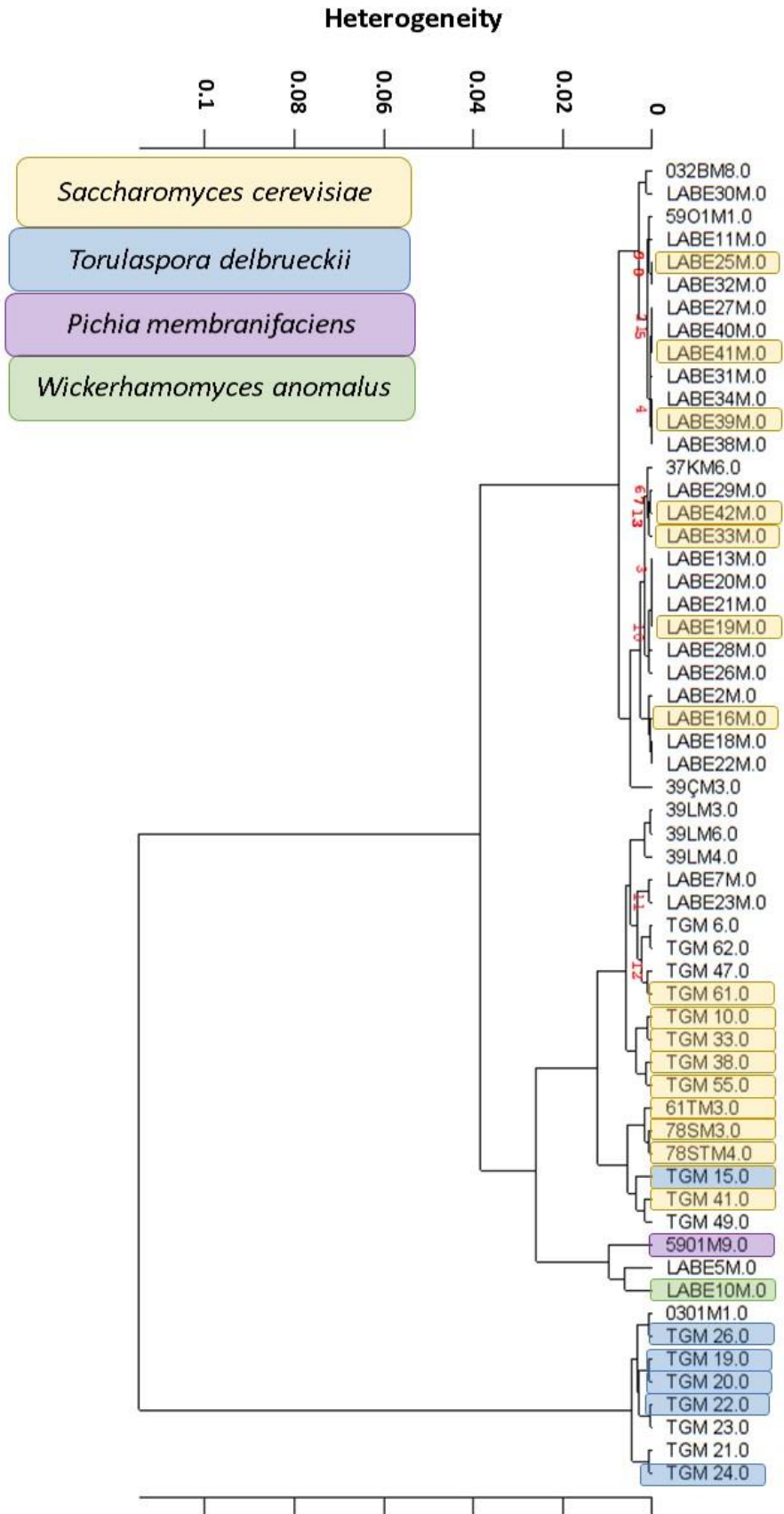
Ekşi hamur örneklerinden elde edilen bazı maya ve LAB izolatlarının FTIR spektrumları Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de gösterilmiştir.



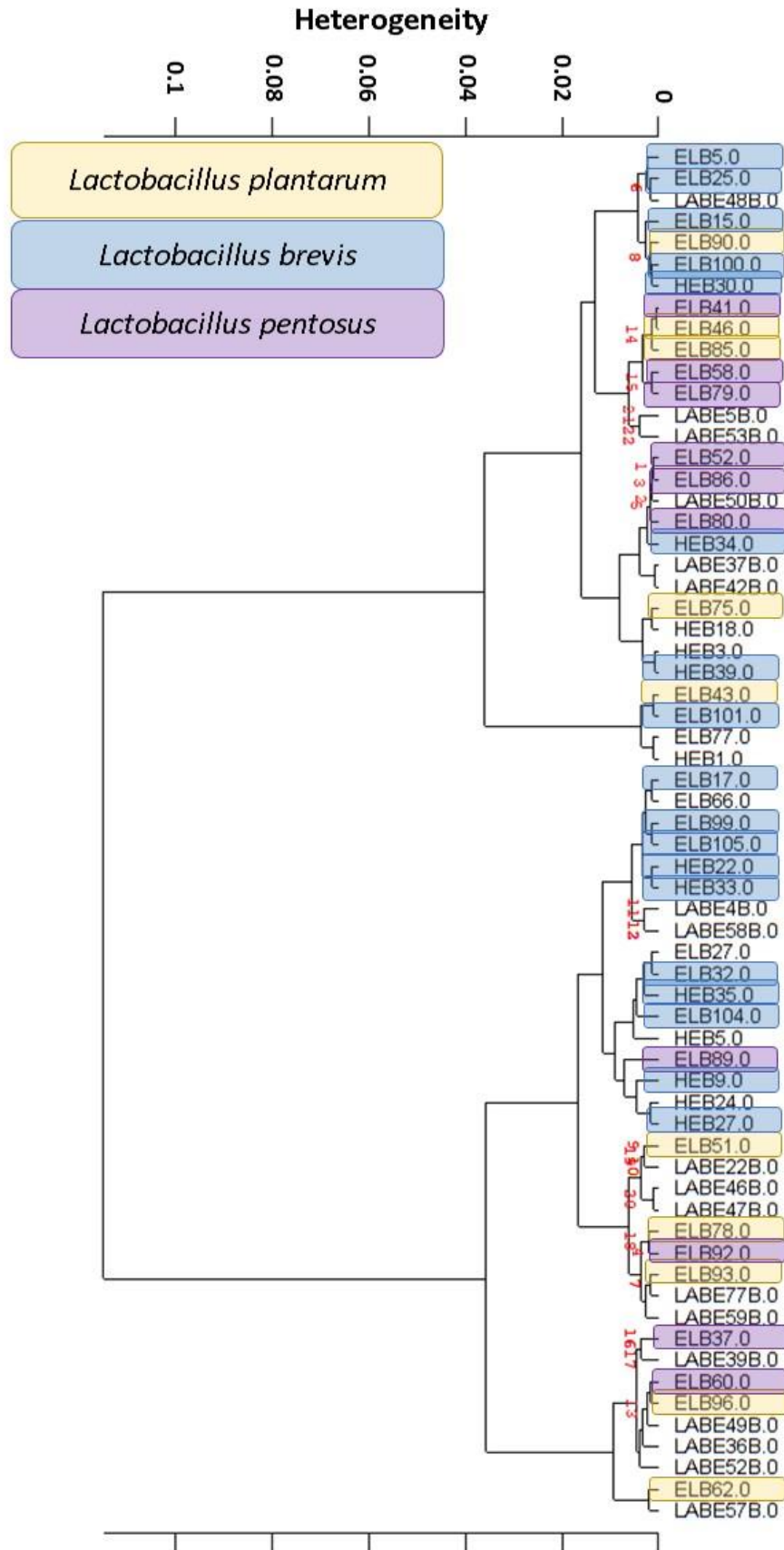
Şekil 4.7 Bazı maya izolatlarının FTIR spektrumları



Şekil 4.8 Bazı LAB izolatlarının FTIR spektrumları



Şekil 4.9 Maya izolatlarının FT-IR ile yapılan sınıflandırma analizi



Şekil 4.10 LAB izolatlarının FT-IR ile yapılan sınıflandırma analizi

Çalışma kapsamında elde edilen spektrumlara hiyerarşik kümeleme analizi yapılmıştır. Bu kapsamda LAB'lerin sınıflandırma işlemi, spektrumun üç farklı bölgesi seçilerek yapılmıştır. 1500–1200 cm^{-1} protein, yağ ve fosfat bileşenlerini içeren karışım bölgesi; 1200-900 cm^{-1} hücre duvarı içinde bulunan karbonhidratların parmak izi benzeri absorpsiyon gruplarının baskın olduğu polisakkarit bölgesi; 900–700 cm^{-1} henüz hücresel bileşenlere veya fonksiyonel gruplara atanmamış bazı spesifik spektral modelleri gösteren parmak izi bölgesidir (Dziuba vd., 2007).

Mayaların sınıflandırma işlemi de spektrumun üç farklı bölgesi seçilerek yapılmıştır. Bu bölgeler, 3036-2824 cm^{-1} yağ asidi bölgesi, 1350-1198 cm^{-1} protein, yağ ve fosfat bileşenini içeren karışım bölgesi ve 905-694 cm^{-1} henüz hücresel bileşenlere veya fonksiyonel gruplara atanmamış bazı spesifik spektral modelleri gösteren parmak izi bölgesidir. Bu sınıflandırma işleminde en spesifik ve tanımlayıcı sınıflandırmanın sağlanabilmesi için mayalarda Ward's algoritması ve ikincil türev birlikteliğinden, LAB'lerde ise Ward's algoritması ve birincil türev birlikteliğinden yararlanılmıştır. Bu analiz ile spektrumlar arasındaki benzerlik ilişkisi, grafiksel olarak bir dendrogram üzerinde gösterilmektedir. Elde edilen dendrogram sayesinde farklı türlere ait suşların benzerlik ilişkisine göre gruplandırılması mümkündür (Kümmerle vd., 1998). Şekil 4.9'da ekşi hamur örneklerinden izole edilen fitaz pozitif mayaların, Şekil 4.10'da ise fitaz pozitif LAB'lerin dendrogramı görülmektedir. Dendrogram üzerinden seçilen 38 LAB, 24 maya izolatu genotipik olarak tanımlanmıştır.

Dziuba vd. (2007) *Lactobacillus* türlerini FTIR'da sınıflandırma analizine tabi tutmuş ve 1500–1200 cm^{-1} karışım bölgesi, 1200-900 cm^{-1} polisakkarit bölgesi, 900–700 cm^{-1} parmak izi bölgesinin birlikte kullanımının ayırımıda başarılı olduğunu belirtmiştir. Bu çalışma kapsamında gerçekleştirilen sekans sonuçlarıyla FTIR dendrogramı karşılaştırıldığında aynı başarı elde edilememiş, sekans sonucunda belirlenen *L. plantarum*, *L. brevis* ve *L. pentosus* için belirgin bir ayırım yapılamamıştır. Maya örneklerinde ise LAB'lere göre daha başarılı bir sınıflandırma gerçekleştirilmiş, *T. delbrueckii* ve *S. cerevisiae* suşları başarılı bir şekilde ayrılmıştır, Fakat TGM15 kodlu *T. delbrueckii*'yi *S. cerevisiae* gruplandırmasının içinde

göstermiştir. Bununla birlikte daha önce *Pichia anomala* olarak tanımlanan *Wickerhamomyces anomalus*'u ve *Pichia membranifaciens*'i birbirine yakın iki tür olarak sınıflandırmış, *S.cerevisiae* grubundan ayrı olarak gruplandırmıştır.

4.5 İzolatların PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile Tanımlanması

LAB ve mayaların FT-IR ile elde edilen sınıflandırma analizi sonuçlarına göre farklı kollara ayrılan izolatlardan seçim yapılarak LAB'ler için 16S rDNA, mayalar için 26S rDNA dizi analizi PCR ile gerçekleştirilmiştir. Tanımlanması gerçekleştirilen 38 adet LAB'de *Lactobacillus plantarum* (10 izolat), *Lactobacillus pentosus* (10 izolat) ve *Lactobacillus brevis* (18 izolat) olmak üzere üç tür belirlenmiştir (Tablo 4.1). Filogenetik ağaçta (Şekil 4.11) ise başlıca iki ana grup görülmektedir. Bunun sebebi *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus pentosus*'un yüksek düzeyde benzer fenotiplere sahip olmasıyla birlikte genotipik olarak da birbirine çok yakın iki suş olmasıdır (Torriani vd., 2001). Mayalarda ise iki ana grup (*Saccharomyces cerevisiae* ve *Torulaspota delbrueckii*) olmakla birlikte *Wickerhamomyces anomalus* ve *Pichia membranifaciens* olmak üzere iki ayrı izolat da elde edilmiştir (Tablo 4.2). Mayalara ait filogenetik ağaç Şekil 4.12'de verilmiştir.

Yapılan çalışmalarda ekşi hamur mikrobiyotasında 20'den fazla maya türü bulunmuştur. En sık karşılaşılan maya türü ticari maya olmasından kaynaklı *Saccharomyces cerevisiae*'dir (De Vuyst ve Neysens, 2005). *Kazachstania exigua*, *Candida humilis* ve *Pichia kudriavzevii* diğer karşılaşılan maya türleridir (Garofalo vd., 2008; Iacumin vd., 2009). Iacumin vd. (2009)'nın yaptığı çalışmada İtalya'nın dört farklı fırınından toplanan ekşi hamurların her birinden 20 maya izolatı elde etmişler ve üç örnekten %100 *Saccharomyces cerevisiae*, bir örnekten ise %90 *Candida humilis* ve %10 *Candida milleri*'nin identifikasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Aynı çalışmada baskın oranda *Lactobacillus plantarum* izole edilmiş, bununla birlikte *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus pentasaceus* ve *Weissella cibaria* izole etmişlerdir. Zhang vd. (2011)'nin Çin'de yaptıkları bir başka çalışmada ise 28 ekşi hamur örneğinde baskın maya türünün *Saccharomyces cerevisiae* olduğunu, bununla birlikte örneklerden *Torulaspota delbrueckii*, *Candida humilis* ve *Pichia guilliermondii*'nin de belirlendiği belirtilmiştir. Zhang vd. (2011) aynı zamanda ekşi hamur örneklerinden laktik asit bakterilerini izole etmişler ve baskın LAB izolatının *Lactobacillus plantarum* olduğunu, onun yanında *Lactobacillus brevis*,

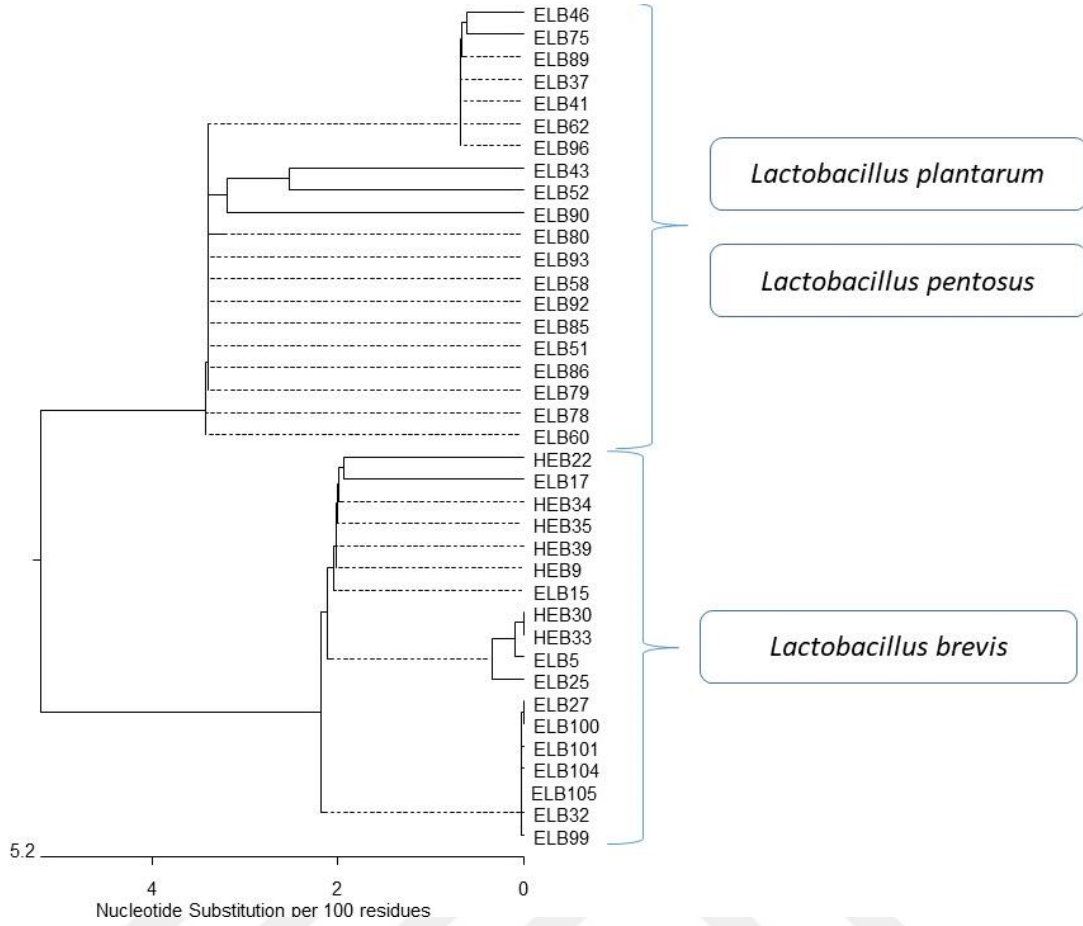
Lactobacillus rossiae, *Lactobacillus mindensis* türlerinin de olduğunu bildirmişlerdir. Avrupa menşeli ekşi hamurlarda ise sıklıkla izole edilen LAB *Lactobacillus sanfranciscensis*'tir (Gobbetti ve Corsetti, 1997). Gül vd. (2005) Isparta çevresinde 14 ekşi hamur örneğinde *Saccharomyces cerevisiae* (27,0%), *S. delbrueckii* (2,7%), *Torulopsis holmii* (10,8%) ve *T. unisporus* (2,7%) mayalarının tanımlanmasını gerçekleştirmişlerdir.

Tablo 4.1 Maya izolatlarının sekans sonucu

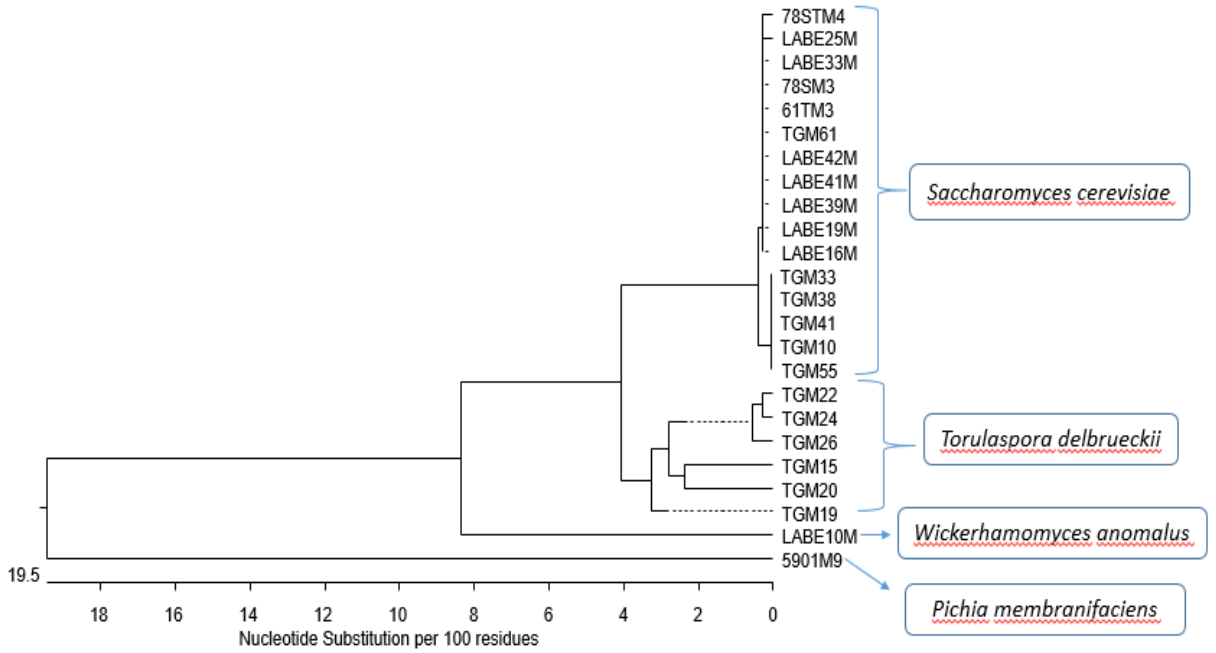
İzolat Kodu	Sekans Sonucu
78STM4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
LABE25M	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
LABE33M	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
78SM3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
61TM3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
TGM61	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
LABE42M	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
LABE41M	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
LABE39M	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
LABE19M	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
LABE16M	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
TGM33	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
TGM38	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
TGM41	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
TGM10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
TGM55	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
TGM22	<i>Torulasporea delbrueckii</i>
TGM24	<i>Torulasporea delbrueckii</i>
TGM26	<i>Torulasporea delbrueckii</i>
TGM15	<i>Torulasporea delbrueckii</i>
TGM20	<i>Torulasporea delbrueckii</i>
TGM19	<i>Torulasporea delbrueckii</i>
LABE10M	<i>Wickerhamomyces anomalus</i>
5901M9	<i>Pichia membranifaciens</i>

Tablo 4.2 Laktik asit bakterilerinin sekans sonucu

İzolat Kodu	Sekans Sonucu
ELB46	<i>Lactobacillus plantarum</i>
ELB75	<i>Lactobacillus plantarum</i>
ELB62	<i>Lactobacillus plantarum</i>
ELB96	<i>Lactobacillus plantarum</i>
ELB43	<i>Lactobacillus plantarum</i>
ELB90	<i>Lactobacillus plantarum</i>
ELB93	<i>Lactobacillus plantarum</i>
ELB85	<i>Lactobacillus plantarum</i>
ELB51	<i>Lactobacillus plantarum</i>
ELB78	<i>Lactobacillus plantarum</i>
ELB89	<i>Lactobacillus pentosus</i>
ELB37	<i>Lactobacillus pentosus</i>
ELB41	<i>Lactobacillus pentosus</i>
ELB52	<i>Lactobacillus pentosus</i>
ELB80	<i>Lactobacillus pentosus</i>
ELB58	<i>Lactobacillus pentosus</i>
ELB92	<i>Lactobacillus pentosus</i>
ELB86	<i>Lactobacillus pentosus</i>
ELB79	<i>Lactobacillus pentosus</i>
ELB60	<i>Lactobacillus pentosus</i>
HEB22	<i>Lactobacillus brevis</i>
ELB17	<i>Lactobacillus brevis</i>
HEB34	<i>Lactobacillus brevis</i>
HEB35	<i>Lactobacillus brevis</i>
HEB39	<i>Lactobacillus brevis</i>
HEB9	<i>Lactobacillus brevis</i>
ELB15	<i>Lactobacillus brevis</i>
HEB30	<i>Lactobacillus brevis</i>
HEB33	<i>Lactobacillus brevis</i>
ELB5	<i>Lactobacillus brevis</i>
ELB25	<i>Lactobacillus brevis</i>
HEB27	<i>Lactobacillus brevis</i>
ELB100	<i>Lactobacillus brevis</i>
ELB101	<i>Lactobacillus brevis</i>
ELB104	<i>Lactobacillus brevis</i>
ELB105	<i>Lactobacillus brevis</i>
ELB32	<i>Lactobacillus brevis</i>
ELB99	<i>Lactobacillus brevis</i>



Şekil 4.11 LAB izolatlarına ait filogenetik ağaç



Şekil 4.12 Maya izolatlarına ait filogenetik ağaç

4.6 Üretilen Ekşi Hamur ve Ekmeklerin Özellikleri

Spektrofotometrik fitaz aktivitesi tayinine göre en yüksek fitaz aktivitesine sahip iki laktik asit bakterisi (HEB33 *Lactobacillus brevis* ve ELB78 *Lactobacillus plantarum*) ve bir maya (TGM38 *Saccharomyces cerevisiae*) seçilerek üç farklı starter kombinasyonu oluşturulmuş ve bunlara ilaveten spontan ekşi hamur üretimi gerçekleştirilmiştir. Her üç kombinasyonda TGM38 *Saccharomyces cerevisiae* kullanılmıştır. Tablo 4.3'te oluşturulan kombinasyonlar ve ekmek kodları görülmektedir. EH 1 ekşi hamuruna mayaya ek olarak HEB33 kodlu *Lactobacillus brevis*, EH2 ekşi hamuruna ELB78 kodlu *Lactobacillus plantarum* ve EH3 ekşi hamuruna ise her iki suş da eklenmiştir. EH 4 ekşi hamuru spontan olarak üretilmiştir. Ekşi hamur örnekleri farklı sıcaklıklarda (25°C, 30°C, 35°C) fermentasyona bırakılmış ve ekmek yapılarak fitik asit oranının maksimum düzeyde düşürülmesi hedeflenmiştir. Şekil 4.13'te üretilen ekşi hamurlara ait örnekler görülmektedir.

Tablo 4.3 Örnek kodları ve suş kombinasyonları

Sıcaklık	Örnek Kodu	Suş Kombinasyonu
25°C	EH1	HEB 33+TGM38
	EH2	ELB78+TGM38
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38
	EH4	Spontan
30°C	EH1	HEB 33+TGM38
	EH2	ELB78+TGM38
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38
	EH4	Spontan
35°C	EH1	HEB 33+TGM38
	EH2	ELB78+TGM38
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38
	EH4	Spontan

*HEB 33: *Lactobacillus brevis*, ELB78: *Lactobacillus plantarum*, TGM38: *Saccharomyces cerevisiae*.

4.6.1 Ekşi Hamur Örneklerinin pH ve Toplam Titrasyon Asitliği (TTA)

Üretilen ekşi hamur örneklerinde 0. ve 20. saatlerde pH ölçülerek gelişimi izlenmiştir (Tablo 4.4). Fermentasyonun başlangıcında örneklerin pH ve TTA'ları benzerlik göstermekle beraber pH 6,26-6,47 aralığında, TTA ise 1,20-1,55 aralığında olduğu belirlenmiştir. 20.saat sonunda ölçülen pH değerleri önemli düzeyde düşüş göstermiş ve örneklerin pH değerleri 3,71-4,06 aralığında ölçülmüştür. En düşük pH değeri 35°C'de spontan olarak gerçekleşen ekşi hamurda görülmüş ve istatistiki düzeyde önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Tüm sıcaklıklarda uygulanan kültür kombinasyonları 20 saat sonunda örneklerin pH'larını benzer düzeylerde düşürmüştür. pH açısından sıcaklık ve suş değişimi pH'da önemli bir farklılığa yol açmamıştır. TTA'nın 20. saat sonunda 30°C ve 35°C'de gerçekleşen spontan fermentasyonla üretilen ekşi hamurlarda önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Genel olarak 35°C'de üretilen tüm ekşi hamurların TTA sonucu diğer sıcaklıklarda gerçekleşen ekşi hamurlara göre yüksek bulunmuştur. Genellikle yüksek sıcaklık, yüksek su aktivitesi ve tam buğday unu kullanımı ekşi hamurda asit üretimini arttırmaktadır (Brummer ve Lorenz 1991, Lorenz ve Brummer, 2003).



Şekil 4.13 Üretilen ekşi hamur örnekleri

4.6.2 Ekşi Hamur Örneklerinin LAB ve Maya Sayıları

Üretilen ekşi hamurların fermentasyon başlangıcında ve 20. saatin sonunda LAB ve maya sayımları alınmıştır. Başlangıç aşamasında LAB ve maya sayımlarında istatistiki olarak farklılık görülmemesi, aynı düzeylerde suş kullanılmasından kaynaklanmıştır. Ekşi hamurda steril su ve üretiminde steril materyal

kullanılmasından dolayı spontan fermentasyon başlangıcında gelen LAB ve mayalar undan gelmektedir. Tablo 4.5'ten de görüleceği üzere fermentasyon sonunda ekşi hamur örneklerindeki LAB sayısının 6,99-9,47 log kob/g aralığında, maya sayısının ise 5,54-7,25 log kob/g aralığında olduğu belirlenmiştir. 25°C'de *Lactobacillus brevis* HEB33+*Saccharomyces cerevisiae* TGM38 kombinasyonu ile üretilen ekşi hamurun LAB sayısının aynı sıcaklıktaki diğer kombinasyonla üretilenlere göre ve diğer sıcaklıktaki aynı kombinasyonla üretilen ekşi hamurlara göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0,05). Genel olarak 35°C'de üretilen ekşi hamurların fermentasyon sonundaki LAB sayıları diğer sıcaklıklara göre daha düşük düzeyde bulunmuştur (Şekil 4.14).

Tablo 4.4 Ekşi hamur örneklerinin pH ve TTA ölçümleri

Uygulanan Sıcaklık	Örnek Kodu	Kullanılan suş	pH		TTA	
			0.saat	20.saat	0.saat	20.saat
25°C	EH1	HEB33+TGM38	6,45±0,01 ^{Aa}	4,03±0,12 ^{Aa}	1,25±0,07 ^{Aa}	6,45±0,64 ^{Ba}
	EH2	ELB78+TGM38	6,44±0,01 ^{Aa}	3,88±0,03 ^{Aa}	1,25±0,06 ^{Aa}	6,30±0,00 ^{Ba}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	6,47±0,01 ^{Aa}	3,91±0,01 ^{Aa}	1,35±0,07 ^{Aa}	6,90±0,14 ^{Ba}
	EH4	Spontan	6,40±0,02 ^{Ab}	4,02±0,05 ^{Aa}	1,40±0,11 ^{Aa}	6,95±0,07 ^{Ca}
30°C	EH1	HEB33+TGM38	6,46±0,01 ^{Aa}	3,91±0,04 ^{Aa}	1,20±0,07 ^{Ab}	7,25±0,06 ^{ABb}
	EH2	ELB78+TGM38	6,44±0,01 ^{Aa}	3,96±0,07 ^{Aa}	1,25±0,07 ^{Aab}	6,50±0,06 ^{Bc}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	6,26±0,03 ^{Bb}	3,92±0,08 ^{Aa}	1,55±0,06 ^{Aa}	7,35±0,11 ^{Bb}
	EH4	Spontan	6,44±0,01 ^{Aa}	3,98±0,01 ^{Aa}	1,40±0,14 ^{Aab}	8,20±0,14 ^{Ba}
35°C	EH1	HEB33+TGM38	6,47±0,01 ^{Aa}	4,06±0,10 ^{Aa}	1,25±0,06 ^{Aa}	7,65±0,07 ^{Abc}
	EH2	ELB78+TGM38	6,46±0,01 ^{Aa}	3,92±0,06 ^{Aa}	1,25±0,06 ^{Aa}	7,25±0,35 ^{Ac}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	6,44±0,02 ^{Aa}	3,98±0,03 ^{Aa}	1,35±0,07 ^{Aa}	8,20±0,14 ^{Ab}
	EH4	Spontan	6,39±0,01 ^{Ab}	3,71±0,06 ^{Bb}	1,35±0,07 ^{Aa}	8,80±0,14 ^{Aa}

*HEB 33: *Lactobacillus brevis*, ELB78: *Lactobacillus plantarum*, TGM38: *Saccharomyces cerevisiae*. Farklı küçük harfler, aynı sıcaklıkta suşlar arasındaki farklılığı; farklı büyük harfler ise aynı suşların sıcaklıklara göre farklılıklarını belirtmektedir.

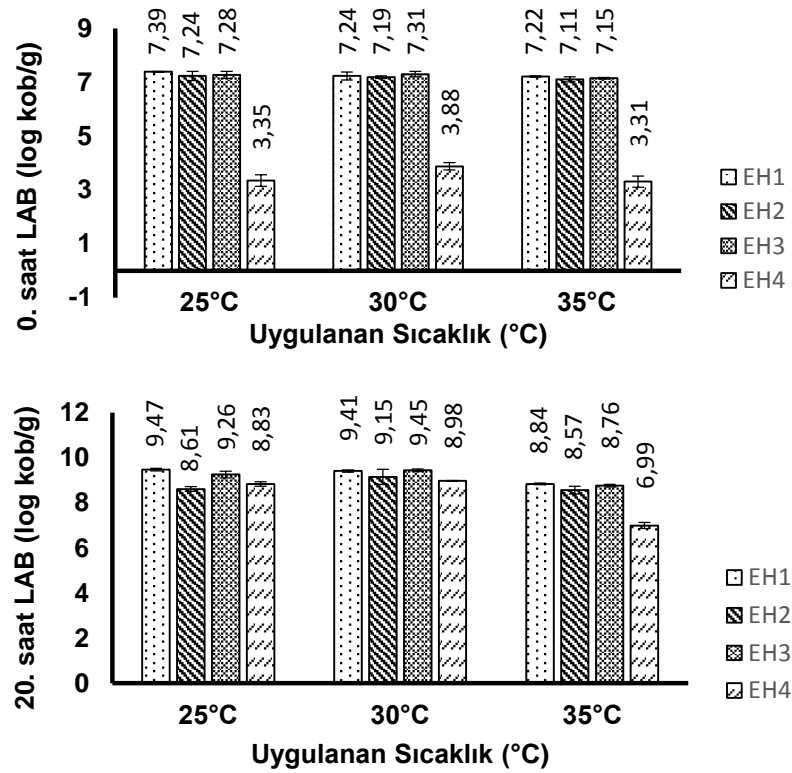
Fermentasyon sonunda maya sayımı 25°C ve 30°C'de EH2 ekşi hamurunda (*Lactobacillus plantarum* ELB78+ *Saccharomyces cerevisiae* TGM38) ve EH3 ekşi hamurunda (*Lactobacillus brevis* HEB33+ *Lactobacillus plantarum* ELB78+ *Saccharomyces cerevisiae* TGM38) yüksek bulunmuştur (Şekil 4.15). Buna karşın

beklenildiği üzere 35°C'de üretilen ekşi hamurlarda maya sayımı diğer sıcaklıklarda üretilen ekşi hamurlardakine göre daha düşük düzeyde belirlenmiştir (p<0,05).

Tablo 4.5 Ekşi hamur örneklerinin LAB ve maya sayıları

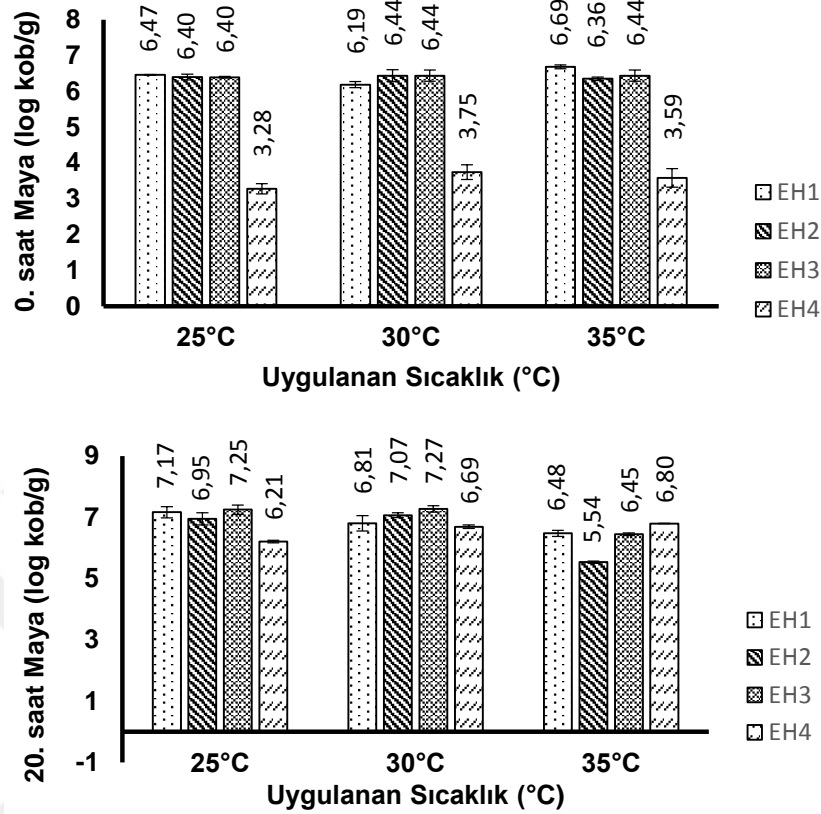
Uygulanan sıcaklık	Örnek Kodu	Kullanılan Suş	LAB (log kob/g)		Maya (log kob/g)	
			0.saat	20.saat	0.saat	20.saat
25°C	EH1	HEB33+TGM38	7,39±0,02 ^{Aa}	9,47±0,06 ^{Aa}	6,47±0,01 ^{Ba}	7,17±0,18 ^{Aab}
	EH2	ELB78+TGM38	7,24±0,17 ^{Aa}	8,61±0,11 ^{Bd}	6,40±0,08 ^{Aa}	6,95±0,19 ^{Ab}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	7,28±0,13 ^{Aa}	9,26±0,15 ^{Bb}	6,40±0,02 ^{Aa}	7,25±0,15 ^{Aa}
	EH4	Spontan	3,35±0,21 ^{Ab}	8,83±0,10 ^{Bc}	3,28±0,14 ^{Ab}	6,21±0,04 ^{Cc}
30°C	EH1	HEB33+TGM38	7,24±0,15 ^{Aa}	9,41±0,05 ^{Ba}	6,19±0,09 ^{Ca}	6,81±0,25 ^{Bb}
	EH2	ELB78+TGM38	7,19±0,05 ^{Aa}	9,15±0,33 ^{Ab}	6,44±0,17 ^{Aa}	7,07±0,07 ^{Aa}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	7,31±0,11 ^{Aa}	9,45±0,06 ^{Aa}	6,44±0,16 ^{Aa}	7,27±0,10 ^{Aa}
	EH4	Spontan	3,88±0,14 ^{Ab}	8,98±0,02 ^{Ab}	3,75±0,21 ^{Ab}	6,69±0,06 ^{Bb}
35°C	EH1	HEB33+TGM38	7,22±0,02 ^{Aa}	8,84±0,03 ^{Ca}	6,69±0,05 ^{Aa}	6,48±0,10 ^{Cb}
	EH2	ELB78+TGM38	7,11±0,10 ^{Aa}	8,57±0,17 ^{Bb}	6,36±0,05 ^{Aa}	5,54±0,04 ^{Bc}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	7,15±0,03 ^{Aa}	8,76±0,05 ^{Ca}	6,44±0,16 ^{Aa}	6,45±0,04 ^{Bb}
	EH4	Spontan	3,31±0,21 ^{Ab}	6,99±0,13 ^{Cc}	3,59±0,26 ^{Ab}	6,80±0,01 ^{Aa}

*HEB 33: *Lactobacillus brevis*, ELB78: *Lactobacillus plantarum*, TGM38: *Saccharomyces cerevisiae*. Farklı küçük harfler, aynı sıcaklıkta suşlar arasındaki farklılığı; farklı büyük harfler ise aynı suşların sıcaklıklara göre farklılıklarını belirtmektedir.



Şekil 4.14 Ekşi hamur örneklerinin 0. ve 20.saat LAB sayıları

*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*)



Şekil 4.15 Ekşi hamur örneklerinin 0. ve 20.saat maya sayıları

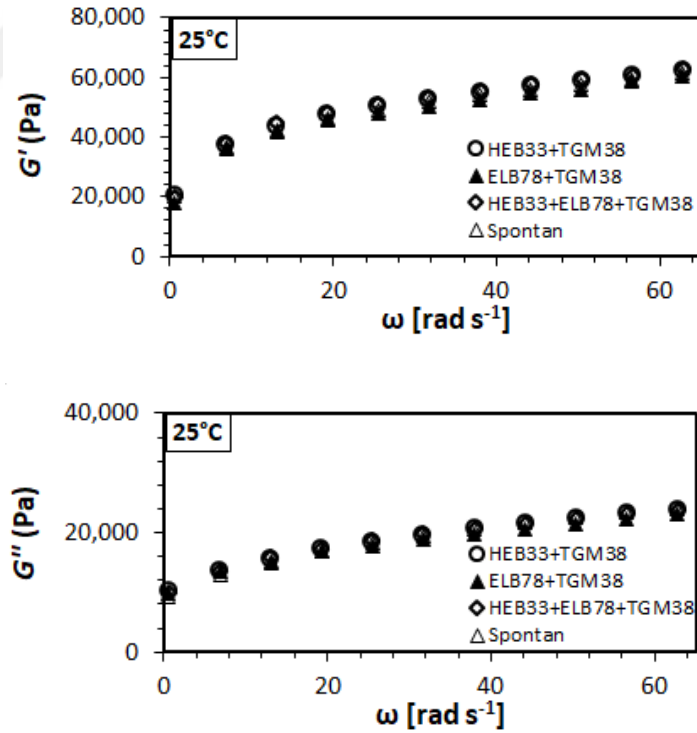
*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*)

4.6.3 Ekmek Hamuru Örneklerinin Viskoelastik Özellikleri

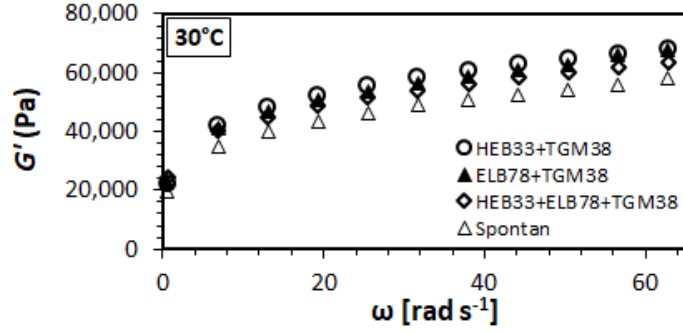
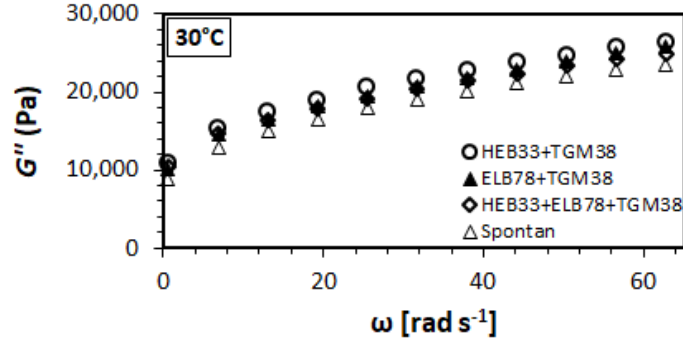
Farklı sıcaklıklarda üretilen ekşi hamurlar ekmek hamuruna %30 oranında eklenmiş ve yoğurma sonrasında kesme kontrollü reometre ile sabit sıcaklık değerinde (25°C) frekans süpürmesi testi uygulanmıştır. Örneklerin basınç süpürmesi testi sonrasında belirlenen lineer viskoelastik bölgelerinde 0,625-62,5 rad/s aralığında uygulanan frekans süpürmesi testi ile elastik modül (depo modülü, G'), viskoz modül (kayıp modülü, G''), kompleks modülü (G^*) değerleri ölçülmüş ve açılmal frekansa bağlı olarak değişimleri grafiksel olarak gösterilmiştir. Tüm ekmek hamuru örnekleri benzer reolojik davranış sergilemiş, tüm örneklerde frekansa bağlı olarak elastik modülü, viskoz modülü ve bunların bir fonksiyonu olan kompleks modülü değerleri artış sergilemiştir. Ekmek hamuru örneklerinin elastik modülü değerlerinin viskoz modülü değerlerinden frekans taraması süresince daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve hamur örneklerinin katıya yakın viskoelastisite

sergilediği görülmüştür. Aynı zamanda Tablo 4.6'daki ham değerlere bakıldığında tüm örnekler için K' değerinin K'' değerinden daha yüksek olması da katı karakter gösterdiğini belirtmektedir. Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18 sırasıyla 25, 30, 35°C'de suş kombinasyonlarına bağlı olarak ekmek hamurundaki elastik modül (G') ve viskoz modül (G'') değişimi; Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21 ve Şekil 4.22 ise sırasıyla EH1, EH2, EH3 ve EH4 ekşi hamurlarının kullanıldığı ekmek hamuru örneklerinde sıcaklığa bağlı olarak elastik modül (G') ve viskoz modülün (G'') değişimini göstermektedir.

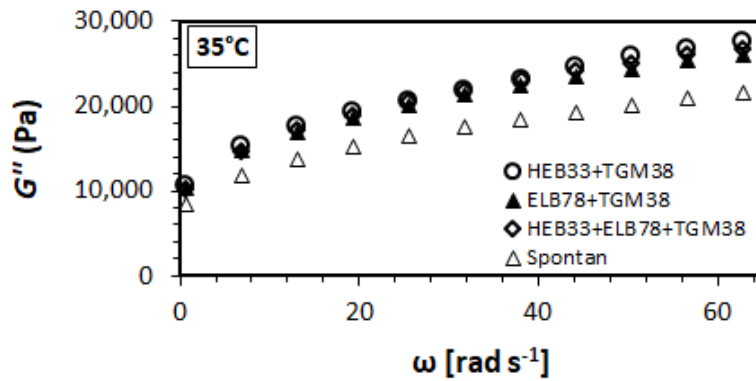
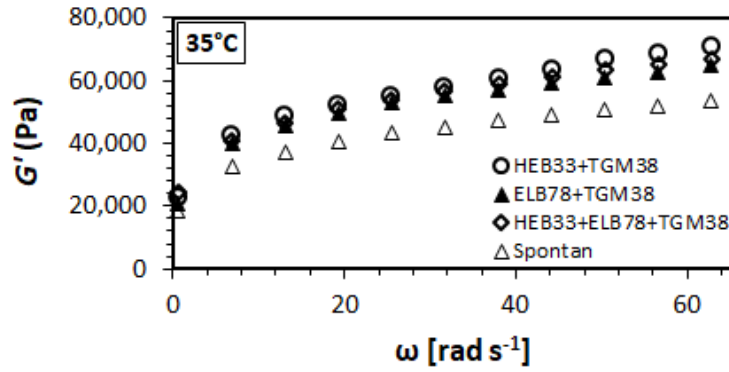
Ekşi hamurda gerçekleşen fermentasyon, kendi reolojisinde ve kullanıldığı ekmek hamuru reolojisinde temel farklılıklara sebep olur. Fermentasyon ekşi hamurun elastikliğinin ve viskozitesinin düşmesine sebep olmaktadır (Wehrle ve Arendt, 1998; Clarke vd., 2004). Ekmek hamurunda ise ekşi hamurun kullanımı uzun fermentasyon süreleriyle daha belirgin olmakla birlikte daha az elastik ve daha yumuşak hamur oluşumuna neden olmaktadır (Clarke vd., 2004).



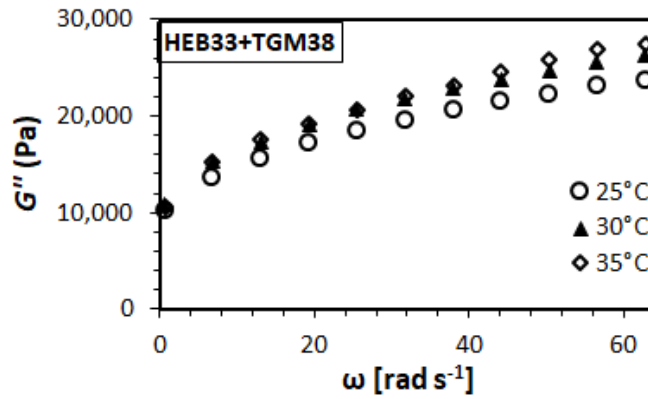
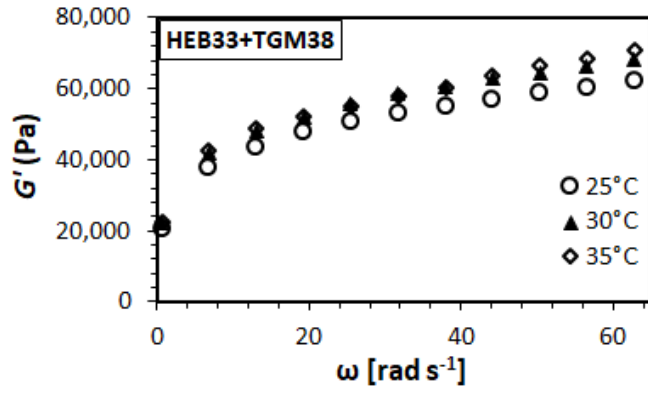
Şekil 4.16 25°C'de suş kombinasyonlarına bağlı olarak ekmek hamurundaki elastik modül (G') ve viskoz modül (G'') değişimi



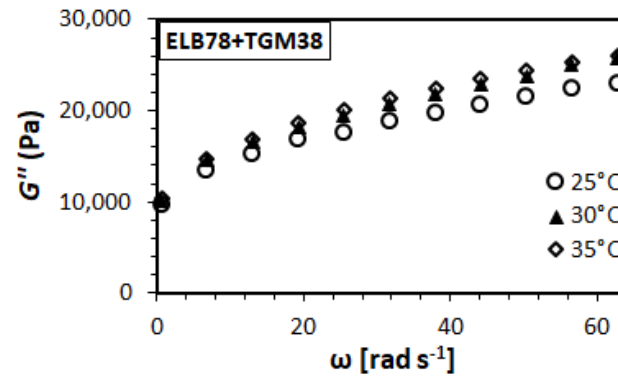
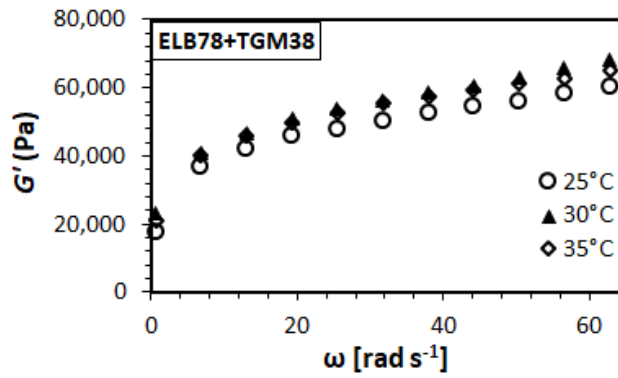
Şekil 4.17 30°C'de suş kombinasyonlarına bağlı olarak ekmek hamurundaki elastik modül (G') ve viskoz modül (G'') değişimi



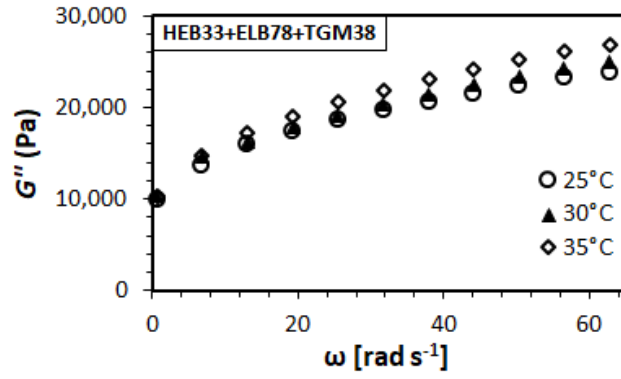
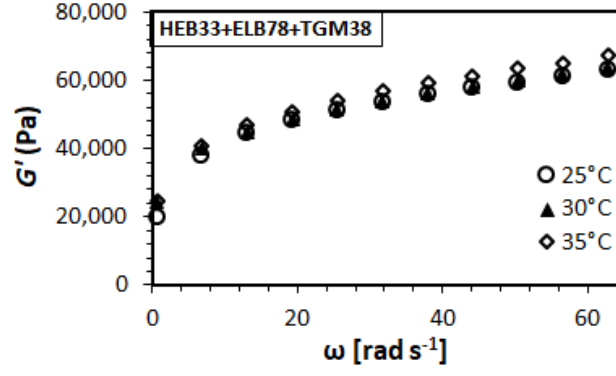
Şekil 4.18 35°C'de suş kombinasyonlarına bağlı olarak ekmek hamurundaki elastik modül (G') ve viskoz modül (G'') değişimi



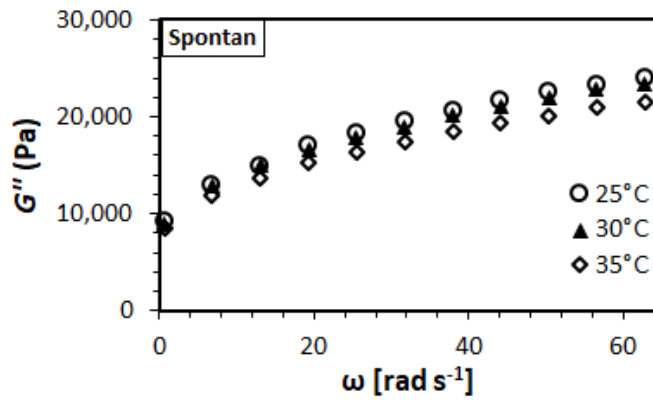
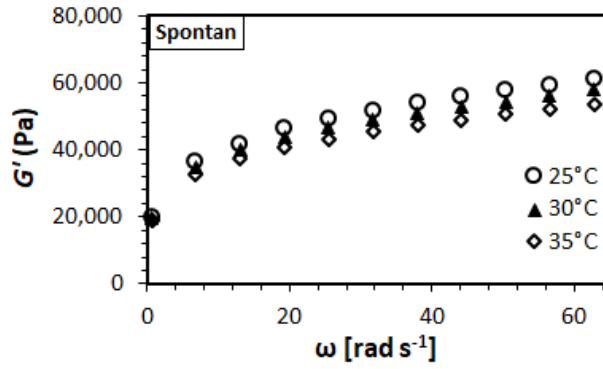
Şekil 4.19 EH1 ekşi hamurunun sıcaklığa bağlı olarak elastik modül (G') ve viskoz modül (G'') değişimi



Şekil 4.20 EH2 ekşi hamurunun sıcaklığa bağlı olarak elastik modül (G') ve viskoz modül (G'') değişimi



Şekil 4.21 EH3 ekşi hamurunun sıcaklığa bağlı olarak elastik modül (G') ve viskoz modül (G'') değişimi



Şekil 4.22 EH4 ekşi hamurunun sıcaklığa bağlı olarak elastik modül (G') ve viskoz modül (G'') değişimi

Tablo 4.6 Ekmek hamurlarının elastik modül (G'), viskoz Modülü (G'') ve kompleks modül (G^*) değerleri

Uygulanan sıcaklık	Örnek Kodu	Kullanılan suş	$G'=K'(\omega)n'$			$G''=K''(\omega)n''$			$G^*=K^*(\omega)n^*$		
			K' (Pa)	n'	R2	K'' (Pa)	n''	R2	K* (Pa)	n*	R2
25°C	EH1	HEB 33+TGM38	23401 ^{Aa}	0.2363 ^{Aa}	0.9984	10269 ^{Aa}	0.1899 ^{Ab}	0.9608	25637 ^{Aa}	0.2288 ^{Aa}	0.9994
	EH2	ELB78+TGM38	21010 ^{Aa}	0.2576 ^{Aa}	0.9890	9940 ^{Aa}	0.1899 ^{Ab}	0.9674	23378 ^{Aa}	0.2455 ^{Aa}	0.9931
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	22796 ^{Ba}	0.2479 ^{Aa}	0.9944	10174 ^{Aa}	0.1948 ^{Ab}	0.9705	25080 ^{Ba}	0.2389 ^{Aa}	0.9969
	EH4	Spontan	22559 ^{Aa}	0.2411 ^{Aa}	0.9985	9403 ^{Aa}	0.2140 ^{Aa}	0.9624	24509 ^{Aa}	0.2365 ^{Aa}	0.9984
30°C	EH1	HEB 33+TGM38	25375 ^{Aab}	0.2417 ^{Aa}	0.9926	11193 ^{Aa}	0.1968 ^{Aa}	0.9702	27823 ^{Aab}	0.2344 ^{Aa}	0.9946
	EH2	ELB78+TGM38	25952 ^{Aab}	0.2289 ^{Aa}	0.9970	10428 ^{Aab}	0.2042 ^{Aa}	0.9693	28037 ^{Aab}	0.2248 ^{Aa}	0.9970
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	26652 ^{Aa}	0.2067 ^{Ba}	0.9975	10636 ^{Aab}	0.1929 ^{Aa}	0.9659	28730 ^{Aa}	0.2046 ^{Aa}	0.9963
	EH4	Spontan	22105 ^{Ab}	0.2305 ^{Aa}	0.9988	9164 ^{Ab}	0.2151 ^{Aa}	0.9716	23951 ^{Ab}	0.2281 ^{Aa}	0.9987
35°C	EH1	HEB 33+TGM38	25682 ^{Aab}	0.2410 ^{Aa}	0.9943	10861 ^{Aa}	0.2105 ^{Aa}	0.9688	27990 ^{Aab}	0.2357 ^{Aa}	0.9955
	EH2	ELB78+TGM38	24008 ^{Ab}	0.2420 ^{Aa}	0.9952	10684 ^{Aa}	0.2032 ^{Aa}	0.9692	26377 ^{Ab}	0.2352 ^{Aa}	0.9978
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	26913 ^{Aa}	0.2176 ^{ABa}	0.9990	10544 ^{Aa}	0.2143 ^{Aa}	0.9732	28929 ^{Aa}	0.2170 ^{Aa}	0.9980
	EH4	Spontan	20866 ^{Ac}	0.2269 ^{Aa}	0.9981	8633 ^{Ab}	0.2075 ^{Aa}	0.9625	22681 ^{Ac}	0.2227 ^{Aa}	0.9986

*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*. Farklı küçük harfler, aynı sıcaklıkta suşlar arasındaki farklılığı; farklı büyük harfler ise aynı suşların sıcaklıklara göre farklılıklarını belirtmektedir.

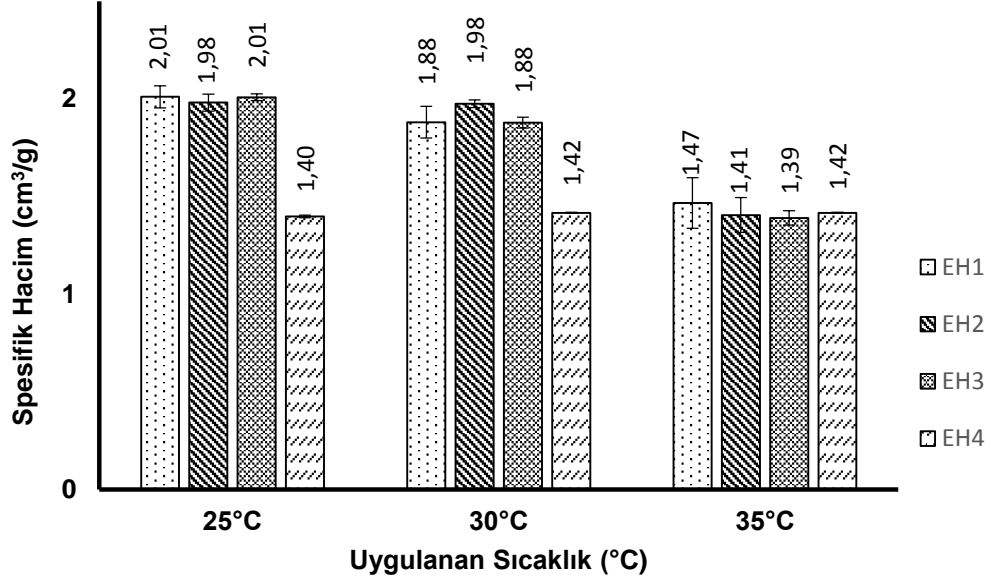
4.6.4 Üretilen ekmeklerin spesifik hacim ve renk değerleri

Ekmek örneklerinin hacim ve spesifik hacim değerleri Tablo 4.7’de verilmiştir. Ekmeklerin spesifik hacim değerleri 1,39-2,01 arasında değişmiştir. Tablodan da görüleceği üzere spontan olarak fermentasyona bırakılan hamurlardan üretilen ekmeklerin hacimleri suş eklenerek üretilenlere göre önemli düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Sıcaklığın etkisine bakıldığında ise 35°C’de gerçekleşen fermentasyonla üretilen ekşi hamurlardan elde edilen ekmeklerin de diğer sıcaklıklarda üretilenlere göre düşük kaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.23).

Tablo 4.7 Ekmek örneklerinin hacim ve spesifik hacim değerleri

Uygulanan sıcaklık	Örnek Kodu	Kullanılan Suş	Hacim (cm ³)	Specific Hacim (cm ³ /g)
25°C	EH1	HEB 33+TGM38	271,25±4,78 ^{Aa}	2,01±0,06 ^{Aa}
	EH2	ELB78+TGM38	270,00±4,12 ^{Aa}	1,98±0,04 ^{Aa}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	275,00±5,65 ^{Aa}	2,01±0,02 ^{Aa}
	EH4	Spontan	195,00±0,01 ^{Bb}	1,40±0,01 ^{Bb}
30°C	EH1	HEB 33+TGM38	261,25±10,32 ^{Ab}	1,88±0,08 ^{Ab}
	EH2	ELB78+TGM38	273,75±2,46 ^{Aa}	1,98±0,02 ^{Aa}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	260,00±4,14 ^{Bb}	1,88±0,03 ^{Bb}
	EH4	Spontan	200,00±0,01 ^{Ac}	1,42±0,00 ^{Ac}
35°C	EH1	HEB 33+TGM38	205,00±17,33 ^{Ba}	1,47±0,13 ^{Ba}
	EH2	ELB78+TGM38	198,75±13,15 ^{Ba}	1,41±0,09 ^{Ba}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	196,25±4,82 ^{Ca}	1,39±0,04 ^{Ca}
	EH4	Spontan	200,00±0,01 ^{Aa}	1,42±0,00 ^{Aa}

*HEB 33: *Lactobacillus brevis*, ELB78: *Lactobacillus plantarum*, TGM38: *Saccharomyces cerevisiae*. Farklı küçük harfler, aynı sıcaklıkta suşlar arasındaki farklılığı; farklı büyük harfler ise aynı suşların sıcaklıklara göre farklılıklarını belirtmektedir.



Şekil 4.23 Ekmek örneklerinin spesifik hacim değerleri

*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*)

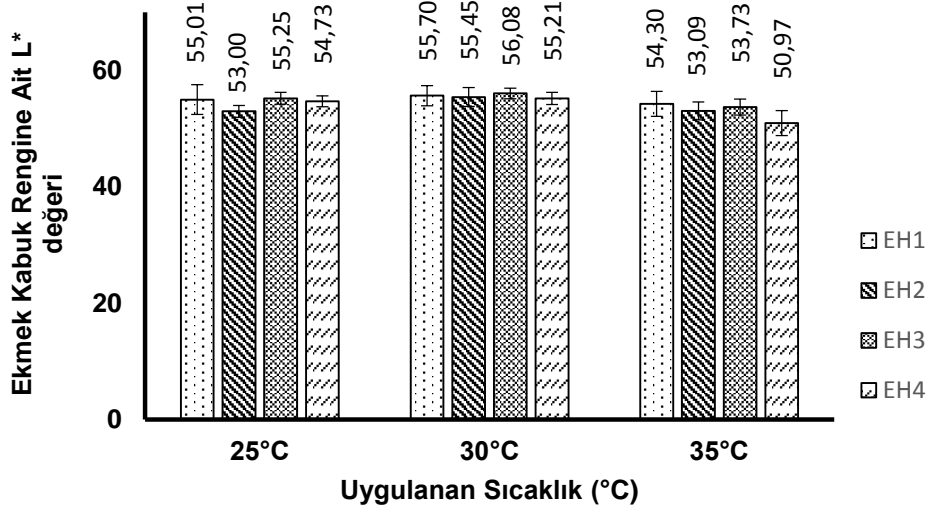
Ekmek örneklerinin renk değerleri L* (parlaklık), a* (kırmızılık), b* (sarılık) olarak ölçülmüş ve Tablo 4.8'de belirtilmiştir. 30°C'de üretilen ekşi hamur eklenen ekmeklerin kabuk L* değerlerinde istatistiksel anlamda bir farklılık görülmemiştir (Şekil 4.24). Fakat ekmek içi L* değeri farklılık göstermiştir (Şekil 4.27). Bu sıcaklıkta spontan hamur eklenen ekmeklerin iç renginin daha koyu olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın 35°C'de üretilen ekşi hamur eklenen ekmeklerin iç L* değerinin diğer sıcaklıklarda üretilen ekşi hamur eklenen ekmeklere göre daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Kabuk rengine ait a* değeri 9,16-12,84 arasında değişirken (Şekil 4.25), iç renge ait a değeri ise 5,78- 6,55 aralığında değişmiştir (Şekil 4.28). 25°C'deki ekmeklerde starter eklenen örneklerin kabuk rengine ait a* değeri diğerlerine göre daha yüksek düzeyde bulunmuştur. 30°C'nin spontan ekşi hamurları eklenmiş ekmeklerin a* ve b* değerleri aynı sıcaklıktaki suş eklenen ekmeklerinkine göre daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).

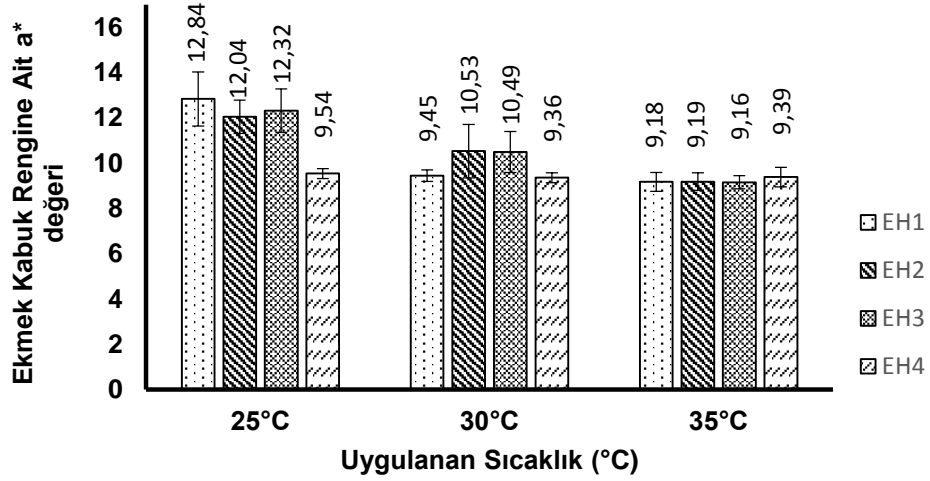
Tablo 4.8 Ekmek örneklerinin kabuk ve iç rengi

Uygulanan Sıcaklık	Örnek Kodu	Kullanılan Suş	Kabuk Rengi			İç Renk		
			L*	a*	b*	L*	a*	b*
25°C	EH1	HEB 33+TGM38	55,01±2,51 ^{aa}	12,84±1,22 ^{aa}	24,56±1,42 ^{aa}	58,40±1,28 ^{aa}	5,97±0,32 ^{Bb}	17,76±0,42 ^{aa}
	EH2	ELB78+TGM38	53,00±1,01 ^{Bb}	12,04±0,73 ^{aa}	22,93±1,43 ^{Bb}	58,64±0,23 ^{aa}	6,17±0,80 ^{ab}	17,62±0,30 ^{Ba}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	55,25±1,02 ^{aa}	12,32±0,92 ^{aa}	24,72±0,92 ^{aa}	57,74±0,72 ^{aa}	5,99±0,29 ^{ab}	16,47±1,02 ^{Bb}
	EH4	Spontan	54,73±0,93 ^{Aab}	9,54±0,21 ^{ab}	19,99±1,31 ^{Bc}	54,94±1,44 ^{ab}	6,48±0,32 ^{aa}	15,70±0,61 ^{ab}
30°C	EH1	HEB 33+TGM38	55,70±1,67 ^{aa}	9,45±0,23 ^{Bb}	23,47±1,30 ^{ABb}	55,97±0,20 ^{Bb}	6,17±0,20 ^{ABab}	17,89±0,18 ^{ab}
	EH2	ELB78+TGM38	55,45±1,58 ^{aa}	10,53±1,08 ^{Ba}	25,37±1,12 ^{aa}	57,78±0,92 ^{aa}	5,78±0,34 ^{Bc}	18,56±0,36 ^{aa}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	56,08±0,93 ^{aa}	10,49±0,92 ^{Ba}	24,97±1,03 ^{aa}	57,81±0,48 ^{aa}	5,96±0,14 ^{Abc}	18,43±0,31 ^{aa}
	EH4	Spontan	55,21±0,98 ^{aa}	9,36±0,19 ^{ab}	21,52±0,76 ^{Ac}	55,22±0,32 ^{Ac}	6,33±0,11 ^{aa}	16,21±0,50 ^{Ac}
35°C	EH1	HEB 33+TGM38	54,30±2,10 ^{aa}	9,18±0,42 ^{Ba}	22,15±1,02 ^{Ba}	54,35±0,58 ^{Cab}	6,35±0,18 ^{aa}	17,00±0,39 ^{Ba}
	EH2	ELB78+TGM38	53,09±1,52 ^{Bab}	9,19±0,38 ^{Ca}	22,09±0,58 ^{Ba}	54,69±0,81 ^{Ba}	6,24±0,32 ^{aa}	16,43±0,41 ^{Cab}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	53,73±1,38 ^{Ba}	9,16±0,31 ^{Ca}	22,51±0,43 ^{Ba}	55,01±0,96 ^{Ba}	6,14±0,41 ^{aa}	16,10±0,30 ^{Bab}
	EH4	Spontan	50,97±2,13 ^{Bb}	9,39±0,43 ^{aa}	19,23±1,52 ^{Bb}	53,17±1,72 ^{Bb}	6,55±0,37 ^{aa}	15,34±0,42 ^{ab}

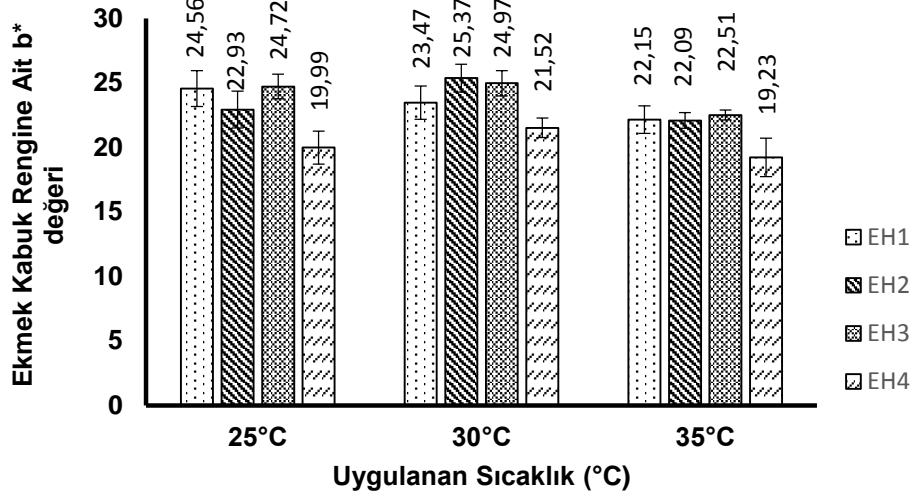
*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*. Farklı küçük harfler, aynı sıcaklıkta suşlar arasındaki farklılığı; farklı büyük harfler ise aynı suşların sıcaklıklara göre farklılıklarını belirtmektedir.



Şekil 4.24 Ekmek kabuk rengine ait L* değeri

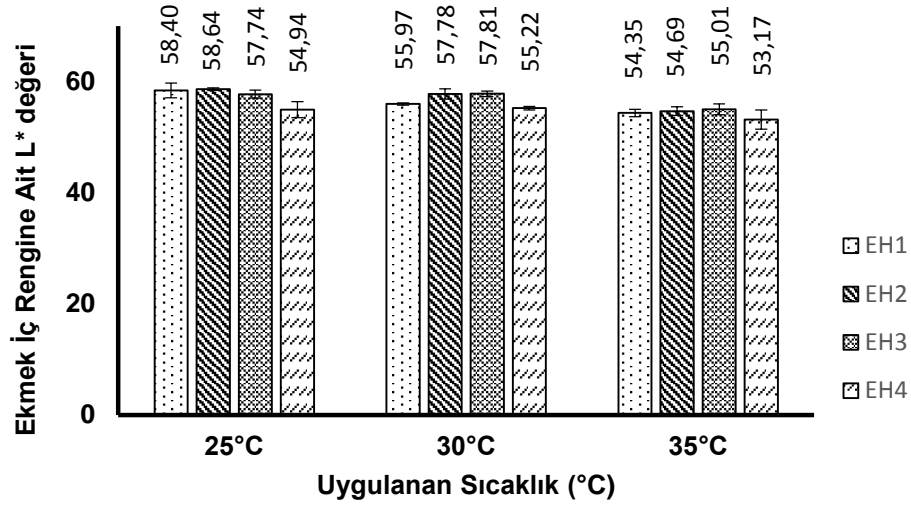


Şekil 4.25 Ekmek kabuk rengine ait a* değeri

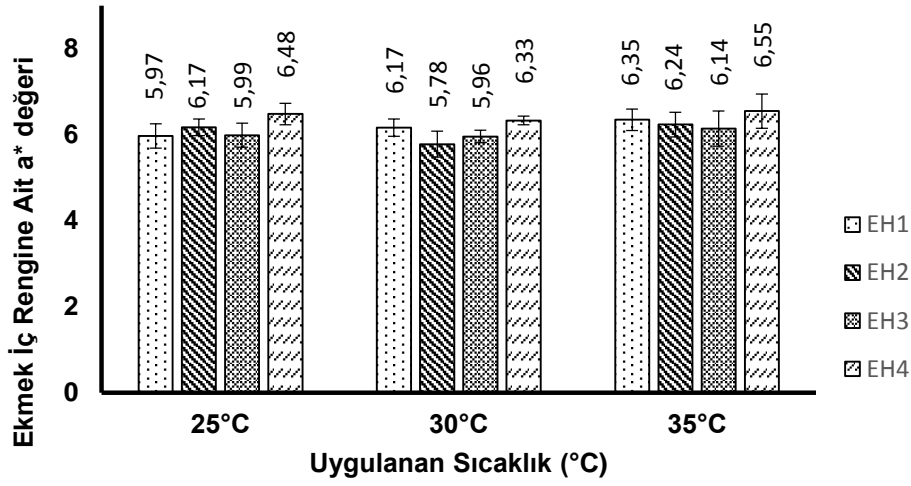


Şekil 4.26 Ekmek kabuk rengine ait b* değeri

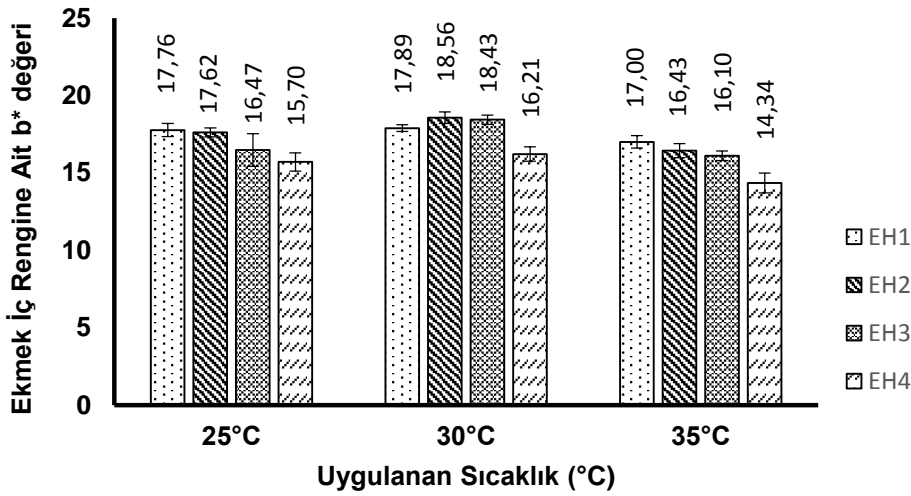
*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*)



Şekil 4.27 Ekmek iç rengine ait L* değeri



Şekil 4.28 Ekmek iç rengine ait a* değeri



Şekil 4.29 Ekmek iç rengine ait b* değeri

*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*)

Tablo 4.9 Ekmek örneklerinin TPA değerleri

Uygulanan sıcaklık	Örnek Kodu	Kullanılan suş	Sertlik (N)	Esneklik	Yapışkanlık	Sakızimsılık	Çiğnenebilirlik	Elastikyet
25°C	EH1	HEB 33+TGM38	5,70±0,48 ^{Bb}	0,91±0,01 ^{Aa}	0,80±0,01 ^{Aa}	4,56±0,36 ^{Bb}	4,14±0,34 ^{Bb}	0,50±0,01 ^{Aa}
	EH2	ELB78+TGM38	5,59±0,68 ^{Bb}	0,89±0,02 ^{Aa}	0,79±0,00 ^{Ab}	4,40±0,54 ^{Bb}	3,93±0,42 ^{Bb}	0,48±0,01 ^{Ab}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	5,83±0,44 ^{Cb}	0,89±0,01 ^{Aa}	0,79±0,01 ^{Ab}	4,60±0,35 ^{Bb}	4,08±0,28 ^{Bb}	0,48±0,01 ^{Ab}
	EH4	Spontan	10,99±1,07 ^B	0,80±0,03 ^{Ab}	0,72±0,01 ^{Ac}	7,94±0,86 ^{Ba}	6,37±0,75 ^{Ba}	0,38±0,01 ^{Ac}
30°C	EH1	HEB 33+TGM38	5,93±0,44 ^{Bb}	0,88±0,02 ^{Aa}	0,79±0,02 ^{Aa}	4,71±0,41 ^{Bb}	4,17±0,35 ^{Bb}	0,48±0,02 ^{Aa}
	EH2	ELB78+TGM38	5,92±0,56 ^{Bb}	0,89±0,01 ^{Aa}	0,77±0,01 ^{Ba}	4,59±0,48 ^{Bb}	4,07±0,44 ^{Bb}	0,46±0,01 ^{Ba}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	6,66±0,29 ^{Bb}	0,86±0,01 ^{Ba}	0,78±0,01 ^{Aa}	5,18±0,22 ^{Bb}	4,47±0,18 ^{Bb}	0,46±0,02 ^{Aa}
	EH4	Spontan	11,68±1,36 ^B	0,77±0,03 ^{ABb}	0,69±0,02 ^{Bb}	8,03±1,08 ^{Ba}	6,20±0,91 ^{Ba}	0,34±0,02 ^{Bb}
35°C	EH1	HEB 33+TGM38	11,20±1,39 ^A	0,78±0,03 ^{Ba}	0,71±0,01 ^{Ba}	7,96±0,95 ^{Ab}	6,19±0,83 ^{Ab}	0,37±0,01 ^{Ba}
	EH2	ELB78+TGM38	11,11±0,98 ^A	0,78±0,03 ^{Ba}	0,72±0,01 ^{Ca}	8,03±0,78 ^{Ab}	6,25±0,50 ^{Ab}	0,38±0,01 ^{Ca}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	10,06±0,80 ^A	0,77±0,02 ^{Ca}	0,70±0,03 ^{Ba}	7,10±0,80 ^{Ab}	5,45±0,58 ^{Ac}	0,36±0,03 ^{Ba}
	EH4	Spontan	16,45±0,90 ^A	0,76±0,02 ^{Ba}	0,68±0,01 ^{Bb}	11,18±0,54 ^{Aa}	8,46±0,47 ^{Aa}	0,35±0,01 ^{Bb}

*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*. Farklı küçük harfler, aynı sıcaklıkta suşlar arasındaki farklılığı; farklı büyük harfler ise aynı suşların sıcaklıklara göre farklılıklarını belirtmektedir.

4.6.5 Ekmek Örneklerinin Tekstür Profil Değerleri

Ekmeklerin sertlik, esneklik, yapışkanlık, sakızimsılık, çiğnenebilirlik, elastikiyet değerleri Tablo 4.9'da verilmiştir. Ekmek örneklerinin sertlik değerleri 5,59-16,45N arasında değişiklik göstermiştir. Tüm sıcaklıklarda spontan ekşi hamur eklenmiş ekmek örneklerinin sertlik değerleri, suş eklenerek yapılanlara göre belirgin düzeyde yüksektir ($p<0,05$). Fakat en sert ekmekler 35°C'de fermentasyona bırakılmış ekşi hamurlardan üretilen ekmeklerdir. Bununla birlikte aynı sıcaklıklarda suş eklenen ekşi hamurlardan üretilen ekmeklerin sertlik değerlerinde istatistiki anlamda bir farklılık görülmemiştir. Ekmek örneklerinin esneklik değerleri 0,76-0,91 arasında olduğu belirlenmiştir. 25°C'deki örneklerin esneklik değerlerinde önemli bir farklılık tespit edilmemiştir. Bununla birlikte 35°C'de fermentasyona bırakılmış ekşi hamurlardan üretilen ekmeklerin esneklik değerleri diğerlerine göre daha düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir. Örneklerin yapışkanlık düzeyleri de 0,68- 0,80 arasında değişkenlik göstermiş, 25 ve 30°C'deki örneklerin arasında belirgin bir fark tespit edilmemiştir. TPA analizlerinde ikincil parametre olarak hesaplanan sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerleri göz önüne alındığında yapışkanlık ve esneklik oranlarında önemli düzeyde bir farklılık olmamasının bu değerlerin örneklerin sertlik değerine göre şekillenmesine sebep olmuştur. Sertlik ve yapışkanlık parametrelerinin çarpımı olan sakızimsılık değeri 4,40-11,18 aralığında, sakızimsılık ve esneklik değerinin çarpımı olan çiğnenebilirlik değerinin de 3,93-8,46 aralığında farklılık göstermiştir. En yüksek oranda sertlik değerine sahip olan 35°C'deki spontan ekşi hamrundan üretilen örnekte en yüksek sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerleri tespit edilmiştir.

4.6.6 Ekmeklerin Duyusal Özellikleri

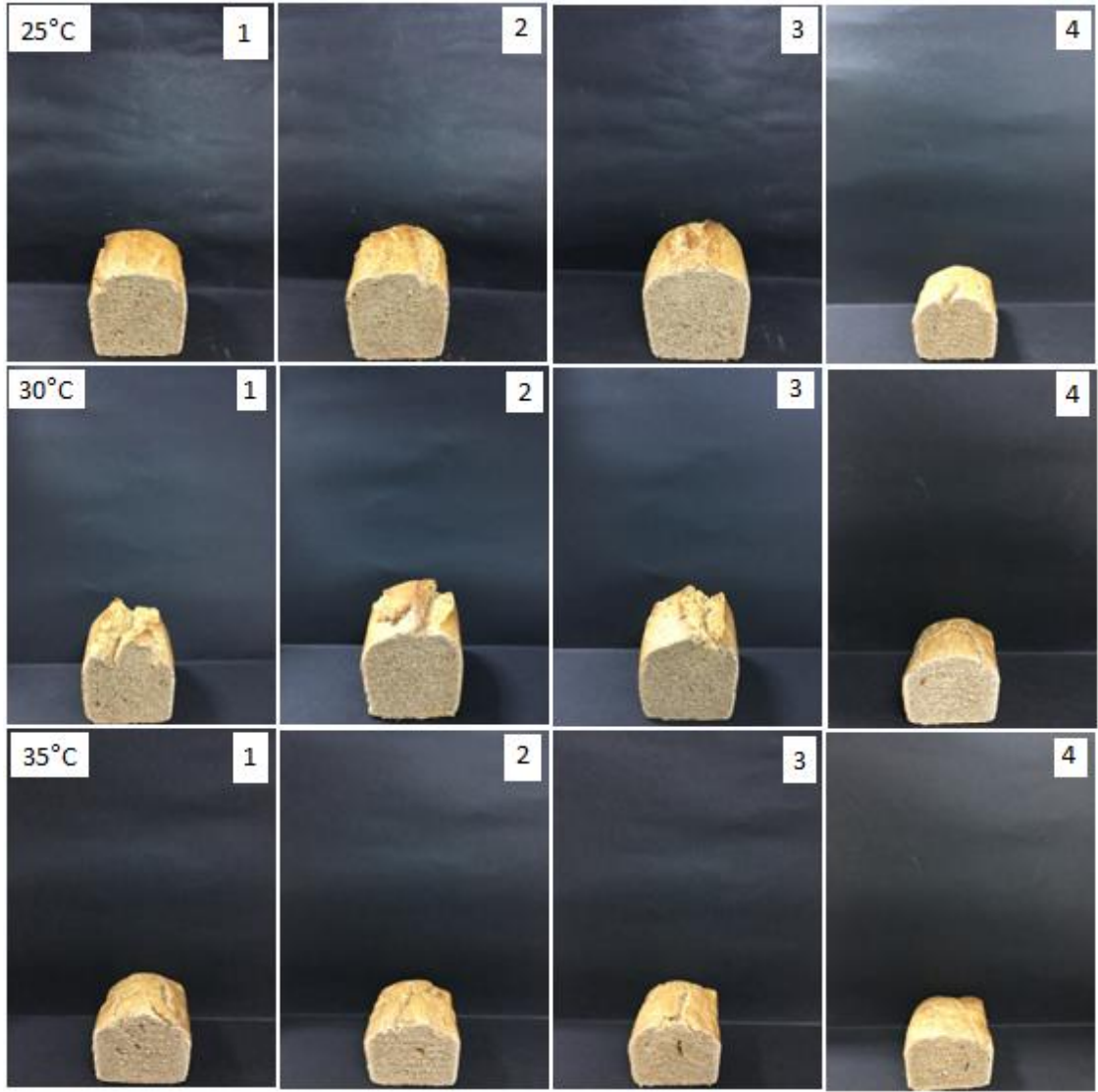
Ekmek örneklerine ait duyusal özellikleri Tablo 4.10'da verilmiştir. Ayrıca üretilen ekmeklerin kabuk rengini ve iç kesitini ortaya koyan görüntüler Şekil 4.30 ve Şekil 4.31'de gösterilmiştir. Duyusal olarak panelistlerden ekmeklerin kabuk rengi, ekmek içi rengi, gözenek yapısı, tat, koku, çiğnenebilirlik ve genel durum parametreleri değerlendirmeleri istenmiştir. Genel değerlendirmede en yüksek beğeniyi 25°C'de *Lactobacillus plantarum* ELB78+ *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 suşlarıyla üretilen EH2 ekşi hamurundan elde edilen ekmek almıştır (5,88). Buna karşın genel olarak spontan ekşi hamurlarıyla üretilen ekmekler ve 35°C'de

fermentasyona bırakılan tüm ekşi hamurların ekmeklerinin genel beğeni skorları düşüktür. Aynı ekmeklerin gözenek yapısı değerlendirmeleri de benzerlik göstermiştir. Kabuk rengi, ekmek içi rengi, tat, koku gibi parametrelerde çok belirgin farklılıklar görülmemiştir.



Şekil 4.30 Ekmeklerin dış görünüşleri

1. EH1 (*Lactobacillus brevis* HEB33+ *Saccharomyces cerevisiae*), 2. EH2 (*Lactobacillus plantarum* ELB78+ *Saccharomyces cerevisiae* TGM38), 3. EH3 (*Lactobacillus brevis* HEB33+ *Lactobacillus plantarum* ELB78+ *Saccharomyces cerevisiae* TGM38), 4. EH4 (Spontan)



Şekil 4.31 Ekmeklerin iç kesiti

1. EH1 (*Lactobacillus brevis* HEB33+ *Saccharomyces cerevisiae*), 2. EH2 (*Lactobacillus plantarum* ELB78+ *Saccharomyces cerevisiae* TGM38), 3. EH3 (*Lactobacillus brevis* HEB33+ *Lactobacillus plantarum* ELB78+ *Saccharomyces cerevisiae* TGM38), 4. EH4 (Spontan)

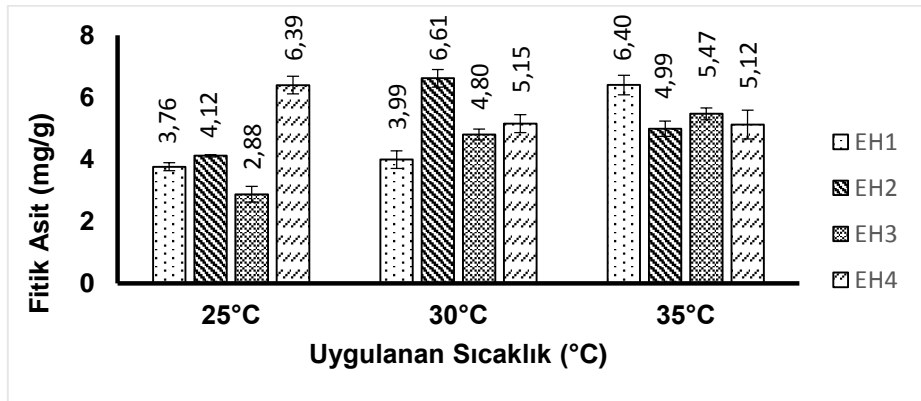
Tablo 4.10 Ekmek örneklerinin duyuusal özellikleri

Uygulanan sıcaklık	Örnek Kodu	Kullanılan suş	Kabuk Rengi	Ekmek İçi Rengi	Gözenek Yapısı	Tat	Koku	Çiğnenebilirlik	Genel Durum
25°C	EH1	HEB 33+TGM38	5,38±0,91 ^{Aa}	5,88±0,62 ^{Aa}	6,00±0,76 ^{Aa}	5,63±1,04 ^{Aa}	5,50±0,92 ^{Aa}	5,50±0,52 ^{Aa}	5,63±0,93 ^{Ab}
	EH2	ELB78+TGM38	5,25±0,96 ^{Aa}	5,75±0,80 ^{Aa}	6,00±0,74 ^{Aa}	5,75±0,71 ^{Aa}	5,63±0,72 ^{Aa}	6,13±0,83 ^{Aa}	5,88±1,02 ^{Aa}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	5,75±1,21 ^{Aa}	5,50±1,01 ^{Aa}	5,38±0,68 ^{Aa}	5,13±1,24 ^{Aa}	5,25±1,28 ^{Aa}	5,38±1,26 ^{Ab}	5,50±1,30 ^{Ab}
	EH4	Spontan	5,50±1,18 ^{Aa}	5,38±0,92 ^{Aa}	5,25±0,66 ^{Aa}	4,75±1,44 ^{Aa}	5,00±1,52 ^{Aa}	4,38±1,10 ^{Ab}	4,75±1,03 ^{Ab}
30°C	EH1	HEB 33+TGM38	4,88±0,86 ^{Aa}	4,88±1,02 ^{Aa}	5,25±0,72 ^{Ba}	5,38±1,32 ^{ABa}	5,38±1,03 ^{Aa}	5,13±1,23 ^{Aa}	5,25±0,72 ^{Aa}
	EH2	ELB78+TGM38	5,13±0,91 ^{Aa}	5,00±0,96 ^{Aa}	5,38±0,54 ^{Aa}	5,13±0,87 ^{Aa}	5,00±0,68 ^{Aa}	5,00±1,30 ^{ABa}	5,00±0,68 ^{Ba}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	5,25±0,82 ^{Aa}	5,38±0,73 ^{Aa}	5,13±0,63 ^{Aa}	5,13±1,12 ^{Aa}	5,25±1,22 ^{Aa}	5,25±1,09 ^{Aa}	5,13±0,83 ^{Aa}
	EH4	Spontan	5,50±0,78 ^{Aa}	4,88±0,82 ^{Aa}	5,00±0,91 ^{Aa}	4,25±1,81 ^{Aa}	4,75±1,41 ^{Aa}	4,75±1,32 ^{Aa}	4,75±1,12 ^{Ab}
35°C	EH1	HEB 33+TGM38	5,50±1,42 ^{Aa}	5,00±1,28 ^{Aa}	3,88±0,56 ^{Ca}	4,13±1,32 ^{Ba}	4,63±1,48 ^{Aa}	4,38±1,52 ^{Aa}	3,63±0,93 ^{Ba}
	EH2	ELB78+TGM38	5,38±1,01 ^{Aa}	5,00±1,19 ^{Aa}	4,00±0,74 ^{Ba}	4,88±1,08 ^{Aa}	4,88±1,24 ^{Aa}	4,25±1,51 ^{Ba}	3,63±0,46 ^{Ca}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	5,75±0,98 ^{Aa}	5,13±1,12 ^{Aa}	3,63±0,52 ^{Ba}	4,63±0,74 ^{Aa}	4,88±1,32 ^{Aa}	3,88±1,02 ^{Ba}	3,75±0,42 ^{Ba}
	EH4	Spontan	5,63±1,10 ^{Aa}	5,13±1,09 ^{Aa}	3,63±0,74 ^{Ba}	4,13±1,42 ^{Aa}	4,25±1,00 ^{Aa}	4,50±1,02 ^{Aa}	3,75±0,83 ^{Aa}

*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*. Farklı küçük harfler, aynı sıcaklıkta suşlar arasındaki farklılığı; farklı büyük harfler ise aynı suşların sıcaklıklara göre farklılıklarını belirtmektedir.

4.6.8 Fitik Asit Parçalanma Oranları

Ekmek örneklerindeki fitik asit miktarları Şekil 4.32’de ve üretimde kullanılan tam buğday ununa göre parçalanma oranları Şekil 4.33’te verilmiştir. Tam buğday ununun fitik asit içeriği 9,51 mg/g olarak belirlenmiştir. Başka çalışmalarda da tam buğday unundaki fitik asit miktarı 8,50- 22,20 mg/g arasında belirlenmiştir (Garcia-Esteva vd., 1999; Febles vd., 2002, Izzreen vd., 2017). Ekmek örneklerinde ise bu değerler 2,88-6,40 mg/g aralığında tespit edilmiştir (Tablo 4.11). Belirlenen sonuçlara göre fitik asit parçalanma oranı %30,47-69,76 arasında değiştiği bulunmuştur. En yüksek oranın (%69,76) 25°C’de fermente edilen, *Lactobacillus brevis* HEB33, *Lactobacillus plantarum* ELB78 ve *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 suşlarının birlikte kullanıldığı EH3 kodlu ekşi hamurdan üretilen ekmek örneğinde olduğu görülmüştür. Yine 25°C’de fermente edilen, *Lactobacillus brevis* HEB33 ve *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 suşlarının kullanıldığı EH1 kodlu ekmekteki parçalanma oranının %60,43 ve *Lactobacillus plantarum* ELB78 ve *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 suşlarının kullanıldığı EH2 ekmeğinde ise %56,71 olduğu belirlenmiştir. Her ekmek örneğinde *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 maya olarak kullanıldığı göz önüne alındığında bu sıcaklıkta, iki laktik asit bakterisi (LAB) kombinasyonu ile üretilen ekmeklerdeki fitik asit degradasyonunun bu suşların yalnız kullanıldığı örneklerden daha fazla olduğu ve iki suşun fitik asiti parçalayabilme kabiliyetleri açısından sinerjistik bir etkileşim halinde oldukları belirlenmiştir. Fakat diğer sıcaklıklarda bu sinerjistik etki görülmemiştir. 25°C’de fermente edilen ekşi hamurlardan üretilen ekmeklerde belirlenen degradasyon oranının diğer sıcaklıklarda üretilenlerden daha fazla olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.32 Ekmek örneklerindeki fitik asit miktarı

*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*)

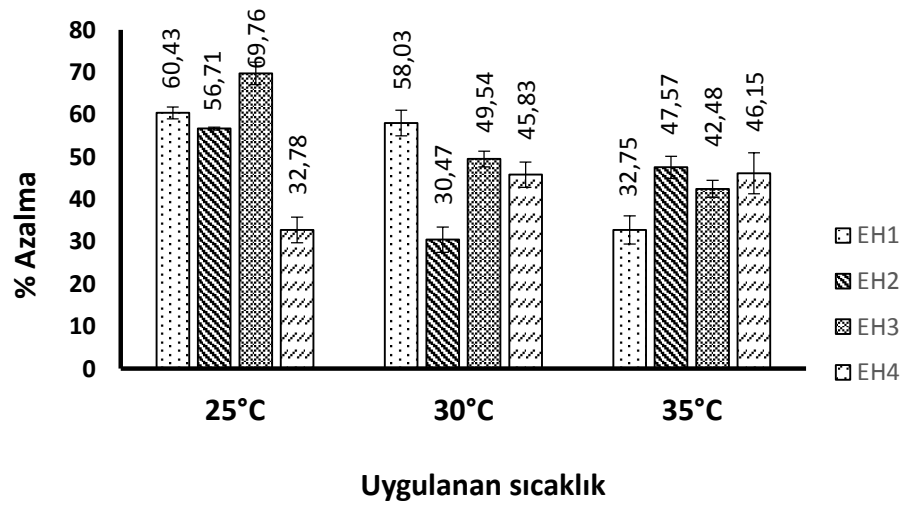
Tablo 4.11 Ekmek örneklerindeki fitik asit miktarı

Sıcaklık	Örnek Kodu	Kullanılan suşlar	Fitik Asit Miktarı (mg/g)
	Buğday unu		9,51±0,38
25°C	EH1	HEB 33+TGM38	3,76±0,13 ^{Bb}
	EH2	ELB78+TGM38	4,12±0,03 ^{Bc}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	2,88±0,25 ^{Cc}
	EH4	Spontan fermentasyon	6,39±0,29 ^{Aa}
30°C	EH1	HEB 33+TGM38	3,99±0,29 ^{Cb}
	EH2	ELB78+TGM38	6,61±0,28 ^{Aa}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	4,80±0,18 ^{Bb}
	EH4	Spontan fermentasyon	5,15±0,29 ^{Bb}
35°C	EH1	HEB 33+TGM38	6,40±0,31 ^{Aa}
	EH2	ELB78+TGM38	4,99±0,25 ^{Bb}
	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	5,47±0,19 ^{Ba}
	EH4	Spontan fermentasyon	5,12±0,46 ^{Bb}

*HEB 33: *Lactobacillus brevis*, ELB78: *Lactobacillus plantarum*, TGM38: *Saccharomyces cerevisiae*. Farklı küçük harfler, aynı sıcaklıkta suşlar arasındaki farklılığı; farklı büyük harfler ise aynı suşların sıcaklıklara göre farklılıklarını belirtmektedir (p < 0.05).

Haros vd. (2008) yaptıkları çalışmada farklı kaynaklardan izole ettikleri *Lactobacillus* suşlarının fitaz aktivitelerini incelemiş ve iki *Lactobacillus plantarum* suşunun yüksek aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Fakat mikroorganizmalar için fitik asit degradesyonunun optimum 50°C ve 70°C aralığında olduğunu, 37°C'de düşük düzeyde kaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise 35°C'de gelişen ekşi hamurlardan üretilen ekmeklerde 25°C'dekine göre daha düşük degradesyon oranı görülmüştür. Bu farklılığın suşların geliştiği ortamdan kaynaklanması muhtemeldir, nitekim Haros vd. (2008) suşların fitaz aktivitelerini yalnızca besiyeri üzerinde belirlemişlerdir. 25°C'deki bu yüksek parçalanma oranları spontan olarak gerçekleşen ekşi hamurlardan üretilen ekmekler için geçerli değildir. Genel olarak tüm sıcaklıklarda spontan fermentasyonun kullanıldığı ekşi hamurlardan üretilen ekmeklerde oranın starter kullanılanlara göre daha düşük kaldığı belirlenmiştir. Caputo vd (2015)'nin *S. cerevisiae*'nin ekmek üretiminde fitat parçalama oranlarını analizlediği bir çalışmada ticari maya ile ekşi hamurdan izole ettikleri ve yüksek fitaz aktivitesine sahip olduğunu belirledikleri *S. cerevisiae* suşuyla ekmek üretimi gerçekleştirmişler ve fitat parçalanma oranları açısından ekmekleri

karşılaştırmışlardır. Her iki ekşi hamur üretiminde de mayaya ek olarak aynı *Lb. plantarum* suşu kullanmışlar ve sonuç olarak ekşi hamurdan izole ettikleri *S. cerevisiae* suşuyla gerçekleştirdikleri üretimde fitat parçalanma oranının önemli ölçüde yüksek olduğunu vurgulamışlardır. Lopez vd. (2001) de aynı şekilde maya ve ekşi hamur fermentasyonu ile üretilen ekmeklerin fitat parçalanma oranlarını incelemiş ve ekşi hamur fermentasyonunun ciddi oranda fitat parçalanma oranını arttırdığını belirtmişlerdir (%62-%38). Ekşi hamur ve fermentasyonundaki fitat parçalanma oranlarının ticari maya ile yapılan ekmeklere göre çok daha yüksek oluşu ekşi hamur fermentasyonunda mikroorganizmaların rol oynadığı pH düşüşü ile açıklanabilmektedir. Bu faktör fitaz aktivitesi için optimum koşulları sağlamaktadır (Lopez vd., 2001). Aynı durum endojen fitazın aktivitesi için de geçerlidir. Leenhardt vd. (2005) ekmek hamurunu ekşi hamur ile asitlendirmenin (pH 5,5) fitatın parçalanmasını önemli düzeyde desteklediğini bildirmiştir. Požrl vd. (2009) ekmekteki fitik asit ve pH arasında bir korelasyon olduğunu belirtmiş ve pH düştükçe fitik asit miktarının da düştüğünü belirlemişlerdir. Karaman vd. (2018) ise ekşi hamurdan izole ettikleri LAB ve mayalar arasında kombinasyonlar uygulayarak ekşi hamur elde etmiş ve ekmek üretiminde kullanmışlardır. Ekmekteki fitik asit ve mineral miktarı oranıyla suş kombinasyonlarını kıyaslamışlar ve en yüksek fitat parçalanma oranının, buğday unundaki fitat miktarına göre %57,5 oranında parçalayan *S.cerevisiae* ve *Pediococcus pentosaceus*'un birlikte kullanıldığı suş kombinasyonunda bulmuşlardır.



Şekil 4.33 Tam buğday unundaki miktara göre fitik asit parçalanma oranları
 *EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*)

4.6.9 Mineral Madde İçeriği

Ekmek rneklerinin içerdiği mineral madde miktarları Tablo 4.12’de verilmiştir. En yüksek Ca ve Mg oranlarının fitik asit parçalanma oranlarında olduğu gibi 25°C’deki EH3 ekmeğinde olduğu görülmüştür. Tüm ekmeceklerindeki Ca, Fe ve Mg oranları unda bulunan oranlardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sadece ekmeceklerin Zn içeriği yaklaşık olarak unla aynı düzeydedir. Tam buğday unundaki Ca içeriği 345,1 mg/kg iken, bu oran ekmeceklerinde 378,1-434,8 mg/kg aralığında bulunmuştur. Tüm ekmeceklerde Ca oranı una göre artış göstermiştir. Fe içeriği, 30°C’de spontan olarak fermente edilen ekşi hamurdan üretilen EH4 ekmeğinde 58,4 oranıyla en yüksek düzeyde olduğu bulunmuştur. Tam buğday ununun Mg içeriği 836,4 mg/kg iken, bu oran 25°C’de fermente edilen her iki LAB’nin de kullanıldığı EH3 ekmeğinde 931,3’e yükselmiştir. En yüksek Zn oranının 24,85 mg/kg’la 25°C’de fermente edilen *Lactobacillus plantarum* ELB78’in kullanıldığı EH2 ekmeğinde olduğu belirlenmiştir.

Anastasio vd. (2010) fitaz pozitif *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc gelidum* ve *E.faceium* kullanarak hamur hazırlamış ve 30°C’de fermente ederek demir, çinko ve manganez oranlarını incelemişler ve aynı şekilde fitaz pozitif suşların mineral içeriğini arttırdığını bildirmişlerdir. Karaman vd. (2018) farklı LAB ve maya suşlarıyla ekşi hamur hazırlamış ve 30°C’de fermente etmişlerdir. Fe içeriğinin *Lactobacillus brevis* ve *Saccharomyces cerevisiae* suşlarını kullandıkları ekmekte en yüksek oranda olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada beklenilenin aksine Ca oranının ekşi hamurdan yapılan ekmekte değil, ticari mayayla yapılan ekmekte yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Tablo 4.12 Ekmek örneklerinin mineral madde içeriği

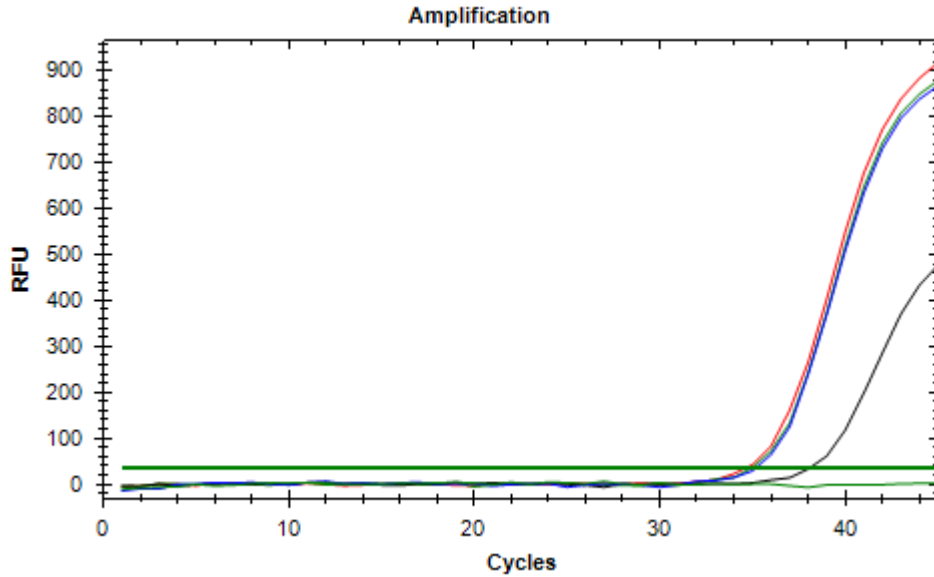
Uygulanan sıcaklık	Örnek Kodu	Kullanılan suş	Ca (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Zn (mg/kg)
	Buğday Unu		345,14±13,7	43,38±1,7	836,42±36,8	19,26±0,68
	EH1	HEB 33+TGM38	409,68±16,24 ^{Aa}	45,41±1,72 ^{Ab}	891,89±55,42 ^{Aa}	17,59±0,81 ^{Ab}
	EH2	ELB78+TGM38	414,15±16,40 ^{Aa}	45,49±1,72 ^{Ab}	887,76±55,27 ^{Aa}	24,85±1,18 ^{Aa}
25°C	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	434,76±17,24 ^{Aa}	54,84±2,09 ^{Aa}	931,29±57,83 ^{Aa}	19,32±0,86 ^{Ab}
	EH4	Spontan	406,74±16,12 ^{Aa}	45,83±1,71 ^{Cb}	908,67±56,48 ^{Aa}	17,02±0,81 ^{Ab}
	EH1	HEB 33+TGM38	430,93±17,11 ^{Aa}	49,37±1,82 ^{Ab}	912,20±56,72 ^{Aa}	519,65±0,91 ^{Aa}
	EH2	ELB78+TGM38	431,78±17,11 ^{Aa}	49,13±1,80 ^{Ab}	846,12±52,56 ^{Aa}	19,50±1,03 ^{Ba}
30°C	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	391,23±15,60 ^{ABa}	46,74±1,82 ^{Bb}	858,96±53,41 ^{Aa}	18,29±0,86 ^{Aa}
	EH4	Spontan	403,72±16,00 ^{Aa}	58,38±2,18 ^{Aa}	901,24±56,13 ^{Aa}	19,77±1,01 ^{Aa}
	EH1	HEB 33+TGM38	403,36±15,94 ^{Aab}	49,31±1,81 ^{Aab}	900,01±56,01 ^{Aa}	17,01±0,78 ^{Ab}
	EH2	ELB78+TGM38	400,94±15,93 ^{Aab}	45,30±1,69 ^{Ab}	859,83±53,38 ^{Aa}	20,17±1,03 ^{Ba}
35°C	EH3	HEB33+ELB78+TGM38	378,12±15,00 ^{Bb}	48,73±1,76 ^{ABab}	892,11±55,64 ^{Aa}	16,81±0,82 ^{Ab}
	EH4	Spontan	422,98±16,83 ^{Aa}	53,72±2,01 ^{Bab}	886,96±55,13 ^{Aa}	19,98±1,01 ^{Aa}

*EH1: HEB33+TGM38; EH2: ELB78+TGM38; EH3: HEB33+ELB78+TGM38; EH4: Spontan fermentasyon (HEB33: *L.brevis*, ELB78: *L.plantarum*, TGM38: *S.cerevisiae*. Farklı küçük harfler, aynı sıcaklıkta suşlar arasındaki farklılığı; farklı büyük harfler ise aynı suşların sıcaklıklara göre farklılıklarını belirtmektedir.

4.7 Hedef Gene (*PHO3*) Ait Real Time Analizi

S. cerevisiae'da *PHO3* geni tarafından kodlanan temel form ve *PHO5*, *PHO10* ve *PHO11* tarafından kodlanan bir form olmak üzere iki tür asit fosfataz enzimi belirlenmiştir (Satyanarayana ve Kunze, 2009). Çalışmada *PHO3* hedef gen olarak seçilmiş ve anlatım düzeyi Real Time PCR ile belirlenmiştir.

Real Time PCR ile *PHO3* hedef geninin ekspresyonuna ait döngü sayılarına karşılık gelen relatif floresan birimi Şekil 4.34'teki gibidir. Ayrıca örneklerin *PHO3* geninin anlatım düzeyine ait Cq değerleri Tablo 4.13'te verilmiştir. Beklenildiği gibi en yüksek fitaz aktivitesine sahip suşların Cq değerleri daha düşük düzeyde bulunurken, fitaz aktivitesi zayıf olan ticari mayanın Cq değeri daha yüksek düzeyde bulunmuştur.



Şekil 4.34 *PHO3* Gen Ekspresyonu

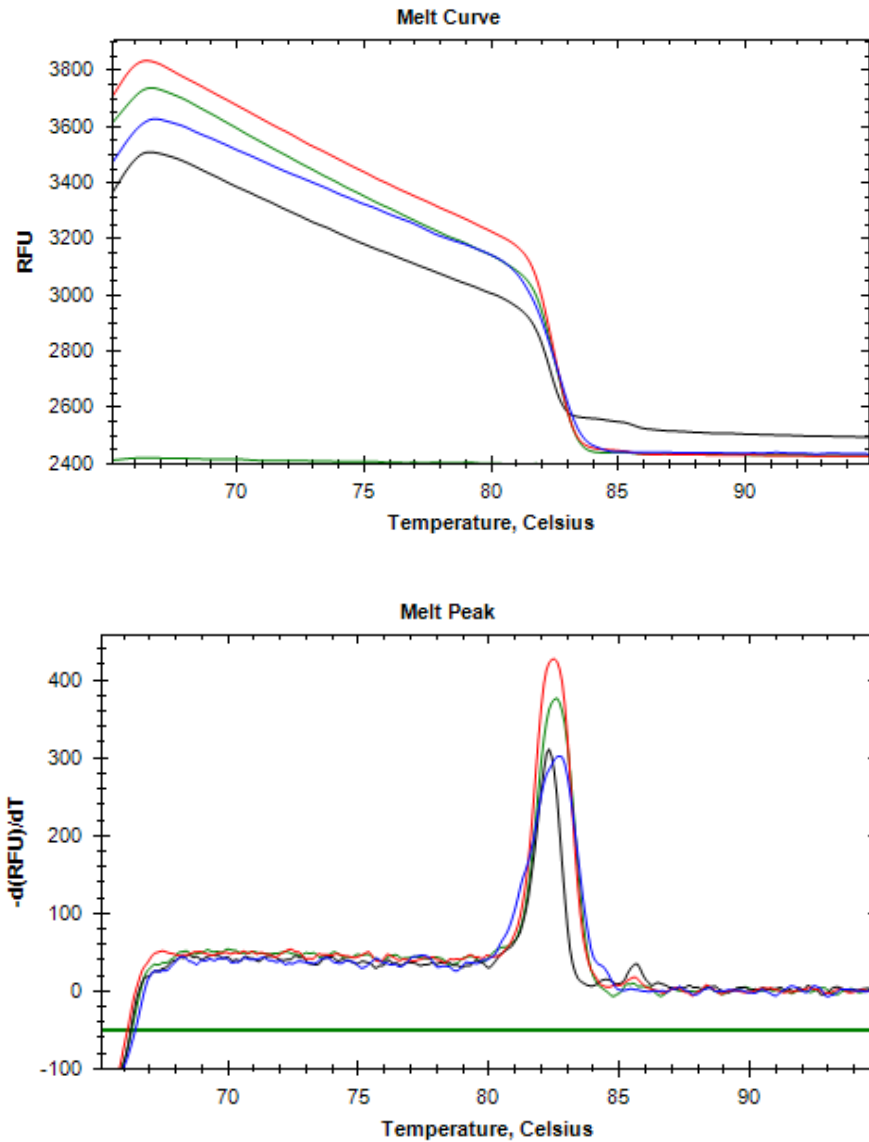
Tablo 4.13 *PHO3* Geninin Ekspresyonuna Ait Cq Değerleri

İzolat	Cq
Ticari	38,12
TGM38	34,70
TGM41	35,00
39LM3	35,21

* TGM38, TGM41, 39LM3: *Saccharomyces cerevisiae*

4.7.1 *PHO3* Geninin Ekspresyonuna Ait Erime Profili

Erime eğrisi analizi, SYBR-Green vb floresan boyaların kullanıldığı analizlerde, çoğalan DNA'nın hedef bölge olduğunu kesinleştirmek amacıyla kullanılır. Amplifikasyon sonrası erime eğrisi analizi, primer-dimer hataları için Real Time PCR reaksiyonlarını kontrol etmek ve reaksiyon spesifikliğini sağlamak için kullanılmaktadır. Erime eğrisi analizinde, ikili sarmal DNA örneğinin sıcaklığı yavaş yavaş artırılarak floresan sinyalin sıcaklığa bağlı değişimini gösteren bir grafik oluşturulur. Floresan sinyalin ani düşüşünden kaynaklanan pikler aracılığıyla, DNA iplikçiklerinin birbirlerinden ayrılmaları gözlemlenir. *PHO3* geninin ekspresyonu analizine ait erime eğrileri Şekil 4.35'te verilmiştir.

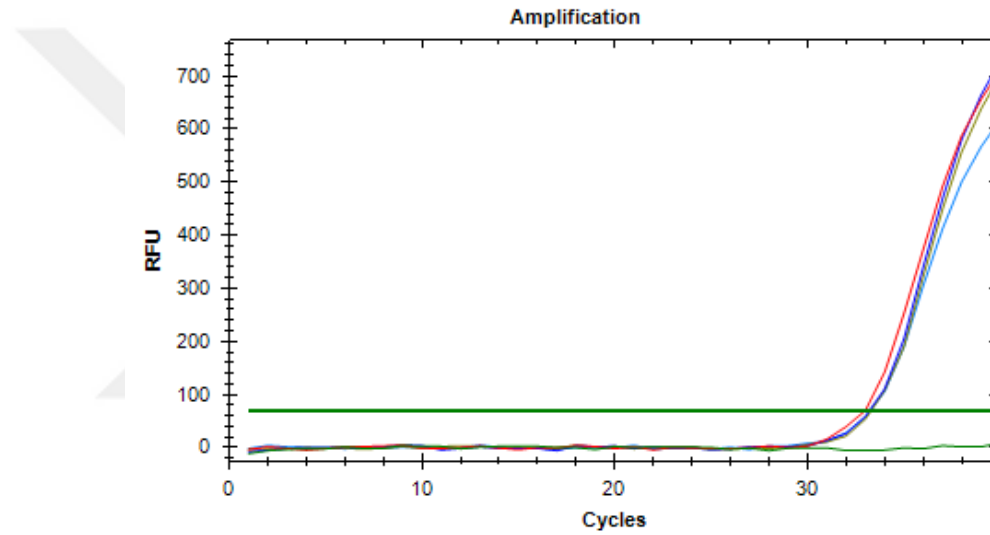


Şekil 4.35 *PHO3* Geni Ekspresyon Analizine Ait Erime Grafiği

Erime eğrisi analizinde tek pik görülmesi spesifik olmayan bir amplifikasyon olmadığını göstermektedir. Bu sebeple erime eğrileri incelendiğinde yapılan analizin güvenilir olduğu kabul edilmiştir.

4.7.2 Kontrol genine ait (Housekeeping gene) Real Time PCR Analizi

Kontrol geni olarak, maya çalışmalarında sıklıkla tercih edilen, beta-aktin (β -actin, *ACT1*) geni kullanılmıştır. Real Time PCR ile kontrol geninin ekspresyonuna ait döngü sayılarına karşılık relatif floresan birimi Şekil 4.36'daki gibidir. Ayrıca örnekler için Cq değerleri Tablo 4.14'da verilmiştir.



Şekil 4.36 *ACT1* Gen Ekspresyonuna Ait Döngü Sayılarına Karşılık Gelen Relatif Floresan Birimi

Tablo 4.14 *ACT1* Kontrol Geninin Ekspresyonuna Ait Cq Değerleri

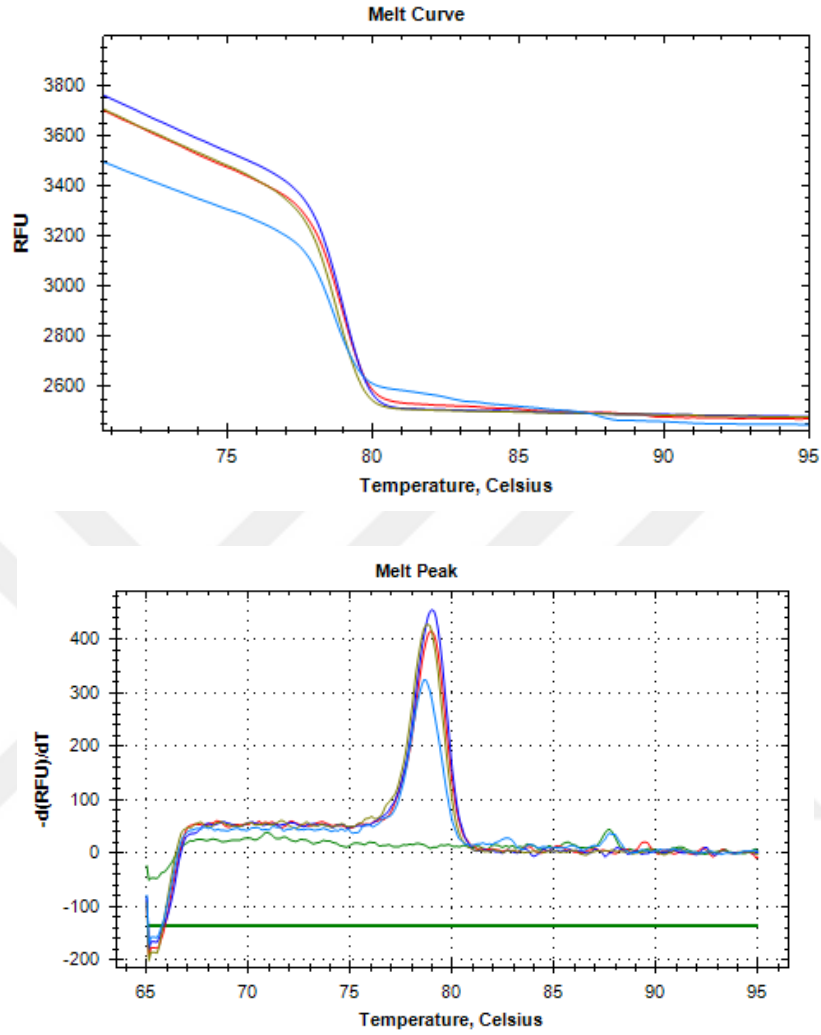
İzolat	Cq
Ticari	33,21
TGM38	33,25
TGM41	33,16
39LM3	32,91

* TGM38, TGM41, 39LM3: *Saccharomyces cerevisiae*

4.7.3 *ACT1* geninin ekspresiyonuna ait erime profili

ACT1 kontrol geninin ekspresiyonu analizine ait erime eğrileri Şekil 4.37'de verilmiştir. Erime eğrisi analizinde tek pik görülmesi spesifik olmayan bir

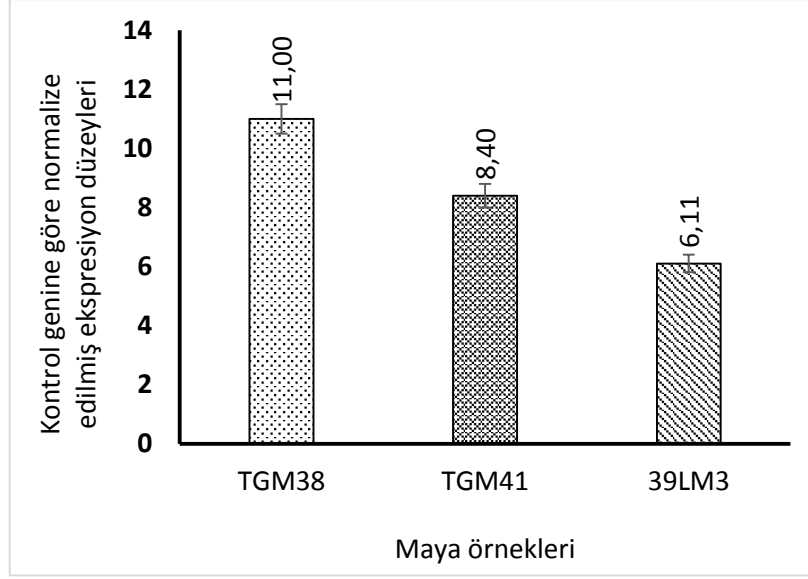
amplifikasyon olmadığını göstermektedir. Bu sebeple erime eğrileri incelendiğinde yapılan analizin güvenilir olduğu kabul edilmiştir.



Şekil 4.37 ACT1 Geni Ekspresyon Analizine Ait Erime Grafiği

4.7.4 Fitaz Gen Ekspresyonunun Analizi

Fitaz gen ekspresyonunun analizi karşılaştırmalı Ct metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm Ct değerleri, kontrol geni olan ACT1'e ait Ct değerlerine göre normalize edilmiş ve $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri hesaplanmıştır (Şekil 4.38). Kontrol suşu olarak fitaz aktivitesi göstermeyen ticari *Saccharomyces cerevisiae* suşu kullanılmıştır.



* TGM38, TGM41, 39LM3: *Saccharomyces cerevisiae*

Şekil 4.38 TGM38, TGM41, 39LM3'e ait fitaz genlerinin kontrol genine göre normalize edilmiş $2^{-\Delta\Delta CT}$ değerleri

İncelenen suşlar arasında fitaz geninin ekspresyonu en yüksek olan TGM38'de görülmektedir, TGM38'i TGM41 ve 39LM3 takip etmektedir. TGM38, TGM41 ve 39LM3 izolatlarının ekstraselüler fitaz aktiviteleri incelendiğinde de yüksek düzeyde aktivite gösterdikleri ve aynı sırayı takip ettikleri belirlenmiştir. Bu üç suşun ekstraselüler fitaz aktiviteleri sırasıyla 582,1 U/mL, 504,1 U/mL, 469,1 U/mL olarak tespit edilmiştir.

Tam buğday unu, beyaz una göre yüksek besin içeriğine sahiptir. Besinsel lif, protein, vitamin ve mineral içeriğinden dolayı tüketimi teşvik edilmektedir. Fakat bununla beraber içerdiği fitik asitin tam buğday ununda bulunan mineral maddelerin biyoyararlılığını azaltması ve besinsel özelliklerini negatif yönde etkilemesi bir sorun oluşturmaktadır. Tüm dünyada en çok tüketilen gıda olması sebebiyle bu sorunun çözümü önem arz etmektedir.

Bu çalışma kapsamında farklı işletmelerden ekşi hamurlar toplanarak, bunlara ek olarak laboratuvar ortamında ekşi hamur üreterek laktik asit bakterileri ve maya izole edilmiş, bu mikroorganizmaların fitaz aktiviteleri belirlenerek FT-IR ile sınıflandırma analizine tabi tutulmuş ve sınıflandırma analizine göre belirlenen suşların moleküler yöntemlerle tanımlamaları yapılmıştır. Yüksek fitaz aktivitesine sahip laktik asit bakterileri ve maya ile ekşi hamur starter kültür kombinasyonları oluşturularak ve farklı sıcaklıklar kullanılarak ekşi hamur üretilmiş ve bu ekşi hamur örnekleri ile ekmek üretilerek fitik asit oranları ve mineral madde oranları incelenmiştir. Aynı zamanda bu kombinasyonların ekmeğin kalitesine olan etkileri de belirlenmiştir. Bunlara ek olarak bazı *Saccharomyces cerevisiae* izolatlarının fitaz geninin belirlenmesine yönelik primer geliştirilerek Real Time PCR ile fitaz geninin ekspresyonu incelenmiştir. Çalışma sonucunda önemli sonuçları şu şekilde sıralamak mümkündür;

- LAB izolatları maya izolatlarına göre belirgin olarak daha yüksek aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.
- En yüksek fitaz aktivitesi laktik asit bakterilerinde HEB33 kodlu *Lactobacillus brevis* göstermiş, bunu ELB78 kodlu *Lactobacillus plantarum* izolatı takip etmiştir.
- En yüksek fitaz aktivitesi gösteren maya ise TGM38 kodlu *Saccharomyces cerevisiae* olmuştur.
- Fitaz aktivitesinin türe bağlı değil, suşa bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir.

- Tanımlanması gerçekleştirilen 38 adet LAB'de *Lactobacillus plantarum* (10 izolat), *Lactobacillus pentosus* (10 izolat) ve *Lactobacillus brevis* (18 izolat) olmak üzere üç tür belirlenmiştir. Mayalarda ise iki ana grup (*Saccharomyces cerevisiae* ve *Torulaspota delbrueckii*) olmakla birlikte *Wickerhamomyces anomalus* ve *Pichia membranifaciens* olmak üzere iki ayrı tür de izole edilmiştir.
- Üretilen ekşi hamurların pH'ları 20. saat sonunda pH 4 ve altına düşmüş, TTA ise sıcaklık yükseldikçe artma eğilimi göstermiştir.
- Ekşi hamurlarda yapılan LAB ve maya sayım sonuçlarına göre 25°C ve 30°C sıcaklıklarda üretilen ekşi hamurların LAB ve maya sayımları daha yüksek düzeyde bulunmuştur.
- Ekmek hamurlarında yapılan reolojik analiz sonuçlarında tüm ekmek hamuru örnekleri benzer reolojik davranış sergilemiş, tüm örneklerde frekansa bağlı olarak elastik modülü, viskoz modülü ve bunların bir fonksiyonu olan kompleks modülü değerleri artış sergilemiştir.
- Spontan olarak fermentasyona bırakılan hamurlardan üretilen ekmeklerin hacimleri starter eklenerek üretilenlere göre önemli düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir.
- Yapılan renk analizlerinde spontan hamur eklenen ekmeklerin iç renginin daha koyu olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın 35°C'de üretilen ekşi hamur eklenen ekmeklerin iç L* değerinin diğer sıcaklıklarda üretilen ekşi hamur eklenen ekmeklere göre daha düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir.
- Tekstür değerleri açısından suş eklenerek yapılan ekmekler 25°C ve 30°C'de fermentasyon yapılan ekşi hamurlarla üretilen ekmeklerde iyi düzeyde bulunmuştur. Fakat spontan olarak üretilen ve 35 C'de fermentasyon yapılan ekşi hamurlarla üretilen ekmeklerin tekstür profillerinin aynı düzeyde olmadığı belirlenmiştir.
- Duyusal analiz sonuçları da tekstür sonuçlarını desteklemiş ve 25°C ve 30°C'de fermentasyon yapılan ekşi hamurlarla üretilen ekmeklerin beğeni düzeyleri yüksek bulunmuştur.

- En yüksek fitik asit parçalanma oranının 25°C'de fermente edilen, *Lactobacillus brevis* HEB33, *Lactobacillus plantarum* ELB78 ve *Saccharomyces cerevisiae* TGM38 suşlarının birlikte kullanıldığı EH3 kodlu ekşi hamurdan üretilen ekmeğin olduğu görülmüştür.
- En yüksek Ca ve Mg oranlarının da fitik asit parçalanma oranlarında olduğu gibi 25°C'deki EH3 ekmeğinde olduğu görülmüştür. Fe içeriği 30°C'de spontan olarak fermente edilen ekşi hamurdan üretilen EH4 ekmeğinde, en yüksek Zn oranının da 25°C'de fermente edilen *Lactobacillus plantarum* ELB78'in kullanıldığı EH2 ekmeğinde olduğu belirlenmiştir.
- Real time PCR analiz sonuçlarında en yüksek fitaz aktivitesine sahip *S.cerevisiae* suşunun (TGM38) fitaz gen ekspresiyonunun da en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmalarda çıkan sonuçlar fermentasyon sıcaklığının ve ekşi hamurda kullanılan starter suşlarının fitik asit üretimini, buna bağlı olarak ekmekteki mineral madde düzeylerini etkilediğini göstermiştir. Çalışma sonucunda ekmeğin kalite parametreleri, duyu analizi sonuçları, fitik asit degradesyonu ve mineral madde içeriği göz önüne alındığında ekşi hamurun 25°C'de fermente edilmesi ve starter kültür olarak *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum*'un birlikte kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKÇA

- Afinah, S., Yazid, A. M., Anis Shobirin, M. H., & Shuhaimi, M. (2010). Phytase: application in food industry. *International Food Research Journal*, 17(1), 13-21.
- Alencar, N. M. M., Steel, C. J., Alvim, I. D., de Moraes, E. C., & Bolini, H. M. A. (2015). Addition of quinoa and amaranth flour in gluten-free breads: Temporal profile and instrumental analysis. *LWT-Food Science and Technology*, 62(2), 1011-1018.
- Anastasio, M., Pepe, O., Cirillo, T., Palomba, S., Blaiotta, G., & Villani, F. (2010). Selection and use of phytate-degrading LAB to improve cereal-based products by mineral solubilization during dough fermentation. *Journal of food science*, 75(1), M28-M35.
- Arendt, E. K., Ryan, L. A., & Dal Bello, F. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food microbiology*, 24(2), 165-174.
- Arendt, E. K., & Zannini, E. (2013). *Cereal grains for the food and beverage industries*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK.
- Arici, M., Ozulku, G., Yildirim, R. M., Sagdic, O., & Durak, M. Z. (2018). Biodiversity and technological properties of yeasts from Turkish sourdough. *Food Science and Biotechnology*, 27(2), 499-508.
- Axelsson, L. (2004). *Lactic acid bacteria: classification and physiology*. Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker, 139, 1-66.
- Axford, D. W. E., Colwell, K. H., Cornford, S. J., & Elton, G. A. H. (1968). Effect of loaf specific volume on the rate and extent of staling in bread. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 19(2), 95-101.
- Axford, D. W., McDermott, E. E., & Redman, D. G. (1979). Note on the sodium dodecyl sulfate test of bread making quality: comparison with pelschenke and Zeleny test. *Cereal Chemistry*, 56(6), 582-584.
- Bae, H. D., Yanke, L. J., Cheng, K. J., & Selinger, L. B. (1999). A novel staining method for detecting phytase activity. *Journal of Microbiological Methods*, 39(1), 17-22.
- Balaban, B. G., Yılmaz, Ü., Alkım, C., & Çakar, Z. P. Demir stresine direnç kazandırılmış *Saccharomyces cerevisiae* mayasının demir taşınımı ile ilişkili genlerinin anlatım düzeylerinin gerçek zamanlı, kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (q rt-PCR) ile belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 46(1), 8-17.
- Baldi, B. G., Franceschi, V. R., & Loewus, F. A. (1987). Localization of phosphorus and cation reserves in *Lilium longiflorum* pollen. *Plant Physiology*, 83(4), 1018-1021.
- Barnett, J. A., & Entian, K. D. (2005). A history of research on yeasts 9: regulation of sugar metabolism 1. *Yeast*, 22(11), 835-894.
- Bartnik, M., & Szafrńska, I. (1987). Changes in phytate content and phytase activity during the germination of some cereals. *Journal of Cereal Science*, 5(1), 23-28.

- Bechtel, W. G., Meisner, D. F., & Bradley, W. B. (1953). The effect of the crust on the staling of bread. *Cereal Chemistry*, 30(2), 160-168.
- Bedford, M. R. (2000). Exogenous enzymes in monogastric nutrition—their current value and future benefits. *Animal Feed Science and Technology*, 86(1-2), 1-13.
- Bessmeltseva, M., Viiard, E., Simm, J., Paalme, T., & Sarand, I. (2014). Evolution of bacterial consortia in spontaneously started rye sourdoughs during two months of daily propagation. *PLoS One*, 9(4), e95449.
- Brandt, M. J. (2007). Sourdough products for convenient use in baking. *Food Microbiology*, 24(2), 161-164.
- Brummer, J. M., & Lorenz, K. (1991). European developments in wheat sourdoughs. *Cereal Foods World*, 36, 310-314.
- Brune, M., Rossander, L., & Hallberg, L. (1989). Iron absorption: no intestinal adaptation to a high-phytate diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 49(3), 542-545.
- Brune, M., Rossander-Hultén, L., Hallberg, L., Gleerup, A., & 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(3), 442-449.
- Calderon, M., Loiseau, G., & Guyot, J. P. (2003). Fermentation by *Lactobacillus fermentum* Ogi E1 of different combinations of carbohydrates occurring naturally in cereals: consequences on growth energetics and α -amylase production. *International Journal of Food Microbiology*, 80(2), 161-169.
- Cappelle, S., Guylaine, L., Gänzle, M., & Gobbetti, M. (2013). History and social aspects of sourdough. In: *Handbook on Sourdough Biotechnology* (pp. 1-10). Springer, Boston, MA.
- Caputo, L., Visconti, A., & De Angelis, M. (2015). Selection and use of a *Saccharomyces cerevisiae* strain to reduce phytate content of wholemeal flour during bread-making or under simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 400-407.
- Chavan, R. S., & Chavan, S. R. (2011). Sourdough technology—a traditional way for wholesome foods: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(3), 169-182.
- Cheryan, M., & Rackis, J. J. (1980). Phytic acid interactions in food systems. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 13(4), 297-335.
- Cheryan, M., Anderson, F. W., & Grynspan, F. (1983). Magnesium-phytate complexes: effect of pH and molar ratio on solubility characteristics [in human and animal nutrition]. *Cereal Chemistry*, 60, 235-237.
- Clarke, C. I., Schober, T. J., & Arendt, E. K. (2002). Effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures on rheological properties of wheat dough and on bread quality. *Cereal Chemistry*, 79(5), 640-647.
- Clarke, C. I., Schober, T. J., Dockery, P., O'Sullivan, K., & Arendt, E. K. (2004). Wheat sourdough fermentation: effects of time and acidification on fundamental rheological properties. *Cereal Chemistry*, 81(3), 409-417.

- Cocolin, L., Bisson, L. F., & Mills, D. A. (2000). Direct profiling of the yeast dynamics in wine fermentations. *FEMS microbiology letters*, 189(1), 81-87.
- Coda, R., Cassone, A., Rizzello, C. G., Nionelli, L., Cardinali, G., & Gobbetti, M. (2011). Antifungal activity of *Wickerhamomyces anomalus* and *Lactobacillus plantarum* during sourdough fermentation: identification of novel compounds and long-term effect during storage of wheat bread. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(10), 3484-3492.
- Coda, R., Rizzello, C. G., Di Cagno, R., Trani, A., Cardinali, G., & Gobbetti, M. (2013). Antifungal activity of *Meyerozyma guilliermondii*: identification of active compounds synthesized during dough fermentation and their effect on long-term storage of wheat bread. *Food Microbiology*, 33(2), 243-251.
- Corsetti, A., Gobbetti, M., & Smacchi, E. (1996). Antibacterial activity of sourdough lactic acid bacteria: isolation of a bacteriocin-like inhibitory substance from *Lactobacillus sanfrancisco* C57. *Food Microbiology*, 13(6), 447-456.
- Corsetti, A., Lavermicocca, P., Morea, M., Baruzzi, F., Tosti, N., & Gobbetti, M. (2001). Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat (species *Triticum durum* and *Triticum aestivum*) sourdoughs of Southern Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 64(1-2), 95-104.
- Corsetti, A., Settanni, L., Valmorri, S., Mastrangelo, M., & Suzzi, G. (2007). Identification of subdominant sourdough lactic acid bacteria and their evolution during laboratory-scale fermentations. *Food Microbiology*, 24(6), 592-600.
- Corsetti, A., & Settanni, L. (2007). Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Research International*, 40(5), 539-558.
- Corsetti, A. (2013). Technology of sourdough fermentation and sourdough applications. In *Handbook on sourdough biotechnology* (pp. 85-103). Springer, Boston, MA.
- Costantini, L., Lukšič, L., Molinari, R., Kreft, I., Bonafaccia, G., Manzi, L., & Merendino, N. (2014). Development of gluten-free bread using tartary buckwheat and chia flour rich in flavonoids and omega-3 fatty acids as ingredients. *Food Chemistry*, 165, 232-240.
- Crowley, P., Schober, T. J., Clarke, C. I., & Arendt, E. K. (2002). The effect of storage time on textural and crumb grain characteristics of sourdough wheat bread. *European Food Research and Technology*, 214(6), 489-496.
- Dal Bello, F., Clarke, C. I., Ryan, L. A. M., Ulmer, H., Schober, T. J., Ström, K., ... & Arendt, E. K. (2007). Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. *Journal of Cereal Science*, 45(3), 309-318.
- Davidsson, L., Mackenzie, J., Kastenmayer, P., Aggett, P. J., & Hurrell, R. F. (1996). Zinc and calcium apparent absorption from an infant cereal: a stable isotope study in healthy infants. *British Journal of Nutrition*, 75(2), 291-300.
- De Angelis, M., Gallo, G., Corbo, M. R., McSweeney, P. L., Faccia, M., Giovine, M., & Gobbetti, M. (2003). Phytase activity in sourdough lactic acid bacteria: purification and characterization of a phytase from *Lactobacillus*

- sanfranciscensis* CB1. International Journal of Food Microbiology, 87(3), 259-270.
- Demirbaşı, F., İspirli, H., Kurnaz, A. A., Yılmaz, M. T., & Dertli, E. (2017). Antimicrobial and functional properties of lactic acid bacteria isolated from sourdoughs. LWT-Food Science and Technology, 79, 361-366.
- De Vuyst, L., Schrijvers, V., Paramithiotis, S., Hoste, B., Vancanneyt, M., Swings, J., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E., 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(12), 6059-6069.
- De Vuyst, L., & Neysens, P. (2005). The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. Trends in Food Science & Technology, 16(1-3), 43-56.
- De Vuyst, L., & Vancanneyt, M. (2007). Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. Food Microbiology, 24(2), 120-127.
- De Vuyst, L., Vrancken, G., Ravyts, F., Rimaux, T., & Weckx, S. (2009). Biodiversity, ecological determinants, and metabolic exploitation of sourdough microbiota. Food Microbiology, 26(7), 666-675.
- De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., Harth, H., Huys, G., Daniel, H. M., & Weckx, S. (2014). Microbial ecology of sourdough fermentations: diverse or uniform? Food Microbiology, 37, 11-29.
- De Vuyst, L., Harth, H., Van Kerrebroeck, S., & Leroy, F. (2016). Yeast diversity of sourdoughs and associated metabolic properties and functionalities. International Journal of Food Microbiology, 239, 26-34.
- De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., & Leroy, F. (2017). Microbial ecology and process technology of sourdough fermentation. Advances in Applied Microbiology, 100, 49-160.
- Decock, P., & Cappelle, S. (2005). Bread technology and sourdough technology. Trends in Food Science & Technology, 16(1-3), 113-120.
- Deshpande, S. S., & Cheryan, M. (1984). Effects of phytic acid, divalent cations, and their interactions on α -amylase activity. Journal of Food Science, 49(2), 516-519.
- Deshpande, S. S., & Damodaran, S. (1989). Effect of phytate on solubility, activity and conformation of trypsin and chymotrypsin. Journal of Food Science, 54(3), 695-699.
- Di Cagno, R., De Angelis, M., Lavermicocca, P., De Vincenzi, M., Giovannini, C., Faccia, M., & Gobbetti, M. (2002). Proteolysis by sourdough lactic acid bacteria: effects on wheat flour protein fractions and gliadin peptides involved in human cereal intolerance. Applied and Environmental Microbiology, 68(2), 623-633.
- Durak, M.Z., Fromm, H.I., Huck, J.R., Zadoks, R.N., Boor, K.J. (2006). Development of molecular typing methods for Bacillus spp. and Paenibacillus spp. isolated from fluid milk products. Journal of Food Microbiology, 71, 51-56.

- Dziuba, B., Babuchowski, A., Nałęcz, D., & Niklewicz, M. (2007). Identification of lactic acid bacteria using FTIR spectroscopy and cluster analysis. *International Dairy Journal*, 17(3), 183-189.
- Edema, M. O., & Sanni, A. I. (2008). Functional properties of selected starter cultures for sour maize bread. *Food Microbiology*, 25(4), 616-625.
- Egli, I., Davidsson, L., Juillerat, M. A., Barclay, D., & Hurrell, R. F. (2002). The influence of soaking and germination on the phytase activity and phytic acid content of grains and seeds potentially useful for complementary feedin. *Journal of Food Science*, 67(9), 3484-3488.
- Ekren, G. S. (2013). Fitaz üreten fungusdan enzimin üretimi, saflaştırılması ve karakterizasyonu (Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- El-Megeed, M. E., & Sands, D. C. (1989). U.S. Patent No. 4,889,810. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Ercolini, D., Pontonio, E., De Filippis, F., Minervini, F., La Stora, A., Gobbetti, M., & Di Cagno, R. (2013). Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(24), 7827-7836.
- Esteve, C. C., De Barber, C. B., & Martínez-Anaya, M. A. (1994). Microbial sour doughs influence acidification properties and breadmaking potential of wheat dough. *Journal of Food Science*, 59(3), 629-633.
- Febles, C. I., Arias, A., Hardisson, A., Rodríguez-Alvarez, C., & Sierra, A. (2002). Phytic acid level in wheat flours. *Journal of Cereal Science*, 36(1), 19-23.
- Feil, B. (2001). Phytic acid. *Journal of New Seeds*, 3(3), 1-35.
- Fredlund, K., Asp, N. G., Larsson, M., Marklinder, I., & Sandberg, A. S. (1997). Phytate reduction in whole grains of wheat, rye, barley and oats after hydrothermal treatment. *Journal of Cereal Science*, 25(1), 83-91.
- Frølich, W., Wahlgren, M., & Drakenberg, T. (1988). Studies on phytase activity in oats and wheat using ³¹P-NMR spectroscopy. *Journal of Cereal Science*, 8(1), 47-53.
- Gänzle, M. G., Hölzel, A., Walter, J., Jung, G., & Hammes, W. P. (2000). Characterization of reutericyclin produced by *Lactobacillus reuteri* LTH2584. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(10), 4325-4333.
- Gänzle, M. G., & 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(1), 31-45.
- Gänzle, M. G. (2004). Reutericyclin: biological activity, mode of action, and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(3), 326-332.
- Garofalo, C., Silvestri, G., Aquilanti, L., & 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(1), 243-254.
- García-Estapa, R. M., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (1999). Phytic acid content in milled cereal products and breads. *Food research international*, 32(3), 217-221.

- Gassenmeier, K., & Schieberle, P. (1995). Potent aromatic compounds in the crumb of wheat bread (French-type)—Influence of pre-ferments and studies on the formation of key odorants during dough processing. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 201(3), 241-248.
- Gibson, D. M., & Ullah, A. H. (1988). Purification and characterization of phytase from cotyledons of germinating soybean seeds. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 260(2), 503-513.
- Gibson, R. S., Bailey, K. B., Gibbs, M., & Ferguson, E. L. (2010). A review of phytate, iron, zinc, and calcium concentrations in plant-based complementary foods used in low-income countries and implications for bioavailability. *Food and Nutrition Bulletin*, 31(2_suppl2), S134-S146.
- Gobbetti, M., Corsetti, A., Rossi, J., Rosa, F. L., & Vincenzi, S. D. (1994). Identification and clustering of lactic acid bacteria and yeasts from wheat sourdoughs of central Italy [for breadmaking, Umbria]. *Italian Journal of Food Science (Italy)*.
- Gobbetti, M., Corsetti, A. (1997). *Lactobacillus sanfrancisco*: a key sourdough lactic acid bacterium: a review. *Food Microbiology*, 14(2), 175-187.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Arnaut, P., Tossut, P., Corsetti, A., & Lavermicocca, P. (1999). Added pentosans in breadmaking: fermentations of derived pentoses by sourdough lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 16(4), 409-418.
- Gobbetti, M., & Gänzle, M. (Eds.). (2012). *Handbook on sourdough biotechnology*. Springer Science & Business Media.
- Gourama, H. (1997). Inhibition of Growth and Mycotoxin Production of *Penicillium* by *Lactobacillus* Species. *LWT- Food Science and Technology*, 30(3), 279-283.
- Graf, E. (1983). Applications of phytic acid. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60(11), 1861-1867.
- Greiner, R., & Konietzny, U. (1998). Endogenous phytate-degrading enzymes are responsible for phytate reduction while preparing beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 22(4), 321-331.
- Greiner, R., & Konietzny, U. (1999). Improving enzymatic reduction of myo-inositol phosphates with inhibitory effects on mineral absorption in black beans (*Phaseolus vulgaris* var. *preto*). *Journal of food processing and preservation*, 23(3), 249-261.
- Greiner, R., Alminger, M. L. (1999). Purification and characterization of a phytate-degrading enzyme from germinated oat (*Avena sativa*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(11), 1453-1460.
- Greiner, R., Jany, K. D., & Alminger, M. L. (2000). Identification and properties of myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases (phytases) from barley (*Hordeum vulgare*). *Journal of Cereal Science*, 31(2), 127-139.
- Greiner, R., Muzquiz, M., Burbano, C., Cuadrado, C., Pedrosa, M. M., & Goyoaga, C. (2001). Purification and characterization of a phytate-degrading enzyme from germinated faba beans (*Vicia faba* var. *alameda*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2234-2240.

- Greiner, R. (2002). Purification and characterization of three phytases from germinated lupine seeds (*Lupinus albus* var. *amiga*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6858-6864.
- Greiner, R., & Egli, I. (2003). Determination of the activity of acidic phytate-degrading enzymes in cereal seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 847-850.
- Greiner, R., & Konietzny, U. (2006). Phytase for food application. *Food Technology & Biotechnology*, 44(2), 125-140.
- Guerzoni, M. E., Serrazanetti, D. I., Vernocchi, P., & Gianotti, A. (2013). Physiology and biochemistry of sourdough yeasts. In *Handbook on sourdough biotechnology* (pp. 155-181). Springer, Boston, MA.
- Gullo, M., Romano, A. D., Pulvirenti, A., & Giudici, P. (2003). *Candida humilis*—dominant species in sourdoughs for the production of durum wheat bran flour bread. *International Journal of Food Microbiology*, 80(1), 55-59.
- Gül, H., Özçelik, S., Sağdıç, O., & Certel, M. (2005). Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. *Process Biochemistry*, 40(2), 691-697.
- Hallberg, L., Brune, M., & Rossander, L. (1989). Iron absorption in man: ascorbic acid and dose-dependent inhibition by phytate. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 49(1), 140-144.
- Hambidge, K. M., Huffer, J. W., Raboy, V., Grunwald, G. K., Westcott, J. L., Sian, L., Miller, L., Dorsch, J., Krebs, N. F. (2004). Zinc absorption from low-phytate hybrids of maize and their wild-type isohybrids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(6), 1053-1059.
- Hammes, W. P., & Vogel, R. F. (1995). The genus *Lactobacillus*. In *The genera of lactic acid bacteria* (pp. 19-54). Springer, Boston, MA.
- Hammes, W. P., & Gänzle, M. G. (1998). Sourdough breads and related products. In *Microbiology of fermented foods* (pp. 199-216). Springer, Boston, MA.
- Hansen, A., & Schieberle, P. (2005). Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: applied and fundamental aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 85-94.
- Haros, M., Rosell, C. M., & Bénédicto, C. (2001). Use of fungal phytase to improve breadmaking performance of whole wheat bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5450-5454.
- Haros, M., Bielecka, M., Honke, J., & Sanz, Y. (2008). Phytate-degrading activity in lactic acid bacteria. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 58(1), 33-40.
- Harland, B. F., & Oberleas, D. (1987). Phytate in foods. In *Energy. Nutrition of women* (Vol. 52, pp. 235-259). Karger Publishers.
- Harland, B. F., & Morris, E. R. (1995). Phytate: a good or a bad food component? *Nutrition Research*, 15(5), 733-754.
- Hayakawa, T., Toma, Y., & Igaue, I. (1989). Purification and characterization of acid phosphatases with or without phytase activity from rice bran. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53(6), 1475-1483.

- Heaney, R. P., Recker, R. R., & Weaver, C. M. (1990). Absorbability of calcium sources: the limited role of solubility. *Calcified Tissue International*, 46(5), 300-304.
- Hoseney C. (1994). *Principles of cereal science and technology*. 2nd ed. St. Paul, Minn.: American Association of Cereal Chemists.
- Hotz, C., & Brown, K. H. (2004). Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food and Nutrition Bulletin*, 25, 99–199.
- Houde, R. L., Alli, I., & Kermasha, S. (1990). Purification and characterization of canola seed (*Brassica* sp.) phytase. *Journal of Food Biochemistry*, 14(5), 331-351.
- Höltzel, A., Gänzle, M. G., Nicholson, G. J., Hammes, W. P., & Jung, G. (2000). The first low molecular weight antibiotic from lactic acid bacteria: reutericyclin, a new tetramic acid. *Angewandte Chemie International Edition*, 39(15), 2766-2768.
- Hunt, J. R., Beiseigel, J. M., & Johnson, L. K. (2008). Adaptation in human zinc absorption as influenced by dietary zinc and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 87(5), 1336-1345.
- Hurrell, R. F., Juillerat, M. A., Reddy, M. B., Lynch, S. R., Dassenko, S. A., & Cook, J. D. (1992). Soy protein, phytate, and iron absorption in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 56(3), 573-578.
- Hurrell, R. F. (2003). Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral bioavailability. *The Journal of Nutrition*, 133(9), 2973S-2977S.
- Hurrell, R. F. (2004). Phytic acid degradation as a means of improving iron absorption. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 74(6), 445-452.
- Huys, G., Daniel, H. M., & De Vuyst, L. (2013). Taxonomy and biodiversity of sourdough yeasts and lactic acid bacteria. In *Handbook on sourdough biotechnology* (pp. 105-154). Springer, Boston, MA.
- Iacumin, L., Cecchini, F., Manzano, M., Osualdini, M., Boscolo, D., Orlic, S., & Comi, G. (2009). Description of the microflora of sourdoughs by culture-dependent and culture-independent methods. *Food Microbiology*, 26(2), 128-135.
- Iglesias-Puig, E., Monedero, V., & Haros, M. (2015). Bread with whole quinoa flour and bifidobacterial phytases increases dietary mineral intake and bioavailability. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 71-77.
- Inagawa, J. (1987). Effects of phytic acid on the digestion of casein and soybean protein with trypsin, pancreatin and pepsin. *Nippon Eiyoku Syokuryo Gakkaishi*, 40, 367-373.
- Iqbal, T. H., Lewis, K. O., & Cooper, B. T. (1994). Phytase activity in the human and rat small intestine. *Gut*, 35(9), 1233-1236.
- Nor Qhairul Izzreen, M. N., Nuobariene, L., Rasmussen, S. K., Arneborg, N., & Hansen, Å. S. (2017). Changes in Phytate Content in Whole Meal Wheat Dough and Bread Fermented with Phytase-Active Yeasts. *Cereal Chemistry*, 94(6), 922-927.
- Jayaram, V. B., Cuyvers, S., Lagrain, B., Verstrepen, K. J., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2013). Mapping of *Saccharomyces cerevisiae* metabolites in fermenting wheat

- straight-dough reveals succinic acid as pH-determining factor. *Food Chemistry*, 136(2), 301-308.
- Jayaram, V. B., Cuyvers, S., Verstrepen, K. J., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2014a). Succinic acid in levels produced by yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) during fermentation strongly impacts wheat bread dough properties. *Food Chemistry*, 151, 421-428.
- Jayaram, V. B., Rezaei, M. N., Cuyvers, S., Verstrepen, K. J., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2014b). Ethanol at levels produced by *Saccharomyces cerevisiae* during wheat dough fermentation has a strong impact on dough properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(38), 9326-9335.
- Karaman, K., Sagdic, O., & 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.
- Katina, K., Sauri, M., Alakomi, H. L., & Mattila-Sandholm, T. (2002). Potential of lactic acid bacteria to inhibit rope spoilage in wheat sourdough bread. *LWT-Food Science and Technology*, 35(1), 38-45.
- Katina, K. (2005). Sourdough: a tool for the improved flavour, texture and shelf-life of wheat bread. Retrived from VTT Technical Research Centre of Finland Publications Register (VTT Publications 569).
- Keshri, G., Voysey, P., & Magan, N. (2002). Early detection of spoilage moulds in bread using volatile production patterns and quantitative enzyme assays. *Journal of Applied Microbiology*, 92(1), 165-172.
- Kirchhoff, E., & Schieberle, P. (2001). Determination of key aroma compounds in the crumb of a three-stage sourdough rye bread by stable isotope dilution assays and sensory studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4304-4311.
- Knuckles, B. E., & Betschart, A. A. (1987). Effect of phytate and other myo-inositol phosphate esters on α -amylase digestion of starch. *Journal of Food Science*, 52(3), 719-721.
- Knuckles, B. E. (1988). Effect of Phytate and Other Myo-Inositol Phosphate Esters on Lipase Activity. *Journal of Food Science*, 53(1), 250-252.
- Konietzny, U., Greiner, R., & Jany, K. D. (1994). Purification and characterization of a phytase from spelt. *Journal of Food Biochemistry*, 18(3), 165-183.
- Konietzny, U., & Greiner, R. (2002). Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases). *International Journal of Food Science & Technology*, 37(7), 791-812.
- Korakli, M., Rossmann, A., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2001). Sucrose metabolism and exopolysaccharide production in wheat and rye sourdoughs by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5194-5200.
- Krebs, N. F. (2000). Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *The Journal of Nutrition*, 130(5), 1374S-1377S.

- Kulp, K. (Ed.). (2000). *Handbook of Cereal Science and Technology*, revised and expanded. CRC Press.
- Kulp, K. (2003). Baker's yeast and sourdough technologies in the production of US bread products. In: *Handbook of dough fermentations* (pp. 121-168). CRC Press.
- Kumar, V., Sinha, A. K., Makkar, H. P., & Becker, K. (2010). Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chemistry*, 120(4), 945-959.
- Kümmerle, M., Scherer, S., & Seiler, H. (1998). Rapid and reliable identification of food-borne yeasts by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(6), 2207-2214.
- Larsen, A. G., Vogensen, F. K., & Josephsen, J. (1993). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from sour doughs: purification and characterization of bavaricin A, a bacteriocin produced by *Lactobacillus bavaricus* MI401. *Journal of Applied Bacteriology*, 75(2), 113-122.
- Larsson, M., & Sandberg, A. S. (1991). Phytate reduction in bread containing oat flour, oat bran or rye bran. *Journal of Cereal Science*, 14(2), 141-149.
- Lavermicocca, P., Valerio, F., Evidente, A., Lazzaroni, S., Corsetti, A., & Gobbetti, M. (2000). Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(9), 4084-4090.
- Legan GD. (1993). Mould spoilage of bread: the problems and some solutions. *International Biodeterioration Biodegradation*, 32, 33-53.
- Lee, S. H., Park, H. J., Chun, H. K., Cho, S. Y., Cho, S. M., & Lillehoj, H. S. (2006). Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. *Nutrition Research*, 26(9), 474-479.
- Leenhardt, F., Levrat-Verny, M. A., Chanliaud, E., & Rémésy, C. (2005). Moderate decrease of pH by sourdough fermentation is sufficient to reduce phytate content of whole wheat flour through endogenous phytase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(1), 98-102.
- Lei, X. G., & Porres, J. M. (2003). Phytase enzymology, applications, and biotechnology. *Biotechnology Letters*, 25(21), 1787-1794.
- Lhomme, E., Urien, C., Legrand, J., Dousset, X., Onno, B., & Sicard, D. (2016). Sourdough microbial community dynamics: an analysis during French organic bread-making processes. *Food Microbiology*, 53, 41-50.
- Lioger, D., Leenhardt, F., Demigne, C., & Remesy, C. (2007). Sourdough fermentation of wheat fractions rich in fibres before their use in processed food. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(7), 1368-1373.
- Lopez, H. W., Ouvry, A., Bervas, E., Guy, C., Messenger, A., Demigne, C., & Remesy, C. (2000). Strains of lactic acid bacteria isolated from sour doughs degrade phytic acid and improve calcium and magnesium solubility from whole wheat flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2281-2285.
- Lopez, H. W., Krespine, V., Guy, C., Messenger, A., Demigne, C., & Remesy, C. (2001). Prolonged fermentation of whole wheat sourdough reduces phytate level and

- increases soluble magnesium. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2657-2662.
- Lopez, H. W., Leenhardt, F., Coudray, C., & Remesy, C. (2002). Minerals and phytic acid interactions: is it a real problem for human nutrition? *International Journal of Food Science & Technology*, 37(7), 727-739.
- Lopez, H. W., Duclos, V., Coudray, C., Krespine, V., Feillet-Coudray, C., Messenger, A., Demigné, C., Rémésy, C. (2003). Making bread with sourdough improves mineral bioavailability from reconstituted whole wheat flour in rats. *Nutrition*, 19(6), 524-530.
- Lorenz, K., & Brummer, J. M. (2003). Preferments and sourdoughs for German breads. In *Handbook of dough fermentations* (pp. 275-298). CRC Press.
- Lönnerdal, B. (2002). Phytic acid–trace element (Zn, Cu, Mn) interactions. *International Journal of Food Science & Technology*, 37(7), 749-758.
- Magnusson, J., & Schnürer, J. (2001). *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1), 1-5.
- Magnusson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J., & Schnürer, J. (2003). Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 219(1), 129-135.
- Mandal, N. C., Burman, S., & Biswas, B. B. (1972). Isolation, purification and characterization of phytase from germinating mung beans. *Phytochemistry*, 11(2), 495-502.
- Matz, S. A. (1991). *Chemistry and technology of cereals as food and feed*. Springer Science & Business Media.
- Merico, A., Sulo, P., Piškur, J., & Compagno, C. (2007). Fermentative lifestyle in yeasts belonging to the *Saccharomyces* complex. *The FEBS Journal*, 274(4), 976-989.
- Meroth, C. B., Walter, J., Hertel, C., Brandt, M. J., & Hammes, W. P. (2003a). Monitoring the bacterial population dynamics in sourdough fermentation processes by using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(1), 475-482.
- Meroth, C. B., Hammes, W. P., & Hertel, C. (2003b). Identification and population dynamics of yeasts in sourdough fermentation processes by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7453-7461.
- Messens, W., & De Vuyst, L. (2002). Inhibitory substances produced by *Lactobacilli* isolated from sourdoughs—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 72(1-2), 31-43.
- Minervini, F., De Angelis, M., Di Cagno, R., Pinto, D., Siragusa, S., Rizzello, C. G., & Gobbetti, M. (2010). Robustness of *Lactobacillus plantarum* starters during daily propagation of wheat flour sourdough type I. *Food Microbiology*, 27(7), 897-908.

- Minervini, F., De Angelis, M., Di Cagno, R., & Gobbetti, M. (2014). Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 136-146.
- Minervini, F., Lattanzi, A., De Angelis, M., Celano, G., & Gobbetti, M. (2015). House microbiotas as sources of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Italian sourdoughs. *Food Microbiology*, 52, 66-76.
- Moroni, A. V., Arendt, E. K., Morrissey, J. P., & Dal Bello, F. (2010). Development of buckwheat and teff sourdoughs with the use of commercial starters. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1-2), 142-148.
- Moroni, A. V., Arendt, E. K., & Dal Bello, F. (2011). Biodiversity of lactic acid bacteria and yeasts in spontaneously-fermented buckwheat and teff sourdoughs. *Food Microbiology*, 28(3), 497-502.
- Moslehi-Jenabian, S., Lindegaard, L., & Jespersen, L. (2010). Beneficial effects of probiotic and food borne yeasts on human health. *Nutrients*, 2(4), 449-473.
- Mugula, J. K., Nnko, S. A. M., Narvhus, J. A., & Sørhaug, T. (2003). Microbiological and fermentation characteristics of togwa, a Tanzanian fermented food. *International Journal of Food Microbiology*, 80(3), 187-199.
- Nakano, T., JoH, T., Tokumoto, E., & Hayakawa, T. (1999). Purification and characterization of phytase from bran of *Triticum aestivum* L. cv. Nourin# 61. *Food Science and Technology Research*, 5(1), 18-23.
- Nayini, N. R. (1984). The phytase of yeast. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 17, 24-26.
- Nielsen, M. M., Damstrup, M. L., Dal Thomsen, A., Rasmussen, S. K., & Hansen, Å. (2007). Phytase activity and degradation of phytic acid during rye bread making. *European Food Research and Technology*, 225(2), 173-181.
- Nolan, K. B., Duffin, P. A., & McWeeny, D. J. (1987). Effects of phytate on mineral bioavailability. In vitro studies on Mg²⁺, Ca²⁺, Fe³⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ (also Cd²⁺) solubilities in the presence of phytate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 40(1), 79-85.
- Nuobariene, L., Hansen, Å. S., & Arneborg, N. (2012). Isolation and identification of phytase-active yeasts from sourdoughs. *LWT-Food Science and Technology*, 48(2), 190-196.
- Nuobariene, L., Cizeikiene, D., Gradzeviciute, E., Hansen, Å. S., Rasmussen, S. K., Juodeikiene, G., & Vogensen, F. K. (2015). Phytase-active lactic acid bacteria from sourdoughs: Isolation and identification. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 766-772.
- Oberleas, D. (1983). The role of phytate in zinc bioavailability and homeostasis. *Nutritional Bioavailability of Zinc*, 210, 145-158.
- Okkers, D. J., Dicks, L. M. T., Silvester, M., Joubert, J. J., & Odendaal, H. J. (1999). Characterization of pentocin TV35b, a bacteriocin-like peptide isolated from *Lactobacillus pentosus* with a fungistatic effect on *Candida albicans*. *Journal of Applied Microbiology*, 87(5), 726-734.

- Osborne, T. B. (1907). The proteins of the wheat kernel. Publication No. 84. Carnegie Institution of Washington, Press of Judd & Detweiler. Inc., Washington DC, USA.
- Ottogalli, G. (1996). Italian bakery products obtained with sour dough: characterization of the typical microflora. *Advances in Food Sciences (CMTL)*, 18(516), 131-144.
- Quan, C. S., Tian, W. J., Fan, S. D., & Kikuchi, J. I. (2004). Purification and properties of a low-molecular-weight phytase from *Cladosporium* sp. FP-1. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 97(4), 260-266.
- Papadimitriou, K., Zoumpopoulou, G., Georgalaki, M., Alexandraki, V., Kazou, M., Anastasiou, R., & Tsakalidou, E. (2019). Sourdough Bread. In *Innovations in Traditional Foods* (pp. 127-158). Woodhead Publishing.
- Park, Y. H., Jung, L. H., & Jeon, E. R. (2006). Quality characteristics of bread using sour dough. *Journal of Food Science and Nutrition*, 11(4), 323-327.
- Paterson, A., & Piggott, J. R. (2006). Flavour in sourdough breads: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 17(10), 557-566.
- Persson, H., Nyman, M., Liljeberg, H., Önning, G., & Frølich, W. (1991). Binding of mineral elements by dietary fibre components in cereals—in vitro (III). *Food Chemistry*, 40(2), 169-183.
- Pico, J., Bernal, J., & Gómez, M. (2015). Wheat bread aroma compounds in crumb and crust: A review. *Food Research International*, 75, 200-215.
- Požrl, T., Kopjar, M., Kurent, I., Hribar, J., Janeš, A., & Simčič, M. (2009). Phytate degradation during breadmaking: the influence of flour type and breadmaking procedures. *Czech Journal of Food Sciences*, 27(1), 29-38.
- Pulvirenti, A., Solieri, L., Gullo, M., De Vero, L., & Giudici, P. (2004). Occurrence and dominance of yeast species in sourdough. *Letters in Applied Microbiology*, 38(2), 113-117.
- Qarooni, J. (1996). Flat bread technology. Springer Science & Business Media.
- Raghavendra, P., & Halami, P. M. (2009). Screening, selection and characterization of phytic acid degrading lactic acid bacteria from chicken intestine. *International Journal of Food Microbiology*, 133(1-2), 129-134.
- Ravindran, V., Ravindran, G., & Sivalogan, S. (1994). Total and phytate phosphorus contents of various foods and feedstuffs of plant origin. *Food Chemistry*, 50(2), 133-136.
- Reddy, N. R., Sathe, S. K., & Salunkhe, D. K. (1982). Phytates in legumes and cereals. In *Advances in food research* (Vol. 28, pp. 1-92). Academic Press.
- Reddy, N. R., Pierson, M. D., Sathe, S. K., & Salunkhe, D. K. (1989). Phytates in cereals and legumes. CRC Press.
- Reddy, N. R. (2001). Occurrence, distribution, content, and dietary intake of phytate. In *Food phytates* (pp. 41-68). CRC Press.
- Reddy, N. R., Sathe, S. K. (Eds.). (2001). *Food phytates*. CRC Press.
- Rezaei, M. N., Aslankoohi, E., Verstrepen, K. J., & Courtin, C. M. (2015). Contribution of the tricarboxylic acid (TCA) cycle and the glyoxylate shunt in *Saccharomyces*

- cerevisiae to succinic acid production during dough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 204, 24-32.
- Rickard, S. E., Thompson, L. U. (1997). Interactions and biological effects of phytic acid. F. Shaidi (Ed.), *Antinutrients and Phytochemicals in Food*, American Chemical Society, Washington, DC, 294-312.
- Ripari, V., Gänzle, M. G., & Berardi, E. (2016). Evolution of sourdough microbiota in spontaneous sourdoughs started with different plant materials. *International Journal of Food Microbiology*, 232, 35-42.
- Rizzello, C. G., Cavoski, I., Turk, J., Ercolini, D., Nionelli, L., Pontonio, E., Dew Angelis M., De Filippis, F., Gobbetti, M., Di Cagno, R. (2015). Organic cultivation of *Triticum turgidum* subsp. *durum* is reflected in the flour-sourdough fermentation-bread axis. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(9), 3192-3204.
- Rizzello, C. G., Lorusso, A., Montemurro, M., & Gobbetti, M. (2016). Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. *Food Microbiology*, 56, 1-13.
- Rossi, J. (1996). The yeasts in sourdough. *Advances in Food Sciences*, 18(5-6), 201-211.
- Rubel, W. (2011). *Bread: A global history*. Reaktion Books.
- Ryan, L. A. M., Dal Bello, F., & Arendt, E. K. (2008). The use of sourdough fermented by antifungal LAB to reduce the amount of calcium propionate in bread. *International Journal of Food Microbiology*, 125(3), 274-278.
- Ryan, L. A. M., Bello, F. D., Czerny, M., Koehler, P., & Arendt, E. K. (2009). Quantification of phenyllactic acid in wheat sourdough using high resolution gas chromatography– mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(3), 1060-1064.
- Sandberg, A. S. (1991). The effect of food processing on phytate hydrolysis and availability of iron and zinc. In *Nutritional and toxicological consequences of food processing* (pp. 499-508). Springer, Boston, MA.
- Sandberg, A. S., Larsen, T., & Sandström, B. (1993). High dietary calcium level decreases colonic phytate degradation in pigs fed a rapeseed diet. *The Journal of Nutrition*, 123(3), 559-566.
- Sandberg, A. S. (2001). In vitro and in vivo degradation of phytate. In: *Food phytates* (pp. 155-172). CRC Press.
- Sandström, B., Cederblad, A., Stenquist, B., & Andersson, H. (1990). Effect of inositol hexaphosphate on retention of zinc and calcium from the human colon. *European Journal of Clinical Nutrition*, 44(10), 705-708.
- Sathe, S. K., & Venkatachalam, M. (2001). Influence of processing technologies on phytate and its removal. In: *Food phytates* (pp. 173-204). CRC Press.
- Satyanarayana, T., & Kunze, G. (Eds.). (2009). *Yeast biotechnology: diversity and applications* (Vol. 78). Dordrecht: Springer.

- Schnürer, J., & Magnusson, J. (2005). Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 70-78.
- Sebastian, S., Touchburn, S. P., & Chavez, E. R. (1998). Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. *World's Poultry Science Journal*, 54(1), 27-47.
- Selle, P. H., Ravindran, V., Caldwell, A., & Bryden, W. L. (2000). Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. *Nutrition Research Reviews*, 13(2), 255-278.
- Sheng, X. Y., Hambidge, K. M., Zhu, X. X., Ni, J. X., Bailey, K. B., Gibson, R. S., & Krebs, N. F. (2006). Major variables of zinc homeostasis in Chinese toddlers-. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(2), 389-394.
- Shewry, P. R., & Tatham, A. S. (1994). Wheat endosperm proteins and their impact on human mankind. In S. Martino al Cimino (Ed.), *Wheat kernel proteins: molecular and functional aspects* (pp. 19–26). University of Tuscia: Viterbo, Italy.
- Shewry, P. R., & Tatham, A. S. (1997). Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *Journal of Cereal Science*, 25(3), 207-227.
- Simon, O., Igbasan, F. (2002). In vitro properties of phytases from various microbial origins. *International Journal of Food Science & Technology*, 37(7), 813-822.
- Schlemmer, U., Frølich, W., Prieto, R. M., & Grases, F. (2009). Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(S2), S330-S375.
- Siener, R., Heynck, H., & Hesse, A. (2001). Calcium-binding capacities of different brans under simulated gastrointestinal pH conditions. In vitro study with ⁴⁵Ca. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4397-4401.
- Siepmann, F. B., Ripari, V., Waszczyński, N., & Spier, M. R. (2018). Overview of sourdough technology: from production to marketing. *Food and Bioprocess Technology*, 11(2), 242-270.
- Singh, M., & Krikorian, A. D. (1982). Inhibition of trypsin activity in vitro by phytate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30(4), 799-800.
- Singh, N. K., Joshi, D. K., & Gupta, R. K. (2013). Isolation of phytase producing bacteria and optimization of phytase production parameters. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 6(5).
- Siragusa, S., Di Cagno, R., Ercolini, D., Minervini, F., Gobbetti, M., & 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(4), 1099-1109.
- Steiner, T., Mosenthin, R., Zimmermann, B., Greiner, R., & Roth, S. (2007). Distribution of phytase activity, total phosphorus and phytate phosphorus in legume seeds, cereals and cereal by-products as influenced by harvest year and cultivar. *Animal Feed Science and Technology*, 133(3-4), 320-334.

- Stokić, E., Mandić, A., Sakač, M., Mišan, A., Pestorić, M., Šimurina, O., Jambrec, D., Jovanov, P., Nedeljković, N., Milovanović, I., Sedej, I. (2015). Quality of buckwheat-enriched wheat bread and its antihyperlipidemic effect in statin treated patients. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 556-561.
- Sumengen, M., Dincer, S., & Kaya, A. (2013). Production and characterization of phytase from *Lactobacillus plantarum*. *Food Biotechnology*, 27(2), 105-118.
- Thiele, C., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2002). Contribution of sourdough lactobacilli, yeast, and cereal enzymes to the generation of amino acids in dough relevant for bread flavor. *Cereal Chemistry*, 79(1), 45-51.
- Thompson, L. U., Button, C. L., & Jenkins, D. J. (1987). Phytic acid and calcium affect the in vitro rate of navy bean starch digestion and blood glucose response in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 46(3), 467-473.
- Thompson, L. U. (1993). Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Food Research International*, 26(2), 131-149.
- Tieking, M., Kaditzky, S., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2003a). Biodiversity and potential for baking applications of glycosyltransferases in lactobacilli for use in sourdough fermentation. *Sourdough, from fundamentals to applications*. Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium, 58-59.
- Tieking, M., Korakli, M., Ehrmann, M. A., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2003b). In situ production of exopolysaccharides during sourdough fermentation by cereal and intestinal isolates of lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(2), 945-952.
- Todorov, S., Onno, B., Sorokine, O., Chobert, J. M., Ivanova, I., & Dousset, X. (1999). Detection and characterization of a novel antibacterial substance produced by *Lactobacillus plantarum* ST 31 isolated from sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 48(3), 167-177.
- Torre, M., Rodriguez, A. R., & Saura-Calixto, F. (1991). Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 30(1), 1-22.
- Torriani, S., Felis, G. E., & 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(8), 3450-3454.
- Turk, M., & Sandberg, A. S. (1992). Phytate degradation during breadmaking: effect of phytase addition. *Journal of Cereal Science*, 15(3), 281-294.
- Turk, M. A. (2000). Cereal-and microbial phytases: Phytate degradation, mineral binding and absorption.
- Ullah, A. H., & Gibson, D. M. (1987). Extracellular phytase (EC 3.1. 3.8) from *Aspergillus ficuum* NRRL 3135: purification and characterization. *Preparative Biochemistry*, 17(1), 63-91.
- Umeta, M., West, C. E., & Fufa, H. (2005). Content of zinc, iron, calcium and their absorption inhibitors in foods commonly consumed in Ethiopia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(8), 803-817.

- Valerio, F., De Bellis, P., Lonigro, S. L., Visconti, A., & Lavermicocca, P. (2008). Use of *Lactobacillus plantarum* fermentation products in bread-making to prevent *Bacillus subtilis* rosy spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 122(3), 328-332.
- Vidal-Valverde, C., Frias, J., Sotomayor, C., Diaz-Pollan, C., Fernandez, M., & Urbano, G. (1998). Nutrients and antinutritional factors in faba beans as affected by processing. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 207(2), 140-145.
- Viiard, E., Bessmeltseva, M., Simm, J., Talve, T., Aaspõllu, A., Paalme, T., & Sarand, I. (2016). Diversity and stability of lactic acid bacteria in rye sourdoughs of four bakeries with different propagation parameters. *PloS one*, 11(2), e0148325.
- Viveros, A., Centeno, C., Brenes, A., Canales, R., & Lozano, A. (2000). Phytase and acid phosphatase activities in plant feedstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4009-4013.
- Vohra, P., Gray, G. A., & Kratzer, F. H. (1965). Phytic acid-metal complexes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 120(2), 447-449.
- Wang, Y., Zhu, W., & Levy, D. E. (2006). Nuclear and cytoplasmic mRNA quantification by SYBR green based real-time RT-PCR. *Methods*, 39(4), 356-362.
- Weaver, C. M., & Kannan, S. (2002). Phytate and mineral bioavailability. *Food Phytates*, 2002, 211-23.
- Weckx, S., Van der Meulen, R., Allemeersch, J., Huys, G., Vandamme, P., Van Hummelen, P., & De Vuyst, L. (2010). Community dynamics of bacteria in sourdough fermentations as revealed by their metatranscriptome. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(16), 5402-5408.
- Wenning, M., & Scherer, S. (2013). Identification of microorganisms by FTIR spectroscopy: perspectives and limitations of the method. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(16), 7111-7120.
- Wehrle, K., & Arendt, E. K. (1998). Rheological changes in wheat sourdough during controlled and spontaneous fermentation. *Cereal Chemistry*, 75(6), 882-886.
- Wise, A. (1983). Dietary factors determining the biological activities of phytate. In *Nutrition Abstracts and Reviews (series A)*, 53, 791-806.
- Wodzinski, R. J., & Ullah, A. H. J. (1996). Phytase. In *Advances in applied microbiology (Vol. 42, pp. 263-302)*. Academic Press.
- Wolters, M. G. E., Diepenmaat, H. B., Hermus, R. J. J., & Voragen, A. G. J. (1993). Relation between in vitro availability of minerals and food composition: a mathematical model. *Journal of Food Science*, 58(6), 1349-1355.
- Yoon, J. H., Thompson, L. U., & Jenkins, D. J. (1983). The effect of phytic acid on in vitro rate of starch digestibility and blood glucose response. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 38(6), 835-842.
- Zhang, J., Liu, W., Sun, Z., Bao, Q., Wang, F., Yu, J., Chen, W., 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(5), 767-774.

Sekanslanan Laktik Asit Bakterilerinin 16s rDNA Gen Dizilimleri

ELB46 Lactobacillus plantarum

CAACTGAAGGGGCCGGCGTGGAATCTCCAAGCTAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAG
TGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTC
AAAGGAATTGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTAC
GCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCT
TCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTTGG
GTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACT
CTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATG
CCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTC
GCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGC
CTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCC
CGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGG
GGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCCTAAGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAA
CAAGGTAGCCGTAGGAGAACCTGCGGTGTCTACACCCCTTCCACAAC

ELB75 Lactobacillus plantarum

AGGTTAAAAAAGGTTTGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTA
ACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGA
CGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTT
ACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGG
ATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGC
AACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTG
CCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCTTTATGCCCTTATGACCT
GGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCT
AATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA

CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACAACCCAAAGTCGGGTGGGGTAACCTTTT
AGGGAACCAGCCGCCTAAAGGTGGGAACAGATGAATAAGGGTGGAAAGTCGTAACCAGG
GAAGCCGTAAGGAAAAACCTGGGGGTGGATTACCCTTCCTTTAAACCG

ELB89 *Lactobacillus pentosus*

TGGTTAACAGAATGATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAAC
GCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACC
GGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCTACGCGAAGAACCTTAC
CAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGAT
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACAACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGG
AACCAGCCGCCTAAGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAG
GAGAACCTGCGGTGATTATCACACCTTTCTCTTA

ELB37 *Lactobacillus pentosus*

GGCACCTAACTTTTGATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAA
CGCATTAAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCTACGCGAAGAACCTTA
CCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGA
TACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCA
ACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGC
CGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTG
GGTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCT
AATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACAACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAG
GAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGT
AGGAGAACCTGCGGTGGTTTACACCTCCTAAAC

ELB41 *Lactobacillus pentosus*

ACGGCTAACGATGATGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGAT
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAG
AACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GGAGAACCTGCGGTTGGTTTCACCCTCCTCCAAC

ELB62 *Lactobacillus plantarum*

GAATTAACATCCGTCCTATGCTAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTA
ACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGA
CGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTT
ACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGG
ATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGC
AACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTG
CCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCT
GGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCT
AATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAG
GAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGT
AGGAGAACCTGCGGTTGGATTTCACCCTCCTAAAC

ELB96 *Lactobacillus plantarum*

CTTCTTATCGTCTGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAA
CGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGAC

GGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTA
CCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGA
TACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCA
ACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGC
CGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTG
GGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCT
AATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAG
GAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGT
AGGAGAACCTGCGGTTGGTTCACCTCCTACTAC

ELB43 *Lactobacillus plantarum*

CCGTTTCCTTATAACCCATAGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGC
TAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATT
GACGGGGGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACC
TTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACAT
GGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCC
GCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGAC
TGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGAC
CTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAG
CTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGT
CGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
CACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTT
AGGAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCC
GTAGGAGAACCTGCGGTATACTCCCCCCCCCAATACC

ELB52 *Lactobacillus plantarum*

ATTCGGCATACTTCTTGTAAGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAG
CTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAAT
TGACGGGCTGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAA
CCTTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGAC
ATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGT

CCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTTAAGTTGGGCACTCTGGTG
AGACTGCCGGTGACAAACCCGGAGGAAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCT
TATGACCCTGGGCTACACACGTGCTACAAGGGATGGGACAACGAGTTGCGAATTCGCGA
GAATAAACTTATTCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGGTAGGCTGCCACTCCGCC
TACTTGAGTCGGAATCCTTGTAATCGCGAATAACATGCCGCGGTGAAATACGTTCCCGG
GGCCTTGTACAACCCGCCCTTACACCTTAGAATTTGGAACCCCAAATCGGGGAACT
TTTAGAAACCAGCCCCTAAGGTGGAACAATGATTAGGGTGAATCCTACAAGGTGCCTA
TGGAGAACCGGGGTTGGTACATCCTCATAAAAC

ELB90 *Lactobacillus plantarum*

GGTAGGGGGGGCGATGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGAT
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTA
ATCTTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCCGCCTACCATGAAGT
CGGAATCGGCTAGTTATTCGGCGGATATCAGCATGGCCGGCGGTGTGAATACGTTTCCC
GGGGCCTTGGTCAACACACGCGCCGTGTCAACACACACATGTAGAGAGTGTGTGTGTAA
CACACCACAGAGTGTGCGTGTGTGGGGTAACTCTTTTAGAGAACACAGCCGCCCTATAG
GGGGGAAAAATGAATTTGGGGTGTAAATTCTAAAAAGGGTACCCTTGAGAAACACGGG
TGGGTACCCCCCTCCAAAAAAA

ELB80 *Lactobacillus plantarum*

CCCGCTACGATGATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGAT
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGG

GCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGG
AACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GGAGAACCTGCGGTTGTTACCCCTCCTACGACTGCTTCGTTGCGACGACCTCACCTA
ATCAGTCTGTCACCTTGGCGCGGCTGGTTCCTAAAGGGTACCCACCGACTTTGGGTGT
TACAAACTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGGCGGGGAAAGGTATTTCGCGC
ATGCTGATCGCGATGTACAGCGATTGACTCATGTAGGCGAGTTGCAGCTACATCGAAC
TGAGAATGGCTTTAGAGATAGCTACTCTGCAGTTGCACTGTGTACATCATGTAGCAGTG
TGTAGCAGGTCATAGGCATGAATGATTGACGTCATCCTCTTCGTTTGTGCGGCCTCAAG
GATGCGCATCATGGCTGGCCAGTCGATAATAAGGTTGGCTTCGGTATACTACTACAGAGT
GAACCATGTACACCGGACACAGT

ELB93 *Lactobacillus plantarum*

CGCTAACTATATGTATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAAC
GCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTAC
CAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGAT
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGG
AACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GAGACCTGCGTGATTAACACCCTCATTACTACGGTACTTGTACGACTTCACCCTAATC
ATCTGTCCACCTTAGGCGGCTGGTTCCTAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAAA
CTCTCAGGTGTGACGCGGGTGTGTTACAAGGCCGGAACGTATTCACCGCGCATGCTGA
TCCGGTTACAGGATCCACTCATGTAGGCAGGTGCGCCCTACTCGCACTGGAATGCTT
TAGAATAAGCTCACTCTCGCGAGTTGCACTGGTGGTCACTCTGGACAGGTGTGCAGGTA
AGGCCGTACGAATAAATTCCTCCTGTTGCGTCAGGACCAATATGTCGGCAGAT

ELB58 *Lactobacillus plantarum*

GTCAATTTTCATAGTATGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGAT
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGG
AACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GGAGAACCTGCGGTGTTACACACCCTCCCTATAACGGCTACCTTTGTTACGACTTTCAC
CCTAATCATCTGTCCACCTTAGGCGGCTGGTTTCTAAAAGGTTACCCACGACTTTGGGT
GTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGCGGGAACGTATTCACGCGGC
ATGCTGATCGCGATTACTAGCGATTTCGACTTCATGTAGCCAGTTGCAGCTACATCGACT
GAGAATGCTTAAAGAGATAGCTACTCTGCAGTGCAACGTTGTACATCATGTAGCACGTGT
GTAGCCAGTCATAGGGCATGAATGATGAGCATCCTTTTCGTGTACGATTCAAAGGCCAT
AACTGCACGTAATAAGTGCTGATTAACATTTCGCGGTTGCAGCT

ELB92 *Lactobacillus plantarum*

TAAACAATGAATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCAT
TAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAG
GTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACA
GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGA
GCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGT
GACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCT
CTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG
CCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACC

AGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAG
AACCTGCGGTTGTTTCACACCTCCTCTAACGCTACCTTTGTTACGACTTCACCCTAATC
ATCTGTCCACCTTAGGCGGCTGGTTCTAAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAA
ACTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCGGGAACGTATTCACGCGGCATGCT
GATCGCGATTACTAGCGATTTCGACTTCATGTAGCAGTTGCAGCTACAATTGGAAGTGA
AATGGCTTAGAGATTAGCTTACTCTGCGAGTTGCCACTGTTGTACATCATTGTAGACAG
TGTTGTAGCCAGTCATAAAGGGCATTGATGATTGACTCATCCACACTCTCGTTGTACGG
CTCACAGAGGCGACATATAGTGCGCCATGGCAATATATAAAGGTGGTCTTGGTTACACA
TTCAAGGTGTGACAGCTACCTA

ELB85 *Lactobacillus plantarum*

TCGCTAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGTGCAGCTAACG
CATTAAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCCGGGGACATGGAT
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGG
AACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GGAGAACCTGCGGTTTCATATTACCCCTCCTCCTACGTTTCTTTGTTACGACATCACCT
AATCATCTGTCCACCTTAGGCGGCTGGTTCCTAAAAGTTACCCACGACTTGGGTGTTAC
AAACTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGCGGGAACGTATCACGCGGCATGCTGA
TCGCGATTACAGCGATTTCGACTCATGTAGGCAGTTGCAGCTACAATCGAACTGAGAATG
GCTTTAGAGATAGCTACTCTCAGTGCCTCGTTGTACATCATGTAGCAGGTGTTAGCCA
AGGGTCTTAGGGCATGAGTGGATTGGACTATCACACTTCTGGTTGTACGCAGTCTCAAG
AGCACCTATATCTGCATGAATATAAGTGTCTTCGGTTAACTTACAGGTGCACCAGTCAG
TGAT

ELB51 *Lactobacillus plantarum*

GCAACTAATTGCGTATGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGAT
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGG
AACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GGAGAACCTGCGGTTGGATCACCTCCTACAACGG

ELB86 *Lactobacillus plantarum*

TCCTTAACTATTTGTATGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAAC
GCATTAAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCTACGCGAAGAACCTTAC
CAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGAT
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGG
AACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GGAGAACCTGCGGTTTATCACACCTCTCTACCGC

ELB79 *Lactobacillus plantarum*

ATGCTAACGATGATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC

AGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGAT
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGG
AACCAGCCGCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GGGAGAACCTGCGTGTTATAACAACCTCTCTTACAGACCGGCTTCCGTTTGGTTACGAA
CCCTCACCTAATCATGCTGTCCACCTTGAGGGCGGCTGGTTTCCATAAAAGGTTACCCC
ACCGACTTTGGGTGTTACAACCTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGTCGGGGAAC
GTATTCACGCGCATGCTGATCGCGATACAGCGATCACTTCATGTAGCAGTGCAGCTACA
TCGACTGAGAATGCTTAGAGATTAGCTTACTCTGCAATGCACTGTGTACATCATGTAGC
AGTGGTAGCAGTCATAGCATGATGATTGACTATCCACTTCGGTGTACGGTCCAAGTCCA
TATGGCAGTAATAAGTATGGCTTCGTATTACTGACGGTGCTAACAGTTACTC

ELB78 *Lactobacillus plantarum*

ATGATACGATGATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCA
TTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAG
GTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACA
GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGA
GCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGT
GACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCT
CTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG
CCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACC
AGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAG
AACCTGCGGTGTTCTAACCCTCCCTCCAACGGCTACCTTTGTTACGACTTCACCCTAAT
CATCTGTCCACCTTAGGCGGCTGGTTTCTAAAAGTTACCCACGACTTTGGGTGTTACAA
ACTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGCGGGAACGTATTCACGCGGCATGCTGAT

CGCGATTACTAGCGATTTCGACTCATGTAGCAGTTTGCAGCTACATCGAACTGAGATGGC
TTTTAGAGATAGCTACTCTGCAGTTTCACTGATGTACATCATGGTAGCAGTGTGTAGCA
GGTCATAGGGCATGATGAATTGACGTCATCATCTCGATTGTACCGCATCAAAGGCACT
TATGTCTGGCATGTATATATTAAGTGCTTTCGGATTTACATCACAGGTGACACAATG
GTCATACGTGAT

ELB60 *Lactobacillus plantarum*

TTTCCCGGATCATTTCGTTTAGCTAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGC
TAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAACTCAAAGGAATT
GACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACC
TTACCAGGTCTTGACATACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACAT
GGATACAGGTGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCG
CAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACT
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACC
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGC
TAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTC
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTA
ACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTA
GGAACCAGCCGCCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCG
TAGGAGAACCTGCGGTTGGATCCACCCTCCTGTAACGGCTACCTTTGTTACGACTCACC
CTAATCATCTGTCCACCTTAGGCGGCTGGTTTCTAAAAGGTTACCCACCGACCTTGGG
TGTTACAACTCTCAGGGTGTGACGGCGGTTGTGTACAAGCCGGGAACGTATTCACGC
GGCATGCTGATCGCGATAACCAGCGATTTCGACTTCATGTAAGCAGTTGCAGCTACAATCC
GAACTGAGATGGCTTAGAGATAGCTACTCTCGAGTTGCAACTCGTGTACATCATTGAAG
CATGTGTGTAGCCAGGCTTATAGGACGATGATGATTAGACATCTCACTCTCGGTAGTAC
GCAATCAGAGCCACTATATGCTGACATAGTAATAAAGGATGGCTGTGGAGTTACAC

HEB22 *Lactobacillus brevis*

GACTTATCCGTATGAGTTGCTAAGTTGTTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCT
AACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTG
ACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACC
TACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGA
ATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCG

CAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACT
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACC
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGTGAGGCTAAGC
TAATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCCGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTT
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGG
GAGTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGT
AGGAGAACCTGCGGTTGGATCACCTCCTTCATACT

ELB17 *Lactobacillus brevis*

CTTTCGGCCCAATGAGGTGCTAGATGTTGGAGGGTTTGCGCCCTTCAGAGCTGCAGCGG
ACAGACTTTGCACTCCCCGGGGGAGTACGACTGCGTGGTTTTGGATCACCTCCTTGAC
GGGGGCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTA
CCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAAT
GACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCA
ACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGC
CGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTG
GGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCCGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGGA
GTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAG
GAGAACCTGCGGTTGGTTCCACCTCCCTTA

HEB34 *Lactobacillus brevis*

CTTCGTACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAATGA
CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAAC
GAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCG
GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGG
CTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAAT

CTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACAC
CGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGGAGT
CAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGA
GAACCTGCGGTTGTTCTCACCCCTCCTGCGTACGCTTCCTTGGGTTACGACTCACCTAAT
CAGTCTGTCCATCTGTAGAGCGGCTGACTCCGGAGAGGTTATCTCACCGGCTTTGGGTG
TTACAAACTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGGCCGGAACGTATCACGCGGCA
TGCTGATCGCGATTACAGCGATTCACTTCAGTAGGCAGTTGCAGCTACAATCGAACTGG
AGACGGCTTTAGAGATAGCTAGCTAGACTCGACTCGTGTACGTCATGTAGCAGTGTGTT
AGCCAGTCATAGGCATGAATGATTGAGTATCCATTCTCGTTGTACGGCGTCAACGGTCA
TGAAGTCTGCGCCAGTATATAAGTTGGCCTTTCGGTAACACTTGATCAGGTGACAACGG
T

HEB35 *Lactobacillus brevis*

ATCGCAAGAATGAGTGCTAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAATGA
CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAAC
GAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCG
GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGG
CTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAAT
CTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACAC
CGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGGAGT
CAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGA
GAACCTGCGGTTGTTACTCCACCTTTCTACGGAACGGCTAGCTTGGTTACGACCTCACC
CTAATCATCTGTCCATCTGTAGACGCTGACTCGCGAGAGTTATCTCACGGCTTTGGGTG
TTACAAACTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGCGGAACGTATTCACGCGGCATG
CTGATCGCGATTACAGCGATTCCACTTCATGTTAGGCAGTTTGCAGCCTACATTCGGAA
CTGAGAACGCTTAAGGAATAAGCTTAAGCCTCAGCACTCTCGCACTCTGTTTGTACGC
TCTATGTAACCAGGTGTGGTCCAGGTTAAGGGCGATTATTTGACTTCATTTCTGTGTACG
TTCAAGCTCAATTGTCGTCGCAG

HEB39 *Lactobacillus brevis*

TTCGCAACGATGAGTGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAATGA
CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAAC
GAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCG
GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGG
CTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAAT
CTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACAC
CGCCCGTACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGGAGT
CAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGA
GAACCTGCGGTGTATCACACCCTCCTCAAACGGCTACCTTGGTTACGACATCACCTA
ATCATCTGTCCACCTTAGACGGCTGACTCCGAAGGTTATCTCACGGCTTTGGGTGTTAC
AACTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGCCGGAACGTATTCACGCGCATGCTGA
TCGCGATTACAGCGATTCACTTCAGTAGGCAGTTGCAGCTACATCGAACTGAGAACGCT
TTAGAGATTAGCTAGCTCAGACTCCGACTCGTGACGTCATTGTAGCAGTGTGTAGCAA
GTCATACGGGCATGATGAATTGACGTCATCACCTCTCCGTTTGGTACGGCGTCAAAAGT
ACCACTGAATGTGCGCCAGTATATATAGGGTGC GTGCGATTACACTAGACAGTGTAACCA
GTGGCTCAGTACT

HEB9 *Lactobacillus brevis*

CCGTAAGATGAGTGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCAT
TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAG
GTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAATGACA
GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGA
GCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGT
GACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAATCT
CTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG

CCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGGAGTCA
GCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGA
ACCTGCGGTGTATACCCCTTCCTTACCTACCGGCTACCTTGTTACGACTCACCTAATCA
GTCTGTCCACCTGTAGGGGCTGACTCCGAAGGTTATCTCACGGCTTTGGGTGTTACAAA
CTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGCGGGAACGTATCACGCGCATGCTGATCGC
GATTACAGCGATTCACTTCAGTAGCAGTTGCAGCTACATCGAACTGAGACGCTTAGAGA
TAGCTAGCTCGACTCGACTCGTGTACGTCATTGTAACAGGTGGTTAGCAGTCATACGGG
CATGATGAATTGACTATCATCTCGCTTGTACGGTCAAAGTCCATAAGTCTGCACAGTAT
ATATGTGCATTCGGGGTACATGACAGTGAAACAGTGCA

ELB15 *Lactobacillus brevis*

GGCGGCACAAAGAGTGCTAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAATGA
CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAAC
GAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTGAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCG
GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGG
CTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAAT
CTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACAC
CGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGGAGT
CAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGA
GAACCTGCGGTTGATCACCCCTCCTATAAACGGCTACCTTTGTTACGACTTCACCTAAT
CATCTGTCCACCTTAGACGCTGACTCCGAAAGTTATCTCACCGGCTTTGGGTGTTACAA
ACTCTCAGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGGCGGGAACGTATTCACGCGCATGCTGATC
GCGATTACAGCGATTCACTTCATGTAGGCAGTTGCAGCTACAATCGAACTGAAACGGCC
TTAGAGATTAGCTTAGCTAGACTTCGGACTCGTGTACGTTTCATTGTTACAGGTGTGGTA
GTCCACGTCATAAGGGGCATGATGATTGACTATCACTTCGTTGTTACGGCGTCTCAAAG
CACCTGATGCTGACGTGATAATAGTGTGTCTTCGGATTACACATTCAGGTGAGTCAAC
GTC

HEB30 *Lactobacillus brevis*

TGGAACAATGAAATGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGC
ATTAAGCACTCCGGTTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATAGACGG
GGGCCCCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCTACGCGAAGAACCTTACC
AGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAATGA
CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAAC
GAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCG
GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGG
CTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAAT
CTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAA
TCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACAC
CGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGGAGT
CAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGA
GAACCTGCGGTTGGTTTACACCCTCCCTACATACGG

HEB33 *Lactobacillus brevis*

ATCGCACAAGAGTGCTAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCAT
TAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGG
GCCCCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAG
GTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAATGACA
GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGA
GCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGT
GACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTAATCT
CTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGGAATC
GCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG
CCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGGAGTCA
GCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGA
ACCTGCGGTGTAAACCCCTTCTACCGACCGCTACCTTCGTTACGACCTCACCTAAAT
CGTCTGTCCATCTGTAGGCGGCTGACTCGCGAGAGGTTATCTCACGGGCTTTGGGTGTT
ACAAACTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGGCCGGGAACGTATTCACGCGGCAT
GCTGATCGCGATTACAGCGATTCACTTACAGTAGCAGTTGCAGCTACATCGAACTGAGAA
CGCTTAGAGATAGCTAGCTCAGACTCGACTCGTGTACGTCATTGTAGCAGTGTGTAGCA

GTCATAAGGCATGATGAATTGACTCATCACTCTCGTTGTACGGTCAAAAGTCACGGTAT
ATGCTGCAGTAATATAGTGCTTGGCATACTAGAACAGGTGCACAACATGCACGCCGT

ELB5 *Lactobacillus brevis*

GCGTTCGCCAACAAATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCT
AACGCATTAAGCACTCCGGTTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATT
GACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCTACGCGAAGAACC
TTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAG
AATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCC
GCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGAC
TGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGAC
CTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAGTCGTGAGGCTAAG
CTAATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGT
TGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTA
CACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCG
GGAGTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCG
TAGGAGAACCTGCGGTTGGTTCACCTCCTTCATAC

ELB25 *Lactobacillus brevis*

CAATTCCTCCCATCCCCCGGGTCTCATTTAGTGCTAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTC
AGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCTTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAAC
TCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCT
ACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCC
CTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTT
GGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCA
CTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCA
TGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTCGCGAAG
TCGTGAGGCTAAGCTAATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTC
GCCTACATGAAGTTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTT
CCCGGGCCTTGACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGGCGGG
TGAGATAACCTTCGGGAGTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTTAGGGTGAAA
GTCGTAACAAGGGTAGCCGTAGGAAGAACCTGCGGTTGGGATCATCCTCCTTAAT

ELB27 *Lactobacillus brevis*

TTTCCGAATAATATGAAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCT
AACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTG
ACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCT
TACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGA
ATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCG
CAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACT
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACC
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGC
TAATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTT
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGG
GAGTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGT
AGGAGACCTGCGTGTTACATACTCACCTCCATCATAAAA

ELB100 *Lactobacillus brevis*

CTGAAATTTTGGTCTAGATGCTAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCT
AACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTG
ACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCT
TACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGA
ATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCG
CAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACT
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACC
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGC
TAATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTT
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGG
GAGTCAGCCGTTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GGAGAACCTGCGGTTGGTACTCACCTCCTGCATACG

ELB101 *Lactobacillus brevis*

TGCGCCTACCGTTGAGTGCTAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAAC
GCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTAC

CAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAATG
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGGA
GTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAG
GAGAACCTGCGGTTGTTTAAACCCTCCTCATACGCTACTTTGTTACGACTTCACCCTAAT
CATCTGTCCACCTTAGACGCTGACTCCGAAAGTTATCTCACCGGCTTTGGGTGTTACAA
ACTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGCCGGGAACGTATTCACGCGGCATGCT
GATCGGCGATTACAGCGATTTCACTTCATGTAGGCAGTTGGCAGCTACATTCGAACTGG
AGAACGGCTTTAGAGATTAAGCTTAGCTCGACTCCACTCGTGTTACGTCATTGTTAGCA
GGGGTGTAGCCAAGGTCATAAGAGGGGCATGATGATTTGGACGTCATCTCACTTCTTG
CGTGTGTGACGGCGCTTACACAGTGCGCAGTCGGAAGTGACTGGCCAACCTGATCGGA
TATATATAAGGTGGCTTTTGGGGATATCACATACTTTCACAGCGTGAGTGAGACCAGA
GTCAGTCGCGA

ELB104 *Lactobacillus brevis*

TGCGCCTACCGTTGAGTGCTAGTGTGGAGGGTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAAC
GCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTAC
CAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAATG
ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAA
CGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCC
GGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGG
GCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCTA
ATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTGG
AATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACAC
ACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGGA
GTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAG
GAGAACCTGCGGTTGTTTAAACCCTCCTCATACGCTACTTTGTTACGACTTCACCCTAAT

CATCTGTCCACCTTAGACGCTGACTCCGAAAGTTATCTCACCGGCTTTGGGTGTTACAA
ACTCTCAGGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCGGAACGTATTCACGCGGCATGCT
GATCGGCGATTACAGCGATTTCACTTCATGTAGGCAGTTGGCAGCTACATTCGAACTGG
AGAACGGCTTTAGAGATTAAGCTTAGCTCGACTCCACTCGTGTTACGTCATTGTTAGCA
GGGTGTTAGCCAAGGTCATAAGAGGGGCATGATGATTTGGACGTCATCTCACTTCTTG
CGTGTGTGACGGGCGTCTACACAGTGCGCAGTCGGAAGTGACTGGCCAACTGATCGGA
TATATATAAGGTGGCTTTTGGGGATATCACATACTTTCACAGCGTGAGTGAGACCAGA
GTCAGTCGCGA

ELB105 *Lactobacillus brevis*

TGGCCCCCTACTTTAGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCT
AACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTG
ACGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCT
TACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGA
ATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCG
CAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACT
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACC
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGC
TAATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTT
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGG
GAGTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGT
AGGAGAACCTGCGGTTGGTTCCACCTCCTTATAC

ELB32 *Lactobacillus brevis*

CTGGCCAACAGTTGAGATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTA
ACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGA
CGGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTT
ACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAA
TGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGC
AACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTG
CCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCT
GGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTTGCGAAGTCGTGAGGCTAAGCT

AATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGG
AGTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GGAGAACCTGCGGTTGGTTTCCACCTCCTA

ELB99 *Lactobacillus brevis*

TCCGGCAACAGAATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTA
ACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGA
CGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCTACGCGAAGAACCTT
ACCAGGTCTTGACATCTTCTGCCAATCTTAGAGATAAGACGTTCCCTTCGGGGACAGAA
TGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGC
AACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTCAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTG
CCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCT
GGGCTACACACGTGCTACAATGGACGGTACAACGAGTTGCCAAGTCGTGAGGCTAAGCT
AATCTCTTAAAGCCGTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTTG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACA
CACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCAAAGCCGGTGAGATAACCTTCGGG
AGTCAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTA
GGAGAACCTGCGGTTGTTCCCACCCCTCCCTCATACGCTACCTTGTTACGACTTCACCCT
AATCATCTGTCCACCTTAGACGGCTGACTCCGAAGTTATCTCACGGCTTTGGGTGTTAC
AAACTCTCAGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAGGCGGGAACGTATTCACGCGGCATGCTG
ATCGCGATTACAGCGATTCACTTCATGTAGGGCAGTTGCAGCTACAATTCGAACTGAGA
AACGCTTTTAGAGATTAGCTTAGCTTCGACTTCCACTCGTGTACGTCATTGTAGCAGTG
TTGTAGCCACGTGCATAAGGGGCATGAATGGATTGGAGCCTCATCACTCTTCGTGTTAC
AGCGGCGTCTAACAGGTACACGTAATGACGTGGCTCAGCTGACATATATGGGTGGTCTT
GGGGATATTACACACATTGCAGACGGTGTAGTGAACAGTAACG

Sekanslanan Mayaların 26s rDNA Gen Dizilimleri

78STM4 *Saccharomyces cerevisiae*

GTGAAGCGGCAAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTT
GGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGA
GGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCG
AG

LABE25M *Saccharomyces cerevisiae*

CGGGGCATGCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTAC
CTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGT
TCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTT
TGTAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATATA

LABE33M *Saccharomyces cerevisiae*

CGGGCATGCCTTAGTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACC
TTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTT
CCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATATA

78SM3 *Saccharomyces cerevisiae*

GTGAAGCGGCAAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTT
GGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGA
GGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCG
AG

61TM3 *Saccharomyces cerevisiae*

TTAGTACGGCGAGTGAGCGGCAAAAAGCTCAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGA
GTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTTCCCTTGGAACAGG
ACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTTGTAAAGTGCCTT
CGAA

TGM61 *Saccharomyces cerevisiae*

AGGTATGCCTTAGTACGGCGAGTGAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCT
TCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTTT
CTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATATA

LABE42M *Saccharomyces cerevisiae*

CGGGTATGCTTAGTAACGGCGAGTGAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACC
TTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTT
CCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATATA

LABE41M *Saccharomyces cerevisiae*

CGGGGGATAGTCCTTTTAGTAACGGCGAGTGAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCT
GGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCT
TATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCG
GTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATATA

LABE39M *Saccharomyces cerevisiae*

GGCCATGCTTAGTAACGGCGAGTGAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTT
CGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTTCC
TTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTTG
TAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATATA

LABE19M *Saccharomyces cerevisiae*

CGGTATGCCTTAGTACGGCGAGTGAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTT
CGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTTCC
TTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTTG
TAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATATA

LABE16M *Saccharomyces cerevisiae*

CGGTCATGCCTTAGTACGGCGAGTGAGCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCT
TCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTTT

CTTGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTT
GTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATATA

TGM33 *Saccharomyces cerevisiae*

AAAAAACCTGGGTGATTGCACGTGTTGCTTAGAAGGCGGTGAAGCGGCAAAGCTCAAA
TTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCC
GTTCTTTGTCTATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCG
AGGAGTGCGGTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTC
TAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACA
AGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAA
ATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGTGTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGT
GGGTAGGGGAATCTCGCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCC
ATAGGAATGTAGCTTGCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGG
ACTGAGGACTGCGACGTAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTA
ANANAGGGGNCCAAAAANAAAA

TGM38 *Saccharomyces cerevisiae*

CCCGACGTTGATATAGCTGACTACGGCGAGTGAAGCGGCAAAGCTCAAATTTGAAATCT
GGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTC
TATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCG
GTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGG
TGGTAAATCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGT
GATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTTGTTGA
AAGGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGTGTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGG
GAATCTCGCATTTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAAT
GTAGCTTGCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGAC
TGCGACGTAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTTGAAAANNGGG
NGAAAAAAA

TGM41 *Saccharomyces cerevisiae*

CAACGGGGGTATGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAAGCTCAAATTTGAAATCT
GGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTC
TATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCG
GTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGG

TGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGT
GATGGAAAGATGAAAAGAAGCTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGA
AAGGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGTGTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGG
GAATCTCGCATTTCCTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAAT
GTAGCTTGCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGAC
TGCGACGTAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGCTGAAAANNGG
GCCAAAAAAA

TGM10 *Saccharomyces cerevisiae*

CAAACGGGGTATGGCTTAGTACGGCGAGTGAGCGGCAAAGCTCAAATTTGAAATCTGG
TACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTA
TGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCAGT
TCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTG
GTAAATTCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTGA
TGGAAGATGAAAAGAAGCTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAA
GGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGTGTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGA
ATCTCGCATTTCCTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGT
AGCTTGCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTG
CGACGTAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCAAAAAANANNAA
AAAAAAA

TGM55 *Saccharomyces cerevisiae*

ACAACGGGGTATGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAAGCTCAAATTTGAAAT
CTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTG
TCTATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGC
GGTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGG
GTGGTAAATTCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAG
TGATGGAAAGATGAAAAGAAGCTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGA
AAGGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGTGTTTGTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGG
GAATCTCGCATTTCCTGGGCCAGCATCAGTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAAT
GTAGCTTGCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGAC
TGCGACGTAAGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCAAAAAANNGG
GGGAAAAAAA

TGM22 *Torulaspota delbrueckii*

AGTTGTTTGGATGGCTGCGCAGCCCGCTACGGCGAGTGAGACGGCAAAGCTCAAATTTG
AAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATATTGTAGAAGGTAACCTTTGGGGCTGGT
CCTTGTCTATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCCTGTGGCGAGG
ATCCCAGTTCTTTGTAAAGTGCTTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGGATATA

TGM24 *Torulaspota delbrueckii*

CCTCCCAACCCCTACGGCGAGTGAGCGGCAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTT
CGGTGCCCGAGTTGTAATTTGTAGAAGGTAACCTTTGGGGCTGGTCCTTGTCTATGTTCC
TTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCCTGTGGCGAGGATCCCAGTTCTTTGT
AAAGTGCTTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGGAAATA

TGM26 *Torulaspota delbrueckii*

TAGTTTTAGGGCTGCCACCCCTACGGCGAGTGAGCGGCAAAGCTCAAATTTGAAATC
TGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGTAGAAGGTAACCTTTGGGGCTGGTCCTTGT
CTATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCCTGTGGCGAGGATCCCA
GTTCTTTGTAAAGTGCTTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATATA

TGM15 *Torulaspota delbrueckii*

GAAGATCTGTTCTTTGTAACGCCGCTCTGAACGGTACAACGGACGAGTGAGCGGCTAA
AGCTCAAATTTGAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGTAGAAGGTAAC
TTGGGGCTGGTCCTTGTCTATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCC
GTGTGGCGAGGATCCCAGTTCTTTGTAAAGTGCTTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGA
ATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGA
TAGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAG
TACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGTTTTGCGCCCTCT
GCTCCTTGTGGGTGGGGGAATCTCGCATCTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGGCGGCAG
GATAAATCTGCAGGAATGTAGCTTGCCCTCGGTAAGTGTTATATCCTGTAGAAATACTG
CCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACTTTACGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGC
CGCCCCTCTT

TGM20 *Torulaspota delbrueckii*

CCAACGTGGGCATGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGGCAAAGCTCAAATTTGAAATCT
GGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGTAGAAGGTAACCTTTGGGGCTGGTCCTTGTG

TATGTTCCCTTGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGATCCCAG
TTCTTTGTAAAGTGCTTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGT
GGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACAGTG
ATGGAAAGATGAAAAGAAGCTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAA
AGGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGTTTTGCGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTGGGG
AATCTCGCAGCTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGCGCGCAGGATAAATCTGCAGGAATG
TAGCTTGCTCGGTAAGTGTTATATCCTGTAGAAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACT
GCGACTTTACGTCAAGGATGCTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGAAAAACCG
GAACCAA

TGM19 *Torulaspora delbrueckii*

AACAAGCTGGGTGTATTGCGAGCGATGCTCAAACGGCGAGTGAGCGGCAAAGCTCAAA
TTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGTAGAAGGTAAGTTTGGGGCT
GGTCCTTGTCTATGTTCCCTTGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCG
AGGATCGCGGTTCTTTGTAAAGTGCTTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTC
TAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACA
AGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAAGCTTTGAAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGAA
ATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGTTTTGCGCCCTCTGCTCCTTGT
GGGTGGGGGAATCTCGCATCTCACTGGGCCAGCATCAGTTTTGCGCGCAGGATAAATCT
GCAGGAATGTAGCTTGCTCGGTAAGTGTTATATCCTGTAGAAATACTGCCAGCTGGGA
CTGAGGACTGCGACTTTACTTCAAGGATGCTGGCTTATTGTTTATTTGCCCCCTCTAA
AANNNGGAC

LABE10M *Wickerhamomyces anomalus*

CAGGGAAATGCCTCAGTAAACGGCGAGTGAAGCGGCAAAGCTCAAATTTGAAATCTA
GCACCTTCGGTGTTTCGAGTTGTAATTTGAAGATGGTAACCTTGGGTTTGGCTCTTGTCT
ATGTTCCCTTGAACAGGACGTCATAGAGGGTGAGAATCCCGTCTGATGAGATGCCATT
CCTATGTAAGGTGCTATCGAAGAGTCGAGTTGTTTGGGAATATA

5901M9 *Pichia membranifaciens*

AGCGGCGAGTGAAGCGGCAAGAGCTCAGATTTGAAATCGTGCTAATTTTTTTGGCAGG
AGTTGTAGAGTGTAGGCGGGAGTCTTTGTGGAGCACGGTGTCCAAGTCCCTTGGAAACA
GGGCGCCTGAGAGGGTGAGAGCCCCGTGGGGTGCCGTGCGAAGCTTTGAGGCCCTGCTG
ACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATAA

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

İletişim Bilgisi: rusenmetin@hotmail.com

Makaleler

1. Yildirim, R. M., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.122>

