



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**Ekşi MAYANIN GLİADİN HİDROLİZASYONUNA
ETKİSİ İLE EKMEKLERDE MİKROFLORA
DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

ÖZLEM PÖLENT

BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI

HAZİRAN 2019



**EKŞİ MAYANIN GLİADİN HİDROLİZASYONUNA ETKİSİ İLE
EKMEKLERDE MİKROFLORA DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Özlem PÖLENT

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BESLENME VE DİYETETİK ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

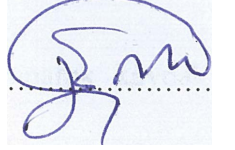
HAZİRAN 2019

Özlem PÖLENT tarafından hazırlanan “EKŞİ MAYANIN GLİADİN HİDROLİZASYONUNA ETKİSİ İLE EKMEKLERDE MİKROFLORA DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / ~~OY ÇOKLUĞU~~ ile Gazi Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Eda KÖKSAL

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Başkan : Prof. Dr. Muhittin TAYFUR

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Başkent Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Üye : Prof. Dr. Saniye BİLİCİ

Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Tez Savunma Tarihi: 28/06/2019

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Özlem PÖLENT

28/06/2019

EKŞİ MAYANIN GLİADİN HİDROLİZASYONUNA ETKİSİ İLE EKMEKLERDE MİKROFLORA DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Özlem PÖLENT

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2019

ÖZET

Gluten ile ilişkili hastalıklara sahip bireylerde gluten tüketiminin ciddi zararları söz konusu olmaktadır. Ekşi maya glutensiz ekmek üretiminde doğal ürün üretimi ve raf ömrünün uzatılmasının yanında ürünlere eklenen katkı maddelerinin azaltılması açısından da önemlidir. Ayrıca daha sağlıklı beslenmek isteyen ve ürün içeriğinde katkı maddesi seviyesinin en aza indirilmesini bekleyen tüketici taleplerinin karşılanması açısından yeniden göz önünde bulundurulması gereken bir üretim teknolojisidir. Bu çalışma geleneksel yöntemle hazırlanan ekşi mayalarda fermantasyon sürecinde gliadin düzeyindeki değişimin değerlendirilmesi, hazırlanan mayalardan elde edilen hamurlar ile ekmeklerde total laktik asit bakteri miktarı ile total maya ve küf miktarının incelenmesi amacıyla yönelik laboratuvar ortamında uygulanan deneysel bir araştırmadır. Çalışmada glutenli ve glutensiz un kullanılarak iki farklı çeşit ekşi maya oluşturularak, geleneksel yöntem ile fermantasyon sağlanmış, ‘Glutenli Ekşi Mayalı’, ‘Glutensiz Ekşi Mayalı’, ‘Glutenli Normal Mayalı’, ‘Glutensiz Normal Mayalı’ olmak üzere 4 ayrı çeşit hamur ve ekmek elde edilmiştir. Hazırlanan tüm numunelerde gliadin, glutenli ve glutensiz hamur ve ekmeklerden alınan numunelerde ise total laktik asit bakterisi ile total maya ve küf sayımı analizleri yapılmıştır. Ayrıca hazırlanan ekmeklerin 80 katılımcı ile gerçekleştirilen duyuşal değerlendirmesi yapılmıştır. Elde edilen gliadin analiz verilerine göre glutenli ve glutensiz ekşi mayalardaki gliadin değerleri, kendilerinden elde edilen glutenli ve glutensiz ekşi mayalı hamurlarda yükselirken pişme sürecinde glutenli ve glutensiz ekşi mayalı ekmeklerde azalma göstermiştir. Total laktik asit bakteri sayımı verilerine göre elde edildikleri hamurlarla karşılaştırıldıklarında pişirme işlemi sonucunda en fazla kayıp glutenli ekşi mayalı ekmekte olurken; laktik asit bakterilerinin pişirme işlemi sonrasında en fazla korunduğu ekmek türü glutensiz normal mayalı ekmek olmuştur. Total maya ve küf sayımı analizine göre elde edildikleri hamurlarla karşılaştırıldıklarında pişirme işlemi sonucunda en fazla kayıp glutensiz normal mayalı ekmekte olurken; total maya ve küf sayısının pişirme işlemi sonrasında en fazla korunduğu ekmek türü glutensiz ekşi mayalı ekmek olarak belirlenmiştir. Duyusal değerlendirme analizine göre ekmeklerin ilk ve son değerlendirmeleri arasında genel beğeni açısından anlamlı farklılıklar saptanmıştır ($p<0,05$). Bu çalışma ekşi mayanın kullanılabilirliğinin değerlendirmesinde yapılacak yeni çalışmalar için aydınlatıcı olacaktır. Bununla birlikte gluten ile ilişkili hastalıklarda yeni ürün geliştirilmesi üzerine daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Bilim Kodu : 1007

Anahtar Kelimeler : Gluten, gliadin, ekşi maya, laktik asit bakterileri, duyuşal değerlendirme

Sayfa Adedi : 159

Danışman : Prof. Dr. Eda KÖKSAL

ASSESSMENT OF SOURDOUGH EFFECT ON GLIADIN HIDROLISATION AND DIFFERENCE OF BREADS MIKROFLORA

(M. Sc. Thesis)

Özlem PÖLENT

GAZİ UNIVERSITY

INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

June 2019

ABSTRACT

Gluten-related diseases in individuals with severe damage to gluten consumption is concerned. The sourdough is important for gluten-free bread production in terms of natural product generating and prolonging shelf life as well as reducing the additives added to the products. In addition, it is need to take into considering production technology in order to meet the demands of consumers who want to eat healthier and expect to minimize the additive level in the product content. This study is an experimental study which is applied in the laboratory for the evaluation of the changes in gliadin level in the fermentation process by the traditional method, the total amount of lactic acid bacteria in the doughs and breads and the total amount of yeast and mold in the doughs and breads. In the study, two different kinds of sourdough were formed by using gluten-contained and gluten-free flour, 4 different kinds of dough and bread including 'Gluten-Contained Sourdough', 'Gluten-Free Sourdough', 'Gluten-Contained Baker Yeast Dough', 'Gluten-Free Baker Yeast Dough' were obtained. Gliadin analysis were performed in all samples, total lactic acid bacteria and total yeast and mold count analysis were performed in samples taken from gluten-contained and gluten-free dough and breads. Sensory evaluation analysis was conducted with 80 participants on the prepared all bread. According to the gliadin analysis data, gliadin values in doughs were prepared from sourdoughs were increased in gluten-contained and gluten-free sourdough and decreased in gluten-contained and gluten-free sourdough breads during the cooking process. When compared with the total lactic acid bacteria count data, the most loss was found in gluten-contained sourdough bread as a result of the cooking process. After baking, lactic acid bacteria were mostly preserved in gluten-free baker yeast bread. According to total yeast and mold count analysis, the most loss was found in gluten-free baker yeast bread. After baking, total yeast and mold were mostly preserved in gluten-free sourdough bread. According to sensory evaluation analysis, there were significant differences between the first and last evaluations of breads ($p < 0,05$). This study will be an enlightening for new studies to evaluate the availability of sourdough. However, further studies are needed on the development of new products in gluten-related diseases.

Science Code : 1007

Key Words : Gluten, gliadin, sourdough, lactic acid bacteria, sensory analysis

Page Number : 159

Advisor : Prof. Dr. Eda KÖKSAL

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanmasından sonlandırılmasına kadar geçen her aşamada bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösterici olan, emeğini, desteğini, zamanını ve sabrını benden hiçbir zaman esirgemeyen, kendisini tanımaktan şeref duyduğum ve bir hocanın ötesinde gördüğüm saygı değer hocam Prof. Dr. Eda KÖKSAL'a,

Çalışma sürecinde laboratuvar çalışmaları için bana elinden gelen tüm imkânları sunan ve bana yardımcı olan Kırklareli Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu müdürüm Sayın Doç. Dr. Serpil AKÖZCAN'a,

Laboratuvarda çalıştığım süre boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, benimle hafta sonlarına kadar çalışan ve vaktini ayıran bana hocalık ve ablalık yapan Kırklareli Üniversitesi İleri Teknolojiler Araştırma Merkezi müdür yardımcısı değerli hocam Sayın Doç. Dr. Cemile ÖZCAN'a,

Çalışma sürecini de kapsayan yaşamım boyunca benden hiçbir desteğini esirgemeyen ve bugünlere gelmeme vesile olan canım ailemin değerli üyeleri annem, babam ve kardeşim Ümmü Gülsüm PÖLENT'e ayrıca fikirleriyle bana her daim destek olan, birlikte yürüdüğüm kardeşim Elif PÖLENT'e,

Çalışma sürecinde benden desteklerini esirgemeyen başta Arş. Gör. Büşra BAŞAR GÖKCEN, Arş. Gör. Büşra ATABİLEN, Arş. Gör. Merve PEHLİVAN ve Uzm. Dyt. Ece ÇELİK olmak üzere tüm arkadaşlarıma,

Saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Gluten.....	5
2.1.1. Tanım	5
2.1.2. Kimyasal yapı	5
2.1.3. Gluteni oluşturan peptit yapıları	6
2.1.4. Kaynaklar	8
2.1.5. Sindirim.....	8
2.1.6. İnsan beslenmesindeki rolü	11
2.1.7. Gıda sanayindeki rolü	12
2.2. Glutensiz Ürünler	14
2.2.1. Özellikler.....	14
2.2.2. Raf ömrü	19
2.2.3. Gıda güvenliği.....	20
2.2.4. Gluten tespiti ve gliadin analizi	21
2.3. Ekşi Maya.....	28

	Sayfa
2.3.1. Tanım	29
2.3.2. Oluşumunda etkili olan faktörler	31
2.3.4. Yararlı etkiler	35
2.3.5. Normal maya ile kıyaslama.....	40
2.3.6. Ekmek kalitesi.....	40
3. MATERYAL VE YÖNTEM	43
3.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Kullanılan Materyaller	43
3.2. Araştırmanın Genel Planı	44
3.3. Araştırmanın Uygulanması ve Değerlendirilmesi.....	48
3.3.1. Mayaların hazırlanması.....	48
3.3.2. Ekmeklerin hazırlanması.....	50
3.3.3. Gliadin analizi	54
3.3.4. Mikrobiyolojik analizler	57
3.3.5. Duyusal değerlendirme	59
3.3.6. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi	60
4. BULGULAR	63
4.1. Gliadin Analizi	63
4.2. Total Laktik Asit Bakteri Sayımı	71
4.3. Total Maya ve Küf Sayımı	73
4.4. Ekmeklerin fiziksel özellikleri ve duyusal değerlendirmesi	76
5. TARTIŞMA	97
5.1. Gliadin Analizinin Değerlendirilmesi	97
5.2. Total Laktik Asit Bakteri Sayımının Değerlendirilmesi	101
5.4. Total Maya ve Küf Sayımının Değerlendirilmesi	105
5.4. Genel Görünüş ve Özelliklerin Değerlendirilmesi	109
5.5. Duyusal Değerlendirme Analizinin Değerlendirilmesi.....	112

Sayfa

6. SONUÇ VE ÖNERİLER	117
KAYNAKLAR	123
EKLER.....	137
EK-1. Duyusal değerlendirme kurum izni	138
EK-2. Duyusal değerlendirmeye katılan tüm bireyler için yazılı onam formu.....	139
EK-3. Glutenli ekşi mayanın fermantasyon sürecinde geçirdiği aşamalar	140
EK-4. Glutensiz ekşi mayanın fermantasyon sürecinde geçirdiği aşamalar	145
Ek-5. Analizler için alınan hamur numuneleri.....	150
Ek-6. Analizler için alınan ekmek numuneleri	151
Ek-7. Viallerde bulunan ara stoklar	152
Ek-8. (a) Glutenli ekşi maya ile hazırlanan ekstraksiyon standardizasyonu numuneleri, (b) Glutensiz ekşi maya ile hazırlanan ekstraksiyon standardizasyonu numuneleri	153
Ek-9. (a) Analizi yapılacak numuneler için santrifüj tüplerinde hazırlanan örnekler, (b) Analizi yapılacak numuneler için viallere alınan örnekler, (c) Analizi yapılacak numunelerin cihaza verilmesi.....	154
EK-10. Duyusal değerlendirme anket formu	156
ÖZGEÇMİŞ	158

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Ekmeklerin yapım sürecinde kullanılan malzemeler, miktarları, dinlenme süreleri ve pişirme süreleri	52
Çizelge 4.1. Numunelerdeki gliadin miktarı (ELISA Testi).....	63
Çizelge 4.2. Numunelerdeki gliadin miktarı (HPLC Analizi)	64
Çizelge 4.3. Hamur numunelerindeki laktik asit bakteri sayımı değerleri (kob/g)	71
Çizelge 4.4. Ekmek numunelerindeki laktik asit bakteri sayımı değerleri (kob/g)	72
Çizelge 4.5. Hamur numunelerindeki maya ve küf sayımı değerleri (kob/g)	74
Çizelge 4.6. Ekmek numunelerindeki maya ve küf sayımı değerleri (kob/g)	75
Çizelge 4.7. Ekmeklerin genel görünüm ve özellikleri	76
Çizelge 4.8. Ekmek numunelerinin duyuşal değerlendirme kriterlerinin ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerleri (n:160)	82
Çizelge 4.9. Numunelerin duyuşal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (n:160)	85
Çizelge 4.10. Glutenli ekşi mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyuşal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (n:80).....	90
Çizelge 4.11. Glutenli normal mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyuşal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (n:80).....	92
Çizelge 4.12. Glutensiz ekşi mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyuşal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (n:80).....	94
Çizelge 4.13. Glutensiz normal mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyuşal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (n:80).....	96

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Ekşi mayanın sınıflandırılması	31
Şekil 3.1. Araştırmanın genel planı.....	47
Şekil 4.1. Numunelerin kromotografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gli EM: Glutenli ekşi maya, Gsiz EM: Glutensiz ekşi maya).....	65
Şekil 4.2. Numunelerin kromotografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gli EH: Glutenli ekşi mayalı hamur, Gsiz EH: Glutensiz ekşi mayalı hamur, Gli NH: Glutenli normal mayalı hamur, Gsiz NH: Glutensiz normal mayalı hamur).....	66
Şekil 4.3. Numunelerin kromotografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gli EE: Glutenli ekşi mayalı ekmek, Gsiz EE: Glutensiz ekşi mayalı ekmek, Gli NE: Glutenli normal mayalı ekmek, Gsiz NE: Glutensiz normal mayalı ekmek)	67
Şekil 4.4. Numunelerin kromotografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gli EM: Glutenli ekşi maya, Gli EH: Glutenli ekşi mayalı hamur, Gli EE: Glutenli ekşi mayalı ekmek).....	68
Şekil 4.5. Numunelerin kromotografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gsiz EM: Glutensiz ekşi maya, Gsiz EH: Glutensiz ekşi mayalı hamur, Gsiz EE: Glutensiz ekşi mayalı ekmek).....	69
Şekil 4.6. Numunelerin kromotografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gli NH: Glutenli normal mayalı hamur, Gli NE: Glutenli normal mayalı ekmek)....	70
Şekil 4.7. Numunelerin kromotografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gsiz NH: Glutensiz normal mayalı hamur, Gsiz NE: Glutensiz normal mayalı ekmek)	71
Şekil 4.8. Numunelerin duyuşal değerdendirme kriterlerinin karşılaştırılması	88
Şekil 4.9. Glutenli ekşi mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyuşal değerdendirme kriterlerinin karşılaştırılması (Gli EE – İlk: Glutenli ekşi mayalı ekmek – İlk değerdendirme, Gli EE – Son: Glutenli ekşi mayalı ekmek – Son değerdendirme).....	89
Şekil 4.10. Glutenli normal mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyuşal değerdendirme kriterlerinin karşılaştırılması (Gli NE – İlk: Glutenli normal mayalı ekmek – İlk değerdendirme, Gli NE – Son: Glutenli normal mayalı ekmek – Son değerdendirme).....	91

Şekil**Sayfa**

Şekil 4.11. Glutensiz ekşi mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyusal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (Gsiz EE – İlk: Glutensiz ekşi mayalı ekmek – İlk değerlendirme, Gsiz EE – Son: Glutensiz ekşi mayalı ekmek – Son değerlendirme)	93
Şekil 4.12. Glutensiz normal mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyusal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (Gsiz NE – İlk: Glutensiz normal mayalı ekmek – İlk değerlendirme, Gsiz NE – Son: Glutensiz normal mayalı ekmek – Son değerlendirme).....	95



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. (a) Glutenli ekşi mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur, (b) Glutensiz ekşi mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur, (c) Glutenli normal mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur, (d) Glutensiz normal mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur	53
Resim 4.1. Glutenli ekşi mayalı ekmek	77
Resim 4.2. Glutensiz ekşi mayalı ekmek	78
Resim 4.3. Glutenli normal mayalı ekmek	79
Resim 4.4. Glutensiz normal mayalı ekmek	80

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
kob/g	Koloni oluşturan birim/gram
log	Logaritma
M	Molarite
mg	Miligram
mL	Mililitre
mL/g	Mililitre/gram
mm	Milimetre
mmol/L	Milimol/litre
mol/L	mol/litre
ng/mL	Nanogram/mililitre
nm	Nanometre
pH	Power of hydrogen
ppm	Parts per million (miligram/kilogram)
rpm	Revolutions per minute
vb	Ve benzeri
v/v	Hacim/hacim
w/v	Ağırlık/hacim
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre

Kısaltmalar**Açıklamalar**

1-PrOH	1-Propanol
2D-E	2-Dimensional Gel Electrophoresis (2 Boyutlu Elektroferez)
2-PrOH	2-Propanol
AACC	American Association of Cereal Chemist (Amerikan Tahıl Kimyagerleri Birliği)
ACN	Asetonitril
A-PAGE	Acid-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (Asidik Poliakrilamid Jel Elektroferezis)
AUFS	Absorbance Units Full Scale
BSA	Bovine Seum Albumin (Büyükbaş Hayvan Serum Albümini)
CO₂	Karbondioksit
DAD	Diot Array Detector
DMF	Dimetilformamid
DTE	Ditioeritritol
ELİSA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Enzim Bağlantılı İmmunosorbent Analizi)
EtOH	Etanol
FDA	Food and Drug Administration (Amerikan Gıda ve İlaç Örgütü)
FPLC	Fast Protein Liquid Chromatography (Hızlı Protein Sıvı Kromatografisi)
Gli EE	Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek
Gli EH	Glutenli Ekşi Mayalı Hamur
Gli EM	Glutenli Ekşi Maya
Gli NE	Glutenli Normal Mayalı Ekmek
Gli NH	Glutenli Normal Mayalı Hamur
Gsiz EE	Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek
Gsiz EH	Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur
Gsiz EM	Glutensiz Ekşi Maya
Gsiz NE	Glutensiz Normal Mayalı Ekmek

Kısaltmalar**Açıklamalar**

Gsiz NH	Glutensiz Normal Mayalı Hamur
HCl	Hidroklorik Asit
HMW	High Molecular Weight Subunit (Yüksek Molekül Ağırlıklı Alt Ünite)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
ICC	Immunocytochemistry (Immunositokimyasal Metotlar)
IEF	Isoelectric Focusing (İzoelektrik Odaklanma)
IgE	İmmünoglobulin E
ISO	International Organization for Standardization (Uluslararası Standartlar Teşkilâtı)
KH₂PO₄	Potasyum Dihidrojen Fosfat
LMW	Low Molecular Weight Subunit (Düşük Molekül Ağırlıklı Alt Ünite)
NaCl	Sodyum Klorür
NaHPO₄.2H₂O	Sodyum Hidrojen Fosfat
NaN₃	Sodyum Azit
PBS	Fosfat Buffer Solüsyonu
RP-FPLC	Reversed Phase-Fast Protein Liquid Chromatography (Geri Fazlı Hızlı Protein Sıvı Kromatografisi)
RP-HPLC	Reversed Phase-High Performance Liquid Chromatography (Geri Fazlı Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
RSD	Relative Standard Deviation (Rölatif Standart Sapma)
RT	Retention Time (Tutunma Zamanı)
SDS	Sodyum Dodesilsülfat
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezis)

Kısaltmalar**Açıklamalar****SE-HPLC**

Size Exclusion-High Performance Liquid
Chromatography (Boyut Dışlamalı Yüksek
Performanslı Sıvı Kromatografisi)

SS

Standart Sapma

TFA

Trifloroasetik Asit

Tri-HCl

Tri-Hidroklorik Asit

TS

Türk Standartları

UV

Ultraviyole



1. GİRİŞ

Tahıllar tüm dünyada işlenmesi sonrası ekmek ve makarna gibi tüketimi son derece yaygın olan ürünlerin üretim sürecine sahip en önemli temel gıda maddeleridir. Buğday, darı, pirinç, yulaf, arpa ve çavdar tüketilen en önemli tahıl ürünleridir. Bu ürünler dünyadaki ekilebilir alan üzerinde yapılan üretimin %60'ına sahiptir [1-4].

Buğday ve buğday kaynaklı ürünler diyet ile alınan posa, demir, çinko, selenyum başta olmak üzere mineraller ile B grubu başta olmak üzere vitaminler, fitokimyasallar, protein ve enerji alımına önemli ölçüde katkı sağlamaktadırlar. Tahıl tanelerinin kimyasal bileşimi yüksek oranda polisakkarit formunda karbonhidrattan oluşur. İkinci önemli içerik grubu ise tanenin %8-12'sini oluşturan proteinlerdir. Yağlar ise %2-4 ile tanelerdeki makro besin ögeleri arasında en düşük orana sahip olan bileşenlerdir [2, 3].

Tüm tahıl ürünleri arasında buğday ise ayrı bir öneme sahiptir. Çeşitli koşullarda yüksek verimde ürün sağlamasının yanında buğdayın en önemli özelliği başta ekmek olmak üzere birçok unlu mamul ve makarna gibi çeşitli gıda maddeleri olarak işlenmesine izin veren hamur oluşturmada sağladığı eşsiz katkılarıdır. Bu katkılar son hamur kalitesindeki uzayabilirlik ve esneyebilirlik arasındaki denge ile viskoelastisite olarak tanımlanır. [4].

Hamurda viskoelastisite özelliklerini belirleyen en önemli faktör, ağ yapısının oluşmasında görevli olan gluten proteinleri başta olmak üzere depo proteinlerdir ve bunlar üzerinde 250 yılı aşkın bir süredir çalışılmaktadır [4].

Gluten proteini tahıl bazlı ürün üretiminde bu kadar önemli bir yere sahip olmakla birlikte gluten ile ilişkili hastalıklar günümüzde yaygınlaşmaya başlayan sağlık problemlerindendir. Bu hastalıklara sahip bireylerin diyetinden gluten proteininin çıkarılması veya azaltılması gerekmekte ve birçok bireyin bu diyetle ömür boyu bağlılık göstermesi gerekmektedir [1, 5, 6].

Gıda endüstrisi sektöründe giderek büyük bir yer kaplamakta olan glutensiz ürün teknoloji ve uygulamaları birçok açıdan ele alınması gereken önemli bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. Glutensiz ürün uygulamalarında hastaların besin ögesi ihtiyaçlarının uygun

şekilde karşılanabilmesi ve ürünlerin tüketime sunulmasında gluten içeren muadil ürünlerinin yerini doldurması bu endüstride üretim açısından oldukça önemlidir [7].

Bu bağlamda glutensiz ürünlere ilgi son yıllarda hızla artmaktadır. Glutensiz ürünlerin tat, aroma, doku, reolojik ve besinsel özellikler gibi bir çok açıdan geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu yüzden ürün geliştirilmesine ilişkin çalışmalar da devam etmektedir [7].

Glutensiz ürün üretiminde araştırılan önemli konulardan biri de ekşi maya olarak karşımıza çıkmaktadır. Ekşi maya ekmek yapımında un ve sudan oluşan karışımın fermantasyonu ile üretilen önde gelen mayalama yöntemlerinden biridir. Kullanımı ise buğday ve çavdarın üretimi kadar eski ve gelenekseldir [8].

Glutenin alt fraksiyonu olan gliadin peptitleri ekşi maya fermantasyonundan en fazla etkilenen moleküllerdir ve fermantasyon sonucu monomerlerine ayrılarak zararsız hale geldiği gösterilmiştir. Bu durum ekşi maya fermantasyonunun glutensiz ürün üretiminde kullanılabileceğini ve ürün kalitesini arttırabileceğini desteklemektedir. Ekşi maya glutensiz ekmek üretiminde doğal ürün üretimi, ürünlere eklenen katkı maddelerinin azaltılması ve ürün içeriği ile ilgili bilgilendirilmek isteyen tüketici taleplerinin karşılanması açısından da gösterdiği olumlu etkilerle karşımıza çıkmaktadır [8].

Bu çalışmada geleneksel yöntemle glutenli ve glutensiz unlar kullanılarak hazırlanan ekşi mayalarda ve mayalardan elde edilen hamurlarda fermantasyon sürecindeki, hamurlardan elde edilen ekmeklerde ise pişme sürecindeki gliadin düzeyindeki değişimin değerlendirilmesi, hazırlanan mayalardan elde edilen hamurlar ile bu hamurlardan yapılan ekmeklerde total laktik asit bakteri miktarı ile total maya ve küf miktarının incelenmesi, hazırlanan mayalardan elde edilen ekmeklerin duyusal değerlendirmesinin yapılması ve bu doğrultuda yeni bir glutensiz ürün üretimi teknolojisine katkısının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Araştırmada ekşi mayanın fermantasyon sürecinde unda gliadin hidrolizasyonuna neden olabileceği, ekşi mayalarda ve bu mayalardan elde edilen hamur ile ekmeklerde total laktik asit bakterisi ile total maya ve küf miktarının normal maya ve bu mayalardan elde edilen hamur ile ekmeklere göre daha yüksek olabileceği hipotez edilmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada geleneksel yöntemle hazırlanan ekşi mayanın fermantasyon sürecinde undaki gliadin hidrolizasyonuna etkisi, ekşi maya ile mayadan üretilen hamur ve ekmeklerin içerisindeki total laktik asit bakterisi ile total maya ve küf miktarı değişimi ve elde edilen ekmeklerin duysal değerdendirmesi incelenmiş ve bu doğrultuda normal maya ile elde edilen muadilleri ile karşılaştırılması planlanmış ve uygulanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gluten

2.1.1. Tanım

Buğday gluteni ilk kez 1745 yılında İtalyan biyokimyacı Jacopo Beccari tarafından tanımlanmıştır. Gluten, buğday proteininin %80'ini oluşturur ve glutelin ve prolamin isimli iki majör yapıdan oluşur. Prolamin, prolin ve glutamin aminoasitlerinden zengin bir protein çeşididir. Prolamin yapısı buğdayda “gliadin”, çavdarda “sekalin”, arpada “hordein” olarak isimlendirilir. Suda ve alkolde çözünür bir yapıya sahiptir. Yulaf ve pirinç haricindeki tüm tahıl tanelerinde endosperm içeriğininin büyük kısmını depo proteini olan prolamin oluşturur [1-3, 9].

2.1.2. Kimyasal yapı

Glutenin disülfid bağları içermesiyle birlikte hamurun güç ve esnekliğinden sorumludur. Sistein, glutenin içeriğinin çok küçük bir kısmını (%2) oluştursa da disülfid bağlarının yapısına katılması nedeniyle glutenin yapı ve fonksiyonu için oldukça önemli bir yere sahiptir. Disülfid bağlarının azaltılması protein fraksiyonlarının azalmasını sağlayarak gluten yapısını zayıflatmakta ve bu durum aynı zamanda glutenin molekül ağırlığının düşmesine neden olmaktadır. Ayrıca glutenin yapısında bulunan iyonik bağlar da elde edilen hamurun kıvam ve elastik yapısının oluşmasında rol oynamaktadır [4, 10, 11].

Gluten suda çözünür bir yapıya sahip değildir, fakat bu hidrofobik yapısına rağmen kuru ağırlığının iki katı kadar su çekebilme özelliğine sahiptir. Buğday unu, su ile birleşebilme özelliğine sahip gluten ağı sebebiyle suyla karıştırıldığında yapışkan ve viskoelastik bir hamur haline gelir. Bu bağlamda gluten hamurda viskoelastisiteyi, iyi bir kabarma ve ufalanma yapısını sağlayan temel inşa edici protein yapısı olarak karşımıza çıkmaktadır [2, 12].

Gluten proteini tahıllarda kalite ve son ürün özelliklerinin belirlenmesinde de önemli bir yere sahiptir. Bu proteinin yapısı, biyofiziksel ve fonksiyonel özellikleri, sentez, taşınma ve depolanma aşamalarındaki biyolojik mekanizmaların anlaşılması hamur kalitesi ve son

ürün üzerindeki uygulamaların iyileştirilmesi ve geliştirilmesine dayanak sağlamaktadır [9].

2.1.3. Gluteni oluşturan peptit yapıları

Buğdaydaki depo proteini olan gluten; prolaminler ve glutelinlerden oluşur. Prolaminlerin en yaygın olan ve en fazla bilinen formu gliadin, glutelinlerin ise glutenin isimli yapılarıdır [10].

Gliadin

Gliadin peptitleri tahıl bazlı ürünlerde en fazla bulunan ve tüm dünyada gıda endüstrisi ve insan beslenmesinde oldukça önemli bir yere sahip olan yapılardır. Gluten proteininin alt bileşikleri olarak buğday ununun ürün üretimindeki kalitesinin belirlenmesinde oldukça etkilidirler. [11]

Bitkiler alemindeki en karmaşık polimorfizme sahip protein grupları arasında bulunan gliadinler diğer prolamin grubu proteinlerine benzer şekilde glutamin (yaklaşık %40) ve prolin (yaklaşık %14) aminoasitleri açısından zengin spesifik ve tekrarlı sekans bölgeleri içeren bir yapıya sahiptir [3, 11]. Glutendeki prolamin fraksiyonları olan gliadinler %40-70 oranında etanolde çözünürken, %20-30 oranında bir kısım yine de çözünmeden korunur [13].

Gliadin fraksiyonları; α -Gliadin, β -Gliadin, ω -Gliadin, γ -Gliadin şeklinde sınıflandırılmaktadır. Farklı elektroforetik mobilitelerine rağmen α ve β -Gliadinler benzer protein yapısına sahiptir ve tek bir grup içerisinde α/β -Gliadinler olarak gruplandırılırlar. α/β -Gliadinler ayrıca spesifik bölgelerde sistein içeren sülfürden zengin peptidlerdir [8, 11].

Sağlıklı insanlarda normal şartlar altında ekmekten alınan buğday proteini %90,3'e kadar sindirilebilmekte, yaklaşık %10 oranındaki gluten kalıntısı ise intestinal mukozada doudenal ve jejunal sindirime karşı direnç göstermektedir. Vücuda alınan gluten içerisinde sindirilmeyen bu fraksiyon kalıntılarının sindirime dirençli olan gliadin epitoplarından oluştuğu düşünülmektedir. Bu peptidler IgE antikorlarını uyarmaları sebebiyle allerjen etkiye sahip olabilmektedir [11, 14].

Buğdaydaki depo proteinin büyük bir kısmını oluşturan gluten proteininin temel monomerlerini oluşturan gliadin peptidleri çölyak hastalığının patojenezinde kilit rol oynamaktadır. Bu yapıların aminoasit kompozisyonu gliadinin tetiklediği toksisitenin kimyasal temelini oluşturmaktadır [1, 11].

Buğday, arpa, çavdar gibi bazı tahıllardaki alkolde çözünebilen endosperm proteinlerinin (prolaminler) proteolitik sindirimi sonucunda açığa çıkan toksik peptidler çölyak hastalarında intestinal mukozada zararlı etkilere yol açmaktadır. Bu toksik peptidler intestinal mukozadaki hücrelerle ya aglütinasyon göstermekte ya da hücrelerin proliferasyonunu ve metabolizmasını etkilemektedir [15].

Spesifik gliadin peptitlerinin salınımı ve intestinal sistem yüzeyi ile ilişkisinin kontrolü çölyak hastalığında önem kazanmaktadır ve α -Gliadinler çölyak hastalığının en yüksek oranda tetiklenmesine neden olan aktif protein gruplarındandır. Doku transglutaminaz enzimiyle reaksiyon vererek çölyak hastalarında T-hücre kaynaklı inflamatuvar yanıt oluşmasına neden olan dominant epitoplardan birisi α -Gliadin peptitleridir [1, 5].

α -Gliadin ile yapılan çalışmalar sonucunda çölyak hastaları için toksik olan P-S-Q-Q ve Q-Q-Q-P sekansları gibi glutamin ve prolin kalıntıları bakımından oldukça zengin bazı kısa peptid sekansları tanımlanmıştır. α -Gliadinin Q-Q-Q-P sekansları içeren 31-43. fragmentlerinin tedavi gören çölyak hastalarının jejenumuna direk infüzyonunun toksik olduğu mukozal biyopsiyle gösterilmiştir [15].

Prolamin içerisinde yer alan gliadin fraksiyonlarından 33-mer peptid insanda T-hücre inflamatuvar yanıt oluşmasında potansiyel etki göstermektedir. Ayrıca 31-43 α -Gliadin fragmentleri yine intestinal mukozada T-hücrelerinden bağımsız olarak da inflamatuvar yanıtın oluşmasında etkili olmaktadır. Bu toksik peptitlerde bulunan amino asit sekanslarındaki büyük oranda prolin kalıntıları ileri proteolize karşı direnç oluşturmaktadır. 20 amino asit içerisinde prolinin siklik yapısı nedeniyle metabolizma olayları karşısında dirençli ve kısıtlayıcı bir işleve sahip olduğu bildirilmiştir [5, 14].

33-mer peptid fraksiyonunun diğer epitoplarda T-hücre aktivasyonuna neden olmasının en önemli sebepleri gastrik ve pankreatik proteazlara karşı uzun süreli maruziyete rağmen direnç göstermesi, alımından 20 saat sonrasında dahi ince bağırsağın

fırçamsı yapılarında %20'den az oranda hidrolizasyona uğraması, hidrolizasyona uzun süre inaktif kalmasına rağmen düşük konsantrasyonlardaki miktarının T-hücre proliferasyonunu aktif hale geçirmesi ve genetik yatkınlığı bulunan insanlarda intestinal toksisiteye sebep olmasıdır [5].

Glutenin

Glutenin buğdayda en çok bulunan glutelin çeşididir, glisin aminoasidinden zengin içeriğe sahip bir proteindir. Su ve tuzlu suda çözünmezken, alkol ve kuvvetli asit çözeltilerinde çözünmektedir [1-3, 9]. Glutelin fraksiyonları olan gluteninler polimerize olmaya dirençli disülfid bağ yapılarına sahiptir. Yüksek molekül ağırlıklı (HMW) ve düşük molekül ağırlıklı (LMW) alt ünitelerden oluşur [13].

2.1.4. Kaynaklar

Gluten yaşamın birçok alanında bireyin temas edebileceği yalnızca besinsel kaynaklarla değil, yaş ve uğraşıya göre günlük hayatta oldukça sık karşılaşılabilecek birçok maddenin içerdiği bir proteindir. Başlıca gluten kaynakları; tahıllar (buğday, çavdar, yulaf, arpa, ırmik, horasan buğdayı, gernik buğdayı, siyez buğdayı), ön ambalajlı ürünler (dondurulmuş ürünler, pasta, kek, cipsler, hot dog, poşet çay ve kahve, galeta unu, salça sosları, et terbiyesi sosları, sosis), çeşni ve baharatlar (hardal, soya sosu, köri sosu, ketçap, mayonez, turşu), diğer gıdalar (krema, dondurma, bira, şekerleme, çikolata şurubu, öksürük pastili, buğday kaynaklı dekstrin), medikal/kozmetik ürünler ve diğerleri (ruj, dudak balmı, güneş losyonu, diş macunu, boyalar, oyun hamurları, evcil hayvan mamaları, bebek pudrası, banyo tuzları, zarflar, pullar) şeklinde sıralanabilmektedir [16].

Gluten içermesi riski olan gıda ürünleri ise aromalı yiyecekler, krem peynir, hazır çorbalar, salata sosları, kahvaltılık gevrekler, sos ve şuruplar, malt, malt sirkesi, kremalı yiyecekler, kalınlaştırıcılar, renklendiriciler, lezzet vericiler olarak sayılabilmektedir [16].

2.1.5. Sindirim

Glutenin en önemli besinsel kaynakları tahıllardır. Tahılların kompozisyonuna bakıldığında genel olarak %56-74 oranında karbonhidrat, %8-12 oranında protein içerdiği görülür. Tahıl tanesinin yapısında bulunan karbonhidratın büyük bir kısmı endospermde

nişasta olarak depolanmaktadır. Proteinin ise depo formu yine endospermde nişasta ile birlikte yer alır [2, 17].

Diyetle alınan proteinlerin sindiriminde her ne kadar ağız sayılmasa da birkaç çalışmada gastrointestinal kanalın başlangıcı olup protein hidrolizinin başladığı yer olabileceği görüşüne yer verilmektedir. Glutaminin endoproteazik etkisi bir çalışmada gösterilmiştir [3, 15, 17]

Ağızda küçük çapta sindirilmeye başlayan proteinler mideye geldiğinde gerçek anlamda bir sindirim işlemine tabi tutulur. Protein hidrolizi midede şef hücrelerinden salgılanan pepsin aktivitesini içermektedir. Pepsinojen halinde salgılanan pepsin prekürsörü mide içerisindeki asidik ortamda hidroklorik asit ile birlikte aktif hale gelir ve proteinlerin asıl sindirim işlemi başlar. Bu işlem sonucunda proteinler uzun zincirli peptitlere dönüşürler, fakat midede oluşan gluten hidrolizine ilişkin detaylar kesin olarak bilinmemektedir. İn vitro ortamda gösterilen çalışmada memelilerde pepsinin diyet ile alınan gluten üzerinde yalnızca kısmi proteolitik aktivasyon oluşturduğu bildirilmiştir [18].

Sindirim kanalında en fazla sindirim ve emilim işleminin meydana geldiği bölüm ince bağırsaktır. Doudenum proteinlerin asıl hidrolize uğradığı bölümdür. Mideden gelen protein ve peptid yapıları burada kendilerini oluşturan tripeptid, dipeptid ve aminoasitlere ayrılarak enterositler aracılığı ile ince bağırsak boyunca taşınır ve amino asit şeklindeki moleküller kan dolaşımına aktarılmak üzere emilir. Gluten proteininin yapısındaki peptidler ise ince bağırsakta emilime uğramaya ve proteazlar tarafından parçalanmaya karşı direnç gösterir. Glutenin ve gliadin üst gastrointestinal kanalda kısmi sindirimden geçerek yalnızca kendisini oluşturan gastrointestinal proteazlara dayanıklı peptitlerine ayrışır. Yapılan bazı çalışmalar pepsin ve tripsin enzimlerinin etkisiyle oluşan gliadinlerin sindirimi sonucunda yüksek molekül ağırlıklı peptidler oluştuğunu göstermiştir [3, 14, 18].

Yüksek prolin içerikli gluten peptidleri ince bağırsaktaki proteazların prolil-endorpeptidazik aktivitelerinin yetersiz olması nedeniyle ancak %15-20 oranında hidrolize olabilirler [14, 18].

İnce bağırsaktaki sindirim süreci sonrasında yüksek oranda sindirilmiş ürünler olan tripeptid, dipeptid ve aminoasitler farklı şekillerde ince bağırsak membranından emilirler.

Aminoasitlerin enterositlerde taşınımı büyük oranda ince bağırsağın distal ucunda gerçekleşir. Aminoasitlerin emiliminde çeşitli aminoasit grupları için farklı transport sistemleri kullanılırken tripeptid ve dipeptitler temel olarak ince bağırsağın proksimal ucundan emilirler [3, 18].

Glutenin ince bağırsakta sindirimi sonucu oluşan yüksek molekül ağırlıklı polipeptit ve oligopeptitler ise diğer peptitlerin taşındığı taşıyıcılarla taşınamazlar. İntestinal lümende kalan bu büyük peptitler burada bulunan mikrobiyota tarafından substrat olarak kullanılabilirler [18].

Tripeptid ve dipeptitler enterositlere alındığında sitoplazmik peptidazlar tarafından kendilerini oluşturan aminoasitlerine hidrolize olurlar. Bu sitoplazmik hidrolizasyon yalnızca proteinler için gerçekleşir. Sitoplazmik peptidazlar tarafından intraselüler hidrolize uğrayan proteinler yüksek oranda serbest aminoasit formunda portal dolaşıma geçerler. Bu nedenle intraselüler peptidazlar protein sindiriminin son basamağında önemli bir yere sahiptir [18].

Tahılın yüksek oranda tüketilen kısmı endosperm kısmıdır. Tahıl tanesi sindirilmek üzere sindirim kanalına ulaştığında endosperm içerisindeki gluten ağı yapısı birlikte bulunduğu nişasta moleküllerinin sindirimi üzerinde etki gösterebilmektedir. Yapılan çalışmalarda nişasta granüllerinin sadece kısmen şişebildiği ve yoğun protein ağı içerisine gömülerek kısmen koagüle olduğu belirtilmiştir. Glutenin kompleks yapısı sebebiyle nişasta moleküllerinin tamamen jelatinize olamaması ve gluten ağı ile su absorpsiyonu konusunda yarış içerisinde olması sindirilebilirliği üzerinde olumsuz etki oluşturmaktadır [2, 17].

Oluşan aminoasitlerin enterositlerden kan dolaşımına alınması membrandan hücre içine alımından farklı transport sistemleriyle gerçekleşir. Bu işlemler gerçekleşirken hidrolizasyon işlemine uğramayan bazı küçük peptitler de bazolateral membrandan geçebilmektedirler. Bu nedenle gluten prolamininin yapısında da bulunan prolin aminoasidini de içeren sitoplazmik peptidazlar tarafından hidrolize nispeten dirençli bu küçük peptitlerin portal dolaşımda görülmesi olasıdır [14, 18].

Nişasta moleküllerinin sindiriminin azalması ise α -Amilaz enziminin gluten ağı ile zayıf bir bağ oluşturmamasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca tahıl ürünlerinin kompleks yapısı

nedeniyle gluten ağını koruyarak pepsin enziminin aktivasyon süresini geciktirdiği bildirilmiştir [2, 17].

2.1.6. İnsan beslenmesindeki rolü

Tahıllar ve tahıl ürünleri insan beslenmesinde tüketilen temel besin öğelerindendir. Özellikle buğday temelli ürünler hem bireyin temel karbonhidrat kaynağı olması hem de doyuruculuk özelliği nedeniyle oldukça tercih edilen besin kaynaklarıdır [19].

Gelişmiş ülkelerde tahılların besinsel değeri her ne kadar dikkate alınmasa da gelişmekte olan ülkelerde hala önemli besinsel kaynaklar arasında görülmektedir [9].

Tüketilen çoğu tahıl kaynaklı besin, tahıl tanelerinin embriyo ve kepek kısmının ayrıştırılmasıyla kalan endosperm kısmından yapılmaktadır. Endosperm bölümünün en önemli iki içeriği ise depolanan nişasta ve proteinlerdir ve dolayısıyla tahıl tüketimi konusunda beslenmede önemli yer tutan iki bileşik olarak sayılabilmektedir [9, 19].

Tahıllardaki karbonhidratların yanında proteinler gıdalarda fiziksel özellikleri iyileştirmenin yanında besin öğeleri açısından da önemli yapılardır. Tahıllardan yapılan gıda ürünleri özellikle gelişmekte olan ülkelerde insan beslenmesinde oldukça yaygın olduğu için tahıl proteinlerinin yaklaşık %80'ini oluşturan glutenin ve gliadin insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir [9, 19].

Glutenin diyetten çıkarılması bireylerde çeşitli besin öğelerinin yetersizliği ile sonuçlanabilmektedir. Gluten içerikli besinlerin temel özelliklerinden birisi kompleks karbonhidrat yapısına sahip olmalarıdır. Bu ürünlerin diyetten çıkarılması diyet ile posa alımında da kayıplar meydana getirmektedir [20].

Tahıl ürünlerinin yapısında görülen kompleks içerik ve bağlanma yapısı sindirim süresinin uzamasına yol açması nedeniyle kan şekeri regülasyonunda rol oynamaktadır. Gluten içeriği elimine edilmiş ürün kullanımında karşılaşılan en büyük sorunlardan biri diyet ile alınan posanın azalmasına bağlı kan şekeri regülasyonunda yaşanan bozulmalardır [17].

Tahıllar ayrıca vitamin ve mineraller açısından da zengin besin kaynaklarıdır. Bu besinlerin diyetten çıkarılması vitaminlerde özellikle B grubu vitaminlerinden B₁ vitamini

ve folik asit alımının azalmasına neden olurken; minerallerden magnezyum, kalsiyum, çinko ve demir alımında azalma görülmektedir [20].

Gluten içerikli ürünlerin diyetten çıkarılması bazı besin öğelerinin alımında da fazlalığa neden olabilmektedir. Basit karbonhidrat alımı ve doymuş yağların diyetle artması nedeniyle fazladan enerji alımı karşılaşılan olumsuz sonuçlar arasında sayılabilmektedir [20].

Gluten içerikli besinlerin protein içerikleri bakımından biyoyararlılığı incelenecek olursa depo protein içeriğindeki lizin, metionin ve triptofan gibi esansiyel aminoasit içeriğinin oldukça düşük olduğu görülür. Bu açıdan bakıldığında ise gluten içeren besinlerin bireyin diyetinden çıkarılmasının ciddi bir eksikliğe neden olmadığı sonucuna varılabilmektedir [2].

2.1.7. Gıda sanayindeki rolü

Buğdaydaki gluten ana olarak iki grup peptit olan glutenin ve gliadinden oluşur. Bu iki fraksiyon da hamurun yapışkanlık, viskozite, uzayabilirlik ve elastikiyet gibi fiziksel özelliklerine ayrı ayrı katkı sağlar. Bu iki protein çeşidinin hamurun fiziksel özellikleri üzerine katkıları farklılık gösterir [2, 10].

Gluten proteinleri olgun kuru endosperm hücrelerinde bir matriks oluşturur. Hamur yapımı için kullanılacak un su ile karıştırıldığı zaman protein matriksi içerisindeki hücreler bir araya gelerek devamlı bir protein ağ yapısı oluşumunu sağlar. Bu yapı hamurun viskoelastik özellik kazanmasını ve mayalanan ekmek ya da makarna gibi diğer işlenmiş besin maddelerinin fermentasyon ile genişlemesini sağlar [9].

Hidrate gliadin glutenine göre daha az yapışkanlık ve elastikiyete sahip olup daha çok viskozite ve uzayabilirlik üzerine etki ederken; glutenin hamurun güç ve elastikiyet özelliklerinden sorumludur. İçeriğindeki gliadinin glutenin için bir yumuşatıcı ve çözücü özellik gösterdiği gluten; hazırlanan hamurda iki komponentli bir yapıştırıcı görevi görerek istenen hamur ve ekmek özelliklerinin oluşmasını sağlar. Pişirme esnasında ise oluşan fermentasyon ile üretilen gaz hamur tarafından tutulur ve mayalanan ekmek somunu fırımlandıktan sonra porlu ve ufalanabilecek bir hale gelir [2, 10].

Gluten içeriği buğdayın yetişme koşulları, yıllık üretim miktarı farklılıkları, buğday türündeki farklılıklar, buğday ya da un harmanı, sıcaklık, böcek hasarı, enzimatik reaksiyonlar gibi birçok çeşitli faktöre bağlı olarak değişiklik gösterir [10].

Gıdanın protein içeriği, kalitesi için bir gösterge olarak kabul edilmemektedir. Islak gluten içeriği, kuru gluten içeriği, içerikteki glutenin su bağlama kapasitesi ve gluten indeksine göre belirlenen glutenin gücü kalite belirleyici parametreler olarak sayılabilmektedir [10, 21].

Buğday gluteni suyla karıştırılmış buğday ununun manuel ya da spesifik aletler yardımıyla yıkanması sonucu nişastanın uzaklaştırılması yoluyla laboratuvar ortamında kolaylıkla elde edilebilir. Bu süreç sonucu oluşturulan ürün ıslak gluten olarak adlandırılan ve kurutulmasıyla vital gluten olarak bilinen ürünün temelini oluşturur. Glutenin endüstriyel alanda geniş çaplı üretimi prensipte bu laboratuvar üretim sürecine benzer [2, 10].

Ticari gluten hamurlarda yüksek protein içeriği sağlanması, su absorbe etme kuvvetinin geliştirilmesi, hamurun işlenmesinin kolaylaştırılması ve ekmek kalitesinin arttırılması gibi işlevleri ile un geliştirici ürünlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca evcil hayvan yemi üretiminde kullanılan önemli miktardaki ürünlerden biri de glutendir [2].

Teknolojik açıdan bakıldığında tahıl bazlı üretilen ürünlerde glutenin yerine geçecek ve sağladığı özellikleri karşılayacak alternatif bulmak hala araştırılmakta olan bir problemdir. Et ve balık endüstrisinde gluten bir arada tutmayı ve sertleşmeyi sağlayıcı ajan olarak kullanılmaktadır. Su tutucu ve kalınlaştırıcı özelliği ile dondurma, hazır puding, çorba, sos, ketçap, terbiye ve salata sosları gibi gıdalarda kalitenin geliştirilmesinde yardımcı ajan olarak kullanılabilir. Kahve kreması gibi gıdalarda yüksek emülsifiyer kapasite ve iyi çözünürlük özelliği nedeniyle kullanılan glutenin bir diğer kullanım alanına bakılacak olursa mısır ve pirinçten yapılan kahvaltılık gevreklerle eklenen vitamin ve mineral suplamentlerinin bağlanması kolaylaştırmak ve ürün özelliklerini geliştirmek amacıyla eklenebildiği görülmektedir. Ayrıca glutenin viskoelastik özelliği, gıda endüstrisinde sentetik peynir üretimi yoluyla imitasyon mozzarella gibi ürünlerde tağşış unsuru olarak da kullanılmasına neden olmaktadır [2, 6].

Gıda endüstrisinde olduğu kadar gıda olmayan ürünlerin üretiminde de gluten işlev sahibidir. Yapıştırıcı, yenilebilir kaplama, deterjan, folyo gibi ürünlerde de kullanımı görülebilmektedir [2].

2.2. Glutensiz Ürünler

Glutenin bu kadar yaygın kullanımı ve öneminin yanında bu proteinin çeşitli mekanizmalar sonucu antijen olarak algılanması nedeniyle Gluten Enteropatisi (Çölyak hastalığı) gibi hastalıklara sahip bireylerde gluten tüketiminin organizmaya ciddi zararları söz konusudur [22]. Bu bağlamda glutensiz ürün üretimine yönelik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Glutensiz ürün oluşturulmasında kullanılan çeşitli alternatifler bulunmaktadır. Bu konuda tüketici tercihleri geleneksel ve kültürel bakış açılarının etkisinde bir ülkeden diğerine değişiklik gösterebilmektedir. Batı ülkelerinde buğday ununa muadil olarak genellikle pirinç unu tercih edilmektedir. Bunun yanında üretimde farklı unları kullanmak bazen tercihten çok gereklilik olabilmektedir. Hem pazarda bulunabilmesi açısından, hem de tane büyüklüğü, yapışkanlık kuvveti, diyet posası ve protein içeriği gibi yapısal özellikler açısından kullanılan unların farklılık göstermesi; ürün kalitesinde de farklılıkların oluşmasına neden olmaktadır [10].

Piyasada bulunan glutensiz un çeşitleri olarak; mısır unu, pirinç unu, patates unu, mercimek unu, nohut unu, karabuğday unu, kinoa unu, teff unu, kestane unu, badem unu, amaranth unu, hindistan cevizi unu, keçiyoynuzu unu sayılabilmektedir. Glutensiz ürünlerin, muadili olan gluten içerikli ürünlerle benzer yapı, ağız hissi, kabul edilebilirlik ve raf ömrü gibi özellikleri taşımasını sağlamak amacıyla ürünlere un ve nişasta ile birlikte oldukça fazla miktarda enzim, protein ve hidrokolloid çeşitleri gibi katkı maddeleri eklenmektedir [16].

2.2.1. Özellikler

Glutenden tamamıyla kaçınmak intestinal sistemin iyileşmesini, beslenme yetersizliklerinin ve semptomların azalmasını sağlar. Glutensiz diyetle bağlılık tedavi edilmeyen çölyak hastalığında uzun dönemde oluşabilecek birçok komplikasyonu da azaltır. Bununla birlikte gluten içerikli gıdalardan tamamen kaçınmak sanıldığı kadar kolay olmayabilmektedir. Glutensiz diyet sürdürmek gluten içeren her türlü gıdadan kaçınmanın

yanı sıra gluten kontaminasyonu olan her türlü gıda maddesinden ve günlük hayatta gluten içeren günlük kullanım malzemelerinden de uzak durmayı gerektirmektedir [23, 24].

Glutene uygun alternatif kaynaklarla üretim yapmak üreticileri oldukça zorlamaktadır. Fırıncılık endüstrisinde kaliteli ürün üretimi gluten olmadan oldukça güçtür. Glutensiz ürün üretiminde diğer ürünlerde olduğu gibi istenilen doku ve ağız hissini oluşturmak en büyük zorluklardan birisidir. Kuruluk, sertlik ve parçalanma gibi teknik sorunlar ekmek ve makarna gibi ürünlerin üretiminde çeşitli problemlere yol açmaktadır [23-26].

Hidrokolloidler, diyet posası, proteinler ve yapı sağlayıcı ajanlar glutensiz hamurda glutenin verdiği özelliklerin sağlanmasına yardımcı olurlar. Sakızlar ve hidrokolloidler önceleri kalınlaştırıcı ve jelleştirici olarak ifade edilirken artık tahıl ürünlerinde su tutucu ve doku geliştirici özelliklerinden de bahsedilmektedir. Özellikle hidroksipropil metil selüloz, metil selüloz, karboksi metil selüloz, pisilyum gamı, keçiyoynuzu gamı, guar gamı, ve ksantan gam gibi hidrokolloidler ve kazeinat, yağsız süt tozu, whey proteinleri gibi süt ürünleri glutensiz ekmek yapımında iyi kalitede ürün eldesi için araştırılmaktadır [6, 7, 26].

Bilimsel olarak glutensiz ürün oluşturulmasında ürünün kalitesi; hamur kalitesi ile pişirme kalitesi arasındaki ilişkiye dayalıdır. Glutensiz ekmek yapımı ile normal ekmek üretimi süreç açısından karşılaştırıldığında karıştırma sürecinde hamur kıvamını etkileyen eklenen su miktarı açısından küçük bir farklılık bulunmaktadır. Yüksek su miktarı yüksek kalitede ekmek ile sonuçlanabilir fakat aynı zamanda, büyük porlar oluşmasına sebep olabilir. Ayrıca ekmeğin aşırı hidrasyonu zayıf bir yapıda olmasına neden olabilir [7].

Besin öğeleri açısından özellikler

Glutensiz diyet tüketen hastalarda çeşitli besin ögesi yetersizlikleri görülebilmektedir. Diyet posası tüketimi de azalmaktadır. Glutensiz tahıl ürünleri, herhangi bir şekilde zenginleştirilmeyen glutensiz un veya nişasta ile hazırlandığından yalnızca karbonhidrat ve yağlardan zengin bulunmaktadırlar [23, 25, 27].

Glutensiz diyet tüketen çölyak hastalığına sahip yetişkin bireylerde kontrol grubuna göre vücut ağırlığı, Beden Kitle İndeksi, yağ ve yağsız kütle gibi parametreler daha düşük

bulunmuştur. Ayrıca bu bireylerde enerjinin büyük kısmının karbonhidratlardan geldiği dengesiz bir dağılım gözlenmiştir [23].

Glutensiz ürünler çoğunlukla rafine glutensiz un ya da nişasta kullanılarak üretilmekte ve bu ürünlerde bir besin ögesi zenginleştirilmesi yoluna gidilmemektedir. Sonuç olarak glutensiz ürünler muadillerinin içerdiği B grubu vitaminler, çinko, magnezyum gibi mineraller ve diyet posası gibi besin öğelerini aynı oranda karşılayamamaktadırlar. Gluten içeren muadilleriyle kıyaslanan 206 glutensiz ürünün incelendiği bir çalışmada glutensiz ürünlerin kalori, makro besin öğeleri, diyet posası, sodyum ve kolesterol bakımından farklılıklara sahip olduğu görülmüştür, benzer şekilde düzenlenen başka bir çalışmada da yine glutensiz ürünlerin muadillerine göre daha düşük besin ögesi içeriğine sahip olduğu bulunmuştur [12, 23].

Çölyak hastalarının 1/3'ünün enerji/protein dengesizliği, diyet posası vitaminler ve mineraller açısından eksikliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu hastalara özgü ürünlerin çoğunlukla rafine unlar ile üretilmesi ve ürün yapısının daha ön planda tutulması bu ürünlerin besin ögesi açısından gluten içeren muadilleri ile karşılaştırıldığında yetersiz kalmasına neden olmaktadır. Bunun yanında besin ögesi içeriğini arttırmak için eklenen ürünler de son ürün içerisindeki katkı maddesi miktarını arttırmaktadır [7]. Bununla birlikte yulaf içeren diyet; esansiyel aminoasitler, doymamış yağ asitleri, vitaminler, mineraller, diyet posası ve biyoaktif bileşenler içeriği nedeniyle normal diyet ile birlikte nişasta bazlı içeriğe sahip glutensiz ürünler yerine sağlıklı bir alternatif olarak sunulmakta fakat tüketiminin güvenilirliği hala tartışılmaktadır [28].

Çölyak hastaları üzerinde yapılan uzun dönemli bir çalışmada günlük ortalama 20 g yulaf alımının intestinal mukozadaki villüslerde hasar, inflamasyon ya da herhangi bir gastrointestinal semptom oluşturmadığı ve günlük diyet posası alımına katkı sağladığı bildirilmiştir [28].

Besin ögesi içeriği açısından kaliteli bir yapıya sahip olan kinoa ve karabuğday da yine gluten içermeyen yapısı ile glutensiz ürün üreticileri için yeni bir ham madde olarak görülmektedir [25, 26].

Glutensiz ürünlerin zenginleştirilmesi fonksiyonel ürünler ile oldukça ilişkilidir, fakat yeni glutensiz ürünlerin pazara girebilmesi için fonksiyonel ürün bileşenlerinin potansiyel pozitif ve negatif etkileri ve gıda güvenliği açısından geniş çaplı çalışmalarla incelenmesine ihtiyaç vardır [27].

Glutensiz ürün geliştirilmesinde kullanılan unun fonksiyonel özellikleri son ürün açısından önemli rol oynamaktadır. Millet unu ile yapılan bir çalışmada total fenolik içerik ve antioksidan kapasite bakımından anlamlı farklılıklar bulunmuştur. [29].

Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada polifenoller ile zenginleştirilmiş un ile yapılan glutensiz ekmek tüketimi sonucunda serum antiradikal seviyelerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir [27].

Yapılan başka bir çalışmada glutensiz ekmek yapımında kullanılan amaranth ununun kahverengileşmeyi arttırarak antioksidan kapasiteye katkıda bulunduğu gösterilmiştir [30].

Duyusal ve reolojik özellikler

Glutensiz un ve nişastalar son ürün kalitesinde oldukça etkilidir. Glutensiz un yapımında kullanılan tahıllar duysal olarak farklı tat ve kokuya sahip olduğundan farklı duysal özelliklere sahip ürün oluşumuna neden olabilmektedir. Pirinç unu genellikle nötral bir tat ve soluk bir renge sahipken, mısır ununun daha güçlü bir tat ve daha sarı bir renge sahip olması gibi farklılıklar son ürün karakteristiklerini oldukça etkilemektedir [7].

Glutensiz ekmeklerin gluten içerikli tahıl ürünlerinden üretilen ekmeklere göre düşük hacim yapısı, erken bayatlama ve posa miktarının oldukça düşük olması gibi olumsuz özellikleri bulunmaktadır. Glutensiz ürün geliştirilmesinde; nötral tadı, düşük sodyum seviyesi, sindirim kolaylığı, hipoalerjenik protein içeriği ve gluten içermemesi ile pirinç unu duysal ve besin öğeleri açısından avantajlara sahiptir, fakat bunların yanında kullanılacak pirincin çeşidi de oldukça önem taşımaktadır [31, 32].

Batı ülkelerinde buğday ununa muadil olarak genellikle pirinç unu tercih edilmektedir, fakat tüketici tercihleri geleneksel ve kültürel bakış açılarının etkisinde bir ülkeden diğerine değişiklik gösterebilmekte olduğundan üretimde farklı unları kullanmak bazen tercihten çok gereklilik olabilmektedir. Hem pazarda bulunabilmesi açısından, hem de tane

büyüklüğü, yapışkanlık kuvveti, diyet posası ve protein içeriği gibi yapısal özellikler açısından kullanılan unların farklılık göstermesi; ürün kalitesinde de farklılıkların oluşmasına neden olmaktadır [7].

Amiloz içeriği düşük olan pirinçler düşük jelatinizasyon sıcaklığı ve yumuşak jel özelliği göstermesi nedeniyle fırıncılık endüstrisinde daha çok tercih edilmektedir. Kısa taneli pirinçlerin amiloz içeriği uzun taneli olanlara göre daha düşüktür. Bununla birlikte kısa taneli pirinçten elde edilen unun %10 oranında daha uzun taneli pirinçten elde edilen un ile karıştırıldığı bir çalışmada daha uzun taneli pirinçten elde edilen undan daha yumuşak bir ekmek dokusu elde edildiği rapor edilmiş, uzun taneli 6 çeşit pirincin karşılaştırılması sonucu uzun taneli pirinçlerin kısa taneli pirince göre ekmek yapımında bir dezavantaj sağlamadığı bildirilmiştir [31].

Gluten olmadığında hamur zayıf bir yapıya sahip olduğundan sıklıkla kötü bir ağız hissine sahip olan bu ürünlerin hazırlanmasında duyuusal ve mekanik özelliklerin oluşturulması zor bir işlemdir. Glutensiz ürünlerin muadili olan gluten içerikli ürünlere benzer yapı, ağız hissi, kabul edilebilirlik ve raf ömrü gibi özellikleri taşımasını sağlamak ve iyi duyuusal özelliklerin oluşturulabilmesi amacıyla oldukça fazla miktarda un ve nişasta kadar enzim, protein ve hidrokolloid çeşitleri eklenmektedir. Bu ingredientlerin karışımda en uygun fonksiyonelliği sağlayacak özelliklerinin ve işleme şartlarının anlaşılması önem taşımaktadır [7, 23].

Birçok glutensiz ürün yapımında yapı oluşturucu ve su tutucu özellikleri nedeniyle asıl veya modifiye edilmiş nişasta farklı hidrokolloidlerle karıştırılır, fakat öncelikle kullanılacak un belirlenmelidir. Genellikle pirinç ve mısır unu kullanılırken, nohut ve soya gibi bakliyat unları ve keçiyoynuzundan elde edilen un ile de ürün çalışmaları yapılmaktadır. Gluten içermeyen tahıllardan özellikle karabuğday, kinoa ve kadife çiçeği de son zamanlarda kullanılan unlar arasındadır. Genel olarak gluten içermeyen tahıl içerikli ekmekler doğal emülsifiyer içeriğe sahip olduklarından daha yumuşak ufalanma dokusuna sahip olmaktadır. Mısır, pirinç, patates ve fasulye nişastasası ise genellikle jelin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için kullanılmaktadır [7].

Glutensiz makarna yapımında genellikle pirinç unu kullanılmakla birlikte, gam ilave edilmiş yüksek proteinli un ve whey proteini konsantresi ile ürün oluşturmaya yönelik

yapılan çalışmalar vardır. Gamlar durum buğdayı ile karşılaştırıldığında kalite karakteristiklerinin ve dokusal özelliklerin geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Ayrıca ürün üretiminde emülsifiyer kullanımı ekmeğin parçalanmasını azaltıcı etki göstermektedir. Mısır, pirinç ve patates nişastasası ile glutensiz makarna yapımının incelendiği bir çalışmada pişirme süreleri ve pişirme kalitesi arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır [7, 12].

Glutensiz kek, kurabiye ve bisküvi yapımı için un seçiminde dokusal özellikler açısından en önemlilerinden biri partikül büyüklüğüdür. Pirinç ve mısır unlarında partikül yapısı nispeten daha büyük olmaktadır. Yapı bakımından daha iyi unlar sadece hidrasyon bakımından değil emülsifiyer özellik üzerinde de etkiye sahip olduğu için son ürün kalitesini de etkiler. Ayrıca karabuğday ve pirinç ununun buğday ununa alternatif olarak kullanılabilecek dokusal ve reolojik özellikleri sağladığı belirtilmiştir [7].

Kinoa ve karabuğday unları ile glutensiz ekmek üretiminin yapıldığı bir çalışmada kinoa ununun daha yüksek çözünabilir diyet posası içeriğine sahip olması nedeniyle su absorpsiyon özelliğinin karabuğday unundan daha iyi olduğu ve bunun hamur viskozitesine etkisinin daha iyi ürün oluşumuna katkı sağladığı bildirilmiştir. Kinoa unundan yapılan ekmeklerin daha sert parçacık yapısına sahip olduğu ve renk parametreleri üzerinde gözle görülür bir etki sağladığı görülmüştür. Glutensiz ekmek yapımında kullanılan unlar nedeniyle son ürün renk özelliği genellikle soluk olduğu için bu özelliğin kinoa ununu tercih edilebilir kılabilceği düşünülmektedir [25, 26].

Glutensiz ürün geliştirmek amacıyla yapılan bir çalışmada duyu özellikler bakımından karşılaştırıldığında millet unundan yapılan ekmeklerin muadillerine göre daha yüksek değerlendirme skoruna sahip olduğu belirtilmiştir [29].

2.2.2. Raf ömrü

Fırın ve pastacılık ürünleri depolama sürecinde meydana gelen ciddi fiziksel, fizikokimyasal, duyu ve mikrobiyal değişimlere oldukça dayanıksızdır. Aroma ve doku kalitesindeki zamana bağlı olumsuz yöndeki değişimler bayatlama olarak adlandırılır. Bu süreçte ekmekte parçalanma ve ufalanma derecesi artar, kırırlılık seviyesi azalır, ekmek kendisine özgü hoş giden kokusunu kaybeder ve tadında değişiklik meydana gelir. Bu

kompleks fiziksel ve kimyasal süreç pişirme sırasında jelatinize olan nişasta granüllerinin retrogradasyonu sonucu ekmekteki nişasta ve protein bileşenleri arasındaki etkileşimin artmasıyla aralarındaki nem değişimi ile suyun ekmek dokusunda yeniden dağılması ve aromanın kaybolması ile gerçekleşir [33].

Ürünlerin raf ömrü; besinsel, fonksiyonel, duyuşal ve güvenilirlik profilinde önemli rol oynadığı için oldukça önem taşıyan bir konudur. Depolama sürecinde gıdalarda en çok gözlenen değişim gıdanın kalitesinde hasara dahası insan sağlığında zararlı etkilere yol açan lipit oksidasyonu ve mikrobiyolojik çoğalmadır. Lipit oksidasyonu yüksek yağ içerikli ürünlerde acılaşmaya yol açar ve ürünün raf ömrünü etkiler. Bunun önüne geçilmesi için genellikle antioksidan maddeler kullanılmaktadır. Antioksidan kapasitenin artması bu tür oksidasyonları geciktirerek ürünün raf ömründe uzamaya neden olmaktadır [34, 35].

Antioksidan kapasite ile raf ömrü arasındaki sürecin incelendiği bir çalışmada pirinç unundan yapılan glutensiz kurabiyelerin antioksidan ile zenginleştirilmesinin belirli sıcaklık ve ortam koşulları sağlandığında paketli ürünün raf ömrünün uzamasına katkı sağladığı belirtilmiştir. Ayrıca kinoa, karabuğday ve amaranth unu gibi gluten içermeyen tahıl ürünlerinin kullanılması ile besin ögesi içeriği ve fonksiyonel özelliklerin yanında raf ömrü de geliştirilebilmektedir [25, 35].

Yapılan bir çalışmada antioksidan ile zenginleştirilen glutensiz kurabiyelerin duyuşal özelliklerini daha uzun süre koruduğu görülmüş, antioksidan kapasiteyi arttırmanın gıdanın raf ömründe iyileşme sağlayabileceği önerilmiştir [35].

Glutensiz ürünler üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise modifiye atmosfer ile paketlemenin 42 gün sonunda kontrol grubuna göre duyuşal ve mikrobiyolojik yönden kabul edilebilir düzeyde bir ürün sağladığı ve raf ömrü üzerinde olumlu etkiler sağlayabileceği belirtilmiştir [36].

2.2.3. Gıda güvenliği

Glutensiz ürünlere talebin hızla artması ve bu alanda yapılan üretim uygulamaları mikrobiyal kalite açısından kontrolü de zorunlu hale getirmiştir. Glutensiz ürünlerde

genellikle kullanılan yumurta ve türevleri ayrıca içerisinde bulunan nem bu ürünleri mikrobiyolojik üreme açısından uygun hale getirmektedir [37].

Yapılan bir çalışmada 12 491 ürünün incelenmesi sonucu bulunan sonuçlarda bazı ürünler *Bacillus Cereus* bakterisi bakımından güvensiz bulunmuş, fakat kritik seviyede bir bulaşa rastlanmamıştır [37].

2.2.4. Gluten tespiti ve gliadin analizi

Glutene karşı yaşanan alerjik reaksiyon nedeniyle ömür boyu glutensiz diyet tüketimini sürdürmesi söz konusu olan bireylerin bu durumu devam ettirebilmesi sanıldığından daha zordur, çünkü gluten yalnızca ekmek, makarna ve kurabiye gibi besinlerde bulunmamaktadır. Glutenin modifiye edilmiş formları aroma geliştirici, kalınlaştırıcı, emülsüfyer, dolgunlaştırıcı ve güçlendirici olarak sadece gıda ürünlerinde değil ayrıca çeşitli besin desteklerinde, ilaçlarda ve kozmetik ürünlerinde de kullanılması bu hastalar için gizli gluten kaynaklarının kullanımında problem oluşturmaktadır. Ayrıca özünde gluten içermeyen mısır, pirinç, karabuğday, kinoa ve amaranth gibi birçok tahıl ve tahıl benzerleri, ürün üretimi sırasındaki çeşitli süreçlerde gluten ile kontaminasyona maruz kalabilmektedir [38].

Eğer bir ürünün veya ürün içeriğinin hipersensitiviteye neden olabilme riski varsa bu durumun ürün paketinde mutlaka belirtilmesi gerekmektedir. Bunun yanında glutensiz diyet tüketen bireylerin gluten içeriği azaltılmış ürün ile özünde gluten içermeyen ürünler arasındaki farkı bilmesi önemlidir [38].

Çölyak hastalarının diyetlerinde sürekli tükettikleri bu ürünlerde gluten miktarının tespiti ve kontaminasyonunun önlenmesi elzemdir. Teknolojik gelişmelerle birlikte bununla ilgili çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. En bilinen yöntemlerden biri olan Enzim Bağlantılı İmmunosorbent Analizi (ELİSA) yalnızca spesifikliği, hassaslığı ve uygunluğu nedeniyle değil aynı zamanda bağımsız bir referans metodun eksikliğinden de kaynaklı gluten analizinde yaygın olarak kullanılan analiz yöntemlerinden birisidir. Kullanılan diğer bir yöntem olan 2 boyutlu Jel Elektroferez (2D-E) sistemi ise immobil poliakrilamid sisteme dayalı gliadin analiz yöntemlerinden biridir. İmmobil striplerin nonlinear çıktıları üzerindeki izoelektrik odakların okunması prensibine dayanır [15, 38].

Son zamanlarda ELİSA testine alternatif olarak immunosensör, proteomik kitle spektrometresi, genomıği baz alan yöntemler ve aptamer, mikroarray ve multianaliz profilleri gibi geliştirilen yeni yaklaşımlar kullanılması da söz konusudur [38].

Proteomik alanında yapılan araştırmalarda İzoelektirik Odaklanma (IEF) ve Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezis (SDS-PAGE) ile kombinasyonu oldukça önemlidir [11].

Geri Dönüşümlü Hızlı Fazlı Sıvı Kromatografisinde (RP-FPLC) PepRPC HR 5/5 kolon ve ultraviyole (UV) detektörü ile Hızlı Fazlı Sıvı Kromatografisi (FPLC) ekipmanı kullanarak peptidlerin yayılması yöntemiyle gliadinin tespiti söz konusudur [15].

Asidik Poliakrilamid Jel Elektroforezisinde (A-PAGE) gösterdikleri mobilizasyonla α - β - γ - ω monomerlerinin analizi mümkün olmaktadır. Ayrıca α ve β -Gliadinlerin spesifik eldesinde ise 2D-E sistemi daha ayrıntılı sonuç vermektedir [11, 15].

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), bir karışımda yer alan her bir bileşeni ayırmak, tanımlamak ve miktarını belirlemek amacıyla en yaygın kullanılan ayırma tekniklerinden biridir [39].

HPLC cihazı temel olarak hareketli faz rezervuarları, pompalar, enjektör bloğu, kolon, dedektör ve kaydedici sistemlerden oluşur. Bir sıvıda çözülmüş bileşenlerin, bir kolon içerisinde bulunan genellikle katı bir destek üzerindeki sabit faz ile değişik etkileşimlere girmesi, kolon içinde değişik hızlarla hareket etmeleri sonucu, farklı zamanlarda bileşenlerin kolonu terk ederek birbirlerinden ayrılması ile tayin işlemi gerçekleştirilir [39].

HPLC bir karışımdaki bileşenlerin ayrılmasında sıvı hareketli fazı kullanır. Bu bileşenler ilk olarak çözümlenmiş ve daha sonra yüksek basınç altında kromatografi kolonundan geçmeye zorlanırlar. Diyagramda; çözücünün geçtiği bölüm, örneği sabit bir akış hızıyla cihaza iter. Enjektör, örneği sıvının içinden geçtiği kolona alır. Kolon, araştırılan maddeyi örnekteki diğer maddelerden ayıran silikon boncukların bulunduğu paslanmaz çelikten yapılmış tüptür. Modern cihazlarda normal bir akış hızı elde etmek için, 3-10 μ m'lik dolgu maddeleriyle doldurulmuş kolonlarda birkaç yüz atmosferlik

basınç uygulamaları yapılır. Detektör çözücü ve çözelti arasındaki karakteristik değişiklikleri ölçer. Bu değişiklikler monitörde görüntülenir ve veriler kaydedilir [40].

HPLC'nin en büyük avantajı ısıya dayanıklı olmayan ve uçucu olmayan bileşikler de analiz edebilmesidir. Yaygın kullanıma sebepleri arasında duyarlılığı, kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen bileşiklerin ayrılmasına uygunluğu sayılabilmektedir. Bu bağlamda HPLC tahıllarda gliadin miktarının analizinde kullanılan yöntemlerden biri olarak ekşi maya ile oluşturulan hamurda gliadin miktarının analizi ile ilgili bilimsel çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır [39].

Tahıllarda bulunan gliadinin HPLC ile analizinde yapılan çeşitli araştırmalar yapılmıştır. α ve γ -Gliadin fraksiyonlarının miktar analizinin gerçekleştirilmesinde yapılan bir çalışmada Geri Faz-Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) kullanılmıştır. HPLC çözücülerinin hazırlanmasında Trifloroasetik asit (TFA Standart: Fluka 91699), Asetonitril (ACN Standart: Merck 100030), büyükbaş hayvan serum albümini (BSA Standart: Serva 11920) ve Propil-4-Hidroksibenzoat (Standart: Fluka 54790) temin edilmiştir. Ekstraksiyon için kullanılan çözeltiler; A1: 0,4 mol/L NaCl + 0,067 mol/L HKNaPO₄ (pH 7,6); A2: 0,4 mol/L NaCl, B1: %60 (v/v) etanol (EtOH); B2: %50 (v/v) 1-propanol (1-PrOH); B3: %50 (v/v) 2-propanol (2-PrOH), C1: %50 (v/v) 1-propanol (1-PrOH) + 2 mol/L üre + 0,05 mol/L Tri-Hidroklorik asit (Tri-HCl) (pH 7,5) + nitrojen altında %1 (w/v) ditioeritritol (DTE); C2: %50 (v/v) 2-propanol (2-PrOH) + 0,08 mol/L Tri-Hidroklorik asit (Tri-HCl) (pH 8,0) + nitrojen altında %1 (w/v) ditioeritritol (DTE) şeklindeki karışım oranlarında oluşturulmuştur [40].

Standart ekstraksiyon prosedüründe yağdan arındırılmamış un (100 mg) tartılarak santrifüj tüpüne (10 mL) eklenmiş ve 1,0 mL A1 çözücü ile oda sıcaklığında (20 °C) iki kez, 0,5 mL B1 çözücüyle oda sıcaklığında üç kez ve 1,0 mL C1 çözücü ile 60 °C nitrojen altında iki kez aşamalı olarak ekstrakte edilmiştir. Her ekstraksiyon basamağı oda sıcaklığında 2 dk vorteksle başlatılmış ve A1 ve B1 için ortalama 10 dk C1 için ise ortalama 20 dk manyetik karıştırıcıyla devam edilmiştir. Süspansiyonlar çözücü A için 15 dk diğer çözücüler için 20 dk yaklaşık olarak 7 000 rpm (6 000 × g, RT, Jouan C412) ile santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrasında üstte kalan sıvı 2,0 mL ilgili ekstraksiyon çözücüsüyle

kombine ve dilüe edilmiştir. Ekstraktlardan alınan örnekler (300 µL) HPLC analizinden önce 0,45 µm membrandan filtre edilmiştir [40].

Buğdaydaki gluten proteinlerinin detaylı tanımlanmasının ve karakterizasyonunun HPLC ile yapıldığı başka bir çalışmada 3 x 5 µL'lik üç filtre edilmiş ekstrat örneğinde Zorbax SB300-C18 reversed-phase kolon (15 cm 4.6 mm i.d. - Agilent Technology, Palo Alto, CA, USA) kullanılmış, yayma ise 60 °C kolon sıcaklığı ve 1 mL/dk akış hızında %0,1 trifloroasetik asit (TFA) içeren sulu asetonitril (ACN) doğrusal aşamalı olarak kullanılarak yapılmıştır. Asetonitril (ACN) konsantrasyonu 108 dk'da %24'ten %50'ye çıkmış ve bundan sonra sabit kalmıştır Yapılan çalışmada dalga boyu 210 nm'dir [41].

Protein standartlarının hazırlanmasında liyofilize un (50 g) sırasıyla 200 mL A1 çözö ile 3 kez, 200 mL B1 çözöcö ile 3 kez Ultra Turrax homogenizer kullanılarak oda sıcaklığında 5 dk ekstrakte edilmiştir. Süspansiyonlar oda sıcaklığında 15 dk santriföj (40 000 × g – 10 000 rpm) edilmiştir. Gliadin ekstraksiyonun süpernatantı yaklaşık 200 mL vakum evaporatör kullanılarak konsantre edilmiş, 0,01 mol/L asetik asit ile klorid kalmayana kadar dialize ve liyofilize edilmiştir. HPLC analizi için standartlar (4 mg) 2 mL su (BSA) ve 2 mL B1 çözöcö ile oda sıcaklığında 10 dk karıştırılarak çözödürölmüştür [40].

RP-HPLC analizinin uygulanmasında ise; Nucleosil 300-5 C8 (Machery-Nagel 71265; 4,6 - × 240 mm, Shandon) özellikli kolon kullanılmış kolon sıcaklığı 50 °C olarak belirlenmiştir. 50-80 µL gliadin örneği enjeksiyon öncesi ve sonrasında %0,1 (v/v) trifloroasetik asit (TFA) (500 µL)'e enjekte edilmiştir. Analiz sırasında doğrusal aşamalı olarak 0 dk'da %28 çözöcö B'den, 30 dk'da %56 çözöcö B'ye gelinmiş, akış hızı 1,0 mL /dk. olarak belirlenmiş, her geçiş sonrası kolon %90 çözöcö B ile 5 dk temizlenmiş ve dengelenmiş çözöcö B konsantrasyonu ile başlanmıştır (10 dk) ve yapılan çalışmada dalga boyu 210 nm'dir [40].

RP-HPLC ile gliadin analizinde ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu üzerinde yapılan çalışmada gliadinler un örneklerinden %70 etanol (v/v), %55 2-propanol (v/v), 0,0085 M alüminyum laktat (pH: 3,1), 2 M dimetilformamid (DMF) ve 2 M üre ile ekstrakte edilmiştir. Çözöcö A (%15 asetonitril (ACN) + %0,1 trifloroasetik asit (TFA)) ve çözöcö B (%80 asetonitril (ACN) + %0,1 trifloroasetik asit (TFA)) şeklinde hazırlanmıştır. SynChropak RP-P C18 kolon (250 X 4,1 mm i.d.) kullanılarak 50 µL'lik örnekler %20'den

%50'ye doğrusal aşamalı olarak kullanılan çözücü B ile 55 dk'dan uzun bir süre (Total süre: 65 dk) 1,0 mL/dk akış hızında analiz edilmiştir Yapılan çalışmada dalga boyu 210 nm (0,2 Absorbance Units Full Scale (AUFS))'dir [42].

Gliadinin RP-HPLC aracılığıyla analizi ile buğday varyasyonlarının tanımlanmasının geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmada SynChropak RP-P C18 kolon (250 x 4,1 mm i.d.), hızlı analizler için ise Brownlee Aquapore RP-300 C8 kolon (250 x 4,1 mm i.d.) ve Beckman Ultrapore RPSC kolon (75 x 4,6 mm i.d.) kullanılmıştır. Akış hızı 2,5-3,0 mL/dk olan analizde alkilfenon karışımları internal ve eksternal RP-HPLC standartları olarak değerlendirilmiştir. Asetofenon (C2), propiyofenon (C3), n-bütirofenon (C4) ve valerofenon (C5) reaktanlarının her birinden 4 µl, 5 mg ofekzanofenon (C6)' a eklenmiştir. 25 mL CH₃CN + %0,1 trifloroasetik asit (TFA) içerisinde çözdürülmüştür. 4 µL'lik sonuç solüsyonu analiz edilmiştir Yapılan çalışmada dalga boyu 210 nm'dir [43].

RP-HPLC ile etanolde çözünebilen buğday proteinlerinin kromatografik yayma ve karakterizasyonunun geliştirilmesi üzerinde çalışılan başka bir araştırmada C4 kolon (250 X 4.1 mm, partikül büyüklüğü 5 µm, 300 °A por büyüklüğü) (A Vydac, Separations Group, HesReria, CA) kullanılmıştır. Çözücü A (su içerikli %0,11 TFA) ve çözücü B (%90 ACN içerikli %0,09 TFA) 0,45 µm HVLP Millipore filtre ile filtre edilmiştir. 10-30 µL'lik örnekler 1,0 mL/dk'lık akış hızı ile analiz edilmiştir Yapılan çalışmada dalga boyu 210 nm (0,1 AUFS/10 mV)'dir [44].

Buğday varyasyonlarının RP-HPLC ile tanımlanması ve genetik analizinde 50 µL'lik örnekler Waters WISP 710B otomatik örnek enjektörü ile SynChropak RP-P C 18 kolon (250 X 4,1 mm i.d.) kullanılarak enjekte edilmiştir. Çözücü A (%15 ACN + %0,1 TFA) ve çözücü B (%80 ACN + %0,1TFA) hazırlanarak 55 dk'lık doğrusal aşamalı analizde %80 çözücü A + %20 çözücü B'den %45 çözücü A + %55 çözücü B'ye 1,0 mL/dk'lık akış hızı ile uygulama gerçekleştirilmiştir Yapılan çalışmada dalga boyu 210 nm'dir [45].

Kullanılan buğday çeşidinin ekmek kalitesi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada gliadin ve glutenin proteinleri RP-HPLC ile incelenmiş C8 (por büyüklüğü 300 °A, partikül büyüklüğü 5 µm, 5 cm x 4,6 mm i.d., Supelco Inc., Bellefont, PA) özellikli kolon ile su, asetonitril (ACN) ve her biri %0,1 trifloroasetik asit (TFA) içerikli çözücü A ile çözücü B kullanılmış, 15 µl'lik enjeksiyon hacmine sahip örnekler ile 120 dk'da %24'lük

asetonitrilin %48'lik olmasına kadar 1 mL/dk akış hızıyla analiz gerçekleştirilmiştir Yapılan çalışmada dalga boyu 210 nm (0,5 AUFS)'dir [46].

Maya kültüründe (*Saccharomyces cerevisiae*) sentezlenen α -Gliadinin karakterizasyonu ve saflaştırılması üzerinde HPLC ile çalışılan bir araştırmada çözücü A (sulu %0,1 TFA) ile dilüe edilen örnek Vydac C4 reverse-phase kolon (Hesperia, CA, 0,46 i.d. $\times$ 25 cm) üzerinde, 25 °C'de, %65 sulu çözücü A ve %35 organik çözücü B (3:1 ACN:2-propanol ve %0,1 TFA) ile 1 mL/dk akış hızında 85 dk analiz edilmiştir Yapılan çalışmada dalga boyu 215 nm'dir [47].

Ekşi mayada bulunan laktik asit bakterilerinin gliadin benzeri fraksiyonların azaltılmasındaki etkisinin incelendiği bir çalışmada RP-HPLC ile gliadin peptitlerinin analizi gerçekleştirilmiştir. Gliadin fraksiyonlarının hidrolizi 20 mmol/L fosfat bufferdan (pH 7,0) 160 μ L, 4 mmol/L α -Gliadin 31–43 fraksiyonundan 75 μ L, final konsantrasyonu %0,05 olan NaN_3 'dan 4 μ L ve enzim preparasyonundan 100 μ L (hücre duvarı ve intraselüler ekstaktlar) reaksiyon karışımı içerisinde yapılmıştır. Enzim aktivitesi %0,1 TFA (final konsantrasyonu, v/v) eklenmesiyle durdurulmuştur. Yayımda PepRPC HR 5/5 özellikli kolon 0,5 mL/dk akış hızı ile % 0,1 TFA içinde asetonitrilin % 0'dan % 100'e aşamalı olarak gelmesiyle gerçekleştirilmiştir Yapılan çalışmada dalga boyu 210 nm'dir [48].

Glutensiz diyet için ekşi maya fermentasyonu sırasında gliadin yapısında oluşan değişikliklerin incelenmesinde gluten analizi için RP-HPLC kullanılmış, 15 μ L (0,45 μ m) filtre gliadin ekstraktı; Zorbax SB300 C18 Reverse-Phase özellikli kolona (5 μ m, 15 cm $\times$ 4,6 mm, Agilent Technologies, U.S.) enjekte edilmiş ve asetonitrilin %24'ten %50'ye aşamalı olarak gelmesiyle 108 dk'dan uzun bir süre (total süre: 120 dk) analiz edilmiştir. Analizde kolon sıcaklığı 60 °C, mobil faz solüsyon değerleri ise çözücü A: asetonitril içerisinde %0,1 trifloroasetik asit (TFA). Çözücü B: su içerisinde %0,1 TFA şeklindedir Yapılan çalışmada dalga boyu 210 nm'dir [49].

Boyut Dışlama Özellikli Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (SE-HPLC) ile yapılan bir çalışmada liyofilize gluteninler karışımı (2 mg), 20 °C'de, 10 saat sodyum fosfat buffer solüsyonu (PBS, 2 mL, 0,05 M, pH: 6,8) içeren sodyum dodesilsülfat (SDS, %2,0, w/v) ile ekstrakte edilmiş, santrifüj (10 000 $\times$ g, 15 dk, 20 °C) sonrasında süpernatantlar 0,45

μm 'lik filtreden geçirilerek 20 μl 'lik örnekler Shodex Protein KW-804 kolon (Showa, Kyoto, Japan) kullanılarak 30 °C'de enjekte edilmiştir. Örnekler PBS (0,05 M, pH: 6,8) içeren %0,2 SDS (w/v) ile 0,7 mL/dk olan akış hızında ayrıştırılmıştır Yapılan çalışmada dalga boyu 280 nm'dir [50].

Glutenin alt fraksiyonlarının SE-HPLC ile karakterizasyonunun gerçekleştirildiği başka bir çalışmada 80 μl 'lik örnek kullanılmış, Pharmacia HR (10/30) kolon ile 0,0125 M sodyum borat buffer, %0,1 w/v SDS, pH: 8,5 ve 0,3 mL/dk akış hızı uygulanmıştır Yapılan çalışmada dalga boyu 214 nm'dir [51].

Gliadinin RP-FPLC ile tespit edildiği bir çalışmada 31-43 α -Gliadin fragmentleri TFA + %0,1 ACN solventi eklenerek PepRPC HR 5/5 özellikli kolon, 0,5 ml/dk akış hızı ve 210 nm dalga boyu ile analize tabi tutulmuştur.

2.2.5. Mevzuattaki yeri

Gluten Codex Standard 118-1979, 2015' e göre bazı bireyler tarafından tolere edilemeyen, su ve 0,5 mol/L tuz çözeltisinde çözünmeyen buğday, çavdar, arpa ve yulaf veya bunların melez mahsullerindeki protein fraksiyonları olarak tanımlanmaktadır. Bir ürünün glutensiz olarak sunulması için üründeki gluten miktarının 20 mg/kg düzeyini aşmaması gerekmektedir [13].

Türk Gıda Kodeksinde gluten ve ilgili tanımlamalara bakılacak olursa; Gluten: Buğday, arpa, yulaf, çavdar, tritikale veya bunların melezlerinde veya türevlerinde bulunan ve suda ve 0,5 M NaCl'de çözünmeyen protein fraksiyonudur. Glutensiz gıda maddesi: Gluten içeren buğday veya tüm *Triticum* türleri ile arpa, çavdar, yulaf ve bunların melezlerini ve/veya türevlerinin yerine kullanılan gluten içermeyen bileşenlerden oluşan gıda maddeleridir. Gluteni azaltılmış gıda maddesi: Gluteni azaltılmış buğday veya tüm *Triticum* türleri ile arpa, çavdar, yulaf ve bunların melezlerini ve/veya türevlerini içeren gıda maddeleridir.

Glutensiz ürün özellikleri

Glutensiz gıda maddelerinde gluten miktarı kuru madde üzerinden 20 mg/kg'ı geçemez.

Gluteni azaltılmış gıda maddelerinde gluten miktarı kuru madde üzerinden 200 mg/kg'ı geçemez.

Doğası gereği gluten içermeyen bileşenler ile gluteni azaltılmış bileşenlerin karışımından oluşan gıda maddelerinde gluten miktarı kuru madde üzerinden toplam 200 mg/kg'ı geçemez.

Türk Gıda Kodeksi Glutensiz Ürünler Tebliği kapsamında yer alan ürünlerin belirlenen limitleri aşmaması amacıyla üretim hattında kontaminasyonun önlenmesi için gerekli tedbirler alınır.

Gıda maddesinin mevzuatında gluten içeren bileşen yerine, Türk Gıda Kodeksi Glutensiz Ürünler Tebliğinin Tanımlar bölümünde yer alan bileşenlerden biri veya birkaçının kullanılması ile üretilecek gıda maddesi ilgili mevzuatında kullanılan adı ile anılır [52].

2.2.6. Etiketleme

Glutensiz ürün etiketleme özelliklerinin Türk Gıda Kodeksi'nde yer alan açıklamaları; Glutensiz gıda maddelerinde, gıda maddesi adı ile birlikte ambalaj rengi ile kontrast teşkil edecek şekilde "Glutensiz" ifadesi bulunur. Glutensiz gıda maddelerinde, gıda maddesinin adı ile birlikte "Gluten miktarı 20 mg/kg'ı geçmez" ifadesi yer alır. Gluteni azaltılmış gıda maddelerinde, gıda maddesinin adı ile birlikte ambalaj rengi ile kontrast teşkil edecek şekilde "Gluteni azaltılmış" ifadesi yer alır. Gluteni azaltılmış gıda maddelerinde, gıda maddesinin adı ile birlikte içerdiği "gluten miktarı" mg/kg olarak açıkça görülebilir ve diğer etiket bilgilerinden kolayca ayrılabilir şekilde yazılır. Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünlerde, ambalaj rengi ile kontrast teşkil edecek ve kolaylıkla görülebilecek şekilde "Doktor tavsiyesiyle kullanılmalıdır" ifadesi yer alır. Bu Tebliğ kapsamında yer alan ürünlerde, beslenme beyan tablosunda vitamin ve mineral değerleri belirtilmelidir [52].

2.3. Ekşi Maya

Ekşi maya ekmek yapımında un ve sudan oluşan karışımın fermantasyonu ile üretilen önde gelen mayalama yöntemlerinden biridir. Kullanımı buğday ve çavdarın üretimi kadar eski ve gelenekseldir. Doğru oranlarda kullanıldığında ekşi maya üretilen ekmekte hacim, doku, lezzet, aroma ve besin değerlerini arttırırken; raf ömrünün uzamasında, bayatlamamanın

geciktirilmesinde ve ekmeğin diğer küf ve bakterilerden korunmasında olumlu etkiler oluşturmaktadır. Bu pozitif etkiler ekşi mayadaki laktik asit fermantasyonu, proteoliz, ekzopolisakkaritlerin üretimi ve bazı uçucu antimikrobiyal bileşiklerin üretiminden sorumlu yerleşik bakterilerle ilişkilendirilmektedir [8, 53, 54].

2.3.1. Tanım

Ekşi maya temel olarak un, su ve tuz karışımının laktik asit bakterileri küf ve mayalar kullanılarak spontane bir şekilde fermantasyona bırakılmasıyla elde edilen bir karışımdır. Bunun yanında içerisinde mayanın kendisinden ya da starter kültür olarak eklenen laktik asit bakterileri ve mayaların metabolik olarak aktif olduğu ya da yeniden aktive edildiği bir hamur türü olarak da tanımlanabilir ve üretimi fermantasyona bırakılan un ve su karışımının olgunlaşması tamamlanana kadar belirlenmiş zaman aralıklarında belirli miktarlarda un ve su karışımının yeniden ana mayaya eklenerek tekrar beslenmesi ilkesine dayanır [15, 33, 55, 56].

Mayanın beslenmesi

Mayalar içerisinde bulunan canlı organizmaların ortamdaki besini kullanarak üremesi ve bu süreçte oluşturduğu metabolitlerin sonucu fermente olarak büyümektedirler. Bu canlı organizmaların gelişiminin optimum düzeyde sağlanması için taze besine ihtiyaçları vardır. Bu nedenle fermantasyona bırakılan mayalar gelişim sürecinin takibi yapılarak beslenir [49].

Geleneksel yöntemle oluşturulan mayaların beslenmesi ana mayada gelişim gözlenmeye başlamasının ardından mayanın içerisinden belirli bir miktarın alınıp yerine yeni taze karışım eklenerek tekrar mayalanmaya bırakılması sürecini içermektedir [49].

Son yıllarda tüketicinin daha az kimyasal ve katkı maddeleri içeren daha doğal ürün kullanma yönelimi ile birlikte ekmek üretiminde ekşi mayanın kullanılması oldukça artış gösteren bir durumdur. Ekşi maya hamur yapımında kabartıcı ajan olarak kullanılır. Son yıllarda fırıncılık endüstrisinde kullanılan katkı maddelerine iyi bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır. Spesifik kültürlerin kullanılması fermantasyon sürecinin daha

kontrollü bir şekilde yürütülmesi fırıncılık sektöründe teknolojinin gelişmesiyle uygulanmaya başlanmıştır [33, 55, 57, 58].

Ekşi maya endüstriyel ya da yerel fırıncılar tarafından tipik olarak devamlı bir süreçte yeniden besleme yöntemiyle oluşturulan bir üründür [58].

Sınıflandırılması

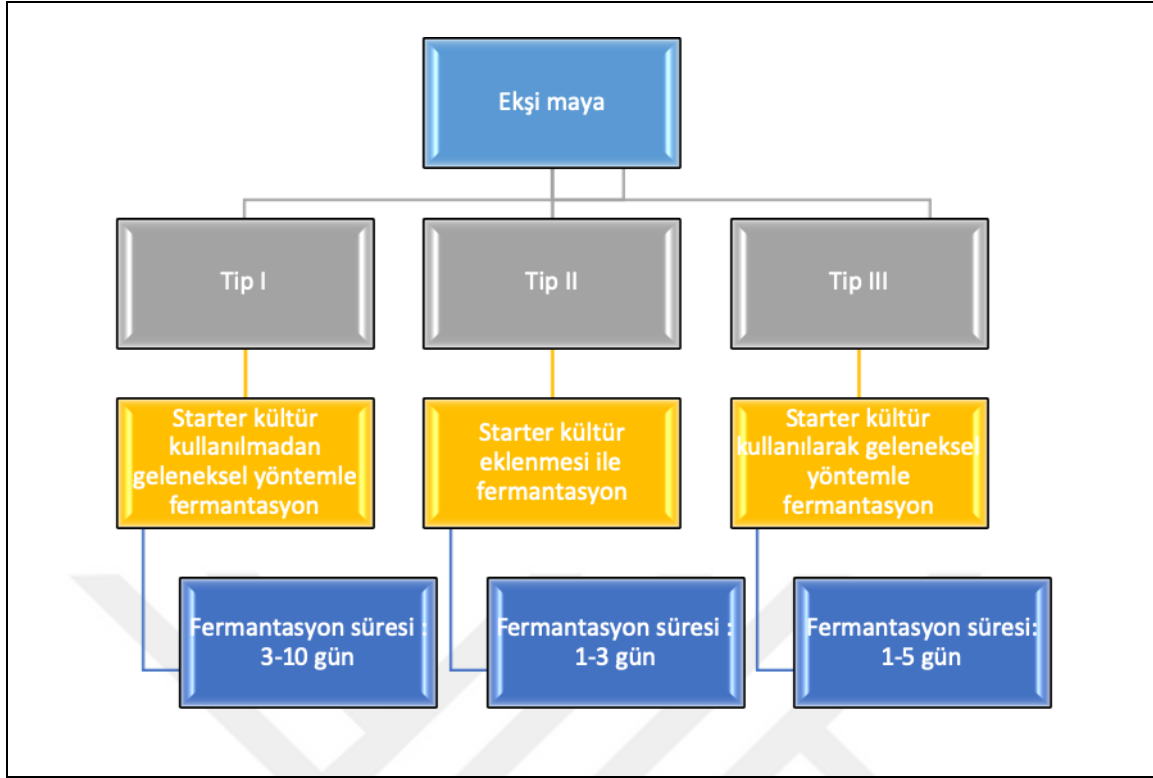
İnokülasyon tipleri göz önüne alındığında ekşi mayalar üç tip olarak incelenmektedir.

Tip I ekşi maya spontene olarak un, su ve tuz karışımının mayalanması ve tekrar beslenmesi yöntemine dayanan oda sıcaklığında fermantasyon süreciyle gelişen mayayı ifade eder. Gelişme ortamı ve kullanılan un çeşidine göre mikrobiyotası oldukça farklılık gösteren Tip I ekşi maya ekosistemine en iyi adapte olan maya türüdür ve yaklaşık olarak bir hafta içerisinde ekşi maya mikrobiyal erişkinliğe ulaşır [54].

Tip II ekşi mayanın fermantasyon süreci un, su ve tuz karışımına starter kültür eklenmesine dayanır. Bu ekşi maya türü genellikle oda sıcaklığından daha yüksek bir sıcaklıkta bekletilir ve olgunlaşması 1-3 gün içerisinde gerçekleşir. Tip II ekşi maya türü için seçilen starter kültürler hazırlanan un ve su karışımını asidifiye etme hızı ve spesifik aroma oluşturabilme özelliğine göre seçilir [54].

Tip III ekşi maya ise starter kültür ile fermantasyonun başlatılan sonrasında geleneksel besleme yöntemiyle devam edilen mayayı tanımlar [54].

Tip I Ekşi Maya terimi kabartma ajanı olarak kullanılırken Tip II Ekşi Maya terimi fırıncılık endüstrisinde geliştirici olarak kullanılmaktadır [58]. Ekşi mayanın sınıflandırması Şekil 2.1.'de şematize edilmiştir.



Şekil 2.1. Ekşi mayanın sınıflandırılması

2.3.2. Oluşumunda etkili olan faktörler

Ekşi maya üretiminde kullanılan çığ materyalin maya oluşum sürecindeki mikrobiyota üzerinde etkisi vardır. Fermantasyon sıcaklığının 30-40 °C olması mayalanma için optimum sıcaklıktır. Fermantasyonun uygun pH aralığında gerçekleşmesi gerekir. Yeterli miktarda ve sayıda tekrar beslenmesi ekşi maya oluşumunda önemli faktörlerdendir. Fermantasyon sürecinde proteinlerin hidrolizasyonu artar, su aktivitesi 0,96-0,98 aralığında olur, pH derecesi düşerek hamurun asitlik seviyesi yükselir. Yine un ve su karışımına eklenen bazı içerikler ile fermantasyonun hızlandırılması mümkündür [8, 55, 56].

Ekşi mayanın yapımında kullanılan starter kültür, ekşi mayanın üretildiği ortam ve besleme sayısı oldukça önemlidir. pH değerinin düşürülmesi mutlak bir fermantasyon aktivitesi gerektirmemektedir, ayrıca hamura dışarıdan asetik, laktik, tartarik, fosforik ya da sitrik asit eklenmesiyle de istenilen asitlik değerine ulaşılabilir. Bununla birlikte laktik asit bakterileri laktik asit fermantasyonunun yanında farklı biyokimyasal aktivite kompleksleri de oluşturabilmektedir. Ayrıca fermantasyon sürecinin uzaması biyokimyasal

dönüşümlerin gerçekleşmesinden sorumlu endojenöz enzimlerin oluşumunda etkilidir [8, 15, 21, 58, 59].

Sıcaklık, pH, enzim eklemesi ve fermantasyon süresi ekşi mayadaki laktik asit bakterisi ile maya ve küf sayısını ayrıca lipid oksidasyonunu dolayısıyla uçucu bileşiklerin profilini etkilemektedir. Lipid oksidasyonunun ekşi maya fermantasyonunu geciktirdiği ve laktik asit bakterilerinin metabolik ürünlerinde değişime neden olduğu görülmüştür. İnoküle edilmiş ekşi mayalarla kıyaslandığında spontane olarak mayalanmaya bırakılmış olanlarda mayaların fermantasyonundan kaynaklı açığa çıkan alkol oranının daha fazla olduğu görülmektedir [21, 33, 53, 55].

2.3.3. Mikrobiyal içerik

Ekşi maya laktik asit bakterileri, küf ve mayanın birlikte etkileşimleriyle oluşan kompleks bir ekosistemdir. Ekşi maya içerisinde bulunan mikroflora fermantasyon koşullarıyla oldukça ilişkilidir. Un ve suyun laktik asit bakterileri, maya ve küfler ile fermantasyonu sonucu elde edilen asit üretimi, aroma ve kabarma açısından karakteristikleri belirlenmiş bir karışım olan ekşi mayanın mikrobiyota içeriğini temel olarak laktik asit bakterileri ile mayalar oluşturmaktadır [8, 49, 54, 55, 58].

Ekşi mayanın mikrobiyota içeriğinin belirlenmesinde türler arasında kesin sınırların çizilmesi pek mümkün değildir. Oldukça fazla sayıda cins ve tür laktik asit bakterisinin tanımlandığı ekşi mayada spesifik çevresel faktörler ekşi maya mikrobiyotasının bileşimi ve fonksiyonunu önemli ölçüde etkilemektedir. Bu faktörler genellikle doğal seleksiyonu tetikleyerek en fazla üç ya da dört türün oldukça baskın miktarda gelişmesine izin vererek rastlantısal bir mikroflora gelişmesini sağlamaktadır [15, 54, 60].

Mikrobiyolojik çalışmalar buğday ve çavdar unu ile yapılan ekşi mayalarda 70'den fazla laktik asit bakteri türü, 25'den fazla maya ve küf türünün şimdiye kadar tanımlandığını göstermiştir. Bu türler arasında en fazla adapte olan bakteri cinsinin laktik asit bakterileri olduğu belirlenmiş, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Weissella* da tanımlanan diğer cinsler arasında yer almıştır [49, 54].

Fermantasyon sonrası ekşi mayadaki laktik asit bakteri miktarı $1-3 \times 10^9$ kob/g arasında değişiklik gösterir. Fermantasyon sonrası ekşi mayadaki maya ve küf miktarı ise $1 \times 10^6-5 \times 10^7$ kob/g arasındadır. Ekşi mayada tipik olarak bulunan laktik asit bakterisi türleri *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus paralimentarius*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus sanfranciscensis*'dir. Tipik olarak bulunan maya ve küf türleri ise *Candida humilis*, *Kazachstania exigua* ve *Saccharomyces cerevisiae*'dir. Ekşi maya türlerinin yaklaşık %50'sinde *Lactobacillus plantarum* ya da *Lactobacillus sanfranciscensis* bakterilerinin varlığı tespit edilmiştir [21, 54, 58, 61].

Ekşi mayanın mikrobiyotası üzerine tahıl bazlı un ve glutensiz un ile başlatılarak oluşturulan mayalarla yapılan çalışmalar başlangıç ürününün fermantasyon sürecindeki enzimatik aktiviteler ve mikrobiyal ekoloji üzerinde anahtar rol oynadığını göstermiştir. Sorghum unu kullanılarak yapılan çalışmada mikrobiyolojik ekosistemin un türüne spesifik olduğu ve laktik asit bakterileri yoğunluğunun daha fazla; küf ve maya miktarının daha az olduğu tespit edilmiştir [21, 62].

Ekşi mayada ticari starter kültürlerin glutensiz ürün üretimi üzerine uygunluğunun ve kullanılan un çeşidinin mayadaki mikroflora çeşitliliği üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada karabuğday ve teff unu kullanılmış; mayalarda una spesifik mikrobiyolojik çeşitlilik olduğu, karabuğday ununda yalnızca laktik asit bakterilerine rastlandığı, kullanılan her iki unun da ekşi maya ile glutensiz ürün üretiminde uygun olduğu belirtilmiştir [63].

Ekşi mayanın belirli bir starter kültür ile inoküle edilmesi ya da spontane olarak başlatılması, belirli besleme sayılarıyla büyütülmesi ya da bakteri türlerinin sayısı mikrobiyotasındaki en adaptif suşun belirlenmesinde yeterli olmayabilir. Bu faktörler ekşi maya mikrobiyotasının oldukça çeşitli olması sonucunu ortaya çıkarır. Bununla birlikte uzatılmış besleme periyotları ekşi mayanın büyümesinde binlerce ya da milyonlarca bakteri türünün elimine edilmesine ve suş birikimi ve dağılımının belirlenmesine engel olur. Uzun yıllar beslenmeye devam eden ekşi mayada olması beklenmeyen mikrobiyal üreme görülmesi ile kontaminasyon bile ihtimal dâhilinde olur [58].

Ekşi maya fermantasyonu sırasında laktik asit bakterilerinin proteoliz süreci incelendiğinde ekmek reolojisi ve bayatlama üzerinde oldukça geniş çaplı etkilerinin olabileceği

düşünülmektedir. Serbest amino asitler ve bazı küçük peptidlerin hızlı mikrobiyal gelişme ve yoğrulan hamur ürününde aromanın geliştirilmesinde öncü olma konusunda önemli işlevleri söz konusudur. Temelde ekşi mayadaki proteolitik aktivitenin aminopeptidaz, karboksipeptidaz ve endopeptidaz gibi unda bulunan endojenöz enzimler ile sonrasında çevresel koşullara bağlı oluşan mikrobiyota ve laktik asit bakterilerindeki enzimler ile sağlandığı varsayılmaktadır. Fermantasyon sürecinde laktik asit bakterileri proteolitik aktiviteyle serbest aminoasit oranının artmasını sağlarken maya ve küfler aminoasitlerin alifatik, dikarboksilik ve hidroksil gruplarını kullanmaktadır [15, 56].

Tip I ekşi maya mikrobiyotası kendi içerisinde daha fazla aynılığa sahiptir. *Lactobacillus sanfrenscensis* dünya çapında Tip I ekşi mayadaki temel laktik asit bakteri türüdür ve incelen ekşi mayaların %75'inde baskın tür olarak bulunmuştur [53, 58].

Artan teknolojik ürün geliştirme amaçları, üretim süreçleri, gluten içermeyen tahılların da dahil olduğu fermantasyon girdileri Tip II ekşi maya mikrobiyotasındaki çeşitliliğin arkasındaki temel mekanizma olarak görülmektedir. Tip II ekşi mayaların mikrobiyolojik ekosisteminde baskın olan laktik asit bakterisi türleri ise *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus pontis* ve *Lactobacillus panis*'tir [53, 58].

Ekşi maya ve laktik asit bakterileri ilişkisi

Doğada bulunan mikroorganizmaların önemli bir kısmının antimikrobiyal bileşik üretimi söz konusu olmasına karşın gıdalarda biyokontrolde laktik asit bakterileri ayrı bir öneme sahiptir. Amerikan Gıda ve İlaç Örgütü (FDA) tarafından da birçok laktik asit bakterisinin güvenlik onayı verilmiştir. Ekşi maya fermantasyonu sürecinde serbest amino asit birikimi ve laktik asit bakterisi enzimlerinin hamurun ekolojik sistemine adaptasyonu söz konusudur. Ekşi maya fermantasyonunda laktik asit bakterilerinin rolü, beslenme üzerindeki etkisi ve üretim teknolojisindeki geliştirmeler açısından bakıldığında oldukça önemlidir [15, 64].

Laktik asit bakterileri fermantasyon sürecinde ekmeğin bayatlamasının önlenmesi ve dokusal yapının geliştirilmesi üzerine olumlu etkilere sahip organik asitler, ekzopolisakkaritler ve enzimler gibi birçok metabolit üretimi gerçekleştirmektedir. Ekşi maya mikrobiyotasının temel metabolik aktiviteleri laktik asit bakterileri tarafından

gerçekleştirilen asidifikasyon, laktik asit bakterileri ile maya ve küfler aracılığıyla gerçekleştirilen aromanın geliştirilmesi ve kabarmanın sağlanması şeklinde sıralanabilir [33, 54].

Buğday ununda gliadinin parçalanmasına yönelik starter kültür olarak belirli laktobasiller ve enzimlerin eklendiği ekşi maya örnekleriyle yapılan bir çalışmada ekşi maya içerisinde bulunan laktobasiller ve fungal kaynaklı proteazların glutenin hidrolizasyonuna neden olduğunu ve gluten toksisitesini etkili bir şekilde elimine ettiği belirtilmiştir [25].

Laktik asit bakterilerinin amino asit konsantrasyonunu artırması ekşi maya fermentasyonunda intraselüler peptidazların artışı da dolaylı olarak uyarmaktadır. Ekşi mayadaki laktik asit bakterileri arasında anahtar role sahip olan *Lactobacillus sanfranciscensis* türü üzerinde aminopeptidaz, dipeptidaz, hücre duvarı ilişkili serin proteinaz tanımlanmıştır. Tanımlanan enzimler içerisinde hücre duvarı ilişkili serin proteinaz hamurdaki mikrobiyolojik ortamlarla adaptif bir uyum içerisinde, çünkü gliadin üzerinde α ve β -Kazeine göre daha yüksek oranda aktivite göstermekte ve baskın fermentasyon koşulları altında da bunu sürdürmektedir [15, 21].

Buğday unu ile starter kültür olarak belirli laktobasillerin eklendiği ekşi maya fermentasyonu sırasında gliadin yapısında oluşan değişikliklerin incelendiği başka bir çalışmada endojen kaynaklı proteazların gliadin degradasyonuna neden olduğu tespit edilmiştir [26].

2.3.4. Yararlı etkiler

Gliadin üzerindeki etki

Tahıllardaki gliadin fraksiyonları; α -Gliadin, β -Gliadin, ω -Gliadin, γ -Gliadin; glutenin fraksiyonları; LMW-Alt Üniteleri, HMW-Alt Üniteleri şeklindedir. Ekşi mayanın fermentasyon süresinin uzunluğu arttıkça gliadin üzerindeki hidrolizasyon etkisi de artmaktadır. Ekşi mayada bulunan laktobasillus türü bakterilerin tamamlayıcı peptidazlar ile buğday unundan yapılan ekşi mayalı ekmekte gluten konsantrasyonunu 10 ppm'in altına düşürebildiği saptanmıştır [8, 14].

Gliadin Gluten Enteropatisi başta olmak üzere glutenle ilişkili birçok hastalıkta temel toksik bileşen olarak görülmektedir. Yine yapılan çalışmalarda [65, 66] ekşi maya kullanımının gliadin fraksiyonlarının molekül ağırlıklarında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Ekşi maya ile transglutaminaz enziminin proteolitik aktivitesinin kombine olarak kullanıldığı bir çalışmada gliadin düzeyinde azalma sağlanmıştır [67].

Bir çalışmada ekşi mayada spesik olarak seçilen 4 laktobasillus türünün (*Lactobacillus alimentarius*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus sanfranciscensis* ve *Lactobacillus hilgardii*) 33-mer peptid üzerinde uzun inkübasyon süresinde oldukça etkili hidrolizasyon sağladığı bildirilmiştir [5]. Ayrıca gliadin fraksiyonları hamur hacminin oluşmasında önemli bir etken oluşturmakla birlikte, hidrolize olmasının hamur hacmini etkilemediği gösterilmiştir [68].

Besin öğeleri içeriği ve ürün kalitesi üzerindeki etki

Ekşi maya ile birlikte buğday unu kullanılarak üretilen ekmeklerin ömür boyu standart glutensiz diyetle bağlı çölyak hastaları üzerindeki etkisi üzerinde durulmaya başlanılan bir konu olmuştur [14].

Ekşi mayanın kullanımı fırıncılık ürün teknolojisi üzerinde oldukça fazla sayıda avantaj sunmaktadır. Sağladığı avantajlara bakıldığında fermentasyon sırasında pH değerinin düşürülmesi ile gaz tutulumu ve gluten ağı oluşması, unda amilazın inhibisyonu, gluten ağı ve nişasta granüllerinde su tutulması, pentozanların şişmesi, endojenöz fitazlar ile fitat komplekslerinin çözünmesi ve bozulmaların önlenmesi üzerinde oldukça olumlu etkilerinin olduğu görülmektedir [15, 33, 57].

Ekşi maya fermentasyonu son üründe; glisemik indeksin düşürülmesinde, bayatlamının geciktirilmesinde, fitik asit içeriğinin azaltılmasında, proteolitik aktivitenin artmasında, ekzopolisakkaritlerin oluşumunda, ekmekte aroma ve lezzet yapısının gelişmesinde ve raf ömrünün uzamasında etki göstermektedir [17, 18].

Ekşi maya ekmekteki kabartıcı özelliğinin yanı sıra besinsel özelliklerin iyileştirilmesi, biyoaktif bileşiklerin arttırılması, bayatlamının geciktirilmesi, raf ömrünün uzatılması ve

ekmek aromasının iyileştirilmesi gibi organoleptik özellikler üzerine de olumlu etkilere sahiptir [6, 21, 54-57].

Ekmekte hacim hamurun viskozitesi, amiloz/amilopektin oranı, yüzey aktif komponentlerin varlığı gibi birçok faktöre bağlıdır. Gliadin ve glutenin alt ünitelerinin zincir uzunlukları gluten kitlesi oluşumunda toparlayıcı davranışının oluşumu kadar polimerizasyona eğilimlerini de etkilemektedir. Gliadinin laktik asit bakterileri tarafından kısmi hidrolizi hamurun yumuşaklık derecesi ve fermantasyon süresindeki stabilitesini de olumlu yönde etkilemektedir [12, 15].

Laktik asit bakterileri ve mayalardan oluşan ekşi maya mikrobiyotası kullanılan tahıllardaki substratlar ile birlikte oluşturduğu enzimatik aktiviteyle ürün kalitesinin belirlenmesinde aktif rol oynamaktadır. Buğday ya da çavdar unu kullanılarak spesifik laktobasillus türleriyle üretilen ekşi maya ile yapılan ekmek ve makarnalarda gluten toksisitesinin anlamlı ölçüde azaltıldığı görülmüştür [14, 58].

Asidifikasyon, mayalanma ve asetat formasyonu ekmek kalitesinin belirlenmesinde önemlidir ve genellikle ekşi mayadaki laktik asit bakterilerinin yarışması ile oluşur. Ayrıca sükrozdan ekzopolisakkaritlerin oluşumu çoğu ekşi mayanın mikrobiyal komünlerinin oluşmasında ayırıcı bir metabolik nitelik görevi görür ve ekmekte doku ve hacim yapısını geliştirir [58].

Tahıllarda metallerle güçlü bağlar yapmasıyla bilinen ve suda çözünmeyerek besinsel öğelerin emilimini engelleyen fitik asit antinutrisyonel öğeler arasında değerlendirilmekte olup özellikle mikronutrientlerin emiliminde zorluk yaşayan çölyak hastalarında yetersizliklerin görülmesine neden olmaktadır. Ekmek yapımı sürecinde pH, sıcaklık ve fermantasyon süresi gibi faktörlerden etkilenerek fitazlar tarafından parçalanabilmektedir. Bu durumda ekşi maya fermantasyonunun optimal koşullarda endojenöz fitaz aktivitesini arttırarak minerallerin biyoyararlılığını arttırdığı ve ekşi mayadaki bazı laktik asit bakterilerinin fitaz aktivitesini geliştirdiği gösterilmiştir [8].

Ekşi mayanın fırıncılık endüstrisinde kullanılması normal mayalı hamur ile üretilen ekmeklerle kıyaslandığında ekmeği duysal ve besinsel kalite yönünden daha fazla geliştirdiği düşünüldüğünden dünya çapında artan bir uygulamadır [58, 61].

Ekşi mayanın oluşumundaki faktörlere bağlı olarak gelişen uçucu bileşiklerin ekmeğin duyu kalitesi özellikle aroması üzerine katkısı oldukça önemlidir. Bu bileşiklerin oluşum yolları incelenecek olduğunda fermantasyon sürecindeki lipid oksidasyonu, Maillard ve karamelizasyon reaksiyonları ile karşılaşmaktadır ve bu bileşikler aldehit, asit, alkol, keton ve ester gibi kimyasal sınıflar altında yer alabilmektedir [55].

Uçucu bileşiklerin oluşmasında laktik asit bakterileri ve mayaların fermantasyon sürecindeki aktivitelerinin görevi büyüktür. Mayaların aktivasyonu sonucu oluşan temel bileşikler karbon dioksit (CO_2) ve etanoldür. Laktik asit bakterilerin aktivasyonu sonucunda ise açığa çıkan ürün asetik asit olarak belirlenmiştir. Kırıntı yapısının elastikiyeti ekmekteki alveol yapısının boyutu, şekli ve dağılımıyla ilişkili olup alveol yapısı da kabarma ve pişme sürecinde üretilen CO_2 seviyesinden etkilenmektedir [33, 55].

Ekşi mayanın oluşumu sırasında mikroorganizmaların ürettiği bir yapı da ekzopolisakkaritlerdir. Metabolik süreçte salınan monosakkaritlerin yüksek molekül ağırlıklı polimerleri olan ekzopolisakkaritler hücre içi, hücre duvarı ve hücre dışında birçok görev alır. Fırıncılık endüstrisinde emülsifiyer ve stabilizatör olarak görev alan ekzopolisakkaritler fermente ürünlerde stabilizasyon sağlanması, dokunun geliştirilmesi, ozmotik stres ve kurumadan koruma gibi işlevlere sahiptir [69].

Ekzopolisakkaritler hamurda viskoelastik yapının geliştirilmesinde, doku hacminin artmasında, raf ömrünün geliştirilmesinde ve dokuda sertliğin azaltılmasında olumlu etkilere sahiptir. Amino asitler ve peptidlerin aroma içeren bileşenlere dönüşümü özellikle glutamatın laktik asit bakterileri tarafından çevrimi ekmekte aromanın geliştirilmesinde etkili olur [21, 33].

Özellikle hücre içi ekzopolisakkaritlerin üretimi pahalı hidrokolloidler gibi ekmek geliştirici ajanların ekstra eklenmesinin azaltılması yönünden avantaj sağlayabilmektedir [33].

Bayatlama sürecinde organik asitlerin üretimi, nişastanın bakteriyel hidrolizi, ve glutenin alt fraksiyonlarının proteolizi starter kültür olarak eklenen laktik asit bakterilerinde farklılık göstermektedir. Ekmekte fermantasyon sonucu oluşan serbest aminoasitler aroma

üzerinde oldukça etkili olup kimyasal olarak asidifiye edilmiş hamurlarla kıyaslandığında daha iyi sonuçlar elde edildiği görülmüştür [33, 53].

Arpa ve buğday unu ve bunlardan oluşan karışımın kullanılarak ekşi maya üretiminin son ürün kalitesine etkisinin incelendiği başka bir çalışmada arpa ununun kullanıldığı ekmekte besinsel değer, diyet posası (β -Glukan) ve duyuşal kabul edilebilirlik açısından anlamlı olarak yükseldiği görülmüştür [23].

Ekşi maya tahıllardaki minerallerin biyoyararlılığını artırırken fitat miktarının azaltılmasına yardımcı olur. Tokluk sonrası kan glukoz seviyesinin ani yükselmesini önleyerek kan şekeri regülasyonunun sağlanmasına katkı sağlar. Ekşi mayanın ekmek üzerinde oluşturduğu etki ayrıca hamurdaki oranına bağılı olmakla birlikte bu etkinin yüksek düzeyde olmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır [55, 61].

İnsan sağılığı üzerindeki etki

Ekşi mayanın sağılık üzerine oldukça pozitif etkileri olduğunu belirtmek gereklidir. Ekşi maya ile yapılan ekmek gibi ürünlerin glisemik yanıtı azalttığı ve minerallerin kullanılabilirliğini arttırdığı gözlenmiştir. Sindirim sisteminden sindirilmeden geçen ekzopolisakkaritler intestinal sistemde prebiyotik olarak faaliyet göstermektedir [6, 15, 69].

Buğday ve yulaf unundan yapılan ekmekte ekşi mayanın etkisini gözlemlemek için yapılmış bir çalışmada ekşi mayanın son ürün üzerinde glisemik indeksi düşürücü etkiye sahip olduğu ve ekmek için olumlu etkilere sahip bir tat ve üretim prosesi olduğu vurgulanmıştır [53]. Ayrıca ekzopolisakkaritler prebiyotik olarak da görev yaparak barsak mikrobiyotasının düzenlenmesine yardımcı olurken ekmekte spesifik hacmin ve yumuşaklığının artmasına ayrıca bayatlamının geciktirilmesine katkı sağlar [32].

Çölyak hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada 60 gün boyunca gluten içeren ekmek (yaklaşık 80 000 ppm), ekşi maya yöntemi ile laktik asit bakterileri aracılığıyla üretilen gluteni azaltılmış ekmek (yaklaşık 2 500 ppm) ve ekşi maya yöntemi ile laktik asit bakterileri ve fungal proteazlar aracılığıyla üretilen glutensiz ekmek (yaklaşık 8 ppm) tüketiminin klinik semptomlar üzerine etkisi incelenmiştir. Genel olarak gluten içeren

ekmek tüketimi olan bireylerde inflamatuvar yanıtı tetikleyen markerların oluşumunda artış ve ince bağırsak mukozasında klinik semptomlar gözlenmiş, gluteni azaltılmış ekmek tüketimi olan bireylerde klinik semptom oluşturmamakla birlikte doku transglutaminaz antikorlarında artış saptanmış, glutensiz ekmek tüketimi olan bireylerde ise herhangi bir klinik bulgu ya da antikor seviyelerinde artışa rastlanmamıştır [14].

2.3.5. Normal maya ile kıyaslama

Normal mayanın ve ekşi mayanın oluşum süreçleri karşılaştırıldığında metabolik ve kinetik yolları bakımından birbirinden farklılık gösterdiği görülmektedir. Laktik asit bakteri fermentasyonu sonucunda optimal miktarda uçucu bileşiklerin oluşması için en az 12 saatlik bir bekleme süresi gerekirken, normal mayanın üreteceği uçucu bileşiklerin tamamlanması için birkaç saatlik bir zaman süreci yeterlidir [55].

Ekşi maya ile normal maya bazlı ekmek hamurlarının arasındaki temel fark ekşi mayada bulunan laktik asit bakterilerinin hamurdaki metabolik dönüşümü sonucu oluşturduğu enzimatik aktivitedir ki bu durum ekşi maya üretiminde elzem iken normal mayalı hamur üretim prosesinde göz ardı edilebilir bir durumdur. Ekşi mayada bulunan laktik asit bakterileri ve mayalar arasındaki yarış uçucu bileşiklerin üretim prosesi üzerinde de etkilidir [55, 58].

Yine normal maya ile oluşturulan hamurda serbest aminoasit düzeyinin ekşi mayalı hamura göre daha düşük seviyede olduğu ve ekşi mayadaki proteolitik aktivitenin laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirildiği gösterilmiştir [53].

Normal maya ile yapılan ya da kimyasal olarak asitlendirilen hamurlar ile kıyaslandığında Brabender ekstensografi ve farinografi ile Chopin alveografi ile ölçülen tüm parametrelerde laktik asit bakterilerinin daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiş ve bu durumun baskın bakteri kültürü ile zayıf bir ilişkisi olduğu bildirilmiştir [15].

2.3.6. Ekmek kalitesi

Ekmek dünya çapında en fazla tüketilen ürünlerden biri olarak günlük 9 000 000 000 kg'lık üretime sahip olan insan beslenmesinde oldukça önemli yere sahip bir gıdadır. Ekmeğin kalite karakteristikleri ile üretim koşulları arasında olduğu kadar mikrobiyal,

proteolitik ve asidifikasyon aktivitesi arasında da güçlü bir ilişki söz konusudur. Genellikle glutensiz hamur üretimi glutenin hamura kazandırdığı özellikleri taklit etmek ve besinsel açıdan zenginleştirmek için birçok yan ürün eklenmesini beraberinde getirir. Ekşi maya ekmek yapımında hala önemli role sahip olan ve ekmekte yararlı besinsel öğelerin açığa çıkmasını sağlayan eski ve geleneksel bir üretim yöntemidir [6, 21, 33, 57].

Ekmek oluşumunda yer alan ham maddeler neredeyse aromasız ve tatsız bileşiklerken fermentasyon ve pişirme sürecinde oluşan aktif komponentler ekmeğin kendine has aroma ve tadının oluşmasını sağlar. Normal maya kullanılmadan da ekşi maya mikrobiyotasının seçili suşları ile ekmeğin kabarmasını sağlamak mümkündür. Normal maya ile yapılan ekmeğin 2 saatlik fermentasyon süresiyle kıyaslandığında oldukça uzun bir mayalanma süresine sahip olan ekşi mayalı ekmekte görülen bu fermentasyon süreci tipik ekşi mayalı ekmek yapımında kullanılan antik çağlardan günümüze uzanan bir üretim geleneği olarak görülmektedir [5, 53, 58].



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Kullanılan Materyaller

Bu çalışma ekşi maya ile fermantasyon yönteminin hamura ve ekmeğe olan etkilerinin değerlendirilmesine yönelik laboratuvar ortamında uygulanan deneysel bir araştırmadır.

Çalışma Nisan 2018-Mart 2019 tarihleri arasında Kırklareli Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi Araştırma Laboratuvarı, T. C. Tarım ve Orman Bakanlığı'na bağlı Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan ekmeklerin duyuşsal değerlendirmesi Kırklareli Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışma için kullanılacak araç gereç ve materyallerin tamamı üretilecek ekşi maya ve ekmeklerde glutenin çapraz kontaminasyonunun önlenmesi amacıyla yeni satın alınmıştır. Kullanılan glutenli un (Sinangil çok amaçlı buğday unu, %80 randımanlı), glutensiz un (Sinangil, çölyak hastaları için özel olarak hazırlanmış glutensiz un) ve normal maya (Pakmaya instant maya) ticari bir süpermarketten (Migros) ambalajlı olarak satın alınmıştır. Çalışma sürecinde yapılacak analizler için alınan numunelerin taşınmasında 250 ml'lik beyaz kapaklı saklama kavanozları kullanılmıştır.

Gliadin analizinde kullanılan gliadin standardı 'G3375-25 g' ürün kodu ve 'Gliadin from Wheat' (Sigma-Aldrich, Saint Louis, ABD) ürün ismi ile INTERLAB Laboratuvar Ürünleri San ve Tic. A. Ş. firmasından 25 gramlık ambalaj ile temin edilmiştir.

Kırklareli Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilen analizlerde kullanılan asetonitril, trifloroasetik asit, 2-Propanol, formik asit ve diğer tüm kimyasal materyaller ile araç gereçler ilgili laboratuvar envanterinden temin edilmiştir.

Çalışmada gerçekleştirilen duyuşsal değerlendirme için gerekli yazılı izin 08.02.2019 tarih ve 73445267-605.99-E.2858 sayısı ile Kırklareli Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Müdürlüğü'nden alınmıştır (Ek-1). Duyuşsal değerlendirmeye katılan bireylere çalışmaya gönüllü olarak katıldıklarına dair yazılı onam formu imzalatılmıştır (Ek-2).

3.2. Araştırmanın Genel Planı

Çalışmada geleneksel yöntemle fermente edilen glutenli ve glutensiz un ile ekşi maya elde edilmiş ve bu mayalardan elde edilen hamur ve ekmekler normal mayadan yapılan hamur ve ekmekler ile karşılaştırılmıştır. Araştırmanın genel planı Şekil 3.1.'de şematize edilmiştir.

Çalışmada glutenli ve glutensiz un kullanılarak iki farklı çeşit ekşi maya oluşturulmuştur. Ekşi mayaların oluşturulmasında un, su ve tuz kullanılmış, dışarıdan hızlandırıcı herhangi bir müdahalede bulunulmadan geleneksel yöntem ile fermentasyon sağlanmıştır. Mayaların ilk 4 gün 12 saat arayla olmak üzere günde iki kez kontrolü ve beslemesi yapılmış, sonraki 6 gün 24 saat arayla olmak üzere günde bir kez kontrolü ve beslemesi gerçekleştirilmiştir. 10. günün sonunda 'Glutenli Ekşi Maya' ve 'Glutensiz Ekşi Maya' olmak üzere 2 ayrı çeşit maya elde edilmiştir [70].

Elde edilen ekşi mayalardan glutenli ve glutensiz unlar kullanılarak hamurlar yapılmıştır. Kontrol grubu olarak ise glutenli ve glutensiz unlardan normal maya (*Saccharomyces cerevisiae*) kullanılarak hamurlar yapılmıştır. Sonuç olarak 'Glutenli Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutenli Normal Mayalı Hamur' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Hamur' olmak üzere 4 ayrı çeşit hamur elde edilmiştir.

Elde edilen hamurların belirli sürelerde dinlendirilmesinin ardından belirli sıcaklık ve zaman süreçlerinde pişirilerek 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' olmak üzere 4 ayrı çeşit ekmek elde edilmiştir. Maya ve ekmeklerin hazırlanması sürecinde Uluslararası Amerikan Tahıl Kimyagerleri Derneği'nin (AACC) metotlarını kullanan çalışmalar esas alınmıştır [12, 71, 72].

Numunelerin alımında kullanılacak aletler önce %5'lik etil alkol çözeltisinde yıkanıp ardından 100 °C sıcaklıktaki suda 5 dk bekletilerek sterilizasyonu sağlanmıştır. Tüm numuneler için kullanılan kavanozlar sterilizasyonun hemen ardından numunenin kavanoza alım işlemi gerçekleştirilerek kapağı kapatılmış ve kavanoz içerisinde negatif basınç oluşması sağlanmıştır. Tüm numune kavanozları üzerinde numunenin cinsi ve

uygulanacak analiz metodu belirtilecek şekilde etiketlenmiştir. Analizler için alınan hamur numuneleri Ek-5'te, ekmek numuneleri Ek-6'da verilmiştir.

Hamur ve ekmeklerin üretiminin gerçekleştirilmesinin ardından alınan numuneler araştırmacı tarafından 6-7 saatlik transfer sürecinin ardından mikrobiyolojik analizler için laboratuvara ulaştırılmıştır. Bu analizlerin gerçekleştirildiği laboratuvarın akreditasyonu sağlanmıştır.

Glutenli ve glutensiz ürünlerin tamamının üretimi ve numune alınması ayrı ortamlarda gerçekleştirilerek olası bir kontaminasyon önlenmiştir.

Ekşi maya ve normal mayalardan elde edilen hamurlardan ve ekmeklerden alınan numunelerin 20-25 °C sıcaklık muhafazasıyla ilgili analizlerin yapılacağı laboratuvarlara transferleri sağlanmıştır. 'Glutenli Ekşi Maya', 'Glutensiz Ekşi Maya', 'Glutenli Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutenli Normal Mayalı Hamur', 'Glutensiz Normal Mayalı Hamur', 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' numunelerinin Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemi ile gliadin düzeyleri ölçülmüştür. Bu analizler Kırklareli Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir.

'Glutenli Ekşi Mayalı Hamur' ve 'Glutenli Normal Mayalı Hamur' numunelerinin El ile Yaş Öz Tayini metodu ile gluten düzeyleri analizi Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Bitkisel Ürünler Bölümü Laboratuvarları'nda yaptırılmıştır. Ancak analiz sırasında hamurun dağılması nedeniyle sonuç alınamamıştır.

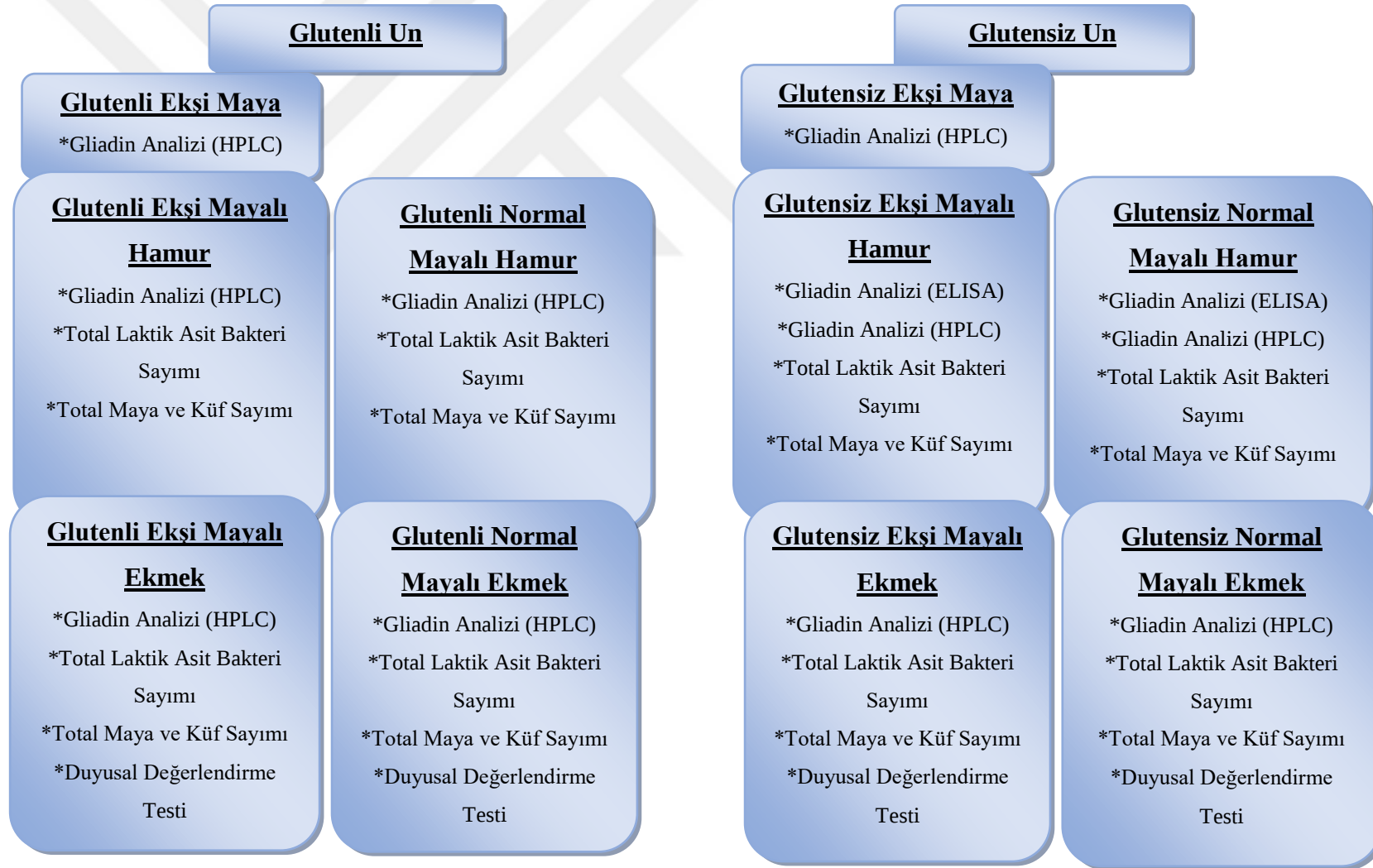
'Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Hamur' numunelerinin Enzim Bağlantılı İmmunosorbent Değerlendirmesi (ELISA) metodu ile gliadin düzeyleri ölçülmüştür. Bu analizler Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü'nde gerçekleştirilmiştir. Gliadin analizi (ELISA) Hayvansal Ürünler Bölümü Laboratuvarları'nda yapılmıştır.

'Glutenli Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutenli Normal Mayalı Hamur', 'Glutensiz Normal Mayalı Hamur', 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutensiz

Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' numunelerinin Total Laktik Asit Bakteri Sayımı ile Total Maya ve Küf Sayımı Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Mikrobiyoloji Bölümü Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir.

'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' numunelerinin likert ölçeği ile hazırlanmış anket eşliğinde duyuşal değerlendirme yapılmıştır. Bu değerlendirme Kırklareli Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu'nda gerçekleştirilmiştir.

Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü'nde gerçekleştirilen analizlerin uygulanması hizmet alımı şeklindedir. Numunelerin transferi araştırmacı tarafından sağlanarak tüm analizlerin uygulanmasında gözlemci olarak bulunulmuş, gerekli gözlem ve incelemeler yapılmıştır.



Şekil 3.1. Araştırmanın genel planı

3.3. Araştırmanın Uygulanması ve Değerlendirilmesi

3.3.1. Mayaların hazırlanması

Çalışmanın ilk aşamasında geleneksel yöntem ile mayalar oluşturulmuştur. Çalışılacak tezgah ile kullanılan tüm ekipman ve araç gereçler %5'lik etil alkol çözeltisiyle sterilize edilmiş ve mayaların hazırlanmasına geçilmiştir. Glutenli ekşi mayanın üretimi glutensiz ekşi mayadan ayrı yerde gerçekleştirilmiş ve aseptik koşullara dikkat edilerek üretim yapılmıştır.

Bu çalışmada glutenli ve glutensiz olmak üzere iki ayrı çeşit un kullanılmıştır. Kullanılan glutenli unun etiket bilgisine göre 100 gramında; protein miktarı 11,6 g, kül miktarı 0,65 g, glutensiz unun etiket bilgisine göre 100 gramında; protein miktarı 0,52 g, kuru madde miktarı 0,17 g'dır.

Glutenli ekşi maya

Glutenli ekşi maya yapımı için kullanılacak ekipman ve araç gereçler sterilize edilip hazırlandıktan sonra 100 g glutenli un hassas terazi yardımıyla tartılarak mayanın oluşturulacağı kavanoza bırakılmış ve üzerine 35 °C sıcaklıkta 100 mL saf su eklenmiştir. %5 oranında tuz ilavesi yapılarak cam baget yardımıyla malzemelerin birbirine karışması sağlanmıştır. Kavanozun üzeri ortamdaki toz vb maddelerin geçişini engelleyecek fakat ortam ile maya karışımı arasında hava sirkülasyonunu sağlayacak şekilde temiz ve geçirgen bir bezle örtülmüş ve 25 °C sıcaklıktaki karanlık ortamda fermentasyona bırakılmıştır. 12 saat sonrasında yapılan kontrolde yüzeyinde ve boyutunda herhangi bir farklılık gözlemlenmeyen mayanın üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. 2. gün 12 saat sonrasında yapılan 1. kontrolde ve 12 saat sonrasında yapılan 2. kontrolde yüzeyindeki kabarcık sayısının arttığı gözlenen fakat boyutunda herhangi bir farklılık gözlemlenmeyen mayanın üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. 3. gün 12 saat sonrasında yapılan 1. kontrolde yüzeyindeki kabarcıkların az miktarda arttığı gözlenen fakat boyutunda herhangi bir farklılık gözlemlenmeyen mayanın 200 g'lık miktarı içerisinde steril tahta kaşık yardımıyla alınıp kalan kısmın üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. 12 saat

sonrasında yapılan 2. kontrolde yüzeyindeki kabarcıkların az miktarda arttığı gözlenen fakat boyutunda herhangi bir farklılık gözlemlenmeyen mayanın 100 g'lık miktarı içerisinde steril tahta kaşık yardımıyla alınıp kalan kısmın üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. 4. gün 12 saat sonrasında yapılan 1. kontrolde, 12 saat sonrasında yapılan 2. kontrolde ve 5. gün 12 saat sonrasında yapılan kontrolde yüzeyinde ve boyutunda herhangi bir farklılık gözlemlenmeyen mayanın içerisinde eksiltme yapılmadan üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. 6. gün 24 saat sonrasında yapılan kontrolde yüzeyinde az miktarda kabarma gözlenen fakat boyutunda herhangi bir farklılık gözlemlenmeyen mayanın 50 g'lık miktarı steril tahta kaşık yardımıyla içerisinde alınıp kalan kısmın üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. 7. gün 24 saat sonrasında yapılan kontrolde, 8. gün 24 saat sonrasında yapılan kontrolde, 9. gün 24 saat sonrasında yapılan kontrolde ve 10. gün 24 saat sonrasında yapılan kontrolde boyutunda bir miktar artış gözlenen mayanın 50 g'lık miktarı steril tahta kaşık yardımıyla içerisinde alınıp kalan kısmın üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. Glutenli ekşi mayanın fermentasyon sürecinde geçirdiği aşamalar Ek-3'de verilmiştir.

Glutensiz ekşi maya

Glutensiz ekşi maya yapımı için kullanılacak malzeme ve materyaller sterilize edilip hazırlandıktan sonra 100 g glutensiz un hassas terazi yardımıyla tartılarak mayanın oluşturulacağı kavanoza bırakılmış ve üzerine 35 °C sıcaklıkta 100 mL saf su eklenmiştir. %5 oranında tuz ilavesi yapılarak cam baget yardımıyla malzemelerin birbirine karışması sağlanmıştır. Kavanozun üzeri ortamdaki toz vb maddelerin geçişini engelleyecek fakat ortam ile maya karışımı arasında hava sirkülasyonunu sağlayacak şekilde temiz ve geçirgen bir bezle örtülmüş ve 25 °C sıcaklıktaki karanlık ortamda fermentasyona bırakılmıştır. 12 saat sonrasında yapılan kontrolde, 2. gün 12 saat sonrasında yapılan 1. kontrolde ve 12 saat sonrasında yapılan 2. kontrolde yüzeyinde ve boyutunda herhangi bir farklılık gözlemlenmeyen mayanın üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. 3. gün 12 saat sonrasında yapılan 1. kontrolde boyutunda iki katına ulaşan bir farklılık gözlenen mayanın 200 g'lık miktarı steril tahta kaşık yardımıyla içerisinde alınıp mayanın kalan kısmın üzerine 50 g un ve 35 °C

sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. 12 saat sonrasında yapılan 2. kontrolde, 4. gün 12 saat sonrasında yapılan 1. kontrolde ve 12 saat sonrasında yapılan 2. kontrolde boyutunda %50 oranında kabarma gözlenen mayanın 100 g'lık miktarı steril tahta kaşık yardımıyla içerisinden alınıp mayanın kalan kısmın üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. 5. gün 12 saat sonrasında yapılan kontrolde, 6. gün 24 saat sonrasında yapılan kontrolde ve 7. gün 24 saat sonrasında yapılan kontrolde boyutunda %50 oranında kabarma gözlenen mayanın 50 g'lık miktarı steril tahta kaşık yardımıyla içerisinden alınıp kalan kısmın üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. 8. gün 24 saat sonrasında yapılan kontrolde, 9. gün 24 saat sonrasında yapılan kontrolde ve 10. gün 24 saat sonrasında yapılan kontrolde boyutunda %40 oranında kabarma gözlenen mayanın 50 g'lık steril tahta kaşık yardımıyla miktarı içerisinden alınıp kalan kısmın üzerine 50 g un ve 35 °C sıcaklıkta 50 mL su eklenmiş ve aynı koşullarda dinlenmeye bırakılmıştır. Glutensiz ekşi mayanın fermentasyon sürecinde geçirdiği aşamalar Ek-4'te verilmiştir.

3.3.2. Ekmeklerin hazırlanması

Hazırlanan ekşi mayalar 10 günlük fermentasyon sonrasında ekmek yapımı için kullanılmak üzere alınmıştır. Ayrıca kontrol grubu için gereken normal mayalı ekmekler için de instant kuru maya hazırlanmıştır. Çalışma sürecinde mayalar, hamurlar ve ekmeklerin en iyi şekilde üretilmesini sağlamak amacıyla çeşitli ön denemeler gerçekleştirilmiş ve aşağıda anlatılan tarifelere uygun hazırlık yapılmıştır. Ekmeklerin yapım sürecinde kullanılan malzemeler, miktarları, dinlenme süreleri ve pişirme süreleri Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Glutenli ekşi mayalı ekmek

Glutenli ekşi mayalı ekmeğin yapımı için hazırlanan glutenli ekşi mayadan 400 g tartılmış ve 35 °C sıcaklıktaki 300 mL suda çözünmesi sağlanmıştır. Oluşan karışımın üzerine 600 g glutensiz un, 10 g tuz ve 20 g yağ eklenerek yoğrulmuş ve üzeri kapatılarak 25 °C oda sıcaklığında 5 saat dinlenmeye bırakılmıştır. Dinlenmesinin ardından ekmek kalıbına alınan hamur pişme kalitesinin en iyi şekilde sağlanması için fırın sıcaklığı 220 °C'ye ayarlanmış ve 15 dk fırının iç sıcaklığının ısınması beklenmiştir. Ardından hazırlanan

hamurlar 45 dk süresince 15 dk'da 220 °C'de, sonrasında 15 dk 200 °C'de ve son 15 dk 180 °C'de pişirilmiştir. Glutenli ekşi mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur Resim 3.1.(a)'da verilmiştir.

Glutensiz ekşi mayalı ekmek

Glutensiz ekşi mayalı ekmeğin yapımı için hazırlanan glutensiz ekşi mayadan 400 g tartılmış ve 35 °C sıcaklıktaki 300 mL suda çözünmesi sağlanmıştır. Oluşan karışımın üzerine 600 g glutensiz un, 10 g tuz ve 20 g yağ eklenerek yoğrulmuş ve üzeri kapatılarak 25 °C oda sıcaklığında 5 saat dinlenmeye bırakılmıştır. Dinlenmesinin ardından ekmek kalıbına alınan hamur pişme kalitesinin en iyi şekilde sağlanması için 220 °C'ye ayarlanmış ve 15 dk fırının iç sıcaklığının ısınması beklenmiştir. Ardından hazırlanan hamurlar 45 dk süresince 15 dk'da 220 °C'de, sonrasında 15 dk 200 °C'de ve son 15 dk 180 °C'de pişirilmiştir. Glutensiz ekşi mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur Resim 3.1.(b)'de verilmiştir.

Glutenli normal mayalı ekmek

Glutenli normal mayalı ekmeğin yapımı için 20 g ticari instant kuru maya 10 g şeker ile 35 °C sıcaklıktaki 50 mL suda eritilerek 15 dk bekletilmiş ve kabarmasının ardından 35 °C sıcaklıktaki 250 mL su, 600 g glutensiz un, 400 g glutenli un, 10 g tuz ve 20 g yağ ile yoğrulmuş ve üzeri kapatılarak 25 °C oda sıcaklığında 3 saat dinlenmeye bırakılmıştır. Dinlenmesinin ardından ekmek kalıbına alınan hamur pişme kalitesinin en iyi şekilde sağlanması için 220 °C'ye ayarlanmış ve 15 dk fırının iç sıcaklığının ısınması beklenmiştir. Ardından hazırlanan hamurlar 45 dk süresince 15 dk'da 220 °C'de, sonrasında 15 dk 200 °C'de ve son 15 dk 180 °C'de pişirilmiştir. Glutenli normal mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur Resim 3.1.(c)'de verilmiştir.

Glutensiz normal mayalı ekmek

Glutensiz normal mayalı ekmeğin yapımı için 20 g ticari instant kuru maya 10 g şeker ile 35 °C sıcaklıktaki 50 mL suda eritilerek 15 dk bekletilmiş ve kabarmasının ardından 35 °C sıcaklıktaki 250 mL su, 1000 g glutensiz un, 10 g tuz ve 20 g yağ ile yoğrulmuş ve üzeri

kapatılarak 25 °C oda sıcaklığında 3 saat dinlenmeye bırakılmıştır. Dinlenmesinin ardından ekmek kalıbına alınan hamur pişme kalitesinin en iyi şekilde sağlanması için 220 °C'ye ayarlanmış ve 15 dk fırının iç sıcaklığının ısınması beklenmiştir. Ardından hazırlanan hamurlar 45 dk süresince 15 dk'da 220 °C'de, sonrasında 15 dk 200 °C'de ve son 15 dk 180 °C'de pişirilmiştir. Glutensiz normal mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur Resim 3.1.(d)'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Ekmeklerin yapım sürecinde kullanılan malzemeler, miktarları, dinlenme süreleri ve pişirme süreleri

	Glutenli ekşi mayalı ekmek	Glutensiz ekşi mayalı ekmek	Glutenli normal mayalı ekmek	Glutensiz normal mayalı ekmek
Maya (g)	400	400	20	20
Un (g)				
Glutenli	-	-	400	-
Glutensiz	600	600	600	1000
Su (ml)	300	300	300	300
Tuz (g)	10	10	10	10
Yağ (g)	20	20	20	20
Şeker (g)	-	-	10	10
Bekleme süresi (sa)	5	5	3	3
	220 °C'de 15 dk	220 °C'de 15 dk	220 °C'de 15 dk	220 °C'de 15 dk
Pişirme süresi (dk)	200 °C'de 15 dk	200 °C'de 15 dk	200 °C'de 15 dk	200 °C'de 15 dk
	180 °C'de 15 dk	180 °C'de 15 dk	180 °C'de 15 dk	180 °C'de 15 dk



Resim 3.1. (a) Glutenli ekşi mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur, (b) Glutensiz ekşi mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur, (c) Glutenli normal mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur, (d) Glutensiz normal mayalı ekmek yapımı için hazırlanan hamur

3.3.3. Gliadin analizi

Enzim bağlantılı immunosorbent değerlendirme (ELISA) ile gliadin düzeyi analizi

Glutensiz ekşi mayalı hamur ve glutensiz normal mayalı hamurun hazırlanıp dinlendirilmesinin ardından gliadin analizi (ELISA), için yaklaşık 90 g'lık numuneler hassas terazi aracılığı ile tartılarak alınmıştır.

Gliadin analizinde kullanılan metotlardan biri Enzim Bağlantılı İmmunosorbent Analizi (ELİSA) yöntemidir. ELİSA antikorların antijenlere bağlanma reaksiyonu sonucu elde edilen verilerin yorumlanmasına dayanan immünolojik bir yöntemdir ve birçok alerjenin yalnızca gıdalarda değil kan gibi örneklerde de belirlenmesine yardımcı olur [73, 74]. ELİSA yönteminin uygulanması 6 satır içeren 12 adet sütun halinde totalde 96 kuyucuk içeren plak ile gerçekleştirilir. Bir kit içerisinde 96 kuyucuklu plak, buffer çözeltisi, yıkama çözeltisi, konjugat, substrat, kromojen, stop solüsyonu ve 6 adet standart bulunmaktadır. 6 adet standart ilgili antikorları sırasıyla 0 ng/ml, 5 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml, 40 ng/ml, 80 ng/ml miktarlarında içerir ve örneğin karşılaştırılmasında kullanılır. ELİSA yöntemi test edilecek maddeden belirli miktarda örnek alınarak çözücü içerisinde ekstrakte edilmesi ile başlar. Ekstrakte edilen çözelti 30 dk sıcak su banyosunda inkübe edilir. İnkübasyon sonrası yıkama çözeltisiyle dilüe edilen konjugat 30 dk daha inkübe edilir ve bu işlem iki kez tekrarlanır. Substrat ve kromojen eklenerek plaklara yerleştirilen örnekler oda sıcaklığında 30 dk karanlık bir ortamda bekletilir. Stop solüsyonunun eklenmesinin ardından 30 dk daha bekletilir. Ardından önceden plaklara yerleştirilen standartların absorbans değerleriyle numunelerin absorbans değerlerinin karşılaştırıldığı okuma ve değerlendirme ile sonuca ulaşılır [13, 75-78]. Bu çalışmada 'Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Hamur' numuneleri üzerinde RIDASCREEN® Gliadin-R5 (R-Biopharm, Darmstadt, Germany) kitiyle gliadin analizi gerçekleştirilmiştir.

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile gliadin düzeyi analizi

Gliadin analizinde kullanılan metotlardan biri Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) yöntemidir. Bu çalışmada 'Glutenli Ekşi Maya', 'Glutensiz Ekşi Maya', 'Glutenli Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutenli Normal Mayalı Hamur',

‘Glutensiz Normal Mayalı Hamur’, ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’, ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’, ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ ve ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ numuneleri üzerinde HPLC yöntemiyle gliadin analizi gerçekleştirilmiştir.

Glutenli ekşi mayalı hamur, glutensiz ekşi mayalı hamur glutenli normal mayalı hamur ve glutensiz normal mayalı hamurun hazırlanıp dinlendirilmesinin ardından gliadin analizi (HPLC) için yaklaşık 90 g’lık numuneler hassas terazi aracılığı ile tartılarak alınmıştır.

Glutenli ekşi mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek; hamurunun ekmek kalıbına alınarak pişirilmesinin ardından fırından çıkarılıp 30 dk dinlenmesi sağlanmış ve ekmeğin orta bölümünden kesilerek gliadin analizi (HPLC) için yaklaşık 70 g’lık numuneler hassas terazi aracılığı ile tartılarak alınmıştır. HPLC çözücülerinin hazırlanmasında Asetonitril (Sigma-Aldrich), Trifloroasetik asit (Fluka Analytical), 2-Propanol (Sigma-Aldrich), Formik asit (Fisher Scientific) temin edilmiştir. Mobil fazlarda kullanılacak çözeltiler, Çözelti A (3:1 (ACN:2-Propanol) + %0,1 Trifloroasetik Asit (TFA)), çözelti B (%75 ACN + %25 Saf Su + %0,5 Formik Asit), çözelti C (%100 Saf Su + %0,1 TFA) ve çözelti D (%100 ACN + %0,1 TFA) olmak üzere 4 adet çözelti oluşturulmuştur. Çözeltiler hazırlanırken 100 µL-1 mL pipet (Rainin, Pipet-Lite XLS) ve 10-100 µL mikropipetler (Rainin, E4 XLS) kullanılmıştır. Mobil faz ve ekstraksiyon için kullanılan tüm çözeltiler hazırlandıktan sonra ultrasonik homojenizatörde (ISOLAB, Model: 621.05.022) 35-45 °C sıcaklıkta 120 dk bekletilerek homojenizasyonu sağlanmıştır.

HPLC ile gliadin analizi için öncelikle gliadin standartının çözünmesi amacıyla denemeler gerçekleştirilmiştir. Bu denemelerde metanol, asetik asit, asetonitril (ACN), aseton, 2-Propanol, %20 ACN + %5 Metanol + %75 5 mM Monopotasylum Fosfat (KH_2PO_4), %70’lik etanol ve %70 etanol + %0,1 0,2 M HCl (Hidroklorik Asit) kullanılmış ve en iyi çözünmenin %70 etanol + %0,1 0,2 M HCl ile sağlandığı görülmüştür. Proteinler arasındaki bağ yapılarının zayıflaması asit eklenmesiyle oldukça mümkün hale gelmektedir [56]. Buna göre standart ekstraksiyon prosedüründe gliadin standartından 0,006 g hassas terazi ile tartılarak santrifüj tüpüne eklenmiş, üzerine 50 mL %70 etanol + %0,1 0,2 M HCl çözeltisi ilave edilerek 35-45 °C sıcaklıkta 120 dk ultrasonik homojenizatörde karıştırılmıştır. Homojenizasyon sonrasında ekstraksiyon sıvısı 0,45 µm membranlı filtreden (Agilent, Captiva Econofilter, 25 m, 1000/pk) geçirilmiştir. Hazırlanan standart

ekstraksiyonundan 25 mL, 120 ppm ana stok kaldırılmış ve +4 °C sıcaklıkta santrifüj tüpünde muhafazası sağlanmıştır. Hazırlanan 120 ppm ana stok ile 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm, 5 ppm, 2 ppm, 1 ppm ara stoklar hazırlanmıştır. Ara stoklar HPLC analizi için 1,5 mL viallere alınmıştır. Viallerde bulunan ara stoklar Ek-7’de verilmiştir.

Oluşturulan ara stoklar ve mobil fazlar ile kullanılacak yöntemin standardizasyonu için birçok farklı karışım ve oranlarda denemeler yapılarak metot optimizasyonu sağlanmıştır. Optimizasyonu sağlayan yöntemde mobil faz oranları %70 çözelti A, %20 çözelti B, %10 çözelti D şeklinde belirlenmiştir.

Numune ekstraksiyon prosedüründe numune ekstraksiyonu için çözelti E1 (%70 Etanol + %0,1 0,2 M HCl), çözelti E2 (%55 2-Propanol) ve çözelti E3 (%70 Etanol + %100 Soğuk Aseton (+4 °C)) olmak üzere 3 adet çözelti oluşturulmuştur. Alınacak numune 0,008 g (± 2 mg) hassas terazi (Shimadzu, AUX220) ile tartılarak santrifüj tüpüne eklenmiş, üzerine 25 mL ekstraksiyon çözeltisi ilave edilerek 35-45 °C sıcaklıkta ultrasonik homojenizatörde karıştırılmıştır. Homojenizasyon sonrasında ekstraksiyon sıvısı 0,45 µm membranlı filtreden geçirilerek 1,5 mL viallere alınmıştır.

Numunelerin ekstraksiyon yönteminin standardizasyonu için ‘Glutenli Ekşi Maya’ ve ‘Glutensiz Ekşi Maya’ numuneleri kullanılmış, ‘Glutenli Ekşi Maya’; ‘Gli EM’, ‘Glutensiz Ekşi Maya’; ‘Gsiz EM’ şeklinde kodlanmıştır. Numuneler hazırlanan 3 ekstraksiyon çözeltisinin her biri ile ekstraksiyon prosedürüne tabi tutulmuş, optimum homojenizasyonun sağlanması için gereken sürenin kararlaştırılmasında hazırlanan her bir ekstraksiyon örneğinden 60 dk, 120 dk, 240 dk ve 480 dk zaman süreçleri için ayrı örnekler hazırlanmış ve ultrasonik homojenizatörde homojenizasyona bırakılmıştır. Her bir numune için iki paralel ile çalışılmıştır. Ekstraksiyon yönteminin standardizasyonu için santrifüj tüplerinde hazırlanan numuneler Ek-8 (a) ve (b)’de verilmiştir.

Ekstraksiyon numuneleri incelendiğinde optimum ekstraksiyonun E1 çözeltisi ile 120 dk homojenizasyona tabi tutulan örnekte sağlandığı görülmüş ve sonraki analizler için bu ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır.

Ekstraksiyon yöntemi belirlendikten sonra tüm numunelerden alınan örnekler analize tabi tutulmuş örnekler isimlendirilirken ‘Glutenli Ekşi Maya’ için ‘Gli EM’, ‘Glutensiz Ekşi

Maya' için 'Gsiz EM', 'Glutenli Ekşi Mayalı Hamur' için 'Gli EH', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur' için 'Gsiz EH', 'Glutenli Normal Mayalı Hamur' için 'Gli NH', 'Glutensiz Normal Mayalı Hamur' için 'Gsiz NH', 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek' için 'Gli EE', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek' için 'Gsiz EE', 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' için 'Gli NE' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' için 'Gsiz NE' şeklinde kodlanma yapılmıştır. Her bir numune için iki paralel ile çalışılmıştır. Analizi yapılacak numuneler için santrifüj tüplerinde hazırlanan örnekler Ek-9 (a)'da, analizi yapılacak numuneler için viallere alınan örnekler Ek-9 (b)'de, analizi yapılacak numunelerin cihaza verilmesi ise Ek-9 (c)'de verilmiştir.

HPLC analizinin uygulanmasında Agilent Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi (HPLC) (Model: 1260 Infinity Series) cihaz, Eclipse Plus C18 (Zorbax Rapid Resolution, 4.6×100 mm, $3.5 \mu\text{m}$, Agilent, ABD) kolon kullanılmış, 35°C kolon sıcaklığında, enjeksiyon hacmi $10 \mu\text{L}$, akış hızı ise 0.5 mL/dk olarak belirlenmiştir. Her enjeksiyon sonrası kolon boş vial ile %70 çözücü A, %20 çözücü B ve %10 çözücü D tarafından 20 dk yıkanarak temizlenmiş ve dengelenmiş ve bir sonraki numunenin enjeksiyonuna geçilmiştir. Cihazda 1260 ALS AutoSampler ve Coatpump peristaltik pompa ile çalışılmış, 1260 TCC kolon kompartımanından 1260 HPLC-DAD dedektör ile analiz yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda dalga boyu 210 nm ve 240 nm olarak belirlenmiş, değerlerin okunmasında 240 nm dalga boyundaki sonuçlar kullanılmıştır. Değerlerin okunmasında tutunma zamanı (RT) 8.-9. dk arasında gerçekleşmiştir (Total süre: 21 dk) ve numunelerdeki gliadin miktarının hesaplanması için optimize edilen formülde RSD (Rölatif Standart Sapma) değeri 0,99 bulunmuştur.

3.3.4. Mikrobiyolojik analizler

Total laktik asit bakteri sayımı

Glutenli ekşi mayalı hamur, glutensiz ekşi mayalı hamur glutenli normal mayalı hamur ve glutensiz normal mayalı hamurun hazırlanıp dinlendirilmesinin ardından total laktik asit bakteri sayımı için yaklaşık 90 g 'lık numuneler hassas terazi aracılığı ile tartılarak alınmıştır.

Glutenli ekşi mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek; hamurunun ekmek kalıbına alınarak pişirilmesinin ardından fırından çıkarılıp 30 dk dinlenmesi sağlanmış ve ekmeğin orta bölümünden kesilerek total laktik asit bakteri sayımı için yaklaşık 70 g'lık numuneler hassas terazi aracılığı ile tartılarak alınmıştır.

Ülkemizde laktik asit bakterilerinin sayımı Türk Standartları Enstitüsü'nün TS ISO 15214:2015 Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi Mezofilik laktik asit bakterilerinin sayımı için yatay yöntem (30 °C'de koloni sayım tekniği) ile yapılmıştır. Bu standart, katı ortamda büyüyen canlı mezofilik laktik asit bakterilerinin 30 °C'de 3 gün inkübasyonu sonunda kolonilerin yatay yöntemle sayımını kapsamaktadır [79, 80].

Bu çalışmada 'Glutenli Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutenli Normal Mayalı Hamur', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutensiz Normal Mayalı Hamur', 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' numuneleri üzerinde total laktik asit bakteri sayımı gerçekleştirilmiştir [81].

Total maya ve küf sayımı

Glutenli ekşi mayalı hamur, glutensiz ekşi mayalı hamur glutenli normal mayalı hamur ve glutensiz normal mayalı hamurun hazırlanıp dinlendirilmesinin ardından total maya ve küf sayımı için yaklaşık 90 g'lık numuneler hassas terazi aracılığı ile tartılarak alınmıştır.

Glutenli ekşi mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek; hamurunun ekmek kalıbına alınarak pişirilmesinin ardından fırından çıkarılıp 30 dk dinlenmesi sağlanmış ve ekmeğin orta bölümünden kesilerek total maya ve küf sayımı için yaklaşık 70 g'lık numuneler hassas terazi aracılığı ile tartılarak alınmıştır.

Bu çalışmada total maya ve küf sayımı yapılacak su aktivitesi 0,95'in üzerinde olan 'Glutenli Ekşi Mayalı Hamur', 'Glutenli Normal Mayalı Hamur', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Hamur' numunelerinde total maya ve küf sayımı Türk Standartları Enstitüsü'nün TS ISO 21527-1:2008 Gıda ve Hayvan Yemleri

Mikrobiyolojisi (Maya ve küflerin sayımı için yatay yöntem) Bölüm 1: Su aktivitesi 0,95'ten yüksek olan ürünlerde koloni sayım tekniği ile iki tekrar ile yapılmıştır [82, 83].

Bu çalışmada total maya ve küf sayımı yapılacak su aktivitesi 0,95'in altında olan 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' numunelerinde total maya ve küf sayımı Türk Standartları Enstitüsü'nün TS ISO 21527-2:2008 Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi (Maya ve küflerin sayımı için yatay yöntem) Bölüm 2: Su aktivitesi 0,95'e eşit veya daha düşük olan ürünlerde koloni sayım tekniği ile iki tekrar ile yapılmıştır [84, 85].

3.3.5. Duyusal değerlendirme

Bu çalışmada üretilen ürünlerden 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek', 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' ve 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' üzerinde duyusal değerlendirme yapılmıştır.

Çalışmaya katılacak panelistler Kırklareli Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Beslenme ve Diyetetik bölümünde okuyan 3. sınıf öğrencilerinden 40 kişi, 4. sınıf öğrencilerinden 40 kişi olmak üzere araştırmaya katılmayı kabul eden gönüllü kadın ve erkek bireylerden oluşan 80 kişi olarak seçilmiştir.

Çalışmada değerlendirilen ekmeklerin her biri panelistlere ikişer kez sunulmuştur ve çalışma ekmeklerin içeriğinin yalnızca araştırmacı tarafından bilinerek, katılımcılara ekmeklerin içeriği hakkında herhangi bir bilginin verilmediği şekilde tek kör çalışma olarak yürütülmüştür.

Ekmeklere ikişer kod verilmiş ve değerlendirme bu kodlar üzerinden gerçekleştirilmiştir. Buna göre; 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek' 1 ve 5 numara, 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' 2 ve 6 numara, 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek' 3 ve 7 numara, 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' 4 ve 8 numara ile kodlanmıştır.

Ankette katılımcıların genel özelliklerinden cinsiyet ve yaşları sorgulanmıştır. Her bir ürün kodu için ayrı değerlendirme kriterleri Likert ölçeği ile hazırlanmış, 1; 'Çok Kötü', 2; 'Kötü', 3; 'Orta', 4; 'İyi', 5; 'Çok İyi' değerlendirmeyi ifade edecek şekilde 5 puanlık skor

tablosu oluşturulmuştur. Değerlendirme kriterleri ise genel görünüm, hacim, kabuk rengi, iç rengi, gözenek yapısı, koku, lezzet, aroma, sertlik ve tadıldıktan sonra ağızda bıraktığı izlenim şeklinde sorgulanmıştır (Ek-5).

Panelistlerin objektif bir değerlendirme yapması amacıyla değerlendirme yapılan yerde sessiz, iyi aydınlatmalı ve oda sıcaklığında ortam koşulları sağlanmış ve masaya önceden 1 adet anket formu, 1 adet tükenmez kalem, 1 adet peçete ve her deneme öncesi tazelenen 1 bardak içme suyu bırakılmıştır. Çalışmaya katılan panelistlerin açlık durumlarının değerlendirmeyi etkilememesi adına ana öğünden iki saat sonra uygulama gerçekleştirilmiştir. Önceden eğitilmemiş panelistler uygulama öncesinde kısa süreli bir bilgilendirme eğitimine tabi tutulmuş, araştırmanın amacı ve uygulama yöntemi araştırmacı tarafından anlatılmış ve panelistlerden 15 dk arayla 8 adet ürün denemeleri ve hazırlanan anket formunu belirtilen kriterlere göre doldurmaları istenmiştir.

3.3.6. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi

Elde edilen verilerin değerlendirilmesi SPSS 16.0 Windows (SPSS, Inc.; Chicago, USA) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Bulguların yorumlanmasında tanımlayıcı istatistikler kullanılmıştır. Tanımlayıcı değişkenlerin değerleri sayı (n), yüzde (%), standart sapma (SS), alt ve üst değerler şeklinde ifade edilmiştir. Çalışmada nicel değişkenler için sayı (n), standart sapma (SS), alt (min) ve üst (max) değerler hesaplanmıştır.

Verilerin değerlendirilmesinde kullanılan güven aralığı %95'tir.

Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı Kolmogrow-Simirnov grupların normal dağılıma uygunluğu testi ile değerlendirilmiş ve normal dağılıma uymadığı görülmüştür. Bu nedenle verilerin istatistiksel analizinde parametrik olmayan testler kullanılmıştır.

Duyusal değerlendirme bölümünde katılımcıların genel özelliklerinin belirlenmesinde ve ortalamaların alınmasında tanımlayıcı analizler yapılmıştır. Ekmekler arasında duyuşal değerlendirme kriterlerinin puan ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığının belirlenmesi için 'Friedman Testi' ($\bar{x}$ -tablo değeri) uygulanmıştır. Anlamlı bir farklılık gözlenmesi durumunda ise anlamlılığın hangi ekmek türleri arasında

olduğunun belirlenmesi için ‘Wilcoxon İşaretli Sıralar’ testi (Z-tablo değeri) uygulanmıştır.

Aynı ekmeklerin ilk ve son tadımlarında duyuşal değerdendirme kriterlerinin puan ortalamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığının incelenmesi için yapılan karşılaştırmalarda parametrik olmayan testlerden “Wilcoxon İşaretli Sıralar” testi (Z-tablo değeri) yöntemi kullanılarak p değerdeleri hesaplanmıştır.

Verilerin anlamlılık değerdinin ifadesinde p değerdinin 0,05’in altında olması esas alınmıştır[87].





4. BULGULAR

Çalışma sürecinde ‘Glutenli Ekşi Maya’, ‘Glutensiz Ekşi Maya’ olmak üzere 2 ayrı çeşit maya, ‘Glutenli Ekşi Mayalı Hamur’, ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur’, ‘Glutenli Normal Mayalı Hamur’, ‘Glutensiz Normal Mayalı Hamur’ olmak üzere 4 ayrı çeşit hamur, ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’, ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’, ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’, ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ olmak üzere 4 ayrı çeşit ekmek üretilmiştir.

4.1. Gliadin Analizi

Enzim bağlantılı immunosorbent değerlendirme (ELISA) ile gliadin düzeyi analizi

Yapılan ELISA testi sonucu glutensiz ekşi mayalı hamur ve glutensiz normal mayalı hamur numuneleri içerdikleri gliadin değeri açısından karşılaştırıldığında her iki numunede de gliadin değerinin 5 ppm’in altında olduğu tespit edilmiş ve numunelerdeki gliadin değerleri arasında fark gözlenmemiştir. Glutensiz ekşi ve normal mayalı hamur numunelerinin ELISA testi ile belirlenen gliadin değerlerine ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4.1.’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Numunelerdeki gliadin miktarı (ELISA Testi)

Numune cinsi	Gliadin (ppm)
Glutensiz ekşi mayalı hamur	<5
Glutensiz normal mayalı hamur	<5

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile gliadin düzeyi analizi

Yapılan HPLC analizi sonucu numunelerdeki gliadin değerleri incelendiğinde glutenli ekşi mayada 3,32 ppm, glutensiz ekşi mayada 2,91 ppm, glutenli ekşi mayalı hamurda 4,02 ppm, glutensiz ekşi mayalı hamurda 4,35 ppm, glutenli normal mayalı hamurda 4,69 ppm, glutensiz normal mayalı hamurda 4,06 ppm, glutenli ekşi mayalı ekmekte 3,80 ppm, glutensiz ekşi mayalı ekmekte 3,97 ppm, glutenli normal mayalı ekmekte 3,88 ppm ve glutensiz normal mayalı ekmekte 3,90 ppm şeklinde bulunmuştur. Buna göre gliadin değeri en düşük olan numune glutensiz ekşi maya (2,91 ppm), gliadin değeri en yüksek

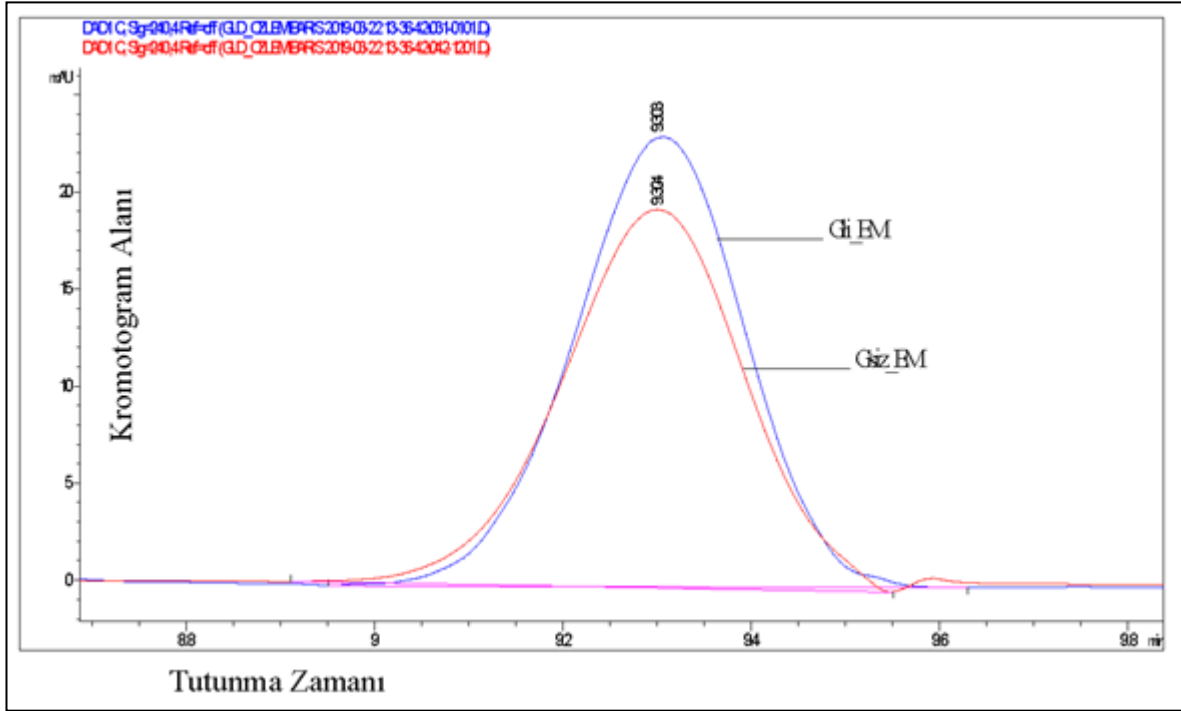
olan numune ise glutenli normal mayalı hamurdur (4,69 ppm). Glutenli numuneler arasında gliadin değeri en düşük olan numune glutenli ekşi maya (3,32 ppm), gliadin değeri en yüksek olan numune ise glutenli normal mayalı hamurdur (4,69 ppm). Glutensiz numuneler arasında gliadin değeri en düşük olan numune glutensiz ekşi maya (2,91 ppm), gliadin değeri en yüksek olan numune ise glutensiz ekşi mayalı hamurdur (4,35 ppm). Numunelerin HPLC analizi ile belirlenen gliadin değerlerine ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Numunelerdeki gliadin miktarı (HPLC Analizi)

Numune cinsi	Kromotogram alanı	Numune miktarı (g)	Numune hacmi (mL)	Gliadin (ppm)
Gli EM	295,96887	0,0799	25	3,32
Gsiz EM	264,83163	0,0815	25	2,91
Gli EH	359,58023	0,0802	25	4,02
Gsiz EH	393,31284	0,081	25	4,35
Gli NH	425,52872	0,0814	25	4,69
Gsiz NH	368,76163	0,0814	25	4,06
Gli EE	342,43967	0,0808	25	3,80
Gsiz EE	358,24399	0,081	25	3,97
Gli NE	347,65149	0,0804	25	3,88
Gsiz NE	353,06531	0,0811	25	3,90

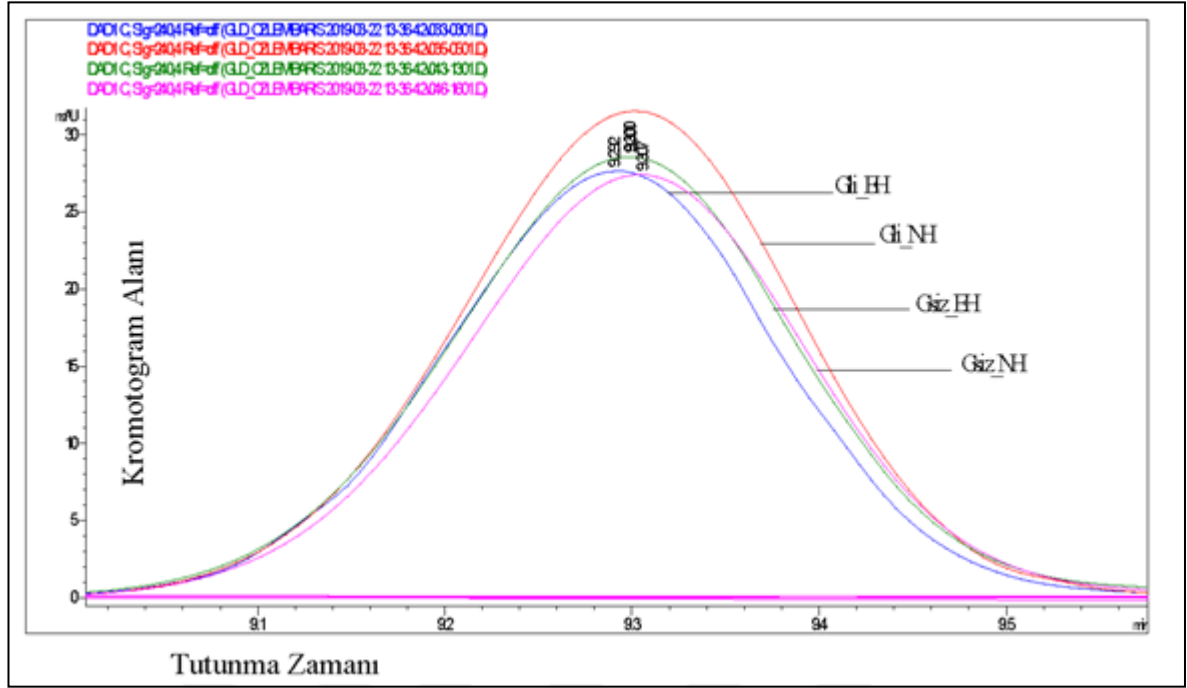
*(Gli EM: Glutenli ekşi maya, Gsiz EM: Glutensiz ekşi maya, Gli EH: Glutenli ekşi mayalı hamur, Gsiz EH: Glutensiz ekşi mayalı hamur, Gli NH: Glutenli normal mayalı hamur, Gsiz NH: Glutensiz normal mayalı hamur, Gli EE: Glutenli ekşi mayalı ekmek, Gsiz EE: Glutensiz ekşi mayalı ekmek, Gli NE: Glutenli normal mayalı ekmek, Gsiz NE: Glutensiz normal mayalı ekmek)

Analizi yapılan numuneler belirli özelliklerine göre gruplandırılarak kromatografi eğrileri karşılaştırılmıştır. Buna göre numunelerden glutenli ekşi mayanın içerdiği gliadin değeri (3,32 ppm) ile glutensiz ekşi mayanın içerdiği gliadin değeri (2,91 ppm) karşılaştırıldığında glutenli ekşi mayada gliadin değerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Glutenli ekşi maya ile glutensiz ekşi maya numunelerinin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması Şekil 4.1.'de verilmiştir.



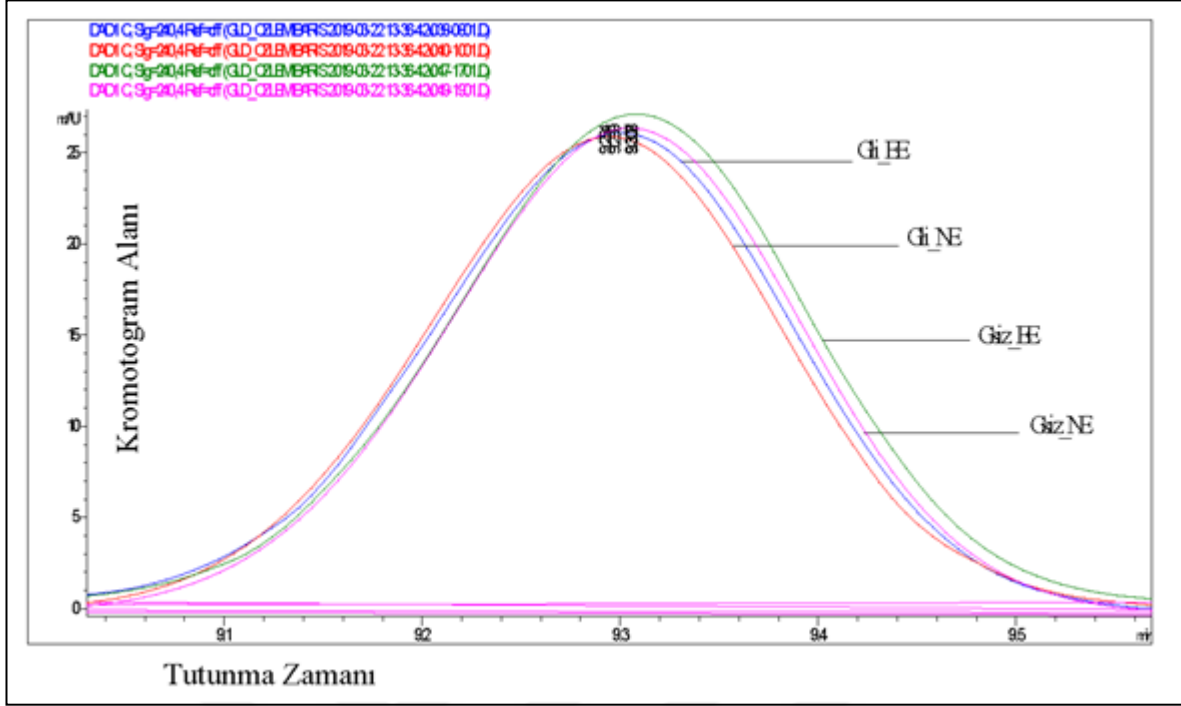
Şekil 4.1. Numunelerin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gli EM: Glutenli ekşi maya, Gsiz EM: Glutensiz ekşi maya)

Numunelerden glutenli ekşi mayalı hamur (4,02 ppm), glutensiz ekşi mayalı hamur (4,35 ppm), glutenli normal mayalı hamur (4,69 ppm) ve glutensiz normal mayalı hamur (4,06 ppm) içerdikleri gliadin değeri bakımından birbirleri ile karşılaştırıldığında glutenli ekşi mayalı hamurda gliadin değerinin en düşük, glutenli normal mayalı hamurda ise gliadin değerinin en yüksek olduğu görülmüştür. Glutenli ekşi mayalı hamur, glutensiz ekşi mayalı hamur, glutenli normal mayalı hamur ve glutensiz normal mayalı hamur numunelerinin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması Şekil 4.2.'de verilmiştir.



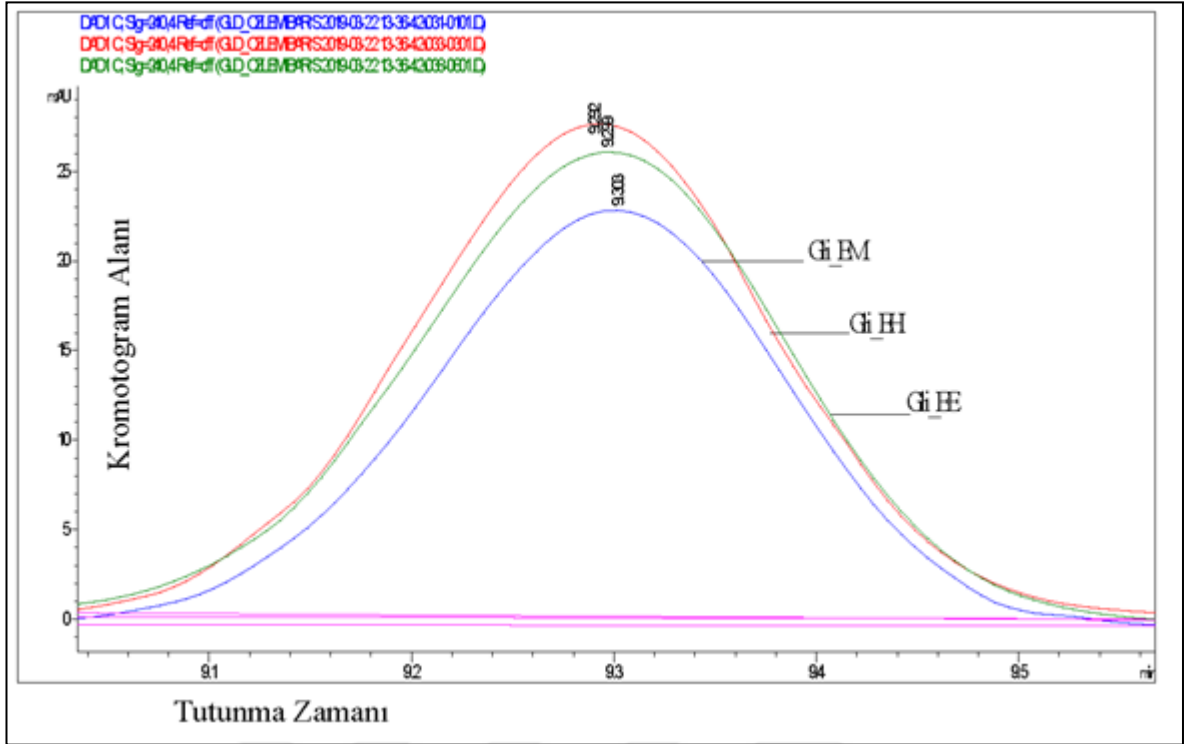
Şekil 4.2. Numunelerin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gli EH: Glutenli ekşi mayalı hamur, Gsiz EH: Glutensiz ekşi mayalı hamur, Gli NH: Glutenli normal mayalı hamur, Gsiz NH: Glutensiz normal mayalı hamur)

Numunelerden glutenli ekşi mayalı ekmek (3,80 ppm), glutensiz ekşi mayalı ekmek (3,97 ppm), glutenli normal mayalı ekmek (3,88 ppm) ve glutensiz normal mayalı ekmek (3,90 ppm) içerdikleri gliadin değeri bakımından birbirleri ile karşılaştırıldığında glutenli ekşi mayalı ekmekte gliadin değerinin en düşük, glutensiz ekşi mayalı ekmekte ise gliadin değerinin en yüksek olduğu görülmüştür. Glutenli ekşi mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek numunelerinin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması Şekil 4.3.'te verilmiştir.



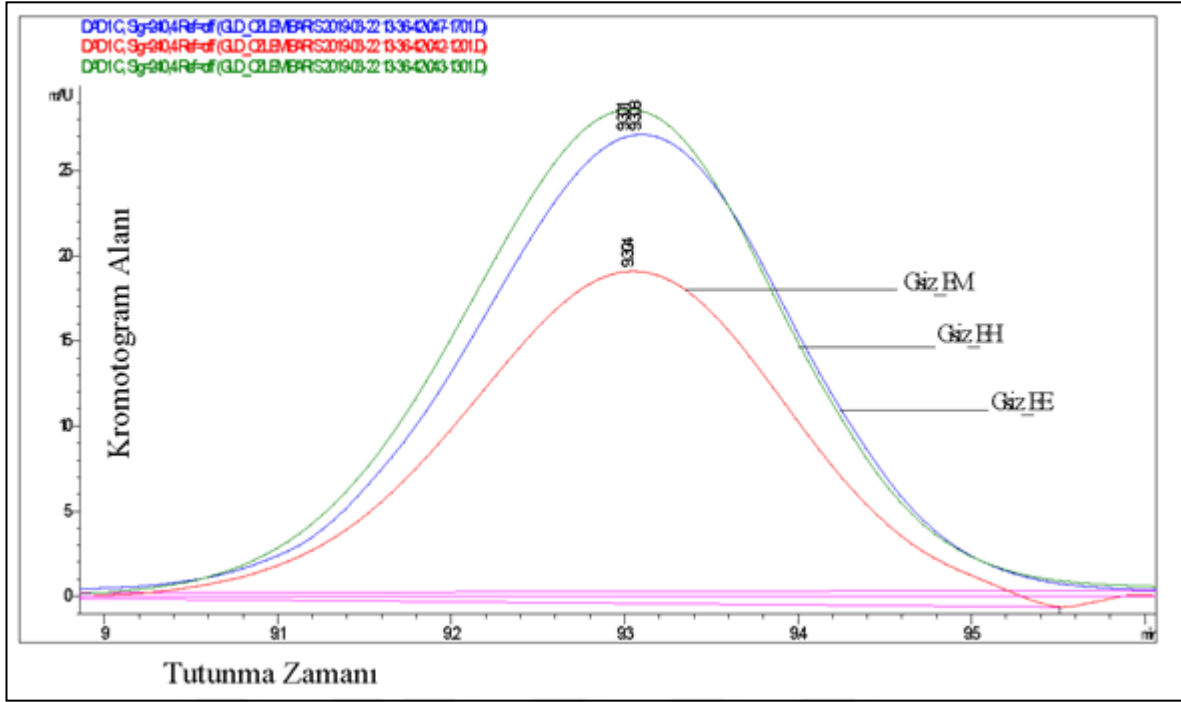
Şekil 4.3. Numunelerin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gli EE: Glutenli ekşi mayalı ekmek, Gsiz EE: Glutensiz ekşi mayalı ekmek, Gli NE: Glutenli normal mayalı ekmek, Gsiz NE: Glutensiz normal mayalı ekmek)

Numunelerden glutenli ekşi maya (3,32 ppm), glutenli ekşi mayalı hamur (4,02 ppm) ve glutenli ekşi mayalı ekmek (3,80 ppm) içerdikleri gliadin değeri bakımından birbirleri ile karşılaştırıldığında glutenli ekşi mayada gliadin değerinin en düşük olduğu, ardından glutenli ekşi mayalı ekmeğin geldiği ve glutenli ekşi mayalı hamurda gliadin değerinin en yüksek olduğu görülmüştür. Glutenli ekşi maya, glutenli ekşi mayalı hamur ve glutenli ekşi mayalı ekmek numunelerinin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması Şekil 4.4.'te verilmiştir.



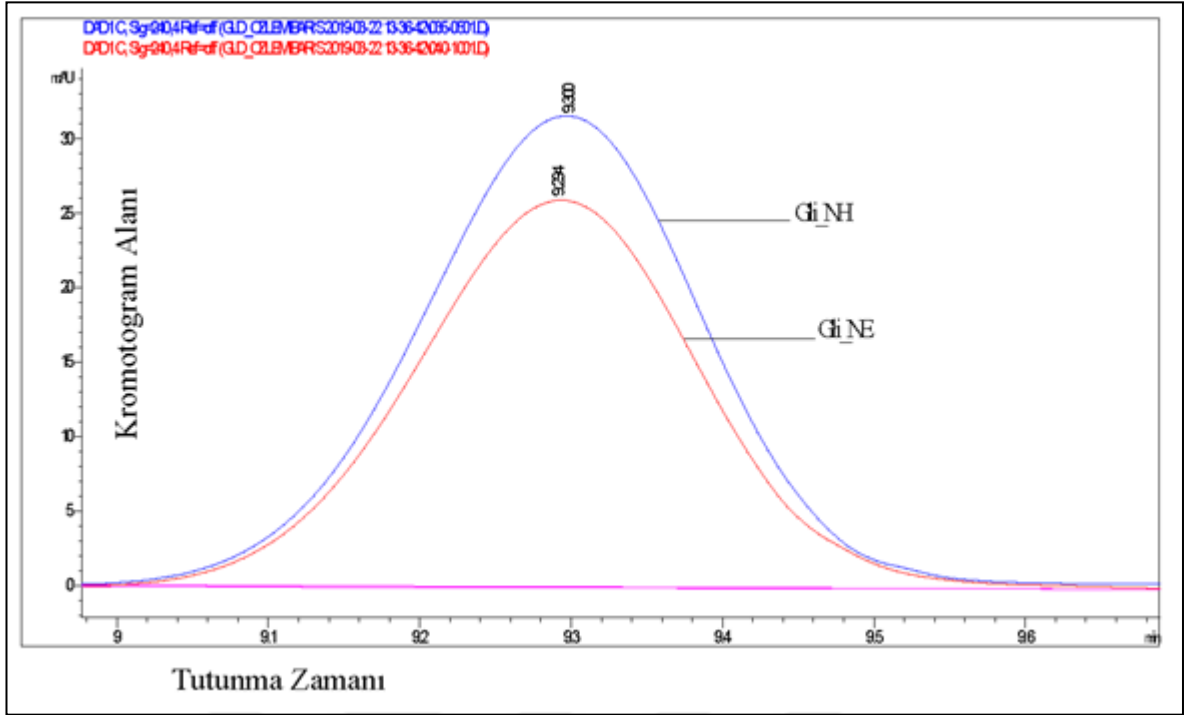
Şekil 4.4. Numunelerin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gli EM: Glutenli ekşi maya, Gli EH: Glutenli ekşi mayalı hamur, Gli EE: Glutenli ekşi mayalı ekmek)

Numunelerden glutensiz ekşi maya (2,91 ppm), glutensiz ekşi mayalı hamur (4,35 ppm) ve glutensiz ekşi mayalı ekmek (3,97 ppm) içerdikleri gliadin değeri bakımından birbirleri ile glutensiz ekşi mayada gliadin değerinin en düşük olduğu, ardından glutensiz ekşi mayalı ekmeğin geldiği ve glutensiz ekşi mayalı hamurda gliadin değerinin en yüksek olduğu görülmüştür. Glutenli ekşi maya, glutenli ekşi mayalı hamur ve glutenli ekşi mayalı ekmek numunelerinin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması Şekil 4.5.'te verilmiştir.



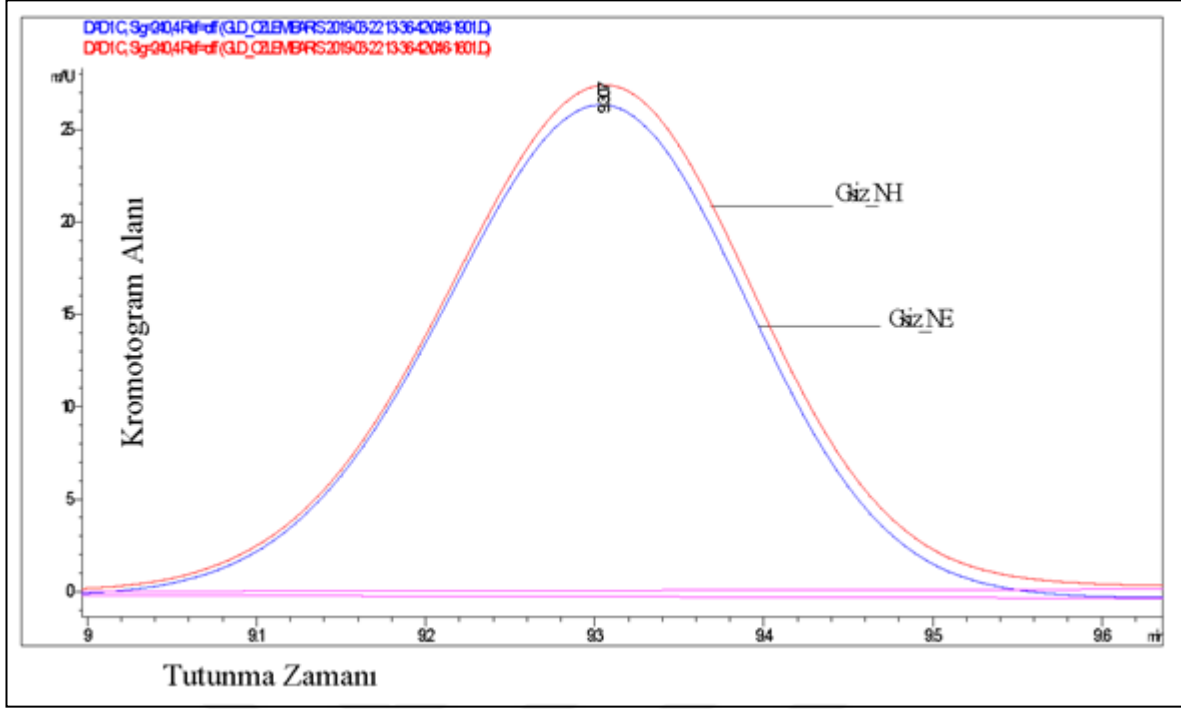
Şekil 4.5. Numunelerin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gsiz EM: Glutensiz ekşi maya, Gsiz EH: Glutensiz ekşi mayalı hamur, Gsiz EE: Glutensiz ekşi mayalı ekmek)

Numunelerden glutenli normal mayalı hamur (4,69 ppm) ve glutenli normal mayalı ekmek (3,88 ppm) içerdikleri gliadin değeri bakımından birbirleri ile karşılaştırıldığında glutenli normal mayalı hamurda gliadin değerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Glutenli normal mayalı hamur ve glutenli normal mayalı ekmek numunelerinin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması Şekil 4.6.'da verilmiştir.



Şekil 4.6. Numunelerin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gli NH: Glutenli normal mayalı hamur, Gli NE: Glutenli normal mayalı ekmek)

Numunelerden glutensiz normal mayalı hamur (4,06 ppm) ve glutensiz normal mayalı ekmek (3,90 ppm) içerdikleri gliadin değeri bakımından birbirleri ile karşılaştırıldığında glutensiz normal mayalı hamurdada gliadin değerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Glutensiz normal mayalı hamur ve glutensiz normal mayalı ekmek numunelerinin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması Şekil 4.7.'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Numunelerin kromatografi eğrilerinin karşılaştırılması (Gsiz NH: Glutensiz normal mayalı hamur, Gsiz NE: Glutensiz normal mayalı ekmek)

4.2. Total Laktik Asit Bakteri Sayımı

Hamur numunelerinde yapılan total laktik asit bakteri sayımı sonucunda elde edilen değerler incelendiğinde glutenli ekşi mayalı hamurda $1,9 \times 10^8$ kob/g, glutensiz ekşi mayalı hamurda $2,4 \times 10^7$ kob/g, glutenli normal mayalı hamurda $4,0 \times 10^6$ kob/g ve glutensiz normal mayalı hamurda $5,0 \times 10^6$ kob/g şeklinde bulunmuştur. Hamur numunelerinin total laktik asit bakteri sayısına (kob/g) ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Hamur numunelerindeki laktik asit bakteri sayımı değerleri (kob/g)

Numune cinsi	Total laktik asit bakteri sayısı (kob/g)
Glutenli ekşi mayalı hamur	$1,9 \times 10^8$
Glutensiz ekşi mayalı hamur	$2,4 \times 10^7$
Glutenli normal mayalı hamur	$4,0 \times 10^6$
Glutensiz normal mayalı hamur	$5,0 \times 10^6$

Total laktik asit bakteri sayımı sonucunda elde edilen verilere göre hamur numuneleri karşılaştırıldığında glutenli normal mayalı hamurda ($4,0 \times 10^6$ kob/g) total laktik asit bakterisi en düşük miktarda bulunurken, glutenli ekşi mayalı hamurda ($1,9 \times 10^8$ kob/g) total laktik asit bakteri sayısı en yüksek miktardadır.

Glutenli hamurlar total laktik asit bakteri sayısı açısından birbiri ile karşılaştırıldığında glutenli ekşi mayalı hamurda ($1,9 \times 10^8$ kob/g) total laktik asit bakteri sayısı glutenli normal mayalı hamura ($4,0 \times 10^6$ kob/g) göre daha yüksek, glutensiz hamurlar birbirleri ile karşılaştırıldığında yine glutensiz ekşi mayalı hamurda ($2,4 \times 10^7$ kob/g) total laktik asit bakteri sayısı glutensiz normal mayalı hamura ($5,0 \times 10^6$ kob/g) göre daha yüksek bulunmuştur. Ekşi mayalı hamurlar arasında bir karşılaştırma yapıldığında glutenli ekşi mayalı hamurdaki ($1,9 \times 10^8$ kob/g) total laktik asit bakteri sayısının glutensiz ekşi mayalı hamurdan ($2,4 \times 10^7$ kob/g) daha yüksek olduğu, normal mayalı hamurlar birbirleriyle karşılaştırıldığında ise glutensiz normal mayalı hamurun ($5,0 \times 10^6$ kob/g) glutenli normal mayalı hamurdan ($4,0 \times 10^6$ kob/g) daha fazla total laktik asit bakterisi içerdiği gözlenmiştir.

Ekmek numunelerinde yapılan total laktik asit bakteri sayımı sonucunda elde edilen değerler incelendiğinde glutenli ekşi mayalı ekmekte < 10 kob/g, glutensiz ekşi mayalı ekmekte $8,5 \times 10^1$ kob/g, glutenli normal mayalı ekmekte $4,0 \times 10^1$ kob/g ve glutensiz normal mayalı ekmekte $7,2 \times 10^3$ kob/g şeklinde bulunmuştur. Ekmek numunelerinin total laktik asit bakteri sayısına (kob/g) ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Ekmek numunelerindeki laktik asit bakteri sayımı değerleri (kob/g)

Numune cinsi	Total laktik asit bakteri sayısı (kob/g)
Glutenli ekşi mayalı ekmek	< 10
Glutensiz ekşi mayalı ekmek	$8,5 \times 10^1$
Glutenli normal mayalı ekmek	$4,0 \times 10^1$
Glutensiz normal mayalı ekmek	$7,2 \times 10^3$

Total laktik asit bakteri sayımı sonucunda elde edilen verilere göre ekmek numuneleri karşılaştırıldığında glutenli ekşi mayalı ekmekte (<10 kob/g) total laktik asit bakterisi en

düşük miktarda bulunurken, glutensiz normal mayalı ekmekte ($7,2 \times 10^3$ kob/g) total laktik asit bakteri sayısı en yüksek miktardadır.

Glutenli ekmekler total laktik asit bakteri sayısı açısından karşılaştırıldığında glutenli normal mayalı ekmekte ($4,0 \times 10^1$ kob/g) total laktik asit bakteri sayısı glutenli ekşi mayalı ekmeğe (< 10 kob/g) göre daha yüksek, glutensiz ekmekler birbiriyle karşılaştırıldığında yine glutensiz normal mayalı ekmekte ($7,2 \times 10^3$ kob/g) glutensiz ekşi mayalı ekmeğe ($8,5 \times 10^1$ kob/g) göre total laktik asit bakteri sayısı daha yüksek bulunmuştur. Ekşi mayalı ekmekler arasında bir karşılaştırma yapıldığında glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($8,5 \times 10^1$ kob/g) total laktik asit bakteri sayısının glutenli ekşi mayalı ekmekten (< 10 kob/g) daha yüksek olduğu, normal mayalı ekmekler arasında bir karşılaştırma yapıldığında ise glutensiz normal mayalı ekmekte ($7,2 \times 10^3$ kob/g) total laktik asit bakteri sayısının glutenli normal mayalı ekmekten ($4,0 \times 10^1$ kob/g) daha fazla total laktik asit bakterisi içerdiği gözlenmiştir.

Elde edildikleri hamurlarla karşılaştırıldıklarında pişirme işlemi sonucunda en fazla kayıp glutenli ekşi mayalı ekmekte (< 10 kob/g) olurken; laktik asit bakterilerinin pişirme işlemi sonrasında en fazla korunduğu ekmek türü glutensiz normal mayalı ekmek ($7,2 \times 10^3$ kob/g) olmuştur. Pişirme ile hamurdan ekmek oluşumu sürecinde ekmek türleri arasında total laktik asit bakteri sayısındaki kayıp açısından bir karşılaştırma yapılacak olursa glutenli ekşi mayalı ekmek (10^8 kob/g) $>$ glutensiz ekşi mayalı ekmek (10^6 kob/g) $>$ glutenli normal mayalı ekmek (10^5 kob/g) $>$ glutensiz normal mayalı ekmek (10^3 kob/g) şeklinde bir sıralama elde edilmektedir.

4.3. Total Maya ve Küf Sayımı

Hamur numunelerinde yapılan total maya ve küf sayımı sonucunda elde edilen değerler incelendiğinde glutenli ekşi mayalı hamurda $9,5 \times 10^5$ kob/g, glutensiz ekşi mayalı hamurda $3,2 \times 10^5$ kob/g, glutenli normal mayalı hamurda $1,5 \times 10^6$ kob/g ve glutensiz normal mayalı hamurda $8,5 \times 10^6$ kob/g şeklinde bulunmuştur. Hamur numunelerinin total maya ve küf sayısına (kob/g) ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4.5.'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Hamur numunelerindeki maya ve küf sayımı değerleri (kob/g)

Numune cinsi	Total maya ve küf sayısı (kob/g)
Glutenli ekşi mayalı hamur	$9,5 \times 10^5$
Glutensiz ekşi mayalı hamur	$3,2 \times 10^5$
Glutenli normal mayalı hamur	$1,5 \times 10^6$
Glutensiz normal mayalı hamur	$8,5 \times 10^6$

Total maya ve küf sayımı sonucunda elde edilen verilere göre hamur numuneleri karşılaştırıldığında glutensiz ekşi mayalı hamurda ($3,2 \times 10^5$ kob/g) total maya ve küf sayısı en düşük miktarda bulunurken, glutensiz normal mayalı hamurda ($8,5 \times 10^6$ kob/g) maya ve küf sayısı en yüksek miktardadır.

Glutenli hamurlar total maya ve küf sayısı açısından birbiri ile karşılaştırıldığında glutenli ekşi mayalı hamurda ($9,5 \times 10^5$ kob/g) total maya ve küf sayısı glutenli normal mayalı hamura ($1,5 \times 10^6$ kob/g) göre daha yüksek, glutensiz hamurlar birbirleri ile karşılaştırıldığında glutensiz normal mayalı hamurda ($8,5 \times 10^6$ kob/g) glutensiz ekşi mayalı hamura ($3,2 \times 10^5$ kob/g) göre total maya ve küf sayısı daha yüksek bulunmuştur. Ekşi mayalı hamurlar arasında bir karşılaştırma yapıldığında glutenli ekşi mayalı hamurdaki ($9,5 \times 10^5$ kob/g) total maya ve küf sayısının glutensiz ekşi mayalı hamurdan ($3,2 \times 10^5$ kob/g) daha yüksek olduğu, normal mayalı hamurlar birbirleriyle karşılaştırıldığında glutensiz normal mayalı hamurun ($8,5 \times 10^6$ kob/g) glutenli normal mayalı hamurdan ($1,5 \times 10^6$ kob/g) daha fazla total maya ve küf içerdiği gözlenmiştir.

Ekmek numunelerinde yapılan total maya ve küf sayımı sonucunda elde edilen değerler incelendiğinde glutenli ekşi mayalı ekmekte $2,1 \times 10^2$ kob/g, glutensiz ekşi mayalı ekmekte $1,2 \times 10^2$ kob/g, glutenli normal mayalı ekmekte $2,1 \times 10^2$ kob/g ve glutensiz normal mayalı ekmekte $1,8 \times 10^2$ kob/g şeklinde bulunmuştur. Ekmek numunelerinin total maya ve küf sayısına (kob/g) ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4.6.'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Ekmek numunelerindeki maya ve küf sayımı değerleri (kob/g)

Numune cinsi	Total maya ve küf sayısı (kob/g)
Glutenli ekşi mayalı ekmek	$2,1 \times 10^2$
Glutensiz ekşi mayalı ekmek	$1,2 \times 10^2$
Glutenli normal mayalı ekmek	$2,1 \times 10^2$
Glutensiz normal mayalı ekmek	$1,8 \times 10^2$

Total maya ve küf sayımı sonucunda elde edilen verilere göre ekmek numuneleri karşılaştırıldığında glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($1,2 \times 10^2$ kob/g) total laktik asit bakterisi en düşük miktarda bulunurken, glutenli ekşi mayalı ekmek ($2,1 \times 10^2$ kob/g) ile glutenli normal mayalı ekmekte ($2,1 \times 10^2$ kob/g) eşit ve total maya ve küf sayısı en yüksek miktardadır.

Glutenli ekmekler total maya ve küf sayısı açısından birbiri ile karşılaştırıldığında glutenli ekşi mayalı ekmekte ($2,1 \times 10^2$ kob/g) total maya ve küf sayısı glutenli normal mayalı ekmek ($2,1 \times 10^2$ kob/g) ile eşit miktarda bulunmuştur. Glutensiz ekmekler birbiriyle karşılaştırıldığında glutensiz normal mayalı ekmekte ($1,8 \times 10^2$ kob/g) glutensiz ekşi mayalı ekmeğe ($1,2 \times 10^2$ kob/g) göre total maya ve küf sayısı daha yüksek bulunmuştur. Ekşi mayalı ekmekler arasında bir karşılaştırma yapıldığında glutenli ekşi mayalı ekmekteki ($2,1 \times 10^2$ kob/g) total maya ve küf sayısının glutensiz ekşi mayalı ekmekten ($1,2 \times 10^2$ kob/g) daha yüksek olduğu, normal mayalı ekmekler arasında bir kıyaslama yapıldığında ise glutenli normal mayalı ekmeğin ($2,1 \times 10^2$ kob/g) total maya ve küf sayısının glutensiz normal mayalı ekmekten ($1,8 \times 10^2$ kob/g) daha fazla total maya ve küf içerdiği gözlenmiştir.

Elde edildikleri hamurlarla karşılaştırıldıklarında pişirme işlemi sonucunda en fazla kayıp glutensiz normal mayalı ekmekte ($1,8 \times 10^2$ kob/g) olurken; total maya ve küf sayısının pişirme işlemi sonrasında en fazla korunduğu ekmek türü glutensiz ekşi mayalı ekmek ($1,2 \times 10^2$ kob/g) olmuştur. Pişirme ile hamurdan ekmek oluşumu sürecinde ekmek türleri arasında total maya ve küf sayısındaki kayıp açısından bir karşılaştırma yapılacak olursa glutensiz normal mayalı ekmek ($6,7 \times 10^4$ kob/g) > glutenli normal mayalı ekmek ($0,6 \times$

10^4 kob/g) > glutenli ekşi mayalı ekmek ($7,4 \times 10^3$ kob/g) > glutensiz ekşi mayalı ekmek ($2,0 \times 10^3$ kob/g) şeklinde bir sıralama elde edilmektedir.

4.4. Ekmeklerin fiziksel özellikleri ve duyuşsal değeriendirmesi

Ekmeklerin fiziksel özellikleri

Glutenli ekşi mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek pişirme sürecinin ardından 15 dk fırının kapağı açılmadan, 15 dk da fırından alındıktan sonra dinlendirilerek soğuması beklenmiş ardından ortasından kesilerek bir dilim alınmış ve incelemeye alınmıştır. Tüm ekmeklerin genel görünüm ve özellikleri Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Ekmeklerin genel görünüm ve özellikleri

Genel özellikler	Glutenli ekşi mayalı ekmek	Glutensiz ekşi mayalı ekmek	Glutenli normal mayalı ekmek	Glutensiz normal mayalı ekmek
Ağırlık (g)	70	90	70	80
Boy (cm)	6,5	7	6,5	7,5
Kabuk rengi	Koyu	Soluk	Soluk	Soluk
İç rengi	Koyu	Soluk	Soluk	Soluk
Gözenek yapısı	Homojen değil Basık Hamurumsu	Homojen değil Basık Hamurumsu	Homojen Basık değil Hamurumsu değil	Homojen Basık değil Hamurumsu değil
Kabuk yapısı	Sert	Sert	Sert değil	Sert değil
İç yapısı	Sert	Sert	Yumuşak	Yumuşak
Koku	Ekşi	Ekşi	Normal	Normal

Ekmek diliminin kabuk yapısının sert bir dokuda olduğu görülmüştür. Bu nedenle kesim yapılırken kabuk yapısında bozulmalar meydana gelmiştir. İç sertliği normal seviyede olan ekmek ortama hafif ekşi bir koku salınmasına neden olmuştur. Kabuk rengi iyi kızarmış görünümde iç rengi de iyi pişmiş bir görünümdeydi. Gözenek yapısı homojen olmamakla beraber basık ve hamurumsu bir yapıya da sahiptir. Kesilen ekmek dilimi tartım sonucunda 70 g olarak bulunmuştur. Ekmeğin kabarması sonucunda boyu 6,5 cm olarak ölçülmüştür. Pişirme süreci sonrasında elde edilen glutenli ekşi mayalı ekmek Resim 4.1.'de verilmiştir.



Resim 4.1. Glutenli ekşi mayalı ekmek

Kabuk yapısı normal sertlikte olan ekmeğin iç kısmı hafif sert bir yapıdadır. Ekmeğin kokusu kesildiğinde hafif ekşi olarak salınmıştır. Kabuk rengi hafif soluk görünümde olan ekmeğin iç rengi de soluk görünümde olmakla beraber homojen olmayan bir gözenek yapısında olduğu gözlenmiştir ayrıca basık ve hamurumsu tarzda olduğu gözlenmiştir. Kesilen ekmek dilimi tartım sonucunda 90 g olarak bulunmuştur. Ekmeğin kabarması sonucunda boyu 7 cm olarak ölçülmüştür. Pişirme süreci sonrasında elde edilen glutensiz ekşi mayalı ekmek Resim 4.2.'de verilmiştir.



Resim 4.2. Glutensiz ekşi mayalı ekmek

Kabuk yapısı sert olmayan ekmek diliminin iç sertliği normal yumuşaklıkta ve dolgundur. Ekmek kesildiğinde ekmeğin bilindik kokusuyla karşılaşılmıştır. Kabuk rengi hafif soluk görünen ekmeğin iç rengi hafif beyaz görünümündedir. Gözenek yapısı homojen dağılan ekmeğin yapısı basık ve hamurumsu olmadığı gözlenmiştir. Kesilen ekmek dilimi tartım sonucunda 70 g olarak bulunmuştur. Ekmeğin kabarması sonucunda boyu 6,5 cm olarak ölçülmüştür. Pişirme süreci sonrasında elde edilen glutenli normal mayalı ekmek Resim 4.3.'de verilmiştir.



Resim 4.3. Glutenli normal mayalı ekmek

Kabuk yapısı normal sertlikte olan ekmeğin iç kısmı da yumuşak ve süngerimsi bir yapıdadır. Kesildiğinde ortama salınan koku normaldir. Kabuk rengi soluk bir görünümde olan ekmeğin iç rengi hafif beyazımsı olmakla birlikte pişmiş görünmektedir. Gözenek yapısı homojen bir dağılıma sahip olan ekmeğin yapısı basık ve hamurumsu değildir. Kesilen ekmek dilimi tartım sonucunda 80 g olarak bulunmuştur. Ekmeğin kabarması sonucunda boyu 7,5 cm olarak ölçülmüştür. Pişirme süreci sonrasında elde edilen glutensiz normal mayalı ekmek Resim 4.4.'de verilmiştir.



Resim 4.4. Glutensiz normal mayalı ekmek

Ekmeklerin duyuusal değeriendirmesi

Duyuusal değeriendirme ürünüün tüketilebilirliğıinin değeriendirilmesi açıısından önemli bir kriterdir. Bu çalışmada üretilen ekmekler duyuusal değeriendirmeye tabi tutulmuştur. Çalışma 80 katılımcı ile yürütölmüş, her ekmeğinin katılımcılar tarafından iki kez değeriendirilmesi sağlanmıştır. Çalışmaya katılmayı kabul eden katılımcıların 66'sı kadın (%82,5), 14'ü erkek (%17,5) bireylerden oluşmaktadır. Çalışmaya katılan bireylerin yaş ortalaması $21,71 \pm 1,105$ (20-26) yıldır.

Değeriendirmeye alınan ekmekler için tüm kriterlere ait puanların ortalamaları ayrı ayrı değeriendirilmiştir. Buna göre genel görünüm kriterinde en yüksek puan ortalaması glutenli normal mayalı ekmekte ($3,54 \pm 0,690$), en düşük puan ortalaması glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($1,81 \pm 0,813$); hacim kriterinde en yüksek puan ortalaması glutenli normal mayalı ekmekte ($3,43 \pm 0,723$), en düşük puan ortalaması glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($2,38 \pm 0,896$); kabuk rengi kriterinde en yüksek puan ortalaması glutensiz normal mayalı

ekmekte ($3,74 \pm 0,879$), en düşük puan ortalaması glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($1,71 \pm 0,695$); iç rengi kriterinde en yüksek puan ortalaması glutenli normal mayalı ekmekte ($3,43 \pm 0,806$), en düşük puan ortalaması glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($1,93 \pm 0,786$); gözeneklilik kriterinde en yüksek puan ortalaması glutenli normal mayalı ekmekte ($3,39 \pm 0,769$), en düşük puan ortalaması glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($2,29 \pm 0,842$); koku kriterinde en yüksek puan ortalaması glutensiz normal mayalı ekmekte ($3,92 \pm 1,052$), en düşük puan ortalaması glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($1,51 \pm 0,761$); lezzet kriterinde en yüksek puan ortalaması glutenli normal mayalı ekmekte ($3,40 \pm 0,933$), en düşük puan ortalaması glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($1,68 \pm 0,796$); aroma kriterinde en yüksek puan ortalaması glutenli normal mayalı ekmekte ($3,21 \pm 0,934$), en düşük puan ortalaması glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($1,66 \pm 0,727$); sertlik kriterinde en yüksek puan ortalaması glutenli normal mayalı ekmekte ($3,56 \pm 0,715$), en düşük puan ortalaması glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($2,12 \pm 1,005$) ve ağız hissi kriterinde en yüksek puan ortalaması glutenli normal mayalı ekmekte ($3,46 \pm 0,889$), en düşük puan ortalaması glutensiz ekşi mayalı ekmekte ($1,68 \pm 0,828$) olmuştur. Çalışmaya katılan bireylerin verdikleri yanıtlara göre duyuşal değerdendirme kriterlerinin ortalama puanlarına ilişkin tanımlayıcı değerdler Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Ekmek numunelerinin duysal değerlendirme kriterlerinin ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerleri (n:160)

Ürün Kodu	Duyusal değerlendirme kriterleri	Ortalama (X̄)	Standart sapma (SS)	Ortanca (Medyan)	Minimum (min)	Maksimum (max)
Glutenli ekşi mayalı ekmek (1-5)	Genel Görünüm	2,96	0,751	3	1	5
	Hacim	2,93	0,749	3	1	5
	Kabuk Rengi	3,30	0,823	3	2	5
	İç Rengi	2,90	0,848	3	1	5
	Gözeneklilik	2,97	0,934	3	1	5
	Koku	2,52	1,121	2	1	5
	Lezzet	2,40	0,940	2	1	5
	Aroma	2,36	0,907	2	1	5
	Sertlik	3,01	0,945	2	1	5
	Ağız Hissi	2,25	0,938	3	1	5
Glutenli normal mayalı ekmek (2-6)	Genel Görünüm	3,54	0,690	4	2	5
	Hacim	3,43	0,723	3	2	5
	Kabuk Rengi	3,48	0,824	4	2	5
	İç Rengi	3,43	0,806	3	2	5
	Gözeneklilik	3,39	0,769	3	2	5
	Koku	3,23	0,990	3	1	5
	Lezzet	3,40	0,933	3,5	1	5
	Aroma	3,21	0,934	3	1	5
	Sertlik	3,56	0,715	4	2	5
	Ağız Hissi	3,46	0,889	3,5	1	5

Çizelge 4.8. (devam) Ekmek numunelerinin duysal değerlendirme kriterlerinin ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerleri (n:160)

Ürün kodu	Duyusal değerlendirme kriterleri	Ortalama ($\bar{X}$)	Standart sapma (SS)	Ortanca (Medyan)	Minimum (min)	Maksimum (max)
Glutensiz ekşi mayalı ekmek (3-7)	Genel Görünüm	1,81	0,813	2	1	4
	Hacim	2,38	0,896	2	1	5
	Kabuk Rengi	1,71	0,695	2	1	4
	İç Rengi	1,93	0,786	2	1	4
	Gözeneklilik	2,29	0,842	2	1	5
	Koku	1,51	0,761	1	1	5
	Lezzet	1,68	0,796	1,5	1	4
	Aroma	1,66	0,727	2	1	4
	Sertlik	2,12	1,005	2	1	5
	Ağız Hissi	1,68	0,828	1	1	5
Glutensiz normal mayalı ekmek (4-8)	Genel Görünüm	3,49	0,890	4	1	5
	Hacim	3,34	0,964	3	1	5
	Kabuk Rengi	3,74	0,879	4	2	5
	İç Rengi	3,38	0,860	3	1	5
	Gözeneklilik	3,11	0,832	3	1	5
	Koku	3,92	1,052	4	1	5
	Lezzet	3,08	1,093	3	1	5
	Aroma	2,99	1,006	3	1	5
	Sertlik	2,85	1,035	3	1	5
	Ağız Hissi	3,09	1,086	3	1	5

Ekmek numuneleri duyusal değerlendirme kriterlerinin ortalamaları açısından karşılaştırılarak duyusal değerlendirme puanlarının ekmekler arasında istatistiksel farklılığa sebep olup olmadığı incelenmiştir. Numunelerin duyusal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması izelge 4.9. ve şekil 4.8.’de verilmiştir.



Çizelge 4.9. Numunelerin duyuşal değerdendirme kriterlerinin karşılaştırılması (n:160)

Duyuşal değerdendirme kriterleri	Glutenli ekşi mayalı ekmek		Glutenli normal mayalı ekmek		Glutensiz ekşi mayalı ekmek		Glutensiz normal mayalı ekmek		$\bar{x}$	p
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]		
Genel Görünüm	2,96 $\pm$ 0,751 ^a	3[1-5]	3,54 $\pm$ 0,690 ^b	4[2-5]	1,81 $\pm$ 0,813 ^c	2[1-4]	3,49 $\pm$ 0,890 ^b	4[1-5]	275,071	0,000
Hacim	2,93 $\pm$ 0,749 ^a	3[1-5]	3,43 $\pm$ 0,723 ^b	3[2-5]	2,38 $\pm$ 0,896 ^c	2[1-5]	3,34 $\pm$ 0,964 ^b	3[1-5]	139,695	0,000
Kabuk Rengi	3,30 $\pm$ 0,823 ^a	3[2-5]	3,48 $\pm$ 0,824 ^a	4[2-5]	1,71 $\pm$ 0,695 ^b	2[1-4]	3,74 $\pm$ 0,879 ^c	4[2-5]	269,727	0,000
İç Rengi	2,90 $\pm$ 0,848 ^a	3[1-5]	3,43 $\pm$ 0,806 ^b	3[2-5]	1,93 $\pm$ 0,786 ^c	2[1-4]	3,38 $\pm$ 0,860 ^b	3[1-5]	245,601	0,000
Gözeneklilik	2,97 $\pm$ 0,934 ^{a,c}	3[1-5]	3,39 $\pm$ 0,769 ^a	3[2-5]	2,29 $\pm$ 0,842 ^b	2[1-5]	3,11 $\pm$ 0,832 ^c	3[1-5]	140,663	0,000
Koku	2,52 $\pm$ 1,121 ^a	2[1-5]	3,23 $\pm$ 0,990 ^b	3[1-5]	1,51 $\pm$ 0,761 ^c	1[1-5]	3,92 $\pm$ 1,052 ^d	4[1-5]	283,101	0,000
Lezzet	2,40 $\pm$ 0,940 ^a	2[1-5]	3,40 $\pm$ 0,933 ^b	3,5[1-5]	1,68 $\pm$ 0,796 ^c	1,5[1-4]	3,08 $\pm$ 1,093 ^d	3[1-5]	211,523	0,000
Aroma	2,36 $\pm$ 0,907 ^a	2[1-5]	3,21 $\pm$ 0,934 ^b	3[1-5]	1,66 $\pm$ 0,727 ^c	2[1-4]	2,99 $\pm$ 1,006 ^a	3[1-5]	206,715	0,000
Sertlik	3,01 $\pm$ 0,945 ^a	3[1-5]	3,56 $\pm$ 0,715 ^b	4[2-5]	2,12 $\pm$ 1,005 ^c	2[1-5]	2,85 $\pm$ 1,035 ^a	3[1-5]	167,501	0,000
Ağız Hissi	2,25 $\pm$ 0,938 ^a	2[1-5]	3,46 $\pm$ 0,889 ^b	3,5[1-5]	1,68 $\pm$ 0,828 ^c	1[1-5]	3,09 $\pm$ 1,086 ^d	3[1-5]	239,279	0,000

*Normal dağılıma sahip olmayan ikiden fazla bağımlı grubun karşılaştırılmasında ‘Friedman’ test ($\bar{x}$ -tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır.

İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilen p değerdleri (p<0,05) kalın şekilde yazılmıştır. (X) ortalama, (SS) standart sapma, (medyan) ortanca ve (min-max) alt ve üst değerdleri ifade etmektedir.

*Farklı harfler anlamlı fark olduğunu göstermektedir.

Genel görünüm açısından ekmek türleri değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($\bar{x}=275,071$; $p=0,000$). Ekmek türleri arasındaki anlamlı farkın hangi ekmek türleri arasında olduğu incelendiğinde glutenli normal mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı fark bulunmamış, diğer tüm ekmekler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Hacim açısından ekmek türleri değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($\bar{x}=139,695$; $p=0,000$). Ekmek türleri arasındaki anlamlı farkın hangi ekmek türleri arasında olduğu incelendiğinde glutenli normal mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı fark bulunmamış, diğer tüm ekmekler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Kabuk rengi açısından ekmek türleri değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($\bar{x}=269,727$; $p=0,000$). Ekmek türleri arasındaki anlamlı farkın hangi ekmek türleri arasında olduğu incelendiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutenli normal mayalı ekmek arasında anlamlı fark bulunmamış, diğer tüm ekmekler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

İç rengi açısından ekmek türleri değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek ve glutenli normal mayalı ekmek arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($\bar{x}=245,601$; $p=0,000$). Ekmek türleri arasındaki anlamlı farkın hangi ekmek türleri arasında olduğu incelendiğinde glutenli normal mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı fark bulunmamış, diğer tüm ekmekler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Gözeneklilik açısından ekmek türleri değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($\bar{x}=140,663$; $p=0,000$). Ekmek türleri arasındaki anlamlı farkın hangi ekmek türleri arasında olduğu incelendiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutenli normal mayalı ekmek ve glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutensiz

normal mayalı ekmek arasında anlamlı fark bulunmamış, diğer tüm ekmekler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

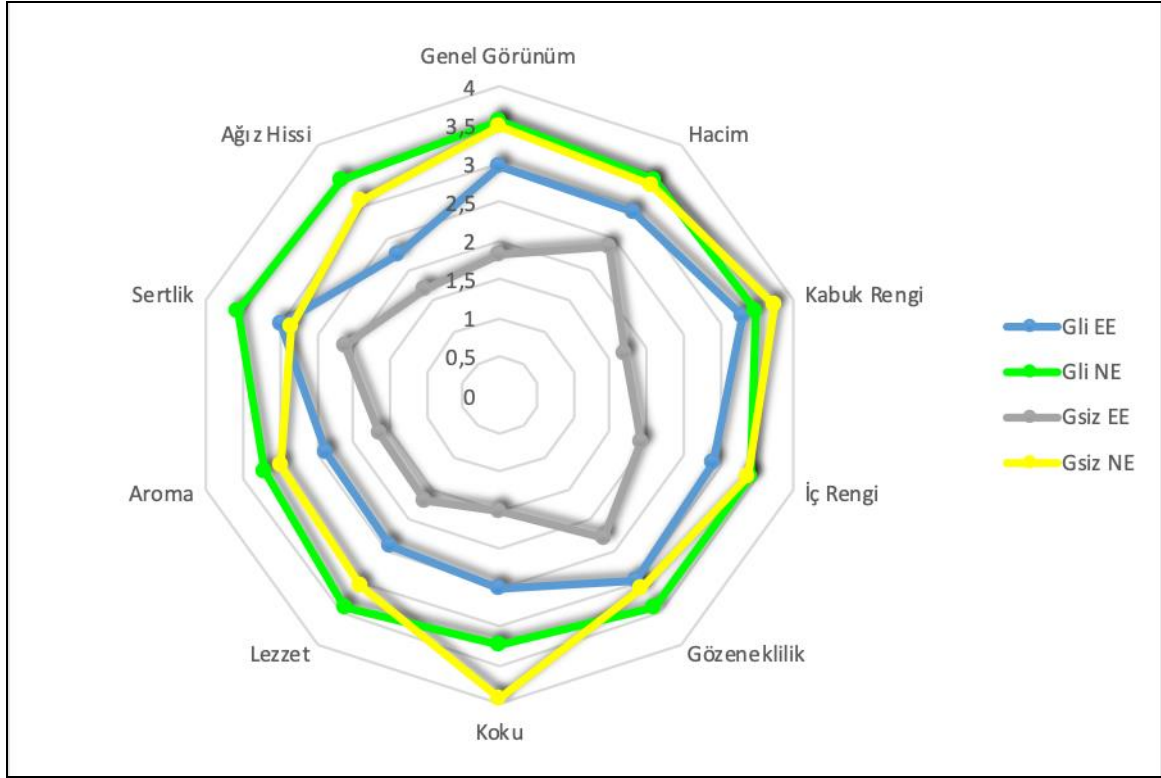
Koku açısından ekmek türleri değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($\bar{x}=283,101$; $p=0,000$). Ekmek türleri arasındaki anlamlı farkın hangi ekmek türleri arasında olduğu incelendiğinde tüm ekmekler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Lezzet açısından ekmek türleri değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($\bar{x}=211,523$; $p=0,000$). Ekmek türleri arasındaki anlamlı farkın hangi ekmek türleri arasında olduğu incelendiğinde tüm ekmekler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Aroma açısından ekmek türleri değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($\bar{x}=206,715$; $p=0,000$). Ekmek türleri arasındaki anlamlı farkın hangi ekmek türleri arasında olduğu incelendiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı fark bulunmamış, diğer tüm ekmekler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Sertlik açısından ekmek türleri değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($\bar{x}=167,501$; $p=0,000$). Ekmek türleri arasındaki anlamlı farkın hangi ekmek türleri arasında olduğu incelendiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı fark bulunmamış, diğer tüm ekmekler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).

Ağız hissi açısından ekmek türleri değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı ekmek, glutenli normal mayalı ekmek, glutensiz ekşi mayalı ekmek ve glutensiz normal mayalı ekmek arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($\bar{x}=239,279$; $p=0,000$). Ekmek türleri arasındaki anlamlı farkın hangi ekmek türleri arasında olduğu incelendiğinde tüm ekmekler arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.8. Numunelerin duyuşsal değeriendirme kriterlerinin karşılaştırılması

Yapılan duysal değerlendirme analizinde ekmek numuneleri katılımcılar tarafından tek kör nitelikte ikişer kez değerlendirilmiştir. Buna göre katılımcıların ekmek numunelerinin ilk ve son değerlendirmelerine yönelik yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda glutenli ekşi mayalı ekmekte yapılan son değerlendirmede tüm duysal değerlendirme kriteri için daha yüksek sonuçlara ulaşılmıştır. Bununla birlikte gözeneklilik ($Z=-2,286$; $p=0,022$), koku ($Z=-2,619$; $p=0,009$), lezzet ($Z=-3,202$; $p=0,001$), aroma ($Z=-3,575$; $p=0,000$), sertlik ($Z=-2,280$; $p=0,023$) ve ağız hissi ($Z=-2,721$; $p=0,042$) kriterlerinde ilk değerlendirmeye göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Glutenli ekşi mayalı ekmek numunesi için ilk ve son (1-5) duysal değerlendirme analizi kriterlerinin karşılaştırılması Çizelge 4.10. ve Şekil 4.9.'da verilmiştir.



Şekil 4.9. Glutenli ekşi mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duysal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (Gli EE – İlk: Glutenli ekşi mayalı ekmek – İlk değerlendirme, Gli EE – Son: Glutenli ekşi mayalı ekmek – Son değerlendirme)

Çizelge 4.10. Glutenli ekşi mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyuşal değeriendirme kriterlerinin karşılaştırılması (n:80)

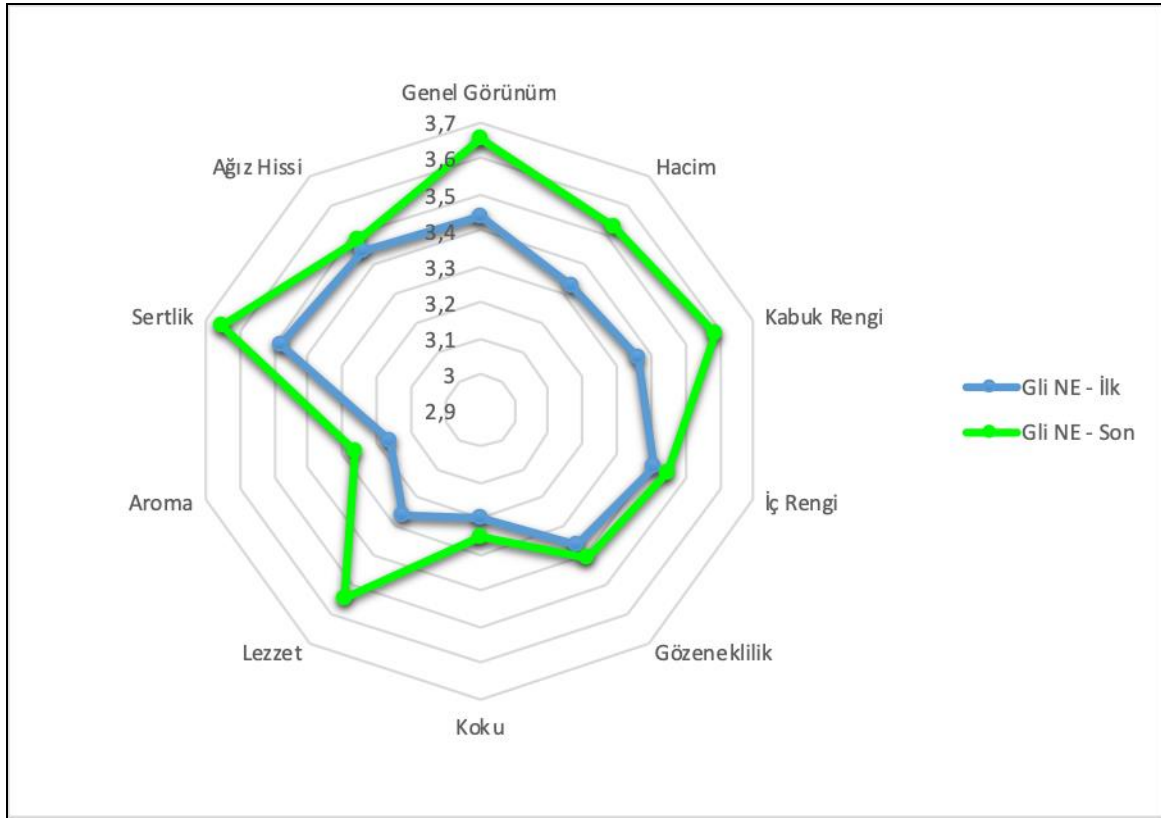
Duyuşal değeriendirme kriterleri	İlk değeriendirme		Son değeriendirme		Z	p
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]		
Genel Görünüm	2,90 $\pm$ 0,722	3[1-4]	3,03 $\pm$ 0,779	3[2-5]	-1,157	0,247
Hacim	2,88 $\pm$ 0,736	3[1-4]	2,98 $\pm$ 0,763	3[2-5]	-1,009	0,313
Kabuk Rengi	3,28 $\pm$ 0,826	3[2-5]	3,33 $\pm$ 0,823	3[2-5]	-0,569	0,569
İç Rengi	3,01 $\pm$ 0,819	3[1-5]	2,79 $\pm$ 0,867	3[1-5]	-1,601	0,109
Gözeneklilik	3,14 $\pm$ 0,924	3[1-5]	2,80 $\pm$ 0,920	3[1-5]	-2,286	0,022
Koku	2,66 $\pm$ 1,169	2,5[1-5]	2,38 $\pm$ 1,060	2[1-5]	-2,619	0,009
Lezzet	2,59 $\pm$ 0,896	3[1-4]	2,21 $\pm$ 0,951	2[1-5]	-3,202	0,001
Aroma	2,56 $\pm$ 0,912	3[1-5]	2,15 $\pm$ 0,858	2[1-5]	-3,575	0,000
Sertlik	2,85 $\pm$ 0,969	3[1-4]	3,18 $\pm$ 0,897	3[1-5]	-2,280	0,023
Ağız Hissi	2,41 $\pm$ 0,910	2[1-4]	2,09 $\pm$ 0,944	2[1-5]	-2,592	0,010

*Normal dağılıma sahip olmayan iki bağımlı grubun karşılaştırılmasında ‘Wilcoxon İşaretli Sıralar’ test (Z-tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır.

İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilen p değeri (p<0,05) kalın şekilde yazılmıştır.

($\bar{X}$) ortalama, (SS) standart sapma, (medyan) ortanca ve (min-max) alt ve üst değeri ifade etmektedir.

Katılımcıların ekmek numunelerinin ilk ve son değerlendirmelerine yönelik yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda glutenli normal mayalı ekmekte yapılan son değerlendirmede tüm duyusal değerlendirme kriteri için daha yüksek sonuçlara ulaşılmıştır. Bununla birlikte genel görünüm ($Z=-2,248$; $p=0,025$), kabuk rengi ($Z=-1,970$; $p=0,049$) ve lezzet ($Z=-2,313$; $p=0,021$) kriterlerinde ilk değerlendirmeye göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Glutenli normal mayalı ekmek numunesi için ilk ve son (2-6) duyusal değerlendirme analizi kriterlerinin karşılaştırılması Çizelge 4.11. ve Şekil 4.10.'da verilmiştir.



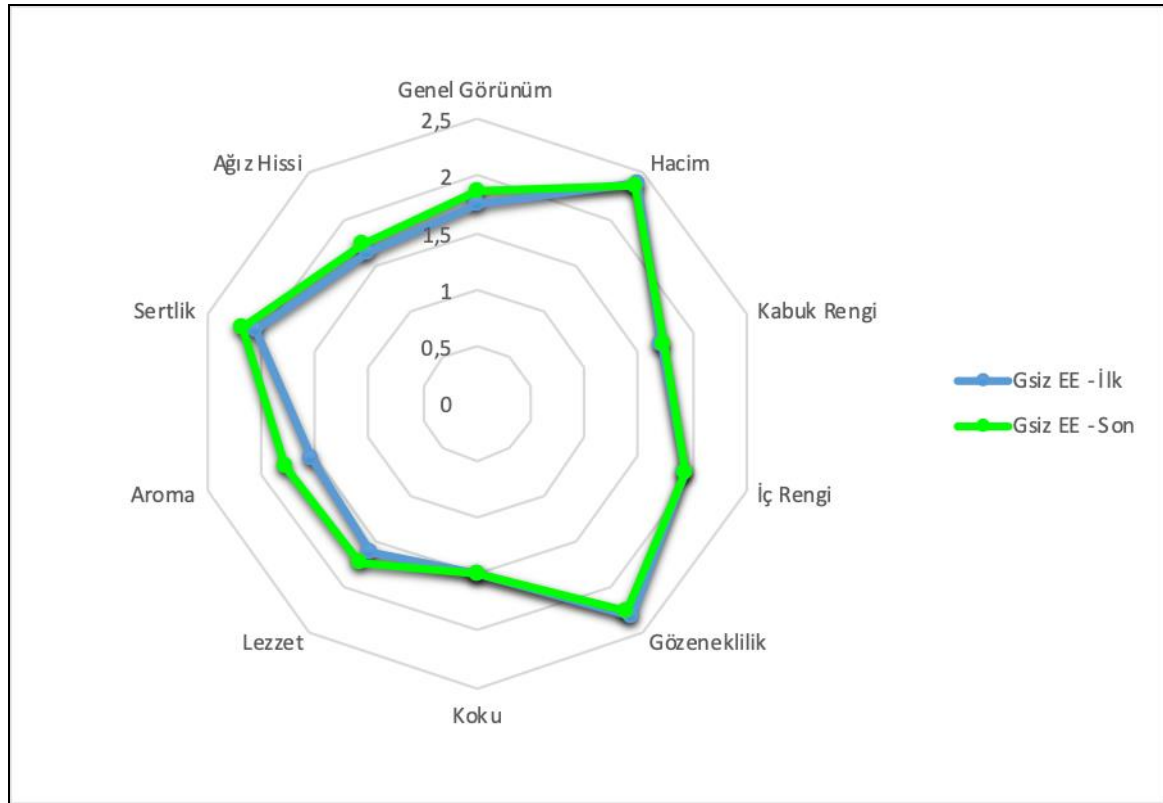
Şekil 4.10. Glutenli normal mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyusal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (Gli NE – İlk: Glutenli normal mayalı ekmek – İlk değerlendirme, Gli NE – Son: Glutenli normal mayalı ekmek – Son değerlendirme)

Çizelge 4.11. Glutenli normal mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyusal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (n:80)

Duyusal değerlendirme kriterleri	İlk değerlendirme		Son değerlendirme		Z	p
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]		
Genel Görünüm	3,44±0,691	3[2-5]	3,65±0,677	4[2-5]	-2,248	0,025
Hacim	3,33±0,708	3[2-5]	3,53±0,729	4[2-5]	-1,883	0,060
Kabuk Rengi	3,36±0,830	3[2-5]	3,59±0,807	4[2-5]	-1,970	0,049
İç Rengi	3,41±0,791	3[2-5]	3,45±0,825	3[2-5]	-0,402	0,687
Gözeneklilik	3,36±0,767	3[2-5]	3,41±0,774	3[2-5]	-0,581	0,561
Koku	3,20±1,060	3[1-5]	3,25±0,921	3[1-5]	-0,341	0,733
Lezzet	3,26±1,040	3[1-5]	3,54±0,795	4[1-5]	-2,313	0,021
Aroma	3,16±0,987	3[1-5]	3,26±0,882	3[1-5]	-0,643	0,520
Sertlik	3,48±0,746	3,5[2-5]	3,65±0,677	4[2-5]	-1,747	0,081
Ağız Hissi	3,45±0,913	3[2-5]	3,48±0,871	4[1-5]	-0,251	0,802

*Normal dağılıma sahip olmayan iki bağımlı grubun karşılaştırılmasında ‘Wilcoxon İşaretli Sıralar’ test (Z-tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilen p değerleri ($p < 0,05$) kalın şekilde yazılmıştır. .
 ($\bar{X}$) ortalama, (SS) standart sapma, (medyan) ortanca ve (min-max) alt ve üst değerleri ifade etmektedir.

Katılımcıların ekmek numunelerinin ilk ve son değerlendirmelerine yönelik yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda glutensiz ekşi mayalı ekmekte yapılan son değerlendirmede tüm duyuşal değerlendirme kriteri için daha yüksek sonuçlara ulaşılmıştır. Bununla birlikte aroma ($Z=-2,776$; $p=0,006$) kriterinde ilk değerlendirmeye göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Glutensiz ekşi mayalı ekmek numunesi için ilk ve son (3-7) duyuşal değerlendirme analizi kriterlerinin karşılaştırılması Çizelge 4.12. ve Şekil 4.11.'de verilmiştir.



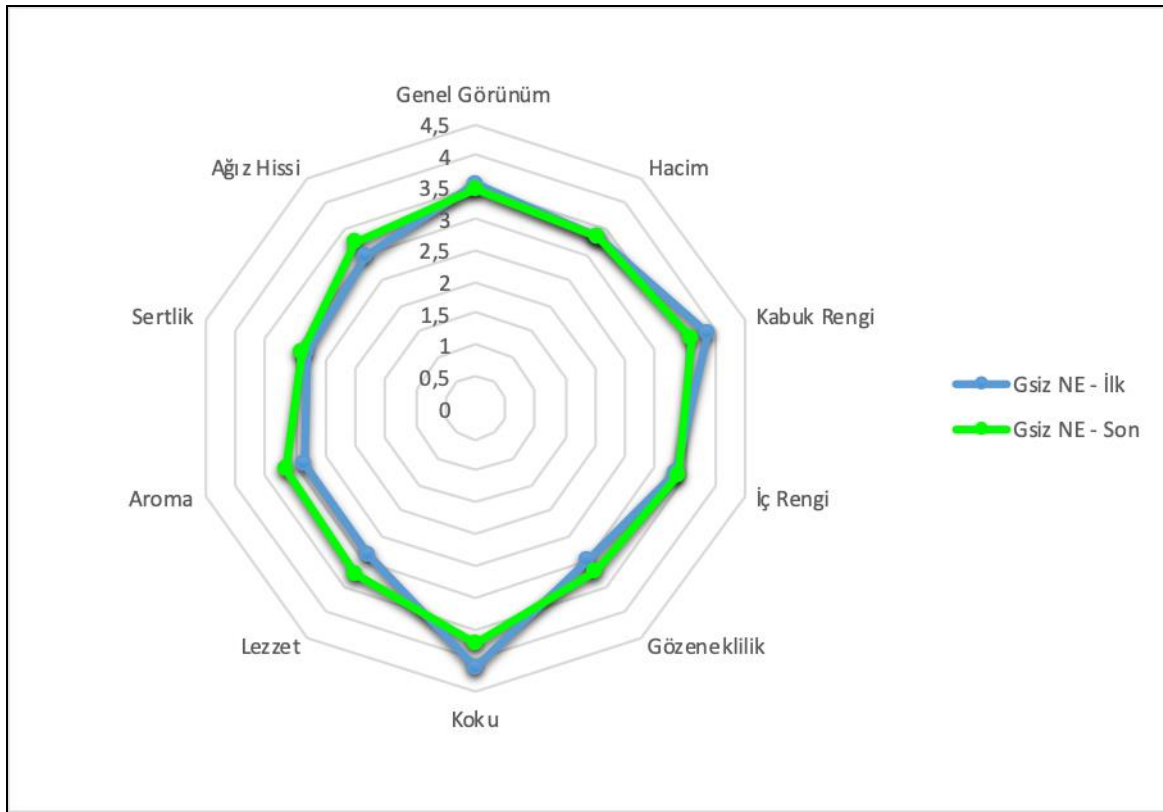
Şekil 4.11. Glutensiz ekşi mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyuşal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (Gsiz EE – İlk: Glutensiz ekşi mayalı ekmek – İlk değerlendirme, Gsiz EE – Son: Glutensiz ekşi mayalı ekmek – Son değerlendirme)

Çizelge 4.12. Glutensiz ekşi mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyusal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (n:80)

Duyusal değerlendirme kriterleri	İlk değerlendirme		Son değerlendirme		Z	p
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]		
Genel Görünüm	1,75±0,788	2[1-4]	1,86±0,838	2[1-4]	-1,285	0,199
Hacim	2,40±0,949	2[1-5]	2,36±0,846	2[1-4]	-0,373	0,709
Kabuk Rengi	1,70±0,683	2[1-4]	1,73±0,711	2[1-4]	-0,264	0,792
İç Rengi	1,94±0,785	2[1-4]	1,93±0,792	2[1-4]	-0,141	0,888
Gözeneklilik	2,31±0,894	2[1-5]	2,26±0,791	2[1-4]	-0,375	0,707
Koku	1,51±0,795	1[1-5]	1,50±0,729	1[1-4]	-0,196	0,845
Lezzet	1,61±0,771	1[1-4]	1,75±0,819	2[1-4]	-1,392	0,164
Aroma	1,54±0,635	1[1-3]	1,78±0,795	2[1-4]	-2,776	0,006
Sertlik	2,06±1,011	2[1-5]	2,18±1,003	2[1-5]	-1,099	0,272
Ağız Hissi	1,63±0,832	1[1-5]	1,73±0,826	2[1-4]	-1,164	0,245

*Normal dağılıma sahip olmayan iki bağımlı grubun karşılaştırılmasında ‘Wilcoxon İşaretli Sıralar’ test (Z-tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilen p değerleri ($p < 0,05$) kalın şekilde yazılmıştır. ($\bar{X}$) ortalama, (SS) standart sapma, (medyan) ortanca ve (min-max) alt ve üst değerleri ifade etmektedir.

Katılımcıların ekmek numunelerinin ilk ve son değerlendirmelerine yönelik yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda glutensiz normal mayalı ekmekte yapılan son değerlendirmede tüm duyusal değerlendirme kriteri için daha yüksek sonuçlara ulaşılmıştır. Bununla birlikte kabuk rengi ($Z=-2,165$; $p=0,030$), koku ($Z=-3,469$; $p=0,001$), lezzet ($Z=-2,900$; $p=0,004$), aroma ($Z=-2,864$; $p=0,004$) ve ağız hissi ($Z=-2,022$; $p=0,043$) kriterlerinde ilk değerlendirmeye göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Glutensiz normal mayalı ekmek numunesi için ilk ve son (4-8) duyusal değerlendirme analizi kriterlerinin karşılaştırılması Çizelge 4.13. Şekil 4.12.'de verilmiştir.



Şekil 4.12. Glutensiz normal mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyusal değerlendirme kriterlerinin karşılaştırılması (Gsiz NE – İlk: Glutensiz normal mayalı ekmek – İlk değerlendirme, Gsiz NE – Son: Glutensiz normal mayalı ekmek – Son değerlendirme)

Çizelge 4.13. Glutensiz normal mayalı ekmek numunesi için ilk ve son duyuşal değeriendirme kriterlerinin karşılaştırılması (n:80)

Duyuşal değeriendirme kriterleri	İlk değeriendirme		Son değeriendirme		Z	p
	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]	$\bar{X} \pm SS$	Medyan [min-max]		
Genel Görünüm	3,54 $\pm$ 0,826	4[1-5]	3,45 $\pm$ 0,953	3,5[1-5]	-0,667	0,505
Hacim	3,33 $\pm$ 0,925	3[1-5]	3,35 $\pm$ 1,008	3[1-5]	-0,327	0,743
Kabuk Rengi	3,88 $\pm$ 0,817	4[2-5]	3,60 $\pm$ 0,922	4[2-5]	-2,165	0,030
İç Rengi	3,36 $\pm$ 0,860	3[1-5]	3,39 $\pm$ 0,864	3[2-5]	-0,161	0,872
Gözeneklilik	3,01 $\pm$ 0,819	3[1-5]	3,21 $\pm$ 0,837	3[2-5]	-1,903	0,057
Koku	4,11 $\pm$ 0,968	4[1-5]	3,73 $\pm$ 1,102	4[1-5]	-3,469	0,001
Lezzet	2,90 $\pm$ 1,038	3[1-5]	3,26 $\pm$ 1,122	3[1-5]	-2,900	0,004
Aroma	2,83 $\pm$ 0,965	3[1-5]	3,16 $\pm$ 1,024	3[1-5]	-2,864	0,004
Sertlik	2,79 $\pm$ 0,977	3[1-5]	2,91 $\pm$ 1,093	3[1-5]	-0,977	0,328
Ağız Hissi	2,98 $\pm$ 1,136	3[1-5]	3,21 $\pm$ 1,027	3[1-5]	-2,022	0,043

*Normal dağılıma sahip olmayan iki bağımlı grubun karşılaştırılmasında ‘Wilcoxon İşaretili Sıralar’ test (Z-tablo değeri) istatistikleri kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı kabul edilen p değeri (p<0,05) kalın şekilde yazılmıştır. ($\bar{X}$) ortalama, (SS) standart sapma, (medyan) ortanca ve (min-max) alt ve üst değeri ifade etmektedir.

5. TARTIŞMA

Ekmek dünya çapında oldukça yüksek bir tüketim hacmine sahip besinlerden biridir ve çoğu ybölge ve kültürde ekmek yapımında en fazla kullanılan un çeşidi buğday unudur [88, 89]. Buğdayın temel depo proteini olan gluten proteininin ekmekte istenilen doku ve yapıyı sağlaması bunda başlıca etkindir [4]. Gluten tüketiminin sağlık sorunlarına yol açtığı bireylerde glutenli ürünlerin diyetle kısıtlanması veya diyetten tamamen çıkarılması söz konusudur [23]. Bununla birlikte bu bireylere yönelik olarak üretilen glutensiz ürünlerin gluten içeren muadilleriyle aynı yapıya sahip olmasını sağlamak oldukça zordur [23-26]. Ekşi mayanın fermantasyon sürecinde gluten proteininin alt ünitesi gliadin peptitlerinin parçalanmasına yol açtığı ve insan sağlığı üzerine çeşitli olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir [58, 61].

Ekşi maya ile fermantasyon yönteminin hamura ve ekmeğe olan etkilerini değerlendirmek amacıyla yürütülen bu çalışmadan elde edilen bulgular gliadin analizinin değerlendirilmesi, total laktik asit bakteri sayısının değerlendirilmesi, total maya ve küf sayısının değerlendirilmesi, genel görünüş ve özelliklerin değerlendirilmesi ve duyuusal değerlendirme analizinin değerlendirilmesi başlıkları altında tartışılmıştır.

5.1. Gliadin Analizinin Değerlendirilmesi

Ekşi maya canlı organizmaların fermantasyon süreci ile kendilerine sağlanan uygun ortam koşullarında çoğalarak hamurun kimyasal formunda değişikliklere yol açması ile oluşan ve ekmek üzerinde çeşitli yararlı etkileri bulunan bir mayalama çeşididir [8].

Ekşi mayanın fermantasyon sürecinde mikrobiyolojik ekosisteminde bulunan laktik asit bakterileri hem buğdayda bulunan endojenöz enzimlerin aktivitesinin artmasını sağlayarak [48] hem de kendi hücre formlarında bulunan proteazlar aracılığıyla proteinlerin parçalanmasına yol açmaktadır. Bu proteolitik aktivite buğdayda bulunan gluten proteinlerini etkilemekte ve gliadinler arasındaki disülfid bağlarının kopararak hidrolize olmasını sağlamaktadır [8]. Ayrıca ekşi mayanın fermantasyon sürecinde laktik asit bakterilerinin ürettiği organik asitler ile hamur pH'ını düşürerek gluten proteininin buğdayda bulunan proteazlar tarafından hidrolize olmasına neden olduğu ve [111] fermantasyon süresince karıştırma esnasında laktik asit bakterilerinin otolize uğramasının

nadir karşılaşılan bir durum olmamakla birlikte intraselüler peptidazların ortama yayılmasına neden olarak proteolizi arttırdığı bildirilmektedir [15]. Ekşi mayada bulunan laktik asit bakterilerinin tamamlayıcı peptidazlar ile buğday unundan yapılan ekşi mayalı ekmekte gluten konsantrasyonunu 10 ppm'in altına düşürebildiği saptanmıştır [14].

Ekşi mayada meydana gelen gliadin hidrolizasyonunu gözlemlemek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri olan ELISA testi ekşi maya fermentasyonu ile gliadin miktarını ölçmek için kullanılmaktadır [78].

Buğday unu ile elde edilen ekşi mayalardan laktik asit bakterilerinin inokulasyonu ile glutensiz ürün üretiminin amaçlandığı çeşitli çalışmalarda fermentasyon sonucunda elde edilen mayalarda yapılan ELISA testlerinde ürünlerdeki gliadin seviyelerinin düştüğü bildirilmiştir [112-114].

Ürünlerin glutensiz olup olmadığının tespitinde ELISA testi sıklıkla kullanılmaktadır. ELISA testinin buğdaydaki gluten fraksiyonlarının çeşitlerinin belirlenmesinde kullanılabilirliğini araştıran bir çalışmada ω -Gliadin türlerinin belirlenmesinde en düşük afiniteye sahip olduğu başka bir çalışmada ise γ -Gliadin türlerinin tespitinde yüksek hassasiyete sahip olduğunu fakat, α -Gliadin, HMW-Glutenin ve LMW-Glutenin türlerinin tespitinde hassasiyetinin düşük olduğu tespit edilmiştir [13, 115]. Gliadin türlerinin miktarlarının tespitinde 2,1 ppm ile 1189,0 ppm değerleri arasında saptamanın olduğu belirtilen çalışmada buğdaydaki gliadin fraksiyonları 411,0 mg/kg olarak bulunmuş, gluten kaynaklarına özgü ELISA test kiti belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu belirtilmiştir [13]. Bu çalışmada glutensiz ekşi maya ile glutensiz normal maya üzerinde ELISA testi ile gliadin miktarı ölçülmüştür. Her iki örnekte bulunan gliadin miktarı <5 ppm olarak bulunmuş ve aralarındaki fark kıyaslanamamıştır (Bkz. Çizelge 4.1). ELISA testi genellikle glutensiz ürünlerde gluten kontaminasyonu olup olmadığını ölçmek için kullanılan hızlı, basit ve etkili bir yöntem olarak bilinmekle birlikte bu durumda ELISA testinin spesifik olarak nicel gliadin tayininde uygun olmadığı, fakat varlık yokluk sonucu veren nitel tayinlerde kullanışlı bir yöntem olduğu söylenebilmektedir. Yine yapılan çalışmalarda çok düşük miktarlardaki gliadin seviyelerinin ELISA testi ile okunamadığı ve duyarlılık eşliğinin daha yüksek olduğu görülmüştür [112, 113].

HPLC yöntemi tüm tahıl proteinlerinin miktar tayininde kullanılabilen hızlı, güvenilir ve tekrarlanabilir olması dolayısıyla kullanışlılığı yüksek ve sıklıkla tercih edilen analiz yöntemlerinden biridir [116]. Laktik asit bakterilerinin ekşi mayada 31-43 α -Gliadin fragmentlerinin hidrolizasyonu üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla iki farklı laktik asit bakteri suşunun kullanıldığı bir çalışmada bakteri enzimlerinin proteolitik aktivitesi incelenmiş ve RP-FPLC ile analize tabi tutulmuştur. İnceleme sonucunda ekşi mayada bulunan 31-43 α -Gliadin fragmentlerinin her iki laktik asit bakesi suşu tarafından %73 ve %36 oranında hidrolizasyona uğradığı bulunmuştur [48].

Bu çalışmada oluşturulan tüm glutenli ve glutensiz maya, hamur ve ekmek numunelerinde HPLC analizi ile gliadin miktarı ölçülmüştür. Glutenli ekşi mayadaki gliadin miktarı glutensiz ekşi mayadaki gliadin miktarından daha yüksek bulunmuş, hamurlar arasında yapılan kıyaslamada ‘Glutenli Ekşi Mayalı Hamur’ < ‘Glutensiz Normal Mayalı Hamur’ < ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur’ < ‘Glutenli Normal Mayalı Hamur’ şeklinde bir sıralama elde edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.2). Bu durum hipotezimiz ile örtüşmektedir. Ekşi mayaya bal eklenmesiyle oluşan etkilerin incelendiği bir çalışmada ilave edilen balın gluten matriksinde oluşturduğu değişiklikler elektron mikroskobu ile incelenmiş ve bal eklenen ve eklenmeyen gruplar arasında gluten matriksinde azalma elektron mikroskobu ile inceleme sonucunda gösterilmiştir [117]. Bu çalışmada ilave katalizör kullanılmamasıyla birlikte benzer sonuçlar elde edilmiştir. Glutensiz hamurlar arasında yapılan karşılaştırmada glutensiz normal mayalı hamurdaki gliadin miktarı glutensiz ekşi mayalı hamurdaki gliadin miktarından daha düşük bulunmuştur (Bkz. Çizelge 4.2). Bu durumun mayalarda 10 günlük fermantasyon süresince etkili olan laktik asit bakterilerinin gliadini hidrolize etme potansiyelinin glutensiz hamurda fermantasyon süresinin (5 saat) maya fermantasyonuna göre daha kısa olmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Glutenli normal mayalı hamurda ise gliadin miktarının hem glutenli ekşi mayalı hamurdan daha yüksek hem diğer hamurlar arasında en yüksek düzeye sahip olması beklenen bir durumdur (Bkz. Çizelge 4.2). Literatürde de bu bulguya benzer sonuçlara rastlanmıştır. Reale ve diğerlerinin (2016) laktik asit bakterilerinin ekşi maya aktivitesi üzerine etkisinin araştırdığı bir çalışmada ise *Laktobacillus casei* N87 suşu kullanarak ekşi mayalı hamur ve normal maya kullanarak kontrol hamuru oluşturulmuştur. Fermantasyon sürecinin (24 saat) ardından gliadin fraksiyonları analiz edildiğinde kontrol grubuna göre %66,6 oranında azaldığı tespit edilmiştir [118]. Ekmekler arasında yapılan karşılaştırmada ise ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ < ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ < ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’

< ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ şeklinde bir sıralama elde edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.2). Tüm ekmeklerde elde edildikleri hamurlarla kıyaslandığında gliadin miktarında düşüş tespit edilmiştir. Pişme süreci ekmek üzerinde çeşitli yapısal değişikliklere sebep olmaktadır. Isı ile hamurun kimyasal yapısı değişirken, kullanılan maya ile birlikte organizmaların oluşturduğu etil alkol fermante olarak CO₂ gazı açığa çıkmakta ve ekmek yapısında kabarma ve gözenek yapısının oluşumunu sağlamaktadır. Bahsedilen temel değişikliklerin yanında oluşan bazı uçucu bileşiklerin pişme sürecinde gliadin peptitlerinin parçalanmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Yine ekmekteki gluten proteininin alt fraksiyonları olan gliadin ve glüteninin parçalanmasına yönelik ekşi maya kullanılan bir çalışmada ekşi maya ile transglutaminaz enziminin kombine edilerek kullanılmasının gliadin ve glutenin fraksiyonların azalmasında daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır [67]. 31-43 α -Gliadin fragmentlerinin proteinaz ve peptidaz aktivitelerini ayrı ayrı içeren laktik asit bakterilerinin enzim preparasyonları ile 4 saatlik muamelesi sonrası hidrolizi söz konusu olmuştur. Enzim preparasyonları ekşi maya fermantasyonu süresince peptid substratlarına erişilebilirliği kolaylaşan hücre duvarı ilişkili proteinazların hidrolitik aktivitesini göstermekte kullanılmıştır. Farklı baskın kültürlerle sahip ekşi mayalar arasında hidrolizasyon kalıpları arasında farklılıklar görülebildiği ve sitoplazmik preparasyonların en yüksek aktiviteyi gösterdiği bildirilmiştir [15]. Buğday ununa kepek ve ekşi maya eklenmesinin ekmek kalitesi üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada; kepek eklenmemiş (1), orta kaliteli kepek eklenmiş (2) ve iyi kaliteli kepek eklenmiş (3) unların gliadin miktarları analiz edildiğinde 1 numaralı unda %10,9; 2 numaralı unda % 9,6; 3 numaralı unda ise %24,4’ e düştüğü görülmüştür [119]. Tüm ekmeklerde pişme sonucu gliadin miktarlarının düştüğü gözlenirken glutenli ekşi mayalı ekmeğin hamur formunda da en düşük gliadin miktarına sahip olması ekmek formunda bu sırayı korumasını sağlarken normal mayalı ekmeklerde bu oran daha yüksek olmuş ve glutensiz ekşi mayalı ekmeğe göre pişme esnasında daha yüksek bir proteoliz sürecine tâbi oldukları görülmüştür. Glutensiz ekşi mayalı ekmekte gliadin hidrolizasyonu oranının daha az olması ekşi mayadaki laktik asit bakterilerinin optimum düzeyde etki göstermediği sonucuna varılmasını sağlamaktadır. Aynı durum aynı ekmeği genel özellikleri açısından incelediğimizde de karşımıza çıkmaktadır. Pişme sonunda kabuk ve iç rengi daha soluk, gözenek yapısının ise düzgün dağılmadığı bir ekmek elde edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.7.).

Bu çalışmada buğday proteinlerinden glutenin alt fraksiyonu olan gliadinin miktar tayininde ELISA testi ve HPLC analizi kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar ve analizlerin

nitelikleri bakımından bir değerlendirme yapıldığında ELISA testi sonucunda glutensiz ekşi mayalı hamurda ve glutensiz normal mayalı hamurda bulunan değerler ile HPLC analizi sonucunda glutensiz ekşi mayada ve glutensiz normal mayalı hamurda bulunan değerler birbirleri ile kıyaslandığında iki analiz sonucunda okunan gliadin değerlerinin HPLC analizi ile daha net bir miktar sonucu elde edildiği görülmektedir.

ELISA testi ve HPLC analizi ürünlerdeki gliadin peptitleri miktarının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılan ve etkin sonuçlar sağlayan yöntemlerdendir. Bununla birlikte ELISA testi daha çok varlık yokluk tayinleri olan nitel analizlerde kullanılırken, HPLC analizi daha düşük duyarlılık eşiği ile miktar tayinlerinin saptandığı nicel analizlerde daha fazla kullanılabilir [120, 121]. Bununla birlikte çalışmada çeşitli kısıtlılıklardan dolayı yalnızca HPLC analizi ile gliadin miktarının ölçülmesinde kullanılacak yöntemin optimizasyonunda standart materyal (Gliadin from Wheat-G3375-25 g, Sigma-Aldrich, Saint Louis, ABD) kullanılmıştır. Bu bakımdan glutenli [122, 123] ve glutensiz un [124, 125] standartları ile maya standardı [126, 127] kullanılarak çalışma numunelerinin oluşturulduğu ve ilgili analizlerin bu ürünler üzerinden yapıldığı yüksek bütçeli ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

5.2. Total Laktik Asit Bakteri Sayımının Değerlendirilmesi

İnsan sağlığında bağırsaklarda bulunan mikrobiyotanın etkinliği günümüzde üzerinde sıklıkla durulan konulardandır. Mikrobiyotanın en önemli bileşenlerinden laktik asit bakterileri ekşi maya ile oldukça ilişkilidir. Laktik asit bakterileri hem fermantasyon sürecinde kendi çoğalması için proteoliz sürecini hızlandırmakta hem de amino asit konsantrasyonunu artırması ile ekşi maya fermantasyonunda intraselüler peptidazların artışını da dolaylı olarak uyarmaktadır [25]. Bu süreçte ayrıca ekşi mayadaki çeşitli biyoaktif bileşenlerin oluşması maya mikroflorasının farklılaşması, ekşi mayanın insan sağlığı üzerinde çeşitli olumlu etkilere sahip olmasını sağlamaktadır. Ekşi maya mikroflorasının fermantasyon sürecindeki enzimatik aktiviteler ve mikrobiyal ekoloji üzerinde anahtar rol oynadığı gösterilmiştir [15, 21]. *Lactobacillus sanfranciscensis* suşunun maya oluşumundaki potansiyelinin incelendiği bir çalışmada *Lactobacillus sanfranciscensis*, malt çimi, pepton, tripton ve mısır ıslatma suyu kullanılarak oluşturulan mayalarda yapılan laktik asit bakterisi sayımı sonucunda en yüksek sonuç *Lactobacillus sanfranciscensis* suşu kullanılarak yapılan mayada (9,97 log kob/mL) görülmüştür [128].

Fermantasyon süresinin ekşi mayanın fermantasyonu üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada buğday unundan starter kültür olarak iki farklı miktarda laktik asit bakterileri kullanılarak ekşi maya üretiminin yapıldığı bir çalışmada laktik asit bakterisi sayısında fermantasyon sonunda en yüksek 8,91 log kob/g değerine ulaşılmıştır [129].

Bu çalışmada geleneksel yöntemle starter kültür eklenmeden glutenli ve glutensiz unlardan ekşi mayalar oluşturulmuş ve bu mayalardan elde edilen hamur ve ekmekler normal mayalardan elde edilen hamur ve ekmeklerle karşılaştırılmıştır. Total laktik asit bakteri sayımı verileri incelendiğinde elde edilen hamurlar arasında yapılan karşılaştırmada glutenli ekşi mayalı hamurdaki total laktik asit bakterisi sayısının diğer hamurlara göre daha yüksek olduğu bulunmuş ve ‘Glutenli Normal Mayalı Hamur’ < ‘Glutensiz Normal Mayalı Hamur’ < ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur’ < ‘Glutenli Ekşi Mayalı Hamur’ şeklinde bir sıralama elde edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.3). Bu durum son derece olağandır. Bu çalışmayla benzer şekilde glutenli undan laktik asit bakterileri inokulasyonu ile ekşi maya üretimi yapılan bir çalışmada laktik asit bakterileri sayımında 8×10^8 kob/g değerine ulaşılmıştır [112]. Glutensiz undan ekşi maya üretiminin yapıldığı bir çalışmada ise 4 farklı ülkeden 5 farklı un ile çalışılmış ve laktik asit bakteri sayısı değerlerinin $2,8-5,6 \times 10^9$ kob/g arasında değiştiği gözlenmiştir [130]. İlgili çalışma sonuçları bu çalışmada elde edilen sonuçlardan daha yüksektir. Başka bir çalışmada ise ekşi mayadaki laktik asit bakterisi sayısı muadilleriyle karşılaştırıldığında her üç numunedeki değerler eşit (8,8 log kob/g) bulunmuştur [100]. Ekşi maya yapımında glutenli un kullanılan başka bir çalışmada elde edilen laktik asit bakteri sayısı sonuçlarına göre en fazla 9,2 log kob/g değerine ulaşılmış ve ekşi mayada kullanılan un türüne göre laktik asit bakterileri sayısının anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur [100]. Glutensiz un kullanılarak ekşi maya üretimi yapılan bir çalışmada 10^8 kob/g laktik asit bakterisi inokulasyonu sonrasında 12 saatlik mayalanma sonucunda laktik asit bakterisi sayısının 9,26 log kob/g değerine ulaştığı bildirilmiştir [104]. Yine glutensiz un kullanılarak ekşi maya üretiminin araştırıldığı başka bir çalışmada ekşi mayalardaki laktik asit bakteri sayısının en fazla 9,9 log kob/g değerine ulaştığı görülmüştür [131]. Tüm bu çalışmalarla karşılaştırıldığı zaman bu çalışmadaki sonuçlara göre glutenli ve glutensiz unlardan yapılan ekşi mayalarda daha yüksek değerlere ulaşıldığı görülmektedir.

Glutenli ve glutensiz ekşi mayalı hamurlarda total laktik asit bakteri sayısı glutenli ve glutensiz normal mayalı hamurlardan daha yüksek bulunmuştur (Bkz. Çizelge 4.3). Ekşi

mayaya fermantasyonu sürecinde mikrofloranın oluşmasında en baskın ve etkili tür laktik asit bakterileridir. Ekşi mayalı hamurlarda normal mayalı hamurlara göre daha yüksek değerde bulunması beklenen bir durumdur. Fujimoto ve diğerlerinin (2018) farklı un çeşitlerini kullanarak elde ettiği ekşi mayalarda laktik asit bakteri sayısı değerlerinin 10^{10} - 10^{11} kob/g'a ulaştığı şeklindeki sonuçlarla bu çalışmadan daha yüksek değerler elde etmişlerdir [132]. Ekşi maya üretiminde glutenli ve glutensiz unların karşılaştırıldığı bir çalışmada glutenli un kullanılan ekşi mayada laktik asit bakteri sayıları $8,8$ - $9,2 \times 10^7$ kob/g arasında değişirken, glutensiz un kullanılan ekşi mayada laktik asit bakteri sayısının $9,2$ - $9,9 \times 10^7$ kob/g arasında değişmekte olduğu görülmüştür [133]. Sonuçlar bu çalışmadan elde edilen sonuçlarla benzer bulunmuştur. Glutensiz undan ekşi maya üretimi yapılan başka bir çalışmada laktik asit bakteri sayısı değerlerinin $8,9$ - $10,0$ log kob/g arasında olduğu görülmüştür [134]. Ekşi maya üretiminde glutensiz unların kullanıldığı bir çalışmada laktik asit bakterileri sayımı sonucunda en düşük ve en yüksek değerler $7,00$ - $10,52$ log kob/g şeklinde olmuştur [135]. Glutensiz un ile ekşi maya üretiminin yapıldığı başka bir çalışmada laktik asit bakteri sayısı $9,5$ log kob/g şeklinde bulunmuştur [70]. Yine glutensiz un kullanılarak ekşi maya üretiminin yapıldığı başka bir çalışmada laktik asit bakteri sayısının $3,4$ log₁₀ kob/g değerinden $9,9$ log₁₀ kob/g değerine çıktığı görülmüştür [136]. Glutenli un ile ekşi maya yapımı sürecinin incelendiği bir çalışmada ise laktik asit bakterisi sayımı sonucunda bulunan değerlerin $9,0$ - $9,7$ log kob/g arasında olduğu bildirilmiştir [96]. Tüm bu çalışmalar bu çalışmadan elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında literatüre geçen çalışmaların bu çalışmaya göre daha yüksek laktik asit bakteri sayısına ulaştığı görülmektedir. Ayrıca ekşi maya üretiminin yapıldığı kaplarda izole edilen laktik asit bakterileri ile maya ve küflerin dominant tür olarak yerleştiği de gösterilmiştir [137]. Fermantasyon sürecindeki ortam koşulları mayalardaki laktik asit bakteri sayısı üzerinde oldukça önemli bir faktördür. Bu bağlamda elde edilen sonuçların farklılık göstermesi doğaldır.

Normal mayalı hamurlardaki total laktik asit bakteri sayısı değerlendirildiğinde her iki hamurda değerler birbirine yakın olmakla birlikte glutensiz normal mayalı hamurdaki total laktik asit bakteri sayısının glutenli normal mayalı hamurdaki total laktik asit bakteri sayısından daha yüksek olduğu görülmüştür (Bkz. Çizelge 4.3). Yine aynı şekilde glutensiz un ile ekşi maya üretiminin yapıldığı bir çalışmada 24 saatlik fermantasyon sonrası yapılan laktik asit bakterisi sayımında değerin 9 log kob/g olduğu görülmüştür [138]. Ayrıca yine yerel çalışmalarda ekşi mayalarda en fazla bulunan baskın türün laktik asit bakterileri

olduğu gösterilmiştir [139]. Bu çalışmadan farklı olarak starter kültür eklemesi yapılarak ekşi maya üretiminin yapıldığı bir çalışmada laktik asit bakteri sayımı sonuçlarına göre ekşi mayalarda $9,70 \times 10^8$ kob/g, normal mayalarda $3,82 \times 10^8$ kob/g değerleri elde edilmiştir [49]. Torrieri ve diğerlerinin (2014) starter kültür ile ekşi maya üretimi yaptıkları çalışmada en fazla $7,75 \times 10^7$ kob/g değerine ulaşılmıştır [33]. Aynı şekilde glutenli un ile ekşi maya üretimi yapılan laktik asit bakteri sayımı $5,8 \times 10^8$ - $8,4 \times 10^9$ kob/g değerleri arasında bulunmuştur [140]. Yine benzer şekilde Nutter ve diğerlerinin (2017) glutenli undan ekşi maya üretimi yaptıkları çalışmada ekşi mayalı hamurda laktik asit bakteri sayısı $11,4 \times 10^8$ kob/g iken, normal mayalı hamurda $10,7 \times 10^8$ kob/g olarak bulunmuştur [117]. Benzer şekilde glutensiz undan elde edilen ekşi mayada ise laktik asit bakterileri en fazla $9,73 \times 10^9$ kob/g değerine ulaşmıştır [141]. Tüm bu çalışmalar ile kıyaslandığında bu çalışmada laktik asit bakteri sayımı verilerinin daha düşük olduğu görülmektedir. Bununla birlikte başlangıç aşamasında hızlandırıcı etkili ürünler kullanılmasının da bu farkın oluşmasında etkisi vardır.

Literatüre geçen ekşi maya üretiminin gerçekleştiği diğer çalışmalar incelendiğinde glutensiz unla ekşi maya üretiminin yapıldığı bir çalışmada fermantasyon sonucundaki laktik asit bakterileri sayımında ortalama değerin 8,1 log kob/g olduğu görülmüştür [142]. Tek starter kültür ile hazırlanan ekşi mayalarda fermantasyon sonucunda laktik asit bakterilerinin ölçümünün yapıldığı bir çalışmada 24 saat sonunda 8,59 log kob/g değerine ulaşılmıştır [143]. Yine glutensiz ürün üretiminde ekşi maya fermantasyonu sonucunda mayalardaki laktik asit bakterisi sayısı 9,3-9,7 log kob/g aralığında bulunmuştur [70]. Benzer başka bir çalışmada glutensiz ekşi mayalı ekmek incelendiğinde fermantasyon sonucu laktik asit bakteri sayısının 9,7 log kob/g olduğu görülmüştür [144].

Elde edilen ekmekler arasında total laktik asit bakteri sayısı açısından bir değerlendirme yapıldığında ise glutenli ekşi mayalı ekmekteki total laktik asit bakteri sayısının diğer ekmeklere göre en düşük olduğu görülmüş, ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ < ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ < ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’ ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ şeklinde bir sıralama elde edilmiştir. Glutensiz undan elde edilen ekşi mayalı ve normal mayalı ekmeklerdeki total laktik asit bakteri sayısı glutenli undan elde edilen ekşi mayalı ve normal mayalı ekmeklere göre daha yüksek bulunmuştur (Bkz. Çizelge 4.4). Yine normal mayalı ekmeklerde total laktik asit bakteri sayısı ekşi mayalı ekmeklere göre daha yüksek bulunmuştur. Fermente ürünlerin barsak mikrobiyotası için olumlu etkilere

sahip olduğu ve bağırsaklarda probiyotik etki gösterdiği bilinmektedir, fakat fermentasyon süreci geçiren her ürün probiyotik olarak isimlendirilememekte ve bunlar için belirli kriterlere sahip olması gerekmektedir [146, 147]. Laktik asit fermentasyonu ile elde edilen ürünlerin ince bağırsağa ulaşarak burada etkinlik göstermesi için sahip olması gereken laktik asit bakteri düzeyi en az 10^6 kob/g olmalıdır [146, 148]. Yapılan çalışmalarda fermente ürünlerin içerdiği mikroorganizmaların asiditeye ve safraya dayanıklı olması, epitelyum yüzeyine yapışabilmesi, sindirim sisteminde kolonize olabilmesi, patojen bakterilere karşı antagonist etki göstermesi, antimikrobiyal maddeler üretebilmesi ve bağışıklık sistemini iyileştirmesi gibi özelliklere sahip olması ve bağırsaklara canlı halde ulaşması gerektiği bildirilmektedir [148]. Yapılan bir çalışmada pişirme faktörünün oluşturduğu kimyasal değişimlerin de ekmeğin içeriğini değiştirdiği gösterilmiştir [149]. Bu çalışmada ise hem ekşi mayalı hem normal mayalı ekmeklerde pişme sonucunda laktik asit bakteri sayısı belirtilen seviyelerde kalmamıştır ve probiyotik olarak ifade edilemez. Bununla birlikte laktik asit bakterilerinin ürettiği metabolitler ve diyet posası içeriği nedeniyle ekşi mayalı ekmekler prebiyotik olarak değerlendirilebilmektedir. Bu verilerden yola çıkarak pişme sürecinde oluşan kayıplar göz önüne alındığında total laktik asit bakteri sayısı açısından en büyük kayıp glutenli ekşi mayalı ekmekte görülürken, glutenli ve glutensiz normal mayalı ekmeklerde total laktik asit bakteri sayısının glutenli ve glutensiz ekşi mayalı ekmeklere göre korunma seviyesi daha yüksek olmuştur.

5.4. Total Maya ve Küf Sayımının Değerlendirilmesi

Ekşi maya elde edilmesinde göz önünde bulundurulması gereken değerlerden biri de total maya ve küf sayısıdır. Maya içerisindeki total maya ve küf sayısı hem laktik asit bakterileri ile ilişkili hem de maya mikroflorasının oluşmasında önemli bir faktör olarak bilinmektedir [88]. Ekşi maya mikroflorasında baskın olan türler laktik asit bakterilerinden sonra gelen organizmalar maya ve küflerdir. Bu nedenle mikroflora etkinliğinin değerlendirilmesinde üzerinde durulması gereken etmenlerdendir [150]. Çeşitli çalışmalarda total maya ve küf sayısı total laktik asit bakterileri ile birlikte değerlendirilmektedir [151-154]. Farklı laktik asit bakterisi suşlarının starter kültür olarak kullanıldığı bir çalışmada kontrol grubu olarak *Saccharomyces cerevisiae* ile normal maya hazırlanmış 12, 18 ve 24 saatlik fermentasyon süreleri ile yapılan karşılaştırma sonucu normal maya kullanılarak oluşturulan kontrol grubunda total maya ve küf sayısı en fazlayken bu değerin fermentasyon süresiyle doğru orantılı olarak değiştiği görülmüştür [94]. Tek starter kültür ile hazırlanan ekşi mayalarda

fermantasyon sonucunda maya ve küf sayımının yapıldığı bir çalışmada 24 saat sonunda 2,05 log kob/g değerine ulaşılmıştır [143]. Yerel bölgelere göre total maya ve küf sayısının ve çeşitliliğinin de değiştiği görülmüştür. İtalya’da 18 ayrı bölgeden alınan yerel ekşi mayaların mikroflore açısından karşılaştırıldığı bir çalışmada maya ve küf sayımı değerlerinin 4,9-7,6 log kob/g arasında değişiklik gösterdiği ve pH değerinin (5,01) yüksek olmasına karşın maya ve küflerin laktik asit bakterilerine göre beklenmedik şekilde baskın olduğu bulunmuştur [154]. Belçika’da farklı bölgelerde geleneksel yöntemle üretilen ekşi mayaların karşılaştırıldığı bir çalışmada 7 farklı bölgeden alınan 21 ekşi maya örneğinin ürünlerdeki laktik asit bakterileri:maya ve küf oranının 10:1-100:1 arasında değiştiği bildirilmiştir [153]. Fransa’da farklı yerel marketlerden alınan ekşi maya örneklerindeki maya ve küf mikrobiyotasının sonuç değerlerinin 4,7-7,6 log kob/g arasında değiştiği görülmüştür [152]. İran’da farklı ekşi mayaların incelendiği bir çalışmada ekşi mayalarda maya ve küf sayımı yapıldığında değerlerin 3,0-4,0 log kob/g arasında değiştiği ve ortalama değerin 3,75 log kob/g olduğu görülmüştür [66].

Bu çalışmada geleneksel yöntemle starter kültür eklenmeden glutenli ve glutensiz unlardan ekşi mayalar oluşturulmuş ve bu mayalardan elde edilen hamur ve ekmekler normal mayalardan elde edilen hamur ve ekmeklerle karşılaştırılmıştır. Total maya ve küf sayımı verileri incelendiğinde elde edilen hamurlar arasında yapılan karşılaştırmada glutensiz normal mayalı hamurdaki total maya ve küf sayısının diğer hamurlara göre daha yüksek olduğu bulunmuş ve ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur’ < ‘Glutenli Ekşi Mayalı Hamur’ < ‘Glutenli Normal Mayalı Hamur’ < ‘Glutensiz Normal Mayalı Hamur’ şeklinde bir sıralama elde edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.5). Bu durum son derece olağandır. Bu çalışmaya benzer şekilde karabuğday ve teff ununun ekşi maya yapımında kullanılabilirliğinin araştırıldığı bir çalışmada karabuğday ve teff unundan elde edilen ekşi mayalardan 12 saatlik aralıklarla beslenen teff unu kullanılan (7,3 log kob/g) ile karabuğday unu kullanılan (6,9 log kob/g) ekşi mayalar en yüksek değere sahip ve 24 saatlik aralıklarla beslenen teff unu kullanılan (6,0 log kob/g) ve 24 saatlik aralıklarla beslenen karabuğday unu kullanılan (<3 log kob/g) ekşi mayanın daha düşük değere sahip olduğu görülmüştür [131]. Glutensiz ekşi maya üretiminin yapıldığı bir çalışmada kinoa ve karabuğday unları eşit oranda kullanılmış ve fermentasyon sonucundaki maya ve küf sayımında 5 log kob/g sonucu elde edilmiştir [142]. Glutensiz ürün üretimi için bir çalışmada karabuğday ve teff unu ile ekşi maya oluşturulmuş karabuğday unu ile yapılan ekşi mayada $5,86 \times 10^3$ kob/g, teff unu ile yapılan ekşi mayada $7,50 \times 10^3$ kob/g olarak bulunmuştur [141]. Bu çalışmada

elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldığında daha yüksek değerlere ulaşıldığı görülmektedir. Fermantasyon süresinin ekşi mayanın fermantasyonu üzerindeki etkisin araştırıldığı bir çalışmada buğday unundan starter kültür olarak iki farklı miktarda normal maya eklenerek kombine ekşi maya üretiminin yapıldığı bir çalışmada ise 10. saat sonunda daha yüksek miktarda normal maya içeren hamurda total maya ve küf değeri daha yüksek bulunmuştur [129].

Glutenli ve glutensiz normal mayalı hamurlarda total maya ve küf sayısı glutenli ve glutensiz ekşi mayalı hamurlardan daha yüksek bulunmuştur (Bkz. Çizelge 4.5). Normal mayanın temel canlı organizması *Saccharomyces cerevisiae* türüdür. Bu nedenle fermantasyon sürecinde mikrofloranın oluşmasında normal mayalı hamurlarda bulunan baskın türün miktarının ekşi mayalı hamurlara göre daha yüksek değerde bulunması beklenen bir durumdur. Sonuçlarının bu çalışmaya göre daha yüksek miktarda olduğu bir çalışma olan Fujimoto ve diğerlerinin (2018) farklı un çeşitleri ile ekşi maya oluşturduğu çalışmada 5. gün sonunda değerlerin 10^6 - 10^7 kob/g'a ulaştığı görülmüştür [132]. Ekşi mayalı fermantasyonunda meyve eklenmesinin incelendiği bir çalışmada maya ve küf sayımı sonucu 7,62 log kob/g'a ulaşmıştır [145]. Aynı şekilde yürütülen başka bir çalışmada maya ve küf sayıları incelendiğinde sonuçlar 8,67 log kob/g'a ulaşmıştır [111]. Yine aynı şekilde yürütülen başka bir çalışmada ise total maya ve küf sayımında sonuçlar $1,0 \times 10^6$ - $8,7 \times 10^7$ kob/g değerleri arasında bulunmuş ve laktik asit bakterilerinin maya ve küflere oranı ise 100:1 olarak tespit edilmiştir [140]. Genel olarak incelendiğinde bu çalışmaya göre literatürdeki çalışmaların sonuçlarında daha yüksek sonuçlar göze çarpmaktadır, bununla birlikte total maya ve küf sayısının bölgelere göre değişkenlik gösterdiği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Normal mayalı hamurlardaki total maya ve küf sayısı değerlendirildiğinde glutensiz normal mayalı hamurdaki total maya ve küf sayısının glutenli normal mayalı hamurdaki total maya ve küf sayısından daha yüksek olduğu görülmüştür. Ekşi mayalı hamurlardaki total maya ve küf sayısı değerlendirildiğinde glutenli ekşi mayalı hamurdaki total maya ve küf sayısının glutensiz ekşi mayalı hamurdaki total maya ve küf sayısından daha yüksek olduğu görülmüştür (Bkz. Çizelge 4.5). Buğday unu ile elde edilen ekşi mayadan laktik asit bakterileri inokulasyonu ile glutensiz ekmek üretimini amaçlayan bir çalışmada ekşi maya örneklerinde yapılan maya ve küf sayımına göre buğday unu ile elde edilen mayada 8×10^7 kob/g değeri elde edilirken, laktik asit bakteri kültürlerinin suşları eklenerek

beslemeye devam edilen mayada 9×10^7 kob/g değerine ulaşılmış, starter kültür eklenmesinin maya ve küf sayısı üzerinde anlamlı bir etkisi olmamıştır [112]. Bu çalışmayla karşılaştırıldığında sonuçların daha yüksek olduğu görülmektedir. Ekşi maya yapımında glutenli unun kullanıldığı başka bir çalışmada yapılan total maya ve küf sayımında en fazla 8,7 log kob/g sonucuna ulaşılmış ve farklı un türlerinin ekşi mayadaki total maya ve küf sayısında anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur [100]. Ekşi maya üretiminde bir çalışmada maya ve küf sayımı değerlerinin en fazla 7,4 log kob/g sonucuna ulaştığı görülmüş ve yine farklı un türlerinin ekşi mayadaki total maya ve küf sayısında anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur [97]. Glutensiz ekşi maya üretiminde ekşi mayaların fermantasyonu sonucunda herhangi bir maya ve küf tanımlamasının yapılamadığı çalışma da bulunmaktadır [135]. Glutensiz ekşi maya yapımının araştırıldığı başka bir çalışmada ise maya ve küf sayımı değerlerinin 4,3-5,9 log kob/g arasında olduğu görülmüştür [134]. Elde edilen sonuçlar bu çalışma ile benzer değerlere sahiptir. Yine glutensiz un ile ekşi maya oluşturulan başka bir çalışmada ise maya ve küf sayımı sonucunda elde edilen değerlerin 7,26-7,42 kob/g şeklinde olmuş ve sonuçlar bu çalışmadan daha yüksek olduğu görülmüştür. [70]. Glutensiz undan ekşi maya üretimi yapılan bir çalışmada başlangıç sırasında maya sayısı 3,2 log₁₀ kob/g, 9 gün sonrasında ise 8,8 log₁₀ kob/g olarak bulunmuştur [136]. Aynı şekilde elde edilen son değerler bu çalışmada elde edilen değerlerden daha yüksek bulunmuştur.

Elde edilen ekmekler arasında total maya ve küf sayısı açısından bir değerlendirme yapıldığında ise glutensiz ekşi mayalı ekmekteki total maya ve küf sayısının diğer ekmeklere göre en düşük olduğu görülmüş ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’ < ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ < ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ = ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ şeklinde bir sıralama elde edilmiştir. Glutenli undan elde edilen ekşi mayalı ve normal mayalı ekmeklerdeki total maya ve küf sayısı eşit miktarda ve glutensiz undan elde edilen ekşi mayalı ve normal mayalı ekmeklere göre daha yüksek bulunmuştur (Bkz. Çizelge 4.6). Bu verilerden yola çıkarak pişme sürecinde oluşan kayıplar göz önüne alındığında total maya ve küf sayısı açısından en büyük kayıp glutensiz normal mayalı ekmekte görülürken, glutenli ve glutensiz ekşi mayalı ekmeklerde total maya ve küf sayısının glutenli ve glutensiz normal mayalı ekmeklere göre korunma seviyesi daha yüksek olmuştur. Aynı durum total laktik asit bakteri sayımı verileri incelendiğinde de göze çarpmaktadır. Her iki organizma sınıfında da hamur formunda daha yüksek miktarda

bulunan mikroflora etmenlerinde pişme süreciyle ekmek formuna geçişte kaybın daha yüksek oranda olduğu görülmüştür.

5.4. Genel Görünüş ve Özelliklerin Değerlendirilmesi

Ekmeklerin genel görünüş ve bazı duyuşal özellikleri ilk değerlendirmede önem taşımaktadır. Tüketici tarafından kabul edilebilirlik çeşitli kriterlere göre sağlanmaktadır. Ekmeğin kabul edilebilirliğinde ekmeğin görünüşü, dokusu ve diğer kalite karakteristikleri önemli faktörlerdir. Ekmekte kabarma ile meydana gelen hacim bu değerlendirmede önemli kriterlerden biridir [90, 91].

Fermantasyon sonucu oluşan gaz ile kabarma sağlanması istenilen özelliklerdendir [90]. Bu çalışmada elde edilen ekmeklerin boyları glutenli undan yapılan ekşi ve normal mayalı ekmeklerde 6,5 cm, glutensiz ekşi mayalı ekmekte 7 cm, glutensiz normal mayalı ekmekte ise 7,5 cm; ağırlıkları ekşi mayalı ekmeklerde 75 gram, normal mayalı ekmeklerde 80 gram olarak ölçülmüştür (Bkz. Çizelge 4.7). Ekşi mayanın glutensiz ekmek üzerindeki etkilerinin normal maya ile karşılaştırıldığı bir çalışmada ekşi maya kullanılan ekmeklerde ağırlık ortalaması 133 gram, normal mayalı ekmekte 135 gram olarak bulunmuştur. Ekmeklerin boylarının ise 3,9-6,0 cm arasında olduğu tespit edilmiştir [92]. Ekşi maya ve normal maya ile mayalanmaya tabi tutulan belirli oranlarda tam buğday ve yulaf unu karışımı ile oluşturulan ekmeklerin spesifik hacimleri karşılaştırıldığında bu çalışmaya benzer şekilde normal mayalanan ekmeklerde ekşi maya yolu ile mayalanan ekmeklere göre %10-15 daha yüksek spesifik hacim elde edilmiştir. Bu ekmeklerin boyları karşılaştırıldığında ise normal mayalanan ekmekte ölçülen en yüksek boy 63 mm iken ekşi maya yolu ile mayalanan ekmeklerde ölçülen boy ortalaması 53 mm olmuştur [93]. Starter kültür kullanılarak yürütülen başka bir çalışmada bu çalışmadan farklı olarak en yüksek hacim normal mayalı ekmekte görülmüş ve fermantasyon süresinin uzamasının hacim artışı ile doğru orantılı olduğu bulunmuştur [94]. Bu çalışmada glutenli ve glutensiz ekşi mayalı ekmekler için oluşturulan hamurlarda ekşi maya %40 oranında kullanılmış ve 10 gün boyunca 12 ve 24 saatlik aralıklarla kontrol edilerek besleme yapılmıştır. Uzun süreli fermantasyonun toksik peptidlerin hidrolizi ve insanlardaki tahıl intoleransı üzerinde olumlu etkilerinin olduğu fakat fırıncılık endüstrisinde tek başına ekşi mayanın kullanımının beklenen kaliteyi sağlayamadığı belirtilmektedir [15]. Ekmek yapımında kullanılan ekşi mayanın konsantrasyonu da oldukça önemlidir. Hamurda kullanılan ekşi

mayanın 1/3 oranında olmasının ekmeğin bayatlaması üzerine koruyucu etki gösterdiği [33], bekleme süresinin uzamasıyla hacimde artış olduğu bildirilmektedir [95].

Glutensiz ürün üretimi amacıyla farklı unların ürün kalitesine etkisinin araştırıldığı ekşi ve normal maya kullanılarak hazırlanan ekmek kalitesinin incelendiği çalışmalarda buğday unu ve normal maya kullanımının hacim üzerinde bu çalışmadan farklı olarak daha olumlu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [96, 97]. Bu çalışmaya benzer sonuçların yer aldığı başka bir çalışmada glutensiz normal mayalı ekmeğin glutensiz ekşi mayalı ekmeğe göre daha yüksek hacme sahip olduğu görülmüştür [98]. Un türlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise bu çalışmadan farklı olarak glutenli ekmeklerin glutensiz ekmeklere göre %6 daha yüksek spesifik hacme sahip olduğu görülmüştür [99]. Glutenli unlar kullanılarak hazırlanan bir çalışmada da ekşi mayalardan yapılan ekmekler karşılaştırıldığında kabarma oranı en yüksek olan ekmeğin buğday unu kullanılarak yapılan ekmek olduğu görülmüştür [100]. Bu çalışmada da elde edilen glutenli ekmeklerin yapımında buğday unu kullanılmıştır ve ekmeklerin yapımında kullanılan unun ekmekteki hacim özellikleri ve doku yapısı üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmaya benzer fermantasyon prosedürü uygulayan bir çalışmada benzer şekilde ekşi mayalardan yapılan ekmekler diğer ekmeklerle karşılaştırıldığında hacimleri arasında anlamlı farklılık görülmüş ve ekşi mayalı ekmeklerin daha yüksek hacme sahip olduğu belirtilmiştir [66]. Glutensiz ekmek yapımında yine posa miktarının artmasının hacim üzerinde olumlu etkilere sahip olabileceği bildirilmiştir [101, 102].

Ekmeğin görsel değerlendirmesinde kabuk rengi ve iç rengi önemli değerlendirme kriterleri arasında yer alır [90]. Bu çalışmada elde edilen ekmeklerde glutenli ekşi mayalı ekmeğin diğer ekmeklere göre daha koyu kabuk ve iç rengine sahip olduğu görülmüştür (Bkz. Çizelge 4.7). Glutensiz ekşi mayalı ekmek üretimine yönelik yapılan bir çalışmada karabuğday, kinoa ve sorghum unları kullanılarak yapılan ekmekler buğday unu kullanılarak yapılan ekmeklerle karşılaştırılmış ve pişme sonucunda en parlak iç renginin buğday unu kullanılarak yapılan ekmek, en koyu iç rengin ise karabuğday unu kullanılarak yapılan ekmekte olduğu görülmüştür. [103]. Benzer olarak bu çalışmada ekşi mayanın son üründe renk özellikleri üzerindeki koyulaştırıcı etkisi görülmüştür. Glutensiz ekmeklerde kabuk ve iç renklerin kullanılan maya türünden bağımsız olarak daha soluk ve olumsuz görünüşte olduğu belirlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.1). Glutensiz ürünlerin üretiminde karşılaşılan sorunlar arasında renk yapısının daha açık ve soluk olduğu yapılan diğer

çalışmalarda da belirtilmektedir [90, 104]. Bu bakımdan elde edilen veriler literatürle benzerdir.

Ekmeğın dokusal yapı özellikleri ele alındığında gözenek yapısının homojen dağılması ve kabarması, basık ve hamurumsu bir yapıda olmaması istenir. Glutensiz ekmek yapımında karşılaşılan en büyük sorunlardan biri ekmek yapısının istenilen viskoelastik yapıya ulaşamaması nedeniyle ekmeğın dokusunun basık yapıda ve gözeneklerinin homojen bir şekilde dağılmamasıdır [90]. Bunun yanında glutensiz ekmek üretiminde ekşi maya kullanılması ekmekteki doku yapısını geliştirdiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur [105]. Bu çalışmada ise ekşi maya kullanılan ekmeklerde gözenek yapısının istenilen düzeyde olmadığı ve ekmek yapısında homojenliğin sağlanmadığı görülmüştür (Bkz. Çizelge 4.7). Ayrıca kabuk yapısı ve iç yapısının çok sert olmaması, kolay dağılmaması ve hemen parçalanmaması yine son üründe aranan özelliklerdendir, fakat yine glutensiz ekmek üretiminde en fazla karşılaşılan sorunlardan biri kabuk ve iç yapısının istenilen kalitede olmaması ve kolayca dağılmasıdır [106].

Bu çalışmadan elde edilen glutenli ve glutensiz ekşi mayalı ekmeklerin kabuk ve iç yapısı normal mayalı ekmeklere göre çalışmalar ile benzer şekilde daha olumsuz bir sonuç vermiştir (Bkz. Çizelge 4.7). Laktik asit bakterileri ekşi mayada bulunan temel mikrobiyolojik etmenlerdir [49, 54], fakat ortam koşullarından etkilenmeye oldukça müsait ve hassas yapıdadırlar [15, 54, 60]. Bu çalışmada geleneksel yöntemle starter kültür kullanılmadan elde edilen ekşi mayalı ekmeklerin fermantasyon sürecinde yeterince olgunlaşmamasının son ürün kalitesi üzerinde istenilen düzeyde etki sağlanmamasına yol açtığı düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada da daha yüksek spesifik hacim daha yumuşak ekmek dokusu ile ilişkilendirilmiştir [50].

Ekmekte koku tüketici tercihinde oldukça etkili özelliklerdendir. Ekşi maya içerisindeki laktik asit bakterilerinin fermantasyon sürecinde oluşturduğu metabolitler ekşi mayanın daha ekşi ve karakteristik kokuya sahip olmasında önemli bir role sahiptir ve fermantasyon süresi ile doğru orantılı olarak artan metabolitler son üründe koku özelliğini etkilemektedir. Bu nedenle yapılan birçok çalışmada [107-110] olduğu gibi bu çalışmada da ekşi mayalı ekmeklerde normal mayalı ekmeklere göre daha keskin ve ekşi bir koku oluştuğu gözlenmiştir (Bkz. Çizelge 4.7).

Ayrıca glutenli ve glutensiz ekşi mayaların fermantasyon süresi boyunca gösterdikleri gelişmeler göz önüne alındığında glutensiz ekşi mayanın oldukça iyi bir olgunlaşma performansına sahip olduğu gözlenmiş, glutenli ekşi mayada ise gelişme aynı performansta olmamıştır (Bkz. Ek-3, Ek-4). Bununla birlikte hamura olan etkileri ve kendilerinden elde edilen son ürünler incelendiğinde normal mayalara göre her iki ekşi mayanın etkinliği daha düşük seviyede kalırken, ekşi mayalar kendi aralarında son üründe gösterdikleri performans açısından kıyaslandığında glutensiz ekşi maya fermantasyon sürecindeki etkinliğini koruyamamış ve glutenli ekşi mayaya göre daha düşük seviyede kalmıştır. Bunun nedeninin mayada kullanılan undan kaynaklandığı glutensiz unun ekmek kalitesinde istenilen performansı sağlayamadığı Bu çalışmada da ekşi maya fermantasyonunun ham madde sağlayıcısı olarak glutensiz un kullanıldığında istenilen verimin alınamadığı görülmüştür.

5.5. Duyusal Değerlendirme Analizinin Değerlendirilmesi

Duyusal değerlendirme analizi ürünün tüketilebilirliğinin değerlendirilmesi açısından önemli bir kriterdir. Ürünün tüketici tarafından kabul edilebilirliği tüketici ile buluşturulmadan anlaşılamaz. Bu nedenle duyusal değerlendirmede görme, koklama, dokunma ve tatma duyularına hitap eden duyusal değerlendirme araçları panelistler aracılığı ile sorgulanarak ürünün kabul edilebilirliği hakkında fikir sahibi olunabilmektedir [155, 156].

Bu çalışmada elde edilen ekmekler üzerinde duyusal değerlendirme yapılmıştır. Çalışmaya yaş ortalaması $21,71 \pm 1,105$ yıl olan 80 birey katılmıştır ve bu bireylerin 66'sı kadın (%82,5), 14'ü erkektir (%17,5). Seferoğlu (2012), çalışmasında ürettiği ekmekler üzerinde gerçekleştirdiği duyusal değerlendirmeye 52 kişiyi dahil etmiştir, değerlendirmeye katılan bireylerin %59,5'i kadın, %40,5'i erkektir. Yapılan bazı çalışmalarda üretilen ekmeğin duyusal değerlendirme analizinin gerçekleştirilmesinde araştırmacılar 10 panelist ile çalışmışlardır [95, 114]. Duyusal değerlendirme testleri katılımcı grubun panel hakkındaki eğitim düzeyine göre çeşitli değerlendirme sınıflarına ayrılır. Önceden eğitilmiş panelistlerle yapılan çalışmalarda 5-20 bireyin katılımı yeterli olurken önceden eğitilmemiş panelistler ile yapılacak çalışmalarda 50-100 bireyin katılımı gerekmektedir [157]. Bu çalışmada değerlendirmeye katılan panelistler önceden eğitilmemiştir. Bu nedenle 80

kişilik panelist grubu ile çalışılması uygun görülmüştür. Bireylerin cinsiyetinin duysal değerlendirme sonuçları üzerinde etkisi olduğu düşünülmemektedir.

On kişilik panelist gruplarıyla gerçekleştirilen çalışmalarda genel olarak 5 kadın, 5 erkek birey ile çalışılmıştır [94, 158]. Bu çalışmada bireylerin 66'sı kadın (%82,5), 14'ü erkektir (%17,5). Çalışmaya katılan bireylerin yaş ortalamasının 18'in üzerinde olması tat duyularının daha fazla oturması dolayısıyla sonuçların güvenilirliği ile ilgili fikir verebilmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen ekmekler genel görünüm, hacim, kabuk rengi, iç rengi, gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterleri bakımından birbirleri ile kıyaslanmıştır.

Glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutenli normal mayalı ekmek arasında genel görünüm, hacim, iç rengi, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$). Glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutensiz ekşi mayalı ekmek arasında genel görünüm, hacim, kabuk rengi, iç rengi, gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik, ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$). Glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasında genel görünüm, hacim, kabuk rengi, iç rengi, koku, lezzet ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$). Glutenli normal mayalı ekmek ile glutensiz ekşi mayalı ekmek arasında hacim, kabuk rengi, iç rengi, gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$). Glutenli normal mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasında genel görünüm, kabuk rengi, gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$). Glutensiz ekşi mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasında genel görünüm, hacim, kabuk rengi, iç rengi, gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$) (Bkz. Çizelge 4.9).

İlgili çalışmalar ile bu çalışmada bulunan sonuçlar karşılaştırıldığında bu çalışmayla benzer olarak Rizzello ve diğerlerinin (2014) buğday unu kullanarak hazırlanan ekşi mayada gluten degradasyonunu incelendikleri 10 panelist ile gerçekleştirilen bir çalışmada buğday unu ile hazırlanan ekşi mayalı ekmek ile buğday unu ile hazırlanan kontrol grubu ekmeğinin değerlendirme sonucuna göre kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ekşi mayalı

ekmeğin asidik tat ve aroma, tuzluluk ve tat özellikleri açısından daha yüksek skora sahip olduğu bildirilmiş, kabuk ve iç rengi özellikleri açısından ise anlamlı düzeyde yüksek skora sahip olduğu görülmüştür [114]. Aynı şekilde Mantzourani ve diğerlerinin (2019) 25 kişi ile gerçekleştirdikleri duyuşal değerlendirme analizinde ekşi mayalı ekmeğin aroma, tat, hacim, doku ve renk özellikleri bakımından muadillerine göre anlamlı yüksek skor elde edildiği görülmüştür [89]. Bu çalışmaya benzer olarak glutensiz ürün üretiminde kinoa ununun kullanıldığı 10 panelist ile gerçekleştirilen değerlendirmede elastisite, kabuk ve iç rengi, asidik tat ve aroma, tuzluluk, tatlılık, kuruluk ve genel tat kriterleri bakımından sonuçlar incelendiğinde kinoa unundan ekşi maya ile yapılan ekmek ile normal maya ile yapılan ekmek karşılaştırıldığında da ekşi mayalı ekmeğin kabuk rengi, asidik tat ve düşük tatlılık değeri açısından anlamlı farklılık gösterdiği, ayrıca tüm ekmekler arasında en yüksek tuzlu tat değerine sahip olduğu belirtilmiştir [158]. Bununla birlikte 10 önceden eğitilmemiş panelist ile gerçekleştirilen duyuşal değerlendirme analizi sonucunda kabuk için renk, koku, tat, çiğnenebilirlik; iç kısım için renk, koku, tat, çiğnenebilirlik, ufalanabilirlik ve ekmek için genel görüş kriterleri için en yüksek ekşi maya konsantrasyonuna ve en uzun fermantasyon süresine sahip olan ekşi mayalı ekmekte en düşük skorlar elde edilmiş ve uzun fermantasyon süresi ve yüksek oranda ekşi maya eklenmesinin ekmek üzerinde istenilen kalite özelliklerini oluşturmadiğı sonucuna varılmıştır [95].

Starter kültür kullanılarak bu çalışmaya benzer şekilde yürütölen bir çalışmada 10 kişilik panelist grubu ile hacim, kabuk rengi, iç rengi, doku, tat, aroma ve ufalanabilirlik kriterleri açısından duyuşal değerlendirme analizi sonuçlarına göre ekşi mayalı ekmeğin kabuk rengi, tat, aroma ve doku özellikleri bakımından daha yüksek skora sahip olduğu, normal mayalı ekmeğin ise en yüksek hacim skoruna sahip olduğu belirtilmiştir [94]. Glutensiz ürün üretiminde yine bu çalışmaya benzer olarak yürütölen 10 günlük besleme ile geleneksel yöntemle ekşi maya elde edilen bir çalışmada üretilen ekmekler kullanılmış duyuşal değerlendirme analizinde elastikiyet, kabuk rengi, iç rengi, asidik tat, asidik aroma, tatlılık, tuzluluk, kuruluk ve genel tat izlenimi kriterlerinin değerlendirmesi sonucunda tatlılık kriterinin normal maya ile hazırlanan ekmekte diğer ekmeklere göre daha yüksek skora sahip olduğu fakat kalan kriterler için ekşi mayalı ekmeklerin daha iyi genel tat izlenimi oluşturdudęu bildirilmiştir [70]. Bu çalışmada ise normal mayalı ekmeklerde elde edilen skorlar ekşi mayalı ekmeklere göre daha yüksek olmuştur. Yine aynı şekilde bu çalışmaya göre farklı sonuçların elde edildiği başka bir çalışmada elastisite,

kabuk rengi, iç rengi, tat, koku ve kuruluk kriterleri açısından ekşi mayalı ekmekler normal mayalı ekmeklere göre panelistler tarafından tüketime daha uygun ve kabul edilebilir bulunmuştur [136]. Normal maya ile farklı unların kullanıldığı bir çalışmada renk, koku, lezzet, gözeneklilik ve genel beğeni özellikleri bakımından buğday unu kullanılan ekmeklerde beğeni düzeyi daha düşük seviyede kalmıştır [96]. Ekşi mayanın ekmek üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada bu çalışmayla benzer şekilde ekşi maya kullanımı asidik tat ve aroma, tuzluluk ve tat parametrelerinde anlamlı farklılığa neden olmuştur [119]. Bu çalışmadan farklı olarak buğday ununun %30 oranında gluten içermeyen yulaf, darı ve karabuğday unlarıyla karıştırılarak ekşi maya ile ekmek üretiminde kullanıldığı bir çalışmada 17 çölyak hastası birey üzerinde normal maya ve ekşi maya ile yapılan ekmeklerin tüketiminin karşılaştırılması sonucu elde edilen verilerde 13 hastanın normal maya ile üretilen ekmek tüketimi sonrasında intestinal permeabilitelerinde bozulma görülürken; ekşi maya ile üretilen ekmek tüketimi sonrasında bazal değerlerde anlamlı bir değişiklik görülmediği tespit edilmiş, 4 hastada ise her iki çeşit ekmek tüketiminde bir yanıt gözlenmemiştir [5]. Ekşi maya kullanımının ekmekler arasında genel beğeni puanlaması açısından normal mayaya göre anlamlı bir fark bulunamayan çalışma da mevcuttur [97].

Bu çalışmada tüm ekmekler panelistler tarafından iki kez değerlendirmeye alınmıştır. Bu noktada panelistler hangi ekmeği ne zaman denediklerinden habersiz olarak değerlendirmelerini gerçekleştirmişler ve değerlendirmesi yapılan ekmeklerin hangi türde olduğu yalnızca araştırmacı tarafından bilinerek ekmeklerin dağıtımı sağlanmıştır. Buna göre değerlendirmeye alınan tüm ekmekler için ilk ve son değerlendirme sonuçları birbirleri ile kıyaslanmıştır.

Glutenli ekşi mayalı ekmeğin ilk ve son değerlendirmesine ait sonuçlar birbirleri ile karşılaştırıldığında gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterlerinde anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$) (Bkz. Çizelge 4.10).

Glutenli normal mayalı ekmeğin ilk ve son değerlendirmesine ait sonuçlar birbirleri ile karşılaştırıldığında genel görünüm, kabuk rengi ve lezzet kriterlerinde anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$) (Bkz. Çizelge 4.11).

Glutensiz ekşi mayalı ekmeğin ilk ve son değerlendirmesine ait sonuçlar birbirleri ile karşılaştırıldığında aroma kriterinde anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$) (Bkz. Çizelge 4.12).

Glutensiz normal mayalı ekmeğin ilk ve son değerlendirmesine ait sonuçlar birbirleri ile karşılaştırıldığında kabuk rengi, koku, lezzet, aroma ve ağız hissi kriterlerinde anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$) (Bkz. Çizelge 4.13).

Ekmekler üzerinde yapılan ilk ve son değerlendirme sonuçlarında anlamlı farklılık tüm kriterler için son değerlendirmede daha yüksek sonuç çıktığı yönündedir. Bu durumun ilk değerlendirmede bilinen ekmek tadından farklı bir ürünle karşılaşmanın bireylerde yarattığı algının kendilerini daha kötü bir değerlendirmeye ittiği yönünde olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte ilk denemeler ile değerlendirilen ekmek tadının benimsenmesinin son değerlendirme sonuçları üzerinde olumlu etki yarattığı ve daha yüksek sonuç alındığı düşünülmektedir. Bu durumda ilk değerlendirmelerin hazırlık aşaması son değerlendirmelerin ise asıl değerlendirme olduğu ve sonuçları daha güvenilir kıldığı yönünde bir yorum yapılabilir. Literatürde ekşi mayalı ekmeklerle ilgili yapılan duyuşal değerlendirme çalışmaları arasında daha önce ilk ve son değerlendirmenin yapıldığı panelist çalışmalarına rastlanmamıştır. Bu bağlamda duyuşal değerlendirme çalışmalarının güvenilirliğinin artırılması adına çalışmamızın yol gösterici olabileceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada glutenli ve glutensiz unlar kullanılarak geleneksel yöntemle hazırlanan ekşi mayalarda ve mayalardan elde edilen hamurlarda fermantasyon sürecindeki, hamurlardan elde edilen ekmeklerde ise pişme sürecindeki gliadin düzeyindeki değişimi değerlendirmiştir. Hazırlanan mayalardan elde edilen hamurlar ile bu hamurlardan yapılan ekmeklerde ise total laktik asit bakteri miktarı ile total maya ve küf miktarını incelemiş ve hazırlanan mayalardan elde edilen ekmeklerin duysal değerlendirmesi yapılmıştır. Elde edilen maya hamur ve ekmekler glutenli ve glutensiz olarak ayrıca ekşi mayalı ve normal mayalı olarak iki gruba ayrılarak karşılaştırmalar yapılmış ve ortaya çıkan sonuçlar değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

- Çalışmada elde edilen ekmeklerin boyları ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ = ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ < ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’ < ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ şeklinde olmuştur.
- Çalışmada elde edilen ekmeklerin ağırlıkları ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ = ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’ < ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ = ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ şeklinde olmuştur.
- Çalışmada elde edilen ekmekler arasında ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ diğer üç ekmeğe göre daha koyu kabuk ve iç rengine sahiptir.
- ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’ ve ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ kabuk rengi ve iç rengi bakımından kullanılan maya türünden bağımsız olarak daha soluk bir görünüştedir.
- ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ ve ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’ gözenek yapısı bakımından ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ ve ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ çeşitlerine göre daha basık ve homojen olmayan bir yapıya sahiptir.
- ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ ve ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’ kabuk yapısı ve iç yapısı bakımından ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ ve ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ çeşitlerine göre daha sert bir yapıya sahiptir.

- ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ ve ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’ koku özellikleri bakımından ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ ve ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ çeşitlerine göre daha ekşi kokuya sahiptir.
- Çalışmada ‘Glutenli Ekşi Mayalı Hamur’ ve ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur’ üzerinde ELISA testi ile gerçekleştirilen gliadin analizi sonucunda her iki örnekte gliadin miktarı arasında fark bulunamamıştır.
- Çalışmada HPLC ile yapılan gliadin analizi verilerine göre elde edilen mayalar arasında yapılan karşılaştırmada ‘Glutenli Ekşi Maya’daki gliadin miktarı ‘Glutensiz Ekşi Maya’daki gliadin miktarından daha yüksek bulunmuştur.
- Çalışmada HPLC ile yapılan gliadin analizi verilerine göre elde edilen hamurlar arasında yapılan karşılaştırmada gliadin miktarları ‘Glutenli Ekşi Mayalı Hamur’ < ‘Glutensiz Normal Mayalı Hamur’ < ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur’ < ‘Glutenli Normal Mayalı Hamur’ şeklinde olmuştur.
- Çalışmada HPLC ile yapılan gliadin analizi verilerine göre elde edilen ekmekler arasında yapılan karşılaştırmada gliadin miktarları ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ < ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ < ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ < ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’ şeklinde olmuştur.
- Çalışmada HPLC ile yapılan gliadin analizi verilerine göre elde edildikleri hamurlara göre pişirme sonrası ekmeklerde gliadin miktarının azalma düzeyleri karşılaştırıldığında ‘Glutensiz Normal Mayalı Ekmek’ < ‘Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek’ < ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek’ < ‘Glutenli Normal Mayalı Ekmek’ şeklinde sıralama elde edilmiştir.
- Çalışmada yapılan total laktik asit bakteri sayımı verilerine göre elde edilen hamurlar arasında yapılan karşılaştırmada total laktik asit bakteri sayısı ‘Glutenli Normal Mayalı Hamur’ < ‘Glutensiz Normal Mayalı Hamur’ < ‘Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur’ < ‘Glutenli Ekşi Mayalı Hamur’ şeklinde olmuştur.
- Çalışmada yapılan total laktik asit bakteri sayımı verilerine göre elde edilen ekmekler arasında yapılan karşılaştırmada total laktik asit bakteri sayısı ‘Glutenli Ekşi Mayalı

Ekmek' < 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' < 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek' < 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' şeklinde olmuştur.

- Pişme süreci ile total laktik asit bakteri sayısı açısından oluşan kayıplar incelendiğinde 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' < 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' < 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek' < 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek' şeklinde sıralama elde edilmiştir.
- Çalışmada yapılan total maya ve küf sayımı verilerine göre elde edilen hamurlar arasında yapılan karşılaştırmada total maya ve küf sayısı 'Glutensiz Ekşi Mayalı Hamur' < 'Glutenli Ekşi Mayalı Hamur' < 'Glutenli Normal Mayalı Hamur' < 'Glutensiz Normal Mayalı Hamur' şeklinde olmuştur.
- Çalışmada yapılan total maya ve küf sayımı verilerine göre elde edilen ekmekler arasında yapılan karşılaştırmada total maya ve küf sayısı 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek' < 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' < 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek' = 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' şeklinde olmuştur.
- Pişme süreci ile total maya ve küf sayısı açısından oluşan kayıplar incelendiğinde 'Glutensiz Ekşi Mayalı Ekmek' < 'Glutenli Ekşi Mayalı Ekmek' < 'Glutenli Normal Mayalı Ekmek' < 'Glutensiz Normal Mayalı Ekmek' şeklinde sıralama elde edilmiştir.
- Çalışmada elde edilen ekmekler üzerinde 80 birey ile gerçekleştirilen duyuşal değerlendirme analizinde katılımcıların yaş ortalaması $1,71 \pm 1,105$ (20-26) yıl, katılımcıların 66'sı kadın (%82,5), 14'ü erkektir (%17,5).
- Glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutenli normal mayalı ekmek arasındaki duyuşal değerlendirme analizinde genel görünüm, hacim, iç rengi, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$).
- Glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutensiz ekşi mayalı ekmek arasındaki duyuşal değerlendirme analizinde genel görünüm, hacim, kabuk rengi, iç rengi, gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik, ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0,05$).

- Glutenli ekşi mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasındaki duyuşal değerdendirme analizinde genel görünüm, hacim, kabuk rengi, iç rengi, koku, lezzet ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$).
- Glutenli normal mayalı ekmek ile glutensiz ekşi mayalı ekmek arasındaki duyuşal değerdendirme analizinde hacim, kabuk rengi, iç rengi, gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$).
- Glutenli normal mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasındaki duyuşal değerdendirme analizinde genel görünüm, kabuk rengi, gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$).
- Glutensiz ekşi mayalı ekmek ile glutensiz normal mayalı ekmek arasındaki duyuşal değerdendirme analizinde genel görünüm, hacim, kabuk rengi, iç rengi, gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterleri açısından anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$).
- Glutenli ekşi mayalı ekmeğın ilk ve son duyuşal değerdendirmelerine ait sonuçlar birbirleri ile karşılaştırıldığında gözeneklilik, koku, lezzet, aroma, sertlik ve ağız hissi kriterlerinde anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$).
- Glutenli normal mayalı ekmeğın ilk ve son duyuşal değerdendirmelerine ait sonuçlar birbirleri ile karşılaştırıldığında genel görünüm, kabuk rengi ve lezzet kriterlerinde anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$).
- Glutensiz ekşi mayalı ekmeğın ilk ve son duyuşal değerdendirmelerine ait sonuçlar birbirleri ile karşılaştırıldığında aroma kriterinde anlamlı fark bulunmuştur ($p<0,05$).
- Glutensiz normal mayalı ekmeğın ilk ve son duyuşal değerdendirmelerine ait sonuçlar birbirleri ile karşılaştırıldığında kabuk rengi, koku, lezzet, aroma ve ağız hissi kriterlerinde anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$).

Gluten proteini tahıl bazlı ürün üretiminde oldukça önemli bir yere sahiptir, fakat gluten ile ilişkili hastalıklar günümüzde yaygınlaşmaya başlayan sağlık problemleri arasındadır.

Sağlıklı beslenmenin sürdürülmesi, gluten ile ilişkili hastalıkların insidansının azaltılması ve hastalık sürecinde de beslenmeden kaynaklı olumsuz etkilerin azaltılması amacıyla doğal ve geleneksel beslenmenin etkileri ve önemi araştırılmaya devam etmektedir. Bu bağlamda ekşi mayanın geleneksel ekmek yapımında birçok pozitif etkisi söz konusudur.

Gluten proteinlerinin parçalanmasında fermentasyonun etkili olduğu çalışmamızda gösterilmiştir, fakat kontrol grubunun referans standartlarla belirlendiği daha ileri çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır. Bu çalışmada herhangi bir starter kültür eklemesi yapılmadan üretilen ekşi mayaların diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında aynı seviyede laktik asit bakterisi üremesi gözlemlendiği, maya ve küf üremesi bakımından karşılaştırılan sonuçların altında fakat yaklaşık değerde olduğu söylenebilmektedir.

Üretilen ürünlerin tüketilebilirliğinin değerlendirilmesinde duyuşal değerlendirme analizleri oldukça önemli yer kaplamaktadır. Çalışmamızda üretilen ekmekler üzerinde yapılan duyuşal değerlendirme analizi katılımcı sayısının daha önce yapılan çalışmalara göre daha yüksek olması ile bu konuda öncü niteliği taşımaktadır. Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında glutenli ekşi mayalı ekmeğin tüketiminde olumlu sonuçlar elde edilmiştir, yine de gluten ile ilişkili hastalıklarda tüketimine ilişkin bu çalışmada elde edilen sonuçları destekleyici çalışmalara ihtiyaç vardır.

Glutensiz ürün tüketmek durumunda olan bireyler için diyetisyenlerin güvenilir ve geleneksel olarak hazırlanmış ekşi mayalardan üretilen ekmeklerin tüketiminin desteklenmesinin bu grup için bir alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Geleneksel yöntemle üretilen ekşi mayadan üretilen ekmeklerin bağırsak mikrobiyotasına etkisinin değerlendirilmesi ve gluten ile ilişkili hastalıklarda yeni ürün geliştirilmesi üzerine yapılacak diğer çalışmalar bu konudaki soruların cevaplanmasında aydınlatıcı olacaktır.



KAYNAKLAR

1. Van Herpen, T. W., Riley, M., Sparks, C., Jones, H. D., Gritsch, C., Dekking, E. H., Hamer, R. J., Bosch, D., Salentijn, E. M., Smulders, M. J., Shewry, P. R. and Gilissen, L. J. (2008). Detailed analysis of the expression of an alpha-gliadin promoter and the deposition of alpha-gliadin protein during wheat grain development. *Annual Botanic*, 102(3), 331-42.
2. Koehler, P., Wieser, H. and Konitzer, K. (2014). Gluten—The precipitating factor. In First (Eds.), *Celiac disease and gluten*. Oxford: Elsevier, 97-148.
3. El-Salhy, M., Hatlebakk, J. G., Gilja, O. H. and Hausken, T. (2015). The relation between celiac disease, nonceliac gluten sensitivity and irritable bowel syndrome. *Nutrition Journal*, 14, 92.
4. Shewry, P. R., Halford, N. G., Belton, P. S. and Tatham, A. S. (2002). The structure and properties of gluten: an elastic protein from wheat grain. *Philosophical Transactions Royal Society of London Series B: Biological Science*, 357(1418), 133-42.
5. Di Cagno, R., De Angelis, M., Auricchio, S., Greco, L., Clarke, C., De Vincenzi, M., Giovannini, C., D'Archivio, M., Landolfo, F., Parrilli, G., Minervini, F., Arendt, E. and Gobbetti, M. (2004). Sourdough bread made from wheat and nontoxic flours and started with selected lactobacilli is tolerated in celiac sprue patients. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(2), 1088-1096.
6. Picozzi, C., Mariotti, M., Cappa, C., Tedesco, B., Vigentini, I., Foschino, R. and Lucisano, M. (2016). Development of a type I gluten-free sourdough. *Letters Applied Microbiology*, 62(2), 119-25.
7. Koidis, A. (2016). 10 - Developing food products for consumers on a gluten-free diet. In S. Osborn and W. Morley (Eds.), *Developing Food Products for Consumers with Specific Dietary Needs*. Woodhead Publishing, pp. 201-214
8. Moroni, A. V., Dal Bello, F. and Arendt, E. K. (2009). Sourdough in gluten-free bread-making: an ancient technology to solve a novel issue? *Food Microbiology*, 26(7), 676-84.
9. Shewry, P. R. and Halford, N. G. (2002). Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *Journal of Experimental Botany*, 53(370), 947-958.
10. Wieser, H. (2007). Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24(2), 115-9.
11. Dziuba, M., Nałęcz, D., Szerszunowicz, I. and Waga, J. (2014). Proteomic analysis of wheat α /A-and β -gliadins. *Czech Journal of Food Sciences*, 32(5), 437-442.
12. Alvarez-Jubete, L., Auty, M., Arendt, E. K. and Gallagher, E. (2009). Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations. *European Food Research and Technology*, 230(3), 437-445.

13. Lexhaller, B., Tompos, C. and Scherf, K. A. (2017). Fundamental study on reactivities of gluten protein types from wheat, rye and barley with five sandwich ELISA test kits. *Food Chemistry*, 237, 320-330.
14. Greco, L., Gobetti, M., Auricchio, R., Di Mase, R., Landolfo, F., Paparo, F., Di Cagno, R., De Angelis, M., Rizzello, C. G., Cassone, A., Terrone, G., Timpone, L., D'Aniello, M., Maglio, M., Troncone, R. and Auricchio, S. (2011). Safety for patients with celiac disease of baked goods made of wheat flour hydrolyzed during food processing. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 9(1), 24-9.
15. Di Cagno, R., De Angelis, M., Lavermicocca, P., De Vincenzi, M., Giovannini, C., Faccia, M. and Gobetti, 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.
16. Hlywiak, K. H. (2008). Hidden sources of gluten. *Pract Gastroenterol*, 32, 27-39.
17. Zou, W., Sissons, M., Gidley, M. J., Gilbert, R. G. and Warren, F. J. (2015). Combined techniques for characterising pasta structure reveals how the gluten network slows enzymic digestion rate. *Food Chemistry*, 188, 559-68.
18. Caminero, A., Nistal, E., Herrán, A. R., Pérez-Andrés, J., Vaquero, L., Vivas, S., Ruíz de Morales, J. M. and Casqueiro, J. (2014). Gluten metabolism in humans. In Special (Eds.), *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health*. pp. 157-170
19. Waga, J. (2004). Structure and allergenicity of wheat gluten proteins—a review. *Polish Journal of Food Nutrition Science*, 13(54), 4.
20. Vici, G., Belli, L., Biondi, M. and Polzonetti, V. (2016). Gluten free diet and nutrient deficiencies: A review. *Clinical Nutrition*, 35(6), 1236-1241.
21. Ganzle, M. G. (2014). Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 37, 2-10.
22. Arranz, E., Fernández-Bañares, F., Rosell, C. M., Rodrigo, L. and Peña, A. S. (2015). *Advances in the understanding of gluten related pathology and the evolution of gluten-free foods*. OmniaScience, 493-526.
23. Jnawali, P., Kumar, V. and Tanwar, B. (2016). Celiac disease: Overview and considerations for development of gluten-free foods. *Food Science and Human Wellness*, 5(4), 169-176.
24. Scherf, K. A., Wieser, H. and Koehler, P. (2018). Novel approaches for enzymatic gluten degradation to create high-quality gluten-free products. *Food Research International*, 110, 62-72.
25. Turkut, G. M., Cakmak, H., Kumcuoglu, S. and Tavman, S. (2016). Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. *Journal of Cereal Science*, 69, 174-181.

26. Giménez-Bastida, J. A., Piskula, M. and Zieliński, H. (2015). Recent advances in development of gluten-free buckwheat products. *Trends in Food Science & Technology*, 44(1), 58-65.
27. Swieca, M., Regula, J., Suliburska, J., Zlotek, U. and Gawlik-Dziki, U. (2015). Effects of gluten-free breads, with varying functional supplements, on the biochemical parameters and antioxidant status of rat serum. *Food Chemistry*, 182, 268-74.
28. Duta, D. E. and Culetu, A. (2015). Evaluation of rheological, physicochemical, thermal, mechanical and sensory properties of oat-based gluten free cookies. *Journal of Food Engineering*, 162, 1-8.
29. Sharma, S., Saxena, D. C. and Riar, C. S. (2016). Nutritional, sensory and in-vitro antioxidant characteristics of gluten free cookies prepared from flour blends of minor millets. *Journal of Cereal Science*, 72, 153-161.
30. Chauhan, A., Saxena, D. C. and Singh, S. (2015). Total dietary fibre and antioxidant activity of gluten free cookies made from raw and germinated amaranth (*Amaranthus* spp.) flour. *LWT - Food Science and Technology*, 63(2), 939-945.
31. Cornejo, F. and Rosell, C. M. (2015). Physicochemical properties of long rice grain varieties in relation to gluten free bread quality. *LWT - Food Science and Technology*, 62(2), 1203-1210.
32. Lynch, K. M., Coffey, A. and Arendt, E. K. (2018). Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria: Their techno-functional role and potential application in gluten-free bread products. *Food Research International*, 110, 52-61.
33. Torrieri, E., Pepe, O., Ventorino, V., Masi, P. and Cavella, S. (2014). Effect of sourdough at different concentrations on quality and shelf life of bread. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 508-516.
34. Sanguinetti, A. M., Secchi, N., Del Caro, A., Fadda, C., Fenu, P. A. M., Catzeddu, P. and Piga, A. (2015). Gluten-free fresh filled pasta: The effects of xanthan and guar gum on changes in quality parameters after pasteurisation and during storage. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 678-684.
35. Sakač, M., Pestorić, M., Mandić, A., Mišan, A., Nedeljković, N., Jambrec, D., Jovanov, P., Lazić, V., Pezo, L. and Sedej, I. (2016). Shelf-life prediction of gluten-free rice-buckwheat cookies. *Journal of Cereal Science*, 69, 336-343.
36. Sanguinetti, A. M., Del Caro, A., Scanu, A., Fadda, C., Milella, G., Catzeddu, P. and Piga, A. (2016). Extending the shelf life of gluten-free fresh filled pasta by modified atmosphere packaging. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 96-101.
37. Losio, M.-N., Dalzini, E., Pavoni, E., Merigo, D., Finazzi, G. and Daminelli, P. (2017). A survey study on safety and microbial quality of "gluten-free" products made in Italian pasta factories. *Food Control*, 73, 316-322.
38. Scherf, K. A. and Poms, R. E. (2016). Recent developments in analytical methods for tracing gluten. *Journal of Cereal Science*, 67, 112-122.

39. Bietz, J. (1985). High performance liquid chromatography: How proteins look in cereals. *Cereal Chemistry*, 62(3), 201-212.
40. Wieser, H., Antes, S. and Seilmeier, W. (1998). Quantitative determination of gluten protein types in wheat flour by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chemistry*, 75(5), 644-650.
41. Qian, Y., Preston, K., Krokhn, O., Mellish, J. and Ens, W. (2008). Characterization of wheat gluten proteins by HPLC and MALDI TOF mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 19(10), 1542-1550.
42. Bietz, J., Burnouf, T., Cobb, L. and Wall, J. (1984). Gliadin analysis by reversed-phase high-performance liquid chromatography: Optimization of extraction conditions. *Cereal Chemistry*, 61(2), 124-129.
43. Bietz, J. and Cobb, L. (1985). Improved procedures for rapid wheat varietal identification by reversed-phase high-performance liquid chromatography of gliadin. *Cereal Chemistry*, 62(332), 1980.
44. Huebner, F. and Bietz, J. (1993). Improved chromatographic separation and characterization of ethanol-soluble wheat proteins. *Cereal Chemistry*, 70, 506-506.
45. Bietz, J., Burnouf, T., Cobb, L. and Wall, J. (1984). Wheat varietal identification and genetic analysis by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chemistry*, 61(129), 1986.
46. Kruger, J., Marchylo, B. and Hatcher, D. (1988). Preliminary assessment of a sequential extraction scheme for evaluating quality by reversed-phase high-performance liquid chromatography and electrophoretic analysis of gliadins and glutenins. *Cereal Chemistry*, 65(3), 208-214.
47. Blechl, A. E., Thrasher, K. S., Vensel, W. H. and Greene, F. C. (1992). Purification and characterization of wheat α -gliadin synthesized in the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*, 116(2), 119-127.
48. Rollan, G., De Angelis, M., Gobetti, M. and De Valdez, G. F. (2005). Proteolytic activity and reduction of gliadin-like fractions by sourdough lactobacilli. *Journal of Applied Microbiology*, 99(6), 1495-1502.
49. Kömen, G. (2010). *Structural changes of gliadins during sourdough fermentation as a promising approach to gluten-free diet*, Master Thesis, İzmir Institute of Technology, İzmir, 63-67.
50. Sang, S., Zhang, H., Xu, L., Chen, Y., Xu, X., Jin, Z., Yang, N., Wu, F. and Li, D. (2018). Functionality of ovalbumin during Chinese steamed bread-making processing. *Food Chemistry*, 253, 203-210.
51. Cornec, M., Popineau, Y. and Lefebvre, J. (1994). Characterisation of gluten subfractions by SE-HPLC and dynamic rheological analysis in shear. *Journal of Cereal Science*, 19(2), 131-139.
52. Türk Gıda Kodeksi. Glutensiz Ürünler Tebliği, Tarih:27.09.2003. Sayı:25242.

53. Minervini, F., De Angelis, M., Di Cagno, R. and Gobbetti, M. (2014). Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough. *International Journal of Food Microbiology*, 171, 136-46.
54. De Vuyst, L., Van Kerrebroeck, S., Harth, H., Huys, G., Daniel, H. M. and Weckx, S. (2014). Microbial ecology of sourdough fermentations: diverse or uniform? *Food Microbiology*, 37, 11-29.
55. Pétel, C., Onno, B. and Prost, C. (2017). Sourdough volatile compounds and their contribution to bread: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 59, 105-123.
56. Thiele, C., Gänzle, M. G. and 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 Journal*, 79(1), 45-51.
57. Plessas, S., Alexopoulos, A., Mantzourani, I., Koutinas, A., Voidarou, C., Stavropoulou, E. and Bezirtzoglou, E. (2011). Application of novel starter cultures for sourdough bread production. *Anaerobe*, 17(6), 486-9.
58. Ganzle, M. and Ripari, V. (2016). Composition and function of sourdough microbiota: From ecological theory to bread quality. *International Journal of Food Microbiology*, 239, 19-25.
59. Verheyen, C., Albrecht, A., Herrmann, J., Strobl, M., Jekle, M. and Becker, T. (2015). The contribution of glutathione to the destabilizing effect of yeast on wheat dough. *Food Chemistry*, 173, 243-9.
60. Sümengen, M. (2011). *Laktik asit bakterilerinden fitaz üretimi ve endüstriyel kullanımları*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 25-30.
61. Arendt, E. K., Ryan, L. A. and Dal Bello, F. (2007). Impact of sourdough on the texture of bread. *Food Microbiology*, 24(2), 165-174.
62. Larrosa, V., Lorenzo, G., Zaritzky, N. and Califano, A. (2016). Improvement of the texture and quality of cooked gluten-free pasta. *LWT - Food Science and Technology*, 70, 96-103.
63. Larrosa, V., Lorenzo, G., Zaritzky, N. and Califano, A. (2015). Dynamic rheological analysis of gluten-free pasta as affected by composition and cooking time. *Journal of Food Engineering*, 160, 11-18.
64. Kurtkaya, G. and Baştürk, Ö. (2009). Gökkuşáğı alabalığı {*Oncorhynchus mykiss* W., 1792} havvarında starter kültür kullanımının raf ömrü üzerine etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 5(1-2), 58-66.
65. Nionelli, L., Curri, N., Curiel, J. A., Di Cagno, R., Pontonio, E., Cavoški, I., Gobbetti, M. and Rizzello, C. G. (2014). Exploitation of Albanian wheat cultivars: characterization of the flours and lactic acid bacteria microbiota, and selection of starters for sourdough fermentation. *Food Microbiology*, 44, 96-107.

66. Pontonio, E., Nionelli, L., Curiel, J. A., Sadeghi, A., Di Cagno, R., Gobbetti, M. and Rizzello, C. G. (2015). Iranian wheat flours from rural and industrial mills: Exploitation of the chemical and technology features, and selection of autochthonous sourdough starters for making breads. *Food Microbiology*, 47, 99-110.
67. Scarnato, L., Montanari, C., Serrazanetti, D. I., Aloisi, I., Balestra, F., Del Duca, S. and Lanciotti, R. (2017). New bread formulation with improved rheological properties and longer shelf-life by the combined use of transglutaminase and sourdough. *LWT-Food Science and Technology*, 81, 101-110.
68. Corsetti, A., Gobbetti, M., Balestrieri, F., Paoletti, F., Russi, L. and Rossi, J. (1998). Sourdough lactic acid bacteria effects on bread firmness and stalin. *Journal of Food Science*, 63(2), 347-351.
69. Soyuçok, A., Ekiz, T. and Başığit Kiliç, G. (2016). Ekzopolisakkaritlerin özellikleri ve gıda sanayindeki önemi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 0(0), 332-344.
70. Rizzello, C. G., Calasso, M., Campanella, D., De Angelis, M. and Gobbetti, M. (2014). Use of sourdough fermentation and mixture of wheat, chickpea, lentil and bean flours for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of white bread. *International Journal of Food Microbiology*, 180, 78-87.
71. Paramithiotis, S., Chouliaras, Y., Tsakalidou, E. and Kalantzopoulos, G. (2005). Application of selected starter cultures for the production of wheat sourdough bread using a traditional three-stage procedure. *Process Biochemistry*, 40(8), 2813-2819.
72. Rieder, A., Ballance, S., Bocker, U. and Knutsen, S. (2018). Quantification of 1,3-beta-D-glucan from yeast added as a functional ingredient to bread. *Carbohydrate Polymers*, 181, 34-42.
73. Scherf, K. A. and Koehler, P. (2018). Optimization of micro-scale extension tests for wheat dough and wet gluten. *Journal of Cereal Science*, 79, 477-485.
74. Wang, J., Hou, G. G., Liu, T., Wang, N. and Bock, J. (2018). GlutoPeak method improvement for gluten aggregation measurement of whole wheat flour. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 90, 8-14.
75. International Association For Cereal Science And Technology. (1984). *106/2 Working method for the determination of wet gluten in wheat flour*. Vienna: International Association For Cereal Science And Technology.
76. Sozen, E. and Yagdi K. (2005). Bazi ileri makarnalik bugday (*Triticum durum* desf.) hatlarinin kalite ozelliklerinin belirlenmesi, *Uludag Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(2), 69-81.
77. Bulut, S. (2012). Ekmeklik bugdayda kalite. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(5), 441-446.
78. Hoffstetter, A. L., Griffin, D. P., Brown, L. K., Alan, J. K. and Olson, E. L. (2018). An ELISA based method for quantifying arabinoxylan in wheat flour. *Journal of Cereal Science*, 79, 148-153.

79. Yerlikaya, O. (2014). Laktik asit bakterilerinin tanılanmasında kullanılan başlıca fenotipik ve moleküler yöntemler. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 11(14), 8-22.
80. Türk Standardi - TS ISO 15214 - *Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi-Mezofilik Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı için Yatay Yöntem-30 °C'ta Koloni Sayımı Tekniği*. Ankara: Türk Standartları Enstitüsü, 1-14.
81. ISO. (1998). ISO 15214:1998 *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — Colony-Count technique at 30 degrees C*. ISO,1-7.
82. Türk Standardi - TS ISO 21527-1:2008 - *Gıda ve hayvan yemleri mikrobiyolojisi-Maya ve küflerin sayımı için yatay yöntem-Bölüm 1: Su aktivitesi 0,95'ten yüksek olan ürünlerde koloni sayım tekniği*. Ankara: Türk Standartları Enstitüsü, 1-14.
83. Normalisation, A. f. d. (2008). *Norme NF ISO 21527-1: Microbiologie des Aliments: Méthode Horizontale Pour le Dénombrement des Levures et Moisissures. Technique par Comptage des Colonies Dans les Produits à Activité D'eau Supérieure à 0,95*. Afnor, 1-9.
84. Türk Standardi - TS ISO 21527-2:2008 - *Gıda ve Hayvan Yemleri Mikrobiyolojisi-Maya ve Küflerin Sayımı için Yatay Yöntem-Bölüm 2: Su Aktivitesi 0,95'e Eşit veya Daha Düşük Olan Ürünlerde Koloni Sayım Tekniği*. Ankara: Türk Standartları Enstitüsü, 1-14.
85. Normalització, O. I. p. a. l. and 34, O. I. p. a. l. N. T. C. (2008). *ISO 21527-2: Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs : Horizontal Method for the Enumeration of Yeasts and Moulds : Part 2 : Colony Count Technique in Products with Water Activity Less Than Or Equal to 0,95*. ISO, 1-9.
86. Seferoglu, B. (2012). *Çölyak hastalarına yönelik kestane unu ve glutensiz unlarla hazırlanan ekmek, kek ve bisküvi çeşitlerinin duyu analizi ile değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara,106-107.
87. Turan, I., Simsek, U. and Aslan H. (2015). Eğitim araştırmalarında Likert Ölçeği ve Likert-tipi soruların kullanımı ve analizi. *Sakarya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, (30), 186-203.
88. Papadimitriou, K., Zoumpopoulou, G., Georgalaki, M., Alexandraki, V., Kazou, M., Anastasiou, R. and Tsakalidou, E. (2019). Sourdough bread. In First (Eds.), *Innovations in Traditional Foods*. Elsevier, 127-158
89. Mantzourani, I., Plessas, S., Odatzidou, M., Alexopoulos, A., Galanis, A., Bezirtzoglou, E. and Bekatorou, A. (2019). Effect of a novel *Lactobacillus paracasei* starter on sourdough bread quality. *Food Chemistry*, 271, 259-265.
90. Masure, H. G., Fierens, E. and Delcour, J. A. (2016). Current and forward looking experimental approaches in gluten-free bread making research. *Journal of Cereal Science*, 67, 92-111.

91. Simón, E., Larretxi, I., Churrua, I., Lasa, A., Bustamante, M. Á., Navarro, V., del Pilar Fernández-Gil, M. and Miranda, J. (2017). *Nutritional and analytical approaches of gluten-free diet in celiac disease*. Springer, 29-46.
92. Cappa, C., Lucisano, M., Raineri, A., Fongaro, L., Foschino, R. and Mariotti, M. (2016). Gluten-free bread: influence of sourdough and compressed yeast on proofing and baking properties. *Foods*, 5(4), 69.
93. Gamel, T. H., Abdel-Aal, E.-S. M. and Tosh, S. M. (2015). Effect of yeast-fermented and sour-dough making processes on physicochemical characteristics of β -glucan in whole wheat/oat bread. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 78-85.
94. Saeed, M., Yasmin, I., Khan, W. A., Pasha, I., Sharif, M. K. and Shabbir, M. A. (2016). Utilization of indigenously isolated single strain starter cultures for the production of sourdough bread. *International Journal of Food and Allied Sciences*, 2(1), 8-14.
95. Gocmen, D., Gurbuz, O., Kumral, A. Y., Dagdelen, A. F. and Sahin, I. (2007). The effects of wheat sourdough on glutenin patterns, dough rheology and bread properties. *European Food Research and Technology*, 225(5-6), 821-830.
96. Dirim, S. N., Ergün, K., Çalışkan, G., Özalp, H. and Balkesen, N. (2014). Farkli unların ekmeğin kalite özellikleri üzerine etkisi. *Academic Food Journal/Akademik Gıda*, 12(4), 27-35.
97. Mariotti, M., Garofalo, C., Aquilanti, L., Osimani, A., Fongaro, L., Tavoletti, S., Hager, A.-S. and Clementi, F. (2014). Barley flour exploitation in sourdough bread-making: A technological, nutritional and sensory evaluation. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie - Food Science and Technology*, 59(2), 973-980.
98. Rinaldi, M., Paciulli, M., Caligiani, A., Scazzina, F. and Chiavaro, E. (2017). Sourdough fermentation and chestnut flour in gluten-free bread: A shelf-life evaluation. *Food Chemistry*, 224, 144-152.
99. Londono, D. M., Gilissen, L. J. W. J., Visser, R. G. F., Smulders, M. J. M. and Hamer, R. J. (2015). Understanding the role of oat β -glucan in oat-based dough systems. *Journal of Cereal Science*, 62, 1-7.
100. Zannini, E., Garofalo, C., Aquilanti, L., Santarelli, S., Silvestri, G. and Clementi, F. (2009). Microbiological and technological characterization of sourdoughs destined for bread-making with barley flour. *Food Microbiology*, 26(7), 744-53.
101. Cappa, C., Lucisano, M. and Mariotti, M. (2013). Influence of Psyllium, sugar beet fibre and water on gluten-free dough properties and bread quality. *Carbohydrate polymers*, 98(2), 1657-1666.
102. Hou, G. G. and Hsu, Y.-H. (2013). Comparing fermentation gas production between wheat and apple sourdough starters using the Risograph. *Food Bioscience*, 3, 75-81.

103. Wolter, A., Hager, A.-S., Zannini, E., Czerny, M. and Arendt, E. K. (2014). Influence of dextran-producing *Weissella cibaria* on baking properties and sensory profile of gluten-free and wheat breads. *International Journal of Food Microbiology*, 172, 83-91.
104. Demirkesen, I., Sumnu, G. and Sahin, S. (2013). Quality of gluten-free bread formulations baked in different ovens. *Food and Bioprocess Technology*, 6(3), 746-753.
105. Zannini, E., Pontonio, E., Waters, D. M. and Arendt, E. K. (2012). Applications of microbial fermentations for production of gluten-free products and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(2), 473-485.
106. Capuani, A., Behr, J., Arendt, E. K. and Vogel, R. F. (2014). Impact of 'oxidizing' and 'reducing' buckwheat sourdoughs on brown rice and buckwheat batter and bread. *European Food Research and Technology*, 238(6), 979-988.
107. Yano, H. (2012). Comparison of Oxidized and Reduced Glutathione in the Bread-Making Qualities of Rice Batter. *Journal of Food Science*, 77(2), 182-188.
108. Yano, H., Kaji, N. and Tokuriki, M. (2013). Further studies on the protein chemistry and property of glutathione-added rice bread: evidence of glutathionylation of batter protein as well as crumb structure/sensory evaluation. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 47(4), 417-421.
109. Yan, B., Sadiq, F. A., Cai, Y., Fan, D., Zhang, H., Zhao, J. and Chen, W. (2019). Identification of key aroma compounds in type I sourdough-based chinese steamed bread: application of untargeted metabolomics analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(4), 818.
110. Siepmann, F. B., de Almeida, B. S., Ripari, V., da Silva, B. J. G., Peralta-Zamora, P. G., Waszczynskyj, N. and Spier, M. R. (2019). Brazilian sourdough: microbiological, structural, and technological evolution. *European Food Research and Technology*, 1-12.
111. Yu, Y., Wang, L., Qian, H., Zhang, H. and Qi, X. (2018). Contribution of spontaneously-fermented sourdoughs with pear and navel orange for the bread-making. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 89, 336-343.
112. Marti, A., Bottega, G., Franzetti, L., Morandin, F., Quaglia, L. and Pagani, M. A. (2015). From wheat sourdough to gluten-free sourdough: a non-conventional process for producing gluten-free bread. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(5), 1268-1274.
113. Curiel, J. A., Coda, R., Limitone, A., Katina, K., Raulio, M., Giuliani, G., Rizzello, C. G. and Gobbetti, M. (2014). Manufacture and characterization of pasta made with wheat flour rendered gluten-free using fungal proteases and selected sourdough lactic acid bacteria. *Journal of Cereal Science*, 59(1), 79-87.

114. Rizzello, C. G., Curiel, J. A., Nionelli, L., Vincentini, O., Di Cagno, R., Silano, M., Gobbetti, M. and Coda, R. (2014). Use of fungal proteases and selected sourdough lactic acid bacteria for making wheat bread with an intermediate content of gluten. *Food Microbiology*, 37, 59-68.
115. Van Eckert, R., Berghofer, E., Ciclitira, P., Chirido, F., Denery-Papini, S., Ellis, H., Ferranti, P., Goodwin, P., Immer, U. and Mamone, G. (2006). Towards a new gliadin reference material—isolation and characterisation. *Journal of Cereal Science*, 43(3), 331-341.
116. Bietz, J. A. and Burnouf, T. (1985). Chromosomal control of wheat gliadin: analysis by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Theoretical and Applied Genetics*, 70(6), 599-609.
117. Nutter, J., Fritz, R., Saiz, A. I. and Iurlina, M. O. (2017). Effect of honey supplementation on sourdough: Lactic acid bacterial performance and gluten microstructure. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 77, 119-125.
118. Reale, A., Di Renzo, T., Zotta, T., Preziuso, M., Boscaino, F., Ianniello, R., Storti, L. V., Tremonte, P. and Coppola, R. (2016). Effect of respirative cultures of *Lactobacillus casei* on model sourdough fermentation. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 73, 622-629.
119. Rizzello, C. G., Coda, R., Mazzacane, F., Minervini, D. and Gobbetti, M. (2012). Micronized by-products from debranned durum wheat and sourdough fermentation enhanced the nutritional, textural and sensory features of bread. *Food Research International*, 46(1), 304-313.
120. Thompson, T. (2004). Gluten contamination of commercial oat products in the United States. *New England Journal of Medicine*, 351(19), 2021-2022.
121. Collin, P., Thorell, L., Kaukinen, K. and Mäki, M. (2004). The safe threshold for gluten contamination in gluten-free products. Can trace amounts be accepted in the treatment of coeliac disease? *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 19(12), 1277-1283.
122. European Publications Committee. (2009). The Certification of the Mass Fractions of Proximates and Essential Elements in Rye Flour and Wheat Flour. *Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities*, 17-22.
123. Dermience, M., Mathieu, F., Barthélemy, J.-P., Maesen, P., Romnee, J.-M., De Maertelaer, V., Denchen, Y., Tsewang, P. and Lognay, G. (2013). The relevance of food composition data for nutrition surveys in rural Tibet: pilot study in the context of Kashin-Beck Disease. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 17(1), 32-42.
124. Gilbert, J. G., Wagstaffe, P. J. and Boenke, A. (1993). The Certification of the 4-deoxynivalenol mass fraction in wheat and maize flour reference materials. *Publications Office of the Commission of the European Communities, Luxembourg*, 377-379, 396.

125. Health, U. D. O. and Services, H. (1997). NIOSH pocket guide to chemical hazards. In Third (Eds.), *Niosh pocket guide to chemical hazards*. US Department of Health and Human Services, pp. 285.
126. Rollini, M., Casiraghi, E., Pagani, M. A. and Manzoni, M. (2007). Technological performances of commercial yeast strains (*Saccharomyces cerevisiae*) in different complex dough formulations. *European Food Research and Technology*, 226(1-2), 19-24.
127. Verheyen, C., Jekle, M. and Becker, T. (2014). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on the structural kinetics of wheat dough during fermentation. *LWT-Food Science and Technology*, 58(1), 194-202.
128. Göksungur, Y. and Döner, F. *Lactobacillus sanfranciscensis*'in gelişmesinde etkili biyoproses parametrelerinin belirlenmesi ve optimizasyonu. *Gıda/The Journal of Food*, 42(6), 666-675.
129. Aplevicz, K. S., Ogliari, P. J. and Sant'Anna, E. S. (2013). Influence of fermentation time on characteristics of sourdough bread. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(2), 233-239.
130. Sterr, Y., Weiss, A. and Schmidt, H. (2009). Evaluation of lactic acid bacteria for sourdough fermentation of amaranth. *International Journal of Food Microbiology*, 136(1), 75-82.
131. Moroni, A. V., Arendt, E. K. and Dal Bello, F. (2011). Biodiversity of lactic acid bacteria and yeasts in spontaneously-fermented buckwheat and teff sourdoughs. *Food Microbiology*, 28(3), 497-502.
132. Fujimoto, A., Ito, K., Itou, M., Narushima, N., Ito, T., Yamamoto, A., Hirayama, S., Furukawa, S., Morinaga, Y. and Miyamoto, T. (2018). Microbial behavior and changes in food constituents during fermentation of Japanese sourdoughs with different rye and wheat starting materials. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 125(1), 97-104.
133. Galle, S., Schwab, C., Arendt, E. K. and Ganzle, M. G. (2011). Structural and rheological characterisation of heteropolysaccharides produced by lactic acid bacteria in wheat and sorghum sourdough. *Food Microbiology*, 28(3), 547-553.
134. Sekwati-Monang, B. and Ganzle, M. G. (2011). Microbiological and chemical characterisation of ting, a sorghum-based sourdough product from Botswana. *International Journal of Food Microbiology*, 150(2-3), 115-21.
135. Adepehin, J., Enujiugha, V., Badejo, A., Young, G., Odeny, D. and Wu, F. (2018). Bacterial ecology and rheological parameters of multigrain gluten-free sourdoughs. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 96, 344-349.
136. Nionelli, L., Montemurro, M., Pontonio, E., Verni, M., Gobbetti, M. and Rizzello, C. G. (2018). Pro-technological and functional characterization of lactic acid bacteria to be used as starters for hemp (*Cannabis sativa* L.) sourdough fermentation and wheat bread fortification. *International Journal of Food Microbiology*, 279, 14-25.

137. Minervini, F., Lattanzi, A., De Angelis, M., Celano, G. and Gobbetti, M. (2015). House microbiotas as sources of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Italian sourdoughs. *Food Microbiology*, 52, 66-76.
138. Axel, C., Röcker, B., Brosnan, B., Zannini, E., Furey, A., Coffey, A. and Arendt, E. K. (2015). Application of *Lactobacillus amylovorus* DSM19280 in gluten-free sourdough bread to improve the microbial shelf life. *Food Microbiology*, 47, 36-44.
139. Liu, X., Zhou, M., Jiabin, C., Luo, Y., Ye, F., Jiao, S., Hu, X., Zhang, J. and Lü, X. (2018). Bacterial diversity in traditional sourdough from different regions in China. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 96, 251-259.
140. Ripari, V., Ganzle, M. G. and Berardi, E. (2016). Evolution of sourdough microbiota in spontaneous sourdoughs started with different plant materials. *International Journal of Food Microbiology*, 232, 35-42.
141. Moroni, A. V., Arendt, E. K., Morrissey, J. P. and Dal Bello, F. (2010). Development of buckwheat and teff sourdoughs with the use of commercial starters. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1-2), 142-8.
142. Ekmekci, I. (2014). *Glutensiz ekşi maya ekmeği üretimi için starter kültür oluşturulması*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 35-38.
143. Küçükçuban, A. (2012). *Sıvı ekşi hamur sistemi için uygun laktik asit bakteri kombinasyonunun belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, 47-56.
144. Galle, S., Schwab, C., Dal Bello, F., Coffey, A., Ganzle, M. G. and Arendt, E. K. (2012). Influence of in-situ synthesized exopolysaccharides on the quality of gluten-free sorghum sourdough bread. *International Journal of Food Microbiology*, 155(3), 105-12.
145. Singer Aplevicz, K., Zarpellon Mazo, J., dos Santos Neto, N. K., Siqueira Nalevaiko, F. and Sant'Anna, E. S. (2014). Evaluation of sourdoughs for the production of bread using spontaneous fermentation technique. *Acta Scientiarum. Technology*, 36(4), 713-719.
146. Türk Gıda Kodeksi. Fermente Süt Ürünleri Tebliği, Tebliğ No: 2009/25. Sayı: 27143.
147. Çelikel, A., Göncü, B., Akin, M. B. and Akin, M. S. Süt ürünlerinde probiyotik bakterilerin canlılığını etkileyen faktörler. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 8(1/2), 59-68.
148. Ecem, A. and Kinik, Ö. Süt bazlı içecekler ve diğer içeceklerde probiyotik canlılığı üzerine gıda matriksinin etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (17), 1-11.
149. Mihhalevski, A., Nisamedtinov, I., Hälvin, K., Oška, A. and Paalme, T. (2013). Stability of B-complex vitamins and dietary fiber during rye sourdough bread production. *Journal of Cereal Science*, 57(1), 30-38.

150. Horstmann, S. W., Atzler, J. J., Heitmann, M., Zannini, E. and Arendt, E. K. (2019). Impact of different *S. cerevisiae* yeast strains on gluten-free dough and bread quality parameters. *European Food Research and Technology*, 245(1), 213-223.
151. Curiel, J. A., Coda, R., Centomani, I., Summo, C., Gobbetti, M. and Rizzello, C. G. (2015). Exploitation of the nutritional and functional characteristics of traditional Italian legumes: the potential of sourdough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 196, 51-61.
152. Lhomme, E., Lattanzi, A., Dousset, X., Minervini, F., De Angelis, M., Lacaze, G., Onno, B. and Gobbetti, M. (2015). Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of sixteen French traditional sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology*, 215, 161-70.
153. Scheirlinck, I., Van der Meulen, R., Van Schoor, A., Vancanneyt, M., De Vuyst, L., Vandamme, P. and Huys, G. (2007). Influence of geographical origin and flour type on diversity of lactic acid bacteria in traditional Belgian sourdoughs. *Applied Environmental Microbiology*, 73(19), 6262-6269.
154. Lattanzi, A., Minervini, F., Di Cagno, R., Diviccaro, A., Antonielli, L., Cardinali, G., Cappelle, S., De Angelis, M. and Gobbetti, M. (2013). The lactic acid bacteria and yeast microbiota of eighteen sourdoughs used for the manufacture of traditional Italian sweet leavened baked goods. *International Journal of Food Microbiology*, 163(2-3), 71-9.
155. Meilgaard, M., Civille, G. V., and Carr, B. T. (1999). Sensory attributes and the way we perceive them. *Sensory Evaluation Techniques*, 7-22.
156. Sahin, A. W., Rice, T., Zannini, E., Lynch, K. M., Coffey, A. and Arendt, E. K. (2019). The incorporation of sourdough in sugar-reduced biscuits: a promising strategy to improve techno-functional and sensory properties. *European Food Research and Technology*, 1-14.
157. Carpenter, R. P., Lyon, D. H. and Hasdell, T. A. (2000). *Guidelines for sensory analysis in food product development and quality control* (Second Edition), United States: Springer, 13-34.
158. Rizzello, C. G., Lorusso, A., Montemurro, M. and 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.





EK-1. Duyusal değerlendirme kurum izni



T.C.
KIRKLARELİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Sağlık Yüksekokulu Müdürlüğü

Sayı : 73445267-605.99-E.2858
 Konu : Araştırma İzni

08/02/2019

Sayın Arş. Gör. Özlem PÖLENT

İlgi : 04/02/2019 tarihli ve 3026 kurum sayılı yazınız.

İlgi yazınız değerlendirilmiş olup, yüksek lisans tez çalışmanız ile ilgili yazınız ekindeki uygulama anketinin Beslenme ve Diyetetik Bölümü 3. ve 4. sınıf öğrencilerine uygulanması hususu uygun görülmüştür.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

e-imzalıdır

Doç. Dr. Serpil AKOZCAN
Müdür V.

Adres: Kırklareli Üniversitesi Rektörlüğü Kayalı Kampüsü /KIRKLARELİ

Telefon: 0288 214 55 47 Faks: 0288 214 70 86

e-posta: syo@klu.edu.tr Elektronik Ağ: <http://www.klu.edu.tr/>

5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.

Evrak teyidi <http://ebys.klu.edu.tr/sorgu/sorgula.aspx> adresinden D6P0-1ZAM-SLP2 kodu ile yapılabilir.

Tuba ÇIRAKOĞLU

Dahili: 2550

EK-2. Duyusal değerlendirmeye katılan tüm bireyler için yazılı onam formu

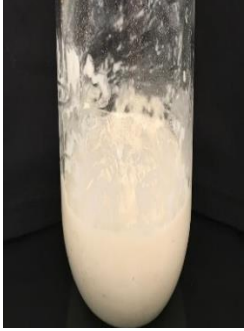
**EKŞİ MAYANIN GLİADİN HİDROLİZASYONUNA ETKİSİ İLE EKŞİ MAYA VE
EKMEKLERDE MİKROFLORA DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ
ÇALIŞMASI DUYUSAL DEĞERLENDİRME ANALİZİ KATILIMCI ONAM
FORMU**

Ekşi mayanın gliadin hidrolizasyonuna etkisi ile ekşi maya ve ekmeklerde mikroflora değişiminin değerlendirilmesi adlı çalışmanın duyusal değerlendirme analizinde gerekli hususlar araştırmacı Arş. Gör. Özlem PÖLENT tarafından tarafıma bilgilendirilmiş olup kendi rızam ile çalışmaya katıldığımı beyan ederim.

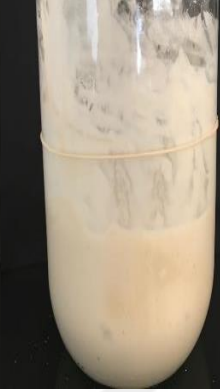
Katılımcı Adı Soyadı:

Katılımcı İmzası:

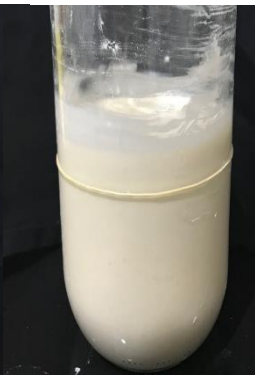
EK-3. Glutenli ekşi mayanın fermentasyon sürecinde geçirdiği aşamalar

	Glutenli ekşi maya – önce	Glutenli ekşi maya – sonra	Glutenli ekşi maya üst – önce	Glutenli ekşi maya üst – sonra
HAZIRLIK (1. GÜN – 08:00)		-		-
1. BESLEME (1. GÜN – 20:00)				
2. BESLEME (2. GÜN – 08:00)				
3. BESLEME (2. GÜN – 20:00)				

EK-3. (devam) Glutenli ekşi mayanın fermentasyon sürecinde geçirdiği aşamalar

	Glutenli ekşi maya – önce	Glutenli ekşi maya – sonra	Glutenli ekşi maya üst – önce	Glutenli ekşi maya üst – sonra
4. BESLEME (3. GÜN – 08:00)				
5. BESLEME (3. GÜN – 20:00)				
6. BESLEME (4. GÜN – 08:00)				

EK-3. (devam) Glutenli ekşi mayanın fermentasyon sürecinde geçirdiği aşamalar

	Glutenli ekşi maya – önce	Glutenli ekşi maya – sonra	Glutenli ekşi maya üst – önce	Glutenli ekşi maya üst – sonra
7. BESLEME (4. GÜN – 20:00)				
8. BESLEME (5. GÜN – 08:00)				
9. BESLEME (6. GÜN – 08:00)				

EK-3. (devam) Glutenli ekşi mayanın fermentasyon sürecinde geçirdiği aşamalar

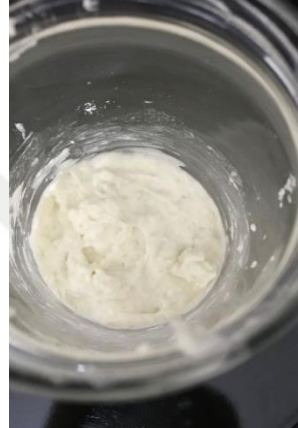
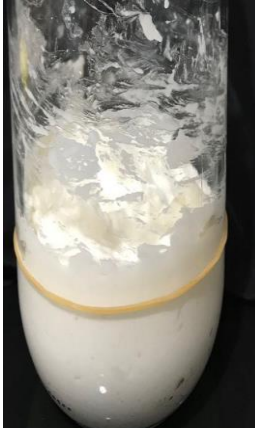
	Glutenli ekşi maya – önce	Glutenli ekşi maya – sonra	Glutenli ekşi maya üst – önce	Glutenli ekşi maya üst – sonra
10. BESLEME (7. GÜN – 08:00)				
11. BESLEME (8. GÜN – 08:00)				
12. BESLEME (9. GÜN – 08:00)				

EK-3. (devam) Glutenli ekşi mayanın fermantasyon sürecinde geçirdiği aşamalar

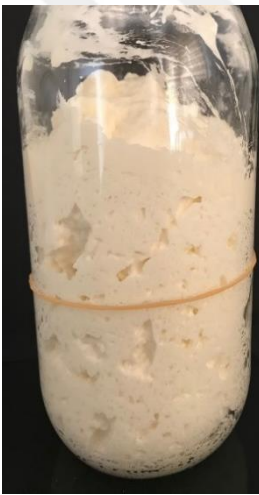
	Glutenli ekşi maya – önce	Glutenli ekşi maya – sonra	Glutenli ekşi maya üst – önce	Glutenli ekşi maya üst – sonra
13. BESLEME (10. GÜN – 08:00)				

Resim 3.1. Glutenli un kullanılarak hazırlanan ekşi mayaların fermantasyon süresince besleme öncesi ve sonrası durumları

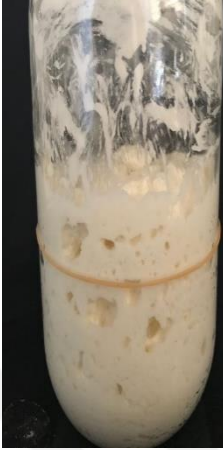
EK-4. Glutensiz ekşi mayanın fermentasyon sürecinde geçirdiği aşamalar

	Glutensiz ekşi maya – önce	Glutensiz ekşi maya – sonra	Glutensiz ekşi maya üst – önce	Glutensiz ekşi maya üst – sonra
HAZIRLIK (1. GÜN – 08:00)		-		-
1. BESLEME (1. GÜN – 20:00)				
2. BESLEME (2. GÜN – 08:00)				

EK-4. (devam) Glutensiz ekşi mayanın fermentasyon sürecinde geçirdiği aşamalar

	Glutensiz ekşi maya – önce	Glutensiz ekşi maya – sonra	Glutensiz ekşi maya üst – önce	Glutensiz ekşi maya üst – sonra
3. BESLEME (2. GÜN – 20:00)				
4. BESLEME (3. GÜN – 08:00)				
5. BESLEME (3. GÜN – 20:00)				

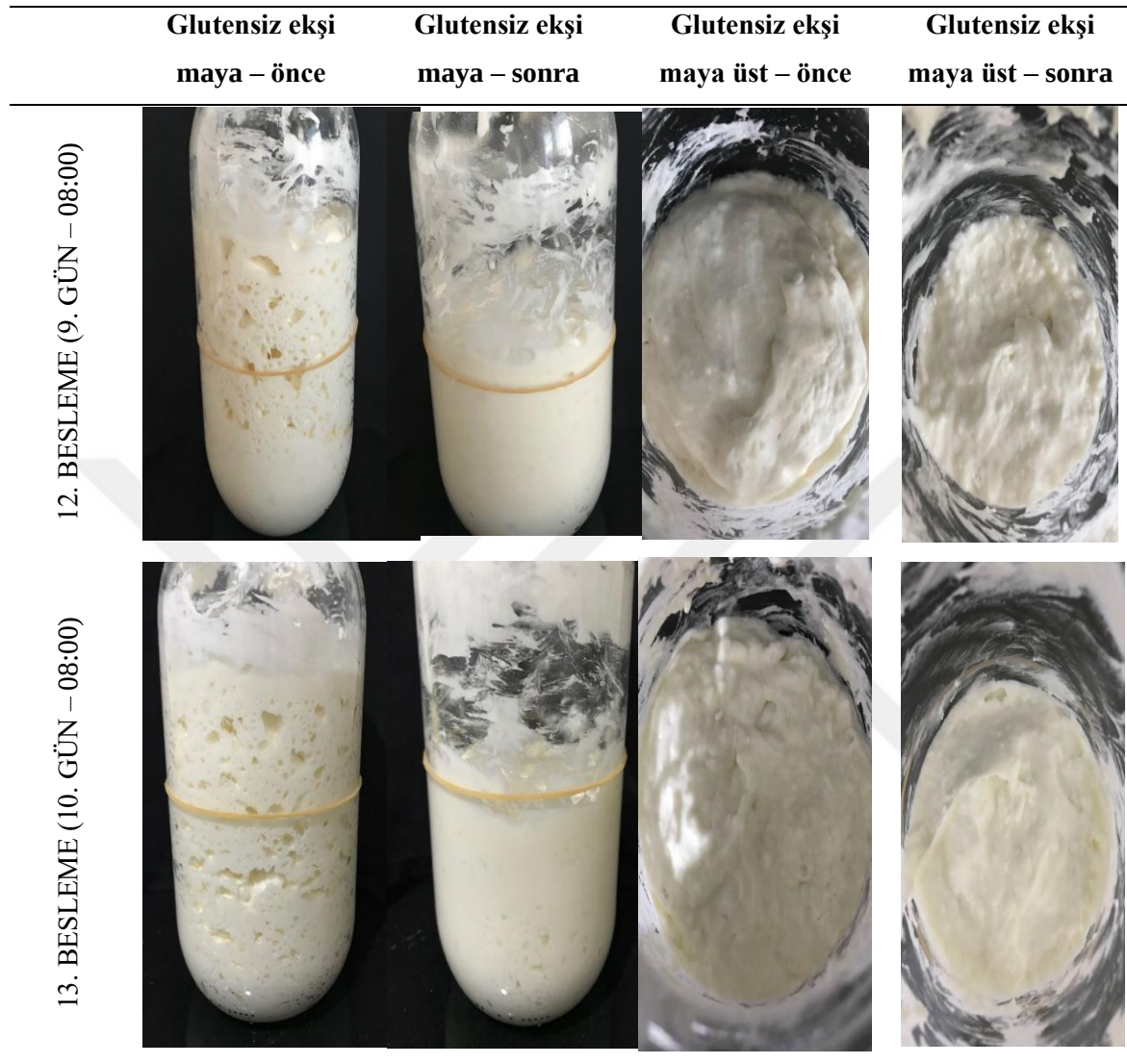
EK-4. (devam) Glutensiz ekşi mayanın fermentasyon sürecinde geçirdiği aşamalar

	Glutensiz ekşi maya – önce	Glutensiz ekşi maya – sonra	Glutensiz ekşi maya üst – önce	Glutensiz ekşi maya üst – sonra
6. BESLEME (4. GÜN – 08:00)				
7. BESLEME (4. GÜN – 20:00)				
8. BESLEME (5. GÜN – 08:00)				

EK-4. (devam) Glutensiz ekşi mayanın fermentasyon sürecinde geçirdiği aşamalar

	Glutensiz ekşi maya – önce	Glutensiz ekşi maya – sonra	Glutensiz ekşi maya üst – önce	Glutensiz ekşi maya üst – sonra
9. BESLEME (6. GÜN – 08:00)				
10. BESLEME (7. GÜN – 08:00)				
11. BESLEME (8. GÜN – 08:00)				

EK-4. (devam) Glutensiz ekşi mayanın fermantasyon sürecinde geçirdiği aşamalar



Resim 4.1. Glutensiz un kullanılarak hazırlanan ekşi mayaların fermantasyon süresince besleme öncesi ve sonrası durumları

Ek-5. Analizler için alınan hamur numuneleri



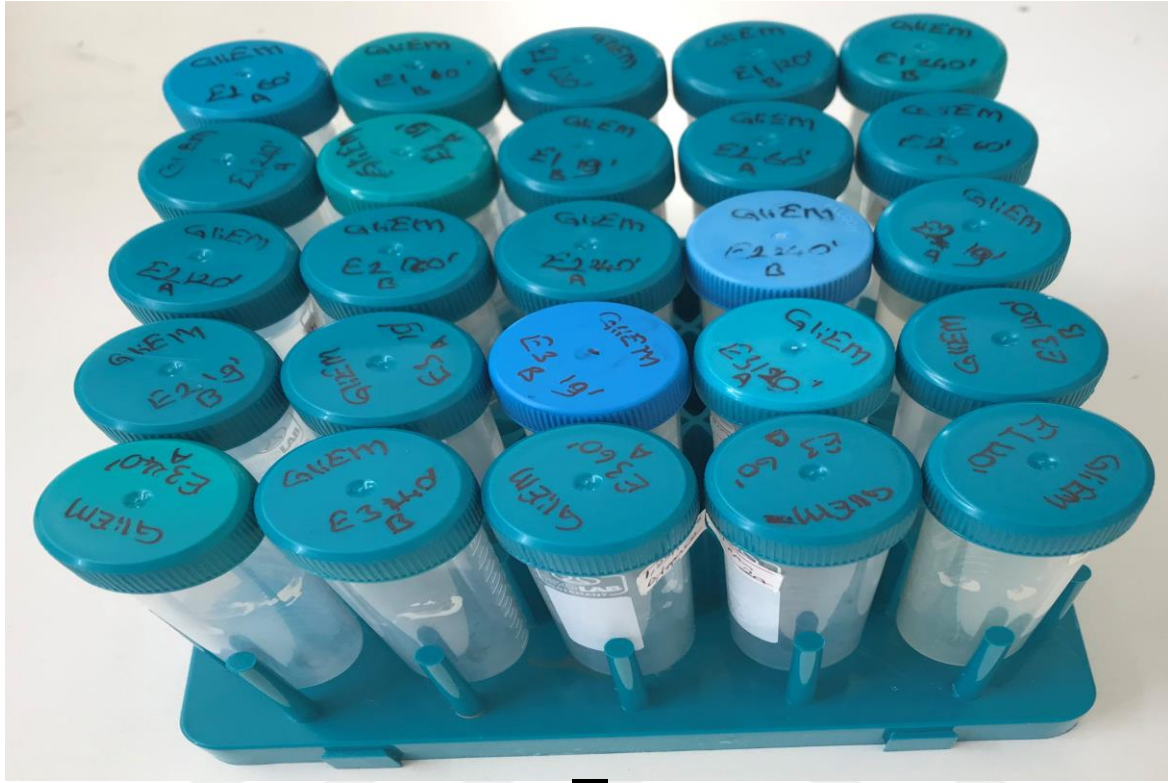
Ek-6. Analizler için alınan ekmek numuneleri



Ek-7. Viallerde bulunan ara stoklar

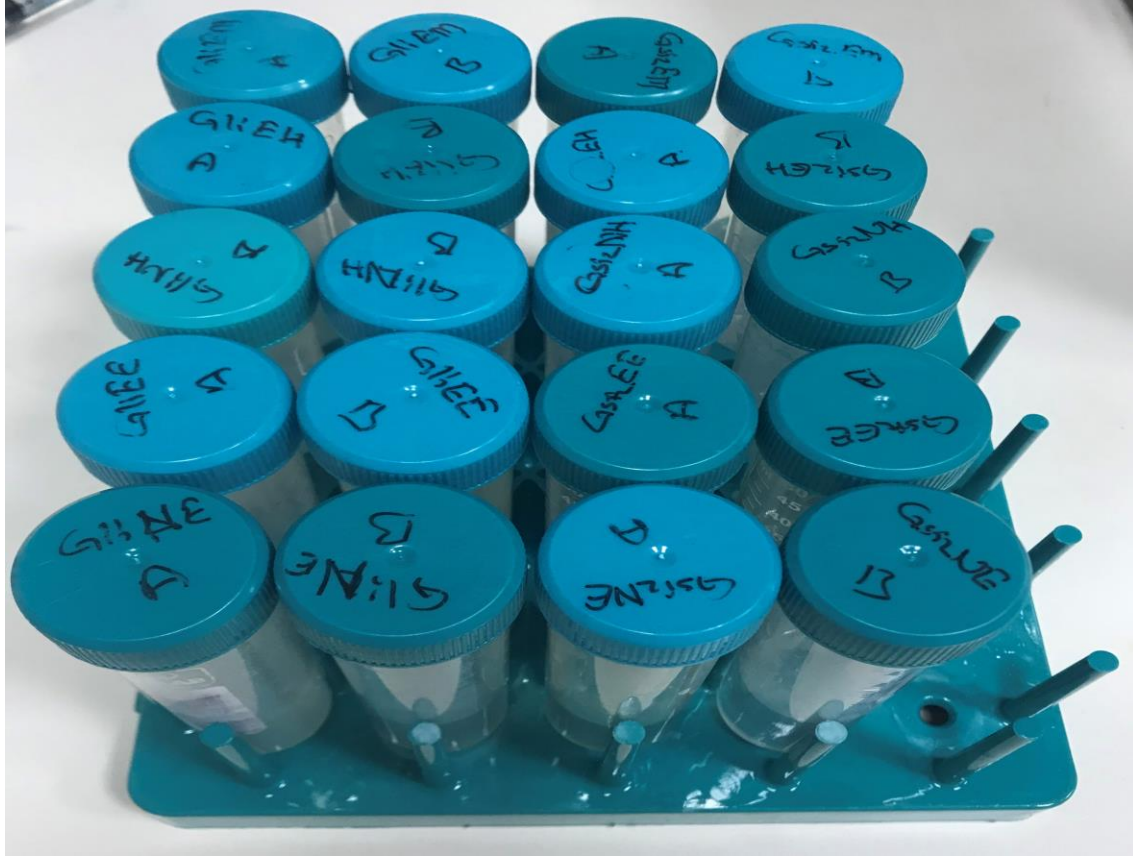


Ek-8. (a) Glutenli ekşi maya ile hazırlanan ekstraksiyon standardizasyonu numuneleri,
 (b) Glutensiz ekşi maya ile hazırlanan ekstraksiyon standardizasyonu numuneleri

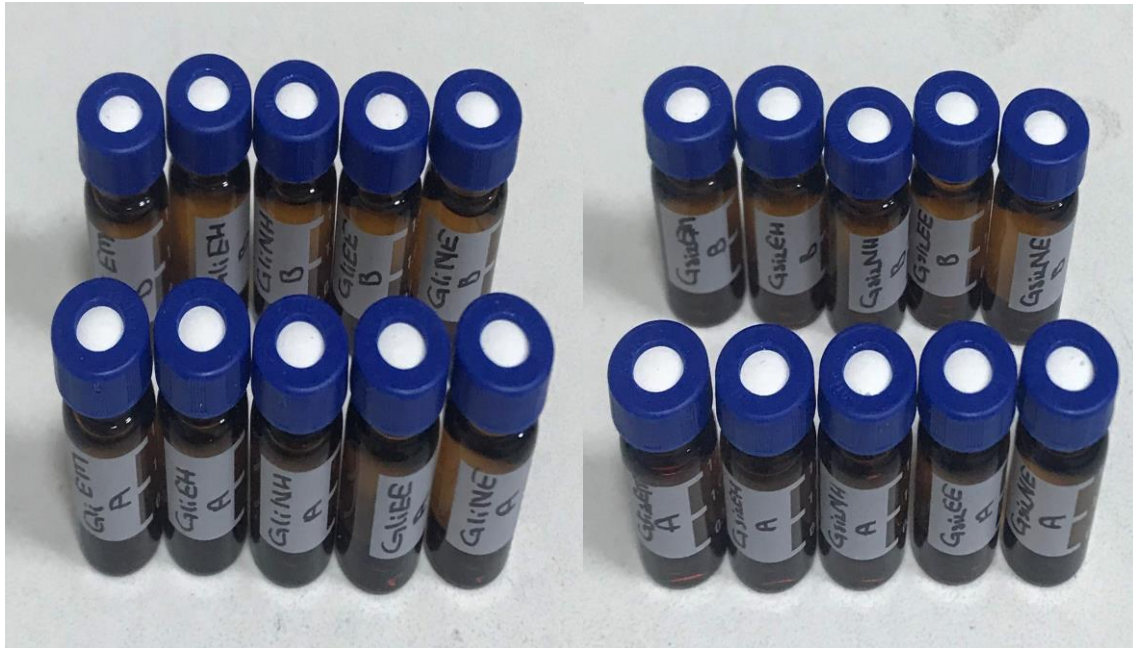


(b)

Ek-9. (a) Analizi yapılacak numuneler için santrifüj tüplerinde hazırlanan örnekler, (b) Analizi yapılacak numuneler için viallere alınan örnekler, (c) Analizi yapılacak numunelerin cihaza verilmesi



(a)



(b)

Ek-9. (devam) (a) Analizi yapılacak numuneler için santrifüj tüplerinde hazırlanan örnekler, (b) Analizi yapılacak numuneler için viallere alınan örnekler, (c) Analizi yapılacak numunelerin cihaza verilmesi



(c)

EK-10. Duyusal değerlendirme anket formu

**EKŞİ MAYANIN GLİADİN HİDROLİZASYONUNA ETKİSİ İLE EKŞİ MAYA VE EKMEKLERDE
MIKROFLORA DEĞİŞİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU**

Bu çalışma ekşi mayalı ve normal mayalı ekmeklerin duyusal değerlendirilmesi amacıyla yapılmaktadır. Çalışmaya katılımda tamamen gönüllülük esastır. Cevaplarınız tamamen gizli tutulacak olup sadece araştırmacı tarafından değerlendirilecektir. Araştırmanın hiçbir tehlikeli yanı bulunmamaktadır.

Tarih:

Arş. Gör. Ozlem POLENT

Katılımcı Ad Soyad						Form No	
Cinsiyet						Yaş	
Urün kodu							
Değerlendirme	1 Çok Kötü	2 Kötü	3 Orta	4 İyi	5 Çok İyi		
Genel Görünüm							
Hacim							
Kabuk Renk							
İç Renk							
Gözeneklilik							
Koku							
Lezzet							
Aroma							
Sertlik							
Tadıldıkdan Sonra Ağızda Kalan İzlenim							
Urün kodu							
Genel Görünüm							
Hacim							
Kabuk Renk							
İç Renk							
Gözeneklilik							
Koku							
Lezzet							
Aroma							
Sertlik							
Tadıldıkdan Sonra Ağızda Kalan İzlenim							
Urün kodu							
Genel Görünüm							
Hacim							
Kabuk Renk							
İç Renk							
Gözeneklilik							
Koku							
Lezzet							
Aroma							
Sertlik							
Tadıldıkdan Sonra Ağızda Kalan İzlenim							
Urün kodu							
Genel Görünüm							
Hacim							
Kabuk Renk							
İç Renk							
Gözeneklilik							
Koku							
Lezzet							
Aroma							
Sertlik							
Tadıldıkdan Sonra Ağızda Kalan İzlenim							

EK-10. (devam) Duyusal değerlendirme anket formu

Urün kodu					
Değerlendirme	1 Çok Kötü	2 Kötü	3 Orta	4 İyi	5 Çok İyi
Genel Görünüm					
Hacim					
Kabuk Renk					
İç Renk					
Gözeneklilik					
Koku					
Lezzet					
Aroma					
Sertlik					
Tadılıktan Sonra Ağızda Kalan İzlenim					
Urün kodu					
Genel Görünüm					
Hacim					
Kabuk Renk					
İç Renk					
Gözeneklilik					
Koku					
Lezzet					
Aroma					
Sertlik					
Tadılıktan Sonra Ağızda Kalan İzlenim					
Urün kodu					
Genel Görünüm					
Hacim					
Kabuk Renk					
İç Renk					
Gözeneklilik					
Koku					
Lezzet					
Aroma					
Sertlik					
Tadılıktan Sonra Ağızda Kalan İzlenim					
Urün kodu					
Genel Görünüm					
Hacim					
Kabuk Renk					
İç Renk					
Gözeneklilik					
Koku					
Lezzet					
Aroma					
Sertlik					
Tadılıktan Sonra Ağızda Kalan İzlenim					

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : PÖLENT, Özlem
 Uyruğu : T. C.
 Doğum tarihi ve yeri : 02.01.1993, Konak
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (507) 794 5426
 e-mail : ozlem037@hotmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Beslenme ve Diyetetik A.B.D.	Devam ediyor
Lisans	Ege Üniversitesi/ İzmir Atatürk Sağlık Yüksekokulu Beslenme ve Diyetetik Bölümü	2014
Lise	Menemen Lisesi	2010

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018- devam ediyor	Kırklareli Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü	Araştırma Görevlisi
2016-2018	Gazi Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Pölent, Ö., Köksal, E. (2018, Kasım-Aralık). *Ekşi mayanın gliadin hidrolizasyonuna etkisi ile ekşi maya ve ekmeklerde mikroflora değişiminin değerlendirilmesi*. 3. Uluslararası Sağlık Bilimleri Kongresi, Ankara.

2. Pölent, Ö., Öztürk Can, H. (2017, Ekim). *Gastrointestinal sistem kanseri tanısı alan ve almayan bireylerde tanı öncesi beslenme alışkanlıklarının incelenmesi*. Uluslararası Sağlıklı Beslenme Kongresi-Gastrointestinal Hastalıklar, İzmir.

Hobiler

Kitap okumak, spor yapmak, sinema, seyahat etmek.





GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

